



HAL
open science

Conception et exploitation d'un dispositif expérimental instrumenté pour la prévision de la dégradation de la qualité nutritionnelle et de l'inactivation microorganismes dans les fruits et légumes transformés

Nizar Al Fata

► To cite this version:

Nizar Al Fata. Conception et exploitation d'un dispositif expérimental instrumenté pour la prévision de la dégradation de la qualité nutritionnelle et de l'inactivation microorganismes dans les fruits et légumes transformés. Alimentation et Nutrition. Université d'Avignon, 2017. Français. NNT : 2017AVIG0265 . tel-01704619

HAL Id: tel-01704619

<https://theses.hal.science/tel-01704619v1>

Submitted on 8 Feb 2018

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-MARSEILLES
UNIVERSITE D'AVIGNON ET DES PAYS DE VAUCLUSE

THESE

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

Conception et exploitation d'un dispositif expérimental instrumenté pour la prévision de la dégradation de la qualité nutritionnelle et de l'inactivation microorganismes dans les fruits et légumes transformés

par **Nizar AL FATA**

soutenue le **2017 devant un jury composé de**

M. Martinus VAN BOEKEL	Professeur, Wageningen (Pays-Bas)	Rapporteur
M. Manuel DORNIER	Professeur, Montpellier	Rapporteur
Mme Stéphanie ROUX	Docteur, Massy	Examineur
M. Olivier DANGLES	Professeur, Avignon	Examineur
Mme Catherine RENARD	Directeur de recherche, Avignon	Directeur de thèse
M. Stéphane GEORGE	Chef de projet	Encadrant industriel

Ecole doctorale 536 : Sciences et Agrosiences

Industriel : Centre Technique de la Conservation des Produits Agricoles

Laboratoire INRA : Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale



Remerciements

Ce travail de recherche doctorale s'est déroulé dans le cadre d'une convention CIFRE entre le CTCPA et le laboratoire SQPOV de l'INRA d'Avignon.

Mes premiers remerciements sont évidemment adressés au Docteur Catherine Renard, ma directrice de thèse, et à Monsieur Stéphane Georgé, mon encadrant au CTCPA. Je vous remercie de m'avoir accueilli au sein du CTCPA et de l'INRA pour mener à bien ce projet. Un grand merci à vous pour tout ce que vous avez fait pour moi, tant sur le plan professionnel que personnel.

Madame Renard, vous êtes une personne formidable, avec qui j'ai énormément appris. Votre encadrement exemplaire, vos compétences, votre disponibilité et vos qualités humaines incomparables ont fortement contribué à la réussite de ce projet. Je ne peux que vous remercier et vous souhaiter bonne continuation pour la suite.

Stéphane (mon bonheur) ! Il est vrai que je l'ai souvent cherché ce bonheur...! Un grand merci ! Dès le départ le courant est bien passé entre vous et moi, et nous nous sommes tout de suite entendus. Merci d'avoir été disponible dans les moments difficiles et d'avoir fait preuve d'un encadrement exemplaire. Vous êtes une personne avec un grand cœur et vous allez me manquer. Je vous souhaite une bonne continuation, et une multitude de projets !

Je remercie tous les membres du jury, le Professeur Martinus Von Boekel de l'Université de Wageningen, le Professeur Manuel Dornier de SupAgro Montpellier, le Docteur Stéphanie Roux d'AgroParisTech Massy, et le Professeur Olivier Dangles de l'Université d'Avignon, responsable de l'Ecole Doctorale 536, d'avoir accepté de juger ce travail.

Je remercie tous les membres de mon comité de thèse, le Professeur Catherine Bonazzi d'AgroParisTech de Massy, le Docteur Frédéric Carlin de l'INRA d'Avignon, le Docteur Raphaël Plasson de l'Université d'Avignon, le Docteur Stéphane André du CTCPA, d'avoir suivi ce projet et apporté des visions et des approches différentes pour le mener à bien.

Un grand merci au Professeur Catherine Bonazzi, au Docteur Stéphanie Roux, au Professeur Francis Courtois d'AgroParisTech de Massy et au Docteur Raphaël Plasson pour leur aide précieuse en matière d'approche et de modélisation des données.

Je tiens à remercier Madame Sarah Gervais et le Docteur Stella Planchon du CTCPA, deux femmes extraordinaires, toujours à l'écoute, à qui il fait bon parler et se confier dans les moments difficiles. Bonne continuation à vous deux !

Un énorme merci à Madame Naïma Dlalal du CTCPA. Que dire de Naïma... Elle est sans doute une des personnes les plus compétentes et rigoureuses que j'ai pu voir dans un laboratoire. Merci à toi pour tout ce que tu m'as appris au niveau analytique et HPLC. Tu as été d'une grande aide. Je te souhaite le meilleur pour la suite.

Merci aussi au Docteur François Zuber du CTCPA, pour ses conseils avisés tout au long de ces 3 ans, et son aide précieuse en cette fin de thèse. François, tu as le droit à un bisou du maronite !

Je remercie le Docteur Stella Planchon et le Docteur Stéphane André pour m'avoir permis de découvrir la microbiologie et pour leurs conseils avertis dans ce domaine.

Merci également à l'ensemble des techniciens du laboratoire de microbiologie du CTCPA qui m'ont également appris énormément dans ce domaine. Je remercie en particulier Benoît Budzeszewski et Eddy Montagné pour m'avoir initié aux techniques de la microbiologie.

J'ai eu la chance d'aller faire quelques tours dans la halle technologique du CTCPA, et j'y ai passé d'excellents moments. Merci à Eric Nibouche, Willy Dussouchaut, Jean-Marc Malinge et Thibaut Manin pour ces délires inoubliables, et surtout pour ces tonnes de purées OPTIFEL qu'on a élaboré. Quand j'y pense, on était vraiment épais ! Bonne continuation à vous.

Je remercie Madame Bénédicte Larinier pour l'aide qu'elle a pu m'apporter dans la commande d'articles ou de livres, et également pour le temps qu'elle a passé à relire ce manuscrit.

D'une façon générale, je remercie l'ensemble du personnel du CTCPA : j'ai, d'une manière ou d'une autre, appris de chacun d'entre vous. Je vous souhaite à toutes et tous le meilleur pour la suite.

Je remercie Madame Line Touloumet et le Docteur Jean-François Maingonnat de l'INRA d'Avignon pour leur aide dans la réalisation des expériences de granulométrie et de rhéométrie.

Du fond du cœur, je veux adresser un énorme remerciement à Tiffany Malleck, doctorante en microbiologie au CTCPA, ma consœur de bureau mais surtout, mon amie. Tiffany, merci mille fois d'avoir été présente à mes côtés dans les moments les plus difficiles. Cela m'a fait le plus grand bien. Ton grand cœur et ta générosité sont sans limites ; tu as été d'un grand soutien, et je ne saurais exprimer à quel point tu vas me manquer. Je te souhaite de réussir ta thèse avec succès, ce dont je ne doute absolument pas. Sache que je ne t'oublierai jamais Tiffany, tu seras toujours ma marmotte !

Je remercie également l'ensemble des doctorants (pour certains maintenant docteurs) que j'ai rencontré durant ces 3 ans. Je ne peux citer tout le monde tellement vous êtes nombreux. Je vous souhaite à toutes et tous une belle réussite dans vos projets.

Merci au Docteur Loïc Durand, mon Lose, pour ces bons moments passés au CTCPA et pour m'avoir épaulé dans les moments difficiles. Je t'aime mon chameau !

J'ai eu la chance d'encadrer deux stagiaires, Anne-Sophie Pallaruelo et Coralie Adaoust. Ce fut un immense plaisir de travailler avec vous et je vous remercie pour la contribution que vous avez apportée à ce travail.

Merci à Adeline Catillon pour le dessin de Bob l'éponge et Coralie Adaoust pour le dessin de la fusée. Je vais vraiment les mettre dans ma thèse ! Vous êtes adorables.

Un grand merci à mon frère Steven. Il a été d'une grande aide financière et psychologique durant ces 3 ans. Je t'aime mon frère.

Je ne peux oublier également mon oncle Antoine Azar et mon ami Arnaud Parthiot pour m'avoir aidé financièrement au moment de m'installer en Avignon. Je vous en remercie !

Enfin, je veux remercier la meilleure, ma maman Linda, une femme débordante de générosité, avec un cœur énorme. Je veux lui dire à quel point je lui suis reconnaissant de s'être sacrifiée pour prendre soin de mes enfants et de moi-même ces deux dernières années. Elle a été essentielle à la réussite de ce travail et à ce que je suis aujourd'hui. Maman, je ne te le dis jamais, mais sache que je t'aime et que je n'oublierai jamais ce que tu as fait pour nous.

Je remercie aussi mon papa Samir de l'aide qu'il m'a également apportée pour mes enfants.

Pour finir, sachez que grâce à vous tous, cette expérience humaine a été formidable. J'ai été ravi de rencontrer chacun d'entre vous. D'une certaine manière, je sors de ces 3 ans d'expériences encore plus fort, plus mûr, plus grand...

« Si les découvertes scientifiques ont à la fois donné à l'humanité le pouvoir de créer et le pouvoir de détruire, alors elles sont en même temps un énorme défi et une grande épreuve. »

John Fitzgerald Kennedy (1917-1963)

*A mes enfants,
A mes parents,
A mes frères.*

Table des matières

Table des matières	1
Liste des figures	5
Liste des tableaux	17
Liste des abréviations	19
Liste des sigles	20
Chapitre I : Introduction générale	23
1 Contexte industriel et enjeux du projet PREDINUT.....	23
2 Objectifs	23
3 Programme de recherche	24
4 Le CTCPA.....	25
4.1 Présentation générale	25
4.2 Missions du CTCPA	26
4.3 Le CTCPA d'Avignon	26
5 L'UMR SQPOV	27
6 L'Unité Mixte Technologique « Qualiveg »	28
Chapitre II : Etat de l'art	33
1 La boîte de conserve, ou l'art de conserver les aliments.....	33
1.1 Historique.....	33
1.2 Production des conserves alimentaires en France.....	34
1.3 Procédé de fabrication : de l'aliment frais à la boîte de conserve.....	36
1.4 Principe du traitement thermique discontinu en autoclave	39
1.5 Prise en compte de la contamination initiale pour le choix de la valeur stérilisatrice ou pasteurisatrice.....	41
1.6 Caractéristiques du produit influençant le choix du traitement thermique	42
2 Les approches de modélisation en thermobactériologie et cinétique chimique	44
2.1 Réactions d'ordres classiques	44
2.2 Loi d'Arrhenius.....	47
2.3 Modèle d'Eyring : théorie du complexe activé	48
2.4 Notion de thermobactériologie.....	49
2.5 Modèle de Bigelow (log-linéaire)	52
2.6 Modèle de Weibull.....	52
2.7 Modèle de Mafart et Leguérinel prenant en compte la température et le pH	53

3	La vitamine C	54
3.1	Généralités	54
3.2	Sources alimentaires de vitamine C	55
3.3	Structure de la vitamine C	56
3.4	Propriétés physico-chimiques	57
3.5	Biosynthèse de la vitamine C	59
3.6	Synthèse chimique de l'acide ascorbique	62
3.7	Dégradation de la vitamine C	64
3.8	Cinétique de dégradation de la vitamine C	87
3.9	Impact des traitements à températures supérieures à 100 °C sur la vitamine C	95
3.10	Impact des autres procédés industriels sur la rétention de la vitamine C	97
3.11	Conclusion	106
4	Les bactéries d'altération.....	107
4.1	<i>Bacillus coagulans</i>	107
4.2	<i>Geobacillus stearothermophilus</i>	113
4.3	<i>Moorella thermoacetical/thermoautotrophica</i>	118
4.4	Conclusions.....	120
	Chapitre III : Démarche d'étude	123
1	Hypothèses	123
2	Dispositif expérimental	123
3	Démarche expérimentale	124
3.1	En solution modèle.....	125
3.2	En matrice alimentaire	125
3.3	Méthodes d'interprétation et approches	126
	Chapitre IV : Matériels et Méthodes	129
1	Matériels.....	129
1.1	Thermorésistomètre Mastia®	129
1.2	Consistomètre de Bostwick.....	132
1.3	Sonde à oxygène PreSens	132
1.4	Produits chimiques.....	132
1.5	Solution modèle	132
1.6	Matrices alimentaires	133
2	Méthodes	134
2.1	Solution d'acide ascorbique	134
2.2	Gamme étalon d'acide ascorbique	134
2.3	Gamme étalon des produits de dégradation	135

2.4	Conditions d'exploitation du thermorésistomètre.....	136
2.5	Dégradation de l'acide ascorbique en solution modèle	138
2.6	Dégradation de l'acide ascorbique en matrice alimentaire	139
2.7	Analyses HPLC.....	140
2.8	Granulométrie	141
2.9	Rhéologie	141
2.10	Protocole de dosage des polyphénols totaux.....	142
3	Modélisation des données	143
3.1	Réaction d'ordre général n	143
3.2	Incertitudes et statistiques	144
	Chapitre V : Etude de la dégradation de l'acide ascorbique en solution synthétique.....	149
1	En conditions anaérobies.....	149
1.1	Influence de la température.....	149
1.2	Influence du pH.....	159
1.3	Etude du furfural	166
2	En conditions aérobies.....	168
2.1	Pression partielle d'oxygène à 30 kPa	168
2.2	Pression partielle d'oxygène à 63 kPa	171
2.3	Pression partielle d'oxygène à 100 kPa	173
2.4	Dégradation de l'acide ascorbique en conditions aérobies	175
2.5	Implication de l'oxygène	178
2.6	Etude des composés de dégradation.....	185
3	Comparaison des résultats avec ceux du projet <i>OPTIFEL</i>	191
4	Conclusions	192
	Chapitre VI : Etude de la dégradation de l'acide ascorbique en matrice alimentaire.....	197
1	Caractérisation rhéologique et granulométrique des matrices	197
2	Etablissement du protocole pour l'étude de la dégradation de l'acide ascorbique en matrice alimentaire	198
3	Dégradation de l'acide ascorbique dans la purée de pomme	199
4	Dégradation de l'acide ascorbique dans la purée de carotte	204
5	Dégradation de l'acide ascorbique dans le jus de carotte.....	207
6	Devenir de l'oxygène au cours des cinétiques	209
7	Conclusions	212
	Chapitre VI : Approche couplée bénéfique/risque.....	217
1	Modèle choisi	217
2	Choix des entités	217

3	Paramètres du modèle et approximations.....	217
4	Interface du modèle de prédiction.....	219
	Conclusions et perspectives	223
	Références bibliographiques.....	229
	Sites internet consultés	240
	Valorisations et transferts	242
	Articles scientifiques.....	247
	Annexes	293
	Annexe 1 : Chromatogrammes de l'acide ascorbique, du 3-hydroxy-2-pyrone, de l'acide furoïque et du furfural, ainsi que leurs temps de rétention.....	293
	Annexe 2 : Données expérimentales de la préparation des gammes étalons des produits de dégradation...295	295
	Annexe 3 : Rhéogrammes des différentes matrices alimentaires étudiées	296
	Annexe 4 : Poster présenté au 2 nd Euro-Mediterranean Symposium on Fruit and Vegetable Processing....297	297
	Annexe 5 : Poster présenté au 18 th IUFoST World Congress of Food Science and Technology	298
	Annexe 6 : Article inclus dans les Proceedings du 29 th EFFoST International Conference	299

Liste des figures

Chapitre I : Introduction générale

Figure I – 1 : Répartition des centres du CTCPA à l'échelle nationale.....26

Chapitre II : Etat de l'art

Figure II - 1 : Timbre-poste à l'effigie de Nicolas Appert imprimé en 1955 (www.philateliefraancaise.fr)...33

Figure II - 2 : Photographie des premières boîtes de conserve inventées en 1810 (boîte à trou à gauche et boîte à bouchon à droite) (<http://www.azaquar.com>).....34

Figure II - 3 : Diagramme de production d'une boîte de conserve de légumes (source : GBPH Fruits et légumes en conserves appertisées - CTCPA – 2015).....37

Figure II - 4 : Evolution des températures et de la Valeur Stérilisatrice durant un cycle d'appertisation en autoclave.....39

Figure II - 5 : Variation de la concentration du réactif A en fonction du temps pour une cinétique d'ordre 0.45

Figure II - 6 : Variation de la concentration du réactif A en fonction du temps pour une cinétique d'ordre 1 sous forme (A) exponentielle et (B) linéaire.....46

Figure II - 7 : Variation de la concentration du réactif A en fonction du temps pour une cinétique d'ordre 2 sous forme (A) classique et (B) linéaire.....47

Figure II - 8 : Graph d'Arrhenius représentant la variation de $\ln(k)$ en fonction de $1/T$48

Figure II - 9 : Variation de l'énergie potentielle d'un système au cours du trajet réactionnel.....48

Figure II - 10 : Cinétique d'ordre 1 de destruction thermique des microorganismes à température constante.....50

Figure II - 11 : Effet de la température sur la vitesse de destruction thermique.....51

Figure II - 12 : Schéma réactionnel de la synthèse de la 4-hydroxyproline, (<http://biochimej.univ-angers.fr/Page2/COURS/7RelStructFonction/2Biochimie/2ModifPOSTraduc/9Hydroxylation/1Hydroxylation.htm>)54

Figure II - 13 : Structures chimiques des différents stéréoisomères de l'acide ascorbique, avec en (a) l'acide L-ascorbique, en (b) l'acide D-ascorbique, en (c) l'acide L-isoascorbique, en (d) l'acide D-isoascorbique...57

Figure II - 14 : Réaction d'équilibre de tautomérisation céto-énolique de l'acide ascorbique.....57

Figure II - 15 : Thermogrammes de la vitamine C (en gras) et courbes dérivées de ces thermogrammes (en pointillés) (a) sous azote et (b) sous air, d'après M. Juhász et *al.* (2012)58

Figure II - 16 : Structure de l'acide ascorbique représenté avec le système d'électrons π conjugués.....59

Figure II - 17 : Réaction représentant l'équilibre acido-basique entre (a) l'acide ascorbique (AA) et ses bases conjuguées (b) l'ascorbate et (c) le diascorbate.....	59
Figure II - 18 : Voies de biosynthèse de l'acide L-ascorbique dans les plantes, d'après Hancock et Viola (2006)	60
Figure II - 19 : Voie de biosynthèse de l'acide L-ascorbique chez les animaux, d'après Hancock et Viola (2006)	61
Figure II - 20 : Schéma du processus de synthèse Reichstein, d'après Hancock et Viola dans (2002).....	62
Figure II - 21: Réaction d'oxydation catalytique du L-sorbose en acide 2-céto-L-gulonique, adaptée d'après Bronnimann et <i>al.</i> (1994)	63
Figure II - 22 : Schéma des deux voies microbiologiques de synthèse de l'acide L-ascorbique élaborées par Hancock et Viola (2002)	64
Figure II - 23 : Représentation des voies possibles de dégradation de l'acide ascorbique, adaptée d'après Yuan et Chen (1998)	65
Figure II - 24 : Représentation possible de la voie de dégradation de l'acide ascorbique, adaptée d'après Li et <i>al.</i> (2016)	66
Figure II - 25 : Mécanisme d'oxydation de l'ascorbate en acide déhydroascorbique, adapté d'après Davey et <i>al.</i> (2000) et García-Torres et <i>al.</i> (2009)	67
Figure II - 26 : Réaction d'équilibre du MDHA vers sa forme la plus stable.....	67
Figure II - 27 : Mécanisme d'hydrolyse du DHAA pour former le DKA.....	67
Figure II - 28 : Mécanisme de décarboxylation du DKA en xylosone.....	68
Figure II - 29 : Mécanisme d'hydrolyse de l'AA en acide 2,3-ènégluconique.....	69
Figure II - 30 : Mécanisme de décarboxylation du 3-KA en xylose.....	69
Figure II - 31 : Chromatogramme GLC (Gaz-liquid Chromatography) de séparation des acides carboxyliques obtenus après traitement de l'AA à 110 °C en milieu alcalin oxydatif, d'après Nemeliä (1987).....	70
Figure II - 32 : Mécanisme proposé pour la formation de l'acide L-thréo-2-pentalusonique à partir du DKG.....	72
Figure II - 33 : Formation de l'acide L-thréonique et de l'acide oxalique à partir du DKGA.....	73
Figure II - 34 : Mécanisme proposé pour la formation de l'acide L-thréonique à partir de l'acide L-thréo-2-pentalusonique.....	73
Figure II - 35 : Structures chimiques de (a) l'acide L-xylonique et de (b) l'acide L-lyxonique.....	74

Figure II - 36 : Mécanisme proposé pour la formation des acides L-xylonique et L-lyxonique.....	74
Figure II - 37 : Mécanisme proposé pour la formation de l'acide C-(L-thréo-1,2,3-trihydroxypropyl)tartronique.....	75
Figure II - 38 : Formation de l'acide glycérique à partir du xylosone.....	75
Figure II - 39 : Mécanisme proposé pour la formation du furfural à partir du xylose.....	76
Figure II - 40 : Mécanisme proposé pour la formation du 3-hydroxyfurfural.....	76
Figure II - 41 : Mécanisme proposé pour la formation de l'acide 2-furoïque.....	77
Figure II - 42 : Mécanisme proposé pour la formation du furane par voie hydrolytique, adaptée d'après Locas et Yaylayan (2004), Märk et al. (2006) et Mogol et Gökmen (2013)	78
Figure II - 43 : Mécanisme proposé pour la formation du furane par voie oxydoréductive, adaptée d'après Locas et Yaylayan (2004), Märk et al. (2006) et Mogol et Gökmen (2013)	78
Figure II - 44 : Mécanisme proposé pour la formation du 3-hydroxy-2-pyrone à partir du xylosone.....	79
Figure II - 45 : Autre mécanisme proposé pour la formation du 3-hydroxy-2-pyrone à partir de l'intermédiaire issu de la deuxième déshydratation du glucose.....	80
Figure II - 46 : Evolution de la concentration en vitamine C dans une solution modèle de jus de fruits, à différentes concentration en oxygène dans l'espace de tête à 22 °C, avec ◆ 0,03 %, ◇ 0,63 %, ■ 1,17 %, □ 2,78 %, ● 4,84 %, ○ 10,02 % et ▲ 20,9 %, d'après Van Bree et al. (2012)	81
Figure II - 47 : Evolution de la concentration (normalisée) en acide ascorbique en fonction du temps dans du gel agar à 20 °C sous atmosphère contenant 5 % d'oxygène (○) et 21 % d'oxygène (□), d'après Pénicaud et al. (2011)	82
Figure II - 48 : Evolution de la concentration (normalisée) en acide ascorbique en fonction de la distance à l'interface dans du gel agar à 20 °C sous atmosphère contenant 21 % d'oxygène après 25 h (○), 53 h (+), 79 h (□) et 145 h (*), d'après Pénicaud et al. (2011)	83
Figure II - 49 : Diagramme de prédominance de l'acide ascorbique et de ses bases conjuguées en fonction du pH (A) et courbe représentant la constante de vitesse de dégradation de l'AA en fonction du pH de la solution, d'après Golubitskii et al. (2007)	84
Figure II - 50 : Schéma représentant le mécanisme d'oxydation de l'AA catalysée par complexe métallique, adapté d'après Khan et Martell (1967)	85
Figure II - 51 : Structure du complexe Métal-AA en solution aqueuse, adaptée d'après Obaleye et Orjiekwe (1992)	85

Figure II - 52 : Concentration de AA en fonction du temps durant le stockage des jus de citron à différents °Brix, d'après Al-Zubaidy et Khalil (2007)	86
Figure II - 53 : Schéma général de dégradation de l'AA, adapté d'après Serpen et Gökmen (2007).....	94
Figure II - 54 : Effet de la concentration en acide ascorbique sur la vitesse de dégradation à 100 °C et une concentration initiale d'oxygène de 8,11 mg/L, avec (Δ) $[AA]_i = 750 \mu\text{g/mL}$, (\circ) $[AA]_i = 250 \mu\text{g/mL}$ et ($*$) $[AA]_i = 150 \mu\text{g/mL}$, d'après Oey et <i>al.</i> (2006)	95
Figure II - 55 : Variation de la concentration en acide ascorbique en fonction du temps à pH = 4,5 ; 5,8 ; 6,8 ; 8,0 ; 9,5 à (A) 110 °C, (B) 120 °C, (C) 130 °C, (D) 140 °C et (E) 150 °C.....	96
Figure II - 56 : Schéma représentant l'impact des micro-ondes sur l'enthalpie libre d'activation.....	98
Figure II - 57 : Dégradation de l'AA ($C_0 = 450 \text{ mg/L}$) et formation du radical ascorbyle dans un tampon phosphate (pH = 7) après traitement UV, d'après Tikekar et <i>al.</i> (2011)	99
Figure II - 58 : Influence de la dose UV sur la dégradation de l'AA ($C_0 = 100 \text{ mg/L}$) dans de l'eau distillée à pH = 6 induite par UV, d'après Tikekar et <i>al.</i> (2011)	100
Figure II - 59 : Courbes représentant les constantes de vitesse de dégradation de l'AA (K_{aa} en triangle plein) et de la pélargonidine-3-glucoside P3G (K_{P3G} en triangle ouvert) en fonction de l'AED, d'après Tiwari et <i>al.</i> (2009)	101
Figure II - 60 : Dégradation de l'acide ascorbique en fonction du temps par chauffage ohmique à différentes fréquences de traitement et par traitement thermique conventionnel dans la pulpe de cerise acérola (A) et le jus de cerise acerola (B), d'après Mercali et <i>al.</i> (2014)	102
Figure II - 61 : Evolution de la concentration en acide ascorbique en fonction du temps à dans la purée de fraise à (A) 0,1 MPa et (B) 700 MPa à (-) 60 °C, (\blacklozenge) 80 °C, (\square) 90 °C, (\blacktriangle) 100 °C, (x) 110 °C et (\circ) 120 °C.....	103
Figure II - 62 : Courbes représentant la perte d'acide ascorbique en fonction du temps durant le stockage dans le jus d'orange (a) après traitement HHP et (b) pasteurisation thermique conventionnel de 0 à 30 °C, d'après Polydera et <i>al.</i> (2005)	104
Figure II - 63 : Courbes représentant la perte d'acide ascorbique en fonction du temps durant le stockage dans le jus d'orange à (a) 4 °C et (b) 20 °C après traitement HHP à 400 MPa (Δ), 500 MPa (\circ), 600 MPa (\blacklozenge) et non traité (\square), d'après Torres et <i>al.</i> (2011)	104
Figure II - 64 : Courbes représentant la dégradation de l'AA dans le jus d'orange-carotte pendant un traitement PEF à différents voltages (kV/cm), d'après Torregrosa et <i>al.</i> (2006)	105
Figure II - 65 : Courbes représentant la dégradation de l'AA dans le jus d'orange-carotte après traitement PEF et pasteurisation pendant le stockage à 2 °C et 10 °C, d'après Torregrosa et <i>al.</i> (2006)	106

Figure II - 66 : Photographie de <i>B. coagulans</i> obtenue par microscopie (x100) (T. Malleck, CTCPA).....	108
Figure II - 67 : Courbes de survie de <i>B. coagulans</i> à 101 °C (●), 103,3 °C (○), 105,6 °C (▲) et 108,5 °C (Δ) dans du tampon McIlvaine à pH = 7, d'après Palop et al. (1997)	110
Figure II - 68 : Courbes représentant la survie des spores de <i>B. coagulans</i> par traitement HHP à 50 °C (A) et à 60 °C (B) à 300 MPa (●), 450 MPa (■), 500 MPa (◆), 550 MPa (*), 600 MPa (▼), d'après M. Zimmermann et al. (2013)	111
Figure II - 69 : Courbes représentant la thermorésistance de <i>B. coagulans</i> dans (a) du tampon McIlvaine à pH = 4 (◆) et pH = 7 (●) et dans la tomate à pH = 4 (◇) et pH = 7 (Δ) et (b) du tampon McIlvaine à pH = 4 (◆) et pH = 7 (●) et dans l'asperge à pH = 4 (◇) et pH = 7 (Δ), d'après Palop et al. (1999).....	112
Figure II - 70 : Photographie de <i>Geobacillus stearothermophilus</i> obtenue par microscopie (x100) (T. Malleck, CTCPA)	113
Figure II - 71 : Courbe de survie de spores <i>Geobacillus stearothermophilus</i> dans l'eau au cours d'un traitement thermique conventionnel, d'après Patzaca et al. (2006)	115
Figure II - 72 : Effet de la température sur la survie de spores de <i>Geobacillus stearothermophilus</i> à 30 MPa de pression de CO ₂ à 35 °C (●), 55 °C (○), 65 °C (▲), 75 °C (Δ), 85 °C (■) et 95 °C (□) ; ◆ représente la courbe de survie de spores de <i>Gbs</i> après un traitement thermique à 95 °C, d'après Watanabe et al. (2003).....	115
Figure II - 73 : Courbes de survie de spores de <i>G. stearothermophilus</i> dans diverses matrices alimentaires au cours d'un process de stérilisation à 105 °C sous (A) 500 MPa de pression et (B) sous 700 MPa de pression, d'après Anh et al. (2014)	116
Figure II - 74 : Courbes de survie de spores de <i>G. stearothermophilus</i> dans l'eau à (a) 92 °C, (b) 100 °C et (c) 111 °C à 500 MPa, 600 MPa et 700 MPa, d'après Patzaca et al. (2006)	117
Figure II - 75 : Inactivation de spores de <i>G. stearothermophilus</i> durant un chauffage ohmique (10 kHz et 60 Hz) et un traitement thermique conventionnel à (A) 121 °C, (B) 125 °C et (C) 130 °C, d'après Somavat et al. (2012)	117
Figure II - 76 : Valeurs expérimentales et prédites (par modèle linéaire en trait plein et modèle de Weibull en pointillé) du ratio de survie de <i>G. stearothermophilus</i> dans une solution à 0,1 % de NaCl à pH = 7 durant un traitement combiné entre pression/chauffage ohmique/chauffage (600 MPa, 50 V/cm, 105 °C), d'après Park et al. (2013)	118
Figure II - 77 : Photographie de <i>Moo t/t</i> obtenue par microscope à contraste de phase (x 100) (T. Malleck, INRA)	119

Figure II - 78 : Courbes de survie de spores de <i>Moorella thermoacetica</i> dans l'eau au cours d'un traitement thermique conventionnel à 100 °C (◆) et 121 °C (■), d'après D. E. Byrer et al. (2000).....	120
Chapitre III : Démarche d'étude	
Figure III - 1 : Schéma de la démarche expérimentale du projet.....	124
Chapitre IV : Matériels et méthodes	
Figure IV - 1 : Thermorésistomètre Mastia [®] utilisé pour les études cinétiques.....	129
Figure IV - 2 : Schéma du thermorésistomètre Mastia [®] , d'après R. Conesa et al. dans « Nonisothermal heat resistance determinations with the thermoresistometer Mastia », <i>Journal of Applied Microbiology</i> , 2009.....	130
Figure IV - 3 : Consistomètre de Bostwick.....	132
Figure IV - 4 : Exemple de courbe d'étalonnage moyenne de l'acide ascorbique.....	135
Figure IV - 5 : Courbes d'étalonnage des produits de dégradation de l'acide ascorbique, avec 3H2P pour 3-hydroxy-2-pyrone, AF pour acide furoïque et F pour furfural.....	136
Figure IV - 6 : Montage de la mise en anaérobiose du récipient du thermorésistomètre.....	137
Figure IV - 7 : Evolution de la concentration initiale en oxygène après les différentes étapes de dégazage.....	138
Figure IV - 8 : Photographie d'un rhéomètre Anton Paar MCR 301.....	142
Figure IV - 9 : Schéma de la démarche expérimentale du dosage des polyphénols totaux.....	143
Chapitre V : Etude de la dégradation de l'acide ascorbique en solution synthétique	
Figure V - 1 : Évolution de la concentration d'acide ascorbique pour (A) [AA] _i = 150 mg/L, (B) [AA] _i = 300 mg/L, (C) [AA] _i = 450 mg/L, (D) [AA] _i = 600 mg/L, (E) [AA] _i = 900 mg/L en fonction du temps à 95, 100, 105, 100, 115, 120 et 125 °C ; (◆) 95 °C pour A, C, E et 100 °C pour B, D ; (■) 105 °C pour A, C, E et 110 °C pour B,D ; (▲) 115 °C pour A, C, E et 120 °C pour B,D ; (●) 125 °C ; les traits rouges représentent le modèle ajusté aux données.....	150
Figure V - 2 : Évolution du logarithme du rapport [AA] _t /[AA] ₀ pour (A) [AA] _i = 150 mg/L, (B) [AA] _i = 300 mg/L, (C) [AA] _i = 450 mg/L, (D) [AA] _i = 600 mg/L, (E) [AA] _i = 900 mg/L en fonction du temps à 95, 100, 105, 100, 115, 120 et 125 °C ; (◆) 95 °C pour A, C, E et 100 °C pour B, D ; (■) 105 °C pour A, C, E et 110 °C pour B,D ; (▲) 115 °C pour A, C, E et 120 °C pour B,D ; (●) 125 °C.....	152
Figure V - 3 : Variation de C _t /C ₀ en fonction du temps à 95, 100, 105, 110, 115, 120 et 125 °C pour (●) [AA] _i = 150 mg/L, (●) [AA] _i = 300 mg/L, (●) [AA] _i = 450 mg/L, (●) [AA] _i = 600 mg/L, (●) [AA] _i = 900 mg/L.....	153

Figure V - 4 : Variation des résidus au cours du temps pour (A) $[AA]_i = 150$ mg/L, (B) $[AA]_i = 300$ mg/L, (C) $[AA]_i = 450$ mg/L, (D) $[AA]_i = 600$ mg/L, (E) $[AA]_i = 900$ mg/L en fonction du temps à 95, 100, 105, 110, 115, 120 et 125 °C ; (♦) 95 °C pour A, C, E et 100 °C pour B, D ; (■) 105 °C pour A, C, E et 110 °C pour B,D ; (▲) 115 °C pour A, C, E et 120 °C pour B,D ; (●) 125 °C.....	155
Figure V - 5 : Variation du logarithme de la constante de vitesse en fonction du rapport $1/(RT)$ pour les 5 concentrations initiales en acide ascorbique (150, 300, 450, 600 et 900 mg/L) et aux 7 températures étudiées (95, 100, 105, 110, 115, 120 et 125 °C) avec le modèle d'Arrhenius.....	156
Figure V - 6 : Variation du logarithme de la constante de vitesse en fonction du rapport $1/(RT)$ pour les 5 concentrations initiales en acide ascorbique (150, 300, 450, 600 et 900 mg/L) et aux 7 températures étudiées (95, 100, 105, 110, 115, 120 et 125 °C) avec le modèle d'Eyring.....	158
Figure V - 7 : Évolution de la concentration d'acide ascorbique pour $[AA]_i = 150$ mg/L à (A) pH = 2,5, (B) pH = 3,5, (C) pH = 4,5 et (D) pH = 5,5 en fonction du temps à (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (●) 125 °C.....	159
Figure V - 8 : Évolution de la concentration (normalisée) d'acide ascorbique pour $[AA]_i = 150$ mg/L à (A) 95 °C, (B) 105 °C, (C) 115 °C et (D) 125 °C en fonction du temps à (♦) pH = 2,5, (■) pH = 3,5, (▲) pH = 4,5 et (x) pH = 5,5.....	160
Figure V - 9 : Évolution du logarithme du rapport $[AA]_t/[AA]_0$ pour $[AA]_i = 150$ mg/L à (A) pH = 2,5, (B) pH = 3,5, (C) pH = 4,5 et (D) pH = 5,5 en fonction du temps à (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (●) 125 °C.....	161
Figure V - 10 : Variation des résidus pour $[AA]_i = 150$ mg/L à (A) pH = 2,5, (B) pH = 3,5, (C) pH = 4,5 et (D) pH = 5,5 en fonction du temps à (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (●) 125 °C.....	162
Figure V - 11 : Variation du logarithme de la constante de vitesse en fonction du rapport $1/(RT)$ pour les pH de 2,5 et 3,5 aux 4 températures étudiées (95, 105, 115 et 125 °C) avec le modèle d'Arrhenius.....	163
Figure V - 12 : Variation du logarithme de la constante de vitesse en fonction du rapport $1/(RT)$ pour les pH de 2,5 et 3,5 aux 4 températures étudiées (95, 105, 115 et 125 °C) avec le modèle d'Eyring...	164
Figure V - 13 : Variation du logarithme de la constante de vitesse en fonction du rapport $1/(RT)$ pour un pH de 4,5 aux 4 températures étudiées (95, 105, 115 et 125 °C)	166

Figure V - 14 : Courbes représentant la formation du furfural en fonction du temps en conditions d'anaérobiose stricte à 95, 100, 105, 110, 115, 120 et 125 °C, avec une concentration initiale en acide ascorbique de (A) 150 mg/L, (B) 300 mg/L, (C) 450 mg/L, (D) 600 mg/L et (E) 900 mg/L ; (◆) 95 °C pour A, C, E et 100 °C pour B, D ; (■) 105 °C pour A, C, E et 110 °C pour B,D ; (▲) 115 °C pour A, C, E et 120 °C pour B,D ; (●) 125 °C avec en lignes discontinues les courbes de perte de l'AA correspondantes ; la ligne en pointillés noirs représente la limite de quantification du furfural.....167

Figure V - 15 : Courbes représentant la formation du furfural en fonction du temps en conditions d'anaérobiose stricte avec une concentration initiale en acide de 150 mg/L à 95, 105, 115, et 125 °C à (A) pH = 2,5 et (B) pH = 3,5; (◆) 95 °C pour A, C, E et 100 °C pour B, D ; (■) 105 °C pour A, C, E et 110 °C pour B,D ; (▲) 115 °C pour A, C, E et 120 °C pour B,D ; (●) 125 °C avec en lignes discontinues les courbes de perte de l'AA correspondantes ; la ligne en pointillés noirs représente la limite de quantification du furfural.....168

Figure V - 16 : Évolution de la concentration d'acide ascorbique avec une concentration initiale de (A) 150 mg/L, (B) 450 mg/L et (C) 900 mg/L en fonction du temps à (◆) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (●) 125 °C avec une pression partielle d'oxygène dans l'espace de tête de 3.10^4 Pa ; la ligne en pointillés noirs représente la limite de quantification de l'acide ascorbique ; les traits rouges représentent le modèle ajusté aux données.....169

Figure V - 17 : Variation des résidus au cours du temps pour (A) $[AA]_i = 150$ mg/L, (B) $[AA]_i = 450$ mg/L et (C) $[AA]_i = 900$ mg/L en fonction du temps à (◆) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (●) 125 °C à $p(O_2) = 3.10^4$ Pa.....170

Figure V - 18 : Évolution de la concentration d'acide ascorbique avec une concentration initiale de (A) 150 mg/L, (B) 450 mg/L et (C) 900 mg/L en fonction du temps à (◆) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (●) 125 °C avec une pression partielle d'oxygène dans l'espace de tête de $6,3.10^4$ Pa ; la ligne en pointillés noirs représente la limite de quantification de l'acide ascorbique ; les traits rouges représentent le modèle ajusté aux données.....171

Figure V - 19 : Variation des résidus au cours du temps pour (A) $[AA]_i = 150$ mg/L, (B) $[AA]_i = 450$ mg/L et (C) $[AA]_i = 900$ mg/L en fonction du temps à (◆) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (●) 125 °C à $p(O_2) = 6,3.10^4$ Pa.....173

Figure V - 20 : Évolution de la concentration d'acide ascorbique avec une concentration initiale de 900 mg/L en fonction du temps à (◆) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (●) 125 °C avec une pression partielle d'oxygène dans l'espace de tête de 1.10^5 Pa ; la ligne en pointillés noirs représente la limite de quantification de l'acide ascorbique ; les traits rouges représentent le modèle ajusté aux données.....174

Figure V - 21 : Variation des résidus au cours du temps pour $[AA]_i = 900$ mg/L en fonction du temps à (◆) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (●) 125 °C à $p(O_2) = 1.10^5$ Pa.....175

Figure V - 22 : Évolution de la concentration d'acide ascorbique avec une concentration initiale de 900 mg/L en fonction du temps à (A) 95 °C, (B) 105 °C, (C) 115 °C et (D) 125 °C avec une pression partielle d'oxygène de (♦) 100 kPa, (■) 63 kPa, (▲) 30 kPa (●) 0 Pa (anaérobie stricte).....	176
Figure V - 23 : Solubilité de l'oxygène en fonction de la température selon les modèles de Winkler (1888) et Tromans (1998)	179
Figure V - 24 : Variation du k_{app} en fonction du temps pour (A) $[AA]_i = 150$ mg/L, $p(O_2) = 63$ kPa, (B) $[AA]_i = 450$ mg/L, $p(O_2) = 63$ kPa, (C) $[AA]_i = 900$ mg/L, $p(O_2) = 63$ kPa et (D) $[AA]_i = 900$ mg/L, $p(O_2) = 100$ kPa à (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (●) 125 °C.....	183
Figure V - 25 : Variation de la concentration en O ₂ et en AA en fonction du temps à 65 °C dans un tampon McIlvaine à pH = 3,5, une pression d'air de 20 kPa et une concentration initiale en AA de 150 mg/L, avec (●) la concentration en AA et (●) la concentration en O ₂	184
Figure V - 26 : Variation de la concentration en O ₂ théorique en fonction du temps pour (A) $[AA]_i = 150$ mg/L, $p(O_2) = 63$ kPa, (B) $[AA]_i = 450$ mg/L, $p(O_2) = 63$ kPa, (C) $[AA]_i = 900$ mg/L, $p(O_2) = 63$ kPa et (D) $[AA]_i = 900$ mg/L, $p(O_2) = 100$ kPa à (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (●) 125 °C.....	185
Figure V - 27 : Courbes représentant la formation/disparition du 3-hydroxy-2-pyrone en fonction du temps pour $[AA]_i = 900$ mg/L à (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (●) 125 °C, à une pression partielle en oxygène de (A) 30 kPa, (B) 63 kPa et (C) 100 kPa avec en lignes discontinues les courbes de perte de l'AA correspondantes ; la ligne en pointillés noirs représente la limite de quantification du 3-hydroxy-2-pyrone.....	186
Figure V - 28 : Courbes représentant la formation/disparition du 3-hydroxy-2-pyrone en fonction du temps pour $[AA]_i = 450$ mg/L à (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (●) 125 °C, à une pression partielle en oxygène de (A) 30 kPa et (B) 63 kPa avec en lignes discontinues les courbes de perte de l'AA correspondantes ; la ligne en pointillés noirs représente la limite de quantification du 3-hydroxy-2-pyrone.....	186
Figure V - 29 : Courbes représentant la formation/disparition du 3-hydroxy-2-pyrone en fonction du temps pour $[AA]_i = 150$ mg/L à (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (●) 125 °C, à une pression partielle en oxygène de (A) 30 kPa et (B) 63 kPa avec en lignes discontinues les courbes de perte de l'AA correspondantes ; la ligne en pointillés noirs représente la limite de quantification du 3-hydroxy-2-pyrone.....	187

Figure V - 30 : Courbes représentant la formation/disparition de l'acide furoïque en fonction du temps pour $[AA]_i = 900 \text{ mg/L}$ à (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (●) 125 °C, à une pression partielle en oxygène de (A) 30 kPa, (B) 63 kPa et (C) 100 kPa avec en lignes discontinues les courbes de perte de l'AA correspondantes ; la ligne en pointillés noirs représente la limite de quantification de l'acide furoïque.....188

Figure V - 31 : Courbes représentant la formation/disparition de l'acide furoïque en fonction du temps pour $[AA]_i = 450 \text{ mg/L}$ à (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (●) 125 °C, à une pression partielle en oxygène de (A) 30 kPa et (B) 63 kPa avec en lignes discontinues les courbes de perte de l'AA correspondantes ; la ligne en pointillés noirs représente la limite de quantification de l'acide furoïque.....188

Figure V - 32 : Courbes représentant la formation/disparition de l'acide furoïque en fonction du temps pour $[AA]_i = 150 \text{ mg/L}$ à (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (●) 125 °C, à une pression partielle en oxygène de (A) 30 kPa et (B) 63 kPa avec en lignes discontinues les courbes de perte de l'AA correspondantes ; la ligne en pointillés noirs représente la limite de quantification de l'acide furoïque.....189

Figure V - 33 : Courbes représentant la formation du furfural en fonction du temps à $p(O_2) = 30 \text{ kPa}$ à (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (●) 125 °C, avec une concentration initiale en acide ascorbique de (A) 450 mg/L et (B) 900 mg/L avec en lignes discontinues les courbes de perte de l'AA correspondantes ; la ligne en pointillés noirs représente la limite de quantification du furfural.....190

Figure V - 34 : Courbes représentant la formation du furfural en fonction du temps à $p(O_2) = 63 \text{ kPa}$ à (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (●) 125 °C, avec une concentration initiale en acide ascorbique de 900 mg/L avec en lignes discontinues les courbes de perte de l'AA correspondantes ; la ligne en pointillés noirs représente la limite de quantification du furfural.....190

Figure V - 35 : Évolution de la concentration d'acide ascorbique avec une concentration initiale de 900 mg/L en fonction du temps en conditions anaérobies strictes à $\text{pH} = 3,5$ dans le cadre du projet (A) *OPTIFEL* et (B) *PREDINUT* à (▲) 45°C, (▲) 65 °C, (▲) 85 °C, (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (x) 125 °C191

Figure V - 36 : Évolution de la concentration d'acide ascorbique avec une concentration initiale de 900 mg/L en fonction du temps en conditions aérobies à $\text{pH} = 3,5$ dans le cadre du projet (A) *OPTIFEL*, $p(O_2) = 42 \text{ kPa}$ et (B) *PREDINUT*, $p(O_2) = 63 \text{ kPa}$, à (▲) 45°C, (▲) 65 °C, (▲) 85 °C, (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (x) 125 °C (la ligne en pointillés noirs représente la limite de quantification de l'AA)191

Chapitre VI : Etude de la dégradation de l'acide ascorbique en matrice alimentaire

Figure VI - 1 : Distribution de la taille des particules dans la purée de pomme classique (en rouge) et dans la purée de pomme passée à l'homogénéisateur haute pression (en vert)198

Figure VI - 2 : Evolution de la concentration (normalisée) en acide ascorbique avec $[AA]_i = 450$ mg/kg en fonction du temps à (x) 85 °C, (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (x) 125 °C pour la purée de pomme...	199
Figure VI - 3 : Evolution de la concentration (normalisée) en acide ascorbique avec $[AA]_i = 450$ mg/kg en fonction du temps à 95 °C en conditions (♦) aérobies et (■) anaérobies partielles et à 125 °C en conditions (▲) aérobies et (x) anaérobies partielles pour la purée de pomme.....	201
Figure VI - 4 : Comparaison de la dégradation de l'acide ascorbique en conditions aérobies et anaérobies à deux granulométries différentes, avec (A) sous air, $p(O_2) = 63$ kPa, classique, (B) sous azote, $p(O_2) = 0$ Pa, classique, désaérée, (C) sous air, $p(O_2) = 63$ kPa, particules fines et (D) sous azote, $p(O_2) = 0$ bar, particules fines, désaérée, à (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (x) 125 °C dans la purée de pomme.....	202
Figure VI - 5 : Evolution de la concentration (normalisée) en acide ascorbique avec $[AA]_i = 450$ mg/kg en fonction du temps en conditions (A) aérobies et (B) anaérobies partielles à (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (●) 125 °C pour la purée de pomme ; les traits rouges représentent le modèle ajusté aux données.....	203
Figure VI - 6 : Evolution de la concentration (normalisée) en acide ascorbique avec $[AA]_i = 450$ mg/kg en fonction du temps à (x) 85 °C, (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (x) 125 °C pour la purée de carotte...	205
Figure VI - 7 : Evolution de la concentration (normalisée) en acide ascorbique avec $[AA]_i = 450$ mg/kg en fonction du temps à 95 °C en conditions (♦) aérobies et (■) anaérobies partielles et à 125 °C en conditions (▲) aérobies et (x) anaérobies partielles pour la purée de carotte.....	206
Figure VI - 8 : Evolution de la concentration (normalisée) en acide ascorbique avec $[AA]_i = 450$ mg/kg en fonction du temps en conditions anaérobies partielles à (♦) 95 °C et (●) 125 °C pour la purée de carotte ; les traits rouges représentent le modèle ajusté aux données.....	207
Figure VI - 9 : Evolution de la concentration (normalisée) en acide ascorbique avec $[AA]_i = 450$ mg/kg en fonction du temps à (x) 85 °C, (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (x) 125 °C pour le jus de carotte.....	208
Figure VI - 10 : Evolution de la concentration (normalisée) en acide ascorbique avec $[AA]_i = 450$ mg/kg en fonction du temps à 95 °C en conditions (♦) aérobies et (■) anaérobies partielles et à 125 °C en conditions (▲) aérobies et (x) anaérobies partielles jus de carotte.....	209
Figure VI - 11 : Evolution de la concentration en O_2 (axe de gauche) et en acide ascorbique (axe de droite) au cours du temps pour du jus de carotte avec un traitement thermique à 65 °C	211

Chapitre VII : Approche couplée bénéfique/risque

Figure VII - 1 : Image de l'interface excel du modèle de prédiction.....	219
--	-----

Figure VII - 2 : Image de l'interface excel du modèle de prédiction en mode « détermination de paramètres optimaux » pour un système produit/procédé.....	220
---	-----

Annexes

Figure A - 1 : Exemple de chromatogramme de l'acide ascorbique à 125 °C acquis à 245 nm en conditions aérobies.....	293
---	-----

Figure A - 2 : Exemple de chromatogramme du 3-hydroxy-2-pyrone (pics de gauche) et du furfural (pics de droite) à 125 °C acquis à 295 nm en conditions aérobies.....	293
--	-----

Figure A - 3 : Exemple de chromatogramme de l'acide furoïque à 125 °C acquis à 253 nm en conditions aérobies.....	294
---	-----

Figure A - 4 : Rhéogrammes de la purée de pomme brute et de la purée de pomme diluée au demi.....	296
---	-----

Figure A - 5 : Rhéogrammes de la purée de carotte brute et de la purée de carotte diluée au tiers.....	296
--	-----

Figure A - 6 : Rhéogramme du jus de carotte.....	296
--	-----

Liste des tableaux

Chapitre II : Etat de l'art

Tableau II - 1 : Répartition de la production d'aliments conservés en 1000 tonnes net (http://www.adepale.org/fichiers/20170116162010_Chiffres_cle%CC%81s_2016.pdf).....	35
Tableau II - 2 : Répartition du chiffre d'affaires selon l'aliment considéré (http://www.adepale.org/fichiers/20170116162010_Chiffres_cle%CC%81s_2016.pdf).....	36
Tableau II - 3 : Influence du pH sur la thermorésistance (exemple de <i>Clostridium sporogenes</i>).....	43
Tableau II - 4 : Ordre de grandeur des valeurs D et z pour différents types de bactéries sporulées.....	51
Tableau II - 5 : Teneur en vitamine C de différents produits alimentaires d'après les données Ciqual (ANSES, 2017) (https://pro.anses.fr/TableCIQUAL/index.htm)	56
Tableau II - 6 : Liste des composés identifiés par Nemeliä (1987) au cours de la dégradation de l'acide ascorbique en milieux alcalin.....	71
Tableau II - 7 : Valeur des constantes de cinétique de la réaction de dégradation de l'acide ascorbique dans diverses matrices végétales.....	88

Chapitre IV : Matériels et méthodes

Tableau IV - 1 : Pentés moyennes des droites d'étalonnage des composés de dégradation de l'acide ascorbique avec les LOQ et LOD.....	135
Tableau IV - 2 : Matrice d'expérience pour les études de dégradation de l'acide ascorbique.....	136
Tableau III - 3 : Conditions (gaz et pression imposée) pour obtenir les différentes pressions partielles d'oxygène étudiées.....	137
Tableau IV - 4 : Temps de prélèvement en fonction de la concentration initiale étudiée.....	139
Tableau IV - 5 : Caractéristiques des modules de la HPLC Agilent 1260.....	140
Tableau IV - 6 : Descriptif du mode gradient utilisé en solution modèle.....	141

Chapitre V : Etude de la dégradation de l'acide ascorbique en solution synthétique

Tableau V - 1 : Constantes de vitesse de dégradation de l'acide ascorbique en milieu inerte en utilisant une cinétique d'ordre 1 et temps de réduction décimale en fonction de la température pour chaque concentration initiale étudiée.....	154
Tableau V - 2 : Valeurs des paramètres déterminés suivant différents modèles.....	159
Tableau V - 3 : Constantes de vitesse de dégradation de l'acide ascorbique d'ordre 1 et temps de réduction décimale en fonction de la température pour chaque pH étudiée.....	162

Tableau V - 4 : Valeurs des paramètres déterminés suivant différents modèles pour un pH de 2,5.....	165
Tableau V - 5 : Constantes de vitesse de dégradation de l'acide ascorbique d'ordre 0,5 en fonction de la température pour chaque un pH de 4,5.....	165
Tableau V - 6 : Constantes de vitesse de dégradation de l'acide ascorbique d'ordre apparent 0,75 en fonction de la température pour chaque concentration initiale étudiée à $p(O_2) = 3.10^4$ Pa.....	170
Tableau V - 7 : Constantes de vitesse de dégradation de l'acide ascorbique d'ordre apparent 0,5 en fonction de la température pour chaque concentration initiale étudiée à une $p(O_2) = 6,3.10^4$ Pa.....	172
Tableau V - 8 : Constantes de vitesse de dégradation de l'acide ascorbique d'ordre apparent 0,5 en fonction de la température pour une concentration initiale de 900 mg/L à $p(O_2) = 1.10^5$ Pa.....	174
Tableau V - 9 : Temps de demi-vie de l'acide ascorbique en fonction de la pression partielle d'oxygène et de la température.....	177
Tableau V - 10 : Concentrations saturantes en oxygène en mg/L en fonction de la température et de la pression partielle en oxygène, d'après le modèle de Tromans (1998)	180
Tableau V - 11 : Valeurs moyennes des constantes de vitesse de la réaction de dégradation de l'AA par voie hydrolytique en fonction de la température.....	181
Tableau V - 12 : Valeurs des k_{ox} en fonction de la température et de la pression partielle d'oxygène.....	182

Chapitre VI : Etude de la dégradation de l'acide ascorbique en matrice alimentaire

Tableau VI - 1 : Caractéristiques physico-chimiques des matrices alimentaires brutes et diluées.....	197
Tableau VI - 2 : Valeur des paramètres k_a et C_∞ en fonction de la température et des conditions.....	204
Tableau VI - 3 : Valeur des paramètres k_a et C_∞ en fonction de la température en conditions anaérobies partielles.....	207
Tableau VI - 4 : Mesures de la concentration en O_2 dissous dans les différentes matrices avant et après traitement thermique à 95 et 125 °C et enrichissement en acide ascorbique avec $[AA]_i = 450$ mg/kg.....	210

Chapitre VII : Approche couplée bénéfique/risque

Tableau VII - 1 : Paramètres utilisés pour le modèle de prédiction pour chaque entité.....	218
--	-----

Annexes

Tableau A - 1 : Temps de rétention de l'acide ascorbique et de ses produits de dégradation.....	294
Tableau A - 2 : Données expérimentales des solutions de départ.....	295
Tableau A - 3 : Pentas des droites d'étalonnage obtenues en fonction des volumes d'injection sur la HPLC 1260.....	295
Tableau A - 4 : Pentas des droites d'étalonnage obtenues en fonction des volumes d'injection sur la HPLC 1200.....	295

Liste des abréviations

2-FA	Acide furoïque
2-KA	Acide 2-cétogluconique
3-HF	3-hydroxyfurfural
3-KA	Acide 3-cétogluconique
3-OH-2-P	3-hydroxy-2-pyrone
AA	Acide ascorbique
ADEPALE	Association Des Entreprises de Produits Alimentaires Elaborés
AED	Acoustic Energy Density
ANRT	Association Nationale de la Recherche et de la Technologie
ANSES	Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation
API	Automate Programmable Industriel
<i>B. coagulans</i>	<i>Bacillus coagulans</i>
CEPIA	Caractérisation et Elaboration des Produits Issus de l'Agriculture
CIFRE	Convention Industrielle de Formation par la Recherche
CIRC	Centre International de Recherche sur le Cancer
CTCPA	Centre Technique de la Conservation des Produits Agricoles
CTI	Centre Technique Industriel
DAD	Diode Array Detector
DGAL	Direction Générale de l'Alimentation
DGPE	Direction Générale de la Performance Economique
DHAA	Acide déhydroascorbique
DKGA	Acide 2,3-dicétogluconique
DRT	Decimal Reduction Time
<i>Gbs</i>	<i>Geobacillus stearothermophilus</i>
GBPH	Guide de Bonnes Pratiques d'Hygiène
FIAC	Fédération des Industries d'Aliments Conservés
HACCP	Hazard Analysis Critical Control Point
HHP	High Hydrostatic Pressure Processing
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
INRA	Institut National de la Recherche Agronomique
ITAI	Institut Technique Agro-Alimentaire
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
MDHA	Monodéhydroascorbate
MICA	Microbiologie de la Chaîne Alimentaire
<i>Moo t/t</i>	<i>Moorella thermoacetical/thermoautotrophica</i>
PEF	Pulsed Electric Field
PID	Proportional Integral Derivative
PLC	Programmable Logic Controller
PPO	Polyphénol oxydase
PTFE	Polytétrafluoroéthylène
Qualiveg	Qualités Nutritionnelle et Microbiologique des Produits Végétaux Transformés
ROS	Reactive Oxygen Species
SQPOV	Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale
UMR	Unité Mixte de Recherche
UMT	Unité Mixte Technologique
UV	Ultra-Violet
VP	Valeur Pasteurisatrice
VS	Valeur Stérilisatrice

Liste des sigles

[3H2P]	Concentration en 3-hydroxy-2-pyrone
[A]	Concentration en produit A
[AA]	Concentration en acide ascorbique
[AF]	Concentration en acide furoïque
[B]	Concentration en produit B
[F]	Concentration en furfural
α	Paramètre d'échelle
β	Paramètre de forme du modèle de Mafart
γ	Gradient de vitesse de cisaillement
δ	Temps de première réduction décimale
$\Delta G^\#$	Enthalpie libre d'activation
$\Delta H^\#$	Enthalpie d'activation
$\Delta S^\#$	Entropie d'activation
η	Viscosité dynamique
A	Facteur pré-exponentiel
a_w	Activité de l'eau
C_∞	Concentration finale après un long temps de traitement
C_0	Concentration initiale
C_t	Concentration à l'instant t
D	Temps de réduction décimale
D^*	Temps de réduction décimale de référence
E_a	Energie d'activation
h	Constante de Planck
k	Constante de cinétique
k_a	Constante de cinétique par voie aérobie dans le modèle fractionnel
k_{anox}	Constante de cinétique par voie anaérobie
k_{app}	Constante de cinétique apparente
k_B	Constante de Boltzmann
k_{ox}	Constante de cinétique par voie aérobie
n	Ordre réactionnel
N_0	Concentration en spores bactérienne initiale
N_t	Concentration en spores bactérienne à l'instant t
S_t	Ratio de survie à l'instant t
t	Temps
T	Température
T^*	Température de référence
z_{pH}	Facteur de réduction décimale en pH
z_T	Facteur de réduction décimale en température

Chapitre 1 : Introduction Générale

Chapitre I : Introduction générale

1 Contexte industriel et enjeux du projet PREDINUT

Le développement et la stabilisation de produits alimentaires complexes aux propriétés nutritionnelles et organoleptiques préservées nécessitent la mise en place de stratégies permettant de maîtriser la dégradation des composés d'intérêt parfois fragiles thermiquement, tout en garantissant la sécurité microbiologique. La qualité nutritionnelle finale d'un aliment résulte très souvent de réactions chimiques initiées par les traitements technologiques, telles que la réaction de Maillard ou d'autres réactions de brunissement.

Or, il n'existe pas d'outil simple d'aide à la décision pour élaborer des processus thermiques tenant compte à la fois des aspects sécurité et qualités nutritionnelles des produits.

La vitamine C, composé hydrosoluble et thermolabile, est un des principaux marqueurs de la qualité nutritionnelle des produits végétaux transformés, de par ses bienfaits sur la santé et sa sensibilité physico-chimique. Sa dégradation au cours des étapes thermiques engendre une perte de la qualité nutritionnelle, il est donc important de pouvoir comprendre les mécanismes de dégradations mis en jeu.

Ce projet a fait l'objet d'une thèse CIFRE en partenariat entre le CTCPA et l'INRA (UMR408 SQPOV), avec le soutien de l'ANRT et FranceAgrimer.

2 Objectifs

La vitamine C est très sensible à toute modification des conditions physico-chimiques du milieu dans laquelle elle se trouve. Parmi les facteurs influençant sa dégradation, sont bien identifiés la température, le pH, la présence d'ions métalliques, l'oxygène ou encore la lumière. Dans le cadre du projet PREDINUT, nous allons étudier l'influence des principaux paramètres caractérisant le procédé et le produit tels que la température, l'oxygène et le pH.

De nombreux travaux traitant de la dégradation de la vitamine C ont été menés, mais majoritairement à des températures inférieures à 100 °C. Le mécanisme de dégradation est donc peu connu pour des traitements thermiques supérieurs à 100 °C, surtout en raison des difficultés expérimentales générées par un indispensable travail sous pression, en solution aqueuse.

L'objectif de ce projet est donc de comprendre le comportement physico-chimique de cette vitamine au cours des processus d'appertisation grâce à l'utilisation d'un nouvel outil, le **thermorésistomètre Mastia**[®]. Cet outil de laboratoire permet de réaliser des études à des températures supérieures à 100 °C, c'est-à-dire dans les conditions de l'appertisation.

L'essentiel du travail consistera à exploiter des données de cinétiques thermiques obtenues, dans différentes conditions, dans ce dispositif expérimental innovant et maîtrisé. Ainsi pourront être établies des constantes réactionnelles (modèles stœchiocinétiques) permettant d'établir la stabilité des vitamines au cours des procédés dans un domaine large d'application industrielle (température, temps, oxygène, pH, ...).

En parallèle, le CTCPA possède de très nombreuses données de thermorésistance de bactéries sporulées. A ce titre, une approche couplée bénéfique/risque pourra être envisagée en exploitant concomitamment les données de microbiologie ainsi que les données obtenues au cours des études chimiques, et donc envisager l'optimisation de procédés thermiques en tenant compte de ces deux aspects.

3 Programme de recherche

Au cours de ce projet de thèse, les études réalisées ont permis de valider le potentiel du thermorésistomètre mais aussi de déterminer ses limites (viscosité maximum de la matrice, pression limite, etc...) puis d'élaborer des modèles de prédiction pour la dégradation de l'acide ascorbique au cours des processus d'appertisation. Un protocole d'utilisation du thermorésistomètre a donc été établi pour mener à bien des études sur matrice alimentaire à des températures supérieures à 100 °C.

Grâce à cet appareil, nous avons pu étudier le comportement de l'acide ascorbique en solution modèle et en matrice alimentaire à des températures d'appertisation. La validation du potentiel du thermorésistomètre à pouvoir utiliser différents gaz en guise d'espace de tête à différentes pressions nous a permis de pouvoir moduler la pression partielle en oxygène, mais également de réaliser des études en anaérobiose stricte. La dégradation de l'acide ascorbique a pu être modélisée en solution modèle selon deux approches, phénoménologique et descriptive. La modélisation en matrice réelle est en revanche apparue plus complexe.

Des études cinétiques de dégradations de l'acide ascorbique ont été établies dans des solutions modèles, principalement à un pH de 3,5, qui correspond à la valeur de pH d'une grande partie des produits alimentaires concernés : purées de fruits, produits à base de tomates, etc. Ces résultats ont été confrontés avec des données sur la destruction de microorganismes disponibles au CTCPA. Les produits issus de la dégradation de l'acide ascorbique ont également été analysés et quantifiés afin de déterminer les mécanismes mis en jeu au cours de la décomposition de l'acide ascorbique. Des études ont ensuite été menées sur des produits alimentaires, tels que des purées de fruits ou de légumes. Les résultats obtenus dans ce type de matrices alimentaires ont été comparés aux résultats obtenus en solution « modèles ».

Une modélisation couplée bénéfique/risque a été élaborée afin simuler différents scénarii de conditions d'appertisation dans le but d'optimiser le système produit/procédé.

Ce travail a également fait l'objet de rédactions d'articles et de communications orales et posters (cf. chapitre : Valorisation et transfert).

Ce projet de thèse a été réalisé dans le cadre d'une convention CIFRE (Convention Industrielle de Formation par la Recherche), financé par l'ANRT (Association Nationale de la Recherche et de la Technologie), entre le CTCPA (Centre Technique de la Conservation des Produits Agricoles) et l'Unité Mixte de Recherche (UMR) 408 « Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale (SQPOV) » à l'INRA d'Avignon (domaine Saint Paul).

4 Le CTCPA

4.1 Présentation générale

Le CTCPA (Centre Technique de la Conservation des Produits Agricoles) est un Centre Technique Industriel (CTI) qualifié Institut technique agro-industriel par le Ministère de l'agriculture. Il est membre de l'Actia et du réseau CTI. Le Centre est reconnu par la Direction Générale de l'Alimentation comme centre professionnel de référence pour l'établissement et la validation des barèmes de traitements thermiques. Le CTCPA a été créé par arrêté du 11 octobre 1950, dans le cadre de la loi n°48-1228 du 22 juillet 1948 fixant le statut juridique des Centres techniques industriels, afin de favoriser l'innovation chez les professionnels du secteur de la conserve et du déshydraté. Il bénéficie depuis le 1er janvier 2004 d'une taxe fiscale affectée (Loi de finances rectificative pour 2003, n° 2003-13 12 du 30 décembre 2003 – article 72) due par les ressortissants, fabricants établis en France, de produits alimentaires conservés et déshydratés. La liste des produits et des procédés de conservation soumis à la taxe fiscale affectée du CTCPA est fixée par l'arrêté du 10 mai 2004. Il s'agit des produits d'origine végétale ou animale transformés par les techniques d'appertisation ou de déshydratation. Régi par le code de la recherche (articles L.342-1 à L.342-13), le CTCPA est, en sa qualité de Centre technique industriel (CTI), un établissement d'utilité publique en charge de missions d'intérêt général. Un commissaire du gouvernement, du ministère de l'agriculture, et un contrôleur général, de la mission de contrôle économique et financier de l'Etat suivent et contrôlent ses activités.

Le CTCPA, en tant que centre technique industriel, est administré par un conseil d'administration qui délègue, à un directeur général nommé par lui, tous les pouvoirs nécessaires à la direction du centre, cette nomination devant être approuvée par le Ministère de l'Agriculture. Le conseil d'administration comprend : a) des représentants des chefs d'entreprise ; b) des représentants du personnel technique de la branche d'activité intéressée ; c) des représentants de l'enseignement technique supérieur ; des personnalités particulièrement compétentes soit au titre de l'industrie intéressée, soit au titre des usagers. Les administrateurs sont nommés pour trois ans par arrêté du Ministère. Le Conseil d'administration prend les décisions et les orientations relatives au fonctionnement du centre technique et à ses missions. Ce conseil est investi des pouvoirs généraux d'administration du centre.

4.2 Missions du CTCPA

Premier centre technique agroalimentaire français, le CTCPA a pour vocation de réaliser des recherches et des études techniques en vue d'apporter des solutions ou d'améliorer l'activité des industries agroalimentaires de la filière des produits appertisés. Il intervient également dans de nombreux programmes de recherches au niveau national et européen. Son siège social est situé à Paris, mais grâce à son implantation régionale (figure I – 1), ce centre apporte un service de proximité et des compétences aux industries agroalimentaires avec lesquelles il est lié, soit environ un millier d'entreprises françaises.



Figure I – 1 : Répartition des centres du CTCPA à l'échelle nationale

Pour fournir aux professionnels de l'agroalimentaire une réponse complète adaptée à leurs contraintes et à leurs activités, le CTCPA a mis en place plusieurs services spécialisés dans les procédés alimentaires, la microbiologie et la biologie moléculaire, l'emballage, la sécurité alimentaire, la qualité nutritionnelle ainsi que le développement durable.

Le CTCPA compte 87 salariés. En 2015, son chiffre d'affaire était de 7,7 millions d'euros. Le budget de la recherche collective pour les filières produits en conserves et déshydratés était de 1,7 millions d'euros.

4.3 Le CTCPA d'Avignon

Le centre CTCPA de la région Provence-Alpes-Côte d'Azur est implanté dans la zone d'activité Agroparc d'Avignon. Les services qui y sont implantés couvrent les activités suivantes :

- Procédés alimentaires : L'objectif de ce service est de développer de nouveaux procédés de traitements thermiques adaptés aux matrices alimentaires et applicables dans les industries agroalimentaires, ce qui est une des activités principales du CTCPA. Il permet de tester les procédés de traitement thermique. Des produits ont été mis au point grâce à des procédés innovants tels que le chauffage ohmique, le chauffage par microondes, la désinfection par la lumière pulsée, ce qui permet de positionner ce centre comme un acteur majeur dans le développement de ces nouvelles technologies. Pour réaliser ces tâches, le CTCPA d'Avignon dispose d'une Halle Technologique.
- Microbiologie et biologie moléculaire : son laboratoire travaille sur la diversité des souches responsables des altérations des conserves afin de définir les traitements thermiques et les actions

correctives permettant de maîtriser les risques microbiologiques. Chaque année une quinzaine de projets sont mis en place avec les industriels. Toutes les souches microbiennes prélevées sur les lignes industrielles, des produits altérés ou leurs environnements sont conservées à -80 °C dans une souchothèque pour des études ultérieures. Ce laboratoire collabore avec l'UMR SQPOV dans le cadre des projets portant sur les bactéries sporulées.

- **Qualité nutritionnelle des produits transformés** : ce service s'intéresse particulièrement à la variation de la teneur en certains micronutriments (polyphénols, vitamines, caroténoïdes, fibres,...) présents dans les fruits et les légumes. Le laboratoire « Qualité nutritionnelle des produits végétaux » d'Avignon est en partenariat avec l'INRA PACA pour mener des recherches sur les qualités nutritionnelle et microbiologique des produits végétaux transformés.
- **Documentation** : ce service, avec la Direction scientifique qui est également située à Avignon, assure à la fois la conservation des publications des travaux du CTCPA depuis sa création et une veille des travaux scientifique et techniques dans les domaines d'activité du centre. Cette veille et les différentes publications permettent aux entreprises de s'informer sur les recherches effectuées mais aussi sur le développement des nouvelles technologies, comme le chauffage ohmique.

5 L'UMR SQPOV

L'Unité Mixte de Recherche 408 « Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale » a comme tutelles l'INRA et l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse. Cette unité est rattachée aux départements Caractérisation et Elaboration des Produits Issus de l'Agriculture (CEPIA) et Microbiologie de la Chaîne Alimentaire (MICA).

L'UMR 408 SQPOV a pour objectif d'améliorer ou préserver les caractéristiques organoleptiques, hygiéniques et nutritionnelles des fruits et légumes frais ou transformés. L'UMR 408 SQPOV travaille à reconcevoir, dans une optique d'alimentation durable, les procédés de transformation des fruits et légumes, afin d'améliorer leur qualité nutritionnelle : les traitements de transformation sont calculés au plus juste de façon à respecter la sécurité microbiologique de ces produits, et visent une valorisation totale de la biomasse utilisée. Les travaux de recherche concernent l'ensemble de la filière : validation de la qualité avant récolte ; mise au point de technologies de conservation ou de transformation permettant de valoriser au mieux cette qualité ; intérêt en nutrition préventive et maîtrise du risque microbiologique associé au développement des produits réfrigérés prêts à l'emploi.

Pour répondre à ces objectifs, cette UMR réunit 4 équipes de recherche :

- **Micronutriments : Réactivité et Digestion**

Cette équipe étudie les propriétés anti-oxydantes des polyphénols, des caroténoïdes ainsi que de leurs métabolites ; les modes d'action en interaction avec des lipides, des protéines en micelles et des émulsions ;

elle développe des modèles imitant les conditions gastro-intestinales. Cette équipe produit et synthétise des caroténoïdes, des polyphénols et des produits de dégradation et étudie leurs activités biologiques.

- Qualité et Procédés

C'est au sein de de cette équipe que s'est déroulé ce projet de thèse. Cette équipe travaille sur l'élaboration de méthodes instrumentales pour mesurer les qualités du fruit, et sur le devenir des micronutriments des fruits et légumes au cours des transformations agro-alimentaires. Elle étudie en particulier le rôle des interactions moléculaires et la déstructuration des tissus sur l'extraction et disponibilité des polyphénols. Cette équipe utilise la spectroscopie infrarouge pour la caractérisation non destructive de la qualité du fruit. Un de ses objectifs est donc de comprendre l'impact des procédés agro-alimentaires sur le bénéfice nutritionnel des produits (présence et accessibilité des micronutriments) de façon à améliorer les méthodes de transformation et optimiser le couple matière première / procédé : c'est dans cette optique qu'a été construit ce projet de recherche doctorale.

- Bactéries sporulées dans la chaîne alimentaire

Cette équipe évalue les risques microbiologiques des aliments peu transformés d'origine végétale, et étudie l'impact de l'écologie et de la diversité des microbes pathogènes, le rôle de la réponse adaptative du microbe pathogène aux stress rencontrés dans la chaîne de traitement des denrées alimentaires et dans des conditions gastro-intestinales. Cette équipe travaille notamment à l'identification des risques microbiologiques pertinents pour acquérir les connaissances nécessaires pour modéliser et contrôler les risques liés aux procédés de transformation.

- Eco-extraction de produits naturels

Cette équipe travail sur le développement des techniques d'extraction respectueuses des molécules et de l'environnement.

L'UMR 408 SQPOV est une unité du pôle de recherche Production Horticole Intégrée du centre INRA PACA, membre de la Structure Fédérative de Recherche TERSYS et membre du Labex Agropolis.

De plus l'UMR 408 SQPOV était engagée dans un projet d'Unité Mixte Technologique « Qualiveg » avec le Centre Technique de la Conservation des Produits Agricoles (CTCPA). Ses laboratoires sont implantés sur l'Inra PACA.

6 L'Unité Mixte Technologique « Qualiveg »

Le Ministère de l'Agriculture a mis en place le dispositif des Unités Mixtes Technologiques afin de favoriser la montée en compétence des centres ACTIA et ACTA. Une UMT (Unité Mixte Technologique) consiste en une association entre un centre ACTIA ou ACTA, et un ou plusieurs laboratoires de recherche. Sa durée d'activité est de 5 ans. L'UMT « Qualiveg » est un partenariat entre le CTCPA et l'UMR SQPOV.

Le projet d'UMT « Qualités Nutritionnelle et Microbiologique des Produits Végétaux Transformés : QUALIVEG » associe, dans une démarche d'étude bénéfice – risque de la transformation des produits végétaux, les deux aspects que sont le devenir des microconstituants (vitamines et autres) et l'estimation du risque d'altération microbiologique (bactéries d'altération hautement thermophiles). Ces deux aspects seront associés dans des approches de modélisation pour contribuer à une évolution des procédés vers plus de qualité nutritionnelle et de durabilité. Centrée sur les traitements thermiques, cette UMT a pour but d'optimiser le rapport bénéfice nutritionnel/ risque microbiologique dans la fabrication des produits appertisés à base de fruits et légumes. Cette UMT a démarré fin juin 2011 pour 5 ans, et a pris fin en décembre 2016.

Le projet de l'UMT était construit autour de trois axes :

Axe 1 : Réactivité des microconstituants et interactions avec la matrice alimentaire au cours des procédés → Poursuite des travaux entrepris dans la précédente UMT sur la qualité nutritionnelle des fruits et légumes transformés. C'est notamment autour de cet axe que s'inscrit ce projet de recherche doctorale (projet PREDINUT), qui a débuté en mai 2014 pour une durée de 3 ans.

Axe 2 : Caractérisation de la contrainte microbiologique → Nouvel axe permettant de définir les différents paramètres contribuant à la stabilité de produits végétaux appertisés.

Axe 3 : Optimisation des procédés de fabrication sous contrainte et faisabilité → Nouvel axe visant à intégrer les données des axes 1 et 2 permettant d'identifier des solutions d'optimisation de la qualité nutritionnelle sous contrainte microbiologique, puis à réaliser une validation industrielle.

Chapitre 11 : Etat de l'art

Chapitre II : Etat de l'art

1 La boîte de conserve, ou l'art de conserver les aliments

1.1 Historique

Aujourd'hui, plus de 50 milliards de boîtes de conserves sont fabriquées et consommées chaque année dans le monde (Featherstone, 2012). Cette invention, ou cet art de conserver les aliments sur une échelle de temps allant jusqu'à plusieurs années, a vu le jour en 1795. Ce procédé fut inventé par Nicolas Appert, né le 17 novembre 1749 à Chalon-en-Campagne, qui était confiseur à Paris.

Au 18^e siècle, l'armée française était souvent en campagne, et une des préoccupations majeures du gouvernement était la perte conséquente de troupes due à des maladies telles que le scorbut et la malnutrition. Ces pertes étaient plus importantes que les pertes au combat. En 1795, le gouvernement proposa une récompense de 12000 francs (somme conséquente à cette époque) à quiconque trouverait une solution pour conserver sans risque de la nourriture sur du long terme. Cette offre retint l'attention de Nicolas Appert (figure II – 1). Il remarqua que le sirop de sucre qu'il utilisait pour ses confections pouvait se garder presque indéfiniment lorsqu'il était chauffé et stocké dans des bouteilles en verre bouchées. Il commença ensuite une série d'expériences en conservant d'autres types d'aliments après les avoir chauffés dans des bocaux fermés. Son invention fut évaluée en 1810, puis il fut informé qu'il pouvait revendiquer la récompense de 12000 francs promis par le gouvernement (Featherstone, 2012).

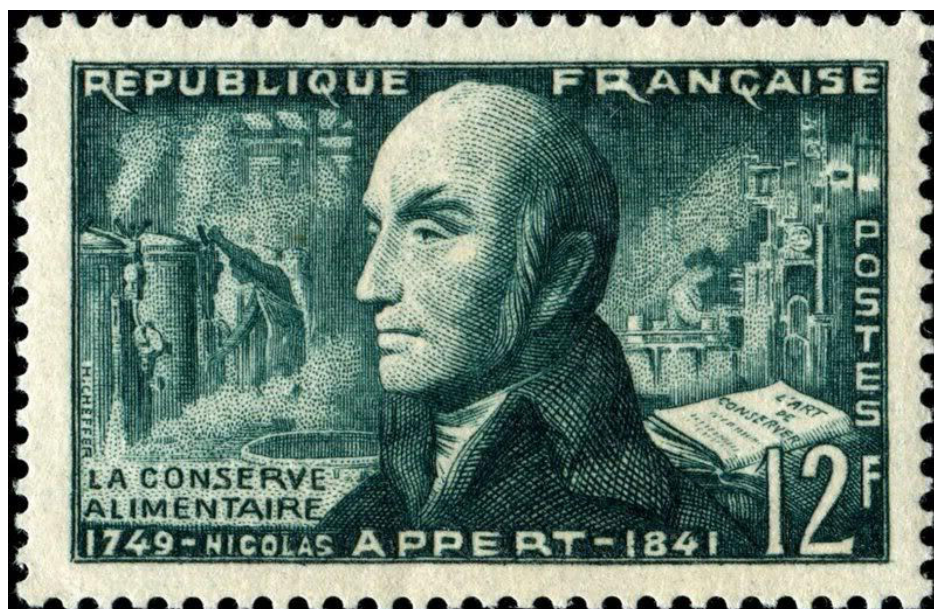


Figure II - 1 : Timbre-poste à l'effigie de Nicolas Appert imprimé en 1955 (www.philateliefra.ncaise.fr)

En 1862, Louis Pasteur (1822-1895) a démontré que la fermentation était provoquée par la croissance de microorganismes. Il montra que la croissance de microorganismes était responsable de l'altération des produits tels que la bière, le vin et le lait. Il inventa un processus dans lequel le lait était chauffé afin

d'éliminer la plupart des bactéries et moisissures déjà présentes. Ce processus a été rapidement connu sous le nom de « pasteurisation ».

Les premiers produits de Nicolas Appert furent conditionnés dans des emballages en verre. Peu après la publication de ses découvertes, Peter Durand, un commerçant britannique, breveta l'idée de conserver la nourriture en utilisant des boîtes de conserve. Les premières boîtes de conserves furent composées de fer, d'étain et de plomb. Elles étaient lourdes et solides. L'amélioration des boîtes de conserves est arrivée avec l'invention de l'acier qui les a fortement allégées tout en gardant leur solidité. C'est lorsque cet « acier plus fin » est arrivé que l'ouvre-boîte fut inventé. Avant cela, on pouvait lire ces instructions sur les boîtes de conserve : « Couper en rond le sommet à proximité du bord extérieur avec un marteau et un burin ». Initialement, la nourriture en boîte de conserve était destinée aux rations militaires (Featherstone, 2012).



Figure II - 2 : Photographie des premières boîtes de conserve inventées en 1810 (boîte à trou à gauche et boîte à bouchon à droite) (<http://www.azaquar.com>)

Généralement, les aliments en boîtes de conserve sont perçus comme ayant un pouvoir nutritif moindre que d'autres types d'aliment. En effet, ces aliments subiraient trop de transformations, ce qui engendrerait une dégradation de la qualité nutritionnelle. De nos jours, les processus de traitement sont moindres et plus efficaces, et contrairement aux croyances populaires, la nourriture en boîte de conserve peut être une partie saine de l'équilibre alimentaire (Featherstone, 2012).

1.2 Production des conserves alimentaires en France

Selon la FIAC (Fédération des Industries d'Aliments Conservés), membre de l'ADEPALE (Association Des Entreprises de Produits Alimentaires Elaborés), en 2015, le chiffre d'affaires de l'industrie de la conserve était de 5,4 milliards d'euros, pour production de 2 millions de tonnes. Les exportations représentent 1,2 milliard d'euros. La FIAC compte 135 entreprises adhérentes, qui emploient environ 35000 salariés permanents.

Le tableau II – 1 recense la répartition de la production d'aliments conservés en 1000 tonnes net.

Tableau II - 1 : Répartition de la production d'aliments conservés en 1000 tonnes net
http://www.ade pale.org/fichiers/20170116162010_Chiffres cle%CC%81s 2016.pdf

	Appertisé	Surgelé	Déshydraté/sec	Autres*
Légumes	357,6	380	20	—
Maïs doux	138,6	30	—	—
Fruits	30,4	nc ¹	3	535
Champignons sylvestres	2,7	7,5	0,5	—
Tomates	48,4	nc ¹	nc ¹	—
Poissons et anchois	60	nc ¹	nc ¹	0,3
Escargots	1,1	nc ¹	nc ¹	2,5
Plats cuisinés	352	nc ¹	nc ¹	—
Foie gras et spécialités	21,2	nc ¹	nc ¹	16,1
Total	1012	417,5	23,5	553,9

¹Données non collectées ; *Compotes, confitures et semi-conserves notamment

Les légumes occupent une grande partie de la production des conserves appertisées, les fruits quant à eux se retrouvent essentiellement sous forme de compotes, confitures et semi-conserves.

Le tableau II – 2 recense la répartition du chiffre d'affaires en fonctions des aliments.

Tableau II - 2 : Répartition du chiffre d'affaires selon l'aliment considéré
http://www.adepale.org/fichiers/20170116162010_Chiffres_cle%CC%81s_2016.pdf

	Chiffre d'affaires (millions d'€)	Export (millions d'€)
Légumes et maïs doux	1596*	639
Fruits	1383	396
Champignons sylvestres et truffes	80	40
Tomates	—	32,7
Poissons et anchois	821	87
Escargots	75	12
Plats cuisinés	801	nc ¹
Foie gras et spécialités	605	49
Total	5361	1255,7

¹Données non collectées ; *Estimations

Les légumes et les fruits conservés sont ce qui rapporte le plus en chiffre d'affaires dans le domaine de la conserverie alimentaire, avec une part tout à fait significative qui est exportée.

1.3 Procédé de fabrication : de l'aliment frais à la boîte de conserve

Une conserve est un produit dans lequel les aliments sont stables à température ambiante. La stabilité est obtenue par application d'un traitement thermique et l'utilisation d'un conditionnement étanche qui protège l'aliment de toute recontamination.

La fabrication artisanale ou industrielle de produits appertisés, ou conserves, est une opération qui semble simple au premier abord, mais qui requiert un savoir-faire très technique dans de nombreuses disciplines.

Le diagramme qui suit présente les étapes de fabrication d'une conserve de légumes, de la réception des matières premières au stockage des conserves à température ambiante (figure II – 3).

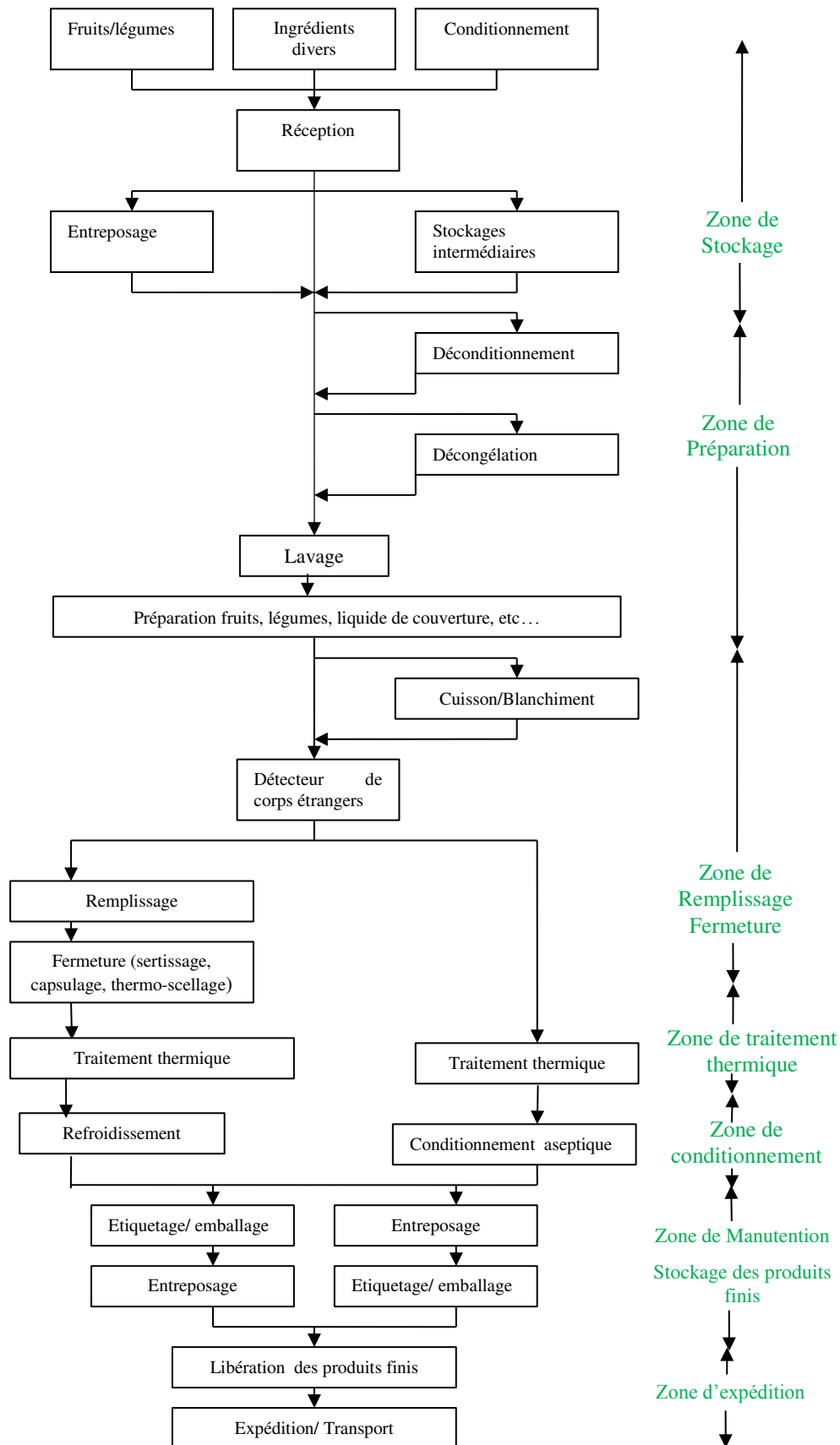


Figure II - 3 : Diagramme de production d'une boîte de conserve de légumes (source : GBPH Fruits et légumes en conserves appertisées - CTCPA – 2015)

Au cours de la production d'aliments en conserves il peut y avoir des contaminations biologiques, chimiques et physiques :

- Contaminations biologiques

Pour les légumes, les contaminations biologiques peuvent provenir directement des légumes frais, du fait de la présence de microorganismes pathogènes due à une contamination au niveau de l'exploitation agricole (matières fécales animales ou humaines, insectes ou moisissure) ; par prolifération de microorganismes pathogènes attribuable à des paramètres durée/température inadéquats chez le producteur ou durant le transport ; par contamination par des microorganismes pathogènes attribuable à des matériaux d'emballage endommagés ou à des véhicules sales utilisés pour le transport des légumes ; ou encore par contamination par des microorganismes pathogènes attribuable à la présence d'organismes indésirables (rongeurs, insectes et oiseaux). La contamination biologique peut également provenir des eaux de puits utilisées pour les lavages, qui peuvent être non-conformes aux recommandations.

- Contaminations chimiques

Les contaminations chimiques peuvent provenir directement des légumes frais du fait de la présence de produits chimiques agricoles (pesticides et herbicides) dépassant les limites maximales de résidus ; de la présence de métaux lourds et d'autres produits chimiques attribuables à l'eau utilisée pour l'irrigation et la fumigation à la ferme ; par contamination par des produits chimiques agricoles et des produits chimiques non alimentaires attribuable à l'utilisation inadéquate de contenants réutilisables à la ferme ; mais aussi par contamination par des carburants (diesel, essence), des lubrifiants et de l'huile/graisse de la machinerie, à la ferme ou durant le transport (fuite de carburant sur les fruits et légumes). Des eaux de puits non-conformes aux recommandations peuvent également entraîner une contamination chimique au cours du lavage.

- Contaminations physiques

De telles contaminations peuvent une fois de plus provenir directement des légumes frais, qui peuvent contenir des matières étrangères dangereuses (métalliques et/ou non métalliques) dus à une manutention inadéquate chez le fournisseur. Les matériaux utilisés pour l'emballage ou encore les agents antimicrobiens utilisés peuvent entraîner une contamination physique pour les mêmes raisons.

Lors de la consommation de conserves, le risque sanitaire important en jeu, en particulier le risque d'intoxication botulique, impose une grande rigueur dans la mise au point, la validation et la conduite des traitements thermiques. Il est indispensable de qualifier l'effet du traitement thermique appliqué sur la destruction thermique quantitative des microorganismes cibles : c'est l'objet de la thermobactériologie. Elle est utilisée à l'échelle industrielle pour quantifier l'impact des traitements et le relier aux grandeurs intégratives utilisées pour la mesure de l'intensité de traitement : la Valeur Stérilisatrice par exemple. La pénétration de chaleur, phénomène à la base scientifique du calcul des barèmes de stérilisation, est sous

l'influence de multiples facteurs qu'il faut savoir maîtriser. Une connaissance de la réglementation est également nécessaire pour bien comprendre la notion de stabilité biologique, les différents moyens d'obtenir cette stabilité, et les contrôles qui s'y rattachent.

1.4 Principe du traitement thermique discontinu en autoclave

Le barème de stérilisation appliqué en autoclave est généralement défini comme un palier de température constante élevée à laquelle sont soumis les produits, la chaleur étant apportée par un fluide chauffant (vapeur ; vapeur + air ; eau surchauffée en immersion ou en ruissellement, etc...).

Afin de présenter les différentes phases d'un traitement discontinu classique, et comment celui-ci peut être conçu, contrôlé, validé, il est utile d'en proposer une représentation graphique très usuelle : relevé des températures dans l'autoclave et au point critique du produit, au cours du temps de traitement (figure II – 6).

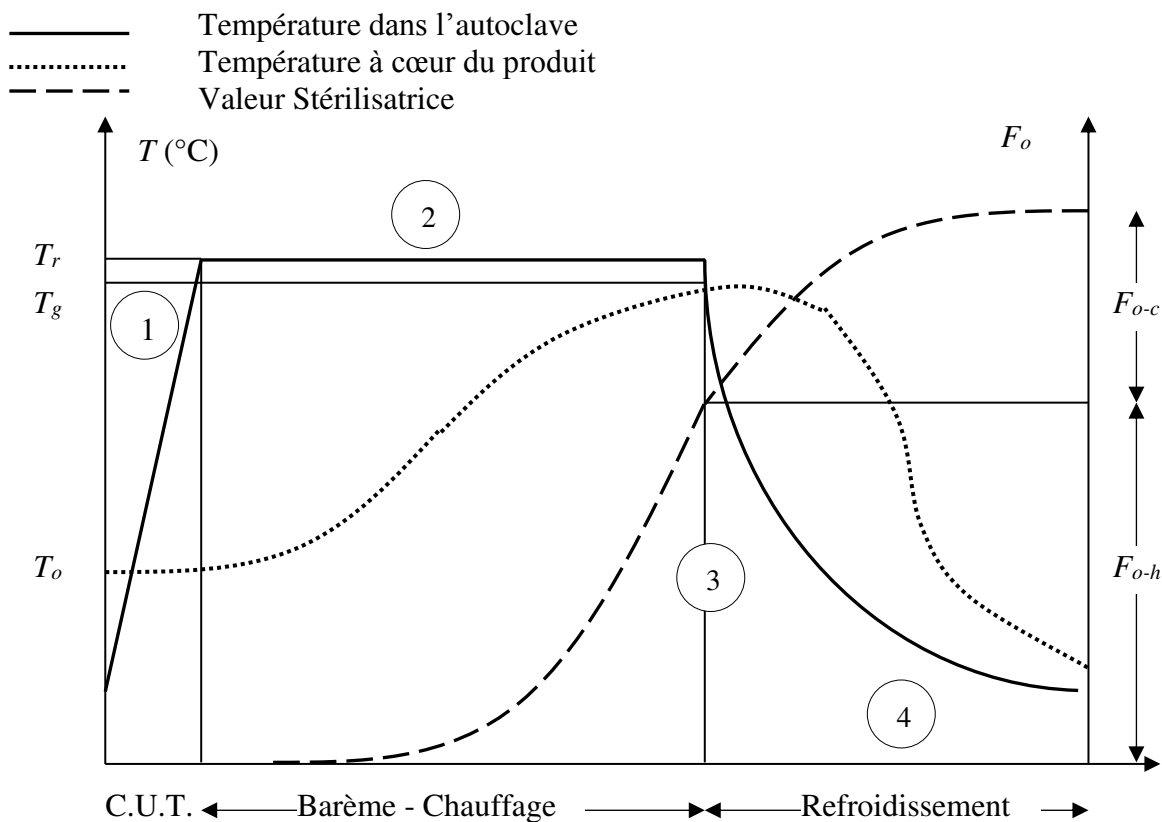


Figure II - 4 : Evolution des températures et de la Valeur Stérilisatrice durant un cycle d'appertisation en autoclave

Sur ce diagramme, les valeurs remarquables sont les suivantes :

- T_r : température constante de régime de l'autoclave (°C)
- C.U.T : Come Up Time ou Délai de Mise en Régime : temps requis pour atteindre la température de régime stable de l'autoclave (min.)
- T_o : température initiale au point critique du produit (°C)

- B : durée du barème au sens usuel (min)

- T_g : température atteinte au point critique du produit à la fin de la phase de chauffage de l'autoclave (°C)

- F_o : Valeur Stérilisatrice totale acquise en fin de cycle (chauffage puis refroidissement) (min)

$$F_o = F_{o-h} + F_{o-c}$$

- F_{o-h} : Valeur Stérilisatrice acquise durant le chauffage de l'autoclave

- F_{o-c} : Valeur Stérilisatrice acquise durant le refroidissement de l'autoclave

Les traitements thermiques les plus couramment appliqués pour la stabilisation des produits alimentaires préemballés peuvent être décrits comme une succession de quatre phases (figure II – 6) :

- Phase 1 : montée en température de l'enceinte, depuis sa température initiale jusqu'à la température de traitement choisie. Cette phase est caractérisée par sa durée, appelée Délai de Mise en Régime (D.M.R.) ou Come Up Time (C.U.T.).
- Phase 2 : palier de traitement thermique à température constante, usuellement décrit sous la forme du couple Temps / Température. Dans certains cas, le traitement est composé d'une succession de plusieurs traitements à température constante (barèmes à paliers multiples).
- Phase 3 : refroidissement de l'enceinte de traitement jusqu'à température constante. Cette phase, trop souvent négligée dans les calculs de barèmes, est caractérisée par la durée de descente en température de l'enceinte (Come Down Time) et par la température de l'eau de refroidissement.
- Phase 4 : refroidissement des produits, jusqu'à y obtenir la température à cœur désirée avant leur sortie de l'autoclave.

Pour un produit présentant une inertie thermique importante, une partie notable de la Valeur Stérilisatrice totale au point critique sera acquise durant le début du refroidissement du produit. Certains barèmes innovants peuvent présenter un profil à température variable : dans ce cas la phase de palier est remplacée par plusieurs phases de montée et de descente lentes. Le traitement thermique mis au point est toujours calculé pour assurer une élévation de température dans le produit garantissant une certaine destruction des micro-organismes. Les différentes phases mises en œuvre pour obtenir ce résultat doivent donc toujours être réalisées en un seul cycle. En aucun cas le barème de stérilisation ne peut être appliqué en plusieurs cycles, même si la somme des temps de barème est équivalente ou supérieure au barème initial.

Un barème n'a de sens que s'il est accompagné de certains éléments techniques s'y rattachant :

- Paramètres liés au produit : température initiale des produits au départ du cycle, poids net, présence de morceaux, taille des particules, format et type de conditionnement...
- Paramètres liés au procédé : type d'équipement utilisé, nature du fluide chauffant, arrangement des emballages dans l'enceinte, rotation...

Le calcul de la Valeur Stérilisatrice (VS) avec une T_{ref} de 121,1 °C et un z de 10 °C se fait par intégration de la courbe de mesures de température selon la formule suivante :

$$VS = \int_0^t 10^{\frac{T-121,1}{10}} . dt \quad \text{Équation II - 1}$$

1.5 Prise en compte de la contamination initiale pour le choix de la valeur stérilisatrice ou pasteurisatrice

- Données microbiologiques :

Selon sa nature, son origine, les conditions dans lesquelles elle a été obtenue, transportée, entreposée, nettoyée, parée et triée, la matière première apporte des germes d'espèces diverses, en nombre plus ou moins grand. Dans la pratique il est très difficile d'évaluer en permanence la charge microbienne d'un produit. Toutefois il est important d'évaluer de façon globale la charge microbienne initiale et la contamination du produit tout au long de la chaîne de fabrication. Cette évaluation peut être faite a priori par des mesures de contamination sur ligne ou a posteriori par des contrôles de stabilité par un personnel compétent ayant une bonne connaissance du produit.

Il faut prendre en compte les deux paramètres suivants :

- la vitesse de destruction des micro-organismes exposés à une température létale donnée (le traitement thermique nécessaire à l'inactivation varie considérablement, non seulement d'une espèce à l'autre, mais même d'une souche à l'autre de la même espèce).

- le niveau de contamination microbiologique au début du traitement thermique (un traitement thermique usuellement satisfaisant peut devenir insuffisant du seul fait d'un accroissement excessif de la charge microbienne initiale).

- Choix de l'objectif de traitement thermique :

Le traitement thermique doit assurer la stabilité biologique du produit à température ambiante par la destruction ou l'inhibition de toutes les formes microbiennes végétatives et sporulées, et plus particulièrement de *Clostridium botulinum* qui est la bactérie prise comme référence parmi les espèces pathogènes. Un traitement thermique est défini par un couple temps/température (barème de stérilisation ou de pasteurisation). Un barème est déterminé pour un produit conditionné dans un récipient donné et pour des caractéristiques de matériel données.

- Valeur stérilisatrice ou pasteurisatrice objective :

L'intensité du traitement thermique s'exprime sous la forme d'une Valeur Stérilisatrice (VS, ou F_0) ou Valeur Pasteurisatrice (VP) appliquée au point critique du produit, ou sur la fraction du produit subissant le traitement le plus faible. Elle est exprimée en équivalent temps (minutes) passé à la température de référence

de 121,1°C pour la stérilisation ou une température de référence inférieure à 100 °C (ex : 70 °C ou 93,3 °C) pour la pasteurisation.

Pour certains produits, le suivi au point critique est difficile à réaliser. Dans ce cas, une Valeur Stérilisatrice supérieure dite « objective » peut donc être déterminée par un suivi de température s'effectuant dans une zone moins défavorable mais plus accessible. L'acquisition de cette nouvelle Valeur Stérilisatrice objective doit permettre d'assurer la valeur stérilisatrice suffisante au point critique et ainsi assurer la stabilité biologique du produit à température ambiante. Par exemple, la réduction de 10^{12} du nombre de spores de *Clostridium botulinum* est obtenue pour une valeur stérilisatrice minimale de $F_o = 3$ minutes.

En pratique, la Valeur Stérilisatrice ou Pasteurisatrice objective est aussi choisie pour assurer la destruction ou l'inhibition de germes non pathogènes mais plus thermorésistants, pouvant altérer le produit comme par exemple certains *Bacillus* provenant de la flore naturelle des produits végétaux, et en tenant compte de l'historique de l'entreprise.

1.6 Caractéristiques du produit influençant le choix du traitement thermique

Au cours du traitement thermique, la nature du produit a un impact sur la résistance à la chaleur des micro-organismes qu'il renferme, en fonction de plusieurs de ses caractères chimiques et physico-chimiques. On peut citer :

- Le pH :

Selon le pH des produits, on distingue deux traitements d'appertisation :

1) les produits à pH inférieur à 4,5, naturellement acides ou acidifiés, dans lesquels la plupart des bactéries sont incapables de proliférer, subissent un traitement thermique généralement inférieur à 100 °C communément appelé pasteurisation ;

2) les produits à pH supérieur à 4,5, permettant aux bactéries thermorésistantes de se développer, subissent un traitement thermique supérieur à 100 °C communément appelé stérilisation.

Par ailleurs, au-dessus de pH = 4,4, le pH doit être pris en compte dans l'évaluation de la thermorésistance des spores bactérienne dans la matrice considérée. A titre d'exemple, le tableau II – 3 illustre les variations de thermorésistance qui peuvent être induites par les modifications de pH :

Tableau II - 3 : Influence du pH sur la thermorésistance (exemple de *Clostridium sporogenes*)

pH du milieu de destruction des spores	Durée de chauffage permettant la survie d'un même nombre de spores de <i>Clostridium sporogenes</i> (minutes)
5,0	9
5,7	12
6,0	15
6,6	21
7,0	25
7,5	20
8,2	15

- L'activité de l'eau :

L'activité de l'eau (a_w) est un facteur permettant d'évaluer, dans un produit, la teneur en eau disponible pour les microorganismes. L'abaissement de l' a_w s'oppose à l'activité microbienne. Les produits à humidité élevée dont l' a_w est supérieure à 0,85 devront donc subir un traitement de stérilisation pour être stables à température ambiante.

- La nature du produit (caractère conductif/convectif) :

La nature du produit (viscosité, taille des particules et ratio solide/liquide) est un facteur essentiel puisque dans le procédé d'appertisation classique, la chaleur du fluide chauffant est transmise au produit à travers la paroi du récipient, et pénètre plus ou moins vite à l'intérieur du produit jusqu'au point le plus lent à s'échauffer, appelé point critique. Ce point critique, ou zone critique, doit recevoir le traitement thermique minimum indispensable. Ainsi, tout le reste du produit se trouve soumis à un traitement thermique au moins équivalent. C'est donc la température au point critique en fonction du temps qui doit servir de référence à l'évaluation du barème de stérilisation. Dans le cas des produits hétérogènes, le point critique est généralement localisé dans la particule la plus grosse ou la moins conductrice de la chaleur, qui n'est pas obligatoirement placée au centre géométrique du récipient.

Les additifs et ingrédients entrants dans la formulation ou utilisés lors des prétraitements du produit peuvent apporter d'une part, un comportement particulier lors du traitement thermique (augmentation de la viscosité par exemple), ou d'autre part, un effet sur la thermorésistance des germes. La nature et la quantité exacte de ces additifs ou ingrédients doivent donc être respectées.

- Influence des prétraitements (blanchiment, pré-cuisson) :

Lors de la fabrication du produit, l'ensemble des prétraitements tels que le blanchiment ou la pré-cuisson doivent être adaptés et maîtrisés pour tenir compte notamment de la cuisson du produit apportée par le traitement thermique de stérilisation ou de pasteurisation ultérieur.

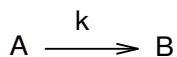
Le préchauffage ou la pré-cuisson des aliments permettent notamment d'évacuer l'air contenu dans les produits ou les récipients qui, en se dilatant au cours du traitement thermique, développerait des pressions excessives, nuisibles à l'étanchéité de l'emballage. Ce dégazage est indispensable pour certains produits renfermant beaucoup d'air comme les fruits, les légumes ou produits carnés.

2 Les approches de modélisation en thermobactériologie et cinétique chimique

2.1 Réactions d'ordres classiques

En chimie, les modèles réactionnels servent à décrire la manière dont un composé se dégrade ou se forme au cours d'une réaction chimique. Les modèles les plus couramment utilisés sont l'ordre 0, l'ordre 1 et l'ordre 2.

Soit une réaction chimique décrite par l'équation bilan suivante :



La vitesse de disparition du composé A s'écrit de façon générale :

$$\frac{-d[A]}{dt} = k[A]^n \quad \text{Équation II - 2}$$

avec $[A]$ la concentration en composé A, t le temps, k la constante de vitesse et n l'ordre de la réaction.

2.1.1 Réaction d'ordre 0

Une réaction chimique est dite d'ordre 0 lorsque sa vitesse ne dépend pas de la concentration initiale d'un réactif. Pour un composé A qui disparaît, cette vitesse est définie comme suit :

$$\frac{-d[A]}{dt} = k \quad \text{Équation II - 3}$$

avec t le temps et k la constante de vitesse exprimée en $(\text{mol.L}^{-1})/\text{temps}$.

En intégrant cette équation à partir de $t = 0$, on obtient l'équation suivante :

$$[A] = -k \cdot t + [A]_0 \quad \text{Équation II - 4}$$

En normalisant par $[A]_0$, on obtient l'équation suivante :

$$\frac{[A]}{[A]_0} = \frac{-k}{[A]_0} \cdot t + 1 \quad \text{Équation II - 5}$$

Dans ce cas, la courbe représentant la concentration en A en fonction du temps ou le rapport de la concentration en A à l'instant t sur la concentration en A initiale en fonction du temps est une droite, avec respectivement une pente égale à $-k$ et une ordonnée à l'origine égale à $[A]_0$ dans le premier cas (figure II – 5), une pente égale à $-k/[A]_0$ et une ordonnée à l'origine égale à 1 dans le deuxième cas. La pente est donc indépendante de la concentration initiale si le graph est tracé en concentration, et inversement proportionnel à la concentration initiale si le graph est tracé en $[A]/[A]_0$. Une cinétique d'ordre 0 ne peut

s'appliquer que dans le cas d'un seul réactif, et la vitesse de réaction est indépendante de la concentration du composé au cours du temps.

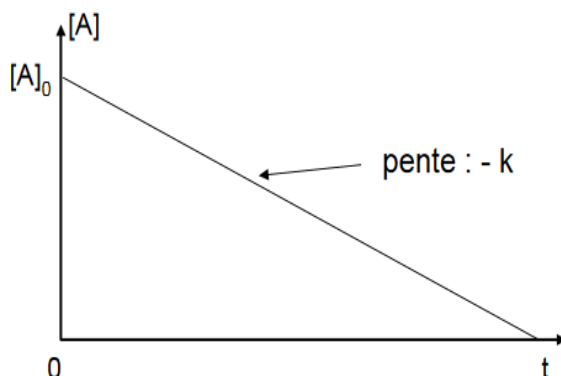


Figure II - 5 : Variation de la concentration du réactif A en fonction du temps pour une cinétique d'ordre 0

2.1.2 Réaction d'ordre 1

Une réaction chimique est dite d'ordre 1 lorsque sa vitesse dépend linéairement de la concentration présente à chaque temps d'un réactif. Pour un composé A qui disparaît, cette vitesse est définie comme suit :

$$\frac{-d[A]}{dt} = k \cdot [A] \quad \text{Équation II - 6}$$

avec k s'exprimant en 1/temps.

Cette équation peut être intégrée en fonction du temps :

$$\ln([A]) = \ln([A]_0) - k \cdot t \quad \text{Équation II - 7}$$

et sous forme exponentielle, la relation suivante liant la concentration de A à l'instant t et la concentration initiale de A est obtenue :

$$[A] = [A]_0 \cdot e^{-k \cdot t} \quad \text{Équation II - 8}$$

Le graphe du logarithme de la concentration en A en fonction du temps ou du logarithme du rapport de la concentration en A à l'instant t sur la concentration en A initiale en fonction du temps, donne une droite avec respectivement une pente égale à $-k$ et une ordonnée à l'origine égale à $\ln([A]_0)$ dans le premier cas (figure II - 6), une pente égale à $-k$ et passant par 0 dans le deuxième cas.

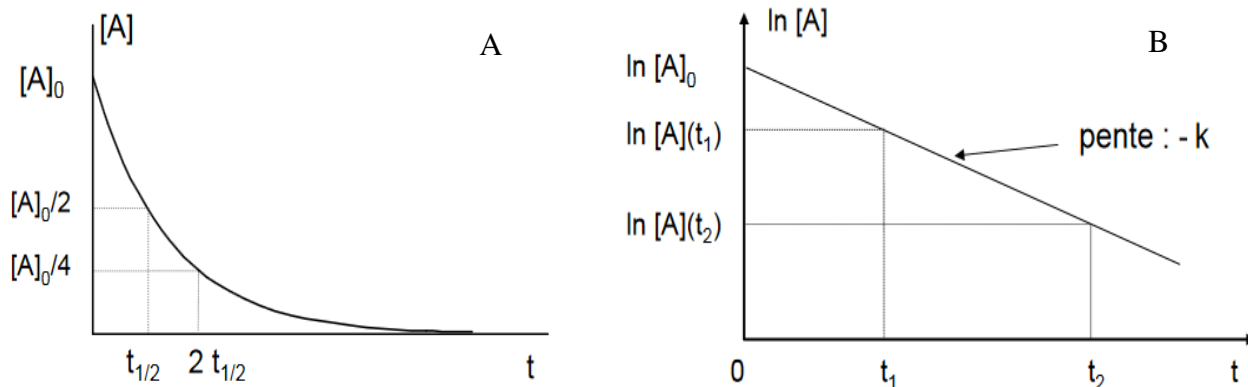


Figure II - 6 : Variation de la concentration du réactif A en fonction du temps pour une cinétique d'ordre 1 sous forme (A) exponentielle et (B) linéaire

2.1.3 Réaction d'ordre 2

Une réaction chimique est dite d'ordre 2 lorsque sa vitesse dépend du carré de la concentration à chaque temps d'un réactif ou du produit des concentrations de deux réactifs avec pour chacun un ordre partiel d'1. Pour un composé A qui disparaît ou pour deux composés A et B qui disparaissent, cette vitesse est définie comme suit :

$$\frac{-d[A]}{dt} = k \cdot [A]^2 \quad \text{Équation II - 9}$$

$$\frac{-d[A]}{dt} = k \cdot [A] \cdot [B] \quad \text{Équation II - 10}$$

avec k s'exprimant en $(L \cdot mol^{-1})/temps$.

En intégrant l'équation II – 9, on obtient l'équation suivante :

$$\frac{1}{[A]} = \frac{1}{[A]_0} + k \cdot t \quad \text{Équation II - 11}$$

En traçant donc la courbe représentant l'inverse de la concentration en A en fonction du temps, on devrait obtenir une droite de pente égale à k et d'ordonnée à l'origine égale à $1/[A]_0$ (figure II – 7). Dans le cas d'un ordre 2, la vitesse au cours du temps dépend du produit des concentrations de deux réactifs ou du carré de la concentration d'un seul réactif à l'instant t . La décroissance au cours du temps n'est plus dans ce cas exponentielle.

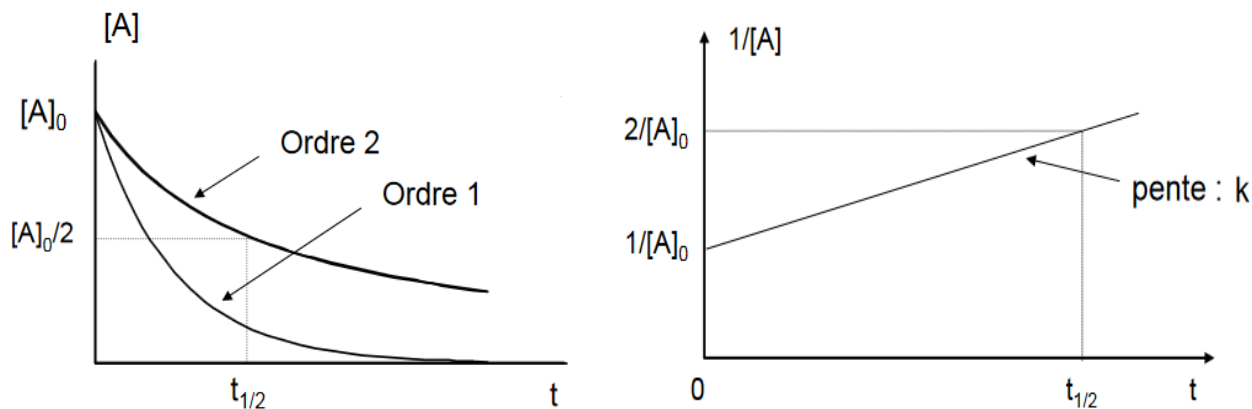


Figure II - 7 : Variation de la concentration du réactif A en fonction du temps pour une cinétique d'ordre 2 sous forme (A) classique et (B) linéaire

2.2 Loi d'Arrhenius

La loi d'Arrhenius, énoncée par Svante August Arrhenius en 1889, est un modèle empirique permettant de décrire la variation de vitesse d'une réaction chimique en fonction de la température.

De manière générale, la loi d'Arrhenius est énoncée comme suit :

$$\frac{d \ln(k)}{dT} = \frac{E_a}{RT^2} \quad \text{Équation II - 12}$$

où k représente la constante de vitesse de la réaction, T la température (en K), R la constante des gaz parfaits ($R = 8,314 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$) et E_a l'énergie d'activation d'Arrhenius de la réaction (en $\text{J} \cdot \text{mol}^{-1}$).

Si on considère que l'énergie d'activation est indépendante de la température, la loi d'Arrhenius peut s'écrire :

$$k = A \cdot e^{\frac{-E_a}{RT}} \quad \text{Équation II - 13}$$

ou encore sous sa forme linéaire :

$$\ln(k) = \ln(A) - \frac{E_a}{RT} \quad \text{Équation II - 14}$$

où A représente le facteur pré-exponentiel (encore appelé facteur de fréquence) et a les mêmes dimensions que k . Ce paramètre tient compte de la fréquence de collision entre les molécules et des effets stériques entre elles.

L'énergie d'activation a une importance primordiale sur l'influence de la variation de température sur la vitesse d'une réaction. En effet, les réactions chimiques ayant de faibles énergies d'activation seront plus sensibles à la variation de température, tandis que celles ayant des énergies d'activation élevées le seront moins.

Si une réaction chimique suit la loi d'Arrhenius, son énergie d'activation peut être déterminée en traçant un graphique représentant le logarithme de la constante de vitesse, $\ln(k)$, en fonction de $1/(RT)$ (ou $1/T$), la droite ainsi obtenue serait de pente égale à $-E_a$ (ou $-E_a/R$) et d'ordonnée à l'origine $\ln(A)$ (figure II - 8).

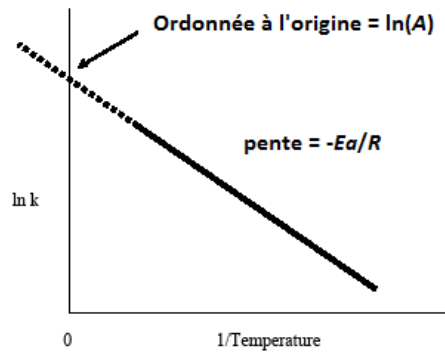


Figure II - 8 : Graph d'Arrhenius représentant la variation de $\ln(k)$ en fonction de $1/T$

2.3 Modèle d'Eyring : théorie du complexe activé

Dans la théorie du complexe activé d'Henry Eyring (1935), l'énergie d'activation représente l'enthalpie libre d'activation (ΔG^\ddagger), c'est-à-dire la barrière énergétique entre l'état initial et l'état de transition (figure II – 9).

$$k = \frac{k_B \cdot T}{h} \cdot \exp\left(-\frac{\Delta G^\ddagger}{RT}\right) \quad \text{Équation II - 15}$$

avec k la constante de cinétique, k_B la constante de Boltzmann ($1,38 \cdot 10^{-23} \text{ J.K}^{-1}$) et h la constante de Planck ($6,63 \cdot 10^{-34} \text{ J.s}^{-1}$).

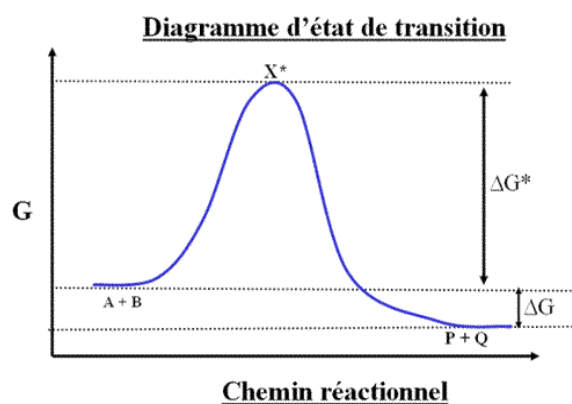


Figure II - 9 : Variation de l'énergie potentielle d'un système au cours du trajet réactionnel

Cette enthalpie libre d'activation prend en compte deux paramètres : l'enthalpie d'activation notée ΔH^\ddagger et l'entropie d'activation notée ΔS^\ddagger . Elle est définie par la relation suivante :

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T \cdot \Delta S^\ddagger \quad \text{Équation II - 16}$$

avec ΔG^\ddagger en J.mol^{-1} , ΔH^\ddagger en J.mol^{-1} , T en K et ΔS^\ddagger en $\text{J.mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$.

L'enthalpie d'activation ΔH^\ddagger représente la différence entre la somme des énergies de liaisons formées dans l'état de transition et la somme des énergies des liaisons rompues dans l'état initial. L'entropie d'activation ΔS^\ddagger représente la différence d'ordre moléculaire qu'il y a entre l'état de transition et l'état initial. L'équation peut donc être reformulée comme suit :

$$k = \frac{k_B \cdot T}{h} \cdot \exp\left(\frac{\Delta S^\ddagger}{T}\right) \cdot \exp\left(-\frac{\Delta H^\ddagger}{RT}\right) \quad \text{Équation II - 17}$$

soit sous la forme linéaire :

$$\ln\left(\frac{k}{T}\right) = \ln\left(\frac{k_B}{h}\right) + \frac{\Delta S^\ddagger}{R} - \frac{\Delta H^\ddagger}{T} * \frac{1}{T} \quad \text{Équation II - 18}$$

2.4 Notion de thermobactériologie

La thermobactériologie est généralement présentée comme la science qui étudie l'impact des traitements thermiques sur la survie ou la destruction des différentes formes de microorganismes.

La destruction d'une cible thermosensible par la chaleur (microorganismes sous formes végétative : bactéries, levures, moisissure, et sous forme sporulée: spores bactériennes, ascospores de moisissures), suit généralement une cinétique d'ordre 1 : décroissance logarithmique en fonction du temps, pour une température de traitement donnée (Ball and Olson, 1957). La vitesse de cette destruction thermique est elle-même dépendante de la température suivant la loi classique d'Arrhenius. Les effets des destructions sont cumulatifs et peuvent ainsi être exprimés comme une intégration des effets des différentes températures subies au cours de la durée de traitement thermique global. On utilise dans la pratique une représentation de la fraction survivante d'une population microbienne initiale, sous forme log décimale, en fonction du temps. Cette représentation est particulièrement adaptée aux techniques de dénombrement microbiologiques des germes survivants, qui s'exprime usuellement en puissance de 10.

La première loi de destruction d'une population initiale N_0 , à une température T , peut donc s'écrire simplement sous la forme :

$$t = D_T * \log(N_0/N) \quad \text{Équation II - 19}$$

ou encore :

$$\log(N_0/N) = t/D_T \quad \text{Équation II - 20}$$

avec t la durée du traitement à température T constante, D_T la durée de réduction décimale (durée pour réduire la cible de 90%, à la température T), N_0 le nombre initial ou concentration initiale de la cible (en pratique : nombre initial de microorganismes), N le nombre final ou concentration résiduelle de la cible après traitement (en pratique : nombre final ou « probabilité de présence » de microorganismes survivants).

La vitesse de destruction, estimée par la valeur D (exprimées usuellement en minute), est reliée par la loi d'activation thermique d'Arrhenius, que l'on exprime en thermobactériologie sous la forme :

$$\log(D_{T1}) - \log(D_{T2}) = (T_2 - T_1)/z \quad \text{Équation II - 21}$$

avec D_{T1} et D_{T2} les durées de réduction décimale observées respectivement aux températures T_1 et T_2 et z le paramètre d'activation thermique (en °C).

Afin de pouvoir comparer facilement les traitements entre eux, des températures de référence sont choisies et adaptées aux phénomènes observés.

Ainsi, on exprime la variation de D_T en fonction de la température comme suit :

$$\log(D_{T_{ref}}/D_T) = (T - T_{ref})/z \quad \text{Équation II - 22}$$

avec T_{ref} la température de référence choisie comme « point central » de comparaison des traitements (en pratique 121,1 °C pour les traitement de stérilisation, 70 °C ou 93,3 °C pour les traitement de pasteurisation ; 100 °C pour l'évaluation des effets de cuisson), $D_{T_{ref}}$ la durée de réduction décimale de la cible (exprimé en minute) à la température T_{ref} . À titre d'exemple, $D_{T_{ref}}$ pour les spores de *Geobacillus stearothermophilus* est voisin de 3 à 6 minutes à 121,1 °C.

Le facteur z est directement relié à l'énergie d'activation utilisée dans la loi d'Arrhenius. A titre d'exemple, z est usuellement compris entre 5 et 15 °C pour l'inactivation thermique des cellules végétatives et des spores microbiennes. Ce facteur z se situe dans la gamme de 20 à 40 °C pour les effets de la chaleur sur les caractéristiques biochimiques des aliments : destruction des vitamines, pertes de texture, brunissement non enzymatique, etc...

Les deux paramètres $D_{T_{ref}}$ et z sont suffisants pour caractériser complètement la thermorésistance d'une souche microbienne donnée, dans un milieu donné. Les représentations graphiques associées, traditionnellement utilisées par les conserveurs sont les suivantes (figures II – 10 et II – 11) :

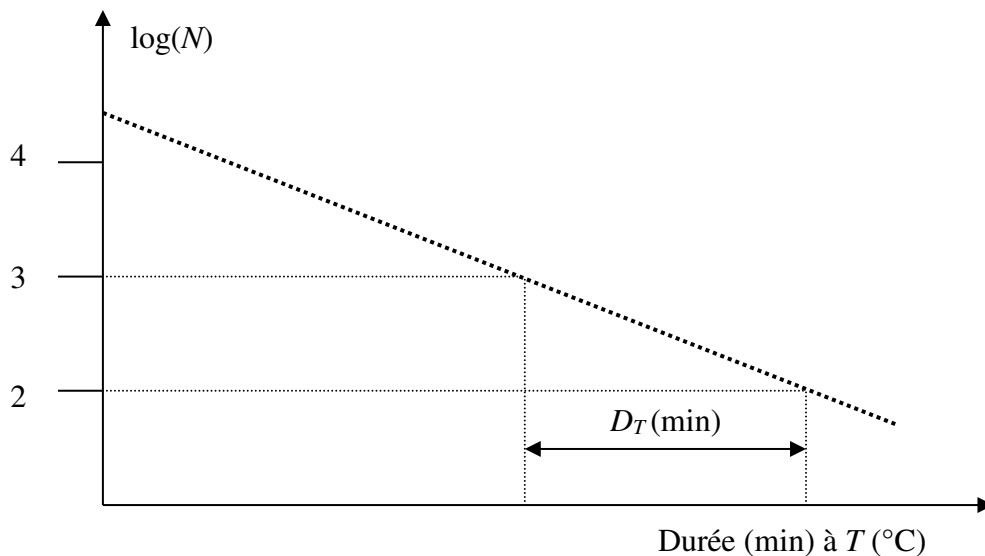


Figure II - 10 : Cinétique d'ordre 1 de destruction thermique des microorganismes à température constante

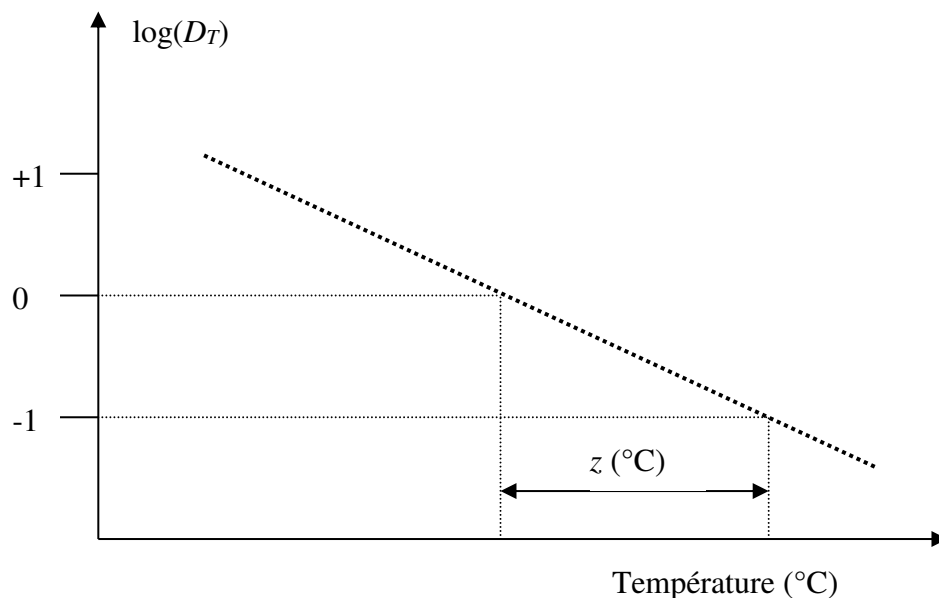


Figure II - 11 : Effet de la température sur la vitesse de destruction thermique

Le tableau III – 4 présente quelques exemples d'ordre de grandeurs pour les paramètres D et z usuellement observés pour les spores thermorésistantes de microorganismes, qui sont les facteurs à prendre en compte pour la définition des barèmes d'appertisation.

Tableau II - 4 : Ordre de grandeur des valeurs D et z pour différents types de bactéries sporulées

Microorganisme (spores)	Matrice	Thermorésistance D (minutes)*	Température (°C)	Facteur d'activation Z (°C)	pH
<i>Bacillus cereus</i>	Tampon phosphate	2,6 – 21,7	95	10,0 - 10,1	7,0
	Haricot vert	2 à 4	121	10 environ	5,8
<i>Geobacillus stearothermophilus</i>	Tampon	3,33	121	6,9 à 7,8	7,0
	Produits alimentaires	4 à 5	121		
<i>Bacillus subtilis</i>	Tomate	0,26	111		4,0
<i>Clostridium perfringens</i>	Bouillon de bœuf	6,6	104,4		7,0
	Produit carné	0,5 à 1,5	121		
<i>Clostridium sporogenes</i>	Tampon phosphate	1,31	121	9 à 11	6,5
	Produits alimentaires	1,5	121	10	7,0
<i>Clostridium botulinum</i> Type 62A (1)	Tampon phosphate	0,88 à 1,9	110	7,6 à 10,0	7,0
	Purée de pois	1,98	110	8,3	
<i>Clostridium botulinum</i> Type 62A (3)	Tampon phosphate	0,20	121	10	7,0
	Produits alimentaires	0,1 à 0,25	121		

* Les facteurs de variation de thermorésistance aux conditions de cultures dans lesquelles les souches se sont développées.

2.5 Modèle de Bigelow (log-linéaire)

Le modèle de Bigelow (ou modèle log-linéaire) introduit en 1921 par Willard Dell Bigelow est un modèle utilisé principalement pour l'étude de la destruction thermique des bactéries, et est une autre expression des modèles d'ordre 1. Ce modèle peut également être utilisé en chimie pour l'étude de la dégradation de composés (Dhuique-Mayer et al., 2007a, Esteve et al., 1998).

De manière générale, la loi de Bigelow s'écrit comme suit :

$$\log(D) = \log(D^*) - \frac{T-T^*}{z_T} \quad \text{Équation II - 23}$$

ou encore :

$$D = D^* \cdot 10^{-\frac{T-T^*}{z_T}} \quad \text{Équation II - 24}$$

où D représente le temps de réduction décimale, c'est-à-dire le temps de chauffage nécessaire pour obtenir 10 % de survivants, c'est-à-dire la division par 10 (réduction décimale) de l'effectif initial d'une population (microorganisme ou molécules), D^* est le D à une température de référence, T est la température (en °C), T^* est la température de référence (en °C), et z_T est le nombre de degrés de température correspondant à une variation d'un facteur 10 du temps de réduction décimale D (en °C) (cf. paragraphe 2.4).

En 1943, Katzin, Sandholzer et al. introduisent pour la première fois la notion de temps de réduction décimale (« Decimal Reduction Time ») noté DRT (Katzin et al., 1943), et ce n'est qu'en 1957 que Ball et Olson notent ce temps de réduction décimale D (Ball and Olson, 1957). De nos jours, le modèle log-linéaire est mieux connu sous la forme suivante :

$$\log(N) = \log(N_0) - \frac{t}{D} \quad \text{Équation II - 25}$$

où N_0 représente la taille de la population (molécules ou microorganisme) dans l'état initial et N représente la taille de la population à l'instant t .

De ce fait, il existe des relations entre les paramètres k et E_a du modèle d'Arrhenius et les paramètres D et z_T du modèle de Bigelow (Larousse, 1991). En effet, D est relié à k et z_T est relié à E_a , selon les relations suivantes :

$$D = \frac{\ln(10)}{k} \quad \text{Équation II - 26}$$

$$z_T = \frac{\ln(10) \cdot RT^2}{E_a} \quad \text{Équation II - 27}$$

2.6 Modèle de Weibull

Le modèle de Weibull énoncé en 1951 par Waloddi Weibull est une loi de probabilité. Initialement, ce modèle a été développé pour décrire la défaillance d'un système donné soumis à une contrainte au cours

du temps (Zheng and Lu, 2011b). Récemment, ce modèle a montré un intérêt potentiel pour décrire des cinétiques de dégradation microbiologiques, enzymatiques et chimiques (Zheng and Lu, 2011b).

De façon générale, le modèle de Weibull peut s'écrire de la façon suivante :

$$N = N_0 \cdot e^{\left(\frac{-t}{\alpha}\right)^\beta} \quad \text{Équation II - 28}$$

où N représente la taille de la population (microorganismes ou molécules) à l'instant t , N_0 représente la taille initiale de la population, t est le temps, α est le paramètre d'échelle (« scale ») et β est le paramètre de forme (« shape »).

Le modèle de Weibull peut être utilisé pour décrire une cinétique de destruction lorsque les valeurs de thermorésistance au sein d'une population sont hétérogènes.

Le cas particulier de la loi de Weibull où $\beta = 1$ est équivalent à un modèle de réaction du premier ordre (García-Torres et al., 2009). Lorsque $\beta > 1$, la forme de la courbe est concave, ce qui traduit une vitesse de destruction lente les premières minutes puis une accélération. Lorsque $\beta < 1$, la forme de la courbe est convexe, ce qui traduit une vitesse de destruction rapide les premières minutes puis un ralentissement. L'inverse de α correspond à la constante de cinétique k (Manso et al., 2001).

Bien que ce modèle soit couramment utilisé en cinétique chimique, Mafart, Couvert et al. ont proposé en 2002 une modification du modèle de Weibull qui est utilisé à ce jour principalement en cinétique microbiologique (Mafart et al., 2002). Ce modèle est décrit par l'équation suivante :

$$\log(N) = \log(N_0) - \left(\frac{t}{\delta}\right)^p \quad \text{Équation II - 29}$$

où δ est le temps de première réduction décimale et a les dimension d'un temps, et p est le paramètre de forme.

Au même titre que β , lorsque $p = 1$ la forme de la courbe est linéaire. Lorsque $p > 1$, la forme de la courbe est concave et lorsque $p < 1$, la forme de la courbe est convexe. Le paramètre p reflète la distribution des thermorésistances au sein d'une population selon une distribution de Weibull (Couvert, 2002).

2.7 Modèle de Mafart et Leguérinel prenant en compte la température et le pH

Le modèle de Mafart et Leguérinel est un modèle dérivé du modèle de Bigelow qui tient compte à la fois de la température et du pH (Mafart et al., 2002, Mafart et al., 2001). Il est décrit selon l'équation suivante :

$$\log(D) = \log(D^*) - \frac{T-T^*}{z_T} - \left(\frac{pH-pH^*}{z_{pH}}\right)^2 \quad \text{Équation II - 30}$$

où T^* et pH^* sont respectivement les valeurs de référence de la température (121,1°C en règle générale car cette température correspond à la VS) et du pH (pH = 7 en règle générale). D^* représente la durée de réduction décimale à la température et au pH de référence. Les paramètres z_T (classique du modèle de

Bigelow) et z_{pH} (par analogie au précédent), expriment les écarts de température ou de pH (par rapport à pH^*) induisant une variation de la durée de réduction décimale D d'un facteur 10.

Ce modèle est utilisé pour la destruction des spores en microbiologie, et il peut être intéressant à utiliser dans le cadre d'une modélisation couplée bénéfice/risque (en supposant que l'on soit d'ordre 1 dans les deux cas) car il tient compte à la fois de la température et du pH.

3 La vitamine C

3.1 Généralités

La vitamine C, ou acide ascorbique, est une des plus importantes vitamines hydrosolubles (Matei et al., 2008, Plaza et al., 2006, Sapei and Hwa, 2014, Jiang et al., 2014a, Lloyd et al., 1987, Verbeyst et al., 2013). Cette vitamine est présente dans plusieurs systèmes biologiques à différentes concentrations (Arya et al., 1998), et est considérée comme un nutriment bénéfique et sans danger (Kokkinidou et al., 2014). La vitamine C est essentielle au développement ou à la régénération des muscles, des os, de la peau et des dents (Arya et al., 1998) par son rôle important dans la biosynthèse du collagène dans les tissus biologiques, comme la peau ou le cartilage (Furusawa, 2001, Castro et al., 2004, Jiang et al., 2014a, Agius et al., 2003, Gabriel et al., 2015, Vikram et al., 2005).

Le collagène est caractérisé par le motif Gly – X – Y – Gly, où Gly est la glycine, X représente souvent la proline (Pro) et Y souvent la 4-hydroxyproline (Hyp). L'acide ascorbique intervient dans la réaction d'hydroxylation de la proline en 4-hydroxyproline, selon le schéma réactionnel suivant (figure II – 12) :

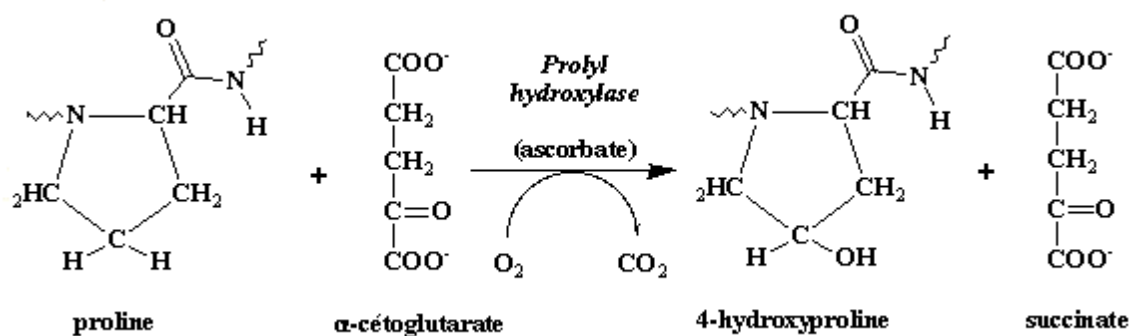


Figure II - 12 : Schéma réactionnel de la synthèse de la 4-hydroxyproline, (<http://biochimej.univ-angers.fr/Page2/COURS/7RelStructFonction/2Biochimie/2ModifPOSTtraduc/9Hydroxylation/1Hydroxylation.htm>)

L'un des deux atomes du dioxygène (préalablement activé) s'attache à la proline, l'autre est incorporé au succinate lors de la décarboxylation de l'alpha-cétoglutarate. L'ascorbate (forme ionisée de l'acide ascorbique) sert ici d'agent réducteur. L'inhibition de l'hydroxylation de la proline (liée par exemple à une carence en vitamine C) est à l'origine du scorbut.

Outre ce rôle vitaminique antiscorbutique découvert au 17^e siècle (Matei et al., 2008), de multiples études ont montré des effets bénéfiques de la vitamine C contre plusieurs types de maladies (Derossi et al., 2010), le rhume, l'anémie, les maladies cardiovasculaires (Versari et al., 2004, Gabriel et al., 2015), les maladies pulmonaires obstructives (Van Bree et al., 2012), l'asthme, la fièvre, la tuberculose (Lin and Agalloco, 1979) ou encore l'infertilité. Des hypothèses ont également été émises concernant une potentielle utilisation de la vitamine C pour prévenir du cancer (Van den Broeck et al., 1998, Jiang et al., 2014a, Ariahu et al., 2011, Gabriel et al., 2015, Vikram et al., 2005), car elle aurait la possibilité de stimuler le système immunitaire (Van den Broeck et al., 1998, Cortés et al., 2008).

Les apports moyens en vitamine C dans la population française (données INCA2) sont de 77 mg/j chez les enfants de 3 à 17 ans et de 93 mg/j chez les adultes de 18 à 79 ans. Ces apports ne sont pas différents entre la population féminine et masculine. Chez les adultes, les principales sources d'apport en vitamine C sont les fruits (27%) puis les légumes (hors pommes de terre) (22%) à égalité avec les boissons fraîches sans alcool (essentiellement les jus de fruits) (22%). Chez les enfants, ce sont les boissons fraîches sans alcool (essentiellement les jus de fruits) (37%) qui constituent la principale source d'apport en vitamine C, suivi des fruits (17%), puis des légumes (hors pommes de terre) (14%). Pour assurer la couverture des besoins quotidiens en vitamine C, il est recommandé de consommer environ 500 g de fruits et légumes par jour. Aussi, la consommation, au moins une fois dans la journée, de fruits ou de légumes crus permet d'assurer aisément la couverture des besoins en vitamine C.

3.2 Sources alimentaires de vitamine C

La vitamine C se trouve essentiellement dans les fruits et les légumes frais. C'est notamment la principale vitamine contenue dans les agrumes (Silva, 2005). On la retrouve également en grande quantité dans les jus de fruits, tels que les jus d'agrumes ou le jus de tomate (Van den Broeck et al., 1998). La majeure partie de l'activité anti-oxydante des jus de fruits est attribuée à leurs fortes teneurs en acide ascorbique, allant de 150 à 450 mg/L (Van Bree et al., 2012).

Parmi les fruits frais, les plus riches en vitamine C sont les agrumes tels que l'orange (Vikram et al., 2005), le citron (Achir et al., 2016), le pamplemousse ou encore la mandarine (Burdurlu et al., 2006), les fruits rouges tels que la fraise (Gamboa-Santos et al., 2014a, Gamboa-Santos et al., 2014b), la framboise, le cassis, le groseille ou encore la cerise (Mercali et al., 2012), mais aussi certains fruits exotiques tels que la mangue ou la goyave. De par leur consommation courante, les oranges et jus d'orange sont considérés comme sources importantes de vitamine C (Cortés et al., 2008).

En ce qui concerne les légumes frais, cette vitamine est présente principalement dans les légumes verts tels que l'épinard, le haricot vert, le petit pois (Giannakourou and Taoukis, 2003, Delchier et al., 2012), le cresson (Cruz et al., 2008), le persil ou encore l'asperge verte (Esteve et al., 1998), mais également dans la tomate, l'artichaut, les poivrons, l'aubergine, le poireau, le navet, l'oignon, etc... La vitamine C est

abondante dans différents choux tels que le chou vert, le chou brocoli, le chou de Bruxelles ou le chou-fleur. Les différentes variétés de pommes de terre contiennent également de la vitamine C (Mcminn and Magee, 1997).

La vitamine C est aussi présente mais en faible quantité dans les aliments d'origine animale tels que les abats (foie), la viande de bœuf, de porc, ou de volaille tel que le canard (teneur moyenne de 5,85 mg/100g), les poissons tels que le saumon (teneur moyenne de 1,8 mg/100g) ou le thon (teneur moyenne de 2,6 mg/100g), les crustacés (huîtres), le lait, etc...

Le tableau II – 5 indique la teneur en vitamine C de quelques produits de consommation.

Tableau II - 5 : Teneur en vitamine C de différents produits alimentaires d'après les données Ciqual (ANSES, 2017) (<https://pro.anses.fr/TableCIQUAL/index.htm>)

Produits	Teneur (mg/100g)	Minimum (mg/100g)	Maximum (mg/100g)
Cassis frais	200	113	255
Persil frais	190	133	358
Poivrons crus	120	89,3	151
Raifort cru	97,3	24,9	260
Kiwi frais	92,7	59	118
Litchi frais	71,5		
Fruits rouges frais	67,9		
Papaye fraîche	59,7	24,6	93,1
Chou-fleur cru	57,9	34,8	124
Cresson cru	56,5	25	669
Citron frais	53	49	
Orange fraîche	39,7		60,8
Epinard cru	39,3	15	120

De ce fait, dans le cadre du régime alimentaire humain, il convient donc de subvenir aux besoins journaliers en vitamine C de l'organisme par le biais de la consommation de plantes, qui sont la source principale de vitamine C (Hancock and Viola, 2006).

3.3 Structure de la vitamine C

La vitamine C est composé de deux vitamères, l'acide ascorbique dont le nom IUPAC est le 2-(1,2-dihydroxyéthyl)-4,5-dihydroxyfuran-3-one, et l'acide déhydroascorbique dont le nom IUPAC est le 5-(1,2-dihydroxyéthyl)oxolane-2,3,4-trione. C'est un acide organique qui possède des propriétés antioxydantes (Arya et al., 1998, Cortés et al., 2008, Mesías-García et al., 2010, Plaza et al., 2006), et parfois des propriétés pro-oxydantes (Bradshaw et al., 2001, Cortés et al., 2008). La molécule d'acide ascorbique possède deux atomes de carbone asymétriques et n'a pas de plan de symétrie, elle existe donc

sous forme de quatre stéréoisomères, l'acide L-ascorbique (vitamine C), l'acide D-ascorbique, l'acide L-isoascorbique et l'acide D-isoascorbique (figure II – 13).

La structure précise de la vitamine C a été déterminée par Walter Norman Haworth en 1932 (Davey et al., 2000).

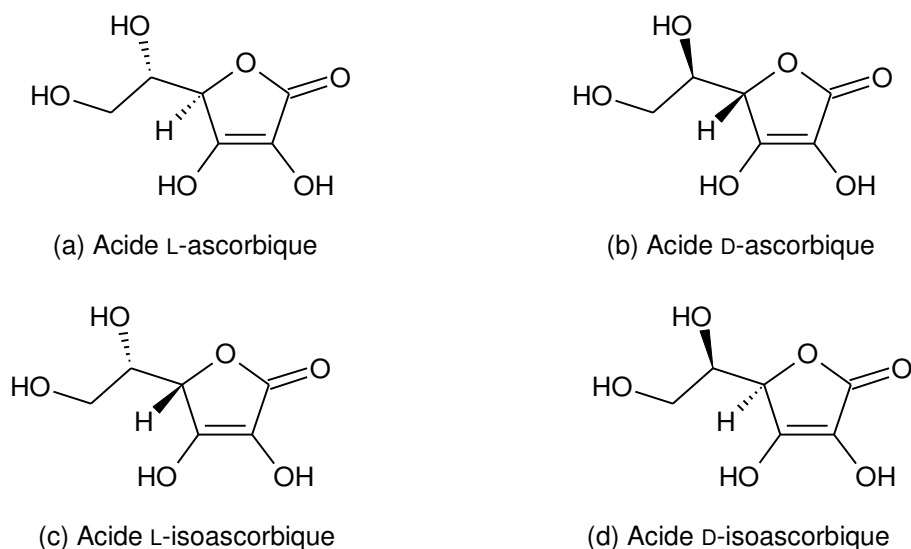


Figure II - 13 : Structures chimiques des différents stéréoisomères de l'acide ascorbique, avec en (a) l'acide L-ascorbique, en (b) l'acide D-ascorbique, en (c) l'acide L-isoascorbique, en (d) l'acide D-isoascorbique

Bien que la forme énolique soit la forme la plus stable de l'acide ascorbique à cause de la conjugaison des doubles liaisons, cette forme est en équilibre avec la forme hydroxy-cétone. La réaction associée à cet équilibre est une réaction de tautomérisation céto-énolique (figure II – 14).

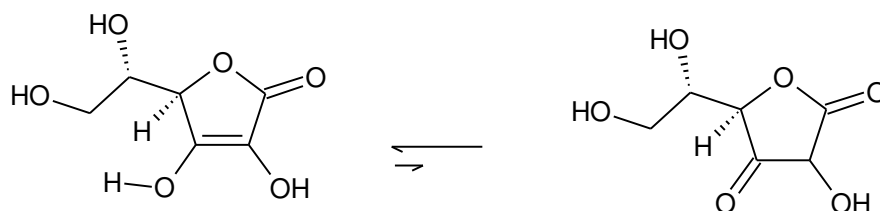


Figure II - 14 : Réaction d'équilibre de tautomérisation céto-énolique de l'acide ascorbique

3.4 Propriétés physico-chimiques

A température ambiante et à pression atmosphérique, l'acide ascorbique se présente sous la forme d'un solide blanc cristallin, sans odeur, avec un goût acide aigre (Davey et al., 2000). Sa formule brute est $C_6H_8O_6$, et sa masse molaire est de $176,13 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$. Il a une densité de 1,65 et sa solubilité dans l'eau est de $330 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ à $25 \text{ }^\circ\text{C}$. Sa température de fusion est comprise entre 190 et $192 \text{ }^\circ\text{C}$. Le potentiel Redox du couple DHAA/AA est de $+0,166 \text{ V}$ à $\text{pH} = 4$, ce qui signifie que l'acide ascorbique est une molécule aux pouvoirs anti-oxydants, mais la faible valeur de son potentiel Redox peut lui conférer des pouvoirs pro-oxydants. Par exemple, l'AA pourra être oxydé en DHAA en présence d'oxygène ($E_0(\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}) = +1,23 \text{ V}$) et pourra réduire le Fe^{2+} en fer ($E_0(\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}) = -0,44 \text{ V}$).

En 2010 et 2012, Juhász et al. ont effectué des analyses thermogravimétriques de la vitamine C sous flux d'azote et d'air de 25 à 500 °C, à une vitesse de chauffe de 4 °C/min (figure II – 15) (Juhász et al., 2012, Juhász et al., 2010).

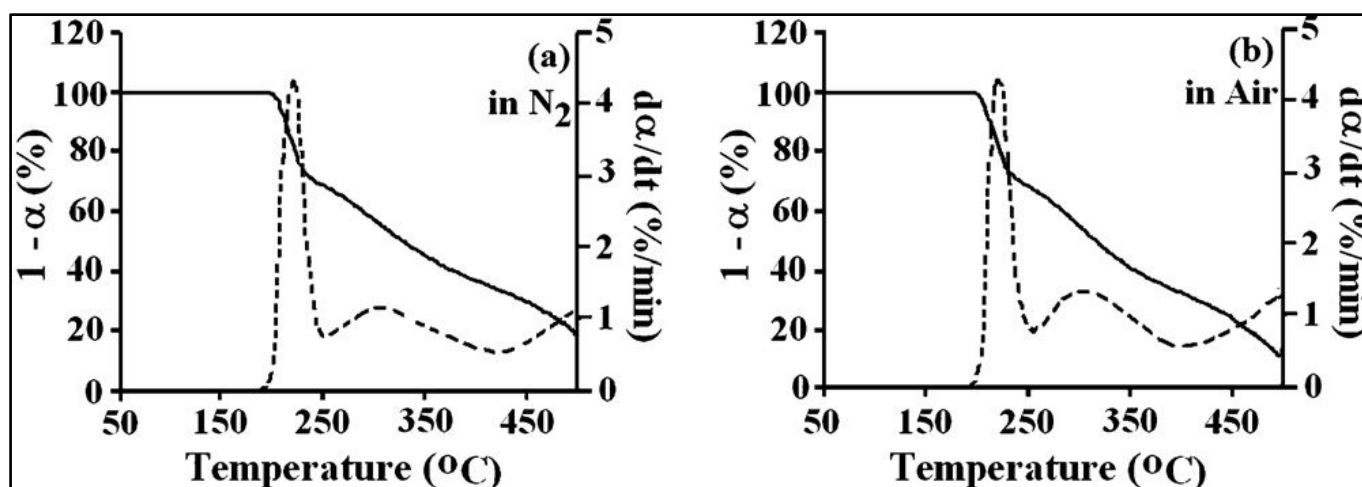


Figure II - 15 : Thermogrammes de la vitamine C (en gras) et courbes dérivées de ces thermogrammes (en pointillés) (a) sous azote et (b) sous air, d'après M. Juhász et al. (2012)

La vitamine C subit deux paliers de dégradation. Sous flux d'azote (figure II – 15 (a)), le premier palier de dégradation commence à partir de 191 °C, avec un maximum de vitesse de décomposition aux alentours de 221 °C. Le deuxième palier de dégradation débute à 260 °C, avec un maximum de vitesse de dégradation aux alentours de 288 °C. Au-delà de 500 °C, il reste 11 % en masse de la masse initiale de départ correspondant à de la matière résiduelle carbonisée (Juhász et al., 2012). Le premier palier de dégradation pourrait correspondre majoritairement à la perte du groupement dihydroxyéthyl, le deuxième palier pourrait correspondre à la décomposition de l'hétérocycle, plus rigide du fait du système d'électrons π conjugués.

Sous flux d'air (figure II – 15 (b)), la vitamine C se dégrade à partir de 188 °C (contre 191 °C sous azote), et au-delà de 500 °C, il ne reste que 4 % en masse de la masse initiale de départ correspondant à de la matière résiduelle carbonisée. Le fait qu'il y ait moins de matière à la fin témoigne du fait que la vitamine C est sensible à la présence d'oxygène.

Du fait de sa structure, l'acide ascorbique absorbe dans l'UV. Des analyses spectrales ont été menées par Jaffe en 1984 (Jaffe, 1984) et ont permis de déterminer des maximums d'absorbance. Ces analyses ont été conduites dans des cuves standards d'épaisseur 1 cm, et les solutions d'acide ascorbique étaient de 10 g/L, à deux pH différents, 2 et 6,4 :

- A pH = 2, le spectre révèle une absorbance maximale de 695 à 245 nm, l'acide ascorbique étant sous sa forme non dissociée.
- A pH = 6,4, le spectre révèle une absorbance maximale de 940 à 265 nm, l'acide ascorbique étant ici sous sa forme monodissociée.

La molécule d'acide ascorbique est stabilisée par le fait qu'elle possède un système d'électrons π conjugués entre le groupement ènediole en C₂ et C₃ et le groupement carbonyle en C₁ (figure II – 16).

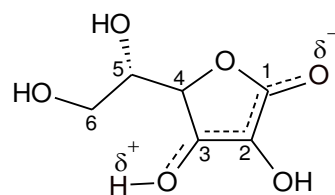
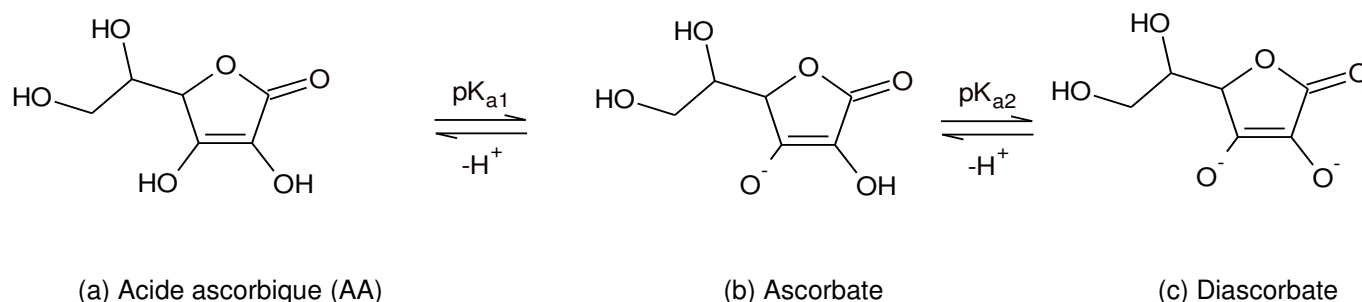


Figure II - 16 : Structure de l'acide ascorbique représenté avec le système d'électrons π conjugués

Cette conjugaison a pour conséquence de rendre l'atome d'hydrogène sur le groupement hydroxyle en C₃ particulièrement acide, avec un pK_{a1} de 4,13 à 25 °C (figure II – 17) (Eison-Perchonok and Downes, 1982, Davey et al., 2000).



(a) Acide ascorbique (AA)

(b) Ascorbate

(c) Diascorbate

Figure II - 17 : Réaction représentant l'équilibre acido-basique entre (a) l'acide ascorbique (AA) et ses bases conjuguées (b) l'ascorbate et (c) le diascorbate

Il existe également une deuxième acidité de l'acide ascorbique, qui est beaucoup plus faible, correspondant à la perte de l'atome d'hydrogène porté par le groupement hydroxyle du C₂ de l'ascorbate (Davey et al., 2000), pour donner le diascorbate (figure II – 17). Le pK_{a2} de cette acidité vaut 11,6 à 25 °C.

3.5 Biosynthèse de la vitamine C

La vitamine C joue un rôle vital dans le métabolisme cellulaire des plantes et des animaux (Hancock and Viola, 2006). Bien que les plantes et la plupart des animaux soient capables de biosynthétiser la vitamine C, les humains et certaines espèces d'animaux comme les cochons d'Inde, les primates, plusieurs espèces d'oiseaux et quelques espèces de poissons n'en sont pas capables (Rumsey and Levine, 1998, Arrigoni and De Tullio, 2002, Jiang et al., 2014a, Wheeler et al., 1998). Ceci est dû à l'absence de l'enzyme L-gulono-1,4-lactone oxydase, qui est l'enzyme terminale dans le processus de biosynthèse de l'acide ascorbique chez les animaux (Davey et al., 2000, Jiang et al., 2014a).

3.5.1 Biosynthèse de la vitamine C dans les plantes

Dans les années 1950, il a été établi que la biosynthèse de l'acide L-ascorbique chez les animaux et les plantes provenait de composés D-hexose (Hancock and Viola, 2006).

Il existe plusieurs voies de biosynthèse de l'acide L-ascorbique chez les plantes commençant par des composés de type D-hexose tels que le GDP-D-mannose, le GDP-L-galactose, le GDP-L-gulose ou encore le *myo*-inositol, mais il existe également une voie de synthèse provenant de l'acide méthylgalacturonique (figure II – 18) (Hancock and Viola, 2006).

En fonction du composé de départ, plusieurs types d'enzymes interviennent pour agencer la biosynthèse, telles que la GDP-D-mannose pyrophosphorylase, la GDP-L-galactose pyrophosphatase, la GDP-L-gulose pyrophosphatase, la *myo*-inositol oxydase ou encore l'acide galacturonique réductase.

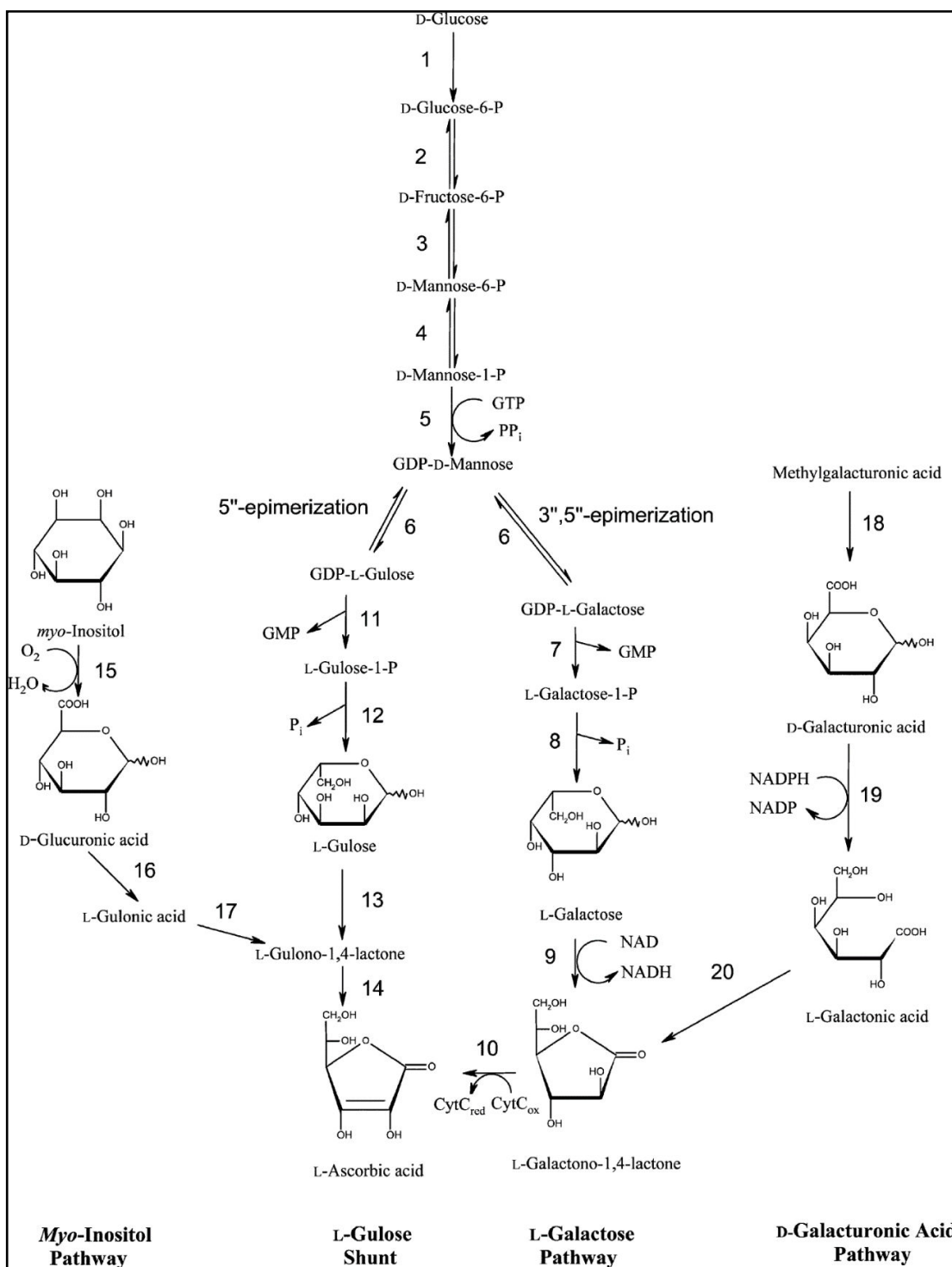


Figure II - 18 : Voies de biosynthèse de l'acide L-ascorbique dans les plantes, d'après Hancock et Viola (2006)

Toutes ces réactions se font sous catalyse enzymatique, avec l'intervention de l'hexokinase (1), la phosphoglucose isomérase (2), la phosphomannose isomérase (3), la phosphomannose mutase (4), la GDP-D-mannose pyrophosphorylase (5), la GDP-D-mannose-3,5-épimérase (6), la GDP-L-galactose pyrophosphatase (7), la L-galactose-1-phosphate phosphatase (8), la L-galactose déshydrogénase (9), la L-galactono-1,4-lactone déshydrogénase (10), la GDP-L-gulose pyrophosphatase (11), la L-gulose-1-phosphate phosphatase (12), la L-gulose déshydrogénase (13), la L-gulono-1,4-lactone déshydrogénase (14), la *myo*-inositol oxydase (15), l'acide glucuronique réductase (16), l'aldonolactonase (17), la méthylestérase (18), l'acide galacturonique réductase (19) et l'aldonolactonase (20) (Hancock and Viola, 2006, Wheeler et al., 1998).

La voie de biosynthèse à partir de l'acide galacturonique a été établie après l'identification de l'enzyme acide galacturonique réductase dans la fraise (Agius et al., 2003).

3.5.2 Biosynthèse de la vitamine C chez les animaux

La biosynthèse de l'acide ascorbique chez les animaux se produit soit dans les reins (comme les amphibiens ou les reptiles par exemple), soit dans le foie (comme certaines espèces d'oiseaux par exemple) (figure II – 19) (Hancock and Viola, 2006).

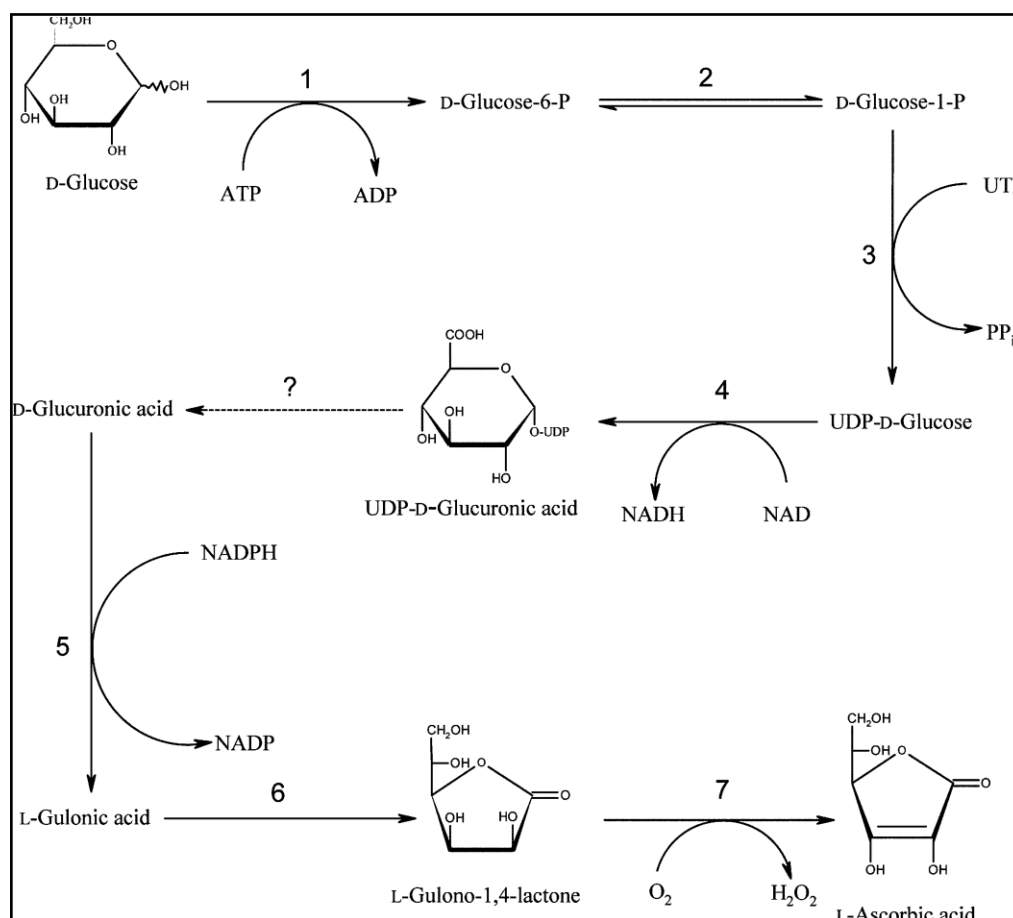


Figure II - 19 : Voie de biosynthèse de l'acide L-ascorbique chez les animaux, d'après Hancock et Viola (2006)

Comme dans les plantes, toutes ces réactions se font sous catalyse enzymatique, avec l'intervention de l'hexokinase (1), la phosphoglucose mutase (2), l'UDP-glucose pyrophosphorylase (3), l'UDP-glucose déhydrogénase (4), l'acide glucuronique réductase (5), l'aldonolactonase (6) et la gulonolactone oxydase (7) (Hancock and Viola, 2006).

Le mécanisme de formation de l'acide D-glucuronique libre est à ce jour encore inconnu (Hancock and Viola, 2006).

3.6 Synthèse chimique de l'acide ascorbique

La production d'acide L-ascorbique en 2002 était de 80000 tonnes par an : 50 % de cette production était utilisée en tant que supplément vitaminé ou dans les composés pharmaceutiques, 25 % était utilisée dans les aliments, 15 % était utilisée dans les boissons et 10 % était consommée dans les aliments pour animaux.

De nos jours, la majorité de l'acide L-ascorbique est obtenue par le procédé Reichstein, mis en place par Tadeusz Reichstein en 1933 (figure II – 20) (Reichstein and Grüssner, 1934, Hancock and Viola, 2002). Ce procédé part du D-glucose et aboutit à l'acide ascorbique en six étapes dont une microbiologique, permettant l'obtention du bon stéréoisomère d'un produit intermédiaire de synthèse, le L-sorbose.

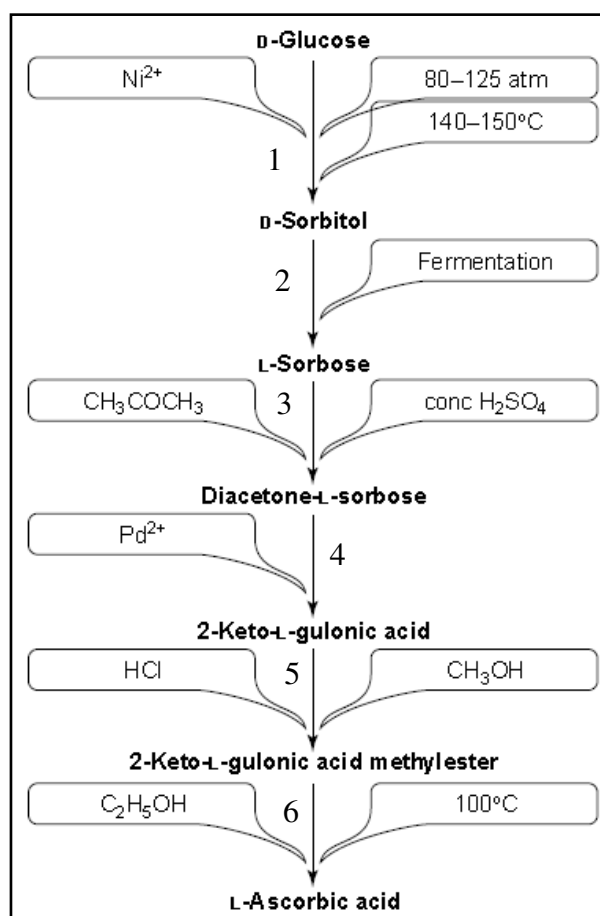


Figure II - 20 : Schéma du processus de synthèse Reichstein, d'après Hancock et Viola dans (2002)

- Etape 1 : hydrogénation catalytique du D-glucose en D-sorbitol à l'aide du Nickel de Raney

- Etape 2 : oxydation par fermentation du D-sorbitol pour obtenir le L-sorbose
- Etape 3 : protection des groupements hydroxyles du L-sorbose pour former le diacétone-L-sorbose
- Etape 4 : hydrolyse des groupements acétals de la diacétone-L-sorbose pour former l'acide 2-céto-L-gluconique
- Etape 5 : estérification de l'acide 2-céto-L-gluconique par du méthanol sous catalyse acide (HCl)
- Etape 6 : fermeture de cycle par formation d'une γ -lactone, selon un mécanisme de type 5-exo-trig d'après les règle de Baldwin (cyclisation favorisée d'un point de vue stérique)

Bien que ce procédé soit largement utilisé dans le domaine industriel, il reste un processus consommant beaucoup d'énergie, requérant des hautes températures et pressions, et nécessitant une quantité considérable de solvants organiques et inorganiques, tels que l'acétone ou encore l'acide sulfurique (Hancock and Viola, 2002). Le rendement total de cette synthèse est de l'ordre de 50 % (Boudrant, 1990). Bien que le procédé Reichstein soit relativement efficace, il consomme beaucoup d'énergie et dégage des effluents polluants car on utilise de l'acétone, des acides sulfurique et chlorhydrique ainsi que de la soude.

En 1994, Bronnimann et *al.* ont mis au point un procédé permettant la formation de l'acide 2-céto-L-gluconique directement à partir du L-sorbose par oxydation catalytique de ce dernier (figure II – 21) (Brönniman et al., 1994), ce qui évite le passage par l'étape de protection des groupements hydroxyles du L-sorbose et par l'étape d'hydrolyse des groupements acétals de la diacétone-L-sorbose.

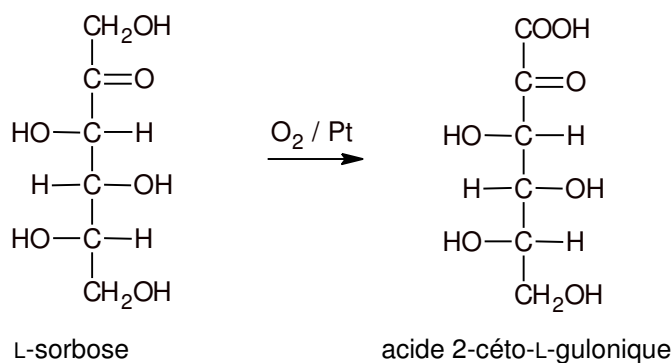


Figure II - 21 : Réaction d'oxydation catalytique du L-sorbose en acide 2-céto-L-gulonique, adaptée d'après Bronnimann et *al.* (1994)

En 2002, Hancock et Viola ont proposé une amélioration du processus Reichstein par une approche biotechnologique de synthèse, toujours en partant du D-glucose (figure II – 22) (Hancock and Viola, 2002). Bien que six voies de synthèse différentes aient été explorées, seules deux voies de synthèse ont été commercialement développées car elles présentaient plus d'intérêt de mise en pratique que les autres.

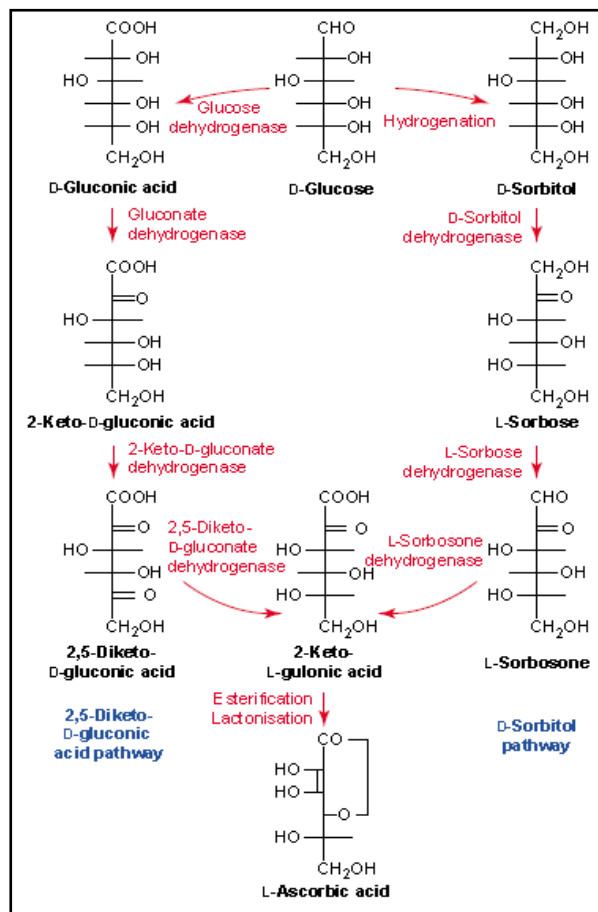


Figure II - 22 : Schéma des deux voies microbiologiques de synthèse de l'acide L-ascorbique élaborées par Hancock et Viola (2002)

Les deux voies de cette synthèse biotechnologique se déroulent en cinq étapes, et ces deux processus conduisent à la formation de l'acide 2-céto-L-gluconique, qui par estérification et lactonisation va donner l'acide-L-ascorbique. Dans le processus de Hancock et Viola (2002), il n'est plus question d'utiliser l'acide sulfurique, l'acétone, le méthanol et l'acide chlorhydrique du procédé Reichstein, qui sont remplacés ici par l'enzyme L-sorbose déhydrogénase dans la voie « D-sorbitol ». De même, le méthanol et l'acide chlorhydrique utilisés dans l'étape 5 du procédé Reichstein sont ici remplacés par les enzymes 2-céto-D-gluconate déhydrogénase et 2,5-dicéto-D-gluconate déhydrogénase dans la voie « 2,5-dicéto-D-gluconate déhydrogénase ».

3.7 Dégradation de la vitamine C

La vitamine C est très sensible aux variations de paramètres physico-chimiques ainsi qu'au milieu dans lequel elle se trouve. En effet, la dégradation de la vitamine C est influencée par la présence d'oxygène, la température, (Lin and Agalloco, 1979, Mesías-García et al., 2010, Hsu et al., 2012, Bosch et al., 2013, Torregrosa et al., 2006, Sapei and Hwa, 2014, Wilson et al., 1995, Esteve et al., 1999, Verbeyst et al., 2013, Hiwilepo-van Hal et al., 2012, Miyawaki et al., 2016), l'intensité lumineuse (Baéz et al., 2012, Hsu et al., 2012, Bosch et al., 2013, Sapei and Hwa, 2014, Pérez et al., 1997), le pH (Golubitskii et al., 2007), l'activité de l'eau (Berlinet et al., 2006, Bosch et al., 2013, Mercali et al., 2014b), le degré Brix (Al-Zubaidy and

Khalil, 2007, Johnson et al., 1995), la présence d'ions métalliques lourds tels que Fe^{2+} ou Cu^{2+} (Lin and Agalloco, 1979, Soares and Hotchkiss, 1999, Bosch et al., 2013), la présence de sucres (Hsu et al., 2012), d'acides aminés, de lipides ou d'enzymes (Mercali et al., 2014b), ou encore de microorganismes (Soares and Hotchkiss, 1999, Marfil et al., 2008). Les conditions de stockage (emballages, temps et températures de stockage, etc...) ont également un effet sur la durée de vie de la vitamine C (Soares and Hotchkiss, 1999, Burdurlu et al., 2006, Van Bree et al., 2012, Al-Zubaidy and Khalil, 2007, Mercali et al., 2012, Torregrosa et al., 2006, Sapei and Hwa, 2014, Remini et al., 2015).

En 1998, Yuan et Chen ont établi un schéma réactionnel de dégradation de l'acide ascorbique en solution modèle selon deux voies principales de dégradations (Yuan and Chen, 1998) : la voie oxydoréductrice (A) et la voie hydrolytique (B) (figure II – 23).

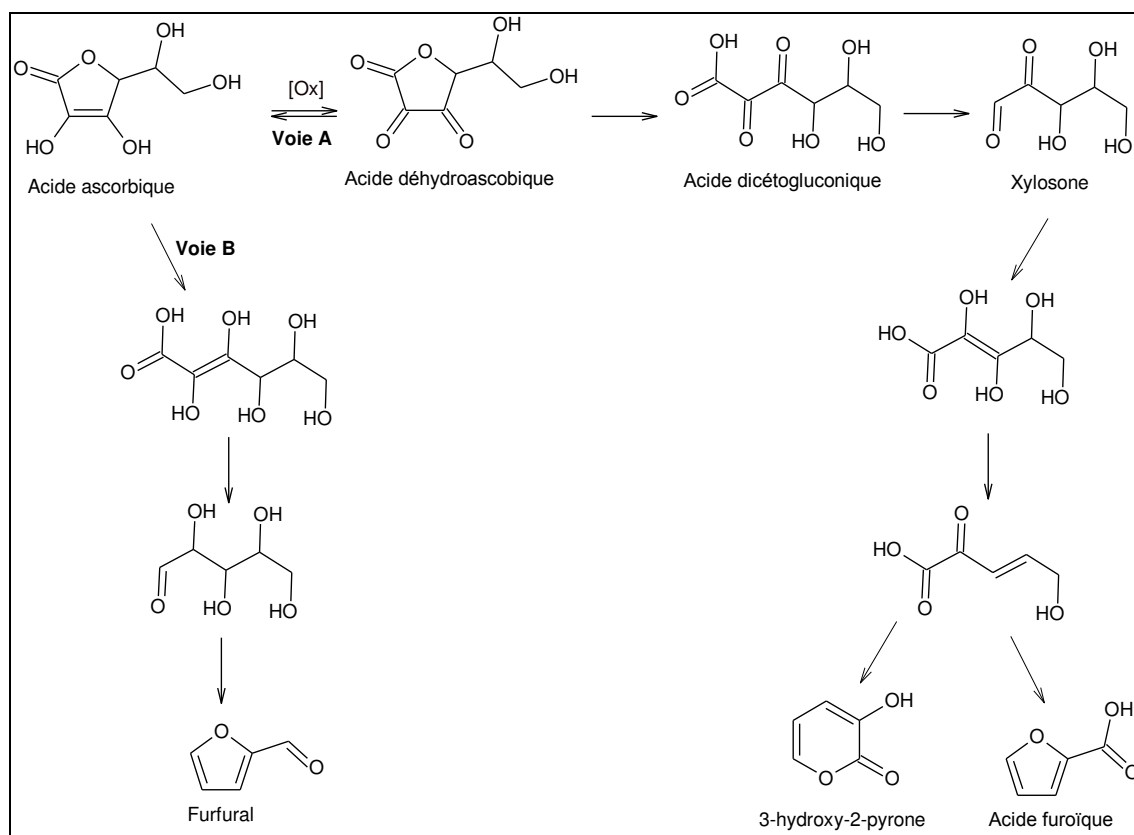


Figure II - 23 : Représentation des voies possibles de dégradation de l'acide ascorbique, adaptée d'après Yuan et Chen (1998)

Les principaux produits finaux au cours de ces processus de dégradation sont le 3-hydroxy-2-pyrone, l'acide furoïque et le furfural.

Plus récemment, Li et al. (2016) ont établi un schéma réactionnel de la voie de dégradation oxydoréductrice de l'AA en fonction du pH (figure II – 24) (Li et al., 2016).

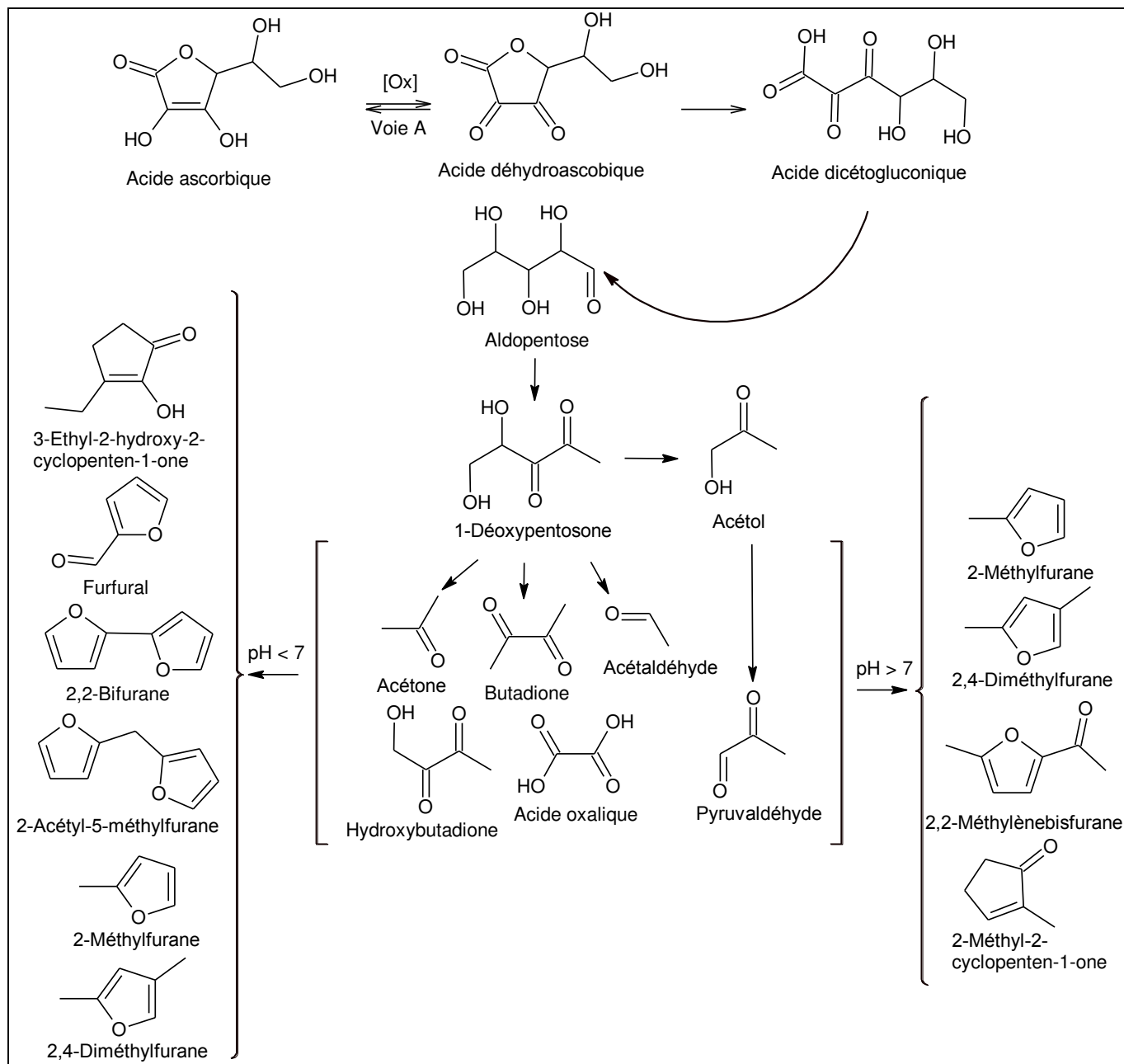


Figure II - 24 : Représentation possible de la voie de dégradation de l'acide ascorbique, adaptée d'après Li et al. (2016)

L'aldopentose formé après décarboxylation du DKGGA va donner le 1-déoxypentose et l'acétol, qui vont conduire à 6 sous-produits : l'acétone, la butadione, l'acétaldéhyde, l'hydroxybutadione, l'acide oxalique et le pyruvaldéhyde. Ces 6 sous-produits peuvent ensuite se condenser pour former des produits finaux qui varient en fonction du pH. Le 2-méthylfuran et le 2,4-diméthylfuran se forment quelle que soit la valeur du pH.

3.7.1 Dégradation de la vitamine C par voie oxydoréductive

La dégradation par voie oxydoréductive se déroule en présence d'un oxydant, généralement l'oxygène. La première étape de dégradation par cette voie est l'oxydation de l'ascorbate (base conjuguée de l'acide ascorbique) par l'oxydant présent dans le milieu. L'oxydant présent dans le milieu va jouer le rôle de

capteur d'électrons afin d'oxyder l'acide ascorbique en acide déhydroascorbique, selon un processus en deux étapes (figure II – 25) (Davey et al., 2000, García-Torres et al., 2009).

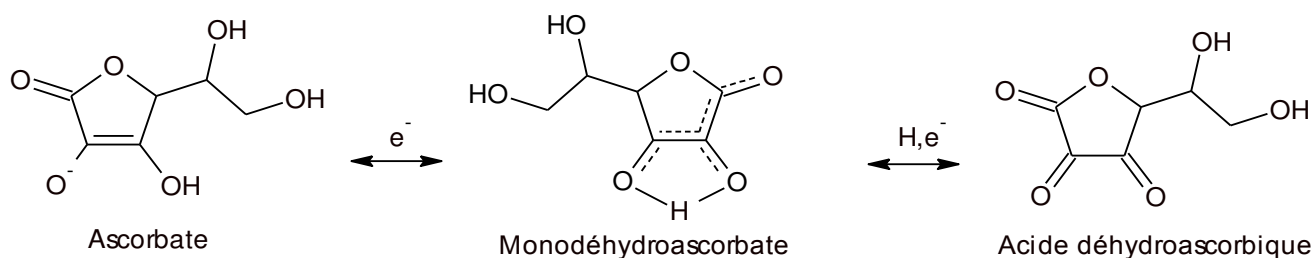


Figure II - 25 : Mécanisme d'oxydation de l'ascorbate en acide déhydroascorbique, adapté d'après Davey et al. (2000) et García-Torres et al. (2009)

Dans la première étape, l'ion ascorbate va perdre un électron pour former le monodéhydroascorbate (MDHA). Le monodéhydroascorbate formé se retrouve en équilibre avec une autre forme, plus stable (figure II – 26) (Davey et al., 2000).

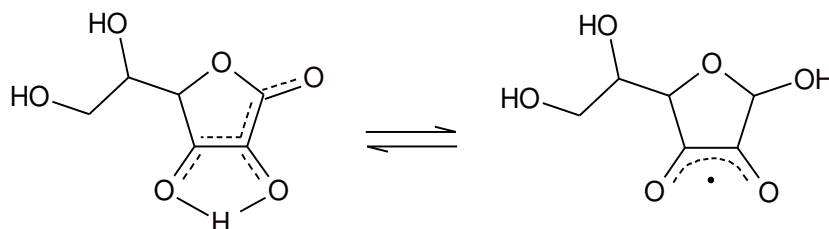


Figure II - 26 : Réaction d'équilibre du MDHA vers sa forme la plus stable

Dans une deuxième étape, le MDHA formé va perdre un électron et un ion H^+ pour former l'acide déhydroascorbique (DHAA). Le DHAA a une activité biologique similaire à celle de l'AA mais cinq fois plus faible (Van Bree et al., 2012).

Le DHAA est très instable en milieu aqueux et subit une ouverture du cycle lactone par hydrolyse pour former l'acide 2,3-dicétogluconique (DKGA) (figure II – 27) (Yuan and Chen, 1998, Shinoda et al., 2004a).

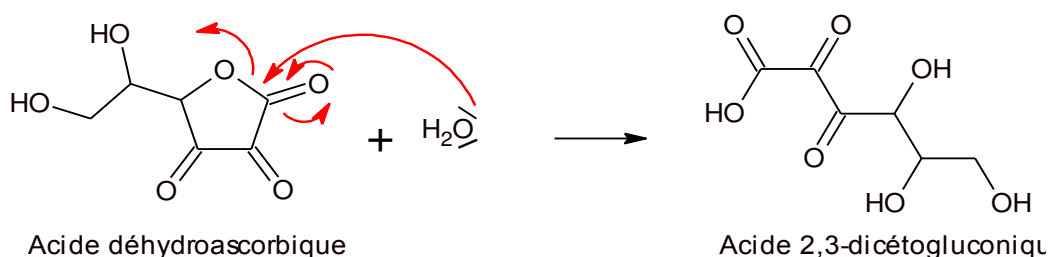


Figure II - 27 : Mécanisme d'hydrolyse du DHAA pour former le DKA

Le DKGA formé est un α,β -dicéto acide, il peut donc subir une décarboxylation relative aux β -céto acides et ainsi former la xylosone (figure II – 28) (Smoot and Nagy, 1980, Shinoda et al., 2004a, Hsu et al., 2012).

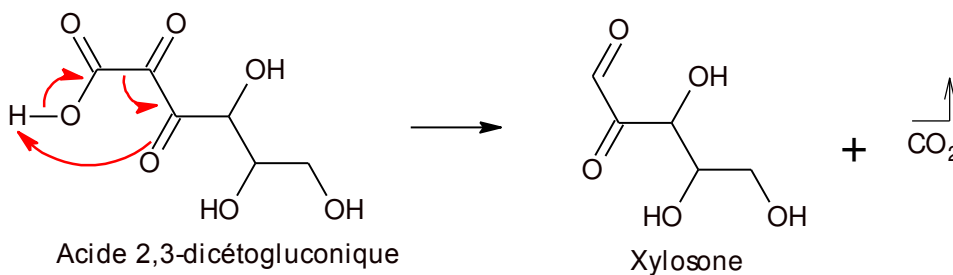


Figure II - 28 : Mécanisme de décarboxylation du DKA en xylosone

La xylosone formée peut ensuite se décomposer en composés furaniques ou en réductones (Shinoda et al., 2004a, Hsu et al., 2012), tels que le 3-hydroxyfurfural ou encore l'acide L-thréo-2-pentulosonique.

A ce jour, la stœchiométrie précise de la réaction de dégradation de l'acide ascorbique par voie oxydoréductive et faisant intervenir l'oxygène est peu connue. Deux hypothèses principales sur la stœchiométrie sont proposées (Oey et al., 2006, Pénicaud et al., 2011) :

- AA + ½ O₂ → DHAA + H₂O (1)
- AA + O₂ → DHAA + H₂O₂ (2)

On considère toujours l'oxygène comme étant directement impliqué dans la réaction d'oxydation de l'acide ascorbique. Cependant, l'oxygène n'agit pas en l'espèce, mais souvent sous forme activé, forme appelée « espèce réactive oxygénée » ou ROS (pour l'anglais Reactive Oxygen Species). Parmi ces ROS, on retrouve le superoxyde O₂^{•-}, l'oxygène singulet ¹O₂, le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ ou encore le radical hydroxyl OH[•], un des ROS les plus réactifs (Davey et al., 2000). La réaction d'oxydation de l'AA est catalysé par des métaux tel que Fe²⁺ (Herbig and Renard, 2017, Serpen and Gökmen, 2007).

L'ion superoxyde O₂^{•-} est naturellement produit dans toutes les cellules des êtres vivants respirant du dioxygène (Davey et al., 2000). Cet ion se forme naturellement par réaction directe du dioxygène avec certains métaux, d'où l'effet catalytique observé en présence de métaux sur la réaction d'oxydation de l'AA. Le superoxyde est thermodynamiquement instable et se dismute en peroxyde d'hydrogène et dioxygène par réaction avec deux protons, selon l'équation bilan suivante : 2O₂^{•-} + 2H⁺ → H₂O₂ + O₂.

De ce fait, la réaction d'oxydation de l'acide ascorbique en acide déhydroascorbique par l'oxygène décrite par l'équation bilan (2) est plus probable que celle décrite par l'équation bilan (1).

3.7.2 Dégradation de la vitamine C par voie hydrolytique

La dégradation par voie hydrolytique est le processus de dégradation mis en jeu sous atmosphère inerte (en l'absence d'oxygène). L'acide ascorbique subit donc dans une première étape un clivage direct du cycle lactone par hydrolyse, sans oxydation préalable en acide déhydroascorbique (figure II – 29) (Smoot and Nagy, 1980, Van den Broeck et al., 1998).

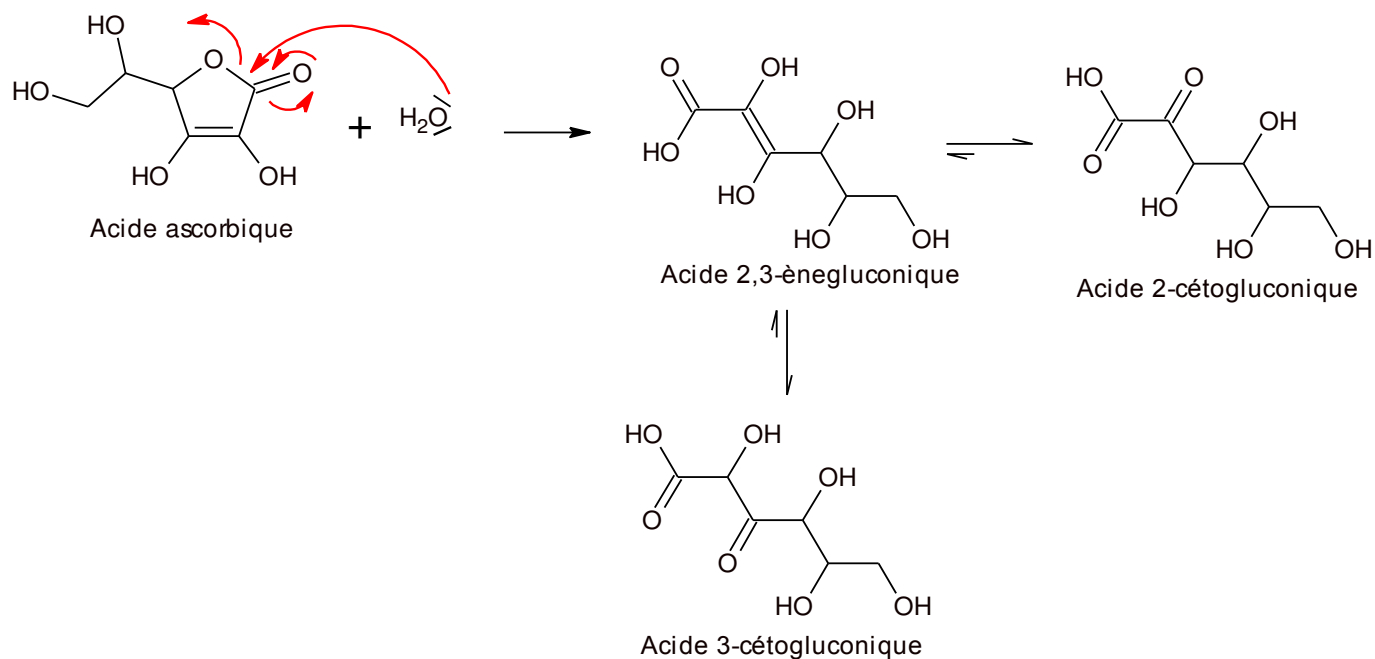


Figure II - 29 : Mécanisme d'hydrolyse de l'AA en acide 2,3-ènégluconique

L'acide 2,3-ènégluconique formé est en équilibre tautomérique vers ses deux formes les plus stables, l'acide 2-cétogluconique (2-KA) et l'acide 3-cétogluconique (3-KA). Le 3-KA étant un β-céto acide, il peut facilement subir une décarboxylation pour former du xylose (figure II – 30) (Smoot and Nagy, 1980).

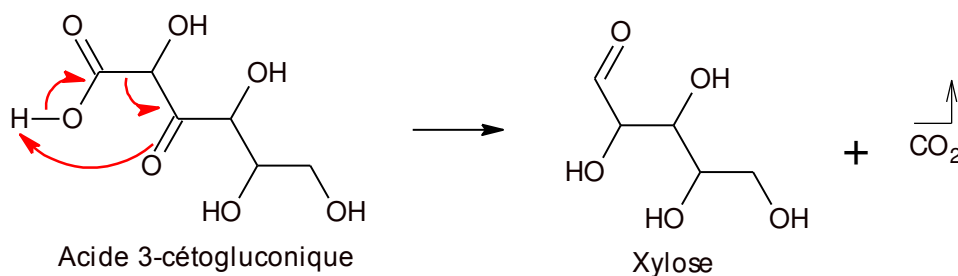


Figure II - 30 : Mécanisme de décarboxylation du 3-KA en xylose

Le xylose formé peut ensuite se dégrader pour donner des composés furaniques, ou encore s'oxyder directement en acide L-thréo-2-pentalusonique.

En présence d'oxydant, la dégradation par voie hydrolytique survient simultanément mais plus lentement que la dégradation par voie oxydoréductrice (Rojas and Gerschenson, 1997, Soares and Hotchkiss, 1999).

3.7.3 Produits de dégradations de la vitamine C

A ce jour, plus de cinquante produits de dégradations de l'AA en milieu alcalin oxydatif ont été décrits dans la littérature (Niemelä, 1987, Bradshaw et al., 2001). En 1987, Niemelä a identifié plus de 50 produits de dégradations de l'AA en milieu alcalin oxydatif (pH = 8 ; 10 et 12), dont 32 acides carboxyliques, par chromatographie gaz-liquide couplée à un détecteur de ionisation par flamme (figure II – 31) (Niemelä, 1987). Il est important de connaître la décomposition de l'AA en milieu alcalin

oxydatif et non-oxydatif car des produits de dégradation similaires à ceux identifiés par Niemelä (1987) sont formés au cours du métabolisme de l'AA.

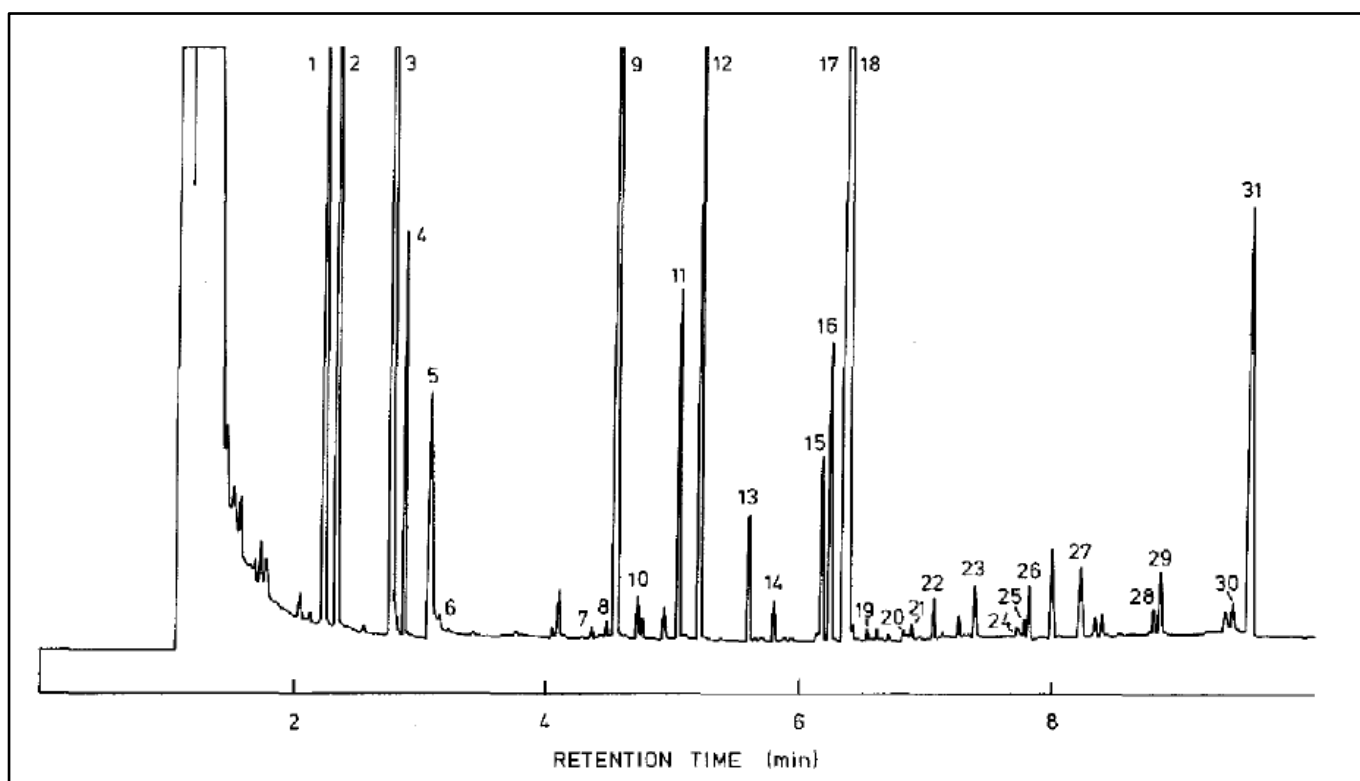


Figure II - 31 : Chromatogramme GLC (Gaz-liquid Chromatography) de séparation des acides carboxyliques obtenus après traitement de l'AA à 110 °C en milieu alcalin oxydatif, d'après Niemeliä (1987)

La liste des produits de dégradation identifié par Niemeliä (1987) est listé ci-dessous (tableau II – 6).

Tableau II – 6 : Liste des composés identifiés par Nemeliä (1987) au cours de la dégradation de l'acide ascorbique en milieux alcalin

Pic	Composé
1	Acide lactique (identifié aussi par Malinen & Sjöström, 1975)
2	Acide glycolique (identifié aussi par Malinen & Sjöström, 1975)
3	Acide oxalique (identifié aussi par Szultka et <i>al.</i> , 2014 ; Li et <i>al.</i> , 2016)
4	Acide 3-hydroxypropanoïque
5	Non identifié (masse molaire : 324 g/mol)
6	Dodécaméthylpentasiloxane (artéfact)
7	Acide succinique
8	Acide 2-C-méthylglycérique
9	Acide glycérique (identifié aussi par Malinen & Sjöström, 1975)
10	Acide C-méthyltartrique
11	Acide tartrique
12	Acide 3-déoxytétraïque (identifié aussi par Malinen & Sjöström, 1975)
13	Acide dihydroxymalonique
14	Acide malique
15	Non identifié
16	Acide érythrone (identifié aussi par Malinen & Sjöström, 1975)
17	Acide C-(hydroxyméthyl)tartrique
18	Acide thréone (identifié aussi par Szultka et <i>al.</i> , 2014 ; Malinen & Sjöström, 1975)
19	Acide érythrarique
20	Acide thréarique
21	Acide thréo-2-pentulosonique
22	Acide C-(2-hydroxyméthyl)tartrique
23	Acide 2-C-carboxy-3-déoxytétraïque
24	Acide xylonique (identifié aussi par Malinen & Sjöström, 1975)
25	Acide lyxonique (identifié aussi par Malinen & Sjöström, 1975)
26	Acide C-(1,2-dihydroxyéthyl)tartrique
27	Acide 2-C-carboxytétraïque
28	Acide 2-C-carboxy-3-déoxypentatrique
29	Acide ascorbique
30	Acide C-(érythro-1,2,3-trihydroxypropyl)tartrique
31	Acide C-(thréo-1,2,3-trihydroxypropyl)tartrique

*En rouge : composés pouvant provenir de la dégradation de l'AA par voie oxydoréductive et hydrolytique, à partir du xylose ou de la xylosone

3.7.3.1 Les principaux acides carboxyliques

Parmi les acides carboxyliques formés en milieu alcalin, les sept acides majoritaires obtenus sont l'acide oxalique (pic 3), l'acide glycérique (pic 9), l'acide L-thréonique (pic 18), l'acide L-thréo-2-pentulosonique (pic 21), l'acide L-xylonique (pic 24), l'acide L-lyxonique (pic 25) et l'acide C-(L-thréo-1,2,3-trihydroxypropyl)tartronique (pic 31). Tous ces acides proviennent de la décomposition l'acide 2,3-dicétogluconique.

Formation de l'acide L-thréo-2-pentulosonique

L'acide L-thréo-2-pentulosonique se forme par décarboxylation du DKGA, le DKGA étant un β -cétacide (figure II – 32).

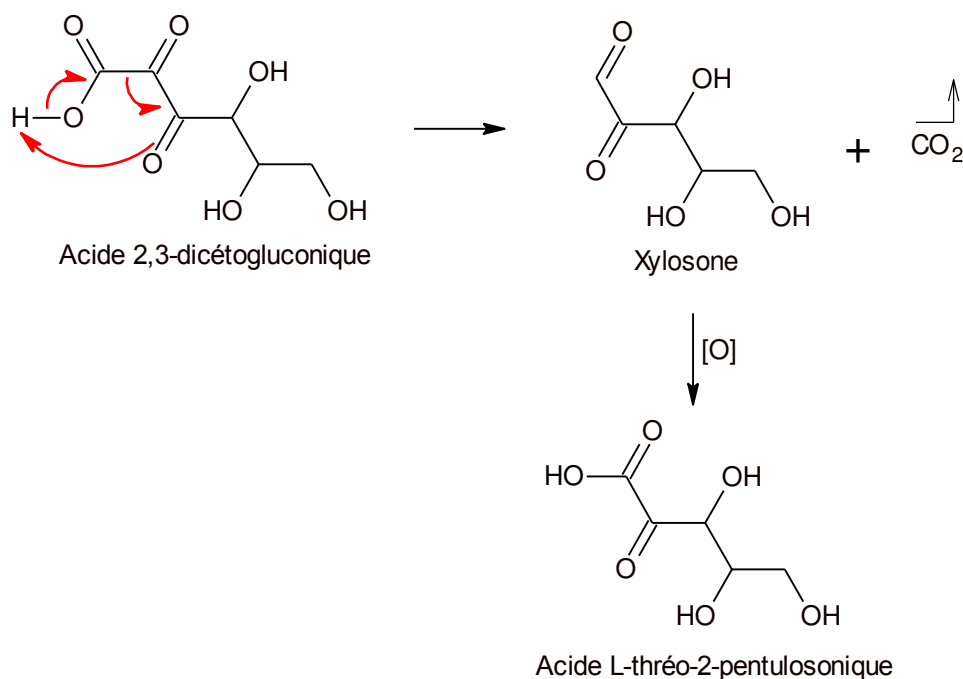


Figure II - 32 : Mécanisme proposé pour la formation de l'acide L-thréo-2-pentulosonique à partir du DKG

Dans un premier temps, le DKGA va subir une décarboxylation relative aux β -cétacides pour former le xylosone (composé aldéhydique). Etant donné que le milieu est oxydant, il est impossible de s'arrêter à l'aldéhyde, ce dernier va donc directement s'oxyder en l'acide L-thréo-2-pentulosonique (composé acide carboxylique). De plus, la décarboxylation du DKGA est catalysée en milieu basique (Cooper et al., 1983).

Formation de l'acide L-thréonique et de l'acide oxalique

L'acide L-thréonique et l'acide oxalique peuvent provenir directement de la décomposition du DKGA (figure II – 33) (Lin and Agalloco, 1979, Niemelä, 1987, Parsons and Fry, 2012, Szultka et al., 2014, Lloyd et al., 1987, Parsons et al., 2011).

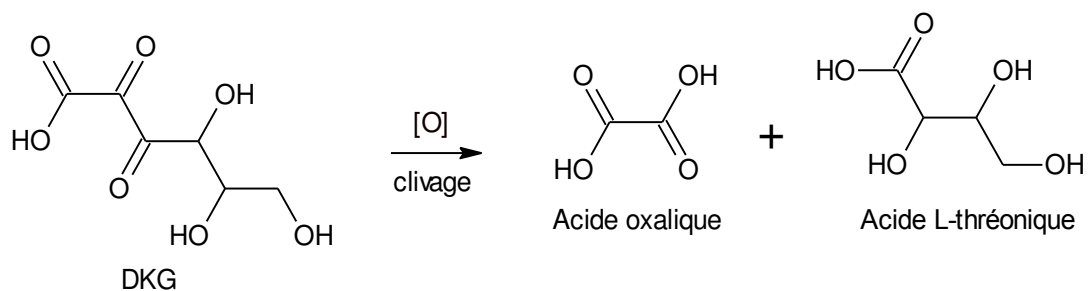


Figure II - 33 : Formation de l'acide L-thréonique et de l'acide oxalique à partir du DKGA

Le DKGA subit un clivage oxydatif pour former les acides thréonique et oxalique.

L'acide L-thréonique peut également provenir de la décarboxylation de l'acide L-thréo-2-pentalusonique (figure II – 34).

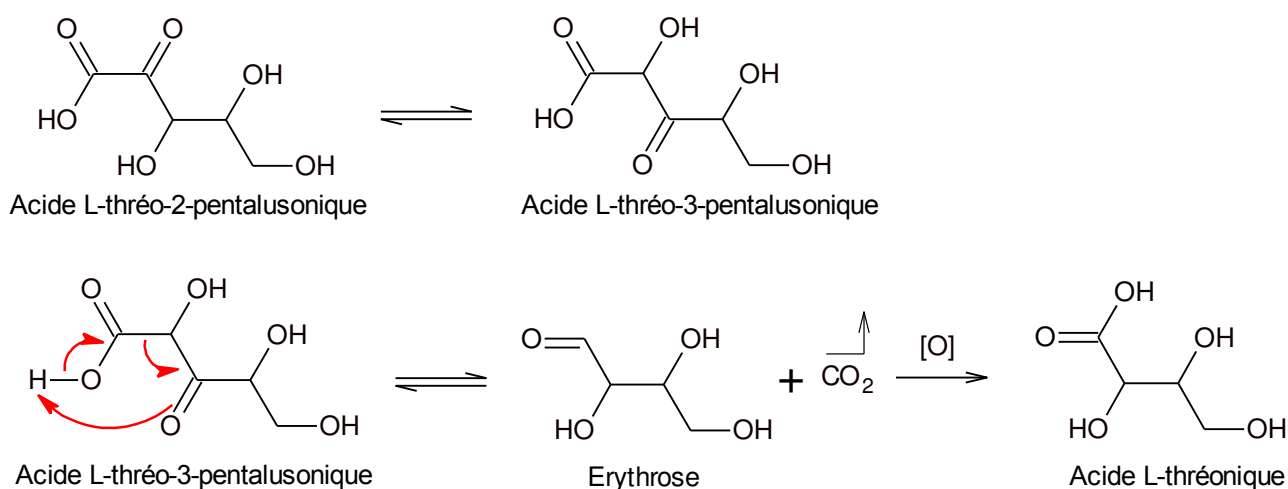


Figure II - 34 : Mécanisme proposé pour la formation de l'acide L-thréonique à partir de l'acide L-thréo-2-pentalusonique

L'acide L-thréo-2-pentalusonique est en équilibre avec la forme acide L-thréo-3-pentalusonique qui est un β-céto acide, et qui peut donc subir une décarboxylation pour former l'érythrose. L'érythrose est un aldéhyde et étant donné que le milieu est oxydatif, il est impossible de s'arrêter à l'aldéhyde, l'érythrose va donc instantanément s'oxyder en acide L-thréonique.

Formation de l'acide L-xylonique et de l'acide L-lyxonique

Les acides L-xylonique et L-lyxonique sont des stéréoisomères de configuration. Ils ne diffèrent que par la configuration absolue d'un atome de carbone asymétrique (figure II – 35).

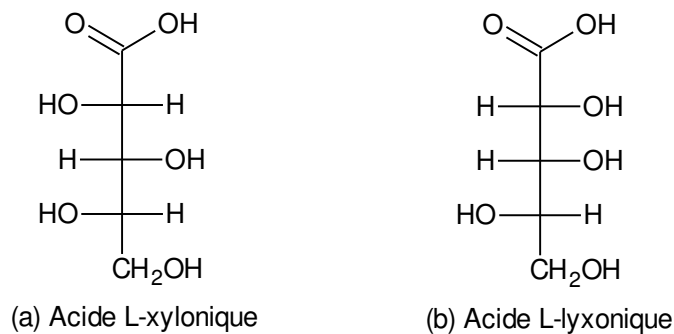


Figure II - 35 : Structures chimiques de (a) l'acide L-xylonique et de (b) l'acide L-lyxonique

Après la décarboxylation du DKGA, ces deux composés se forment après réarrangement du xylosone formé avant que ce dernier ne s'oxyde en acide L-thréo-2-pentalusonique (figure II – 36).

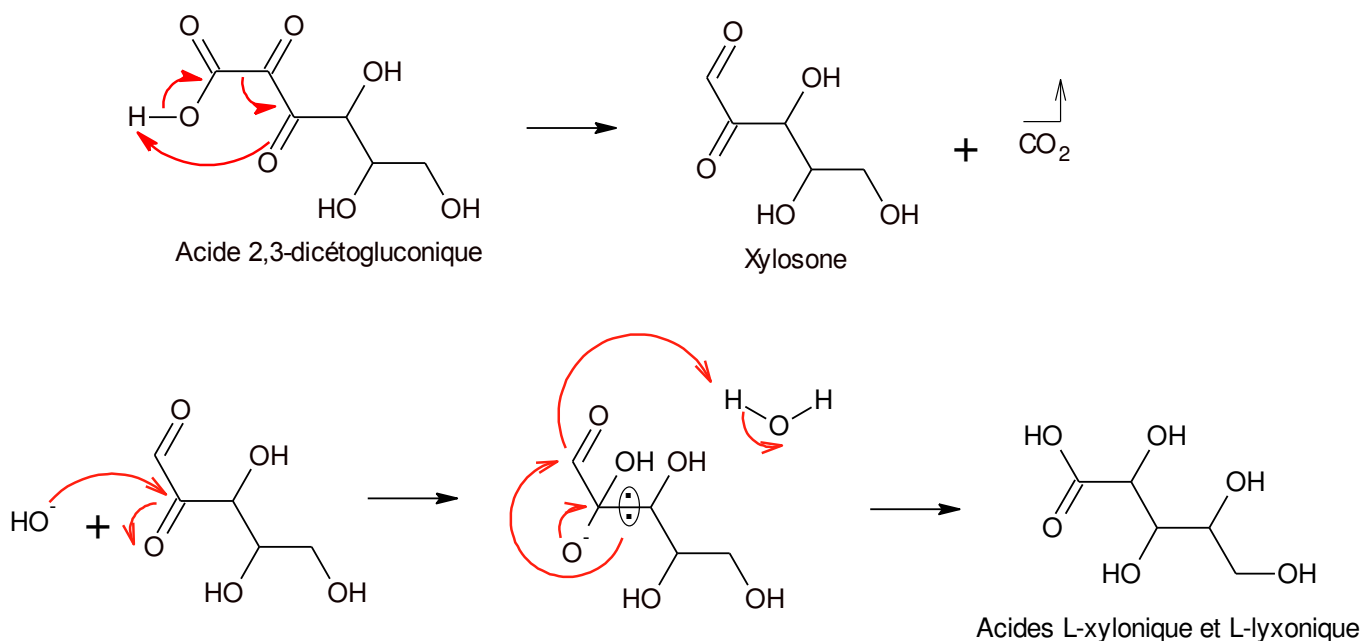


Figure II - 36 : Mécanisme proposé pour la formation des acides L-xylonique et L-lyxonique

Le xylosone formé subit une attaque nucléophile par l'ion hydroxyle pour former un intermédiaire anionique, qui va ensuite subir un réarrangement de type « réarrangement benzylique » (Niemelä, 1987) avec migration du groupement glycéryl sur le groupement carbonyle de la fonction aldéhyde de l'intermédiaire anionique, pour former ainsi les acides L-xylonique et L-lyxonique.

Formation de l'acide C-(L-thréo-1,2,3-trihydroxypropyl)tartronique

L'acide C-(L-thréo-1,2,3-trihydroxypropyl)tartronique provient directement d'un réarrangement du DKGA (figure II – 37).

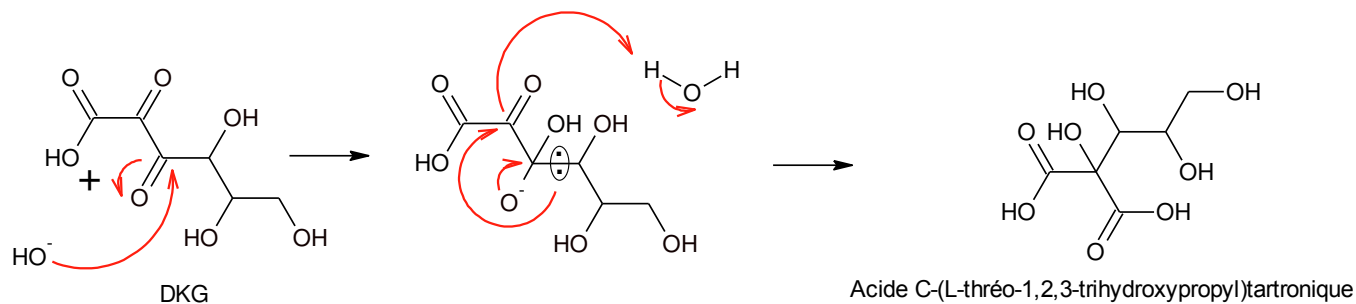


Figure II - 37 : Mécanisme proposé pour la formation de l'acide C-(L-thréo-1,2,3-trihydroxypropyl)tartronique

Une fois que le DKG est formé par hydrolyse du DHAA, ce composé peut subir une attaque nucléophile par l'ion hydroxyle pour former un intermédiaire anionique, qui va ensuite subir un réarrangement de type « réarrangement benzylique » (Niemelä, 1987) avec migration du groupement glycéryl sur le groupement carbonyle en alpha de la fonction acide carboxylique, pour former l'acide C-(L-thréo-1,2,3-trihydroxypropyl)tartronique. Ce processus est identique à celui de la formation des acides L-xylosonique et L-lyxonique à partir du xylosone.

Formation de l'acide glycérique

L'acide glycérique provient de l'intermédiaire acide L-glycéro-2,3-pentodiulosonique généré par oxydation du xylosone formé après décarboxylation du DKG (figure II – 38) (Niemelä, 1987).

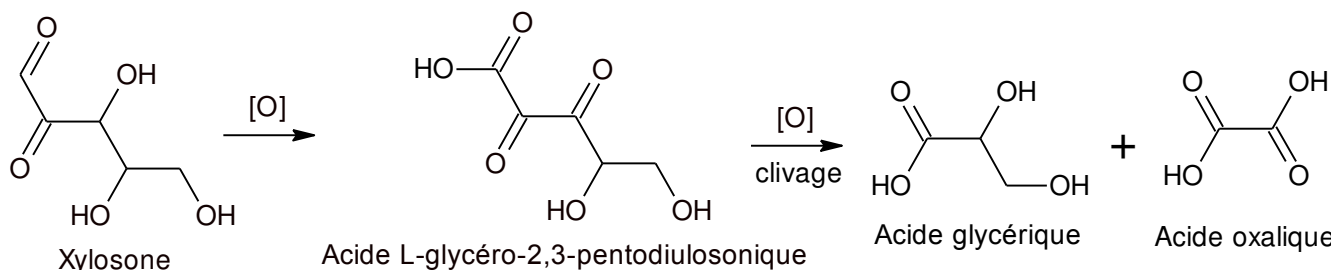


Figure II - 38 : Formation de l'acide glycérique à partir du xylosone

L'acide L-glycéro-2,3-pentodiulosonique subit un clivage oxydatif pour former l'acide glycérique et l'acide oxalique (Malinen and Sjöström, 1975, Niemelä, 1987).

3.7.3.2 Les composés furaniques et le 3-hydroxy-2-pyrone

Lorsque la vitamine C est dégradée en milieu neutre ou acide, elle conduit majoritairement à des composés furaniques, qui peuvent être issus des acides carboxyliques et aldéhydes formés durant le processus.

Les principaux produits de dégradations finaux de la vitamine C sont le furfural, le 3-hydroxyfurfural (3-HF), l'acide 2-furoïque (2-FA), et le 3-hydroxy-2-pyrone (3-OH-2-P) (Smoot and Nagy, 1980, Shinoda et al., 2004a).

Formation du furfural

Le furfural est un dérivé de la décomposition des pentoses et d'acides aldoniques (Kanner et al., 1981). Dans le cas de la dégradation de l'AA, le furfural proviendrait de la déshydratation du xylose (figure II – 39) (Li et al., 1989). C'est un des produits majoritaires de la dégradation de l'AA par voie hydrolytique (Kanner et al., 1981, Yuan and Chen, 1998, Shinoda et al., 2004a, Hsu et al., 2012). Ce composé contribue au brunissement des matrices alimentaires, ce qui limite leur durée de vie (Al-Zubaidy and Khalil, 2007).

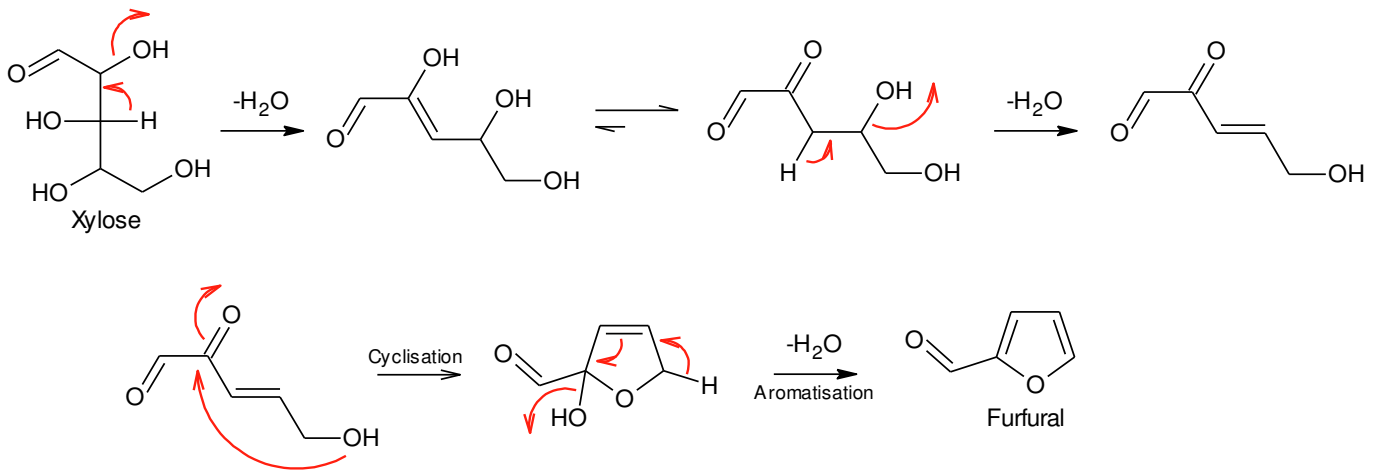


Figure II - 39 : Mécanisme proposé pour la formation du furfural à partir du xylose.

Le xylose subit dans un premier temps deux étapes de déshydratation consécutives. Ensuite, l'intermédiaire formé va se cycliser pour former un intermédiaire hydroxyfurfurylique, qui va ensuite se déshydrater pour former le furfural, la force motrice de cette étape étant l'aromatisation du composé.

Formation du 3-hydroxyfurfural

Le 3-HF provient du xylosone (Smoot and Nagy, 1980), produit formé lors de la décarboxylation du DKGA au cours de la dégradation de l'AA par voie oxydoréductive (figure II – 40).

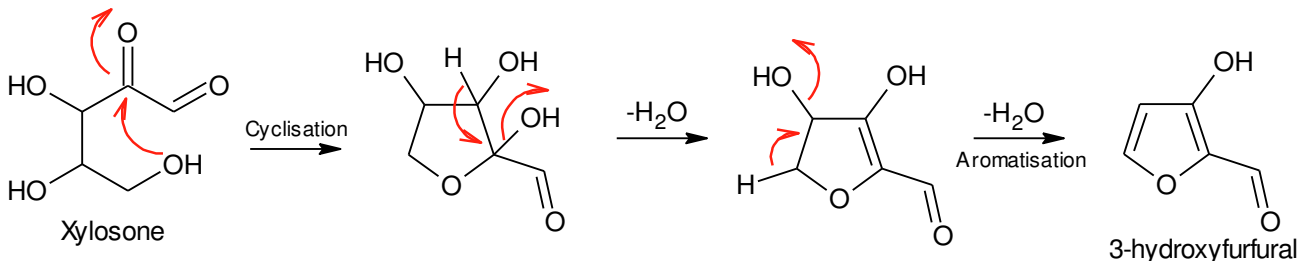


Figure II - 40 : Mécanisme proposé pour la formation du 3-hydroxyfurfural

Le xylosone se cyclise dans une première étape. La deuxième étape correspondant à la déshydratation du xylosone cyclique est favorisée à cause par de l'encombrement stérique en position 2 entre le groupement hydroxyle et le groupement formyle. Puis, dans une troisième étape, l'intermédiaire formé

après la première déshydratation subit également une déshydratation pour former le 3-HF, l'aromatisation étant la force motrice de cette étape.

Formation de l'acide 2-furoïque

Le 2-FA est formé au cours de la dégradation de l'AA par voie oxydoréductive (Yuan and Chen, 1998, Hsu et al., 2012). Il est issu de la forme oxydée du xylose, l'acide xyloquinique (figure II – 41). Le processus de formation du 2-FA est similaire au processus de formation du furfural.

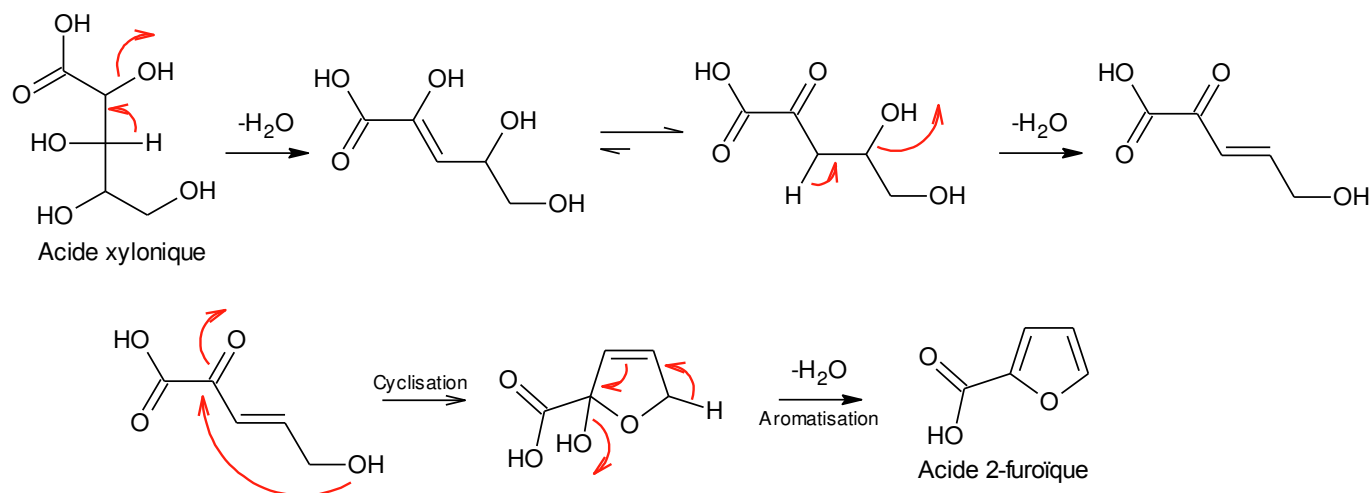


Figure II - 41 : Mécanisme proposé pour la formation de l'acide 2-furoïque

Comme dans le cas du xylose, l'acide xyloquinique subit deux étapes de déshydratation puis une étape de cyclisation, et dans une dernière étape, une autre déshydratation dont la force motrice est l'aromatisation du composé.

Formation du furane

L'acide ascorbique est une source primaire de production de furane au cours des traitements thermiques (Fan, 2005, Mesías-García et al., 2010). La prise en compte de cette propriété de l'AA d'être un précurseur dans la formation du furane est capitale du fait de la toxicité de ce composé, le furane étant classé cancérigène pour l'homme par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) (Locas and Yaylayan, 2004, Fan, 2005, Märk et al., 2006, Owczarek-Fendor et al., 2010). De plus, le furane étant un composé volatil, il peut s'accumuler dans l'espace de tête des boîtes de conserve ou des pots lors de processus de traitements thermiques (Mogol and Gökmen, 2013, Owczarek-Fendor et al., 2010). Le furane peut être issu de la dégradation de l'AA par voie hydrolytique ou oxydoréductive (Locas and Yaylayan, 2004, Märk et al., 2006, Mogol and Gökmen, 2013). Par voie hydrolytique, le furane provient de l'acide 2,3-ènégluconique et par voie oxydoréductive, le furane provient du xylosone (figure II – 42).

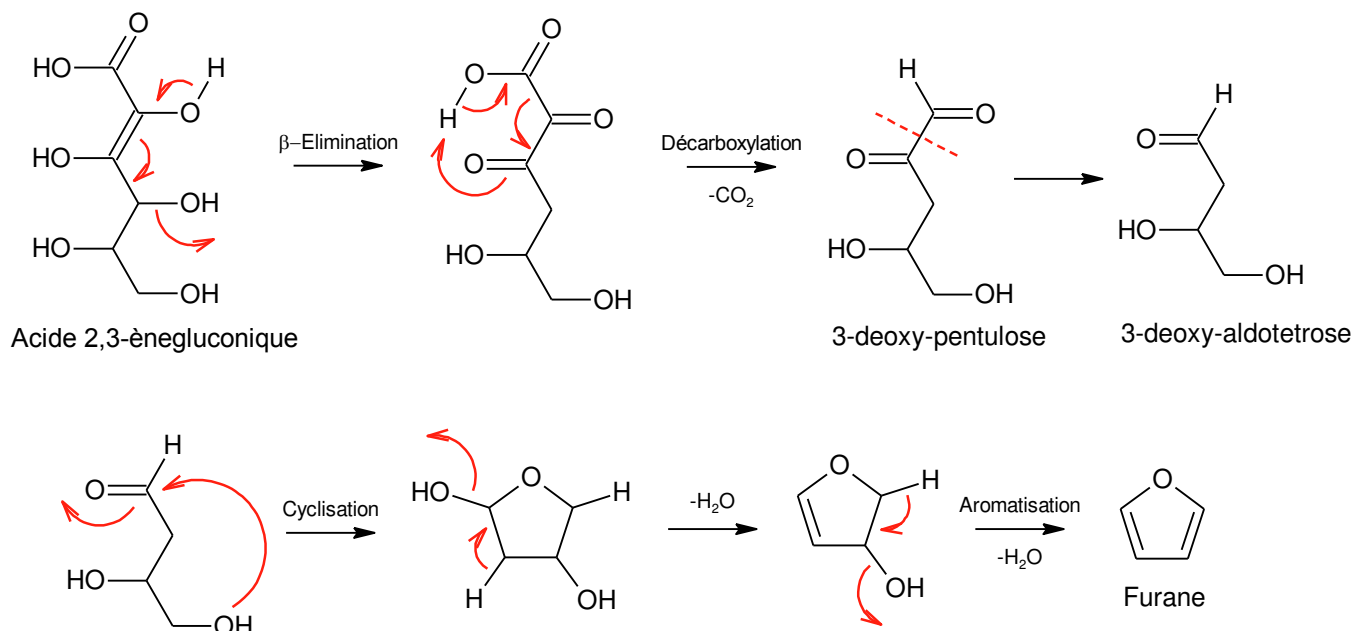


Figure II - 42 : Mécanisme proposé pour la formation du furane par voie hydrolytique, adaptée d'après Locas et Yaylayan (2004), Märk et al. (2006) et Mogol et Gökmen (2013)

Dans une première étape, l'acide 2,3-ène-gluconique subit une β -élimination d'eau pour former un intermédiaire qui va directement subir une décarboxylation relative aux β -cétoacides pour former le 3-déoxy-pentulose. Ce composé va ensuite subir un clivage oxydatif pour former le 3-déoxy-aldotérose. Cet intermédiaire va ensuite se cycliser selon un processus 5-exo-trig, favorisé par les règles de Baldwin, pour former un composé de type tétrahydrofurane, qui va ensuite subir une première déshydratation pour former un composé de type dihydrofurane, puis une deuxième déshydratation pour former le furane, l'aromatisation étant ici la force motrice de la dernière étape (figure II – 43).

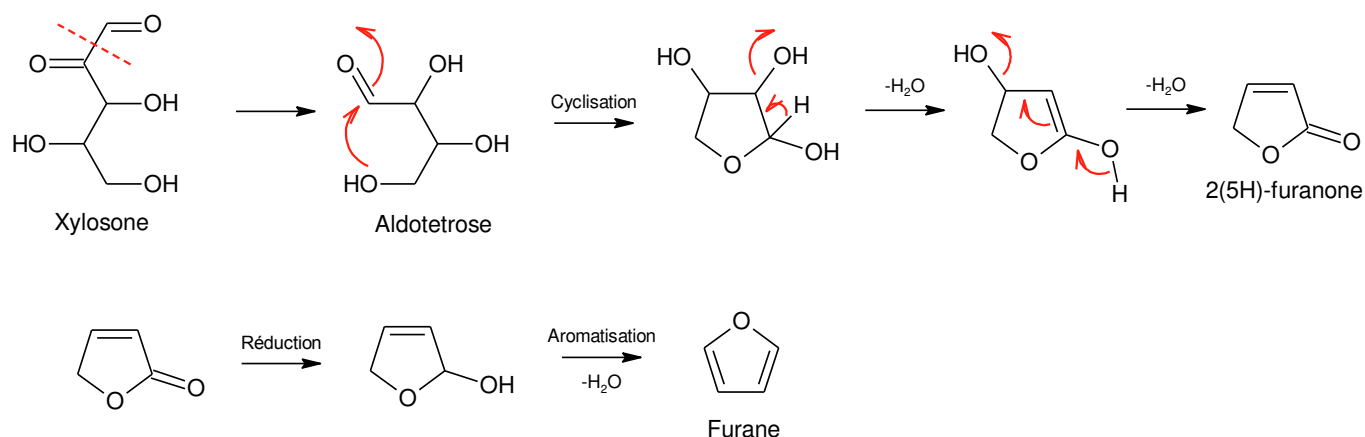


Figure II - 43 : Mécanisme proposé pour la formation du furane par voie oxydoréductive, adaptée d'après Locas et Yaylayan (2004), Märk et al. (2006) et Mogol et Gökmen (2013)

Dans une première étape, le xylosone subit un clivage oxydatif pour former l'aldotérose, qui va ensuite se cycliser selon un processus 5-exo-trig qui est favorisé par les règles de Baldwin. L'intermédiaire type tétrahydrofurane formé subit ensuite deux étapes successives de déshydratation pour former la 2(5H)-

furanone. Ce composé va ensuite se réduire, puis subir une étape de déshydratation pour former le furane, la force motrice de cette dernière étape étant l'aromatisation.

Formation du 3-hydroxy-2-pyrone

Le 3-OH-2-P est issu du xylosone, après décarboxylation du DKGA. Le 3-OH-2-P provient donc de la dégradation de l'AA par voie oxydoréductive (figure II – 44) (Yuan and Chen, 1998, Hsu et al., 2012). Le 3-OH-2-P peut être considéré comme indicateur de la dégradation de l'AA dans un système aqueux (Hsu et al., 2012).

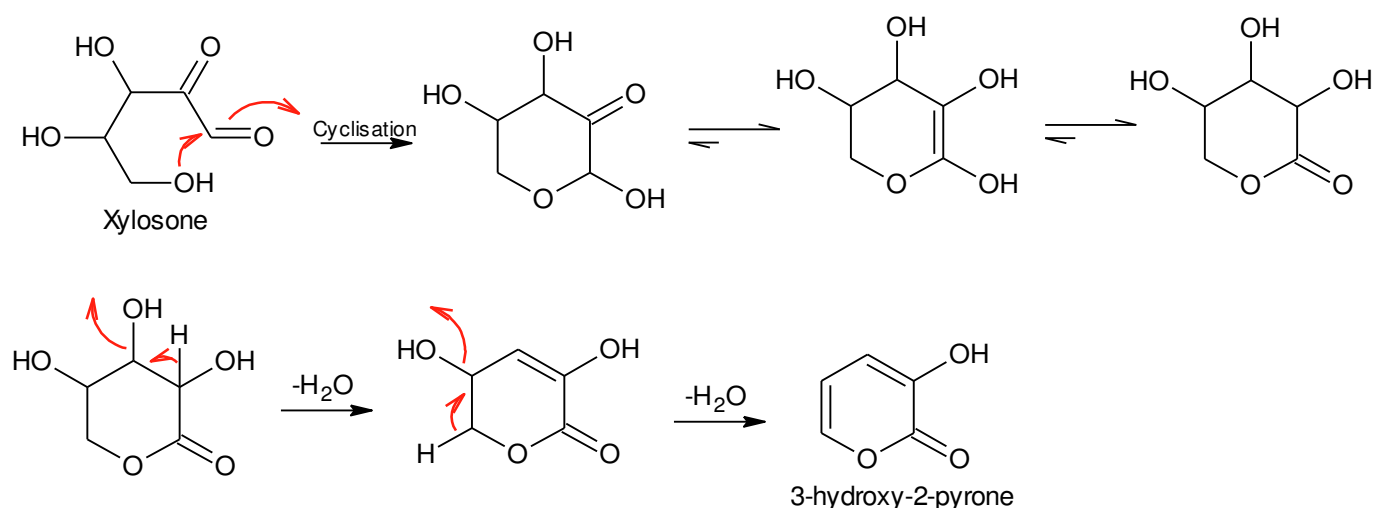


Figure II - 44 : Mécanisme proposé pour la formation du 3-hydroxy-2-pyrone à partir du xylosone

Dans un premier temps, le xylosone peut subir une cyclisation de type 6-exo-trig, favorisée selon les règles de Baldwin, tout comme une cyclisation 5-exo-trig également favorisée selon les règles de Baldwin (comme pour la formation du 3-HF). Suite à cette cyclisation, le composé de type tétrahydropyrane obtenu avec le groupement carbonyle en position 3 se tautomérise vers sa forme la plus stable, c'est-à-dire un composé de type tétrahydropyrane avec le groupement carbonyle en 2. Ce composé est plus stable grâce à la conjugaison du groupement carbonyle avec les doublets non liants de l'atome d'oxygène du cycle. Ce composé, assez encombré d'un point de vue stérique, subit une première déshydratation, également favorisée par la création d'un système d'électrons π conjugués. La deuxième déshydratation est quant à elle favorisée par le fait qu'elle engendre la création d'un système à six électrons π conjugués, ce qui est la force motrice de cette étape de formation du 3-OH-2-P.

Une autre possibilité de mécanisme de formation serait l'estérification intramoléculaire de l'intermédiaire formé après deux déshydratations successives de l'acide xylonique (figure II – 45).

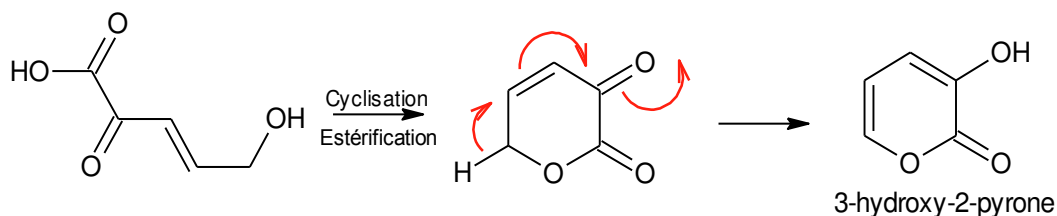


Figure II - 45 : Autre mécanisme proposé pour la formation du 3-hydroxy-2-pyrone à partir de l'intermédiaire issu de la deuxième déshydratation du glucose

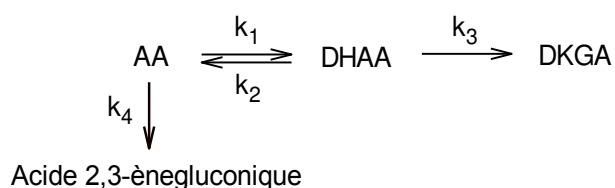
Après l'étape d'estérification survient une étape de perte de proton. Cette perte de proton va engendrer la formation d'un système à six électrons π conjugués, ce qui est la force motrice de cette étape de formation du 3-OH-2-P.

3.7.4 Facteurs influençant la dégradation de la vitamine C

La dégradation de la vitamine C est influencée par plusieurs facteurs physico-chimiques mais également par le milieu dans laquelle elle se trouve (Lin and Agalloco, 1979). Selon les conditions dans lesquelles la vitamine C est stockée ou traitée, elle peut se dégrader selon plusieurs voies de dégradation et à différentes vitesses (Smoot and Nagy, 1980, Baéz et al., 2012). En raison de sa haute sensibilité physico-chimique, la vitamine C est considérée comme un marqueur de qualité nutritionnelle (Van den Broeck et al., 1998, Van Bree et al., 2012, Mercali et al., 2012, Plaza et al., 2006, Sapei and Hwa, 2014, Esteve et al., 1999, Verbeyst et al., 2013).

3.7.4.1 Influence de la température

La vitamine C est très sensible à la température, et donc inéluctablement au chauffage (Baéz et al., 2012, Delchier et al., 2012, Rojas and Gerschenson, 1997, Castro et al., 2004). En effet, plus la température augmente, plus la vitamine C a tendance à se dégrader. La vitamine C est donc un composé thermolabile (Vieira et al., 2000, Van Bree et al., 2012). En solution aqueuse, la réaction de dégradation peut être résumée par :



avec k_1 la constante de vitesse de la réaction d'oxydation de l'AA en DHAA si un oxydant est présent dans le milieu, k_2 la constante de vitesse de la réaction de réduction du DHAA en AA, k_3 la constante de vitesse de la réaction d'hydrolyse du DHAA en DKGA, et k_4 la constante de vitesse de l'hydrolyse de l'AA en acide 2,3-ènégluconique s'il n'y pas d'oxydant dans le milieu. Plus la température augmente, plus les constantes de vitesse augmentent. Comme la dégradation du DHAA en DKGA est plus rapide que la dégradation de l'AA en DHAA (Van Bree et al., 2012), $k_3 > k_1$, et k_1 et $k_3 \gg k_2$ à haute température et en milieu oxydant (Serpen and Gökmen, 2007), l'équilibre de la réaction sera déplacé vers la droite. En milieu

réducteur, $k_2 \gg k_1$ et l'équilibre de la réaction sera déplacé vers la gauche (Serpen and Gökmen, 2007). La prise en considération de la température est très importante dans le cadre de ce projet car la majorité des processus de stérilisation de légumes transformés sont des processus thermiques supérieurs à 100 °C.

3.7.4.2 Influence de l'oxygène

La vitamine C, sous sa forme ascorbate, est un excellent donneur d'électrons (Rumsey and Levine, 1998). En présence d'oxygène, ce dernier peut s'oxyder jusqu'à former le DHAA au cours d'une dégradation par voie dite aérobie, qui est une voie oxydoréductive. De ce fait, plus il y a de l'oxygène dissous dans le milieu contenant de la vitamine C, plus la réaction d'oxydation sera favorisée. Cela peut notamment se remarquer lors du stockage, en fonction de l'espace de tête présent dans les récipients utilisés à cet effet. Plus l'espace de tête est important, plus la dégradation de la vitamine C est prononcée (Bradshaw et al., 2001, Pénicaud et al., 2011, Van Bree et al., 2012). Dans une solution, la solubilité de l'oxygène augmente avec la pression et diminue avec la température et la salinité (García-Torres et al., 2009). En matrice alimentaire, le degré Brix et les matières grasses ont une influence importante sur la solubilité de l'oxygène (Pénicaud et al., 2012).

En 2012, Van Bree et *al.* ont étudié l'influence de la concentration en oxygène présente dans un espace de tête sur la dégradation de l'AA en solution modèle et dans les jus de fruits (figure II – 46) (Van Bree et al., 2012), démontrant une relation entre la vitesse de dégradation de l'AA et la teneur en oxygène dans l'espace de tête. Plus la concentration d'oxygène dans l'espace de tête est importante, plus la dégradation de l'AA est rapide.

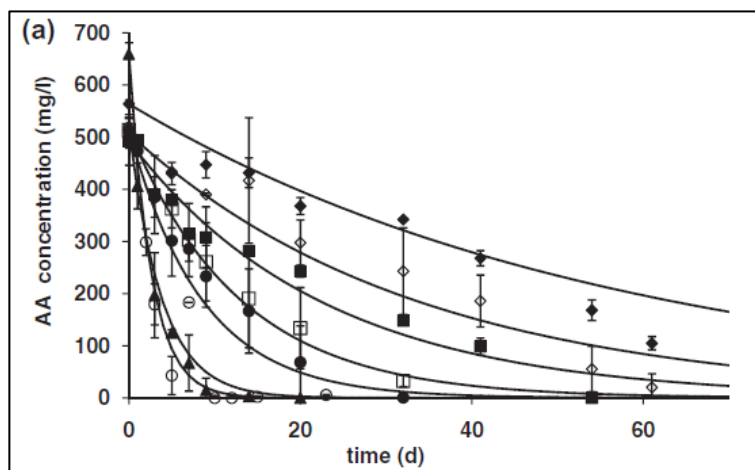


Figure II - 46 : Evolution de la concentration en vitamine C dans une solution modèle de jus de fruits, à différentes concentration en oxygène dans l'espace de tête à 22 °C, avec ♦ 0,03 %, ◇ 0,63 %, ■ 1,17 %, □ 2,78 %, ● 4,84 %, ○ 10,02 % et ▲ 20,9 %, d'après Van Bree et *al.* (2012)

Dans ce cas de figure, la dégradation de l'AA a été modélisé par une cinétique d'ordre 1. Une modélisation d'ordre 1 signifie ici que l'oxygène n'a pas été pris en compte directement en l'intégrant dans le modèle, mais des constantes de cinétiques apparentes ont été déterminé et leur variation en fonction de

l'oxygène établie. En effet, Van Bree et *al.* (2012) ont établi qu'il y avait une relation linéaire entre les constantes de vitesse d'ordre 1 k_1 et k_3 et la teneur en oxygène dans l'espace de tête :

$$k_1 (\text{j}^{-1}) = 0,0038 \times [\text{O}_2] (\text{mL}) + 0,0276$$

$$k_3 (\text{j}^{-1}) = 0,0281 \times \ln([\text{O}_2] (\text{mL})) + 0,2557$$

De ce fait, en plus de l'impact de la température, la teneur en oxygène (ou probablement d'autres oxydants) a un impact sur la dégradation réversible de l'AA en DHAA et la dégradation irréversible du DHAA en DKGA.

Dans la même optique, Pénicaud et *al.* (2011) ont étudié l'influence de la teneur en oxygène sur la dégradation de l'acide ascorbique dans un gel d'agar et sous atmosphère contrôlée (figure II – 47) (Pénicaud et *al.*, 2011).

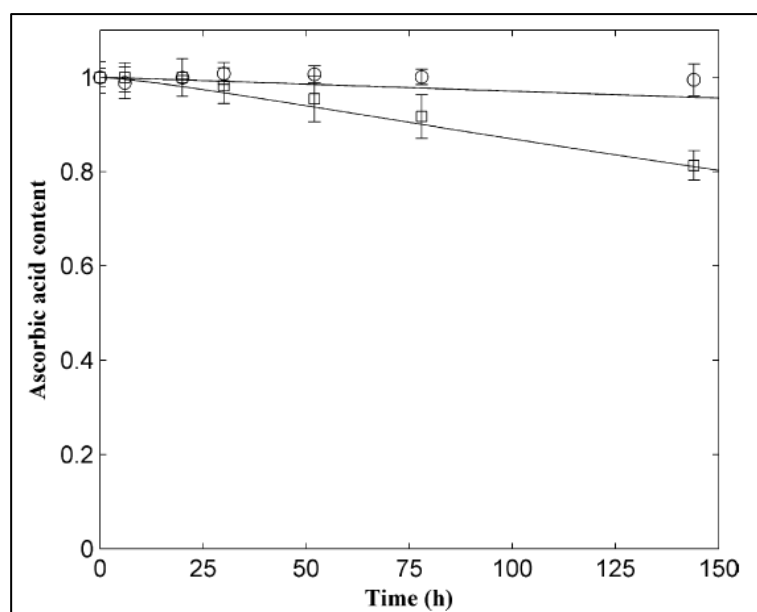


Figure II - 47 : Evolution de la concentration (normalisée) en acide ascorbique en fonction du temps dans du gel agar à 20 °C sous atmosphère contenant 5 % d'oxygène (○) et 21 % d'oxygène (□), d'après Pénicaud et *al.* (2011)

Ces travaux ont montré une fois de plus que plus la teneur en oxygène est élevée dans une atmosphère, plus la vitesse de dégradation de l'acide ascorbique est élevée. La dégradation de l'acide ascorbique est également plus rapide à l'interface air/gel du système (figure II – 48). De plus, la diffusivité de l'oxygène n'a d'importance que dans les premières heures, avant de perdre son effet en atteignant une valeur faible et stable (Pénicaud et *al.*, 2011).

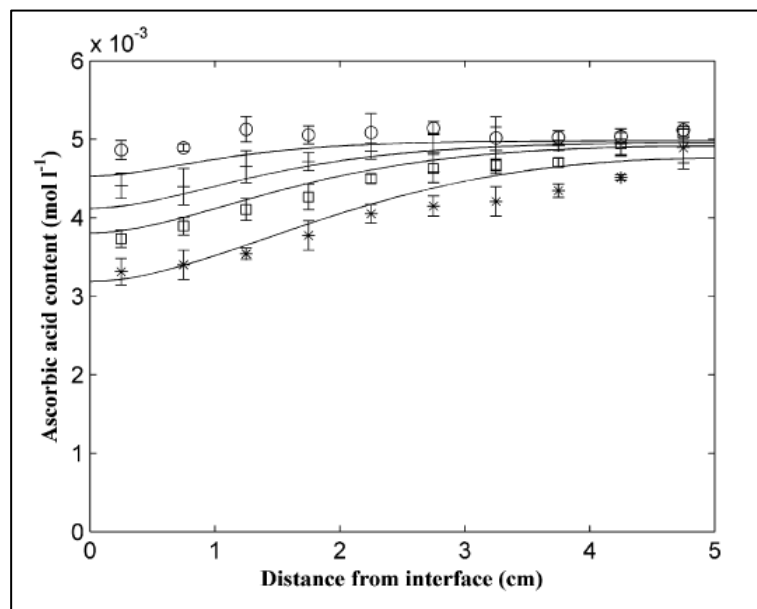


Figure II - 48 : Evolution de la concentration (normalisée) en acide ascorbique en fonction de la distance à l'interface dans du gel agar à 20 °C sous atmosphère contenant 21 % d'oxygène après 25 h (○), 53 h (+), 79 h (□) et 145 h (*), d'après Pénicaud et al. (2011)

Plus la distance à l'interface est faible, plus la vitesse de dégradation est élevée. En effet, lorsque l'AA est proche de l'interface (entre 0 et 1 cm), le taux de dégradation de l'AA est de l'ordre de 35 % après 145 heures, alors qu'à l'inverse, lorsque l'AA se trouve loin de l'interface (entre 4 et 5 cm), après 145 heures, la perte n'est que de l'ordre de 12 %.

3.7.4.3 Influence du pH

La stabilité de l'acide ascorbique est meilleure à faible pH (Bode et al., 1990, Golubitskii et al., 2007, Mercali et al., 2014b). De ce fait, l'acide métaphosphorique est souvent utilisé dans les solutions contenant de l'AA avant d'effectuer des analyses pour stabiliser ce dernier (Golubitskii et al., 2007). Cette propriété est également intéressante pour le traitement anti mycotique, car pour ce faire, on ajoute en général dans les milieux à traiter de l'acide propionique ou de l'acide sorbique (Rojas and Gerschenson, 1997), ce qui contribue à stabiliser l'AA.

En revanche, en milieu faiblement acide à faiblement basique, l'AA est instable car il se déprotone en ascorbate, qui est le produit de départ de la dégradation de l'AA par la voie oxydoréductrice pour donner le DHAA. En milieu peu ou pas acide et en présence d'oxygène, l'oxydation de l'AA en DHAA est donc favorisée.

En 2007, Golubitskii et al. ont entrepris une étude de la stabilité de l'AA en fonction du pH, et ont établi un profil de cinétique de décomposition en fonction du pH de la solution contenant l'AA (figure II – 49 B) (Golubitskii et al., 2007).

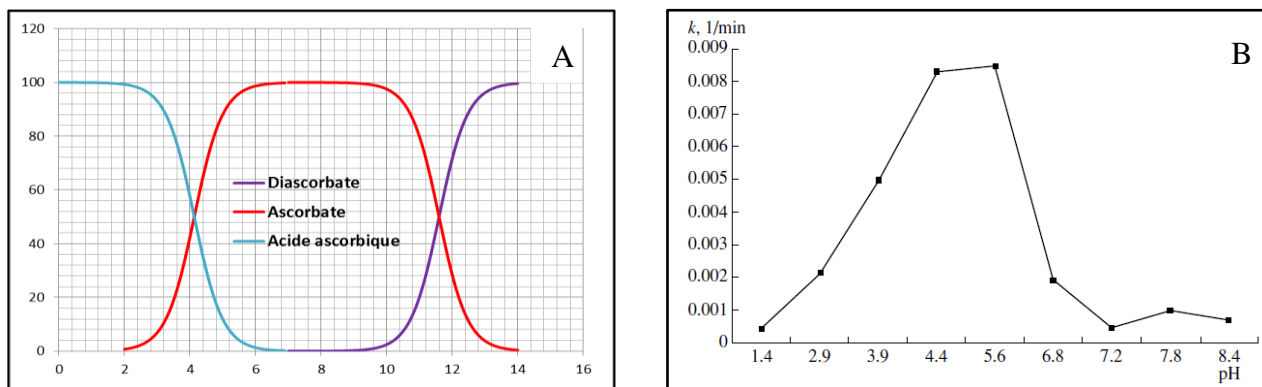


Figure II - 49 : Diagramme de prédominance de l'acide ascorbique et de ses bases conjuguées en fonction du pH (A) et courbe représentant la constante de vitesse de dégradation de l'AA en fonction du pH de la solution, d'après Golubitskii et al. (2007)

Ces expériences ont été effectuées à température ambiante et ont une durée de 24 heures chacune. D'après ces analyses, de pH = 1,0 à pH = 4,4 la vitesse de dégradation de l'AA augmente, alors que de pH = 5,4 à pH = 7,2, la vitesse de dégradation de l'AA diminue. A pH > 8,4, la vitesse de décomposition de l'AA reste globalement constante. Le diagramme de prédominance de l'acide ascorbique (figure II – 49 A) indique que l'ion ascorbate, composé de départ de la réaction d'oxydation de l'acide ascorbique, est prédominant entre un pH de 4,2 et 8, ce qui explique les résultats obtenus par Golubitskii et al. (2007) et que la constante de vitesse soit plus élevée sur la gamme de pH de 4 à 6.

La prise en compte du pH dans la chimie alimentaire est importante car en fonction de la matrice considérée, le pH varie et la stabilité des vitamines ou autres composés tels que les phénols peut être altérée. Dans le cadre de notre projet, nous nous focaliserons sur des pH allant de 2,5 à 6,5 car cet intervalle de pH correspond à la gamme de pH de la majorité des fruits et légumes.

3.7.4.4 Influence des ions métalliques

La stabilité de l'AA est très affectée en présence d'ions métalliques (Lin and Agalloco, 1979, Van den Broeck et al., 1998). En effet, les ions métalliques tels que Cu^{2+} , Fe^{2+} , Ag^{2+} ou encore Sn^{2+} catalysent la réaction d'oxydation de l'AA (Lin and Agalloco, 1979, Rojas and Gerschenson, 1997, Van den Broeck et al., 1998). Le cuivre (II) fait notamment partie des catalyseurs les plus forts de l'oxydation de l'AA (Golubitskii et al., 2007), alors que les ions tels que Pb^{2+} , Zn^{2+} ou encore Al^{3+} sont des catalyseurs plus faibles (Lin and Agalloco, 1979). Cette catalyse dépend donc du pouvoir complexant de l'ion métallique et des ligands qui l'entourent (Beker et al., 2011).

En 1967, Khan et Martell ont proposé un mécanisme permettant d'expliquer la catalyse de l'AA par un complexe métallique à partir d'un complexe avec Cu^{2+} comme ion central (figure II – 50) (Khan and Martell, 1967a, Khan and Martell, 1967b) :

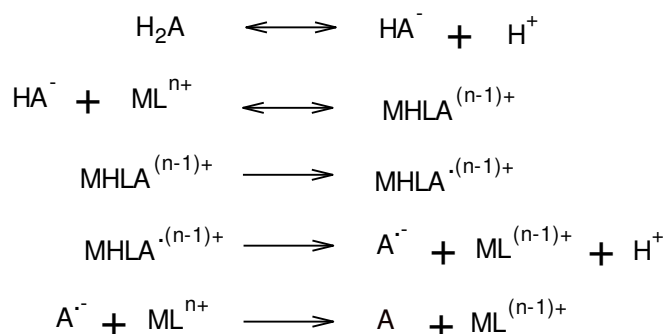


Figure II - 50 : Schéma représentant le mécanisme d'oxydation de l'AA catalysée par complexe métallique, adapté d'après Khan et Martell (1967)

où H_2A représente l'acide ascorbique, HA^- l'ascorbate, A^- l'acide déhydroascorbique, M le métal, L le ligand attaché au métal et n la charge du complexe.

Le catalyseur ML^{n+} peut être régénéré par oxydation de $\text{ML}^{(n-1)+}$ si de l'oxygène est dissous dans le milieu (Drusch et al., 2007, Beker et al., 2011).

En 1992, Obaleye et Orjiekwe ont étudié la formation de complexes métalliques de vitamine C en solution aqueuse avec différents métaux (figure II – 51) (Obaleye and Orjiekwe, 1992). En effectuant des mesures de moments magnétiques, ils ont stipulé que les complexes à base d'ions métallique et de vitamine C avaient la structure suivante :

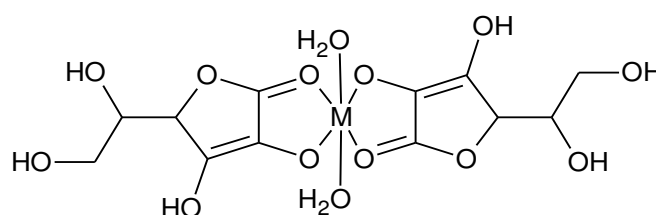


Figure II - 51 : Structure du complexe Métal-AA en solution aqueuse, adaptée d'après Obaleye et Orjiekwe (1992)

où M représente un cation métallique.

La structure de ce complexe est de type octaédrique discontinu, l'AA est ici un ligand bidentate.

Les fruits et légumes sont très riches en minéraux et surtout en métallo-enzymes, telle que la PPO (Polyphénol oxydase) ayant pour cation principal Cu^{2+} , et contiennent donc plusieurs types de cations métalliques. La connaissance de l'influence de ces cations sur les vitamines peut donc nous renseigner sur leur stabilité et donc sur la durée de vie des aliments.

3.7.4.5 Influence de la lumière

Contrairement aux idées reçues, l'AA n'est pas directement sensible à la lumière (Sattar et al., 1977). En effet, plusieurs expériences effectuées, notamment sur des jus d'orange, ont permis de montrer que la lumière ne joue pas un rôle primordial dans la dégradation de l'AA (Bourgeois, 2003).

Cependant, la lumière peut avoir un effet indirect sur la dégradation de l'AA. En effet, si l'AA se trouve dans une matrice alimentaire contenant des agents photosensibles tels que des colorants alimentaires ou encore des édulcorants, sa dégradation sera accélérée (Tikekar et al., 2011a, Tikekar et al., 2011b). La décomposition de l'AA dans ce cas suit un mécanisme général de même type que celui de la décomposition catalysée par un métal (Tikekar et al., 2011b).

3.7.4.6 Influence du degré Brix

La stabilité de l'AA est influencée par les composés présents dans la matrice dans laquelle il se trouve. La présence de sucre contribue fortement à la dégradation de l'AA dans une matrice (Hsu et al., 2012), d'où l'intérêt de prendre en compte l'influence du paramètre °Brix.

En 2007, Al-Zubaidy et al. ont entrepris une étude cinétique sur la dégradation de l'AA dans des jus de citron (pH \approx 2,3) pendant le stockage (figure II – 52) (Al-Zubaidy and Khalil, 2007).

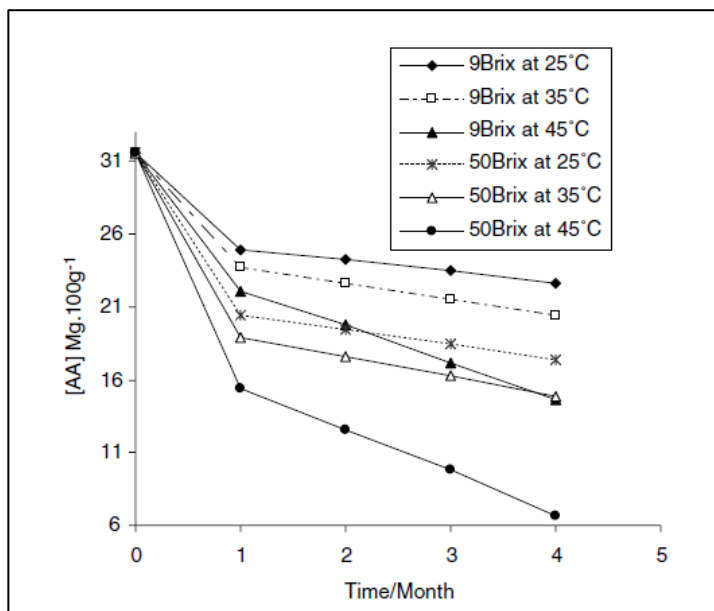


Figure II - 52 : Concentration de AA en fonction du temps durant le stockage des jus de citron à différents °Brix, d'après Al-Zubaidy et Khalil (2007)

Plus le °Brix est élevé, plus la dégradation de l'AA est rapide. Ceci révèle donc l'importance de l'association moléculaire (Al-Zubaidy and Khalil, 2007). La constante de vitesse de dégradation de l'AA dépend sensiblement du facteur de collision entre les molécules. De ce fait, plus le facteur de collision augmente, plus la constante de vitesse augmente (loi d'Arrhenius), et donc plus la vitesse de dégradation de l'AA augmente (Al-Zubaidy and Khalil, 2007). Cependant, dans ces travaux, l'augmentation du °Brix résulte de la concentration du jus, et non d'ajout de sucres ou d'autres agents, ce qui entraîne forcément une augmentation de la concentration en enzymes, en acides, en catalyseurs éventuels, une diminution du pH, etc...

En conséquence, il n'est pas possible d'établir que le °Brix (pourcentage de matière sèche soluble) ait une influence directe sur la dégradation de l'acide ascorbique.

3.8 Cinétique de dégradation de la vitamine C

Comme toutes réactions chimiques, la dégradation de la vitamine C est régie par les lois de la cinétique chimique. Plusieurs études ont permis de démontrer que l'ordre global de la réaction de dégradation de la vitamine C dépend de la disponibilité en oxygène dans le milieu (Lin and Agalloco, 1979, Eison-Perchonok and Downes, 1982, Esteve et al., 1998, Pátkai et al., 2002, Polydera et al., 2003). De ce fait, cette réaction est en général d'ordre global égal à 1 ou à 2 en fonction de la disponibilité en oxygène. De manière générale, la vitesse de disparition par la voie oxydoréductive de l'AA peut être définie comme suit :

$$\frac{-d[AA]}{dt} = k \cdot [AA]^\alpha \cdot [O_2]^\beta \quad \text{Équation II - 31}$$

où [AA] est la concentration en acide ascorbique (mol.L⁻¹), [O₂] est la concentration en oxygène (mol.L⁻¹), *k* est la constante de cinétique (généralement en s⁻¹ ou L.mol⁻¹.s⁻¹), *α* et *β* les ordres partiels respectivement par rapport à l'AA et l'oxygène. La dégradation de l'AA par voie hydrolytique est en général négligée, car elle est moins rapide sauf à des pH bas et des températures élevés (Van den Broeck et al., 1998).

3.8.1 Utilisation de modèles simples

De nombreuses références décrivent la cinétique de dégradation de la vitamine C à des températures comprises entre 30 et 100 °C, et dans diverses matrices telles que des fruits, des légumes ou encore des plantes. Il n'existe que très peu de travaux traitant de cette dégradation au-delà de 100 °C (Esteve et al., 1998, Van den Broeck et al., 1998, Oey et al., 2006). En fonction des matrices étudiées telles que la pomme de terre (Mcminn and Magee, 1997), l'asperge verte (Esteve et al., 1998) ou encore les jus de fruits (Burdurlu et al., 2006, Dhuique-Mayer et al., 2007b), la durée de vie de l'acide ascorbique est très différente. Ceci est dû notamment à la différence de composition chimique et de propriétés physico-chimiques (pH, °Brix, teneur en minéraux, etc...). Cependant, la dégradation de cette vitamine est pratiquement toujours considérée comme suivant une cinétique d'ordre 1. En effet, l'ordre est souvent choisi par souci de simplicité d'une part, et le dioxygène est présent souvent en teneur non maîtrisée ou en large excès d'autre part. De plus, beaucoup de travaux se déroulent dans des conditions de stockage (basse température), ce qui veut dire que la cinétique de dégradation de l'acide ascorbique est très lente, et l'oxygène est limité par la nature de l'emballage, notamment sa perméabilité (limité à l'espace de tête sur un emballage étanche) (Van Bree et al., 2012).. Le tableau II – 7 présente des valeurs de constantes de cinétique en fonction des matrices étudiées, du pH (quand sa valeur est renseignée) et de la température de traitement.

Tableau II – 7 : Valeur des constantes de cinétique de la réaction de dégradation de l'acide ascorbique dans diverses matrices végétales

Auteurs	Matrice	pH	Atmosphère	T° (°C)	Durée	k réel ou k apparent	Ordre	k	k* (s ⁻¹ ou eq.)	E _a (kJ.mol ⁻¹)
Eison-Perchonok, Downes (1982)	Solution d'Acide Ascorbique	6,1	O ₂ à 10 %	45	60 min	k réel	2 ^{ème} ordre	99,48 L.mol ⁻¹ .min ⁻¹ (10 % O ₂)	1,66	39,58 (10 % O ₂)
			O ₂ à 15 %					105,3 L.mol ⁻¹ .min ⁻¹ (15 % O ₂)	1,76	57,31 (15 % O ₂)
			O ₂ à 21 %					99,05 L.mol ⁻¹ .min ⁻¹ (21 % O ₂)	1,65	68,68 (21 % O ₂)
Mcminn, Magee (1997)	Pomme de terre	7	Air	30	1100 min	k apparent	1 ^{er} ordre	0,0004 min ⁻¹	6,67.10 ⁻⁶	16,25
				45				0,0006 min ⁻¹	1.10 ⁻⁵	
				60				0,0007 min ⁻¹	1,2.10 ⁻⁵	
Esteve, Frígola, Martorell, Rodrigo (1998)	Asperge verte	—	N ₂	110	50 min	k réel	1 ^{er} ordre	0,016 min ⁻¹	2,67.10 ⁻⁴	140,03
				115				0,044 min ⁻¹	7,33.10 ⁻⁴	
				120				0,061 min ⁻¹	1,017.10 ⁻³	
				125				0,080 min ⁻¹	1,33.10 ⁻³	
Van den Broeck, Ludikhuyze, Weemaes, Van Loey, Hendrickx (1998)	Jus d'orange	3,5	N ₂	120	150 min	k réel	1 ^{er} ordre	0,0076 min ⁻¹	2,11.10 ⁻⁶	117,46
				130				0,0205 min ⁻¹	5,69.10 ⁻⁶	
				140				0,0480 min ⁻¹	1,33.10 ⁻⁵	
	Jus de tomate	4,5		150				0,0967 min ⁻¹	2,67.10 ⁻⁵	105,34
				120				0,0049 min ⁻¹	1,36.10 ⁻⁶	
				130				0,0115 min ⁻¹	3,19.10 ⁻⁶	
Esteve, Frígola, Martorell, Rodrigo (1999)	Asperge verte	6,7	Air	110	5 min	k apparent	1 ^{er} ordre	24.10 ⁻³ s ⁻¹	24.10 ⁻³	51,41
				120				39.10 ⁻³ s ⁻¹	39.10 ⁻³	
				130				68.10 ⁻³ s ⁻¹	68.10 ⁻³	
				140				75.10 ⁻³ s ⁻¹	75.10 ⁻³	
			N ₂	110				3,2.10 ⁻³ s ⁻¹	3,2.10 ⁻³	17,14
				120				3,6.10 ⁻³ s ⁻¹	3,6.10 ⁻³	
				130				4,1.10 ⁻³ s ⁻¹	4,1.10 ⁻³	
				140				5,9.10 ⁻³ s ⁻¹	5,9.10 ⁻³	
Vieira, Teixeira, Silva (2000)	Nectar de cupuaçu	3,2	Air	80	240 min	k apparent	1 ^{er} ordre	0,032 min ⁻¹	5,33.10 ⁻⁴	74
Manso, Oliveira, Frías (2001)	Jus d'orange	3,73	Air	32,5	36 h	k apparent	1 ^{er} ordre	1,79.10 ⁻⁵ s ⁻¹	1,79.10 ⁻⁵	38,6
Karhan, Aksu, Tetik, Turhan (2003)	Rose musquée	—	N ₂	70	50 min	k réel	1 ^{er} ordre	7,62.10 ⁻³ min ⁻¹	1,27.10 ⁻⁴	47,5
				80				8,75.10 ⁻³ min ⁻¹	1,46.10 ⁻⁴	
				90				11,98.10 ⁻³ min ⁻¹	2,00.10 ⁻⁴	
				95				13,13.10 ⁻³ min ⁻¹	2,19.10 ⁻⁴	

Polydera, Stoforos, Taoukis (2003)	Jus d'orange	3,4	Air	0 5 10 15	40 jours	k apparent	1 ^{er} ordre	0,0159 jour ⁻¹ 0,0187 jour ⁻¹ 0,0231 jour ⁻¹ 0,0455 jour ⁻¹	1,84.10 ⁻⁷ 2,16.10 ⁻⁷ 2,67.10 ⁻⁷ 5,27.10 ⁻⁷	15,7
Giannakourou, Taoukis (2003)	Petits pois surgelés Epinards surgelés Haricots verts surgelés Gombo surgelés	—	Air	-20	150 jours	k apparent	1 ^{er} ordre	0,00213 jour ⁻¹ 0,00454 jour ⁻¹ 0,00223 jour ⁻¹ 0,00105 jour ⁻¹	2,47.10 ⁻⁸ 5,25.10 ⁻⁸ 2,58.10 ⁻⁸ 1,22.10 ⁻⁸	97,9 112 101,5 105,9
Blasco, Esteve, Frígola, Rodrigo (2004)	Champignons	4,6	Air	110	20 sec	k apparent	1 ^{er} ordre	8,91.10 ⁻³ s ⁻¹	8,91.10 ⁻³	46,36
				115				9,49.10 ⁻³ s ⁻¹	9,49.10 ⁻³	
				120				19,14.10 ⁻³ s ⁻¹	1,91.10 ⁻²	
				130				21,64.10 ⁻³ s ⁻¹	2,16.10 ⁻²	
				140				24,06.10 ⁻³ s ⁻¹	2,41.10 ⁻²	
			N ₂	110	300 sec	k réel	1 ^{er} ordre	1,86.10 ⁻³ s ⁻¹	1,86.10 ⁻³	49,57
				115				3,05.10 ⁻³ s ⁻¹	3,05.10 ⁻³	
				120				4,90.10 ⁻³ s ⁻¹	4,90.10 ⁻³	
				130				5,86.10 ⁻³ s ⁻¹	5,86.10 ⁻³	
				140				6,21.10 ⁻³ s ⁻¹	6,21.10 ⁻³	
Vikram, Ramesh, Prapulla (2005)	Jus d'orange	—	Air	50 60 75 90	16 min	k apparent	1 ^{er} ordre	3,51.10 ⁻² min ⁻¹ 4,62.10 ⁻² min ⁻¹ 5,52.10 ⁻² min ⁻¹ 17,84.10 ⁻² min ⁻¹	5,85.10 ⁻⁴ 7,70.10 ⁻⁴ 1,42.10 ⁻³ 2,97.10 ⁻³	39,84
Polydera, Stoforos, Taoukis (2005)	Jus d'orange	—	O ₂ dissous	0 5 10 15 30	120 jours	k apparent	1 ^{er} ordre	0,004 jour ⁻¹ 0,0058 jour ⁻¹ 0,00852 jour ⁻¹ 0,0246 jour ⁻¹ 0,0684 jour ⁻¹	4,63.10 ⁻⁸ 6,71.10 ⁻⁸ 9,86.10 ⁻⁸ 2,85.10 ⁻⁷ 7,92.10 ⁻⁷	53,1
Oey, Verlinde, Hendrickx, Van Loey (2006)	Solution d'Acide Ascorbique	7	O ₂ dissous	100	40 min	k réel	1 ^{er} ordre	1,05.10 ⁻³ min ⁻¹	1,8.10 ⁻⁵	250,27
				110				4,62.10 ⁻³ min ⁻¹	7,7.10 ⁻⁵	
				120				6,45.10 ⁻² min ⁻¹	1,08.10 ⁻³	

Burdurlu, Koca, Karadeniz (2006)	Jus d'orange	3,2	O ₂ dissous	28	8 semaines	k apparent	1 ^{er} ordre	0,0276 semaine ⁻¹	4,56.10 ⁻⁸	105,17
				37				0,1850 semaine ⁻¹	3,06.10 ⁻⁷	
				45				0,2550 semaine ⁻¹	4,22.10 ⁻⁷	
	Jus de mandarine	3,23		28				0,0460 semaine ⁻¹	7,61.10 ⁻⁸	79,17
				37				0,1670 semaine ⁻¹	2,76.10 ⁻⁷	
				45				0,2480 semaine ⁻¹	4,10.10 ⁻⁷	
	Jus de pamplemousse	2,56		28				0,0470 semaine ⁻¹	7,77.10 ⁻⁸	76,79
				37				0,1626 semaine ⁻¹	2,69.10 ⁻⁷	
				45				0,2420 semaine ⁻¹	4,00.10 ⁻⁷	
	Jus de citron	1,82		28				0,0670 semaine ⁻¹	1,11.10 ⁻⁷	53,38
				37				0,1830 semaine ⁻¹	3,03.10 ⁻⁷	
				45				0,2070 semaine ⁻¹	3,42.10 ⁻⁷	
Matei, Birghila, Popescu, Dobrinas, Soceanu, Oprea, Magearu (2006)	Solution d'Acide Ascorbique Solution Vitamine C tablette 200 mg Solution Ascovit tablette 100 mg Solution Vitamine C gouttes nasales	—	Air	40	—	k apparent	1 ^{er} ordre	1,52.10 ⁻⁴ s ⁻¹	1,52.10 ⁻⁴	36,49
				50				2,42.10 ⁻⁴ s ⁻¹	2,42.10 ⁻⁴	
				40				8,38.10 ⁻⁴ s ⁻¹	8,38.10 ⁻⁴	27,8
				50				1,19.10 ⁻³ s ⁻¹	1,19.10 ⁻³	
				40				7,53.10 ⁻⁴ s ⁻¹	7,53.10 ⁻⁴	10,95
				50				8,66.10 ⁻⁴ s ⁻¹	8,66.10 ⁻⁴	
Duique-Mayer, Tbatou, Carail, Caris-Veyrat, Dornier, Amiot (2007)	Jus de citron	3,6	Air	50	300 min	k apparent	1 ^{er} ordre	1,042.10 ⁻⁵ s ⁻¹	1,042.10 ⁻⁵	35,9
				70				1,924.10 ⁻⁵ s ⁻¹	1,924.10 ⁻⁵	
				80				3,140.10 ⁻⁵ s ⁻¹	3,140.10 ⁻⁵	
				90				4,043.10 ⁻⁵ s ⁻¹	4,043.10 ⁻⁵	
				100				6,319.10 ⁻⁵ s ⁻¹	6,319.10 ⁻⁵	
Al-Zubaidy, Khalil (2007)	Jus de citron 9 °Brix	—	O ₂ dissous	25	5 mois	k apparent	1 ^{er} ordre	0,0315 mois ⁻¹	1,215.10 ⁻⁸	13,8
				35				0,0494 mois ⁻¹	1,906.10 ⁻⁸	
	45			0,137 mois ⁻¹				5,285.10 ⁻⁸	15,3	
	25			0,0535 mois ⁻¹				2,064.10 ⁻⁸		
Jus de citron 50 °Brix	35	0,0797 mois ⁻¹	3,075.10 ⁻⁸							
	45	0,274 mois ⁻¹	1,057.10 ⁻⁷							
Ariahu, Abashi, Chinma (2011)	Courge	5	Air	60	30 min	k apparent	1 ^{er} ordre	0,0223 min ⁻¹	3,72.10 ⁻⁴	41,2
				70				0,0271 min ⁻¹	4,52.10 ⁻⁴	
				80				0,0548 min ⁻¹	9,13.10 ⁻⁴	
				90				0,0692 min ⁻¹	1,15.10 ⁻³	
		5,5		60				0,0486 min ⁻¹	8,10.10 ⁻⁴	16,9
				70				0,0680 min ⁻¹	1,13.10 ⁻³	
				80				0,0699 min ⁻¹	1,17.10 ⁻³	
				90				0,0819 min ⁻¹	1,37.10 ⁻³	
	6	60		0,0518 min ⁻¹				8,63.10 ⁻⁴	18,2	
		70		0,0692 min ⁻¹				1,15.10 ⁻³		
		80		0,0802 min ⁻¹				1,34.10 ⁻³		
		90		0,0899 min ⁻¹				1,50.10 ⁻³		
	6,5	60		0,0486 min ⁻¹				8,10.10 ⁻⁴	18,2	
		70		0,0680 min ⁻¹				1,13.10 ⁻³		
		80		0,0699 min ⁻¹				1,17.10 ⁻³		
		90		0,0819 min ⁻¹				1,37.10 ⁻³		

Baéz, Rojas, Sandoval-Guillén, Valdivia-López (2012)	Formule entérale	—	Air	22	15 semaines	k apparent	1 ^{er} ordre	9,4.10 ⁻⁴ s ⁻¹	9,4.10 ⁻⁴	51,96
				37				1,93.10 ⁻³ s ⁻¹	1,93.10 ⁻³	
				45				4,72.10 ⁻³ s ⁻¹	4,72.10 ⁻³	
Hsu, Tsai, Fu, Wu (2012)	Solution éthanol 0 %	3,2	Air	25	8 jours	k apparent	1 ^{er} ordre	0,072 jour ⁻¹	2,69.10 ⁻⁷	51,37
				35				0,251 jour ⁻¹	2,91.10 ⁻⁶	
				45				0,261 jour ⁻¹	3,02.10 ⁻⁶	
	Solution éthanol 5 %			25				0,086 jour ⁻¹	9,95.10 ⁻⁷	66
				35				0,307 jour ⁻¹	3,56.10 ⁻⁶	
				45				0,455 jour ⁻¹	5,27.10 ⁻⁶	
	Solution éthanol 10 %			25				0,089 jour ⁻¹	1,03.10 ⁻⁶	85,77
				35				0,418 jour ⁻¹	4,84.10 ⁻⁶	
				45				0,783 jour ⁻¹	9,06.10 ⁻⁶	
	Solution éthanol 20 %			25				0,096 jour ⁻¹	1,11.10 ⁻⁶	96,56
				35				0,431 jour ⁻¹	4,99.10 ⁻⁶	
				45				1,117 jour ⁻¹	1,29.10 ⁻⁵	
Solution éthanol 30 %	25	0,105 jour ⁻¹	1,22.10 ⁻⁶	93,88						
	35	0,875 jour ⁻¹	1,01.10 ⁻⁵							
	45	1,125 jour ⁻¹	1,3.10 ⁻⁵							
Solution éthanol 40 %	25	0,535 jour ⁻¹	6,19.10 ⁻⁶	43,26						
	35	1,737 jour ⁻¹	2,01.10 ⁻⁵							
	45	1,583 jour	1,83.10 ⁻⁵							
Jiang, Zheng, Lu (2013)	Jujube stocké à la lumière	—	Air	15	20 jours	k apparent	1 ^{er} ordre	0,013 jour ⁻¹	1,50.10 ⁻⁷	44,25
				25				0,0257 jour ⁻¹	2,97.10 ⁻⁷	
				35				0,0431 jour ⁻¹	4,99.10 ⁻⁷	
	Jujube stocké dans l'obscurité			15				0,0079 jour ⁻¹	9,14.10 ⁻⁸	52,82
				25				0,0243 jour ⁻¹	2,81.10 ⁻⁷	
				35				0,0328 jour ⁻¹	3,80.10 ⁻⁷	
Bosch, Cilla, García-Llatas, Gilabert, Boix (2013)	Beikost à base de fruits (nourriture enfant)	—	N ₂	25	32 semaines	k réel	1 ^{er} ordre	0,05415 semaine ⁻¹	8,95.10 ⁻⁸	84,06
				37				0,2199 semaine ⁻¹	3,64.10 ⁻⁷	
				50				0,7469 semaine ⁻¹	1,23.10 ⁻⁶	
Sapei, Hwa (2014)	Jus de fraise sans sucre	—	Air	8	8 jours	k réel	Ordre 0	3,631 mg.100mL ⁻¹ .h ⁻¹	1,01.10 ⁻³	6,9
				28				4,419 mg.100mL ⁻¹ .h ⁻¹	1,23.10 ⁻³	
	Jus de fraise avec sucre			8				1,854 mg.100mL ⁻¹ .h ⁻¹	5,15.10 ⁻⁴	7,94
				28				2,319 mg.100mL ⁻¹ .h ⁻¹	6,44.10 ⁻⁴	

*k exprimé en s⁻¹ quand l'ordre réactionnel est 1, ou équivalent rapportée en échelle de la seconde quand l'ordre réactionnel est différent de 1

Ce tableau (non exhaustif) montre une différence entre des conditions aérobies et anaérobies : dans le cas d'une dégradation de l'AA en présence d'oxygène, la constante de vitesse est apparente (concentration d'oxygène incluse dans ce paramètre), alors que, dans des conditions anaérobies, la constante de vitesse est réelle (directement reliée au mécanisme mis en jeu).

Les valeurs des constantes de vitesse apparentes obtenues à des températures concernant les plages du stockage au réchauffage (entre -20 et 90 °C) des produits alimentaires montrent un effet de la température

et du pH sur la vitesse de dégradation de l'acide ascorbique. Par exemple, la valeur du k_{app} obtenue pour Mcminn *et al.* (1997) dans la pomme de terre à pH = 7 varie de $6,67 \cdot 10^{-6}$ à $1,2 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ entre 30 et 60 °C, alors que celle obtenue par Manso *et al.* (2001) dans le jus d'orange à pH = 3,73 est de $1,75 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ à 32,5 °C. Si l'on compare la valeur du k_{app} obtenue par Burdurlu *et al.* (2006) dans le jus d'orange à pH = 3,23, qui varie de $7,61 \cdot 10^{-8}$ à $4,1 \cdot 10^{-7} \text{ s}^{-1}$ de 28 à 45 °C avec la valeur obtenue par Manso *et al.* (2001), on constate que ces valeurs sont plus faibles, et cela est dû à la disponibilité en oxygène. En effet, l'étude de Burdurlu *et al.* (2006), il y a de l'oxygène dissous dans la matrice, mais sans renouvellement possible, et donc une oxydation de l'acide ascorbique plus limitée que dans l'étude de Manso *et al.* (2001). Pour ce qui est de la valeur de l'énergie d'activation de la réaction de dégradation de l'acide ascorbique, elle varie sur une grande plage de valeur sur la gamme de température [-20 ; 90] °C. Par exemple, l'énergie d'activation est de 16 kJ/mol dans la pomme de terre (Manso *et al.*, 2001), d'environ 100 kJ/mol pour une dégradation au cours de la congélation de petits pois, épinards, haricots verts et gombo (Giannakourou and Taoukis, 2003), et varie de 53 à 105 kJ/mol dans le jus d'orange (Polydera *et al.*, 2005, Burdurlu *et al.*, 2006). Cela signifie que la matrice a une grande influence sur la sensibilité à la variation de la température de la réaction de dégradation de l'AA dans cette gamme de température. Pour ce qui est de l'anaérobie, les valeurs des constantes de vitesses réelles sont nettement inférieures à celles observées en aérobie. Karhan *et al.* (2003) obtiennent une valeur de constante de vitesse réelle comprise entre $1,27 \cdot 10^{-4}$ et $2,19 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ dans la rose musquée de 70 à 95 °C, et Bosh *et al.* (2013) une valeur comprise entre $8,95 \cdot 10^{-8}$ et $1,23 \cdot 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ de 25 à 50 °C. La dégradation de l'AA en conditions anaérobie est plus lente que la réaction de dégradation par oxydation, ce qui démontre l'importance de la prise en compte de l'oxygène. Concernant l'énergie d'activation, elle est de 48 kJ/mol dans la rose musquée (Karhan *et al.*, 2003) et de 84 kJ/mol (Bosch *et al.*, 2013) dans le champignon. La matrice a donc une influence sur la sensibilité à la variation de température de la réaction de dégradation de l'AA dans cette gamme de température.

Pour les températures supérieures à 100 °C, les conditions de traitement (aérobie ou anaérobie) ont un impact sur la dégradation de l'acide ascorbique, même à des températures d'appertisation. En effet, dans le champignon par exemple (pH = 4,6) (Blasco *et al.*, 2004), la valeur de la constante de vitesse varie de $8,9 \cdot 10^{-3}$ à $2,41 \cdot 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ sous air et de $1,86 \cdot 10^{-3}$ à $6,21 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ sous azote de 110 à 140 °C, ce qui démontre que même à haute température, l'oxygène a également de l'importance sur la dégradation de l'AA. La matrice semble également avoir un impact sur la dégradation de l'AA. Par exemple, dans l'asperge verte (Esteve *et al.*, 1998), la valeur de la constante de vitesse varie de $2,67 \cdot 10^{-4}$ à $1,33 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ de 110 à 125 °C (sous azote), alors que dans le jus de tomate (pH = 4,5) par exemple (Van den Broeck *et al.*, 1998), la constante de vitesse varie de $1,36 \cdot 10^{-6}$ à $1,35 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ de 120 à 150 °C (sous azote). L'énergie d'activation est de 140 kJ/mol dans l'asperge (Esteve *et al.*, 1998), 117 kJ/mol dans le jus d'orange, 105 kJ/mol dans le jus de tomate (Van den Broeck *et al.*, 1998) et entre 46 et 50 kJ/mol dans le champignon (Blasco *et al.*, 2004). La matrice semble également avoir un effet sur la sensibilité à la variation de température de la réaction de dégradation de l'AA à haute température. Oey *et al.* (2006) ont trouvé une énergie d'activation

de 250 kJ/mol pour la réaction de dégradation de l'AA en solution modèle (tampon phosphate à pH = 7) en conditions d'anaérobie. Cette valeur élevée signifie qu'en absence d'oxygène, la réaction de dégradation de l'AA est faiblement sensible à la variation de température. Cependant, cette forte valeur est peut-être due au fait que dans ce cas d'étude, la dégradation de l'AA par voie anaérobie survient à la suite d'une dégradation par voie aérobie due à de l'oxygène dissous, qui est beaucoup plus rapide ($k_{110^{\circ}\text{C}} = 7,67 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ en aérobie et $k_{110^{\circ}\text{C}} = 1,75 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ en anaérobie).

3.8.2 Prise en compte explicite de l'oxygène

Lorsque la quantité d'oxygène est limitée, la réaction de dégradation dépend à la fois de la concentration en AA et de la concentration en O₂ (Lin and Agalloco, 1979, Eison-Perchonok and Downes, 1982). Dans certaines études où la teneur en oxygène dissous est maîtrisée, la dégradation de l'acide ascorbique peut être décrite par une cinétique d'ordre 2 (Eison-Perchonok and Downes, 1982, Lin and Agalloco, 1979)

En intégrant l'équation II – 31, on obtient donc l'équation suivante, liant les concentrations respectives en AA et en O₂ à l'instant t et les concentrations en AA et en O₂ initiales :

$$\ln\left(\frac{[AA]_t}{[O_2]_t}\right) = ([AA]_0 - [O_2]_0) \cdot kt + \ln\left(\frac{[AA]_0}{[O_2]_0}\right) \quad \text{Équation II - 32}$$

où [AA]_t et [O₂]_t sont respectivement les concentrations en AA et en O₂ à l'instant t, [AA]₀ et [O₂]₀ sont respectivement les concentrations initiales en AA et O₂ et t est le temps.

Lorsque l'oxygène est abondant, la réaction de dégradation de l'AA ne dépend plus que de la concentration en AA, l'oxygène consommé étant automatiquement réapprovisionné. Le même constat est établi si l'oxygène est présent en large excès, et que l'approximation suivante peut être faite :

$$\frac{-d[O_2]}{dt} = 0 \quad \text{Équation II - 33}$$

De ce fait, quel que soit t, [O₂]_t = [O₂]₀.

Si l'on considère l'équation II – 31, on peut poser $k_{app} = k \cdot [O_2]^{\beta}$, k_{app} étant la constante de cinétique apparente par opposition à la constante de vitesse réelle, k :

$$\frac{-d[AA]}{dt} = k_{app} \cdot [AA] \quad \text{Équation II - 34}$$

La vitesse de dégradation de l'AA ne dépend dans ce cas que de la concentration en AA. On parle dans ce cas de réaction de pseudo-ordre 1 (Eison-Perchonok and Downes, 1982, Esteve et al., 1998, Dhuique-Mayer et al., 2007b). L'intégration de cette équation conduit à la relation suivante liant la concentration en AA à l'instant t et la concentration en AA initiale :

$$[AA]_t = [AA]_0 \cdot e^{-k_{app} \cdot t} \quad \text{Équation II - 35}$$

C'est cette constante de cinétique apparente (k_{app}) qui est généralement calculée dans la littérature lorsque la dégradation de l'acide ascorbique est modélisée avec un ordre 1.

3.8.3 Prise en compte des réactions réversibles

Il est bien connu à ce jour que la dégradation de l'AA se fait en deux étapes, dont une est réversible. En effet, dans une première étape, l'AA s'oxyde en DHAA et le DHAA peut à son tour se réduire en AA, puis dans une deuxième étape, le DHAA subit une hydrolyse irréversible pour former le DKGA (figure II – 53) (Serpen and Gökmen, 2007) :

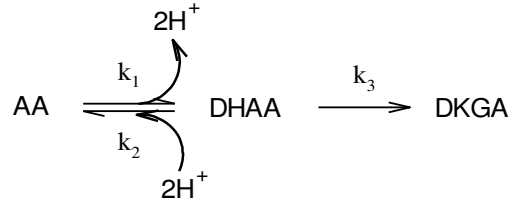


Figure II - 53 : Schéma général de dégradation de l'AA, adapté d'après Serpen et Gökmen (2007)

où k_1 représente la constante de cinétique de l'oxydation de l'AA en DHAA, k_2 représente la constante de cinétique de la réduction du DHAA en AA, et k_3 représente la constante de cinétique de l'hydrolyse du DHAA en DKGA. Dans leurs travaux, Serpen et Gökmen (2007) ont étudié la dégradation de l'AA dans des conditions oxydantes et réductrices (plus un contrôle) à 90 °C en solution modèle et déterminé les valeurs de k_1 , k_2 et k_3 selon les conditions, en utilisant un modèle de dégradation réversible. Les conditions oxydantes sont obtenues par ajout de Fer III et les conditions réductrices par ajout de cystéine.

Dans ce modèle, les vitesses d'apparition de l'AA et du DHAA s'expriment comme suit :

$$\frac{d[AA]}{dt} = -k_1 \cdot [AA] + k_2 \cdot [DHAA] \quad \text{Équation II - 36}$$

$$\frac{d[DHAA]}{dt} = k_1 \cdot [AA] - k_2 \cdot [DHAA] - k_3 \cdot [DHAA] \quad \text{Équation II - 37}$$

Il est possible d'exprimer la concentration en AA à l'instant t en fonction de k_1 , k_2 , k_3 , $[AA]_0$ et $[DHAA]_0$. Pour ce faire, Serpen et Gökmen (2007) ont utilisé la transformation de Laplace qui consiste à effectuer une dérivation, qui va transformer une fonction $f(t)$ dans le domaine temps vers une fonction $F(s)$ dans le domaine s (Serpen and Gökmen, 2007). Cette transformation est décrite comme suit :

$$\frac{df(t)}{dt} = s \cdot F(s) - f(0) \quad \text{Équation II - 38}$$

où $s \cdot F(s) - f(0)$ est la transformée de Laplace.

Cette étude a montré un fort impact des conditions (oxydantes ou réductrices) sur la conversion entre AA et DHAA. En effet, plus les conditions sont oxydantes, plus k_1 et k_3 sont élevées, sans affecter la valeur de k_2 , qui elle varie uniquement lorsqu'il y a ajout de cystéine (le milieu devient réducteur), et donc plus l'AA disparaît rapidement. Dans le même sens, plus le milieu devient réducteur, plus k_1 et k_3 sont faibles. Dans le contrôle, déjà, la valeur de k_2 est relativement faible (proche de 0), ce qui signifie qu'à 90 °C, la réaction d'oxydation de l'acide ascorbique est fortement déplacée vers la formation du DHAA, et la réaction réversible devient négligeable. Les valeurs de k_1 et k_3 sont identiques dans le contrôle. La réaction

d'oxydation de l'AA devient, à haute température ($> 90\text{ }^{\circ}\text{C}$), prépondérante sur la réaction de réduction du DHAA en AA.

3.9 Impact des traitements à températures supérieures à $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ sur la vitamine C

Peu de travaux sur la dégradation de l'AA à hautes températures ($> 100\text{ }^{\circ}\text{C}$) sont répertoriés dans la littérature (Blasco et al., 2004, Esteve et al., 1998, Esteve et al., 1999, Oey et al., 2006, Van den Broeck et al., 1998), probablement à cause de la difficulté de pouvoir travailler à haute température en conditions de laboratoire.

Concernant la dégradation de l'AA, une cinétique d'ordre 1 a été reportée par Van den Broeck et al. (1998) dans le jus d'orange et le jus de tomate, en conditions anaérobies, entre 120 et $150\text{ }^{\circ}\text{C}$; par Esteve et al. (1998) dans un extrait d'asperge verte de 110 à $140\text{ }^{\circ}\text{C}$ en conditions aérobies et anaérobies ; et par Blasco et al. (2004) dans un extrait de champignon de 110 à $140\text{ }^{\circ}\text{C}$ en conditions aérobies et anaérobies. Pour les deux derniers cas cités, la dégradation de l'AA est plus rapide dans des conditions aérobies.

Oey et al. (2006) ont reporté que la dégradation de l'AA suit une cinétique d'ordre 1 en solution modèle entre 110 et $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ avec une concentration en oxygène limitée. Néanmoins, ces auteurs ont rapporté que le profil de dégradation de l'AA était divisé en deux étapes : une première étape, très rapide, correspondant à la dégradation de l'AA par voie oxydoréductive (voie aérobie) où l'oxygène dissous est impliqué dans le mécanisme de dégradation, et une seconde étape, plus lente, où l'oxygène dissous a totalement été consommé la dégradation de l'AA se fait par voie hydrolytique (voie anaérobies) (figure II – 54).

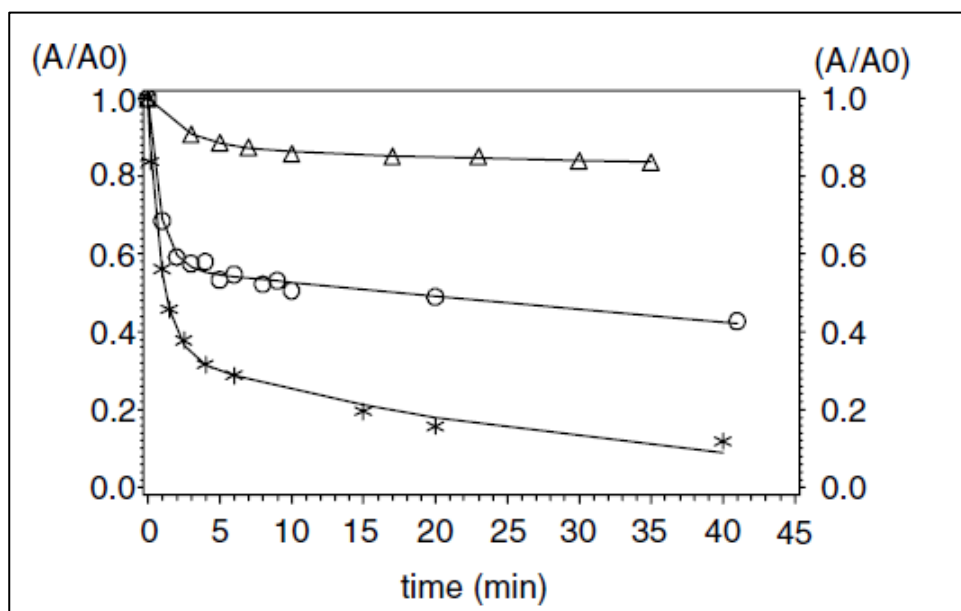


Figure II - 54 : Effet de la concentration en acide ascorbique sur la vitesse de dégradation à $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ et une concentration initiale d'oxygène de $8,11\text{ mg/L}$, avec (Δ) $[\text{AA}]_i = 750\text{ }\mu\text{g/mL}$, (\circ) $[\text{AA}]_i = 250\text{ }\mu\text{g/mL}$ et (*) $[\text{AA}]_i = 150\text{ }\mu\text{g/mL}$, d'après Oey et al. (2006)

Une dégradation rapide de l'AA est observée au cours des 4 premières minutes, correspondant, d'après une estimation grossière à partir du graphe (figure II – 54), à la perte d'environ 100 µg/mL, indépendamment de la concentration initiale. Pour les 36 minutes suivantes, la dégradation de l'AA est beaucoup plus lente et semblable à un palier linéaire, avec une pente plus marquée (en représentation A/A0) pour une concentration en AA inférieure ou égale à 250 µg/L. Ce comportement peut être interprété comme l'existence d'une phase initiale aérobie, qui se termine après avoir consommé l'oxygène disponible, et reflète bien l'importance de l'oxygène dans le processus de de dégradation de l'AA, et ce même à une faible teneur et à haute température.

Li et al. (2016) ont étudié l'influence du pH sur la dégradation de l'AA en solution modèle, de 110 à 150 °C, sur une gamme de pH de 4,5 à 9,5, en conditions d'aérobie (figure II – 55).

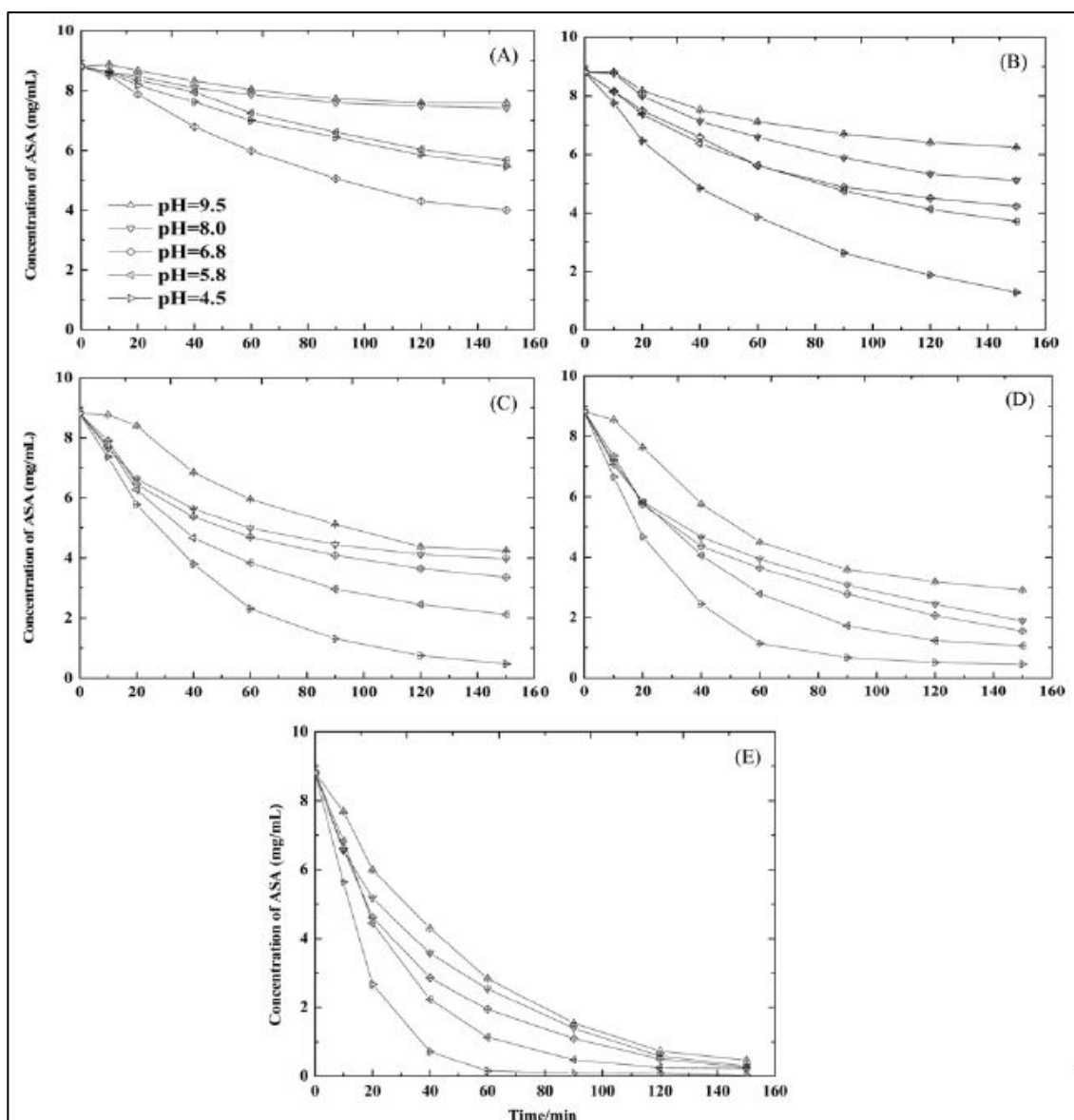


Figure II - 55 : Variation de la concentration en acide ascorbique en fonction du temps à pH = 4,5 ; 5,8 ; 6,8 ; 8,0 ; 9,5 à (A) 110 °C, (B) 120 °C, (C) 130 °C, (D) 140 °C et (E) 150 °C

La dégradation de l'AA est la plus rapide à pH = 4,5 que pour les autres pH à 120, 130, 140 et 150 °C (figures II – 55 B, C, D et E), alors que lorsque la température est fixée à 110 °C, la dégradation de l'AA est

plus rapide à pH = 6,8 (figure II – 55 A). Les résultats sont légèrement différents de ceux rapportés par Golubitskii et al. (2007) (figure II – 49), pour qui la vitesse était maximale entre pH = 4,4 et pH = 5,6 à 25 °C, probablement à cause de l'influence de la température sur le pH et la dissociation de l'acide ascorbique. Un ordre réactionnel de 1 décrirait bien les données.

3.10 Impact des autres procédés industriels sur la rétention de la vitamine C

Plusieurs alternatives au traitement thermique classique ont été développées afin de stabiliser les produits alimentaires en impactant moins leur qualité nutritionnelle, comme les traitements par micro-ondes, par rayons ultraviolets, par ultrasons, par chauffage ohmique, par traitement haute pression ou encore par champs électriques pulsés. L'impact de ces procédés a été étudié sur la rétention ou la dégradation en vitamine C.

3.10.1 Traitement par micro-ondes

Les micro-ondes sont des ondes électromagnétiques de longueurs d'ondes moyennes comprises entre l'infrarouge et les ondes de radiodiffusion. La technologie de traitement par micro-onde est aujourd'hui largement utilisée dans l'industrie agroalimentaire (avant un processus de blanchiment par exemple) ou encore dans le cadre de la réalisation de réactions chimiques diverses. D'un point de vue physico-chimique, les micro-ondes servent à activer une réaction chimique. Cette activation résulte de deux contributions (Hill, 1994) :

- une d'origine purement thermique résultant de l'agitation moléculaire causée par l'inversion des dipôles avec les alternances du champ électrique
- une contribution spécifique, d'origine électrostatique résultant d'interactions de type dipôles-dipôles entre les molécules polaires et le champ électrique

De ce fait, les charges apparaissant dans l'état de transition sont stabilisées par irradiation micro-onde (figure II – 56). Par conséquent, les micro-ondes ont un effet direct sur la cinétique des réactions en diminuant l'énergie d'activation.

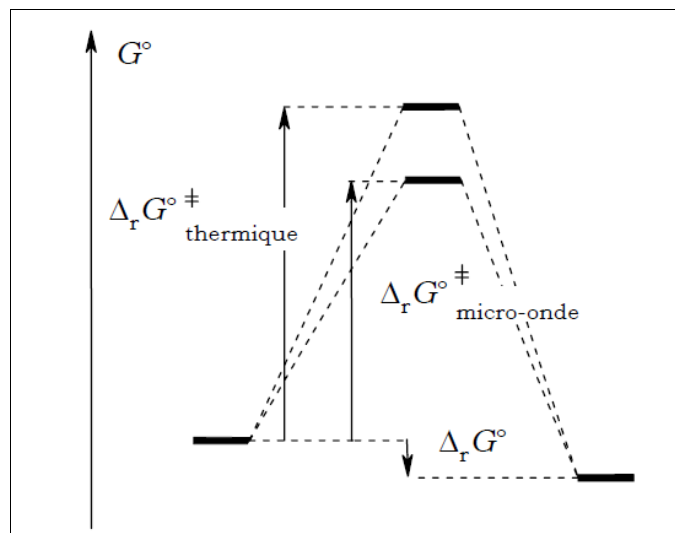


Figure II - 56 : Schéma représentant l'impact des micro-ondes sur l'enthalpie libre d'activation

En 2011, Zheng et Lu ont étudié l'effet d'un prétraitement aux micro-ondes sur la cinétique de dégradation de l'acide ascorbique dans l'asperge verte durant un blanchiment à l'eau (Zheng and Lu, 2011a). Ils ont établi que ce prétraitement aurait pour effet de réduire la dégradation de l'AA, et ont donc stipulé que le prétraitement par micro-ondes aurait pour effet d'augmenter l'énergie d'activation de la réaction de dégradation de l'AA, ce qui est contradictoire avec l'effet général des micro-ondes sur l'énergie d'activation d'une réaction.

Or, Serpen et Gökmen (2007) ont établi qu'à 90 °C, la constante de cinétique k_1 correspondant à la constante de cinétique de la réaction d'oxydation de l'AA en DHAA était environ 87 550 fois plus grande que la constante de cinétique k_2 correspondant à la réaction de réduction du DHAA en AA (Serpen and Gökmen, 2007).

De ce fait, si l'on confronte les travaux de Zheng et Lu avec ceux de Serpen et Gökmen, il serait possible que ce soit l'énergie d'activation de la réaction de réduction du DHAA en AA qui serait fortement diminuée, ce qui engendrerait donc une augmentation de la rétention en AA et ce qui expliquerait pourquoi le prétraitement par micro-onde est un bon prétraitement pour maintenir la qualité nutritionnelle d'un produit (Brewer and Begum, 2003, Zheng and Lu, 2011a).

3.10.2 Traitement par rayons ultraviolets

La technologie de traitement à l'UV est utilisée dans l'industrie agroalimentaire afin d'améliorer la qualité et la sécurité des aliments (Tikekar et al., 2011a). Les UV ont longtemps été utilisés pour diminuer le taux de microorganismes dans l'eau potable (Tikekar et al., 2011a). Généralement, pour désinfecter les aliments avec cette technique, des UV de type C (UV-C) à une longueur d'onde de 254 nm sont utilisés (Tran and Farid, 2004, Tikekar et al., 2011a), notamment dans les jus de fruits (Tikekar et al., 2011a).

Néanmoins, cette méthode de traitement n'est pas sans conséquence sur la qualité nutritionnelle des aliments. En effet, sous l'effet d'irradiation UV, la dégradation de l'AA est accrue (Tran and Farid, 2004,

Tikekar et al., 2011a, Tikekar et al., 2011b). Ceci pourrait être dû au fait que l'énergie d'un photon émis par cette irradiation UV est de 4,88 eV à 254 nm (alors que par la lumière visible cette énergie est d'environ 2 eV), et que l'énergie de dissociation d'une liaison O-H est de 4,77 eV. Par conséquent, l'énergie du photon émise étant supérieur à l'énergie de dissociation de la liaison O-H, cette irradiation aurait pour conséquence d'initier la dégradation de l'AA par la création d'un radical ascorbyle, qui va conduire aux composés DHAA et DKGA selon le processus de dégradation oxydative (Tikekar et al., 2011a).

En 2011, les travaux de Tikekar et *al.* ont permis d'établir l'influence d'un traitement UV sur la dégradation de l'AA et la formation du radical ascorbyle au cours du temps (figure II – 57) (Tikekar et al., 2011a).

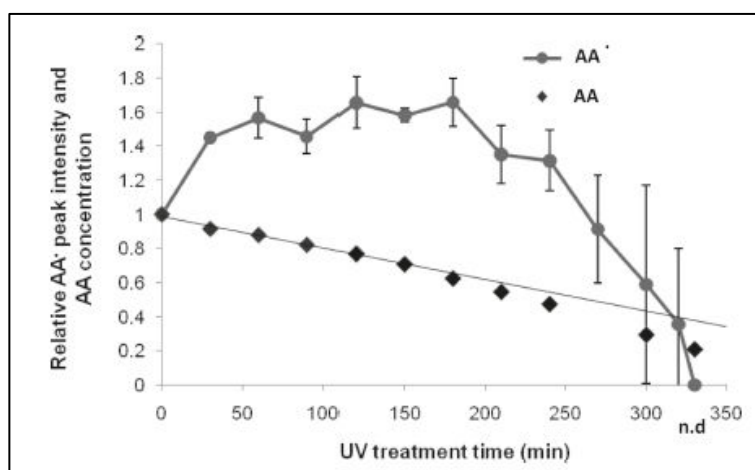


Figure II - 57 : Dégradation de l'AA ($C_0 = 450$ mg/L) et formation du radical ascorbyle dans un tampon phosphate (pH = 7) après traitement UV, d'après Tikekar et *al.* (2011)

La dégradation de l'AA engendrée par irradiation UV suit une cinétique d'ordre 0 (Tikekar et al., 2011a, Tikekar et al., 2011b). La figure II – 57 montre bien qu'un traitement UV a pour effet d'initier la formation du radical ascorbyle par destruction de la liaison O-H de l'AA.

De plus, la dégradation de l'AA est influencée par la dose UV subie au cours du traitement (figure II – 58) (Tran and Farid, 2004, Tikekar et al., 2011b).

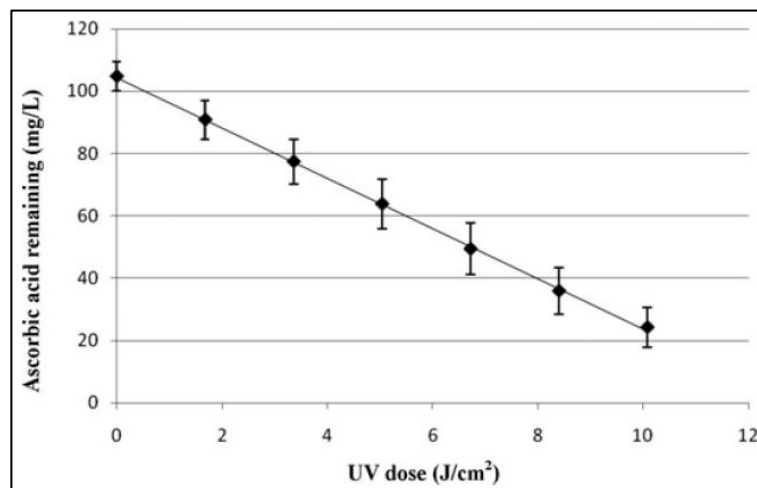


Figure II - 58 : Influence de la dose UV sur la dégradation de l'AA ($C_0 = 100$ mg/L) dans de l'eau distillée à pH = 6 induite par UV, d'après Tikekar et al. (2011)

Plus la dose UV est élevée, plus la dégradation de l'AA est élevée car la formation du radical ascorbyle est plus rapide.

3.10.3 Traitement par ultrasons

Le traitement par ultrasons est proposé comme étant une alternative prometteuse au traitement thermique conventionnel (Tiwari et al., 2009a, Tiwari et al., 2009c, Tiwari et al., 2008, Gamboa-Santos et al., 2014b). Le traitement par ultrasons est utilisé dans les procédés de stérilisation, d'extraction, de congélation et de filtration (Cruz et al., 2008). Il est efficace contre les bactéries pathogènes de certains jus de fruits ou encore du lait (Tiwari et al., 2009a, Tiwari et al., 2009c, Tiwari et al., 2008), notamment par leur potentiel de destruction d'au moins 5 log des microorganismes persistants présents dans les jus de fruits (Tiwari et al., 2008, Tiwari et al., 2009c). Cet effet biocide des ultrasons est principalement attribué à des mécanismes physiques tels que les effets mécaniques, le phénomène de cavitation ou les chocs micro-mécaniques et/ou chimiques tel que la formation de radicaux libres dus à des réactions sono-chimiques (Adekunte et al., 2010). En comparaison au traitement thermique conventionnel, le traitement par ultrasons nécessite moins de temps, permet un meilleur débit de production et consomme moins d'énergie (Tiwari et al., 2009c).

Lorsque les ondes ultrasoniques se propagent dans une matrice liquide, elles induisent la formation de micro-cavitations (microbulles) dues aux changements localisés de pressions (Tiwari et al., 2009b, Tiwari et al., 2009c, Tiwari et al., 2008, Tiwari et al., 2009a). Au cours de la propagation des ultrasons, ces microbulles vont s'effondrer violemment à cause des hautes températures (~ 5000 °C) et des hautes pressions (~ 50000 kPa) localisées ainsi que des effets de cisaillement (Tiwari et al., 2009a, Tiwari et al., 2009b, Tiwari et al., 2009c, Tiwari et al., 2008). Ces micro-cavités formées par sonication peuvent se remplir de vapeur d'eau ou par des gaz dissous dans la matrice, tels que l'oxygène ou l'azote (Tiwari et al., 2009b, Tiwari et al., 2009c). Il est également connu que la sonication des molécules d'eau présentent dans

les matrices liquides engendre la formation d'ion H^+ , de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 et de radicaux libres tels que O^\cdot , OH^\cdot et HO_2^\cdot (Adekunte et al., 2010).

La dégradation de l'AA est influencée par l'amplitude des ultrasons et par le temps de traitement, et suivrait une cinétique d'ordre 1 (Tiwari et al., 2009a, Tiwari et al., 2009c). En 2009, les travaux de Tiwari et al. sur la stabilité de l'AA et des anthocyanines dans le jus de fraise ont montré que la constante de vitesse k dépend de la densité d'énergie acoustique (AED pour Acoustic Energy Density en anglais) de façon linéaire (figure II – 59) (Tiwari et al., 2009c).

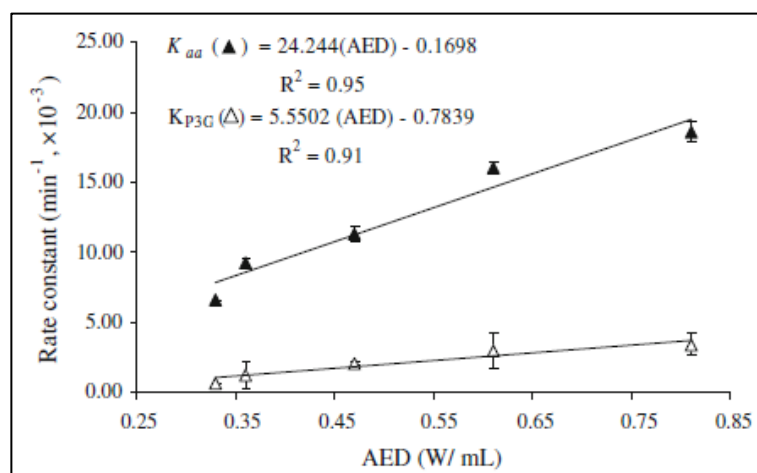


Figure II - 59 : Courbes représentant les constantes de vitesse de dégradation de l'AA (K_{aa} en triangle plein) et de la pélagronidine-3-glucoside P3G (K_{P3G} en triangle ouvert) en fonction de l'AED, d'après Tiwari et al. (2009)

Plus l'AED augmente, plus la constante de vitesse de dégradation de l'AA augmente. Deux types de mécanismes réactionnels ont été proposés pour la sono-dégradation de composés organiques (Tiwari et al., 2008, Tiwari et al., 2009c) :

- Pyrolyse au sein même des microbulles, qui est probablement la voie majeure de dégradation des composés polaires
- Génération de radicaux hydroxyles dans les microbulles qui vont ensuite oxyder les composés organiques polaires.

La dégradation de l'AA serait relatée à un mécanisme oxydatif (réaction d'oxydation) engendrée par l'interaction de l'AA avec les radicaux libres formés durant la sonication, et notamment les radicaux hydroxyles (Tiwari et al., 2008, Tiwari et al., 2009b, Tiwari et al., 2009c).

3.10.4 Traitement par chauffage ohmique

Le traitement par chauffage ohmique n'est pas une technique nouvelle. En effet, ce type de traitement était déjà largement utilisé au cours du 19^e siècle pour pasteuriser le lait (Castro et al., 2004). Ce processus est une alternative au processus de pasteurisation classique (Mercali et al., 2012).

La technique du chauffage ohmique consiste en un passage de courant électrique à travers les aliments pour les chauffer, en générant une énergie interne, sans impliquer de transfert de chaleur depuis une surface

(Mercali et al., 2012, Assiry et al., 2006, Mercali et al., 2014b). Cette technique permet un chauffage rapide et uniforme, engendrant ainsi un traitement thermique moins agressif (Castro et al., 2004, Mercali et al., 2012, Mercali et al., 2014a). Cette technologie est particulièrement intéressante pour les produits visqueux et les aliments contenant des particules, car elle génère de la chaleur dans les deux phases et ne nécessite pas qu'il y ait un transfert de chaleur à travers l'interface solide-liquide ou au sein du solide (Mercali et al., 2012).

En 2014, Mercali et al. ont entrepris des études comparatives de vitesse de dégradation de l'acide ascorbique dans le jus et la pulpe de cerise acérola (figure II – 60) (Mercali et al., 2014a, Mercali et al., 2014b).

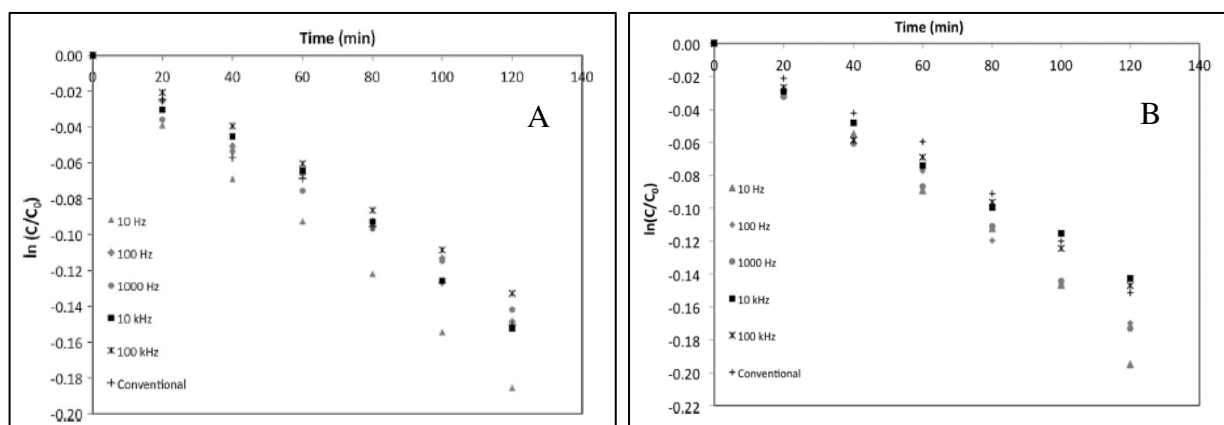


Figure II - 60 : Dégradation de l'acide ascorbique en fonction du temps par chauffage ohmique à différentes fréquences de traitement et par traitement thermique conventionnel dans la pulpe de cerise acérola (A) et le jus de cerise acerola (B), d'après Mercali et al. (2014)

Le traitement par chauffage ohmique à 10 kHz et 100 kHz offre une meilleure rétention en AA après 120 minutes de traitement que le traitement thermique conventionnel.

Les comportements du jus et de la pulpe de cerise acérola sont différents, avec moins d'écart entre le traitement par chauffage ohmique à 10 kHz et 100 kHz et le traitement thermique conventionnel pour le jus que la pulpe de cerise acérola. Les fortes dégradations à basses fréquences pourraient s'expliquer par le fait que des réactions électrochimiques peuvent survenir (Mercali et al., 2014b).

Pour ce qui est de l'ordre réactionnel, les cinétiques d'ordre 0 et 1 décrivent bien le profil de dégradation de l'AA, mais l'ordre 1 serait cependant plus précis (Mercali et al., 2014b). Néanmoins, le taux de dégradation de l'AA est entre 12 et 17 % pour la pulpe d'acérola, et entre 13 et 18 % dans le jus d'acérola, or, d'après Van Boeckel (2009), il est difficile de discriminer entre deux ordres réactionnels si, au cours d'un processus de dégradation, 60 à 70 % du composé étudié initialement présent n'a pas été dégradé. Il n'est donc pas possible dans ce cas d'établir avec certitude que la dégradation de l'AA suit bien une cinétique d'ordre 1.

3.10.5 Traitement par haute pression

Le traitement par haute pression hydrostatique (HHP de l'anglais « High Hydrostatic Pressure Processing ») utilise de l'eau comme milieu pour mettre les produits sous pression, jusqu'à 800 MPa

(Torres et al., 2011, Polydera et al., 2005, Plaza et al., 2006, Chakraborty et al., 2015). Un des avantages principaux de ce type de processus est la transmission quasi-instantanée de pression isostatique au produit, et ceci indépendamment de la taille, de la forme et de la composition de l'aliment conduisant ainsi à des traitements très homogènes (Patras et al., 2009).

La rétention en vitamine C est supérieure avec des traitements de type HHP par rapport aux processus thermiques classiques (Polydera et al., 2005, Torres et al., 2011, Verbeyst et al., 2013), pour la même réduction de la charge en microorganismes.

En 2013, Verbeyst et al. ont également étudié l'influence de traitement HHP sur la dégradation de l'AA dans une purée de fraise (figure II – 61) (Verbeyst et al., 2013).

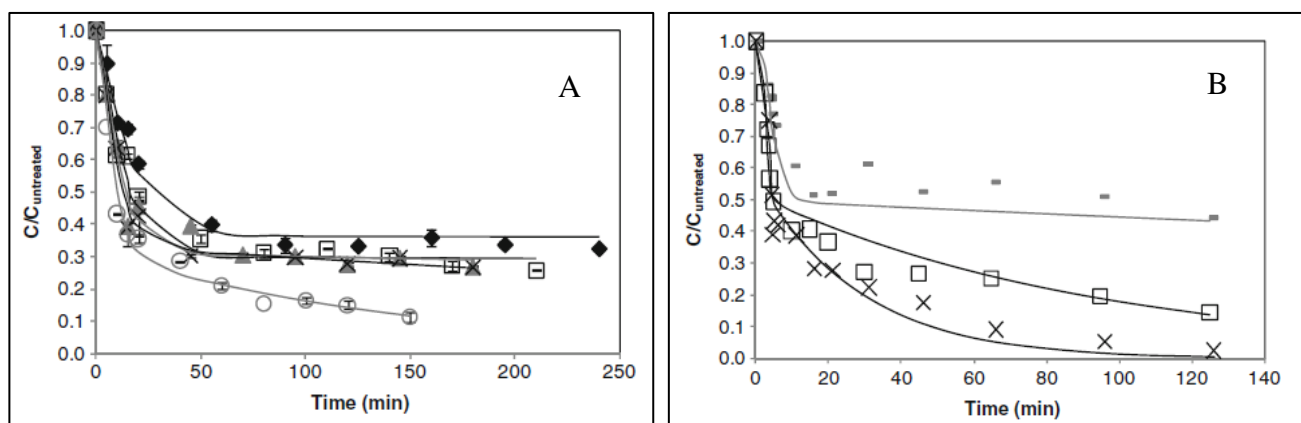


Figure II - 61 : Evolution de la concentration en acide ascorbique en fonction du temps à dans la purée de fraise à (A) 0,1 MPa et (B) 700 MPa à (-) 60 °C, (♦) 80 °C, (□) 90 °C, (▲) 100 °C, (x) 110 °C et (○) 120 °C

Plus la pression augmente, plus la dégradation de l'AA est rapide. En effet, la dégradation de l'AA est entre 5 et 20 fois plus rapide lorsque la pression est de 700 MPa (figure II – 61 B) qu'à pression atmosphérique (figure II – 61 A) pour une même température. De plus, une dégradation rapide est observée pendant les premières minutes, suivie d'un palier. Cette dégradation rapide correspond à la dégradation de l'AA par voie oxydoréductive, et, comme les expériences ont été réalisées dans des récipients scellés, il n'y a pas de renouvellement d'oxygène, ce qui veut dire que le palier observé après la dégradation rapide de l'AA par voie oxydoréductive correspond à la dégradation de l'AA par voie hydrolytique. Cette dégradation par voie hydrolytique commence à être significative à une température de 90 °C et une pression de 700 MPa (figure II – 61 B). La dégradation de l'AA se déroulant ici en deux étapes, les données ont été modélisées avec un modèle de conversion fractionnel du premier ordre (en trait plein sur la figure II – 61)

En 2005, Polydera et al. ont effectué des études comparatives de cinétiques de dégradation d'AA durant le stockage de jus d'orange frais après pasteurisation classique et traitement HHP (figure II – 62) (Polydera et al., 2005).

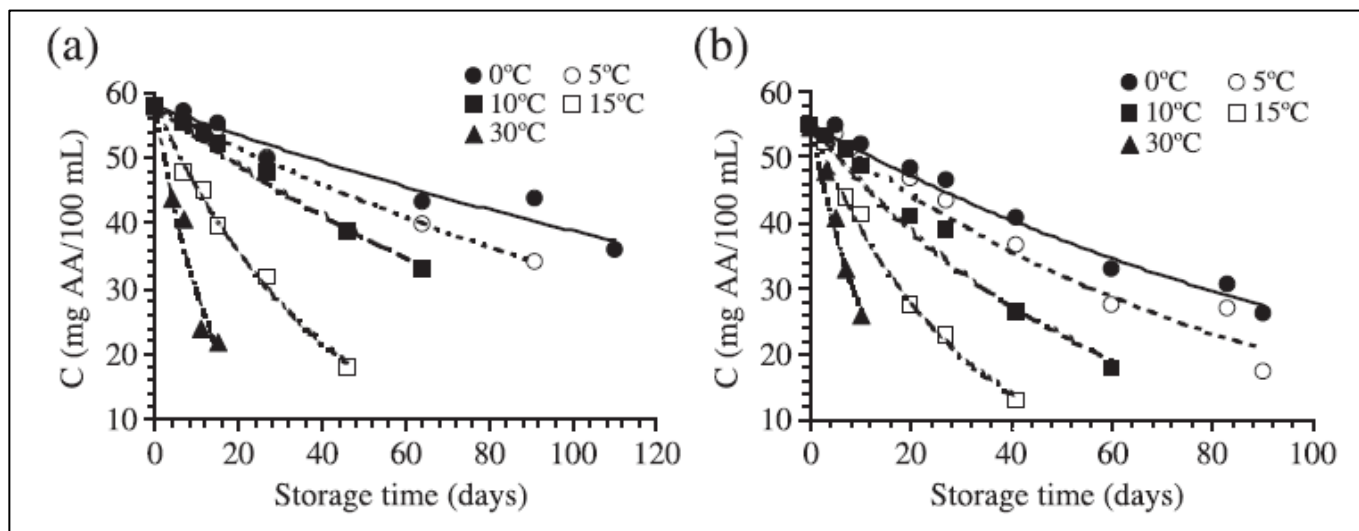


Figure II - 62 : Courbes représentant la perte d'acide ascorbique en fonction du temps durant le stockage dans le jus d'orange (a) après traitement HHP et (b) pasteurisation thermique conventionnel de 0 à 30 °C, d'après Polydera et al. (2005)

La rétention en AA au cours du stockage est supérieure dans le cas du jus d'orange traité par HHP. Le traitement HHP atténuerait la disponibilité en ions métalliques tels que les ions fer ou cuivre pouvant catalyser l'oxydation de l'AA. Cette rétention supérieure peut également être due à la destruction de peroxydes par traitement HHP (Polydera et al., 2005). Ce type de traitement a l'avantage de pouvoir désactiver certaines enzymes responsables de l'altération de la qualité nutritionnelle du jus d'orange ainsi que les microorganismes responsables de l'altération de ce jus, sans en affecter fortement les qualités sensorielle et nutritionnelle (Polydera et al., 2005). En 2011, Torres et al. ont également étudié la stabilité de l'AA dans le jus d'orange pendant le stockage après traitement HHP (figure II - 63) (Torres et al., 2011).

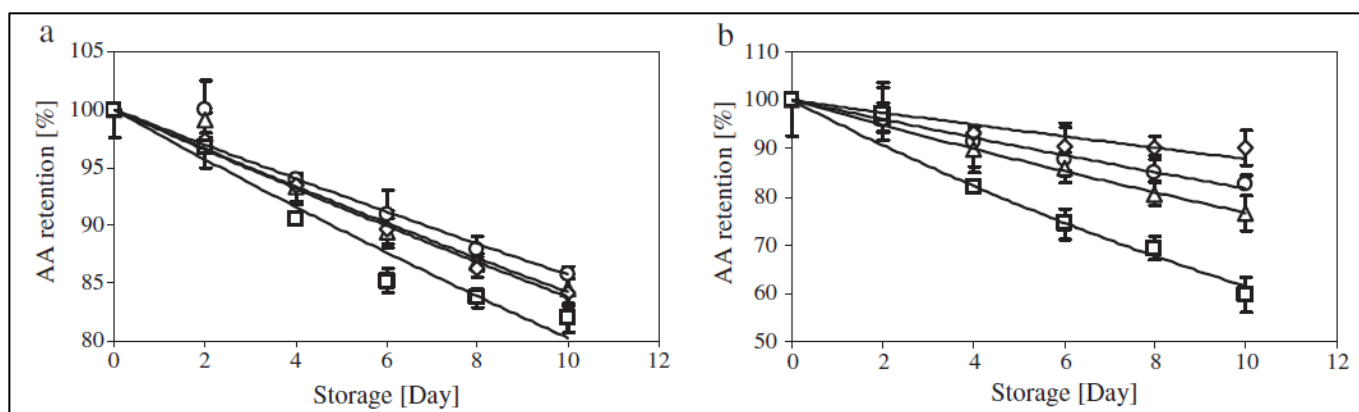


Figure II - 63 : Courbes représentant la perte d'acide ascorbique en fonction du temps durant le stockage dans le jus d'orange à (a) 4 °C et (b) 20 °C après traitement HHP à 400 MPa (Δ), 500 MPa (\circ), 600 MPa (\diamond) et non traité (\square), d'après Torres et al. (2011)

Le traitement HHP favorise la rétention en AA au cours du stockage par rapport à un échantillon non traité. L'effet est d'autant plus marqué au cours du stockage à 20 °C. Ceci est dû à la possible désactivation de peroxydes pendant le traitement HHP (Torres et al., 2011).

Dans le cas de traitements HHP, la dégradation de l'AA semble suivre une cinétique d'ordre 1 (Polydera et al., 2005, Torres et al., 2011), mais le taux de dégradation est < 40 % au cours du stockage à 40 °C et il n'est donc pas possible de conclure avec certitude sur l'ordre (Van Boekel, 2009).

Pour ce qui est de la rétention en AA au cours de procédés HHP, Patras *et al.* (2009) ont comparé ce type de traitement avec une pasteurisation conventionnelle dans une purée de fraise. Après plus de 2 minutes de traitement par pasteurisation classique à 70 °C, la concentration en AA dans la purée de fraise diminuait de 633 mg/100 g à 496 mg/100 g (soit une perte de 22 %), alors que, lors d'un traitement HHP effectué à 20 °C pendant 15 minutes, la concentration en AA diminuait à 574 mg/100 g lorsque la pression était de 400 MPa, à 577 mg/100 g pour une pression de 500 MPa et à 599 mg/100 g pour une pression de 600 MPa (soit une perte entre 5 et 10 %) (Patras et al., 2009). Le traitement HHP favorise donc la rétention en AA par rapport au traitement thermique conventionnel.

3.10.6 Traitement par champs électriques pulsés

La technique de traitement par champs électriques pulsés (PEF de l'anglais « Pulsed Electric Field ») est une technologie proposée dans le monde de l'industrie agroalimentaire pour pasteuriser divers types d'aliments en les exposant à de courtes impulsions électriques de haut voltage pendant que le produit se trouve entre deux électrodes dans une chambre de traitement (Cortés et al., 2008, Plaza et al., 2006, Zulueta et al., 2010, Torregrosa et al., 2006).

Cette technique peut s'appliquer dans les produits liquides, comme le jus d'orange (Cortés et al., 2008, Plaza et al., 2006), le jus d'orange-carotte (Torregrosa et al., 2006) ou encore le jus d'orange avec lait (Zulueta et al., 2010).

En 2006, Torregrosa *et al.* ont étudié l'influence d'un traitement PEF sur la stabilité de l'AA pendant le traitement et durant le stockage de jus d'orange-carotte, et comparé cette stabilité à du jus d'orange stocké après traitement par pasteurisation classique (figure II – 64) (Torregrosa et al., 2006).

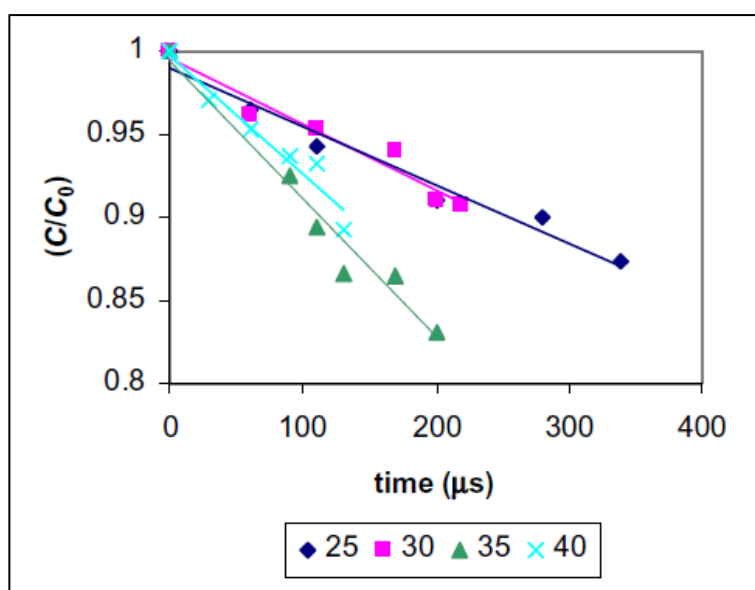


Figure II - 64 : Courbes représentant la dégradation de l'AA dans le jus d'orange-carotte pendant un traitement PEF à différents voltages (kV/cm), d'après Torregrosa *et al.* (2006)

La dégradation de l'AA semble linéaire pendant un traitement PEF (Torregrosa et al., 2006). Les auteurs rapportent que la cinétique de dégradation de l'AA suit une cinétique d'ordre 0, mais avec un taux de dégradation inférieur à 20 % donc trop faible pour conclure sur l'ordre (Van Boekel, 2009). Quand un traitement PEF est appliqué, le temps de traitement est si court (quelques μ s) que les conditions anaérobiques ne sont pas atteintes (Torregrosa et al., 2006). Des études comparatives entre un traitement par pasteurisation thermique et un traitement PEF ont également été entreprises (figure II – 65) (Torregrosa et al., 2006).

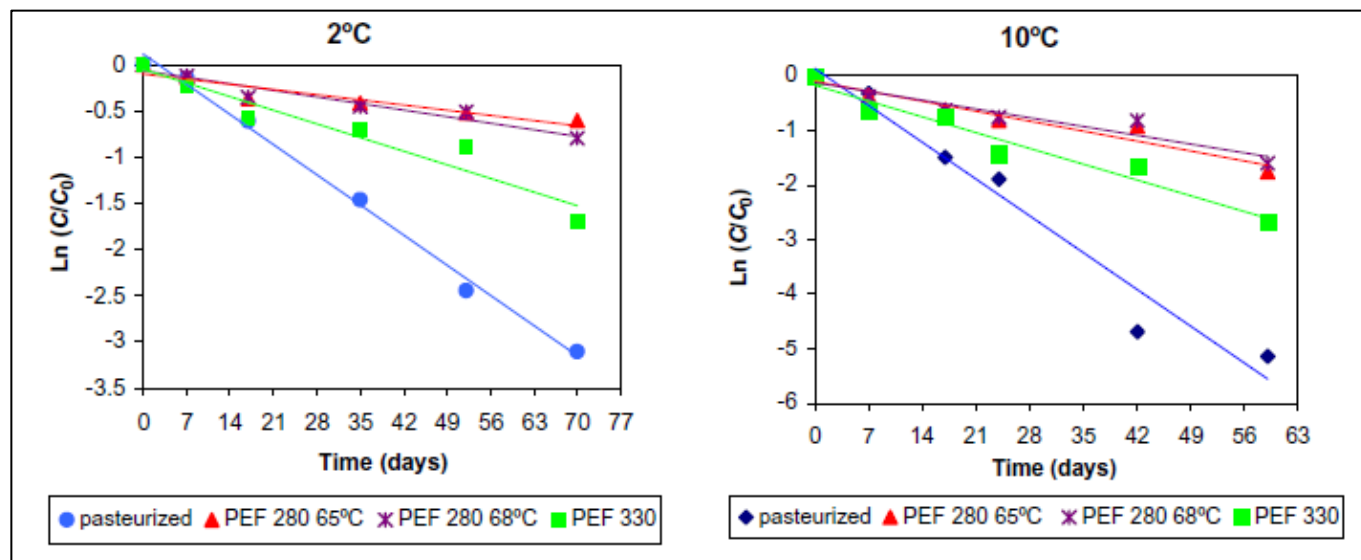


Figure II - 65 : Courbes représentant la dégradation de l'AA dans le jus d'orange-carotte après traitement PEF et pasteurisation pendant le stockage à 2 °C et 10 °C, d'après Torregrosa et al. (2006)

La rétention en AA est meilleure dans le cas d'échantillons traités par la technique PEF que par pasteurisation classique, avec une dégradation de l'AA qui suit une cinétique d'ordre 1 (Torregrosa et al., 2006). En effet, après 70 jours de stockage à 2 °C, il ne reste que 4 % d'acide ascorbique initial dans un jus d'orange-carotte pasteurisé, contre 18 à 60 % dans un jus d'orange-carotte traité par PEF. Pour un stockage à 10 °C, il ne reste que 0,5 % d'AA après 60 jours de stockage, contre 8 à 22 % pour un jus d'orange-carotte traité par PEF.

3.11 Conclusion

La vitamine C est un nutriment bénéfique pour l'homme qui contribue à limiter plusieurs types de maladies et qu'il est nécessaire d'apporter par l'alimentation. Les produits végétaux sont les principaux aliments qui contribuent à l'apport en vitamine C. La vitamine C est thermolabile et dans le cas des conserves, les traitements thermiques appliqués aux fruits et légumes dégradent en partie la teneur en vitamine C. Plusieurs procédés alternatifs ont été étudiés afin d'augmenter la rétention en vitamine C dans les produits tout en garantissant la sécurité sanitaire. Ces procédés ont des avantages certains, mais aussi des inconvénients. Ces techniques alternatives peuvent potentiellement se substituer à la pasteurisation et seront donc efficaces pour détruire les bactéries végétatives, mais pas assez pour détruire les bactéries

sporulantes très thermorésistantes. De plus, ces techniques ne sont pas polyvalentes et ne fonctionnent que sur certaines catégories de produits. Les traitements thermiques utilisés étant souvent drastiques, il convient donc de mettre en place des processus de stérilisation optimisés afin de pouvoir obtenir une bonne rétention de vitamine C après les différentes étapes de traitements, tout en garantissant la sécurité microbiologique des aliments.

4 Les bactéries d'altération

Les boîtes de conserves restent stables pendant plusieurs années à température ambiante si le traitement thermique subi inactive les microorganismes mésophiles (Durand et al., 2015a). L'altération des conserves faiblement acides (pH > 4,5) survient principalement lorsque ces boîtes sont incubées à haute température (> 40 °C). De manière générale, l'altération provient de la croissance microbienne et est détectée par production de gaz (gonflement de la boîte), couleurs/odeurs anormales, variation de pH ou encore un examen microscopique (André et al., 2013). L'altération est causée par la survie et la multiplication de bactéries thermophiles sporulantes (Durand et al., 2015a, Viedma et al., 2009). En effet, au cours du stockage à 37 °C pendant 10-14 jours, à 37 °C pendant 7 jours ou à 32 °C pendant 21 jours, des spores de mésophiles peuvent croître et germer (André et al., 2013). Les bactéries sporulantes thermophiles sont décrites comme non-pathogènes (André et al., 2013).

Les espèces les plus couramment détectées dans les conserves altérées sont : *Bacillus coagulans*, *Geobacillus stearothermophilus*, *Moorella thermoacetica/thermoautotrophica* et *Thermoanaerobacterium spp* (Durand et al., 2015a).

4.1 *Bacillus coagulans*

4.1.1 Généralités

Bacillus coagulans est une bactérie d'altération des aliments (De Clerck et al., 2004, Haberbeck et al., 2012). Ce microorganisme est responsable du surissement des fruits et légumes en boîtes de conserves (Palop et al., 1999, Zimmermann et al., 2013a, Zimmermann et al., 2014), et principalement des produits laitiers ou des conserves à base de tomate (De Clerck et al., 2004, Anderson, 1984, Daryaei and Balasubramaniam, 2013, Peng et al., 2012). Cette altération est due à la production de hautes concentrations d'acide lactique, sans formation de gaz, qui peuvent engendrer une augmentation drastique de l'acidité des aliments (Haberbeck et al., 2012, De Clerck et al., 2004, Haberbeck et al., 2013, Zimmermann et al., 2013a, Zimmermann et al., 2014, Zimmermann et al., 2013b). Cette bactérie est non pathogène, mais elle peut augmenter le pH d'aliments très acides à un pH auquel les spores de *Clostridium botulinum* peuvent germer (Somavat et al., 2013, Haberbeck et al., 2012, Peng et al., 2012). En effet, lorsque les sucres présents dans une matrice (comme par exemple un produit à base de tomate) sont en quantité limitée après la germination

des spores de *B. coagulans*, cette bactérie peut fermenter les protéines présentes dans la matrice, ce qui peut causer une augmentation du pH (Anderson, 1984).

B. coagulans a été décrite pour la première fois en 1915 par Bernard Wernick Hammer, qui isola cette bactérie à partir de lait en conserve altéré (De Clerck et al., 2004, Su and Xu, 2014). Cette bactérie fait partie des premiers microorganismes isolés (Su and Xu, 2014). Du fait de son fort pouvoir d'altération, *B. coagulans* a engendré de considérables pertes économiques dans l'industrie agroalimentaire (Haberbeck et al., 2012, Peng et al., 2012).

Néanmoins, cette bactérie d'altération est présente dans des matrices alimentaires très diverses. Elle a été isolée dans le fromage de brebis (Román-Blanco et al., 1999), les conserves de chou (Warth, 1978), les viandes, les saucisses de Francfort (Lynch and Potter, 1989), la crème de maïs (Feig and Stersky, 1981), diverses conserves d'aliments faiblement acides, soupes de maïs, corned beef, formule de régime liquide médicale (Nakajyo and Ishizu, 1985), les cerises en conserve (Al-Khayat and Mueller, 1982), les jus de légumes, les sucres, ou encore les haricots verts basquaise, la ratatouille, la purée de pommes, les sauces exotiques, le foie gras, la tapenade, la daube de bœuf et le cassoulet (données CTCPA).

B. coagulans est une bactérie de type Gram positif (Su and Xu, 2014, Rosenberg et al., 2005) ayant un métabolisme microaérophile (Rosenberg et al., 2005). La structure de ce microorganisme s'organise en couches superposées : une capsule, une couche S et une paroi cellulaire composée d'une couche de peptidoglycane (figure II – 66).



Figure II - 66 : Photographie de *B. coagulans* obtenue par microscopie (x100) (T. Malleck, CTCPA)

Les cellules de *B. coagulans* sont longues et minces ; certaines sont courbées et ont des extrémités arrondies. Les colonies formées par cette bactérie ont un diamètre moyen de 2,5 mm, sont convexes, lisses, brillantes et ne produisent aucun pigment.

4.1.2 Propriétés physico-chimiques

B. coagulans est une bactérie mésophile, thermophile facultative capable de croître sur une large gamme de température (Ball and Edwards, 1986). C'est une bactérie sporogène (Su et al., 2011, Jiang et al., 2014b, Su and Xu, 2014, Haberbeck et al., 2013, Roberts and Hoover, 1996, Peng et al., 2012), homofermentative, acido-tolérante, anaérobie facultative produisant de l'acide lactique (Su et al., 2011, Haberbeck et al., 2012, Zimmermann et al., 2013a, Payot et al., 1999). En raison de sa capacité à produire des spores, *B. coagulans* est également connue sous le nom de *Lactobacillus sporogenes*. Sa température de croissance optimale est de 50-55 °C (Su et al., 2011, Jiang et al., 2014b, Su and Xu, 2014), et elle peut croître à des faibles pH (compris entre 4 et 4,5) (Zimmermann et al., 2013b, Somavat et al., 2013, Daryaei and Balasubramaniam, 2013, Palop et al., 1999, Zimmermann et al., 2014, Peng et al., 2012). Ce microorganisme a donc une capacité de croissance spécialement adaptée aux aliments acides (De Clerck et al., 2004). En 1999, Payot et al. ont montré que le pH optimal de production d'acide lactique par *B. coagulans* est de 6,5 à une température comprise entre 50 et 52 °C (Payot et al., 1999). Les spores de *B. coagulans* sont très thermorésistantes (Zimmermann et al., 2013b, Somavat et al., 2013, Haberbeck et al., 2012, Rosenberg et al., 2005), et légèrement résistantes à la pression (Wang et al., 2009, Daryaei and Balasubramaniam, 2013). Certaines spores sont également capable de survivre à des traitements thermiques supérieurs à 100 °C pendant 10 minutes (*B. coagulans* isolée dans certains cas de non-stabilité de boîtes de conserve) (Durand et al., 2015a).

Les endospores pouvant être formées à partir des cellules végétatives sont très résistantes à la destruction, et peuvent généralement tolérer l'application de stress environnementaux, tels que l'acidification jusqu'à un pH faible, l'ajout de produits chimiques antimicrobiens ou encore le chauffage (Zimmermann et al., 2013b).

B. coagulans fait partie des quelques bactéries du genre *Bacillus* capable de croître jusqu'à une densité cellulaire élevée dans des conditions anaérobiques (Su et al., 2011). La croissance de *B. coagulans* requiert des substrats organiques complexes, tels que des sucres fermentescibles, des peptones ou des extraits de viande et de levure.

B. coagulans est capable de produire de l'acide à partir de différent sucres, tels que l'arabinose, le xylose, le glucose, le galactose, le mannose, le fructose, le maltose, le saccharose et le tréhalose.

4.1.3 Inactivation de *Bacillus coagulans*

Lorsque *B. coagulans* est sous forme sporulée, elle devient très thermorésistante. Par conséquent, il convient donc pour inactiver ces spores d'avoir recours à des traitements thermiques souvent drastiques. Plusieurs travaux sur l'inactivation de spores de *B. coagulans* ont été publiés avec divers types de traitements thermiques, isothermes et non isothermes, mais également des méthodes alternatives telles que le traitement hautes pressions (Zimmermann et al., 2013b, Wang et al., 2009, Daryaei and

Balasubramaniam, 2013, Roberts and Hoover, 1996, Espejo et al., 2014, Vercammen et al., 2012) ou le chauffage ohmique (Somavat et al., 2013).

L'influence du pH sur l'inactivation de *B. coagulans* a également été étudiée (Palop et al., 1997a, Palop et al., 1999, Peng et al., 2012).

4.1.3.1 Inactivation par traitement thermique

Le traitement thermique isotherme est le traitement thermique classique utilisé dans l'industrie agro-alimentaire.

En règle générale, l'inactivation d'une bactérie suit une loi du premier ordre (Zimmermann et al., 2013a), mais il peut y avoir la présence d'un épaulement au début de l'inactivation thermique, appelé « activation shoulder » (Zimmermann et al., 2013a). En 1997, Palop et al. ont étudié la thermorésistance d'une souche de *B. coagulans* en fonction de la température et ont observé un tel épaulement (figure II – 67) (Palop et al., 1997b).

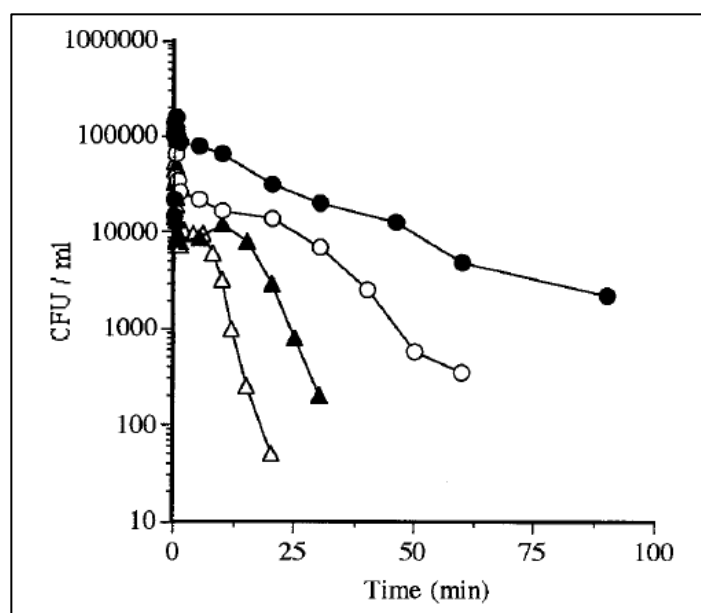


Figure II - 67 : Courbes de survie de *B. coagulans* à 101 °C (●), 103,3 °C (○), 105,6 °C (▲) et 108,5 °C (Δ) dans du tampon McIlvaine à pH = 7, d'après Palop et al. (1997)

Palop et al. (1997) ont montré la présence de deux fractions (ou sous-populations) différentes dans chaque courbe de survie. La fraction thermorésistante pourrait être composée de spores dormantes qui subissent une activation thermique (Palop et al., 1997b). D'autre part, les spores thermosensibles peuvent se transformer en spores thermorésistantes par adaptation thermique durant le chauffage, la proportion d'adaptation des spores thermosensibles dépend de la température de traitement (Palop et al., 1997b).

Les traitements thermiques non isothermes consistent en des paliers de différents temps à différentes températures ou encore en des montées dynamiques de température à différentes vitesses (Zimmermann et al., 2014, Haberbeck et al., 2013). Ils peuvent être intéressants pour éliminer progressivement une

population de bactéries divisée en sous-populations ayant des états de stress différents en utilisant au final un traitement thermique moins drastique, tant au niveau de la température qu'au niveau du temps.

En 2014, Zimmermann et *al.* ont étudié l'inactivation de *B. coagulans* dans la pulpe de tomate par traitement thermique non isotherme (Zimmermann et al., 2014). En 2013, Haberbeck et *al.* ont également étudié l'inactivation de cette bactérie dans un bouillon nutritif (Haberbeck et al., 2013). Ils ont montré qu'il est possible d'inactiver *B. coagulans* grâce à des traitements thermiques non isothermes optimisés.

4.1.3.2 Inactivation par haute pression hydrostatique

Dans le cadre d'une inactivation bactérienne, le traitement HHP peut être une alternative au traitement thermique conventionnel. Néanmoins, l'efficacité d'un tel traitement est accru en le combinant à un traitement thermique modéré, notamment du fait de la présence potentielle d'endospores pouvant résister au stress appliqué (Zimmermann et al., 2013b). De plus, dans un tampon ayant un pH de 7, un traitement HHP a pu induire l'activation de spores « superdormantes » de *B. coagulans* (Vercammen et al., 2012). En 2013, Zimmermann et *al.* ont étudié l'inactivation de spores de *B. coagulans* dans la pulpe de tomate par un traitement HHP combiné à un traitement thermique (figure II – 68) (Zimmermann et al., 2013b).

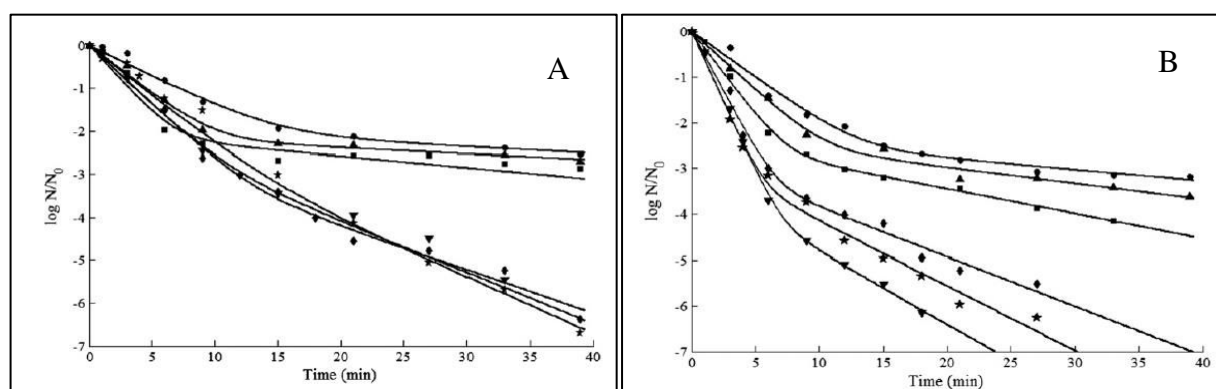


Figure II - 68 : Courbes représentant la survie des spores de *B. coagulans* par traitement HHP à 50 °C (A) et à 60 °C (B) à 300 MPa (●), 450 MPa (■), 500 MPa (◆), 550 MPa (*), 600 MPa (▼), d'après M. Zimmermann et al. (2013)

L'inactivation de *B. coagulans* par la combinaison d'un traitement HHP et d'un traitement thermique ne suit pas un modèle linéaire de premier ordre (Wang et al., 2009, Zimmermann et al., 2013b, Daryaei and Balasubramaniam, 2013). En revanche, le modèle biphasique (équation II – 39), qui est un modèle non linéaire, semble bien décrire l'inactivation de *B. coagulans* par la combinaison de ces deux traitements, ce modèle étant communément utilisé pour décrire des situations où deux sous-populations distinctes sont présentes dans un milieu (Zimmermann et al., 2013b) :

$$\log\left(\frac{N}{N_0}\right) = \log(f \cdot \exp(-K_{max1} \cdot t) + (1 - f) \cdot \exp(-K_{max2} \cdot t)) \quad \text{Équation II - 39}$$

où N représente le nombre de spores survivantes (UFC/mL) après un temps t , N_0 est le nombre initial de spores (UFC/mL) avant traitement thermique ($t = 0$), f est la fraction de la population initiale qui a été

détruite selon la constante de vitesse K_{max1} (min^{-1}), et $(1 - f)$ est la fraction de la population qui a été détruite selon la constante de vitesse K_{max2} (min^{-1}).

A 50 °C, il y a une variation considérable de la valeur de la constante de vitesse de destruction des spores de *B. coagulans* après 10 minutes et à faible pression (300-450 MPa, $K_{max1} = 0,33-0,74 \text{ min}^{-1}$, $K_{max2} = 0,03-0,06 \text{ min}^{-1}$), tandis que la variation est moins prononcée à plus haute pressions (500-600 MPa, $K_{max1} = 0,81-0,52 \text{ min}^{-1}$, $K_{max2} = 0,22-0,28 \text{ min}^{-1}$) (figure II – 60 A). A 60 °C, les constantes de vitesse K_{max1} et K_{max2} augmentent avec la pression (figure II – 60 B), donc, à 60 °C, l'augmentation de la pression a une influence sur ces deux paramètres. A pression égale, K_{max1} et K_{max2} sont plus élevés à 60 °C qu'à 50 °C. La valeur de f se situe entre 0,98 et 1.

4.1.3.3 Inactivation par chauffage ohmique

Comme stipulé dans la partie précédente, le chauffage ohmique peut être une alternative au traitement thermique conventionnel. La résistance thermique des spores de *B. coagulans* est plus faible lorsqu'elles sont soumises à un traitement par chauffage ohmique en comparaison avec le traitement thermique conventionnel à des températures inférieures ou égales à 100 °C (Somavat et al., 2013). Par contre, pour des températures supérieures à 110 °C, il n'y a aucune différence entre le traitement par chauffage ohmique et le traitement thermique conventionnel (Somavat et al., 2013).

4.1.4 Influence du pH sur l'inactivation

L'effet du pH sur la germination des spores et la croissance/multiplication des formes végétatives des bactéries est connu depuis longtemps (Palop et al., 1997a). Une diminution du pH entraîne la diminution de la thermorésistance des microorganismes (Peng et al., 2012, Palop et al., 1999).

La thermorésistance des spores de *B. coagulans* est toujours plus faible à pH acide (Palop et al., 1999). En 1999, Palop et al. ont étudié l'influence du pH sur la thermorésistance de spores de *B. coagulans* dans des tampons et en matrice alimentaire (figure II – 69) (Palop et al., 1999).

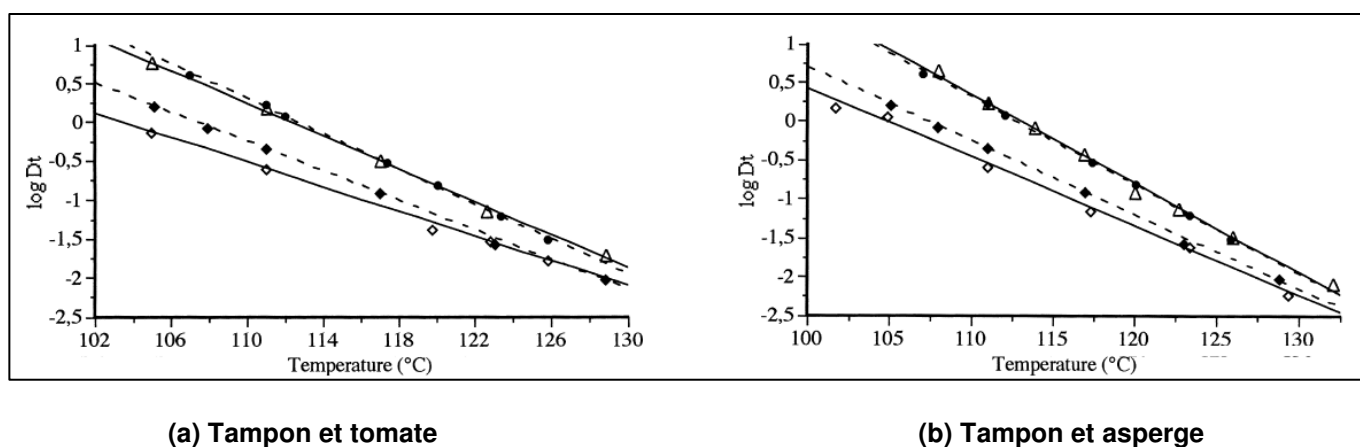


Figure II - 69 : Courbes représentant la thermorésistance de *B. coagulans* dans (a) du tampon McIlvaine à pH = 4 (♦) et pH = 7 (●) et dans la tomate à pH = 4 (◇) et pH = 7 (△) et (b) du tampon McIlvaine à pH = 4 (♦) et pH = 7 (●) et dans l'asperge à pH = 4 (◇) et pH = 7 (△), d'après Palop et al. (1999)

Quel que soit le milieu, tampon ou matrice alimentaire, la thermorésistance de *B. coagulans* est inférieure à pH = 4 qu'à pH = 7, avec un effet plus marqué dans le cas des matrices alimentaires.

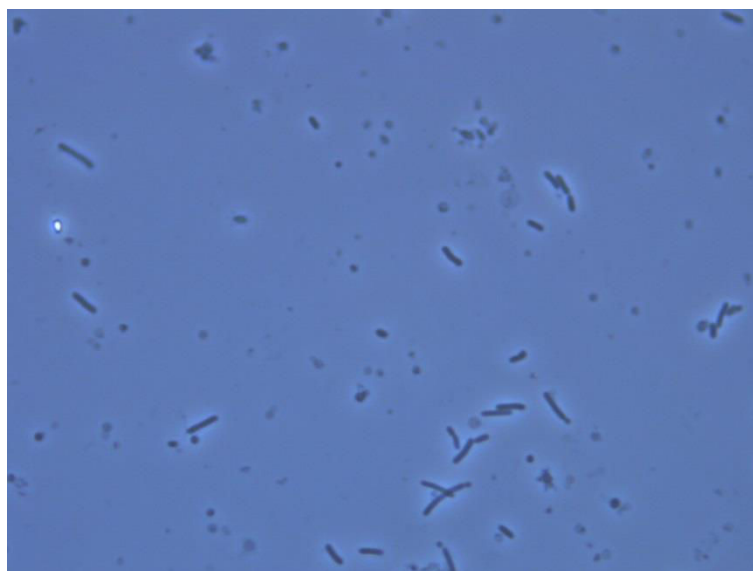
4.2 *Geobacillus stearothermophilus*

4.2.1 Généralités

Geobacillus stearothermophilus (*Gbs*) est une bactérie d'altération retrouvée fréquemment dans les légumes en conserve (Viedma et al., 2009). L'altération par cette bactérie résulte d'une production d'acide avec une faible (ou sans) production de gaz (Viedma et al., 2009). *Gbs* est décrite comme non pathogène (Liato et al., 2015) et peut se développer dans des environnements ayant une haute température (Viedma et al., 2009). Elle cause des pertes économiques car elle peut se développer au cours du stockage (Viedma et al., 2009, Mtimet et al., 2016, Kakagianni et al., 2016, André et al., 2013).

Gbs a été décrite pour la première fois en 1920 sous l'appellation *Bacillus stearothermophilus* (Patazca et al., 2006), avant d'être reclassée en *Geobacillus* en 2001. *Gbs* est principalement présente dans le lait (Gao et al., 2006), le café (Watanabe et al., 2003), et de manière générale dans les conserve peu acides (pH > 4,5) (Durand et al., 2015a, Durand et al., 2015b, Park et al., 2013). La présence de survivants après stérilisation est responsable de 35 % des cas de non stabilité après incubation à 55 °C (Mtimet et al., 2016, Durand et al., 2015b).

Gbs est une bactérie de type Gram positif (Viedma et al., 2009). La structure de ce microorganisme s'organise de la même manière que *B. coagulans* (figure II – 70).



**Figure II - 70 : Photographie de *Geobacillus stearothermophilus* obtenue par microscopie (x100)
(T. Malleck, CTCPA)**

Les propriétés de *Gbs* peuvent intéresser plusieurs secteurs industriels car c'est une source d'enzymes avec une grande stabilité thermique, et elle peut produire des composés antiviraux (Durand et al., 2015b).

4.2.2 Propriétés physico-chimiques

Geobacillus stearothermophilus est une bactérie thermophile (Kakagianni et al., 2016, Patazca et al., 2006, Mtimet et al., 2016, Iciek et al., 2008, Furukawa et al., 2009, André et al., 2013, Durand et al., 2015a, Viedma et al., 2009) capable de croître dans une gamme de température allant de 40 à 65 °C, avec un optimum de croissance entre 55 et 60 °C (Durand et al., 2015a, Durand et al., 2015b, Georget et al., 2015). *Gbs* peut croître de 33,7 °C à 68,1 °C dans du bouillon Tryptone Sel, avec une température optimale de croissance à 61,8 °C (Kakagianni et al., 2016), mais croît difficilement entre 35 et 40 °C (Kakagianni et al., 2016, Iciek et al., 2008). C'est une bactérie sporogène (Iciek et al., 2008, Durand et al., 2015b, Viedma et al., 2009, Gao et al., 2006, Furukawa et al., 2009, Watanabe et al., 2003), aérobic (Liato et al., 2015, Mtimet et al., 2016, Gao et al., 2006, Watanabe et al., 2003), causant l'altération des aliments en conserve par surissement (Watanabe et al., 2003, Durand et al., 2015b, Furukawa et al., 2009, Park et al., 2013). De par sa haute thermorésistance, *Gbs* est utilisée comme indicateur biologique pour évaluer l'efficacité d'un traitement thermique (Watanabe et al., 2003, Park et al., 2013, Georget et al., 2015, Iciek et al., 2008, Gao et al., 2006) en tant que substitut de *Clostridium botulinum* (Ahn et al., 2014). Les spores produites par *Gbs* sont très thermorésistantes, vingt fois plus que les spores de *Clostridium botulinum* (Viedma et al., 2009). Le temps de réduction décimale pour les spores de *Gbs* est supérieur à 1 minute à 121 °C (Durand et al., 2015a) et son facteur de réduction décimale est de l'ordre de 8 °C (Georget et al., 2015). *Gbs* a également des propriétés de chimiorésistance (Liato et al., 2015).

Gbs peut adhérer aux parois en inox et croître sous forme de biofilms, ce qui est une des principales causes d'altération des produits laitiers (Viedma et al., 2009). La croissance de *Gbs* peut être inhibée lorsque le milieu a un faible pH (< 4) (Liato et al., 2015, Mtimet et al., 2016, Iciek et al., 2008) ou un haut potentiel redox (Liato et al., 2015).

4.2.3 Inactivation de *Geobacillus stearothermophilus*

Les spores de *Gbs* étant très thermorésistantes, des traitements thermiques drastiques sont souvent nécessaires pour les détruire. Dans l'optique de toujours garantir la qualité nutritionnelle des aliments tout en garantissant la sécurité, plusieurs alternatives au traitement thermique conventionnel ont été testées sur l'inactivation des spores de *Gbs*, comme les traitements à haute pression de dioxyde de carbone (Furukawa et al., 2009, Watanabe et al., 2003), à haute pression hydrostatique (Patazca et al., 2006, Ahn et al., 2014) ou encore par chauffage ohmique (Park et al., 2013, Somavat et al., 2012).

4.2.3.1 Inactivation par traitement thermique

L'inactivation de *Gbs* par traitement thermique est bien connue à ce jour (figure II – 71).

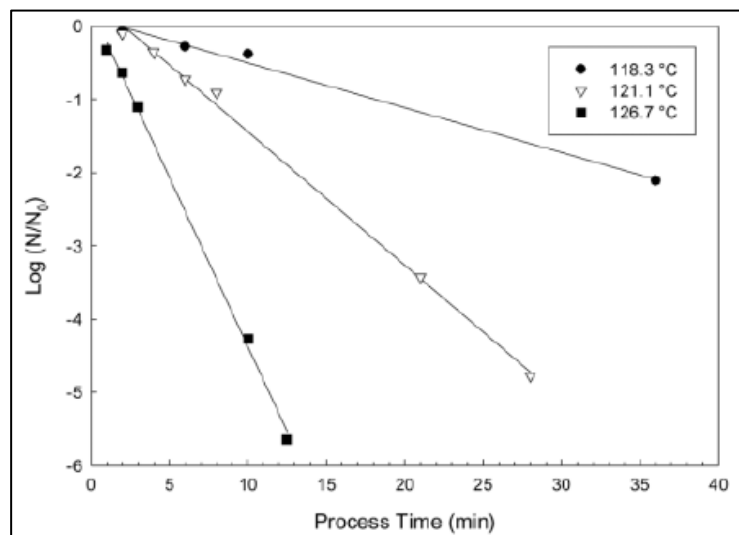


Figure II - 71 : Courbe de survie de spores *Geobacillus stearothermophilus* dans l'eau au cours d'un traitement thermique conventionnel, d'après Patazca et al. (2006)

La destruction des spores de *Gbs* suit une cinétique classique d'ordre 1 (Somavat et al., 2012), ce que confirment des données obtenues au CTCPA.

4.2.3.2 Inactivation par haute pression de dioxyde de carbone

En 2003, Watanabe et al. ont étudié l'impact d'un traitement par haute pression de CO₂ sur des spores de *Gbs* (Watanabe et al., 2003). Il est difficile d'inactiver *Gbs* par haute pression de CO₂ (Watanabe et al., 2003), mais ce traitement pourrait être plus efficace à plus haute température (figure II – 72).

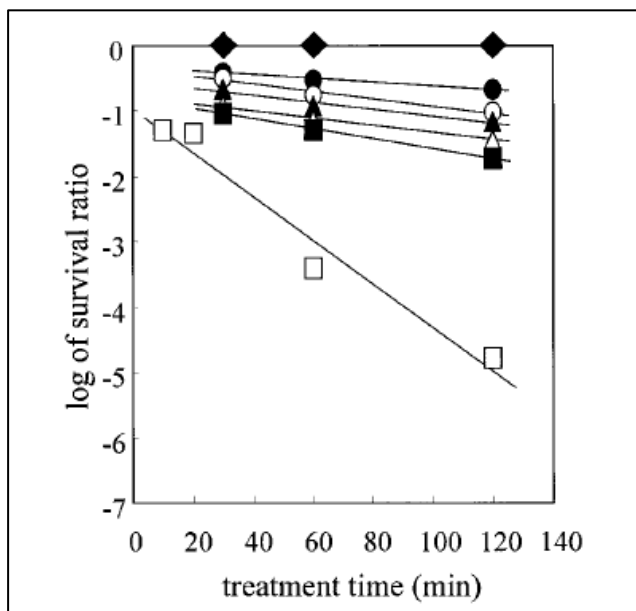


Figure II - 72 : Effet de la température sur la survie de spores de *Geobacillus stearothermophilus* à 30 MPa de pression de CO₂ à 35 °C (●), 55 °C (○), 65 °C (▲), 75 °C (△), 85 °C (■) et 95 °C (□) ; ◆ représente la courbe de survie de spores de *Gbs* après un traitement thermique à 95 °C, d'après Watanabe et al. (2003)

Le temps de réduction décimale des spores de *Gbs* à 95 °C sous 30 MPa de pression de CO₂ est de 30 minutes (Watanabe et al., 2003). A 35 °C et 20 MPa de pression de CO₂, *Gbs* n'est pas inactivée (Furukawa et al., 2009).

4.2.3.3 Inactivation par haute pression hydrostatique

L'inactivation par haute pression hydrostatique combinée à un traitement thermique est une méthode émergente pour la stérilisation d'aliments faiblement acide (Ahn et al., 2014).

En 2014, Anh et al. ont étudié l'inactivation de *Gbs* dans diverses matrices alimentaire ainsi que dans de l'eau déminéralisée (figure II – 73) (Ahn et al., 2014).

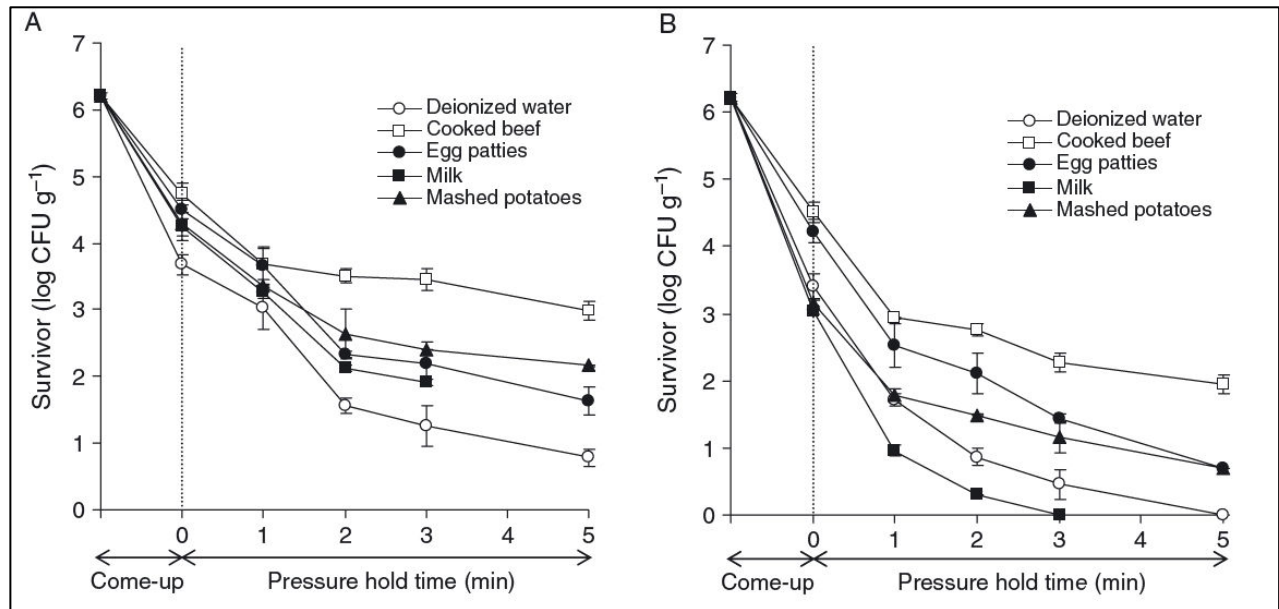


Figure II - 73 : Courbes de survie de spores de *G. stearothermophilus* dans diverses matrices alimentaires au cours d'un process de stérilisation à 105 °C sous (A) 500 MPa de pression et (B) sous 700 MPa de pression, d'après Anh et al. (2014)

On observe une inactivation plus forte dans l'eau déminéralisée que dans le bœuf cuisiné. La plus grande résistance de *Gbs* observée dans le bœuf cuisiné est dû au fait que dans cette matrice, l'activité de l'eau est plus faible ($a_w = 0,93$) que pour le lait ($a_w = 0,99$), la purée de pomme de terre ($a_w = 0,99$) ou la galette d'œufs ($a_w = 0,98$) (Ahn et al., 2014). La cinétique de destruction des spores ne suit pas une loi classique d'ordre 1, et le modèle de Weibull a été utilisé (Ahn et al., 2014).

Dans la même optique, Patazca et al. ont étudié l'influence de la pression appliquée au cours d'un process de stérilisation sur *Gbs* dans de l'eau (figure II – 74) (Patazca et al., 2006).

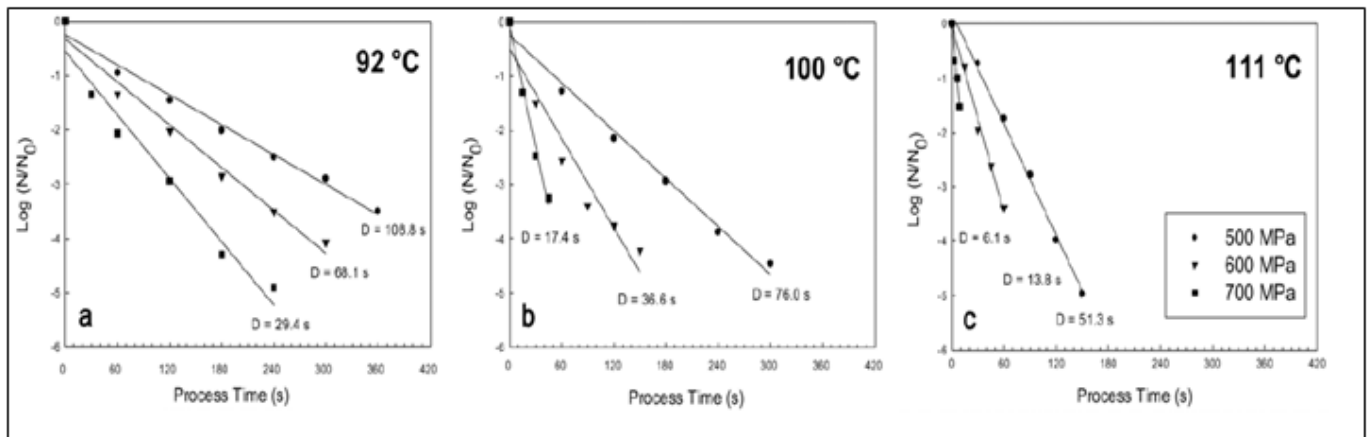


Figure II - 74 : Courbes de survie de spores de *G. stearothermophilus* dans l'eau à (a) 92 °C, (b) 100 °C et (c) 111 °C à 500 MPa, 600 MPa et 700 MPa, d'après Patzca et al. (2006)

Augmenter la pression permet d'augmenter la destruction de spores de *Gbs* à des températures élevées (Ahn et al., 2014, Patzca et al., 2006). En effet, à une température donnée, une augmentation de la pression de 100 MPa entraîne une division par deux ou plus de la valeur de *D*. De plus, à une pression donnée, une augmentation de la température de 92 à 100 °C entraîne une division de *D* de 1,5 de 1,8 fois, une augmentation de la température de 100 à 111 °C entraîne une division de *D* de 1,5 à 2,8 fois.

4.2.3.4 Inactivation par chauffage ohmique

La stérilisation par chauffage ohmique peut être une alternative pour détruire les spores bactériennes thermophiles. En 2012, Somavat et al. ont étudié l'influence du chauffage ohmique sur la destruction de spores de *Gbs* et comparé les résultats avec un traitement thermique conventionnel (figure II – 75) (Somavat et al., 2012).

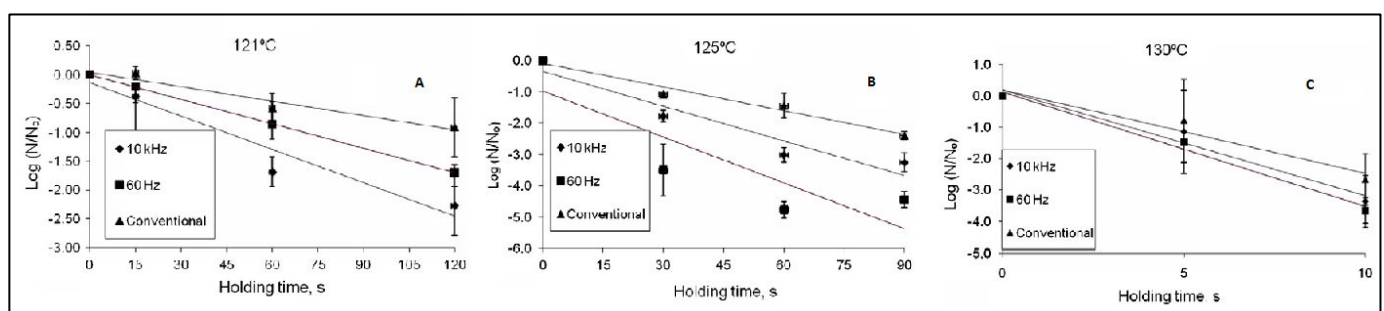


Figure II - 75 : Inactivation de spores de *G. stearothermophilus* durant un chauffage ohmique (10 kHz et 60 Hz) et un traitement thermique conventionnel à (A) 121 °C, (B) 125 °C et (C) 130 °C, d'après Somavat et al. (2012)

À température égale, le traitement thermique par chauffage ohmique est plus efficace que le traitement thermique conventionnel pour la destruction des spores de *Gbs* (Somavat et al., 2012). En effet, à température égale et à la fin de chaque de traitement, il y a respectivement environ 1 et 2 log de plus de spores qui est détruit par chauffage ohmique à 60 Hz et à 10 kHz que par traitement thermique conventionnel.

En 2013, Park et al. ont étudié l'influence d'un traitement par chauffage ohmique assisté par haute pression (figure II – 76) (Park et al., 2013).

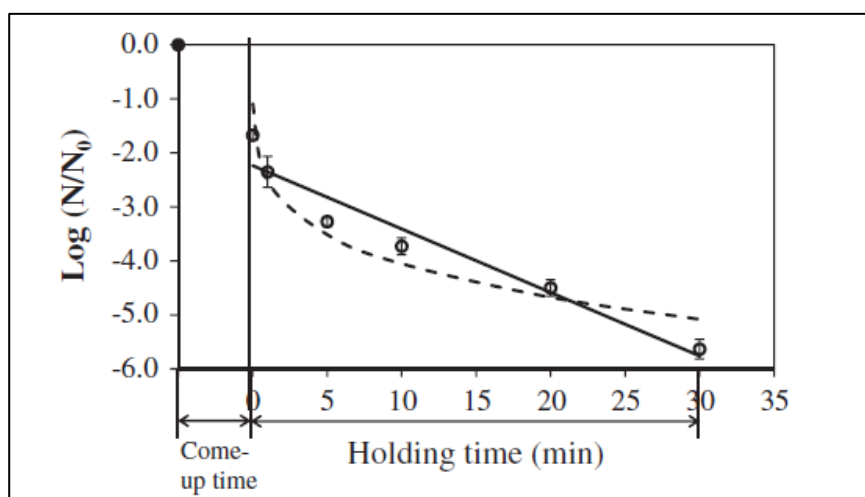


Figure II - 76 : Valeurs expérimentales et prédites (par modèle linéaire en trait plein et modèle de Weibull en pointillé) du ratio de survie de *G. stearotherophilus* dans une solution à 0,1 % de NaCl à pH = 7 durant un traitement combiné entre pression/chauffage ohmique/chauffage (600 Mpa, 50 V/cm, 105 °C), d'après Park et al. (2013)

La destruction des spores de *Gbs* dans ce cas de figure ne suit pas une cinétique classique d'ordre 1, les données étant mieux décrites par un modèle de Weibull (Park et al., 2013).

4.3 *Moorella thermoaceticalthermoautotrophica*

4.3.1 Généralités

Moorella thermoacetica et *Moorella thermoautotrophica* sont deux espèces de bactéries d'altération retrouvées dans les légumes en conserves faiblement acides (Durand et al., 2015a). Ces deux espèces étant génétiquement très proches, il est impossible de faire la différence entre les deux, c'est donc pour cela que *Moorella thermoaceticalthermoautotrophica* (*Moo t/t*) est traitée comme une seule espèce. *Moo t/t* est non pathogène et peut se développer dans des environnements extrêmement chauds, même sur des lignes de production (Durand et al., 2015a), ce qui engendre des pertes économiques.

Moo t/t était connue autrefois sous le nom de *Clostridium thermoaceticum* (Drake and Daniel, 2004, Witjitra et al., 1996, Parekh and Cheryan, 1994, Sakai et al., 2005), avant d'être reclassifiée dans le genre *Moorella* dans le milieu des années 1990 (Drake and Daniel, 2004). Cette espèce a été découverte par F. E. Fontaine en 1942 (Drake and Daniel, 2004). *Moo t/t* a été isolée pour la première dans le fumier, puis ensuite dans des sols de jardin du Kansan et d'Egypte (Drake and Daniel, 2004) et dans la boue (Sakai et al., 2005). Cette bactérie est responsable de 36 % des cas de non stabilité après incubation à 55 °C (André et al., 2013).

Moo t/t est une bactérie Gram positif et sporogène (figure II – 77) (Drake and Daniel, 2004). Les propriétés de *Moo t/t* peuvent être intéressantes d'un point de vue industriel de par sa capacité à produire

de l'acide acétique (ou de l'acétate de sodium, de calcium ou de magnésium) (Parekh and Cheryan, 1994, Drake and Daniel, 2004) et de l'éthanol (Sakai et al., 2005).

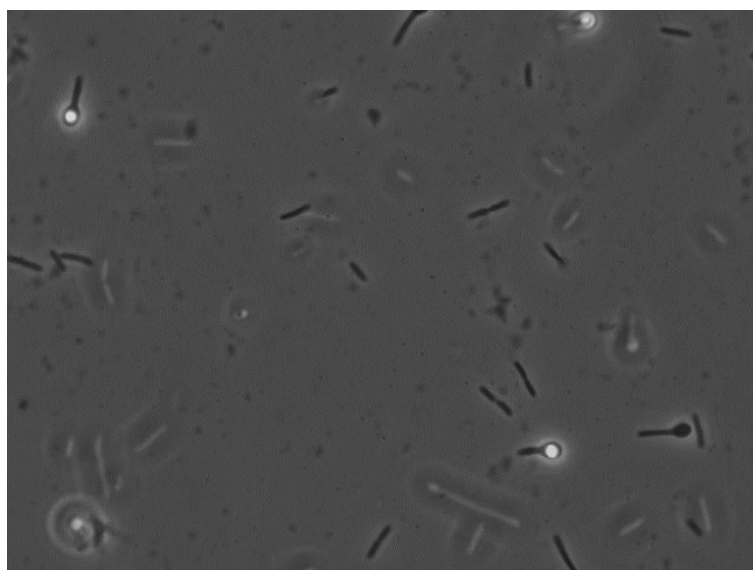


Figure II - 77 : Photographie de *Moo t/t* obtenue par microscope à contraste de phase (x 100) (T. Malleck, INRA)

A ce jour, peu de travaux ont été effectués sur *Moo t/t* et cette bactérie n'est pas très caractérisée.

4.3.2 Propriétés physico-chimiques

Moo t/t est une bactérie thermophile (Drake and Daniel, 2004, Durand et al., 2015a) capable de croître sur une gamme de température de 42 à 66 °C, avec un optimum de croissance à 60 °C (Byrer et al., 2000). *Moo t/t* est une bactérie sporogène (Byrer et al., 2000, Durand et al., 2015a, Drake and Daniel, 2004), anaérobie, homoacétogène (Witjitra et al., 1996) causant l'altération des aliments en conserve par surissement en produisant de l'acide acétique (André et al., 2013). Les spores de *Moo t/t* sont parmi les plus résistantes, et leur résistance est telle qu'elles peuvent survivre à des barèmes de stérilisation d'autoclaves et ainsi les contaminer (Drake and Daniel, 2004). Le temps de réduction décimale pour les spores de *Moo t/t* est comprise entre 83 et 111 minutes (Byrer et al., 2000) à 121 °C et le facteur de réduction décimale est de l'ordre de 8 °C (André et al., 2013).

4.3.3 Inactivation de *Moorella thermoacetica/thermoautotrophica*

Les spores de *Moo t/t* étant extrêmement thermorésistantes, des traitements thermiques longs et drastiques sont nécessaires pour les détruire. Contrairement aux autres espèces, *Moo t/t* est peu étudiée et on n'a pas vraiment d'idée sur sa chimiorésistance, résistance aux UV, aux hautes pressions, etc... De ce fait, seuls quelques travaux sur l'inactivation de *Moo t/t* par traitement thermique sont répertoriés (André et al., 2013, Byrer et al., 2000).

La destruction des spores de *Moorella thermoacetica* suit ici une cinétique d'ordre 1 et la valeur du temps de réduction décimale est de 111 minutes à 121 °C (figure II – 78) (Byrer et al., 2000).

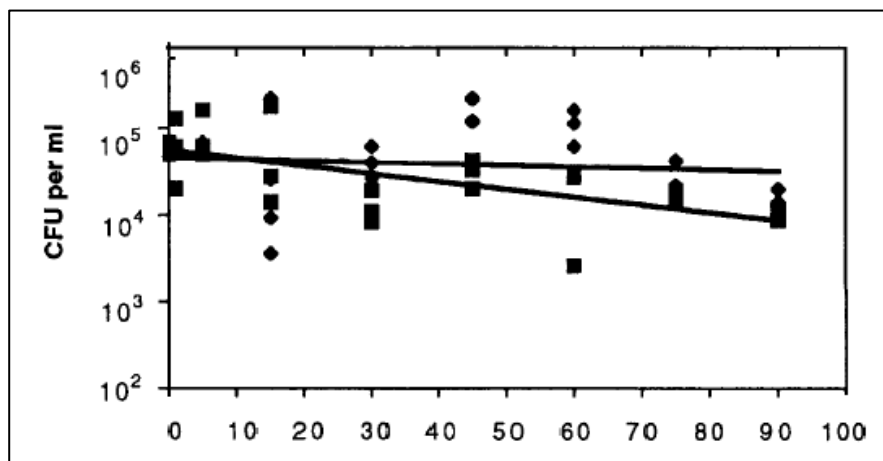


Figure II - 78 : Courbes de survie de spores de *Moorella thermoacetica* dans l'eau au cours d'un traitement thermique conventionnel à 100 °C (◆) et 121 °C (■), d'après D. E. Byrer et al. (2000)

4.4 Conclusions

Ces bactéries font partie des principales causes de pertes économiques de par leur fort pouvoir d'altération et leur forte thermorésistance. Les alternatives aux traitements thermiques pour entraver la croissance de ces bactéries sont peu étudiées et sont en règle générale plus onéreuses, bien qu'efficaces. L'acidification des milieux semble ralentir la croissance de ces bactéries et réduire la thermorésistance des spores, mais une acidification peut engendrer des changements organoleptiques et texturaux dans certains aliments. Il convient donc d'optimiser les traitements thermiques afin de garantir la sécurité alimentaire tout en conservant au maximum la qualité structurale et nutritionnelle du produit.

Chapitre III : Démarche d'étude

Chapitre III : Hypothèses et démarche d'étude

1 Hypothèses

L'étude bibliographique a permis d'identifier tous les facteurs pouvant influencer la dégradation de l'acide ascorbique. La littérature scientifique contient de nombreux travaux sur la dégradation de l'acide ascorbique à des températures allant de 40 à 100 °C, mais peu de travaux à des températures supérieures à 100 °C. La dégradation de l'acide ascorbique est très peu étudiée à haute température (> 100 °C), probablement à cause de la difficulté d'obtenir des conditions de températures et pressions d'appertisation en laboratoire. Cependant, quatre hypothèses principales peuvent être formulées :

- 1) L'oxygène, même à des températures supérieures à 100 °C, semble avoir une influence majeure sur la dégradation de l'acide ascorbique ;
- 2) Les mécanismes de dégradation de l'acide ascorbique semblent différents à basses et hautes températures ;
- 3) La matrice dans laquelle se trouve l'acide ascorbique semble avoir une influence sur sa stabilité au cours de processus de stérilisation ;
- 4) Une cinétique d'ordre 1 ne semble pas toujours bien décrire la réaction de dégradation de l'acide ascorbique, et l'oxygène semble fortement en impacter l'ordre réactionnel ;

La mise en place des expérimentations a donc été réalisée en tenant compte de ces principales hypothèses. Dans le même ordre énoncé pour présenter les hypothèses, les études suivantes seront menées pour vérifier ces hypothèses :

- 1) Etude de la dégradation de l'acide ascorbique à des températures > 100°C et comparaison avec des résultats obtenues dans le cadre du projet OPTIFEL, dans lequel la gamme de températures étudiée correspond à du réchauffage
- 2) Etude des produits de dégradation afin de vérifier qu'ils correspondent à ceux formés par voie oxydoréductive (selon Yuan et Chen, 1988)
- 3) Etude de la dégradation de l'acide ascorbique dans des matrices ayant des propriétés rhéologiques et physico-chimiques différentes
- 4) Détermination sans *a priori* de l'ordre réactionnel de la réaction de dégradation de l'acide ascorbique

2 Dispositif expérimental

Le thermorésistomètre, appareil plus généralement conçu et utilisé en microbiologie pour des études de thermorésistance de bactéries sporulées, a été mis en œuvre pour étudier la destruction de l'acide ascorbique dans le cadre de ce projet. Cet appareil permet de réaliser des études cinétiques à des températures allant

jusqu'à 150 °C et des pressions jusqu'à 5.10⁵ Pa. Il est également possible de moduler la teneur en oxygène présente dans l'espace de tête du récipient (et donc la pression partielle d'oxygène), ce a permis d'étudier l'impact de la teneur en oxygène sur la vitesse de dégradation de l'acide ascorbique. Un autre avantage est la possibilité d'effectuer des prélèvements au cours du temps, à hautes températures et pressions, permettant ainsi un suivi précis de la dégradation de l'AA au cours du temps, et ce sans perturber le milieu expérimental.

3 Démarche expérimentale

La démarche expérimentale est légèrement différente selon que la dégradation de l'AA s'effectue en solution modèle ou en matrice alimentaire (figure III – 1).

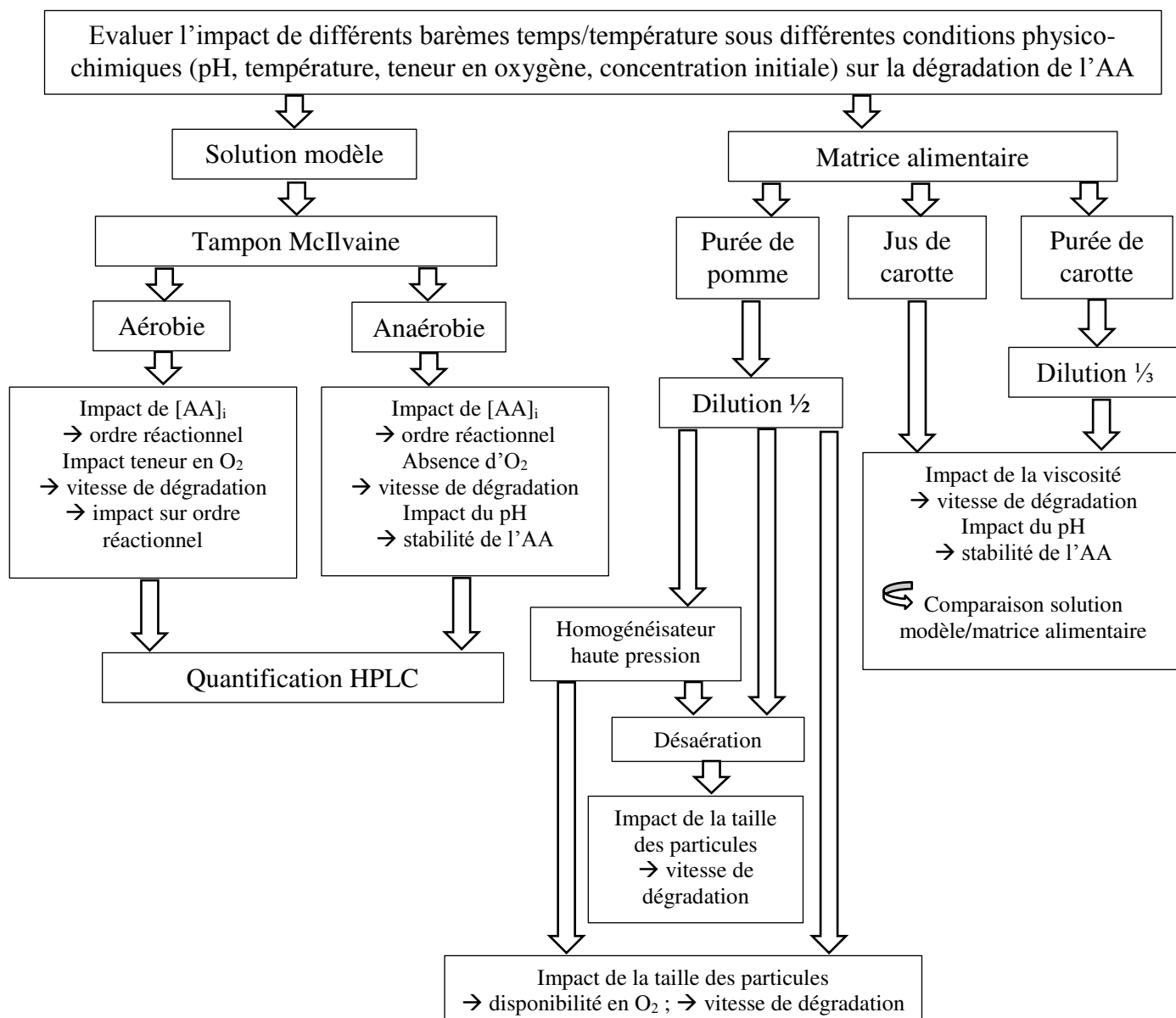


Figure III - 1 : Schéma de la démarche expérimentale du projet

3.1 En solution modèle

La dégradation de l'AA en solution modèle a été étudiée dans du tampon McIlvaine citrate-phosphate (McIlvaine, 1921).

En conditions aérobies, le pH était fixé à 3,5 car cette valeur correspond à celle de la plupart des fruits. Les pressions partielles d'oxygène étaient fixées à $3 \cdot 10^4$, $6,3 \cdot 10^4$ et $1 \cdot 10^5$ Pa, et la pression totale était de $3 \cdot 10^5$ ou $5 \cdot 10^5$ Pa selon les conditions. Les températures étudiées étaient de 95, 105, 115, 125 °C et les trois concentrations initiales en AA étaient de 150, 450 et 900 mg/L. L'intérêt de ces expériences était de mettre en avant l'influence de la teneur en oxygène dans l'espace de tête et de la concentration initiale en AA sur sa vitesse de dégradation, ainsi que sur l'ordre réactionnel. L'impact de la température a également été étudié sur la disponibilité en oxygène et sur la variation de vitesse de dégradation.

En conditions anaérobies, le tampon était au préalable désaéré et de l'azote a été utilisé en guise d'espace de tête à une pression de 3 bars. Les températures étudiées étaient de 95, 100, 105, 110, 115, 120 et 125 °C et les concentrations initiales en AA étaient de 150, 300, 450, 600 et 900 mg/L. Les valeurs de pH étudiées étaient de 2,5, 3,5, 4,5 et 5,5, correspondant à des valeurs de pH de la majorité des fruits et légumes. L'intérêt ici était de mettre en avant les différences observées sur la dégradation entre des conditions anaérobies strictes et des conditions aérobie, notamment sur la vitesse de dégradation et sur l'ordre réactionnel. La variation du pH a également pour déterminer dans quel domaine de pH l'AA est-il le plus stable dans des conditions d'appertisation. L'impact de la température a également été étudié sur la variation de vitesse de dégradation.

La formation des produits de dégradations issus de la décomposition de l'AA selon les voies oxydoréductrice et hydrolytique (Yuan and Chen, 1998) ont pu être suivi concomitamment avec l'AA par analyse HPLC en solution modèle (Louarme and Billaud, 2012), ce qui nous a permis de conclure quant aux potentiels mécanismes de dégradation mis en jeu.

3.2 En matrice alimentaire

La dégradation de l'AA a été étudiée dans de la purée de pomme, de la purée de carotte et du jus de carotte. Ces trois matrices ayant des propriétés physico-chimiques (pH, diffusion d'oxygène, etc...) et rhéologiques différents, trois profils de dégradation distincts ont pu être établis, puis comparé avec ceux obtenus en solution modèle. La concentration initiale étudiée était fixée à 450 mg/L et le pH était celui de la matrice, sans ajustement. Pour des raisons expérimentales, notamment à cause de la limite basse en termes de viscosité que peut accepter le thermorésistomètre, les purées de pomme et carotte ont été diluées de manière à pouvoir être utilisées dans l'appareil. La pression fixée était de $3 \cdot 10^5$ Pa, d'air ou d'azote selon les conditions. L'intérêt est de voir si le type de matrice dans laquelle se trouve l'AA a une influence ou non sur sa dégradation à hautes températures.

Des conditions anaérobies (strictes ou partielles) ont pu être établies dans la purée de pomme afin de voir si, comme dans le cas de la solution modèle, l'absence d'oxygène entraîne ou non une diminution de la vitesse de dégradation de l'AA. De plus, toujours dans la purée de pomme, deux granulométries différentes ont été étudiées pour évaluer l'impact de la taille des particules sur la dégradation de l'AA.

3.3 Méthodes d'interprétation et approches

Il est essentiel de pouvoir maîtriser à la fois l'aspect sécurité et l'aspect qualité lors des processus de stérilisation. Bien souvent, les processus sont optimisés d'un point de vue microbiologique en dépit de l'aspect qualité nutritionnelle. De ce fait, l'objectif final de ce projet est de construire un outil d'aide à la décision (prédiction de la qualité) utilisable par les industriels pour simuler différents scénarii afin de sélectionner uniquement les conditions permettant d'optimiser le système produit/procédé, à tester en pilote. Il sera donc possible de prédire la qualité nutritionnelle d'un aliment tout en maîtrisant la partie microbiologique.

Les données cinétiques obtenues ont été modélisées selon une approche plus générale et des ordres réactionnels ont pu être déterminés, sans *a priori*. La teneur en oxygène est apparue comme influençant l'ordre réactionnel apparent, ce qui a permis de conclure à la prépondérance d'un mécanisme de dégradation mis en jeu par rapport à un autre.

Dans le cadre d'une approche couplée bénéfice/risque, les résultats obtenus ont été confrontés et comparés à des données microbiologique disponibles au CTCPA afin de pouvoir être intégrées dans un modèle de prédiction. *Bacillus coagulans*, *Geobacillus stearothermophilus* et *Moorella thermoacetica/thermoautotrophica* sont les trois principales espèces responsables d'altérations d'aliments en conserves, elles ont donc été choisies pour la modélisation couplée/bénéfice risque.

Chapitre IV : Matériels et Méthodes

Chapitre IV : Matériels et Méthodes

1 Matériels

1.1 Le thermorésistomètre Mastia®

Le thermorésistomètre Mastia® (Université de Carthagène, Espagne) (figure IV – 1) est un dispositif expérimental qui a été élaboré initialement pour étudier des profils de destructions de spores et de bactéries (Conesa et al., 2009b, Palop et al., 2012). Ce projet est la première fois que cet appareil est utilisé en chimie alimentaire pour établir des profils de cinétiques de destruction thermique de nutriments.



Figure IV - 1 : Thermorésistomètre Mastia® utilisé pour les études cinétiques

Cet appareil permet tout particulièrement :

- De travailler sur des plages de températures allant de 20 °C à 150 °C sous pression jusqu'à 5.10^5 Pa ;
- D'utiliser des gaz sous pression tels que N₂, O₂ ou de l'air ;
- D'avoir une agitation constante réglée ;
- De prélever ou d'injecter à tout moment pendant le traitement thermique, même sous pression, et ce sans perturber le milieu expérimental ;
- De travailler avec des volumes importants (maximum 400 mL) ;
- De simuler des traitements thermiques (temps/température) à températures variables ou isothermes.

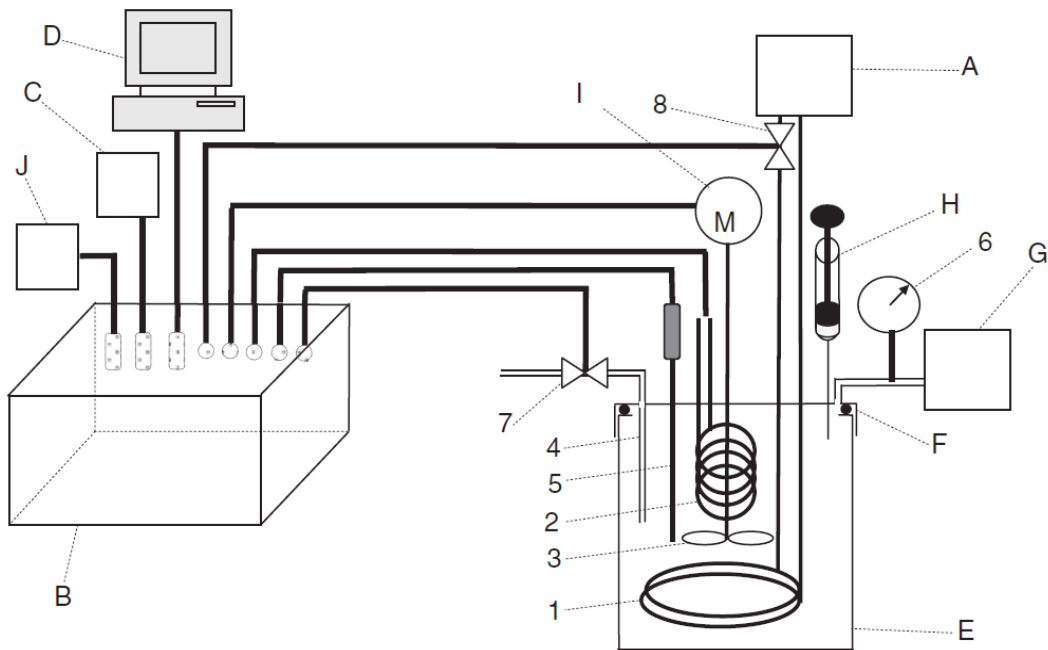


Figure IV - 2 : Schéma du thermorésistomètre Mastia®, d'après R. Conesa et al. dans « Nonisothermal heat resistance determinations with the thermoresistometer Mastia », *Journal of Applied Microbiologie*, 2009

Avec :

A : Système de refroidissement

B : Automate Programmable Industriel (API)

C : Écran tactile

D : Ordinateur

E : Récipient

F : Couvercle à vis

G : Source de gaz

H : Seringue spécifique

I : Moteur d'agitation

J : Régulateur PID

1 : Anneau de refroidissement

2 : Résistance chauffante

3 : Hélice

4 : Tube de prélèvement d'échantillon

5 : Thermocouple

6 : Manomètre

7 : Valve de prélèvement d'échantillon

8 : Valve du système de refroidissement

Ce thermorésistomètre TR-SC (figure IV – 2) possède une résistance chauffante (2) et un anneau de refroidissement (1) dans lequel circule de l'eau froide initialement à 2 °C dans le système de refroidissement (A).

Cet instrument est doté d'un Automate Programmable Industriel (API) (en anglais PLC pour « Programmable Logic Controller ») (B) qui permet de contrôler la résistance chauffante d'une puissance de 2 kW (2) et le système de refroidissement (A). Le PLC (B) est connecté à un écran tactile (C) permettant la communication avec ce dernier, et un ordinateur (D) contenant un logiciel capable de programmer et/ou d'enregistrer des profils de température.

Le volume de travail du thermorésistomètre est constitué d'un récipient en acier inoxydable de 12 cm de hauteur, de 8,5 cm de diamètre extérieur et de 7,8 cm de diamètre intérieur (E) possédant un revêtement en téflon (PTFE), qui se visse sur le couvercle à vis du thermorésistomètre (F).

Ce couvercle possède un système d'agitation : arbre à hélice (3) motorisé (I), et huit orifices à vis :

- un orifice relié à la source de pression : gaz comprimé (G),
- un deuxième servant d'orifice d'injection et contenant le septum,
- un troisième maintenant le tube de prélèvement d'échantillon (4),
- un quatrième pour maintenir la sonde de température (thermocouple) (5),
- deux orifices maintiennent les deux branches de la résistance chauffante (2),
- et les deux derniers maintiennent les deux branches de l'anneau de refroidissement (1).

Le récipient (E) peut être pressurisé de façon modulable grâce au manomètre (6) connecté à la source de pression (G). La mise sous pression est nécessaire afin de permettre l'extraction d'échantillons, et pour éviter l'ébullition, ce qui autorise à travailler au-dessus de 100°C en solution aqueuse. Une seringue spécifique (H) (Hamilton CR-700, volume max 200 µL, volume mort 6,81 µL) doit donc être utilisée pour injecter un échantillon afin de contrer l'effet de la pression au sein du récipient.

Fonctionnement du dispositif :

- ✓ La vitesse d'agitation du produit peut être réglée par la vitesse de rotation de l'arbre et donc du moteur (I) à l'aide du PLC.
- ✓ Le tube de prélèvement d'échantillon (4) est fixé à une valve de prélèvement (7) de telle sorte que l'extrémité basse de ce tube soit proche de l'extrémité basse du récipient (E).
- ✓ Le temps d'ouverture de la valve peut être réglé par un chronomètre à l'aide du PLC, mais il est également possible d'ouvrir cette valve manuellement par une simple pression.
- ✓ Le contrôle de la température se fait à l'aide du PLC au moyen d'un PID (Proportional Integral Derivative) (J) connecté à la résistance chauffante, à la valve solénoïde (8) régulant le flux d'eau froide à travers le système de refroidissement (1), et au thermocouple (5).
- ✓ Lorsque le PID détecte que la température interne du récipient est inférieure à la température paramétrée, le PLC actionne la résistance chauffante (2), et lorsque le PID détecte que la température interne du récipient est supérieure à la température paramétrée, le PLC actionne la valve solénoïde (8) incorporée au système de refroidissement (A) pour contrôler le flux d'eau froide à travers l'anneau de refroidissement (1).
- ✓ Le maintien de la température est contrôlé par des alternances chaud/froid.
- ✓ Cet appareil peut être programmé pour exécuter des expériences isothermes et non isothermes à rampe linéaire de montée et de descente de température, ainsi que des expériences plus complexes, composés de plusieurs périodes isothermes et non isothermes.

1.2 Consistomètre de Bostwick

Le consistomètre de Bostwick (Référence C0405520, Gosseron, Coueron, France) permet de déterminer la consistance d'un produit en mesurant sa résistance à l'écoulement dans des conditions spécifiques et pendant un laps de temps donné. Il consiste en une cuve rectangulaire séparée en deux parties par une porte guillotine (figure IV – 3).



Figure IV - 3 : Consistomètre de Bostwick

La plus petite section sert de réservoir pour le matériel à évaluer. La plus grande section est munie de graduations de 0,5 cm partant de la porte et allant jusqu'à l'extrémité opposée. La porte est actionnée par un ressort. Ce mécanisme assure une libération instantanée du produit. Les graduations atteintes par le produit en écoulement sont relevées 5 secondes puis 30 secondes après l'actionnement de la porte guillotine.

1.3 Sonde à oxygène PreSens

La concentration en oxygène dissous a été mesurée à l'aide d'un appareil PreSens Fibox 4 (Regensburg, Allemagne) couplé à une sonde optique avec un capteur de type PSt3 (limite de détection 30 Pa de pression d'oxygène ; 0,015 mg/L de concentration en oxygène dissous). La gamme de température de mesure de cet appareil est de 20 à 85 °C. Toutes les mesures de concentrations en oxygène dissous ont été conduites à 20 °C.

1.4 Produits chimiques

Tous les produits chimiques utilisés proviennent de Fisher Chemical (Illkirch, France) et sont de qualité analytique ou meilleures.

1.5 Solution modèle

Pour nos études en solution modèle, des tampons McIlvaine ont été utilisés (McIlvaine, 1921). Ces tampons sont préparés à partir d'une solution d'acide citrique monohydrate ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$) à 0,1 mol.L⁻¹ (21,01 g/L) et d'une solution de phosphate disodique (ou hydrogénophosphate de sodium, Na_2HPO_4) à 0,2 mol.L⁻¹ (28,40 g/L), mélangées dans les proportions indiquées par le fournisseur (Sigma-Aldrich), puis

complétés avec de l'eau distillé jusqu'à obtention d'un litre de solution tampon. Le contrôle du pH a été effectué avec un pH-mètre (WTW inoLab pH 730, Weilheim, Allemagne).

1.6 Matrices alimentaires

Les matrices alimentaires choisies pour ce projet sont la purée de pomme, la purée de carotte et le jus de carotte. Ce sont des produits représentatifs des fruits, au pH plutôt acide, et des légumes, au pH plus élevé. De plus, leur texture est supposée suffisamment fluide et homogène pour être manipulée en laboratoire.

1.6.1 Purée de pomme

Une purée de pomme brute (pommes Golden[®] broyées et raffinées) a été préparée dans la halle technologique du CTCPA. La préparation a lieu comme suit : les pommes sont lavées, coupées et passées dans le mélangeur-cuiseur Stephan UMM/SK44 (Série 715.334.01, Hamelin, Allemagne) chauffé à 94 °C pendant 10 minutes, par méthode « hot break ». La purée brute obtenue est recueillie et transférée dans une raffineuse 8/10^{ème} Auriol PHB 7167 (Marmande, France) (pour séparer la chair des pépins, tiges, ...), puis la chair raffinée est repassée au mélangeur-cuiseur pour un dégazage suivi d'un refroidissement. Un quart de cette purée raffinée est récupérée puis placée en cellule de refroidissement rapide, une autre partie est récupérée pour être désaérée au préalable dans un désaérateur FrymaKoruma CH-4310 LVE B (Série M16356, Rheinfelden, Suisse) afin d'obtenir une purée de pomme dépourvue d'air. L'autre moitié est passée dans un homogénéisateur haute pression Bertoli Molecola 3230 (Reggio d'Emilia, Italie) puis séparée en deux lots, un lot est placé en cellule de refroidissement rapide, un autre est désaéré au préalable. Les lots de purée non désaérées ont été conditionnés en boîte de conserve, tandis que les lots de purées désaérées ont été conditionnés en barquette. Cependant, les barquettes ont été remplies à l'air libre avant d'être passées à la thermoscelleuse, ce qui pourrait éventuellement réaérer en partie le produit.

Nous avons choisi de fabriquer nous-même la purée de pomme au CTCPA afin de pouvoir en contrôler la composition : il s'agit uniquement de pommes broyées, sans ajout de sucre ou de vitamine C autres que ceux contenus naturellement dans la pomme, ces composés étant supposés être détruits au cours de la cuisson. Cela permet ainsi d'avoir un échantillon d'analyse ayant une concentration initiale en acide ascorbique proche de zéro. La quantité d'acide ascorbique dosée correspondra donc uniquement à la quantité rajoutée lors de l'enrichissement des échantillons directement dans le thermorésistomètre (concentration initiale en AA choisie de 450 mg/L. Cette purée de pomme a un pH mesuré de 3,5.

1.6.2 Purée de carotte

La purée de carotte est une purée du commerce (achetée à Promocash) : purée de carotte cuisinée Daucy, ingrédients : carottes 92 %, crème fraîche, amidon modifié de pommes de terre, sel, sucre, poivre (pH = 6,2).

1.6.3 Jus de carotte

Le jus de carotte est également un jus du commerce : Jus de carotte Bio Auchan (acidifié au jus de citron), ingrédients : jus de carotte, acidifiant : jus de citron (pH = 4,31).

2 Méthodes

2.1 Solution d'acide ascorbique

Une solution mère d'acide ascorbique à 200 g/L est préparée à partir de 5 g d'acide ascorbique, pesés avec précision (à 0,0001 g près), et introduits dans 25 mL de solution d'acide acétique à 23,1 mL/L (pH = 2,6) dans une fiole jaugée. La solution obtenue est laissée sous agitation à l'aide d'un agitateur magnétique à 750 tr/min jusqu'à dissolution complète de l'acide ascorbique. La solution est préparée avant chaque expérience et n'est jamais stockée ou réutilisée.

2.2 Gamme étalon d'acide ascorbique

Deux solutions filles sont préparées à partir de la solution mère à 200 g/L : une à 75 mg/L et une autre à 100 mg/L. Pour réaliser ces solutions, un volume x (en μL) est prélevé avec précision à l'aide d'une micropipette, puis dilué dans 200 mL de tampon McIlvaine dans une fiole jaugée. Cette solution est ensuite laissée sous agitation à l'aide d'un agitateur magnétique à 750 tr/min.

Les concentrations filles pour les gammes étalons d'acide ascorbique ont été choisies en fonction des concentrations initiales étudiées, afin que les quantités d'acide ascorbique injectées en HPLC soit assez proches des quantités d'acide ascorbique détectées au cours des expériences.

Ces solutions étalons sont réalisées en triplicata et analysées en HPLC. Lors de ces analyses, six volumes différents sont injectés et respectivement six aires de pics sont obtenues pour chaque solution fille. La droite d'étalonnage obtenue en traçant les aires de pic en fonction des quantités injectées est utilisée pour déterminer les quantités d'acide ascorbique présent dans chaque prélèvement expérimental (figure IV – 4).

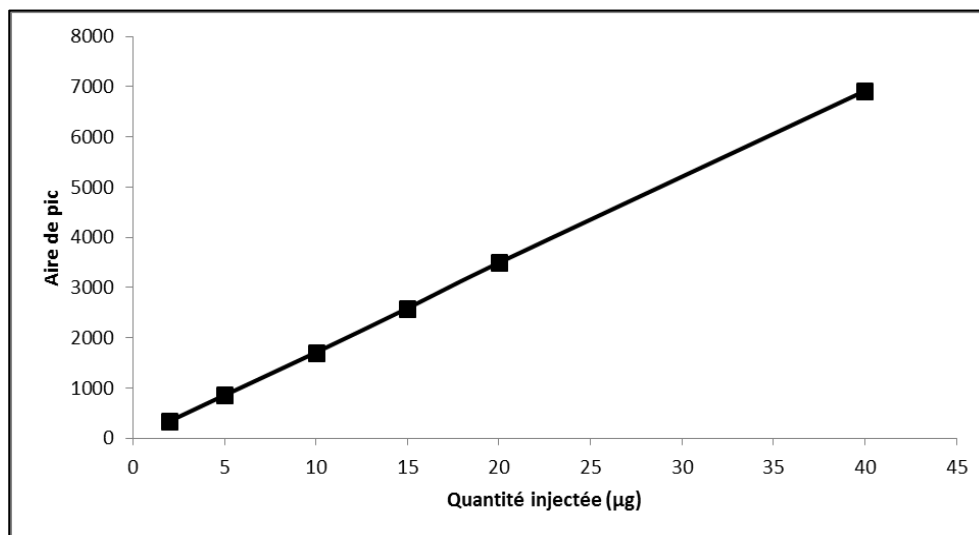


Figure IV - 4 : Exemple de courbe d'étalonnage moyenne de l'acide ascorbique

La pente de la droite est en moyenne de 3487 ± 50 (moyenne effectuée sur 5 pentes sur un intervalle d'un mois) avec un R^2 en moyenne de 0,9997. La pente croise en 0 imposée.

2.3 Gamme étalon des produits de dégradation

Des solutions d'acide furoïque, furfural et 3-hydroxy-2-pyrone sont directement préparées à partir d'étalons commerciaux. Une quantité x de chaque produit est dissoute dans 10 mL de solution d'acide acétique à 23,1 ml/L (pH = 2,6). La solution obtenue est ensuite diluée 100 fois et 5000 fois afin d'obtenir deux solutions filles.

Ces deux solutions sont ensuite injectées dans 2 appareils HPLC différentes, l'Agilent 1260 et l'Agilent 1200, à deux reprises. La moyenne des 4 pentes de droites d'étalonnages pour chaque composé et pour chaque HPLC.

Tableau IV - 1 : Pentés moyennes des droites d'étalonnage des composés de dégradation de l'acide ascorbique avec les LOQ et LOD

Composé	Pente moyenne	R^2	LOQ (10^{-3} µg)	LOD (10^{-3} µg)
Acide ascorbique	3500 ± 50	0,9997	35,56	3,56
3-hydroxy-2-pyrone*	4409 ± 15	1,0000	1,36	0,14
Acide furoïque*	6749 ± 44	1,0000	1,33	0,13
Furfural*	4202 ± 50	1,0000	1,67	0,17

*Moyennes et écart-types obtenus sur 2 HPLC

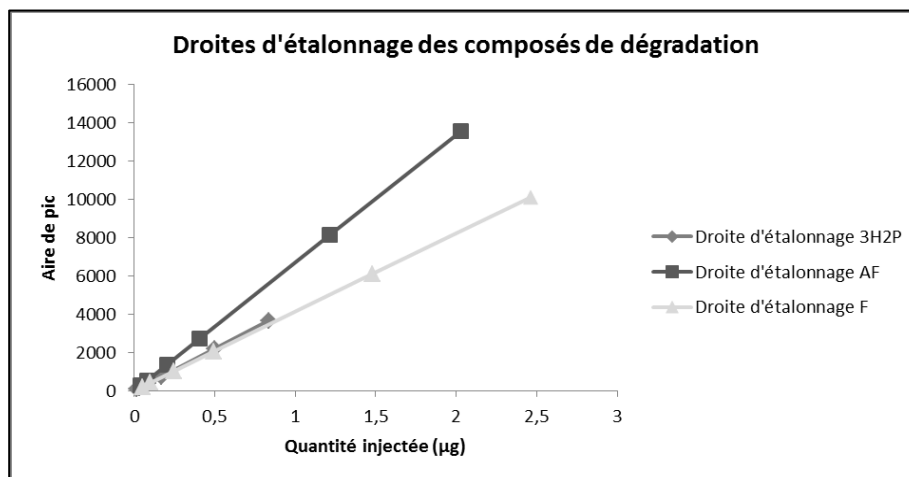


Figure IV - 5 : Courbes d'étalonnage des produits de dégradation de l'acide ascorbique, avec 3H2P pour 3-hydroxy-2-pyrone, AF pour acide furoïque et F pour furfural

2.4 Conditions d'exploitation du thermorésistomètre

2.4.1 Conditions explorées

Ces conditions sont résumées dans le tableau IV – 2. Le milieu utilisé est soit un milieu modèle, un tampon citrate-phosphate McIlvaine, soit une matrice alimentaire. Pour le tampon McIlvaine, le pH a été fixé à 3,5 en conditions d'aérobiose car cela correspond au pH de la plupart des produits alimentaires acides à base de fruits. Les études en conditions d'anaérobiose ont été menées à des pH de 2,5, 3,5, 4,5 et 5,5. La pression au sein du thermorésistomètre est réglée à $3 \cdot 10^5$ ou $5 \cdot 10^5$ Pa. L'agitation est réglée à la graduation 2 de l'appareil (environ 1950 tr/min) pour la solution modèle et 3 (environ 2925 tr/min) pour les matrices alimentaires. Les expériences effectuées sont isothermes. La durée de chaque expérience est de 320 minutes pour les solutions modèles et 180 minutes pour les matrices alimentaires.

Le tableau suivant présente la matrice d'expériences réalisées :

Tableau IV - 2 : Matrice d'expérience pour les études de dégradation de l'acide ascorbique

Matrice	[AA] _i (mg/L)	pH	Durée (min)	Température (°C)	Pression (10 ⁵ Pa)	Gaz de l'espace de tête
Solution modèle	150	2,5	320	95	3 ou 5	Air comprimé,
	300	3,5		105		mélange gazeux
	450	4,5		115		ou azote
	600	5,5		125		
	900					
Matrice alimentaire*	450	3,5	180	95	3	Air comprimé ou
		4,3		105		azote
		6,2		115		
		125				

*Purée de pomme, purée de carotte ou jus de carotte

2.4.2 Modulation de la pression partielle en oxygène dans l'espace de tête

Les pressions partielles en oxygène étudiées en conditions d'aérobiose étaient de 3, 6,3 et 10 kPa, obtenues en réglant la pression au sein du thermorésistomètre à $3 \cdot 10^5$ ou $5 \cdot 10^5$ Pa d'air, d'azote ou de mélange gazeux N_2/O_2 90/10 (bouteille de mélange gazeux OXY-100 Air liquide, France) (tableau III – 3). Les expériences ont été effectuées dans des conditions aérobies (sous air comprimé ou mélange gazeux N_2/O_2 90/10) ou anaérobies (milieu dégazé sous pression d'azote).

Tableau III - 3 : Conditions (gaz et pression imposée) pour obtenir les différentes pressions partielles d'oxygène étudiées

Pression	Gaz	N₂	Air	N₂/O₂ 90/10
$3 \cdot 10^5$ Pa		$p(O_2) = 0$ Pa	$p(O_2) = 6,3$ kPa	$p(O_2) = 3$ kPa
$5 \cdot 10^5$ Pa		_____	$p(O_2) = 10$ kPa	_____

2.4.3 Etablissement des conditions d'anaérobiose stricte

Pour pouvoir obtenir une anaérobiose au sein du thermorésistomètre, le tampon est tout d'abord dégazé par chauffage pendant 20 minutes, puis de l'azote est bullé au sein du récipient à travers le tube de prélèvement pendant 15 minutes à 20 °C (figure IV – 6) :

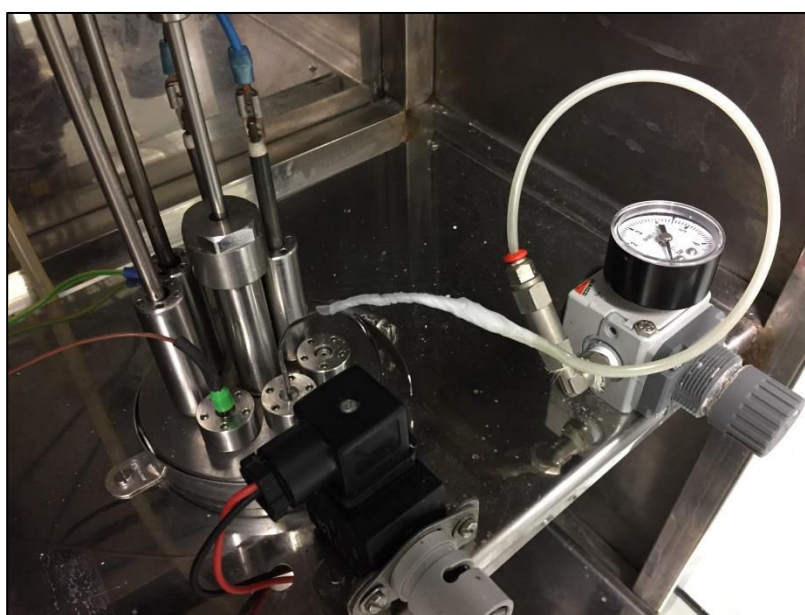


Figure IV - 6 : Montage de la mise en anaérobiose du récipient du thermorésistomètre

La concentration en oxygène dans le milieu, mesurée au cours de chaque étape (figure IV – 7), montre que ce protocole permet d'obtenir une solution dépourvue d'oxygène

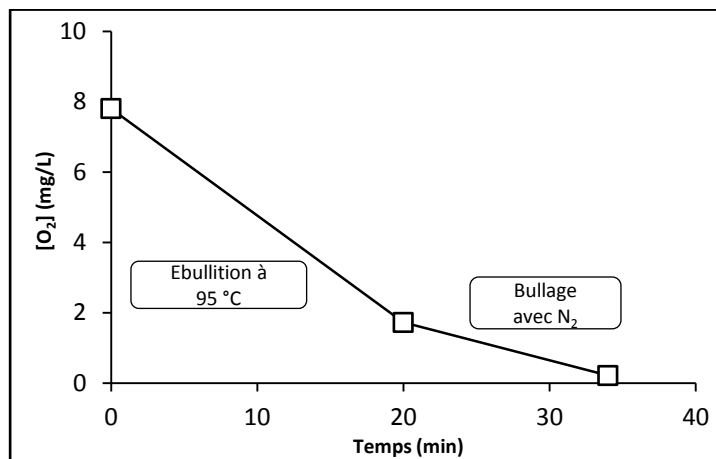


Figure IV - 7 : Evolution de la concentration initiale en oxygène après les différentes étapes de dégazage

La concentration en O₂ dissous est de 0,21 mg/L après bullage à l'azote.

Le récipient est ensuite pressurisé en utilisant de l'azote comme gaz d'espace de tête.

2.5 Dégradation de l'acide ascorbique en solution modèle

Le tampon McIlvaine ou la matrice alimentaire (400 g) sont introduits dans le récipient téflonné du thermorésistomètre, ensuite vissé sur l'appareil. Le récipient est mis sous pression à l'aide du manomètre couplé au thermorésistomètre et à l'arrivée du gaz. Le programme du thermorésistomètre est alors démarré afin qu'il atteigne la température désirée. Dès que la température désirée est atteinte, un volume x de solution mère d'acide ascorbique à 200 g/L en fonction de la concentration initiale étudiée ($[AA]_i$) est introduit à l'aide d'une seringue Hamilton. La seringue ayant une capacité maximum d'injection de 200 μ L, plusieurs injections sont nécessaires.

Des prélèvements sont effectués à des temps t en fonction de la concentration initiale en acide ascorbique étudiée et de la température de travail. En effet, plus la concentration initiale est faible, plus la disparition de l'acide ascorbique initialement présent est rapide. De ce fait, les temps de prélèvements ont été optimisés en fonction de cette vitesse de dégradation (Tableau IV – 4).

Tableau IV - 4 : Temps de prélèvement en fonction de la concentration initiale étudiée

Matrice	[AA]_i (mg/L)	Volume injecté (μL)	Prélèvements aux temps <i>t</i> (min)
Solution Modèle	150	300	0,5 ; 5 ; toute les 5 min jusqu'à 50 min ; toutes les 10 min jusqu'à 100 min ; toutes les 20 min jusqu'à 320 min
	300	600	0,5 ; 10 ; toutes les 10 min jusqu'à 100 min ; toutes les 20 min jusqu'à 320 min
	450	900	0,5 ; 10 ; toutes les 10 min jusqu'à 100 min ; toutes les 20 min jusqu'à 320 min
	600	1200	0,5 ; 10 ; toutes les 10 min jusqu'à 100 min ; toutes les 20 min jusqu'à 320 min
	900	1800	0,5 ; 10 ; 0,5 ; 10 ; toutes les 20 min jusqu'à 320 min
Matrice alimentaire	450	900	0,5 ; 10 ; toutes les 10 min jusqu'à 100 min ; toutes les 20 min jusqu'à 320 min

Bien que l'appareil dispose d'un mode de prélèvement automatique, le prélèvement manuel a été préféré car l'échantillon sort sous forme de vapeur compte tenu des hautes températures étudiées, et ce mode de prélèvement est ici plus ergonomique. Les prélèvements sont réalisés dans des tubes eppendorfs.

Dans un autre tube eppendorf, 0,5 mL de l'échantillon prélevé est déposé auquel 0,5 mL de solution d'acide acétique à 2,31 % (pH = 2,6) est ajouté, afin d'arrêter la réaction (stabilisation de la vitamine C résiduelle et des produits de dégradation). Les échantillons ainsi obtenus sont ensuite introduits dans des vials puis analysés en HPLC.

2.6 Dégradation de l'acide ascorbique en matrice alimentaire

Etant donnée la viscosité des purées, elles ont dû être diluées pour pouvoir être utilisées dans le thermorésistomètre. Des traitements thermiques ont été réalisés sur 400 g de matrice (diluée par 2 pour la purée de pomme et par 3 pour la purée de carotte, ou 400 mL de jus de carotte non dilué). Pour cela, la matrice brute est introduite et pesée dans le récipient et additionnée de tampon McIlvaine au pH considéré (3,5 pour la purée de pomme et 6,2 pour la purée de carotte, pas de dilution pour le jus de carotte). Le mélange est agité manuellement puis dans le thermorésistomètre à 2925 tours/min. Une fois l'appareil sous

pression (3.10^5 Pa) et la température de consigne atteinte (95, 105, 115 ou 125 °C), 900 µL de solution mère à 200 g/L d'acide ascorbique dans de l'acide acétique à 2,31 % (pH = 2,6) sont injectés dans le récipient (pour un enrichissement en acide ascorbique à 45 mg/100 g). Des prélèvements sont réalisés en duplicata sur une durée totale de 3 heures (premier point à 30 secondes puis toutes les 10 minutes jusqu'à 1h40 puis toutes les 20 minutes). Pour cela, à chaque temps, des échantillons de purée diluée enrichie (ou de jus de carotte enrichi) sont prélevés grâce au capillaire de prélèvement de l'appareil dans des tubes Eppendorf de 1,5 mL puis sont centrifugés à 24935 g à 4 °C pendant 2 minutes dans une centrifugeuse Thermo Scientific ST8R (Série 41758758, Massachusetts, Etats-Unis). Ensuite, 500 µL de surnageant de ces échantillons sont additionnés à 500 µL d'acide acétique à 2,31 % (pH = 2,6) dans des tubes Eppendorf de 1,5 mL pour stopper la réaction de dégradation. Les mélanges sont agités au vortex puis filtrés sur des filtres en cellulose régénérée avec un diamètre de pores de 0,45 µm. Le filtrat est ensuite introduit dans des vials et analysé par HPLC.

2.7 Analyses HPLC

Un appareil de chromatographie liquide (Système Agilent 1260, Californie, Etats-Unis, détails dans tableau IV – 5) est utilisé dans le cadre de ce projet pour détecter et quantifier l'acide ascorbique et ses produits de dégradation au cours des traitements thermiques.

Tableau IV - 5 : Caractéristiques des modules de la HPLC Agilent 1260

Passeur d'échantillon	Echantillonneur (G1367E)	Débit	Injection	Compartiment colonne (G1316C)	Détecteur DAD (G4212B)
Thermostaté (T° min = 4 °C)	183 bars de pression	0,8 mL/min	5 µL	Thermostaté (T° = 30 °C)	Acquisition à 245, 253, 280 et 295 nm

2.7.1 Méthode d'analyse de l'acide ascorbique en solution modèle

La méthode HPLC utilisée pour la détection de l'acide ascorbique et de ses trois produits de dégradation en solution modèle est inspirée de la méthode de Louarme et Billaud (Louarme and Billaud, 2012).

La phase mobile est composée d'une solution d'acide acétique à 23,1 mL/L (pH = 2,6) et d'acétonitrile. La colonne utilisée est une Phenomenex Synergi Polar C18 RP 150 * 3 mm (Californie, Etats-Unis). La température en tête de colonne est de 30 °C. Le débit utilisé est de 0,8 mL/min. Le mode utilisé est un mode gradient, et la durée de chaque analyse est de 15 minutes.

Le mode gradient utilisé en solution modèle est décrit dans le tableau IV – 6 :

Tableau IV - 6 : Descriptif du mode gradient utilisé en solution modèle

Temps (min)	% Acide acétique à 23,1 mL/L	% Acétonitrile
0	96	4
5	96	4
6	80	20
10	80	20
11	96	4
15	96	4

L'acquisition des données est faite à 4 longueurs d'ondes différentes : 245, 253, 280 et 295 nm. Ces longueurs d'ondes correspondent respectivement aux longueurs d'ondes des maximums d'absorption de l'acide ascorbique, de l'acide furoïque, du furfural et du 3-hydroxy-2-pyrone. La quantité d'échantillon injectée en HPLC est de 5 µL.

2.7.2 Analyse de l'acide ascorbique en matrice alimentaire

La méthode utilisée pour la détection de l'acide ascorbique en matrice alimentaire est une méthode établie au CTCPA.

La phase mobile est uniquement composée d'une solution d'acide sulfurique à 0,1 mL/L (pH = 2,6). La colonne utilisée est une Phenomenex Synergi Polar C18 ACE 250 * 4,6 mm (Californie, Etats-Unis). La température en tête de colonne est de 30 °C. Le débit utilisé est de 0,8 mL/min. Le mode utilisé est un mode isocratique et la durée de chaque analyse est de 10 minutes.

2.8 Granulométrie

Les mesures de granulométrie ont été réalisées avec un granulomètre Mastersizer Hydro 2000S (Malvern, Angleterre). Cet appareil est composé d'un Mastersizer, qui est un ensemble constitué d'un banc optique et par l'échantillonneur Hydro 2000S sous le contrôle d'un logiciel, ainsi que d'un Hydro 2000S, qui est une cuve de mélange d'une capacité de 50 à 150 mL équipée d'une pompe permettant de faire circuler à vitesse variable dans le circuit le liquide passant dans la cellule de mesure. Un système à ultrason peut être appliqué pour dégazer le dispersant. L'étude granulométrique a été configurée sur une sensibilité normale et une gamme de taille de particule allant de 0,02 à 2000 µm. Le dispersant utilisé était de l'eau.

2.9 Rhéologie

Les mesures de viscosité ont été réalisées avec un rhéomètre Anton Paar MCR 301 (Graz, Autriche) constitué de deux dispositifs de mesure différents : un dispositif plan-plan (diamètre 5 cm et distance entre plans 1 mm) pour la purée de pomme et la purée de carotte brutes, et un dispositif à cylindres coaxiaux (diamètre extérieur 29 mm, diamètre intérieur 26,6 mm, le rapport des diamètres correspond à une norme ISO 3219 et doit être inférieur à 1,2) pour la purée de pomme et la purée de carotte diluées ainsi que le jus

de carotte. Ce rhéomètre a une vitesse maximale de 3000 min⁻¹ et une fréquence angulaire de 628 rad/s. Les mesures ont été effectuées à 25 °C.



Figure IV - 8 : Photographie d'un rhéomètre Anton Paar MCR 301

Les courbes d'écoulement (ou rhéogramme) ont été tracées entre 1 et 100 s⁻¹. En traçant le log(viscosité) en fonction du log(gradient de vitesse de cisaillement), on obtient des droites dans lesquelles on peut faire passer une loi de puissance, appelée loi d'Oswald de Waele :

$$\eta = k \dot{\gamma}^{n-1} \quad \text{Équation IV - 1}$$

où η est la viscosité dynamique en Pa.s, k est l'indice de consistance en Pa.sⁿ, $\dot{\gamma}$ le gradient de vitesse de cisaillement en s⁻¹ et n l'indice d'écoulement (sans dimension).

2.10 Protocole de dosage des polyphénols totaux

Un dosage de polyphénols totaux a été réalisé dans la purée de pomme, selon un protocole établi au CTCPA décrit dans la figure IV – 9.

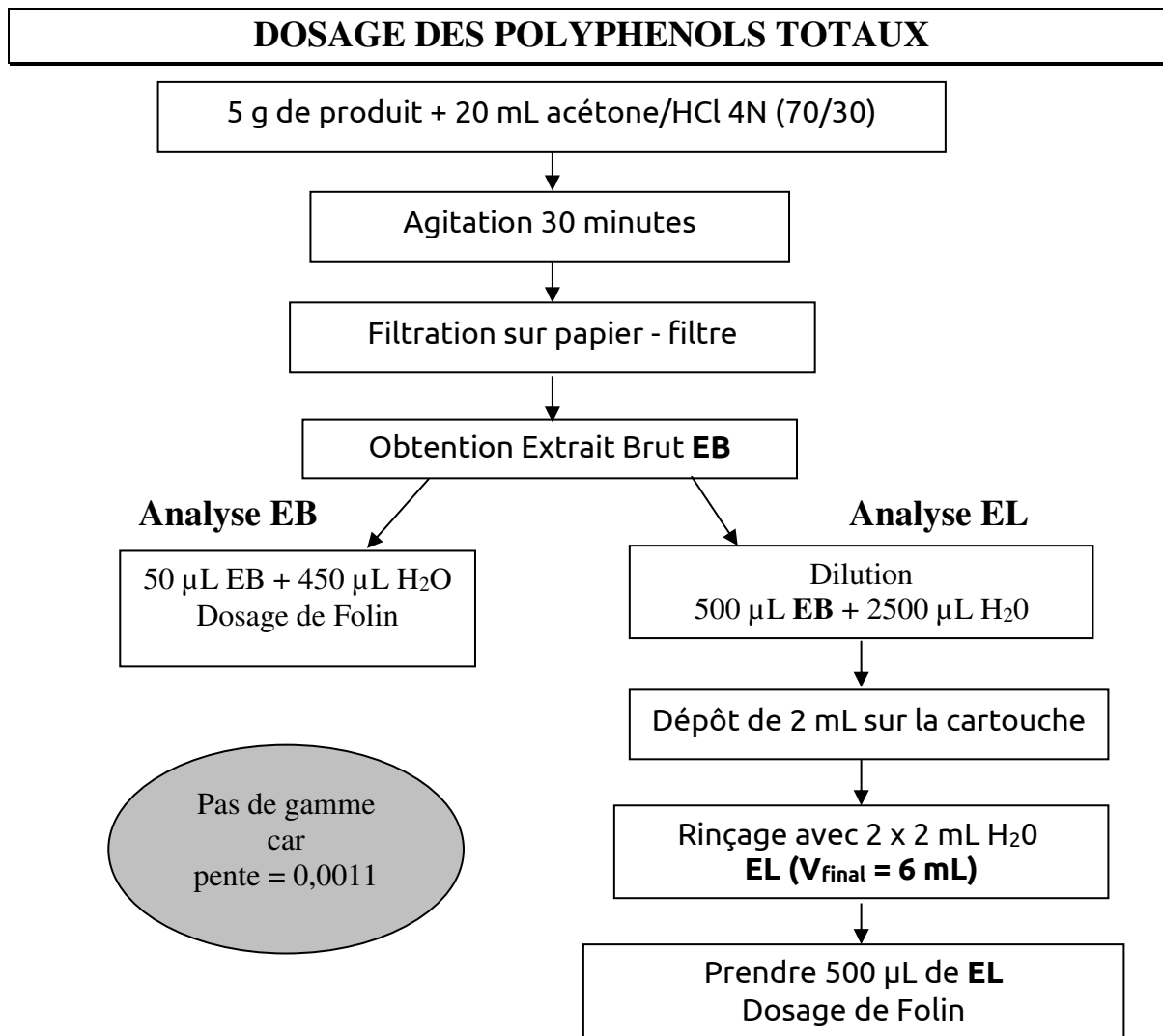


Figure IV - 9 : Schéma de la démarche expérimentale du dosage des polyphénols totaux

3 Modélisation des données

3.1 Réaction d'ordre général n

Lorsque l'ordre d'une réaction chimique est inconnu, il est possible de le déterminer en utilisant la formule générale d'ordre n . Pour un composé A qui disparaît, cette vitesse est définie par l'équation suivante :

$$C_t = (C_0^{1-n} + (n-1) \cdot k \cdot t)^{\frac{1}{1-n}} \quad \text{Équation IV - 2}$$

Dans le cadre de la modélisation de la dégradation de la vitamine C, nous avons déterminé l'ordre réactionnel par la méthode dite du « n unique ». Cette méthode consiste en la fixation d'un même ordre n pour toutes les courbes de dégradation d'une même concentration initiale et aux quatre températures étudiées. De ce fait, toutes les courbes expérimentales sont liées entre elles par le même ordre réactionnel. La méthode de détermination de l'ordre n est décrite comme suit :

- En partant de l'équation, on linéarise cette dernière dans le but d'obtenir une équation de droite affine décrite par l'équation suivante :

$$C_t^{1-n} = C_0^{1-n} + (n - 1).k.t \quad \text{Équation IV - 3}$$

où $(n-1).k$ est la pente de la droite et C_0^{1-n} est l'ordonnée à l'origine.

- L'Équation IV – 4 est ensuite modifiée afin d'obtenir une équation de droite linéaire ayant une ordonnée à l'origine nulle :

$$\frac{1}{k} = \frac{(n-1)}{C_t^{1-n} - C_0^{1-n}} * t \quad \text{Équation IV - 4}$$

- La constante de cinétique k est ensuite déterminée en prenant l'inverse de la pente de la droite décrite par l'Équation IV – 5.

De ce fait, tous les paramètres sont liés au paramètre n , et en déterminant l'ordre n , on détermine ainsi tous les paramètres cinétiques.

3.2 Incertitudes et statistiques

3.2.1 Logiciel et macro

Le logiciel « Microsoft Excel 2013 » a été utilisé pour déterminer les valeurs des paramètres des différents modèles, grâce à la fonction « solver », de tel sorte que la somme des carrés des écarts entre les valeurs expérimentales et obtenues par le modèle soit minimale, selon le critère décrit par l'équation suivante :

$$SSE = \min(\sum_i (x_i - y_i)^2) \quad \text{Équation IV - 5}$$

où SSE (de l'anglais Sum of Squared Errors) est la somme des carrés des écarts entre les valeurs expérimentales et les valeurs du modèles, x_i et y_i représentent les valeurs expérimentales et obtenues par le modèle au rang i . L'incertitude sur les valeurs des paramètres des modèles est obtenue grâce à la fonction « solveraid » de la macro de De Levie (De Levie, 2012). Cette fonction calcule la déviation standard sur les paramètres déterminés par le solver et l'erreur standard sur l'ajustement des données par le modèle. Cette fonction nous renseigne aussi sur la matrice de covariance et les coefficients de corrélation entre les valeurs des paramètres déterminés par le solver.

3.2.2 Analyse des résidus

Les résidus correspondent à des termes qui ne sont pas expliqués par les autres variables. Cela représente l'ensemble des facteurs variables qui ne s'inscrit pas dans la formule mathématique du modèle. Les résidus permettent donc de comparer les données expérimentales aux données obtenues par modélisation. Un résidu est défini par l'équation suivante :

$$Res = x_i - y_i \quad \text{Équation IV - 6}$$

où Res représente le résidu, x_i et y_i représentent les valeurs expérimentales et obtenues par le modèle au rang i .

Pour établir qu'un modèle décrit bien des données expérimentales, les résidus doivent suivre une loi normale et être aléatoirement distribués, c'est-à-dire répartis de manière hétéroscédastique.

3.2.3 Test de Shapiro-Wilk

Le test de Shapiro-Wilk permet de tester si une population est normalement distribuée ou pas. Ce test utilise une technique d'analyse de variance pour détecter l'écart d'un échantillon à la normalité. De manière simple, il recherche à quel point une distribution de fréquence observée correspond à la distribution de fréquence attendue. La statistique W de Shapiro-Wilk est définie de la manière suivante :

$$W = \frac{(\sum(a_i \cdot x_i))^2}{\sum(x_i - \bar{x})} \quad \text{Équation IV - 7}$$

où a_i est le coefficient de Shapiro-Wilk au rang i , x_i est la valeur du résidu au rang i , \bar{x} est la moyenne de l'échantillon. La taille de l'échantillon doit être comprise entre 3 et 500.

Pour savoir si on doit accepter ou rejeter l'hypothèse nulle, la p -value est donc comparée au seuil α de 0,05. L'hypothèse nulle de ce test est que les données sont normalement distribuées, et que par conséquent si la p -value de W est inférieure à 0,05, l'hypothèse de normalité doit être rejetée.

3.2.4 Test de Mann et Whitney

Ce test sert à comparer deux échantillons indépendants du point de vue de leurs tendances centrales. L'hypothèse nulle est que les deux échantillons sont comparables à deux échantillons qui auraient été tirés de la même population, c'est-à-dire que la différence de moyenne entre les deux échantillons est due au hasard d'échantillonnage. Ce test concerne en particulier les petits échantillons (< 51), et n'a pas d'exigences sur la distribution des valeurs. C'est un test non-paramétrique utilisant les rangs des valeurs. Ce test utilise les rangs des mesures et calcule une statistique U , d'autant plus faible qu'il y a peu de recouvrement entre les rangs des valeurs des deux échantillons :

$$U_1 = n_1 \cdot n_2 \left(\frac{n_1(n_1+1)}{2} \right) - T_1 \quad \text{Équation IV - 8}$$

$$U_2 = n_1 \cdot n_2 \left(\frac{n_2(n_2+1)}{2} \right) - T_2 \quad \text{Équation IV - 9}$$

où U_1 et U_2 sont les deux indices de rang pour les deux échantillons à comparer, n_1 et n_2 sont respectivement les nombres d'observations dans l'échantillon 1 et l'échantillon 2, T_1 et T_2 correspondent à la somme des rangs dans les échantillons 1 et 2.

3.2.5 Test de Kruskal-Wallis

Ce test est une extension du test de Mann et Whitney. C'est un test non paramétrique à utiliser lorsqu'il y a plus de deux échantillons indépendants à comparer, afin de déterminer si les échantillons proviennent

de la même population ou si au moins un échantillon provient d'une population différente des autres. Ce test calcule une statistique H , qui est l'indice de rang, pour K échantillons :

$$H = \frac{12}{N(N+1)} \sum_i \left(\frac{r_i^2}{n_i} \right) - 3(N+1) \quad \text{Équation IV - 10}$$

où l'indice i renvoie au $i^{\text{ème}}$ échantillon compris entre 1 et K , l'indice de rang r_i correspond à la somme des rangs dans l'échantillon i , n_i renvoie au nombre d'observations dans l'échantillon i .

*Chapitre V : Etude de la dégradation de
l'acide ascorbique en solution synthétique*

Chapitre V : Etude de la dégradation de l'acide ascorbique en solution synthétique

Cette partie de l'étude a pour but de mettre en évidence l'impact de l'oxygène (modulation de la pression partielle ou absence totale), de la température et du pH (en conditions anaérobies seulement pour le pH) sur la dégradation de l'acide ascorbique.

1 En conditions anaérobies

Dans cette partie de l'étude, le profil cinétique de la destruction de l'acide ascorbique a été établi en conditions d'anaérobiose. Les températures étudiées sont 95 °C, 100 °C, 105 °C, 110 °C, 115 °C, 120 °C et 125 °C pour chacune des concentrations sélectionnées (150, 300, 450, 600 et 900 mg/L). L'influence du pH a également été étudiée en faisant varier ce dernier à 2,5, 3,5, 4,5 et 5,5.

1.1 Influence de la température

L'influence de la température a été étudiée à un pH de 3,5 aux cinq concentrations initiales et sept températures mentionnées ci-dessus (figure V – 1).

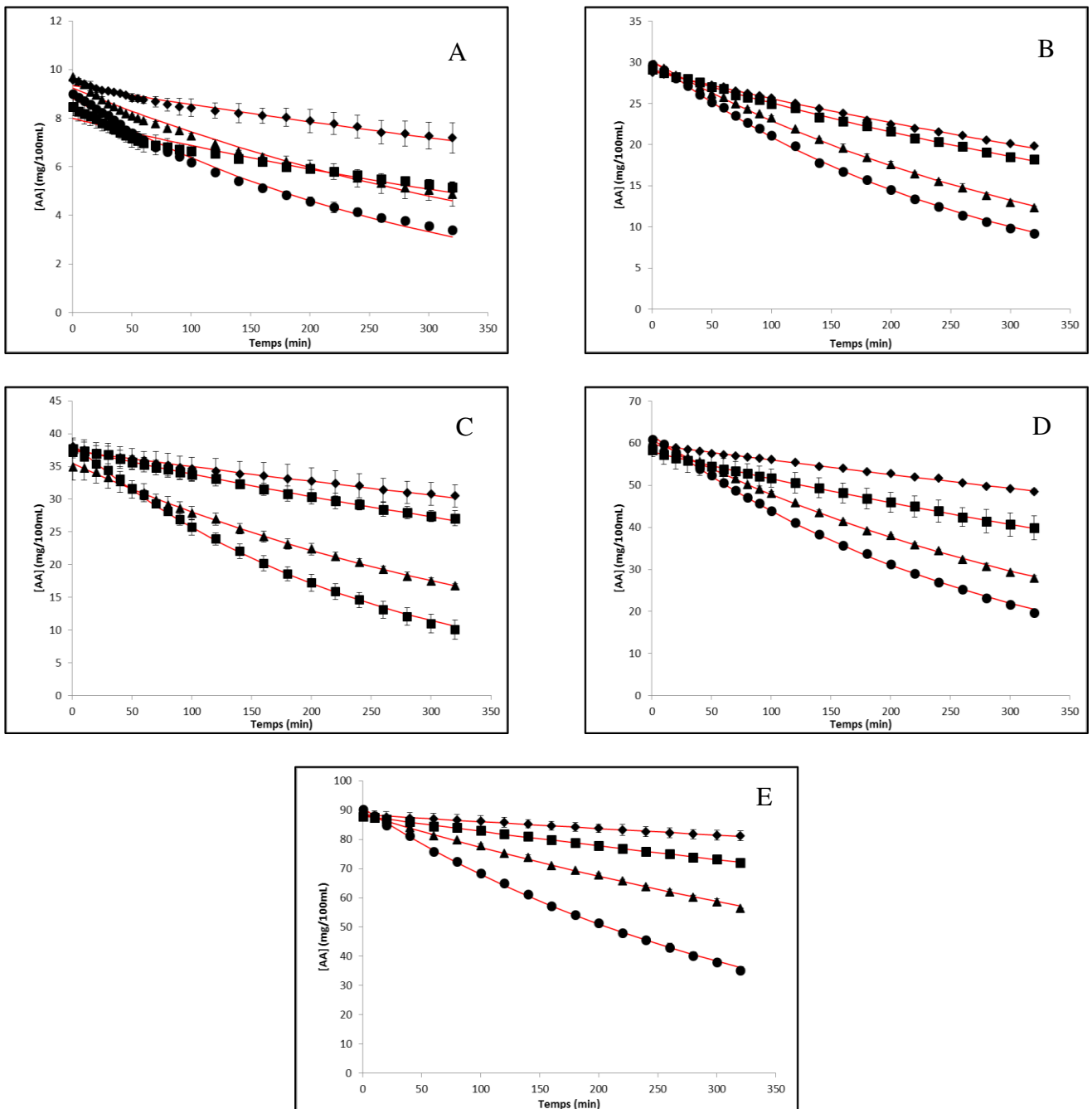


Figure V - 1 : Évolution de la concentration d'acide ascorbique pour (A) $[AA]_i = 150$ mg/L, (B) $[AA]_i = 300$ mg/L, (C) $[AA]_i = 450$ mg/L, (D) $[AA]_i = 600$ mg/L, (E) $[AA]_i = 900$ mg/L en fonction du temps à 95, 100, 105, 110, 115, 120 et 125 °C ; (●) 95 °C pour A, C, E et 100 °C pour B, D ; (■) 105 °C pour A, C, E et 110 °C pour B,D ; (▲) 115 °C pour A, C, E et 120 °C pour B,D ; (●) 125 °C ; les traits rouges représentent le modèle ajusté aux données

En l'absence d'oxygène même après 320 minutes de chauffage, quelles que soient la température ou la concentration initiale, l'acide ascorbique ne disparaît pas totalement.

Plus le taux de dégradation est faible, moins il est facile d'être précis quant à l'ordre cinétique d'une réaction chimique. Comme analysé par Van Boekel (2009), si une dégradation est inférieure à 60-70 %, on ne peut pas faire de distinction entre les ordres des modèles utilisés pour décrire les données (Van Boekel, 2009). De plus, l'allure des courbes ne nous permet pas de définir facilement un ordre réactionnel. Il convient cependant de noter un léger biais observé pour une concentration initiale de 150 mg/L (figure V – 1 A), probablement à cause d'un problème d'homogénéisation au moment de l'injection de la

solution d'AA. Un calcul global en utilisant le système « ordre n unique » donne un ordre réactionnel de 0,83.

Cette valeur obtenue pour l'ordre réactionnel nous oriente vers l'hypothèse que l'ordre cinétique est de 1. En intégrant l'équation de la loi de vitesse générale (Équation IV – 2) avec un n égal à 1, on obtient l'équation suivante pour un modèle cinétique d'ordre 1 :

$$C_t = C_0 \cdot e^{-k \cdot t} \quad \text{Équation V - 1}$$

ou encore par linéarisation :

$$\ln\left(\frac{C_t}{C_0}\right) = -kt \quad \text{Équation V - 2}$$

avec k s'exprimant en min^{-1} .

Les logarithmes des rapports $[AA]_t/[AA]_0$ ont été tracés en fonction du temps pour toutes les concentrations (figure V – 2).

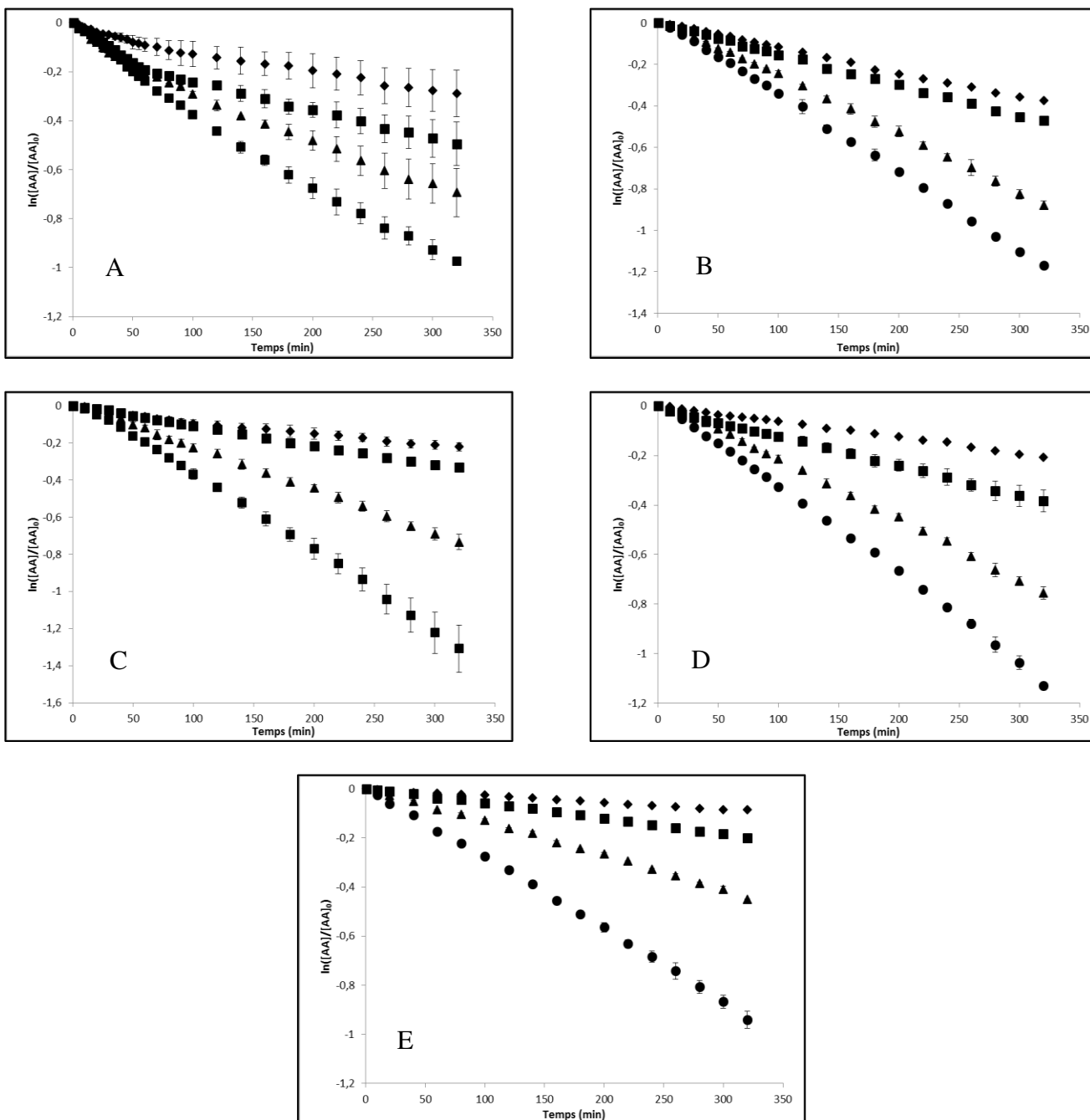


Figure V - 2 : Évolution du logarithme du rapport $[AA]_t/[AA]_0$ pour (A) $[AA]_i = 150$ mg/L, (B) $[AA]_i = 300$ mg/L, (C) $[AA]_i = 450$ mg/L, (D) $[AA]_i = 600$ mg/L, (E) $[AA]_i = 900$ mg/L en fonction du temps à 95, 100, 105, 100, 115, 120 et 125 °C ; (♦) 95 °C pour A, C, E et 100 °C pour B, D ; (■) 105 °C pour A, C, E et 110 °C pour B,D ; (▲) 115 °C pour A, C, E et 120 °C pour B,D ; (●) 125 °C

La variation de $\ln([AA]_t/[AA]_0)$ semble bien linéaire au cours du temps, ce qui confirme l'hypothèse d'un ordre 1. De légères déviations sont cependant observées pour la plus faible concentration, peut-être car la solution d'acide ascorbique injectée dans le thermorésistomètre n'est pas dégazée. Il y a donc lors de l'injection introduction d'une quantité (faible) d'oxygène, d'autant plus sensible que l'acide ascorbique est en faible concentration. De plus, dans le cas d'un ordre 1, la constante de vitesse est indépendante de la concentration à une température donnée. Les rapports de $[AA]_t/[AA]_0$ pour chaque concentration initiale d'AA ont été tracés en fonction du temps à chaque température (figure V – 3).

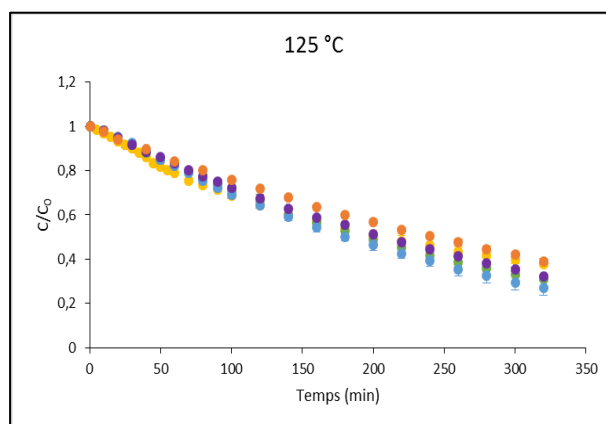
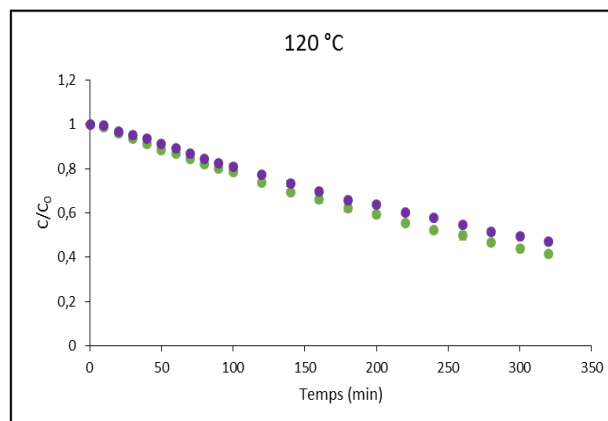
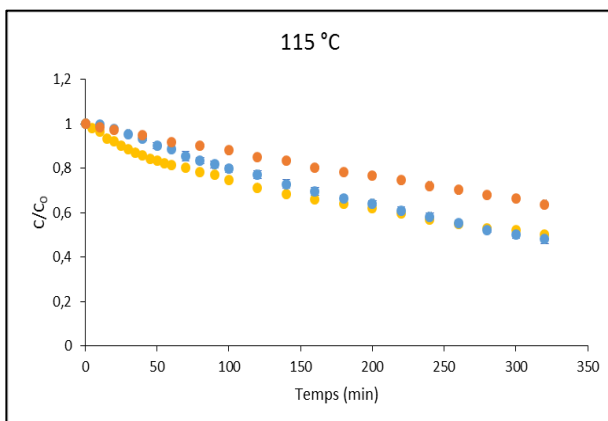
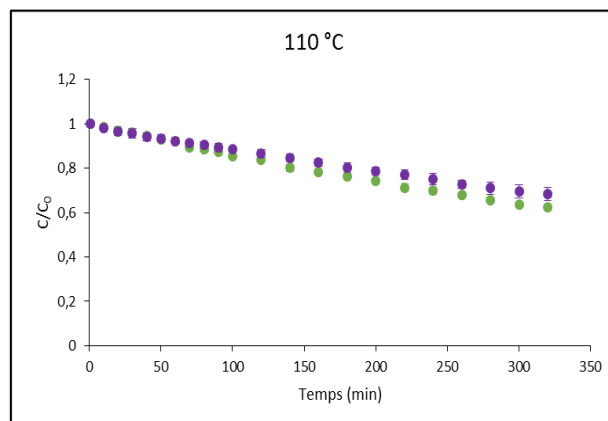
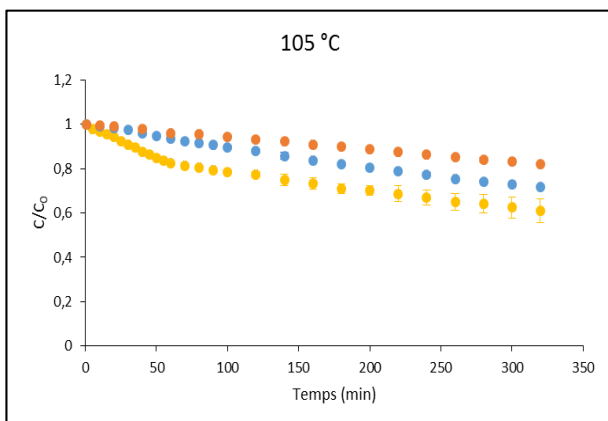
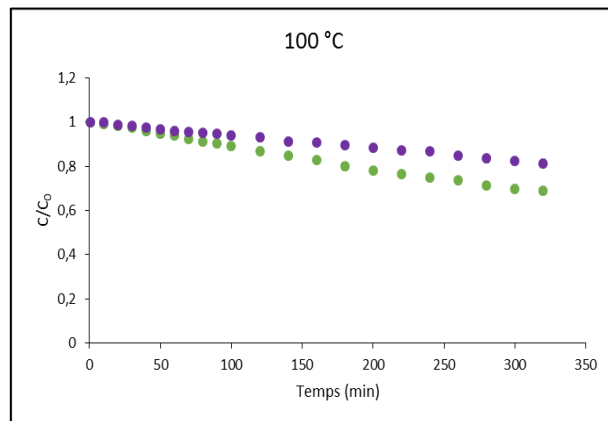
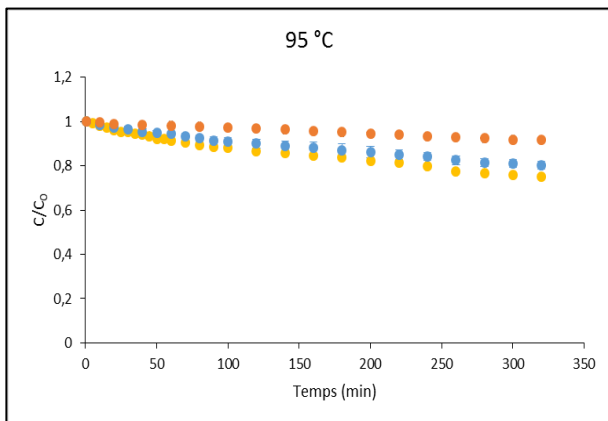


Figure V - 3 : Variation de C_i/C_0 en fonction du temps à 95, 100, 105, 110, 115, 120 et 125 °C pour
 (●) $[AA]_i = 150$ mg/L, (●) $[AA]_i = 300$ mg/L, (●) $[AA]_i = 450$ mg/L, (●) $[AA]_i = 600$ mg/L, (●) $[AA]_i = 900$ mg/L

Un test de Kruskal-Wallis a été réalisé pour chaque température afin de déterminer si les faibles écarts observés entre les données étaient significatifs. Mises à part les températures de 95 et 105 °C où une différence est observée si les 3 données sont comparées en même temps (différence venant des données pour $[AA]_i = 900 \text{ mg/L}$), il n'y a aucune différence significative entre les données, ce qui confirme que la dégradation de l'AA en conditions anaérobies suit bien une cinétique d'ordre 1.

Les données ont donc été modélisées avec un modèle cinétique d'ordre 1 (équation V – 1), et le modèle décrit bien les données ($R^2 > 0,99$ dans la plupart des cas).

Les constantes de vitesse et le temps de réduction décimale à chaque concentration initiale et à chaque température calculés en utilisant un modèle cinétique d'ordre 1 sont résumés dans le Tableau V – 1.

Tableau V - 1 : Constantes de vitesse de dégradation de l'acide ascorbique en milieu inerte en utilisant une cinétique d'ordre 1 et temps de réduction décimale en fonction de la température pour chaque concentration initiale étudiée

Concentration initiale (mg/L)	Température (°C)	$k * 10^{-4}$ (min ⁻¹)	D (min)	R^2
150	95	8,7 ± 0,3	2653 ± 18	0,9784
	105	15,1 ± 0,7	1521 ± 78	0,9500
	115	21,9 ± 0,6	1054 ± 31	0,9823
	125	32,6 ± 0,7	707 ± 14	0,9925
300	100	12,2 ± 0,1	1887 ± 16	0,9986
	110	15,1 ± 0,1	1527 ± 12	0,9989
	120	27,4 ± 0,2	841 ± 6	0,9990
	125	36,8 ± 0,3	625 ± 5	0,9991
450	95	6,7 ± 0,2	3459 ± 11	0,9877
	105	10,7 ± 0,1	2149 ± 21	0,9985
	115	23,5 ± 0,2	981 ± 8	0,9887
	125	40,3 ± 0,5	571 ± 7	0,9982
600	100	6,36 ± 0,07	3618 ± 43	0,9979
	110	11,74 ± 0,09	1961 ± 16	0,9989
	120	23,9 ± 0,2	964 ± 8	0,9987
	125	34,5 ± 0,2	667 ± 5	0,9993
900	95	2,72 ± 0,04	8445 ± 146	0,9958
	105	6,19 ± 0,06	3721 ± 35	0,9987
	115	13,7 ± 0,1	1680 ± 14	0,9988
	125	28,8 ± 0,2	801 ± 5	0,9994

Les résidus entre les valeurs expérimentales et les valeurs obtenues par le modèle d'ordre 1 ont été analysés afin de déterminer si le modèle ajuste bien les données (figure V – 4).

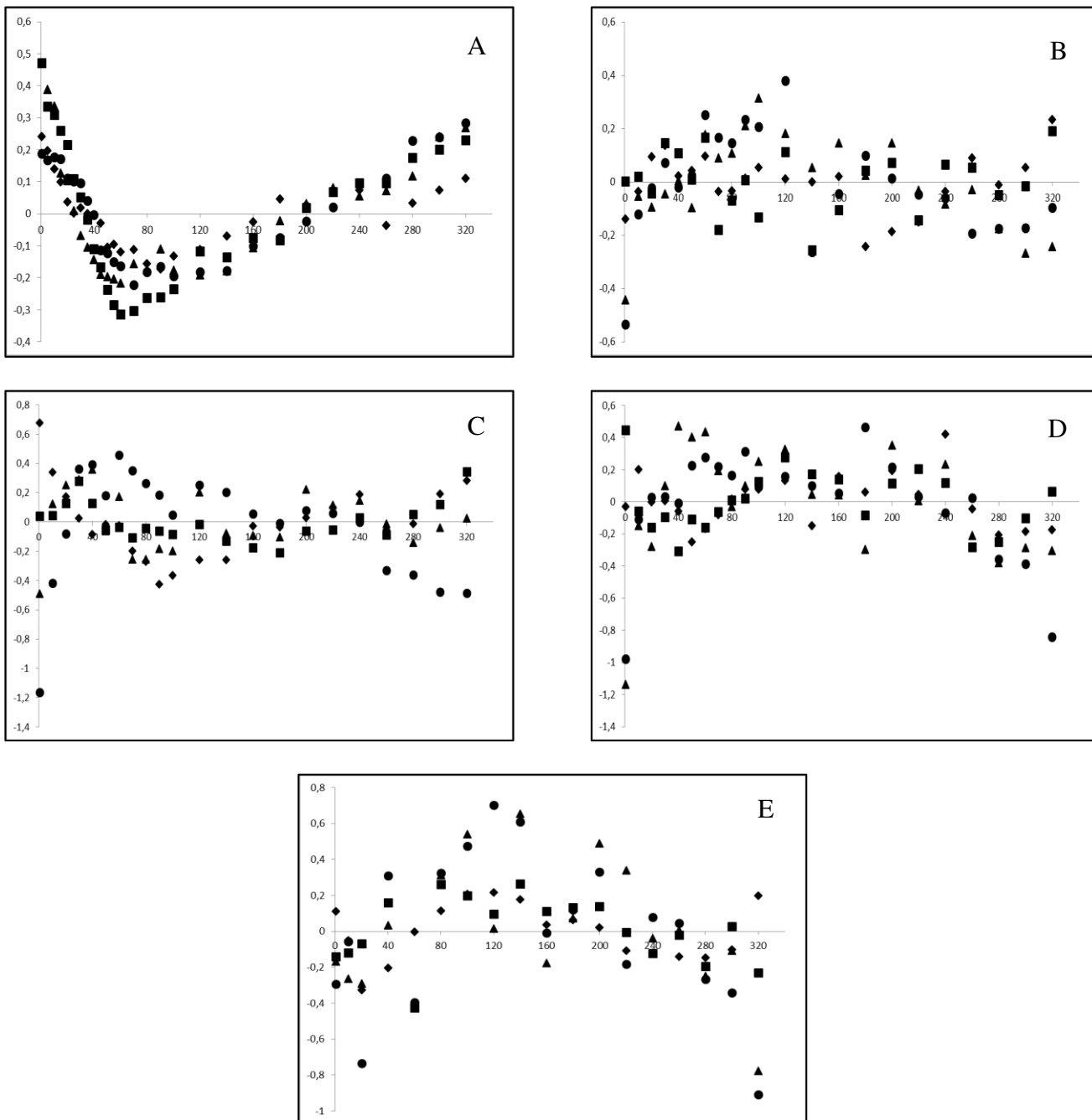


Figure V - 4 : Variation des résidus au cours du temps pour (A) $[AA]_i = 150$ mg/L, (B) $[AA]_i = 300$ mg/L, (C) $[AA]_i = 450$ mg/L, (D) $[AA]_i = 600$ mg/L, (E) $[AA]_i = 900$ mg/L en fonction du temps à 95, 100, 105, 100, 115, 120 et 125 °C ; (♦) 95 °C pour A, C, E et 100 °C pour B, D ; (■) 105 °C pour A, C, E et 110 °C pour B, D ; (▲) 115 °C pour A, C, E et 120 °C pour B, D ; (●) 125 °C

Un test de Shapiro-Wilk effectué sur les résidus a montré qu'ils suivent une distribution normale. Mise à part la concentration initiale en AA de 150 mg/L (figure V – 4 A), les résidus sont répartis de façon hétéroscédastique, ce qui confirme donc qu'une cinétique d'ordre 1 décrit bien les données. La tendance observée pour $[AA]_i = 150$ mg/L provient probablement d'un impact de l'oxygène injecté avec l'acide ascorbique.

Certaines valeurs des constantes de vitesse obtenues sont du même ordre que celles obtenues par d'autres auteurs. Le $k_{120^\circ\text{C}}$, dans notre cas, vaut en moyenne $2,6 \cdot 10^{-3} \text{ min}^{-1}$. Van den Broeck et al. (1998)

ont obtenu un $k_{120^{\circ}\text{C}}$ de $7,6 \cdot 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ dans du jus d'orange à $\text{pH} = 3,5$ (environ 3 fois plus élevé) et un $k_{120^{\circ}\text{C}}$ de $4,9 \cdot 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ dans du jus de tomate à $\text{pH} = 4,5$ (environ 2 fois plus élevé).

Certains auteurs (Esteve et al., 1988, dans extrait d'asperge ; Blasco et al., 2004, dans un extrait de champignon) ont obtenu entre 110°C et 120°C des constantes de vitesse d'un à deux ordres de grandeur plus élevés (tableau II – 7). De nombreux facteurs peuvent expliquer cette différence :

- 1) Ni Esteve et al. (1998), ni Blasco et al. (2004) n'avaient dégazé leur milieu. Il y avait donc initialement de l'oxygène dissous et le milieu n'était pas en conditions anaérobies strictes.
- 2) Les conditions physico-chimiques et notamment le pH qui n'est pas le même, nettement plus élevé dans l'asperge ($\text{pH} = 6,7$) ou dans le champignon (non rapporté par Blasco et al., 2004, mais généralement compris entre 5 et 7).
- 3) La composition du milieu peut aussi intervenir, par exemple, par la présence d'acides aminés permettant des réactions de Maillard. Ainsi, les champignons sont connus pour être riches en acides aminés, dont le glutamate, et les asperges en asparagine. Ces végétaux ou extraits de végétaux pourraient aussi contenir des catalyseurs (ions métalliques notamment) des réactions de dégradation de l'AA.

A 95°C , Karhan et al. (2003) ont aussi obtenu un $k_{95^{\circ}\text{C}}$ de $0,013 \text{ min}^{-1}$ dans la rose musquée (environ 20 fois plus élevé), le $k_{95^{\circ}\text{C}}$ obtenu ici étant en moyenne de $6 \cdot 10^{-4} \text{ min}^{-1}$.

Les valeurs de k obtenues augmentent avec la température. Dans des conditions d'anaérobiose, la température est donc un facteur prédominant dans la dégradation de l'acide ascorbique. De ce fait, la variation de la constante de vitesse en fonction de la température a été modélisée suivant la loi d'Arrhenius (figure V – 5).

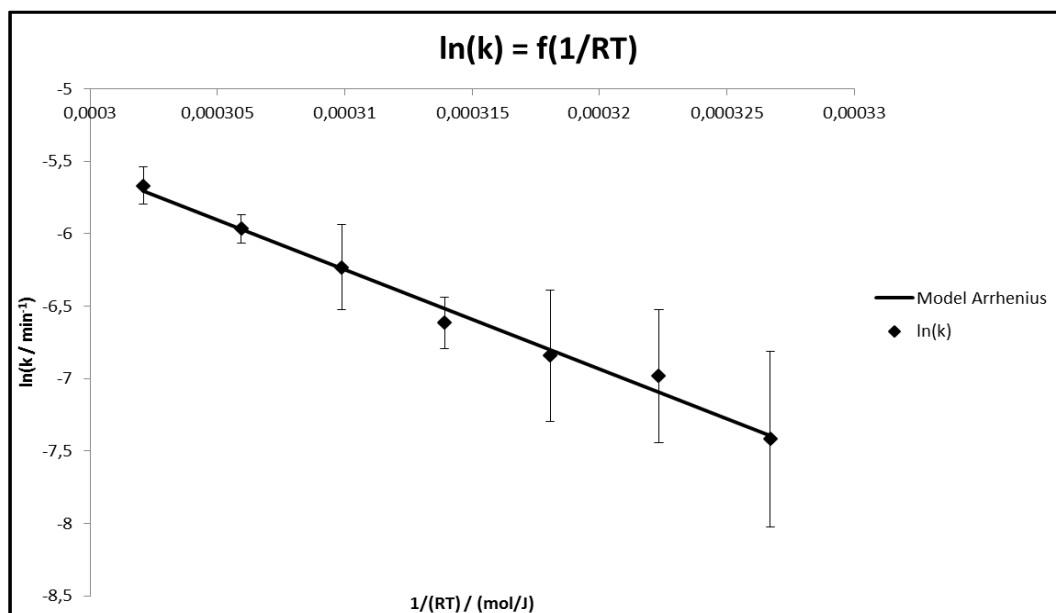


Figure V - 5 : Variation du logarithme de la constante de vitesse en fonction du rapport $1/(RT)$ pour les 5 concentrations initiales en acide ascorbique (150, 300, 450, 600 et 900 mg/L) et aux 7 températures étudiées (95, 100, 105, 110, 115, 120 et 125 °C) avec le modèle d'Arrhenius

Le logarithme de la constante de vitesse varie bien de façon linéaire avec le rapport ($1/RT$), quelle que soit la concentration initiale en acide ascorbique. La réaction de dégradation de l'acide ascorbique en conditions d'anaérobiose suit donc la loi d'Arrhenius, et il est donc possible de déterminer une énergie d'activation. Un seul mécanisme serait mis en jeu au cours de cette dégradation, probablement un mécanisme de dégradation de type hydrolytique. Ceci est d'ailleurs vérifié par les analyses HPLC : en effet, les analyses montrent la présence de furfural qui se forme au cours du temps, mais pas d'hydroxy-2-pyrone ni d'acide furoïque, ce qui, d'après le schéma de dégradation de l'acide ascorbique (figure II – 15), confirme le mécanisme hydrolytique. La valeur d'énergie d'activation est de **67 ± 5 kJ/mol**, la valeur du facteur pré-exponentiel est de **$3,33.10^6$ min⁻¹**. La valeur du facteur de réduction décimale déterminée est de **42 ± 3 °C**, et celle du D_{110} est de **1521 min**.

La valeur de l'énergie d'activation obtenue est proche de celle déterminée par Blasco et *al.* (2004) dans de l'extrait de champignon entre 110 et 140 °C ($E_a = 50$ kJ/mol). Karhan et *al.* (2003) ont déterminé une énergie d'activation de 47,5 kJ/mol dans la rose musquée entre 70 et 95 °C. Ces valeurs sont néanmoins légèrement inférieures à celle obtenue ici, la vitesse de dégradation de l'AA serait donc légèrement moins sensible à la température dans ce cas que dans ceux rapportés par Blasco et *al.* (2004) et Karhan et *al.* (2003). Van den Broeck et *al.* (1998) ont déterminé des énergies d'activation pour la réaction de dégradation de l'AA entre 120 et 150 °C de 117 kJ/mol et 105 kJ/mol respectivement dans le jus d'orange et le jus de tomate. Cette valeur élevée peut être due à la gamme de températures qui est plus élevée, et donc la dégradation de l'AA serait moins sensible à la variation de température sur une gamme allant de 120 à 150 °C que sur une gamme allant de 95 à 125 °C. Esteve et *al.* (1998) ont rapporté une énergie d'activation de 140 kJ/mol dans l'extrait d'asperge verte de 110 à 125 °C, ce qui est plus élevé que la valeur obtenu de 67 kJ/mol. Les conditions de traitements (anaérobies non strictes) ainsi que la valeur du pH (6,7) pourraient expliquer la différence observée, mais également les mécanismes de dégradation mis en jeu qui peuvent être différents dans un extrait de végétale qu'en solution modèle.

La variation de k en fonction de la température est donc donnée par l'équation d'Arrhenius suivante :

$$k_T = -3,33.10^6. \exp\left(-\frac{67283}{RT}\right) \quad \text{Équation V - 3}$$

La variation de D en fonction de la température est donc donnée par l'équation de Bigelow suivante :

$$D_T = 1535 * 10^{\left(\frac{110-T}{42}\right)} \quad \text{Équation V - 4}$$

La même approche a été réalisée en utilisant le modèle d'Eyring (figure V – 6).

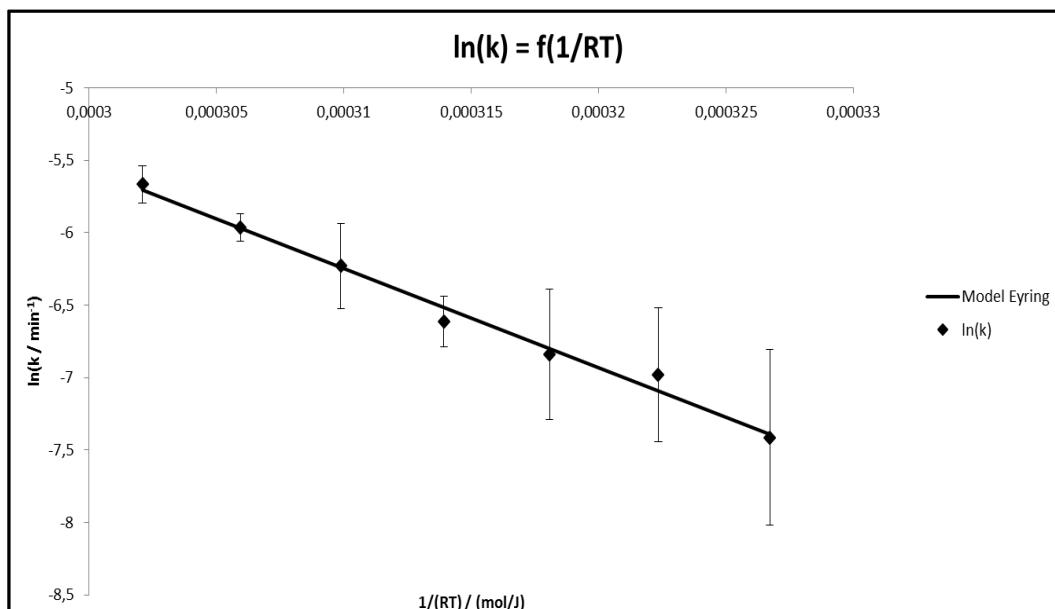


Figure V - 6 : Variation du logarithme de la constante de vitesse en fonction du rapport 1/(RT) pour les 5 concentrations initiales en acide ascorbique (150, 300, 450, 600 et 900 mg/L) et aux 7 températures étudiées (95, 100, 105, 110, 115, 120 et 125 °C) avec le modèle d'Eyring

La valeur de l'enthalpie libre d'activation ΔH^\ddagger déterminée est de 66 ± 6 kJ/mol et celle déterminée pour l'entropie libre d'activation ΔS^\ddagger est de -128 ± 16 J.mol⁻¹.K⁻¹. La valeur négative de ΔS^\ddagger indique que le mécanisme mis en jeu est de type associatif, c'est-à-dire que deux molécules réagissent entre elles pour former un seul complexe activé : ici une molécule d'eau va réagir avec une molécule d'acide ascorbique. L'avantage du modèle d'Eyring est la complémentarité qu'il apporte à celui d'Arrhenius. En effet, le modèle d'Arrhenius ne permet pas de conclure sur le processus mécanistique, ce que permet le modèle d'Eyring.

La variation de k en fonction de la température est donc donnée par l'équation d'Eyring suivante :

$$k_T = \frac{k_B \cdot T}{h} \cdot \exp\left(\frac{-128}{R}\right) \cdot \exp\left(-\frac{66430}{RT}\right) \quad \text{Équation V - 5}$$

Il est donc possible de modéliser la dégradation de l'acide ascorbique en solution modèle à pH = 3,5 et en condition d'anaérobie selon le modèle d'Arrhenius, le modèle d'Eyring et le modèle de Bigelow :

Modélisation selon Arrhenius :

$$C_t = C_0 \cdot \exp\left(-3,33 \cdot 10^6 \cdot \exp\left(-\frac{67283}{RT}\right) \cdot t\right) \quad \text{Équation V - 6}$$

Modélisation selon Eyring :

$$C_t = C_0 \cdot \exp\left(-\frac{k_B \cdot T}{h} \cdot \exp\left(\frac{-128}{R}\right) \cdot \exp\left(-\frac{66430}{RT}\right) \cdot t\right) \quad \text{Équation V - 7}$$

Modélisation selon Bigelow :

$$C_t = C_0 \cdot 10^{\left(\frac{-1521 \cdot 10 \left(\frac{110-T}{42}\right)}{t}\right)} \quad \text{Équation V - 8}$$

Les valeurs obtenues pour les paramètres des différents modèles sont résumés dans le tableau V - 2.

Tableau V - 2 : Valeurs des paramètres déterminés suivant différents modèles

Paramètres	Modèle d'Arrhenius		Modèle d'Eyring		Modèle de Bigelow	
	A (min^{-1})	E_a (kJ/mol)	ΔH^\ddagger (kJ/mol)	ΔS^\ddagger (kJ/mol)	D_{110} (min)	z ($^\circ\text{C}$)
Valeurs	$3,33 \cdot 10^6$	67	66	-128	1521	42

1.2 Influence du pH

L'influence du pH a été étudiée pour une concentration initiale en acide ascorbique de 150 mg/L, à quatre températures différentes (95, 105, 115 et 125 $^\circ\text{C}$) et pour 4 valeurs de pH (2,5 ; 3,5 ; 4,5 ; 5,5) (figure V – 7 et V – 8).

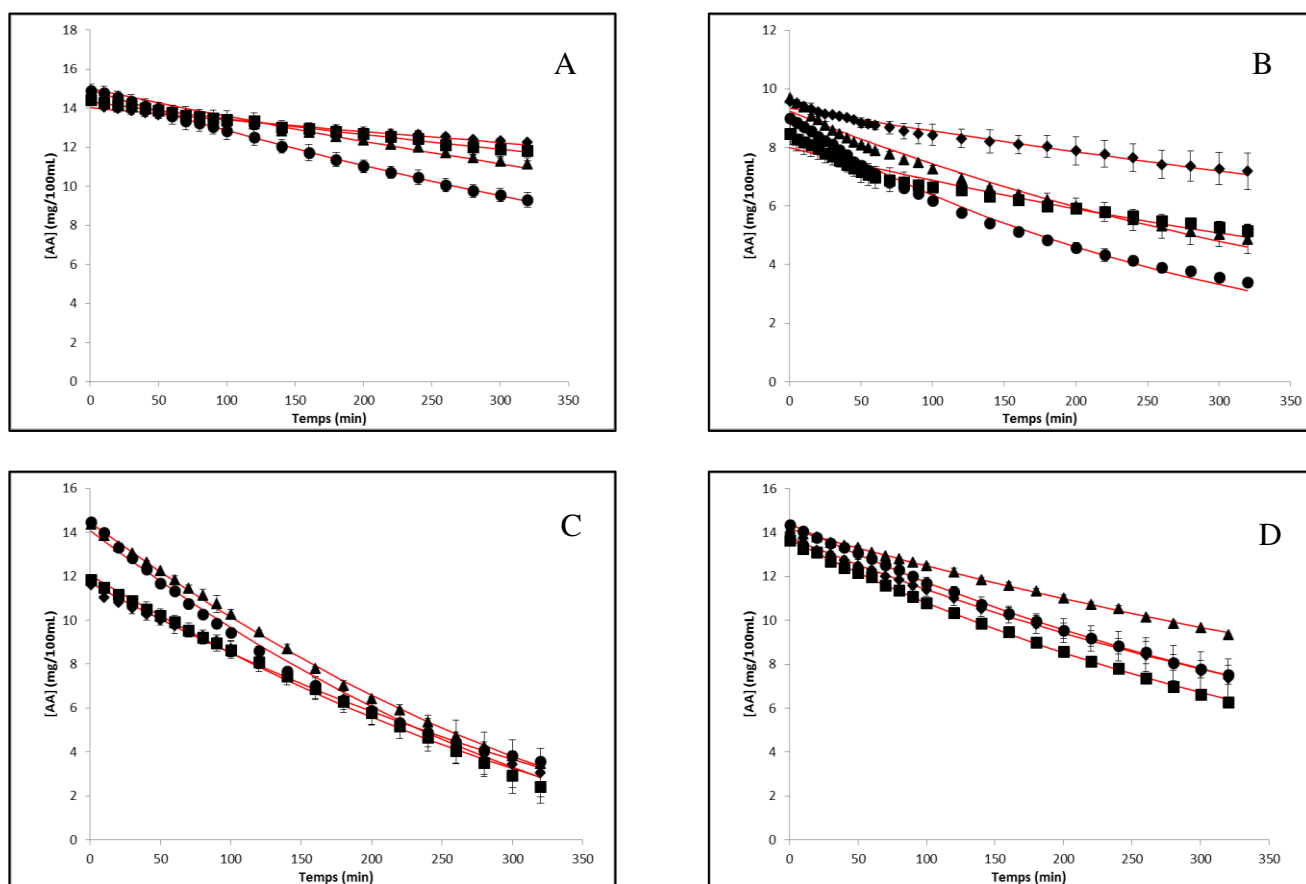


Figure V - 7 : Évolution de la concentration d'acide ascorbique pour $[AA]_i = 150$ mg/L à (A) pH = 2,5, (B) pH = 3,5, (C) pH = 4,5 et (D) pH = 5,5 en fonction du temps à (\blacklozenge) 95 $^\circ\text{C}$, (\blacksquare) 105 $^\circ\text{C}$, (\blacktriangle) 115 $^\circ\text{C}$ et (\bullet) 125 $^\circ\text{C}$

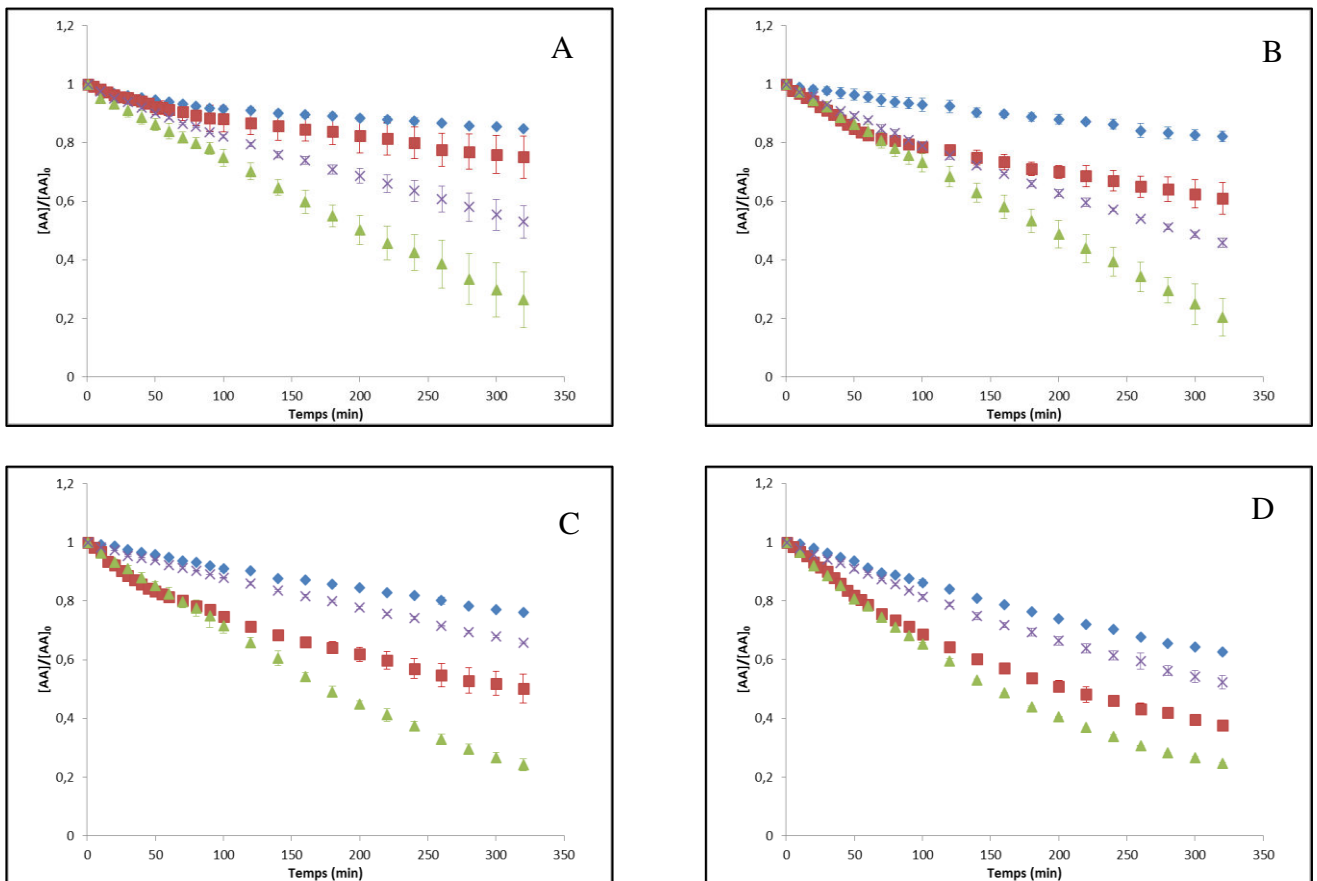


Figure V - 8 : Évolution de la concentration (normalisée) d'acide ascorbique pour $[AA]_i = 150$ mg/L à (A) 95 °C, (B) 105 °C, (C) 115 °C et (D) 125 °C en fonction du temps à (♦) pH = 2,5, (■) pH = 3,5, (▲) pH = 4,5 et (x) pH = 5,5

Même après 320 minutes de chauffage, quels que soient la température ou le pH, l'acide ascorbique ne disparaît pas totalement.

A température égale, la dégradation de l'AA est toujours plus rapide lorsque le pH est de 4,5, et toujours plus lente lorsque le pH est de 2,5. Li et *al.* (2016) ont également trouvé que la dégradation de l'AA était plus rapide lorsque le pH était de 4,5 qu'à des valeurs supérieures entre 120 et 150 °C. Li et *al.* (2016) ont effectué leurs expériences en milieu non dégazé mais fermé, ce qui veut dire que de l'oxygène dissous était présent dans le milieu mais sans pour autant renouvelé. Ici, le milieu est dépourvu d'oxygène et la réaction a lieu en anaérobiose stricte, ce qui pourrait expliquer également certaines différences observées pour la dégradation de l'AA.

Comme pour les expériences précédentes, la forme des courbes de dégradation semble par ailleurs varier avec le pH et la température, le système « ordre n unique » a été utilisé pour tenter de déterminer l'ordre réactionnel. Cependant, à pH = 4,5, le comportement semble être différent des autres (la distribution des résidus n'était pas hétéroscédastique). De ce fait, un ordre réactionnel n'a pu être déterminé qu'aux trois autres valeurs de pH (2,5 ; 3,5 ; 5,5).

L'ordre réactionnel obtenu est de 0,90 pour les valeurs de pH = 2,5 ; 3,5 ; 5,5. La cinétique observée est donc probablement d'ordre 1 pour ces valeurs de pH. Les données ont donc été modélisées avec un

modèle cinétique d'ordre 1 (équation V – 1), et le modèle décrit bien les données ($R^2 > 0,99$ dans la plupart des cas). Des travaux précédents ont également montré qu'une cinétique d'ordre 1 décrivait bien la dégradation de l'acide ascorbique en conditions d'anaérobie (Esteve et al., 1998, Van den Broeck et al., 1998, Blasco et al., 2004, Bosch et al., 2013).

Les logarithmes des rapports $[AA]_t/[AA]_0$ ont été tracés en fonction du temps pour toutes les concentrations (figure V – 9).

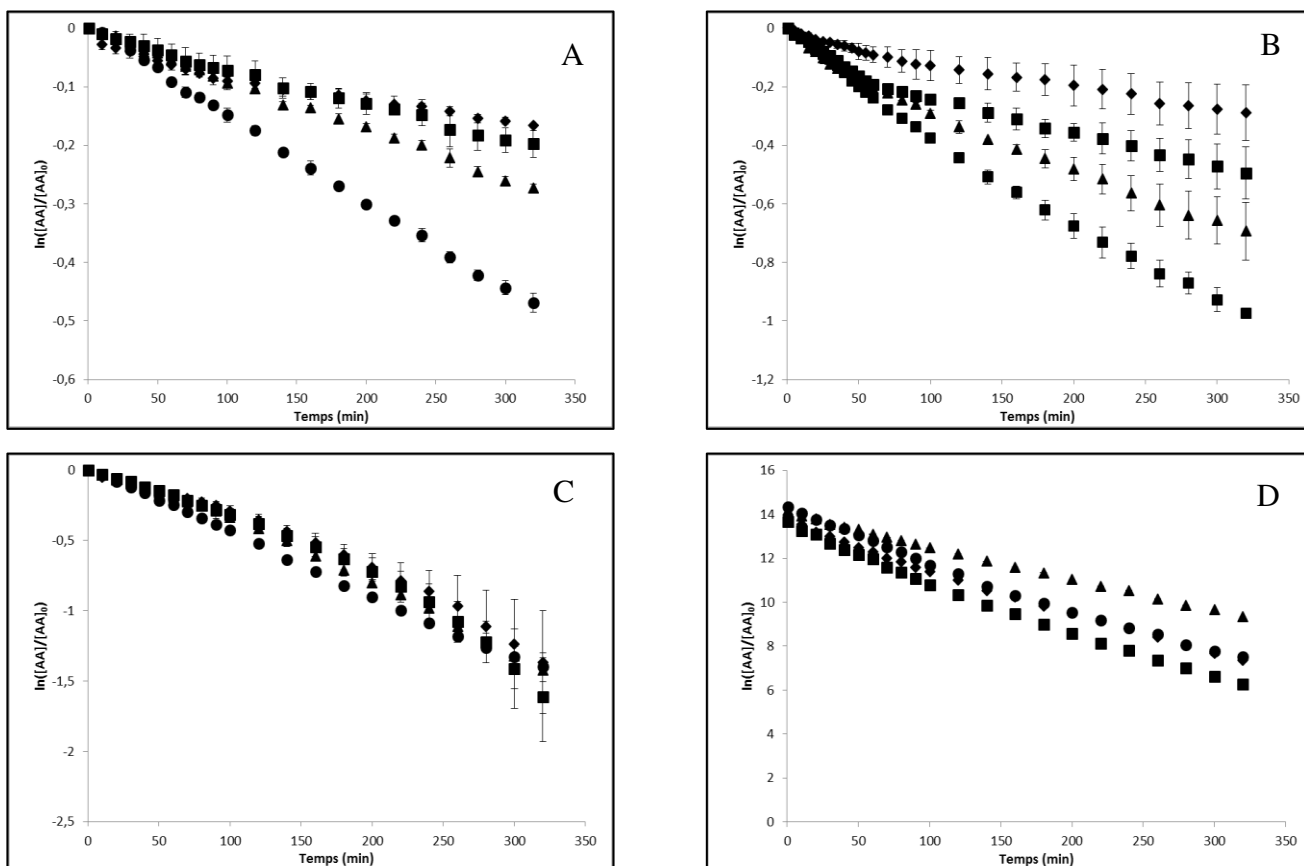


Figure V - 9 : Évolution du logarithme du rapport $[AA]_t/[AA]_0$ pour $[AA]_i = 150$ mg/L à (A) pH = 2,5, (B) pH = 3,5, (C) pH = 4,5 et (D) pH = 5,5 en fonction du temps à (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (●) 125 °C

La variation de $\ln([AA]_t/[AA]_0)$ est linéaire au cours du temps lorsque le pH vaut 2,5, 3,5 et 5,5 (figures V – 9 A, B et D), ce qui confirme l'hypothèse d'un ordre 1 pour ces 3 valeurs de pH, alors que lorsque le pH est fixé à 4,5, l'ordre 1 n'est pas vérifié puisque la variation de $\ln([AA]_t/[AA]_0)$ apparaît clairement non linéaire au cours du temps (figure V – 9 C).

Les constantes de vitesse de dégradation à chaque pH et à chaque température calculées en utilisant un modèle cinétique d'ordre 1 sont résumées dans le tableau V – 3.

Tableau V - 3 : Constantes de vitesse de dégradation de l'acide ascorbique d'ordre 1 et temps de réduction décimale en fonction de la température pour chaque pH étudiée

pH	Température (°C)	$k * 10^{-4}$ (min^{-1})	D (min)	R^2
2,5	95	$4,5 \pm 0,2$	5083 ± 284	0,9489
	105	$6,2 \pm 0,1$	3744 ± 62	0,9946
	115	$9,9 \pm 0,4$	2332 ± 94	0,9980
	125	$15,1 \pm 0,1$	1527 ± 10	0,9991
3,5	100	$8,7 \pm 0,3$	2653 ± 18	0,9784
	110	$15,1 \pm 0,7$	1521 ± 78	0,9500
	120	$21,9 \pm 0,6$	1054 ± 31	0,9823
	125	$32,6 \pm 0,7$	707 ± 14	0,9925
5,5	95	$19,0 \pm 0,2$	1209 ± 10	0,9988
	105	$23,7 \pm 0,2$	971 ± 7	0,9992
	115	$12,7 \pm 0,1$	1815 ± 15	0,9990
	125	$20,5 \pm 0,1$	1125 ± 7	0,9994

Les résidus entre les valeurs expérimentales et les valeurs obtenues par le modèle d'ordre 1 ont été analysés afin de déterminer si le modèle ajuste bien les données (figure V – 10).

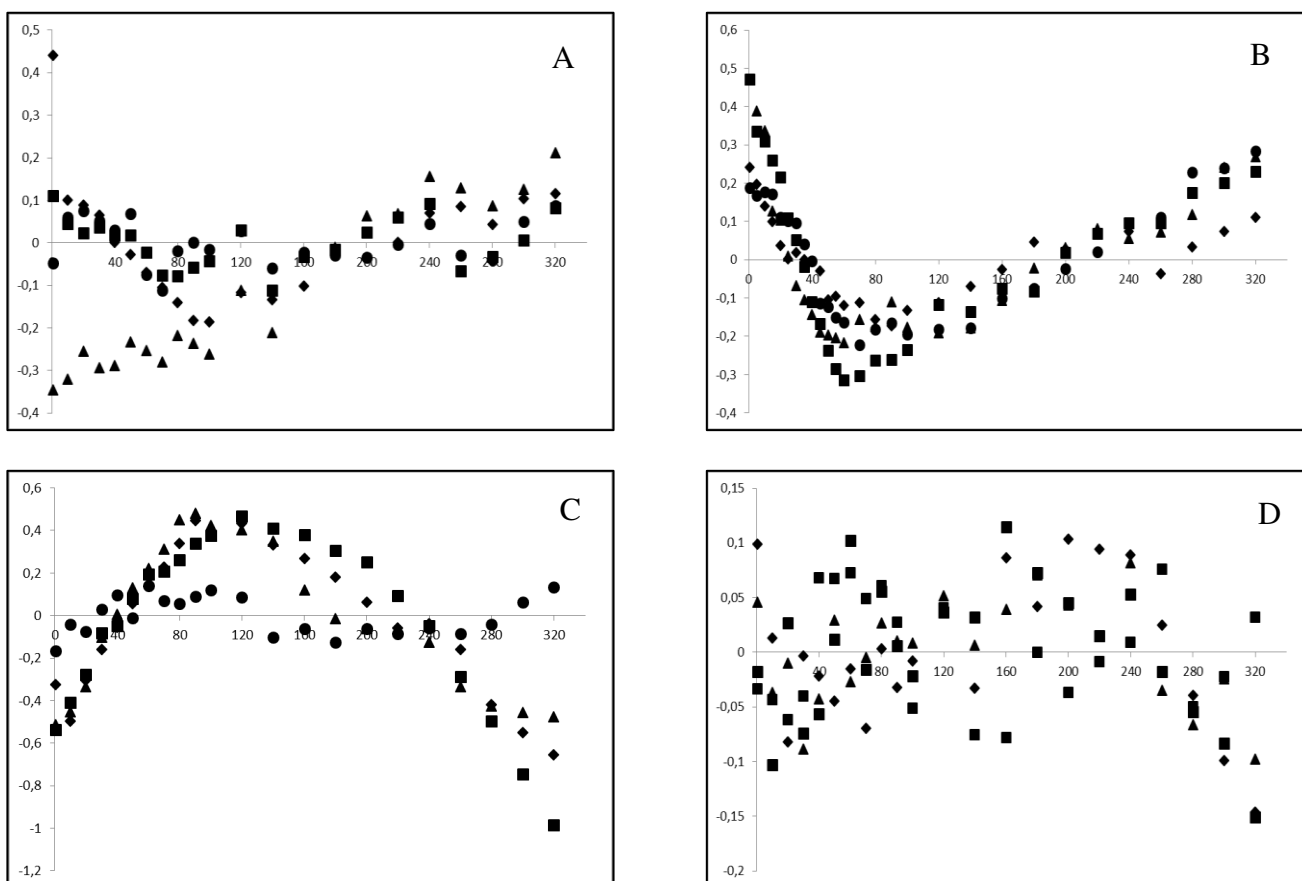


Figure V - 10 : Variation des résidus pour $[AA]_i = 150$ mg/L à (A) pH = 2,5, (B) pH = 3,5, (C) pH = 4,5 et (D) pH = 5,5 en fonction du temps à (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (●) 125 °C

Un test de Shapiro-Wilk effectué sur les résidus a montré qu'ils suivent une distribution normale à des valeurs de pH égales à 3,5, 4,5 et 5,5. Lorsque le pH est de 3,5 (figure V – 10 B), les résidus ne sont pas répartis de façon hétéroscédastique comme expliqué précédemment pour la figure V – 4 A (mauvaise homogénéisation de l'AA au moment de l'injection ?). Lorsque le pH est de 2,5 (figure V – 10 A), les résidus suivent une distribution normale à 105 et 125 °C, et pas à 95 et 115 °C. Cependant, 60-70 % de dégradation ne sont pas atteints et il est donc difficile de trancher sur l'ordre de la cinétique (Van Boekel, 2009). Pour un pH de 4,5 (figure V – 10 C), bien que les résidus suivent une distribution normale, ils suivent clairement une tendance et ne sont pas répartis de manière hétéroscédastique, ce qui confirme bien qu'à cette valeur de pH, un modèle d'ordre 1 ne convient pas à l'ajustement des données. A un pH de 5,5, les résidus suivent une distribution normale et sont répartis de façon hétéroscédastique, ce qui confirme qu'à cette valeur de pH, l'ordre 1 décrit bien les données.

Les valeurs de k obtenues à pH = 2,5 et pH = 3,5 montrent une augmentation de k avec la température. En effet, lorsque la température augmente, la valeur de k augmente pour ces deux valeurs de pH. Cependant, un comportement différent est observé pour pH = 5,5. En effet, il ne semble pas à cette valeur de pH y avoir de corrélation logique entre la vitesse de dégradation et la température : la loi d'Arrhenius n'est donc pas respectée. Li et al. (2016) ont cependant rapporté que le comportement de la dégradation de l'AA est Arrhenien à pH = 5,8 entre 110 et 150 °C, en solution modèle, mais pas en conditions anaérobies strictes.

De ce fait, la variation de la constante de vitesse en fonction de la température n'a été modélisée par la loi d'Arrhenius que pour les deux valeurs de pH de 2,5 et 3,5 (figure V – 11).

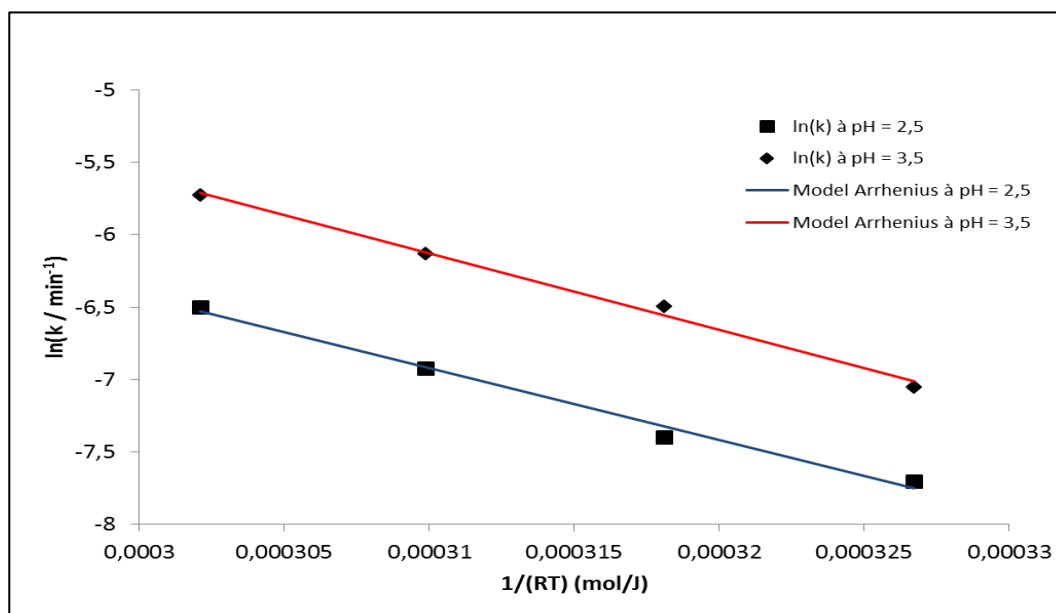


Figure V - 11 : Variation du logarithme de la constante de vitesse en fonction du rapport 1/(RT) pour les pH de 2,5 et 3,5 aux 4 températures étudiées (95, 105, 115 et 125 °C) avec le modèle d'Arrhenius

Le logarithme de la constante de vitesse varie avec le rapport (1/RT) de façon linéaire pour les deux valeurs de pH. La réaction de dégradation de l'acide ascorbique à pH = 2,5 et pH = 3,5 en conditions d'anaérobiose suit donc la loi d'Arrhenius, et il est donc possible de déterminer une énergie d'activation

dans ce cas d'étude. Cela signifie, comme précédemment, que même à un pH faible de 2,5, la température est un facteur prédominant dans la dégradation de l'acide ascorbique, et il semblerait ici aussi qu'un seul mécanisme soit mis en jeu au cours de cette dégradation, probablement aussi un mécanisme de dégradation de type hydrolytique.

La valeur de l'énergie d'activation est de 67 ± 5 kJ/mol pour un pH de 3,5, et de 52 ± 3 kJ/mol pour un pH de 2,5, et la valeur du facteur pré-exponentiel est de 4915 min^{-1} . Le faible écart entre ces énergies d'activation corrobore le fait que le mécanisme impliqué dans la dégradation de l'acide ascorbique est le même pour ces deux valeurs de pH. La valeur du facteur de réduction décimale déterminée est de 53 ± 3 °C, et celle du D_{110} est de 2872 min .

La variation de k en fonction de la température est donc donnée selon l'équation d'Arrhenius suivante :

$$k_T = -4915. \exp\left(-\frac{52496}{RT}\right) \quad \text{Équation V - 9}$$

La variation de D en fonction de la température est donc donnée selon l'équation de Bigelow suivante :

$$D_T = 2872 * 10^{\left(\frac{110-T}{53}\right)} \quad \text{Équation V - 10}$$

Le même travail a été réalisé avec la théorie d'Eyring (figure V – 12).

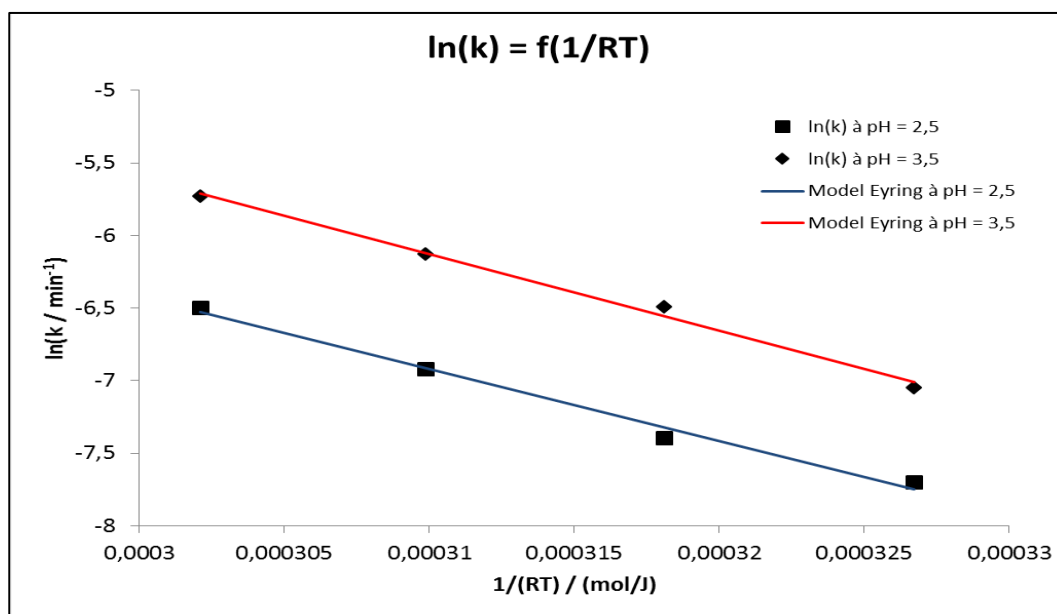


Figure V - 12 : Variation du logarithme de la constante de vitesse en fonction du rapport 1/(RT) pour les pH de 2,5 et 3,5 aux 4 températures étudiées (95, 105, 115 et 125 °C) avec le modèle d'Eyring

La valeur de l'enthalpie libre d'activation ΔH^\ddagger déterminée est de 46 ± 4 kJ/mol et celle déterminée pour l'entropie libre d'activation ΔS^\ddagger est de -184 ± 9 J.mol⁻¹.K⁻¹. La valeur de ΔS^\ddagger confirme également comme à pH = 3,5, que le mécanisme mis en jeu est de type associatif.

La variation de k en fonction de la température est donc donnée selon l'équation d'Eyring suivante :

$$k_T = \frac{k_B \cdot T}{h} \cdot \exp\left(\frac{-184}{R}\right) \cdot \exp\left(-\frac{46446}{RT}\right) \quad \text{Équation V - 11}$$

Modélisation selon Arrhenius :

$$C_t = C_0 \cdot \exp\left(-4915 \cdot \exp\left(-\frac{52496}{RT}\right) \cdot t\right) \quad \text{Équation V - 12}$$

Modélisation selon Eyring :

$$C_t = C_0 \cdot \exp\left(-\frac{k_B \cdot T}{h} \cdot \exp\left(\frac{-184}{R}\right) \cdot \exp\left(-\frac{46446}{RT}\right) \cdot t\right) \quad \text{Équation V - 13}$$

Modélisation selon Bigelow :

$$C_t = C_0 \cdot 10^{\left(\frac{-2872 \cdot 10^{\left(\frac{110-T}{53}\right)}}{t}\right)} \quad \text{Équation V - 14}$$

Les valeurs obtenues pour les paramètres des différents modèles pour un pH de 2,5 sont résumées dans le tableau V – 4.

Tableau V - 4 : Valeurs des paramètres déterminés suivant différents modèles pour un pH de 2,5

Paramètres	Modèle d'Arrhenius		Modèle d'Eyring		Modèle de Bigelow	
	A (min ⁻¹)	E _a (kJ/mol)	ΔH [#] (kJ/mol)	ΔS [#] (kJ/mol)	D ₁₁₀ (min)	z (°C)
Valeurs	4915	52	46	-184	2872	53

A pH = 4,5, le comportement est tout autre. En effet, contrairement aux autres valeurs pH, l'ordre réactionnel estimé est ici de 0,5. Cette valeur obtenue (et inattendue) peut être due au fait qu'à pH = 4,5, le milieu est proche de la valeur du pKa du couple acide ascorbique/ascorbate (4,13). Les constantes réactionnelles ont été calculées à pH = 4,5 et un ordre réactionnel de 0,5 (tableau V – 5).

Tableau V - 5 : Constantes de vitesse de dégradation de l'acide ascorbique d'ordre 0,5 en fonction de la température pour chaque un pH de 4,5

pH	Température (°C)	k * 10 ⁻² (mg ^{1/2} ·100mL ^{-1/2} ·min ⁻¹)	R ²
4,5	95	1,00 ± 0,01	0,9967
	105	1,11 ± 0,02	0,9962
	115	1,24 ± 0,01	0,9989
	125	1,29 ± 0,03	0,9926

Li et al. (2016) ont rapporté qu'à pH = 4,5, la réaction de dégradation de l'AA suivait une cinétique d'ordre 1, or ce n'est pas le cas ici, peut-être donc à cause des conditions anaérobies strictes.

La valeur de k varie faiblement avec la température. Un graphe d'Arrhenius a été tracé pour étudier cette variation (figure V – 13).

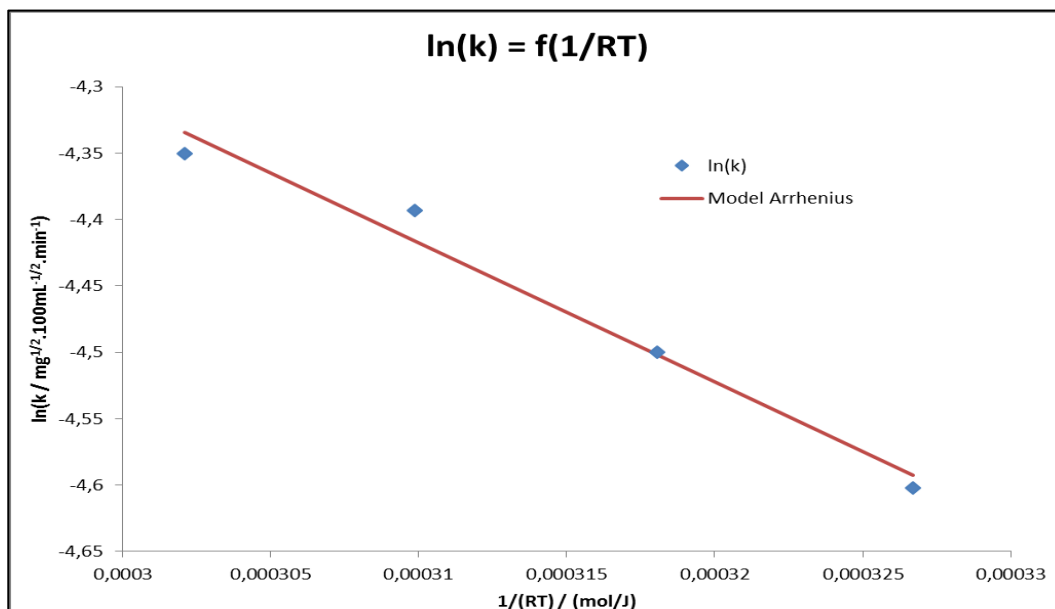


Figure V - 13 : Variation du logarithme de la constante de vitesse en fonction du rapport 1/(RT) pour un pH de 4,5 aux 4 températures étudiées (95, 105, 115 et 125 °C)

La valeur obtenue pour l'énergie d'activation est de $10,5 \pm 1$ kJ/mol pour un pH de 4,5. Cependant, au moment de la détermination de cette valeur, la matrice de corrélation linéaire générée par la fonction « solveraid » de la macro de De Levie nous informe que $\ln(A)$ est linéairement corrélé à l'énergie d'activation, ce qui ne devrait pas être le cas. Cela veut donc dire qu'au moment de déterminer ces valeurs, il n'a pas été possible pour le logiciel de les déterminer de façon indépendante, or, il ne doit pas y avoir de corrélation entre E_a et $\ln(A)$. En conséquence, cette valeur d'énergie d'activation est à considérer avec prudence. Li et al. (2016) ont déterminé une énergie d'activation de 78 kJ/mol à pH = 4,5 entre 110 et 150 °C, qui n'est pas du tout du même ordre de grandeur que la valeur déterminée ici.

D'autres études sont cependant nécessaires afin d'expliquer pourquoi la dégradation de l'acide ascorbique ne suit pas une loi d'Arrhenius lorsque le pH est de 4,5 et 5,5, et pourquoi l'ordre réactionnel est différent lorsque le pH est de 4,5.

1.3 Etude du furfural

Le furfural provient de la dégradation de l'acide ascorbique par voie hydrolytique (Yuan and Chen, 1998). C'est un des produits majoritaires formés par cette voie de dégradation (Shinoda et al., 2004b, Kanner et al., 1981). Le furfural est également un dérivé de la décomposition des pentoses et acides aldoniques (Kanner et al., 1981). La formation du furfural a été suivie au cours du temps en fonction de la concentration initiale en acide ascorbique (figure V – 14).

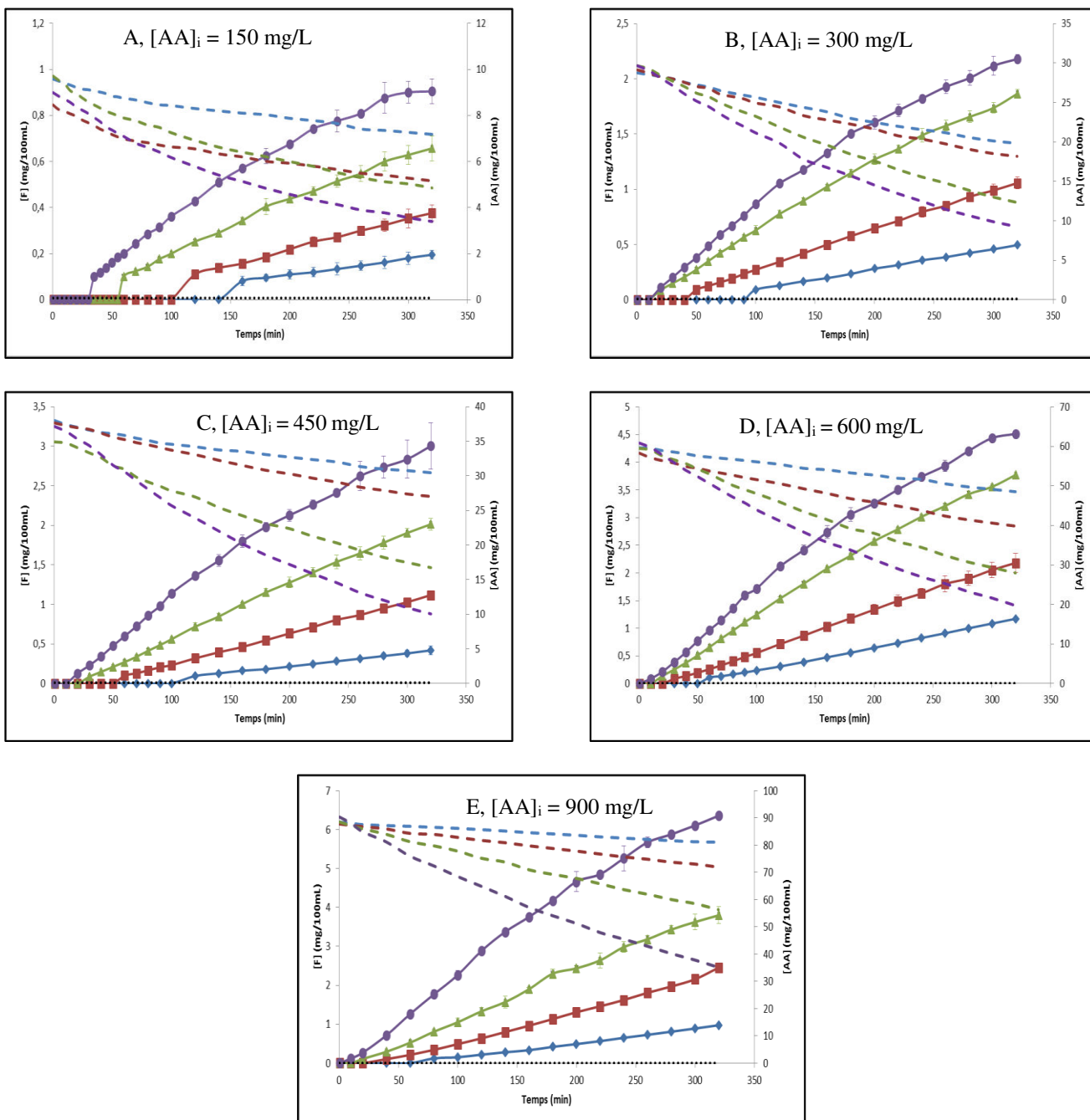


Figure V - 14 : Courbes représentant la formation du furfural en fonction du temps en conditions d'anaérobie stricte à 95, 100, 105, 110, 115, 120 et 125 °C, avec une concentration initiale en acide ascorbique de (A) 150 mg/L, (B) 300 mg/L, (C) 450 mg/L, (D) 600 mg/L et (E) 900 mg/L ; (♦) 95 °C pour A, C, E et 100 °C pour B, D ; (■) 105 °C pour A, C, E et 110 °C pour B,D ; (▲) 115 °C pour A, C, E et 120 °C pour B,D ; (●) 125 °C avec en lignes discontinues les courbes de perte de l'AA correspondantes ; la ligne en pointillés noirs représente la limite de quantification du furfural

En conditions anaérobies strictes, quelle que soit la concentration initiale en acide ascorbique, plus la température augmente, plus la formation du furfural augmente, ce qui est cohérent avec l'évolution de la perte en acide ascorbique.

L'influence du pH a également été étudiée sur la formation du furfural (figure V – 15).

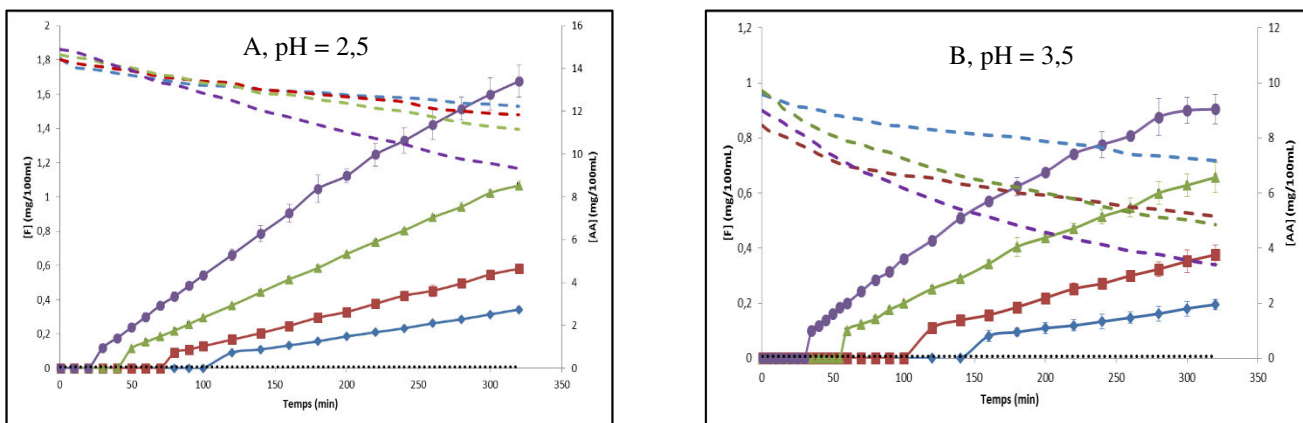


Figure V - 15 : Courbes représentant la formation du furfural en fonction du temps en conditions d'anaérobiose stricte avec une concentration initiale en acide de 150 mg/L à 95, 105, 115, et 125 °C à (A) pH = 2,5 et (B) pH = 3,5 ; (♦) 95 °C pour A, C, E et 100 °C pour B, D ; (■) 105 °C pour A, C, E et 110 °C pour B,D ; (▲) 115 °C pour A, C, E et 120 °C pour B,D ; (●) 125 °C avec en lignes discontinues les courbes de perte de l'AA correspondantes ; la ligne en pointillés noirs représente la limite de quantification du furfural

Que le pH soit fixé à 2,5 ou 3,5, la formation du furfural au cours du temps augmente avec la température. Cependant, il n'a pas été possible de détecter du furfural à pH = 4,5 et pH = 5,5, et à pH = 2,5, il se forme relativement plus de furfural qu'à pH = 3,5, alors qu'à pH = 2,5, le taux de dégradation de l'AA est plus faible qu'à pH = 3,5. Le furfural est donc d'autant plus abondant que le pH est bas, ce qui pourrait être dû soit à une instabilité de ce composé pour les pH faiblement acides, soit à l'existence d'une autre voie réactionnelle en milieu moins acide.

2 En conditions aérobies

Dans cette partie de l'étude le profil de la dégradation de l'acide ascorbique a été établi en présence d'oxygène en teneurs variables dans l'espace de tête (expérimentations sous air comprimé ou mélange gazeux O₂/N₂ 90/10). Les températures étudiées sont 95 °C, 105 °C, 115 °C et 125 °C pour chacune des concentrations sélectionnées (150, 450 et 900 mg/L) à différentes pressions partielles en oxygène dans l'espace de tête (3.10⁴ Pa ; 6,3.10⁴ Pa ; 1.10⁵ Pa). Le pH est fixé à 3,5.

2.1 Pression partielle d'oxygène à 30 kPa

Cette étude a été menée en utilisant un mélange gazeux N₂/O₂ 90/10 sous 3.10⁵ Pa (3 bars) de pression, à 3 concentrations initiales en acide ascorbique différentes (150, 450 et 900 mg/L) à quatre températures (95, 105, 115 et 125 °C) (figure V – 16).

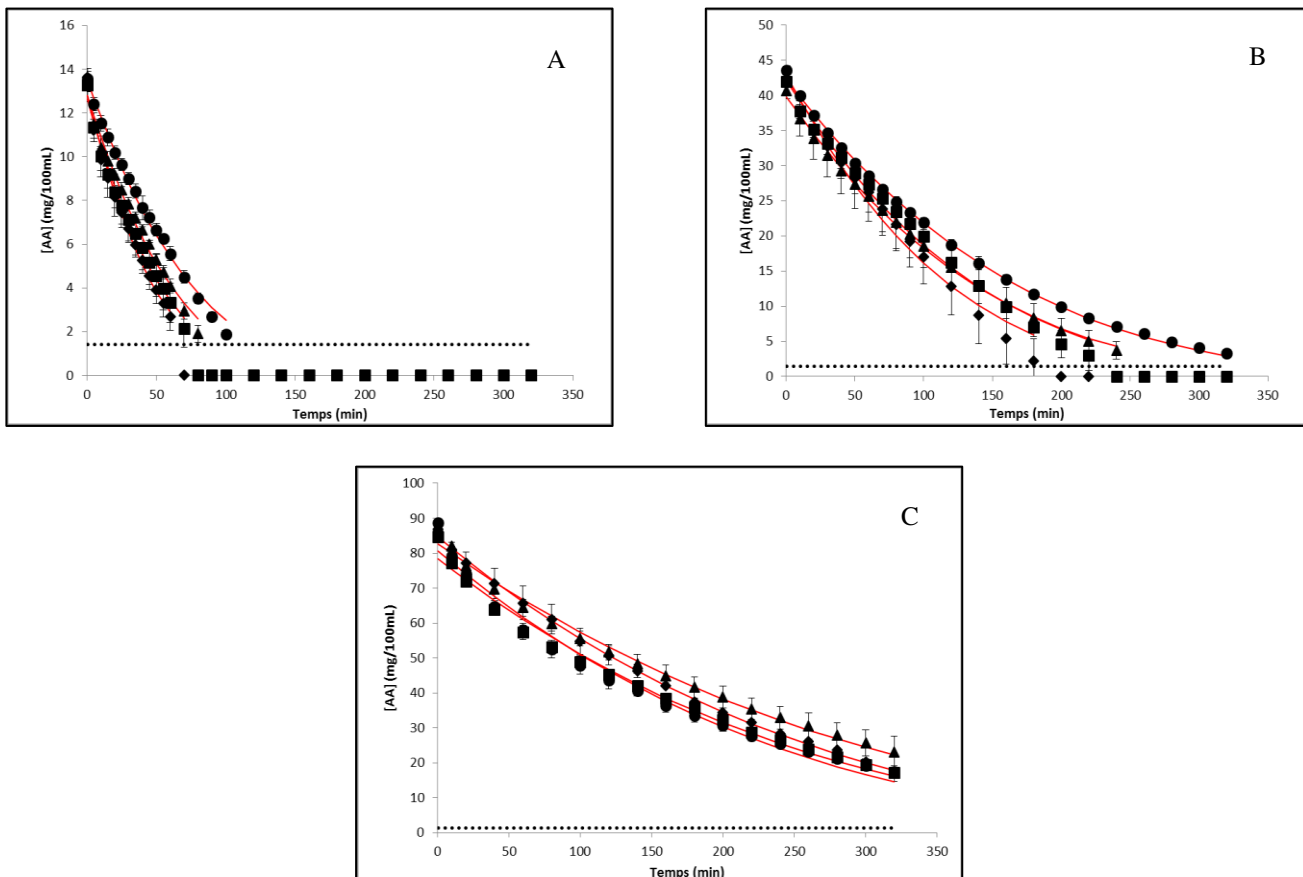


Figure V - 16 : Évolution de la concentration d'acide ascorbique avec une concentration initiale de (A) 150 mg/L, (B) 450 mg/L et (C) 900 mg/L en fonction du temps à (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (●) 125 °C avec une pression partielle d'oxygène dans l'espace de tête de 3.10^4 Pa ; la ligne en pointillés noirs représente la limite de quantification de l'acide ascorbique ; les traits rouges représentent le modèle ajusté aux données

L'acide ascorbique a totalement disparu au bout de 70-120 minutes pour une concentration initiale de 150 mg/L (figure V – 16 A), de 200-260 minutes pour une concentration initiale de 450 mg/L de 95 à 115 °C et n'a pas totalement disparu au bout de 320 min à 125 °C (figure V – 16 B). Pour une concentration initiale de 900 mg/L, 320 minutes n'ont pas suffi à dégrader tout l'acide ascorbique initialement présent quelle que soit la température (figure V – 16 C). L'allure des courbes laisse supposer que la dégradation de l'acide ascorbique ne suit ni une cinétique d'ordre 1, ni d'ordre 0 dans ces conditions. De plus, les courbes sont relativement proches aux quatre températures, ce qui laisse supposer que l'effet de la température est moins marqué lorsqu'elle devient élevée.

L'ordre réactionnel ainsi que les constantes de cinétiques ont été déterminés en utilisant le système « ordre n unique ». L'ordre réactionnel obtenu est de 0,75. En intégrant l'équation de la loi de vitesse générale (Équation IV – 2) avec un n égal à 0,75, l'équation suivante est obtenue pour un modèle cinétique d'ordre apparent 0,75 :

$$C_t = \left(C_0^{\frac{1}{4}} - \frac{k.t}{4} \right)^4 \quad \text{Équation V - 15}$$

avec k s'exprimant en $\text{mg}^{1/4} \cdot 100\text{mL}^{-1/4} \cdot \text{min}^{-1}$.

Les constantes réactionnelles obtenues sont listées dans le tableau V - 6 :

Tableau V - 6 : Constantes de vitesse de dégradation de l'acide ascorbique d'ordre apparent 0,75 en fonction de la température pour chaque concentration initiale étudiée à $p(O_2) = 3.10^4$ Pa

Concentration initiale (mg/L)	Température (°C)	$k * 10^{-2}$ ($mg^{1/4} \cdot 100mL^{-1/4} \cdot min^{-1}$)	R^2
150	95	$3,96 \pm 0,14$	0,9885
	105	$3,53 \pm 0,12$	0,9894
	115	$3,13 \pm 0,11$	0,9885
	125	$2,64 \pm 0,07$	0,9934
450	95	$2,22 \pm 0,10$	0,9932
	105	$1,88 \pm 0,06$	0,9972
	115	$1,79 \pm 0,02$	0,9966
	125	$1,55 \pm 0,02$	0,9920
900	95	$1,22 \pm 0,01$	0,9957
	105	$1,22 \pm 0,04$	0,9798
	115	$1,06 \pm 0,03$	0,9850
	125	$1,31 \pm 0,05$	0,9682

Les résidus entre les valeurs expérimentales et les valeurs obtenues par le modèle d'ordre 0,75 ont été analysés afin de déterminer si le modèle ajuste bien les données (figure V – 17).

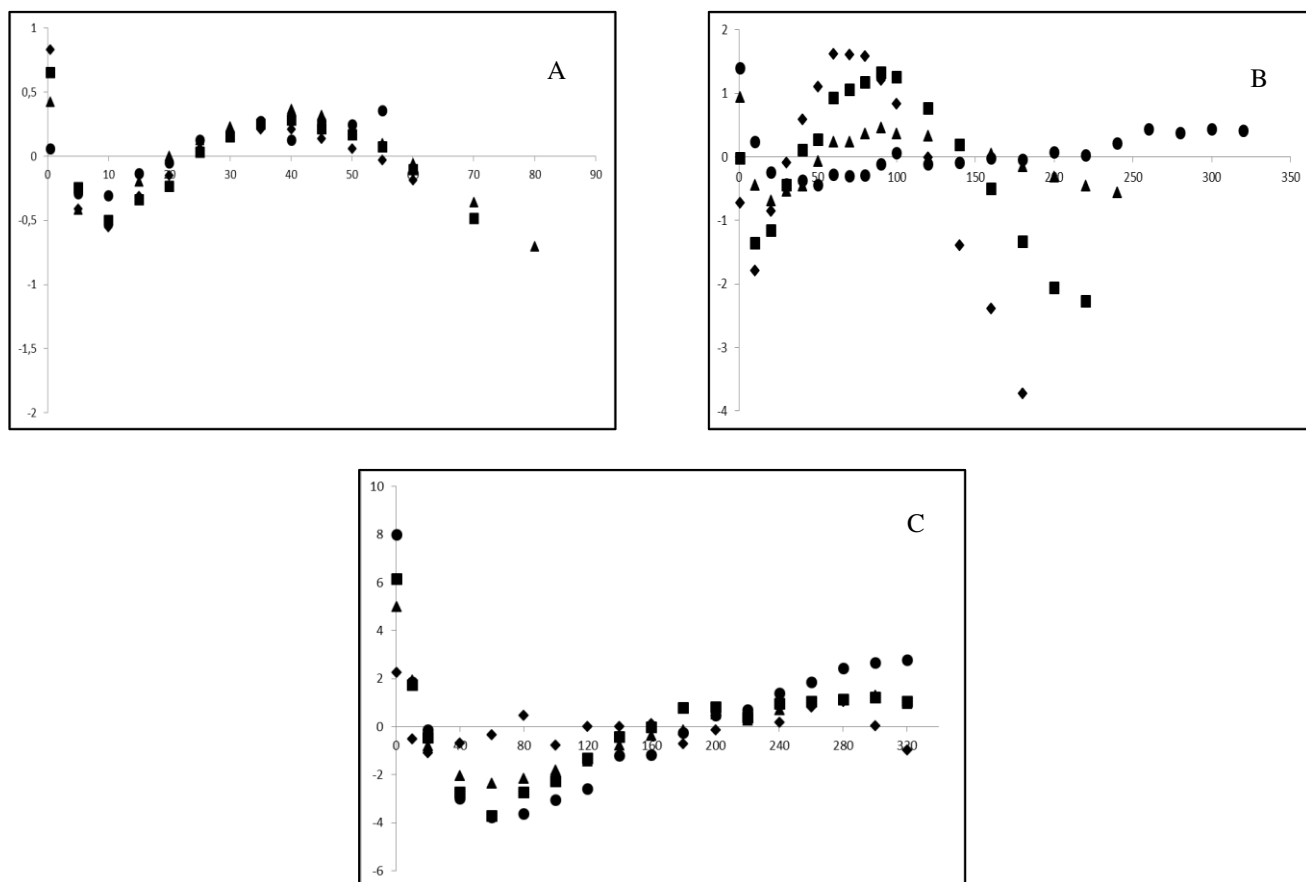


Figure V - 17 : Variation des résidus au cours du temps pour (A) $[AA]_i = 150$ mg/L, (B) $[AA]_i = 450$ mg/L et (C) $[AA]_i = 900$ mg/L en fonction du temps à (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (●) 125 °C à $p(O_2) = 3.10^4$ Pa

Un test de Shapiro-Wilk effectué sur les résidus a montré qu'ils suivent une distribution normale sauf dans un cas, lorsque $[AA]_i = 450 \text{ mg/L}$ à 125 °C (figure V – 17 B). Cependant, quelle que soit la concentration initiale en AA et la température, les résidus suivent une tendance, ce qui infirme l'hypothèse d'un ordre réactionnel apparent de 0,75. Il n'est donc pas possible avec certitude de dire que dans de telles conditions, la dégradation de l'AA suit une cinétique d'ordre 0,75.

2.2 Pression partielle d'oxygène à 63 kPa

Cette étude a été menée en utilisant un compresseur d'air sous 3.10^5 Pa de pression (3 bars), à 3 concentrations initiales en acide ascorbique différentes (150, 450 et 900 mg/L) à quatre températures (95, 105, 115 et 125 °C) (figure V – 18).

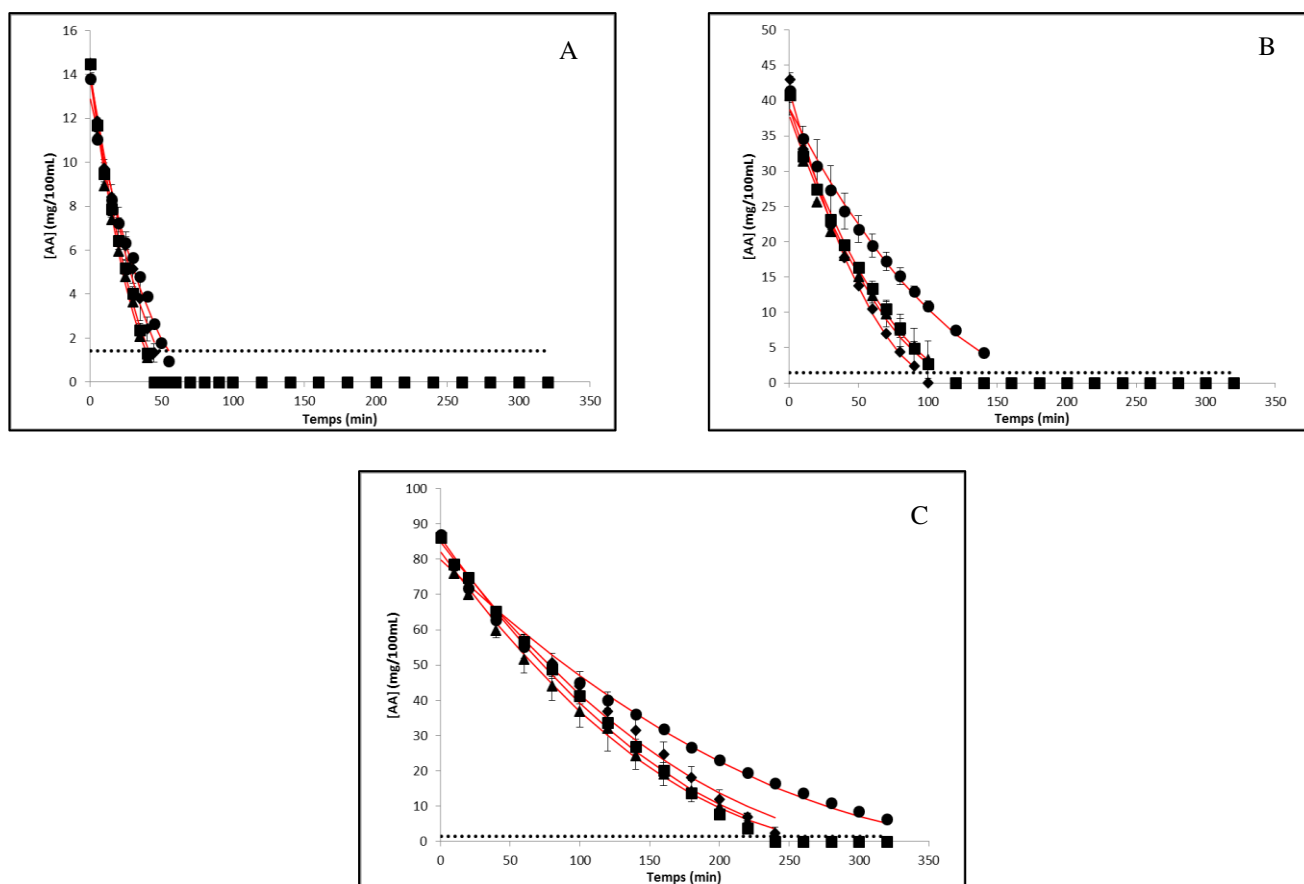


Figure V - 18 : Évolution de la concentration d'acide ascorbique avec une concentration initiale de (A) 150 mg/L, (B) 450 mg/L et (C) 900 mg/L en fonction du temps à (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (●) 125 °C avec une pression partielle d'oxygène dans l'espace de tête de $6,3.10^4 \text{ Pa}$; la ligne en pointillés noirs représente la limite de quantification de l'acide ascorbique ; les traits rouges représentent le modèle ajusté aux données

L'acide ascorbique a totalement disparu au bout de 50-60 minutes pour une concentration initiale de 150 mg/L, de 100-160 minutes pour une concentration initiale de 450 mg/L, et de 250 minutes voire plus de 320 minutes à 125 °C pour une concentration initiale de 900 mg/L. A nouveau l'allure des courbes laisse supposer que la dégradation de l'acide ascorbique ne suit ni une cinétique d'ordre 0, ni une cinétique d'ordre 1. Comme dans le cas précédent, il semblerait que la variation de température n'a pas d'effet significatif sur la vitesse de dégradation de l'AA, les courbes étant relativement proches les unes des autres.

L'ordre réactionnel ainsi que les constantes de cinétiques ont été déterminés en utilisant le système « ordre n unique », donnant un ordre réactionnel de 0,44. En intégrant l'équation de la loi de vitesse générale (Équation IV – 2) avec un n égal à 0,5, l'équation suivante est obtenue pour un modèle cinétique d'ordre apparent 0,5 :

$$C_t = C_0 - k \cdot t \cdot \sqrt{C_0} + \frac{(k \cdot t)^2}{4} \quad \text{Équation V - 16}$$

avec k s'exprimant en $\text{mg}^{1/2} \cdot 100\text{mL}^{-1/2} \cdot \text{min}^{-1}$.

Les données ont donc été modélisées avec un modèle d'ordre apparent 0,5 (équation V – 16), et le modèle décrit bien les données ($R^2 > 0,98$).

Les constantes de vitesse de dégradation à chaque concentration initiale et à chaque température en utilisant un modèle cinétique d'ordre apparent 0,5 sont rapportées dans le tableau V – 7.

Tableau V - 7 : Constantes de vitesse de dégradation de l'acide ascorbique d'ordre apparent 0,5 en fonction de la température pour chaque concentration initiale étudiée à une $p(\text{O}_2) = 6,3 \cdot 10^4$ Pa

Concentration initiale (mg/L)	Température (°C)	$k * 10^{-2}$ ($\text{mg}^{1/2} \cdot 100\text{mL}^{-1/2} \cdot \text{min}^{-1}$)	R^2
150	95	$10,68 \pm 0,42$	0,9899
	105	$12,55 \pm 0,42$	0,9939
	115	$13,08 \pm 0,57$	0,9898
	125	$8,80 \pm 0,39$	0,9846
450	95	$11,00 \pm 0,33$	0,9949
	105	$8,88 \pm 0,29$	0,9926
	115	$9,00 \pm 0,44$	0,9839
	125	$6,02 \pm 0,19$	0,9913
900	95	$5,52 \pm 0,15$	0,9940
	105	$6,04 \pm 0,13$	0,9963
	115	$5,99 \pm 0,13$	0,9960
	125	$4,18 \pm 0,12$	0,9904

De façon surprenante, les constantes de vitesse les plus faibles sont toujours obtenues à 125 °C.

Les résidus entre les valeurs expérimentales et les valeurs obtenues par le modèle d'ordre 0,5 ont été analysés afin de déterminer si le modèle ajuste bien les données (figure V – 19).

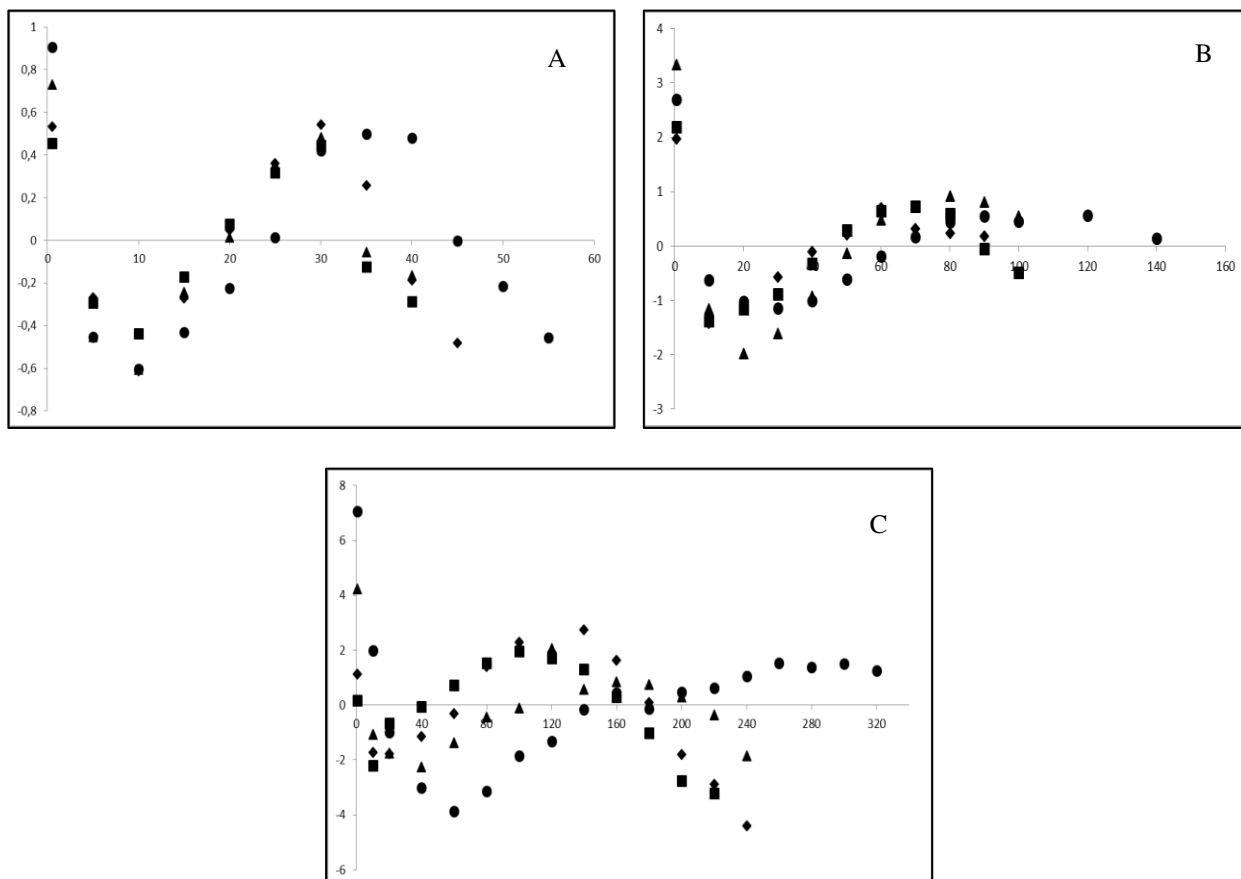


Figure V - 19 : Variation des résidus au cours du temps pour (A) $[AA]_i = 150$ mg/L, (B) $[AA]_i = 450$ mg/L et (C) $[AA]_i = 900$ mg/L en fonction du temps à (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (●) 125 °C à $p(O_2) = 6,3 \cdot 10^4$ Pa

Un test de Shapiro-Wilk effectué sur les résidus a montré qu'ils suivent une distribution normale. Cependant, quelle que soit la concentration initiale en AA et la température, les résidus semblent suivre une tendance, ce qui infirme l'hypothèse d'un ordre réactionnel apparent de 0,5. Il n'est donc pas possible avec certitude de dire que dans de telles conditions, la dégradation de l'AA suit une cinétique d'ordre 0,5.

2.3 Pression partielle d'oxygène à 100 kPa

Cette étude a été menée en utilisant un compresseur d'air sous $5 \cdot 10^5$ Pa de pression (5 bars), à une concentration initiale en acide ascorbique de 900 mg/L à quatre températures (95, 105, 115 et 125 °C). Le choix de n'étudier qu'une seule concentration initiale en acide ascorbique dans ce cas est volontaire, car, du fait de la teneur importante en oxygène dans l'espace de tête et des résultats obtenus pour une pression partielle en oxygène de $6,3 \cdot 10^4$ Pa, une dégradation très rapide de l'acide ascorbique est attendue, ce qui donnerait des résultats peu exploitables pour des concentrations initiales en acide ascorbique plus faibles.

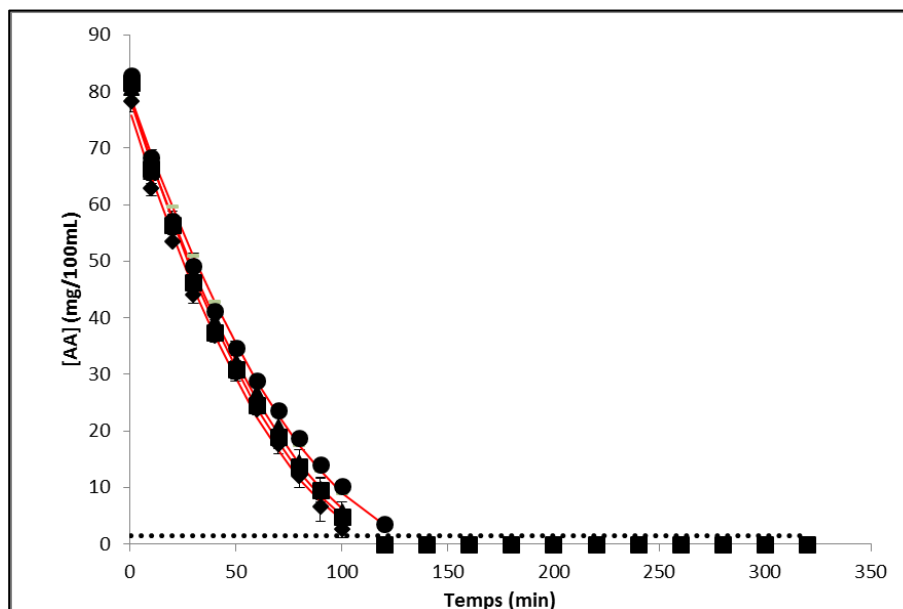


Figure V - 20 : Évolution de la concentration d'acide ascorbique avec une concentration initiale de 900 mg/L en fonction du temps à (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (●) 125 °C avec une pression partielle d'oxygène dans l'espace de tête de 1.10^5 Pa ; la ligne en pointillés noirs représente la limite de quantification de l'acide ascorbique ; les traits rouges représentent le modèle ajusté aux données

L'acide ascorbique a totalement disparu au bout de 120-140 minutes pour une concentration initiale de 900 mg/L, quelle que soit la température. L'allure des courbes laisse supposer que la dégradation de l'acide ascorbique suit une cinétique d'ordre apparent 0,5 en dans ces conditions.

L'ordre réactionnel ainsi que les constantes cinétiques ont été déterminés en utilisant le système « ordre n unique », qui donne un ordre réactionnel apparent de 0,55. Les données ont donc été modélisées avec un modèle d'ordre apparent 0,5 (équation V – 16), et le modèle décrit bien les données ($R^2 > 0,99$).

Les constantes de vitesse de dégradation à chaque température en utilisant un modèle cinétique d'ordre apparent 0,5 sont rapportées dans le tableau V – 8.

Tableau V - 8 : Constantes de vitesse de dégradation de l'acide ascorbique d'ordre apparent 0,5 en fonction de la température pour une concentration initiale de 900 mg/L à $p(O_2) = 1.10^5$ Pa

Concentration initiale (mg/100mL)	Température (°C)	$k * 10^{-2}$ (mg ^{1/2} .100mL ^{-1/2} .min ⁻¹)	R^2
90	95	13,33 ± 0,33	0,9962
	105	13,33 ± 0,28	0,9970
	115	12,72 ± 0,26	0,9972
	125	11,79 ± 0,32	0,9948

Ici encore, la dégradation est plus lente à 125 °C qu'aux températures plus faibles.

Les résidus entre les valeurs expérimentales et les valeurs obtenues par le modèle d'ordre 0,5 ont été analysés afin de déterminer si le modèle ajuste bien les données (figure V – 21).

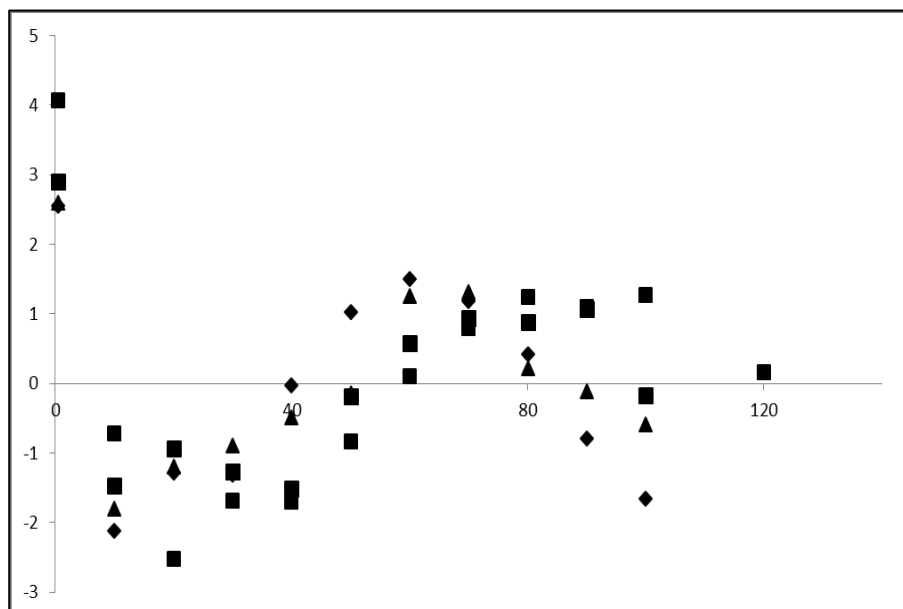


Figure V - 21 : Variation des résidus au cours du temps pour $[AA]_i = 900 \text{ mg/L}$ en fonction du temps à (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (●) 125 °C à $p(\text{O}_2) = 1.10^5 \text{ Pa}$

Un test de Shapiro-Wilk effectué sur les résidus a montré qu'ils suivent une distribution normale. Cependant, quelle que soit la concentration initiale en AA et la température, les résidus semblent suivre une tendance, ce qui infirme l'hypothèse d'un ordre réactionnel apparent de 0,5. Il n'est donc pas possible avec certitude de dire que dans de telles conditions, la dégradation de l'AA suit une cinétique d'ordre 0,5.

2.4 Dégradation de l'acide ascorbique en conditions aérobies

Quelle que soit la valeur de la pression partielle en oxygène dans l'espace de tête, un fait frappant est qu'il n'y a pas de corrélation entre la variation de k et la température. La dégradation est souvent visiblement plus lente à 125 °C, les trois autres températures étant quasi confondues. De ce fait, la réaction de dégradation de l'acide ascorbique en conditions d'aérobiose ne suit pas la loi d'Arrhenius, loi classiquement suivie par la majorité des réactions chimiques. Cela signifie que dans de telles conditions, la température n'est pas le facteur limitant dans la dégradation de l'acide ascorbique. Il pourrait donc y avoir d'autres paramètres intervenants dans la dégradation.

L'énergie d'activation est donc différente pour chaque température. Cette énergie d'activation étant directement reliée au type de mécanisme mis en jeu, il est donc possible que ceux-ci soient différents d'une température à l'autre. En effet, pour déterminer les constantes de cinétique de dégradation, nous avons considéré la dégradation de l'acide ascorbique dans sa globalité, c'est-à-dire qu'une seule réaction est mise en jeu. De ce fait, les valeurs k obtenues nous renseignent uniquement sur la dégradation globale de l'acide ascorbique sans prendre en considération le chemin réactionnel suivi par cette dégradation.

Par conséquent, les constantes de cinétique obtenues sont des constantes apparentes tenant compte de la convolution de plusieurs mécanismes réactionnels mis en jeu, ayant chacune une énergie d'activation propre.

De plus, l'ordre réactionnel varie en fonction de la teneur en oxygène dans l'espace de tête. En effet, la valeur de l'ordre réactionnel apparent n est de 0,75 pour une $p(O_2) = 30$ kPa et de 0,5 pour une $p(O_2) \geq 63$ kPa. Cela signifie que plus l'oxygène devient limitant, plus l'ordre réactionnel tend vers 1, ce qui voudrait dire que la dégradation de l'acide ascorbique tend à survenir selon un seul mécanisme, un mécanisme de type hydrolytique obtenu en l'absence d'oxygène. Ceci est d'ailleurs confirmé par le fait que même en conditions anaérobies strictes, l'ordre réactionnel est de 1. L'oxygène apparaît donc comme un co-facteur de la dégradation de l'acide ascorbique avec un impact plus important que la température dans les conditions étudiées.

Les courbes représentant l'évolution de la concentration en AA en fonction du temps à une température donnée et en fonction de la pression partielle d'oxygène ont été tracées pour une concentration initiale en AA de 900 mg/L (figure V – 22).

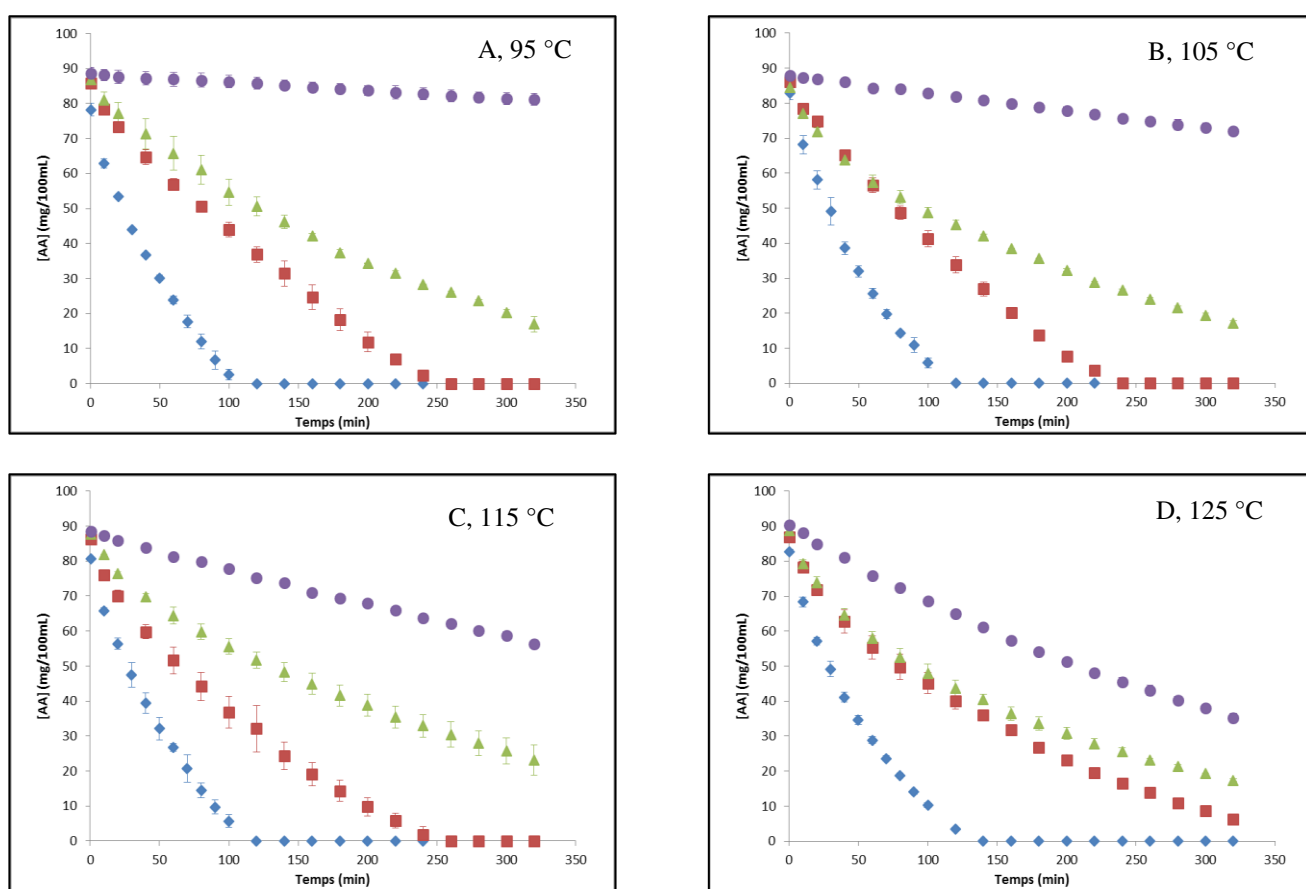


Figure V - 22 : Évolution de la concentration d'acide ascorbique avec une concentration initiale de 900 mg/L en fonction du temps à (A) 95 °C, (B) 105 °C, (C) 115 °C et (D) 125 °C avec une pression partielle d'oxygène de (♦) 100 kPa, (■) 63 kPa, (▲) 30 kPa (●) 0 Pa (anaérobies strictes)

Quelle que soit la température, plus la $p(O_2)$ augmente, plus la dégradation est rapide. Cela confirme bien l'importance de la teneur en oxygène, même à des températures supérieures à 100 °C.

Les valeurs des temps de demi-vie ($t_{1/2}$) sont rapportées dans le tableau V – 9.

Tableau V - 9 : Temps de demi-vie de l'acide ascorbique en fonction de la pression partielle d'oxygène et de la température

Concentration (mg/L)	Température (°C)	$t_{1/2}$ (min)		
		$p(O_2) = 30$ kPa	$p(O_2) = 63$ kPa	$p(O_2) = 100$ kPa
150	95	29	20	—
	105	34	17	—
	115	40	16	—
	125	48	22	—
450	95	82	32	—
	105	92	38	—
	115	90	33	—
	125	105	55	—
900	95	152	105	35
	105	140	92	36
	115	163	94	37
	125	111	114	39

La pression partielle en oxygène influe fortement sur la dégradation de l'AA. En effet, à une température donnée, plus la $p(O_2)$ est élevée, plus le temps de demi-vie est faible. Ce constat est en adéquation avec ce qui a été rapporté par Wilson et *al.* (1995) et Miyawaki et *al.* (2016). Wilson et *al.* (1995) ont rapporté que la dégradation de l'AA suivait une cinétique d'ordre 1. Miyawaki et *al.* (2016) ont rapporté que la dégradation de l'AA suivait une cinétique d'ordre 0 dans un réacteur ouvert avec bullage d'oxygène *in situ*, et que la dégradation de l'AA suivait une cinétique d'ordre 1 dans un réacteur fermé. Dans le cas du réacteur fermé, Wilson et *al.* (1995) et Miyawaki et *al.* (2016) ont fait le même constat, à savoir que la dégradation de l'AA suit une cinétique d'ordre 1. Cependant, les valeurs des ordres réactionnels obtenus dans ce cas varient de 0,5 à 0,75 en fonction de la pression partielle d'oxygène. Cela peut s'expliquer par deux différences majeures :

- Dans les réacteurs fermés de Wilson et *al.* (1995) et Miyawaki et *al.* (2016), il n'y a pas de renouvellement d'oxygène, contrairement aux travaux effectués dans ce cas, et donc la concentration en O_2 décroît du fait de sa consommation au cours du processus d'oxydation de l'AA.

- Wilson *et al.* (1995) ont réalisé leurs études entre 18 et 25 °C, Miyawaki *et al.* (2016) entre 0 et 70 °C, c'est-à-dire des gammes de températures différentes de celles étudiées dans ce projet. Dans une gamme de températures allant de 95 à 125 °C, les concentrations d'oxygène à saturation sont plus faibles et la dégradation de l'AA par voie hydrolytique devient de plus en plus prépondérante.

Ces aspects (renouvellement d'oxygène et gamme de températures) pourraient expliquer pourquoi les ordres réactionnels ne sont ni 0 ni 1, et pourquoi cet ordre varie avec la pression partielle d'oxygène. Une diminution de la pression partielle en oxygène contribue à augmenter la part de la voie hydrolytique dans le mécanisme de dégradation de l'AA.

Concernant les valeurs de $t_{1/2}$:

- Pour une concentration initiale en AA de 900 mg/L, elles sont 1,5 fois plus élevées à $p(O_2) = 63$ kPa qu'à $p(O_2) = 30$ kPa, et 2,7 fois plus élevées à $p(O_2) = 100$ kPa qu'à $p(O_2) = 63$ kPa
- Pour une concentration initiale en AA de 450 mg/L, elles sont de 2 à 2,7 fois plus élevées à $p(O_2) = 63$ kPa qu'à $p(O_2) = 30$ kPa
- Pour une concentration initiale en AA de 150 mg/L, elles sont de 1,5 à 2,5 fois plus élevées à $p(O_2) = 63$ kPa qu'à $p(O_2) = 30$ kPa

A une pression partielle d'oxygène et une concentration données, la variation de température ne produit pas de grandes différences au niveau des valeurs de $t_{1/2}$. Van Bree *et al.* (2012) ont étudié l'influence de la pression partielle d'oxygène initiale sur la dégradation de l'AA dans un jus de fruit stocké à 22 °C. Ils ont rapporté que plus la pression partielle d'oxygène est élevée, plus la dégradation de l'AA est rapide. Le même constat est ici observé. Van Bree *et al.* (2012) ont déterminé une constante de vitesse de 0,390 jour⁻¹ pour une concentration en oxygène dans l'espace de tête de 20,9 %, et 0,261 jour⁻¹ pour une concentration d'oxygène dans l'espace de tête de 10,02 %, c'est-à-dire 1,5 fois plus lorsque la concentration d'oxygène est de 20,9 % que 10,02 %. Les mêmes ordres de grandeurs ont été déterminés ici, avec une similitude plus marquée lorsque la concentration initiale en AA était de 900 mg/L.

2.5 Implication de l'oxygène

Il est clairement établi que l'oxygène reste un facteur prépondérant dans le processus de dégradation de l'AA, même à haute température. La dégradation de l'AA observée dans des conditions aérobie est la résultante de deux mécanismes, un de type hydrolytique et de type oxydoréductif, ce dernier étant dépendant de la teneur en oxygène.

Trois points importants ont lieu d'être mis en avant :

- 1) La dégradation de l'AA est plus rapide lorsque de l'oxygène est présent dans le système réactionnel : même à hautes températures, le mécanisme de type oxydoréductif est présent et même prépondérant.

Bien que la concentration en oxygène soit d'autant plus faible que la température augmente (Winkler, 1888) (figure V – 23), le modèle de Tromans (1998) pour la solubilité en oxygène indique que, même à haute température, il peut y avoir de l'oxygène dissous dans de l'eau, et que cette concentration dépend la fois de la température et de la pression partielle d'oxygène (Tromans, 1998) (figure V – 23).

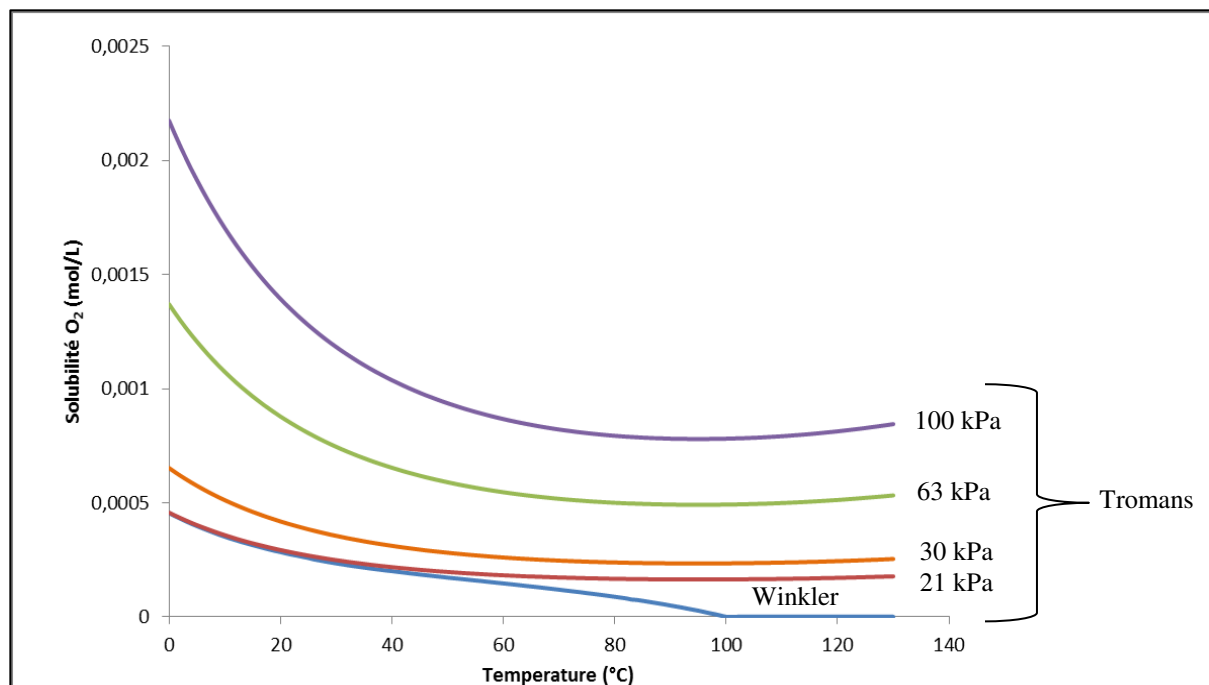


Figure V - 23 : Solubilité de l'oxygène en fonction de la température selon les modèles de Winkler (1888) et Tromans (1998)

Selon Winkler, il n'y a plus d'oxygène dissous dans l'eau à partir de 100 °C, à pression atmosphérique. Cependant, dans notre système expérimental, la pression imposée est supérieure à la pression atmosphérique, en conséquence, le modèle de Tromans (1998) apparaît ici être plus robuste que celui de Winkler (1888). Le modèle de Tromans (1998) est défini par l'équation suivante :

$$[O_2] = P_{O_2} * \exp\left(\frac{0.064*T^2 + 203.357*T*\ln\left(\frac{T}{298}\right) - (299.378 + 0.092*T)*(T - 298) - 20.591*10^3}{R*T}\right) \quad \text{Équation V - 17}$$

où $[O_2]$ est la concentration en oxygène dissous en mol/L, P_{O_2} est la pression partielle en atm, R est la constante des gaz parfaits ($8,314 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$) et T est la température en K.

Les concentrations en oxygène dissous dans l'eau en fonction de la température et de la pression partielle en oxygène sont calculées dans le tableau V – 10 selon le modèle de Tromans (1998).

Tableau V - 10 : Concentrations saturantes en oxygène en mg/L en fonction de la température et de la pression partielle en oxygène, d'après le modèle de Tromans (1998)

Température (°C)	p(O ₂) = 21 kPa	p(O ₂) = 30 kPa	p(O ₂) = 63 kPa	p(O ₂) = 100 kPa
95	5,17	7,38	15,51	25,84
105	5,21	7,44	15,62	26,03
115	5,31	7,59	15,94	26,57
125	5,49	7,84	16,47	27,45

Il y a une quantité non négligeable d'oxygène présent dans le milieu à l'équilibre (c'est-à-dire avant injection de l'acide ascorbique dans le milieu), ce qui pourrait expliquer la dégradation très rapide de l'AA dans les premières minutes, ce qui est notamment mis en avant par la valeur élevée des résidus observée à $t = 0,5$ min.

- 2) Quelle que soit la température à une pression partielle d'oxygène donnée, les quatre courbes sont similaires (avec un léger décrochage observé à 125 °C, visible notamment à $p(O_2) = 63$ kPa, figure V – 18). Cela signifie que l'effet de la température est limité en conditions aérobies, alors qu'en conditions anaérobies, une augmentation classique de la vitesse de dégradation avec la température est observée. Plus la température augmente, plus la part de la dégradation hydrolytique augmenterait, et donc moins l'AA se dégraderait par voie oxydoréductive (effet marqué à 125 °C).
- 3) En conditions aérobies, la dégradation de l'AA ne suis ni une cinétique d'ordre 1, ni d'ordre 0. Dans ces conditions, il n'y a pas un mécanisme de dégradation unique qui est mis en jeu, mais bien une convolution de plusieurs mécanismes. De plus, le fait que les 3 produits de dégradations (furfural, acide furoïque et 3-OH-2-pyrone) soient observés est très significatif du fait que même en conditions aérobie, l'AA se dégrade aussi par voie hydrolytique.

Il n'existe pas de dispositif permettant de suivre en continu les concentrations en oxygène aux températures utilisées. Cette concentration a donc été calculée de façon théorique, en supposant que l'oxygène consommé dans le milieu ne se renouvelle pas compte tenu des températures élevées qui entravent sa dissolution, et que donc la réaction de dégradation de l'AA par voie oxydoréductive se fait à l'interface liquide-gaz. Le modèle est donc posé dans les deux équations suivantes :

$$\frac{1}{[AA]^n} * \frac{d[AA]}{dt} = k_t \quad \text{Équation V - 18}$$

avec :

$$k_t = k \cdot [O_2]^\beta \quad \text{Équation V - 19}$$

où k_t serait donc une constante de vitesse apparente (k_{app}) qui varie au cours du temps, et k serait un k_{ox} (constante de vitesse de la réaction de dégradation par voie oxydoréductive) qui lui serait constant au cours du temps, et β l'ordre partiel par rapport à O_2 .

Pour simplifier le problème, la valeur de β est initialement fixée à 1 (Pénicaud et al., 2011), ainsi que l'ordre apparent de la réaction pour l'AA, en tenant compte des deux mécanismes survenant concomitamment. La dégradation est donc résumée par l'équation suivante :

$$k_{app} = k_{ox} \cdot [O_2]^\beta + k_{anoxy} \quad \text{Équation V - 20}$$

avec k_{anoxy} représentant la constante de vitesse de la dégradation par voie hydrolytique. Les valeurs des k_{anoxy} utilisés sont les valeurs déterminées en conditions anaérobies strictes. La réaction de dégradation de l'AA étant déterminé comme suivant une cinétique d'ordre 1, les valeurs de k_{anoxy} utilisées sont les moyennes des valeurs obtenues pour les 3 concentrations initiales étudiées (150, 450 et 900 mg/L) à chaque température (95, 105, 115 et 125 °C). Ces valeurs sont rapportées dans le tableau V – 11.

Tableau V - 11 : Valeurs moyennes des constantes de vitesse de la réaction de dégradation de l'AA par voie hydrolytique en fonction de la température

Température (°C)	k_{anoxy} (10^{-4} min^{-1})
95	5,95
105	10,88
115	19,27
125	33,17

La valeur du k_{app} à chaque temps a été calculée en prenant la dérivée de la courbe de dégradation de l'AA, approximée par la différence entre deux points consécutifs. Pour tracer le k_{app} , la relation suivante a donc été utilisée :

$$\frac{2}{[AA]_t + [AA]_{t+1}} * \frac{\Delta_t^{t+1}[AA]}{\Delta t} = k_{app} \quad \text{Équation V - 21}$$

La valeur du k_{ox} , constante de vitesse de la dégradation de l'AA par voie oxydoréductive et supposée constante au cours du temps, a été déterminé entre l'instant $t = 0$ (instant initiale au moment de l'injection de l'AA dans le milieu) et l'instant $t = 0,5$ min, en supposant que la concentration en O_2 à $t = 0$ est connue et déterminée par l'équation du modèle de Tromans (1998). Le k_{ox} est donc déterminé selon l'équation suivante :

$$k_{ox} = \frac{k_{app(t=0)} - k_{anoxy}}{[O_2]_0} \quad \text{Équation IV - 22}$$

Les valeurs de k_{ox} (tableau V – 12) et les variations de k_{app} en fonction du temps (figure V – 24) ont été réalisées à $p(O_2) = 63$ kPa et $p(O_2) = 100$ kPa.

Tableau V - 12 : Valeurs des k_{ox} en fonction de la température et de la pression partielle d'oxygène

Concentration (mg/L)	Température (°C)	k_{ox} (min ⁻¹)	
		$p(O_2) = 63$ kPa	$p(O_2) = 100$ kPa
150	95	168 ± 53	—
	105	144 ± 29	—
	115	140 ± 25	—
	125	332 ± 76	—
450	95	193 ± 44	—
	105	408 ± 88	—
	115	388 ± 292	—
	125	330 ± 158	—
900	95	195 ± 46	348 ± 59
	105	182 ± 85	246 ± 61
	115	173 ± 46	269 ± 3
	125	143 ± 53	199 ± 16

Ces valeurs de k_{ox} , bien qu'étant assez imprécises (écarts-types élevés), nous révèlent que la dégradation de l'AA par voie oxydoréductive est extrêmement rapide même à hautes températures. Cela explique également pourquoi l'AA est rapidement dégradé les premières secondes après injection dans le milieu.

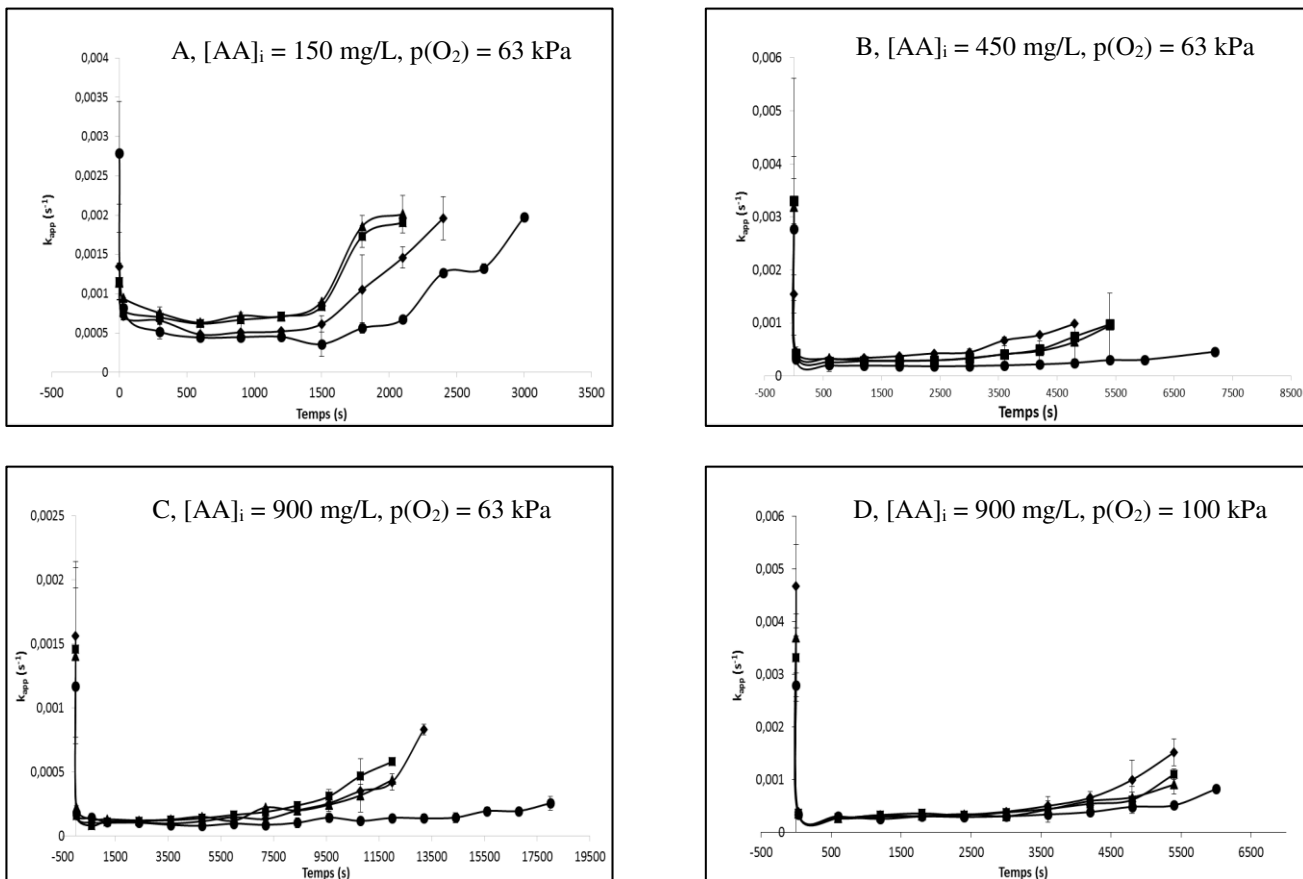


Figure V - 24 : Variation du k_{app} en fonction du temps pour (A) $[AA]_i = 150 \text{ mg/L}$, $p(O_2) = 63 \text{ kPa}$, (B) $[AA]_i = 450 \text{ mg/L}$, $p(O_2) = 63 \text{ kPa}$, (C) $[AA]_i = 900 \text{ mg/L}$, $p(O_2) = 63 \text{ kPa}$ et (D) $[AA]_i = 900 \text{ mg/L}$, $p(O_2) = 100 \text{ kPa}$ à (♦) $95 \text{ }^\circ\text{C}$, (■) $105 \text{ }^\circ\text{C}$, (▲) $115 \text{ }^\circ\text{C}$ et (●) $125 \text{ }^\circ\text{C}$

Une diminution brutale du k_{app} est observée les premières secondes. Selon l'équation V – 20, cela ne peut être dû qu'à une diminution brutale de la concentration en oxygène dans le milieu. De plus, la diminution de la valeur de k_{app} est plus brutale lorsque $p(O_2) = 100 \text{ kPa}$ que lorsque $p(O_2) = 63 \text{ kPa}$ (figure V – 24 C et V – 24 D), respectivement de $\sim 4,0 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ à $3 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ de $\sim 1,5 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ à $1,5 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$, soit des diminutions respectives d'environ $3,7 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ et $1,4 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$. De plus, il n'y a pas absence totale d'oxygène dans le milieu car le k_{app} est toujours supérieur à k_{anoxy} . Cette concentration en O_2 pourrait varier (augmenter à nouveau) au cours du temps, notamment lorsque le taux d'AA dans le milieu devient faible.

La première valeur de k_{app} traduit déjà une limitation en oxygène au départ : k_{app} diminue avec la consommation d' O_2 et augmente avec le réapprovisionnement d' O_2 . Cela pourrait également expliquer la haute valeur du résidu à $t = 0,5 \text{ min}$ (figures V – 19 et V – 21). Il y aurait donc une première étape où l'oxygène diminue fortement avant de réaugmenter. Ceci est d'ailleurs confirmé par des expériences menées au CTCPA dans le cadre du projet OPTIFEL (figure V – 25) à des températures plus faibles, compatibles avec l'utilisation de la sonde PreSens.

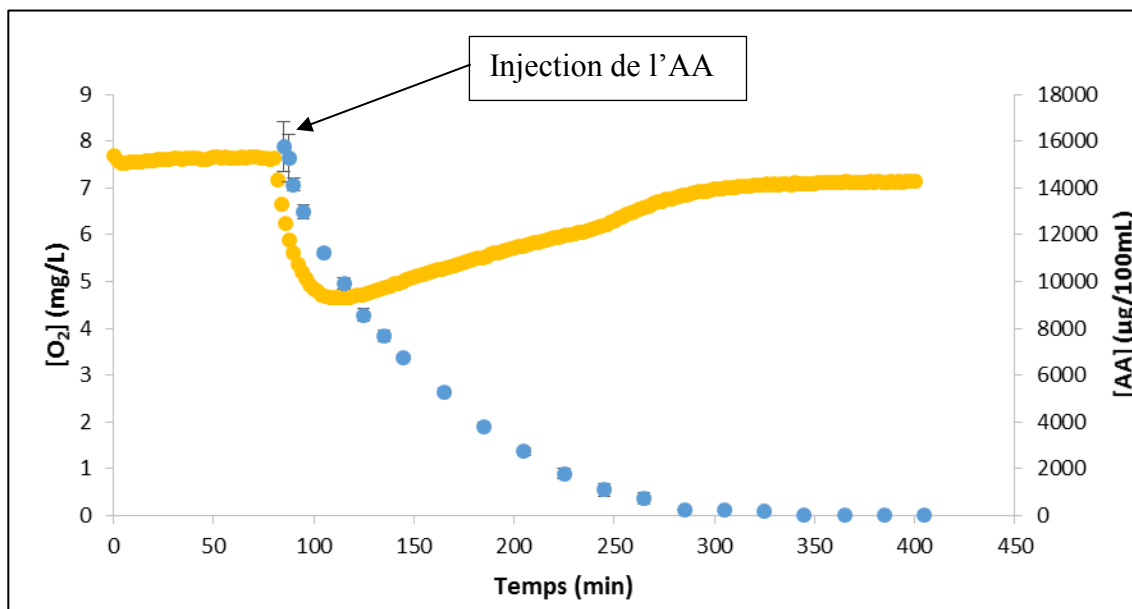


Figure V - 25 : Variation de la concentration en O₂ et en AA en fonction du temps à 65 °C dans un tampon McIlvaine à pH = 3,5, une pression d'air de 20 kPa et une concentration initiale en AA de 150 mg/L, avec (●) la concentration en AA et (●) la concentration en O₂

Dans ces conditions, une première étape de chute de la concentration en O₂ est clairement observée, puis une deuxième étape d'augmentation de la concentration en O₂ jusqu'à un retour à l'équilibre. Lors de l'introduction de l'AA la concentration en oxygène ne reste pas à la valeur d'équilibre avec l'espace de tête : malgré la forte agitation du milieu dans le thermorésistomètre, la diffusion de l'O₂ est déjà plus lente que sa consommation à 65 °C, et il est fort probable qu'elle soit comparativement encore plus lente lorsque la température est élevée.

Des concentrations en O₂ théoriques ont été calculées à partir de l'équation V – 20 (figure V – 26), et selon l'équation suivante :

$$[O_2]_t = \frac{k_{app(t)} - k_{anoxy}}{k_{ox}} \quad \text{Équation V - 23}$$

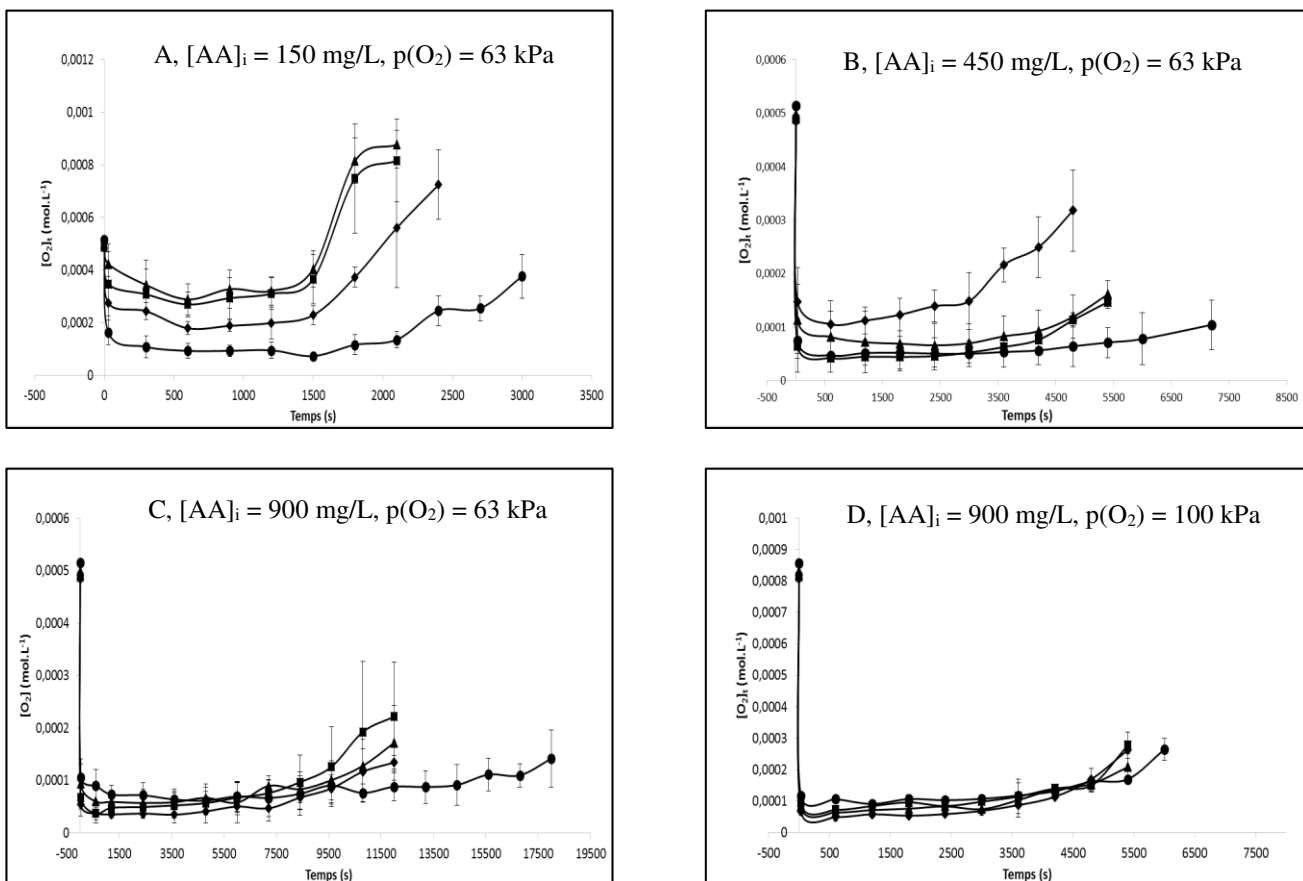


Figure V - 26 : Variation de la concentration en O₂ théorique en fonction du temps pour (A) [AA]_i = 150 mg/L, p(O₂) = 63 kPa, (B) [AA]_i = 450 mg/L, p(O₂) = 63 kPa, (C) [AA]_i = 900 mg/L, p(O₂) = 63 kPa et (D) [AA]_i = 900 mg/L, p(O₂) = 100 kPa à (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (●) 125 °C

La concentration initiale théorique en O₂ a été calculée selon le modèle de Tromans (1998). Quelle que soit la concentration initiale en AA, le modèle implique une chute brutale de la concentration en oxygène dès les premières secondes (effet moins marqué lorsque [AA]_i = 150 mg/L, figure V – 26 A). L'oxygène présent à l'équilibre avant injection de l'AA dans le milieu serait rapidement consommé lorsque l'AA est injecté, et la diffusion de l'oxygène de l'espace de tête jusque dans le milieu expérimental apparaît lente, même à une p(O₂) de 100 kPa (figure V – 26 D). La dégradation de l'AA par voie oxydoréductrice surviendrait principalement à l'interface liquide-gaz.

2.6 Etude des composés de dégradation

La formation/disparition des produits principaux de dégradation, à savoir le 3-hydroxy-2-pyrone, l'acide furoïque et le furfural a également été étudiée. Le 3-hydroxy-2-pyrone et l'acide furoïque proviennent de la voie oxydoréductrice et le furfural provient de la voie hydrolytique (Yuan and Chen, 1998).

2.6.1 Le 3-hydroxy-2-pyrone

Les figures V – 27, V – 28 et V – 29 représentent la variation du 3-OH-2P en fonction du temps pour les trois concentrations initiales en AA.

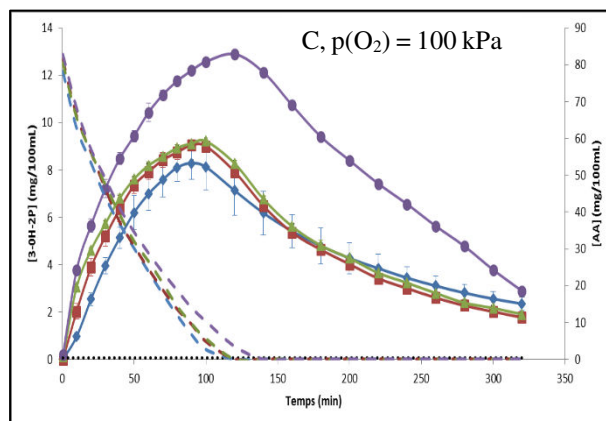
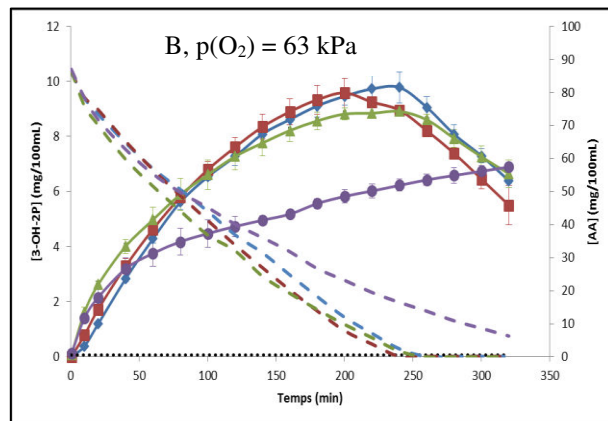
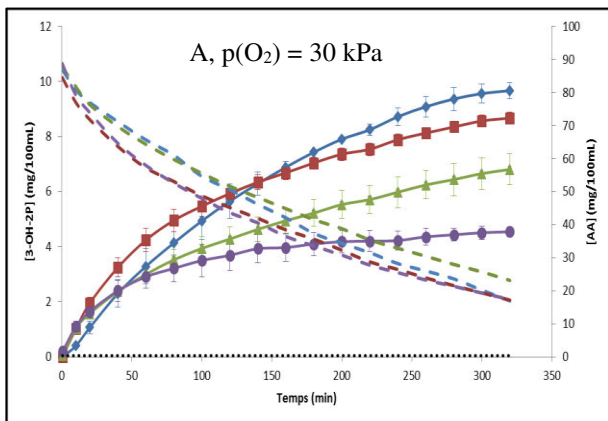


Figure V - 27 : Courbes représentant la formation/disparition du 3-hydroxy-2-pyrone en fonction du temps pour $[AA]_i = 900 \text{ mg/L}$ à (\blacklozenge) $95 \text{ }^\circ\text{C}$, (\blacksquare) $105 \text{ }^\circ\text{C}$, (\blacktriangle) $115 \text{ }^\circ\text{C}$ et (\bullet) $125 \text{ }^\circ\text{C}$, à une pression partielle en oxygène de (A) 30 kPa , (B) 63 kPa et (C) 100 kPa avec en lignes discontinues les courbes de perte de l'AA correspondantes ; la ligne en pointillés noirs représente la limite de quantification du 3-hydroxy-2-pyrone

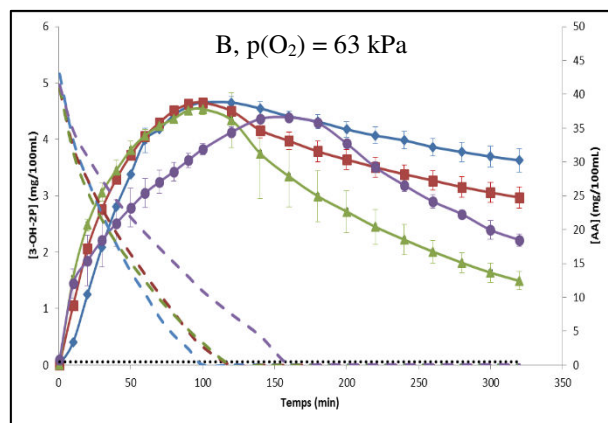
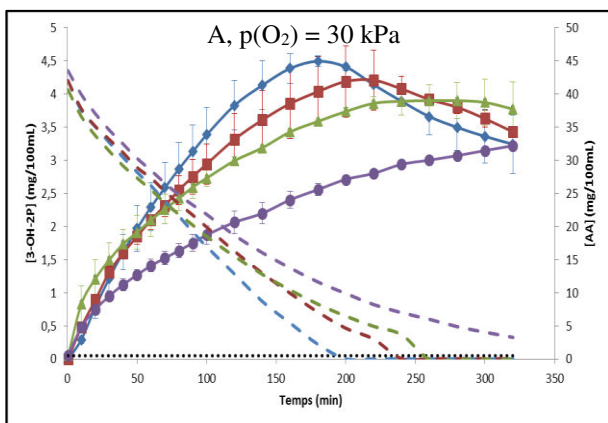


Figure V - 28 : Courbes représentant la formation/disparition du 3-hydroxy-2-pyrone en fonction du temps pour $[AA]_i = 450 \text{ mg/L}$ à (\blacklozenge) $95 \text{ }^\circ\text{C}$, (\blacksquare) $105 \text{ }^\circ\text{C}$, (\blacktriangle) $115 \text{ }^\circ\text{C}$ et (\bullet) $125 \text{ }^\circ\text{C}$, à une pression partielle en oxygène de (A) 30 kPa et (B) 63 kPa avec en lignes discontinues les courbes de perte de l'AA correspondantes ; la ligne en pointillés noirs représente la limite de quantification du 3-hydroxy-2-pyrone

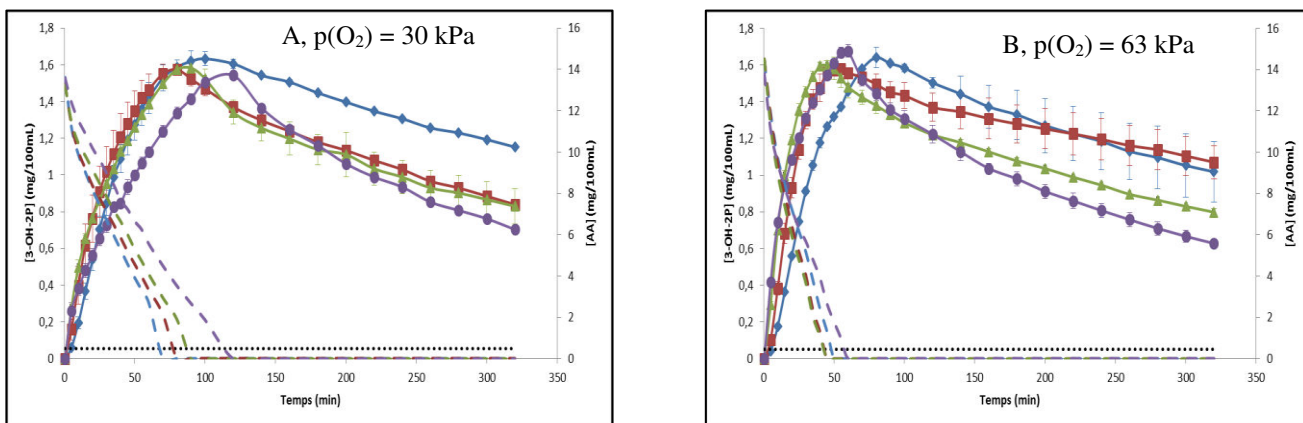


Figure V - 29 : Courbes représentant la formation/disparition du 3-hydroxy-2-pyrone en fonction du temps pour $[AA]_i = 150 \text{ mg/L}$ à (\diamond) $95 \text{ }^\circ\text{C}$, (\blacksquare) $105 \text{ }^\circ\text{C}$, (\blacktriangle) $115 \text{ }^\circ\text{C}$ et (\bullet) $125 \text{ }^\circ\text{C}$, à une pression partielle en oxygène de (A) 30 kPa et (B) 63 kPa avec en lignes discontinues les courbes de perte de l'AA correspondantes ; la ligne en pointillés noirs représente la limite de quantification du 3-hydroxy-2-pyrone

D'après ces courbes, le 3-hydroxy-2-pyrone suit une tendance de formation/disparition identique quelles que soient la concentration initiale en acide ascorbique et la température. Dans une première étape, la concentration en 3-hydroxy-2-pyrone augmente jusqu'à atteindre un maximum. Ce maximum d'apparition survient lorsque l'acide ascorbique initialement présent a totalement disparu. Dans une deuxième étape, après que l'acide ascorbique ait été entièrement détruit, survient une diminution de la concentration en 3-hydroxy-2-pyrone correspondant à la disparition de ce composé.

D'autre part, au regard de la figure V – 27 (A) ($p(O_2) = 30 \text{ kPa}$), plus la température augmente, moins il se forme du 3-OH-2P, ce qui tend à confirmer le fait que plus la température augmente, moins il y a de dégradation de type oxydoréductif relativement à la dégradation hydrolytique. La figure V – 27 (B) ($p(O_2) = 63 \text{ kPa}$) indique que jusqu'à $115 \text{ }^\circ\text{C}$, il n'y a pas de différence au niveau de la formation du 3-OH-2P, mais en revanche, à $125 \text{ }^\circ\text{C}$, une nette diminution est observée. L'effet inverse est observé pour une $p(O_2)$ de 100 kPa . En effet, d'après la figure V – 27 (C), à cette teneur en oxygène, aucune différence n'est observée jusqu'à $115 \text{ }^\circ\text{C}$, mais une forte augmentation de la quantité de 3-OH-2P est observée à $125 \text{ }^\circ\text{C}$. Cela signifierait donc que le ratio entre les deux voies de dégradation de l'acide ascorbique serait dépendant à la fois de la température et également de la pression partielle en O_2 , sans que ces deux facteurs ne soient indépendants.

Pour ce qui est des courbes figure V – 28 (A) et V – 28 (B), les mêmes constats sont observés que pour les figures V – 27 (A) et V – 27 (B). Pour ce qui est des figures V – 29 (A) et V – 29 (B), les différences en fonction de la température sont difficiles à observer, probablement du fait de la faible concentration initiale en acide ascorbique ($[AA]_i = 150 \text{ mg/L}$). Il y a néanmoins une légère différence à $125 \text{ }^\circ\text{C}$ lorsque la pression partielle en O_2 est de 30 kPa (figure V – 29 (A)).

2.6.2 L'acide furoïque

L'acide furoïque provient de la dégradation de l'acide ascorbique par voie oxydoréductive (Yuan and Chen, 1998). Les figures V – 30, V – 31 et V – 32 représentent la variation du 3-OH-2P en fonction du temps pour les trois concentrations initiales en AA étudiées.

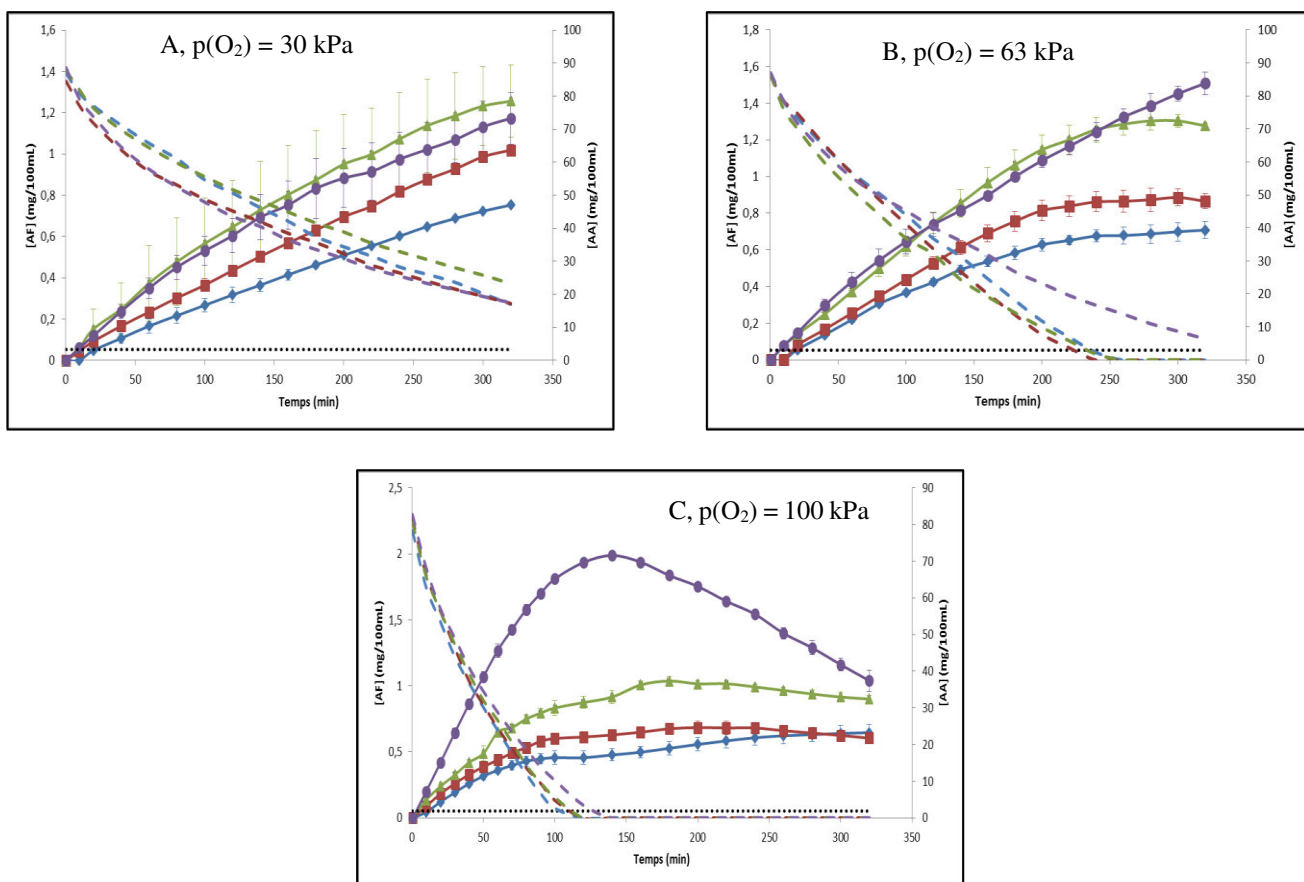


Figure V - 30 : Courbes représentant la formation/disparition de l'acide furoïque en fonction du temps pour $[AA]_i = 900 \text{ mg/L}$ à (\diamond) $95 \text{ }^\circ\text{C}$, (\blacksquare) $105 \text{ }^\circ\text{C}$, (\blacktriangle) $115 \text{ }^\circ\text{C}$ et (\bullet) $125 \text{ }^\circ\text{C}$, à une pression partielle en oxygène de (A) 30 kPa, (B) 63 kPa et (C) 100 kPa avec en lignes discontinues les courbes de perte de l'AA correspondantes ; la ligne en pointillés noirs représente la limite de quantification de l'acide furoïque

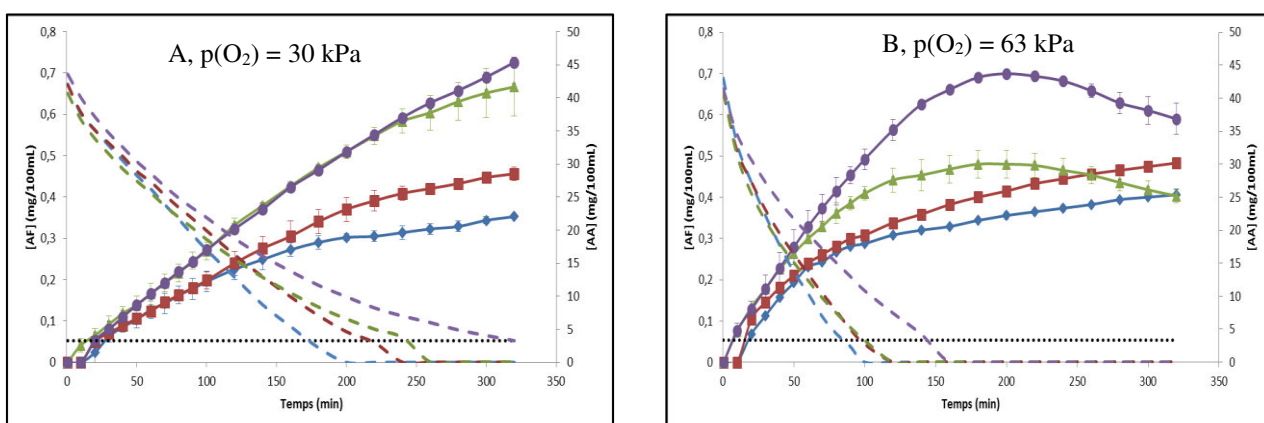


Figure V - 31 : Courbes représentant la formation/disparition de l'acide furoïque en fonction du temps pour $[AA]_i = 450 \text{ mg/L}$ à (\diamond) $95 \text{ }^\circ\text{C}$, (\blacksquare) $105 \text{ }^\circ\text{C}$, (\blacktriangle) $115 \text{ }^\circ\text{C}$ et (\bullet) $125 \text{ }^\circ\text{C}$, à une pression partielle en oxygène de (A) 30 kPa et (B) 63 kPa avec en lignes discontinues les courbes de perte de l'AA correspondantes ; la ligne en pointillés noirs représente la limite de quantification de l'acide furoïque

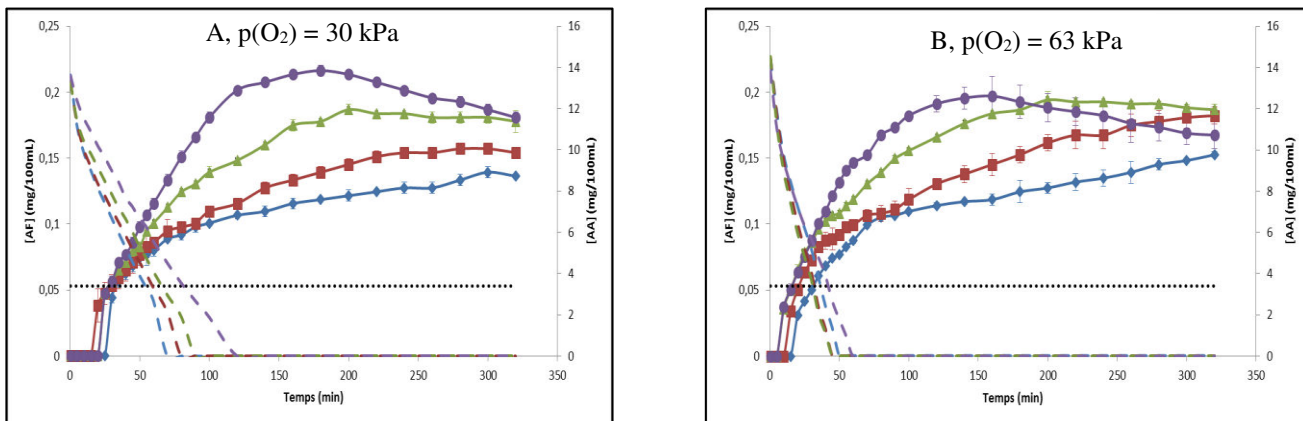


Figure V - 32 : Courbes représentant la formation/disparition de l'acide furoïque en fonction du temps pour $[AA]_i = 150 \text{ mg/L}$ à (\diamond) $95 \text{ }^\circ\text{C}$, (\blacksquare) $105 \text{ }^\circ\text{C}$, (\blacktriangle) $115 \text{ }^\circ\text{C}$ et (\bullet) $125 \text{ }^\circ\text{C}$, à une pression partielle en oxygène de (A) 30 kPa et (B) 63 kPa avec en lignes discontinues les courbes de perte de l'AA correspondantes ; la ligne en pointillés noirs représente la limite de quantification de l'acide furoïque

D'après ces courbes, l'acide furoïque suit une tendance de formation/disparition identique quelle que soit la concentration initiale en acide ascorbique, la température ou la pression partielle en O_2 . En effet, quelle que soit la concentration initiale en acide ascorbique ou la $p(O_2)$, plus la température augmente, plus la quantité d'acide furoïque formé augmente. La vitesse de formation de l'acide furoïque est maximale jusqu'à destruction complète de l'acide ascorbique. A 95 et $105 \text{ }^\circ\text{C}$, la concentration en acide furoïque augmente nettement jusqu'à disparition totale de l'acide ascorbique, puis continue d'augmenter au cours du temps mais très légèrement. A 115 et $125 \text{ }^\circ\text{C}$, une augmentation nette de la concentration en acide furoïque est observée jusqu'à atteindre un maximum atteint après que l'acide ascorbique initialement présent ait disparu, suivie d'une diminution lente de la concentration en acide furoïque. Contrairement au 3-OH-2P, l'acide furoïque est d'autant plus produit que la température augmente.

2.6.3 Le furfural

Le furfural provient de la dégradation de l'acide ascorbique par voie hydrolytique (Yuan and Chen, 1998). Le fait que du furfural se forme en conditions aérobies et à hautes températures est significatif du fait que l'AA se dégrade également par voie hydrolytique, même en présence d'oxygène. Du fait des conditions d'obtention du furfural et de ses faibles teneurs, ce produit de dégradation n'a pu être suivi dans toutes les conditions expérimentales de température, de concentration initiale en acide ascorbique et de pression partielle en oxygène. Il n'a donc pas été possible de suivre la formation du furfural lorsque la $p(O_2)$ était de 100 kPa , lorsque la concentration initiale en AA était de 150 mg/L quelle que soit la $p(O_2)$ et lorsqu'elle était également de 450 mg/L lorsque la $p(O_2)$ était de 63 kPa . Les figures V – 33 et V – 34 représentent la formation du furfural respectivement à $p(O_2) = 30 \text{ kPa}$ et à $p(O_2) = 63 \text{ kPa}$.

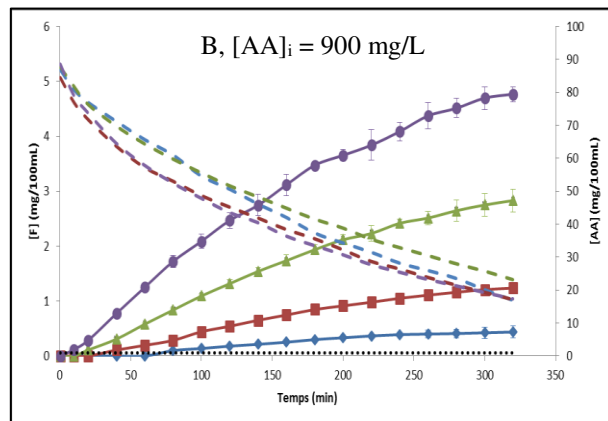
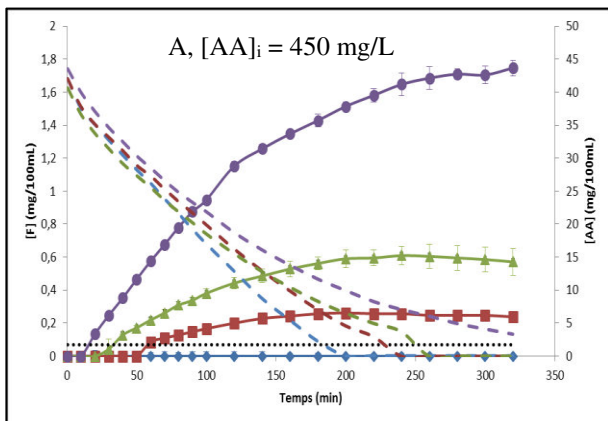


Figure V - 33 : Courbes représentant la formation du furfural en fonction du temps à $p(O_2) = 30$ kPa à (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (●) 125 °C, avec une concentration initiale en acide ascorbique de (A) 450 mg/L et (B) 900 mg/L avec en lignes discontinues les courbes de perte de l'AA correspondantes ; la ligne en pointillés noirs représente la limite de quantification du furfural

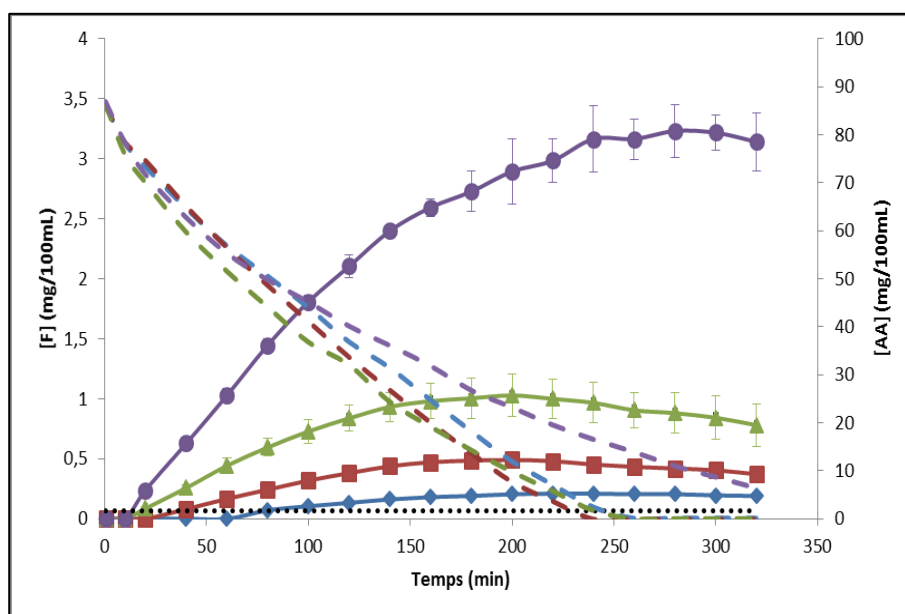


Figure V - 34 : Courbes représentant la formation du furfural en fonction du temps à $p(O_2) = 63$ kPa à (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (●) 125 °C, avec une concentration initiale en acide ascorbique de 900 mg/L avec en lignes discontinues les courbes de perte de l'AA correspondantes ; la ligne en pointillés noirs représente la limite de quantification du furfural

A concentration initiale en acide ascorbique égale et à température égale, il se forme plus de furfural lorsque la pression partielle en O_2 est de 30 kPa que lorsqu'elle est de 63 kPa (Figures V – 33 et V – 34). Les concentrations formées sont aussi plus faibles qu'en absence d'oxygène (Figure V - 15). Ceci confirme que lorsqu'il y a moins d'oxygène présent dans l'espace de tête, la voie de dégradation hydrolytique prend une part plus grande dans la disparition de l'AA. De plus, quelle que soit la pression partielle en oxygène, plus la température augmente, plus la quantité de furfural formé augmente, ce qui confirme (i) le comportement classique de la réaction de dégradation de l'acide ascorbique par voie hydrolytique, et (ii) que plus la température augmente, plus la voie de dégradation hydrolytique est importante. Il est également intéressant de noter l'écart considérable entre la quantité de furfural formé à 115 °C et la quantité de furfural formé à 125 °C, écart d'autant plus important que la pression partielle en oxygène augmente. Cela

signifierait que le ratio entre les deux voies de dégradation de l'acide ascorbique serait dépendant à la fois de la température et également de la pression partielle en O₂, sans que ces deux facteurs ne soient indépendants. Une hypothèse serait une diminution de la solubilité de l'oxygène entre 115°C et 125°C, contrairement à ce que laisse penser le modèle de Tromans.

3 Comparaison des résultats avec ceux du projet *OPTIFEL*

Dans le cadre du projet *OPTIFEL*, des études similaires ont été réalisées sur la dégradation de l'acide ascorbique à des températures de réchauffage, plus faibles (de 45 à 85 °C) (figures V – 35 et V – 36).

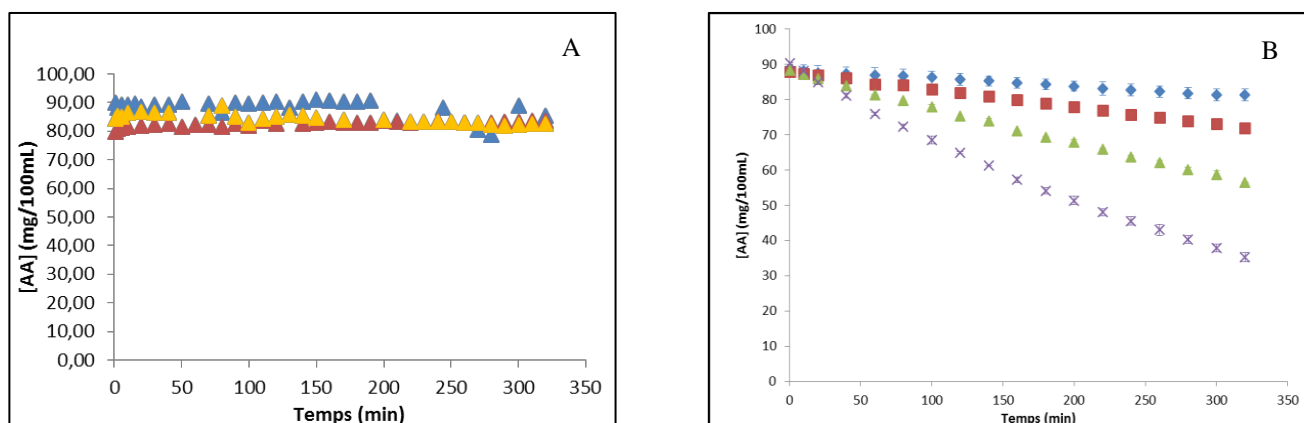


Figure V - 35 : Évolution de la concentration d'acide ascorbique avec une concentration initiale de 900 mg/L en fonction du temps en conditions anaérobies strictes à pH = 3,5 dans le cadre du projet (A) *OPTIFEL* et (B) *PREDINUT* à (▲) 45 °C, (▲) 65 °C, (▲) 85 °C, (◆) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (x) 125 °C

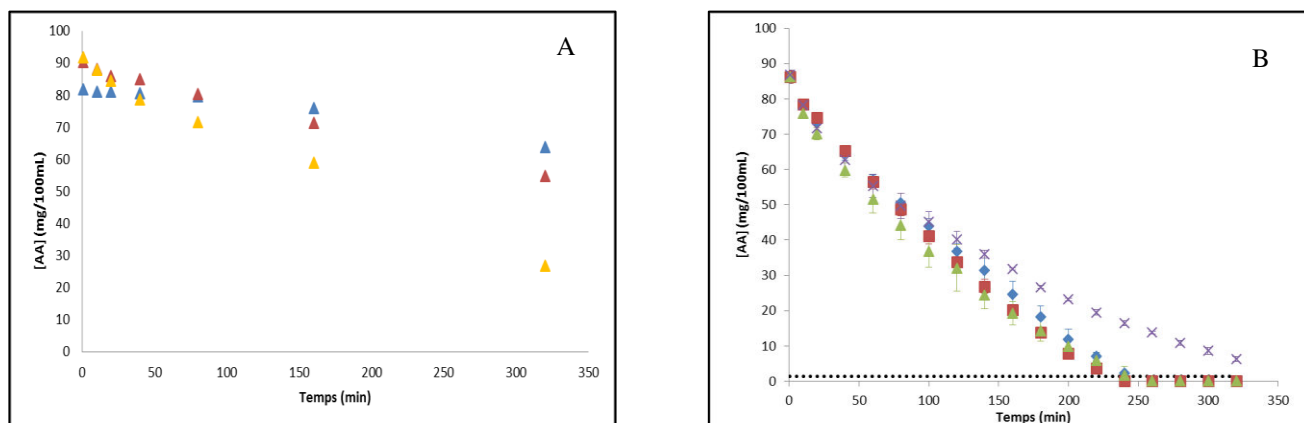


Figure V - 36 : Évolution de la concentration d'acide ascorbique avec une concentration initiale de 900 mg/L en fonction du temps en conditions aérobies à pH = 3,5 dans le cadre du projet (A) *OPTIFEL*, p(O₂) = 42 kPa et (B) *PREDINUT*, p(O₂) = 63 kPa, à (▲) 45 °C, (▲) 65 °C, (▲) 85 °C, (◆) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (x) 125 °C (la ligne en pointillés noirs représente la limite de quantification de l'AA)

En conditions anaérobies strictes et à température de 45 à 85 °C, l'AA ne se dégrade pas même pendant 320 minutes de traitement (figure V – 35 A). Contrairement aux idées reçues, l'AA n'est pas spontanément thermolabile. D'ailleurs, même un traitement à 125 °C pendant 320 minutes en conditions anaérobies ne suffit pas à détruire la totalité de l'AA initialement présent (figure V – 35 B).

En conditions aérobies et à température de 45 à 85 °C, plus la température augmente, plus la dégradation de l'AA est rapide, ce qui est logique selon la loi d'Arrhenius (figure V – 36 A). Cependant cette logique

ne s'applique plus aux températures plus élevées (95 à 125 °C), où l'influence de la température devient très faible (figure V – 36 B). De plus, à 125 °C, la dégradation de l'AA est encore plus lente (figure V – 36 B). Les mécanismes mis en jeu au cours de la dégradation de l'AA semblent donc différents dans ces deux plages de température. Ceci est confirmé par plusieurs points :

- 1) En conditions anaérobies et à température inférieure ou égale à 85 °C, l'AA ne se dégrade pas, la voie hydrolytique apparaît donc extrêmement lente.
- 2) En conditions aérobies et à température inférieure ou égale à 85 °C, la dégradation de l'AA est plus rapide lorsque la température augmente, ce qui est cohérent avec la loi d'Arrhenius, et seule la voie oxydoréductive interviendrait.
- 3) En conditions aérobies et à température supérieure ou égale à 95 °C, la dégradation de l'AA ne suit plus une loi d'Arrhenius, et donc plusieurs mécanismes convolués entrent en jeu.
- 4) Dans ces mêmes conditions, du furfural est formé en quantités non négligeables, et donc, d'après Yuan et Chen (1998), les deux voies principales de dégradation de l'acide ascorbique entrent en jeu, l'hydrolytique et l'oxydoréductive.

L'importance de l'oxygène par rapport à la température dans le processus de dégradation de l'AA est ici mise en évidence. Ainsi l'AA se dégrade plus vite à 45 °C avec un $p(O_2)$ de 42 kPa (figure V – 36 A) qu'à 105 °C en conditions anaérobies (figure V – 35 B).

4 Conclusions

Il semblait établi que la dégradation de l'acide ascorbique suit une cinétique d'ordre 1. Cette hypothèse n'est confirmée ici que pour la dégradation en conditions anaérobies. En effet, en l'absence d'oxygène, c'est l'effet de la température qui est prépondérant et la réaction de dégradation suit une cinétique d'ordre 1 et la loi d'Arrhenius, ce qui indique que dans de telles conditions, une seule voie réactionnelle de dégradation serait mise en jeu (probablement un mécanisme de type hydrolytique).

Par contre, en présence d'oxygène dans l'espace de tête, la réaction évolue vers un ordre apparent vis à vis de l'acide ascorbique, plus faible (0,75 et 0,5). De plus, dans des conditions aérobies, la cinétique de dégradation de l'acide ascorbique semble beaucoup moins dépendante de la température, mais surtout fortement influencée par la présence d'oxygène. Une convolution de mécanismes pourrait expliquer ce constat, sans doute dû à la disponibilité en oxygène qui serait un réactif limitant. Dans le système utilisé il semble que, malgré une forte agitation, les concentrations en oxygène puissent rester en dessous de l'équilibre, et la diffusion/dissolution de l'oxygène soit donc le facteur principal de l'évolution des pertes en acide ascorbique dans les conditions de l'appertisation. De plus, le thermorésistomètre ne réalise pas exactement le système clos qu'est une boîte de conserve : la disponibilité en oxygène y serait encore plus limitante, en fonction du volume d'espace de tête inclus lors du scellage.

Si l'espace de tête contient de l'oxygène, et quelle que soit la température, les trois produits principaux identifiés par Yuan & Chen (1998) sont formés. Ceci implique :

- Soit que le modèle de Winkler (1888), qui suppose l'absence d'oxygène dissous au-delà de 100°C, ne décrive pas correctement les conditions présentes dans le thermorésistomètre. Le modèle de Tromans (1998), quant à lui, pourrait expliquer pourquoi en conditions aérobies la dégradation de l'AA est très rapide les premières minutes, mais ne permet pas d'expliquer la différence de comportement entre 115 °C et 125 °C ;
- Etant donné les quelques mesures d'oxygène dissous, obtenues à des températures plus faibles, il semble que, malgré l'agitation, l'oxygène ne soit pas en équilibre avec l'espace de tête : il pourrait donc y avoir une déplétion en oxygène dans le milieu, et une réaction qui se déroule à l'interface liquide / gaz, comme décrit par Herbig & Renard (2016) aux températures inférieures à 80°C.

L'augmentation de la quantité de furfural formé en fonction de la température est très significative du comportement de la réaction de dégradation de l'acide ascorbique par voie hydrolytique, et ce même à des températures d'appertisation. Pour l'acide furoïque, un comportement similaire au furfural est observé. En effet, plus la température augmente, plus la quantité d'acide furoïque formé augmente. En revanche, sauf lorsque la pression partielle en O₂ est élevée (100 kPa), pour la formation du 3-hydroxy-2-pyrone, le constat inverse est observé. La connaissance des voies réactionnelles reste insuffisante pour comprendre ces effets, liés peut-être à des mécanismes d'oxydations dans les réactions intermédiaires.

La détermination théorique de la concentration en oxygène au cours du temps nous a permis de mettre en évidence deux constats :

- L'oxygène présent à l'équilibre dans le milieu est rapidement consommé dès lors que l'acide ascorbique est injecté
- Au cours du temps, la dissolution de l'oxygène de l'espace de tête vers le milieu réactionnel est très lente

Ces constats conduisent à l'hypothèse que la dégradation de l'AA se déroule principalement à l'interface liquide-gaz, et non dans le milieu.

*Chapitre VI : Etude de la dégradation de
l'acide ascorbique en matrice alimentaire*

Chapitre VI : Etude de la dégradation de l'acide ascorbique en matrice alimentaire

Toutes ces études ont été réalisées avec un enrichissement en acide ascorbique à hauteur de 450 mg/kg. Les conditions d'aérobiose étaient réalisées avec un compresseur d'air sous 3.10^5 Pa de pression. Les conditions d'anaérobiose partielle étaient réalisées avec de l'azote dans l'espace de tête sous 3.10^5 Pa de pression, sans dégazage préalable du milieu.

1 Caractérisation rhéologique et granulométrique des matrices

Les caractéristiques physico-chimiques des matrices alimentaires étudiées sont présentées dans le tableau VI – 1.

Tableau VI - 1 : Caractéristiques physico-chimiques des matrices alimentaires brutes et diluées

		pH	« Consistance »		Degré Brix (23,5 °C)	Viscosité (Pa.s)
Temps d'écoulement			5 sec	30 sec		
Purée de pomme	<i>Brute</i>	3,5	2	3,5	15,3	51 ± 3
	<i>Diluée (1/2)</i>		20	/	7,3	0,879 ± 0,01
Purée de carotte	<i>Brute</i>	6,2	1	1	7,3	278,5 ± 0,7
	<i>Broyée</i>					336 ± 21
	<i>Diluée (1/2)</i>		/	/	5,35	/
	<i>Diluée (1/3)</i>		/	/	/	0,31 ± 0,06
Jus de carotte	<i>Brute</i>	4,3	/	/	/	1,51.10 ⁻³ ± 0,04.10 ⁻³

La purée de carotte brute est plus consistante que la purée de pomme brute, mais à dilution égale la purée de carotte devient plus liquide que la purée de pomme, ce qui est probablement dû aux teneurs et rigidités des particules (Leverrier, 2016). De plus, la purée de carotte brute devient plus visqueuse après un broyage, mais cette étape était nécessaire afin d'homogénéiser ce produit. Enfin, le jus de carotte est très peu visqueux, sa viscosité est très proche de celle de l'eau, car il ne contient pas de particules solides en suspension.

Une mesure de la granulométrie a également été menée sur deux lots de purée de pomme dont l'un a été passé à l'homogénéisateur haute pression (figure VI – 1).

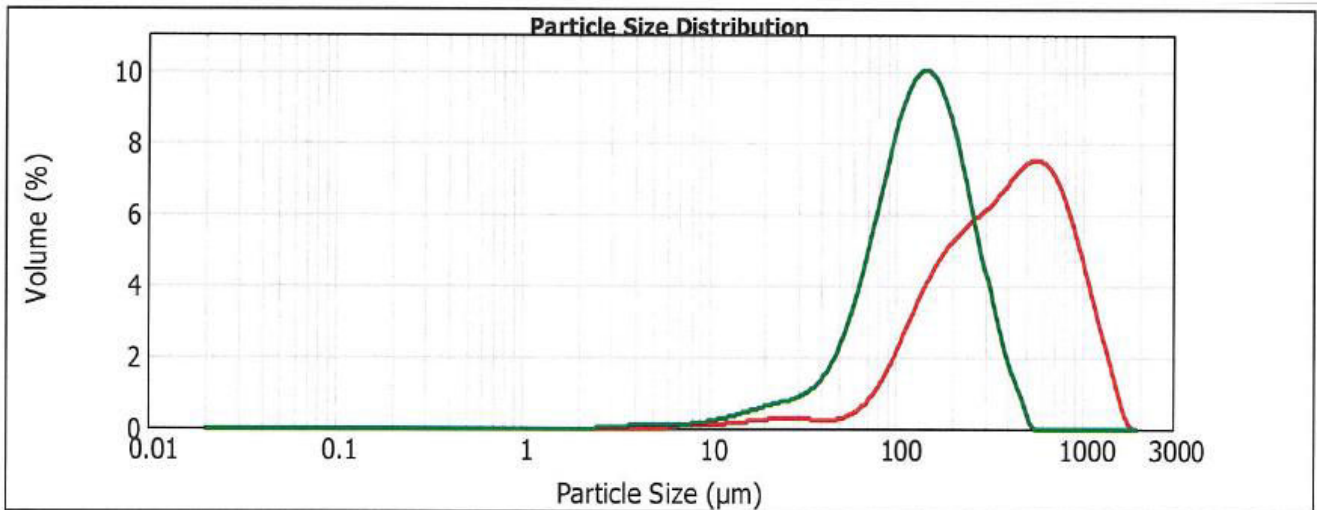


Figure VI - 1 : Distribution de la taille des particules dans la purée de pomme classique (en rouge) et dans la purée de pomme passée à l'homogénéisateur haute pression (en vert)

La purée de pomme passée à l'homogénéisateur haute pression présente une distribution de taille des particules plus homogène et d'une taille moyenne de particule plus fine que pour la purée de pomme classique. La taille moyenne des particules pour la purée de pomme classique est de **472 µm**, alors que pour la purée de pomme passée à l'homogénéisateur haute pression, la taille moyenne des particules est de **152 µm**.

2 Etablissement du protocole pour l'étude de la dégradation de l'acide ascorbique en matrice alimentaire

Des essais d'enrichissement en acide ascorbique ont été réalisés avec le thermorésistomètre afin de voir si une solution concentrée d'acide ascorbique directement injectée se répartit de façon rapide et homogène au sein d'une matrice alimentaire. Pour cela, une solution mère d'acide ascorbique à 200 g/L a été réalisée (dans de l'acide acétique à 2,31 % (pH = 2,6)) afin d'enrichir la purée de pomme en acide ascorbique à teneur de 450 mg/kg. A $t = 0$, 900 µL de solution mère d'acide ascorbique ont été introduits dans le thermorésistomètre et des prélèvements ont été effectués en duplicata au bout de 5, 15, 30, 45 secondes, 1 minute et 1 minute 30.

Les concentrations en acide ascorbique retrouvées par HPLC étaient très faibles (environ 30 mg/kg au lieu des 450 mg/kg attendus). La solution d'acide ascorbique injectée ne s'est donc pas bien répartie dans le produit contenu dans le thermorésistomètre, probablement du fait de la viscosité trop importante.

Des essais de cuisson de la purée de pomme ont été réalisés, afin d'évaluer les pertes en acide ascorbique lors d'un chauffage d'une heure. Cette pré-expérience a pour but de voir si l'acide ascorbique contenu dans une matrice alimentaire est suffisamment résistant à la chaleur pour effectuer un suivi de dégradation sur plusieurs heures. Pour cela 50 g de purée de pomme ont été enrichis avec 2 mL de solution tampon à pH = 3,5 contenant de l'acide ascorbique à teneur de 450 mg/kg. Les essais de cuisson ont été réalisés sur des échantillons enrichis de 2 g dans des ampoules de verre scellées et plongées dans un bain d'huile à 110 °C.

Après 1 heure de cuisson à 110 °C, la concentration en acide ascorbique dans le produit était de 270 mg/kg. Ainsi, il serait possible de réaliser un traitement thermique sur la purée de pomme au thermorésistomètre pendant plus d'une heure à 110 °C ou plus sans détruire totalement l'acide ascorbique.

Des essais de traitement thermique ont été réalisés sur 400 g de purée de pomme enrichie avec le thermorésistomètre. Ces essais n'ont pas abouti car la purée de pomme était trop visqueuse donc la chaleur de la résistance ne s'est pas répartie de façon homogène (ce qui a abouti à un endommagement mineur de l'appareil dû à une forte augmentation locale de température). Il a donc fallu diluer la purée (dilution par deux choisie arbitrairement) afin de la rendre moins visqueuse et ainsi faciliter les manipulations.

Les tests effectués sur la purée de carotte diluée au 1/2 ont montré que la matrice, bien que suffisamment liquide, était trop hétérogène et contenait des particules au diamètre trop élevé, ce qui a bouché à la fois les cônes de prélèvement de la pipette et les filtres. La purée de carotte a donc été passée au broyeur afin de réduire la taille des particules. La texture obtenue était plus homogène mais aussi plus épaisse, ce qui a entraîné une surpression dans le récipient du thermorésistomètre et une fissure du capillaire de prélèvement. Il a donc fallu diluer la purée de carotte par 3.

Les dilutions ont été effectuées avec du tampon McIlvaine à pH identique à celui de la matrice (3,5 pour la purée de pomme et 6,2 pour la purée de carotte).

3 Dégradation de l'acide ascorbique dans la purée de pomme

Le profil cinétique de dégradation de l'acide ascorbique a été établi, dans un premier temps en conditions aérobies. Les températures étudiées sont 85, 95, 105, 115 et 125 °C (figure VI – 2).

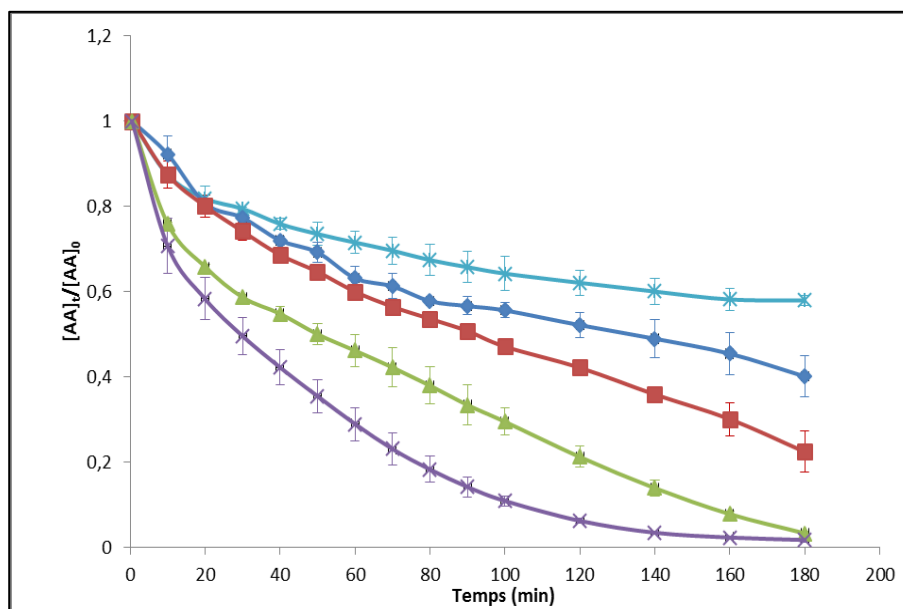


Figure VI - 2 : Evolution de la concentration (normalisée) en acide ascorbique avec $[AA]_i = 450$ mg/kg en fonction du temps à (x) 85 °C, (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (x) 125 °C pour la purée de pomme

Plus la température augmente, plus la dégradation de l'acide ascorbique est rapide. En effet, la quantité d'acide ascorbique restante après 3 heures de traitement thermique diminue à chaque augmentation de

température de 10 °C : il reste 57 % de la quantité initiale après 3 heures à 85 °C, 40 % à 95 °C et 22 % à 105 °C. L'acide ascorbique a presque totalement disparu après 3 heures à 115 °C (il reste environ 3 % de la quantité initiale). A 125 °C, la dégradation montre un ralentissement marqué en fin de cinétique (~ 120 minutes).

Le comportement observé ici diffère de celui obtenu en solution modèle (figure V – 18 B). En effet, l'acide ascorbique est dégradé moins rapidement dans la purée de pomme : pour une même durée d'expérience, l'acide ascorbique en solution modèle a totalement disparu entre 1 h 40 et 2 h 40 (figure IV – 19), tandis que dans la purée de pomme, il n'est pas encore totalement dégradé après 3 heures. Cela peut être dû à la différence de diffusion et de solubilité de l'oxygène mais aussi de composition de la matrice par rapport à la solution modèle : la solution modèle n'est composée que d'acide ascorbique dissous dans une solution tampon McIlvaine à pH = 3,5, tandis que la purée de pomme contient de nombreux composés chimiques susceptibles d'interagir avec l'acide ascorbique, notamment des polyphénols.

En effet, il apparaît que la vitamine C n'est en réalité que très peu responsable du potentiel antioxydant de la pomme : les contributeurs majeurs sont les polyphénols, présents en grande quantité, comme les procyanidines, l'acide chlorogénique ou la phloridzine. Ces composés ont de plus la capacité de protéger la vitamine C contre la dégradation oxydative engendrée par l'O₂ présent dans le système (Miller and Rice-Evans, 1997, Gardner et al., 2000, Beker et al., 2011, Mehinagic et al., 2011). Un dosage des polyphénols totaux a été réalisé sur la purée de pomme fabriquée au CTCPA et une concentration en polyphénols totaux de 1 g/kg a été déterminée, proche de celle analysée par Le Bourvellec et al. (2008). Ce taux de polyphénol étant élevé, cela implique que l'acide ascorbique pourrait être protégé dans la purée de pomme. Par ailleurs, un fort brunissement de la purée est observé après les cinétiques, ce qui pourrait aussi indiquer une dégradation des polyphénols.

Une différence marquée avec la solution modèle (figure V – 19 B) concerne l'impact de l'augmentation de température, puisqu'ici plus la température augmente, plus la dégradation de l'AA est rapide. Ce comportement est donc plus proche de celui observé en solution modèle en conditions anaérobies. Ceci pourrait être dû aux différences de solubilité de l'oxygène entre une purée et la solution modèle, solubilité qui diminue par exemple avec le degré Brix (Pénicaud et al., 2012). De plus, la purée de pomme étant plus visqueuse que la solution modèle (tableau V – 2), l'agitation pourrait être moins efficace et donc la surface de contact moins développée et l'O₂ présent dans l'espace de tête aurait encore plus de difficultés à se dissoudre dans la purée malgré l'agitation. Ainsi, l'O₂ serait moins disponible dans la purée que dans la solution modèle et la dégradation de l'acide ascorbique par voie oxydative serait alors relativement moins importante.

La problématique de la disponibilité en oxygène pourrait aussi expliquer l'allure des courbes de concentration en acide ascorbique pour la purée de pomme (figure V – 1), où une diminution plus rapide est notée pendant les premières minutes. Par la suite, la vitesse de dégradation diminue.

D'autre part, la cinétique semble complexe, avec des variations non seulement de la vitesse mais aussi de l'évolution de la vitesse. Le modèle d'ordre 0,5 développé pour la solution modèle ne permet pas de bien décrire les données. Un modèle classique d'ordre 1 ne permet pas non plus de modéliser ces données. Au cours de la dégradation de l'acide ascorbique dans la purée de pomme, des mécanismes différents pourraient être prédominants en fonction de l'avancement des réactions, réactions de dégradation de l'acide ascorbique (aérobie ou anaérobie) mais aussi réactions couplées par exemple avec les polyphénols.

Afin de vérifier l'hypothèse d'un mécanisme de dégradation de l'acide ascorbique majoritairement hydrolytique malgré la présence d'oxygène dans l'espace de tête, les expériences précédentes ont été refaites selon les mêmes modalités (traitements thermiques à 95 et 125 °C sur de la purée de pomme diluée au 1/2 avec agitation à 2925 tours/min et 3.10^5 Pa) en remplaçant l'air comprimé par du diazote (N_2) (figure VI – 3).

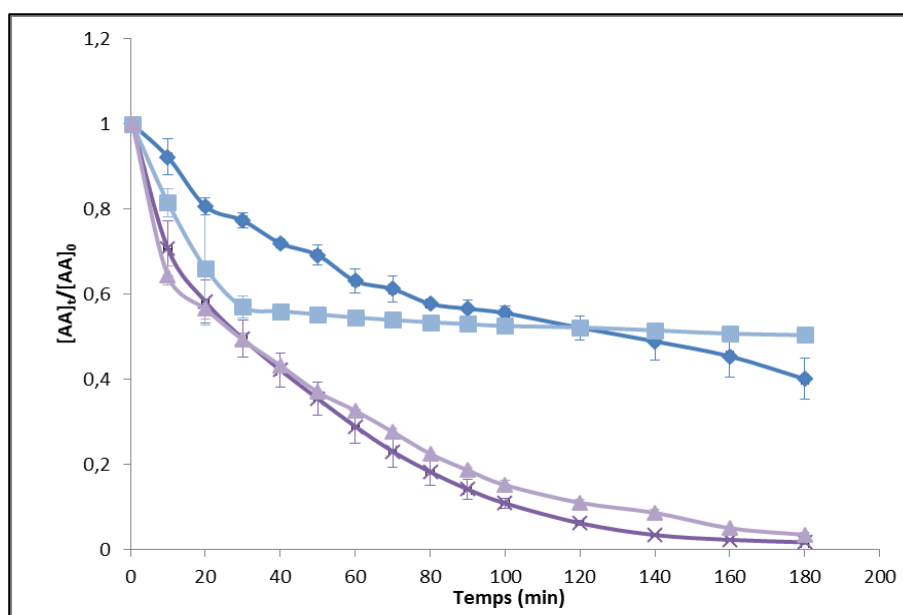


Figure VI - 3 : Evolution de la concentration (normalisée) en acide ascorbique avec $[AA]_i = 450$ mg/kg en fonction du temps à 95 °C en conditions (♦) aérobies et (■) anaérobies partielles et à 125 °C en conditions (▲) aérobies et (x) anaérobies partielles pour la purée de pomme

A 125 °C, la dégradation de l'acide ascorbique a le même comportement qu'il y ait ou non d'oxygène dans l'espace de tête. L' O_2 présent pourrait ne pas se dissoudre dans la purée malgré les conditions de pression utilisées. En revanche, à 95 °C la présence d'oxygène ou d'azote dans l'espace de tête modifie les cinétiques : une même dégradation rapide de l'AA a lieu dans les premières minutes, mais en présence de diazote un palier est ensuite obtenu. La purée n'ayant subi ni dégazage, ni bullage à l'azote était initialement saturée en oxygène, et cette dégradation rapide pourrait être liée à la consommation de l'oxygène initial, ensuite non renouvelé. Cela montre bien que l' O_2 initialement présent dans la matrice est le réactif limitant de la dégradation de l'acide ascorbique et est rapidement consommé.

Suite à ces résultats, la dégradation a été étudiée dans quatre autres lots de purée de pomme, deux sans désaération préalable, et deux avec désaération, avec dans chaque cas un lot classique et un lot passé à l'homogénéisateur haute pression (figures VI – 4).

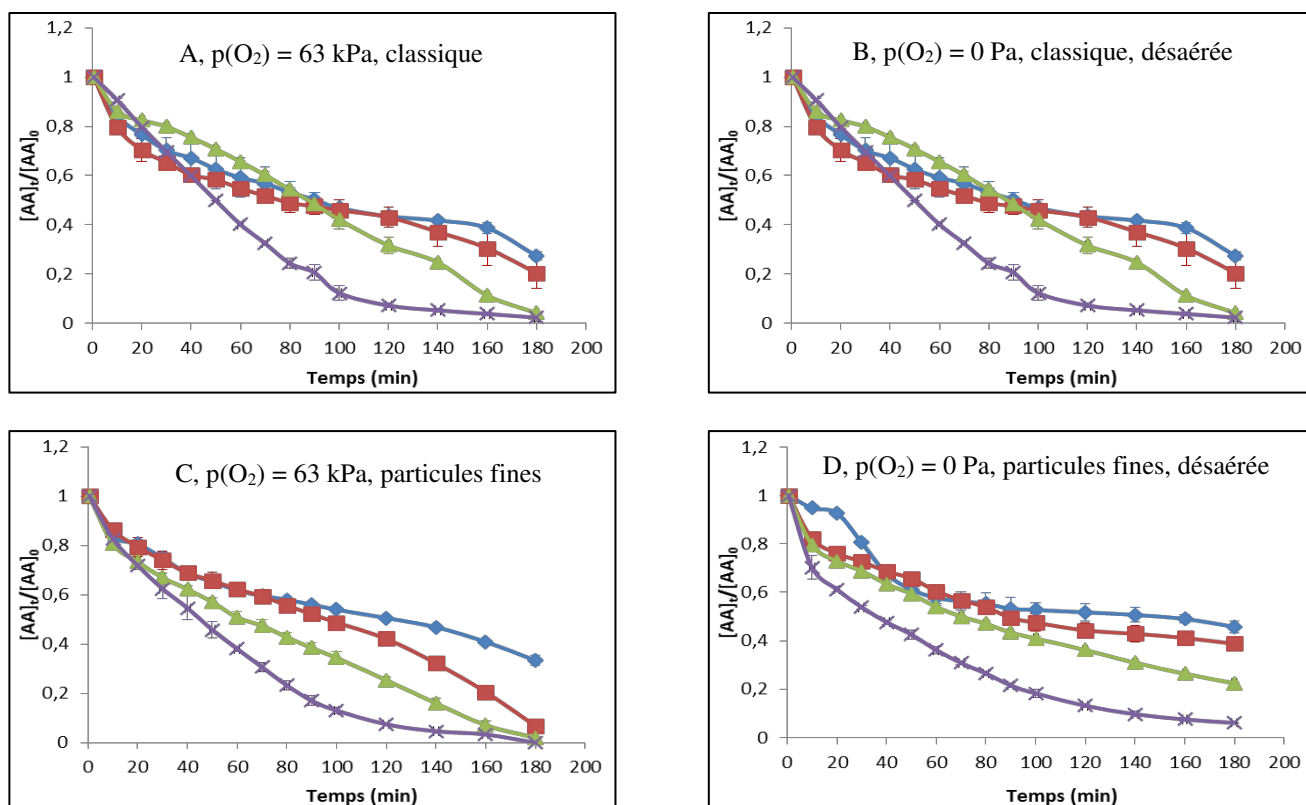


Figure VI - 4 : Comparaison de la dégradation de l'acide ascorbique en conditions aérobies et anaérobies à deux granulométries différentes, avec (A) sous air, p(O₂) = 63 kPa, classique, (B) sous azote, p(O₂) = 0 Pa, classique, désaérée, (C) sous air, p(O₂) = 63 kPa, particules fines et (D) sous azote, p(O₂) = 0 bar, particules fines, désaérée, à (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (×) 125 °C dans la purée de pomme

Des mesures d'oxygène dissous à 20 °C ont permis de montrer des différences de teneurs initiales en oxygène dissous dans ces purées de pomme, mais avec une efficacité limitée de la désaération ne permettant pas d'arriver à une anaérobiose totale (la concentration en oxygène pouvait varier de 10 à 14 mg/L). La méthode employée pour désaérer la purée de pomme pourrait être insuffisamment efficace, ou une redissolution d'oxygène pourrait avoir eu lieu au cours de la mise en barquette de la purée de pomme.

Une première remarque est que les cinétiques obtenues avec un nouveau lot de purées de pomme sont différentes de celles obtenues avec le lot initial (figure VI – 4 A comparée à la figure VI – 2), et que les vitesses ne suivent pas l'ordre logique de la température. En effet, si dans toutes les conditions c'est la purée traitée à 125 °C où l'AA est dégradé le plus complètement dans les 3h de suivi, ce n'est pas toujours la cinétique avec la plus forte vitesse initiale. Les cinétiques obtenues à 95 °C sont plus rapides (mais avec un plateau) que celles à 105 et 115 °C en présence d'azote. Le rebroyage de la purée, qui devrait avoir induit une diminution de leur viscosité, ne clarifie pas les résultats. En présence d'oxygène, l'ordre logique des températures est respecté, mais des courbes très proches sont obtenues à 95 °C et 105 °C jusqu'à 120

min de traitement. Si l'espace de tête contient de l'azote, les trois courbes de 95 °C à 115 °C restent très proches et un plateau semble être obtenu pour les deux températures les plus faibles.

Un test de Mann & Whitney a été effectué sur les deux jeux de données obtenus en aérobie et en anaérobie à chaque température pour chaque taille de particules indépendamment. Il ne met pas en évidence de différence significative, sauf à 105 °C. De même, un test de Mann & Whitney a été réalisé sur les jeux de données obtenus pour chaque taille de particule indépendamment en aérobie et anaérobie, et ce dernier s'est révélé négatif quelle que soit la température. Cela signifie que la taille des particules n'a pas d'influence sur la dégradation de l'acide ascorbique dans la purée de pomme quelle que soit les conditions.

Comme le montre la figure VI – 3, l'oxygène initialement présent dans la purée de pomme est le facteur limitant. De plus, l'oxygène présent dans l'espace de tête pénètre avec difficulté dans la purée de pomme, et cela est notamment marqué à 125 °C, où la même tendance est observée lorsque de l'air ou de l'azote sont utilisés comme gaz d'espace de tête (figure VI – 3). Ce cas de figure ressemble à ceux rapportés par Oey *et al.* (2006) et Verbeyst *et al.* (2013), qui ont effectué des traitements thermiques respectivement en solution modèle et dans des extraits de fruits rouges. Verbeyst *et al.* (2013) ont proposé de modéliser de telles données avec un modèle fractionnel d'ordre 1, selon l'équation suivante :

$$C_t = C_\infty + (C_0 - C_\infty) * \exp(-k_a \cdot t) \quad \text{Équation VI - 1}$$

avec C_t la concentration en acide ascorbique à l'instant t , C_0 la concentration initiale en acide ascorbique, C_∞ la concentration finale en acide ascorbique après un traitement prolongé, et k_a la constante de vitesse de premier ordre de la réaction de dégradation de l'acide ascorbique par voie aérobie (oxydoréductive).

Ce modèle a été utilisé pour modéliser les données obtenues dans la purée de pomme ayant une granulométrie normale (pas de passage à l'homogénéisateur haute pression) en conditions aérobies et anaérobies partielles (figure VI – 5).

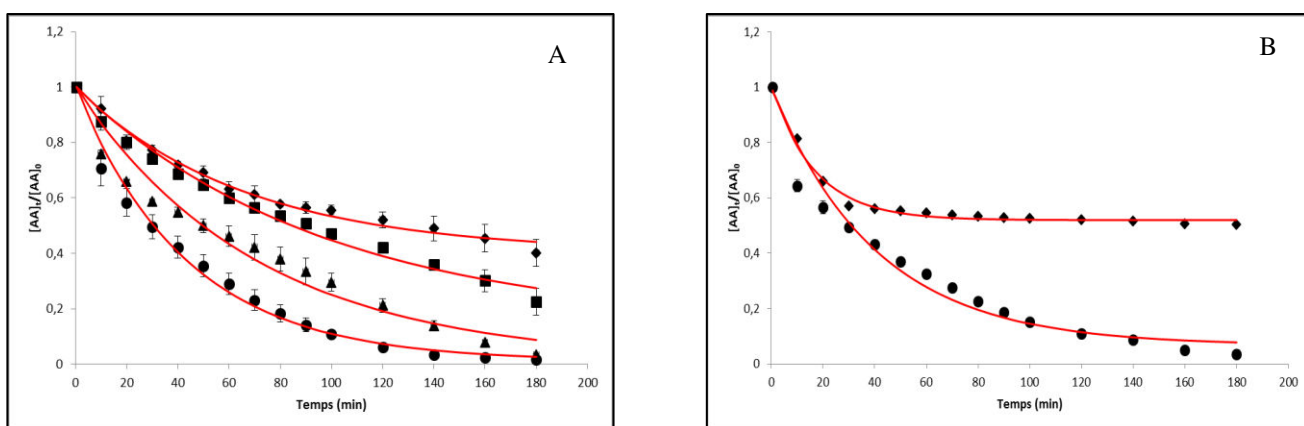


Figure VI - 5 : Evolution de la concentration (normalisée) en acide ascorbique avec [AA]_i = 450 mg/kg en fonction du temps en conditions (A) aérobies et (B) anaérobies partielles à (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (●) 125 °C pour la purée de pomme ; les traits rouges représentent le modèle ajusté aux données

Les valeurs de C_∞ et k_a sont rapportées dans le tableau VI – 2.

Tableau VI - 2 : Valeur des paramètres k_a et C_∞ en fonction de la température et des conditions

Conditions	Température (°C)	C_∞ (%)	k_a (10^{-2} min^{-1})	R^2
Aérobies	95	40	$1,5 \pm 0,1$	0,9888
	105	14	$1,0 \pm 0,1$	0,9872
	115	0,1	$1,4 \pm 0,2$	0,9673
	125	0,1	$2,3 \pm 0,1$	0,9900
Anaérobies	95	52	$5,9 \pm 0,3$	0,9899
partielles	125	7	$2,5 \pm 0,3$	0,9670

A 125 °C, les valeurs de k_a sont relativement proches, ce qui démontre d'autant plus l'importance de l'oxygène présent dans la purée par rapport à l'oxygène présent dans l'espace de tête. La faible influence de l'oxygène présent dans l'espace de tête est d'ailleurs démontrée par les valeurs de C_∞ , qui représente la teneur en AA résiduelle après dégradation par la voie oxydoréductive. En effet, les valeurs de C_∞ à 95 °C et à 125 °C sont proches, avec une différence de 12 % à 95 °C et 7 % à 125 °C. Quant à l'écart observé au niveau des valeurs de k_a à 95 °C, cela peut s'expliquer par des concentrations en oxygène dissous qui sont différentes d'un échantillon à l'autre, et donc cela explique le constat inattendu que la valeur de k_a à 95 °C est plus élevée en conditions anaérobies partielles qu'en conditions aérobies.

4 Dégradation de l'acide ascorbique dans la purée de carotte

Le profil cinétique de dégradation de l'acide ascorbique a été établi dans la purée de carotte (figure VI – 6), dans les mêmes conditions que pour la purée de pomme (conditions aérobies, températures de 85, 95, 105, 115 et 125 °C).

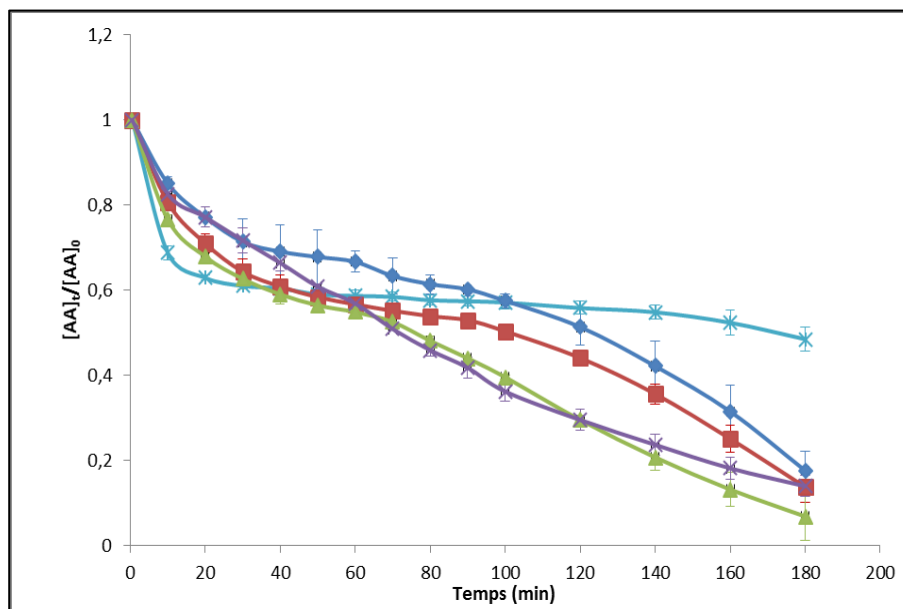


Figure VI - 6 : Evolution de la concentration (normalisée) en acide ascorbique avec $[AA]_i = 450 \text{ mg/kg}$ en fonction du temps à (x) 85 °C, (♦) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (x) 125 °C pour la purée de carotte

Pour les cinq températures étudiées une dégradation plus rapide pendant les premières minutes d'expérience est observée. Étonnamment, les vitesses initiales de dégradation sont très proches mais dans l'ordre inverse des températures (sauf peut-être pour 95 °C). Puis, notamment à 85 °C et 95 °C, un palier semble se former et la dégradation ralentit, pour ensuite accélérer à nouveau. De plus, ce palier diminue voire disparaît avec l'augmentation de la température. Comme pour la purée de pomme, une dégradation oxydoréductrice de l'acide ascorbique aurait lieu lors des premières minutes de traitement thermique, catalysée par l' O_2 initialement présent dans la matrice, suivie par une dégradation plutôt de type hydrolytique, dont la vitesse augmente avec la température.

Cependant, la dégradation de l'acide ascorbique dans la purée de carotte est globalement plus rapide que dans la purée de pomme et l'effet de la température semble moins marqué. Étant donné que l'oxygène est plus soluble dans les matières grasses (Pénicaud et al., 2012), et que cette purée de carotte contient de la crème fraîche, la phase grasse pourrait agir comme réservoir d'oxygène ou facilitateur de transfert. De plus, il ne faut pas négliger le pH de la matrice qui est supérieur au pKa de l'acide ascorbique ($pH_{\text{purée de carotte}} = 6,2$ et $pK_{a \text{ AA}} = 4,13$). De même, les cinétiques apparaissent complexes et il ne semble pas possible de modéliser la dégradation de l'acide ascorbique dans la purée de carotte par un ordre cinétique classique du fait des différentes phases successives de dégradation (notamment sa reprise en fin de cinétiques).

Il apparaît donc que la dégradation de l'acide ascorbique lors de traitements thermiques à hautes températures dépend non seulement de paramètres physico-chimiques tels que le pH, la disponibilité en O_2 ou la température mais aussi et surtout du type de matrice alimentaire considéré.

Afin de vérifier l'hypothèse selon laquelle la température est le facteur majeur responsable de la dégradation de l'acide ascorbique et non l' O_2 présent dans l'espace de tête, les expériences précédentes ont

été refaites selon les mêmes modalités (traitements thermiques à 95 et 125 °C sur de la purée de carotte diluée 3 fois avec agitation à 2925 tours/min et 3.10^5 Pa de pression) en remplaçant l'air comprimé de l'espace de tête par du diazote (N_2) (figure VI – 7).

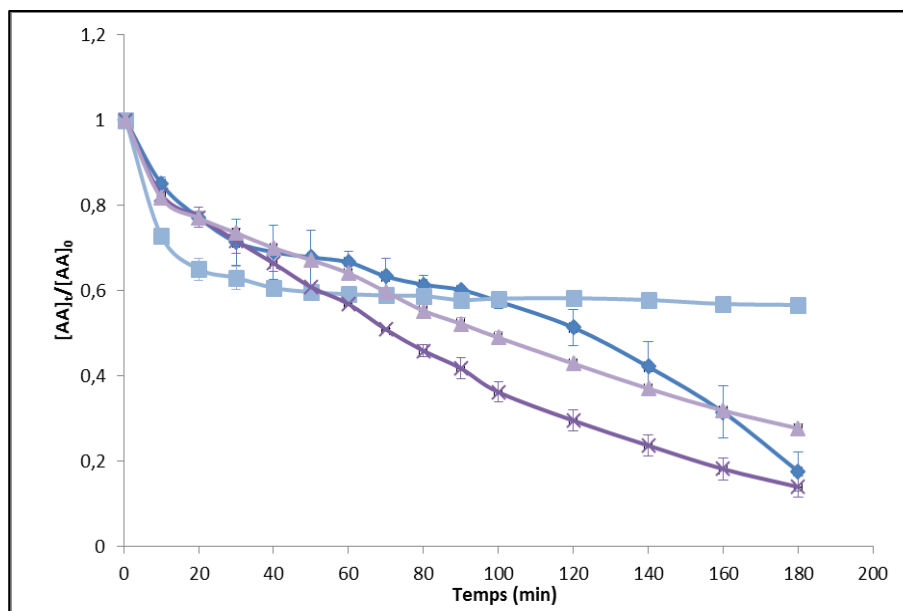


Figure VI - 7 : Evolution de la concentration (normalisée) en acide ascorbique avec $[AA]_i = 450$ mg/kg en fonction du temps à 95 °C en conditions (♦) aérobies et (■) anaérobies partielles et à 125 °C en conditions (▲) aérobies et (x) anaérobies partielles pour la purée de carotte

A 95 °C, comme pour la purée de pomme, un plateau est à nouveau obtenu avec de l'azote dans l'espace de tête, mais aussi (temporairement) en présence d'oxygène, tandis que les deux courbes obtenues à 125 °C sont plus proches, mais avec une dégradation initiale qui semble moins rapide qu'à 95 °C. Néanmoins, le bilan à 3 h donne une dégradation de l'acide ascorbique plus importante en conditions aérobies. Comme en solution modèle, il serait intéressant de pouvoir accéder en temps réel aux teneurs en oxygène dissous dans le milieu.

Contrairement à la purée de pomme, il y a clairement une différence observée entre des conditions aérobies et anaérobies partielles, et la différence est d'autant plus marquée à 95 °C (figure VI – 7). L'allure des courbes obtenues en conditions aérobies ne peuvent être modélisées avec un modèle fractionnel d'ordre 1. Ce modèle a pu néanmoins être utilisé pour modéliser les données en conditions anaérobies partielles (figure VI – 8).

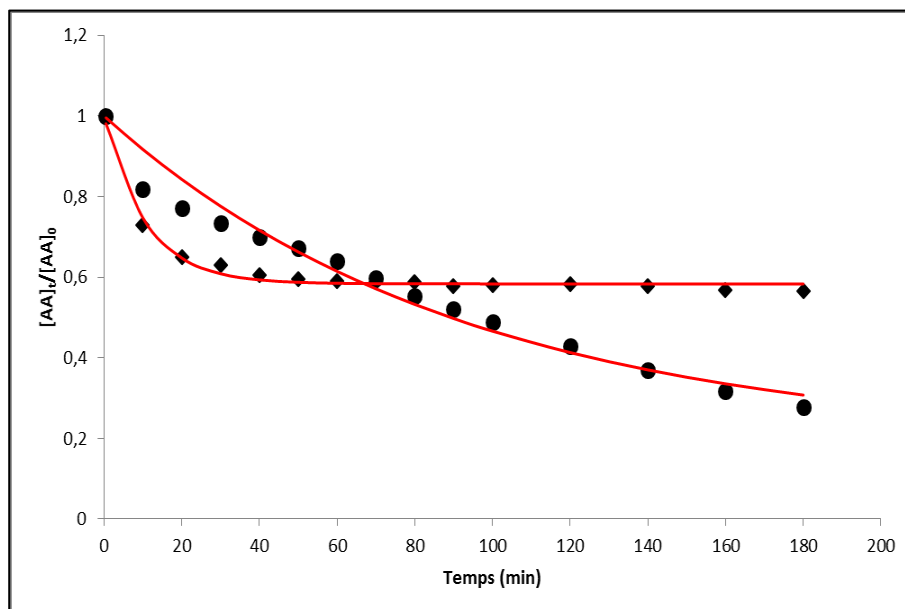


Figure VI - 8 : Evolution de la concentration (normalisée) en acide ascorbique avec $[AA]_i = 450$ mg/kg en fonction du temps en conditions anaérobies partielles à (♦) 95 °C et (●) 125 °C pour la purée de carotte ; les traits rouges représentent le modèle ajusté aux données

Les valeurs des paramètres k_a et C_∞ sont rapportés dans le tableau VI – 3.

Tableau VI - 3 : Valeur des paramètres k_a et C_∞ en fonction de la température en conditions anaérobies partielles

Température (°C)	C_∞ (%)	k_a (10^{-2} min^{-1})	R^2
95	58	$9,3 \pm 0,6$	0,9889
125	19	$1,1 \pm 0,2$	0,9709

La valeur du k_a à 95 °C est très supérieure à la valeur du k_a à 125 °C. Cela signifie qu'à 95 °C, la dégradation par voie oxydoréductive est plus rapide qu'à 125 °C, et que l'oxygène dissous a plus d'influence sur la dégradation de l'AA à 95 °C qu'à 125 °C. De plus, la plus faible valeur de C_∞ à 95 °C qu'à 125 °C (différence de 39 %) est très significative du fait qu'à 125 °C, la dégradation de l'AA survient plutôt sur un mécanisme de type non-oxydatif (et probablement hydrolytique).

5 Dégradation de l'acide ascorbique dans le jus de carotte

Ces traitements thermiques ont été également effectués sur du jus de carotte (figure VI – 9), jus qui était très peu visqueux mais dont le pH avait été ajusté à 4,31 par du jus de citron donc de l'acide citrique.

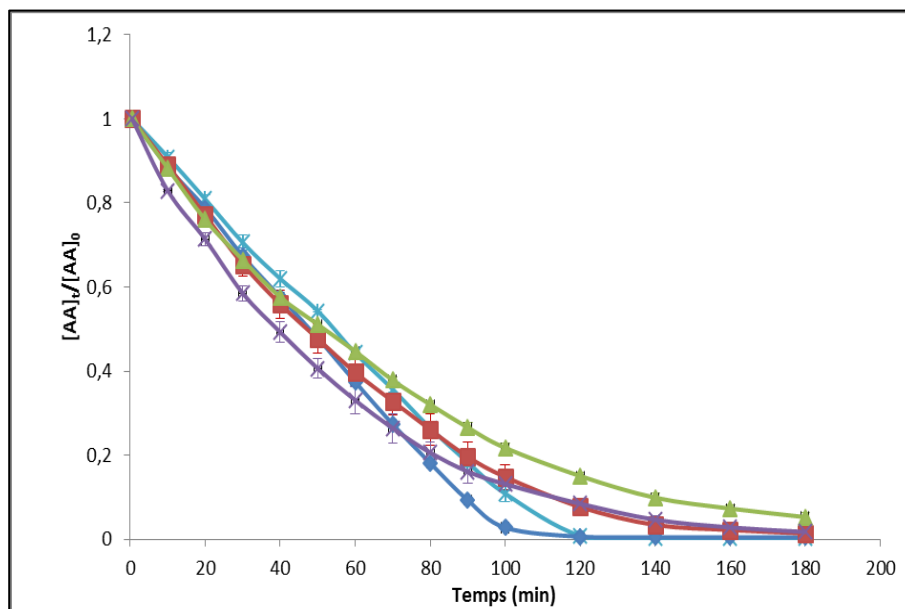


Figure VI - 9 : Evolution de la concentration (normalisée) en acide ascorbique avec $[AA]_i = 450$ mg/kg en fonction du temps à (x) 85 °C, (◆) 95 °C, (■) 105 °C, (▲) 115 °C et (x) 125 °C pour le jus de carotte

Les résultats obtenus sont très proches de ceux montrés pour la solution modèle (figure V – 18 B), c'est-à-dire des courbes très proches, et un comportement légèrement différent aux températures les plus élevées. Les similitudes de comportement entre le jus de carotte et la solution modèle pourraient s'expliquer par la nature de l'acide (citrique) utilisé pour l'acidification du jus de carotte, tandis que les différences observées entre la purée de carotte et le jus de carotte montreraient un impact soit du pH, soit des ions présents (l'acide citrique est un chélatant), soit d'autres composants de la matrice comme la crème ou les autres antioxydants, ici principalement des caroténoïdes.

Les mêmes expériences ont été refaites à 95 et 125 °C avec de l'azote dans l'espace de tête (figure VI – 10).

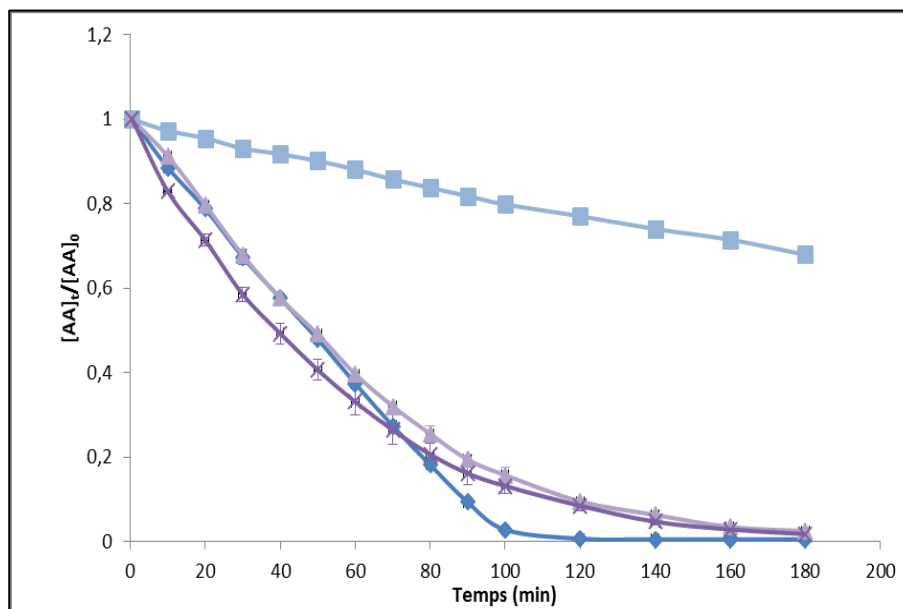


Figure VI - 10 : Evolution de la concentration (normalisée) en acide ascorbique avec $[AA]_i = 450$ mg/kg en fonction du temps à 95 °C en conditions (♦) aérobies et (■) anaérobies partielles et à 125 °C en conditions (▲) aérobies et (x) anaérobies partielles jus de carotte

L'évolution de la concentration en acide ascorbique a deux comportements différents selon la température considérée. En effet, à 125 °C, les vitesses de dégradation de l'acide ascorbique sont sensiblement les mêmes quel que soit le gaz de l'espace de tête. En revanche, à 95 °C, la dégradation est nettement plus rapide en présence d'oxygène, ce qui pourrait indiquer une part plus importante de dégradation de type oxydoréductif.

Pour le jus de carotte et contrairement à ce qui avait été observé pour la purée de pomme et la purée de carotte, il ne semble pas y avoir de phase de dégradation rapide lors des premières minutes de traitement thermique. Ceci pourrait être dû à un dégazage plus facile (agitation plus efficace ?) dans ce milieu peu visqueux, que dans les purées.

Une grande variabilité des cinétiques de dégradation de l'AA a pu être montrée dans ces trois aliments (deux purées, un jus) de pH et viscosités variables. Cela pourrait s'expliquer par des différences de propriétés physico-chimiques (viscosité) et de composition (acide citrique, matière grasse, polyphénols...). En effet, les différents composants chimiques des matrices n'ont peut-être pas la même interaction avec l'acide ascorbique présent dans le système, et n'ont probablement pas non plus la même sensibilité à la chaleur. Cela montre encore une fois l'importance primordiale de la nature de la matrice alimentaire considérée.

6 Devenir de l'oxygène au cours des cinétiques

Puisque de nombreux indices indiquent un impact majeur de la disponibilité en oxygène, des mesures de concentration en O_2 dissous dans le système ont été réalisées avant et après chaque traitement thermique

à 95 et 125 °C à l'aide de la sonde PreSens, pour tenter de clarifier le rôle de l'O₂ dans la dégradation de l'acide ascorbique (tableau VI – 4).

Tableau VI - 4 : Mesures de la concentration en O₂ dissous dans les différentes matrices avant et après traitement thermique à 95 et 125 °C et enrichissement en acide ascorbique avec [AA]_i = 450 mg/kg

			Moyenne	EC	Winkler
Eau distillée		<i>T</i> (°C)	22,8	0,10	23
		[O ₂] (mg/L)	8,13	0,15	8,58
Jus de carotte	<i>t</i> = 0	<i>T</i> (°C)	20,2	0,10	O₂ restant (% quantité initiale)
		[O ₂] (mg/L)	5,84	0,12	
	95 °C anaérobie	<i>T</i> (°C)	22,0	0,64	17,35
		[O ₂] (mg/L)	1,01	0,04	
	125 °C anaérobie	<i>T</i> (°C)	22,3	0,47	16,32
		[O ₂] (mg/L)	0,95	0,02	
	95 °C	<i>T</i> (°C)	21,2	0,15	20,61
		[O ₂] (mg/L)	1,20	0,03	
	125 °C	<i>T</i> (°C)	20,7	0,06	18,72
		[O ₂] (mg/L)	1,09	0,03	
Purée de carotte	<i>t</i> = 0	<i>T</i> (°C)	19,9	0,00	
		[O ₂] (mg/L)	8,24	0,03	
	95 °C	<i>T</i> (°C)	21,4	0,15	12,41
		[O ₂] (mg/L)	1,02	0,04	
	125 °C	<i>T</i> (°C)	19,2	0,10	11,77
		[O ₂] (mg/L)	0,97	0,06	
Purée de pomme	<i>t</i> = 0	<i>T</i> (°C)	21,1	0,06	
		[O ₂] (mg/L)	7,19	0,14	
	95 °C	<i>T</i> (°C)	20,4	0,50	15,07
		[O ₂] (mg/L)	1,08	0,05	
	125 °C	<i>T</i> (°C)	21,3	0,21	12,34
		[O ₂] (mg/L)	0,89	0,27	

Quelle que soit la matrice, la température de traitement thermique ou la concentration initiale en O₂, la même concentration finale en O₂ est obtenue après 3 heures de traitement thermique (autour de 1 mg/L). Cette valeur traduit une faible concentration en O₂ présent, mais correspond tout de même à environ 15 % de la concentration initiale. Il est dès lors difficile de déterminer si l'O₂ mesuré en fin de traitement thermique correspond à l'O₂ initialement présent dans la matrice n'ayant pas été totalement consommé par l'oxydation de l'acide ascorbique, ou à l'O₂ de l'espace de tête ayant pénétré dans la matrice en faibles proportions. Il faudrait pouvoir avoir un suivi de l'évolution de la concentration en O₂ dans le milieu au cours du temps. De plus, il ne faut pas négliger une possible imprécision de l'appareil.

Néanmoins, pour le jus de carotte, la concentration finale en O₂, après un traitement thermique avec du N₂ comme gaz d'espace de tête, est très proche de celle obtenue après un traitement thermique avec l'O₂ comme gaz d'espace de tête. Ainsi, il semblerait que la nature du gaz de l'espace de tête n'ait pas

d'influence sur la concentration en O_2 au sein de la matrice, ce qui laisserait supposer que l' O_2 présent dans l'espace de tête ne pénètre pas ou très peu dans la matrice au cours du traitement thermique.

Pour tenter de confirmer cette hypothèse, un suivi de la concentration en O_2 au sein du milieu à l'aide de la sonde PreSens a été réalisé avec le jus de carotte à $65\text{ }^\circ\text{C}$ (la sonde ne supportant pas des températures supérieures à $85\text{ }^\circ\text{C}$), et selon des modalités établies dans le projet *OPTIFEL* au CTCPA : traitement thermique avec le thermorésistomètre d'une durée de 5h20 avec une stabilisation de l' O_2 entre la matrice et l'espace de tête d'une durée d'1h30, une agitation à 1950 tours/min, une pression de 2.10^5 Pa , de l'air comprimé comme gaz d'espace de tête et une analyse de l'acide ascorbique par HPLC. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure VI – 11.

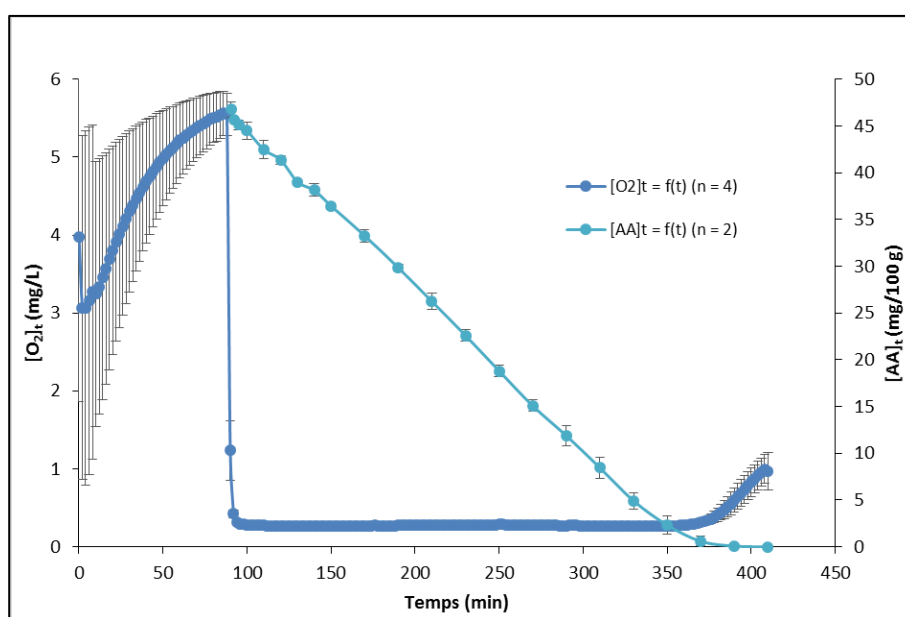


Figure VI - 11 : Evolution de la concentration en O_2 (axe de gauche) et en acide ascorbique (axe de droite) au cours du temps pour du jus de carotte avec un traitement thermique à $65\text{ }^\circ\text{C}$

Un temps long est nécessaire pour équilibrer l'oxygène entre l'espace de tête et la matrice, puisque cette concentration augmente pendant 1h30 après introduction du jus (le thermorésistomètre étant en surpression, il y a une augmentation des teneurs en O_2 dissous). Une autre observation importante concerne la très forte variation des teneurs initiales en oxygène dans le jus de carotte utilisé (de par le temps de stockage, la quantité d' O_2 dans la bouteille, le lot...).

La concentration en O_2 chute de manière flagrante et brutale dès que l'acide ascorbique est injecté dans le milieu, pour atteindre une concentration proche de zéro ($0,27\text{ mg/L}$ en moyenne). Puis, pour toute la durée du traitement thermique et tant qu'il y a encore de l'acide ascorbique dans le milieu, la concentration en O_2 reste proche de zéro, et n'augmente à nouveau qu'une fois l'acide ascorbique entièrement consommé. Cela montre bien que la dissolution de l' O_2 présent dans l'espace de tête est remarquablement plus lente que sa consommation par l'oxydation de l'acide ascorbique, avec trois conséquences : 1) l' O_2 est le réactif limitant ; 2) l' O_2 initialement présent est rapidement consommé par réaction de dégradation oxydoréductive

de l'acide ascorbique, ce qui explique les phases initiales plus rapides ; 3) l'interface liquide / espace de tête est probablement un lieu privilégié pour la dégradation de l'acide ascorbique .

En effet, il doit y avoir une mince couche en surface où l'O₂ est en contact avec la matrice et plus particulièrement avec l'acide ascorbique, et où une oxydation a lieu. Comme le milieu est agité, la diminution de la concentration en acide ascorbique se retrouve dans toute la matrice.

Ainsi, le suivi de la concentration en O₂ dissous au cours du temps renforce l'hypothèse selon laquelle il y aurait deux mécanismes successifs de dégradation de l'acide ascorbique au sein des matrices alimentaires lors d'un traitement thermique : un mécanisme de type oxydoréductif lors des premières minutes de traitement thermique où l'O₂ initialement présent au sein de la matrice réagirait immédiatement en tant que réactif limitant avec l'acide ascorbique, suivi d'un mécanisme de type hydrolytique au sein du système devenu pauvre en O₂, avec un impact plus marqué de la température. Parallèlement, l'O₂ de l'espace de tête ayant des difficultés à pénétrer dans la matrice, une réaction de dégradation de type oxydoréductif aurait lieu en surface seulement, à l'interface entre la matrice et l'espace de tête, où l'O₂ est en contact direct avec l'acide ascorbique contenu dans la matrice. Ceci pourrait aussi expliquer l'impact de la viscosité des purées, qui influencerait les échanges surface / volume.

7 Conclusions

L'objectif de cette étude était de pouvoir mettre au point un outil technique prédictif de la qualité nutritionnelle des aliments après un traitement thermique, par l'établissement d'un modèle cinétique unique de la dégradation de la vitamine C au sein de matrices alimentaires.

Les travaux effectués en solution modèle ont montré que l'ordre réactionnel de la dégradation de l'acide ascorbique était différent selon la disponibilité en O₂ dans le milieu : un ordre apparent de 0,5 a été déterminé en conditions aérobies lorsque la pression partielle en oxygène était supérieure ou égale à 63 kPa, et de 0,75 lorsque la pression partielle en oxygène était de 30 kPa, traduisant ainsi une convolution de mécanismes (l'ordre réactionnel dépendait de la pression partielle en O₂, et le mécanisme de dégradation semblait indépendant de la température), tandis qu'un ordre 1 a été déterminé en conditions anaérobies, avec un mécanisme de dégradation de type hydrolytique dont la vitesse dépend de la température. Ces ordres « exotiques » sont probablement dus à la disponibilité ou plutôt à la non-disponibilité de l'oxygène dans le milieu, comme montré lors des expériences à 65 °C dans le jus de carotte : l'oxydation aurait lieu non pas dans le volume du liquide, mais uniquement à l'interface. Ces résultats sont d'ailleurs cohérents avec ceux obtenus par Herbig (2016) sur des milieux non agités, où elle observait une oxydation en surface uniquement (Herbig, 2016).

Les résultats obtenus dans les aliments ont montré un mécanisme de dégradation de l'acide ascorbique plus complexe. En effet, il semblerait que la dégradation de l'acide ascorbique en matrice alimentaire se déroule selon plusieurs mécanismes simultanés et/ou successifs. L'évolution de la concentration en acide

ascorbique au cours d'un traitement thermique à haute température semble indiquer une oxydation rapide de l'acide ascorbique par l'O₂ initialement présent dans le milieu. Cet O₂ serait entièrement consommé par la dégradation oxydoréductrice de l'acide ascorbique et ne parviendrait pas à se renouveler au sein du système car la viscosité serait un frein à la pénétration de l'O₂ de l'espace de tête et à l'homogénéisation des concentrations d'acide ascorbique. Par la suite, le mécanisme de dégradation principal de l'acide ascorbique dans le milieu serait de type hydrolytique (l'O₂ étant en défaut), avec tout de même en parallèle une dégradation de type oxydoréductif ayant lieu à l'interface entre la matrice et l'espace de tête.

Néanmoins, il subsiste une grande variabilité de comportement de l'acide ascorbique au sein des différents aliments modèles utilisés lors d'un traitement thermique, de par leur composition chimique, leurs propriétés rhéologiques, la disponibilité en O₂, le pH... Cela rend donc la modélisation de la dégradation de l'acide ascorbique difficile, et l'établissement d'un modèle cinétique unique de la dégradation de la vitamine C au sein de matrices alimentaires lors de traitements thermiques semble illusoire.

Il serait intéressant par la suite d'axer l'étude sur les phénomènes à l'interface, afin de tenter de déterminer leur influence sur la dégradation de l'acide ascorbique.

*Chapitre VII : Approche couplée
bénéfice/risque*

Chapitre VII : Approche couplée bénéfique/risque

Malgré la complexité de la dégradation de l'acide ascorbique, un essai de modèle de prédiction tenant compte des aspects sécurité et qualité nutritionnelle a été tenté, en utilisant les résultats obtenus en solution modèle (tampon citrate phosphate) en conditions d'anaérobiose, jugées plus réalistes lors de la fabrication des boîtes de conserve (emboîtage à chaud donc faibles concentrations en oxygène, boîtes scellées lors de l'appertisation donc pas de renouvellement de l'espace de tête).

1 Modèle choisi

Pour l'élaboration du modèle de prédiction, nous avons fait le choix du modèle de Mafart et Leguérinel (Équation IV – 33) car il tient compte à la fois de la température et du pH du milieu. L'équation du modèle est la suivante :

$$\log(D) = \log(D^*) - \frac{T-T^*}{z_T} - \left(\frac{pH-pH^*}{z_{pH}}\right)^2 \quad \text{Équation IV - 33}$$

Ce modèle tient compte à la fois de la température de traitement et du pH du milieu. Sa seule limitation est qu'il faut que les cinétiques de destruction des bactéries et des vitamines suivent une cinétique d'ordre 1.

2 Choix des entités

Pour la partie qualité, nous avons choisi comme descripteur la vitamine C (acide ascorbique).

Pour la partie sécurité, nous avons choisi les trois bactéries d'altération les plus responsables du surissement des aliments en boîtes de conserve : *Bacillus coagulans* (bactérie mésophile), *Geobacillus stearothermophilus* (bactérie thermophile) et *Moorella thermoacetica/thermoautotrophica* (bactérie thermophile).

3 Paramètres du modèle et approximations

Les données concernant l'acide ascorbique sont issues de ce travail de recherche doctorale, les données concernant les bactéries ont été obtenues lors de travaux précédemment effectués au CTCPA.

Les approximations suivantes ont été faites :

- A) Nous avons, pour la partie qualité, modélisé uniquement la dégradation de l'acide ascorbique en conditions anaérobies. Le modèle ne fonctionne donc à ce jour qu'en conditions d'anaérobiose.
- B) Nous avons considéré que la cinétique de destruction de l'acide ascorbique suit une cinétique d'ordre 1 quel que soit le pH (bien qu'à pH = 4,5 nous étions sur une cinétique d'ordre 0,5).

- C) Nous avons considéré que la réaction de dégradation de l'acide ascorbique avait un comportement classique d'évolution en fonction de la température (suivant la loi d'Arrhenius) quel que soit le pH (ce qui n'est pas le cas à pH = 5,5).
- D) La destruction des bactéries est considérée d'ordre 1 (ou log-linéaire), ce qui est vrai dans la majeure partie des cas. Il existe néanmoins des cas où la destruction de bactéries suit une loi de Weibull.
- E) Le z_{pH} pour l'acide ascorbique a été déterminé entre deux valeurs de pH (2,5 et 3,5).

Les paramètres D^* , pH^* , T^* , z_T et z_{pH} pour chaque entité sont énumérés dans le tableau suivant.

Tableau VII - 1 : Paramètres utilisés pour le modèle de prédiction pour chaque entité

Entité	T^* (°C)	pH^*	D^* (min)	z_T (°C)	z_{pH}
Acide ascorbique	110	3,5	1525	42	2,1
<i>Bacillus coagulans</i>	121,1	7	0,0225	8,5	4,6
<i>Geobacillus stearothermophilus</i>	121,1	7	3,3	9,1	4,3
<i>Moorella thermoacetica/thermoautotrophica</i>	121,1	7	111	7,6	3,6

Pour chaque entité, on obtient donc les équations suivantes exprimant la variation de D en fonction de la température et du pH :

Pour l'acide ascorbique :

$$\log(D) = \log(1525) - \frac{T-110}{40,3} - \left(\frac{pH-3,5}{2,1}\right)^2 \quad \text{Équation VII - 1}$$

Pour *Bacillus coagulans* :

$$\log(D) = \log(0,0225) - \frac{T-121,1}{8,5} - \left(\frac{pH-7}{4,6}\right)^2 \quad \text{Équation VII - 2}$$

Pour *Geobacillus stearothermophilus* :

$$\log(D) = \log(3,3) - \frac{T-121,1}{9,1} - \left(\frac{pH-7}{4,3}\right)^2 \quad \text{Équation VII - 3}$$

Pour *Moorella thermoacetica/thermoautotrophica* :

$$\log(D) = \log(111) - \frac{T-121,1}{7,6} - \left(\frac{pH-7}{3,6}\right)^2 \quad \text{Équation VII - 4}$$

Contrairement au cas de l'acide ascorbique, le gaz d'espace de tête n'a pas d'influence sur la destruction des spores bactériennes. Ce modèle devra néanmoins être amélioré pour tenir compte de l'oxygène pour ce qui est de la dégradation de l'acide ascorbique durant les processus d'appertisation. De plus, les données issues de la dégradation de l'acide ascorbique ont été obtenues uniquement en solution modèle.

4 Interface du modèle de prédiction

L'interface du modèle de prédiction a été élaborée dans un premier temps avec le logiciel Excel 2013.

A renseigner	T° (°C)	pH	Temps (min)						
	100	4,5	200						
Entité	log(D)	D			Entité	%			
AA	3,19460771	1565,3365			AA	0,745129822			
Gbs	2,49917471	315,627407			Gbs	0,232456377			
B.coagulans	0,53916684	3,460723			B.coagulans	1,61662E-58			
M.thermoacetica	4,33938568	21846,6918			M.thermoacetica	0,979141134			
Valeur des D* en min			Valeur des z _T en °C		Valeur des z _{pH}				
D* AA	1525		z _T AA	42	z _{pH} AA	2,1			
D* Gbs	3,3		z _T Gbs	9,1	z _{pH} Gbs	4,3			
D* B. coagulans	0,0225		z _T B. coagulans	8,5	z _{pH} B. coagulans	4,6			
D* M.thermoacetica	111		z _T M.thermoacetica	7,6	z _{pH} M.thermoacetica	3,6			
D* est le D de référence pris à une température et un pH de référence									
T _{réf} (AA) °C	110		pH* (AA)	3,5	! Ne remplir que les cases jaunes !				
T _{réf} (bactéries) °C	121,1		pH* (bactéries)	7					

Figure VII - 1 : Image de l'interface excel du modèle de prédiction

Dans cette interface, l'utilisateur doit renseigner la température du traitement (en °C), le pH du milieu et le temps. L'interface renseignera l'utilisateur sur le pourcentage restant de l'entité considérée au bout du temps de traitement choisi selon les paramètres de température et de pH définis.

Le pourcentage de l'entité restante est ce que l'on appelle le ratio de survie, noté S_0 , et défini selon l'équation suivante :

$$S_0 = \frac{N_t}{N_0} = 10^{\frac{-t}{D}} \quad \text{Équation VII - 5}$$

Dans l'exemple présenté figure VII – 1, à 100 °C, à un pH de 4,5 et au bout de 200 minutes, il resterait 74,5 % d'acide ascorbique, 23,2 % de *Gbs*, plus de *B. coagulans* et 97,9 % *Moo tlt*.

D'autre part, il est possible grâce à une seconde interface de déterminer le meilleur couple temps/température afin d'optimiser le traitement thermique d'un système produit/procédé.

A renseigner	T° (°C)	pH	Temps (min)	! Ne remplir que les cases jaunes !				
	125	4,5	14,96402556					
Entité	log(D)	D		Entité	%	% désiré	SSE	Σ SSE (AA + Spore)
AA	2,59936962	397,529733		AA	0,916974943	1	0,00689316	
Gbs	-0,24807804	0,56483547		Gbs	3,21576E-27	0,000001	1E-12	0,00689316
B.coagulans	-2,40200963	0,00396269		B.coagulans	0	0,000001	1E-12	0,00689316
M.thermoacetica	1,049912	11,2179112		M.thermoacetica	0,046351047	0,000001	0,002148327	0,009041487
Valeur des D* en min		Valeur des z _T en °C		Valeur des z _{pH}			Contraintes	
D* AA	1525	z _T AA	42	z _{pH} AA	2,1		bas	haut
D* Gbs	3,3	z _T Gbs	9,1	z _{pH} Gbs	4,3	T (°C)	105	125
D* B.coagulans	0,0225	z _T B.coagulans	8,5	z _{pH} B.coagulans	4,6	pH	4,5	4,5
D* M.thermoacetica	111	z _T M.thermoacetica	7,6	z _{pH} M.thermoacetica	3,6	Temps (min)	0	200
D* est le D de référence pris à une température et un pH de référence								
T _{réf} (AA) °C	110	pH* (AA)	3,5	mg/100g	UFC/g			
T _{réf} (bactéries) °C	121,1	pH* (bactéries)	7	[AA] _i	[Gbs] _i	[B.coagulans] _i	[M.thermoacetica] _i	
				Initial	25	1,00E+03	1,00E+03	1,00E+03
				Final	22,92	3,22E-24	0,00E+00	4,64E+01

Figure VII - 2 : Image de l'interface excel du modèle de prédiction en mode « détermination de paramètres optimaux » pour un système produit/procédé

Dans cette interface du modèle de prédiction, il est possible pour l'utilisateur de renseigner des limites inférieures et supérieures de température, le temps de traitement, et éventuellement, si le produit le permet, de faire de même pour le pH. Il est également possible de ne tenir compte que d'un microorganisme cible. Il faut également qu'un barème de stérilisation puisse détruire au moins 6 log de la population initiale de spores bactériennes (soit une division de la population par 1 million), en admettant qu'une concentration initiale en spores dans une boîte de conserve est de l'ordre de 3 log (UFC/mL), soit de l'ordre du millier.

Dans la figure VII – 2, l'exemple d'une matrice contenant des spores de *Moo t/t* comme source d'altération a été choisie. Les bornes limites de température que l'on souhaite encadrer vont de 105 à 125 °C, avec un temps de traitement ne pouvant excéder 200 minutes ; le pH ne pouvant être ajusté, il est fixé à 4,5. Il ressort que l'optimum de traitement dans cas est de 15 min à 125 °C, avec une rétention en acide ascorbique de 91 %, soit une concentration finale de 22,9 mg/100 g à partir d'une concentration initiale de 25 mg/100 g.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

L'objectif de cette étude était de mettre au point un outil prédictif de la qualité nutritionnelle des aliments après un traitement thermique, par l'établissement d'un modèle cinétique unique de la dégradation de la vitamine C au sein de matrices alimentaires.

Nous avons dans un premier temps étudié la dégradation de la vitamine C (acide ascorbique) en solution modèle au cours de différents traitements thermiques simulés dans un nouvel outil expérimental, le thermorésistomètre, permettant de mieux contrôler l'ensemble des paramètres expérimentaux pouvant influencer cette dégradation. Cet appareil nous a permis de pouvoir réaliser des études en anaérobiose stricte mais également avec différentes pressions partielles en oxygène dans l'espace de tête grâce à la possibilité d'utiliser divers mélanges gazeux d'une part, et de moduler la pression de l'espace de tête d'autre part. Il nous a également permis de travailler à des températures supérieures à 100 °C.

Les travaux effectués en solution modèle ont montré que l'ordre réactionnel de la dégradation de l'acide ascorbique était différent selon la disponibilité en O₂ dans le milieu : un ordre apparent variant de 0,5 à 0,75 a été déterminé en conditions aérobies en fonction de la pression partielle en oxygène dans l'espace de tête, traduisant une convolution de mécanismes d'une part, et une ségrégation mécanistique d'autre part (l'ordre réactionnel dépendait de la concentration en acide ascorbique et de la concentration en O₂, et la vitesse de dégradation semblait indépendant de la température), tandis qu'un ordre 1 a été déterminé en conditions anaérobies, avec un mécanisme de dégradation de type hydrolytique dont la vitesse varie avec la température et le pH. La valeur de l'ordre réactionnel pourrait donc traduire un ratio entre les voies de dégradation oxydoréductrice et hydrolytique. Il y a une forte interaction entre la pression partielle en oxygène et la température lors de la dégradation de l'acide ascorbique par voie oxydoréductrice.

Pour ce qui est des études réalisées en matrice alimentaire, la dégradation de l'acide ascorbique dépend fortement de la matrice dans laquelle il se trouve, et probablement de la diffusion et de la solubilité en oxygène dans la matrice. La présence de catalyseurs ou autres substrats favorisant l'oxydation sont également des paramètres dont il faut tenir compte. Il n'a donc pas été possible de valider la modélisation établie en solution modèle pour les matrices alimentaires. De plus, l'établissement d'un modèle unique pour les matrices, en tenant compte uniquement de la température, du pH ou de la teneur en oxygène semble compromis. Il a été néanmoins démontré que la taille des particules n'avait pas d'influence sur la disponibilité en oxygène au sein d'une matrice.

Les produits de dégradation sont observés en proportions variables selon la pression partielle d'oxygène et la température. Le furfural est le seul produit détecté en anaérobiose, et sa proportion relative en conditions aérobies augmente avec la température et diminue lorsque la pression partielle d'oxygène augmente. Ceci indique bien la persistance de la voie hydrolytique et sa part relative dans la dégradation de l'AA. Les résultats sont plus complexes pour les deux produits indicateurs de la voie oxydoréductrice, car

ils ne suivent pas exactement les mêmes tendances. Pour le 3-OH-2P, les quantités formées sont proches à 95 – 115 °C, et plus faibles à 125 °C sauf à la pression partielle d'oxygène la plus élevée, tandis que pour l'acide furoïque, les quantités formées augmentent avec la température. Des étapes intermédiaires de dégradation sont donc influencées de façon différente par les conditions de température et pression partielle d'oxygène.

Un premier modèle de prédiction de la perte en acide ascorbique couplée à la destruction de spores bactérienne a pu être élaboré. Il permet d'identifier un couple temps/température optimal à appliquer en fonction du système produit/procédé. Cependant, ce modèle est limité, puisqu'il ne s'applique qu'en conditions d'anaérobiose strictes et en solution modèle. Il reste beaucoup de connaissances à acquérir afin de pouvoir l'étendre à des matrices réelles et des conditions d'aérobiose. Un point limitant majeur apparu au cours de ce travail est un manque de connaissance sur la dissolution de l'oxygène, qu'il s'agisse des concentrations saturantes ou des cinétiques de diffusion.

Pour la suite de ce projet doctoral, il conviendrait de réaliser une modélisation par une approche mécanistique, prenant en compte les deux voies de dégradation et la teneur en l'oxygène dans le milieu réactionnel (dépendantes des propriétés intrinsèques de la matrice).

Concernant le thermorésistomètre, malgré ses nombreux avantages, il semble néanmoins très limité en ce qui concerne la possibilité d'étudier des thermorésistances de bactéries ou de vitamines dans diverses matrices alimentaires. En effet, l'appareil semble avoir été conçu uniquement pour effectuer des traitements thermiques en solution modèle, et cela est démontré notamment par deux éléments :

- La résistance chauffante de 2 kW a une chaleur spécifique de 10 W/cm², ce qui est parfait pour une utilisation en solution modèle, mais pas pour une utilisation avec des matrices. En effet, les matrices étant beaucoup plus complexes que la solution modèle, notamment par leur viscosité ou leur taux de sucre, une telle valeur de chaleur spécifique est dix fois trop élevée : il serait préférable d'avoir une résistance ayant une chaleur spécifique de 1 W/cm². En effet, une chaleur spécifique élevée provoque une augmentation de température très localisée, et ce d'autant plus si l'agitation est entravée.
- Le système d'agitation par hélice est également conçu pour travailler en solution modèle et n'est pas du tout suffisant pour travailler sur matrice. Le travail sur matrice nécessite obligatoirement une dilution au préalable afin de rendre cette dernière le plus liquide possible.

Pour améliorer le thermorésistomètre, il conviendra donc de concevoir un système de chauffage et un système d'agitation plus spécifiques et plus robustes pour pouvoir effectuer des traitements thermiques directement sur des matrices alimentaires, sans qu'une dilution préalable ne soit nécessaire.

Au cours de ce projet, il a clairement été démontré l'importance de l'oxygène dans l'altération de la qualité nutritionnelle. Il a notamment été démontré que l'oxygène dissous dans une matrice alimentaire

avait plus d'impact que l'oxygène présent dans l'espace de tête au cours du traitement thermique, alors qu'en solution modèle, la présence ou non d'oxygène dans l'espace de tête influe fortement sur la dégradation de l'AA. L'oxygène est apparu comme un facteur clé des cinétiques de dégradation de l'acide ascorbique. Cependant, du fait des limitations techniques des sondes à oxygène (hautes températures), la teneur en oxygène a dû être estimée en fonction de la température et de la pression partielle au sein du système, ce qui a été fait en utilisant le modèle de Tromans (1998). En effet, il ne semble pas exister de sonde permettant de mesurer la concentration en oxygène dans un liquide à des températures supérieures à 100 °C.

D'un point de vue pratique, désaérer un produit avant un traitement thermique apparaît être théoriquement la meilleure solution, ou alors il est nécessaire de procéder à un isolement des appareils de l'air extérieur. Cependant, cela est compliqué à réaliser en pratique :

- Dans le cas de fruits ou de légumes en morceaux, de l'oxygène est occlus à l'intérieur des matrices et pour dégazer ces légumes, un blanchiment plus drastique est nécessaire. Cependant, tous les produits ne résistent pas à une double cuisson (blanchiment suivi d'un traitement thermique) ;
- Dans le cas de purée de fruits ou de légumes, une désaération est possible au cours des processus mais d'autant plus difficile que la purée est épaisse ;
- Dans le cas de boissons, une désaération simple peut être faite par barbotage d'azote.

Maintenir un produit à l'abri de l'oxygène du début à la fin du procédé de mise en boîte apparaît compliqué d'un point de vue matériel et financier. Pour optimiser la qualité nutritionnelle d'un produit, il convient donc de le maintenir le plus possible à l'abri de l'air au cours des procédés de fabrication. A défaut de pouvoir obtenir un produit totalement dépourvu d'oxygène, il s'agit d'obtenir un produit contenant le minimum possible d'oxygène en optimisant les étapes du procédé de fabrication d'une boîte de conserve.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- ACHIR, N., DHUIQUE-MAYER, C., HADJAL, T., MADANI, K., PAIN, J.-P. & DORNIER, M. 2016. Pasteurization of citrus juices with ohmic heating to preserve the carotenoid profile. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 33, 397-404.
- ADEKUNTE, A. O., TIWARI, B. K., CULLEN, P. J., SCANNELL, A. G. M. & O'DONNELL, C. P. 2010. Effect of sonication on colour, ascorbic acid and yeast inactivation in tomato juice. *Food Chemistry*, 122, 500-507.
- AGIUS, F., GONZÁLEZ-LAMOTHE, R., CABALLERO, J. L., MUÑOZ-BLANCO, J., BOTELLA, M. A. & VALPUESTA, V. 2003. Engineering increased vitamin C levels in plants by overexpression of a D-galacturonic acid reductase. *Nature Biotechnology*, 21, 177-181.
- AHN, J., LEE, H.-Y. & BALASUBRAMANIAM, V. M. 2014. Inactivation of *Geobacillus stearothermophilus* spores in low-acid foods by pressure-assisted thermal processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95, 174-178.
- AL-KHAYAT, M. & MUELLER, G. 1982. Causes of microbial spoilage in sterile canned sweet cherries. *Ind Obst und Gemüse verwert*, 67, 731-737.
- AL-ZUBAIDY, M. M. I. & KHALIL, R. A. 2007. Kinetic and prediction studies of ascorbic acid degradation in normal and concentrate local lemon juice during storage. *Food Chemistry*, 101, 254-259.
- AL FATA, N., GEORGÉ, S., ANDRÉ, S. & RENARD, C. M. G. C. 2016. Determination of reaction orders for ascorbic acid degradation during sterilization using a new experimental device: The thermoresistometer Mastia®. *LWT - Food Science and Technology*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2016.08.043>.
- ANDERSON, R. E. 1984. Growth and Corresponding Elevation of Tomato juice pH by *Bacillus coagulans*. *Journal of Food Science*, 49, 647.
- ANDRÉ, S., ZUBER, F. & REMIZE, F. 2013. Thermophilic spore-forming bacteria isolated from spoiled canned food and their heat resistance. Results of a French ten-year survey. *International Journal of Food Microbiology*, 165, 134-143.
- ARIAHU, C. C., ABASHI, D. K. & CHINMA, C. E. 2011. Kinetics of ascorbic acid loss during hot water blanching of fluted pumpkin (*Telfairia occidentalis*) leaves. *Journal of Food Science and Technology*, 48, 454-459.
- ARRIGONI, O. & DE TULLIO, M. C. 2002. Ascorbic acid: much more than just an antioxidant. *Biochemica and Biophysica Acta*, 1569, 1-9.
- ARYA, S. P., MAHAJAN, M. & JAIN, P. 1998. Photometric Methods for Determination of Vitamin C. *Japan Society for Analytical Chemistry*, 14, 889-895.
- ASSIRY, A. M., SASTRY, S. K. & SAMARANAYAKE, C. P. 2006. Influence of temperature, electrical conductivity, power and pH on ascorbic acid degradation kinetics during ohmic heating using stainless steel electrodes. *Bioelectrochemistry*, 68, 7-13.
- BAÉZ, R., ROJAS, G., SANDOVAL-GUILLÉN, J. & VALVIDIA-LÓPEZ, Á. 2012. Effect of Storage Temperature on the Chemical Stability of Enteral Formula. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 4, 235-242.
- BALL, A. S. & EDWARDS, C. 1986. The respiratory chain of the facultative thermophile, *Bacillus coagulans*. *Archives of Microbiology*, 145, 347-352.
- BALL, C. O. & OLSON, F. C. W. 1957. *Sterilization in food technology: theory, practice and calculations*, New York, USA, McGraw-Hill Book Compagny, Inc.
- BEKER, B. Y., SÖNMEZOĞLU, I., IMER, F. & APAK, R. 2011. Protection of ascorbic acid from copper(II)-catalyzed oxidative degradation in the presence of flavonoids: quercetin, catechin and morin. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 62, 504-512.
- BERLINET, C., BRAT, P., BRILLOUET, J.-M. & DUCRUET, V. 2006. Ascorbic acid, aroma compounds, and browning of orange juices related to PET packaging materials and pH. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 2206-2212.

- BLASCO, R., ESTEVE, M. J., FRÍGOLA, A. & RODRIGO, C. 2004. Ascorbic acid degradation kinetics in mushrooms in a high-temperature short-time process controlled by a thermoresistometer. *LWT - Food Science and Technology*, 37, 171-175.
- BODE, A. M., CUNNINGHAM, L. & ROSE, R. C. 1990. Spontaneous Decay of Oxidized Ascorbic Acid (Dehydro-L-ascorbic Acid) Evaluated by High-Pressure Liquid Chromatography. *Clinical Chemistry*, 36, 1807-1809.
- BOSCH, V., CILLA, A., GARCÍA-LLATAS, G., GILABERT, V., BOIX, R. & ALEGRÍA, A. 2013. Kinetics of ascorbic acid degradation in fruit-based infant foods during storage. *Journal of Food Engineering*, 116, 298-303.
- BOUDRANT, J. 1990. Microbial processes for ascorbic acid biosynthesis: a review. *Enzyme and Microbial Technology*, 12, 322-329.
- BOURGEOIS, C. 2003. *Les vitamines dans les Industries Agro-Alimentaires*, Paris.
- BRADSHAW, M. P., PRENZLER, P. D. & SCOLLARY, G. R. 2001. Ascorbic acid induced browning of (+)-catechin in a model wine system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 934-939.
- BREWER, M. S. & BEGUM, S. 2003. Effect of microwave power level and time on ascorbic acid content, peroxidase activity and color of selected vegetables. *Journal of Food Processing and Preservation*, 27, 411-426.
- BRÖNNIMAN, C., BODNAR, Z., HUG, T., MALLAT, T. & BAIKER, A. 1994. Direct Oxidation of L-sorbise to 2-Keto-L-gulonic Acid with Molecular Oxygen on Platinum- and Palladium-Based Catalysts. *Journal of Catalysis*, 150, 199-211.
- BURDURLU, H. S., KOCA, N. & KARADENIZ, F. 2006. Degradation of vitamin C in citrus juice concentrates during storage. *Journal of Food Engineering*, 74, 211-216.
- BYRER, D. E., RAINEY, F. A. & WIEGEL, J. 2000. Novel strains of *Moorella thermoacetica* form unusually heat-resistant spores. *Archives of Microbiology*, 174, 334-339.
- CASTRO, I., TEIXEIRA, J. A., SALENGKE, S., SASTRY, S. & VICENTE, A. A. 2004. Ohmic heating of strawberry products: electrical conductivity measurements and ascorbic acid degradation kinetics. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 5, 27-36.
- CHAKRABORTY, S., RAO, P. S. & MISHRA, H. N. 2015. Effect of combined high pressure-temperature treatments on color and nutritional quality attributes of pineapple (*Ananas comosus* L.) puree. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 28, 10-21.
- CONDÓN, S., ARRIZUBIETA, M. J. & SALA, F. J. 1993. Microbial heat resistance determinations by the multipoint system with the thermoresistometer TR-SC Improvement of this methodology. *Journal of Microbiological Methods*, 18, 357-366.
- CONESA, R., ANDREU, S., FERNÁNDEZ, A., ESNOZ, A. & PALOP, A. 2009a. Nonisothermal heat resistance determinations with the thermoresistometer Mastia. *Journal of Applied Microbiology*, 117, 506-513.
- CONESA, R., ANDREU, S., FERNÁNDEZ, P. S., ESNOZ, A. & PALOP, A. 2009b. Nonisothermal heat resistance determinations with the thermoresistometer Mastia. *Journal of Applied Microbiology*, 107, 506-513.
- COOPER, A. J. L., GINOS, J. Z. & MEISTER, A. 1983. Synthesis and properties of the *Chemical Reviews*, 83, 321-358.
- CORTÉS, C., ESTEVE, M. J. & FRÍGOLA, A. 2008. Effect of refrigerated storage on ascorbic acid content of orange juice treated by pulsed electric fields and thermal pasteurization. *European Food Research and Technology*, 227, 629-635.
- COUVERT, O. 2002. *Prise en compte de l'influence du pH dans l'optimisation des traitements thermiques*. Ph. D, Université de Bretagne Occidentale.
- CRUZ, R. S. M., VIEIRA, M. C. & SILVA, C. L. M. 2008. Effect of heat and thermosonication treatments on watercress (*Nasturtium officinale*) vitamin C degradation kinetics. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9, 483-488.
- DARYAEI, H. & BALASUBRAMANIAM, V. M. 2013. Kinetics of *Bacillus coagulans* spore inactivation in tomato juice by combined pressure-heat treatment. *Food Control*, 30, 168-175.
- DAVEY, M. W., VAN MONTAGU, M., INZÉ, D., SANMARTIN, M., KANELLIS, A., SMIRNOFF, N., BENZIE, I. J. J., STRAIN, J. J., FAVELL, D. & FLETCHER, J. 2000. Plant L-ascorbic acid:

- chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 825-860.
- DE CLERCK, E., RODRIGUEZ-DIAZ, R., FORSYTH, G., LEBBE, L., LOGAN, A. L. & DE VOS, P. 2004. Polyphasic Characterization of *Bacillus coagulans* Strains, Illustrating Heterogeneity within this Species, and Emended Description of the Species. *Systematic and Applied Microbiology*, 27, 50-60.
- DE LEVIE, R. 2012. *Advanced Excel for Scientific Data Analysis (3 ed.)*, Brunswick, Maine USA: Atlantic Academic LLC, Oxford University Press.
- DELCHIER, N., REICH, M. & RENARD, C. M. G. C. 2012. Impact of cooking methods on folates, ascorbic acid and lutein in green beans (*Phaseolus vulgaris*) and spinach (*Spinacea oleracea*). *LWT - Food Science and Technology*, 49, 197-201.
- DEROSSI, A., DE PILLI, T. & FIORE, A. G. 2010. Vitamin C kinetic degradation of strawberry juice stored under non-isothermal conditions. *LWT - Food Science and Technology*, 43, 590-595.
- DHUIQUE-MAYER, C., TBATOU, M., CARAIL, M., CARIS-VEYRAT, C., DORNIER, M. & AMIOT, M. J. 2007a. Thermal Degradation of Antioxydant Micronutrients in Citrus Juice : Kinetics and Newly Formed Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 4209-4216.
- DHUIQUE-MAYER, C., TBATOU, M., CARAIL, M., CARIS-VEYRAT, C., DORNIER, M. & AMIOT, M. J. 2007b. Thermal Degradation of Antioxydant Micronutrients in Citrus Juice: Kinetics and Newly Formed Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 4209-4216.
- DRAKE, H. L. & DANIEL, S. L. 2004. Physiology of the thermophilic acetogen *Moorella thermoacetica*. *Research in Microbiology*, 155, 869-883.
- DRUSCH, S., KOPKA, S. & KAEDING, J. 2007. Stability of patulin in a juice-like aqueous model system in the presence of ascorbic acid. *Food Chemistry*, 100, 192-197.
- DURAND, L., PLANCHON, S., GUINEBRETIERE, M.-H., ANDRÉ, S., CARLIN, F. & REMIZE, F. 2015a. Contamination pathways of spore-forming bacteria in a vegetable cannery. *International Journal of Food Microbiology*, 202, 10-19.
- DURAND, L., PLANCHON, S., GUINEBRETIERE, M.-H., CARLIN, F. & REMIZE, F. 2015b. Genotypic and phenotypic characterization of foodborne *Geobacillus stearothermophilus*. *Food Microbiology*, 45, 103-110.
- EFSA 2013. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for vitamin C. *European Food Safety Authority Journal*, 11, 3418-3485.
- EISON-PERCHONOK, M. H. & DOWNES, T. W. 1982. Kinetics of Ascorbic Acid Autoxidation as a Function of Dissolved Oxygen Concentration and Temperature. *Journal of Food Science*, 47, 765-767.
- ESPEJO, G. G. A., HERNÁNDEZ-HENERO, M. M., JUAN, B. & TRUJILLO, A. J. 2014. Inactivation of *Bacillus* spores inoculated in milk by Ultra High Pressure Homogenization. *Food Microbiology*, 44, 204-210.
- ESTEBAN, M.-D., CONESA, R., HUERTAS, J.-P. & PALOP, A. 2015. Effect of thymol in heating and recovery media on the isothermal and non-isothermal heat resistance of *Bacillus* spores. *Food Microbiology*, 48, 35-40.
- ESTEVE, M. J., FRÍGOLA, A., MARTORELL, L. & RODRIGO, C. 1998. Kinetics of Ascorbic Acid Degradation in Green Asparagus during Heat Processing. *Journal of Food Protection*, 61, 1518-1521.
- ESTEVE, M. J., FRÍGOLA, A., MARTORELL, L. & RODRIGO, C. 1999. Kinetics of green asparagus ascorbic acid heated in a high-temperature thermoresistometer. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung A*, 208, 144-147.
- FAN, X. 2005. Formation of Furan from Carbohydrates and Ascorbic Acid Following Exposure to Ionizing Radiation and Thermal Processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 7826-7831.
- FEATHERSTONE, S. 2012. A review of development in and challenges of thermal processing over the past 200 years - A tribute to Nicolas Appert. *Food Research International*, 47, 156-160.
- FEIG, S. & STERSKY, A. K. 1981. Characterization of a Heat-Resistant Strain of *Bacillus coagulans* Isolated from Cream Style Canned Corn. *Journal of Food Science*, 46, 135-137.

- FURUKAWA, S., WATANABE, T., KOYAMA, T., HIRATA, J., NARISAWA, N., OGIHARA, H. & YAMASAKI, M. 2009. Inactivation of food poisoning bacteria and *Geobacillus stearothermophilus* spores by high pressure carbon dioxide treatment. *Food Control*, 20, 53-58.
- FURUSAWA, N. 2001. Rapid high-performance liquid chromatographic identification/quantification of total vitamin C in fruit drinks. *Food Control*, 12, 27-29.
- GABRIEL, A. A., USERO, J. M. C. L., RODRIGUEZ, K. J., DIAZ, A. R. & TIANGSON-BAYAGA, C. L. P. 2015. Estimation of ascorbic acid reduction in heated simulated fruit juice systems using predictive model equations. *LWT - Food Science and Technology*, 64, 1163-1170.
- GAMBOA-SANTOS, J., MEGÍAS-PÉREZ, R., SORIA, A. C., OLANO, A., MONTILLA, A. & VILLAMIEL, M. 2014a. Impact of processing conditions on the kinetic of vitamin C degradation and 2-furoylmethyl amino acid formation in dried strawberries. *Food Chemistry*, 153, 164-170.
- GAMBOA-SANTOS, J., MONTILLA, A., SORIA, A. C., CÁRCEL, J. A., GARCÍA-PÉREZ, J. V. & VILLAMIEL, M. 2014b. Impact of power ultrasound on chemical and physicochemical quality indicators of strawberries dried by convection. *Food Chemistry*, 161, 40-46.
- GAO, Y.-L., JU, X.-R. & JIANG, H.-H. 2006. Analysis of reduction of *Geobacillus stearothermophilus* spores treated with high hydrostatic pressure and mild heat in milk buffer. *Journal of Biotechnology*, 125, 351-360.
- GARCÍA-TORRES, R., PONAGANDLA, N. R., ROUSEFF, R. L., GOODRICH-SCHNEIDER, R. M. & REYES-DE-CORCUERA, J. I. 2009. Effects of Dissolved Oxygen in Fruit Juices and Methods of Removal. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 8, 409-423.
- GARDNER, P. T., WHITE, T. A. C., MCPHAIL, D. B. & DUTHIE, G. G. 2000. The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. *Food Chemistry*, 68, 471-474.
- GARZA, S., TEIXIDÓ, J. A., SANCHIS, V., VIÑAS, I. & CONDÓN, S. 1994. Heat resistance of *Saccharomyces cerevisiae* strains isolated from spoiled peach puree. *Food Microbiology*, 23, 209-213.
- GAYÁN, E., SERRANO, M. J., PAGÀN, R., ÁLVAREZ, I. & CONDÓN, S. 2015. Environmental and biological factors influencing the UV-C resistance of *Listeria monocytogenes*. *Food Microbiology*, 46, 246-253.
- GEORGET, E., KUSHMAN, A., CALLANAN, M., ANANTA, E., HEINZ, V. & MATHYS, A. 2015. *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953 spore chemical germination mechanisms in model systems. *Food Control*, 50, 141-149.
- GIANNAKOUROU, M. C. & TAOUKIS, P. S. 2003. Kinetic modelling of vitamin C loss in frozen green vegetables under variable storage conditions. *Food Chemistry*, 83, 33-41.
- GIRONÉS-VILAPLANA, A., HUERTAS, J.-P., MORENO, D. A., PERIAGO, P. M. & GARCÍA-VIGUERA, C. 2016. Quality and microbial safety evaluation of new isotonic beverages upon thermal treatments. *Food Chemistry*, 194, 455-462.
- GOLUBITSKII, G. B., BUDKO, E. V., BASOVA, E. M., KOSTARNOI, A. V. & IVANOV, V. M. 2007. Stability of Ascorbic Acid in Aqueous and Aqueous-Organic Solutions for Quantitative Determination. *Journal of Analytical Chemistry*, 62, 742-747.
- HABERBECK, L. U., DANNENHAUER, C., SALOMÃO, B. D. C. M. & DE ARAGÃO, G. M. F. 2013. Estimation of the thermochemical nonisothermal inactivation behaviour of *Bacillus coagulans* spores in nutrient broth with oregano essential oil. *Journal of Food Processing and Preservation*, 37, 2013.
- HABERBECK, L. U., RIEHL, C. A. D. S., SALOMÃO, B. D. C. M. & DE ARAGÃO, G. M. F. 2012. *Bacillus coagulans* spore inactivation through the application of oregano essential oil and heat. *LWT - Food Science and Technology*, 46, 267-273.
- HANCOCK, R. D. & VIOLA, R. 2002. Biotechnological approaches for L-ascorbic acid production. *Trends in biotechnology*, 20, 299-305.
- HANCOCK, R. D. & VIOLA, R. 2006. Biosynthesis and Catabolism of L-Ascorbic Acid in Plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 24, 167-188.

- HERBIG, A.-L. 2016. *Stabilité des microconstituants végétaux aux températures intermédiaires : devenir des vitamines et autres microconstituants dans les produits à base de fruits et légumes*. Ph. D, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.
- HERBIG, A.-L. & RENARD, C. M. G. C. 2017. Factors that impact the stability of vitamin C at intermediate temperatures in a food matrix. *Food Chemistry*, 220, 444-451.
- HILL, M. A. 1994. Vitamin retention in microwave cooking and cook-chill foods. *Food Chemistry*, 49, 131-136.
- HIWILEPO-VAN HAL, P., BOSSCHAART, C., VAN TWISK, C., VERKERK, R. & DEKKER, M. 2012. Kinetics of thermal degradation of vitamin C in marula fruit (*Sclerocarya birrea* subsp. *caffra*) as compared to other selected tropical fruits. *LWT - Food Science and Technology*, 49, 188-191.
- HSU, H.-Y., TSAI, Y.-C., FU, C.-C. & WU, J. S.-B. 2012. Degradation of Ascorbic Acid in Ethanol Solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 10696-10701.
- ICIEK, J., BŁASZCZYK, I. & PAPIEWSKA, A. 2008. The effect of organic acid type on thermal inactivation of *Geobacillus stearothermophilus* spores. *Journal of Food Engineering*, 87, 16-20.
- JAFFE, G. M. 1984. Ascorbic Acid. *Encyclopedia of Chemical Technology*, 24, 8-40.
- JIANG, L., ZHENG, H. & LU, H. 2014a. Use of Linear and Weibull Functions to Model Ascorbic Acid Degradation in Chinese Winter Jujube during Postharvest Storage in Light and Dark Conditions. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38, 856-863.
- JIANG, T., XU, Y., SUN, X., ZHENG, Z. & OUYANG, J. 2014b. Kinetic characterization of recombinant *Bacillus coagulans* FDP-activated L-lactate dehydrogenase expressed in *Escherichia coli* and its substrate specificity. *Protein Expression*, 95, 219-225.
- JOHNSON, J. R., BRADDOCK, R. J. & CHEN, C. S. 1995. Kinetics of Ascorbic Acid Loss and Nonenzymatic Browning in Orange Juice: Experimental Rate Constants. *Journal of Food Science*, 60, 502-505.
- JUHÁSZ, M., KITAHARA, Y., TAKAHASHI, S. & FUJII, T. 2012. Thermal stability of vitamin C: Thermogravimetric analysis and use of total ion monitoring chromatograms. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 59, 190-193.
- JUHÁSZ, M., SATO, T., TSUKAGOSHI, M. & FUJII, T. 2010. Thermal Stability of Vitamin C: TGA & Use of Pyrogram. Tokyo, Japan: Department of Chemistry, Meisei University.
- KAKAGIANNI, M., GOUGOULI, M. & KOUTSOUMANIS, K. P. 2016. Development and application of *Geobacillus stearothermophilus* growth model for predicting spoilage of evaporated milk. *Food Microbiology*, 57, 28-35.
- KANNER, J., HAREL, S., FISHBEIN, Y. & SHALOM, P. 1981. Furfural Accumulation in Stored Orange Juice Concentrates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 29, 948-949.
- KARHAN, M., AKSU, M., TETIK, N. & TURHAN, I. 2003. Kinetic modeling of anaerobic thermal degradation of ascorbic acid in rose HIP (*Rosa canina* L) pulp. *Journal of Food Quality*, 27, 311-319.
- KATZIN, L. I., SANDHOLZER, L. A. & STRONG, M. E. 1943. Application of the Decimal Reduction Time Principle to a Study of the Resistance of Coliform Bacteria to Pasteurization. *Journal of Bacteriology*, 45, 265-272.
- KHAN, M. M. T. & MARTELL, A. E. 1967a. Metal ion and metal chelate catalyzed oxidation of ascorbic acid by molecular oxygen. I. Cupric and ferric ion catalyzed oxidation. *Journal of the American Chemical Society*, 89, 4176-4185.
- KHAN, M. M. T. & MARTELL, A. E. 1967b. Metal ion and metal chelate catalyzed oxidation of ascorbic acid by molecular oxygen. II. Cupric and ferric chelate catalyzed oxidation. *Journal of the American Chemical Society*, 89, 7104-7111.
- KOKKINIDOU, S., FLOROS, J. D. & LA BORDE, L. F. 2014. Kinetics of the thermal Degradation of Patulin in the Presence of Ascorbic Acid. *Journal of Food Science*, 79, 108-114.
- LAROUSSE, J. 1991. La conserve appertisée : Aspects scientifiques, techniques et économiques. *Collection Sciences et Techniques Agro-Alimentaires*, Editions Lavoisier-Tec & Doc. PARIS, 868 pages.
- LEVERRIER, C. 2016. *Relations Structure/Propriétés de Suspensions de Particules Végétales*. Ph. D, AgroParisTech.

- LI, Y., YANG, Y., YU, A.-N. & WANG, K. 2016. Effects of Reaction Parameters on Self-degradation of L-ascorbic Acid and Self-degradation Kinetics. *Food Science and Biotechnology*, 25, 97-104.
- LI, Z.-F., SAWAMURA, M. & YANO, H. 1989. Effect of oxygen on the Browning and Formation of furfural in Yuzu Juice. *Agricultural and Biological Chemistry*, 53, 1979-1981.
- LIATO, V., LABRIE, S., VIEL, C., BENALI, M. & AÏDER, M. 2015. Study of the combined effect of electro-activated solutions and heat treatment on the destruction of spores of *Clostridium sporogenes* and *Geobacillus stearothermophilus* in model solution and vegetable puree. *Anaerobe* 35, 11-21.
- LIN, S. H. & AGALLOCO, J. 1979. Degradation kinetics of ascorbic acid. *Process Biochemistry*, 14, 22-24.
- LLOYD, L. L., WHITE, C. A. & KENNEDY, J. F. 1987. Quantitative Reversed Phase HPLC Analysis of L-Ascorbic Acid (Vitamin C) and Identification of its Degradation Products. *Chromatographia*, 24, 371-376.
- LOCAS, C. P. & YAYLAYAN, V. A. 2004. Origin and Mechanistic Pathways of Formation of the Parent Furan - A Food Toxicant. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 6830-6836.
- LOUARME, L. & BILLAUD, C. 2012. Evaluation of ascorbic acid and sugar degradation products during fruit dessert processing under conventional or ohmic heating treatment. *LWT - Food Science and Technology*, 49, 184-187.
- LYNCH, D. J. & POTTER, N. N. 1989. Effects of Acidification and Processing Variables on Thermal Inactivation of Bacillus Coagulans Spores in Meat Particulates. *Journal of Food Protection*, 52, 320-328.
- MAFART, P., COUVERT, O., GAILLARD, S. & LEGUERINEL, I. 2002. On calculating sterility in thermal preservation methods : application of the Weibull frequency distribution model. *International Journal of Food Microbiology*, 72, 107-113.
- MAFART, P., COUVERT, O. & LEGUÉRINEL, I. 2001. Effect of pH on the heat resistance of spores: Comparison of two models. *International Journal of Food Microbiology*, 63, 51-56.
- MALINEN, R. & SJÖSTRÖM, E. 1975. Studies on the reactions of carbohydrates during oxygen bleaching. Part V. Degradation of xylose, xylosone, xylo-oligosaccharides and birch xylan. *Paperi ja Puu*, 57, 101-102, 107-114.
- MANSO, M. C., OLIVEIRA, F. A. R., OLIVEIRA, J. C. & FRIAS, J. M. 2001. Modelling ascorbic acid thermal degradation and browning in orange juice under aerobic conditions. *International Journal of Food Science & Technology*, 36, 303-312.
- MARFIL, P. H. M., SANTOS, E. M. & TELIS, V. R. N. 2008. Ascorbic acid degradation kinetics in tomatoes at different drying conditions. *LWT - Food Science and Technology*, 41, 1642-1647.
- MÄRK, J., POLLIEN, P., LINDINGER, C., BLANK, I. & MÄRK, T. 2006. Quantitation of Furan and Methylfuran Formed in Different Precursor Systems by Proton Transfer Reaction Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 2786-2793.
- MATÉ, J., PERIAGO, P. M. & PALOP, A. 2016. When nanoemulsified, D-limonene reduces *Listeria monocytogenes* heat resistance about one hundred times. *Food Control*, 59, 824-828.
- MATEI, N., BIRGHILA, S., POPESCU, S., DOBRINAS, S., SOCEANU, A., OPREA, C. & MAGEARU, V. 2008. Kinetic Study of Vitamin C Degradation from Pharmaceutical Products. *Romanian Journal of Physics*, 53, 343-351.
- MCILVAINE, T. C. 1921. A buffer solution for colorimetric comparison. *Journal of Biological Chemistry*, 49, 183-186.
- MCMINN, W. A. M. & MAGEE, T. R. A. 1997. Degradation and Non-enzymatic browning in Potatoes. *Food and Bioproducts Processing*, 75, 223-231.
- MEHINAGIC, E., BOURLES, E. & JOURJON, F. 2011. Composés des fruits d'intérêt nutritionnel: impact des procédés de transformation sur les polyphénols. *Viticulture, Arboriculture, Horticulture*, 43, 364-368.
- MERCALI, G. D., JAESCHKE, D. P., TESSARO, I. C. & MARCZAK, L. D. F. 2012. Study of vitamin C degradation in acerola pulp during ohmic and conventional heat treatment. *LWT - Food Science and Technology*, 47, 91-95.

- MERCALI, G. D., SCHWARTZ, S., MARCZAK, L. D. F., TESSARO, I. C. & SASTRY, S. 2014a. Ascorbic acid degradation and color changes in acerola pulp during ohmic heating: Effect of electric field frequency. *Journal of Food Engineering*, 123, 1-7.
- MERCALI, G. D., SCHWARTZ, S., MARCZAK, L. D. F., TESSARO, I. C. & SASTRY, S. 2014b. Effect of the Electric Field Frequency on Ascorbic Acid Degradation during Thermal Treatment by Ohmic Heating. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 5865-5870.
- MESÍAS-GARCÍA, M., GUERRA-HERNÁNDEZ, E. & GARCÍA-VILLANOVA, B. 2010. Determination of Furan Precursors and Some Thermal Damage Markers in Baby Foods: Ascorbic Acid, Dehydroascorbic Acid, Hydroxymethylfurfural and Furfural. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 6027-6032.
- MILLER, N. J. & RICE-EVANS, C. A. 1997. The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink. *Food Chemistry*, 60, 331-337.
- MIYAWAKI, O., SUGIYAMA, T. & INOUE, E. 2016. Kinetic Analysis of the Oxidation of Ascorbic Acid in an Open Reactor with Gas Bubbling. *Japan Journal of Food Engineering*, 17, 51-55.
- MOGOL, B. A. & GÖKMEN, V. 2013. Kinetics of Furan Formation from Ascorbic Acid during Heating under Reducing and Oxidizing Conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 10191-10196.
- MTIMET, N., TRUNET, C., MATHOT, A.-G., VENAILLE, L., LEGUÉRINEL, I., COROLLER, L. & COUVERT, O. 2016. Die another day: Fate of heat-treated *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 12980 spores during storage under growth-preventing conditions. *Food Microbiology*, 56, 87-95.
- NAKAJYO, M. & ISHIZU, Y. 1985. Heat resistance of *Bacillus coagulans* spores isolated from spoiled canned low-acid foods. *Journal of The Japanese Society of Food Science & Technology*, 32, 725-730.
- NIEMELÄ, K. 1987. Oxidative and non-oxidative alkali-catalyzed degradation of L-ascorbic acid. *Journal of Chromatography*, 399, 235-243.
- OBALEYE, J. A. & ORJIEKWE, C. L. 1992. Synthesis and characterization of some metal complexes of vitamin C. Part 2 - Ascorbate complexes of Mn(II), Fe(III) and Co(II). *Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry*, 22, 1015-1029.
- OEY, I., VERLINDE, P., HENDRICKX, M. & VAN LOEY, A. 2006. Temperature and pressure stability of L-ascorbic acid and/or [6s] 5-methyltetrahydrofolic acid: A kinetic study. *European Food Research and Technology*, 223, 71-77.
- OWCZAREK-FENDOR, A., DE MEULENAER, B., SCHOLL, G., ADAMS, A., VAN LANCKER, F., YOGENDRARAJAH, P., EPPE, G., DE PAUW, E., SCIPPO, M.-L. & DE KIMPE, N. 2010. Furan formation from vitamin C in a starch-based model system: Influence of the reaction conditions. *Food Chemistry*, 121, 1163-1170.
- PALOP, A., MARCO, A., RASO, J., SALA, F. J. & CONDÓN, S. 1997a. Survival of heated *Bacillus coagulans* spores in a medium acidified with lactic or citric acid. *International Journal of Food Microbiology*, 38, 25-30.
- PALOP, A., RASO, J., PAGÀN, R., CONDÓN, S. & SALA, F. J. 1999. Influence of pH on heat resistance of spores of *Bacillus coagulans* in buffer and homogenized foods. *International Journal of Food Microbiology*, 46, 243-249.
- PALOP, A., SALA, F. J. & CONDÓN, S. 1997b. Occurrence of a Highly Heat-Sensitive Spore Subpopulation of *Bacillus coagulans* STCC 4522 and its Conversion to a More Heat-Stable Form. *Applied and Environmental Microbiology*, 63, 2246-2251.
- PALOP, A., SALA, F. J. & CONDÓN, S. 2012. Thermoresistometers for assessing microbial heat resistance. *Progress on Quantitative Approaches in Thermal Food Processing*, Editors : V. P. Valdramidis and J. F. M. Van Impe, 41-66.
- PAREKH, S. R. & CHERYAN, M. 1994. Continuous production of acetate by *Clostridium thermoaceticum* in a cell-recycle membrane reactor. *Enzyme and Microbial Technology*, 16, 104-109.
- PARK, S. H., BALASUBRAMANIAM, V. M., SASTRY, S. K. & LEE, J. 2013. Pressure-ohmic-thermal sterilization: A feasible approach for the inactivation of *Bacillus amyloliquefaciens* and *Geobacillus stearothermophilus* spores. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 19, 115-123.

- PARSONS, H. T. & FRY, S. C. 2012. Oxidation of dehydroascorbic acid and 2,3-diketogulonate under plant apoplastic conditions. *Phytochemistry*, 75, 41-49.
- PARSONS, H. T., YASMIN, T. & FRY, S. C. 2011. Alternative pathway of dehydroascorbic acid degradation *in vitro* and in plant cell cultures: novel insights into vitamin C catabolism. *Biochemical Journal*, 440, 375-383.
- PATAZCA, E., KOUTCHMA, T. & RAMASWAMY, H. S. 2006. Inactivation Kinetics of *Geobacillus stearothermophilus* Spores in Water Using High-pressure Processing at Elevated Temperatures. *Journal of Food Science*, 71, 110-116.
- PÁTKAI, G., KÖRMENDY, I. & KÖRMENDY-DOMJÁN, A. 2002. Vitamin C decomposition kinetics in solutions, modelling citrus juices. *Acta Alimentaria*, 31, 125-147.
- PATRAS, A., BRUNTON, N., DA PIEVE, S. & BUTLER, F. 2009. Impact of high pressure processing on total antioxidant activity, phenolic, ascorbic acid, anthocyanin content and colour of strawberry and blackberry purées. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10, 308-313.
- PAYOT, T., CHEMALY, Z. & FICK, M. 1999. Lactic acid production by *Bacillus coagulans*-Kinetic studies and optimization of culture medium for batch and continuous fermentation. *Enzyme and Microbial Technology*, 24, 191-199.
- PENG, J., MAH, J.-H., SOMAVAT, R., MOHAMED, H., SASTRY, S. & TANG, J. 2012. Thermal Inactivation Kinetics of *Bacillus coagulans* Spores in Tomato Juice. *Journal of Food Protection*, 75, 1236-1242.
- PÉNICAUD, C., BROYART, B., PEYRON, S., GONTARD, N. & GUILLARD, V. 2011. Mechanistic model to couple oxygen transfer with ascorbic acid oxidation kinetics in model solid food. *Journal of Food Engineering*, 104, 96-104.
- PÉNICAUD, C., PEYRON, S., GONTARD, N. & GUILLARD, V. 2012. Oxygen Quantification Methods and Application to the Determination of Oxygen Diffusion and Solubility Coefficients in Food. *Food Reviews International*, 28, 113-145.
- PÉREZ, A. G., OLÍAS, R., ESPADA, J., OLÍAS, J. M. & SANZ, C. 1997. Rapid Determination of Sugars, Nonvolatile Acids, and Ascorbic Acid in Strawberry and Other Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 3545-3549.
- PLAZA, L., SÁNCHEZ-MORENO, C., ELEZ-MARTÍNEZ, P., DE ANCOS, B., MARTÍN-BELLOSO, O. & CANO, M. P. 2006. Effect of refrigerated storage on vitamin C and antioxidant activity of orange juice processed by high-pressure or pulsed electric fields with regard to low pasteurization. *European Food Research and Technology*, 223, 487-493.
- POLYDERA, A. C., STOFOROS, N. G. & TAOUKIS, P. S. 2003. Comparative shelf life study and vitamin C loss kinetics in pasteurised and high pressure processed reconstituted orange juice. *Journal of Food Engineering*, 60, 21-29.
- POLYDERA, A. C., STOFOROS, N. G. & TAOUKIS, P. S. 2005. Quality degradation kinetics of pasteurised and high pressure processed fresh Navel orange juice: Nutritional parameters and shelf life. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6, 1-9.
- RASO, J., PALOP, A., BAYARTE, M., CONDÓN, S. & SALA, F. J. 1995. Influence of sporulation temperature on the heat resistance of a strain of *Bacillus licheniformis* (Spanish Type Culture Collection 4523). *Food Microbiology*, 12, 357-361.
- REICHSTEIN, T. & GRÜSSNER, A. 1934. Eine ergiebige Synthese der L-Ascorbinsäure (C-Vitamin). *Helvetica Chimica Acta*, 17, 311-328.
- REMINI, H., MERTZ, C., BELBAHI, A., ACHIR, N., DORNIER, M. & MADANI, K. 2015. Degradation kinetic modelling of ascorbic acid and colour intensity in pasteurised blood orange juice during storage. *Food Chemistry*, 173, 665-673.
- ROBERTS, C. M. & HOOVER, D. G. 1996. Sensitivity of *Bacillus coagulans* spores to combination of high hydrostatic pressure, heat, acidity and nisin. *Journal of Applied Bacteriology*, 81, 363-368.
- ROJAS, A. M. & GERSCHENSON, L. N. 1997. Influence of system composition on ascorbic acid destruction at processing temperatures. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 74, 369-378.

- ROMÁN-BLANCO, C., SANZ-GÓMEZ, J. J., LÓPEZ-DÍAZ, T.-M., OTERO, A. & GARCÍA-LÓPEZ, M.-L. 1999. Numbers and species of *Bacillus* during the manufacture and ripening of Castellano cheese. *Milchwissenschaft*, 54, 385-388.
- ROSENBERG, M., REBROŠ, M., KRIŠTOFÍKOVÁ, L. & MALÁTOVÁ, K. 2005. High temperature lactic acid production by *Bacillus coagulans* immobilized in LentiKats. *Biotechnology Letters*, 27, 1943-1947.
- RUMSEY, S. C. & LEVINE, M. 1998. Absorption, transport, and disposition of ascorbic acid in humans. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 9, 116-130.
- SAKAI, S., NAKASHIMADA, Y., INOKUMA, K., KITA, M., OKADA, H. & NISHIO, N. 2005. Acetate and Ethanol Production from H₂ and CO₂ by *Moorella* sp. Using a repeated Batch Culture. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 99, 252-258.
- SAPEI, L. & HWA, L. 2014. Study on the Kinetics of Vitamin C Degradation in Fresh Strawberry Juices. *Procedia Chemistry*, 9, 62-68.
- SATTAR, A., DEMAN, J. M. & ALEXANDER, J. C. 1977. Light-Induced Degradation of Vitamins II. Kinetic Studies on Ascorbic Acid Decomposition in Solution. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 10, 65-68.
- SERPEN, A. & GÖKMEN, V. 2007. Reversible degradation kinetics of ascorbic acid under reducing and oxidizing conditions. *Food Chemistry*, 104, 721-725.
- SHINODA, Y., MURATA, M., HOMMA, S. & KOMURA, H. 2004a. Browning and Decomposed Products of Model Orange Juice. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 68, 529-536.
- SHINODA, Y., MURATA, M., HOMMA, S. & KOMURA, H. 2004b. Browning and Decomposition Products of Orange Juice. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 68, 529-536.
- SILVA, F. O. 2005. Total ascorbic acid determination in fresh squeezed orange juice by gas chromatography. *Food Control*, 16, 55-58.
- SMOOT, J. M. & NAGY, S. 1980. Effects of Storage temperature and Duration on total Vitamin C Content of canned Single-Strength Grapefruit Juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28, 417-421.
- SOARES, N. F. F. & HOTCHKISS, J. H. 1999. Comparative Effects of De-aeration and Package Permeability on Ascorbic Acid Loss in Refrigerated Orange Juice. *Packaging Technology and Science*, 12, 111-118.
- SOMAVAT, R., MOHAMED, H. M. H., CHUNG, Y.-K., YOUSSEF, A. E. & SASTRY, S. K. 2012. Accelerated inactivation of *Geobacillus stearothermophilus* spores by ohmic heating. *Journal of Food Engineering*, 108, 69-76.
- SOMAVAT, R., MOHAMED, H. M. H. & SASTRY, S. K. 2013. Inactivation kinetics of *Bacillus coagulans* spores under ohmic and conventional heating. *LWT - Food Science and Technology*, 54, 194-198.
- SU, F. & XU, P. 2014. Genomic analysis of thermophilic *Bacillus coagulans* strains: efficient producers for platform bio-chemicals. In: NATURE (ed.) *Scientific Reports*. Shanghai, China: State Key Laboratory of Microbial Metabolism, and School of Life Sciences & Biotechnology, Shanghai Jiao Tong University.
- SU, Y., RHEE, M. S., INGRAM, L. O. & SHANMUGAM, K. T. 2011. Physiological and fermentation properties of *Bacillus coagulans* and a mutant lacking fermentative lactate dehydrogenase activity. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 38, 441-450.
- SZULTKA, M., BUSZEWSKA-FORAJTA, M., KALISZAN, R. & BUSZEWSKI, B. 2014. Determination of ascorbic acid and its degradation products by high-performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry. *Electrophoresis*, 35, 585-592.
- TIKEKAR, R. V., ANANTHESWARAN, R. C., ELIAS, R. J. & LA BORDE, L. F. 2011a. Ultraviolet-Induced Oxidation of Ascorbic Acid in a Model Juice System: Identification of Degradation Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 8244-8248.
- TIKEKAR, R. V., ANANTHESWARAN, R. C. & LA BORDE, L. F. 2011b. Ascorbic acid degradation in a model apple juice system and in apple juice during ultraviolet processing and storage. *Journal of Food Science*, 76, 62-71.

- TIWARI, B. K., O'DONNELL, C. P., MUTHUKUMARAPPAN, K. & CULLEN, P. J. 2009a. Ascorbic acid degradation kinetics of sonicated orange juice during storage and comparison with thermally pasteurised juice. *LWT - Food Science and Technology*, 42, 700-704.
- TIWARI, B. K., O'DONNELL, C. P., MUTHUKUMARAPPAN, K. & CULLEN, P. J. 2009b. Effect of sonication on orange quality parameters during storage. *International Journal of Food Sciences and Technology*, 44, 586-595.
- TIWARI, B. K., O'DONNELL, C. P., PATRAS, A., BRUNTON, N. & CULLEN, P. J. 2009c. Stability of anthocyanins and ascorbic acid in sonicated strawberry juice during storage. *European Food Research and Technology*, 228, 717-724.
- TIWARI, B. K., O'DONNELL, C. P., PATRAS, A. & CULLEN, P. J. 2008. Anthocyanin and Ascorbic Acid Degradation in Sonicated Strawberry Juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 10071-10077.
- TORREGROSA, F., ESTEVE, M. J., FRÍGOLA, A. & CORTÉS, C. 2006. Ascorbic acid stability during refrigerated storage of orange-carrot juice treated by high pulsed electric field and comparison with pasteurized juice. *Journal of Food Engineering*, 73, 339-345.
- TORRES, B., TIWARI, B. K., PATRAS, A., CULLEN, P. J., BRUNTON, N. & O'DONNELL, C. P. 2011. Stability of anthocyanins and ascorbic acid of high pressure processed blood orange juice during storage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 12, 93-97.
- TRAN, M. T. T. & FARID, M. 2004. Ultraviolet treatment of orange juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 5, 495-502.
- TROMANS, D. 1998. Temperature and pressure dependent solubility of oxygen in water: a thermodynamic analysis. *Hydrometallurgy*, 48, 327-342.
- VAN BOEKEL, M. A. J. S. 2009. *Kinetic Modeling of Reactions in Foods*, Boca Raton, Taylor & Francis Group.
- VAN BREE, I., BAETENS, J. M., SAMAPUNDO, S., DEVLIEGHERE, F., LALEMAN, R., VANDEKINDEREN, I., NOSEDA, B., XHAFERI, R., DE BAETS, B. & DE MEULENAER, B. 2012. Modelling the degradation kinetics of vitamin C in fruit juice in relation to the initial headspace oxygen concentration. *Food Chemistry*, 134, 207-214.
- VAN DEN BROECK, I., LUDIKHUYZE, L., WEEMAES, C., VAN LOEY, A. & HENDRICKX, M. 1998. Kinetics for Isobaric-Isothermal Degradation of L-Ascorbic Acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 2001-2006.
- VERBEYST, L., BOGAERTS, R., VAN DER PLANCKEN, I., HENDRICKX, M. & VAN LOEY, A. 2013. Modelling of Vitamin C Degradation during Thermal and High-Pressure Treatments of Red Fruit. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 1015-1023.
- VERCAMMEN, A., VIVIJS, B., LURQUIN, I. & MICHIELS, C. W. 2012. Germination and inactivation of *Bacillus coagulans* and *Alicyclobacillus acidoterrestris* by high hydrostatic pressure treatment in buffer and tomato sauce. *International Journal of Food Microbiology*, 152, 162-167.
- VERSARI, A., MATTIOLI, A., PARPINELLO, G. P. & GALASSI, S. 2004. Rapid analysis of ascorbic and isoascorbic acids in fruit juice by capillary electrophoresis. *Food Control*, 15, 355-358.
- VIEDMA, P. M., ABRIQUEL, H., BEN OMAR, N., LÓPEZ, R. L., VALDIVIA, E. & GÁLVEZ, A. 2009. Inactivation of *Geobacillus stearothermophilus* in canned food and coconut milk samples by addition of enterocin AS-48. *Food Microbiology*, 26, 289-293.
- VIEIRA, M. C., TEIXEIRA, A. A. & SILVA, C. L. M. 2000. Mathematical modeling of the thermal degradation kinetics of vitamin C in cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) nectar. *Journal of Food Engineering*, 43, 1-7.
- VIKRAM, V. B., RAMESH, M. N. & PRAPULLA, S. G. 2005. Thermal degradation kinetics of nutrients in orange juice heated by electromagnetic and conventional methods. *Journal of Food Engineering*, 69, 31-40.
- WANG, B.-S., LI, B.-S., ZENG, Q.-X., HUANG, J., RUAN, Z., ZHU, Z.-W. & LI, L. 2009. Inactivation kinetics and reduction of *Bacillus coagulans* spore by the combination of high pressure and moderate heat. *Journal of Food Process Engineering*, 32, 692-708.
- WARTH, A. D. 1978. Relationship between the heat resistance of spores and the optimum and maximum growth temperatures of *Bacillus* species. *Journal of Bacteriology*, 134, 699-705.

- WATANABE, T., FURUKAWA, S., HIRATA, J., KOYAMA, T., OGIHARA, H. & YAMASAKI, M. 2003. Inactivation of *Geobacillus stearothermophilus* Spores by High-pressure Carbon Dioxide Treatment. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 7124-7129.
- WHEELER, G. L., JONES, M. A. & SMIRNOFF, N. 1998. The biosynthetic pathway of vitamin C in higher plants. *Nature*, 393, 365-369.
- WILSON, R. J., BEEZER, A. E. & MITCHELL, J. C. 1995. A kinetic study of the oxidation of L-ascorbic acid (vitamin C) in solution using an isothermal microcalorimeter. *Thermochimica Acta* 264, 27-40.
- WINKLER, L. W. 1888. Die Bestimmung des im Wasser gelösten Sauerstoffes. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 21, 2843-2854.
- WITJITRA, K., SHAH, M. M. & CHERYAN, M. 1996. Effect of nutrient sources on growth and acetate production by *Clostridium thermoaceticum*. *Enzyme and Microbial Technology*, 19, 322-327.
- YUAN, J. P. & CHEN, F. 1998. Degradation of Ascorbic Acid in Aqueous Solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 5078-5082.
- ZHENG, H. & LU, H. 2011a. Effect of microwave pretreatment on the kinetics of ascorbic acid degradation and peroxidase inactivation in different parts of green asparagus (*Asparagus officinalis* L.) during water blanching. *Food Chemistry*, 128, 1087-1093.
- ZHENG, H. & LU, H. 2011b. Use of kinetic, Weibull and PLSR models to predict the retention of ascorbic acid, total phenols and antioxidant activity during storage of pasteurized pineapple juice. *LWT - Food Science and Technology*, 44, 1273-1281.
- ZIMMERMANN, M., LONGHI, D. A., SCHAFFNER, D. W. & ARAGÃO, G. M. F. 2014. Predicting *Bacillus coagulans* Spores Inactivation in Tomato Pulp under Nonisothermal Heat Treatments. *Journal of Food Science*, 79, 935-940.
- ZIMMERMANN, M., MORELLI, S., SCHAFFNER, D. W. & ARAGÃO, G. M. F. 2013a. Comparative effect of different test methodologies on *Bacillus coagulans* spores inactivation kinetics in tomato pulp under isothermal conditions. *International Journal of Food Sciences and Technology*, 48, 1722-1728.
- ZIMMERMANN, M., SCHAFFNER, D. W. & ARAGÃO, G. M. F. 2013b. Modelling the inactivation kinetics of *Bacillus coagulans* spores in tomato pulp from the combined effect of high pressure and moderate temperature. *LWT - Food Science and Technology*, 53, 107-112.
- ZULUETA, A., ESTEVE, M. J. & FRÍGOLA, A. 2010. Ascorbic acid in orange juice-milk beverage treated by high intensity pulsed electric fields and its stability during storage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11, 84-90.

Sites internet consultés

- [1] Guide des vitamines – Sources alimentaires de vitamine C [en ligne]. Disponible sur : <http://www.guide-vitamines.org/vitamines/vitamine-c/sources-alimentaires-vitamine-c.html> (Page consultée le 03/12/2014).
- [2] Table Ciqual de l'ANSES – Teneurs en vitamine C par constituants [en ligne]. Disponible sur : <https://pro.anses.fr/TableCIQUAL/index.htm> (Page consultée le 03/12/2014).
- [3] Julia, F. et Julia, G. : *Bacillus coagulans* [en ligne]. Disponible sur : <https://sites.google.com/site/bcoagulans/home> (Page consultée le 03/03/2015).
- [4] Julia, F. et Julia, G. : *Bacillus coagulans* [en ligne]. Disponible sur : <https://sites.google.com/site/bcoagulans/structure> (Page consultée le 03/03/2015).
- [5] Febico : *Bacillus coagulans* (Lactobacillus Sporogenes) - Le roi de Probiotiques [en ligne]. Disponible sur : <http://www.febico.com/fr/page/FL-3-Bacillus-Coagulans.html> (Page consultée le 20/04/2015).
- [6] LactoSpore® : *Bacillus coagulans* : A superior probiotic [en ligne]. Disponible sur : <http://lactospore.com/about/bacillus-coagulans/> (Page consultée le 20/04/2015).
- [7] LactoSpore® : Benefits of *Bacillus coagulans* as a probiotic [en ligne]. Disponible sur : <http://lactospore.com/about/benefits-bacillus-coagulans/> <http://lactospore.com/about/bacillus-coagulans/> (Page consultée le 20/04/2015).
- [8] Déterminer l'incertitude associée à la pente [en ligne]. Disponible sur : <http://www2.cegep-ste-foy.qc.ca/profs/rfoylabo/excel/incpente.html> (Page consultée le 11/01/2016)
- [9] Cinétique de quelques réactions composées typiques [en ligne]. Disponible sur : <http://cinet.chim.pagesperso-orange.fr/cours/chap5.html> (Page consultée le 25/01/2016)
- [10] Technologie de la conserve [en ligne]. Disponible sur : <http://www.laconserve.com/technologies-de-la-conserve-7-gp.htm> (Page consultée le 15/04/2016)
- [11] Boîtes de conserve : comment ça marche ? [en ligne]. Disponible sur : <http://agriculture.gouv.fr/boites-de-conserve-comment-ca-marche> (Page consultée le 03/03/2017)
- [12] Site de l'UMR – Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale [en ligne]. Disponible sur : <http://www6.paca.inra.fr/sqpov> (Page consultée le 03/03/2017)
- [13] Modèle générique HACCP pour les légumes frais pré-coupés prêts-à-manger [en ligne]. Disponible sur : <http://www.inspection.gc.ca/aliments/systemes-de-production-d-aliments-salubres/modeles-generiques-de-haccp-et-des-documents-d-ori/modele-generique-legumes-frais-pre-coupe/fra/1371034721098/1371034722410?chap=0> (Page consultée le 03/03/2017)
- [14] Cours « Relation – Structure – Fonction, Université d'Angers [en ligne]. Disponible sur : <http://biochimej.univangers.fr/Page2/COURS/7RelStructFonction/2Biochimie/2ModifPOSTtraduc/9Hydroxylation/1Hydroxylation.htm> (Page consultée le 03/03/2017)

- [15] Center for Disease Control and Prevention, Public Health Image Library (PHIL) « *Bacillus coagulans*. Gram stain. » [en ligne]. Disponible sur : <https://phil.cdc.gov/phil/details.asp?pid=1054> (Page consultée le 13/03/2017)
- [16] Massey University, University of New Zeland « *Geobacillus stearothermophilus*. Gram stain. » [en ligne]. Disponible sur : <http://www.massey.ac.nz/massey/learning/colleges/college-of-sciences/about/engineering-technology/seat-yearbooks/2013-yearbook/projects.cfm?id=11210759> (Page consultée le 14/03/2017)
- [17] ADEPALE, chiffres clés 2016 [en ligne]. Disponible sur : http://www.adepale.org/fichiers/20170116162010_Chiffres_cle%CC%81s_2016.pdf (Page consultée le 22/03/2017)
- [18] ANSES, « vitamine C ou acide ascorbique » [en ligne]. Disponible sur : <https://www.anses.fr/fr/content/vitamine-c-ou-acide-ascorbique> (Page consultée le 22/03/2017)
- [19] CTCPA, « Le CTCPA » [en ligne]. Disponible sur : <http://www.ctcpa.org/le-ctcpa-institut-de-recherche-agro-alimentaire> (Page consultée le 06/07/2017)
- [20] ACTIA, « L'UMT Qualiveg » [en ligne]. Disponible sur : <http://www.actia-asso.eu/fiche/umt-58-qualiveg.html> (Page consultée le 06/07/2017)
- [21] Chemistry-Libretexts, « The Arrhenius Law : Arrhenius Plots » [en ligne]. Disponible sur : https://chem.libretexts.org/Core/Physical_and_Theoretical_Chemistry/Kinetics/Modeling_Reaction_Kinetics/Temperature_Dependence_of_Reaction_Rates/The_Arrhenius_Law/The_Arrhenius_Law%3A_Arrhenius_Plots (Page consultée le 06/07/2017)
- [22] Université de Montpellier 2, « Biochimie structurale et fonctionnelle » [en ligne]. Disponible sur : <https://restice.univ-montp2.fr/BsfDun/co/Contenutempetchemreactionnel.html> (Page consultée le 06/07/2017)

VALORISATIONS ET TRANSFERTS

Ces travaux ont été valorisés par la soumission d'articles ou communications orales ou posters au cours de congrès internationaux.

Article soumis :

1) Determination of reaction orders for ascorbic acid degradation during sterilization using a new experimental device: the thermoresistometer Mastia®

Nizar Al Fata^{a,b,c,d*}, Stéphane Georgé^a, Stéphane André^b, Catherine M.G.C. Renard^{c,d}

^aCTCPA, unité qualité nutritionnelle, Site Agroparc, 449 Clément Ader, BP 21203, 84911 Avignon CEDEX 9, France, *e-mail* : nalfata@ctcpa.org and sgeorge@ctcpa.org

^bCTCPA, unité de microbiologie EMaiRIT'S, Site Agroparc, 449 Clément Ader, BP 21203, 84911 Avignon CEDEX 9, France, *e-mail* : sandre@ctcpa.org

^cINRA, UMR408 Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale, Domaine Saint Paul, Site Agroparc, F-84000 Avignon, France, *e-mail* : catherine.renard@avignon.inra.fr

^dAvignon University, UMR408 Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale, Domaine Saint Paul, Site Agroparc, F-84000 Avignon, France

*Corresponding author: nalfata@ctcpa.org (N. Al Fata)

Accepté dans « LWT – Food Science and Technology »

2) Influence of partial pressure of oxygen on ascorbic acid degradation at canning temperature

N. Al Fata^{a,b}, S^b. Georgé^a, N. Dlalah^a, & C.M.G.C. Renard^b

^aCTCPA, unité qualité nutritionnelle, Site Agroparc, 449 Clément Ader, BP 21203, 84911 Avignon CEDEX 9, France, *e-mail* : nalfata@ctcpa.org and sgeorge@ctcpa.org

^bUMR408 SQPOV, INRA, Avignon University, F-84000, Avignon, France, *e-mail* : anna-lena.herbig@paca.inra.fr and catherine.renard@avignon.inra.fr

*Corresponding author: nalfata@ctcpa.org (N. Al Fata)

Soumis dans « Innovative Food Science and Technology », en cours d'acceptation

3) New experimental approaches to better understand degradation of vitamin C in heat-treated fruit and vegetables

N. Al Fata^{a,b}, A-L Herbig^b, S^b. Georgé^a, N. Dlalah^a, & C.M.G.C. Renard^b

^aCTCPA, unité qualité nutritionnelle, Site Agroparc, 449 Clément Ader, BP 21203, 84911 Avignon CEDEX 9, France, *e-mail* : nalfata@ctcpa.org and sgeorge@ctcpa.org

^bUMR408 SQPOV, INRA, Avignon University, F-84000, Avignon, France, *e-mail* : anna-lena.herbig@paca.inra.fr and catherine.renard@avignon.inra.fr

*Corresponding author: nalfata@ctcpa.org (N. Al Fata)

Soumis dans « Trends in Food Science & Technology »

4) Effect of pH on ascorbic acid degradation in anaerobic conditions at canning temperatures

N. Al Fata^{a,b}, A-L Herbig^b, S^b. Georgé^a, N. Dlalah^a, & C.M.G.C. Renard^b

^aCTCPA, unité qualité nutritionnelle, Site Agroparc, 449 Clément Ader, BP 21203, 84911 Avignon CEDEX 9, France, *e-mail* : nalfata@ctcpa.org and sgeorge@ctcpa.org

^bUMR408 SQPOV, INRA, Avignon University, F-84000, Avignon, France, *e-mail* : anna-lena.herbig@paca.inra.fr and catherine.renard@avignon.inra.fr

*Corresponding author: nalfata@ctcpa.org (N. Al Fata)

En cours de soumission

Communication dans des congrès :

- 1) 29th EFFoST International Conference – Food Science Research and Innovation : Delivering sustainable solutions to the global economy and society, 10 – 12 novembre 2015, Athènes, Grèce

Communication orale avec rédaction d'un article dans les Proceedings du congrès : « Design and exploitation of a new experimental device to forecast the degradation of nutritional quality and the inactivation of microorganisms in canned vegetables »

- 2) 2nd Euro-Mediterranean Symposium on Fruit and Vegetable Processing : An integrated view on sustainability and how it can interact with quality, safety and the consumers, 4 – 6 avril 2016, Avignon, France

Communication poster : « Determination of reaction orders for ascorbic acid degradation during canning using a new experimental device: the thermoresistometer Mastia[®] »

- 3) 18th IUFoST World Congress of Food Science and Technology : Greening the Global Food Supply Chain through Innovation in Food Science and Technology, 21 – 25 août 2016, Dublin, Irlande

Communication poster : « Determination of reaction orders for ascorbic acid degradation during canning using a new experimental device: the thermoresistometer Mastia[®] »

- 4) 30th EFFoST International Conference – Food Science Research and Innovation : Targeted Technologies for Sustainable Food Systems, 28 – 30 novembre 2016, Vienne, Autriche

Communication orale : « Design and exploration of a new experimental device to determine reaction orders for ascorbic acid degradation in both aerobic and anaerobic conditions at canning temperatures »

ARTICLES SCIENTIFIQUES

ARTICLES SCIENTIFIQUES

Article 1 : Soumis et accepté dans LWT – Food Science and Technology

Determination of reaction orders for ascorbic acid degradation during sterilization using a new experimental device: the thermoresistometer Mastia®

Nizar Al Fata^{a,b,c,d*}, Stéphane Georgé^a, Stéphane André^b, Catherine M.G.C. Renard^{c,d}

^aCTCPA, unité qualité nutritionnelle, Site Agroparc, 449 Clément Ader, BP 21203, 84911 Avignon CEDEX 9, France,
e-mail : nalfata@ctcpa.org and sgeorge@ctcpa.org

^bCTCPA, unité de microbiologie EMaiRIT'S, Site Agroparc, 449 Clément Ader, BP 21203, 84911 Avignon CEDEX 9, France,
e-mail : sandre@ctcpa.org

^cINRA, UMR408 Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale, Domaine Saint Paul, Site Agroparc, F-84000 Avignon,
France, e-mail : catherine.renard@avignon.inra.fr

^dAvignon University, UMR408 Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale, Domaine Saint Paul, Site Agroparc, F-84000 Avignon, France

*Corresponding author: nalfata@ctcpa.org (N. Al Fata)

Highlights:

- The degradation of ascorbic acid follows kinetics of first-order in anaerobic conditions
- The degradation of ascorbic acid follows kinetics of 0.5-order in aerobic conditions
- The significance of oxygen is significantly higher than process temperature
- Ascorbic acid's half-life at 125°C was 240 vs 100 min in anaerobic vs aerobic conditions
- Ascorbic acid is significantly more stable in anaerobic than in aerobic conditions

ABSTRACT

Sterilization is the most relevant technique to guaranty safety of shelf-stable highly hydrated food products at ambient temperature. However, these thermal processes are often optimised to microbiological aspect and consequently are not without consequences on food quality. Ascorbic acid's degradation at sterilization temperature (> 100 °C) is poorly documented. Using a new instrumented reactor (thermoresistometer Mastia®), the behavior of ascorbic acid was studied in food model solution at pH = 3.5, in aerobic and anaerobic conditions from 95 °C to 125 °C. In anaerobic conditions, degradation was slow and followed first order kinetics ($k_{125^{\circ}\text{C}} = 2.88 \cdot 10^{-3} \text{ min}^{-1}$, $E_a = 96 \text{ kJ/mol}$). In aerobic conditions, reactions were faster with total elimination of ascorbic acid in about 4 hours, and the data were best fitted using 0.5-order, while reaction speed varied little with temperature.

Keywords: Vitamin C; canning; modelling; kinetics; nutritional qualities

1. INTRODUCTION

Ascorbic acid is often used as an indicator molecule in food processing because it is highly reactive and very sensitive to physico-chemical conditions in the medium. Indeed, ascorbic acid degradation is influenced by the presence of oxygen, temperature (Lin and Agalloco, 1979, Torregrosa et al., 2006), light intensity (Bosch et al., 2013, Sapei and Hwa, 2014), pH, water activity (Berlinet et al., 2006, Mercali et al., 2012), °Brix (Al-Zubaidy and Khalil, 2007), the presence of metallic ions such as Fe²⁺ or Cu²⁺ (Lin and Agalloco, 1979, Bosch et al., 2013, Soares and Hotchkiss, 1999), presence of sugars (Hsu et al., 2012), amino acids, sugars, lipids and enzymes (Mercali et al., 2014b), or microorganisms (Soares and Hotchkiss, 1999). Storage conditions (packaging, temperatures of storage, etc...) also have an effect on the shelf-life of ascorbic acid (Mercali et al., 2012, Torregrosa et al., 2006).

Thermal treatment is the most popular and efficient method to inactivate microorganisms to stabilize canned vegetables (Blasco et al., 2004, Peng et al., 2012, Zimmermann et al., 2014). There is an increased demand of nutritive foods, thereby, there were many attempts to maximise nutrients retention during industrial processes as well as during transport and storage (Sapei and Hwa, 2014). To be efficient, a thermal treatment must ensure that the product has been exposed at sufficiently high temperature for a sufficient time to destroy an appropriate number of targeted microorganisms (Zimmermann et al., 2014). Nevertheless, thermal treatments can generate undesirable chemical reactions like vitamin degradation, which can lead to products having less nutritive interest. In the literature, only few studies are focussed on the degradation of ascorbic acid at sterilization temperature (Van den Broeck et al., 1998, Esteve et al., 1998, Oey et al., 2006, Blasco et al., 2004). It is generally assumed that the degradation of ascorbic acid follows first-order kinetics in food systems (Jiang et al., 2014a), but it can follow second-order kinetics if oxygen is present in a limited amount in the media (Lin and Agalloco, 1979). Ascorbic acid degradation at sterilization temperatures is poorly known, probably because of the difficulty to work at above 100 °C (Van den Broeck et al., 1998, Esteve et al., 1998, Blasco et al., 2004, Oey et al., 2006). First order kinetics were reported by Van den Broeck et al. (1998) in orange and tomato juices in anaerobic conditions between 120 and 150 °C, by Esteve et al. (1998) in green asparagus extracts both in aerobic and anaerobic conditions between 110 and 140 °C, and by Blasco et al. (2004) in mushroom extracts both in aerobic and anaerobic conditions between 110 and 140 °C. In the last two cases, degradation was faster under aerobic condition than under anaerobic conditions. Oey et al. (2006) state that ascorbic acid degradation follows first order kinetics in a case where oxygen is limited between 110 and 120 °C. However they report ascorbic acid degradation profiles which display two steps: a first, very rapid step, corresponding to the aerobic pathway where dissolved oxygen is involved, and a second, slower step when oxygen has been consumed and the anaerobic pathway occurs.

Our goal was to study the degradation of ascorbic acid depending on two factors, the availability of oxygen and temperature, in conditions relevant for the canning industry (temperature > 100°C, pressure > 0.1 MPa). The thermoresistometer Mastia® is used in microbiology in order to determine the heat resistances of microorganisms, both in model solution and in various matrices, during isothermal or non-isothermal treatments and for more than 20 years (Condón et al., 1993, Palop et al., 1997a, Palop et al., 1999, Palop et al., 1997b, Raso et al., 1995, Garza et al., 1994). The accuracy of the thermoresistometer allows determining *D*-values close to 10⁻³ minutes (Condón et al., 1993), especially due to its fast homogenization. It works at temperature higher than 100 °C, under high pressure and at modified gas composition and therefore was appropriate to our goal.

2. MATERIALS & METHODS

2.1. Reagents

All the reagents used were purchased from Fisher Chemical (Illkirch, France) and are analytical grade or better.

2.2. Preparation of ascorbic acid solution

A 5.0000 g accurately weighed portion of L-ascorbic acid was dissolved in 25 mL of 23.1 mL/L acetic acid solution (pH = 2.6) in a 25 mL volumetric flask. The mixture was then stirred until complete dissolution of ascorbic acid. A volume of 1.8 mL of this solution was injected inside the vessel of the thermoresistometer, in order to have an initial concentration of ascorbic acid in the heating media at 90 mg/100 mL.

2.3. Model solution

Citrate-phosphate Mcllvaine buffer (pH = 3.5) was used as heating medium. Mcllvaine buffer was prepared using a 0.1 mol/L monohydrate citric acid solution and a 0.2 mol/L disodium phosphate solution (Mcllvaine, 1921). The buffer was stored at 4 °C until used.

2.4. High-Performance Liquid Chromatography

The analysis method was slightly modified from Louarme and Billaud (2012). Analysis of ascorbic acid was carried out using a 1260 Agilent infinity LC chromatograph with a 1290 Agilent diode-array detector. A 150 x 3.0 mm Synergi Polar RP-C18 column (Phenomenex) was used with a precolumn and both have a particle size of 4 µm. The mobile phase was a 23.1 mL/L acetic acid solution as eluent A and acetonitrile as eluent B. The flow rate was fixed at 0.8 mL.min⁻¹, the column temperature was set at 30 °C and the injection volume was 5 µL. A gradient program was performed as follows: the initial conditions were 96 % A / 4 % B; 0-5 min, 96 % A / 4 % B; 5-10min, 80 % A / 20 % B; 10-15 min, 96 % A / 4 % B. The data acquisition was assessed at 245 nm, corresponding to the maximum absorbance of ascorbic acid in UV-visible spectrometry (Jaffe, 1984). Quantification of ascorbic acid was carried out by external standard method with a calibration curve, which is the mean of five calibration curves established by five standard solutions of ascorbic acid injected in HPLC in the same conditions.

2.5. Determination of heat resistance by the thermoresistometer Mastia®

Thermal treatments were carried out in a thermoresistometer TR-SC Mastia® (Figure 1), the operation system of which is described by Conesa et al. (Conesa et al., 2009a). It works in a temperature range from 20 °C to 150 °C under pressure, using different gases like air or nitrogen, having a constant and regulated stirring, sampling or injecting at any time during the heat treatment, even under pressure, without perturbation of the experimental media, working at large volumes (maximum 400 mL), and simulating isothermal and non-isothermal heat treatments.

The thermoresistometer TR-SC possesses a 2 kW heating electric element (2) and a cooling ring (1) in which cold water (2 °C) provided by the cooling system (A) is circulating. This device is implemented with a programmable logic control (PLC) (B), which powers the heating electric element and the cooling system. The programmable logic control is connected to a tactile screen (C) for communication with to the PLC, and a computer (D) provided with a software able to program or/and register temperature profiles (Conesa et al., 2009a). The working media is put in a classical stainless vessel or a teflonated stainless vessel (8.5 x 12 cm outer diameter) respectively for microbiological or chemical studies (E), which is screwed on the thermoresistometer cap with an O-ring (F). This cap has a stirring shaft with a propeller (3) which is powered by the stirring motor (I), and eight ports with screw cap; one is holding the pressure source (G), another is the injection port and contain a gas chromatography septum, a third one holds the sampling tube (4), another holds the thermocouple (5), two ports maintain the electric element and two others maintain the cooling ring.

The vessel can be pressurized by a manometer (6) connected to the pressure source (G). Pressurization is needed to allow extraction of samples and to avoid boiling at temperatures higher than 100 °C in aqueous solutions. A specific Hamilton-type syringe (H) was used to injected samples in the vessel in order to overcome the pressure.

For all experiments, the over pressure of the vessel was set at 0.2 MPa, i.e a total pressure of 0.3 MPa. The temperature range studied is from 95 °C to 125 °C. Aerobic conditions were obtained using air as headspace gas. Anaerobic conditions were performed by removal of oxygen from the media by heating to 95 °C during 30 minutes and bubbling nitrogen *in situ* during 30

minutes at 20 °C through the sampling tube, and then using nitrogen as headspace gas. Establishment of anaerobic conditions was validated by measuring oxygen concentration after each step using a PreSens Fibox 4 device (Regensburg, Germany) coupled to a fiber optic probe with a sensor type PSt3 (limit of detection 30 Pa oxygen, 0.015 mg/L dissolved oxygen). Each thermal treatment lasted 320 minutes.

2.6. Kinetic models

Generally, it is assumed that ascorbic acid (AA) degradation can follow two pathways: one is the oxidoreductive (aerobic) pathway by the formation of dehydroascorbic acid (DHAA), and another is by hydrolytic (anaerobic) pathway, by direct cleavage of the lactone ring of ascorbic acid molecule (Yuan and Chen, 1998). The principal characteristics of these two mechanisms are rapidly described as follow:

2.6.1. Oxidoreductive mechanism



The formation of DHAA from AA is reversible depending on redox potential. It is assumed that the reformation of AA from DHAA is negligible unless the medium is specifically made reductive, and this is more true at high temperature (Serpen and Gökmen, 2007). DHAA is then irreversibly degraded to 3-diketogulonic acid.

2.6.2. Anaerobic pathway

This degradation pathway is akin to sugar degradation and does not require oxygen.

The global ascorbic acid degradation taking in account both mechanisms can be described by the following differential equation:

$$\frac{d[AA]}{dt} = -k_{ox} \cdot [AA]^\alpha [O_2]^\beta - k_H \cdot [AA]^\gamma \quad (1)$$

where [AA] is the ascorbic acid concentration, [O₂] the dissolved oxygen concentration, k_{ox} and k_H are the kinetic constants respectively for aerobic and anaerobic degradation, α is the partial kinetic order regarding ascorbic acid concentration for aerobic degradation, β the partial kinetic order regarding dissolved oxygen concentration and γ the partial order regarding ascorbic acid concentration for aerobic degradation.

In anaerobic conditions with [O₂] = 0, equation (1) can be simplified to:

$$\frac{d[AA]}{dt} = -k_H \cdot [AA]^\gamma \quad (2)$$

Ascorbic acid degradation in anaerobic or aerobic conditions was fitted by using general n -order kinetics model in order to determine the partial reaction order parameter α or γ :

n -order kinetics:

$$C_t = (C_0^{1-n} + (n-1) \cdot k(T) \cdot t)^{\frac{1}{1-n}} \quad (3)$$

Starting from equation (3), we linearized the equation in order to obtain a straight line curve as described by the following equation:

$$C_t^{1-n} = C_0^{1-n} + (n-1) \cdot k \cdot t \quad (4)$$

where $(n-1) \cdot k$ is the slop of the curve and C_0^{1-n} is the intercept.

The kinetic constant k is then determined by taking the inverse of the slop of the curve described by equation (4).

From these results, 0.5-order kinetics and first-order kinetics models were again used to model ascorbic acid degradation:

$$\text{0.5-order kinetics:} \quad C_t = C_0 - k(T) \cdot t \cdot \sqrt{C_0} + \frac{(k(T) \cdot t)^2}{4} \quad (5)$$

$$\text{first-order kinetics:} \quad C_t = C_0 \cdot \exp(-k(T) \cdot t) \quad (6)$$

where C_t is the ascorbic acid concentration at time t , C_0 is the initial ascorbic acid concentration, k is the rate constant and n is the partial reaction order of ascorbic acid, T is the temperature and t is the time in minute.

The temperature dependence of k was fitted using Arrhenius law:

$$k(T) = A \cdot \exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right) \quad (7)$$

where A is the frequency factor (also called pre-exponential factor), E_a is the activation energy, and R is the ideal gas constant.

2.7. Analysis of data

All experiments were repeated at least two times and each point was sampled twice; the results were reported as average.

2.8. Statistical analysis

To evaluate the fit of a model fit to the data, we analysed residual plots between the data and the model. Shapiro-Wilk test was used to determine if residues were normally distributed or not at a chosen alpha level of 0.05. The p-value was analysed to discriminate if the distribution is normal or not. When the p-value was superior to the α -level, we considered that the residues are normally distributed.

3. RESULTS & DISCUSSION

3.1. Anaerobic conditions

In anaerobic conditions (Figure 2) not all the ascorbic acid was degraded even after 320 minutes and regardless of the temperature. Moreover, after 320 minutes, degradation of ascorbic acid was only about 8 % at 95 °C, around 18 % at 105 °C, around 36 % at 115 °C and a maximum of degradation around 61 % at 125 °C. Fitting all curves simultaneously gave a reaction order $n = 0.83$. As analysed by Van Boeckel, no real distinction can be made between models if the fractional conversion is less than 60-70 % (Van Boeckel, 2009). Indeed, we can legitimately base the determination of order reaction only on the degradation curve at 125 °C, with a degradation of 61 %, whereas it is less than 20 % at the other temperatures. The reaction order determined at 125 °C was $n = 0.84$. We chose thereby to use first-order kinetics to fit the data. The R^2 was compared for $n = 0.84$ and $n = 1$ in order to confirm that there is no significant difference between the calculated value of n and the fit of $n = 1$. A good fit was obtained for all four temperatures using $n = 1$ ($R^2 > 0.99$) and the R^2 was the same for the two different n -values (Table 1). The residues were randomly dispersed in the residual plot between the data and the obtained values with first-order kinetics model at 125 °C, and the p-value was 0.91 at an α -level of 0.05, i.e the residues are normally distributed.

The values of first-order kinetic constants are reported in Table 1. The k_H -values obtained are lower than those obtained by Van den Broeck et al. (1998), Blasco et al. (2004), Esteve et al. (1998) and Oey et al. (2006), probably due to the fact that in our case the anaerobic conditions were strict (the heating media was deaerated before each experiment and nitrogen was used as headspace gas), while in their cases, no deaeration is mentioned before heating treatment and therefore a certain amount of oxygen was present in the treated media.

There was a clear impact of temperature and the kinetic constants were used to calculate Arrhenius parameters (Figure 3). The activation energy determined had a value of 96 kJ/mol. This value is of the same order of magnitude though slightly lower than those reported for ascorbic acid degradation in plant foods at canning temperature: under anaerobic conditions, Van den Broeck et al. (1998) have determined activation energies of 117 kJ/mol and 105 kJ/mol respectively for ascorbic degradation in orange juice and tomato juice between 120 °C and 150 °C, Esteve et al. (1998) have determined an activation energy of 140 kJ/mol for ascorbic acid degradation in green asparagus.

3.2. Aerobic conditions

In presence of air, ascorbic acid had totally disappeared after 240 minutes at 95, 105 and 115 °C. All four temperatures gave almost identical degradation curves, except that at 125 °C which had a slight tail (Figure 4). In aerobic conditions, the temperature has a limited effect on the ascorbic acid degradation in this range. In fact, the degradation curves were superimposed regardless of temperature. We assumed that the degradation observed was due to both the anaerobic mechanism described above and an aerobic component connected with O₂ presence.

Three points called for attention:

A first point was that ascorbic acid degradation was enhanced in the presence of air instead of nitrogen in the same system: even at canning temperatures, the aerobic mechanism is present and predominant. Though O₂ saturation concentrations are low at elevated temperature, the model of Tromans (1998) for O₂ solubility indicates about 16 mg/L at 0.3 MPa. This value was determined using the model established by Tromans and described by equation 8 (Tromans, 1998):

$$[O_2] = P_{O_2} * \exp\left(\frac{0.064*T^2 + 203.357*T*\ln\left(\frac{T}{298}\right) - (299.378 + 0.092*T)(T - 298) - 20.591*10^3}{R*T}\right) \quad (8)$$

where [O₂] is the dissolved oxygen concentration in mol.L⁻¹ and P_{O₂} is the oxygen partial pressure in MPa.

In our experiment, the air pressure was set at 0.3 MPa, so the partial pressure of oxygen was P_{O₂} = 0.21 * 0.3 MPa = 0.063 MPa. The values of dissolved oxygen concentration depending on temperature are reported in Table 2. There is a non-negligible amount of dissolved oxygen in the heating media, which could explain the importance of the aerobic pathway compared to anaerobic pathway.

A second point was that the four curves were very similar, so the effect of temperature was very limited, while in anaerobic conditions a classical acceleration of degradation rate with temperature was recorded. As it can be hypothesized that this mechanism is still present, purely oxidative degradation would decrease with increasing temperature, which demands further investigation.

A last point is that ascorbic acid degradation did not follow first-order kinetics, nor zero-order kinetics in these conditions.

An *n*-value of 0.44 was obtained by fitting the curves. Therefore, *n* = 0.5 was used to fit the kinetics. To verify if this simplification is coherent, the R² was compared for *n* = 0.44 and *n* = 0.5. A good fit was obtained for all four temperatures using *n* = 0.5 (R² > 0.99) and the R² was the same for the two different *n*-values (table 1). The values of 0.5-order kinetic constants are reported in Table 1.

The kinetic constant did not vary significantly with temperature and did not fit in Arrhenius plot (Figure 3). It was impossible to determine an activation energy for aerobic ascorbic acid degradation during sterilization. In aerobic conditions at sterilization temperatures, there was an unidentified factor in ascorbic acid degradation.

4. CONCLUSION

Ascorbic acid degradation follows first-order kinetics at high temperatures (> 100 °C) under anaerobic conditions but it follows 0.5-order kinetics in aerobic conditions. In anaerobic conditions, the good fit of first-order kinetics confirmed that there was only one involved mechanism, the hydrolytic pathway, compared to aerobic conditions where two pathways at least are involved.

Oxygen is a major factor in ascorbic acid degradation. The significance of oxygen was significantly higher (2.5 times) than process temperature, as 50 % degradation of ascorbic acid is observed after 240 min and 100 min thermal treatment at 125 °C in anaerobic and aerobic conditions, respectively. Furthermore, the thermal stability of ascorbic acid in anaerobic conditions is higher significantly than known stability in aerobic. Indeed, under anaerobic conditions, 320 min treatment even at 125 °C was not sufficient to degrade all the ascorbic acid initially present.

In aerobic conditions, oxygen availability may be reduced due to the high temperatures that may decrease its solubility, but it stays non negligible. Removing oxygen from the medium appeared to be the better solution to preserve the maximum of vitamins during heat drastic treatments, but it can be difficult to achieve in food industry (matrix complexity, needed of specific devices, etc...).

5. REFERENCES

- Al-Zubaidy, M. M. I., & Khalil, R. A. (2007). Kinetic and prediction studies of ascorbic acid degradation in normal and concentrate local lemon juice during storage. *Food Chemistry*, 101(1), 254-259.
- Berlinet, C., Brat, P., Brillouet, J.-M., & Ducruet, V. (2006). Ascorbic acid, aroma compounds, and browning of orange juices related to PET packaging materials and pH. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(13), 2206-2212.
- Blasco, R., Esteve, M. J., Frígola, A., & Rodrigo, C. (2004). Ascorbic acid degradation kinetics in mushrooms in a high-temperature short-time process controlled by a thermoresistometer. *LWT - Food Science and Technology*, 37(2), 171-175.
- Bosch, V., Cilla, A., García-Llatas, G., Gilabert, V., Boix, R., & Alegría, A. (2013). Kinetics of ascorbic acid degradation in fruit-based infant foods during storage. *Journal of Food Engineering*, 116(2), 298-303.
- Condón, S., Arrizubieta, M. J., & Sala, F. J. (1993). Microbial heat resistance determinations by the multipoint system with the thermoresistometer TR-SC Improvement of this methodology. *Journal of Microbiological Methods*, 18(4), 357-366.
- Conesa, R., Andreu, S., Fernández, A., Esnoz, A., & Palop, A. (2009). Nonisothermal heat resistance determinations with the thermoresistometer Mastia. *Journal of Applied Microbiology*, 117(2), 506-513.
- Esteve, M. J., Frígola, A., Martorell, L., & Rodrigo, C. (1998). Kinetics of Ascorbic Acid Degradation in Green Asparagus during Heat Processing. *Journal of Food Protection*, 61(11), 1518-1521.
- Garza, S., Teixidó, J. A., Sanchis, V., Viñas, I., & Condón, S. (1994). Heat resistance of *Saccharomyces cerevisiae* strains isolated from spoiled peach puree. *Food Microbiology*, 23(2), 209-213.
- Hsu, H.-Y., Tsai, Y.-C., Fu, C.-C., & Wu, J. S.-B. (2012). Degradation of Ascorbic Acid in Ethanolic Solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(42), 10696-10701.
- Jaffe, G. M. (1984). Ascorbic Acid. *Encyclopedia of Chemical Technology*, 24, 8-40.
- Jiang, L., Zheng, H., & Lu, H. (2014). Use of Linear and Weibull Functions to Model Ascorbic Acid Degradation in Chinese Winter Jujube during Postharvest Storage in Light and Dark Conditions. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(3), 856-863.
- Lin, S. H., & Agalloco, J. (1979). Degradation kinetics of ascorbic acid. *Process Biochemistry*, 14(9), 22-24.
- McIlvaine, T. C. (1921). A buffer solution for colorimetric comparison. *Journal of Biological Chemistry*, 49(1), 183-186.
- Mercali, G. D., Jaeschke, D. P., Tessaro, I. C., & Marczak, L. D. F. (2012). Study of vitamin C degradation in acerola pulp during ohmic and conventional heat treatment. *LWT - Food Science and Technology*, 47(1), 91-95.
- Mercali, G. D., Schwartz, S., Marczak, L. D. F., Tessaro, I. C., & Sastry, S. (2014). Effect of the Electric Field Frequency on Ascorbic Acid Degradation during Thermal Treatment by Ohmic Heating. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(25), 5865-5870.
- Oey, I., Verlinde, P., Hendrickx, M., & Van Loey, A. (2006). Temperature and pressure stability of L-ascorbic acid and/or [6s] 5-methyltetrahydrofolic acid: A kinetic study. *European Food Research and Technology*, 223(1), 71-77.

- Palop, A., Marco, A., Raso, J., Sala, F. J., & Condón, S. (1997). Survival of heated *Bacillus coagulans* spores in a medium acidified with lactic or citric acid. *International Journal of Food Microbiology*, 38(1), 25-30.
- Palop, A., Raso, J., Pagàn, R., Condón, S., & Sala, F. J. (1999). Influence of pH on heat resistance of spores of *Bacillus coagulans* in buffer and homogenized foods. *International Journal of Food Microbiology*, 46(3), 243-249.
- Palop, A., Sala, F. J., & Condón, S. (1997). Occurrence of a Highly Heat-Sensitive Spore Subpopulation of *Bacillus coagulans* STCC 4522 and its Conversion to a More Heat-Stable Form. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(6), 2246-2251.
- Peng, J., Mah, J.-H., Somavat, R., Mohamed, H., Sastry, S., & Tang, J. (2012). Thermal Inactivation Kinetics of *Bacillus coagulans* Spores in Tomato Juice. *Journal of Food Protection*, 75(7), 1236-1242.
- Raso, J., Palop, A., Bayarte, M., Condón, S., & Sala, F. J. (1995). Influence of sporulation temperature on the heat resistance of a strain of *Bacillus licheniformis* (Spanish Type Culture Collection 4523). *Food Microbiology*, 12, 357-361.
- Sapei, L., & Hwa, L. (2014). Study on the Kinetics of Vitamin C Degradation in Fresh Strawberry Juices. *Procedia Chemistry*, 9, 62-68.
- Serpen, A., & Gökmen, V. (2007). Reversible degradation kinetics of ascorbic acid under reducing and oxidizing conditions. *Food Chemistry*, 104(2), 721-725.
- Soares, N. F. F., & Hotchkiss, J. H. (1999). Comparative Effects of De-aeration and Package Permeability on Ascorbic Acid Loss in Refrigerated Orange Juice. *Packaging Technology and Science*, 12(3), 111-118.
- Torregrosa, F., Esteve, M. J., Frígola, A., & Cortés, C. (2006). Ascorbic acid stability during refrigerated storage of orange-carrot juice treated by high pulsed electric field and comparison with pasteurized juice. *Journal of Food Engineering*, 73(4), 339-345.
- Tromans, D. (1998). Temperature and pressure dependent solubility of oxygen in water: a thermodynamic analysis. *Hydrometallurgy*, 48(3), 327-342.
- Van Boekel, M. A. J. S. (2009). *Kinetic Modeling of Reactions in Foods*. Boca Raton: Taylor & Francis Group.
- Van den Broeck, I., Ludikhuyze, L., Weemaes, C., Van Loey, A., & Hendrickx, M. (1998). Kinetics for Isobaric-Isothermal Degradation of L-Ascorbic Acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(5), 2001-2006.
- Yuan, J. P., & Chen, F. (1998). Degradation of Ascorbic Acid in Aqueous Solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(12), 5078-5082.
- Zimmermann, M., Longhi, D. A., Schaffner, D. W., & Aragão, G. M. F. (2014). Predicting *Bacillus coagulans* Spores Inactivation in Tomato Pulp under Nonisothermal Heat Treatments. *Journal of Food Science*, 79(5), 935-940.

6. CAPTION TO FIGURES

Figure 1. Diagram of the Thermoresistometer Mastia® set up. (A) Cooling water. (B) Programmable Logic Controller (PLC). (C) Tactile screen. (D) Computer. (E) Vessel. (F) Cap. (G) Pressure source (air or N₂). (H) Hamilton-type syringe. (I) Stirring motor. (J) Proportional Integral Derivative (PID). (1) Cooling ring. (2) Electric heating element. (3) Propeller. (4) Sampling tube. (5) Thermocouple. (6) Manometer. (7) Solenoid sampling valve. (8) Solenoid valve for the coiling system

Redrawn from Conesa et al., 2009

Figure 2. Ascorbic acid degradation in anaerobic conditions at 95 °C (◇), 105 °C (□), 115 °C (Δ) and 125 °C (x) in McIlvaine buffer pH = 3.5

Figure 3. Effect of temperature on the rate constant of ascorbic acid degradation in anaerobic conditions (filled square) referred to the left axis and in aerobic conditions (filled triangle) referred to the right axis

Figure 4. Ascorbic acid degradation in aerobic conditions at 95 °C (◇), 105 °C (□), 115 °C (Δ) and 125 °C (x) in McIlvaine buffer pH = 3.5

FIGURES

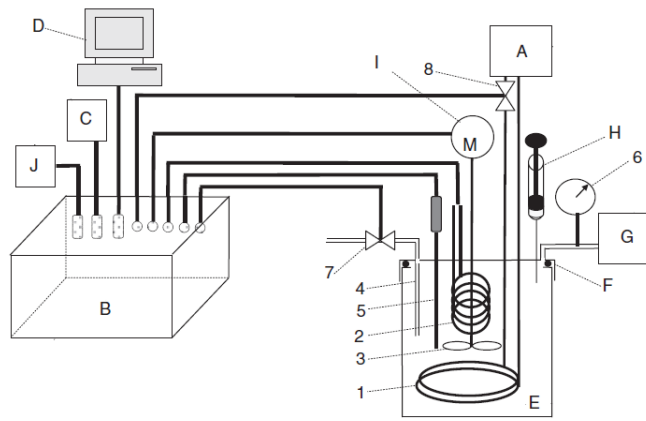


Figure 1

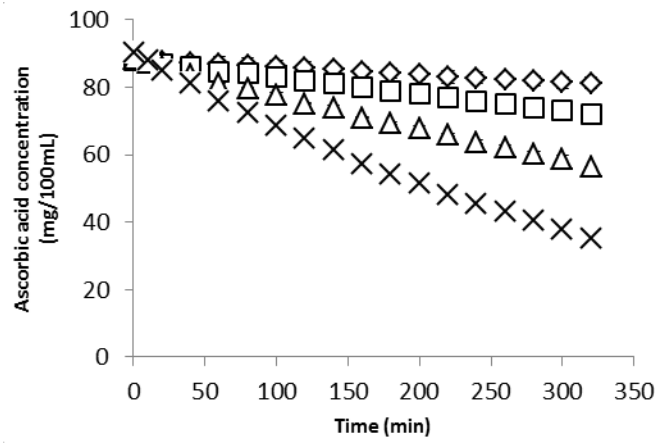


Figure 2

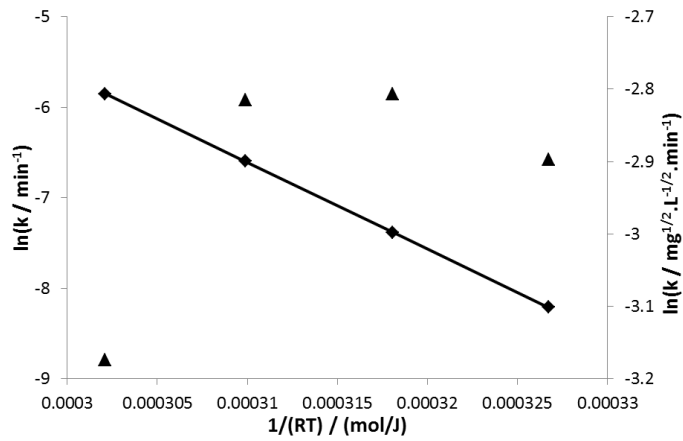


Figure 3

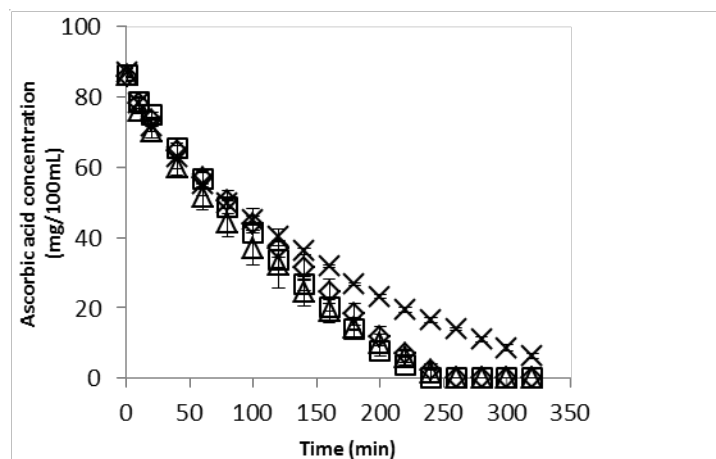


Figure 4

Table 1. Kinetic constant as function of temperature for ascorbic acid degradation in anaerobic conditions (first-order in $10^{-4} \text{ * min}^{-1}$) and in aerobic conditions ($0.5\text{-order in } 10^{-4} \text{ * mg}^{1/2} \cdot 100\text{mL}^{-1/2} \cdot \text{min}^{-1}$) and comparison between the calculated n -values for ascorbic acid degradation in anaerobic condition ($n = 0.84$) and in aerobic conditions ($n = 0.44$)

Conditions	Temperature (°C)	$k \pm \text{SD}^*$	R^2	R^2 for $n = 0.84$	R^2 for $n = 0.44$
Anaerobic	95	2.73 ± 0.04	0.996	0.996	
	105	6.19 ± 0.17	0.999	0.999	
	115	13.71 ± 0.22	0.999	0.999	—
	125	28.75 ± 0.61	0.999	0.999	
Aerobic	95	552 ± 30	0.994		0.994
	105	604 ± 0	0.996		0.997
	115	599 ± 39	0.996	—	0.996
	125	418 ± 3	0.990		0.987

*SD = Standard deviation

Table 2. Concentration of dissolved oxygen in the heating media depending on temperature, according to Tromans's model

Temperature (°C)	[O ₂] (mg.L ⁻¹)
95	15.5
105	15.6
115	15.9
125	16.5

Article 2 : Soumis dans Trends in Food Science & Technology

Understanding Vitamin C degradation in heat-treated fruit and vegetable: how new experimental approach may allow integration of the effects of oxygen concentration

N. Al Fata^{a,b}, A.-L. Herbig^b, S. Georgé^a, N. Dlah^a, & C.M.G.C. Renard^b

^aCTCPA, unité qualité nutritionnelle, Site Agroparc, 449 Clément Ader, BP 21203, 84911 Avignon CEDEX 9, France,
e-mail : nalfata@ctcpa.org and sgeorge@ctcpa.org

^bUMR408 SQPOV, INRA, Avignon University, F-84000, Avignon, France,
e-mail : anna-lena.herbig@paca.inra.fr and catherine.renard@avignon.inra.fr

*Corresponding author: nalfata@ctcpa.org (N. Al Fata)

Highlights:

- Ascorbic acid degradation behaviour is different in aerobic and anaerobic conditions
- First-order kinetics are not always followed for ascorbic acid degradation
- Oxygen is also a major co-factor for ascorbic acid degradation also above 100 °C

Abstract

Background

Vitamin C is by far the most heat labile vitamin, with losses upon processing, storage and reheating. An abundant literature exists on Vitamin C degradation, but very little on degradation in canning conditions i.e. temperatures > 100 °C. This is probably linked to difficulties in sampling while maintaining over-pressure. A further challenge concerns the control of oxygen concentration.

Scope and Approach

The Thermoresistometer Matia[®], devised for evaluation of microbial inactivation, has been designed to allow rapid and frequent sampling at temperatures up to 150 °C and under pressure. By changing the gas mixture composition and pressure, it can also be used to establish different levels of dissolved oxygen.

Key Findings and Conclusions

Luminescence-based oxygen sensors can now be implemented for better oxygen detection during ascorbic acid degradation. In the following commentary paper, we will present some of the difficulties and questions we have encountered in studies of Vitamin C degradation, and the recent solutions to some of these technological constraints.

Keywords: Ascorbic acid; oxygen; kinetics; canning

Introduction

Vitamin C is composed of two vitamers, L-ascorbic acid and L-dehydroascorbic acid, which are sugar acids. Both molecules are highly water-soluble (Matei et al., 2008; Sapei and Hwa, 2014). The L-enantiomers of both ascorbic and dehydroascorbic acids carry the Vitaminc property, and they are interconvertible by oxidation / reduction (Fig. 1). Vitamin C is not stored in the body: any excess intake is excreted to the urine, and a regular supply is necessary (Le Grusse and Watier, 1993).

The main symptom associated to Vitamin C deficiency is scurvy; it participates in many other metabolic processes and is important e.g. in wound healing, and is proposed against cold and anemia. Vitamin C is a cofactor for the biosynthesis of catecholamines, L-carnitine, cholesterol, amino acids, and some peptide hormones. In addition, Vitamin C plays a role in immune cell development, iron utilization and effects on the nervous system. Additionally, Vitamin C acts as a cofactor in the synthesis of collagen needed to support cardiovascular function and to maintain cartilage, bones and teeth, explaining its benefits for wound healing (Carr and Frei, 1999).

Fruit and vegetables (and derived products such as juices) are the most common source of Vitamin C in human diet (Silva, 2005). High concentrations of Vitamin C are generally found in fruit and green leafy vegetables. Synthetic ascorbic acid is widely used in the food industry as an antioxidant.

Vitamin C is highly susceptible to degradation, by oxidation, by heat, by light, etc... and is therefore very frequently used as a reporter Vitamin. There are many papers on Vitamin C loss during fruit and vegetable processing. Recent reviews can be found in Lešková et al. (2006) and Garcia-Torres et al. (2009). However, few consider the degradation mechanisms or the possibility of Vitamin C degradation to follow different kinetics. When kinetics of degradation are followed, most authors assume a first-order reaction, either towards ascorbic acid or towards total Vitamin C degradation. Comparison of the reaction rates and activation energies is further complicated by very different temperature ranges (Table 1). In spite of an abundant literature, degradation at canning temperatures is still poorly known and understood. Few articles describe this degradation at temperature above 100 °C (Blasco et al., 2004, Esteve et al., 1998, Oey et al., 2006, Van den Broeck et al., 1998). At such elevated temperatures Vitamin C degradation can follow two pathways (aerobic and anaerobic), but their relative importance and the conditions that favour one or the other remain unknown. One of the reasons for this lack of investigation is probably practical considerations, as study at temperatures > 100°C demands closed or pressurized vessels, which severely limits sampling possibilities.

Furthermore, many articles, even at low temperatures, fail to consider explicitly one of the major factors of Vitamin C degradation, which is availability of oxygen. Vitamin C degradation is primarily linked to the oxidation of ascorbic acid into dehydroascorbic acid, and the molar ratios of ascorbic acid to oxygen in foods may be close or > to 1. In addition, oxygen saturating concentration decrease markedly with temperature and its diffusion from the air-liquid interface is slow, particularly in viscous or solid foods. However, though the popular Winkler table indicates absence of oxygen in boiling water under atmospheric pressure, oxygen solubility for a given oxygen partial pressure increases again at temperatures > 100°C and with pressure (Fig. 2). Lack of explicit inclusion of oxygen availability is almost general in food-related literature, and prevents building of more mechanistically based models. A first reason for this is that appropriate oxygen sensors (Friedrich et al., 2013) have only recently become available. These sensors must fulfil three conditions: be heat-stable, be highly sensitive and not consume oxygen themselves, all of which preclude the use of the most common detector, namely Clarke electrodes. A second point is that modulating oxygen partial pressure is tricky per se, because of its slow diffusion and the omnipresence of air:

equilibration requires prolonged bubbling and perfect stirring, in airtight vessels to avoid leaks, i.e. working conditions not commonly available in food science laboratories.

New developments may now allow to overcome some of these limitations. We will discuss in particular the thermoresistometer Mastia® (Conesa et al., 2009a), which allows to work at elevated temperatures and pressure with a possibility to repeatedly sample the product. It has fast temperature regulation which allows also programming of temperature ramps and plateaus. It uses compressed gases in its headspace and allows for perfect stirring, which means a possibility to modulate oxygen partial pressure and dissolution saturation. Another novelty is the development of luminescence-based oxygen sensors, for continuous sensing of oxygen dissolution.

The purpose of this article is therefore i) describe briefly what is known on ascorbic acid degradation mechanisms and kinetics, including the influence of oxygen in foods; ii) present some of our recent results on ascorbic acid degradation in various systems and how they led us to reconsider the limitations of the existing studies and iii) present how the new devices such as the Thermoresistometer Mastia® and optical oxygen sensors can help us integrate explicitly a number of parameters and thus better understand Vitamin C degradation mechanisms and limiting parameters.

Degradation mechanism

The degradation mechanism for Vitamin C is complex (Fig 1). Ascorbic acid and dehydroascorbic acid are interconvertible depending on the medium conditions (Table 1), and both carry the vitaminic property, hence loss of ascorbic acid, though often the only compound measured (Table 1), is not equal to loss of Vitamin C (Yuan and Chen, 1998; Serpen et Gökmen, 2007). Further, ascorbic acid and dehydroascorbic acid are both susceptible to degradation by an anaerobic mechanism; this mechanism leads to molecules (typically 2,3-diketogulonic acid from dehydroascorbic acid) that do not have the vitaminic properties. The reaction rate is much higher for dehydroascorbic acid, and also higher than the rate of conversion of ascorbic to dehydroascorbic acid in food processing and storage conditions (Table 1). Hence in most conditions, the oxidation of ascorbic acid to dehydroascorbic acid is the rate-controlling step in Vitamin C degradation. The key to oxidation is electron transfer, which can occur with oxidants other than molecular oxygen. However, in food processing oxygen (from air or dissolved) is very often at the start of the reaction chain, and its elimination (by deaeration of juices for example) considerably slows down Vitamin C degradation (Garcia-Torres et al., 2009). This oxidation can have two main sources in fruit and vegetable processing:

- Enzymatic oxidation: various oxidases are present in plants, including ascorbic acid oxidase; however the main ascorbic acid degradation is due to “secondary oxidation”, where, due to its redox potential, ascorbic acid is oxidised by oxidation transfer from products of other reactions. A typical example is the quinones of polyphenols, formed by polyphenoloxidase, from which the polyphenols are regenerated and can be oxidised anew (Aka et al., 2013). This mechanism demands active oxidase enzymes and is therefore prevalent in raw products.
- Non-enzymatic oxidation, also called autooxidation: ascorbic acid can be oxidised directly or act as regenant for other oxidised moieties; this reaction is much slower and is typically catalysed by metal ions.

There are therefore 3 main reactions involved in Vitamin C degradation with 4 reaction rates relatively easily accessible from ascorbic acid and dehydroascorbic acid determinations (Fig. 1):

- 1- Reversible oxidation – reduction between ascorbic acid and dehydroascorbic acid (“aerobic” pathway)
- 2- Irreversible cleavage of ascorbic acid leading through decarboxylation and dehydration to furfural as main end product (“anaerobic”)

3- Irreversible cleavage of dehydroascorbic acid (“anaerobic”)

The reaction chain (2) from ascorbic acid to furfural is a classical degradation mode of sugars, prevalent in acidic conditions and high temperatures (Fusaro et al., 2015). The oxidation – reduction (1) is strongly dependant on the redox conditions: though oxidation is the most studied, Serpen and Gökmen (2007) for example also consider the reduction kinetics. In principle the reaction schemes 2 and 3 can be distinguished by their specific reaction products: degradation of dehydroascorbic acid produces furoic acid and 2-hydroxy-2-pyrone (Yuan & Chen, 1998; Louarme & Billaud, 2012), whereas anaerobic degradation of ascorbic acid leads to furfural.

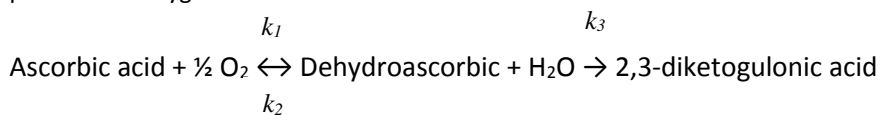
Presence of reducing or oxidising agents also changes Vitamin C degradation, by modifying the equilibrium in the redox reaction. Serpen & Gökmen (2007) observed for ascorbic acid degradation at 90 °C (pH not mentioned, no buffering agent) that addition of the reducing agent cysteine significantly increased the reaction constant for conversion of dehydroascorbic acid to ascorbic acid, while presence of Fe²⁺ (oxidising agent) significantly accelerated conversions of ascorbic acid to dehydroascorbic acid, and dehydration of dehydroascorbic acid to 2,3-diketogulonic acid. We also noted (unpublished results) that addition of EDTA considerably slowed down ascorbic acid degradation (pH 3.8), whereas addition of iron had a marked accelerating effect.

Importance of oxygen

The availability of oxygen is an often neglected factor in Vitamin C degradation, although it is actually frequently the rate controlling factor in food processing operation. Indeed, in the case of ascorbic acid oxidation, the reaction is generally recognized to follow a first-order kinetics law, with respect to ascorbic acid, which assumes that the oxygen content in the medium does not impact the kinetics rate. This is surprising if we consider that some of the authors using this kinetics law simultaneously observed that the rate of oxidation was dependent on oxygen’s availability (Oey et al., 2006).

Absence of oxygen is well known to better preserve Vitamin C in fruit juices during storage (Garcia-Torres et al., 2009, Mertz et al., 2010, Van Bree et al., 2012), so that head-space (Van Bree et al., 2012) and packaging permeability (Ahrne et al., 1997) are major factors during storage. Mertz et al. (2010) show that, in degassed juices of tamarillo, the degradation of ascorbic acid is totally inhibited while losses of dehydroascorbic acid are not affected by initial level of oxygen. Clearly in these conditions reaction chain 3, hydrolysis of dehydroascorbic acid (Fig. 1) was the only one active. Van Bree et al. (2012) actually modelled Vitamin C degradation as a function of initial oxygen in the headspace; they found a linear relationship between [O₂] in the headspace and speed of ascorbic acid degradation, however they did not exploit this in terms of oxygen stoichiometry. A detailed study on the relation of ascorbic acid degradation with oxygen availability has been carried out by Pénicaud et al. (2011). Their model takes into account both oxygen and ascorbic acid diffusivities (calculated as 2.26×10⁻⁹ m²/s and 0.31×10⁻⁹ m²/s respectively (Pénicaud et al., 2010a,b), and oxidation reaction of ascorbic acid. A key critical point in this work was the partial order of the reaction relative to oxygen (Pénicaud et al., 2011a). Using agar gels, at 20 °C, they found that the oxidation reaction only occurred at significant extent close to the air/gel interface.

In many cases Vitamin C degradation can actually be summarized as follows, because the degradation generally occurs in presence of oxygen:



and in this case the conversion of ascorbic acid to dehydroascorbic acid, this reaction, of apparent first order towards ascorbic acid, is actually of second order or actually $(1+\beta)$ order:

$$\frac{d[AA]}{dt} = \frac{d[O_2]}{dt} = -k_1 [AA][O_2]^\beta + k_2 [DHAA] \quad \text{Equation 1}$$

Where β is the stoichiometric coefficient with respect for oxygen. Singh et al. (1976) studied ascorbic acid degradation in an infant formula during cold storage, and for low oxygen concentrations (< 8.71 mg/L) modelled ascorbic acid degradation using an order of 1 towards ascorbic acid and an order 1 towards oxygen. The same was done by Eison-Perchonok & Downes (1982) in a buffered model system, between 33 °C and 55 °C, and Patkai et al. (2002) in a model citrus juice for 80 to 100 °C. Pénicaud et al. (2012) identified stoichiometric coefficient β from degradations carried out at different concentrations of oxygen as 1.1 +/- 0.9, i.e. not statistically different from 1. Assuming $\beta = 1$, and that we can neglect the reduction of dehydroascorbic acid ($k_2 \ll k_1$), i.e. in conditions where oxidation is clearly prevalent, this integrates to the following equations:

$$[AA]_t = [AA]_0 \times \exp(-k \times t) \quad \text{Equation 2}$$

$$[O_2]_t = [O_2]_0 \times \exp(-k \times t) \quad \text{Equation 3}$$

By dividing the equation 2 by the equation 3, we obtain the following general integrated equation:

$$\frac{[AA]_t}{[O_2]_t} = \frac{[AA]_0}{[O_2]_0} \times \exp((([AA]_0 - [O_2]_0) \times k_1 \times t)) \quad \text{Equation 4}$$

In this case, clearly the reaction rate will depend on initial concentration $[AA]_0$, even if O_2 concentration is kept constant, while for pure 1st order kinetics degradation curves expressed as $\ln([AA])$ vs time should be straight lines and superimposable, whichever $[AA]_0$. This is clearly visible in our own work (Fig. 3C and 3F), where degradation expressed as $\ln([AA])$ is not linear with time. Further work is needed to better identify β and integrate the equation with its actual coefficients.

Oxygen availability has two limitations:

- Oxygen solubility: oxygen solubility decreases with increase of temperature, so much that for pure water at 100 °C under atmospheric pressure it reaches 0 (Fig. 2). Presence of ions is known to influence oxygen solubility, but very little is known about oxygen solubility in actual food matrices (Chaix et al., 2014); oxygen solubility increases again in canning conditions i.e. temperature $> 100^\circ\text{C}$ and elevated pressure (Tromans, 1998, Geng & Duan 2010) (Fig. 2).
- Oxygen diffusion in water is slow; unless perfect stirring and low liquid thicknesses are used, replacement of oxygen consumed by oxidation reaction (or microbial growth) can be a limit (Pénicaud et al., 2010).

Equilibrium oxygen solubility in distilled water from air at atmospheric pressure is of 8.26 mg/L at 25 °C, i.e. 0.26 mmol/L, very close to or lower than the ascorbic acid concentrations that can be encountered in foods (0.26 mmol/L ascorbic acid is 46 mg/L). There is very little data on oxygen saturation levels in foods in general, and in plant food specifically. The recent review from Chaix et al. (2014) reports in general higher solubilities in fats than in water, and gives a value of $1.5 \times 10^{-8} \text{ mol.kg}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$ (corresponding to 0.3 mmol/kg at ambient air and pressure i.e. an oxygen partial pressure of about 21 kPa) in potato purée and spinach-potato purées, both at 10 °C. Therefore if oxygen is not replaced by diffusion from ambient air, it can easily become the limiting factor in the reaction, and even more in the reaction rate. Both of these factors (oxygen concentration and oxygen diffusion) are rarely taken in account in reports on Vitamin C degradation kinetics, usually carried out in model solutions with high surface/ volume ratios and perfect stirring. Additionally, as oxygen diffusion is slow some oxygen may be initially present

in studies of ascorbic acid degradation kinetics, and could explain the faster initial reaction rate noted by Oey et al. (2006) for degradation in an inert atmosphere but without initial degassing.

Oxygen solubility at higher temperatures and pressure has been modelled using its thermodynamic properties (Tromans, 1998, Geng & Duan 2010). Tromans (1998) for example gives the following equation for pure water:

$$[O_2] = P_{O_2} \times \exp\left(\frac{0.064 \times T^2 + 203.357 \times T \times \ln\left(\frac{T}{298}\right) - (299.378 + 0.092 \times T)(T - 298) - 20.591 \times 10^3}{R \times T}\right) \quad \text{Equation 5}$$

where P_{O_2} is the oxygen partial pressure in atm, T the temperature in Kelvin, $[O_2]$ is the oxygen concentration and R the ideal gas constant ($8.314 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$). This model is valid in a range of temperature between 273 and 616 K.

Reaction order of the reaction of ascorbic acid degradation

It is well assumed that generally, reaction of ascorbic acid degradation follows first-order kinetics or apparent first-order kinetics when there is a constant renewability of oxygen, as well at storage conditions (Wilson et al., 1995, Pénicaud et al., 2012, Van Bree et al., 2012) as at canning conditions Karhan et al., 2004, serpen & Gökmen, 2007, Esteve et al., 1998, Van den Broeck et al., 1998, Blasco et al., 2004, oey et al., 2006). However, the ascertainment that the reaction of ascorbic acid degradation follows always first-order or apparent first-order kinetics is wrong. Indeed, a lot of parameters and the way is designed the system product/process must be taken in account in order to determine the real kinetic profile of ascorbic acid degradation reaction, and thereby the reaction order.

For instance, Herbig & Renard (2017) studied ascorbic acid degradation in an apple puree serum and found that zero-order kinetics fitted well the data than first-order kinetics. The study was performed in floating tube racks immersed in a heated water bath at 80 °C. There was indeed a limitation of oxygen, and the tubes were not stirred, that could explain why zero-order kinetics are observed in this case despite first-order kinetics, and stirring appeared to have a non-negligible influence on ascorbic acid degradation because it influences oxygen dissolution (Herbig et al., 2016).

Another example, Eison-Perchonok & Downes (1982) have studied ascorbic acid degradation at pH = 6.1 between 30 and 55 °C, in flasks immersed in a water bath and with stirring. In this case of study, dissolved oxygen concentration was controlled and cannot be renewable. They found that the reaction of ascorbic acid degradation followed second-order kinetics with partial order kinetics of one for ascorbic acid and oxygen.

Other studies were assessed in reactors. Miyawaki et al. (2016) studied ascorbic acid degradation between 0 and 70 °C in open and closed reactors. In the open reactor, ascorbic acid sodium salt solutions was dissolved in buffer from pH = 4 to pH = 8 solutions under neck flasks, and gas containing a certain oxygen level was introduced and was mildly bubbled. They found firstly that zero-order kinetics fitted well the data than first-order kinetic and secondly that the zero-order kinetic parameters were strongly affected by oxygen concentration. In the closed reactor, ascorbic sodium salt was dissolved in a buffer at pH = 8 in glass tubes with a minimum of headspace and air was bubbled for 5 minutes to saturate oxygen. In this case, first-order kinetics fitted well the data because oxygen is consumed stoichiometrically in the ascorbic acid oxidation process. In the open reactor, oxygen concentration was constant, so that could be explain why zero-order kinetic are observed. In the closed reactor, oxygen concentration decreased with time because it was consumed without any renewability, that because first-order kinetics were observed.

In the same optic, Van Bree et al. (2012) studied ascorbic acid degradation in a model fruit juice solution containing glucose, fructose and sucrose stored at 22 °C in flasks closed with a silicon septum, and the headspace was filled with different ratio N₂/O₂ starting from 0.03 % to 20.9 % of oxygen. Zero-order and first-order kinetic were tested to fit the data, and it appeared that first-order kinetics fitted well the data. Moreover, they found a linear relationship between the amount of oxygen in headspace gas and the first-order kinetic constant. Concerning the well fit of first-order kinetics, it is the same case of the one mentioned above about the close reactor of Miyawaki et al. (2016).

To understand what it happens at high temperatures, Al Fata et al. (2016) studied ascorbic acid degradation in a closed reactor, the thermoresistometer Mastia[®], in model solution at pH = 3.5 (pH value of common fruits), both in strict anaerobic and in aerobic conditions in a temperature range from 95 to 125 °C. In aerobic conditions, air was used as headspace gas and the pressure was set to 0.3 MPa, which lead to a partial pressure of oxygen of 0.063 MPa. In anaerobic conditions, nitrogen was used as headspace at the same pressure and the media was previously deaerated by bubbling nitrogen *in situ* and heating. In strict anaerobic conditions, ascorbic acid degradation followed first-order kinetics, which seems that only one degradation mechanism was involved in the degradation process. Moreover, in these conditions, 320 minutes of treatment even at 125 °C was not sufficient to degrade all the initial ascorbic acid, that means ascorbic acid is not as heat sensitive as it is always considered. In aerobic conditions, the behavior was totally different, and first-order kinetics did not fit well the data, and also, it appeared that zero-order kinetics did not fit well again the data. Indeed, 0.5-order kinetics appeared to fit well the data in aerobic conditions, that could be mean that in these conditions, when oxygen is involved and when the temperature is high (> 100 °C), both oxidative and hydrolytic pathways are involved in mechanism degradation process of ascorbic acid. The kinetic order of 0.5 is in fact an apparent order. That could again explain why the authors found that in aerobic condition at high temperature, ascorbic acid degradation reaction had not an Arrhenian behavior. In this study, it was found that in canning conditions, oxygen have more impact on ascorbic acid than temperature.

By modulating partial pressure of oxygen using an air compressor or a bottle of gas mixture N₂/O₂ 90/10 (%/%), Al Fata et al. (2017) (publication in progress) studied influence of partial pressure of oxygen at canning temperature in the same conditions mentioned above, with modulating partial pressure of oxygen at 0, 0.03, 0.063 and 0.1 MPa. The authors found that when the partial pressure of oxygen was 0.063 MPa or higher, ascorbic acid degradation reaction followed apparent 0.5-order kinetics, but, when the partial pressure of oxygen was 0.03 MPa, ascorbic acid degradation reaction followed apparent 0.75-order kinetics. This obtained results are due to the ratio between the two occurring degradation pathways according to Yuan and Chen (1998). The higher the partial pressure of oxygen, more is the importance of oxidoreductive pathway in ascorbic acid degradation, that could explain why apparent 0.5-order kinetics are observed, whereas when the partial pressure was lesser, apparent 0.75-order kinetics are observed because oxygen availability is less and thereby, hydrolytic pathway becomes more and more preponderant, and the apparent order tends to 1.

Another surprising example, Manso et al. (2001) studied ascorbic acid degradation in orange juice. The juice was strained before poured into a flask and put in a thermostatic bath during 36 hours. Treatment were performed between 20 and 45 °C, and oxygen content was between 4.7 and 5.67 ppm, without renewability, and the pH varied between 3.69 and 3.77. In this case of study, there was no stirring. The authors found a behavior different than the others: neither first-order nor zero-order kinetics fitted well the data, but a Weibull model did.

Conclusion

Many articles up to now merely report “blackbox” impact of processing on a given fruit or vegetable. Understanding Vitamin C degradation in foods, and notably in processed fruit and vegetables, requires a deeper understanding of the mechanisms and conditions. Clearly avoidance of oxygen is a key factor for Vitamin C preservation, to limit the formation of the highly labile dehydroascorbic acid by oxidation of ascorbic acid. A good basis for explicit considerations of mechanisms and in particular oxygen availability, can be found in the work of Pénicaud *et al.* (2012, 2011, 2010a,b) and Chaix *et al.* (2014). A few reports of ascorbic acid degradation at elevated temperatures have been found: most of them do not consider explicitly oxygen availability.

All the mentioned studies shows that the behavior of ascorbic acid degradation depends strongly on the conditions of storage or heat treatment (stirring, headspace, oxygen availability, etc...). Sometimes, classical kinetic models such first-order, second-order and even zero-order are not sufficient to fit well data of ascorbic acid degradation, but sigmoidal models could fit better. Furthermore, oxygen appears to be a major impacting factor on ascorbic acid degradation behavior. Indeed, stirring of media and consequently oxygen availability and renewability impact clearly ascorbic acid degradation. Moreover, at canning temperature, oxygen is a major co-factor than temperature on ascorbic acid degradation. Some studies have concluded that a non-Arrhenian behavior was observed for ascorbic acid degradation in canning processes, and apparent reaction orders depend on partial pressure of oxygen, and by this fact, on its availability.

References

- Aka, J. P., Courtois, F. *et al.* (2013). Modelling the interactions between free phenols, L-ascorbic acid, apple polyphenoloxidase and oxygen during a thermal treatment. *Food Chemistry*, 138(2-3), 1289-1297.
- Ahrne, L. M., Oliveira, F. A. R. *et al.* (1997). Modelling of dissolved oxygen concentration during storage of packaged liquid foods. *Journal of Food Engineering*, 34(2), 213-224.
- Al Fata, N., Geogé, S. *et al.* (2016). Determination of reaction orders for ascorbic acid degradation during sterilization using a new experimental device: The thermoresistometer Mastia®. *LWT – Food Science and Technology*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2016.08.043>.
- Blasco, R., Esteve, M. J. *et al.* (2004). Ascorbic acid degradation kinetics in mushrooms in a high-temperature short-time process controlled by a thermoresistometer. *LWT - Food Science and Technology*, 37(2), 171-175.
- Carr A.C. & Frei B. (1999). Towards a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *The American journal of Clinical Nutrition* 69(6), 1086-107.
- Chaix, E., Guillaume, C. *et al.* (2014). Oxygen and Carbon Dioxide Solubility and Diffusivity in Solid Food Matrices: A Review of Past and Current Knowledge. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(3), 261-286.
- Conesa, R., Andreu, S. *et al.* (2009). Nonisothermal heat resistance determinations with the thermoresistometer Mastia. *Journal of Applied Microbiology*, 117(2), 506-513.

- Eison-Perchonok, M. H. & Downes T. W. (1982). Kinetics of ascorbic acid autoxidation as a function of dissolved oxygen concentration and temperature. *Journal of Food Science*, 47, 765-773.
- Esteve, M. J., Frígola, A. et al. (1998). Kinetics of Ascorbic Acid Degradation in Green Asparagus during Heat Processing. *Journal of Food Protection*, 61(11), 1518-1521.
- Friedrich J., Längin A. & Kümmerer K. (2013). Comparison of an Electrochemical and Luminescence-Based Oxygen Measuring System for Use in the Biodegradability Testing According to Closed Bottle Test (OECD 301D), *Clean - Soil, Air, Water*, 41(3), 251-257.
- Fusaro M.B., Chagnault V. & Postel D. (2015). Reactivity of D-fucose and D-xylose in acidic media in homogeneous phases. *Carbohydrate Research*, 409, 9-19.
- Garcia-Torres, R., Ponagandla, N. R. et al. (2009). Effects of Dissolved Oxygen in Fruit Juices and Methods of Removal. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 8(4), 409-423.
- Geng, M. & Duan Z. (2010). Prediction of oxygen solubility in pure water and brines up to high temperatures and pressures. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 74(19), 5631-5640.
- Herbig, A.-L., Maingonnat, J.-F. & Renard C. M. G. C. (2016). Oxygen availability in model solutions and purées during heat treatment and the impact on vitamin C degradation. *LWT – Food Science and Technology*, <http://dx.doi.org/10.2016/j.lwt.2016.09.033>.
- Herbig, A.-L. & Renard C. M. G. C. (2017). Factors that impact the stability of vitamin C at intermediate temperatures in a food matrix. *Food chemistry*, 220, 444-451.
- Jaffe, G. M. (1984). Ascorbic acid. *Encyclopedia of Chemical Technology*, 24, 8-40.
- Karhan, M., Aksu, M. et al. (2004). Kinetic modeling of anaerobic thermal degradation of ascorbic acid in rose hip (*Rosa canina* L) pulp. *Journal of Food Quality*, 27(5), 311-319.
- Le Grusse, J. & Watier, B. (1993). Les Vitamines : Données biochimiques, nutritionnelles et cliniques. *Edition: Centre d'Etudes et d'Information sur les Vitamines*, Neully-sur-Seine, France, 303 pages.
- Lešková, E., Kubíková, J. et al. (2006). Vitamin losses: Retention during heat treatment and continual changes expressed by mathematical models. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(4), 252-276.
- Louarme, L. & Billaud, C. (2011). Evaluation of ascorbic acid and sugar degradation products during fruit dessert processing under conventional or ohmic heating treatment. *LWT-Food Science and Technology*, 49(2), 184-187.
- Manso, M. C., Oliveira, F. A. R. et al. (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.

- Matei, N., Birghila, S. et al. (2008). Kinetic study of Vitamin C degradation from pharmaceutical products. *Romanian Journal of Physics*, 53(1-2), 343-351.
- Mertz, C., Brat, P. et al. (2010). Characterization and thermal lability of carotenoids and vitamin C of tamarillo fruit (*Solanum betaceum* Cav.). *Food Chemistry*, 119(2), 653-659.
- Miyawaki, O., Sugiyama, T. & Inoue Erika (2016). Kinetic analysis of the oxidation of ascorbic acid in an open reactor with gas bubbling. *Japan Journal of Food Engineering*, 17(2), 51-55.
- Oey, I., Verlinde, P. et al. (2006). Temperature and pressure stability of L-ascorbic acid and/or [6s] 5-methyltetrahydrofolic acid: A kinetic study. *European Food Research and Technology*, 223(1), 71-77.
- Patkai, G., Kormendy, I. et al. (2002). Vitamin C decomposition kinetics in solutions, modelling citrus juices. *Acta Alimentaria*, 31(2), 125-147.
- Pénicaud, C., Guilbert, S. et al. (2010a). Oxygen transfer in foods using oxygen luminescence sensors: Influence of oxygen partial pressure and food nature and composition. *Food Chemistry*, 123(4), 1275-1281.
- Pénicaud, C., Peyron, S. et al. (2010b). Ascorbic acid in food: Development of a rapid analysis technique and application to diffusivity determination. *Food Research International*, 43(3), 838-847.
- Pénicaud, C., Broyart, B. et al. (2011). Mechanistic model to couple oxygen transfer with ascorbic acid oxidation kinetics in model solid food. *Journal of Food Engineering*, 104(1), 96-104.
- Pénicaud, C., Bohuon, P. et al. (2012). Influence of the Experimental Errors and Their Propagation on the Accuracy of Identified Kinetics Parameters: Oxygen and Temperature Effects on Ascorbic Acid Oxidation during Storage. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 51(3), 1131-1142.
- Sapei, L. & Hwa, L. (2014). Study on the kinetic of Vitamin C degradation in fresh strawberry juices. *Procedia Chemistry*, 9, 62-68.
- Serpen, A. & Gökmen V. (2007). Reversible degradation kinetics of ascorbic acid under reducing and oxidizing conditions. *Food Chemistry*, 104(2), 721-725.
- Serpen, A., Gökmen, V. et al. (2007). Reversible degradation kinetics of vitamin C in peas during frozen storage. *European Food Research and Technology*, 224(6), 749-753.
- Silva, F. O. (2005). Total ascorbic acid determination in fresh squeezed orange juice by gas chromatography. *Food Control*, 16(1), 55-58.
- Singh, R. P., Heldman, D. R. et al. (1976). Kinetics of quality degradation: ascorbic acid oxidation in infant formula during storage. *Journal of Food Science*, 41(2), 304-308.
- Tromans, D. (1998). Temperature and pressure dependent solubility of oxygen in water: a thermodynamic analysis. *Hydrometallurgy*, 48(3), 327-342.

Van Bree, I., Baetens, J. M. et al. (2012). Modelling the degradation kinetics of vitamin C in fruit juice in relation to the initial headspace oxygen concentration. *Food Chemistry*, 134(1), 207-214.

Van den Broeck, I., Ludikhuyze, L. et al. (1998). Kinetics for Isobaric-Isothermal Degradation of L-Ascorbic Acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(5), 2001-2006.

Winkler, L. W. (1889). Die Löslichkeit des Sauerstoffs in Wasser. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 22, 1764-1774.

Wilson, R. J., Beezer, A. E. et al. (1995). A kinetic study of the oxidation of L-ascorbic acid (vitamin C) in solution using isothermal microcalorimeter. *Thermochimica Acta*, 264, 27-40.

Yuan, J.-P. & Chen F. (1998). Degradation of ascorbic acid in aqueous solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 5078-5082.

Captions to figures

Figure 1: Mechanisms for ascorbic acid degradation (redrawn from Yuan & Chen, 1998)

Figure 2: Oxygen solubility in pure water according to Winkler, 1888 (blue curve) and Tromans, 1998 (red curve for $pO_2 = 0.021$ MPa and green curve for $pO_2 = 0.063$ MPa)

Figures

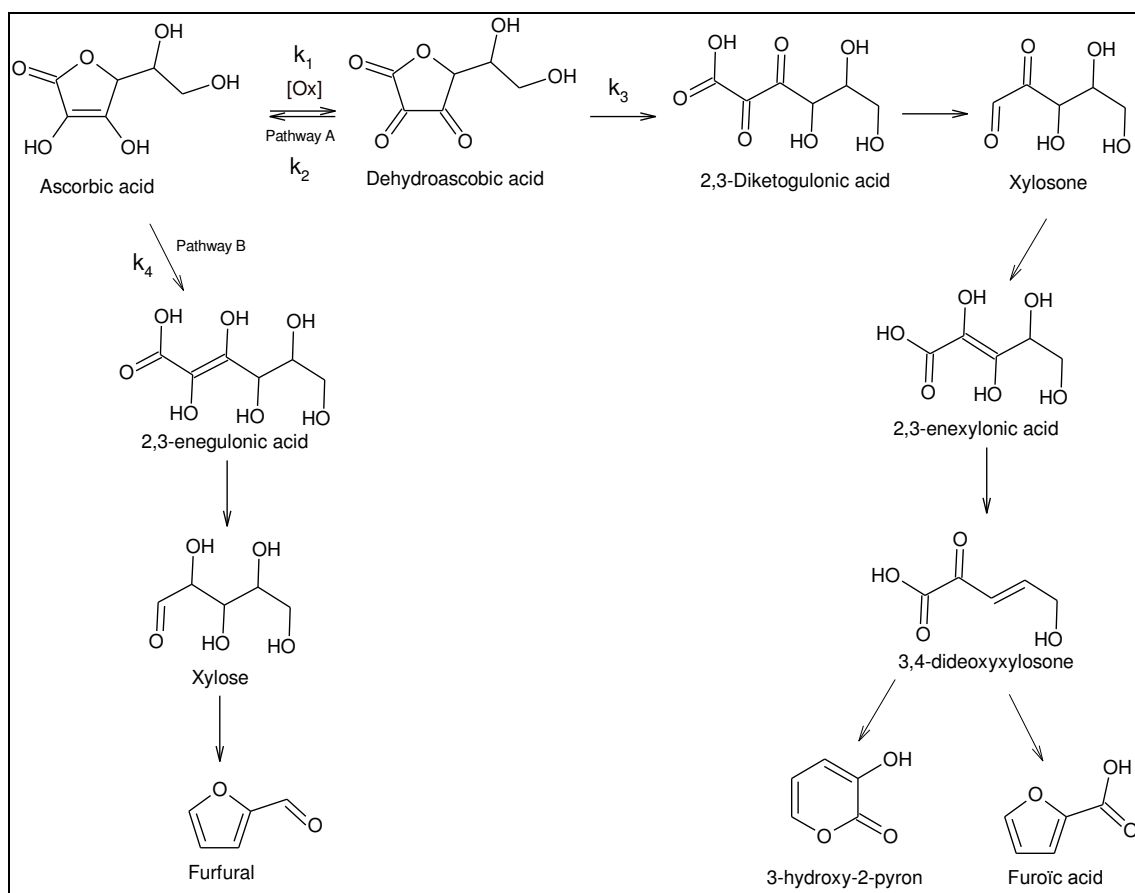


Figure 1

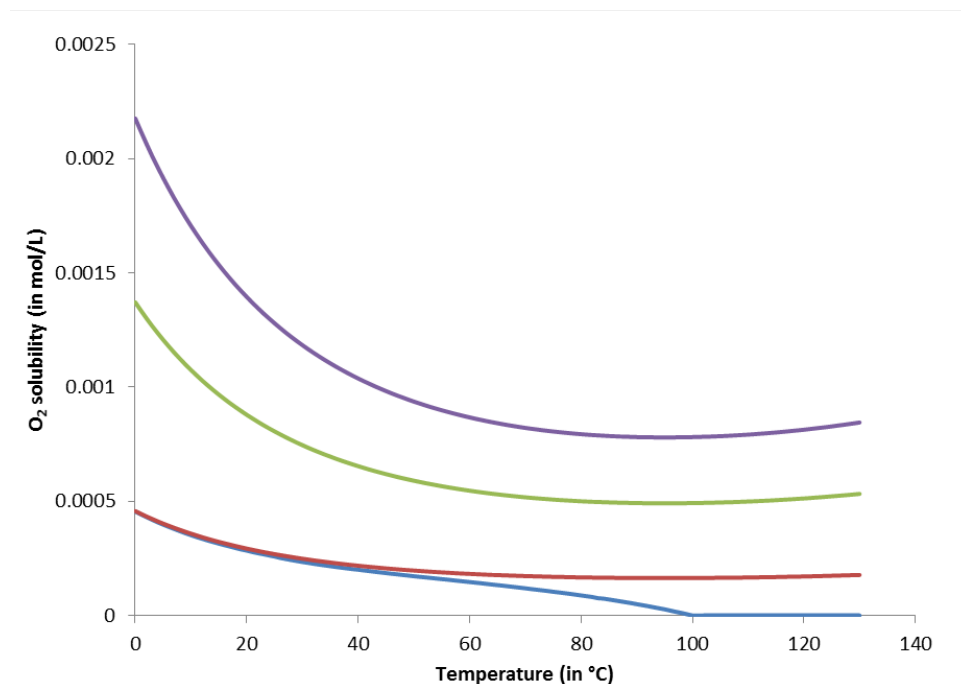


Figure 2

Table 1: Kinetic data reported for ascorbic acid or dehydroascorbic acid in fruit or vegetables.

When specified, reaction constants are identified as follows: k_1 : oxidation of ascorbic acid to dehydroascorbic acid ("aerobic" degradation of ascorbic acid); k_2 : reduction of dehydroascorbic acid to ascorbic acid; k_3 : cleavage of dehydroascorbic acid to 2,3-diketogulonic acid; k_4 : cleavage of ascorbic acid ("anaerobic").

Vitamin C degradation at room temperatures				
Vitamin form	Product and conditions	Oxygen	Results	reference
Ascorbic acid	Acetate buffer pH = 5 T° = 25 °C [AA] = 3.5 mmol/L	Mmol/L 0.08 0.14 0.25	First order kinetic $k_{app} = 1.95 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ $k_{app} = 1.96 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ $k_{app} = 1.57 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$	Wilson et al., 1995
Ascorbic acid	Citrate/phosphate buffer pH = 6.1 Flushing with gas mixtures with different proportions T° = 30 – 55 °C	Fixed and constant	Second order (partial orders 1 for ascorbic acid and oxygen) $k_{10\% \text{ O}_2, 50^\circ\text{C}} = 123 \text{ min}^{-1} \text{ mol}^{-1}$, $E_a \text{ } 10\% \text{ O}_2 = 40 \text{ kJ/mol}$ $k_{15\% \text{ O}_2, 50^\circ\text{C}} = 132 \text{ min}^{-1} \text{ mol}^{-1}$, $E_a \text{ } 15\% \text{ O}_2 = 57 \text{ kJ/mol}$ $k_{21\% \text{ O}_2, 50^\circ\text{C}} = 120 \text{ min}^{-1} \text{ mol}^{-1}$, $E_a \text{ } 10\% \text{ O}_2 = 69 \text{ kJ/mol}$	Eison-Perchonok & Downes, 1982

Ascorbic acid	Water, T° = 20 °C	mmol/L	k _{app} for the first order vs ascorbic acid k _{app} = 1.9 10 ⁻⁷ s ⁻¹ k _{app} = 2.2 10 ⁻⁷ s ⁻¹ k _{app} = 4.4 10 ⁻⁷ s ⁻¹ k _{app} = 6.4 10 ⁻⁷ s ⁻¹ k _{app} = 8.8 10 ⁻⁷ s ⁻¹ k _{app} = 13.9 10 ⁻⁷ s ⁻¹	Pénicaud et al., 2012
Ascorbic acid and dehydroascorbic acid	Orange juice Headspace / juice: 4/1 T° = 22 °C	% in initial gas	First order – reversible consecutive (cf Fig 3) k ₁ = 0.011 day ⁻¹ , k ₂ = 0.011 day ⁻¹ , k ₃ = 0.149 day ⁻¹ k ₁ = 0.022 day ⁻¹ , k ₂ = 0.022 day ⁻¹ , k ₃ = 0.209 day ⁻¹ k ₁ = 0.030 day ⁻¹ , k ₂ = 0 day ⁻¹ , k ₃ = 0.254 day ⁻¹ k ₁ = 0.098 day ⁻¹ , k ₂ = 0 day ⁻¹ , k ₃ = 0.368 day ⁻¹	Van Bree et al., 2012
Ascorbic acid and dehydroascorbic acid	Reconstituted orange juice (sugars, citric acid, amino-acids) pH = 3.5 Headspace / juice: 4/1 T° = 22 °C	% in initial gas	First order – reversible consecutive (cf Fig 3) k ₁ = 0.019 day ⁻¹ , k ₂ = 0.019 day ⁻¹ , k ₃ = 0.217 day ⁻¹ k ₁ = 0.044 day ⁻¹ , k ₂ = 0.029 day ⁻¹ , k ₃ = 0.297 day ⁻¹ k ₁ = 0.112 day ⁻¹ , k ₂ = 0 day ⁻¹ , k ₃ = 0.335 day ⁻¹ k ₁ = 0.263 day ⁻¹ , k ₂ = 0 day ⁻¹ , k ₃ = 0.357 day ⁻¹ k ₁ = 0.313 day ⁻¹ , k ₂ = 0 day ⁻¹ , k ₃ = 0.422 day ⁻¹	Van Bree et al., 2012
Ascorbic acid	Orange juice T° = 20-45 °C	Aerobic (ambient, large surface)	Weibull 1/a _{32.5°C} = 0.064 h ⁻¹ , E _a = 39 kJ/mol β _{ref} = 1.7 First order k _{32.5°C} = 0.039 h ⁻¹ , E _a = 71 kJ/mol	Manso et al., 2001

Vitamin C degradation at thermal process temperatures				
Vitamin form	Product and conditions	Oxygen	Results	reference
Ascorbic acid	Rose hip pulp T° = 70-95 °C pH = 3.85	Anaerobic	First order k _{4, 95°C} = 13 10 ⁻³ min ⁻¹ , E _a = 47.5 kJ/mol	Karhan et al., 2004
Ascorbic acid	Water, T° = 90 °C Control 2 mg/L cystein 20 mg/L cystein 2 mg/L Fe ³⁺ 20 mg/L Fe ³⁺	No info	First order – reversible (cf fig. 3) k ₁ = 0.218 h ⁻¹ k ₁ = 0.098 h ⁻¹ k ₁ = 0.068 h ⁻¹ k ₁ = 0.309 h ⁻¹ k ₁ = 0.449 h ⁻¹	Serpen & Gökmen, 2007
Dehydroascorbic acid	Water, T° = 90 °C Control 2 mg/L cystein 20 mg/L cystein 2 mg/L Fe ³⁺ 20 mg/L Fe ³⁺	No info	First order – reversible plus formation 2,3 diketogulonic acid (cf Fig 3) k ₂ = 0.249 10 ⁻⁸ h ⁻¹ , k ₃ = 0.218 h ⁻¹ k ₂ = 0.123 h ⁻¹ , k ₃ = 0.026 h ⁻¹ k ₂ = 0.161 h ⁻¹ , k ₃ = 0.029 h ⁻¹ k ₂ = 0.184 10 ⁻⁸ h ⁻¹ , k ₃ = 0.306 h ⁻¹ k ₂ = 0.212 10 ⁻⁸ h ⁻¹ , k ₃ = 0.449 h ⁻¹	Serpen & Gökmen, 2007
Ascorbic acid	Green asparagus T° = 110-125 °C	Anaerobic with some dissolved oxygen	First-order k _{4, 110°C} = 0.016 min ⁻¹ k _{4, 115°C} = 0.044 min ⁻¹ k _{4, 120°C} = 0.061 min ⁻¹ k _{4, 125°C} = 0.080 min ⁻¹ E _a = 140 kJ/mol	Esteve et al., 1998
Ascorbic acid	Orange Juice T° = 120-150 °C pH = 3.5	Anaerobic with some dissolved oxygen	First-order k _{4, 120°C} = 0.0076 min ⁻¹ k _{4, 130°C} = 0.0205 min ⁻¹ k _{4, 140°C} = 0.0480 min ⁻¹ k _{4, 150°C} = 0.0967 min ⁻¹ E _a = 117 kJ/mol	Van den Broeck et al., 1998

Ascorbic acid	Tomato Juice T° = 120-150 °C pH = 4.5	Anaerobic with some dissolved oxygen	First-order k _{4, 120°C} = 0.0049 min ⁻¹ k _{4, 130°C} = 0.0115 min ⁻¹ k _{4, 140°C} = 0.0245 min ⁻¹ k _{4, 150°C} = 0.0487 min ⁻¹ E _a = 105 kJ/mol	Van den Broeck et al., 1998
Ascorbic acid	Mushrooms T° = 110-140 °C pH = 4.6	Aerobic (ambient)	First-order k _{app, 110°C} = 8.91 10 ⁻³ s ⁻¹ k _{app, 115°C} = 9.49 10 ⁻³ s ⁻¹ k _{app, 120°C} = 1.91 10 ⁻² s ⁻¹ k _{app, 130°C} = 2.16 10 ⁻² s ⁻¹ k _{app, 140°C} = 2.41 10 ⁻² s ⁻¹ E _a = 46 kJ/mol	Blasco et al., 2004
Ascorbic acid	Mushrooms T° = 110-140 °C pH = 4.6	Anaerobic with some dissolved oxygen	First-order k _{4, 110°C} = 1.86 10 ⁻³ s ⁻¹ k _{4, 115°C} = 3.05 10 ⁻³ s ⁻¹ k _{4, 120°C} = 4.90 10 ⁻² s ⁻¹ k _{4, 130°C} = 5.86 10 ⁻³ s ⁻¹ k _{4, 140°C} = 6.21 10 ⁻³ s ⁻¹ E _a = 50 kJ/mol	Blasco et al., 2004
Ascorbic acid	Buffer pH = 7 T° = 100-120 °C	Anaerobic with some dissolved oxygen	First-order k _{4, 100°C} = 1.05 10 ⁻³ min ⁻¹ k _{4, 110°C} = 4.62 10 ⁻³ min ⁻¹ k _{4, 120°C} = 6.45 10 ⁻² s ⁻¹ E _a = 250 kJ/mol	Oey et al., 2006

Article 3 : Soumis dans Innovative Food Science and Emerging Technologies

Influence of partial pressure of oxygen on ascorbic acid degradation at canning temperature

Nizar Al Fata^{a,b*}, Stéphane Georgé^a, Naïma Dlalal^a, Catherine M.G.C. Renard^b

^aCTCPA, unité qualité nutritionnelle, Site Agroparc, 449 Clément Ader, BP 21203, 84911 Avignon CEDEX 9, France,

e-mail : nalfata@ctcpa.org and sgeorge@ctcpa.org

^bINRA, UMR408 Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale, INRA, Avignon University, F-84000 Avignon, France,

e-mail : catherine.renard@avignon.inra.fr

*Corresponding author: nalfata@ctcpa.org (N. Al Fata)

Highlights:

- Partial pressure of oxygen in headspace highly influence ascorbic acid degradation at canning temperature (above 100 °C)
- Apparent reaction order depends on partial pressure of oxygen
- Ascorbic acid degradation under strict anaerobic conditions follows classical first-order kinetics

ABSTRACT

Oxygen is known to be one of the major cause of oxidative degradations of nutrients. Ascorbic acid, a component of interest due to its health benefits, is reported to be highly oxygen sensitive. To understand better the influence of oxygen on ascorbic acid retention at canning temperature, thermal treatment was performed in model solution at pH = 3.5 with varying partial pressure of oxygen from 0 MPa (strict anaerobic conditions) to 0.1 MPa in the headspace gas, from 95 °C to 125 °C, starting from an initial concentration of 900 mg/L. Treatment of 320 minutes was not sufficient to completely degrade all ascorbic acid initially present in the medium under anaerobic conditions and with a partial pressure of oxygen in headspace at 0.03 MPa, but treatment of 120 minutes was sufficient to degrade all initial ascorbic acid when the partial pressure of oxygen in headspace was set at 0.1 MPa. Apparent reaction orders were calculated; they were of 1 under anaerobic conditions, and 0.5 or 0.75 depending on partial pressure of oxygen. Activation energy was calculated using the Arrhenius law under anaerobic conditions only ($E_a = 67$ kJ/mol). When oxygen is present, whichever its partial pressure in headspace, no acceleration of reaction was observed with increased temperature.

Keywords: Vitamin C; oxygen; modelling; kinetics; nutritional qualities

INTRODUCTION

Sterilisation is actually the most relevant technique to ensure safe, shelf-stable hydrated food products. During canning, nutritional quality can be lost by degradation of vitamins such as vitamin C, which is one of the main water-soluble vitamins and has a major role in collagen generation, prevents scurvy and may help prevent cold, anaemia, heart disease, obstructive pulmonary disease, asthma, fever, tuberculosis or infertility (EFSA, 2013). Due to its many benefits for human health and its high physico-chemical sensitivity, ascorbic acid is considered as good marker for food nutritional and sensorial quality due to its health benefits and vulnerability. Ascorbic acid degradation is influenced by many factors, like oxygen (which can lead to oxidation) (Van Bree et al., 2012), temperature (ascorbic acid is described as very heat sensitive) (Lin and Agalloco, 1979, Esteve et al., 1998, Mesías-García et al., 2010, Hsu et al., 2012, Bosch et al., 2013, Sapei and Hwa, 2014), pH (ascorbic acid is more stable at low pHs), water activity (Berlinet et al., 2006, Bosch et al., 2013, Sapei and Hwa, 2014, Mercali et al., 2014b, Golubitskii et al., 2007) or presence of metallic ions, which can catalyse oxidation (Lin and Agalloco, 1979, Soares and Hotchkiss, 1999, Bosch et al., 2013).

Because of the increased demand for nutritive foods, there has been many attempts to maximise retention of nutrients during industrial process as well as during transport and storage (Sapei and Hwa, 2014). A thermal treatment must be efficient in order to destroy an appropriate number of targeted microorganisms to make the final product stable.

Ascorbic acid degradation is poorly known at canning temperature, probably due to the difficulty to follow this type of degradation at high temperature. Few studies are available. Esteve et al. (1998) have studied ascorbic acid degradation in asparagus (no indication of pH), Van den Broeck et al. (1998) in orange juice (pH = 3.5) and tomato juice (pH = 4.5) and Oey et al. (2006) in model solution at pH = 7 (Esteve et al., 1998, Van den Broeck et al., 1998, Blasco et al., 2004, Oey et al., 2006). All these studies used nitrogen as headspace gas, but do not mention elimination of dissolved oxygen in the products. Furthermore, Van Bree et al. (2012) studying the influence of partial pressure of oxygen in headspace on ascorbic acid degradation, but at a storage temperature (22 °C), found that there was a linear relationship between partial pressure of oxygen in headspace and the first-order kinetic constant value. Moreover, it is very difficult to insure anaerobic conditions at high temperature (> 100 °C) due to the difficulty to remove and quantify dissolved oxygen at these temperatures. Al Fata et al. (2016) studied the influence of oxygen on ascorbic acid degradation at canning temperature by performing experiments under aerobic and anaerobic conditions (2016). Oxygen has more impact than temperature on ascorbic acid degradation at temperatures higher than 100 °C. Indeed, oxygen removal from both liquid and headspace seems to be the key factor to better preserve vitamins in these processes, but it remains difficult (Al Fata et al., 2016).

Generally, it is assumed that ascorbic acid (AA) degradation can follow two pathways: one is the oxidoreductive pathway by the formation of dehydroascorbic acid (DHAA), and the other is the hydrolytic pathway, by direct cleavage of the lactone ring of ascorbic acid molecule (Yuan and Chen, 1998) (Figure1). This degradation can be described by the following kinetic equation:

$$\frac{d[AA]}{dt} = -k_H \cdot [AA] - k_{ox} \cdot [O_2]^\alpha \cdot [AA]^\beta \quad (1)$$

where $[AA]$ is the ascorbic acid concentration, $[O_2]$ the dissolved oxygen concentration, k_H the kinetic constant of the hydrolytic degradation pathway, k_{ox} the kinetic constant of the oxidoreductive degradation pathway, and α and β are respectively the partial reaction orders of oxygen and ascorbic acid for the oxidoreductive degradation pathway including both degradation pathways.

Van Bree et al. (2012) found a linear relationship between first-order kinetic constants of ascorbic acid degradation and the initial headspace oxygen concentration in headspace in fruit juice during storage, at 22 °C. Wilson et al. (1995) and Miyawaki

et al. (2016) found a relationship between kinetic constants and partial pressure of oxygen in closed reactors (Miyawaki et al., 2016, Wilson et al., 1995). Miyawaki et al. (2016) also found that the reaction order of ascorbic acid degradation was different when the experiment was performed in a closed or in an open reactor. Under anaerobic conditions, it is assumed that only the hydrolytic pathway occurs. This degradation pathway is akin to sugar degradation and does not require oxygen (sugar hydrolysis). Al Fata et al. (2016) found that the degradation is much faster in presence of oxygen, indicating that the oxidative pathway remained the major degradation pathway even at temperatures above 100 °C (Al Fata et al., 2016). Removal all the oxygen appeared to be the better solution to preserve ascorbic acid even at high temperature, but it can be difficult to perform this deaeration and remove all the oxygen in a food matrix.

In this context, ascorbic acid degradation was studied at canning temperature with different partial pressure of oxygen including anaerobic conditions by removing all dissolved oxygen, at pH = 3.5, chosen to be representative of pHs encountered in fruits. In previous experiments, we established the possibility to study ascorbic acid degradation under strict anaerobic conditions and aerobic conditions, and we validated the possibility to use different headspace gas. We concluded that oxygen is the major cofactor in ascorbic acid degradation even at canning temperature. In this way, we have to better understand the influence of oxygen and thereby we now study the influence of partial pressure of oxygen, generated by different gas mixtures and pressures, on ascorbic acid degradation at canning temperatures.

MATERIALS & METHODS

Reagents. All the reagents used were purchased from Fisher Chemical (Illkirch, France) and are analytical grade or better.

Preparation of ascorbic acid solution. A 5.0000 g accurately weighed portion of L-ascorbic acid was dissolved in 25 mL of 2.31 % (v/v) acetic acid solution at pH = 2.6 in a 25 mL volumetric flask. The mixture was then stirred until complete dissolution of ascorbic acid. The concentration was 200 g/L.

Model solution. Citrate-phosphate Mcllvaine buffer at pH = 3.5 was used as heating medium. Mcllvaine buffer was prepared using a 0.1 mol/L monohydrate citric acid solution and a 0.2 mol/L disodium phosphate solution (Mcllvaine, 1921). The buffer was stored at 4 °C until used.

High-Performance Liquid Chromatography – Analysis of ascorbic acid. The analysis method was optimised from Louarme and Billaud method (Louarme and Billaud, 2012). Analysis was carried out using a 1260 Agilent infinity LC chromatograph with a 1290 Agilent diode-array detector. A 150 x 3.0 mm Synergi Polar RP-C18 column (Phenomenex) was used with a precolumn and both have a particle size of 4 µm. The mobile phase was a 2.31 % (v/v) acetic acid solution as eluent A and acetonitrile as eluent B. The flow rate was fixed at 0.8 mL.min⁻¹, the column temperature was set at 30 °C and the injection volume was 5 µL. A gradient program was performed as follows: the initial conditions were 96 % A / 4 % B; 0-5 min, 96 % A / 4 % B; 5-10min, 80 % A / 20 % B; 10-15 min, 96 % A / 4 % B. The data acquisition was assessed at 245 nm, corresponding to the maximum absorbance of ascorbic acid in UV-visible spectrometry (Jaffe, 1984). Quantification of ascorbic acid was carried out by external standard method with a calibration curve, which is the mean of five calibration curves established by five standard solutions of ascorbic acid injected in HPLC by the same method.

Dissolved oxygen. Dissolved oxygen concentration was measured using a PreSens Fibox 4 device (Regensburg, Germany) coupled to a fiber optic probe with a sensor type PSt3 (limit of detection 30 Pa oxygen, 0.015 mg/L dissolved oxygen). The temperature range of measurements for this device is from 20 to 85 °C. We measured oxygen concentration always at 20 °C.

Determination of ascorbic acid heat resistance by the thermoresistometer Mastia®. Thermal treatments were carried out in a thermoresistometer TR-SC Mastia®, the operation system of which is well described by Conesa et al. (Conesa et al., 2009a). This experimental device allows working on a temperature range from 20 °C to 150 °C under pressure, using different gases

like air or nitrogen, having a constant and regulated stirring, sampling or injecting at any time during the heat treatment, even under pressure, without perturbation of the experimental media, working at important volumes (maximum 400 mL), and simulating isothermal and non-isothermal heat treatments. The studied temperatures were 95, 105, 115 and 125 °C, and were reached in about 30-45 seconds. Each thermal treatment lasted 320 minutes. The initial ascorbic acid concentration was 90 mg/100 mL, obtained by injecting 1.8 mL of the ascorbic acid solution in 400 mL of McIlvaine buffer.

Variation of partial pressure of oxygen. Different partial pressures of oxygen (0.03, 0.063 and 0.1 MPa) were set in headspace gas by using an air compressor or a gas bottle of a mixture of nitrogen/oxygen 90/10 (Oxy 110 Air Liquide, Lyon, France). To obtain 0.03 MPa of partial pressure of oxygen in headspace gas, the nitrogen/oxygen bottle was used and the headspace pressure was set at 0.3 MPa. To obtain 0.063 MPa and 0.1 MPa of partial pressures of oxygen in headspace, an air compressor was used and the headspace pressure was set at 0.3 and 0.5 MPa respectively. The partial pressure of oxygen was maintained during the whole experiment.

Anaerobic conditions setting. Anaerobic conditions were obtained by removing oxygen from the medium. The medium was first degassed by heating during 30 min (which led to a concentration of dissolved oxygen around 1.5 mg/L), and secondly by bubbling nitrogen at room temperature for 30 min. This enable to reach anaerobic conditions. Nitrogen was then used as headspace gas for pressurising the thermoresistometer vessel. The pressure was set to 0.3 MPa.

Kinetic models. The apparent reaction order was first identified by fitting the ascorbic acid degradation time curve with a general n -order kinetics:

$$\frac{dc}{dt} = -k \cdot C^n \quad (2)$$

which integrates to the general equation for n -order kinetics:

$$C_t = (C_0^{1-n} + (n-1) \cdot k(T) \cdot t)^{\frac{1}{1-n}} \quad (3)$$

and can be linearized to the following equation:

$$C_t^{1-n} = C_0^{1-n} + (n-1) \cdot k \cdot t \quad (4)$$

Apparent first-order kinetics models were used to model ascorbic acid degradation:

$$C_t = C_0 \cdot \exp(-k(T) \cdot t) \quad (5)$$

where C_t is the ascorbic acid concentration at time t , C_0 is the initial ascorbic acid concentration, k is the rate constant and n is the reaction order, T is the temperature and t is the time in minute.

The temperature dependence of k was fitted using Arrhenius law:

$$k(T) = A \cdot \exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right) \quad (6)$$

where A is the frequency factor (also called pre-exponential factor), E_a is the activation energy, and R is the ideal gas constant. Uncertainty on kinetic constants was obtained by using the De Levie macro (De Levie, 2012). Considering all used materials, the experimental uncertainty was around 3 %.

Analysis of data. All time courses were repeated at least twice and each point was sampled twice; the results are reported as average.

Statistical analysis. To demonstrate that a model fit well the data, we analysed residual plots between the data and the model. Shapiro-Wilk test was used to determine if residues are normally distributed or not at a chosen alpha level of 0.05. The p-value was analysed to discriminate if the distribution is normal or not. If the p-value is superior to the α -level, we considered that the residues are normally distributed.

RESULTS & DISCUSSION

In anaerobic conditions (Figure 2 (a)), not all the ascorbic acid was degraded even after 320 minutes regardless the temperature. The same finding was highlighted when the partial pressure of oxygen was set at 0.03 MPa (Figure 2 (b)). When partial pressure of oxygen was set at 0.063 MPa (Figure 2 (c)), all the initial ascorbic acid was degraded after 240 minutes at 95, 105 and 115 °C, while at 125 °C a small amount of ascorbic acid remained after 320 minutes. This is probably due to the fact that at 125 °C, solubility of oxygen decreases and the dissolution from the headspace to the heating media became more and more difficult. As described by Winkler 1888, the higher is temperature, lower is the solubility of oxygen in water (Winkler, 1888). Nevertheless, as described by Tromans (1998), oxygen can be dissolved in the medium (study done in water) even at high temperature, its saturation concentration depending on temperature and partial pressure of oxygen in the headspace, as described by the following equation:

$$[O_2] = P_{O_2} * \exp\left(\frac{0.064*T^2 + 203.357*T * \ln\left(\frac{T}{298}\right) - (299.378 + 0.092*T)(T - 298) - 20.591*10^3}{R*T}\right) \quad (7)$$

All oxygen concentrations at the equilibrium were calculated and reported in Table 2. The oxygen concentration values are in the same order regarding the temperature at a considered $p(O_2)$. The difference observed at 125 °C is indeed due to the fast consumption of oxygen firstly, and the difficulty to solubilise oxygen during the experiment secondly. Nevertheless, the higher is the $p(O_2)$, better is the solubility of oxygen as described by equation 7.

For a partial pressure of oxygen set at 0.1 MPa, all the initial ascorbic acid was degraded after 120-140 min, regardless the temperature. Therefore, partial pressure of oxygen in headspace highly influenced ascorbic acid degradation. In fact, this is in adequacy with Wilson et al. (1995) and Miyawaki et al. (2016). Both established that at a given temperature, the higher the $p(O_2)$, the faster the ascorbic acid degradation. Wilson et al. (1995) reported that ascorbic acid followed first-order kinetic. Miyawaka et al. (2016) found that ascorbic acid degradation followed zero-order kinetic in an open reactor with bubbling of oxygen, and first-order kinetic in a closed reactor. In the cases of closed reactors, the same results ($n=1$) were obtained in both Wilson et al. (1995) and Miyawaki et al. (2016). However the reaction order values obtained here were different (0.5 or 0.75), and varied with oxygen partial pressure. This could be explained by two major differences:

- In the closed reactors of Wilson et al. (1995) and Miyawaki et al. (2016), there was no oxygen renewal, in contrast to the present work, so O_2 concentration is supposed to decrease because of its consumption during the oxidative reactions;
- Wilson et al. (1995) performed their study between 18 and 25 °C, Miyawaki et al. (2016) between 0 and 70 °C, i.e. very different temperature ranges. For temperatures between 95°C and 125°C, oxygen saturation concentrations are lower and the extent of hydrolytic degradation higher.

Taking in account these two aspects (oxygen renewal and temperature range) could be explain why the reaction order value was not 0 or 1, and why it varied with partial pressure of oxygen. A decrease of partial pressure of oxygen contributed to increase the part of hydrolytic degradation versus oxidoreductive degradation.

Fitting the four curves at different temperatures for each partial pressure of oxygen gave an apparent reaction order $n = 0.90$ in anaerobic conditions, $n = 0.75$ when $p(O_2)$ was set at 0.03 MPa, $n = 0.44$ when $p(O_2)$ was set at 0.063 MPa and $n = 0.55$ when $p(O_2) = 0.1$ MPa. As analysed by Van Boeckel, no real distinction can be made between models if the fractional conversion is less than 60-70 % (Van Boekel, 2009). Indeed, we can legitimately base the determination of reaction order only on the degradation curves at 125 °C for anaerobic conditions. The reaction order determined at 125 °C was $n = 1.04$. Indeed, classical first-order kinetics fitted well the data in anaerobic conditions. That could be explained by the fact that only one mechanism is involved, the hydrolytic pathway. For a $p(O_2)$ set at 0.03 MPa, 0.75-order kinetics fitted well the data, while 0.5-order kinetics

fitted well the data for $p(O_2)$ set at 0.063 and 0.1 MPa (Table 1). Mann & Whitney test was used to determine if the data obtained by a kinetic model with a reaction order of 0.44 (respectively 0.55) when the $p(O_2)$ was set at 0.063 MPa (respectively when the $p(O_2)$ was set at 0.1 MPa) are significantly different from the data obtained by a kinetic model with a reaction order of 0.5. This test proved that there were no statistically significant differences between the data obtained with a reaction order of 0.44 (or 0.55) and the data obtained with a reaction order of 0.5. The residues between the data and the obtained values for all experiments were randomly dispersed, and the p-value was always superior to 0.05 at an α -level of 0.05, i.e. the residues were normally distributed.

A good fit was obtained for all four temperatures at all $p(O_2)$ values ($R^2 > 0.99$ in most cases). The values of kinetic constants are reported in Table 1 with the $t_{1/2}$ values for each temperature at each $p(O_2)$. The partial pressure of oxygen in headspace had an effect on apparent reaction order. Indeed, apparent reaction order was 0.5 for a $p(O_2) \geq 0.063$ MPa. When oxygen amount decreased, the part of the hydrolytic degradation in ascorbic acid degradation increased, and the apparent reaction order tended toward 1.

In anaerobic conditions, there was a clear impact of temperature, and the kinetic constants were used to calculate Arrhenius parameters (Figure 3). The activation energy determined had a value of 67 kJ/mol. This value was lower than those reported earlier for ascorbic acid degradation in plant foods at canning temperature under anaerobic conditions: Van den Broeck et al. (1998) have determined activation energies of 117 kJ/mol and 105 kJ/mol respectively for ascorbic degradation in orange juice and tomato juice between 120 °C and 150 °C, Esteve et al. (1998) have determined an activation energy of 140 kJ/mol for ascorbic acid degradation in green asparagus. This lower value is probably due to the better faculty of molecules to interact with each other in model solutions than in food matrices, where molecular interactions should be more complex due to their composition, their viscosity and structure (even in juice), and perhaps due to the better anaerobic conditions in our case. Moreover, only ascorbic acid was present in the model solution compared to a food product where many compounds are present and can interact with ascorbic acid.

Regarding the $t_{1/2}$ values, they are 1.5 time higher at $p(O_2) = 0.063$ MPa than $p(O_2) = 0.03$ MPa, and 2.7 time higher at $p(O_2) = 0.1$ MPa than $p(O_2) = 0.063$ MPa. No significant differences was observed in $t_{1/2}$ values regarding the temperature at a considered $p(O_2)$ under aerobic conditions, which confirms the non Arrhenian behaviour of ascorbic acid degradation in aerobic conditions. This is very indicative of oxygen influence on ascorbic acid degradation, as the higher the $p(O_2)$, the faster the degradation of ascorbic acid. The $t_{1/2}$ values calculated in anaerobic conditions varies from 1083 min (95 °C) to 206 min (125 °C). This is very significant of the Arrhenian behavior of ascorbic acid degradation in anaerobic conditions. Van Bree et al. (2012) studied the influence of the initial headspace concentration on ascorbic acid degradation in fruit juice stored at 22 °C (Van Bree et al., 2012). They observed faster ascorbic acid degradation for higher oxygen concentrations in the bottles' headspace. They report kinetic constants of 0.390 day⁻¹ for a headspace oxygen concentration of 20.9 % and 0.261 day⁻¹ for a headspace oxygen concentration of 10.02 %, i.e. 1.5 time higher with 20.9% oxygen than with 10.02 %. The same ratio was found between the $t_{1/2}$ values at a $p(O_2)$ of 0.063 MPa and a $p(O_2)$ of 0.03 MPa.

By this fact, when oxygen was involved in ascorbic acid degradation, apparent reaction rate constants did not follow the Arrhenius law. There could be more than one reaction pathway involved in this case, and oxidoreductive pathway appeared to be the major mechanistic pathway even at high temperatures (> 100 °C). This can be confirmed by the fact that some oxygen remained dissolved in the heated media (Tromans, 1998), or there could be an interface phenomenon between the heated media and the headspace gas that would not be negligible, with the degradation occurring at the interface liquid/gas. If we refer to equation 1, two different kinetic constants should be taking in account in ascorbic acid degradation in aerobic conditions. In our case, we determined apparent kinetic constant and apparent reaction order independently of the involved

mechanisms, because we were not able to measure oxygen concentration during the reaction, and we did not know the variation of oxygen, so apparent kinetic constants take in account both oxidoreductive and hydrolytic pathways. That is why the apparent kinetic constants did not follow Arrhenius law because they are phenomenological instead mechanistic. When the temperature increases, oxygen solubility should decrease and it should be more present in the headspace gas than in the solution. This could explain why ascorbic acid degradation was faster when the $p(O_2)$ was set at 0.1 MPa, and why at a considered $p(O_2)$ value, temperature is not the major impacting factor on ascorbic acid degradation (Table 1). This could also explain why at $p(O_2)$ values of 0.063 MPa and 0.1 MPa, ascorbic acid degradation was slower at 125 °C. Concerning the values of $t_{1/2}$, these values are strongly dependant on temperature in anaerobic conditions, but when oxygen is involved in the degradation mechanism of ascorbic acid degradation, the $t_{1/2}$ values are dependent on partial pressure of oxygen despite temperature. This ascertainment confirms the major role of oxygen in ascorbic acid degradation even at high temperature. Nevertheless, more investigations are needed to determine kinetics constants for the two different mechanistic pathways involved in ascorbic acid degradation.

CONCLUSION

When the $p(O_2)$ increased, ascorbic acid degradation rate increased and the reaction order changed. The values of apparent reaction orders confirmed that the higher is the $p(O_2)$, more the oxidoreductive pathway is involved. In fact, when less oxygen is involved in ascorbic acid degradation, apparent reaction order tends more to 1, and vice versa. Nevertheless, the more investigations are needed to understand better what is the ratio for hydrolytic/oxidoreductive pathways in ascorbic acid degradation at high temperature depending on $p(O_2)$ value and kinetic constants relative to the respective pathways.

REFERENCES

- Al Fata, N., Georgé, S., André, S., & Renard, C. M. G. C. (2016). Determination of reaction orders for ascorbic acid degradation during sterilization using a new experimental device: The thermoresistometer Mastia®. *LWT - Food Science and Technology*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2016.08.043>.
- Berlinet, C., Brat, P., Brillouet, J.-M., & Ducruet, V. (2006). Ascorbic acid, aroma compounds, and browning of orange juices related to PET packaging materials and pH. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *86*(13), 2206-2212.
- Blasco, R., Esteve, M. J., Frígola, A., & Rodrigo, C. (2004). Ascorbic acid degradation kinetics in mushrooms in a high-temperature short-time process controlled by a thermoresistometer. *LWT - Food Science and Technology*, *37*(2), 171-175.
- Bosch, V., Cilla, A., García-Llatas, G., Gilabert, V., Boix, R., & Alegría, A. (2013). Kinetics of ascorbic acid degradation in fruit-based infant foods during storage. *Journal of Food Engineering*, *116*(2), 298-303.
- Conesa, R., Andreu, S., Fernández, A., Esnoz, A., & Palop, A. (2009). Nonisothermal heat resistance determinations with the thermoresistometer Mastia. *Journal of Applied Microbiology*, *117*(2), 506-513.
- De Levie, R. (2012). *Advanced Excel for Scientific Data Analysis* (3 ed.). Brunswick, Maine USA: Atlantic Academic LLC: Oxford University Press.
- EFSA. (2013). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for vitamin C. *European Food Safety Authority Journal*, *11*(11), 3418-3485.
- Esteve, M. J., Frígola, A., Martorell, L., & Rodrigo, C. (1998). Kinetics of Ascorbic Acid Degradation in Green Asparagus during Heat Processing. *Journal of Food Protection*, *61*(11), 1518-1521.
- Golubitskii, G. B., Budko, E. V., Basova, E. M., Kostarnoi, A. V., & Ivanov, V. M. (2007). Stability of Ascorbic Acid in Aqueous and Aqueous-Organic Solutions for Quantitative Determination. *Journal of Analytical Chemistry*, *62*(8), 742-747.

- Hsu, H.-Y., Tsai, Y.-C., Fu, C.-C., & Wu, J. S.-B. (2012). Degradation of Ascorbic Acid in Ethanolic Solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(42), 10696-10701.
- Jaffe, G. M. (1984). Ascorbic Acid. *Encyclopedia of Chemical Technology*, 24, 8-40.
- Lin, S. H., & Agalloco, J. (1979). Degradation kinetics of ascorbic acid. *Process Biochemistry*, 14(9), 22-24.
- Louarme, L., & Billaud, C. (2012). Evaluation of ascorbic acid and sugar degradation products during fruit dessert processing under conventional or ohmic heating treatment. *LWT - Food Science and Technology*, 49(2), 184-187.
- McIlvaine, T. C. (1921). A buffer solution for colorimetric comparison. *Journal of Biological Chemistry*, 49(1), 183-186.
- Mercali, G. D., Schwartz, S., Marczak, L. D. F., Tessaro, I. C., & Sastry, S. (2014). Effect of the Electric Field Frequency on Ascorbic Acid Degradation during Thermal Treatment by Ohmic Heating. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(25), 5865-5870.
- Mesías-García, M., Guerra-Hernández, E., & García-Villanova, B. (2010). Determination of Furan Precursors and Some Thermal Damage Markers in Baby Foods: Ascorbic Acid, Dehydroascorbic Acid, Hydroxymethylfurfural and Furfural. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(10), 6027-6032.
- Miyawaki, O., Sugiyama, T., & Inoue, E. (2016). Kinetic Analysis of the Oxidation of Ascorbic Acid in an Open Reactor with Gas Bubbling. *Japan Journal of Food Engineering*, 17(2), 51-55.
- Oey, I., Verlinde, P., Hendrickx, M., & Van Loey, A. (2006). Temperature and pressure stability of L-ascorbic acid and/or [6s] 5-methyltetrahydrofolic acid: A kinetic study. *European Food Research and Technology*, 223(1), 71-77.
- Sapei, L., & Hwa, L. (2014). Study on the Kinetics of Vitamin C Degradation in Fresh Strawberry Juices. *Procedia Chemistry*, 9, 62-68.
- Soares, N. F. F., & Hotchkiss, J. H. (1999). Comparative Effects of De-aeration and Package Permeability on Ascorbic Acid Loss in Refrigerated Orange Juice. *Packaging Technology and Science*, 12(3), 111-118.
- Tromans, D. (1998). Temperature and pressure dependent solubility of oxygen in water: a thermodynamic analysis. *Hydrometallurgy*, 48(3), 327-342.
- Van Boekel, M. A. J. S. (2009). *Kinetic Modeling of Reactions in Foods*. Boca Raton: Taylor & Francis Group.
- Van Bree, I., Baetens, J. M., Samapundo, S., Devlieghere, F., Laleman, R., Vandekinderen, I., Noseda, B., Xhaferi, R., De Baets, B., & De Meulenaer, B. (2012). Modelling the degradation kinetics of vitamin C in fruit juice in relation to the initial headspace oxygen concentration. *Food Chemistry*, 134(1), 207-214.
- Van den Broeck, I., Ludikhuyze, L., Weemaes, C., Van Loey, A., & Hendrickx, M. (1998). Kinetics for Isobaric-Isothermal Degradation of L-Ascorbic Acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(5), 2001-2006.
- Wilson, R. J., Beezer, A. E., & Mitchell, J. C. (1995). A kinetic study of the oxidation of L-ascorbic acid (vitamin C) in solution using an isothermal microcalorimeter. *Thermochemica Acta*, 264, 27-40.
- Winkler, L. W. (1888). Die Bestimmung des im Wasser gelösten Sauerstoffes. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 21(2), 2843-2854.
- Yuan, J. P., & Chen, F. (1998). Degradation of Ascorbic Acid in Aqueous Solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(12), 5078-5082.

CAPTION TO FIGURES

Figure 1. Mechanisms for ascorbic acid degradation (redrawn from Yuan & Chen, 1998)

Figure 2. Ascorbic acid degradation in Mcllvaine buffer in anaerobic conditions at 95 °C (◇), 105 °C (□), 115 °C (Δ) and 125 °C (o) at (a) $p(\text{O}_2) = 0$ MPa, (b) $p(\text{O}_2) = 0.03$ MPa, (c) $p(\text{O}_2) = 0.063$ MPa and (d) $p(\text{O}_2) = 0.1$ MPa, data are the average of four determinations and straight lines represent the fitted model.

Figure 3. Effect of temperature on the rate constant of ascorbic acid degradation under anaerobic conditions ($p(\text{O}_2) = 0$ MPa), straight line represents the fitted Arrhenius equation.

FIGURES

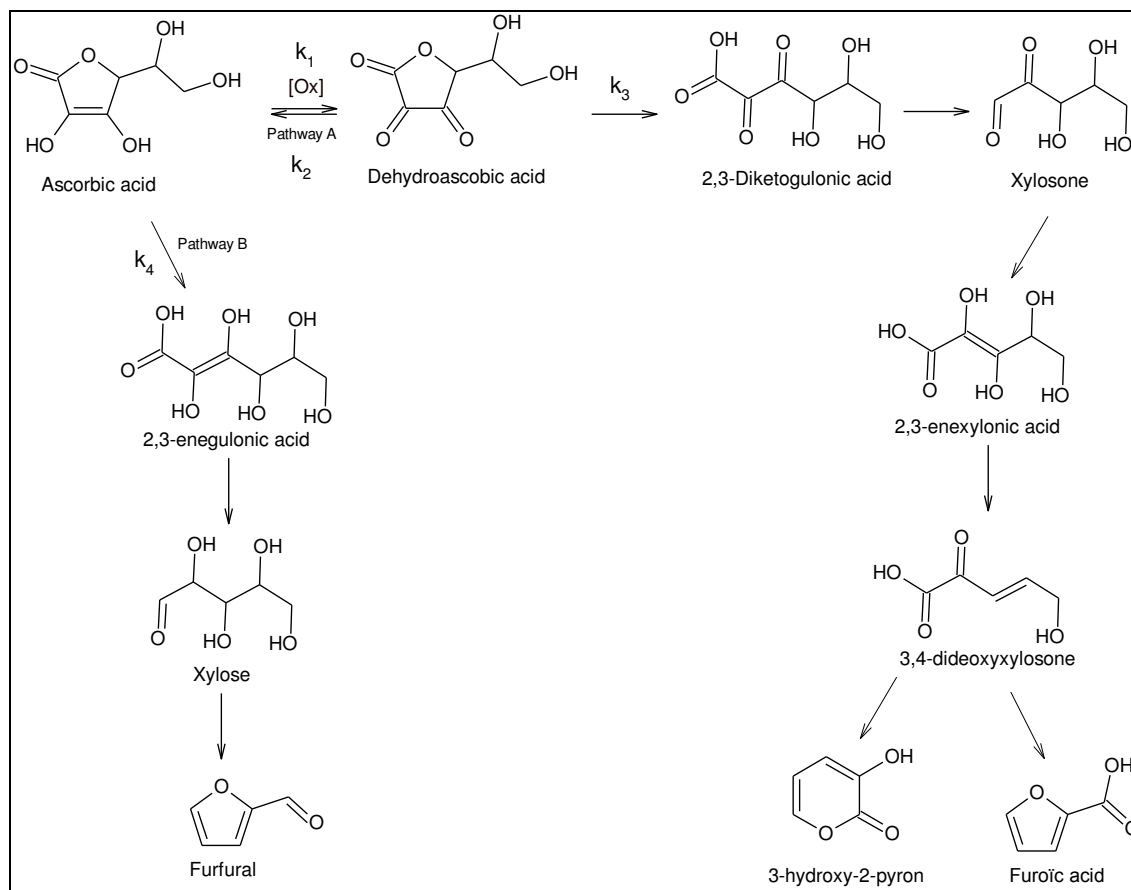


Figure 1

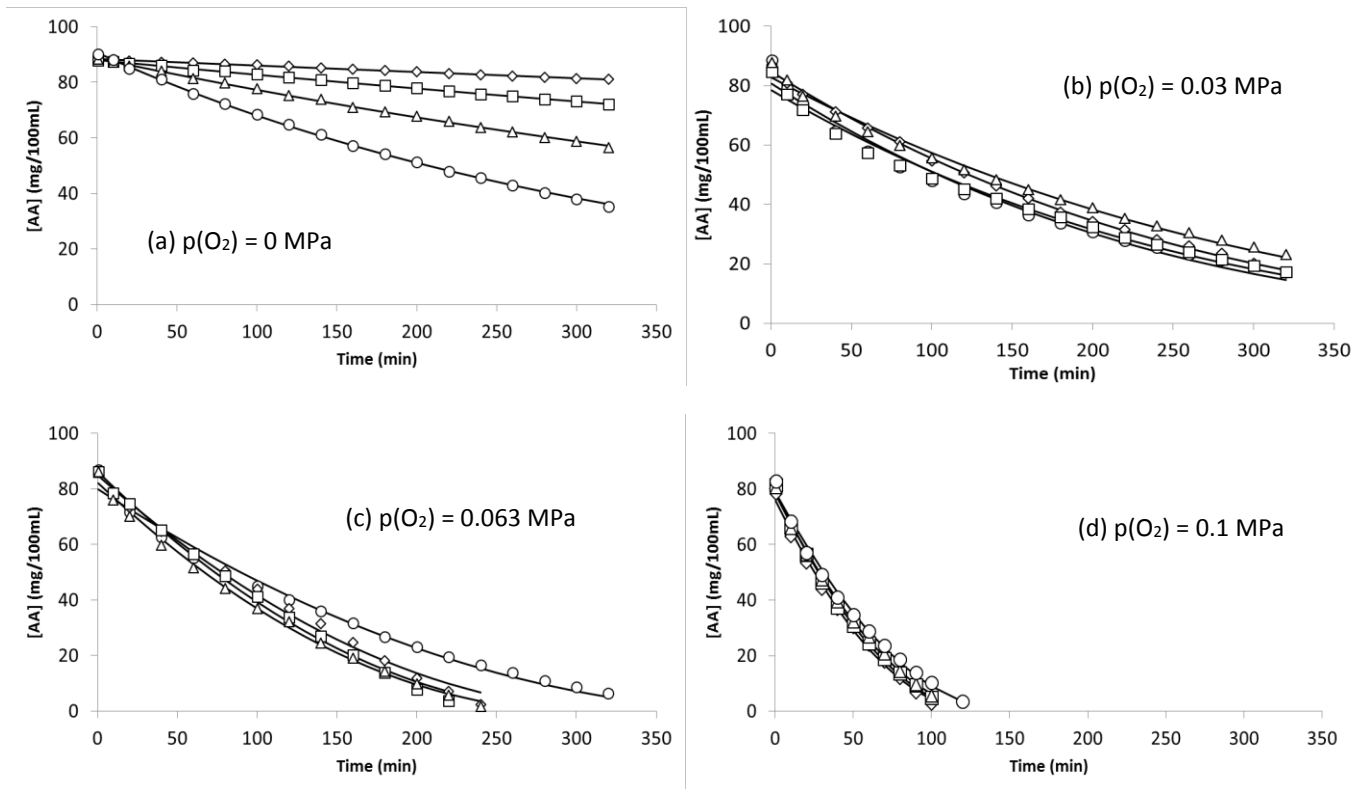


Figure 2

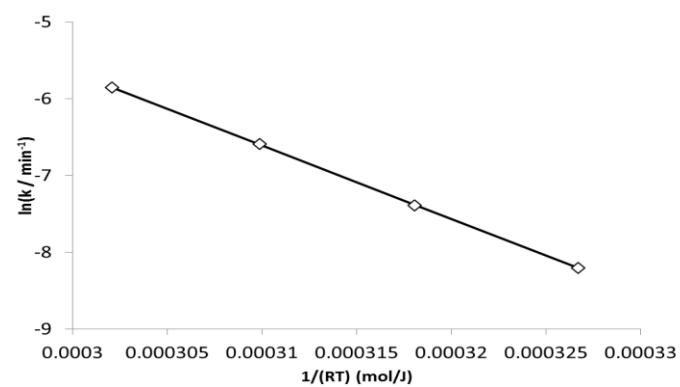


Figure 3

Article 4 : En cours de soumission

Effect of pH on ascorbic acid degradation in anaerobic conditions at canning temperatures

Nizar Al Fata^{a,b*}, Stéphane Georgé^a, Naïma Dlalrah^a, Catherine M.G.C. Renard^b

^aCTCPA, unité qualité nutritionnelle, Site Agroparc, 449 Clément Ader, BP 21203, 84911 Avignon CEDEX 9, France,

e-mail : nalfata@ctcpa.org and sgeorge@ctcpa.org

^bINRA, UMR408 Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale, INRA, Avignon University, F-84000 Avignon, France,

e-mail : catherine.renard@avignon.inra.fr

*Corresponding author: nalfata@ctcpa.org (N. Al Fata)

Highlights:

- Strict anaerobic conditions could be reached in the thermoresistometer
- Degradation of ascorbic acid was slower at low pH value
- Reaction order of ascorbic acid degradation can be different depending on the pH

ABSTRACT

Ascorbic acid is one of the most important vitamins due to its health benefits. It is always assumed that ascorbic acid is thermolabile and very sensitive to oxygen presence even in small amounts. Moreover, ascorbic acid degradation is poorly known at canning temperature (> 100 °C), and more unknown under anaerobic conditions, probably due to the difficulty to obtain both conditions simultaneously. Using a new experimental device (thermoresistometer Mastia[®]), ascorbic acid degradation was studied in food model solution at pH = 2.5, 3.5, 4.5 and 5.5 in anaerobic conditions from 95 °C to 125 °C, starting from an initial concentrations of 150 mg/L. Treatment for 320 minutes was not sufficient to completely degrade all ascorbic acid initially present in the medium, regardless of pH value. The time-curves were well fitted using first-order kinetics. Activation energies were calculated using Arrhenius equation; they were similar at pH = 2.5 and pH = 3.5 (respectively 50 kJ/mol and 53 kJ/mol), but no activation energy could be calculated at pH = 5.5. A different behaviour was observed for at pH = 4.5.

Keywords: Vitamin C; modelling; kinetics; nutritional qualities; anaerobic conditions

INTRODUCTION

Sterilisation is actually the most relevant technique to ensure safe, shelf-stable hydrated food products (Blasco et al., 2004). This method is generally optimised by taking in account microbiological aspect, without consideration of nutritional quality, and few studies considering both microbiological and nutritional aspects. Nutritional quality can be lost by degradation of vitamins such as vitamin C, which is one of the main water-soluble vitamins and has a major role in collagen generation, prevents scurvy and may help prevent cold, anaemia, heart disease, obstructive pulmonary disease, asthma, fever, tuberculosis or infertility (EFSA, 2013). Due to its many benefits for human health and its high physico-chemical sensitivity, ascorbic acid is considered as a marker of nutritional quality (Van den Broeck et al., 1998, Plaza et al., 2006, Mercali et al., 2012, Van Bree et al., 2012, Sapei and Hwa, 2014). Ascorbic acid degradation is influenced by many factors, like oxygen, temperature (Lin and Agalloco, 1979, Esteve et al., 1998, Mesías-García et al., 2010, Hsu et al., 2012, Bosch et al., 2013, Sapei and Hwa, 2014), pH,

water activity (Berlinet et al., 2006, Bosch et al., 2013, Sapei and Hwa, 2014, Mercali et al., 2014b, Golubitskii et al., 2007) or presence of metallic ions (Lin and Agalloco, 1979, Soares and Hotchkiss, 1999, Bosch et al., 2013).

Because of the increased demand of nutritive foods, there has been many attempts to maximise retention of nutrients during industrial process as well as during transport and storage (Sapei and Hwa, 2014). A thermal treatment must be efficient in order to destroy an appropriate number of targeted microorganisms to make the final product stable (Zimmermann et al., 2014). However, thermal treatments are not without consequences on the nutritional quality of the final product, they can lead to products having less nutritive interest by generating undesirable chemical reactions like vitamin degradation. Ascorbic acid degradation is poorly known at canning temperature, probably due to the difficulty to follow this type of degradation at high temperature. Few studies are available (Esteve et al., 1998, Van den Broeck et al., 1998, Blasco et al., 2004, Oey et al., 2006). Esteve et al. (1998) have studied ascorbic acid degradation in asparagus (no indication of pH), Van den Broeck et al. (1998) in orange juice (pH = 3.5) and tomato juice (pH = 4.5) and Oey et al. in model solution at pH = 7. All these studies used nitrogen as headspace gas, but do not mention elimination of dissolved oxygen in the products. Moreover, it is very difficult to insure anaerobic conditions at high temperature (> 100 °C) due to the difficulty to remove and quantify dissolved oxygen in a medium at these temperatures. Al Fata et al. (2016) studied the influence of oxygen on ascorbic acid degradation at canning temperature by performing experiments under aerobic and anaerobic conditions (submitted). They concluded firstly that the thermoresistometer Mastia[®], a device built primarily to perform microbiological studies (Conesa et al., 2009a), allowed to work under strict anaerobic conditions, and secondly that oxygen has more impact than temperature on ascorbic acid degradation in thermal canning processes. Indeed, oxygen removal from both liquid and headspace seemed to be the key factor to better preserve vitamins in these processes.

Generally, it is assumed that ascorbic acid (AA) degradation can follow two pathways: one is the oxidoreductive pathway by the formation of dehydroascorbic acid (DHAA), and another is by hydrolytic pathway, by direct cleavage of the lactone ring of ascorbic acid molecule (Yuan and Chen, 1998). Under anaerobic conditions, it is assumed that only the hydrolytic pathway occurs. This degradation pathway is akin to sugar degradation and does not require oxygen. Al Fata et al. (2016) found that much faster degradation was observed in presence of oxygen. Identification of reaction orders indicated that degradation followed classical first-order kinetics in anaerobic conditions at pH = 3.5. In this context, ascorbic acid degradation was studied at canning temperature under strict anaerobic conditions by removing all dissolved oxygen, starting at three different pHs chosen to be representative of these encountered in fruits (3.5), juices (4.5) and vegetables (5.5) or to ascorbate hydrolytic degradation (2.5). In a previous experiment (publication submitted), we compared ascorbic acid degradation at canning temperatures with and without oxygen in a thermoresistometer Mastia[®]. As the device and its potential to study ascorbic acid degradation under strict anaerobic conditions are now established, we now study the influence of pH, within the range found in foods, fruits and vegetables on this degradation at canning temperatures in anaerobic conditions.

MATERIALS & METHODS

Reagents. All the reagents used were purchased from Fisher Chemical (Illkirch, France) and are analytical grade or better.

Preparation of ascorbic acid solution. A 5.0000 g accurately weighed portion of L-ascorbic acid was dissolved in 25 mL of 2.31 % (v/v) of acetic acid solution at pH = 2.6 in a 25 mL volumetric flask. The mixture was then stirred until complete dissolution of ascorbic acid. The initial concentration were 15 mg/100mL. The studied pH were 2.5, 3.5, 4.5 and 5.5.

Model solution. Citrate-phosphate Mcllvaine buffer at different pH (2.5, 3.5, 4.5 and 5.5) was used as heating medium. Mcllvaine buffer was prepared using a 0.1 mol/L monohydrate citric acid solution and a 0.2 mol/L disodium phosphate solution (Mcllvaine, 1921). The buffer was stored at 4 °C until used.

High-Performance Liquid Chromatography – Analysis of ascorbic acid. Analysis was carried out using a 1260 Agilent infinity LC chromatograph with a 1290 Agilent diode-array detector. A 150 x 3.0 mm Synergi Polar RP-C18 column (Phenomenex) was used with a precolumn and both have a particle size of 4 μm . The mobile phase was a 2.31 % (v/v) acetic acid solution as eluent A and acetonitrile as eluent B. The flow rate was fixed at 0.8 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, the column temperature was set at 30 $^{\circ}\text{C}$ and the injection volume was 5 μL . A gradient program was performed as follows: the initial conditions were 96 % A / 4 % B; 0-5 min, 96 % A / 4 % B; 5-10min, 80 % A / 20 % B; 10-15 min, 96 % A / 4 % B. The data acquisition was assessed at 245 nm, corresponding to the maximum absorbance of ascorbic acid in UV-visible spectrometry (Jaffe, 1984). This analysis method was optimised from Louarme and Billaud method (Louarme and Billaud, 2012). Quantification of ascorbic acid was carried out by external standard method with a calibration curve, which is the mean of five calibration curves established by five standard solutions of ascorbic acid injected in HPLC by the same method.

Determination of ascorbic acid heat resistance by the thermoresistometer Mastia[®]. Thermal treatments were carried out in a thermoresistometer TR-SC Mastia[®], the operation system of which is well described by Conesa *et al.* (Conesa *et al.*, 2009a). This experimental device allows working on a temperature range from 20 $^{\circ}\text{C}$ to 150 $^{\circ}\text{C}$ under pressure, using different gas like air or nitrogen, having a constant and regulated stirring, sampling or injecting at any time during the heat treatment, even under pressure, without perturbation of the experimental media, working at important volumes (maximum 400 mL), and simulating isothermal and non-isothermal heat treatments. The studied temperatures were 95, 105, 115 and 125 $^{\circ}\text{C}$.

Anaerobic conditions setting. Anaerobic conditions were obtained by removing oxygen from the medium. The medium was first degassed by heating (which led to a concentration of dissolved oxygen around 1.5 mg/L), and secondly by bubbling nitrogen at room temperature, reaching to a concentration of dissolved oxygen very close to 0 mg/L. This enabled to reach anaerobic conditions as shown in Figure 1. Nitrogen was then used as headspace gas for pressurising the thermoresistometer vessel.

Kinetic models. The apparent reaction order was first identified by fitting the ascorbic acid degradation time curve with a general n -order kinetics:

$$\frac{dC}{dt} = -k \cdot C^n \quad (1)$$

which integrate to the general equation for n -order kinetics:

$$C_t = (C_0^{1-n} + (n - 1) \cdot k(T) \cdot t)^{\frac{1}{1-n}} \quad (2)$$

and can be linearized to the following equation:

$$C_t^{1-n} = C_0^{1-n} + (n - 1) \cdot k \cdot t \quad (3)$$

Apparent first-order kinetics models were used to model ascorbic acid degradation:

$$C_t = C_0 \cdot \exp(-k(T) \cdot t) \quad (4)$$

where C_t is the ascorbic acid concentration at time t , C_0 is the initial ascorbic acid concentration, k is the rate constant and n is the reaction order, T is the temperature and t is the time in minute.

The temperature dependence of k was fitted using Arrhenius law:

$$k(T) = A \cdot \exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right) \quad (5)$$

where A is the frequency factor (also called pre-exponential factor), E_a is the activation energy, and R is the ideal gas constant.

Analysis of data. All time courses were repeated at least twice and each point was sampled twice; the results are reported as average.

Statistical analysis. To demonstrate that a model fit well the data, we analysed residual plots between the data and the model. Shapiro-Wilk test was used to determine if residues are normally distributed or not at a chosen alpha level of 0.05. The p-value was analysed to discriminate if the distribution is normal or not. If the p-value is superior to the α -level, we considered that the residues are normally distributed.

RESULTS & DISCUSSION

In anaerobic conditions (Figure 1), not all the ascorbic acid was degraded even after 320 minutes, regardless of the temperature and pH. Moreover, degradation of ascorbic acid after 320 minutes was less than 40 % at 125 °C at pH = 2.5. The maximum of degradation was observed at pH = 5.5 at 125 °C (62 %) and the minimum of degradation was observed at pH = 2.5 at 95 °C (15 %). Golubitskii et al. (2007) have shown that ascorbic acid is more unstable in the pH range from 4.4 to 5.8, but in aerobic conditions. Fitting all curves simultaneously gave a reaction order $n = 0.90$. As analysed by Van Boeckel, no real distinction can be made between models if the fractional conversion is less than 60-70 % (Van Boeckel, 2009). Indeed, we can legitimately base the determination of order reaction only on the degradation curves at 125 °C for all studied pHs. The reaction order determined at 125 °C was $n = 1.04$. The residues between the data and the obtained values with first-order kinetics model at 125 °C were randomly dispersed for pH = 2.5, 3.5 and 5.5 but not at pH = 4.5, and the p-value was always superior to 0.05 at an α -level of 0.05 for these three pH values, for all temperatures, i.e. the residues were normally distributed. Indeed, we can see that first-order kinetics fit well the data for pH values of 2.5, 3.5 and 5.5, but not for a pH value of 4.5. We chose to fit the curves obtained at pH 4.5 alone, and we obtained a reaction order $n = 0.5$. This time, the residues between the data and the obtained values with 0.5-order kinetics model at were randomly dispersed for pH = 4.5, and the p-value was always superior to 0.05 at an α -level of 0.05 for this pH value, for all temperatures, i.e. the residues were normally distributed.

A good fit was obtained for all four temperatures at pHs value of 2.5, 3.5 and 5.5 using $n = 1$ ($R^2 > 0.99$ in most cases) and using $n = 0.5$ at a pH value of 4.5. The values of first-order kinetic constants are reported in Table 1 and 0.5-order kinetic constants are reported in Table 2. We noted a R^2 value about 0.95 at 95 °C at pH = 2.5. This lower value was probably due to the very weak degradation of ascorbic acid in these conditions.

The difference observed in the reaction order at pH = 4.5 is probably due to the fact that this pH value is close to the pKa value of ascorbic acid (4.13). That is to say, at pH 4.5, the reversibility of the equilibrium between ascorbic acid and its ascorbate form is less negligible and both form coexist in the medium. The 0.5-order is in fact an apparent reaction order, while the first-order reaction observed for the other pH values was real. There was a clear impact of temperature at pH = 2.5 and 3.5, and the kinetic constants were used to calculate Arrhenius parameters (Figure 3). The activation energy determined had a value of 50 kJ/mol at pH = 2.5 and 53 kJ/mol at pH = 3.5. These values are lower than those reported earlier for ascorbic acid degradation in plant foods at canning temperature under anaerobic conditions: Van den Broeck et al. (1998) have determined activation energies of 117 kJ/mol and 105 kJ/mol respectively for ascorbic degradation in orange juice and tomato juice between 120 °C and 150 °C, Esteve et al. (1998) have determined an activation energy of 140 kJ/mol for ascorbic acid degradation in green asparagus. This lower value is probably due to the better faculty of molecules to interact with each other in model solutions than in food matrices, where molecular interactions should be more complex due to their composition and their viscosity. Moreover, in our case only ascorbic acid was present in our model solution compared to a food product wherein many compounds are present and can interact with ascorbic acid.

At pH = 4.5, the influence of temperature was not obvious. By fitting the $\ln(k)$ values in an Arrhenius graph (figure 4) for this pH value, we found an impact of temperature on the degradation rate with an activation energy of 10 kJ/mol. This low value

is due to the weak impact of temperature before the acido-basic equilibrium between ascorbic acid and its ascorbate form at pH = 4.5.

At pH = 5.5, an exotic behaviour was observed, as degradation of ascorbic acid did not follow the Arrhenius law. There could be more than one mechanism involved at this pH depending on temperature, maybe with a transition of the degradation pathway between 105 °C and 115 °C. Furthermore, the curves at 95 °C and 125 °C are superimposed. More investigations are needed to confirm this data.

CONCLUSION

In general, ascorbic acid is always described as a heat sensitive compound. However, 320 minutes of treatment were not sufficient to degrade all the ascorbic acid initially present in the heating media regardless the temperature and pH. This is due to the conditions of treatment. By this study, it was shown that ascorbic is not as sensitive as described in the literature in a pH range from 2.5 to 5.5. It has been established again that the thermoresistometer Mastia® allowed us to work under strict anaerobic conditions, which permitted to work beyond the state-of-the-art even at high temperature (> 100 °C). Nevertheless, more investigation are needed and particularly at pH = 5.5 to understand why an exotic behaviour was observed on ascorbic acid degradation. We can hypothesize that at high temperature of treatment, the pH is not the major physico-chemical factor responsible of ascorbic acid degradation. Elimination (or limitation) of oxygen might thus be a highly relevant option to improve nutritional quality of canned fruits and vegetables.

REFERENCES

- Berlinet, C., P. Brat, J.-M. Brillouet and V. Ducruet (2006). "Ascorbic acid, aroma compounds, and browning of orange juices related to PET packaging materials and pH." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86(13): 2206-2212.
- Blasco, R., M. J. Esteve, A. Frígola and C. Rodrigo (2004). "Ascorbic acid degradation kinetics in mushrooms in a high-temperature short-time process controlled by a thermoresistometer." *LWT - Food Science and Technology* 37(2): 171-175.
- Bosch, V., A. Cilla, G. García-Llatas, V. Gilabert, R. Boix and A. Alegría (2013). "Kinetics of ascorbic acid degradation in fruit-based infant foods during storage." *Journal of Food Engineering* 116(2): 298-303.
- Conesa, R., S. Andreu, A. Fernández, A. Esnoz and A. Palop (2009). "Nonisothermal heat resistance determinations with the thermoresistometer Mastia." *Journal of Applied Microbiology* 117(2): 506-513.
- EFSA (2013). "Scientific Opinion on Dietary Reference Values for vitamin C." *European Food Safety Authority Journal* 11(11): 3418-3485.
- Esteve, M. J., A. Frígola, L. Martorell and C. Rodrigo (1998). "Kinetics of Ascorbic Acid Degradation in Green Asparagus during Heat Processing." *Journal of Food Protection* 61(11): 1518-1521.
- Golubitskii, G. B., E. V. Budko, E. M. Basova, A. V. Kostarnoi and V. M. Ivanov (2007). "Stability of Ascorbic Acid in Aqueous and Aqueous-Organic Solutions for Quantitative Determination." *Journal of Analytical Chemistry* 62(8): 742-747.
- Hsu, H.-Y., Y.-C. Tsai, C.-C. Fu and J. S.-B. Wu (2012). "Degradation of Ascorbic Acid in Ethanolic Solutions." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60(42): 10696-10701.

- Jaffe, G. M. (1984). "Ascorbic Acid." *Encyclopedia of Chemical Technology* 24: 8-40.
- Jiang, L., H. Zheng and H. Lu (2014). "Use of Linear and Weibull Functions to Model Ascorbic Acid Degradation in Chinese Winter Jujube during Postharvest Storage in Light and Dark Conditions." *Journal of Food Processing and Preservation* 38(3): 856-863.
- Lin, S. H. and J. Agalloco (1979). "Degradation kinetics of ascorbic acid." *Process Biochemistry* 14(9): 22-24.
- Lloyd, L. L., C. A. White and J. F. Kennedy (1987). "Quantitative Reversed Phase HPLC Analysis of L-Ascorbic Acid (Vitamin C) and Identification of its Degradation Products." *Chromatographia* 24(1): 371-376.
- Louarme, L. and C. Billaud (2012). "Evaluation of ascorbic acid and sugar degradation products during fruit dessert processing under conventional or ohmic heating treatment." *LWT - Food Science and Technology* 49(2): 184-187.
- Matei, N., S. Birghila, S. Popescu, S. Dobrinas, A. Soceanu, C. Oprea and V. Magearu (2008). "Kinetic Study of Vitamin C Degradation from Pharmaceutical Products." *Romanian Journal of Physics* 53(1-2): 343-351.
- McIlvaine, T. C. (1921). "A buffer solution for colorimetric comparison." *Journal of Biological Chemistry* 49(1): 183-186.
- Mercali, G. D., D. P. Jaeschke, I. C. Tessaro and L. D. F. Marczak (2012). "Study of vitamin C degradation in acerola pulp during ohmic and conventional heat treatment." *LWT - Food Science and Technology* 47(1): 91-95.
- Mercali, G. D., S. Schwartz, L. D. F. Marczak, I. C. Tessaro and S. Sastry (2014). "Effect of the Electric Field Frequency on Ascorbic Acid Degradation during Thermal Treatment by Ohmic Heating." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62(25): 5865-5870.
- Mesías-García, M., E. Guerra-Hernández and B. García-Villanova (2010). "Determination of Furan Precursors and Some Thermal Damage Markers in Baby Foods: Ascorbic Acid, Dehydroascorbic Acid, Hydroxymethylfurfural and Furfural." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58(10): 6027-6032.
- Oey, I., P. Verlinde, M. Hendrickx and A. Van Loey (2006). "Temperature and pressure stability of L-ascorbic acid and/or [6s] 5-methyltetrahydrofolic acid: A kinetic study." *European Food Research and Technology* 223(1): 71-77.
- Plaza, L., C. Sánchez-Moreno, P. Elez-Martínez, B. De Ancos, O. Martín-Belloso and M. P. Cano (2006). "Effect of refrigerated storage on vitamin C and antioxidant activity of orange juice processed by high-pressure or pulsed electric fields with regard to low pasteurization." *European Food Research and Technology* 223(4): 487-493.
- Sapei, L. and L. Hwa (2014). "Study on the Kinetics of Vitamin C Degradation in Fresh Strawberry Juices." *Procedia Chemistry* 9: 62-68.
- Soares, N. F. F. and J. H. Hotchkiss (1999). "Comparative Effects of De-aeration and Package Permeability on Ascorbic Acid Loss in Refrigerated Orange Juice." *Packaging Technology and Science* 12(3): 111-118.
- Van Boekel, M. A. J. S. (2009). *Kinetic Modeling of Reactions in Foods*. Boca Raton, Taylor & Francis Group.

Van Bree, I., J. M. Baetens, S. Samapundo, F. Devlieghere, R. Laleman, I. Vandekinderen, B. Nosedá, R. Xhaferi, B. De Baets and B. De Meulenaer (2012). "Modelling the degradation kinetics of vitamin C in fruit juice in relation to the initial headspace oxygen concentration." *Food Chemistry* 134(1): 207-214.

Van den Broeck, I., L. Ludikhuyze, C. Weemaes, A. Van Loey and M. Hendrickx (1998). "Kinetics for Isobaric-Isothermal Degradation of L-Ascorbic Acid." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46(5): 2001-2006.

Yuan, J. P. and F. Chen (1998). "Degradation of Ascorbic Acid in Aqueous Solution." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46(12): 5078-5082.

Zimmermann, M., D. A. Longhi, D. W. Schaffner and G. M. F. Aragão (2014). "Predicting *Bacillus coagulans* Spores Inactivation in Tomato Pulp under Nonisothermal Heat Treatments." *Journal of Food Science* 79(5): 935-940.

CAPTION TO FIGURES

Figure 1. Ascorbic acid degradation in McIlvaine buffer in anaerobic conditions at 95 °C (◊), 105 °C (◻), 115 °C (Δ) and 125 °C (x) at (a) pH = 2.5, (b) pH = 3.5 and (c) pH = 5.5

Figure 2. Effect of temperature on the rate constant of ascorbic acid degradation under anaerobic conditions at pH = 2.5 (◻) and pH = 3.5 (◊), straight lines represent the Arrhenius fit

Figure 3. Effect of temperature on the rate constant of ascorbic acid degradation under anaerobic conditions at pH = 4.5 (Δ), straight lines represent the Arrhenius fit

FIGURES

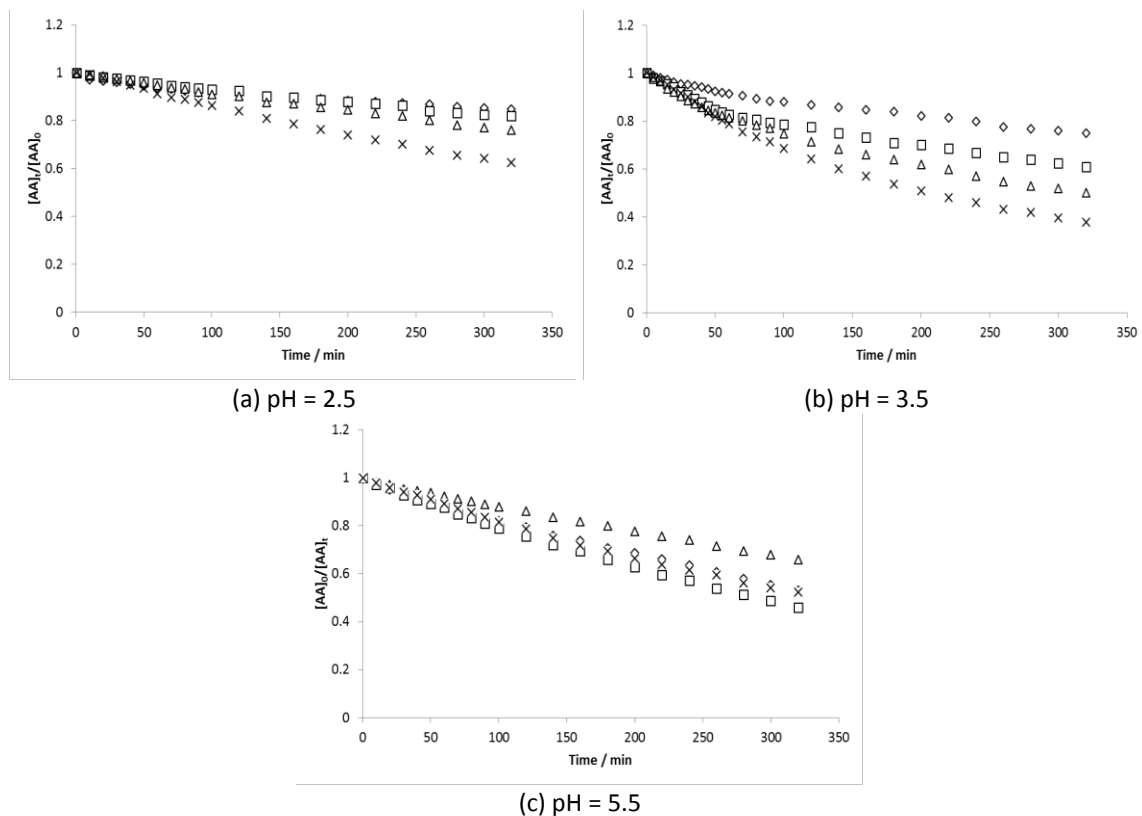


Figure 1

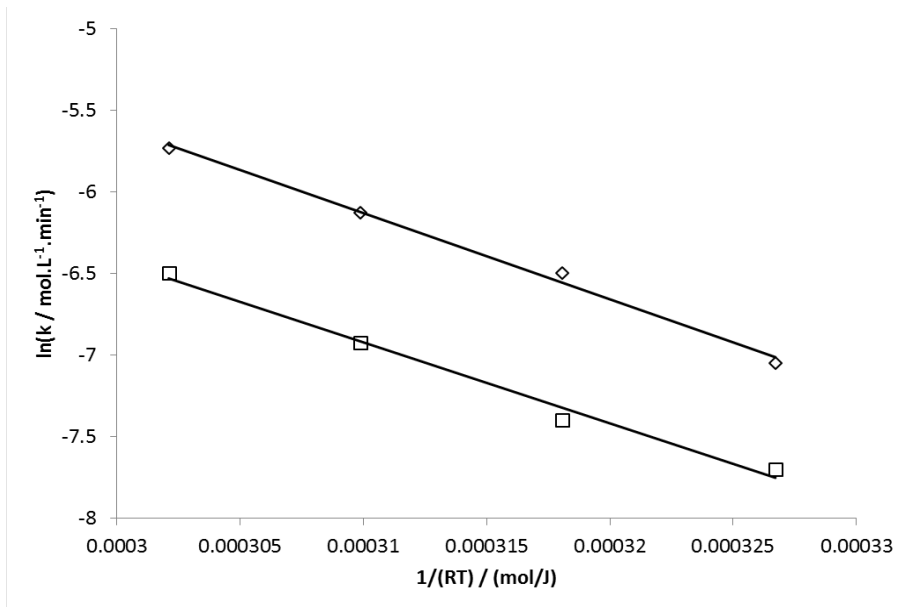


Figure 2

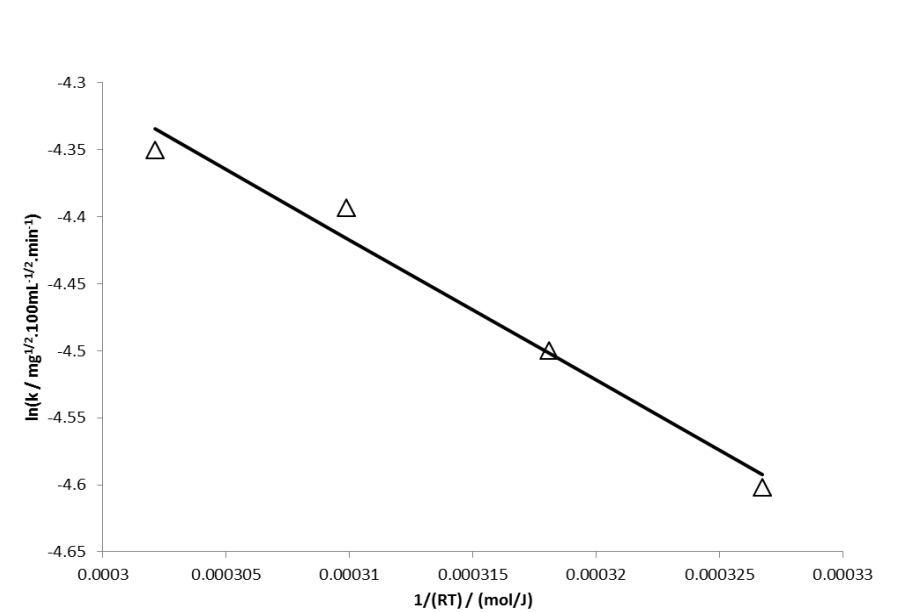


Figure 3

Table 1. Kinetic constant of first-order model as function of temperature for ascorbic acid degradation in anaerobic conditions at pH = 2.5, 3.5 and 5.5

pH	Temperature (°C)	$k * 10^{-4} \text{ (min}^{-1}\text{)}$	R^2
2.5	95	4.53 ± 0.02	0.9489
	105	6.15 ± 0.25	0.9946
	115	9.87 ± 1.31	0.9980
	125	15.08 ± 0.29	0.9991
3.5	100	7.42 ± 0.83	0.9841
	110	11.62 ± 1.54	0.9893
	120	19.09 ± 0.62	0.9899
	125	28.60 ± 2.78	0.9931
5.5	95	19.04 ± 2.20	0.9988
	105	23.72 ± 0.43	0.9992
	115	12.68 ± 0.11	0.9990
	125	20.46 ± 1.10	0.9994

Table 2. Kinetic constant of 0.5-order model as function of temperature for ascorbic acid degradation in anaerobic conditions at pH = 4.5

pH	Temperature (°C)	$k * 10^{-2} \text{ (mg}^{1/2}\text{.100mL}^{-1/2}\text{.min}^{-1}\text{)}$	R^2
4.5	95	1.00 ± 0.06	0.9968
	105	1.11 ± 0.02	0.9962
	115	1.24 ± 0.01	0.9989
	125	1.29 ± 0.03	0.9926

ANNEXES

ANNEXES

Annexe 1 : Chromatogrammes de l'acide ascorbique, du 3-hydroxy-2-pyrone, de l'acide furoïque et du furfural, ainsi que leurs temps de rétention

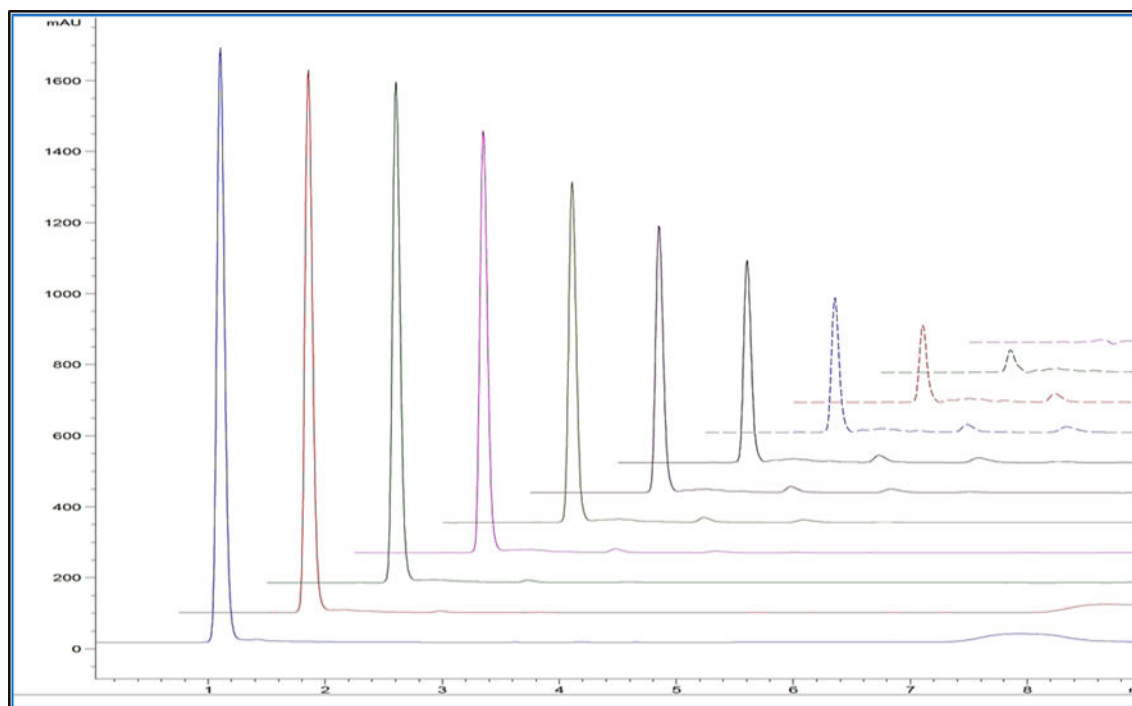


Figure A - 1 : Exemple de chromatogramme de l'acide ascorbique à 125 °C acquis à 245 nm en conditions aérobies

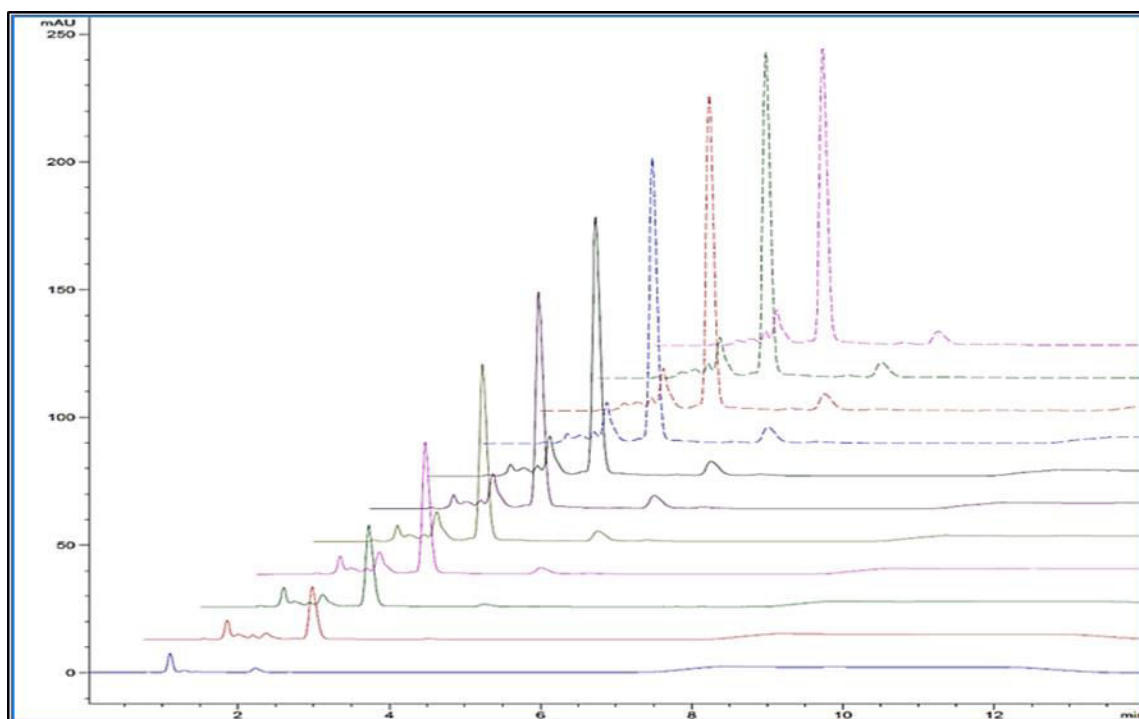


Figure A - 2 : Exemple de chromatogramme du 3-hydroxy-2-pyrone (pics de gauche) et du furfural (pics de droite) à 125 °C acquis à 295 nm en conditions aérobies

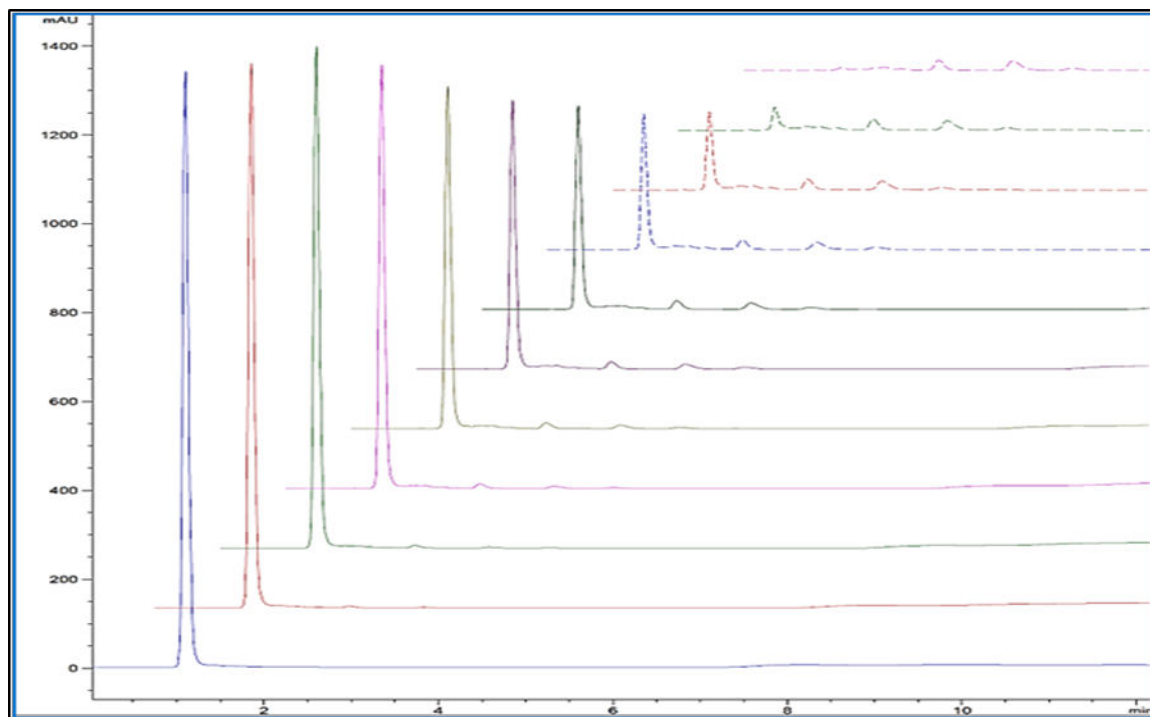


Figure A - 3 : Exemple de chromatogramme de l'acide furoïque à 125 °C acquis à 253 nm en conditions aérobies

Tableau A - 1 : Temps de rétention de l'acide ascorbique et de ses produits de dégradation

Composé	Temps de rétention (min)
Acide ascorbique en solution modèle	1,1
Acide ascorbique en matrice	4,9
3-hydroxy-2-pyrone	2,2
Acide furoïque	3,1
Furfural	3,7

Annexe 2 : Données expérimentales de la préparation des gammes étalons des produits de dégradation

Tableau A - 2 : Données expérimentales des solutions de départ

Composé	Masse x (mg)	Concentration solution (mg/100mL)	Concentration solution diluée 100 fois (mg/100mL)	Concentration solution diluée 5000 fois (mg/100mL)
3-hydroxy-2-pyrone	8,35	0,835	0,00835	0,000167
Acide furoïque	20,27	2,027	0,02027	0,0004054
Furfural	24,62	2,462	0,02462	0,0004924

Les deux solutions filles de chaque composé sont passées sur chaque HPLC à raison de six volumes différents d'injection pour chaque solution.

Tableau A - 3 : Pentés des droites d'étalonnage obtenues en fonction des volumes d'injection sur la HPLC 1260

Volume injecté (µL)	Solution diluée 100 fois						Solution diluée 5000 fois						Pente
	2	4	10	20	60	100	2	4	10	20	60	100	
Aire de pic 3H2P**	73	146	365	733	2204	3667	ND*	ND*	7	15	44	73	4393,5
Aire de pic Acide furoïque	273	541	1357	2720	8149	13539	6	11	27	53	160	268	6705,4
Aire de pic Furfural	204	406	1019	2047	6099	10101	ND*	8	20	41	123	205	4151,9

*ND : Non détecté

**3H2P : 3-hydroxy-2-pyrone

Tableau A - 4 : Pentés des droites d'étalonnage obtenues en fonction des volumes d'injection sur la HPLC 1200

Volume injecté (µL)	Solution diluée 100 fois						Solution diluée 5000 fois						Pente
	2	4	10	20	60	100	2	4	10	20	60	100	
Aire de pic 3H2P**	72	146	365	733	2220	3691	ND*	ND*	7	15	44	73	4424,3
Aire de pic Acide furoïque	272	546	1371	2758	8266	13732	5	11	27	53	162	270	6792,9
Aire de pic Furfural	207	415	1041	2097	6298	10424	ND*	9	21	42	125	209	4251,1

Annexe 3 : Rhéogrammes des différentes matrices alimentaires étudiées

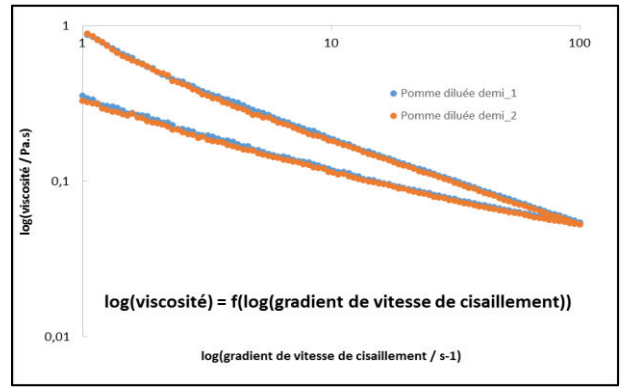
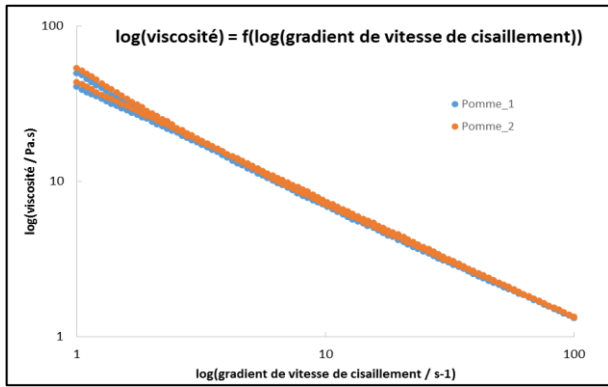


Figure A - 4 : Rhéogrammes de la purée de pomme brute et de la purée de pomme diluée au demi

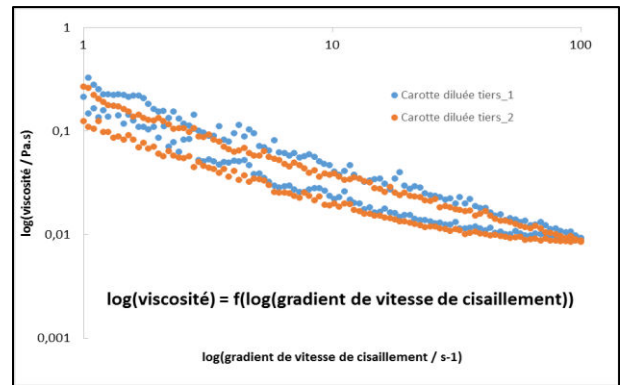
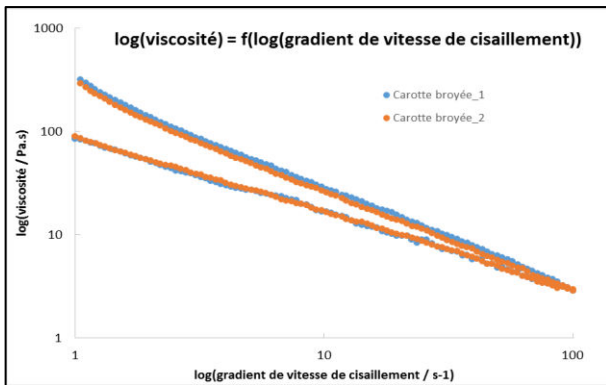


Figure A - 5 : Rhéogrammes de la purée de carotte brute et de la purée de carotte diluée au tiers

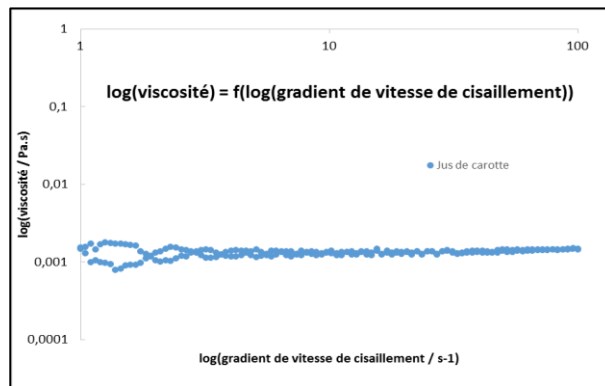


Figure A - 6 : Rhéogramme du jus de carotte

Annexe 4 : Poster présenté au 2nd Euro-Mediterranean Symposium on Fruit and Vegetable Processing

Determination of reaction orders for ascorbic acid degradation during canning using a new experimental device: the thermoresistometer Mastia®



AL FATA Nizar^{1,2,3}, GEORGÉ Stéphane¹, ANDRÉ Stéphane², RENARD Catherine M.G.C.³

1: CTCPA Unité Qualité Nutritionnelle, Site Agroparc, 449 avenue Clément Ader, BP21203, 84911 AVIGNON

2: CTCPA Unité EMaiRIT'S, Site Agroparc, 449 avenue Clément Ader, BP21203, 84911 AVIGNON

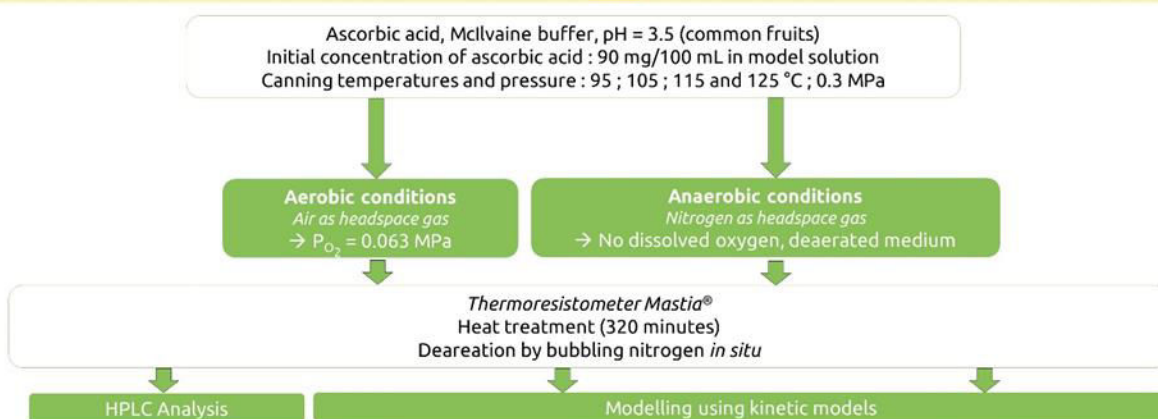
3: UMR408 SOPOV Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale, INRA, Avignon University, F-84000 Avignon

Introduction

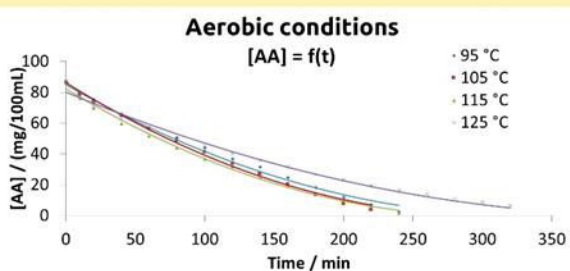
Canning, i.e. thermal sterilization in closed vessels, is the most relevant technique to ensure safety of highly hydrated food products, shelf-stable at ambient temperature. However, these thermal processes are often optimized considering only microbiological aspects and consequently are not without consequences on food quality.

Ascorbic acid is of interest due to its vulnerability and health benefits. Its degradation at sterilization temperatures (> 100 °C) is poorly documented. Using a new instrumented reactor (thermoresistometer Mastia®), the behavior of ascorbic acid was studied in food model solution at pH = 3.5, in aerobic and anaerobic conditions, from 95 °C to 125 °C.

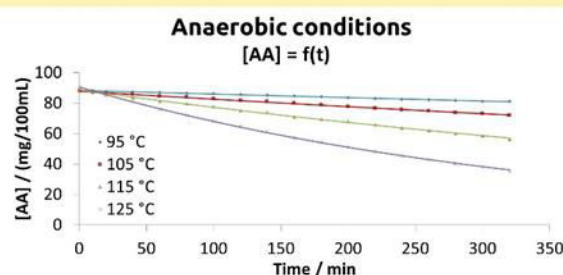
Materials and methods



Results



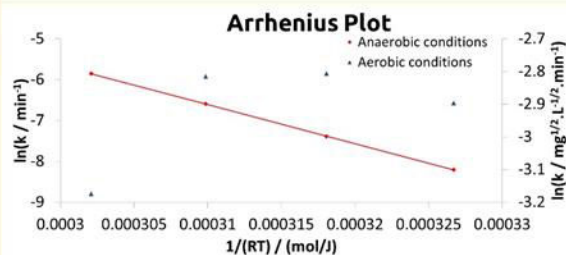
→ Under aerobic conditions the data were well fitted with a 0.5-order kinetics. There was no marked effect of temperature. More investigations are needed however to understand oxygen influence on degradation pathways.



→ Under anaerobic conditions, the data was well fitted by a classical first-order kinetics and there was a clear impact of T°.

Degradation at sterilization temperatures

- Aerobic and anaerobic degradations both occur in sterilization conditions.
- Oxygen is a major co-factor for ascorbic acid degradation also above 100 °C.
- Ascorbic acid is not as heat sensitive during sterilization as it is considered.



- In aerobic conditions, kinetic constants did not fit in an Arrhenius graph : it is thereby impossible to determine an activation energy.
- In anaerobic conditions, kinetic constants fitted well in an Arrhenius graph : the activation energy obtained was 96 kJ/mol.

Conclusion

Ascorbic acid degradation followed first-order kinetics at high temperatures (> 100 °C) under anaerobic conditions but it followed 0.5-order kinetics in aerobic conditions. In anaerobic conditions, the good fit of first-order kinetics confirms that there was only one involved mechanism, the hydrolytic pathway, compared to aerobic conditions where two mechanistic pathways at least were involved.

Furthermore, ascorbic acid was not as heat sensitive as it is always considered. Accordingly, oxygen seemed to be a major factor in ascorbic acid degradation. In aerobic conditions, oxygen availability is reduced due to the high temperatures and its dissolution from headspace to the heating media is more and more difficult (marked effect at 125 °C), but it stays non negligible.

This study has been carried out with the financial supports of FranceAgriMer and ANRT



DETERMINATION OF REACTION ORDERS FOR ASCORBIC ACID DEGRADATION DURING CANNING USING A NEW EXPERIMENTAL DEVICE: THE THERMORESISTOMETER MASTIA®



AL FATA Nizar^{1,2,3}, GEORGÉ Stéphane¹, ANDRÉ Stéphane², RENARD Catherine M.G.C.³

1: CTCPA Unité Qualité Nutritionnelle, Site Agroparc, 449 avenue Clément Ader, BP21203, 84911 AVIGNON

2: CTCPA Unité EMaIRIT'S, Site Agroparc, 449 avenue Clément Ader, BP21203, 84911 AVIGNON

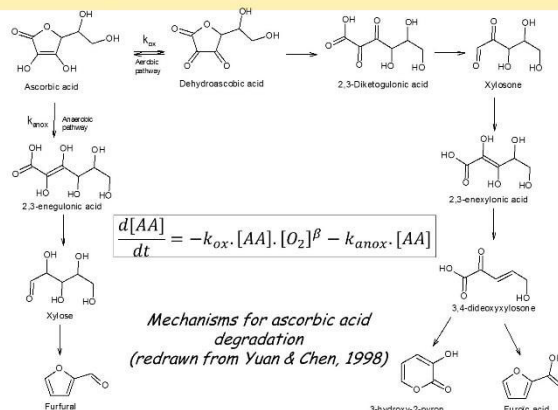
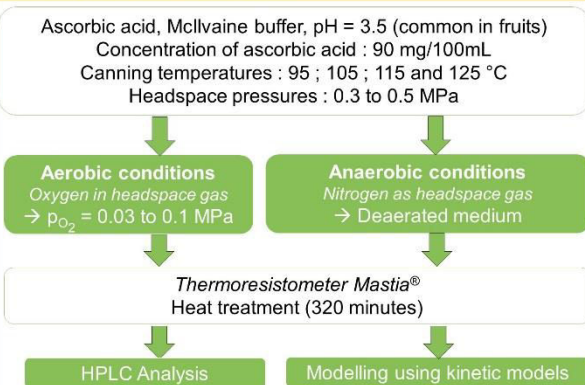
3: UMR408 SOPOV Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale, INRA, Avignon University, F-84000 Avignon

Introduction

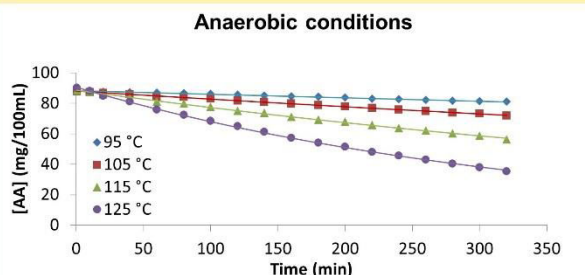
Canning, i.e. thermal sterilization in closed vessels, is the most relevant technique to ensure safety of highly hydrated food products, shelf-stable at ambient temperature. However, these thermal processes are often optimized considering only microbiological aspects and consequently are not without consequences on food quality. Ascorbic acid is a good marker for food nutritional and sensorial quality due to its vulnerability and health benefits.

Its degradation at canning temperatures (> 100 °C) is poorly documented. Aerobic and anaerobic degradations both occur in canning conditions. Using a new instrumented reactor in which conditions are well controlled (thermoresistometer Mastia®), the behavior of ascorbic acid was studied in food model solution at pH = 3.5, from 95 °C to 125 °C, in anaerobic conditions and in aerobic conditions with different partial pressures of oxygen in headspace.

Materials and methods



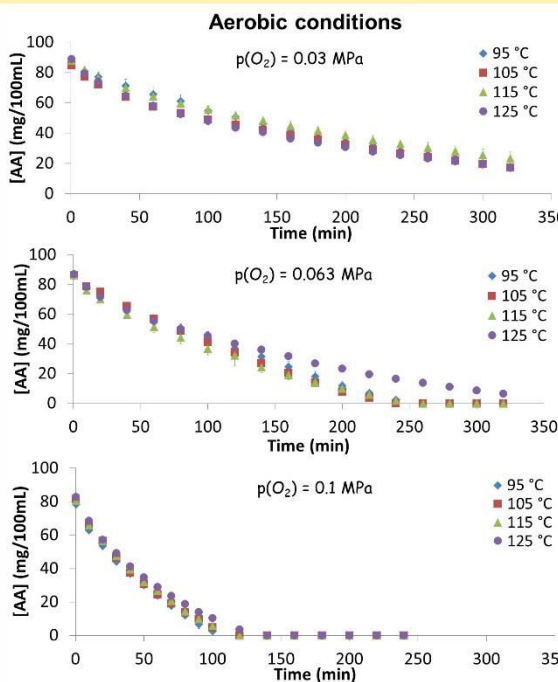
Results



→ Under anaerobic conditions, the data was well fitted by classical first-order kinetics and there was a clear impact of T°.

Degradation at canning temperatures

- Partial pressure of oxygen in headspace gas highly influenced ascorbic acid degradation: the aerobic pathway, with oxygen as co-factor, is the major pathway for ascorbic acid degradation also above 100 °C.
- In anaerobic conditions, ascorbic acid degradation during canning is slow, in contrast to general belief.
- Under aerobic conditions, there was no marked effect of T°.
- Kinetic parameters, k_{ox} , k_{anox} , β and E_a were determined.
- In anaerobic conditions, kinetic constants followed Arrhenius law: the activation energy obtained was 67 kJ/mol
- In aerobic conditions, kinetic constants did not follow Arrhenius law: it was therefore impossible to determine an activation energy.



Conclusion

Under anaerobic conditions, ascorbic acid degradation followed classical first-order kinetics at high temperatures (> 100 °C), and this good fit confirms that there was only one involved mechanism, the hydrolytic pathway, compared to aerobic conditions where two mechanistic pathways at least were involved. In aerobic conditions, partial pressure of oxygen clearly influenced ascorbic acid degradation: oxygen was a major co-factor even at canning

temperature. Obtention of superimposable degradation kinetics at all four temperatures might be linked to oxygen solubility. Its dissolution to the heating solution from headspace, although it stays non negligible, decreases at the higher temperature (marked effect at 125 °C) (Tromans, 1998). In aerobic conditions, modelling of ascorbic acid degradation thus becomes more difficult due to superimposition of the anaerobic and aerobic pathways, and to imprecision on concentration of oxygen.

This study has been carried out with the financial supports of FranceAgriMer and ANRT



Annexe 6 : Article inclus dans les Proceedings du 29th EFFoST International Conference

Design and exploitation of a new experimental device to forecast the degradation of nutritional quality and the inactivation of microorganisms in canned vegetables

Nizar Al Fata^{a,b,c,d}, Stéphane Georgé^a, Stéphane André^b, Catherine M.G.C. Renard^{c,d}

^aCTCPA, unité qualité nutritionnelle, Site Agroparc, 449 Clément Ader, BP 21203, 84911 Avignon CEDEX 9, France, [e-mail : nalfata@ctcpa.org](mailto:nalfata@ctcpa.org) and sgeorge@ctcpa.org

^bCTCPA, unité de microbiologie EMaIRIT'S, Site Agroparc, 449 Clément Ader, BP 21203, 84911 Avignon CEDEX 9, France, [e-mail : sandre@ctcpa.org](mailto:sandre@ctcpa.org)

^cINRA, UMR408 Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale, Domaine Saint Paul, Site Agroparc, F-84000 Avignon, France, [e-mail : catherine.renard@avignon.inra.fr](mailto:catherine.renard@avignon.inra.fr)

^dAvignon University, UMR408 Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale, Domaine Saint Paul, Site Agroparc, F-84000 Avignon, France

ABSTRACT

Sterilization is the most relevant technique to guaranty safety of shelf-stable food products at ambient temperature. However, these thermal processes are often optimised to microbiological aspect and consequently are not without consequences on quality. Only few studies are focussed on the simultaneous management of these two aspects. Ascorbic acid is of interest due to its vulnerability and health benefits. Its degradation at sterilization temperature (> 100 °C) is poorly documented. The aim of this work is to model thermal processes in a risk/benefit approach, taking in account the nutritional aspect. Its final objective is to design new thermal processes which will be efficient to inactivate heat-resistant microorganisms, but not too drastic in order to maintain the maximum quality. Using a new instrumented reactor (thermoresistometer Mastia[®]), the behaviors of ascorbic acid food model solution at pH = 3.5, in aerobic and anaerobic conditions, was measured. The obtained data have shown that degradation of ascorbic acid does not follow classical kinetics in conditions of appertization, it follows 0.5-order kinetics in aerobic conditions and zero-order kinetics in anaerobic conditions.

Keywords: Thermo-resistometer; benefit-risk; modelling; heat-resistance; nutritional qualities

INTRODUCTION

Thermal treatment is the most popular and efficient method to inactivate microorganisms in canned vegetables in order to make them stable (Blasco et al., 2004, Peng et al., 2012, Zimmermann et al., 2014). Currently, there is an increased demand of nutritive foods, thereby, there were many attempts to maximise nutrients retention during industrial process as well as during transport and storage (Sapei and Hwa, 2014). To be efficient, a thermal treatment must ensure that the product has been exposed at sufficiently high temperature for a sufficient time in order to destroy an appropriate number of targeted microorganisms (Zimmermann et al., 2014). Nevertheless, thermal treatment can generate undesirable chemical reactions like vitamin degradation, which can lead to products having less nutritive interest. In the literature, only few studies are focussed on the management of both the chemical and microbiological aspects, *a priori* antagonistic. These two aspects were studied in this work by choosing two entities which allowed us to take in account the benefit/risk balance. Ascorbic acid was chosen for the chemical aspect due to its health benefits on the one hand (Kokkinidou et al., 2014, Furusawa, 2001, Castro et al., 2004, Arya et al., 1998, Derossi et al., 2010) and for its thermolability on the other hand (Lin and Agalloco, 1979, Torregrosa et al., 2006, Mesías-García et al., 2010, Hsu et al., 2012, Bosch et al., 2013, Sapei and Hwa, 2014).

Ascorbic acid degradation at sterilization temperatures is poorly known, probably because of the difficulty to work at temperature higher than 100 °C. Using a new experimental device, the thermo-resistometer Mastia[®], we studied the degradation of ascorbic acid at sterilization temperature in model solution. The thermo-resistometer Mastia[®] is used in

microbiology to determine heat resistances of microorganisms (Condón et al., 1993, Palop et al., 1997a, Palop et al., 1999, Palop et al., 1997b). This is the first study in which this device is used in chemistry in order to determine heat resistances of chemical compounds. This appliance has proven its potential in a lot of studies of heat resistances of various microorganisms (like spore-formers bacteria), both in model solution and in various matrices, during isothermal or non-isothermal treatments and for more than 20 years (Condón et al., 1993, Garza et al., 1994, Raso et al., 1995). It is nowadays already used and it has undergone several improvements to be more and more efficient and robust (Esteban et al., 2015, Gayán et al., 2015, Gironés-Vilaplana et al., 2016, Maté et al., 2016). The accuracy of the thermoresistometer allows determining *D*-values at the nearest thousandth of a minute (Condón et al., 1993), especially by its fast homogenization. This advice was chosen in order to go beyond the state-of-the-art, that is to say work at temperature higher than 100 °C under pressure in order to study the degradation kinetics of ascorbic acid, under aerobic and anaerobic conditions. The potential of the thermoresistometer must be validated for chemical studies.

MATERIALS & METHODS

Reagents. All the reagents used were purchased from Fisher Chemical and are analytical grade or better.

Preparation of ascorbic acid solution. A 5.0000 g accurately weighed portion of L-ascorbic acid was dissolved in 25 mL of 2.31 % of acetic acid solution at pH = 2.6 in a 25 mL volumetric flask. The mixture is then stirred until complete dissolution of ascorbic acid. 1.8 mL of this solution was injected inside the vessel of the thermoresistometer, in order to have an initial concentration of ascorbic acid in the heating media at 90 mg/100 mL.

Model solution. Citrate-phosphate McIlvaine buffer (pH = 3.5) was used as food model solution. McIlvaine buffer was prepared using a 0.1 M monohydrate citric acid solution and a 0.2 M disodium phosphate solution (McIlvaine, 1921). The buffer was stored at 4 °C until used.

High-Performance Liquid Chromatography – Analysis of ascorbic acid. We used a 1260 Agilent infinity LC chromatograph with a 1290 Agilent diode-array detector. A 150 x 3.0 mm Synergi Polar RP-C18 column (Phenomenex) was used with a precolumn and both have a particle size of 4 µm. The mobile phase was a 2.31 % acetic acid solution as eluent A and acetonitrile as eluent B. The flow rate was fixed at 0.8 mL.min⁻¹, the column temperature was set at 30 °C and the injection volume was 5 µL. A gradient program was performed as follows: the initial conditions were 96 % A / 4 % B; 0-5 min, 96 % A / 4 % B; 5-10min, 80 % A / 20 % B; 10-15 min, 96 % A / 4 % B. The data acquisition was assessed at 245 nm, corresponding to the maximum absorbance of ascorbic acid in UV-visible spectrometry (Jaffe, 1984). This analysis method was inspired by Louarme and Billaud (Louarme and Billaud, 2012). Quantification of ascorbic acid was carried out by external standard method with a calibration curve, which is the mean of five calibration curves established by five standard solution of ascorbic acid injected in HPLC by the same method.

Determination of heat resistances by the thermoresistometer Mastia®. Thermal treatments were carried out in a thermoresistometer TR-SC Mastia® (figure 1). It's operation system is well described by Conesa et al. (Conesa et al., 2009a). This experimental device allows working on a temperature range from 20 °C to 150 °C under pressure, using different gases like air or nitrogen, having a constant and regulated stirring, sampling or injecting at any time during the heat treatment, even under pressure, without perturbation of the experimental media, working at important volumes (maximum 400 mL), and simulating isothermal and non-isothermal heat treatments.

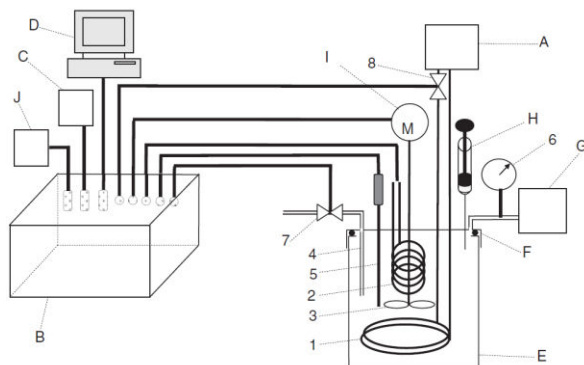


Figure 1. Diagram of the Thermoresistometer Mastia

The thermoresistometer TR-SC possesses a 2 kW heating electric element (2) and a cool ring (1) in which one cold water (2 °C) provided by the cooling system (A) is circulating. This advice is implemented with a programmable logic control (PLC) (B), which powers heating electric element and the cooling system. The PLC is connected to a tactile screen (C) allowing communication with to the PLC, and a computer (D) provided with a software enable to program or/and register temperature profiles (Conesa et al., 2009a). The working media is put in a classical stainless vessel or a Teflon™-coated stainless vessel (8.5 x 12 cm outer diameter) respectively for microbiological or chemical studies (E), which is screwed on the thermoresistometer cap with an O-ring (F). This cap has a stirring shaft with a propeller (3) which is powered by the stirring motor (I), and eight ports with screw cap; one is holding the pressure source (G), another is the injection port and contains a gas chromatography septum, a third one holds the sampling tube (4), another holds the thermocouple (5), two ports maintain the electric element and two others maintain the cooling ring.

The vessel can be pressurized by a circuit including a manometer (6) connected to the pressure source (G). Pressurization is needed to allow extraction of samples and to avoid boiling at temperatures higher than 100 °C in aqueous solutions. A specific Hamilton-type syringe (H) was used to injected samples in the vessel in order to overcome the pressure.

For all experiments, the pressure inside the vessel was set at 0.2 MPa. The temperature range studied is from 95 °C to 115 °C. Aerobic conditions were performed by using air as headspace gas. Anaerobic conditions were performed by removal of oxygen from the media by heating to 95 °C during 30 minutes and bubbling nitrogen *in situ* during 30 minutes at 20 °C through the sampling tube, and by using nitrogen as headspace gas. Each thermal treatment lasted 320 minutes.

Analysis of data. All experiments (full kinetics) were repeated at least two times and each point was sampled twice; the results are reported as average.

RESULTS & DISCUSSION

Modulating conditions for ascorbic acid degradation

As oxygen is a major co-factor in ascorbic acid degradation, a comparison of aerobic and anaerobic conditions was a primordial test of the thermoresistometer's potential. To obtain anaerobic conditions, the media was first degassed by heating followed by nitrogen bubbling.

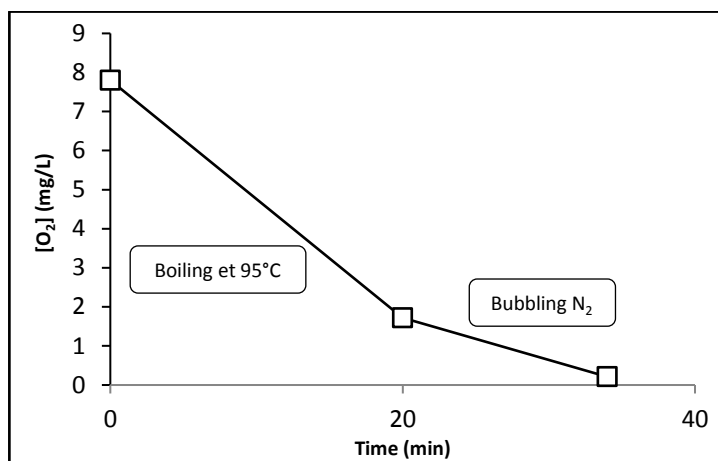


Figure 2. Evolution of initial oxygen concentration after different steps of deaeration

This efficiently allowed establishing anaerobic conditions, followed by exclusive use of N₂ for pressurising the thermoresistometer vessel.

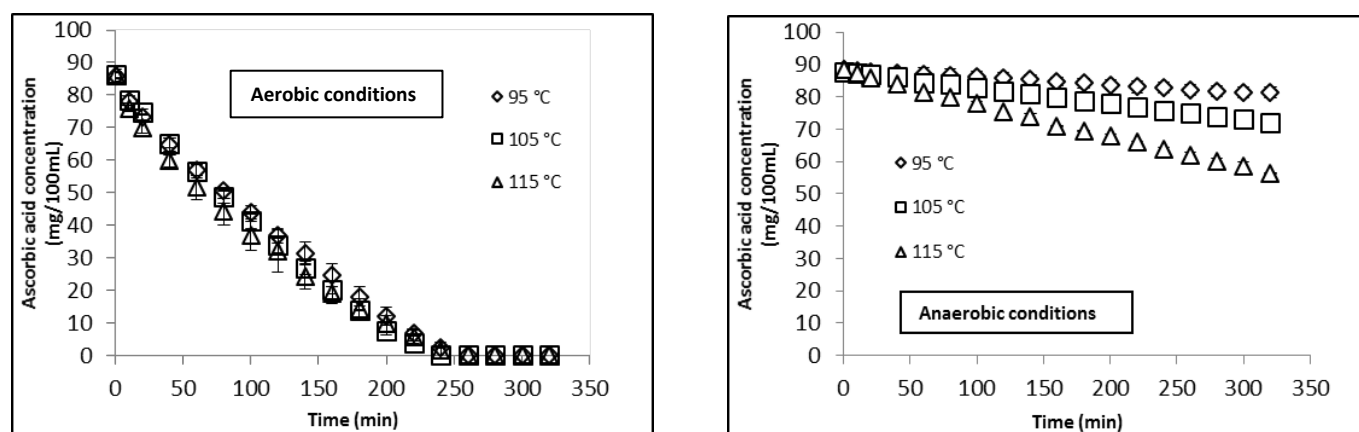


Figure 3. Comparison of ascorbic acid degradation under aerobic and anaerobic conditions at 95 °C (◊), 105 °C (◻) and 115 °C (Δ)

In aerobic conditions, the temperature had a limited effect on the ascorbic acid degradation in the chosen range of temperature (95°C to 115°C). In fact, the degradation curves were superimposed regardless of temperature. Though ascorbic acid is reputed to be a fragile molecule, total degradation of an initial 90 mg/100 mL solution required times > 3h in our conditions. Further, the ascorbic acid concentration was observed to follow a linear or almost linear decrease with time.

In anaerobic conditions all the ascorbic acid was not degraded even after 320 minutes of treatment and regardless of the temperature. Moreover, the degradation of ascorbic acid was only of around 8 % at 95 °C, around 18 % at 105 °C and around 36 % at 115 °C after 320 minutes. Contrary to aerobic conditions, there was a clear effect of temperature in anaerobic conditions. The degradation levels used were too limited to confidently assess the reaction order, but linear losses were observed within the durations used.

CONCLUSION

Degradation of ascorbic acid in aerobic and anaerobic conditions at high temperature (> 100 °C) could be compared. Slower degradation was obtained in anaerobic conditions. In aerobic conditions, the kinetics did not follow the pseudo-first order commonly reported in the literature. This might be linked to oxygen availability which was reduced due to the high temperatures that limit its diffusion from headspace to the heating media.

We have confirmed that using the thermoresistometer Mastia® for chemical studies can be relevant to override the limits about temperature or oxygen availability. This device allowed us to work properly under high temperature firstly and under anaerobic conditions secondly. The possibility to sample at any time of an experiment without perturbing the heating was a great advantage. Moreover, the repeatability was excellent: we have determined low standard deviations between the two replications for each experiment. The potential of the thermoresistometer Mastia® has to be exploited in order to perform both chemical and microbiological studies in a benefit/risk approach.

REFERENCES

- Arya, S. P., M. Mahajan and P. Jain (1998). "Photometric Methods for Determination of Vitamin C." *Japan Society for Analytical Chemistry* 14(5): 889-895.
- Blasco, R., M. J. Esteve, A. Frígola and C. Rodrigo (2004). "Ascorbic acid degradation kinetics in mushrooms in a high-temperature short-time process controlled by a thermoresistometer." *LWT - Food Science and Technology* 37(2): 171-175.
- Bosch, V., A. Cilla, G. García-Llatas, V. Gilabert, R. Boix and A. Alegría (2013). "Kinetics of ascorbic acid degradation in fruit-based infant foods during storage." *Journal of Food Engineering* 116(2): 298-303.
- Castro, I., J. A. Teixeira, S. Salengke, S. Sastry and A. A. Vicente (2004). "Ohmic heating of strawberry products: electrical conductivity measurements and ascorbic acid degradation kinetics." *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 5(1): 27-36.
- Condón, S., M. J. Arrizubieta and F. J. Sala (1993). "Microbial heat resistance determinations by the multipoint system with the thermoresistometer TR-SC Improvement of this methodology." *Journal of Microbiological Methods* 18(4): 357-366.
- Conesa, R., S. Andreu, A. Fernández, A. Esnoz and A. Palop (2009). "Nonisothermal heat resistance determinations with the thermoresistometer Mastia." *Journal of Applied Microbiology* 117(2): 506-513.
- Derossi, A., T. De Pilli and A. G. Fiore (2010). "Vitamin C kinetic degradation of strawberry juice stored under non-isothermal conditions." *LWT - Food Science and Technology* 43(4): 590-595.
- Esteban, M.-D., R. Conesa, J.-P. Huertas and A. Palop (2015). "Effect of thymol in heating and recovery media on the isothermal and non-isothermal heat resistance of *Bacillus* spores." *Food Microbiology* 48: 35-40.
- Esteve, M. J., A. Frígola, L. Martorell and C. Rodrigo (1998). "Kinetics of Ascorbic Acid Degradation in Green Asparagus during Heat Processing." *Journal of Food Protection* 61(11): 1518-1521.
- Furusawa, N. (2001). "Rapid high-performance liquid chromatographic identification/quantification of total vitamin C in fruit drinks." *Food Control* 12(1): 27-29.
- Garza, S., J. A. Teixidó, V. Sanchis, I. Viñas and S. Condón (1994). "Heat resistance of *Saccharomyces cerevisiae* strains isolated from spoiled peach puree." *Food Microbiology* 23(2): 209-213.
- Gayán, E., M. J. Serrano, R. Pagàn, I. Álvarez and S. Condón (2015). "Environmental and biological factors influencing the UV-C resistance of *Listeria monocytogenes*." *Food Microbiology* 46: 246-253.
- Gironés-Vilaplana, A., J.-P. Huertas, D. A. Moreno, P. M. Periago and C. García-Viguera (2016). "Quality and microbial safety evaluation of new isotonic beverages upon thermal treatments." *Food Chemistry* 194: 455-462.
- Hsu, H.-Y., Y.-C. Tsai, C.-C. Fu and J. S.-B. Wu (2012). "Degradation of Ascorbic Acid in Ethanolic Solutions." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60(42): 10696-10701.
- Jaffe, G. M. (1984). "Ascorbic Acid." *Encyclopedia of Chemical Technology* 24: 8-40.

Jiang, L., H. Zheng and H. Lu (2014). "Use of Linear and Weibull Functions to Model Ascorbic Acid Degradation in Chinese Winter Jujube during Postharvest Storage in Light and Dark Conditions." *Journal of Food Processing and Preservation* 38(3): 856-863.

Kokkinidou, S., J. D. Floros and L. F. La Borde (2014). "Kinetics of the thermal Degradation of Patulin in the Presence of Ascorbic Acid." *Journal of Food Science* 79(1): 108-114.

Lin, S. H. and J. Agalloco (1979). "Degradation kinetics of ascorbic acid." *Process Biochemistry* 14(9): 22-24.

Louarme, L. and C. Billaud (2012). "Evaluation of ascorbic acid and sugar degradation products during fruit dessert processing under conventional or ohmic heating treatment." *LWT - Food Science and Technology* 49(2): 184-187.

Maté, J., P. M. Periago and A. Palop (2016). "When nanoemulsified, D-limonene reduces *Listeria monocytogenes* heat resistance about one hundred times." *Food Control* 59: 824-828.

McIlvaine, T. C. (1921). "A buffer solution for colorimetric comparison." *Journal of Biological Chemistry* 49(1): 183-186.

Mesías-García, M., E. Guerra-Hernández and B. García-Villanova (2010). "Determination of Furan Precursors and Some Thermal Damage Markers in Baby Foods: Ascorbic Acid, Dehydroascorbic Acid, Hydroxymethylfurfural and Furfural." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58(10): 6027-6032.

Palop, A., A. Marco, J. Raso, F. J. Sala and S. Condón (1997). "Survival of heated *Bacillus coagulans* spores in a medium acidified with lactic or citric acid." *International Journal of Food Microbiology* 38(1): 25-30.

Palop, A., J. Raso, R. Pagà, S. Condón and F. J. Sala (1999). "Influence of pH on heat resistance of spores of *Bacillus coagulans* in buffer and homogenized foods." *International Journal of Food Microbiology* 46(3): 243-249.

Palop, A., F. J. Sala and S. Condón (1997). "Occurrence of a Highly Heat-Sensitive Spore Subpopulation of *Bacillus coagulans* STCC 4522 and its Conversion to a More Heat-Stable Form." *Applied and Environmental Microbiology* 63(6): 2246-2251.

Peng, J., J.-H. Mah, R. Somavat, H. Mohamed, S. Sastry and J. Tang (2012). "Thermal Inactivation Kinetics of *Bacillus coagulans* Spores in Tomato Juice." *Journal of Food Protection* 75(7): 1236-1242.

Raso, J., A. Palop, M. Bayarte, S. Condón and F. J. Sala (1995). "Influence of sporulation temperature on the heat resistance of a strain of *Bacillus licheniformis* (Spanish Type Culture Collection 4523)." *Food Microbiology* 12: 357-361.

Sapei, L. and L. Hwa (2014). "Study on the Kinetics of Vitamin C Degradation in Fresh Strawberry Juices." *Procedia Chemistry* 9: 62-68.

Torregrosa, F., M. J. Esteve, A. Frígola and C. Cortés (2006). "Ascorbic acid stability during refrigerated storage of orange-carrot juice treated by high pulsed electric field and comparison with pasteurized juice." *Journal of Food Engineering* 73(4): 339-345.

Van den Broeck, I., L. Ludikhuyze, C. Weemaes, A. Van Loey and M. Hendrickx (1998). "Kinetics for Isobaric-Isothermal Degradation of L-Ascorbic Acid." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46(5): 2001-2006.

RESUME

Au cours des procédés d'appertisation, qui impliquent des traitements thermiques généralement pratiqués à hautes températures, la qualité nutritionnelle des produits alimentaires est souvent altérée. En effet, certaines vitamines, telles que la vitamine C, sont très thermolabiles.

L'objectif du projet PREDINUT était de proposer un outil d'aide à la décision afin de prévoir la quantité de vitamine C (marqueur de qualité nutritionnelle) détruite dans des conditions données de durée/température, afin de pouvoir optimiser les procédés.

Un thermorésistomètre Mastia[®], a été utilisé pour établir des conditions de température et pression représentatives des procédés d'appertisation. L'impact de la variation de paramètres physico-chimiques tels que le pH, la concentration initiale en acide ascorbique ou encore la pression partielle en oxygène dans l'espace de tête, sur la dégradation de l'acide ascorbique a été étudié en solution modèle. Des études ont également été menées dans des produits alimentaires (purée de pomme, purée de carotte et jus de carotte) afin d'établir un profil de destruction de la vitamine C dans des aliments concrets. Dans ce projet, la plage de température étudiée est de 95 à 125 °C, le pH fixé en solution modèle est de 2,5 à 5,5 en conditions d'anaérobiose stricte, et de 3,5 en conditions d'aérobiose (3,5 étant la valeur de pH de la majorité des fruits), les concentrations initiales en acide ascorbique varient de 15 à 90 mg/100mL, et la pression partielle en oxygène de 30000 à 100000 Pa. Dans les produits alimentaires, les expériences ont été réalisées par enrichissement en acide ascorbique à hauteur de 450 mg/L, la valeur du pH ne subissant pas d'ajustement.

Des modèles ont été établis pour décrire le profil cinétique de la dégradation de la vitamine C en aérobiose et en anaérobiose. En l'absence d'oxygène la dégradation de la vitamine C suit une cinétique d'ordre 1 (sauf à pH = 4,5). En présence d'oxygène (conditions aérobies) la vitesse de dégradation croît avec la pression partielle d'oxygène, mais très peu avec la température. Des ordres apparents variant de 0,5 à 0,75 en fonction de la pression partielle en oxygène dans l'espace de tête, s'avèrent mieux ajuster les données que l'ordre 1.

Dans les aliments, le mécanisme de dégradation de la vitamine C apparaît beaucoup plus complexe, et la vitesse de réaction n'évolue pas de façon continue avec le temps, avec des phases de plateau suivies de réaccélération. Une connaissance fine des mécanismes et des espèces chimiques impliquées sera nécessaire pour comprendre cette évolution.

Mots-clés : Qualité nutritionnelle, prédiction, acide ascorbique, modélisation, dégradation, traitement thermique, cinétique, oxygène.

ABSTRACT

Canning involves thermal treatments performed at high temperatures, which may alter nutritional quality of food products. Indeed, some vitamins, like vitamin C, are very heat sensitive.

The aim of the project PREDINUT was to propose a decision support tool that predicts vitamin C (as indicator of nutritional quality) degradation in given conditions of time/temperature, in order to optimise processes.

A thermoresistometer Mastia[®] was used to reach the temperature and pressure conditions encountered during canning. The impact of the variation pH, initial concentration of ascorbic acid or again partial pressure of oxygen in headspace, on ascorbic acid degradation was studied in model solution. Studies were also performed in apple puree, carrot puree and carrot juice in order to obtain a destruction profile of vitamin C in real foods. . The temperature range studied was from 95 to 125 °C, the fixed pH in model solution was from 2.5 to 5.5 in strict anaerobic conditions, and 3.5 in aerobic conditions (3.5 being the pH value of common fruits), initial concentrations of ascorbic acid varied from 150 to 900 mg/100mL, and the partial pressure of oxygen from 30000 to 100000 Pa. Foods were enriched in ascorbic acid (up to 450 mg/mL), and the pH value was not adjusted.

Models were established to describe the kinetics of vitamin C degradation in aerobiosis and anaerobiosis. In absence of oxygen ascorbic acid degradation was well described by a first order kinetics (except at pH = 4.5). In presence of oxygen the degradation speed increased with head-space oxygen's partial pressure but very little with temperature. Apparent reaction orders varying from 0.5 to 0.75, depending on the partial pressure of oxygen in the headspace, fitted the data better than first-order.

In foods, degradation kinetics of vitamin C appeared more complex, with eventual presence of plateaus followed by acceleration of the reaction. Definitely more knowledge on mechanisms is needed to predict ascorbic acid degradation in real foods.

Key-words: Nutritional quality, prediction, ascorbic acid, modelling, degradation, heat treatment, kinetic, oxygen.