

# Table des matières

<b>Données du travail de diplôme .....</b>	<b>II</b>
<b>Remerciements .....</b>	<b>V</b>
<b>Table des matières .....</b>	<b>VI</b>
<b>Table des annexes.....</b>	<b>VII</b>
<b>Table des équations .....</b>	<b>VII</b>
<b>Table des figures .....</b>	<b>VIII</b>
<b>Table des tableaux.....</b>	<b>IX</b>
<b>Liste des abréviations et acronymes .....</b>	<b>X</b>
<b>1. Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b>2. Matériel et méthode.....</b>	<b>8</b>
<b>2.1 Matériel.....</b>	<b>8</b>
<b>2.2 Méthode .....</b>	<b>12</b>
2.2.1 Caractérisation.....	12
2.2.2 Extraction du jus à partir de la purée de poires.....	14
2.2.3 Cryoconcentration du jus.....	16
2.2.4 Fermentation du jus.....	20
2.2.5 Traitements statistiques .....	22
<b>3. Résultats.....</b>	<b>23</b>
<b>3.1 Caractérisation des jus et purées de poires utilisées comme matières premières des poirés de glace .....</b>	<b>23</b>
3.1.1 Matières premières .....	23
3.1.2 Relation degré Brix et concentration en sucre .....	25
3.1.3 Concentration en saccharose, glucose et fructose.....	25
<b>3.2 Extraction du jus de poire à partir de la purée.....</b>	<b>26</b>
3.2.1 Traitements enzymatiques .....	26
3.2.2 Centrifugations.....	27
<b>3.3 Cryoconcentration du jus .....</b>	<b>29</b>
<b>3.4 Fermentation du jus .....</b>	<b>33</b>
3.4.1 Poiré à base de jus non cryoconcentré.....	34
3.4.2 Poiré à base de jus cryoconcentré par bloc partiel dynamique .....	34
3.4.3 Poiré à base de jus lyophilisé .....	35
3.4.4 Récapitulatif .....	35
<b>4. Discussion.....</b>	<b>39</b>
<b>4.1 Dégustation et observations sensorielles des poirés.....</b>	<b>39</b>
<b>4.2 Cryoconcentration à grande échelle.....</b>	<b>39</b>
<b>4.3 Sécurité alimentaire.....</b>	<b>41</b>
4.3.1 Dangers biologiques.....	42
4.3.2 Dangers chimiques .....	42
4.3.3 Dangers physiques .....	43
<b>4.4 Diagramme de production et ses alternatives.....</b>	<b>43</b>
4.4.1 Etape 1.....	44

4.4.2	Etape 2 .....	44
4.4.3	Etape 3 .....	44
4.4.4	Etape 4 .....	44
4.4.5	Etape 5 .....	44
4.4.6	Etape 6 .....	44
4.4.7	Etape 7 .....	44
4.4.8	Etape 8 .....	44
<b>5.</b>	<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>45</b>
<b>6.</b>	<b>Bibliographie .....</b>	<b>46</b>

## Table des annexes

<b>Annexe I</b>	<b>Législation .....</b>	<b>49</b>
<b>Annexe II</b>	<b>Courbes de calibration .....</b>	<b>50</b>
	Courbes de calibration HPLC .....	50
<b>Annexe III</b>	<b>Fiches techniques .....</b>	<b>52</b>
	Enzymes Pectinex® Ultra AFP partie a .....	52
	Enzymes Pectinex® Ultra AFP partie b .....	53
	Enzymes Pectinex® Ultra Clear partie a Enzymes Pectinex® Ultra Clear partie b .....	54
	Levures partie a .....	56
	Levures partie b .....	57
<b>Annexe IV</b>	<b>Traitements statistiques .....</b>	<b>58</b>
	Liquéfaction de la purée .....	58
	Cryoconcentration du jus .....	60

## Table des équations

Équation 1	Equation de la première phase de fermentation .....	6
Équation 2	Equation de la deuxième phase de fermentation .....	6
Équation 3	Détermination du rendement de séparation .....	16
Équation 4	Détermination du rendement de jus de poires cryoconcentré .....	18
Équation 5	Détermination du ratio d'impuretés .....	19

## Table des figures

Figure 1 Illustration d'un système de cryoconcentration par suspension.....	3
Figure 2 Illustration d'un système de cryoconcentration par film progressif et vertical .....	3
Figure 3 Illustration d'un système de cryoconcentration par film progressif et tubulaire.....	4
Figure 4 Diagramme de phases de l'eau et position du point triple .....	5
Figure 5 Schéma du système de cryoconcentration par bloc partiel utilisé .....	16
Figure 6 Présentation du système de cryoconcentration par bloc partiel utilisé lors des essais .....	17
Figure 7 Graphique illustrant les trois rampes de températures employées sur 150 minutes d'analyses .....	17
Figure 8 Un des huit compartiments du lyophilisateur utilisé.....	20
Figure 9 Appareil de filtration par pression en profondeur utilisé.....	21
Figure 10 Viscosités des purées de poires auxquelles ont été ajoutés un des deux mélanges enzymatiques à 2 concentrations différentes pour chaque mélange enzymatique et qui ont été incubées à 20°C entre 4 et 24h (pour chaque viscosité représentée, n=3) .....	26
Figure 11 Représentation graphique d'une rampe de température effective comparé à celle demandée, et température du jus de poire durant une expérience de 150 minutes.....	32
Figure 12 Représentation graphique de l'évolution de la densité et du %alcool vol. en fonction du temps de fermentation d'un jus non cryoconcentré après ensemencement avec <i>S. cerevisiae bayanus</i> à T=0 minute.....	34
Figure 13 Représentation graphique de l'évolution de la densité et du %alcool vol. en fonction du temps de fermentation d'un jus cryoconcentré par bloc partiel dynamique après ensemencement avec <i>S. cerevisiae bayanus</i> à T=0 minute. ....	34
Figure 14 Représentation graphique de l'évolution de la densité et du %alcool vol. en fonction du temps de fermentation d'un jus partiellement lyophilisé après ensemencement avec <i>S. cerevisiae bayanus</i> à T=0 minute.....	35
Figure 15 Installation à grande échelle d'un système de cryoconcentration par suspension .....	40
Figure 16 Diagramme des opérations de la production d'un poiré de glace.....	43

## Table des tableaux

Tableau 1 Description des appareils utilisés .....	8
Tableau 2 Description des produits utilisés .....	11
Tableau 3 Résumé des mélanges utilisés lors des essais .....	15
Tableau 4 Résumé des protocoles utilisés lors des expériences de cryoconcentration par bloc partiel.....	18
Tableau 5 Matières premières caractérisées par leur °B, pH, aw, viscosité et matière sèche.....	23
Tableau 6 °B, Concentration exacte en sucre de 14 échantillons et le rapport entre les deux valeurs .....	25
Tableau 7 Concentration en g/L et % de saccharose, glucose et fructose du jus de poires standard et de celui issu de la purée de poires par centrifugation .....	25
Tableau 8 Comparaisons statistiques les plus intéressantes des résultats de viscosités.....	27
Tableau 9 Résultats de centrifugation des mélanges en termes de rendement (masse de jus obtenue pour une masse de purée donnée) et °B moyen du jus de poire obtenu .....	28
Tableau 10 Comparaisons statistiques des résultats de centrifugations les plus intéressants .....	28
Tableau 11 Résultats par protocole de cryoconcentration par bloc partiel dynamique .....	30
Tableau 12 Comparaisons statistiques pertinentes des résultats de cryoconcentration par bloc partiel.....	31
Tableau 13 Résumé des résultats de cryoconcentration par bloc partiel dynamique .....	31
Tableau 14 Résumé des valeurs pertinentes des poirés obtenus par fermentation	36

## Liste des abréviations et acronymes

ANOVA	Analysis of Variance
BPA	Bonnes pratiques d'agriculture
BPF	Bonnes pratiques de fabrication
BPH	Bonnes pratiques d'hygiène
CPG	Chromatographie en phase gazeuse
CV	Coefficient de variation
DFI	Département Fédéral de l'Intérieur
HACCP	Hazard Analysis Critical Control Point
HES-SO	Haute école spécialisée de suisse occidentale
HPLC	Chromatographie liquide à haute performance
HSD	Honestly Significant Difference
RI	Ratio d'impuretés

## 1. Introduction

L'entreprise Distillerie Louis Morand & Cie SA basée à Martigny en Valais, spécialiste dans la production de vins et spiritueux, notamment à base de poires Williams, souhaite valoriser un broyat de ces mêmes poires en développant un poiré de glace. Ce projet a été confié au Pr. Dr. Lydie Moreau sous la forme d'un travail de diplôme qui m'a été attribué.

D'après la table des valeurs nutritives par Souci Fachmann Kraut [1], les ingrédients principaux de la poire sont l'eau (82.9%), les hydrates de carbone (12.4%), les fibres alimentaires (3.3 %), les protéines (0.5%), la graisse (0.3%), les acides organiques (0.3%) et les minéraux (0.3%). Il faut néanmoins noter que cela fluctue selon la variété, le pays, l'année de production,...

S'inspirant du vin de glace produit dans des conditions de vendanges tardives (entre fin décembre et début février, à des températures de -10°C [2]), le poiré de glace à l'origine semblable au cidre de glace, peut être fabriqué de deux façons : par cryoextraction ou par cryoconcentration. La cryoextraction consiste soit à presser des fruits cueillis sur l'arbre une fois gelés (lorsque la température se situe entre -8 et -15°C), soit à presser des fruits récoltés à maturité et stockés au froid. La cryoconcentration, quant à elle, désigne la concentration des moûts par le froid naturel de l'hiver. Ces deux techniques requièrent donc une météo particulière comparable à celle que l'on trouve notamment au Québec, terre d'origine de ces vins et cidres de glace [3]. Après leur concentration, les jus sont alors mis en fermentation.

Comme pour tout développement de produit, la législation existante au sujet des cidres de glace doit être parcourue et respectée. L'Ordonnance du DFI (Département Fédéral de l'Intérieur) sur les boissons [4] en donne d'abord la définition suivante du cidre : « *Le cidre est une boisson alcoolisée obtenue par fermentation alcoolique partielle ou complète de jus de pomme ou de jus de poire fraîchement pressé ou conservé par un procédé physique* ». De plus, elle ordonne un pourcentage d'alcool par volume minimum de 3% et n'autorise l'ajout que de jus de pommes ou de poires et de sucre visant une deuxième fermentation permettant l'obtention d'un cidre mousseux. Cette dénomination « cidre mousseux » ne peut être employée qu'en présence d'au minimum 4 g/L de CO<sub>2</sub> obtenue naturellement par fermentation. Dans le cas où cette concentration est obtenue par adjonction de CO<sub>2</sub>, la dénomination se modifie en « cidre mousseux additionné de gaz carbonique ». Pour mettre en avant les poires Williams par le biais de la dénomination, le produit doit être élaboré à partir d'au minimum 80% de cette variété. Ensuite, si la densité finale est supérieure à 1005, correspondant donc à une concentration de sucre résiduel de 9 à 11 g/L, l'indication « partiellement fermenté » doit se trouver sur l'étiquette. Pour les poirés mousseux, cette dénomination peut être remplacée par « brut, extra-sec, sec, demi-sec ou doux » selon la quantité de sucre résiduel (respectivement : inférieure à 10 g/L, entre 8 et 20 g/L, entre 17 et 40 g/L, entre 37 et 65 g/L et supérieure à 65 g/L). Enfin, l'appellation « de glace » ne requiert d'un point de vue législatif suisse aucune obligation [8]. Cependant, il reste le devoir en tant que producteur de ne pas tromper le consommateur en l'induisant en erreur par le terme utilisé [5]. Ceci a été confirmé par un membre du DFI (Annexe I). Ainsi, durant ce travail, ne sont effectuées que des expériences comprenant un passage de l'eau sous forme de glace. Si toutefois

l'intention était à l'avenir d'exporter ce produit, la législation du/des pays en question doit être étudiée.

Pour élaborer le poiré de glace, un broyat de poires Williams est utilisé. Les étapes principales du process de fabrication sont les suivantes :

- Extraction du jus à partir du broyat de poire
- Cryoconcentration du jus
- Fermentation du jus

#### ► Extraction du jus à partir du broyat de poires

Les cellules végétales, en plus de la membrane cellulaire, sont entourées et reliées par une paroi divisée en trois parties qui empêche l'extraction du jus. La partie externe est principalement composée de cellulose intégrée à une matrice de pectines, hémicelluloses et de protéines, alors que les parties centrale et interne sont essentiellement formées de pectines. Globalement pour la poire, cette paroi est ainsi composée de 42% de pectines, 40% de cellulose, 22% d'hémicellulose et 12% de glycoprotéines [6].

Pour séparer le jus des matières sèches de la purée, plusieurs techniques existent, comme la décantation et la centrifugation dont le principe repose sur la différence de densité des deux composants. Il existe aussi la possibilité de traiter par voie enzymatique. Ces traitements enzymatiques peuvent être utilisées de deux manières : pour la macération ou pour la liquéfaction. Les enzymes de macération servent à augmenter le rendement d'extraction tout en améliorant le processus [7]. Elles sont généralement utilisées après la récolte et le broyage de la matière première dans le but de macérer la pulpe jusqu'à l'obtention d'une liquéfaction totale ou partielle des fruits. Les enzymes de liquéfaction servent plutôt après l'extraction, dans le but de clarifier le jus et diminuer sa viscosité pour faciliter la filtration et la concentration [8]. Au vu de la composition des parois cellulaires, l'utilisation d'enzymes de types amylases et cellulases, en plus des pectolytiques telles que les polygalacturonases, polyméthylesterases, des pectinases [9], est pertinente.

#### ► Cryoconcentration du jus

Pour permettre une production de cidre de glace indépendante de la situation géographique, et donc des conditions météorologiques, différents procédés de cryoconcentration ont été mis au point, notamment les suivants: par suspension, par film, progressif vertical ou tubulaire, par couche, par congélation directe et par bloc complet ou partiel. Ceci permet de mimer les conditions naturelles du Québec par exemple pour la production des cidres et poirées de glace.

La première technique, la cryoconcentration par suspension, se déroule en 3 étapes : la cristallisation, la croissance des cristaux et la séparation des cristaux du liquide [10]. Le matériel utilisé consiste en un échangeur de chaleur à surface raclée qui forme les nucléi à une température très basse, proche de la surfusion en un temps de passage court [11]. Les nucléi se forment à la surface intérieure et sont décollés par les couteaux. Ils circulent ensuite dans le recristalliseur avec agitateur où ils grandissent selon l'effet Gibbs-Thomson, puis ils passent dans une colonne « wash » qui permet de les séparer du liquide [10, 12]. Ce système est représenté par la Figure 1 suivante.

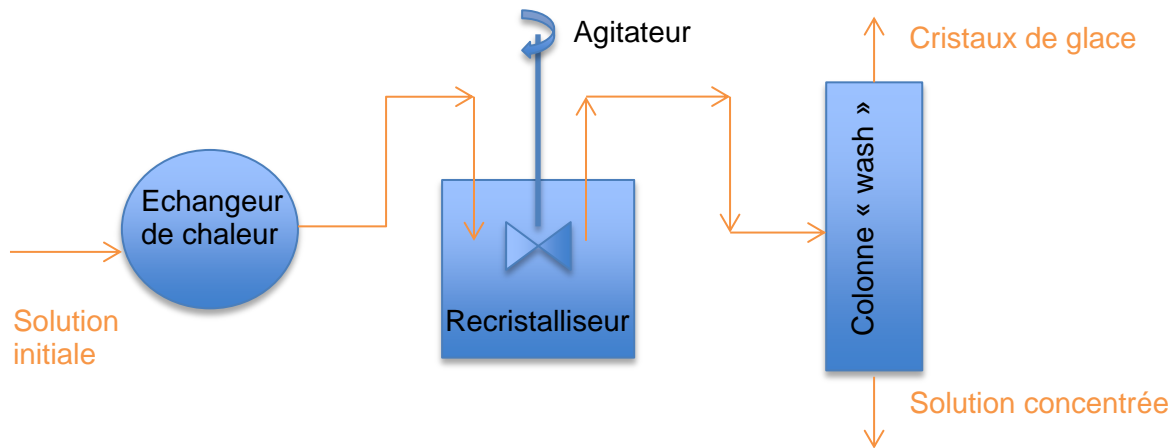


Figure 1 Illustration d'un système de cryoconcentration par suspension

A la place d'une colonne « wash », la centrifugation ou la filtration par filtre presse est également envisageable [11]. Ce système est sous haute pression et permet la formation d'un grand nombre de petits cristaux en suspension. La différence de tailles des nucléi peut varier selon la vitesse de rotation des couteaux et selon le rendement. C'est une méthode relativement chère qui convient donc aux produits à haute valeur ajoutée et pour de grosses productions [13].

Au contraire de la première méthode, le principe de la cryoconcentration par film consiste en un seul et unique gros cristal qui se forme et qui grossit couche après couche [10]. Cette technique s'effectue à pression ambiante et est plus simple et plus économique, mais présente plus de risques d'inclusion d'impuretés dans le cristal. Pour la cryoconcentration par film progressif vertical, celle-ci s'effectue dans un récipient cylindrique en acier inoxydable contenant la solution à concentrer qui est plongé dans un bain réfrigérant. La température du cylindre est gérée par un manteau, permettant ainsi de maîtriser la nucléation. La solution est maintenue en mouvement par le biais d'un agitateur à l'endroit de l'interaction bain/solution [10, 14]. La Figure 2 ci-dessous illustre cet appareillage.

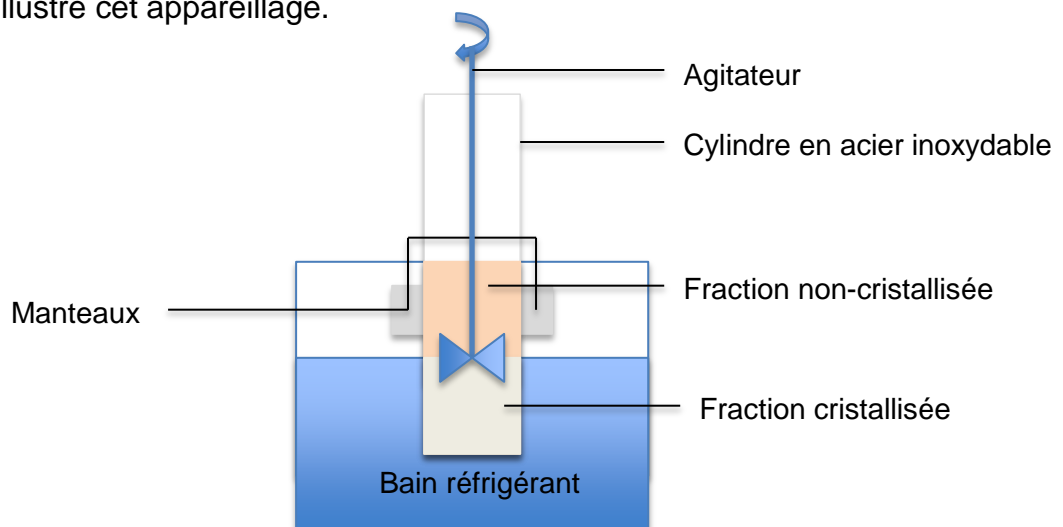


Figure 2 Illustration d'un système de cryoconcentration par film progressif et vertical

Les cristaux se forment à l'intérieur du cylindre. Plus les cristaux se forment vite, plus il y a d'impuretés ; plus la solution est agitée, moins il y a d'impuretés. Cette méthode



est influencée par les composés de la solution, le degré de cristallisation, le degré d'immersion et le mécanisme qui réduit la surfusion [10]. Pour minimiser la surfusion, il faut d'abord introduire de l'eau pure pour former une première couche de cristaux en surface du récipient cylindrique. Ensuite, il s'agit de refroidir la solution initiale proche de sa température de cristallisation pour éviter de faire fondre la pré-couche de cristaux formée [10, 14, 15, 16].

Lorsque la cryoconcentration par film s'effectue progressivement mais de manière tubulaire, la solution circule alors à l'intérieur d'un tube, au contact d'un réfrigérant (circulant autour des tubes), comme présenté par la Figure 3 ci-dessous. Les cristaux se forment sur la paroi interne. Ce système possède une plus grande surface d'échange et améliore la production et le rendement [10] par rapport à la cryoconcentration par film progressif vertical. Plus grande est la vitesse de circulation, plus le degré de cristallisation est lent. Une vitesse de plus de 2.5 m/s est recommandée [14]. La vitesse de formation des cristaux et le débit de la solution sont deux facteurs importants. Les éléments influençant cette méthode sont les mêmes que lors de la cryoconcentration progressive verticale.

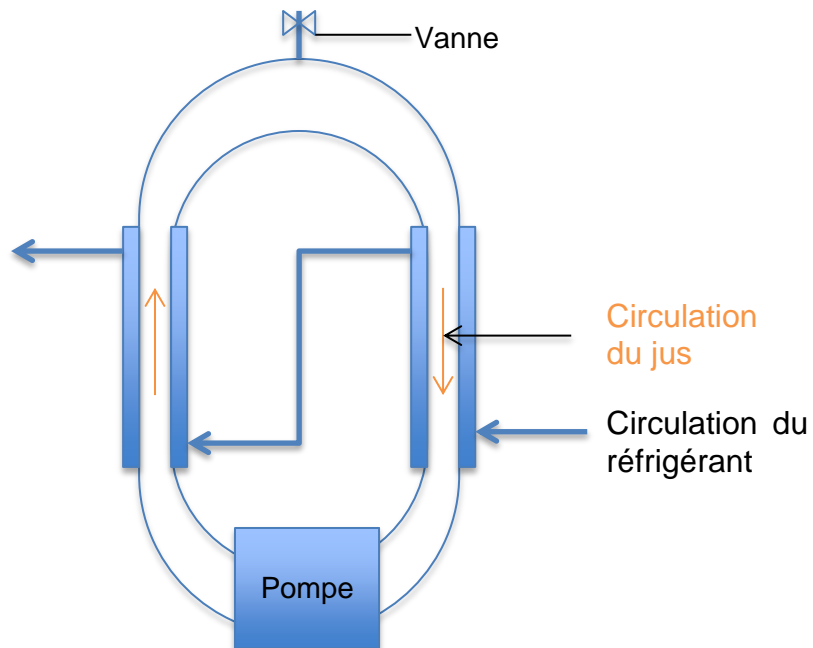


Figure 3 Illustration d'un système de cryoconcentration par film progressif et tubulaire

Dans la méthode par bloc partiel enfin, la solution se trouve dans un récipient. Un tube dans lequel l'agent réfrigérant circule en continu est plongé au milieu. La solution commence ainsi à cristalliser depuis le centre contre la paroi. En plus de l'effet de séparation apporté par la gravité, cette méthode permet de séparer facilement les deux phases en retirant simplement le tube de la solution. Une meilleure séparation a lieu lorsque les densités du soluté et du solvant sont très différentes [12, 17].

Quant à la cryoconcentration par couches, il s'agit d'un utilisant une plaque verticale dans laquelle circule le réfrigérant. La solution coule sur cette plaque, ce qui provoque une cristallisation relativement rapide. Cette méthode peut induire l'inclusion d'impuretés, mais présente les avantages d'être continu et très simple d'utilisation.

Ceci représente l'inconvénient de la méthode alors qu'elle reste facile d'utilisation ce qui en fait un avantage. Pour réduire le risque d'impuretés, il est conseillé d'augmenter la turbulence (et donc la vitesse de circulation du jus sur la plaque ainsi que le nombre de recirculations du jus. Une croissance lente du cristal est également conseillée [16]. Si la solution contient un faible taux de solide soluble, la quantité d'inclusion d'impureté peut également décroître.

Une autre méthode de cryoconcentration consiste en une congélation directe sous pression. Un réfrigérant est utilisé, généralement de l'azote. Celui-ci est en contact direct avec la solution et apporte un effet réfrigérant. Il s'évapore ensuite et provoque des cristaux dans la solution. Ce système est rarement utilisé en alimentaire parce que, d'une part, il en résulte des pertes d'arômes et de substances volatiles dues à l'interface vapeur-liquide qui se forme, et d'autre part, le contact du réfrigérant avec l'aliment n'est pas désiré [18].

En ce qui concerne la cryoconcentration par bloc complet, la solution à cristalliser est complètement congelée. La température du centre est donc bien en dessous de la température de congélation de la solution. La solution est ensuite décongelée. L'eau pure se décongelant à une température plus haute que le reste de la solution, la partie concentrée se détache du bloc de glace par gravitation. La décongélation doit être bien contrôlée. Il est possible d'atteindre une efficacité du système allant jusqu'à 90 %. Toutefois, cette technique reste très difficile à maîtriser, c'est pourquoi elle est rarement employée [17].

Pour ce travail, des méthodes de cryoconcentration se rapprochant de la méthode par bloc partiel et par film par couches sont testées.

Lors de cette étude, la lyophilisation est également employée. En effet, comme il s'agit d'une technique permettant l'extraction d'eau alors que celle-ci est sous forme de glace, il semble que l'appellation « de glace » puisse être employé. La lyophilisation est une déshydratation à basse température et dans des conditions se situant en dessous du point triple. Un diagramme des phases de l'eau permettant de situer et de définir le point triple est illustré par la Figure 4 ci-dessous.

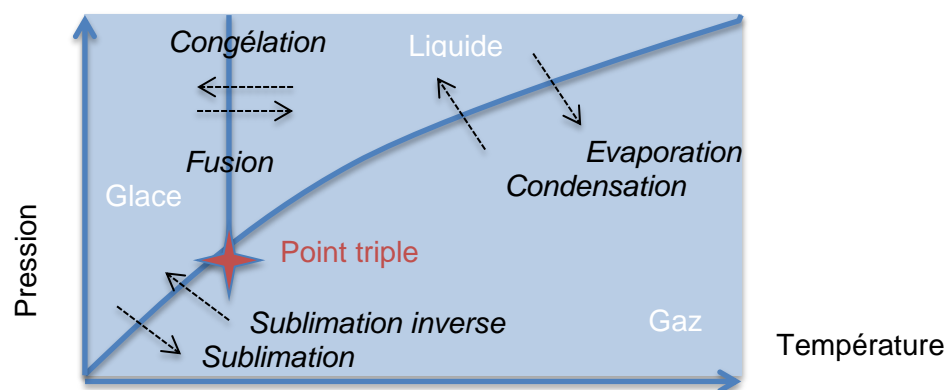


Figure 4 Diagramme de phases de l'eau et position du point triple

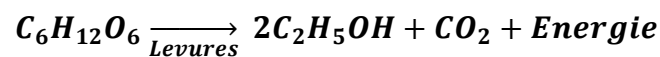
Avant la déshydratation, l'échantillon subit une congélation à  $-80^{\circ}\text{C}$ . Lors de la déshydratation, l'échantillon est placé sous vide ce qui permet la sublimation de l'eau. Cette sublimation a d'abord lieu pour l'eau cristallisable : c'est la déshydratation primaire. Ensuite vient la désorption de l'eau non congelable qui est donc l'eau

résiduelle et représente entre 10 et 30% de l'eau totale. C'est la déshydratation secondaire. Cette méthode permet l'obtention d'une poudre [19].

### ► Fermentation du jus concentré

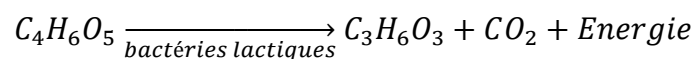
Une fois la cryoconcentration du jus effectuée, la fermentation suit. Lors de cette étude, deux jus concentrés ont été fermentés (jus cryoconcentrés par bloc partiel/film et jus concentré par lyophilisation) en parallèle d'un jus de poire non concentré.

Lors de la première phase de fermentation, de l'alcool ( $C_2H_5OH$ ) et du gaz ( $CO_2$ ) sont produits à partir des sucres présents : (glucose et fructose :  $C_6H_{12}O_6$ ) selon l'Equation 1 suivante :



Équation 1 Equation de la première phase de fermentation

Il faut approximativement 17 g de sucres pour obtenir un degré d'alcool [20, 21]. C'est grâce aux levures que cette action a lieu. Lorsque la fermentation est naturelle, elle est engagée par les microorganismes présents dans les fruits, notamment dans leur peau, ou par ceux présents dans l'équipement de fermentation si celle-ci peut avoir lieu dans des barriques en bois qui auraient déjà été utilisées et qui auraient des restes de microorganismes [22]. Ces derniers, qui initient généralement la fermentation, sont *Kléockera apiculata*, *Hanseniaspora valbyensis* et *Saccharomyces ludwigii* jusqu'à 2% d'alcool et ensuite *Saccharomyces cerevisiae* poursuit la fermentation. Dans certaines situations, la fermentation est provoquée par ensemencement du moût en levures et a lieu dans des cuves en acier inoxydable : certains tests ont déjà été menés en laboratoire par inoculation avec *Saccharomyces cerevisiae bayanus* et *Lactobacillus hilgardii* [22]. Dans tous les cas, la quantité de levures actives joue un rôle important, puisque si elle est insuffisante, le degré d'alcool souhaité risque de ne pas être atteint. De plus, une fermentation est trop lente et ne permet pas d'empêcher la sporulation de *Acétobacter* et peut ainsi engendrer des problèmes de qualités organoleptiques. Par production de  $CO_2$ , cette première phase de fermentation empêche déjà l'oxygène d'entrer et ainsi le développement de gènes aérobies. Cependant l'*Oenococcus oeni* se développe en anaérobiose, et encore mieux en présence de *Saccharomyces sp.*, entraînant une fragilisation du cidre par élévation du pH. Elles métabolisent l'acide malique en acide lactique accompagné d'acide acétique selon l'Equation 2 suivante [23] :



Équation 2 Equation de la deuxième phase de fermentation

Cela représente la deuxième phase de fermentation appelée « malolactique » ou « maturation ». Puisque du gaz est produit, une prise de mousse supplémentaire est alors possible. Si le poiré n'est pas stabilisé, elle peut avoir lieu en bouteille après embouteillage et devient ainsi plus difficilement maitrisable [21]. Elle peut être spontanée ou ensemencée par des starters de ferments lactiques et prend jusqu'à quelques mois [20, 21].

Quant à la température à laquelle mener la fermentation, les avis sont partagés : elle peut varier entre 8°C et 25 °C [20, 21, 22, 24]. Une température basse maintient les

meilleurs arômes du poiré [20, 21], une fermentation à 20°C est néanmoins plus rapide [21, 22, 25]. Lors d'une fermentation à basse température, la fermentation malolactique a généralement lieu en même temps [22].

Par ce travail, la possibilité de réalisation d'un tel cidre à base de purée de poires dans les limites technologiques de la halle pilote de la HES est d'abord méditée et ensuite, le cas échéant, le but est d'en proposer différentes sortes à déguster. Les objectifs de ce projet sont d'explorer les diverses techniques d'extraction du jus de poire à partir du broyat, de cryoconcentration et de fermentation de jus, afin d'en faire ressortir les avantages et inconvénients ainsi que leur faisabilité et rentabilité à échelle industrielle. Les échantillons obtenus ont pour but d'être dégustés de façon informelle avec le mandant. Des recherches sont aussi menées pour permettre d'avancer des recommandations et conseils sur les appareils potentiellement exploitables pour l'industrialisation.

## 2. Matériel et méthode

### 2.1 Matériel

En plus du matériel standard de laboratoire, ci-dessous figurent dans le Tableau 1 les différents appareils utilisés durant le stage.

Tableau 1 Description des appareils utilisés

Appareil	Marque	Modèle	Lot/Réf	Remarques
<b>Caractérisation des produits</b>				
<b>Balance halogène</b>	Mettler-Toledo	HC103	SNR B644225947	Poids max 101 g Précision +/- 0.001g
<b>A<sub>w</sub>-mètre</b>	Novasina AG	Aw sprint TH 500	N°0112009	Précision 0.01 a <sub>w</sub> , +/-0.3°C
<b>pH-mètre</b>	Knick – Portamess®	913 pH	N°53057 1756738 0908 605 10	De -10 à 55°C
<b>HPLC</b>	Agilent Technologies	1220 Infinity DAD LC	G4294B N° DECAH00208	-
<b>Colonne HPLC</b>	Aminex	HPX-87H	Bio-Rad N°§125-0140	300 mm x 7.8 mm
<b>Seringue</b>	Codan Medical ApS	2 ml	H80392-2	DLC : 05.2021
<b>Aiguille</b>	Terumo®	0.8x40 mm	0197	-
<b>Filtre</b>	Exapure	0.45 µm	SY25NN	-
<b>Refractomètre</b>	Anton Paar	Abbemat 350	N°80849797	-
<b>Ultra-sons</b>	VWR™	Ultrasonic cleaner USC300 TH	N°142-6002	Année 2009
<b>Pycnomètre</b>	Keller	Colordur	-	Borosilikat
<b>CPG</b>	Combi PAL	6890 Agilent	US00043392	-
<b>Colonne capillaire CPG</b>	CTC analytics	MN OPITMA-5-MS	72622.30	-
<b>Traitement de la purée</b>				
<b>Centrifugeuse</b>	Awel™ Industries	MF20-R	N°320021001	Vitesse max: 13800 rpm Densité max : 1.2

				Diamètre : 370 mm Année 2010
<b>Rhéomètre</b>	Anton Paar	Modular Compact Rheometer 302	N°81168613	Année 2012
<b>Cuvette du rhéomètre</b>	Anton Paar	C-CC27/T200	N°27855	Diamètre : 28.922 mm
<b>Embout cylindre du rhéomètre</b>	Anton Paar	CC27/T200/AL	N°29037	-
<b>Etuve</b>	Firlabo	SP- BVEHF	N°214783	Année 2009
<b>Cryoconcentration</b>				
<b>Système de refroidissement 1</b>	Tauchkühler	TK 16	N°241672	Année 1991
<b>Cryostat à circulation</b>	Julabo	F34 CH	N°9460634 5	-
<b>Congélateur</b>	Brouwer	917	N°de série 87002-603	Année 1994
<b>Lyophilisateur</b>	Telstar	Cryodos-80	N°380	Année 2003
<b>Pompe péristaltique</b>	Masterflex®	77601-12	N°200743	-
<b>Tuyaux de la pompe péristaltique</b>	VWR	Formulation S60v34B	N°1489755	-
<b>Fermentation</b>				
<b>Centrifugeuse</b>	Herolab	HiCen XL	-	-
<b>Rotor centrifugeuse</b>	FiberLite® Piramoon Technologies Inc.	F8-6x1000y	-	Max 8500 RPM, 15860 G
<b>Filtre sous pression en profondeur</b>	Sartorius	SM 16263/67	-	Max 10 bars Vol. 1L
<b>Filtre</b>	Pall Corporation	K250	F397	Size mm 100D (10 mm de diamètre)
<b>Filtre</b>	Pall Corporation	K100	F339	Size mm 100D (10 mm de diamètre)
<b>Filtre</b>	Pall Corporation	EKS	S344	Size mm 100D (10 mm de

				diamètre)
<b>Divers</b>				
<b>Balance</b>	Ohaus	Scout™ Pro SPU 123	S/N : 7131220689	Poids max 120g Précision +/- 0.001g
<b>Balance</b>	Mettler-Toledo	MS16001L/01	BNR B708724072	Poids max 16200g Précision +/- 0.1g
<b>Balance</b>	Ohaus	Adventur™ Pro	S/N : 3730214943	Poids max 4100g Précision +/- 0.1g
<b>Balance</b>	Mettler	MultiRange ID1	S/N : 1869023	Poids max 240kg Poids min 0.4kg Précision de 0 à 60kg : 0.02kg, de 60 à 150kg : 0.05kg, de 150 à 240kg : 0.1kg
<b>Balance analytique</b>	Sartorius	-	MSA324SOTR DU01	Poids max 320000mg Précision +/- 0,1g
<b>Thermomètre</b>	Testo	Testo 104	N°05630104	-
<b>Sonde température</b>	Elpro-Buchs AG	Ecolog TN2, 2xNTC	N°2420	Int. -35°C à +55°C Ext. -50°C à 140°C
<b>Micro-onde</b>	Koenig	Hot air vario 2100	-	-

Dans le Tableau 2 ci-dessous sont regroupés les différentes matières premières ainsi que les autres produits nécessaires au bon déroulement des expériences, accompagnés des précautions de sécurité à prendre en compte le cas échéant.

Tableau 2 Description des produits utilisés

Produit	Marque	Volume	Lot/Réf	DLC	Sécurité
<b>Matières premières</b>					
<b>Jus de poires</b>	Biofruits SA	200 L	Le fournisseur ne disposait d'aucune fiche technique.		-
<b>Purées de poires</b>	Biofruits SA	45 kg	16.222	11.12.2017	-
<b>Traitement de la purée</b>					
<b>ZYM AromaMP</b>	Enartis	20 g	Le fournisseur ne disposait d'aucune fiche technique.	A conserver entre 5 et 15 °C. Une fois ouvert, à utiliser durant la saison	-
<b>Pectinex® ultra AFP</b>	Novozymes	500 ml	<b>SON90014</b>	A conserver entre 0 et 10 °C	Cancérogène, tératogène
<b>Pectinex® Ultra Clear</b>	Novozymes	500 ml	<b>SON50038</b>		Cancérogène, tératogène
<b>Cryoconcentration</b>					
<b>Antigel PF – 20N rose</b>	CoChimy Sàrl	25 kg	0000484167	-	-
<b>Fermentation</b>					
<b>Levures/Ferments</b>	IOC	500 g	722281704606 22M	04.2020	-
<b>Acide sulfureux 5%</b>	Oeno-Tech SA	-	BAG EDV N°TED G-1020 EC N°231-973-1 N°200508-0295471.01-100426	-	Corrosif
<b>HPLC</b>					
<b>D-(+)-Glucose anhydre ≥99.5%</b>	Fluka BioChemika	1 kg	430082/1	-	-
<b>Sucrose ≥99.5%</b>	Sigma	250 g	BCBQ3990V	-	-
<b>D(-)-Fructose ≥99%</b>	Merck	1 kg	K35771307 623	-	-



GC					
1-propanol	Sigma	100 ml	34871	-	Corrosif, inflammable
Sulfate d'ammonium	Merck	1 kg	1.01816.9029	-	-
Acide sulfurique	Acros organics	1 L	124640026	-	Corrosif
Ethanol pur 96% qualité HPLC	-	-	-	-	Inflammable
pH					
Tampon pH 7.00	Metrohm ionanalysis	30 ml	6.2307.210	31.05.2018	Précision ± 0.02 (25°C)
Tampon pH 4.00	Metrohm ionanalysis	30 ml	6.2307.200	04.01.2018	Précision ± 0.02 (25°C)
Divers					
Poiré 4%alcool vol.	La source du Verger	75 cl	-	01.2019	-

## 2.2 Méthode

### 2.2.1 Caractérisation

#### *Concentration en sucres par High Performance Liquid Chromatography (HPLC)*

Afin de connaître la teneur précise en saccharose, glucose et fructose et la teneur totale en sucre de différents échantillons, la HPLC a été utilisée (1220 Infinity DAD LC, Agilent Technologies). Cela a aussi permis de déterminer la différence calculée en pourcentage entre le degré Brix mesuré et la concentration exacte en sucre. Cette méthode de séparation se base sur les différences d'interactions entre les composés de la phase mobile et de la phase stationnaire [26]. L'éluant était du H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (98%) 5 mM, et étant de composition constante, le système dans cette situation était alors isocratique et ne nécessitait qu'une seule pompe. Le détecteur pour cette méthode était à indice de réfraction qui donnait la déviation du rayon lumineux lorsque celui-ci traversait l'échantillon. A une température de 35°C, une colonne de 330 mm x 7.8 mm avec résine échangeuse d'anions a été utilisée (HPX-87H, Aminex), permettant de donner des pics avec des aires d'adsorbance selon le temps de rétention de chaque sucre, sachant qu'un composé plus lourd aura un temps de rétention plus court (exemple du saccharose par rapport aux deux autres sucres). Une courbe de calibration (Annexe II) a été effectuée par des standards de concentration 1 g/L, 2 g/L, 5 g/L, 8 g/L et 10 g/L des trois sucres précédés d'abord de trois blancs (eau mili-Q) puis des échantillons. Les différentes aires obtenues pouvaient ensuite être comparées à celles de calibration pour enfin donner une concentration en g/ml du sucre en question. Une seule analyse par échantillon a été effectuée. Le débit était de 0.5 ml/min à pression maximale de 600 bars et minimale de 0 bar, le volume d'injection de l'échantillon était de 1.00 µl et enfin, la température d'analyse était à 40°C±0.8°C. Les échantillons ont d'abord été filtrés avec un filtre de 0.45 µm avant d'être versés par le biais d'une seringue (Codan Medical ApS) et d'une aiguille

(Terumo®, 0.8x40 mm), dans des vials pour HPLC puis scellés avec un bouchon prévu à cet effet.

#### *Concentration en matière sèche soluble (°B)*

Par le biais du degré Brix (°B), la quantité de matière sèche soluble contenue dans les échantillons peut être mesurée. Pour ce faire, un réfractomètre électronique (Abbemat 350, Anton Paar) a été utilisé. Le principe de la méthode repose sur la déviation du rayon lumineux qui passe d'un milieu optiquement peu dense à un milieu optiquement plus dense lorsqu'il traverse l'interface entre le prisme et l'échantillon posé à sa surface. Les échantillons ont été analysés à  $20^{\circ}\text{C} \pm 0.005^{\circ}\text{C}$ , à une longueur d'onde égale à 589 nm et une déviation de l'index de réfractométrie maximale de 0.00005 nD était imposée. La température devait être stable pendant 15 secondes pour que la mesure démarre, et si ce n'était pas le cas au bout de 200 secondes, l'analyse ne s'effectuait pas. Une calibration à l'air était nécessaire avant toute utilisation. La méthode s'est avérée précise à  $\pm 0.02^{\circ}\text{B}$ . Entre chaque échantillon, un rinçage à l'eau déminéralisée était effectué. Seules quelques gouttes d'échantillons déposées sur le prisme à l'aide d'une pipette pasteur suffisaient pour la mesure.

#### *Densité*

Afin de déterminer la densité (masse volumique de la matière par rapport à celle de l'eau), la méthode manuelle du pycnomètre (Keller, colordur) a été employée. Les échantillons gazeux devaient être dégazés jusqu'à disparition visuelle des bulles de gaz ; 10 minutes ont suffi. Pour ce faire, les échantillons étaient posés dans un bain-marie dans lequel traversaient des ultra-sons (VWR™, Ultrasonic cleaner USC300 TH). Un volume de 25 ml était analysé, à  $20^{\circ}\text{C}$  précisément. La précision de cette méthode s'est avérée de  $\pm 0.005$ .

#### *pH*

La mesure du pH a permis de donner une valeur de l'acido-basicité des échantillons. Cette valeur était obtenue par un pH-mètre manuel (Knick, Portames®) dont la calibration s'effectuait chaque jour à l'aide de tampon pH de 7.00 et 4.00 (Methrom). La précision de cette méthode était de  $\pm 0.01$ .

#### *A<sub>w</sub>*

La valeur  $a_w$  détermine l'activité de l'eau, c'est-à-dire la part d'eau libre dans l'échantillon. Elle est déterminée par le rapport entre la pression vapeur de l'eau de l'échantillon sur la pression vapeur de l'eau pure [11]. Cette mesure a été effectuée grâce à un  $a_w$ -mètre (Aw sprint TH 500, Novasina AG) et uniquement sur la purée de poires afin de déterminer si la valeur obtenue permettait ou non au produit de rester à température ambiante sans risquer la croissance de flores microbiennes. L'échantillon était prélevé et installé dans une petite cuvette à disposition pour l'analyse. Celle-ci s'est effectuée en triplicata. L'analyse s'effectuait à  $25^{\circ}\text{C} \pm 0.3^{\circ}\text{C}$ . La précision de la méthode était de  $\pm 0.01$ .

#### *Matière sèche*

La teneur en matière sèche est déterminée une fois l'eau évaporée par le biais d'une balance à lampe halogène (HC103, Mettler Toledo). La valeur déterminant la matière sèche apporte également une bonne indication de la stabilité du produit. Elle s'est effectuée en triplicata sur la purée de poires uniquement, pour la même raison que la mesure de la valeur  $a_w$ . La température de la méthode était de  $106^{\circ}\text{C}$ , l'échantillon

analysé devait peser entre 3.5 et 4.5 g. La durée de l'analyse variait selon le poids initial.

#### *Teneur en éthanol par chromatographie en phase gazeuse (CPG)*

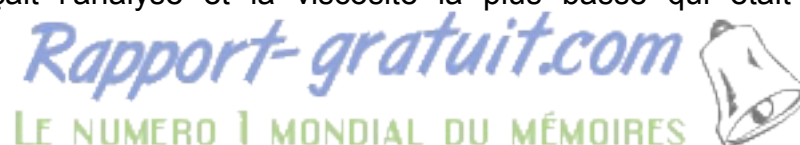
Dans le but de connaître la teneur alcool finale des différents poirés développés ainsi que l'évolution de celle-là durant les fermentations, la méthode « head-space » par chromatographie en phase gazeuse (6890 Agilent, Combi PAL) avec un liner ID=2 mm a été employée. Dans cette méthode, la séparation des constituants des échantillons se fait entre la phase stationnaire se trouvant dans la colonne et un gaz vecteur (le diazote). L'échantillon est vaporisé à l'entrée de la colonne. Une partie se dissout dans le liquide alors qu'une partie est entraînée par le gaz. C'est pourquoi la température de la colonne doit être proche de la température d'ébullition du composé le moins volatile du mélange [27]. Les alcools ne possédant pas les mêmes points d'ébullition ont des temps de rétention différents et sortent avec le gaz à différents moments. A leur sortie, la détection se fait par une flamme qui sépare les anions des cations en les envoyant vers une cathode ou une anode qui permet la quantification et la détermination et l'identification de l'alcool. Ainsi, des pics d'adsorbance peuvent être observés de la même façon que lors de la HPLC. Par cette méthode, la teneur en éthanol est mesurée en g/L. Un standard interne de 1-propanol d'environ 1.6 g/L ainsi qu'une solution ionique  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  saturé à 1M en  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ont été préparés pour permettre les analyses. Une solution mère d'éthanol à 10 g/L a aussi été préparée dans le but d'effectuer une courbe de calibration (Annexe II) avec des standards à 1 g/L, 2 g/L, 5 g/L, 8 g/L, 10 g/L précédés d'abord de 3 blancs avec de l'eau milliQ à la place de la solution mère. Tous les échantillons étaient préparés dans des vials de 22 ml avec 200  $\mu\text{l}$  du standard interne, 200  $\mu\text{l}$  soit d'éthanol pour les standards, soit de l'échantillon à analyser, et 500  $\mu\text{l}$  de solution ionique puis scellés avec un bouchon prévu à cet effet. Les échantillons à analyser devaient au préalable être filtrés de la même façon que pour la méthode HPLC. Le volume d'injection était de 1 ml, l'analyse se faisait à 220°C pendant 15 minutes et l'échantillon était agité simultanément. Une courbe de calibration par le biais d'un graphique pouvait être effectuée avec sur l'axe x la concentration exacte en éthanol connue de chaque standard et sur l'axe y le ratio des aires des pics d'adsorbance éthanol/standard interne obtenues par l'analyse. Une fois l'équation de cette courbe de calibration obtenue (de forme linéaire  $y=a*x+b$ ), le ratio des aires éthanol/standard interne des échantillons étaient calculés et incérés dans l'équation sous y. Connaissant les valeurs de a (la pente) et b (l'ordonnée à l'origine), la concentration en g/L (x dans l'équation précitée) pouvait finalement être calculée ( $x=(y-a)/b$ ). Si les échantillons avaient été dilués, ce résultat devait être corrigé par le facteur correspondant.

### 2.2.2 Extraction du jus à partir de la purée de poires

#### *Traitements enzymatiques*

Plusieurs traitements enzymatiques ont été appliqués de sorte à déterminer quel mélange d'enzymes, à quelle concentration et à quelle température liquéfiait le mieux la purée de poires de base.

Parallèlement, une analyse de la viscosité cette purée ainsi que du jus de poires ont été effectuées de façon à pouvoir observer la viscosité la plus élevée à partir de laquelle commençait l'analyse et la viscosité la plus basse qui était l'objectif à atteindre.



Le premier mélange d'enzymes (Pectinex Ultra AFP, Novozyme), était un mélange liquide de liquéfaction contenant des polygalacturonases, pectinlyases, pectinesterases, cellulases, arabanases et diverses hemicellulases. Les concentrations exactes des différentes enzymes n'ont pas été dévoilées. 2 concentrations ont été testées : 10ml/100kg et 20 ml/100kg.

Le dernier mélange d'enzymes (Pectinex Ultra Clear, Novozyme), était un mélange liquide de macération contenant essentiellement des pectinases et arabinases concentrées. Les valeurs exactes de ces concentrations n'ont pas été mentionnées. 2 concentrations ont été testées : 5 ml/100 kg et 10 ml/100 kg.

Les échantillons des deux derniers mélanges enzymatiques ont été préparés dans des béchers et stockés à température ambiante, sachant que la température cible était de 20°C comme prescrit par les fiches techniques (Annexe III). Les durées de traitement ont été de 4 heures, 8 heures et 24 heures pour chaque échantillon sachant que la durée minimale préconisée était de 4 heures.

Tous les échantillons étaient à chaque fois recouverts d'un film aluminium pour les protéger. Des analyses de viscosité dynamique ont été appliquées afin de déterminer si celle-ci diminuait, bien que le changement recherché devait être observable en premier lieu de façon visuelle. Pour ce faire, un rhéomètre oscillatoire a été employé (Modular Compact Rheometer 302, Anton Paar), un module cylindre (CC27/T200/AL, Anton Paar) - cellule de 28.922 cm de diamètre (C-CC27/T200, Anton Paar) a été utilisé. Les analyses se sont déroulées à 25±0.2°C avec un taux de déformation constant à 50 s<sup>-1</sup>. La température devait être stable pendant 1 minute avant le début de la mesure. Un résumé des essais se trouve ci-dessous dans le Tableau 3.

**Tableau 3 Résumé des mélanges utilisés lors des essais**

	Mélange 1		Mélange 2	
	1.1	1.2	2.1	2.2
<b>Concentration</b>	10 ml/100 kg	20 ml/100 kg	5 ml/100 kg	10 ml/100 kg
<b>Enzymes</b>	polygalacturonases, pectinlyases, pectinesterases, cellulases, arabanases et diverses hemicellulases		pectinases et arabinases	
<b>Durées</b>	4h, 8h, 24h		4h, 8h, 24h	

Des analyses en triplicata des traitements les plus pertinents ont ensuite été menées suivies d'une analyse statistique avec le test HSD (Honestly Significant Difference) de Tukey (voir section 2.2.5) permettant de déterminer les différences significatives de ces traitements.

### *Centrifugations*

La méthode physique de la centrifugation a été mise en pratique afin de déterminer s'il était intéressant de séparer le jus du reste de la purée en terme de rendement (quantité de jus finale par rapport à la quantité de purée initiale). Des tests ont été effectués sur de la purée de base et donc non-enzymée, sur de la purée enzymée avec les mélanges enzymatiques précités : N°1 à 17h d'activité enzymatique, N°2.1, 2.2, 3.1 et 3.2 à 4h d'activité enzymatique. La centrifugeuse électronique (MF20-R, Awel<sup>TM</sup> Industries) a été utilisée à 20°C. Deux méthodes ont été employées, l'une avec une force centrifuge de 8880 g et l'autre avec une force centrifuge de 16900 g ce qui correspond sur cet appareil à 4000 rpm et 12000 rpm comme utilisé par [28] lors d'une clarification de jus de fruits de la passion. Le degré Brix a été mesuré afin de

déterminer si un changement s'effectuait, le surnageant a été pesé et un rendement de séparation a été calculé par le biais de l'Equation 3 suivante :

### Équation 3 Détermination du rendement de séparation

$$\eta [\%] = \frac{M_s}{M_p} * 100$$

Ms = masse de surnageant ; Mp = masse de purée

Les mesures ont été effectuées en triplicata pour permettre une analyse statistique par le Test HSD de Tukey (voir section 2.2.5) en déterminant les différences significatives de ces résultats.

## 2.2.3 Cryoconcentration du jus

### Bloc partiel dynamique

L'équipement a été installé en chambre frigorifique à 2°C dans le but de perdre un minimum d'énergie et d'y gagner dans le transfert de chaleur. Le schéma de l'installation est illustré par la Figure 5 ci-dessous.

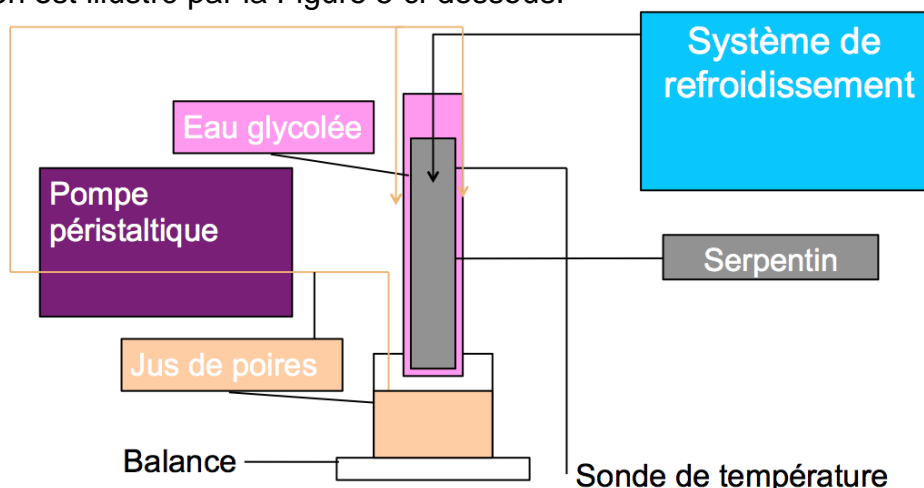


Figure 5 Schéma du système de cryoconcentration par bloc partiel utilisé

L'installation était composée d'une pompe péristaltique (Masterflex®, 77601-12) avec un tuyau (VWR, S60V34B) en silicone et peroxyde de diamètres interne 12 mm et externe 17 mm et d'épaisseur 2.5 mm. Le jus était pompé depuis un contenant taré et posé sur une balance. Un système frigorifique composé d'un serpentin contenant un liquide réfrigérant était utilisé. Ce serpentin était installé dans un cylindre en verre gradué de 1000 ml. De plus, un mélange d'eau (60%) et d'antigel (40%) (Antigel PF – 20N rose, CoChimy Sàrl) permettant de descendre la température jusqu'à -25°C sans risquer de congeler l'eau) y a été ajouté. Une sonde température reliée au groupe froid était installée dans cette eau glycolée pour permettre la régulation. Une autre sonde température (Elpro-Buchs AG, Ecolog TN2, 2xNTC) y était installée pour permettre un suivi et un contrôle informatique. A l'aide d'embouts en forme de T, le tuyau était divisé en 4, permettant ainsi de mieux recouvrir le périmètre du cylindre et d'optimiser la surface de contact. Le cylindre était maintenu suspendu sur le récipient dans lequel le jus retombait après avoir coulé sur la surface en verre. Le jus circulait ainsi en continu depuis le récipient sur le cylindre en verre. La mesure du poids de glace



formée pouvait donc se faire en direct. La Figure 6 ci-dessous est une photographie du montage réellement employé.



Figure 6 Présentation du système de cryoconcentration par bloc partiel utilisé lors des essais

Le débit employé dépendait de la viscosité moyenne du jus (soit dite « faible » de  $2.3 \pm 0.7 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ , soit dite « élevée » de  $84 \pm 6 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ ), de la vitesse à laquelle la pompe marchait gérée par bouton gradué de 0.1 à 10.9, et de l'ouverture appliquée sur le tuyau gérée par un bouton gradué de 1 à 5. L'ouverture est restée au degré 5 alors que la vitesse a varié entre « lent », soit le degré 3.4, et « rapide », soit le degré 6. Les deux débits employés lorsque la viscosité était dite « faible » ont été de 3.0 L/min à vitesse « lente » et de 5.5 L/min à vitesse « rapide ». Les deux débits lorsque la viscosité était dite « élevée » ont été de 2.7 L/min à vitesse « lente » et de 5.2 L/min à vitesse « rapide ».

Trois rampe de température ont été appliquées, la première reflète une expérience mentionnée dans une publication étudiant ce type de méthode de cryoconcentration [15]. Ces rampes sont décrites par la Figure 7 ci-dessous.

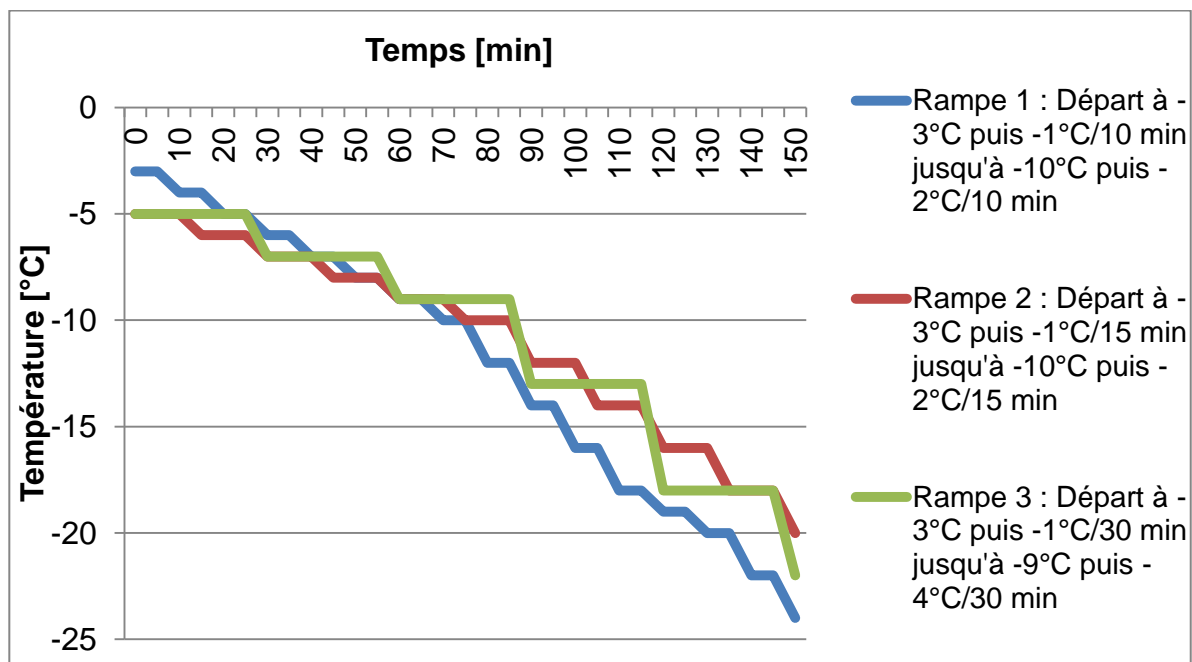


Figure 7 Graphique illustrant les trois rampes de températures employées sur 150 minutes d'analyses

Les expériences ont duré 150 minutes et ont été répétées 3 fois afin de permettre une analyse statique par le test HSD de Tukey (voir section 2.2.5) et de déterminer les différences significatives entre les expériences. Environ 3 litres de jus étaient à chaque fois employés. Le Tableau 4 ci-dessous résume les différents protocoles appliqués.

**Tableau 4 Résumé des protocoles utilisés lors des expériences de cryoconcentration par bloc partiel**

	1	2	3	4	5	6
<b>Viscosité</b>	2.3 ± 0.7 mPa*s	2.3 ± 0.7 mPa*s	2.3 ± 0.7 mPa*s	2.3 ± 0.7 mPa*s	84 ± 6 mPa*s	84 ± 6 mPa*s
<b>Débit</b>	3.0 L/min	3.0 L/min	5.5 L/min	3.0 L/min	2.7 L/min	5.2 L/min
<b>Rampe</b>	1	2	2	3	3	3

Le système réfrigérant permettait ainsi de geler l'eau du jus qui coulait sur la surface de verre. L'échelle de température avait pour but de permettre de maintenir le transfert du froid malgré la couche de glace qui se formait. Les degrés Brix de départ et à chaque changement de température ainsi que les quantités de glace formées/jus restant en circulation étaient mesurés. Au début de chaque expérience une fine couche d'eau était pulvérisée sur la surface du cylindre gradué de telle sorte qu'elle gèle, évitant par la suite la surfusion du jus. Pour maintenir cette pré-couche d'eau gelée lors du passage du jus, il était nécessaire de le pré-refroidir aux alentours de -1 – 0°C, comme décrit dans 2 autres études [14, 15]. Pour ce faire, il était maintenu dans un bain de glace ou dans un bain-marie créé par le biais d'un cryostat (Julabo, F34 CH) contenant la même solution d'eau glycolée que celle contenue dans le cylindre.

En plus du poids qu'indiquait la balance, le degré Brix du jus et celui de la glace étaient mesurés à chaque abaissement de température. La pompe possédait un certain poids mort qu'il ne fallait pas oublier de rajouter à la fin. Ensuite, l'élévation du degré Brix par heure a été calculée ainsi que la quantité de glace formée par minute. Cette dernière a été calculée en effectuant d'abord la moyenne des masses obtenues par tranche de 10, 15 ou 30 minutes selon l'expérience, et ensuite en effectuant la moyenne des moyennes ainsi obtenues. Cela permettait de moins lisser les résultats. Puis, le rendement en jus de poires cryoconcentré a été calculé suivant l'Equation 4 qui suit :

**Équation 4 Détermination du rendement de jus de poires cryoconcentré**

$$\eta [\%] = \frac{M_{jpc}}{M_{jpi}} * 100$$

$M_{jpc}$  = masse de jus de poires cryoconcentré ;  $M_{jpi}$  = masse de jus de poires initiale

Le RI (ratio d'impuretés) représente la pureté de la glace en pourcent et a été calculé selon l'Equation 5 suivante [12] :

**Équation 5 Détermination du ratio d'impuretés**

$$RI[\%] = \frac{{}^{\circ}B_{\text{jus de poire initial}}}{{}^{\circ}B_{\text{cristaux de glace}}} * 100$$

Finalement la masse de sucre perdue a été calculée par le biais de la masse glace totale à la fin de l'expérience multipliée par le degré Brix de cette même glace et divisée par 100. Pour que le degré Brix ne représente que la quantité de sucre par 100 g de jus et non pas la quantité de matière soluble, il a été d'abord ajusté par le facteur moyen obtenu lors des analyses par HPLC.

Ces données ont permis de comparer les différentes expériences dont seule une variable (vitesse de pompe, viscosité du jus et rampe de température) changeait.

La température du jus de poires a été contrôlée à l'aide de sonde (Ecolog TN2 2xNTC, Elpro-Buchs AG) durant un essai pour en observer la fluctuation en fonction de l'abaissement de température. Le but était de maintenir la température proche de la température de congélation du jus de poires. Celle-ci dépend de la proportion en saccharose, glucose et fructose qui détermine le poids moléculaire équivalent de chaque sucre puis du jus, ainsi que de leur poids moléculaires, poids moléculaires équivalents et température de congélation au degré Brix en question [13].

Les proportions en saccharose, glucose et fructose ont été déterminées par HPLC et les points de congélations des 3 sucres selon le degré Brix ont été trouvés dans la littérature [13].

Le degré Brix du jus de départ fluctuant tout en restant proche de 10°B, il a été décidé de prendre la valeur proposée par la littérature. Ainsi, pour un degré Brix initial se situant entre 10 et 15, la température de congélation du jus de poires se trouve entre -1.05 et -1.8°C, sachant que ces valeurs baissent quand le degré Brix augmente [13]. Puisqu'il n'y a pas de grande différence de température, cette fourchette de température suffisait.

La température de l'eau glycolée a également été suivie grâce à une sonde (Ecolog TN2 2xNTC, Elpro-Buchs AG). Ceci a eu pour but de déterminer si le système réfrigérant se réglait correctement et rapidement par rapport aux températures demandées.

### *Lyophilisation*

Les échantillons ont d'abord été entreposés dans un congélateur (Brouwer, 917) à -80°C avant d'être installés dans le lyophilisateur (Telstar, Cryodos-80). Dans un premier temps, les échantillons étaient pesés avant et après lyophilisation et le degré Brix était mesuré également avant et après la lyophilisation. La différence de masse représente l'eau qui a été éliminée. Les essais ont été récupérés après 40 minutes, 1h20, 2h, 4h, 5h et 6h afin d'observer graphiquement les courbes de tendances permettant de mettre en avant la quantité d'eau éliminée en fonction du temps, le degrés Brix obtenu en fonction de la quantité d'eau éliminée et le degrés Brix obtenu en fonction du temps. Dans un deuxième temps, dans le but de posséder un certain volume de jus concentré par lyophilisation qui pouvait être mis ensuite en



fermentation, des échantillons dans des récipients en silicone de 20 ml ou dans des bouteilles en plastique de 250 ml ont été lyophilisés durant 24h. La Figure 8 ci-dessous présente le lyophilisateur à échelle laboratoire qui a été utilisé.

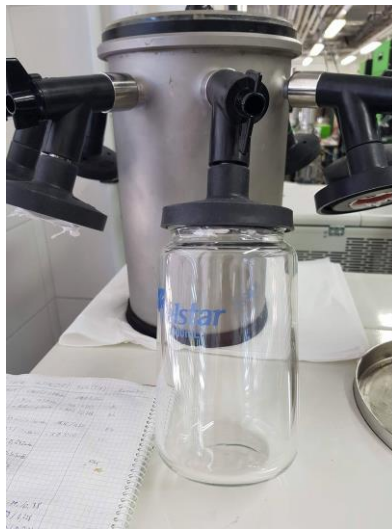


Figure 8 Un des huit compartiments du lyophilisateur utilisé

#### 2.2.4 Fermentation du jus

Des cuves en inox à chapeau flottant ont été utilisées pour le poiré 1 qui était à base de jus de poires non concentré (standard), et pour le poiré 2 qui était à base de jus de poires cryoconcentré par le système par bloc statique. Concernant le poiré 3 qui était à base de jus cryoconcentré par lyophilisation, il a été installé dans une bouteille de 5 litres en verre. La fermentation du poiré 1 a été effectuée en amont du poiré 2 et 3 qui ont eu lieu simultanément, dans le but de réajuster la procédure si besoin. Un nettoyage à l'eau sulfitée est recommandé [20] mais dans cette situation uniquement de l'eau a été utilisée pour une question de quantité d'acide sulfureux disponible. Les cuves et la bouteille ont également été désinfectées de telle sorte que la seule flore qui interagissait avec le jus soit celle qui avait été ajoutée. Des sulfites ont été ajoutés au jus à raison de 1ml/L d'acide sulfureux 5%. Des levures de la souche *Saccharomyces cerevisiae* galactose négatif (suivant l'exemple d'une étude canadienne [29] qui a utilisé deux souches de *Saccharomyces bayanus* qui sont l'équivalent des *Saccharomyces cerevisiae* galactose négatif [30]) ont été ajoutées en tant que ferments à raison de 0.1g/L de jus. Pour ce faire, elles devaient être réhydratées en étant dissoutes à 37°C dans 10 parts d'eau pendant 20 min avant d'être additionnées au mélange. La différence de température entre le jus et les levures ne devait pas dépasser 10°C selon les directives de la fiche technique (Annexe III). Les chapeaux flottants ont été installés avec une pression de 0.3 Bar dans les chambres à air. Cette valeur est à contrôler et à ajuster de temps en temps afin de s'assurer qu'il n'y ait pas de perte ou prise de pression. A chaque cuve et à la bouteille était installé un barboteur contenant de l'eau sulfitée à une concentration de 10ml/L d'acide sulfureux 5% [20] afin d'éviter l'oxydation du jus tout en permettant au gaz issu de la fermentation de s'échapper [31]. Les fermentations se sont déroulées en chambre froide à 8°C. Une température aussi basse devrait permettre de garder les arômes du cidre et maintenir une vitesse de fermentation lente [20]. Au long de la fermentation, la densité était régulièrement contrôlée pour observer son avancement, sachant que la fermentation du jus de poires s'arrête généralement avec une densité légèrement supérieure à 1000 à 20°C puisque le jus de poire contient beaucoup de

sorbitol qui n'est pas fermentescible par les levures [22, 32]. Le degré Brix était mesuré au début. Mais une fois que de l'alcool était produit, il n'était plus mesuré car ce dernier modifie trop la valeur. Les valeurs pH de début et de fin de fermentation servaient à démontrer l'effet de la fermentation sur la balance acido-basique. Aucun sel nutritif n'a été ajouté car ceux-ci accéléreraient trop la fermentation [20]. Un soutirage par centrifugation employant une centrifuge (HiCen XL, Herolab) avec rotor (F8-6x1000y, FiberLite® Piramoon Technologies Inc) et s'étant effectuée à 6000 g par lot d'environ 6x650 ml, durant 30 minutes et à 15°C, a été effectué en cours de fermentation alors que la densité avait baissé de 5 à 10 points (c'est-à-dire par exemple de 1055 à 1050 ou 1045) [22]. D'un côté, cela avait pour but d'éviter que les levures ne se développent trop et consomment tous les sucres résiduels, et d'un autre côté, cela permettait de la fermentation et obtenir un cidre le plus doux possible [20, 24, 33]. Une telle force centrifuge permet l'élimination des levures puisque 4000 à 5000 g suffisent [34]. Il faut noter toutefois que les soutirages s'effectuent habituellement par transvasement du liquide d'une cuve à une autre afin d'éliminer le fond de cuve qui contient beaucoup de microorganismes dont les microorganismes morts [20]. Cette méthode est réalisable si la différence de phase est nette. Ceci n'était pas le cas dans ce travail car la viscosité du jus était telle qu'un déphasage n'était pas observable. C'est pour cette raison que la méthode de la centrifugation a été adoptée.

Une balance organoleptique entre l'alcool ressenti, les sucres résiduels, l'acidité et l'amertume était finalement recherchée. C'est pourquoi, les arrêts de fermentation se faisaient lorsque les arômes et les saveurs plaisaient et lorsque la densité arrivait aux environs de 1025, à l'instar du poiré commercial, de façon à garder du sucre résiduel.

Afin de stabiliser le produit, le poiré était centrifugé dans le but d'éliminer une grande partie des lies et des levures. Sur certains échantillons, une filtration stérilisante a été effectuée en complément de la centrifugation par le biais d'un filtre par pression en profondeur (SM 16263/67, Sartorius) d'un volume de 1 litre comme illustré par la Figure 9 ci-dessous.



Figure 9 Appareil de filtration par pression en profondeur utilisé

Les filtres étaient d'abord rincés à l'aide de jus de pomme dans le but d'éviter un goût de carton dans le produit final. En premier lieu, un filtre avec une taille de pores entre

4.25 et 9.25  $\mu\text{m}$  (250K, Pall Corporation) a été utilisé, puis un filtre avec une taille de pores entre 1 et 3.25  $\mu\text{m}$  (100K, Pall Corporation), suivi finalement d'un filtre stérilisant [35] avec des pores entre 0.15 et 0.3  $\mu\text{m}$  (EKS, Pall Corporation). Une fois filtré, le cidre a été embouteillé et bouché par des bouchons de lièges et entreposé au réfrigérateur à 2°C. Le reste du volume a été centrifugé et stocké au réfrigérateur à 2°C dans des bouteilles en PET dans le but de stabiliser le produit.

### 2.2.5 Traitements statistiques

#### *Test HSD de Tukey [36]*

Le test statistique HSD de Tukey a été appliqué aux résultats obtenus lors de traitements enzymatiques, lors des tests de centrifugation et lors des protocoles de cryoconcentration. Il a permis d'identifier le/les groupe(s) dont les moyennes obtenues étaient significativement différentes. Tous les traitements ont été comparés 2 à 2. Ce test est dit « post-hoc » puisqu'il suit un traitement statistique de variance ANOVA (Analysis of Variance) qui est dans ce cas à un facteur. Le programme informatique traitait les résultats d'abord avec un risque  $\alpha=0.01$  et si les résultats n'étaient pas significativement différents, il recommençait avec un risque  $\alpha=0.05$ . Cela représente un risque de se tromper de 1% ou 5%. Si à un risque  $\alpha=0.05$  aucune différence significative n'a été observée, la paire n'était alors significativement pas différente.

## 3. Résultats

### 3.1 Caractérisation des jus et purées de poires utilisées comme matières premières des poirés de glace

Lors de cette étude, de la purée obtenue à partir de poires Williams jaunes et donc mûres a été utilisée, ainsi que du jus obtenu à partir de poires Williams encore vertes. L'utilisation du jus de poires commercial était nécessaire de manière à étudier les différentes étapes du process (extraction du jus et cryoconcentration du jus) en parallèle afin de gagner du temps. Le procédé de fabrication suivi est le suivant :

1. Réception de la purée de poires pasteurisée
2. Centrifugation
3. Cryoconcentration par bloc partiel dynamique ou par lyophilisation
4. Fermentation
5. Clarification par centrifugation
6. Filtration stérilisante en profondeur par pression
7. Embouteillage
8. Stockage



Dans cette section, les résultats de ces étapes sont présentées, détaillées et commentées.

Dans un premier temps, les matières premières utilisées ont été caractérisées de façon à déterminer les paramètres qui pourraient influencer le déroulement du process ainsi que la qualité du produit fini.

#### 3.1.1 Matières premières

Dans le Tableau 5 suivant sont présentées les différentes caractéristiques de la purée de poires, du jus de poires (acheté tel quel) et du jus issu de la purée de poires par centrifugation. Les mesures ont été effectuées en triplicata afin d'obtenir ces valeurs.

Tableau 5 Matières premières caractérisées par leur °B, pH,  $a_w$ , viscosité et matière sèche

Concentration en matière sèche soluble [°B]		pH [-]	$a_w$ [-]	Viscosité [mPa*s]	Matière sèche [%]
<b>Purée de poires</b>					
12.1±0.0		3.92±0.09	0.99±0.0005	526±7.92	13.98±0.04
Concentration en matière sèche soluble [°B]	Concentration en sucre [g/L]	pH [-]	Densité [-]	$a_w$ [-]	Viscosité [mPa*s]
<b>Jus de poires (acheté dans le commerce)</b>					
10.0±1.7	86±2	4.17±0.01	1057±9	0.99±0.0005	18.7±32.8
<b>Jus issu de la purée de poires par centrifugation</b>					
12.0±0.0	83±2	3.81±0.01	1055±2	0.99±0.0005	3.23±0.66

Les valeurs qui sont les plus intéressantes au sujet de la purée de poires sont celles du pH, de l' $a_w$  et de la matière sèche car elles concernent la stabilité microbienne du produit. Il suffit que l'un ou l'autre ne soit pas propice au développement microbien pour empêcher la croissance des microorganismes. Cet aspect est important dans cette situation car lors des essais enzymatiques, la purée était laissée à température ambiante, température idéale au développement de la majorité des microorganismes. En-dessous d'un pH de 4.5 [37], les microorganismes pathogènes ne peuvent croître plus que sous une forme qui peut être détruite par pasteurisation. Malheureusement, des flores d'altérations peuvent toujours se développer [38]. Ainsi les jus et la purée sont protégés par leur pH uniquement contre les flores pathogènes. Concernant la valeur  $a_w$ , elle devrait être de 0.70 pour empêcher toute activité microbienne y compris la sporulation. Les microorganismes pathogènes sont quant à eux inhibés en dessous de 0.86, excepté *Staphylococcus aureus* qui peut croître dès 0.83 [39]. L' $a_w$  de la purée ne protège donc pas d'une contamination. La dernière valeur concerne la viscosité : elle permet de connaître la valeur initiale de la purée qui allait être traitée par les enzymes, afin de pouvoir observer l'effet du traitement. Le degré Brix a été mesuré uniquement pour être comparé à celui du jus issu de cette purée par centrifugation : aucune différence notable n'est observée, ce qui est relativement logique puisque c'est la matière sèche soluble qui est mesurée et celle-ci se trouve dans la partie liquide, et donc, dans le jus issu de la centrifugation représenté par le surnageant.

Quant aux caractéristiques déterminées pour le jus de poires et le jus de poires issu de la purée de poires par centrifugation, le pH et l' $a_w$  décrivent la stabilité du produit comme expliqué plus haut (Tableau 5). La matière sèche n'a pas été jugée utile car les jus sont faits à partir de fruits constitués presque entièrement d'eau (85-90% [40]), cette valeur devrait s'approcher des 10%. La dernière valeur concerne la viscosité : elle permettait d'avoir une idée de la valeur finale que devait atteindre la purée qui allait être traitée par les enzymes.

Concernant surtout le jus de poires, les analyses de viscosité, de densité et du degré Brix permettent notamment de mettre en avant par le biais des écarts-types, l'hétérogénéité du produit à l'intérieur même de la cuve dans laquelle il était stocké en premier lieu (200 litres), avant d'être transvasé dans de plus petits bidons (10 litres). En effet, selon le moment de prélèvement (début-milieu-fin de cuve), ces caractéristiques changeaient ; ce qui pouvait par la suite compliquer les analyses et expériences spécialement concernant la cryoconcentration.

### 3.1.2 Relation degré Brix et concentration en sucre

Pour évaluer la correspondance entre concentration en sucre et degré Brix mesuré, la concentration en sucre obtenue par HPLC (en mg/L) d'un même échantillon a été adaptée en g/100g en tenant compte de la densité du jus de poires. Les résultats figurent dans le Tableau 6 à la page suivante.

Tableau 6 °B, Concentration exacte en sucre de 14 échantillons et le rapport entre les deux valeurs

Echantillon	°B	sucre [g/100g]	Rapport [%]
Jus de poires 1	11.3	8.27	73.3
Jus de poires 2	10.6	10.3	73.0
Jus de poires 3	11.0	7.75	74.8
Jus de poires 4	11.3	8.24	71.2
Jus de purée de poires 1	11.9	8.02	70.8
Jus de purée de poires 2	12.1	8.41	70.0
Jus de purée de poires 3	12.0	8.40	72.5
Lyophilisation 40 min	11.5	8.29	72.1
Lyophilisation 1h20	11.8	8.58	72.7
Lyophilisation 2h	12.2	8.75	71.8
Lyophilisation 4h	14.3	10.3	72.5
Lyophilisation 5h	15.7	11.4	72.8
Lyophilisation 6h	16.6	12.2	73.6
<b>Moyenne</b>			<b>72.4</b>
<b>Ecart-type</b>			<b>1.2</b>
<b>CV (coefficient de variation)</b>			<b>1.7</b>

Comme le degré Brix est mesuré par réfractométrie, il n'y a pas que le sucre de l'échantillon qui est compris dans le résultat puisque tout ce qui réfracte le rayon lumineux a un impact. Cela comprend par exemple les acides aminés, les vitamines hydrosolubles, les acides organiques comme le citrique et le malique dans le cas de la poire. Les minéraux et fibres solubles jouent également un rôle. Puisque c'est à partir de la quantité de sucre qu'il est possible de connaître le %alcool vol. qui peut être obtenu après fermentation, il était nécessaire d'en savoir sa concentration exacte. Ainsi, après ces analyses, il s'est avéré que seulement 72.4% du degré Brix correspondait à du sucre.

### 3.1.3 Concentration en saccharose, glucose et fructose

Dans le Tableau 7 ci-dessous sont comparées les concentrations obtenues par HPLC en saccharose, glucose et fructose d'un jus de poires standard et d'un jus de poires issu de la purée de poires par centrifugation.

Tableau 7 Concentration en g/L et % de saccharose, glucose et fructose du jus de poires standard et de celui issu de la purée de poires par centrifugation

	Saccharose		Glucose		Fructose	
	[g/L]	[%]	[g/L]	[%]	[g/L]	[%]
<b>Jus de poires standard</b>	1.7±0.3	2±0	13.9±0.6	16±0	70.1±2.0	82±1
<b>Jus issu de la purée de poires</b>	1.2±0.0	1±0	17.4±0.2	19±0	70.8±0.2	80±0



Une détermination de la concentration globale de sucre et précise en saccharose, glucose et fructose ont été effectuées dans le but d'observer si une différence notable pouvait se faire entre les deux jus qui rendrait l'un ou l'autre plus intéressant. Une légère différence est observée au niveau de la concentration en glucose notamment. Celle-ci est plus élevée de 3% dans le jus de poires issu de la purée (1% de plus de saccharose et 2% de plus de fructose). Ces différences peuvent éventuellement s'expliquer par l'état de maturation des poires utilisées [40, 42]. Effectivement, des poires plus mures sont utilisées pour la fabrication de la purée. Néanmoins, il faudrait répéter ce type de mesure pour des purées et jus issus d'autres récoltes car ceci peut également avoir un impact significatif.

Pour les 2 types de jus de poire, environ 80% des sucres présents est sous forme de fructose. Un tel résultat est attendu puisque les fruits dont la poire sont de manière générale composés en majorité de fructose [40, 43]. Connaître la composition en sucre est également important pour la sélection des levures qui les fermenteront. Il est vrai que certaines levures sont plus enclines à dégrader du fructose que d'autres. C'est le cas de la souche sélectionnée dans ces fermentations (voir fiche technique à l'Annexe III). Ces valeurs de comparaison restent globalement très proches, ces résultats n'apportent donc pas d'informations particulièrement utiles quant à l'avantage qu'apporterait l'utilisation de l'un des jus plus que de l'autre.

### 3.2 Extraction du jus de poire à partir de la purée

Les résultats des diverses méthodes appliquées pour liquéfier le broyat de poires sont présentés ci-dessous suivis de leurs analyses statistiques.

#### 3.2.1 Traitements enzymatiques

Dans la Figure 10 ci-dessous sont présentés les viscosités obtenues par rhéométrie.

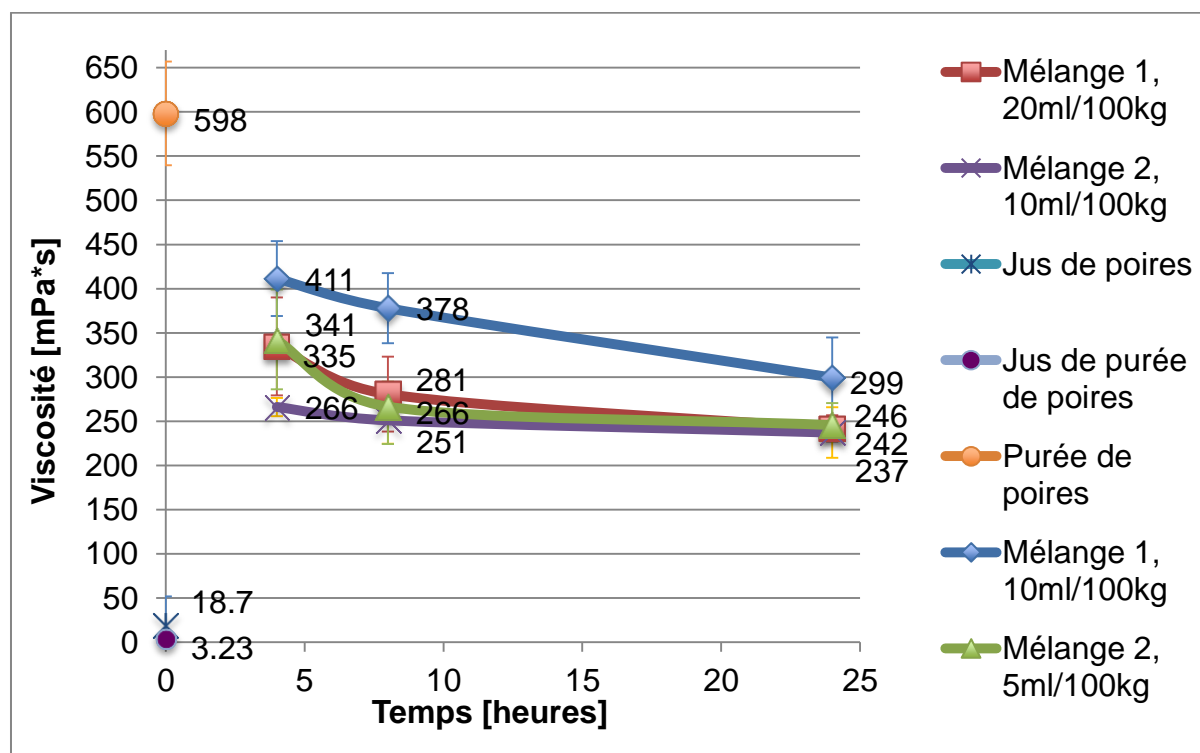


Figure 10 Viscosités des purées de poires auxquelles ont été ajoutés un des deux mélanges enzymatiques à 2 concentrations différentes pour chaque mélange enzymatique et qui ont été incubées à 20°C entre 4 et 24h (pour chaque viscosité représentée, n=3)

### Traitement statistique

Les résultats bruts du traitement statistique se trouvent à l'Annexe IV. Le Tableau 8 suivant en résume les points les plus pertinents.

**Tableau 8 Comparaisons statistiques les plus intéressantes des résultats de viscosités**

Comparaison	Entre la viscosité de la purée et celle des mélanges enzymatiques	Entre les viscosités d'un même mélange à des durées de traitements différents (4h, 8h, 24h)	Entre les viscosités des différents mélanges mais à des durées de traitements égales (4h, 8h, 24h)	Entre les viscosités d'un même mélange mais à des concentrations différentes
<b>Différence</b>	Significative	Pas significative	Pas significative	Pas significative*
<b><math>\alpha</math></b>	5%	5%	5%	5%

\*sauf entre le mélange 1 qui présente une différence significative entre 10ml/100kg en 4h et 20ml/100kg en 24h.

Concernant les mélanges 1.1, 1.2, 2.1 et 2.2, les viscosités obtenues sont par observations visuelles encore trop éloignées de la viscosité recherchée du jus de poires. Cependant, ils présentent une réduction de la viscosité d'environ 50% et sont statistiquement significativement différents ( $\alpha=5\%$ ) de la purée initiale. Puisqu'aucune différence significative ( $\alpha=5\%$ ) n'est observée entre les divers mélanges enzymatiques (polygacaturonases, pectinlyases, pectinesterases, cellulases, arabanases et diverses hemicellulase à 10ml/100kg et 20ml/100kg et des pectinases et arabinases à 5 ml/100kg et 10ml/100kg) à des temps d'activité similaires ou entre le même mélange à des durées de traitement différentes comprises entre 4 et 24h, ou encore entre un même mélange mais à des concentrations différentes (malgré l'exception), il peut être conclu que peu importe le mélange utilisé, une durée de 4h suffit. Ils ne suffisent cependant pas à s'approcher suffisamment de la viscosité du jus de poires qui est le but recherché. Ils restent en effet significativement différents ( $\alpha=5\%$ ) de celle-ci aussi. Enfin, en ce qui concerne la répétabilité des traitements, il est difficile d'en tirer une conclusion puisque la purée de départ démontre déjà un écart-type conséquent :  $\pm 59$  Pa\*s.

### 3.2.2 Centrifugations

Le Tableau 9 à la page suivante recense les résultats des centrifugations qui ont été menées. Les écarts-types des rendements (masse de jus obtenue pour une masse de purée donnée) et les CV ont aussi été calculés.



Tableau 9 Résultats de centrifugation des mélanges en termes de rendement (masse de jus obtenue pour une masse de purée donnée) et °B moyen du jus de poire obtenu

8000 g						
Mélange	Rendement moyen [%]	écart-type	CV	°B moyen	écart-type	CV
Purée de poire	36	2	6	11.9	0.0	0.1
Mélange 1, 10ml/100kg	57	0	1	12.0	0.0	0.0
Mélange 1, 20ml/100kg	56	0	1	12.1	0.0	0.1
Mélange 2, 5ml/100kg	57	0	1	12.0	0.0	0.1
Mélange 2, 10ml/100kg	56	0	1	12.1	0.0	0.1
16900 g						
Mélange	Rendement moyen [%]	écart-type	CV	°B moyen	écart-type	CV
Purée de poire	64	2	3	11.9	0.0	0.1
Mélange 1, 10ml/100kg	74	1	1	12.0	0.0	0.1
Mélange 1, 20ml/100kg	74	0	0	12.0	0.0	0.1
Mélange 2, 5ml/100kg	74	1	1	12.0	0.0	0.0
Mélange 2, 10ml/100kg	74	1	1	12.1	0.0	0.0

#### Traitement statistique

Les résultats bruts du traitement statistique se trouvent à l'Annexe IV. Un résumé des points les plus pertinents est présenté dans le Tableau 10.

Tableau 10 Comparaisons statistiques des résultats de centrifugations les plus intéressants

8880 g		
Comparaison	Entre la centrifugation de la purée et de tous les autres mélanges (1.1, 1.2, 2.1, 2.2)	Entre la centrifugation des 4 mélanges enzymatiques (1.1, 1.2, 2.1, 2.2)
Différence	Significative	Pas significative
$\alpha$	5%	1%
16900 g		
Comparaison	Entre la centrifugation de la purée et de tous les autres mélanges (1.1, 1.2, 2.1, 2.2)	Entre la centrifugation des 4 mélanges enzymatiques (1.1, 1.2, 2.1, 2.2)
Différence	Pas significative	Pas significative
$\alpha$	5%	5%
Comparaison entre les mesures à 8880 g et 16900 g		
Différence	Significative*	
$\alpha$	5%	

\*excepté entre la purée à 16900 g (qui n'a pas subi de traitement enzymatique) et les mélanges 1.1, 1.2, 2.1 et 2.2 à 8880 g (qui ont subi un traitement enzymatique).

Lorsqu'une force centrifuge de 16900 g est appliquée, il n'y a aucune différence significative ( $\alpha=5\%$ ) concernant les rendements en jus de poire selon que la purée ait subi un traitement enzymatique ou non ou bien selon le type de traitement enzymatique subi (type et concentration en enzyme, durée de traitement). Cela signifie que la force centrifuge est de toute façon plus efficace que ces réactions enzymatiques. Un rendement de  $72 \pm 4 \%$  est observé.

Quant à la centrifugation à 8880 g, aucune différence significative ( $\alpha=1\%$ ) entre les 5 traitements enzymatiques. Au contraire de la première centrifugation citée, une différence significative ( $\alpha=1\%$ ) entre une purée non-traitée enzymatiquement et une purée traitée enzymatiquement est observée : un rendement de  $36 \pm 2 \%$  est obtenu d'un côté contre  $55 \pm 3 \%$  de l'autre.

De plus, il existe une différence significative ( $\alpha=5\%$ ) entre une centrifugation à 8880 g et une centrifugation à 16900 g, avec un meilleur rendement pour celle-ci ( $72 \pm 4 \%$  contre  $55 \pm 3 \%$ ). Sauf dans les cas où l'échantillon centrifugé à 16900 g n'a pas suivi un traitement enzymatique : le rendement de ces mêmes échantillons, mais ayant subi un traitement enzymatique, s'avère meilleur avec la centrifugation de 8880 g. Pour ces raisons, s'il y a à disposition une centrifugeuse possédant une force centrifuge suffisamment forte et donc proche des 16900 g utilisés, d'après ces résultats, il n'est pas nécessaire de procéder à un traitement enzymatique de la purée de poire afin d'en extraire le jus ; ce qui facilite le procédé de fabrication. Dans le cas où une centrifugeuse ne dispose pas d'une telle force, il pourrait devenir intéressant de procéder d'abord à un traitement enzymatique. Toutefois, de nouveaux essais semblables à ceux de ce travail suivis de tests statistiques devraient être effectués en amont afin de déterminer si la force dont dispose l'appareil suffit pour ne pas avoir besoin des enzymes. De plus, l'utilisation de ces dernières n'augmentant le rendement que d'environ 20%, il faudrait donc comparer leur coût par rapport au gain en matière première et en temps de production augmenté. Enfin, d'un point de vue législatif, si des enzymes venaient à être utilisées, bien qu'elles restent dans le produit fini, il ne serait pas nécessaire de les indiquer sur l'emballage puisqu'elles ne sont pas considérées comme des additifs mais comme des auxiliaires technologiques. La quantité employée doit respecter les BPF (bonnes pratiques de fabrication) [44] et elles doivent faire partie des classes suivantes : enzymes pectolitiques, enzymes protéolytiques et enzymes amylolithiques [4].

### 3.3 Cryoconcentration du jus

Les résultats des différents protocoles appliqués pour cryoconcentrer le jus par bloc partiel dynamique sont regroupés dans cette section.

Dans le Tableau 11 à la page suivante sont regroupés les résultats des différents essais de cryoconcentration par bloc partiel dynamique. Pour chaque caractéristique, la moyenne suivie de l'écart-type et du CV ont été calculés.

Tableau 11 Résultats par protocole de cryoconcentration par bloc partiel dynamique

<b>Protocole 1 (viscosité et débit faibles, baisse de la température chaque 10 min)</b>					
	°B/h	[g] de glace/min	Rendement [%]	RI [%]	[g] de sucre perdu /100g de jus
<b>Moyenne</b>	0.5	6.1	80	76	5.2
<b>Ecart-type</b>	0.1	0.2	4	2	0.1
<b>CV</b>	18	3.4	5	3	2.3
<b>Protocole 2 (viscosité et débit faibles baisse de la température chaque 15 min)</b>					
	°B/h	[g] de glace/min	Rendement [%]	RI [%]	[g] de sucre perdu /100g de jus
<b>Moyenne</b>	0.5	3.6	81	73	5.8
<b>Ecart-type</b>	0.1	0.1	1	2	0.2
<b>CV</b>	11	2.1	1	3	3.4
<b>Protocole 3 (viscosité faible, débit élevé, baisse de la température chaque 15 min)</b>					
	°B/h	[g] de glace/min	Rendement [%]	RI [%]	[g] de sucre perdu /100g de jus
<b>Moyenne</b>	0.6	3.3	80	70	6.6
<b>Ecart-type</b>	0.1	0.4	4	7	0.5
<b>CV</b>	14	12	5	10	7.5
<b>Protocole 4 (viscosité et débit faible, baisse de la température chaque 30 min)</b>					
	°B/h	[g] de glace/min	Rendement [%]	RI [%]	[g] de sucre perdu /100g de jus
<b>Moyenne</b>	0.5	2.4	88	73	6.3
<b>Ecart-type</b>	0.2	0.9	4	2	0.2
<b>CV</b>	36	38	4	2	3.3
<b>Protocole 5 (viscosité élevée, débit faible, baisse de la température chaque 30 min)</b>					
	°B/h	[g] de glace/min	Rendement [%]	RI [%]	[g] de sucre perdu /100g de jus
<b>Moyenne</b>	0.3	2.4	91	67	6.2
<b>Ecart-type</b>	0.1	1.6	4	2	0.5
<b>CV</b>	35	68	5	3	8.0
<b>Protocole 6 (viscosité et débit élevés baisse de la température chaque 30 min)</b>					
	°B/h	[g] de glace/min	Rendement [%]	RI [%]	[g] de sucre perdu /100g de jus
<b>Moyenne</b>	0.4	2.7	86	62	5.2
<b>Ecart-type</b>	0.1	0.4	6	2	0.7
<b>CV</b>	26	16	1	4	14

Concernant la cryoconcentration par lyophilisation, aucun résultat n'est présenté puisque le but n'a pas été de caractériser cette méthode, mais uniquement de produire un certain volume à faire fermenter par la suite. Cependant, il est important de noter qu'à partir d'un degré Brix de  $10.0 \pm 1.7$ , un degré Brix de 17.5 a été obtenu à la fin du stage grâce à cette méthode. Celle-ci a donc fonctionné.

#### Traitement statistique

Les résultats bruts du traitement statistique se trouvent à l'Annexe IV. Ci-dessous dans le Tableau 12 sont recensés les points principaux.

Tableau 12 Comparaisons statistiques pertinentes des résultats de cryoconcentration par bloc partiel

Comparaison	°B/h	[g] de glace/min	Rendement [%]	RI [%]	[g] de sucre perdu /100g de jus
<b>Différence</b>	Pas significative	Pas significative*	Pas significative	Pas significative**	Pas significative
$\alpha$	5%	5%	5%	5%	5%

\* excepté pour la paire de protocoles 1-4 qui peut être comparée et les paires 1-5 et 1-6 qui ne peuvent pas être comparées.

\*\* excepté pour la paire de protocoles 1-6 qui ne peut cependant pas être comparée.

A l'exception de certaines paires qui étaient significativement différentes entre elles, aucun protocole n'est ressorti significativement différent de tous les protocoles. Une seule moyenne globale a alors été calculée à partir des moyennes de chaque protocole pour chaque caractéristique. Le Tableau 13 à la page suivante représente ces nouveaux résultats.

Tableau 13 Résumé des résultats de cryoconcentration par bloc partiel dynamique

	°B/h	[g] de glace/min	Rendement [%]	RI [%]	[g] de sucre perdu /100g de jus
<b>Moyenne</b>	0.4	3.4	84	70	5.9
<b>Ecart-type</b>	0.1	1.3	4	5	0.5
<b>CV</b>	24	37	5	6	8.9

De manière à vérifier la bonne régulation de la température des systèmes de refroidissement par rapport aux valeurs demandées, un suivi des températures a été effectué. A la page suivante, la Figure 11 illustre la rampe de température souhaitée lors du protocole 1 ainsi que l'évolution de la température qui a réellement eu lieu lors de l'un des essais. La température dans le jus de poires a également été mesurée durant une expérience et y est aussi représenté. Une différence entre les deux rampes peut être observée. La rampe effective tend à être de manière globale plus haute dans les températures que la rampe demandée. Quant au jus de poires, sa température reste entre -0.5 et -2.5°C.

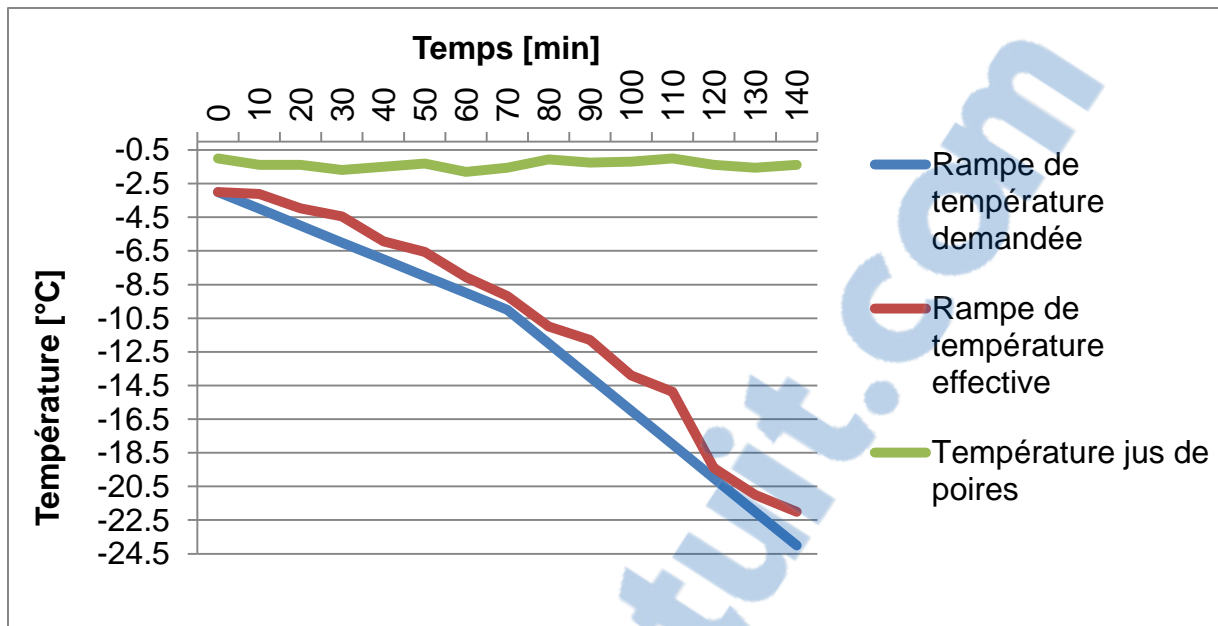


Figure 11 Représentation graphique d'une rampe de température effective comparé à celle demandée, et température du jus de poire durant une expérience de 150 minutes.

Bien que la cryoconcentration ait été traitée statistiquement afin d'en discuter les différentes variables, le but n'était pas de standardiser une méthode puisque ce n'est pas un système envisageable pour une utilisation à grande échelle (voir 4.2) pour un développement à ce sujet). En effet, le rendement moyen obtenu ( $84 \pm 4\%$ ) ainsi que le volume employé par unité (3 Litres) sont trop faibles pour exploiter cette technique. Ce rendement reste toutefois meilleur que celui obtenu par une étude menée sur ce sujet [13] qui est de  $64\%$ . De plus, le ratio d'impuretés ( $70 \pm 5\%$ ) retrouvées dans le cristal est bien trop important, ce qui a pour conséquence directe une grosse perte en sucre (près de 59 g par litre). Ici encore ce résultat est meilleur que celui de l'étude qui démontre une perte d'environ 92 g de sucre par litre. Cependant, leur degré Brix est augmenté de  $11.8^\circ\text{B}$  en 2 heures (ce qui correspond à  $5.9^\circ\text{B/h}$ ), et un volume initial de 12.2 litres est concentré alors que dans cette situation, une augmentation de seulement  $0.4 \pm 0.1^\circ\text{B/h}$  est observée. Par conséquent, le système employé lors de ce projet semble toutefois moins performant que celui utilisé dans cette étude. De plus, l'élévation du degré Brix n'est pas linéaire lors de chaque expérience. Ainsi, présenter la concentration effectuée en terme de  $^\circ\text{B/h}$  lisse les résultats. En effet, l'élévation peut être plus conséquente en début qu'en fin d'expérience et inversement mais en donnant un résultat sous cette forme, cet aspect n'est pas observable. Dans l'ensemble des expériences, à partir d'un degrés Brix de  $10.0 \pm 1.7^\circ\text{B}$ , il a été possible d'atteindre  $13.3^\circ\text{B}$  par ce système. C'est méthode permet donc de cryoconcentrer, ce qui était le but principal.

Au sujet des pertes en sucre, cette eau sucrée, une fois récoltée, pourrait néanmoins être exploitée et réutilisée dans la production d'un nectar par exemple, puisque finalement ce dernier n'est que de la purée diluée avec de l'eau à laquelle est ajouté du sucre. Ensuite, les écarts-types des moyennes et les CV calculés sont globalement très élevés, ce qui démontre des protocoles difficilement répétables. Il était effectivement parfois laborieux de procéder dans les mêmes conditions, notamment à cause du jus de poires qui se présentait rarement deux fois pareil, au niveau du degré Brix, de la viscosité et de la densité (voir discussion section 3.1.1). Il faudrait certainement travailler sur les matières premières, le protocole et l'équipement de manière à affiner les résultats et réduire les CV pour en tirer de meilleures

conclusions. La viscosité, en plus de la rampe de température et de la vitesse, a toutefois été prise en compte dans les protocoles, les résultats et calculs statistiques. Pour chaque caractéristique étudiée (élévation du °B/h, [g] de glace/min, rendement %, RI % et [g] de sucre perdu/100 g de jus), aucun protocole ne s'est distingué de tous les autres par une différence significative ( $\alpha=5\%$ ), ce qui laisse entendre qu'ils sont tous similaires. A une seule occasion, deux protocoles possédant une seule variable divergente ont démontré une différence significative. Il s'agissait des protocoles 1 et 4 dont la rampe de température était différente. Le résultat suggère que lorsque la température est abaissée de 1°C toutes les 10 minutes au lieu de 2°C toutes les 30 minutes, la production de glace est plus élevée (6.1±0.2 contre 2.4±0.9 g/min). Ceci peut s'expliquer par le fait, que la couche de glace devient trop épaisse et isolante avec le temps et empêche ainsi le transfert du froid. Ce dernier se fait donc mieux si la température est abaissée plus fréquemment. Cette observation confirme les premiers résultats obtenus lors des essais de cryoconcentration par bloc partiel statique qui avaient été menés avant de finalement s'être focalisé sur un système dynamique. En effet, lors des premiers essais qui n'apparaissent pas dans ce rapport faute de pertinence, il était clairement apparu qu'au bout d'un certain temps, la masse de glace ne se formait plus en raison du transfert thermique devenu insuffisant. Ces résultats prouvent donc l'importance essentielle de la rampe de température et de la circulation du jus.

La rampe de température effective reflète globalement bien la rampe de température demandée à l'appareil. De manière générale, la température se situe toujours 1°C au-dessus de la valeur requise. Ceci dépend principalement de la vitesse de régulation dont dispose l'équipement. Il semble aussi possible qu'il soit plus difficile d'atteindre la bonne valeur lorsque la commande réduit la température de 2°C par 10 minutes. En effet, passé les 80 minutes, une plus grande différence est observée entre la température demandée et la température effective.

La température du jus de poires reste, quant à elle, stable durant la cryoconcentration. Cela signifie que le transfert du froid est constant malgré la formation de la glace, et l'abaissement de la température est par conséquent adéquat et suffisant.

Un tel système artisanal n'est donc pas pertinent pour une utilisation à grande échelle. Toutefois s'il devait être réutilisé, afin d'exploiter au maximum les capacités de cet appareillage et en tirer une meilleure efficacité, les points clés résident dans l'abaissement de la température, dans la vitesse de la pompe qui permet de maintenir une certaine turbulence et dans la viscosité du jus. Ces éléments pourraient être à l'avenir d'avantage étudiés pour s'en assurer, mais une baisse de température toutes les 10 minutes semble apporter de meilleurs résultats. Enfin, une faible viscosité et une forte turbulence amélioreraient certainement l'efficacité.

### 3.4 Fermentation du jus

Dans cette section, d'un côté, les fermentations sont représentées par des graphiques illustrant l'évolution de la densité pour les 3 poirés et l'évolution du %alcool vol. pour le deuxième et troisième poiré. D'un autre côté, le Tableau 14 récence les caractéristiques importantes.



### 3.4.1 Poiré à base de jus non cryoconcentré

Un jus de poires non-cryoconcentré a été utilisé lors de l'élaboration de ce poiré. L'évolution de sa densité durant la fermentation est illustré par la Figure 12.

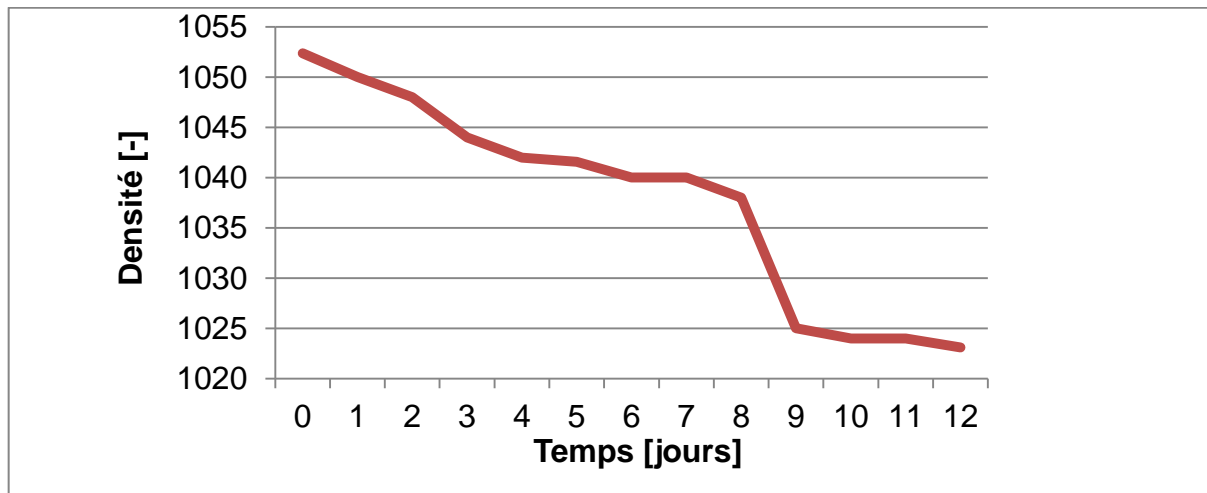


Figure 12 Représentation graphique de l'évolution de la densité et du %alcool vol. en fonction du temps de fermentation d'un jus non cryoconcentré après ensemencement avec *S. cerevisiae bayanus* à T=0 minute.

La densité baisse de manière inégale durant ces 12 jours. Deux plateaux sont observés : le premier entre le 4<sup>ème</sup> le 7<sup>ème</sup> jour et le dernier à la fin de la fermentation. Une chute abrupte peut être aussi remarquée entre le 9<sup>ème</sup> et 10<sup>ème</sup> jour. L'évolution du %alcool vol. n'apparaît pas car il n'a pas été suivi tout le long de la fermentation. Uniquement sa valeur finale a été mesurée, celle-ci est de 1.0% (Tableau 14).

### 3.4.2 Poiré à base de jus cryoconcentré par bloc partiel dynamique

L'évolution de la densité et celle du %alcool vol. durant la fermentation du poiré à base de jus cryoconcentré par bloc partiel dynamique sont représentés dans la Figure 13 ci-dessous.

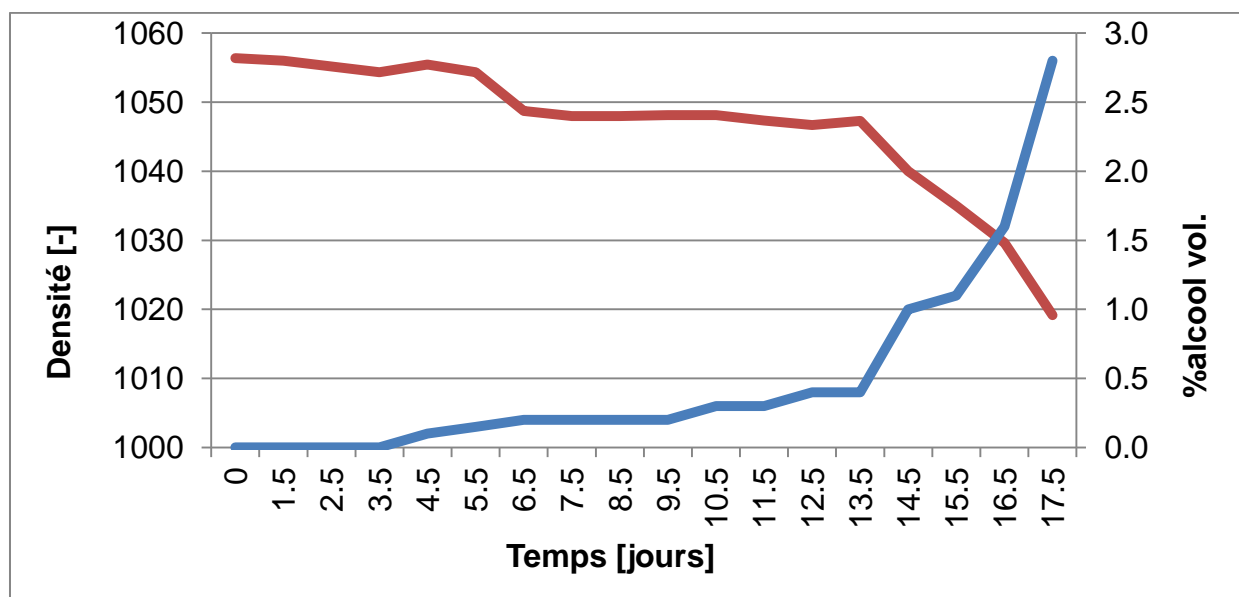


Figure 13 Représentation graphique de l'évolution de la densité et du %alcool vol. en fonction du temps de fermentation d'un jus cryoconcentré par bloc partiel dynamique après ensemencement avec *S. cerevisiae bayanus* à T=0 minute.

Au sujet de la densité, un plateau est observé entre le 6<sup>ème</sup> jour et le 14<sup>ème</sup> jour, puis une chute se remarque à partir de ce jour-là jusqu'à la fin de la fermentation. Il n'y pas d'alcool détecté par analyse avant le 4<sup>ème</sup> jour, ensuite sa concentration augmente légèrement jusqu'au 14<sup>ème</sup> jour. Dès ce jour-là, le %alcool vol. augmente rapidement jusqu'à l'arrêt de la fermentation.

### 3.4.3 Poiré à base de jus lyophilisé

Sur la Figure 14, sont représentées l'évolution de la densité et celle du %alcool vol. du poiré élaboré à partir de jus partiellement lyophilisé au long de sa fermentation.

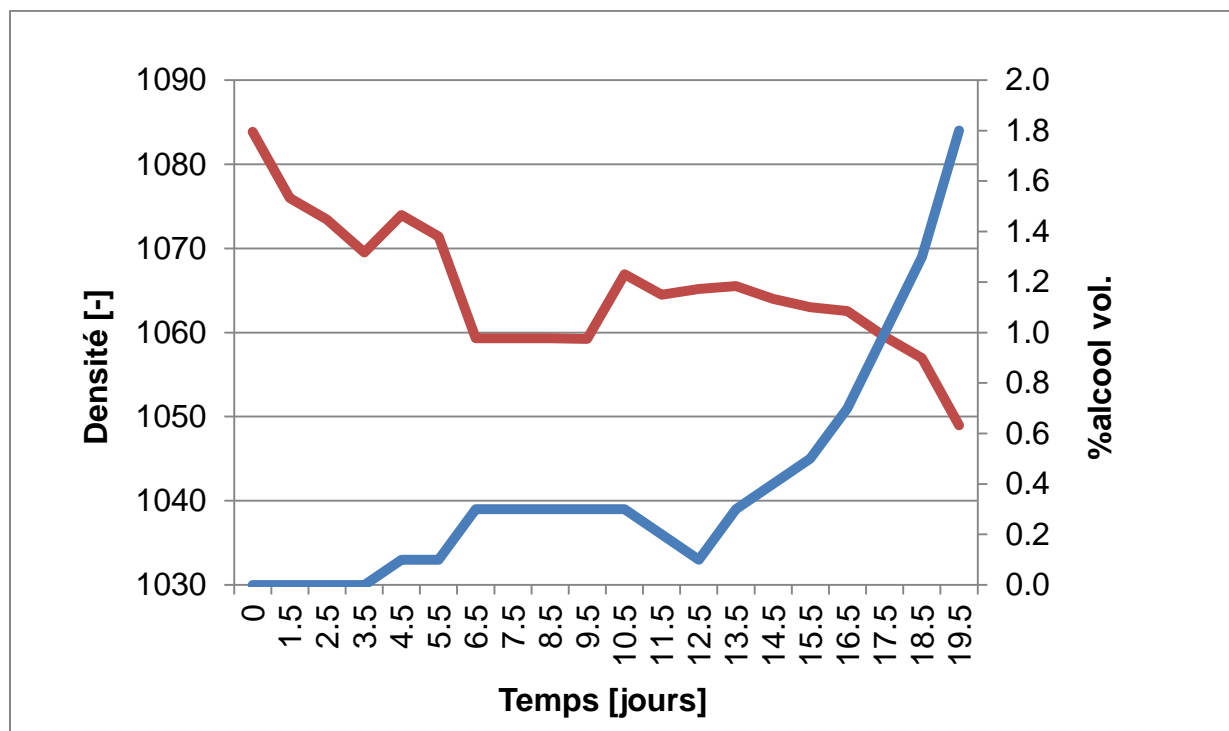


Figure 14 Représentation graphique de l'évolution de la densité et du %alcool vol. en fonction du temps de fermentation d'un jus partiellement lyophilisé après ensemencement avec *S. cerevisiae bayanus* à T=0 minute.

D'un côté, la densité ne présente pas une tendance nette à diminuer comme il serait attendu. D'un autre côté, le %alcool vol. commence à augmenter entre le 3<sup>ème</sup> et le 4<sup>ème</sup> jour, se stabilise vers le 6<sup>ème</sup> jour, présente une chute vers le 12<sup>ème</sup> jour et finalement croît jusqu'à l'arrêt de la fermentation.

### 3.4.4 Récapitulatif

Dans le Tableau 14 à la page suivante, sont d'abord inscrites les valeurs de début et de fin de fermentation des 3 poirés en terme de degrés Brix, densité, pH. Ensuite, à partir du degré Brix initial, la concentration en sucre en g/L a été calculée, puis adaptée selon le pourcentage moyen obtenu sous 3.1.2. Le %alcool vol. maximum que pouvait atteindre le poiré a ensuite été estimé en divisant cette quantité de sucre par 17 puisqu'il faut environ 17 g de sucre fermentescible pour obtenir 1% d'alcool vol. [20, 21]. Ce pourcentage maximum représente le pourcentage d'alcool que pouvait atteindre le poiré si la fermentation était menée jusqu'à l'élimination complète des sucres. Puis, dans la dernière colonne se trouvent les %alcool vol. obtenus pour chaque poiré selon la durée de leur fermentation. Enfin, les concentrations sucre



résiduel en g/L ont été calculées en soustrayant au %alcool vol. maximum possible le %alcool vol. obtenu et en multipliant ce résultat par 17. Pour permettre une comparaison, un poiré commercial a été analysé. Ses valeurs sont aussi inscrites dans le Tableau 14.

**Tableau 14 Résumé des valeurs pertinentes des poirés obtenus par fermentation**

	°B initial	Densité [-]		pH [-]		%alcool vol. obtenu	Sucre résiduel [g/L]	%alcool vol. max possible
		Début	Fin	Début	Fin			
<b>Poiré 1 standard (jus non cryoconcentré)</b>	10.8	1055	1023	4.15	4.15	1.0	64	4.5
<b>Poiré 2 (à base de jus cryoconcentré par bloc partiel dynamique)</b>	13.3	1056	1019	4.20	3.80	3.0	49	5.5
<b>Poiré 3 (à base de jus lyophilisé)</b>	17.5	1084	1049	4.15	4.00	2.0	96	8.0
<b>Poiré du commerce</b>	-	-	1028	-	3.80	4.0	35	-

En amont des trois essais présentés, un premier essai a été réalisé dans le but de mieux gérer les fermentations suivantes. Il a été conduit pendant 22 jours jusqu'à une densité ayant diminuée en dessous des 1000. Des sels nutritifs avaient été ajoutés au lancement de la fermentation. A la fin des 22 jours, une odeur de soufre se faisait sentir. Cela est certainement dû à la lyse des composés organiques soufrés, au métabolisme azoté des levures, ainsi qu'à leur autolyse [45]. Les sels nutritifs ajoutés ont aussi joué un rôle à ce sujet. C'est pourquoi, il a été décidé de ne pas en mettre de telle sorte à retarder la fermentation. Dans le même but, un soutirage a été ajouté à la méthode pour les poirés qui ont suivi. Comme les jus possédaient une certaine matière sèche non soluble, ils n'étaient donc pas suffisamment clairs pour permettre un soutirage par le robinet installé à la cuve à cet effet. Pour y palier, une centrifugeuse a été employée.

Le poiré 1 obtenu par la suite, en utilisant ces recommandations, est ainsi considéré comme le standard puisque le jus à partir duquel il a été élaboré n'a pas été cryoconcentré. Il servait, par conséquent, de point de comparaison. De peur que la fermentation ne soit trop rapide cette fois-ci encore, le soutirage a eu lieu après 5 jours, à une densité de 1041, ce qui représente déjà une différence de 10 avec celle de départ. Comme il est observable sur la Figure 12, la fermentation s'est ensuite stabilisée sur environ 4 jours avant de redémarrer rapidement et d'être arrêtée au bout

de 12 jours à une densité de 1023 par centrifugation suivie de la filtration et du stockage à 2°C.

Concernant les poirés 2 (à base de jus lyophilisé) et 3 (à base de jus cryoconcentré par bloc pratieel dynamique), leur densité de départ étaient plus hautes (1056 et 1083) grâce au procédé de cryoconcentration effectué précédemment. Le soutirage a été effectué après 6 jours et demi, lorsque la densité affichait 1049 et 1059, c'est-à-dire une différence de 8 et 24. Il a eu lieu éventuellement un peu tôt pour le poiré 2 mais, puisque le week-end suivait cette mesure, le risque était présent que la densité chute brusquement pendant 2 jours et que la fermentation se poursuive trop rapidement. Une fois le soutirage effectué, comme l'indiquent les Figures 13 et 14, la densité ne semblait plus diminuer pour aucun des deux poirés. Zout cela paraissait normal les premiers jours après la centrifugation, puisque lors de la fermentation du poiré 1, il y a aussi eu un moment de latence. Cependant, au bout d'une semaine, la densité ne diminuant toujours pas, la décision a été prise de réensemencer de façon à s'assurer que la fermentation soit terminée avant la fin de l'étude. Le même protocole que lors du premier ensemencement a été suivi. 4 jours après cela, et donc 17 jours et demi au total, le poiré 2 montrait des arômes et saveurs intéressants et sa fermentation a donc été arrêtée de la même manière que le poiré 1. Le poiré 3 ayant débuté à une densité plus élevée allait en toute logique mettre plus de temps. Malheureusement au bout de 19 jours et demi, le stage touchait à sa fin et de ce fait la fermentation devait être arrêtée avec une densité encore relativement haute : 1049. Si le temps n'avait pas manqué, ou si la fermentation ne s'était pas arrêtée, ce poiré aurait pu atteindre la densité et balance arôme-saveurs escomptées. Selon une étude menée au Canada sur des cidres de pommes [29], avec deux soutirages, les temps de fermentations varient entre 21 et 43 jours pour des densités initiales de minimum 1042 et maximum 1086. Bien que ce ne soit pas le même fruit, cela donne un ordre d'idée du temps de fermentation recommandé.

Les arrêts de fermentations notamment en œnologie peuvent être multiples : une trop forte teneur en sucre qui peut inhiber la croissance des levures, une concentration en éthanol trop élevée qui tue les levures, une température trop basse, une carence en azote, du SO<sub>2</sub> en trop grande quantité, des microorganismes indésirables ou encore des résidus pesticides [37,46].

Dans notre cas, la centrifugation a été certainement trop efficace d'un côté, provoquant une élimination des levures et des substrats trop importante. Un ajout de 10% de poiré non traité (donc du jus) au poiré traité après la centrifugation aurait permis à ce que la fermentation ne soit pas trop retardée [21]. Toutefois, ceci aurait redilué le jus concentré. D'un autre côté, elle a été effectuée trop tôt ; elle aurait vraisemblablement eu moins d'impact sur la fermentation si une consommation de sucre entre 10 et 20 g/L avait été observée avant le soutirage [21]. Ceci n'a pas été le cas puisque la centrifugation a eu lieu alors que la concentration en sucre n'affichait qu'une baisse de 6 g/L (poiré 2) et 8 g/L (poiré 3). Cependant, lors de l'élaboration du poiré 1 (standard), une baisse de seulement 4 g/L a été observée avant le soutirage, et cette fermentation s'est néanmoins poursuivie. La quantité de sucre plus élevée peut donc aussi jouer un rôle puisque c'est la plus grande différence entre le poiré 1, dont la fermentation ne s'est pas arrêtée malgré la centrifugation, et les deux autres. Avec plus de temps, il aurait été intéressant de ne pas faire ces soutirages pour vraiment en voir l'impact.

Les trois poirés présentent des pH qui leur apporte une certaine stabilité microbiologique [37], puisque le plus haut (poiré 1) est à pH 4.15. Alors que les poirés 1 et 3 sont restés stables, le poiré 2 s'est légèrement acidifié.

Les sucres résiduels confirment d'une part, qu'il en reste pour adoucir le cidre, et d'autre part, que les fermentations pouvaient encore continuer pour pouvoir ainsi atteindre un taux d'alcool plus élevé.

Il faut noter également que les analyses de la concentration en alcool n'ont été faites qu'une fois toutes les fermentations arrêtées, car la CPG n'était pas une méthode qui permettait de faire un échantillon à la fois. Les %alcool vol. n'étaient donc pas encore connus lorsque les fermentations étaient stoppées. Ainsi, d'un point de vue législatif, seul le poiré 2 peut être dénommé « poiré ». Quant à la dénomination de « cidre mousseux », aucun test concernant la concentration en gaz carbonique n'a été mené, il est donc impossible de le définir. Cependant, le cas échéant, sa concentration en sucre résiduel étant de 64 g/L, il peut obtenir la dénomination de « demi-sec » à la place de « partiellement fermenté » [4]. De plus, les sulfites sont considérés comme des additifs et doivent donc être inscrits sur l'emballage. Ils ont le droit d'être présents à 100 mg/kg dans la préparation et à 2 mg/kg, exprimés en SO<sub>2</sub>, dans le produit final [47]. Il est difficile d'estimer la teneur restante en SO<sub>2</sub> dans ces poirés à cause des pertes occasionnées par les soutirages. Des analyses devraient être menées pour s'en assurer.

Enfin, ces expériences n'ayant été menées qu'une fois par poiré, il n'est pas envisageable de prendre ces données comme valeurs de référence. En effet, il aurait fallu mener au minimum trois fois chaque fermentation pour pouvoir standardiser une méthode. Des critères comme la composition des fruits (qui change inévitablement d'une saison à l'autre) ou comme le degrés Brix initial (qui sera certainement différent) influencent aussi le déroulement des fermentations et les résultats.

La filtration sous pression qui a suivi, a entraîné un dégazage du produit. En effet, après filtration, le gaz ne se ressentait plus. A grande échelle, ce sont plutôt les filtrations à plaque (à 0.8 et à 0.45 µm) suivies d'une ultra-filtration stérilisante à maximum 0.2 µm qui sont utilisées [29, 35]. Aucune indication de dégazage n'a été identifiée. Cependant, si cette situation se présente, une carbonation devrait suivre. Durant ce stage, ces techniques de filtration n'ont pas été appliquées en raison des trop petits volumes travaillés. La filtration stérile a été employée dans le but d'éviter tout traitement thermique. Une réduction d'au minimum 98% de la flore bactérienne végétale et sporulée peut être atteinte par centrifugation à condition que l'appareil présente une force centrifuge entre 9000 et 10'000 g. Dans le cas d'une centrifugation en série, la réduction pourrait atteindre les 99.5% [34]. Cette méthode n'a pas pu être employée, ni vérifiée, puisque la centrifugeuse à disposition ne possédait pas une telle force centrifuge.

En plus du pH et des BPF, ces techniques permettent de stabiliser le produit en fin de procédé et le rendre inoffensif. Pourtant, une contamination lors de son élaboration reste un problème, d'un point de vue qualitatif avant tout, puisqu'elle peut modifier les qualités organoleptiques du produit, notamment lors de la fermentation.

## 4. Discussion

Dans cette section, certains sujets concernant notamment la dégustation des prototypes la production à grande échelle, la sécurité alimentaire à observer ainsi que les alternatives restantes sont développés.

### 4.1 Dégustation et observations sensorielles des poirés

En plus des trois poirés développés durant ce stage, un poiré commercial à 4%alcool vol. a été dégusté à la fin du stage dans le but de les comparer. Les poirés qui ont été dégustés sont ceux n'ayant pas subi de filtration.

Cette dégustation a uniquement servi à présenter les produits développés, à partager des opinions sous forme de discussion ouverte entre le mandant, le professeur et l'étudiante, et à éventuellement observer un procédé de fabrication plus favorable pouvant être développé à l'avenir. Aucune analyse ni traitement sensoriel n'a donc été appliqué puisque ce n'était pas le but recherché. Le poiré commercial n'a conquis personne : bien que très gazeux, la poire ne se retrouvait que très peu dans les arômes et les odeurs, et le sucre ne se ressentait pas.

Au sujet du poiré 1 (standard non cryoconcentré), le gaz carbonique se retrouvait gustativement comme olfactivement ; l'odeur du gaz carbonique n'était pas forcément des plus agréables. Du côté des saveurs, ce sont l'acide et l'amer qui se faisaient surtout sentir, la sucrosité était quant à elle absente. Pour le poiré 2 (jus cryoconcentré par bloc), la teneur en gaz carbonique était satisfaisante et la saveur sucrée se sentait davantage ; ce qui est un avantage. L'amertume et l'acidité étaient également présentes sans pour autant être dérangeantes. Le poiré 3 (jus lyophilisé) s'est révélé le plus aromatique et sucré, ce qui le rendait agréable à déguster. Ces caractères viennent certainement de la cryoconcentration par lyophilisation et du degré Brix atteint avant fermentation qui a eu comme effet de, non seulement le concentrer en sucre comme souhaité, mais également en tous les arômes déjà présents. C'est aussi ce poiré qui contient le plus de sucre résiduel (94 g/L), Il semblait gazeux de la même manière que le poiré 3.

Concernant l'alcool ressenti de ces différents poirés, il était faible, ce qui représente un bémol pour ces développements.

Le poiré commercial présentait une couleur claire et était transparent. Ces critères de transparence et de couleur n'ont été énoncés dans le cahier des charges, ils n'ont donc pas été jugés sur les poirés développés.

Comme le poiré 3 présente sensoriellement le plus d'intérêts, il est imaginable qu'en ayant pu le faire fermenter plus longtemps, une meilleure balance aurait pu être atteinte entre l'alcool, les sucres résiduels et les autres saveurs et arômes. Ce poiré aurait de ce fait répondu aux attentes encore plus clairement.

### 4.2 Cryoconcentration à grande échelle

L'entreprise GEA, basée aux Pays-Bas mais interagissant avec de nombreux pays dans le monde entier, travaille depuis plus de 45 ans dans le domaine de la cristallisation et des technologies de séparation à échelle industrielle. Cela fait d'elle une industrie leader dans ce secteur. Cette entreprise propose uniquement des installations de cryoconcentration par suspension et non pas des systèmes par film. L'installation se présente donc en deux parties avec d'une part, le cristalliseur dont la température est gérée par un système de refroidissement, et d'autre part, une colonne « wash » qui sert à la séparation de l'eau sous forme de cristaux et du jus concentré. GEA propose plusieurs installations où la colonne « wash » varie notamment selon le

débit initial du produit à concentrer et donc aussi selon le volume total. Un premier modèle est le « piston type W-90 » : il opère en cycles continus dont la durée peut être choisie entre 1 à 5 minutes. Le volume par cycle est aussi à choix et la quantité d'eau éliminée varie entre 1.5 à 2.0 m<sup>3</sup>/h. Un deuxième modèle est le « hydraulique type HWC90 » : il procède de manière continue et la quantité d'eau éliminée varie entre 3 à 5 m<sup>3</sup>/h. Il va de soi que la taille de l'appareil dépendra du volume à concentrer ; il existe plusieurs tailles des deux modèles. Pour de plus grandes productions allant jusqu'à 30'000 kg/h de produit à concentrer, il existe des systèmes à plusieurs niveaux : la concentration se fait donc en plusieurs étapes (entre 2 et 3). La Figure 13 ci-dessous présente une illustration d'une installation comprenant le cristalliseur à gauche et la colonne « wash » à droite.



Figure 15 Installation à grande échelle d'un système de cryoconcentration par suspension

Source : Présentation GEA©

Pour donner une idée de prix, une installation avec tous les composants et pour une élimination d'eau de 400 kg/h coûte 850'000 euros. Lorsque la capacité d'élimination de l'eau s'élève à 4 t/h, les coûts s'élèvent à 5 millions d'euros.

Grâce à leur système, un jus de fruit peut atteindre une concentration maximale allant de 35°B à 50°B et une boisson alcoolisée, un poiré comme dans ce cas, peut atteindre jusqu'à 28% alcool vol. Comme de nombreux autres [12, 13, 14, 15, 17, 48], ils avancent comme avantages qu'une concentration par le froid permet d'éviter les dégradations dus aux traitements thermiques chauds, aux activités biologiques (qui sont alors généralement inactivées). Puisqu'il n'y pas d'étapes de vapeur (au contraire des traitements par évaporation), il n'y également pas de pertes d'arômes. Enfin, comme l'eau éliminée est pratiquement pure : <100 ppm, sans inclusion, il n'y a que très peu de pertes. Ces systèmes permettent de traiter des produits dont la viscosité atteint au maximum les 150 Pa\*s, et qui contiennent une grande quantité d'eau ainsi qu'une concentration en pulpe limitée. Ils conviennent également aux produits sensibles à la chaleur, contenant des arômes et à valeur ajoutée. Le jus de poires utilisé et les poirés obtenus dans cette étude semblent donc correspondre au profil.

En terme de maintenance, d'autres avantages sont observés. En effet, puisque l'installation peut tourner 24h/24, il n'y a pas besoin de nettoyage intermédiaire : cela permet un gain au niveau du temps de production et au niveau de l'argent lié au coût

de nettoyage. Les nettoyages en place prévus pour ces machines ont lieu ainsi également à faible fréquence. Enfin, au sujet des coûts énergétiques, une partie est aussi économisée puisque le jus concentré est utilisé par la suite, l'eau séparée est suffisamment pure pour être réemployée et le gaz chaud qui sort du système de refroidissement peut être utile à un autre usage en aval.

Finalement, dans le cas où la cryoconcentration par suspension voudrait être testée, l'entreprise GEA offre la possibilité de louer des installations mobiles à échelle laboratoire sur le site des tests ou sur leurs sites aux Pays-Bas ou au Danemark. L'appareil en question demande un débit de produit à concentrer de 500 à 600 kg, présente une capacité d'élimination de l'eau de 10 à 12 kg/h et le test dure 2 à 3 jours. Les coûts dépendront de nombreux facteurs comme la concentration requise, les propriétés des échantillons, le nombre de produits, les opérateurs, le lieu des tests,...

Concernant la lyophilisation à grande échelle, peu après ce stage, la HES a acquis un appareil permettant de congeler et lyophiliser de plus grands volumes que les équipements de laboratoire, tout en restant à échelle pilote. De l'entreprise allemande ZiRBUS technology, ce dispositif sur roulette de 15x9x18.5 cm<sup>3</sup> et 900 kg est composé d'une chambre de séchage avec des plateaux manuellement amovibles en acier inoxydable à système de refroidissement et chauffage, un condenseur de glace permettant de geler le produit à moins de -82°C, un système de refroidissement de la machine, un système permettant de faire le vide et un système de contrôle des opérations. Les opérations de stérilisation en place et nettoyage en place sont déjà installées. Ce sont donc sur les plateaux qu'est posé le produit à lyophiliser. La surface à disposition est de 0.75 m<sup>2</sup>. Les plateaux à disposition sont, soit de 9.5 cm de haut, auquel cas il y en a 4, soit de 6 cm de haut, et dans ce cas il y en a 6. Enfin, le condenseur possède une capacité de 10kg/24h. Grâce à ces caractéristiques, un volume relativement important de jus peut être cryoconcentré rapidement sans grand besoin de main-d'œuvre ni manutention. Les coûts énergétiques se partagent entre la congélation (4%), le système permettant le vide (26%), le condenseur (25%) et la sublimation (45%) [49]. Si des essais complémentaires sont nécessaires pour l'entreprise Morand pour ce développement de produit, une collaboration entre les deux entreprises pourrait certainement être envisageable.

### 4.3 Sécurité alimentaire

Lors de toute production à échelle industrielle, notamment lors de nouveaux lancements, il est primordial d'identifier les dangers significatifs qui peuvent survenir depuis la réception de la matière première au conditionnement pouvant impacter la sécurité alimentaire du consommateur. Ces dangers peuvent être d'ordre biologique, chimique ou physique. La méthode HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) permet de déterminer ces dangers et les points critiques pour leur maîtrise. Elle doit être présente et appliquée conformément à la loi suisse [50]. Sa réussite dépend de son suivi et aussi de sa mise-à-jour, pour autant qu'en amont, les pré-requis comme les BPH (bonnes pratiques d'hygiène) soient mis en place, et surtout, respectés. Dans le cas de ce poiré, les étapes de son élaboration sont les suivantes :

1. Réception de la purée de poires pasteurisée
2. Centrifugation
3. Cryoconcentration par suspension ou lyophilisation
4. Fermentation
5. Clarification par centrifugation



6. Filtration stérilisante
7. Embouteillage avec éventuellement une carbonation en amont
8. Stockage et transport

#### 4.3.1 Dangers biologiques

Les dangers biologiques sont de manière générale les moisissures, les bactéries, les virus, les parasites et protozoaire, les prions [37].

Bien que le poiré ne subisse pas de traitement thermique, une filtration stérilisante a lieu en fin de production. Dans le cas où une contamination aurait eu lieu plus tôt, celle-là permet de supprimer et d'assurer l'absence de danger biologique pour autant qu'elle soit effectuée de manière aseptique tout en respectant les BPH et les prérequis. De plus, le pH du cidre permet également une certaine stabilité microbienne car en dessous de 4.5, les agents pathogènes qui pourraient se développer, seraient présent sous une forme qui peut être éliminée par la pasteurisation [37]. Dans le cas du poiré, une contamination de *Salmonella sp.* reste possible, due à une mauvaise hygiène [51], ce pH ne suffit cependant pas, bien qu'avec l'alcool le risque soit extrêmement faible.

Puisque la purée est pasteurisée, Pour s'en assurer et aussi dans le cas d'une purée non pasteurisée, il faut demander au fournisseur les données spécifiques ainsi que le plan HACCP appliqué et éventuellement les auditer. Les étapes dont le niveau d'hygiène doit être maximal est l'étape d'embouteillage suivant la filtration stérilisante, puisqu'aucun traitement permettant la suppression d'une éventuelle contamination ne survient après. Pour réduire un maximum cette probabilité, L'embouteillage doit être effectué en ligne directement après la filtration. Si un stockage est nécessaire, celui-ci doit se faire dans des cuves en acier inoxydables dans une chambre réfrigérée à maximum 7°C [22]. Les bouteilles, les bouchons, les ustensils et l'environnement lors de l'embouteillage doivent être aussi aseptiques. A ces étapes, si les BPH sont appliquées, cela suffit généralement. La qualité de l'embouteillage a également une importance primordiale. Il faut en effet éviter toute fuite vers le bouchon, par exemple, qui pourrait permettre l'infiltration de microrganismes. En ce qui concerne le transport et le stockage, étant filtré, la réfrigération du cidre n'est pas obligatoire mais conseillée, autant pour la qualité que pour la sécurité [52].

#### 4.3.2 Dangers chimiques

Les dangers chimiques peuvent être des éléments présents naturellement dans l'aliment, allergène, ou ajoutés volontairement ou non durant le procédé de fabrication. Les sources sont nombreuses : mycotoxines, métaux lourds, produits d'agriculture comme les insecticides, produits de nettoyage, produits de migration depuis l'emballage, des toxines, des additifs,...[37]

Le plus gros risque des éléments chimiques ajoutés intentionnellement ou non se trouve à l'étape 1. Il faut s'informer, d'une part, auprès du fournisseur pour obtenir les spécifications des matières premières ainsi qu'une garantie que leur produit ne présente aucun danger. D'autre part, il est nécessaire d'auditer les fournisseurs et de contrôler leur plan HACCP et leur application des BPA [52]. Quant au reste du procédé, les risques devraient être minimisés grâce aux BPH et aux prérequis.

Au sujet des éléments chimiques naturellement présents, la patuline est une mycotoxine pouvant être présente chez les pommes et les poires. Comme elle est dégradée durant la fermentation [53], il n'y a donc ici aucun risque.



Les sulfites ajoutés lors de la fermentation pour leur effet antioxydant et pour permettre uniquement aux levures désirées de croître tout en inhibant le reste des microorganismes représentent un allergène [53]. Il doit être signalé sur l'emballage sous le terme « contient des sulfites ». Sur le lieu de travail, il devient par la suite nécessaire d'informer qu'il y a un nouvel allergène dû à cette production afin de mettre en place des moyens de nettoyage adaptés pour prévenir la contamination croisée avec d'autres produits, exempts de cet allergène, mais fabriqués ultérieurement dans ce même environnement. Dans le cas où une absence totale de cet allergène n'est pas assurée, le consommateur doit être informé du risque de traces potentielles d'allergènes par le biais de l'étiquette du produit concerné à condition que les traces représentent plus de 10 mg de sulfites par kilogramme ou par litre [54].

### 4.3.3 Dangers physiques

Appelés couramment corps étrangers, les dangers physiques représentent, par exemple, des éléments provenant de l'environnement de la matière première ou d'elle-même, comme des bouts de bois, des pierres, noyaux ; des éléments provenant du processus comme des morceaux de métal d'une machine ; des éléments appartenant au personnel comme les bijoux, ou encore des éléments ajoutés intentionnellement provenant de sabotages.

Ces corps étrangers ne devraient pas apparaître dans la matière première dont la production est censée être suivie par un plan HACCP. C'est pourquoi pour s'en assurer, il faut contrôler la méthode chez le fournisseur en plus des spécifications et garanties qu'il faut demander. Concernant les corps étrangers pouvant venir des appareillages, un contrôle régulier du bon état et du bon fonctionnement des appareils est nécessaire et suffit à en écarter les risques. La centrifugation en fin de production élimine les corps étrangers par la différence de densité [34]. La filtration qui suit permet également leur suppression. Cependant, ces corps étrangers peuvent également abîmer les machines, c'est pourquoi par le biais des BPH et des prérequis, de tels corps étrangers ne devraient pas se retrouver. Une attention particulière doit toutefois être apportée au bris de verre qui peuvent survenir puisque le conditionnement s'effectue dans des bouteilles en verre.

## 4.4 Diagramme de production et ses alternatives

La Figure 16 ci-dessous présente un diagramme des opérations de la production du poiré de glace résumant les étapes discutées durant ce rapport. Un bref récapitulatif des alternatives de celles-ci suit.

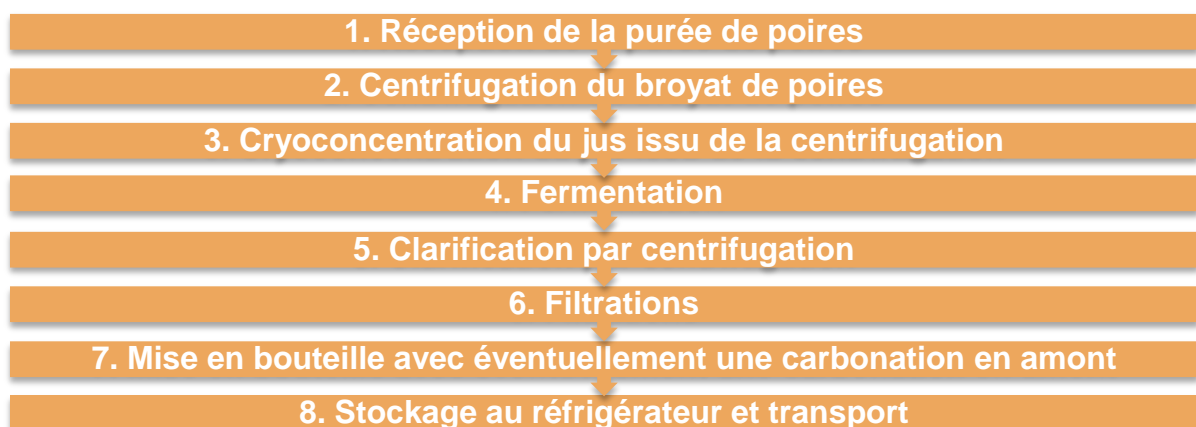


Figure 16 Diagramme des opérations de la production d'un poiré de glace

#### 4.4.1 Etape 1

A cette étape-ci, l'alternative réside dans le choix d'une purée de poires pasteurisée ou non. Ceci influence la décision de traiter la purée par des enzymes ainsi que le moment auquel aurait lieu ce traitement.

#### 4.4.2 Etape 2

Plusieurs options se présentent concernant le traitement de liquéfaction de la purée. Le choix d'opérer sans traitement enzymatique dépend de la force de centrifuge dont dispose la centrifugeuse à disposition.

#### 4.4.3 Etape 3

Le choix de la méthode de cryoconcentration, soit par lyophilisation soit par suspension, dépend certainement avant tout de l'investissement économique, de la praticité et du résultat organoleptique.

#### 4.4.4 Etape 4

Prendre le risque de provoquer un arrêt de la fermentation parce qu'un soutirage par centrifugation est effectué, est à méditer. Peut être que les paramètres temps/force de la centrifugation sont à revoir à la baisse. Si lors de la fermentation avec le jus issu de la centrifugation, le déphasage entre le fond de cuve et le jus est assez net (ce qui n'était pas le cas lors de l'utilisation du jus de poires), un simple soutirage par décantation est alors possible. Le choix de la fin de la fermentation dépend des qualités organoleptiques que présente le poiré.

#### 4.4.5 Etape 5

La clarification ne propose pas particulièrement d'alternative. Une centrifugation suffisamment forte pourrait éventuellement remplacer une filtration stérilisante.

#### 4.4.6 Etape 6

Le choix réside dans la méthode de filtration à employer dépendante du matériel déjà existant, et sinon, de l'investissement nécessaire ainsi que de la perte de gaz qu'elle pourrait occasionner. La pasteurisation peut être une étape additionnelle à discuter selon les attentes concernant le produit.

#### 4.4.7 Etape 7

L'ajout de carbone dépend du dégazage provoqué par la filtration. Une analyse de la quantité de CO<sub>2</sub> présent devrait aussi s'effectuer.

#### 4.4.8 Etape 8

Si le produit est suffisamment bien stabilisé un stockage au réfrigérateur n'est pas indispensable.

## 5. Conclusion et perspectives

Dans le but de développer un cidre de glace à partir d'un broyat de poires, un diagramme de production a été mis en place. Bien que les étapes aient été menées séparément et en parallèle de façon à gagner du temps, celui-ci comprend la liquéfaction de la purée de poires, la cryoconcentration et la fermentation qui ont été détaillés. Suivent en fin de production, la centrifugation, la filtration et l'embouteillage qui n'ont pas fait l'objet d'une étude particulière lors de ce travail de bachelor.

Durant la première étape concernant l'extraction du jus de poire à partir de la purée, les traitements enzymatiques se sont montrés relativement décevants au contraire de la centrifugation qui a apporté des résultats encourageants.

En ce qui concerne la cryoconcentration, malgré le fait que le montage artisanal pour la cryoconcentration par bloc partiel ne convienne pas à la production à grande échelle de par ses résultats peu rentables, il s'est avéré qu'il fonctionnait et démontre qu'il peut être intéressant d'investir dans un appareil industriel de cryoconcentration par suspension. D'autre part, la lyophilisation a fait ses preuves, et devient donc une méthode envisageable pour la production de plus gros volumes, à condition d'acquérir le matériel nécessaire. Cependant, lors de la lyophilisation, bien qu'il y ait une étape de congélation de l'eau, celle-ci n'est pas éliminée sous forme de glace à ce moment-là, mais sous forme de vapeur (sublimation). C'est pourquoi la dénomination « de glace » devrait être méditée et éventuellement modifiée en un autre terme tout aussi plaisant et ainsi moins équivoque.

Au sujet de la fermentation, une attention particulière devra être apportée au soutirage qui doit être ni trop efficace et ni avoir lieu trop tôt. Le suivi de la densité reste ainsi le point clé de la réussite d'une fermentation.

Bien qu'une filtration stérilisante ait lieu en fin de procédé, les risques de contamination et développement microbien doivent être minimisés par le biais des BPH et de la mise en place d'un plan HACCP, de manière à éviter les défauts organoleptiques et à assurer la sécurité alimentaire du consommateur.

Les développements et résultats obtenus lors de cette étude ont ainsi pu répondre aux attentes et les objectifs imposés dans le cahier des charges.

Dans le cas où le but principal du projet est de faire un poiré plus alcoolisé sans pour autant avoir la dénomination « de glace », certaines alternatives à la cryoconcentration se présentent, comme par exemple, l'évaporation et les techniques membranaires qui restent des méthodes plus communes et plus développées. Les avantages et inconvénients de ces différentes méthodes mériteraient donc d'être réfléchis, non seulement concernant les côtés économique et pratique, mais également concernant la préservation des qualités organoleptiques qui reste un intérêt principal de la cryoconcentration.

## 6. Bibliographie

- [1] Souci S.W., et al., *La composition des aliments, Tableau des valeurs nutritives*, 6<sup>ème</sup> édition, CRC Press (2000)
- [2] Hirtzman L., *Comprendre le Québec*, Ulysse (2012) 80
- [3] Auzias D., et al., *Guide de l'amateur de Cidre*, Petit Futé (2015) 120 p.
- [4] Ordonnance du DFI du 16 décembre 2016 sur les boissons (état le 1<sup>er</sup> mai 2017), 817.022.12, Berne
- [5] Loi fédérale sur les denrées alimentaires et objets usuels du 20 juin 2014 (Loi sur les denrées alimentaires, LDAI) (Etat le 1<sup>er</sup> mai 2017), 814.0, Berne
- [6] NCBE, The National Centre for Biotechnology Education, University of Reading, *Enzymes in fruit juice production, In a jamand out of juice*, Version 1.0, December 2000
- [7] Sueli R., *Enzyme Maceration*, Advances in Fruit Processing Technologies, Rodrigues S., et al., CRC Press, Boca Raton (2012) 235-246
- [8] Kumar S., *Role of enzymes in fruit juice processing and its quality enhancement*, Advances in Applied Science Research, 6, 114-124 (2015)
- [9] Tapre A. R., et al., *Pectinases : Enzymes for fruit processing industry*, International Food Research Journal, 21,447-453 (2014)
- [10] Mercé R., et al., *Freeze Concentration Application in Food Processing*, Advances in Fruit Processing Technologies, Rodrigues S., et al., CRC Press, Boca Raton (2012) 263-276
- [11] Ibarz A., et al, *Introduction to Food Process Engineering*, CRC Press, Boca Raton (2014) 557-565
- [12] Hernández E., et al., *Concentration of apple and pear juices in a multi-plate freeze concentrator*, Innovative Food Science and Emerging Technologies, 10, 348-355 (2009)
- [13] Auleda J.-M., *Estimation of the freezing point of concentrated fruits juices for application in freeze concentration*, Journal of Food Engineering, 105, 289-294 (2011)
- [14] Miyawaki O., et al., *Tubular ice system for scale-up of progressive freeze-concentration*, Journal of Food Engineering, 69, 107-113 (2005)
- [15] Miyawaki O., et al., *Progressive freeze-concentration of apple juice and its application to produce a new type apple wine*, Journal of Food Engineering,171, 153-158 (2016)
- [16] Arkenbout G. F., *MetI Crystallization Technology*, Technomic Publishing Co. Inc., Lancaster (1995), 11-14
- [17] Aider M., *Cryoconcentration technology in the bio-food industry : Principles and applications*, LWT - Food Science and Technology, 42, 679-685 (2009)
- [18] Miyawaki O., *Freeze Concentration*, Encyclopedia of Agricultural, Food, and Biological Engineering, Heldman R.D., Marcel Dekker Inc., New Jersey (2003) 385-387
- [19] Marin M., et al., *Lyophilisation*, Technique de l'Ingénieur, Editions T.I. (2000)
- [20] De Brouwer M., *Traité de Vinification*, CEP Vdqa (2004) 145-154
- [21] Jeantet R., et al., *Science de aliments, Technologie des produits alimentaires*, 2, Lavoisier (2007) 237-250
- [22] McKay M., et al., *Fermented Beverages : Beers, Ciders, Wines and Related Drinks*, Handbook of Alcoholic Beverages, Technical, Analytical and Nutritional Aspects, Buglas A. J., et al., Vol. 1, Wiley, (2011) 231-263

- [23] Vasantha Rupasinghe H.P., *Chemistry of Fruit Wines*, Science and Technology of Fruit Wine Production, Kosseva M., et al., Academy Press, Ningbo, Zhejiang (2016) 133
- [24] Le Quéré J.-M., et al., *Elaboration des jus de pommes et des cidres*, Technique de l'Ingénieur, Editions T.I. (2010)
- [25] Basset N., *Guide théorique et pratique du fabricant d'alcools et du distillateur : ptie. Oenologie*, Librairie des arts et manufactures (1870) 345-348
- [26] Mendham J., *Analyses quantitatives de Vogel*, Boeck Supérieur (2005) 283-284
- [27] Chromatographie : Les Grands Articles d'Universalis, Encyclopædia Universalis (2016) 60 p.
- [28] Domingues R.C.C., et al., *Clarification of passion fruit juice with chitosan: Effects of coagulation process variables and comparison with centrifugation and enzymatic treatments*, Process Biochemistry 47, 467-471 (2012)
- [29] Radu J., *La mise au point d'un procédé de fabrication d'un cidre de glace*, Faculté des Sciences de l'agriculture et de l'alimentation, Université Laval (1999)
- [30] Panda H., *The Complete Book of Wine Production*, Niir Project Consultancy Services (2011) 507
- [31] Chandon J.-A., *Faites votre bière : Pour les amateurs du fait maison !*, Editions Utovie (2016) 48 p.
- [32] Bauduin R., *Les spécificités de l'élaboration du poiré*, Le cahier technique de l'IFPC, Pomme à Cidre N°26, Décembre 2010
- [33] Watson B., *Cider Hard & Sweet History, Traditions, and Making Your Own*, The Countryman Press (2013) 51
- [34] De Souza Sant'Ana A., *Centrifugation*, Encyclopedia of Food Microbiology, 3, 30-35 (2014)
- [35] De Souza Sant'Ana A., *Filtration*, Encyclopedia of Food Microbiology, 3, 36-41 (2014)
- [36] De Muth J. E., *Basic Statistics and Pharmaceutical Statistical Applications*, CRC Press (2014) 248
- [37] Admas A. R., *Acids and Fermentation*, Food Safety Management, Elsevier Inc. (2014), 467-479
- [38] Potter N., et al., *Food Science*, Springer Science & Business Media (1998) 142-155
- [39] De Souza Sant'Ana A., *Quantitative Microbiology in Food Processing: Modeling the Microbial Ecology*, John Wiley & Sons (2017) 5-6
- [40] Siret C., *Structure des Aliments*, Technique de l'Ingénieur, Editions T.I. (2004)
- [41] Ulrich R., et al., *Variations quantitatives et qualitatives de quelques constituants glucidiques, acides et azotés de la Poire Williams au cours de son développement*, Journal d'agriculture tropicale et de botanique appliquée (1957)
- [42] Jéhan L.-F., *Dictionnaire de chimie et de minéralogie*, chez l'Editeur (1851) 399-402
- [43] Joshi V.K., *Specific Features of Table Wine Production Technology*, Science and Technology of Fruit Wine Production, Kosseva M., et al., Academy Press, Ningbo, Zhejiang (2016) 315-317
- [44] Ordonnance du DFI du 16 décembre 2016 sur les procédés et auxiliaires technologiques pour le traitement des denrées alimentaires (OPAT) (état le 1<sup>er</sup> mai 2017), 817.022.042, Berne
- [45] Bauduin R., et al., *Les arômes des cidres*, Le cahier technique de l'IFPC, Pomme à cidre N °12, Juillet 2012

- [46] Vuchot P., *Arrêt de fermentation – origines et solutions*, Parole d'expert, Lallemand œnologie
- [47] Ordonnance du DFI du 25 novembre 2013 sur les additifs admis dans les denrées alimentaires, (Ordonnance sur les additifs, OAdd) (état le 1<sup>er</sup> mai 2017), 817.022.031, Berne
- [48] Taylor B., *Fruit and Juice Processing*, Chemistry and Technology of Soft Drinks and Fruit Juices, Ashurst P. R., Wiley Blackwell, Oxford (2016, 3rd ed.), 42-45 50
- [49] Araki T., et al., *Freeze Drying*, Encyclopedia of Agricultural, Food, and Biological Engineering, Heldman R.D., Marcel Dekker Inc., New Jersey (2003) 388-390
- [50] Ordonnance du 16 décembre 2016 sur les denrées alimentaires et les objets usuels (ODAIUOs) (état le 2 mai 2017), 817.02, Berne
- [51] Wright Hirsch D., *Food Safety Plans For Juice and Cider Processor*, University of Connecticut Cooperative Extension System
- [52] Moore C., et al., *Cider & Fruit Juice Production, Food and Safety Considerations*, South Oxfordshire and Vale of White Horse District Councils
- [53] Laborde L., et al., *Guidelines for producing unpasteurized cider in Pennsylvania*, The Pennsylvania State University (2003)
- [54] Ordonnance du DFI du 16 décembre 2016 concernant l'information sur les denrées alimentaires (OEDA) (état le 7 juin 2017), 817.022.021, Berne

## Annexe I Législation

Chère Madame Bubloz,

En effet, hormis sous l'angle de la définition de cidre et les exigences s'y rapportant, le droit fédéral n'aborde pas le thème du cidre de glace. Le principe générale d'interdiction de la tromperie empêche cependant que ce terme soit utilisé de manière à induire le consommateur en erreur.

À ma connaissance, les différents droits cantonaux n'abordent également pas ce produit.

Cordialement

**Nicolas Schenk**

Responsable Acquisitions et Contrats

Département fédéral de l'intérieur DFI

Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires OSAV

État-major



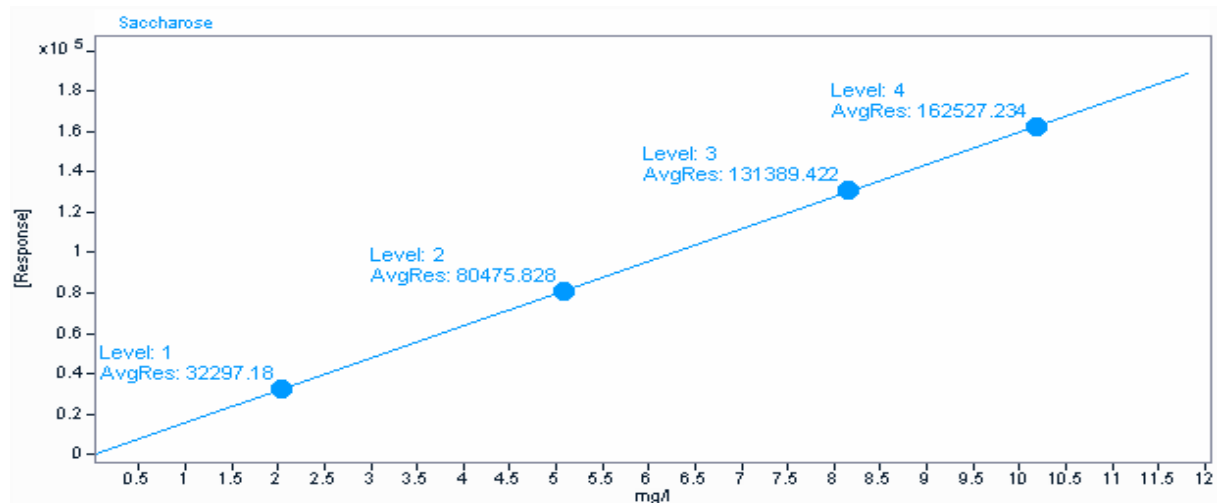
## Annexe II Courbes de calibration

### Courbes de calibration HPLC

#### Saccharose

$$\text{Equation : } y=16021.324x-273.410$$

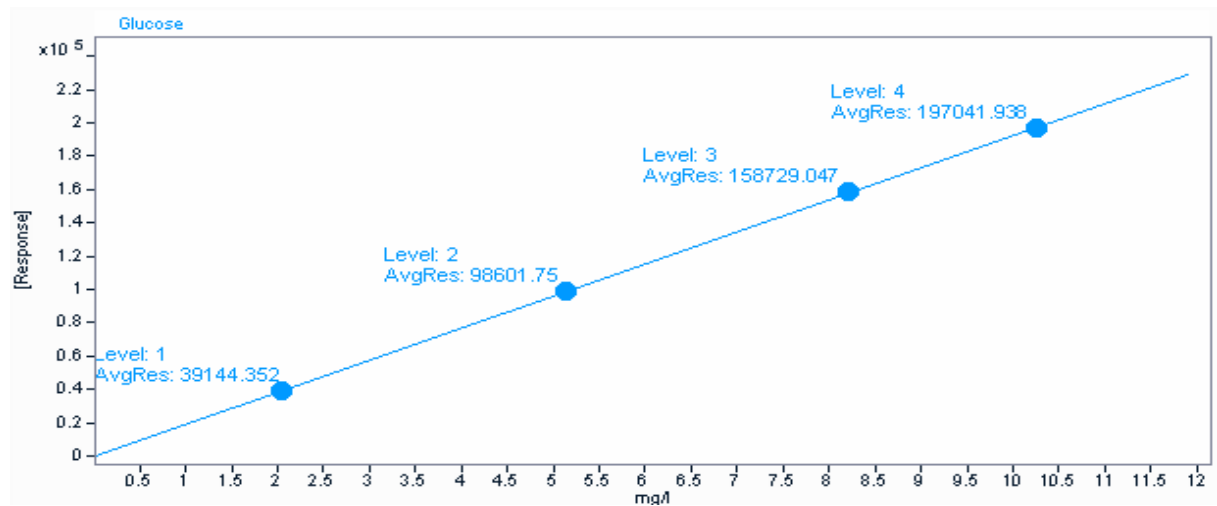
$$R^2=0.999940$$



#### Glucose

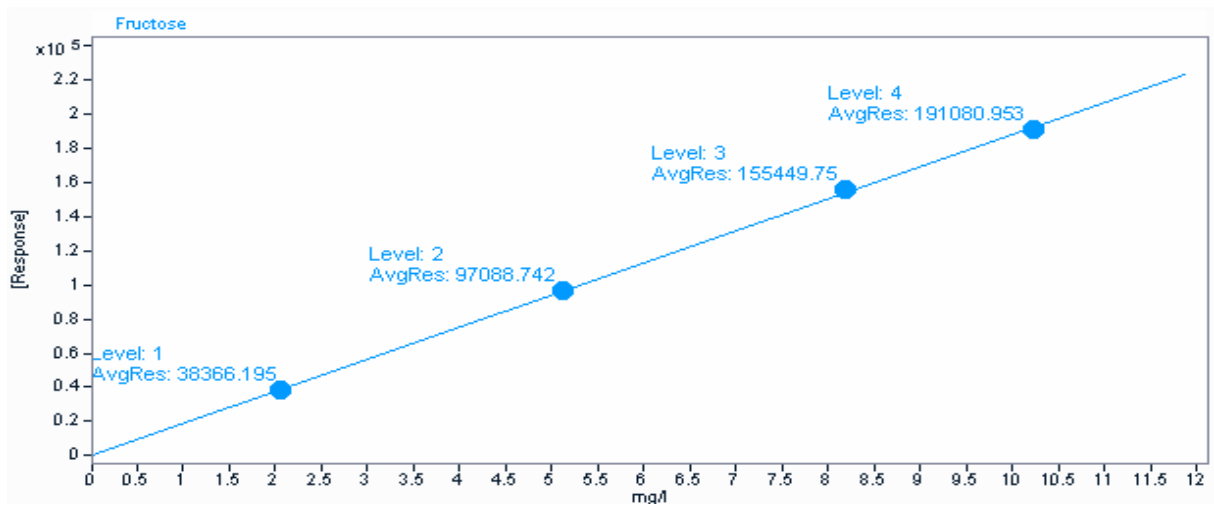
$$\text{Equation : } y=19255.983x-117.517$$

$$R^2=0.999984$$



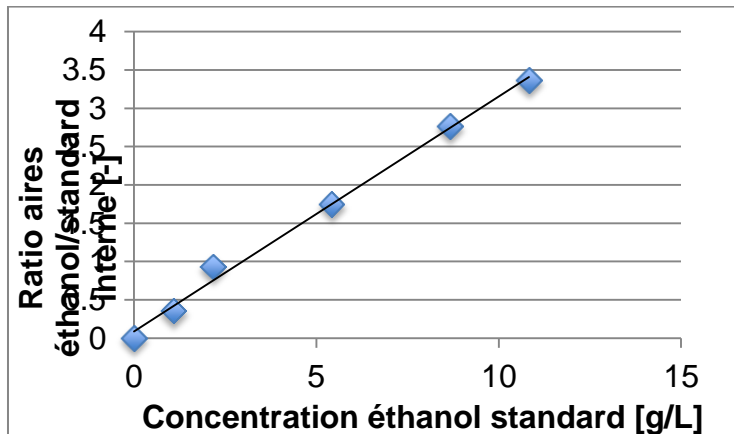
### Fructose

Equation :  $y=18765.157x+319.523$   
 $R^2=0.99907$



### Courbe de calibration CPG

Equation :  $y=0.3067x+0.0869$   
 $R^2=0.99492$



# Annexe III Fiches techniques

## Enzymes Pectinex® Ultra AFP partie a

### Product Data Sheet



1 of 2

Valid from 2017-06-15

## Pectinex® Ultra AFP

In this product the key enzyme activity is provided by

pectin lyase catalyzing eliminative cleavage of (1,4)-alpha-D-galacturonan methyl ester giving oligosaccharides with 4-deoxy-6-O-methyl-alpha-D-galact-4-enuronosyl groups at their non-reducing ends

PRODUCT CHARACTERISTICS/PROPERTIES		ALLERGEN		
Component name	Pectin lyase	<b>Allergen</b>	<b>Substance contained<sup>1</sup></b>	
Activity	8500 PECTU/g		<b>Allergen</b>	
Other activities	Polygalacturonase		<b>Substance contained<sup>1</sup></b>	
Color	Brown	Celery	no	
Physical form	Liquid	Cereals containing gluten**	no	
Approximate density (g/ml)	1.18	Crustaceans	no	
Approximate pH	4,0	Egg	no	
Odor	Slight fermentation odor	Fish	no	
Solubility	Active component is readily soluble in water at all concentrations that occur in normal usage. Standardisation components can cause turbidity in solution.	Lupin	no	
		Milk (including lactose)	no	
			Molluscs	no
			Mustard	no
			Nuts <sup>3</sup>	no
			Peanuts	no
			Sesame	no
			Soy	no
			Sulphur dioxide/sulphites, more than 10 mg per kg or l	no

Color can vary from batch to batch. Color intensity is not an indication of enzyme activity.

PRODUCT SPECIFICATION			
	Lower Limit	Upper Limit	Unit
Pectinase unit PECTU	8500		/g
pH at 25°C	3	5	
Density	1.05		g/ml
Total viable count	-	50000	/g
Coliform bacteria	-	30	/g
E.coli	Not Detected		/25 g
Salmonella	Not Detected		/25 g
Heavy metals		Max 30	mg/kg
Lead		Max 5	mg/kg
Arsenic		Max 3	mg/kg
Cadmium		Max 0.5	mg/kg
Mercury		Max 0.5	mg/kg

The enzyme analytical method is available from the Customer Center or sales representative.

COMPOSITION	
Ingredients	Appr. % (w/w)
Glycerol, CAS no. 56-81-5	45
Water, CAS no. 7732-18-5	43
Pectin lyase, CAS no. 9033-35-6*	6
Potassium chloride, CAS no. 7447-40-7	5
Polygalacturonase, CAS no. 9032-75-1*	1

\*Defined as enzyme conc. (dry matter basis)

No preservatives added

NUTRITIONAL VALUES	
The product has a typical nutritional value of approximately 569 kJ/100 g enzyme product.	
• Protein	7 g/100 g
• Polyols	45 g/100 g
• Ash	5 g/100 g
• Moisture	43 g/100 g

GM STATUS	
This product is not a GMO.	
Production organism	Aspergillus niger Aspergillus aculeatus
The enzyme product is manufactured by fermentation of microorganisms that are not present in the final product. The production organisms are not modified using modern biotechnology.	

© Novozymes A/S

## Pectinex® Ultra AFP

### STORAGE CONDITION

**Recommended storage:** 0-10 °C (32-50 °F)

Packaging must be kept intact, dry, and away from sunlight. Please follow the recommendations and use the product before the best before date to avoid the need for a higher dosage.

**Best before:** You will find the best before date in the certificate of analysis or on the product label.

The product gives optimal performance when stored as recommended and used prior to the best-before date.

The product can be transported at ambient temperature. Following delivery, the product should be stored as recommended.

### SAFETY AND HANDLING PRECAUTIONS

Enzymes are proteins. Inhalation of dust or aerosols may induce sensitization and may cause allergic reactions in sensitized individuals. Some enzymes may irritate the skin, eyes, and mucous membranes upon prolonged contact. See the MSDS or Safety Manual for further information regarding safe handling of the product and spills.

### COMPLIANCE

The product complies with the recommended purity specifications for food-grade enzymes given by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) and the Food Chemical Codex (FCC), and with relevant Chinese food safety and product standards for food-grade enzymes.

Kosher and Halal certificates are available from the Customer Center or sales representative.

If used as processing aid in the production of food the final product may be classified as "organic" by relevant authorised associations.

### CERTIFICATIONS

Novozymes is a signatory to United Nations Global Compact, United Nations Convention on Biological Diversity and report on our sustainability performance through Global Reporting Initiative (GRI). See all our commitments under sustainability on [www.novozymes.com](http://www.novozymes.com).



### FOOD SAFETY

Novozymes has carried out a hazard analysis and prepared an HACCP plan describing the critical control points (CCPs). The HACCP plan is supported by a comprehensive prerequisite program implemented in Novozymes' GMP practices.

The product is produced according to Novozymes' HACCP plan, GMP practices, and additional requirements controlled by Novozymes' Quality Management System.

The product complies with FAO/WHO JECFA- and FCC-recommended purity requirements regarding mycotoxins.

### PACKAGING

The product is available in different types of packaging. Please contact the sales representative for more information.

Novozymes A/S  
Krogshøjvej 36  
2880 Bagsvaerd  
Denmark

Tel. +45 4446 0000  
Fax +45 4446 9999

For more information, or for more office addresses, visit [www.novozymes.com](http://www.novozymes.com)

Laws, regulations and/or third party rights may prevent customers from importing, using, processing and/or reselling the products described herein in a given manner. Without separate, written agreement between the customer and Novozymes to such effect, this document does not constitute a representation or warranty of any kind and is subject to change without further notice.

© Novozymes A/S



## Pectinex® Ultra Clear

In this product the key enzyme activity is provided by

polygalacturonase that hydrolyzes (1,4)-alpha-D-galactosiduronic linkages in pectate and other galacturonans

PRODUCT CHARACTERISTICS/PROPERTIES	
Component name	Polygalacturonase
Activity	8600 PGNU/g
Color	Brown
Physical form	Liquid
Approximate density (g/ml)	1.15
Odor	Slight fermentation odor
Solubility	Active component is readily soluble in water at all concentrations that occur in normal usage. Standardisation components can cause turbidity in solution.
<i>Color can vary from batch to batch. Color intensity is not an indication of enzyme activity.</i>	

PRODUCT SPECIFICATION			
	Lower Limit	Upper Limit	Unit
Pectinase unit PGNU	8600		/g
Total viable count	-	50000	/g
Coliform bacteria	-	30	/g
E.coli	Not Detected		/25 g
Salmonella	Not Detected		/25 g
Heavy metals		Max 30	mg/kg
Lead		Max 5	mg/kg
Arsenic		Max 3	mg/kg
Cadmium		Max 0.5	mg/kg
Mercury		Max 0.5	mg/kg

The enzyme analytical method is available from the Customer Center or sales representative.

COMPOSITION	
Ingredients	Appr. % (w/w)
Glycerol, CAS no. 56-81-5	45
Water, CAS no. 7732-18-5	40
Polygalacturonase, CAS no. 9032-75-1*	6
Potassium chloride, CAS no. 7447-40-7	5
Pectin lyase, CAS no. 9033-35-6*	4

\*Defined as enzyme conc. (dry matter basis)

No preservatives added

ALLERGEN			
Allergen	Substance contained <sup>1</sup>	Allergen	Substance contained <sup>1</sup>
Celery	no	Molluscs	no
Cereals containing gluten <sup>2*</sup>	no	Mustard	no
Crustaceans	no	Nuts <sup>3</sup>	no
Egg	no	Peanuts	no
Fish	no	Sesame	no
Lupin	no	Soy	no
Milk (including lactose)	no	Sulphur dioxide/sulphites, more than 10 mg per kg or l	no

<sup>1</sup>Definition of substances according to EU Regulation 1169/2011, as amended. List covers allergens mentioned in 21 USC 301 (US) and GB 7718-2011 (China).

<sup>2</sup>i.e. wheat, rye, barley, oats, spelt, kamut

<sup>3</sup>i.e. almond, hazelnut, walnut, cashew, pecan nut, Brazil nut, pistachio nut, macadamia nut and Queensland nut

<sup>4</sup> If No: Glutenfree i.e. < 20ppm (EU Regulation 41/2009)

NUTRITIONAL VALUES	
The product has a typical nutritional value of approximately 620 kJ/100 g enzyme product.	
• Protein	10 g/100 g
• Polyols	45 g/100 g
• Ash	5 g/100 g
• Moisture	40 g/100 g

GM STATUS	
This product is not a GMO.	
Production organism	Aspergillus niger Aspergillus aculeatus
The enzyme product is manufactured by fermentation of microorganisms that are not present in the final product. The production organisms are not modified using modern biotechnology.	



## Pectinex® Ultra Clear

### STORAGE CONDITION

**Recommended storage:** 0-10 °C (32-50 °F)

Packaging must be kept intact, dry, and away from sunlight. Please follow the recommendations and use the product before the best before date to avoid the need for a higher dosage.

**Best before:** You will find the best before date in the certificate of analysis or on the product label.

The product gives optimal performance when stored as recommended and used prior to the best-before date.

The product can be transported at ambient temperature. Following delivery, the product should be stored as recommended.

### SAFETY AND HANDLING PRECAUTIONS

Enzymes are proteins. Inhalation of dust or aerosols may induce sensitization and may cause allergic reactions in sensitized individuals. Some enzymes may irritate the skin, eyes, and mucous membranes upon prolonged contact. See the MSDS or Safety Manual for further information regarding safe handling of the product and spills.

### COMPLIANCE

The product complies with the recommended purity specifications for food-grade enzymes given by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) and the Food Chemical Codex (FCC), and with relevant Chinese food safety and product standards for food-grade enzymes.

Kosher and Halal certificates are available from the Customer Center or sales representative.

If used as processing aid in the production of food the final product may be classified as "organic" by relevant authorised associations.

### CERTIFICATIONS

Novozymes is a signatory to United Nations Global Compact, United Nations Convention on Biological Diversity and report on our sustainability performance through Global Reporting Initiative (GRI). See all our commitments under sustainability on [www.novozymes.com](http://www.novozymes.com).



### FOOD SAFETY

Novozymes has carried out a hazard analysis and prepared an HACCP plan describing the critical control points (CCPs). The HACCP plan is supported by a comprehensive prerequisite program implemented in Novozymes' GMP practices.

The product is produced according to Novozymes' HACCP plan, GMP practices, and additional requirements controlled by Novozymes' Quality Management System.

The product complies with FAO/WHO JECFA- and FCC-recommended purity requirements regarding mycotoxins.

### PACKAGING

The product is available in different types of packaging. Please contact the sales representative for more information.

Novozymes A/S  
Krogshøjvej 36  
2880 Bagsvaerd  
Denmark

Tel. +45 4446 0000  
Fax +45 4446 9999

For more information, or for more office addresses, visit [www.novozymes.com](http://www.novozymes.com)

Laws, regulations and/or third party rights may prevent customers from importing, using, processing and/or reselling the products described herein in a given manner. Without separate, written agreement between the customer and Novozymes to such effect, this document does not constitute a representation or warranty of any kind and is subject to change without further notice.

© Novozymes A/S





...du moût  
...à la bouteille



FICHE TECHNIQUE

# IOC 18-2007

LEVURES SECHES ACTIVES

Franchise, netteté, fructophilie et prise de mousse

### Applications Oenologiques

IOC 18-2007 a été sélectionnée par l'IOC à partir des meilleures levures indigènes de prise de mousse des vignobles de la Champagne.

Cette souche est particulièrement recommandée pour:

- La prise de mousse,
- La fermentation des moûts difficiles,
- La fermentation à basse température,
- La reprise de fermentation.

Elle permet d'élaborer des vins nets et francs grâce à sa grande tolérance à l'éthanol et son pouvoir fructophile. Son excellente adaptation aux milieux les plus difficiles (pH très bas et basses températures) permet d'obtenir la consommation rapide et complète des sucres, tout en évitant la production des composés secondaires indésirables.

Elle permet ainsi de préserver les caractères du terroir.

### Caractéristiques

- Espèce: *Saccharomyces cerevisiae* galactose -
- Facteur Killer: K2 actif.
- Résistance à l'alcool : élevée (15% vol).
- Besoins en azote: faibles. Privilégier des nutriments complexes pour prévenir l'apparition d'odeurs soufrées.
- Assure des fermentations régulières entre 8°C et 30°C.
- Compatibilité avec les bactéries lactiques en co-inoculation / en inoculation séquentielle: faible / moyenne.
- L'utilisation d'Inobacter est recommandée sur pH faibles (<3,15).
- Phase de latence: courte.
- Vitesse de fermentation: rapide.
- Production d'acidité volatile: faible à modérée.
- Production de SO<sub>2</sub>: très faible.
- Formation d'écume: faible.

### Dose d'emploi

- Vinification :
  - en blanc : 10 à 20 g/hL.
  - en rouge : 20 à 25 g/hL.
- Reprise de fermentation : 20 à 40 g/hL avec préparation d'un levain.
- Prise de mousse (méthode traditionnelle) : 10 à 20 g/hL avec préparation d'un levain.

Réhydrater dans 10 fois son poids d'eau à 35-37°C. Il est essentiel de réhydrater la levure dans un récipient propre. Respecter scrupuleusement les températures, ne pas introduire les levures dans une solution dont la température est supérieure à 40°C. Agiter doucement puis laisser reposer 20 minutes. L'utilisation du protecteur de levure en phase de réhydratation est vivement conseillée.

Après réhydratation, il est nécessaire d'acclimater la levure à l'alcool et aux conditions spécifiques des vins (pH, sucres, SO<sub>2</sub>, température...). Pour cela réaliser un pied de cuve de 12 à 24h qui doit être suivi d'une phase de multiplication de 3 jours environ. Cette phase permettra d'obtenir un ferment actif et suffisamment concentré pour réaliser la prise de mousse. Suivre les conseils de votre oenologue.

Oeno-Tech SA  
Impasse des Artisans 1  
1963 Vétroz

Tel. 027 346 14 72  
Fax 027 346 12 85  
Mail info@oeno-tech.ch

Site Internet  
www.oeno-tech.ch





...du moût  
...à la bouteille

### FICHE TECHNIQUE

IOC 18-2007: une levure fructophile

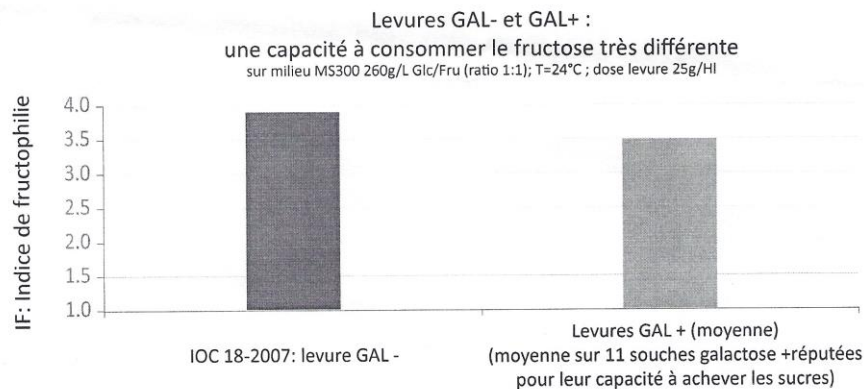
#### Fructose, glucose et sécurité de la fermentation

Pour achever une fermentation alcoolique, les levures doivent transformer la totalité du glucose et du fructose du moût. Malheureusement, elles montrent une affinité bien plus forte pour le glucose que pour le fructose. Si bien qu'en cas de fermentations languissantes, c'est bien souvent leur capacité à consommer le fructose résiduel qui est mise à l'épreuve. Et lors d'un arrêt de fermentation, le sucre résiduel majoritaire est généralement du fructose, qui 'il devient difficile de fermenter.

#### Une affinité pour le fructose variable selon les levures

Toutes les levures ne montrent pas le même niveau de préférence pour le glucose par rapport au fructose. Pour certaines d'entre elles, l'écart de consommation entre les deux sucres est plus resserré, c'est-à-dire qu'elles délaissent moins le fructose au profit du glucose.

C'est le cas des levures *Saccharomyces cerevisiae* galactose -: leur indice de fructophilie est généralement supérieur à celui des levures *S. cerevisiae* classiques (dites galactose +). IOC 18-2007, qui appartient à ce groupe de levures GAL-, montre donc naturellement une capacité fructophile supérieure à la moyenne.



#### Caractéristiques microbiologiques

- Levures revivifiables : > 10 milliards de cellules/g.
- Pureté microbiologique : moins de 10 levures sauvages par million de cellules.

#### Conditionnement et conservation

- Sachet en laminé d'aluminium polyéthylène de 500 g. sous vide.

A conserver dans un local sec, bien ventilé, exempt d'odeurs, à température comprise entre 5 et 15 °C.

Une fois ouvert le produit doit être utilisé rapidement.

Oeno-Tech SA  
Impasse des Artisans 1  
1963 Vétroz

Tel. 027 346 14 72  
Fax 027 346 12 85  
Mail [info@oeno-tech.ch](mailto:info@oeno-tech.ch)

Site Internet  
[www.oeno-tech.ch](http://www.oeno-tech.ch)

## Annexe IV Traitements statistiques

### Liquéfaction de la purée

#### Traitements enzymatiques

#### Liste des échantillons

N°	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Mélange	Purée	2.1	2.1	2.1	3.1	3.1	3.1	2.2	2.2	2.2	3.2	3.2	3.2
Durée		4h	8h	24h	4h	8h	24h	4h	8h	24h	4h	8h	24h

#### Résultats : différences significatives

Paire	Tukey HSD Q statistic	Tukey HSD p-value	Tukey HSD difference	Paire	Tukey HSD Q statistic	Tukey HSD p-value	Tukey HSD difference
0 vs 1	5.57090	0.0169714	* p<0.05	0 vs 10	10.7968	0.0010053	** p<0.01
0 vs 2	6.64260	0.0042432	** p<0.01	0 vs 11	15.3209	0.0010053	** p<0.01
0 vs 3	9.56060	0.0010053	** p<0.01	1 vs 5	6.66840	0.0057332	** p<0.01
0 vs 4	8.25320	0.0010053	** p<0.01	1 vs 6	7.62750	0.0021879	** p<0.01
0 vs 5	10.2567	0.0010053	** p<0.01	1 vs 9	5.90000	0.0127063	* p<0.05
0 vs 6	11.6980	0.0010053	** p<0.01	1 vs 11	7.38230	0.0027865	** p<0.01
0 vs 7	7.99630	0.0010053	** p<0.01	1 vs 12	8.01880	0.0015030	** p<0.01
0 vs 8	10.7835	0.0010053	** p<0.01	2 vs 6	5.20990	0.0272098	* p<0.05
0 vs 9	11.5585	0.0010053	** p<0.01	2 vs 12	5.54490	0.0188839	* p<0.05

#### Résultats : aucune différence significative

Paire	Tukey HSD Q statistic	Tukey HSD p-value	Tukey HSD difference	Paire	Tukey HSD Q statistic	Tukey HSD p-value	Tukey HSD difference
1 vs 2	1.1675	0.8999947	insignificant	4 vs 12	4.5246	0.0653562	insignificant
1 vs 3	4.3116	0.0837887	insignificant	5 vs 6	0.9041	0.8999947	insignificant
1 vs 4	2.3867	0.3896212	insignificant	5 vs 7	2.7798	0.346837	insignificant
1 vs 7	2.6752	0.4523379	insignificant	5 vs 8	0.2146	0.8999947	insignificant
1 vs 8	4.5507	0.0633751	insignificant	5 vs 9	1.0823	0.8999947	insignificant
1 vs 10	4.5109	0.0509209	insignificant	5 vs 10	0.0155	0.8999947	insignificant
2 vs 3	3.1441	0.2954979	insignificant	5 vs 11	0.673	0.8999947	insignificant
2 vs 4	1.4347	0.8279413	insignificant	5 vs 12	1.2729	0.8999947	insignificant
2 vs 5	2.3867	0.3896212	insignificant	6 vs 7	3.6312	0.1508119	insignificant
2 vs 7	1.5077	0.8787653	insignificant	6 vs 8	1.2998	0.8769370	insignificant
2 vs 8	3.3832	0.2327197	insignificant	6 vs 9	0.1746	0.8999947	insignificant
2 vs 9	4.7325	0.0511183	insignificant	6 vs 10	0.8886	0.8999947	insignificant
2 vs 10	4.4027	0.0659595	insignificant	6 vs 11	0.2311	0.8999947	insignificant
3 vs 4	1.5914	0.7709935	insignificant	6 vs 12	0.3688	0.8999947	insignificant
3 vs 5	1.2440	0.8972080	insignificant	7 vs 8	1.8755	0.7444856	insignificant
3 vs 6	2.6740	0.3036752	insignificant	7 vs 9	3.2248	0.2730133	insignificant

<b>3 vs 7</b>	1.6363	0.8318088	insignificant	<b>7 vs 10</b>	2.3388	0.4054227	insignificant
<b>3 vs 8</b>	0.2392	0.8999947	insignificant	<b>7 vs 11</b>	3.4135	0.1886212	insignificant
<b>3 vs 9</b>	1.5884	0.8493042	insignificant	<b>7 vs 12</b>	3.9785	0.1044418	insignificant
<b>3 vs 10</b>	1.2575	0.8922884	insignificant	<b>8 vs 9</b>	1.3493	0.8999947	insignificant
<b>3 vs 11</b>	1.8308	0.6840031	insignificant	<b>8 vs 10</b>	1.102	0.8999947	insignificant
<b>3 vs 12</b>	2.8949	0.2484715	insignificant	<b>8 vs 11</b>	2.3388	0.4054227	insignificant
<b>4 vs 5</b>	3.2517	0.2657900	insignificant	<b>8 vs 12</b>	1.6154	0.7622681	insignificant
<b>4 vs 6</b>	4.1558	0.1001170	insignificant	<b>9 vs 10</b>	1.0666	0.8999947	insignificant
<b>4 vs 7</b>	0.2146	0.8999947	insignificant	<b>9 vs 11</b>	0.3996	0.8999947	insignificant
<b>4 vs 8</b>	2.2570	0.5291745	insignificant	<b>9 vs 12</b>	0.3955	0.8999947	insignificant
<b>4 vs 9</b>	4.3808	0.0675587	insignificant	<b>10 vs 11</b>	0.6575	0.8999947	insignificant
<b>4 vs 10</b>	3.2672	0.2616853	insignificant	<b>10 vs 12</b>	1.2574	0.8999947	insignificant
<b>4 vs 11</b>	3.9247	0.1298563	insignificant	<b>11 vs 12</b>	0.5999	0.8999947	insignificant

### Centrifugations

### Liste des échantillons

<b>N°</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>
Mélange	0	1	0	1	2.1	2.2
g	8880	8880	16900	16900	8880	8880
<b>N°</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>
Mélange	3.1	3.2	2.1	2.1	3.1	3.2
g	8880	8880	16900	16900	16900	16900

### Résultats : différence significatives

Paire	Tukey HSD Q statistic	Tukey HSD p-value	Tukey HSD difference	Paire	Tukey HSD Q statistic	Tukey HSD p-value	Tukey HSD différence
<b>1 vs 2</b>	6.82720	0.0042863	** p<0.01	<b>2 vs 11</b>	11.2348	0.0010053	** p<0.01
<b>1 vs 3</b>	18.8363	0.0010053	** p<0.01	<b>2 vs 12</b>	11.3805	0.0010053	** p<0.01
<b>1 vs 4</b>	12.1380	0.0010140	** p<0.01	<b>4 vs 5</b>	9.33780	0.0010053	** p<0.01
<b>1 vs 5</b>	9.89980	0.0010053	** p<0.01	<b>4 vs 6</b>	9.45270	0.0010053	** p<0.01
<b>1 vs 6</b>	9.80390	0.0010053	** p<0.01	<b>4 vs 7</b>	9.37470	0.0010053	** p<0.01
<b>1 vs 7</b>	9.86900	0.0010053	** p<0.01	<b>4 vs 8</b>	9.57210	0.0010053	** p<0.01
<b>1 vs 8</b>	9.70420	0.0010053	** p<0.01	<b>5 vs 9</b>	37.0835	0.0010053	** p<0.01
<b>1 vs 9</b>	18.0339	0.0010053	** p<0.01	<b>5 vs 10</b>	36.8877	0.0010053	** p<0.01
<b>1 vs 10</b>	17.9906	0.0010053	** p<0.01	<b>6 vs 9</b>	37.5152	0.0010053	** p<0.01
<b>1 vs 11</b>	18.0221	0.0010053	** p<0.01	<b>6 vs 10</b>	37.3194	0.0010053	** p<0.01
<b>1 vs 12</b>	18.1678	0.0010053	** p<0.01	<b>7 vs 11</b>	45.5765	0.0010053	** p<0.01
<b>2 vs 4</b>	3.61320	0.0224933	* p<0.05	<b>7 vs 12</b>	46.3853	0.0010053	** p<0.01
<b>2 vs 9</b>	11.2466	0.0010053	** p<0.01	<b>8 vs 11</b>	46.4856	0.0010053	** p<0.01
<b>2 vs 10</b>	11.2034	0.0010053	** p<0.01	<b>8 vs 12</b>	47.2944	0.0010053	** p<0.01

Résultats : aucune différence significative

Paire	Tukey HSD Q statistic	Tukey HSD p-value	Tukey HSD difference	Paire	Tukey HSD Q statistic	Tukey HSD p-value	Tukey HSD difference
2 vs 3	3.7253	0.0579306	insignificant	4 vs 9	2.0045	0.6963500	insignificant
2 vs 5	3.0726	0.3163667	insignificant	4 vs 10	0.2498	0.8999947	insignificant
2 vs 6	2.9767	0.3464360	insignificant	4 vs 11	0.2694	0.8999947	insignificant
2 vs 7	3.0418	0.3256371	insignificant	5 vs 6	0.0959	0.8999947	insignificant
2 vs 8	2.8770	0.3799796	insignificant	5 vs 7	0.0308	0.8999947	insignificant
3 vs 4	2.8180	0.3941148	insignificant	5 vs 8	0.1956	0.8999947	insignificant
3 vs 5	3.9002	0.1334728	insignificant	6 vs 7	0.0651	0.8999947	insignificant
3 vs 6	4.0151	0.1175981	insignificant	6 vs 8	0.0997	0.8999947	insignificant
3 vs 7	3.9371	0.1280598	insignificant	7 vs 8	0.1648	0.8999947	insignificant
3 vs 8	4.1345	0.1026035	insignificant	9 vs 10	2.2838	0.5927922	insignificant
3 vs 9	1.1461	0.8999947	insignificant	9 vs 12	2.3057	0.5846485	insignificant
3 vs 10	3.0678	0.3098334	insignificant	9 vs 12	2.4075	0.5469254	insignificant
3 vs 11	3.0874	0.3038820	insignificant	10 vs 11	0.0196	0.8999947	insignificant
3 vs 12	3.1784	0.2771984	insignificant	10 vs 12	0.1106	0.8999947	insignificant
4 vs 6	0.3604	0.8999947	insignificant	11 vs 12	0.0910	0.8999947	insignificant

## Cryoconcentration du jus

Résultats uniquement des paires comparables

### Élévation °B/h

### Masse de glace/min

Paire	Tukey HSD Q statistic	Tukey HSD p-value	Tukey HSD difference	Tukey HSD Q statistic	Tukey HSD p-value	Tukey HSD difference
1 vs 2	0.6156	0.8999947	insignificant	3.7829	0.1580567	insignificant
1 vs 4	3.3723	0.2408733	insignificant	6.2068	0.0104678	* p<0.05
2 vs 3	0.554	0.8999947	insignificant	0.4833	0.8999947	insignificant
2 vs 4	2.4007	0.5546895	insignificant	1.7687	0.7835277	insignificant
4 vs 5	1.1562	0.8999947	insignificant	0.0509	0.8999947	insignificant
5 vs 6	2.0647	0.6763614	insignificant	0.5715	0.8999947	insignificant

### Rendement

### RI%

Paire	Tukey HSD Q statistic	Tukey HSD p-value	Tukey HSD difference	Tukey HSD Q statistic	Tukey HSD p-value	Tukey HSD difference
1 vs 2	0.6156	0.8999947	insignificant	1.0657	0.8999947	insignificant
1 vs 4	3.3723	0.2408733	insignificant	0.9042	0.8999947	insignificant
2 vs 3	0.5540	0.8999947	insignificant	1.0444	0.8999947	insignificant

<b>2 vs 4</b>	2.4007	0.5546895	insignificant	0.2570	0.8999947	insignificant
<b>4 vs 5</b>	1.1562	0.8999947	insignificant	2.6888	0.4506001	insignificant
<b>5 vs 6</b>	2.0647	0.6763614	insignificant	1.6469	0.8276162	insignificant

**g de sucre perdu /100g de jus**

<b>Paire</b>	<b>Tukey HSD Q statistic</b>	<b>Tukey HSD p-value</b>	<b>Tukey HSD difference</b>
<b>1 vs 2</b>	1.6257	0.8353121	insignificant
<b>1 vs 4</b>	3.2884	0.2616984	insignificant
<b>2 vs 3</b>	2.1613	0.6413805	insignificant
<b>2 vs 4</b>	1.3156	0.8999947	insignificant
<b>4 vs 5</b>	0.2101	0.8999947	insignificant
<b>5 vs 6</b>	3.2569	0.2698749	insignificant

*Résultats complets*

**°B/h**

**Masse de glace [g]/min**

<b>Paire</b>	<b>Tukey HSD Q statistic</b>	<b>Tukey HSD p-value</b>	<b>Tukey HSD difference</b>	<b>Tukey HSD Q statistic</b>	<b>Tukey HSD p-value</b>	<b>Tukey HSD difference</b>
<b>1 vs 5</b>	3.4991	0.2121848	insignificant	6.2578	0.0098893	** p<0.01
<b>2 vs 3</b>	1.7604	0.7865211	insignificant	0.4833	0.8999947	insignificant
<b>2 vs 4</b>	0.1956	0.8999947	insignificant	1.7687	0.7835277	insignificant
<b>2 vs 6</b>	0.978	0.8999947	insignificant	1.3031	0.8999947	insignificant
<b>2 vs 1</b>	0.978	0.8999947	insignificant	3.7829	0.1580567	insignificant
<b>2 vs 5</b>	2.1516	0.6448807	insignificant	1.8143	0.7670382	insignificant
<b>3 vs 4</b>	1.7495	0.7904682	insignificant	1.4371	0.8999947	insignificant
<b>3 vs 6</b>	3.0617	0.3244736	insignificant	0.9166	0.8999947	insignificant
<b>3 vs 1</b>	0.8748	0.8999947	insignificant	4.7697	0.0531691	insignificant
<b>3 vs 5</b>	4.3738	0.0830366	insignificant	1.4881	0.8851415	insignificant
<b>4 vs 6</b>	1.3122	0.8999947	insignificant	0.5205	0.8999947	insignificant
<b>4 vs 1</b>	0.8748	0.8999947	insignificant	6.2068	0.0104678	* p<0.05
<b>4 vs 5</b>	2.6243	0.4738927	insignificant	0.0509	0.8999947	insignificant
<b>6 vs 1</b>	2.1869	0.6321077	insignificant	5.6863	0.0187793	* p<0.05
<b>6 vs 5</b>	1.3122	0.8999947	insignificant	0.5715	0.8999947	insignificant



**Rendement****RI%**

Paire	Tukey HSD Q statistic	Tukey HSD p-value	Tukey HSD inference	Tukey HSD Q statistic	Tukey HSD p-value	Tukey HSD difference
1 vs 5	4.5286	0.0698284	insignificant	3.5931	0.1926429	insignificant
2 vs 3	0.5540	0.8999947	insignificant	1.0444	0.8999947	insignificant
2 vs 4	2.4007	0.5546895	insignificant	0.2570	0.8999947	insignificant
2 vs 6	1.5882	0.84889	insignificant	3.6211	0.187125	insignificant
2 vs 1	0.6156	0.8999947	insignificant	1.0657	0.8999947	insignificant
2 vs 5	3.4349	0.2264159	insignificant	2.1480	0.6461929	insignificant
3 vs 4	3.3035	0.2578521	insignificant	1.4550	0.8971213	insignificant
3 vs 6	2.3950	0.5567499	insignificant	2.8808	0.3829599	insignificant
3 vs 1	0.0688	0.8999947	insignificant	2.3592	0.5697312	insignificant
3 vs 5	4.4597	0.0754357	insignificant	1.2339	0.8999947	insignificant
4 vs 6	0.9085	0.8999947	insignificant	4.3358	0.0866233	insignificant
4 vs 1	3.3723	0.2408733	insignificant	0.9042	0.8999947	insignificant
4 vs 5	1.1562	0.8999947	insignificant	2.6888	0.4506001	insignificant
6 vs 1	2.4639	0.5318317	insignificant	5.2400	0.0311665	* p<0.05
6 vs 5	2.0647	0.6763614	insignificant	1.6469	0.8276162	insignificant

**g de sucre perdu /100g de jus**

Paire	Tukey HSD Q statistic	Tukey HSD p-value	Tukey HSD difference	Paire	Tukey HSD Q statistic	Tukey HSD p-value	Tukey HSD difference
1 vs 5	3.0783	0.3195811	insignificant	3 vs 1	4.234	0.0968662	insignificant
2 vs 3	2.1613	0.6413805	insignificant	3 vs 5	1.1557	0.8999947	insignificant
2 vs 4	1.3156	0.8999947	insignificant	4 vs 6	3.467	0.2191981	insignificant
2 vs 6	1.7854	0.7774717	insignificant	4 vs 1	3.2884	0.2616984	insignificant
2 vs 1	1.6257	0.8353121	insignificant	4 vs 5	0.2101	0.8999947	insignificant
2 vs 5	1.1276	0.8999947	insignificant	6 vs 1	0.1786	0.8999947	insignificant
3 vs 4	0.9456	0.8999947	insignificant	6 vs 5	3.2569	0.2698749	insignificant
3 vs 6	4.4126	0.0795222	insignificant				

