SOMMAIRE

I. INTRODUCTION **p.1**

II. GENERALITES SUR LE JUS D'ORANGE **p.2**

II .1. Situation économique **p.2**

II.2. Anatomie de l'orange et différentes variétés **p.3**

II.3. Production industrielle de jus d'orange **p.4**

II.4. Composition chimique du jus d'orange **p.5**

II.5. Les jus produits par techniques membranaires **p.6**

II.5.1. Intérêts de la microfiltration tangentielle **p.6**

II.5.2. Résultats antérieurs obtenus avec du jus d'orange **p.7**

II.5.2.1. Types de membranes utilisées **p.7**

II.5.2.2. Variables opératoires de la microfiltration tangentielle **p.9**

II.5.3. Rôle des enzymes dans la microlfitration tangentielle **p.9**

III. MATERIELS ET METHODES **p.10**

III.1. Caractérisation de la matière première **p.10**

III.1.1. Obtention du jus d'orange **p.10**

III.1.2. Principales caractéristiques du jus d'orange **p.10**

III.2. Analyses classiques effectuées sur le jus d'orange **p.11**

III.2.1. Caractérisation des arômes **p.11**

III.2.2. Analyses sensorielles **p.12**

III.2.3. Analyses des principales activités enzymatiques contenues dans les préparations utilisées **p.13**

III.3. Procédés et mise en œuvre **p.14**

III.3.1. Réalisation du traitement enzymatique **p.14**

III.3.2. Conduite des essais en microfiltration tangentielle **p.14**

III.3.2.1. Description des équipements **p.14**

III.3.2.2. Modes de conduite **p.16**

III.3.2.3. Procédure de nettoyage **p.17**

III.3.2.4. Répétabilité des procédés **p.17**

III.3.2.5. Etude de la perméabilité des membranes de microfiltration **p.17**

III.3.3. Pasteurisation et reconstitution..... p.17

IV. ETUDE DU TRAITEMENT ENZYMATIQUE..... p.19

IV.1. Caractérisation des préparations enzymatiques utilisées..... p.19

IV.2. Optimisation du traitement enzymatique..... p.20

IV.2.1. Effet sur la viscosité et la teneur en pulpe..... p.20

IV.2.2. Effet sur la composition chimique..... p.20

IV.2.3. Analyse sensorielle..... p.21

IV.2.4. Conclusion..... p.22

V. COUPLAGE TRAITEMENT ENZYMATIQUE ET MICROFILTRATION..... p.23

V.1. Etude sans concentration..... p.23

V.1.1. Recherche des conditions opératoires..... p.23

V.1.1.1. Conditions du traitement enzymatique..... p.23

V.1.1.2. Pression transmembranaire et vitesse tangentielle..... p.24

V.1.2. Bilan de l'étude des variables opératoires..... p.26

V.2. Etude avec concentration..... p.26

VI. EVALUATION DE LA QUALITE DES PRODUITS OBTENUS..... p.28

VI.1. Analyses physico-chimiques..... p.28

VI.2. Analyse des arômes..... p.29

VI.4. Analyse sensorielle des jus d'orange reconstitués..... p.31

VII. ANALYSE DU COÛT DE REVIENT DU JUS D'ORANGE RECONSTITUE. p.33

VIII. CONCLUSION..... p.35

I. INTRODUCTION

Le Brésil est le premier producteur mondial de jus d'orange concentré. Paradoxalement, les Brésiliens consomment préférentiellement le jus d'orange pressé à la main. Mais, actuellement, un accroissement de la consommation du jus d'orange pasteurisé a été observé. La pasteurisation reste le procédé industriel classique de stabilisation du jus d'orange, même si elle entraîne le changement de certaines caractéristiques du jus (composition aromatique, perte de vitamine C).

Les techniques membranaires, comme la microfiltration déjà utilisée pour d'autres jus de fruits avec succès, permettent de stabiliser les jus de fruits à froid, préservant ainsi les composés thermosensibles du jus. Néanmoins, l'application de cette technique reste limitée dans l'industrie du jus d'orange. Pourtant, certains industriels semblent s'intéresser à cette nouvelle forme de stabilisation du jus d'orange qui peut être précédée d'un traitement enzymatique capable de diminuer la viscosité du jus et donc d'augmenter le taux de filtration.

Ainsi ce travail a pour but d'étudier à l'échelle semi-industrielle l'impact d'un traitement enzymatique, couplé à la microfiltration tangentielle, sur les caractéristiques physico-chimiques des produits obtenus (hydrolysat, perméat et rétentat). Tout d'abord, nous aborderons quelques généralités sur le jus d'orange en insistant sur les aspects économiques, biochimiques et technologiques. Après présentation des différents procédés et méthodes d'analyses utilisés au cours de cette étude, les résultats du traitement enzymatique du jus d'orange et de la microfiltration tangentielle seront commentés. Le perméat stérile et le rétentat préalablement pasteurisé seront mélangés dans différentes proportions afin de reconstituer du jus d'orange. Les caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques du jus obtenu seront comparées à celles d'un jus d'orange pasteurisé. Enfin, le coût de revient d'un jus d'orange élaboré par couplage traitement enzymatique et microfiltration tangentielle sera évalué et discuté par rapport à celui du jus d'orange pasteurisé.

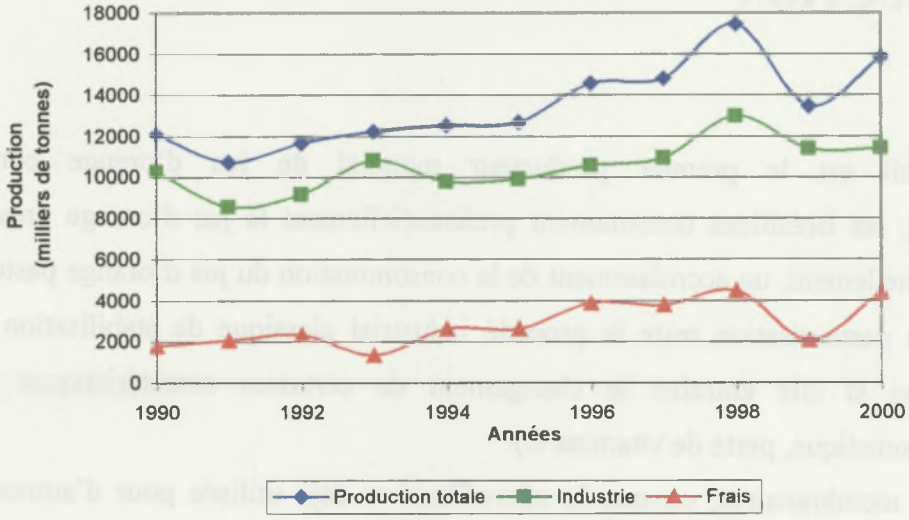
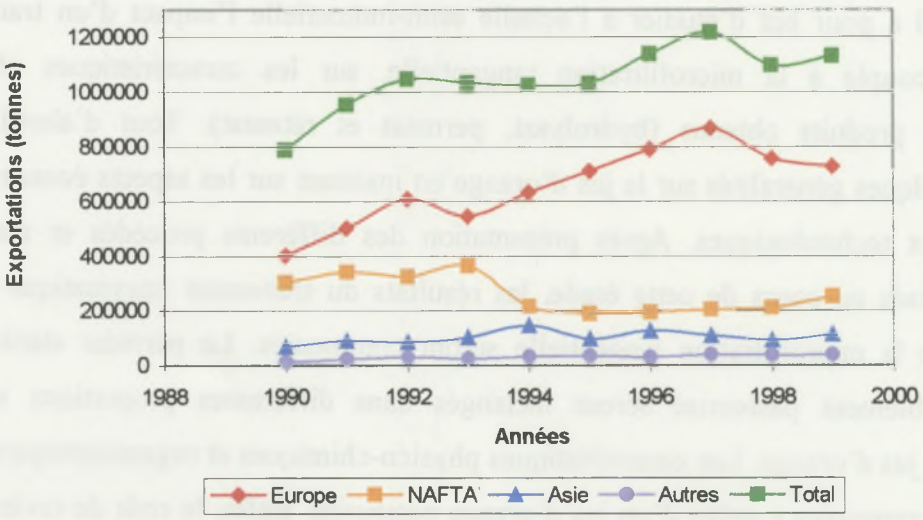


Figure 2 : Production d'orange pour l'industrie des jus et la consommation en frais dans l'état de São Paulo (ABECITRUS, 2001)



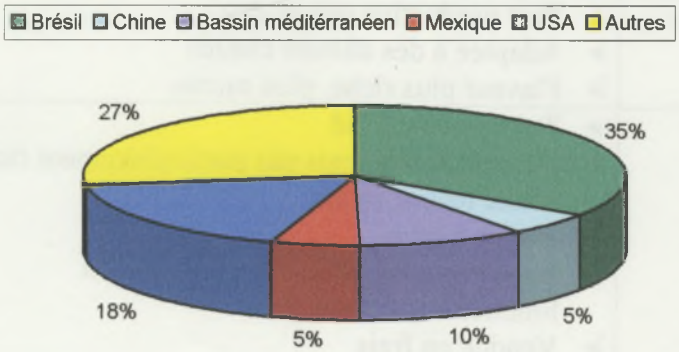
NAFTA : USA, Canada, Mexique

Figure 3 : Exportations de jus d'orange concentré congelé pour l'état de São Paulo (ABECITRUS, 2001).

II. GENERALITES SUR LE JUS D'ORANGE

II.1. SITUATION ECONOMIQUE DU JUS D'ORANGE

La production d'orange représente 63% de la production mondiale d'agrumes et 95% de la production brésilienne d'agrumes. Les Etats-Unis et le Brésil produisent à eux seuls 52% de la production mondiale d'orange (34% pour le Brésil et 18% pour les Etats-Unis) (FAO, 2001). La production mondiale d'orange n'est pas homogène et se distribue entre un nombre restreint de pays producteurs (**Figure 1**).



Bassin méditerranéen : Espagne, Grèce, Italie, Maroc

Figure 1 : Part des différents pays producteurs d'orange dans la production mondiale en 2000 (FAO, 2001)

Les Etats-Unis sont les principaux exportateurs de jus d'orange au niveau mondial. Quelques pays européens (Allemagne, Belgique, Luxembourg, Pays-Bas) importent le concentré congelé qu'ils utilisent pour reconstituer le jus d'orange, exporté vers d'autres pays. Le Brésil détient moins de 1% des exportations mondiales de jus d'orange, mais il est loin devant les autres pays en exportations de jus d'orange concentré congelé, totalisant 85% des exportations mondiales (contre 7% pour les Etats-Unis). Actuellement, nous assistons à une augmentation des exportations de jus d'orange qui totalisent 77% des exportations de jus de fruits au Brésil (FAO, 2001). Les principaux pays importateurs sont les pays européens (Pays-Bas, Belgique – Luxembourg, France, ...). Mais, les Etats-Unis restent encore le principal importateur de jus d'orange concentré congelé avec 55% des importations mondiales.

La production d'orange ne s'étale pas d'une façon uniforme sur tout le territoire brésilien, mais essentiellement dans l'état de São Paulo (**Figure 2**). Les oranges produites sont destinées, à plus de 72%, à l'industrie des jus et le reste au marché brésilien des fruits frais (ABECITRUS, 2001). Le secteur des jus dans l'état de São Paulo est dominé par de grands groupes tels que : CITROSUCO,

Tableau 1 : Différentes variétés d'orange cultivées au Brésil

(SAUNT, 1990 ; SOBRINHO, 1997)

Groupe	Variétés	Caractéristiques	Plants cultivés dans l'état de São Paulo (en %)
Oranges Navels	*Bahia* (ou *Washington*)	➢ Arbre de taille moyenne ➢ Pauvre adaptabilité aux conditions climatiques extrêmes ➢ Moyennement juteuse ➢ Flaveur fine, riche, sucrée et avec une acidité modérée	-
	Bahianinha	➢ Plus productive que *Bahia* ➢ Adaptée à des climats chauds ➢ Flaveur plus riche, plus sucrée	-
Oranges communes	*Hamlin*	➢ Tolérante au froid ➢ Flaveur sucrée mais pas particulièrement riche ➢ Haute teneur en jus ➢ Peu de pépins ➢ Jus de couleur pâle, à haute teneur en limonène ➢ Vendue en frais	4
	Natal	➢ Semblable à *Valencia* ➢ Maturation tardive	14
	Pêra	➢ Arbre vigoureux et très productif ➢ Cultivée dans l'état de São Paulo surtout ➢ Faible acidité ➢ Contenu élevé en jus ➢ Utilisée dans l'industrie des jus	36
	Valencia	➢ Haute teneur en jus ➢ Bonne flaveur ➢ Très adaptée à l'industrie des jus	14
	Westin	➢ Très productive ➢ Haute teneur en jus ➢ Flaveur riche avec un bon niveau d'acidité ➢ Bonne couleur du jus	1,4
Oranges sans acidité	*Lima*	➢ Très populaire au Brésil pour la consommation en frais	-

CUTRALE, COINBRA, CARGILL, CAMBUHY, CITROVITA, BASCITRUS,... (LOEILLET, 1997). Actuellement, l'état de São Paulo est le premier exportateur de jus d'orange concentré congelé vers l'Europe, les Etats-Unis et l'Asie, principalement (**Figure 3**). Le Brésil a exporté, en 2000, 64% de jus d'orange concentré congelé vers l'Europe, 22% vers le NAFTA (USA, Canada et Mexique), 10% vers l'Asie et 4% vers d'autres marchés (ABECITRUS, 2001).

II.2. ANATOMIE DE L'ORANGE ET DIFFERENTES VARIETES

L'orange (*Citrus sinensis,* orange douce) appartient à la famille des *Rutaceae*, sous-famille *Aurantoideae*, sous-tribu *Citrinae*, genre *Citrus,* sous-genre *Eucitrus*. Les oranges sont de forme et couleur variables, oblongue à sphérique, du jaune verdâtre terne à l'orange foncé brillant, à maturité. Leur taille est également très variable, de quelques dizaines de grammes à plusieurs kilogrammes selon les espèces et les variétés (PRALORAN, 1971). L'écorce est en général assez épaisse par rapport à la taille du fruit et peut même constituer la majeure partie de celui-ci. La partie colorée de cette écorce intéresse tout l'épicarpe et le mésocarpe externe, elle est appelée « flavédo » ; le mésocarpe interne, beaucoup plus épais, est une masse généralement blanchâtre de texture spongieuse : « l'albédo » (**Figure 4**). Le flavédo contient des glandes à huiles essentielles plus ou moins nombreuses, de forme et de grosseur variables, en légère saillie (convexes) ou dépression (concaves) par rapport à la surface de l'écorce.

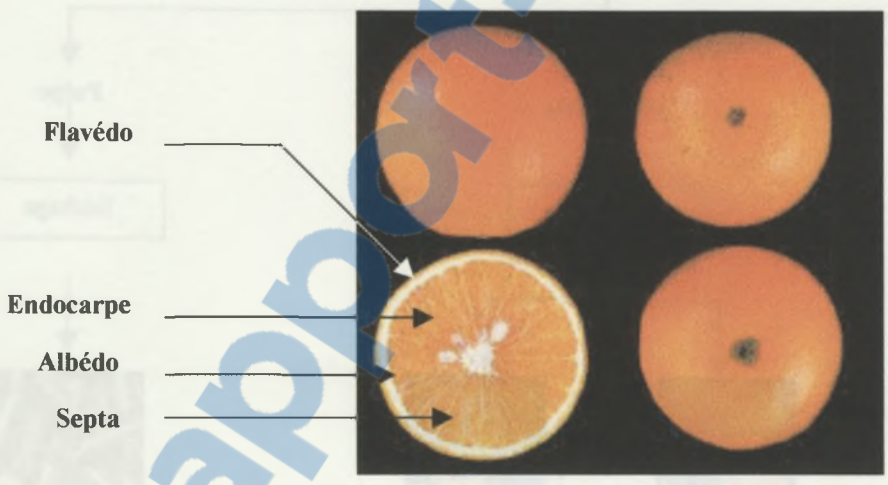


Figure 4 : Anatomie de *Citrus sinensis* (ULTIMATE CITRUS, 2002).

L'endocarpe est constitué de poils à jus contenus dans une mince membrane formée à partir de l'épiderme interne des carpelles (septa), le séparant en quartiers bien différenciés et se détachant généralement aisément les uns des autres. Ces quartiers sont en nombre variable, de 9 à 11 (PRALORAN, 1971).

Rapport-Gratuit.com

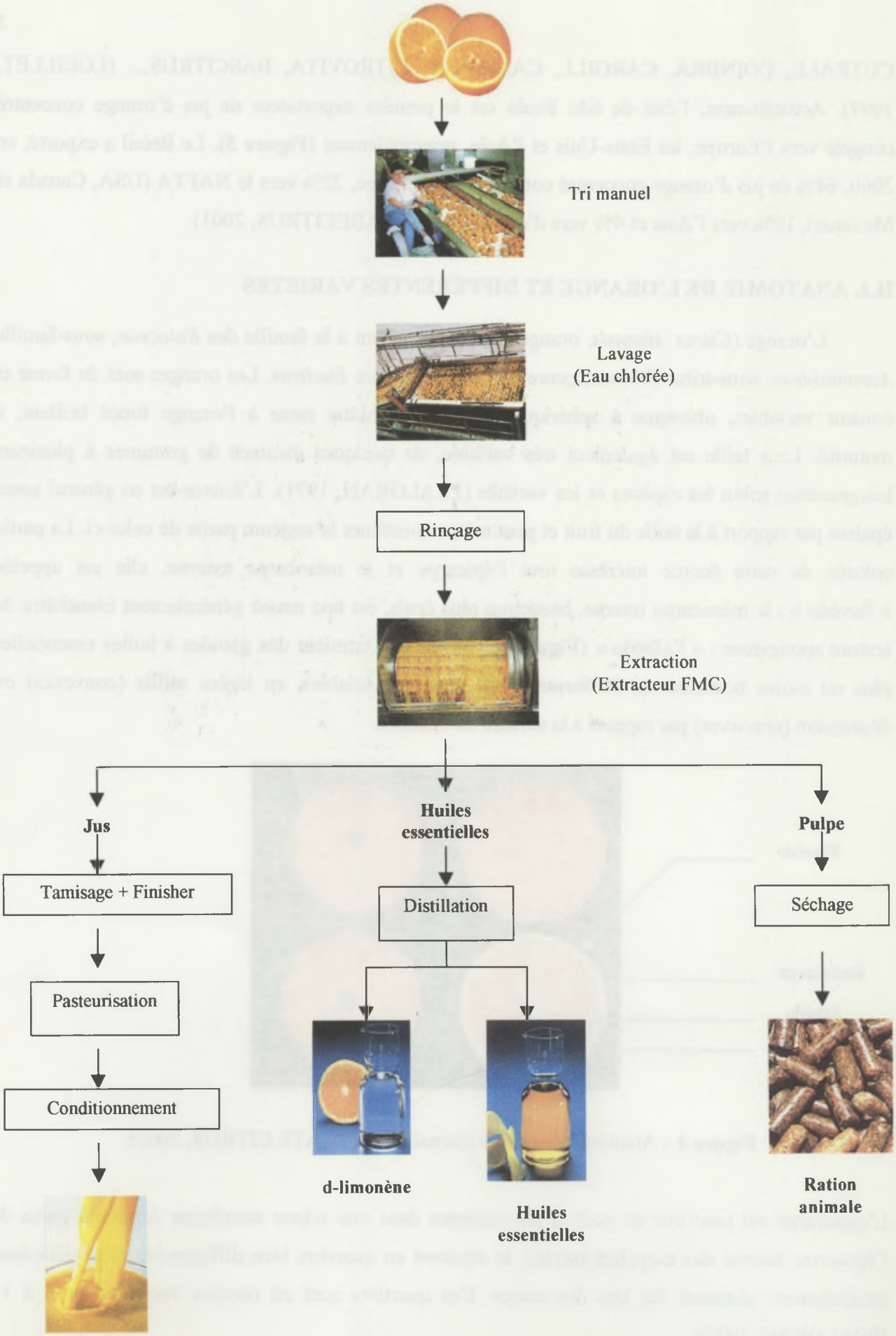


Figure 7 : Schéma général des principales voies de valorisation de l'orange

Citrus sinensis est de loin l'espèce du genre *citrus* la plus importante. On distingue en général 4 groupes : les oranges blondes navel, les oranges blondes, les oranges sanguines et les oranges sans acidité. Le **Tableau 1** présente les différentes variétés d'oranges cultivées au Brésil.

II.3. PRODUCTION INDUSTRIELLE DE JUS D'ORANGE

Actuellement, l'appareil le plus utilisé pour l'extraction du jus d'orange est l'extracteur FMC (*Food Machinery Corporation*) (**Figure 5**). Cet appareil ne nécessite pas le calibrage du fruit et permet de traiter les fruits à une cadence élevée (120 à 200 fruits par minute).

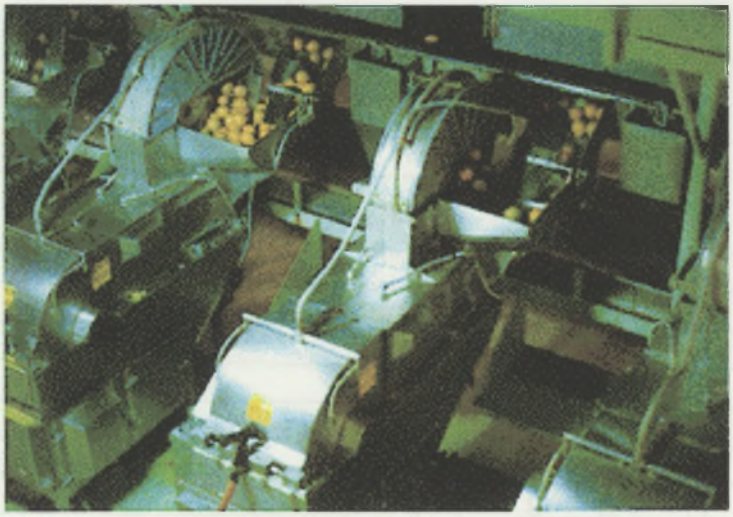


Figure 5 : Extracteur FMC (ULTIMATE CITRUS, 2002).

Avec ce type d'extracteur, le fruit est emprisonné entre deux mâchoires métalliques. Une canule pénétrant verticalement dans le fruit permet de récupérer le jus lorsque les deux mâchoires se referment, exerçant ainsi une pression sur le fruit. D'autre part, les huiles essentielles contenues dans les glandes à huile présentes dans le flavédo sont récupérées séparément (BALI, 1991) (**Figure 6**). Le jus est débarrassé de ces grosses particules en suspension après les opérations de tamisage – finisher (tamisage plus fin) et centrifugation. Il sera par la suite pasteurisé avant d'être soit conditionné soit concentré dans des évaporateurs. Après extraction, les huiles essentielles sont distillées pour récupérer le d-limonène, un terpène utilisé notamment comme solvant pour les peintures. Enfin, la pulpe restante est séchée et peut être utilisée pour l'alimentation animale (**Figure 7**).

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

Tableau 2 : Composition moyenne du jus d'orange frais non sucré (en matière fraîche) (FAVIER *et al.*, 1993).

Constituants	Unité	Moyenne	Minimum	Maximum
Eau	g/100g	89,3	86,7	89,6
Protéines	g/100g	0,7	0,5	1,0
Lipides totaux	g/100g	0,2	0,08	0,22
Glucides disponibles	g/100g	8,3		
Fructose	g/100g	2,5	1,9	3,6
Glucose	g/100g	2,2	1,7	3,4
Saccharose	g/100g	3,6	1,6	5,0
Minéraux				
Potassium	mg/100g	182 ,0	166,0	200,0
Calcium	mg/100g	17,0	5,0	35,0
Magnésium	mg/100g	11,0	10,0	12,0
Phosphore	mg/100g	16,0	14,0	22,0
β carotène	µg/100g	70,0	20,0	120,0
Vitamine C	mg/100g	44,0	15,0	77,0
Acide citrique	mg/100g	1045,0	960,0	1350 ,0

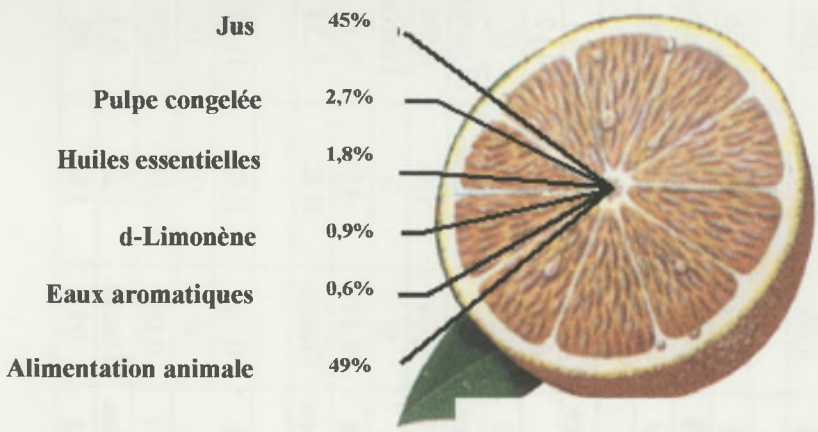


Figure 6 : Principaux produits récupérés et rendement industriel de l'orange (ABECITRUS, 2002).

H.4. COMPOSITION CHIMIQUE DU JUS D'ORANGE

Selon la définition légale, un jus de fruit est le produit naturel obtenu par procédé mécanique à partir de fruits frais sains et mûrs, n'ayant pas subi de fermentation.

Le jus d'orange est constitué en grande partie d'eau (80-90 %), de glucides simples (sucres totaux, comme le glucose, le fructose et le saccharose) et de polysaccharides (substances pectiques majoritairement, cellulose et hémicellulose). Ce sont les substances pectiques qui sont responsables de la nature colloïdale du jus. Les acides organiques présents dans le jus d'orange sont principalement les acides citrique, isocitrique et malique. L'acide citrique est responsable de l'acidité du jus d'orange (**Tableau 2**). La couleur du jus d'orange est due à un mélange complexe de caroténoïdes (lutéine majoritairement et zeaxanthine, cryptoxanthine, β carotène minoritaires) (HEINONEN *et al.*, 1989).

Le profil aromatique du jus d'orange varie selon la variété et le mode d'extraction du jus : en effet, au cours de l'extraction, une quantité plus ou moins importante d'huiles essentielles du flavédo peut être incorporée dans le jus. La flaveur délicate et fraîche du jus d'orange se modifie facilement sous l'effet de la chaleur pendant le traitement mais aussi au cours du stockage. Le jus subit des changements de composition qui invariablement causent une altération de la flaveur originelle et de l'arôme du jus frais. Les composés volatiles importants pour la flaveur du jus frais sont les esters et les aldéhydes (NISPEROS-CARRIEDO, SHAW, 1990) (**Tableau 3**).

L'acétate d'éthyle, le butyrate de méthyle et le butyrate d'éthyle contribuent à la note principale de la flaveur des fruits. Le butyrate d'éthyle est généralement l'ester majoritaire dans les jus d'orange et il contribue de façon importante à la flaveur caractéristique des produits à base d'orange. Dans

Tableau 3 : Constituants volatils identifiés dans le jus d'orange (NISPEROS-CARRIEDO, SHAW, 1990.)

	Fruit frais	Pur jus		Concentré		Reconstitué à base de concentré			
Composé (ppm)	**Moyenne**	**Pressé non pasteurisé**	**Pasteurisé**	**JOCC ***	**Concentré aseptique**	**Verre**	**Carton**	**Aseptique**	**Canette**
Aldéhydes									
Acétaldéhyde	11	11	8,7	5,0	1,73	1,7	5,8	11,5	2,46
Hexanal	0,14	0,02	0,26	0,11	0,02	0,09	0,06	0,07	0,01
Octanal	0,009	0,01	0,36	0,74	0,27	0,35	0,35	0,22	0,16
Décanal	0	Traces	0,1	0,53	0,39	0,34	0,05	1,57	0,09
Esters									
Acétate d'éthyle	0,20	1,8	0,19	0,09	0,08	0,05	0,09	0,2	0,06
Butyrate de méthyle	0,03	0,10	0,04	0,02	Traces	0,008	0,009	0,01	Traces
Butyrate d'éthyle	0,54	0,56	0,71	0,25	0,04	0,29	0,05	0,08	0,04
Alcools									
Méthanol	38	101	25	7,7	8,5	Traces	16	21	4,5
Ethanol	420	256	368	189,3	252	82	242	453	117
2-méthyl-1-propanol	0,02	0,03	0,05	0,04	0	0,03	0,01	0,02	0
Hexanol	0,12	0,87	Traces	Traces	Traces	Traces	Traces	Traces	Traces
Cis-3-hexénol	0,29	0,16	0,18	0,59	0,41	0,37	0,04	1,9	0,96
Trans-2-hexénol	0,02	0,20	0	0,4	0	0	0	0	Traces
Linalol	Traces	Traces	0,34	0,89	1,0	0,98	0,74	4,8	0,58
α-terpinéol	Traces	Traces	Traces	Traces	Traces	Traces	Traces	0,82	1,24
Hydrocarbures									
α-pinène	0,10	0,94	1,5	2,1	0,89	2,0	0,91	0,02	0,48
Sabinène	0,02	0,04	0	0,19	0	0	0	0	0
γ-terpinène	0,15	0,10	0,15	0,16	0,52	0,14	0,05	0,06	0,25
Valencène	8,0	7,7	4,2	2,2	Traces	Traces	Traces	0,27	0,3
limonène	40	105	155	160	130	180	95	130	95

* JOCC : jus d'orange concentré congelé

les jus d'orange industriels, la teneur en butyrate d'éthyle est moins importante ce qui justifie le manque de note principale fruitée dans ces jus.

Le *cis*-3-hexénol et le *trans*-2-hexénol contribuent d'une façon importante à la note verte, de feuille dans l'orange fraîche. Le *trans*-2-hexénol a une flaveur plus douce et plus fruitée que le *cis*-3-hexénol.

L'α-terpinéol est un produit de dégradation du limonène, le principal constituant de l'huile essentielle d'orange, et il contribue à des « off-flavors » dans le jus d'orange.

L'α-pinène est un constituant de l'huile essentielle contenue dans la peau de l'orange : il a une contribution positive à la flaveur du jus d'orange. Le sabinène et le γ-terpinène sont des composés de l'huile essentielle de la peau de l'orange, leur importance dans la flaveur du jus d'orange est mal connue. Le γ-terpinène a un arôme de *citrus* alors que le sabinène a une flaveur et un arôme chaud et épicé. Le valencène est un composé trace de l'huile essentielle de la peau d'orange et possède un fort arôme de *citrus* qui contribue à la flaveur du jus d'orange.

Le limonène est le deuxième composé volatile le plus important dans le jus d'orange, après l'éthanol. Il contribue fortement à la flaveur du jus (NISPEROS-CARRIEDO, SHAW, 1990).

La quantité des composés volatiles dans le jus d'orange change en fonction du traitement subi par les jus. Le profil du jus fraîchement pressé et non pasteurisé est proche de celui du jus d'orange frais. La pasteurisation ou les traitements thermiques modérés causent de légers changements dans la composition des composés volatiles de la flaveur.

II.5. LES JUS PRODUITS PAR TECHNIQUES MEMBRANAIRES

Les techniques classiques d'élaboration des jus de fruits nécessitent un certain nombre de traitements dont les opérations unitaires sont plus ou moins complexes (pressage, tamisage, centrifugation, clarification, désaération, pasteurisation et conditionnement). Avec le développement de nouveaux procédés membranaires comme la microfiltration tangentielle sur membrane minérale, il est possible de réduire le nombre d'étapes de fabrication du jus et de diminuer le coût global du procédé d'extraction (BALI, 1991). La microfiltration tangentielle (MFT) constitue une stabilisation microbiologique qui évite la dégradation des jus de fruits et offre la possibilité d'obtenir de nouveaux produits à base de jus de fruits (LOZANO, 1992).

II.5.1. Intérêts de la microfiltration tangentielle

Les applications industrielles de ce procédé de clarification sont nombreuses : clarification des boissons alcoolisées, comme le vin ou le cidre et de boissons non alcoolisées, comme les jus de fruits : pomme, kiwi, fruit de la passion, orange (DECLOUX, PROTHON, 1998). La microfiltration tangentielle offre la possibilité de concentrer, fractionner et/ou purifier des fluides, générant 2 flux

Tableau 4 : Résumé des différents essais de microfiltration tangentielle appliqués au jus d'orange

Membrane (géométrie)	**Diamètre de pore ou seuil de coupure**	**T °C**	**Ptm (bar)**	**U ($m.s^{-1}$)**	**Prétraitements**	**Densité de flux de perméat moyenne ($L.h^{-1}.m^{-2}$) (mode recirculation)**	**Références**
Céramique (tubulaire)	0,2 µm	30°C	3	3,5	Aucun Enzymatique (pectinases et hémicellulases)	80 110	BALI, 1991
Organique (tubulaire)	80 kD	40°C	4	7	Aucun	100	CAPANNELLI, BOTTINO *et al.*, 1992
Céramique (tubulaire)	80 kD	40°C	4	5 5 6	Aucun	45 30 50	CAPANNELLI, BOTTINO *et al.*, 1994
Organique (tubulaire)	0,3 µm	40°C	0,3-0,7	0,8-2,1	Aucun	5-20	TODISCO, 1996
Céramique (tubulaire)	0,1 µm	30°C	2,4	7,7	Aucun	40	VENTURINI, 1999

qui sont différents par leurs caractéristiques physico-chimiques (rétentat et perméat) tout en utilisant des températures basses (maximum 50°C), minimisant ainsi la dégradation thermique des produits (stérilisation à froid). Le procédé peut être continu et automatisé, ce qui permet de réduire le travail et les coûts de production (en réduisant le stockage) et minimiser le temps de mise en route. Cela permet en outre la réduction des coûts de matériel et de traitement d'effluents (GIRARD, FUKUMOTO, 2000). La microfiltration tangentielle permet donc avant tout de réduire les étapes de fabrication et de produire un jus exempt de micro-organismes en évitant ainsi la pasteurisation (BALI, 1991).

II.5.2. Résultats antérieurs obtenus avec du jus d'orange

La filtration tangentielle du jus d'orange a fait l'étude de quelques publications. Néanmoins, les résultats se réfèrent souvent à l'application de la microfiltration tangentielle à l'échelle pilote de laboratoire (**Tableau 4**). A l'opposé de la filtration frontale, la filtration en flux tangentiel consiste à faire circuler le liquide à filtrer parallèlement à une membrane semi-perméable et en lui appliquant à la fois une pression et une vitesse de circulation donnée (BALI, 1991) (**Figure 8**).

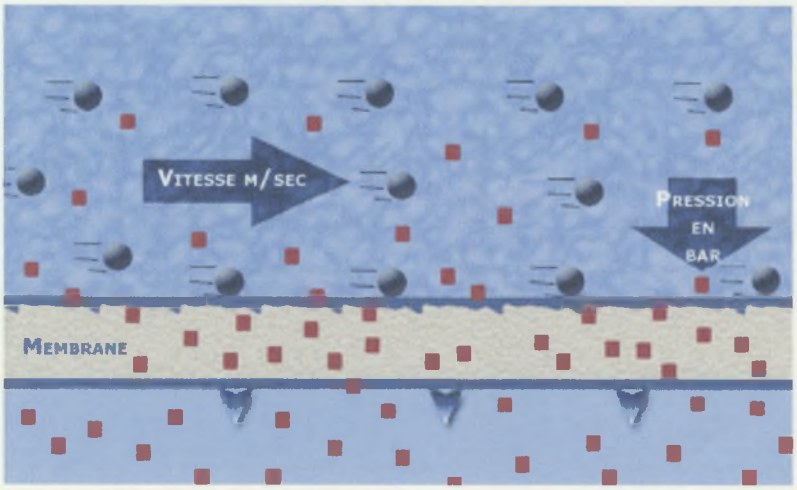


Figure 8 : Principe de la microfiltration tangentielle (TIA, 2002)

II.5.2.1. Types de membranes utilisées

Il existe 4 générations de membranes :

- la première génération, constituée de cellulose et de durabilité limitée ;
- la deuxième génération, constituée de polymères synthétiques, comme le polyamide, le poly-imide, le polysulfone, le polypropylène, les esters de cellulose et le nylon entre autres. Ces membranes sont appelées membranes organiques ;
- la troisième génération, céramique ou inorganique, constituée d'alumine ou de zircone. Elles peuvent être stérilisées, supportent des pH extrêmes, mais sont chères ;
- la quatrième génération, en fibres de carbone (GIRARD, FUKUMOTO, 2000).

Les membranes ont donc une large variété de structure physique (dense ou poreuse) et d'origine. Elles peuvent être organiques, inorganiques, mixtes, homogènes ou à structure asymétrique (**Figure 9**). Les membranes utilisées en milieu industriel en microfiltration tangentielle sont le plus souvent inorganiques (céramiques).

Figure 9 : Différents types de membranes (TIA, 2002)

Les membranes céramiques sont composées d'un support macroporeux qui assure la résistance mécanique et qui est en général composé de carbone, d'alumine, de métal ou de silico-aluminate, et d'une couche active qui est faite à partir d'oxydes métalliques, de verre ou de carbone. Les principales membranes inorganiques commercialisées sont réalisées avec des supports composés d'éléments tubulaires ou multicanaux, et généralement préparées par extrusion (COMBES, 1998).
De nombreuses sociétés, comme TAMI Industries (Nyon, France) et PCI Membranes Systems Inc. (Cincinnati, USA), fabriquent et commercialisent des membranes céramiques.
En industrie, les membranes céramiques sont de plus en plus utilisées car elles présentent de nombreux avantages :

- une grande résistance physico-chimique (cycle de nettoyage intensif avec pH extrêmes et températures élevées) (VAILLANT, 2000) ;
- une bonne résistance mécanique (emploi de fortes pressions) ;
- une inertie chimique vis-à-vis des composés organiques (BALI, 1991) ;
- un investissement supérieur, mais une durée de vie plus longue ;
- des coûts d'entretien et de remplacement plus faibles à la longue (VAILLANT, 2000).

II.5.2.2. Variables opératoires de la microfiltration tangentielle

Les variables opératoires à considérer en microfiltration tangentielle sont : la vitesse tangentielle (U, en $m.s^{-1}$), la pression transmembranaire (Ptm, en bar) et la température (T, en °C). Une augmentation de la pression transmembranaire influence la densité de flux de façon variable et complexe. En effet, on peut observer, pour quelques produits, soit un phénomène de pallier soit une pression transmembranaire maximum au delà de laquelle les performances diminuent. La vitesse

tangentielle semble avoir en général, pour les jus de fruits, un effet bénéfique sur le flux, c'est-à-dire qu'un accroissement de la vitesse tangentielle a pour conséquence une augmentation du flux. Egalement, une élévation de la température induit toujours une amélioration sensible des performances de filtration, mais avec des répercussions sur la qualité des produits obtenus (perte de composés aromatiques et de vitamine C) (VAILLANT, 2000).

II.5.3. Rôle des enzymes dans la microfiltration tangentielle

Le jus d'orange est riche en pectines partiellement méthylées qui sont responsables de la stabilisation du trouble du jus et de sa viscosité. Le producteur de jus veut avoir un rendement important en jus avec un maximum de productivité tout en conservant la qualité et la stabilité du produit final obtenu. L'ajout d'enzymes dépéctinisantes peut alors diminuer la viscosité du jus en hydrolysant les pectines solubles. Ces enzymes, utilisées pour la première fois en 1930, se sont développées ces 20 dernières années sous forme de préparations enzymatiques contenant des pectinases, des cellulases et des hémicellulases qui agissent de manière synergique sur les tissus de fruit. Les pectinases produites à partir d'*Aspergillus niger*, sont principalement constituées d'activités pectine-méthyle-estérase, polygalacturonase et pectine-lyase, mais des activités d'arabinase, de rhamnogalacturonase, de cellulase, de galactomannanase peuvent aussi être rencontrées dans ces préparations (FAIGH, 1995).

Les pectinases font donc partie de l'industrie des jus et en 1995, leurs ventes représentaient 75 millions de dollars, soit 7,5% des ventes totales d'enzymes. En 2005, la prévision des ventes est de 1,7 à 2 milliards de dollars (USD) (KASHYAP *et al.*, 2001).

Certaines pectinases ont déjà été utilisées afin de diminuer la viscosité du jus d'orange : Rapidase (DSM FOOD, BALI, 1991) et Rapidase Citrus 2000 (DSM FOOD, KASHYAP *et al.*, 2001).

Rapport-Gratuit.com

Tableau 5 : Composition des différents lots de jus d'orange utilisés, avant congélation

	Lot 1 (Rio de Janeiro)	**Lot 2 (Botucatu)**
	Moyenne *	Moyenne *
Utilisation	Traitement enzymatique	Couplage traitement enzymayique et microfiltration tangentielle
pH	3,75	3,84
Brix	10,1	10,8
Acidité (g acide citrique/100g)	0,96	0,79
Teneur en vitamine C (mg/100g)	119,0	77,0
Teneur en pulpe (g/100g)	7,4	6,2
Viscosité (mPa.s)	3,4	1,7
Matière sèche totale (g/100g)	-	9,5
Cendres (g/100g)	-	0,6
Glucose (g glucose/100 mL)	1,5	-
Fructose (g fructose/100 mL)	2,1	-
Sucres réducteurs (g glucose/100 mL)	-	5,5
Sucres réducteurs totaux (g glucose/100 mL)	-	7,7
Teneur en saccharose (g saccharose/100g)	4,6	2,2
Couleur	-	0,44
Turbidité (NTU)	-	310

* Valeurs moyennes obtenues sur 2 échantillons

III. MATERIELS ET METHODES

III.1. CARACTERISATION DE LA MATIERE PREMIERE

III.1.1. Obtention du jus d'orange

Notre étude a été réalisée en deux parties : étude du traitement enzymatique, effectuée au CTAA (Centre Technologique Agro-Alimentaire) de l'EMBRAPA (Entreprise Brésilienne de Recherche Agronomique) à Guaratiba, Rio de Janeiro et étude de la microfiltration tangentielle du jus d'orange hydrolysé par traitement enzymatique, effectué à la FCA (Faculté des Sciences Agronomiques) de l'UNESP (Université de São Paulo) à Botucatu, état de São Paulo, au Brésil.

Au cours de notre étude, le Brésil subissait un rationnement d'énergie. Il ne nous donc pas été possible de produire le jus d'orange, mais nous avons acheté les oranges de la variété « *Pêra* » chez la société HORTIFRUTI (Leblon, Rio de Janeiro, Brésil). Cette société s'est chargée de la désinfection des oranges par aspersion de solution d'ammonium quaternaire, suivie d'un rinçage à l'eau claire et du pressage des oranges. Le jus obtenu (**lot 1**) a été réparti en aliquotes de 4 litres et stocké en chambre froide à – 22°C.

Pour la suite de nos travaux, le jus d'orange nous a été cédé par la société FRUTHIL de São Carlos, état de São Paulo, Brésil. Ce jus obtenu par pressage d'oranges de la variété « *Pêra* » a été prélevé sur la ligne de production avant sa pasteurisation (**lot 2**). Le jus d'orange a été stocké en aliquotes de 10 L à –18°C.

III.1.2. Principales caractéristiques du jus d'orange

Au cours de l'étude, différents lots de jus d'orange ont été utilisés : **lot 1** (Rio de Janeiro), utilisé pour l'étude du traitement enzymatique avec CLAREX CITRUS 8 XL seul et en association avec RAPIDASE TF et **lot 2** (Botucatu) utilisé pour l'étude de la microfiltration tangentielle, pasteurisation et reconstitution. La composition de ces différents lots est résumée dans le **Tableau 5**.

Le **lot 1** a une teneur en pulpe plus élevée que le **lot 2**, en effet, le jus d'orange de Rio de Janeiro n'a pas subit l'étape de « finisher » après son extraction. Par conséquent, la viscosité du jus de Rio de Janeiro est plus élevée. Les valeurs de l'acidité des **lots 1** et **2** sont plus basses que les valeurs indiquées par la bibliographie (**Tableau 4**). Ceci sans doute dû à une différence variétale.

Les valeurs de la vitamine C du **lot 1** semblent très élevées par rapport à celles du **lot 2** ou de la bibliographie. Encore une fois, on peut penser à une différence variétale ou alors une différence de degré de maturité des fruits utilisés pour l'extraction du jus d'orange.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

Tableau 6 : Principales méthodes d'analyses utilisées pour la caractérisation du jus d'orange

Valeur mesurée	Notation	Méthode	Matériel	Unité	Références
Extrait sec soluble	ESS	Réfractométrie	Réfractomètre type CAMPO ATAGO	g/100g	INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985
Acidité titrable	AT	Titrimétrie		g d'acide citrique/100g	INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985
pH à 20°C	pH		pH-mètre MICRONAL B374, numérique	Unité pH	INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985
Vitamine C		Titrimétrie (2,6 Diclorophénolindophénol)		mg/100g	ANDERSON *et al.* 1998, SILVA, 1999
Matière sèche totale	ST	Séchage à l'étuve (100°C, 12 h)	Etuve	g/100g	INSTITUT ADOLFO LUTZ, 1985
Teneur en pulpe		Centrifugation 3500g/15 min puis pesée du culot	Centrifugeuse FANEM Excelsa Baby II Modèle 206-R	g/100g	REED *et al.*, 1986
Viscosité apparente (à 20°C)	μ		Viscosimètres BROOKFIELD DV-II, RHEOMAT 30 CONTRAVES	mPa.s	INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985
Cendres		Calcination de la matière sèche totale au four à moufles, 4 h, T = 500 °C	Four à moufles	g/100g	INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985
Sucres réducteurs	AR	Méthode LANE-EYNON		g glucose/100mL	CECCHI, 1999
Sucres réducteurs totaux	ART	Méthode LANE-EYNON après hydrolyse acide (HCl concentré)		g glucose/100mL	CECCHI, 1999
Couleur		Lecture de l'absorbance à 430 nm sur produit clair	Spectrophotomètre MICRONAL B382		EBC, 1987
Turbidité			Turbidimètre POLICONTROL AP1000II POLILAB	NTU	INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985

III.2. ANALYSES CLASSIQUES EFFECTUEES SUR LE JUS D'ORANGE

Les différents échantillons recueillis au cours de notre étude (jus d'orange initial, jus d'orange initial pasteurisé, hydrolysat, perméat, rétentat, rétentat pasteurisé et jus reconstitués) ont été analysés. Les principales méthodes d'analyses utilisées sont présentées dans le **Tableau 6**.

La teneur en pulpe est une méthode rapide et classiquement utilisée au laboratoire de l'EMBRAPA et à Botucatu. Elle permet de donner une estimation des solides insolubles en suspension dans les jus de fruits. Les résultats dépendent de la teneur en solides insolubles en suspension, mais aussi de la façon dont les produits sont hydratés car la méthode ne fait pas appel à un séchage du culot obtenu après centrifugation (3500 g pendant 15 min).

L'analyse de la couleur couramment utilisée à l'EMBRAPA de Rio de Janeiro est la méthode L, a ,b. Cette méthode utilise un appareil qui permet de mesurer la lumière réfléchie par une plage de l'échantillon éclairée par un faisceau de lumière blanche. Les mesures de la couleur ont été effectuées par le laboratoire d'analyse sensorielle de l'EMBRAPA. L'analyse de la couleur effectuée à Botucatu est couramment utilisée pour la bière et se base sur une lecture de l'absorbance de produits limpides. Les produits pulpeux (jus initial, rétentat et jus reconstitués) sont d'abord centrifugés à 3500 g pendant 15 minutes afin de récupérer le surnageant.

L'analyse de la teneur en glucose, fructose et saccharose a été réalisée par HPLC à L'EMBRAPA de Rio de Janeiro. La teneur en sucres à Botucatu a été estimée par la méthode de LANE-EYNON, qui permet d'évaluer la teneur en sucres réducteurs (glucose et fructose) et en sucres réducteurs totaux, obtenus après hydrolyse acide.

Le protocole utilisée pour l'analyse de la vitamine C a été mis au point pour l'acérole et le camu-camu, fruits qui possèdent de très importantes quantités de vitamine C. Les dilutions utilisées semblent ne pas être bien adaptées au jus d'orange.

III.2.1. Caractérisation des arômes

Les arômes présents dans les différents échantillons ont été analysés par chromatographie gazeuse après extraction par la méthode de l'espace de tête dynamique.

Cette méthode, rapide, simple et précise permet l'entraînement des composés volatils à l'aide d'un gaz inerte (ici l'hélium), puis concentration par adsorption physique sur un piège composé d'un adsorbant à base de charbon actif et de graphite (REKTORIK, Suisse).

La méthode suivie pour l'analyse est celle mise au point par COUREL (1999), à savoir, prendre un échantillon de 5 mL et compléter avec 15 mL d'eau distillée dans un flacon bouché hermétiquement qui est placé au bain-marie à 36°C pendant 15 minutes. Puis, ce flacon est placé dans une étuve à 36°C pendant 45 minutes en faisant barboter de l'hélium à un débit de 20 $mL.min^{-1}$. Les composés volatils à l'état gazeux sont alors entraînés jusqu'au piège où ils s'adsorbent. Les composés d'arôme

Tableau 7 : Répétabilité de l'analyse des arômes par la technique de l'espace de tête dynamique sur le jus d'orange initial (**lot 2**) réalisée sur 3 essais

Pics	Temps de rétention (minutes)	Surface moyenne des pics (mV/s)	CV* (%)
1	3,83	10347792	59,0
2	6,6	1809427	6,1
3	7,4	902102	11,6
4	8,5	1793078	18,1
5	9,8	730814	19,9
6	10,2	12390077	12,9
7	11,4	484867133	3,9
8	12,1	16042982	81,0
9	13,8	562004	16,2
10	14,6	132019	2,5
11	15,7	55194	7,2
12	16,6	484611	13,9
13	17,2	243407	9,7
14	18,5	241235	12,9
15	21,5	464088	13,6
16	21,9	435877	4,0
17	24,96	837967	9,3
18	25,05	1075444	11,8

*CV = Coefficient de variation

piégés sont alors désorbés par micro-ondes grâce à un injecteur - micro-onde (MICROWAVE SAMPLEX MW-1, REKTORIK, Suisse) et injectés dans un chromatographe en phase gazeuse VARIAN 3400 équipé d'une colonne capillaire DB-WAX (J&W SCIENTIFIC) de 60 m de long et 0,32 mm de diamètre interne. Le chromatographe est équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (T = 230 °C) qui permet la détection des composés d'arôme.

Un logiciel d'acquisition CHROM-CARD (FISON, France) permet le pilotage de l'appareil. L'intégration des chromatogrammes fournit les résultats de temps de rétention et d'aire de pic des composés élués.

La répétabilité du procédé a été étudiée : plusieurs injections de jus d'orange initial (**lot 2**) ont été réalisées et les aires des pics obtenus sur les chromatogrammes ont été comparées. Le coefficient de variation de l'aire des mêmes pics ne devant pas excéder 15%, précision généralement obtenue pour la répétabilité de cette méthode. Les résultats sont présentés sur le **Tableau 7**. La répétabilité n'a pas été obtenue sur tous les pics, mais elle a été vérifiée sur les principaux pics. Ces pics ont été, par la suite, sélectionnés pour comparer les profils aromatiques des différents produits (jus initial, jus pasteurisé, hydrolysat, perméat, rétentat, jus reconstitués).

III.2.2. Analyses sensorielles

Des tests organoleptiques ont été effectués au CTAA de Rio de Janeiro, puis à Botucatu.

Les différents tests d'évaluation ont fait appel à un jury de dégustation composé de 7 à 10 sujets. Avant chaque évaluation, les échantillons ont été ramenés à température ambiante, codés à l'aide de nombres à trois chiffres choisis au hasard et présentés simultanément aux sujets, dans des ordres différents. Les tests ont été réalisés séparément pour chacun des membres du jury, dans des cabines d'analyse sensorielle, sous lumière rouge. Les tests d'évaluation consistaient à noter sur une échelle ordinale l'intensité des descripteurs préalablement choisis.

Les membres du jury de Rio de Janeiro ont été entraînés pendant un mois. En effet, au cours d'une séance de « brainstorming », le jury s'est mis d'accord sur les adjectifs qualifiant le mieux un jus d'orange. Les descripteurs retenus ont été : *arôme caractéristique d'orange*, *arôme de peau d'orange*, *particules en suspension*, *goût sucré*, *goût acide*, *saveur caractéristique d'orange* et *saveur de peau d'orange*. Une échelle d'intensité a été réalisée pour chacun des descripteurs retenus :

Particules en suspension :

- ✓ 1 = jus d'orange initial (**lot 1**) débarrassé de ses particules par filtration à l'aide d'une passoire de ménage ;
- ✓ 9 = jus d'orange constitué de 125 g de pulpe d'orange pour 1,32 kg de jus initial et passé au mixeur pendant 10 minutes.

Tableau 8 : Résumé des méthodes de mesure des activités enzymatiques

Activités	Substrats	pH	T°C	Produits		Unité enzymatique (UE)	Références
				Nature	Dosage		
Endo-polygalacturonase (PG)	Acide polygalacturonique en tampon acétate (0,25% p/v)	4,5	35°C	Acide galacturonique insaturé	Absorbance à 540 nm	µmoles d'acide galacturonique insaturé apparues/min	COURI, 1993
Endo-pectine-lyase (PL)	Pectine de pomme (0,5% p/v)	5,5	35°C	Extrémités réductrices	Absorbance à 235 nm	µmoles de 4,5 uronate de glucose apparues/min	COURI, 1993
Pectine-méthyle-éstérase (PME)	Pectine de *citrus* (1% p/v)	7,0	25°C	Fonctions carboxyliques	Titrimétrie	nmoles d'acide/min	BOTRELLI, 2000
Endocellulase (Cx)	Carboxyméthylcellulose (0,4% p/v)	4,8	50°C	Extrémités réductrices	Absorbance à 540 nm	µmoles de glucose/min	GOMES *et al.*, 1992
Exocellulase (C1)	Cellulose	4,8	50°C	Extrémités réductrices	Absorbance à 540 nm	µmoles de glucose/min	COURI, 1993
Xylanase	Xylane (1% v/v)	5,2	60°C	Xylose	Absorbance à 540 nm	µmoles de xylose/min	GOMES *et al.*, 1992
α-amylase	Amidon (2% p/v)	5,2	37°C	Maltose	Absorbance à 540 nm	µmoles de maltose/min	MARTIN, 1980

Goût acide :

- ✓ 1 = jus d'orange initial (**lot 1**) ;
- ✓ 9 = jus d'orange initial contenant 0,3% d'acide citrique.

Arôme et saveur de peau d'orange : le jus d'orange, de part son procédé d'extraction contient une infime fraction d'huiles essentielles dont le composé majoritaire, le d-limonène contribue à l'arôme et la saveur que le jury a qualifié de « peau d'orange », terme qui regroupe les adjectifs amer, astringent et piquant.

- ✓ 1 = jus d'orange initial (**lot 1**) ;
- ✓ 9 = jus d'orange contenant un quart de concentré de peau d'orange obtenu en mixant les peaux de 8 oranges avec 200 mL de jus d'orange initial pendant 20 minutes.

Goût sucré :

- ✓ 1 = jus d'orange initial (**lot 1**) ;
- ✓ 5 = jus d'orange initial contenant 2% de saccharose ;
- ✓ 9 = jus d'orange initial contenant 4% de saccharose.

Saveur et arôme caractéristiques :

- ✓ 1 = jus d'orange initial chauffé pendant 60 minutes à 80°C ;
- ✓ 9 = jus d'orange initial (**lot 1**).

Les membres du jury de Rio de Janeiro ont été entraînés à goûter ces différents échantillons et à mémoriser les notes correspondantes aux échantillons goûtés. Après cet entraînement, les hydrolysats obtenus par traitement enzymatique ont été présentés aux membres du jury simultanément avec un jus de référence, le jus d'orange initial **lot 1.**

A Botucatu, les membres du jury n'ont pas été entraînés. Les descripteurs retenus ont été : *arôme et saveur caractéristiques*, *goûts sucré et acide* et *saveur de peau d'orange*. Les différents échantillons ont été présentés simultanément avec un jus de référence, le jus d'orange pasteurisé produit par la société FRUTHIL, provenant du même lot que le jus initial **lot 2**, et notés sur une échelle d'intensité en 5 points (1 = absence, 5 = présence très forte).

III.2.3. Analyses des principales activités enzymatiques contenues dans les préparations utilisées

La mesure des activités enzymatiques a été effectuée en incubant , au pH et à la température de l'activité recherchée, l'enzyme et son substrat le plus spécifique. L'absorbance est lue au spectrophotomètre pour détecter l'apparition du produit (**Tableau 8**).

Ces méthodes d'analyses sont basées sur la lecture de l'absorbance après réaction colorée sauf dans le cas de la PME où la méthode utilisée à l'EMBRAPA utilise une méthode par titrimétrie.

Tableau 9 : Planification des essais de traitement enzymatique

Dose de CLAREX CITRUS 8 XL (ppm)	Dose de RAPIDASE TF (ppm)
50	0
	150
	200
100	0
	150
	200
150	0
	150
	200
200	0
	150
	200

La cinétique du traitement enzymatique est suivie toutes les 15 minutes, pendant une heure.

III.3. PROCEDES ET MISE EN OEUVRE

III.3.1. Réalisation du traitement enzymatique

Les essais de traitement enzymatique en laboratoire au CTAA ont été réalisés sur 400 mL de jus d'orange (**lot 1**) préchauffés à 45°C dans un bain-marie sous agitation constante. Les enzymes sont alors ajoutées à l'aide d'une micropipette. Au cours de l'incubation des erlenmeyers contenant le jus d'orange, différents échantillons sont prélevés : un échantillon de jus est collecté au temps 0, quand le jus est à 45°C, avant d'ajouter l'enzyme, et aux temps 15, 30, 45 et 60 minutes. Le temps d'étude du traitement enzymatique a été arrêté à 60 minutes pour rester compatible avec un procédé industriel. Nous avons voulu tester différentes préparations enzymatiques CLAREX CITRUS 8 XL, riche en polygalacturonase, et RAPIDASE TF, riche en cellulase, fournies par la société DSM FOOD, France, travaillant depuis de nombreuses années avec le CIRAD-FLHOR. En effet, VAILLANT (2000) et FRANQUIN (2002) ont déjà utilisé un mélange de pectinases et de cellulases sur différents jus ou pulpes de fruits et ont constaté un effet bénéfique de ce mélange enzymatique sur la liquéfaction des polyosides pariétaux.

La société DSM FOOD recommande d'utiliser des concentrations de CLAREX CITRUS 8 XL allant de 50 à 200 ppm et des concentrations de RAPIDASE TF allant de 150 à 200 ppm en utilisant une température de 45°C. 4 concentrations de CLAREX CITRUS 8 XL ont donc été étudiées : 50, 100, 150 et 200 ppm. Les tests effectués en combinant CLAREX CITRUS 8 XL et RAPIDASE TF sont présentés sur le **Tableau 9**. Pour arrêter la réaction enzymatique, le jus est chauffé à 80°C pendant 20 minutes. Le temps d'inactivation enzymatique est supposé négligeable par rapport au temps du traitement enzymatique. Les échantillons pour l'analyse des arômes et de la vitamine C sont collectés et immédiatement congelés sans passer par le traitement à 80°C.

Les essais de traitement enzymatique à grande échelle, couplés à la microfiltration tangentielle ont été réalisés au CTAA dans des cuves de 20 L à double enveloppe thermostatées et sous agitation constante. Le traitement enzymatique n'est dans ce cas là pas arrêté avant la microfiltration.

A Botucatu, les essais de traitement enzymatique ont été réalisés soit directement dans la cuve d'alimentation thermostatée du pilote de microfiltration, soit dans une cuve chauffée au gaz en maintenant la température à 45°C pendant la durée du traitement enzymatique.

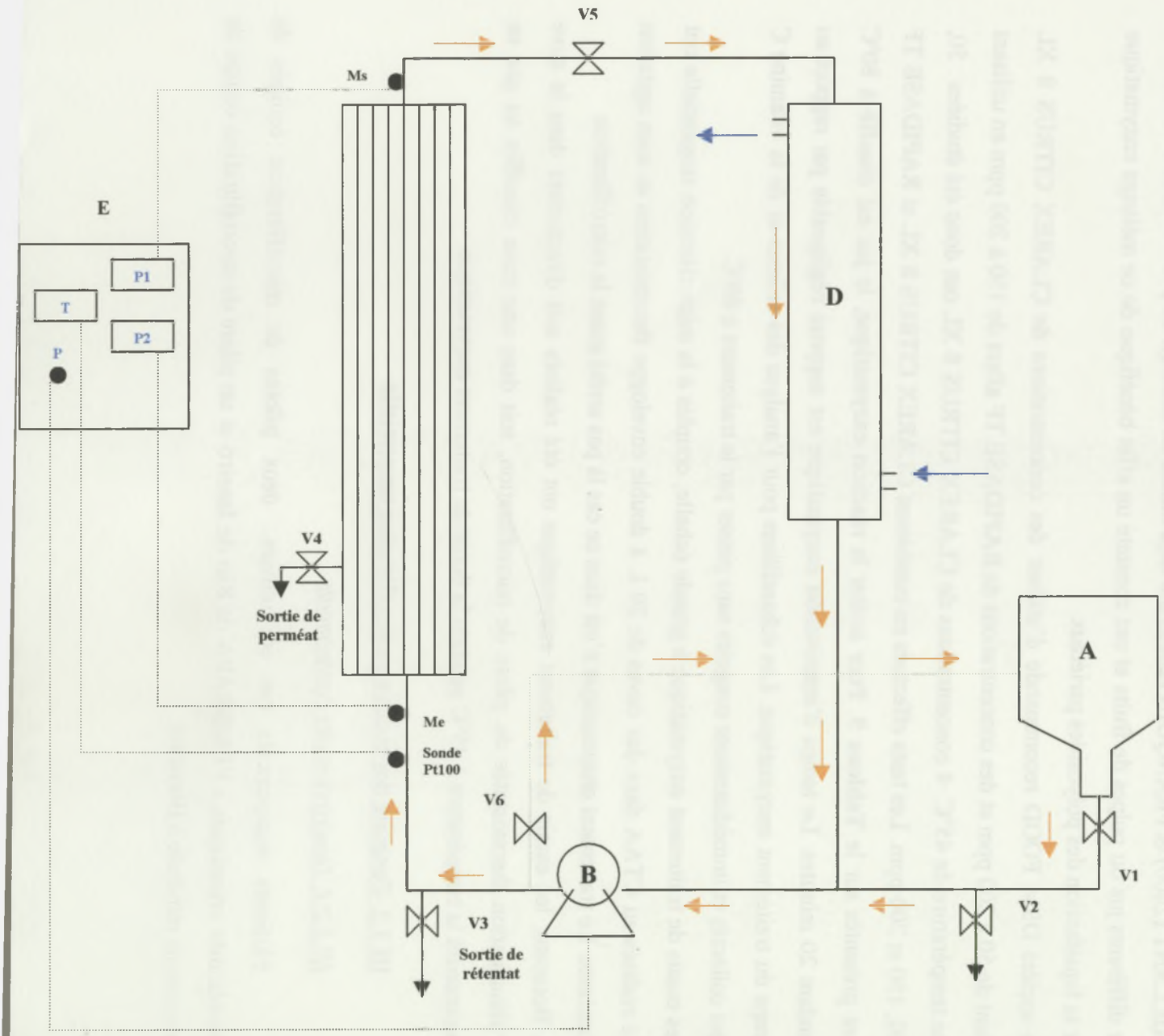
III.3.2. Conduite des essais en microfiltration tangentielle

III.3.2.1. Description des équipements

Plusieurs équipements ont été utilisés : deux pilotes de microfiltration équipés de membranes organiques à l'EMBRAPA de Rio de Janeiro et un pilote de microfiltration équipé de membrane minérale à Botucatu.

Rapport-Gratuit.com

Figure 10 : Représentation schématique du pilote de microfiltration utilisé à Botucatu et des adaptations réalisées



Nomenclature :

A Cuve d'alimentation

B Pompe d'alimentation et de mise en circulation du fluide

C Carter de filtration (7 membranes)

D Echangeur thermique

E Armoire électrique

(**P1** = Pression de sortie, **P2** = Pression d'entrée, **T** = température, **P** = réglage du débit)

Ms, Me Manomètres

V1 = Vanne d'alimentation

V2 et **V3** = Vannes de sortie du rétentat

V4 = Vanne de sortie du perméat

V5 = Vanne de régulation de la pression transmembranaire

V6 = Vanne de régulation du circuit d'alimentation

→ Flux de produit

→ Flux de liquide dans l'échangeur de chaleur

Les membranes organiques testées au CTAA à Rio de Janeiro possèdent les caractéristiques suivantes : membrane organique tubulaire en polyéthersulfone, modèle PROTOSEP IV de la société KOCH, de diamètre de pores 0,3 µm et de surface totale 0,05 m^2 et membrane plane de modèle LAB UNIT M20 en polysulfone de la société DDS, de diamètre de pores 0,1 µm et de surface totale 0,72 m^2. Ces essais réalisés à Rio de Janeiro n'avaient pour but que de valider les conditions opératoires définies pour le traitement enzymatique.

Le pilote de microfiltration tangentielle utilisé au laboratoire de Botucatu est de type batch et a été réalisé par la société GAUTHIER (Montpellier, France) en 1995. Une représentation schématique de l'équipement et des adaptations réalisées est donnée sur la **Figure 10**. Le pilote comporte une cuve d'alimentation (A), d'une capacité maximale de 10 L qui est connectée à la pompe d'alimentation, à lobes (B). La cuve est équipée d'une vanne qui permet d'alimenter le circuit (V1). La mise en vitesse du produit au sein de la boucle de rétentat est assurée par une pompe de circulation, dans ce cas, identique à la pompe d'alimentation (B). Le débit de circulation est mesuré par un rotamètre KHRONE H 256 ce qui permet de déduire la vitesse tangentielle moyenne dans les canaux de la membrane (**Tableau 10**).

Un échangeur de chaleur tubulaire est inséré dans le circuit après la sortie de la pompe. Il permet de compenser les échauffements dus aux frottements et à la température dans la boucle de rétentat. Il assure ainsi le refroidissement du produit lorsqu'il est connecté à une source d'eau froide, ou le réchauffement du produit dans le cas du lavage du pilote, cette fois-ci en étant connecté à un bain-marie. La température moyenne du rétentat peut être lue en sortie de l'échangeur par un thermomètre (Sonde Pt 100).

La mise sous pression de la boucle de rétentat est assurée par une vanne (V5). Les pressions dans le circuit de rétentat à l'entrée et à la sortie du module de filtration sont mesurées par deux manomètres (Me et Ms).

Tableau 10 : Mesures et régulations des variables du procédé (VAILLANT, 2000).

	Symbole	**Instruments de mesure**	**Régulation**
Vitesse tangentielle	U ($m.s^{-1}$)	-	-
Pression transmembranaire	Ptm (bar)	Manomètres Me et Ms	Vanne 5
Température	T°C (°C)	Thermomètre (sonde Pt 100)	-
Densité de flux de perméat	Jp ($L.h^{-1}.m^{-2}$)	-	-

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

Tableau 11 : Procédure de nettoyage suivie pour l'équipement pilote de microfiltration utilisé à Botucatu (VENTURINI, 2001).

Vide sanitaire : eau courante		**5 minutes**
	Eau courante 25°C 5 minutes : Ptm = 1 bar, U = 2 $m.s^{-1}$	
Soude (NaOH)		**30 minutes**
	0,6% dans de l'eau courante 80-85°C 15 minutes : Ptm = 1 bar, U = 2 $m.s^{-1}$ 15 minutes : Ptm = 2 bar, U = 2 $m.s^{-1}$	
Rinçage : eau froide		**15 minutes**
	Eau courante 25°C 5 rinçages de 3 minutes chacun Ptm = 1 bar, U = 2 $m.s^{-1}$	
Acide nitrique		**20 minutes**
	0,2% dans de l'eau courante 55-60°C 10 minutes : Ptm = 1 bar, U = 2 $m.s^{-1}$ 10 minutes : Ptm = 2 bar, U = 2 $m.s^{-1}$	
Rinçage : eau froide		**15 minutes**
	Eau courante 25°C Ptm = 1 bar, U = 2 $m.s^{-1}$ 5 rinçages de 3 minutes chacun	

La densité de flux de perméat a été mesurée toutes les 10 minutes pendant 2 minutes à l'aide d'une éprouvette graduée et d'un chronomètre de précision à la sortie du module. La pression transmembranaire est calculée suivant l'équation :

$$\mathbf{Ptm = (Pe+Ps)/2}$$

La circulation du produit dans le pilote de microfiltration peut s'effectuer de 2 façons différentes : le produit peut retourner vers la cuve d'alimentation, sans passer par la membrane de filtration (lorsque les vannes V1 et V6 sont ouvertes et V2 fermée) ou le produit peut être envoyé vers la membrane de filtration sans repasser par la cuve d'alimentation (lorsque V6 est fermée). Le premier type de configuration a été utilisé pour réaliser le traitement enzymatique dans le pilote. En effet, par simple circulation dans cette boucle, le liquide arrive à atteindre la température de 44°C en 15 minutes.

Le type de membrane installée est une membrane de microfiltration en céramique à profilé multicanal, commercialisée sous la dénomination CARBOSEP (RHÔNE-POULENC, France) de diamètre moyen de pores 0,14 µm et de surface filtrante totale 0,16 m^2. La membrane est composée par 7 canaux de 6 mm de diamètre et la longueur du module est de 120 cm. L'installation ne possède qu'un seul carter contenant les 7 membranes.

Au plan microscopique, la membrane est constituée d'oxyde de titane (TiO_2) et de zircone (ZiO_2). La structure est asymétrique. Sur le support macroporeux (carbone) qui assure la tenue mécanique de l'ensemble, repose la couche filtrante active de quelques dizaines de micromètres d'épaisseur.

III.3.2.2. Modes de conduite

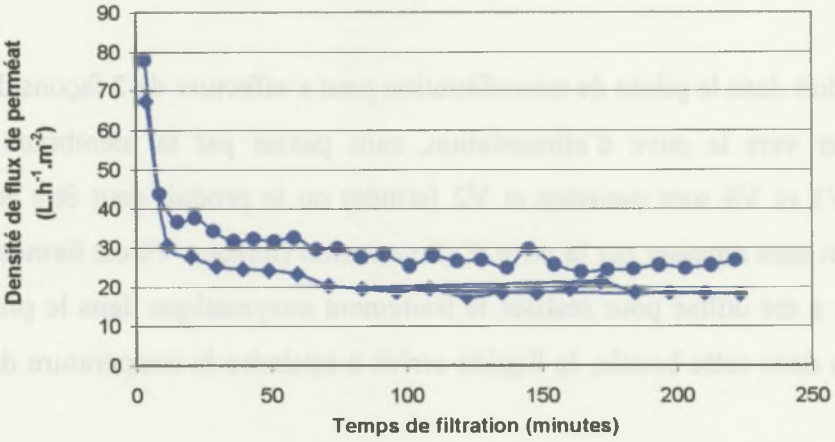
III.3.2.2.1. Conduite sans concentration (avec re-circulation du perméat)

Les essais effectués en première partie de l'étude de microfiltration tangentielle ont été réalisés avec recyclage total (perméat et rétentat). Le perméat est alors récupéré en sortie du pilote et reversé dans la cuve d'alimentation. Ainsi, le facteur de réduction volumique (FRV) est toujours égal à 1. La densité de flux de perméat est mesurée toutes les 10 minutes afin de suivre son évolution au cours du temps de filtration.

III.3.2.2.2. Conduite en mode concentration (avec extraction continue de perméat)

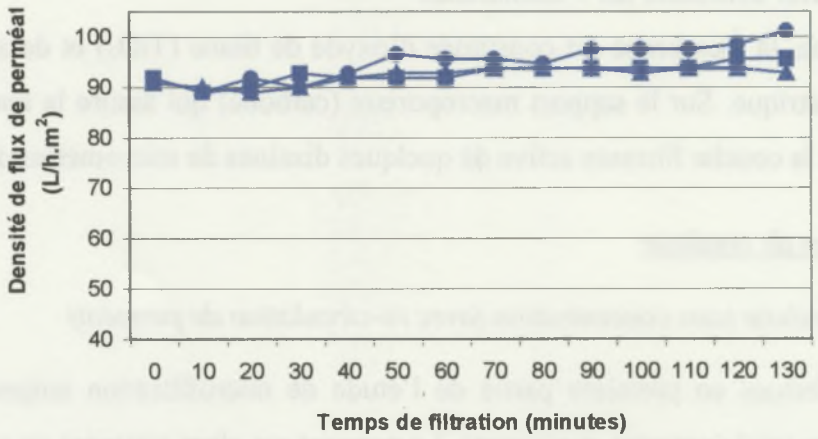
Est défini alors le FRV (Facteur de Réduction Volumique), rapport entre le volume total de jus qui alimente le circuit et le volume total de rétentat.

$$FRV = \frac{Vtotal}{Vrétentat} = \frac{(Vrétentat + Vperméat)}{Vrétentat}$$



Rio de Janeiro, lot 1, conditions : membrane organique de diamètre de pore 0,3 µm, surface filtrante de 0,05 m^2,

T = 29°C, Ptm = 1 bar et U = 1,2 $m.s^{-1}$



Botucatu, lot 2, conditions : membrane céramique de diamètre de pore 0,14 µm, surface filtrante de 0,16 m^2,

T = 30°C, Ptm = 2 bar, U = 5 $m.s^{-1}$

Figure 11 : Répétabilité des résultats de microfiltration du jus d'orange

Un volume connu de jus d'orange est introduit dans la cuve d'alimentation. Tous les 600 mL de perméat collectés, 600 mL de jus d'orange frais sont rajoutés dans la cuve d'alimentation. Le rétentat dans la boucle de circulation va donc se concentrer.

III.3.2.3. Procédure de nettoyage

La procédure de nettoyage a été élaborée par VENTURINI (2001) et est présentée dans le **Tableau 11**.

III.3.2.4. Répétabilité des procédés

La répétabilité des procédés de microfiltration à Rio de Janeiro et à Botucatu a été étudiée à FRV = 1. Les résultats sont présentés sur la **Figure 11**. La répétabilité des procédés est bonne avec un coefficient de variation de 17% pour les procédés de Rio de Janeiro et 1,5 % pour les procédés de Botucatu. Les coefficients de variation obtenus pour les procédés de microfiltration à Rio de Janeiro sont moins bons que ceux de Botucatu, car la pompe d'alimentation, assez ancienne, ne permet pas d'obtenir une densité de flux de perméat stable au cours du temps.

III.3.2.5. Etude de la perméabilité des membranes de microfiltration

Après chaque utilisation du pilote de microfiltration de Botucatu et son nettoyage, la perméabilité de la membrane céramique (Botucatu, diamètre de pore : 0,14 µm) a été vérifiée : la valeur moyenne obtenue est de 144 $L.h^{-1}.m^{-2}.bar^{-1}$ avec un minimum de 95,0, un maximum de 234,9 $L.h^{-1}.m^{-2}.bar^{-1}$, et un écart-type de 37,6. La densité de flux de perméat varie de façon proportionnelle avec la pression transmembranaire quand la membrane est propre. Or, il est difficile de régler de façon précise la pression transmembranaire. Par conséquent, l'erreur de précision sur cette pression se répercute sur la densité de flux de perméat et donc sur la perméabilité de la membrane de filtration.

III.3.3. Pasteurisation et reconstitution

Après le procédé de microfiltration tangentielle, le rétentat a été pasteurisé d'après les données de VENTURINI (1999). La pasteurisation a été effectuée dans une cuve à double enveloppe dans laquelle circule de l'eau chauffée par une résistance électrique. La valeur pasteurisatrice à atteindre est de 60 minutes (VENTURINI, 1999). Après avoir introduit le rétentat dans la cuve de pasteurisation sous agitation, la température a été rigoureusement suivie et la valeur pasteurisatrice (Vp) calculée toutes les minutes, suivant la formule dérivée de l'équation de Ball :

$$\mathbf{Vp}=\sum_{ti}^{tf} 10^{\frac{T-70}{10}} * \Delta t$$

Vp = Valeur pasteurisatrice équivalente, en minutes, à la température de référence de 70°C;

T = température, en °C ;

Δt = variation de temps, en minutes.

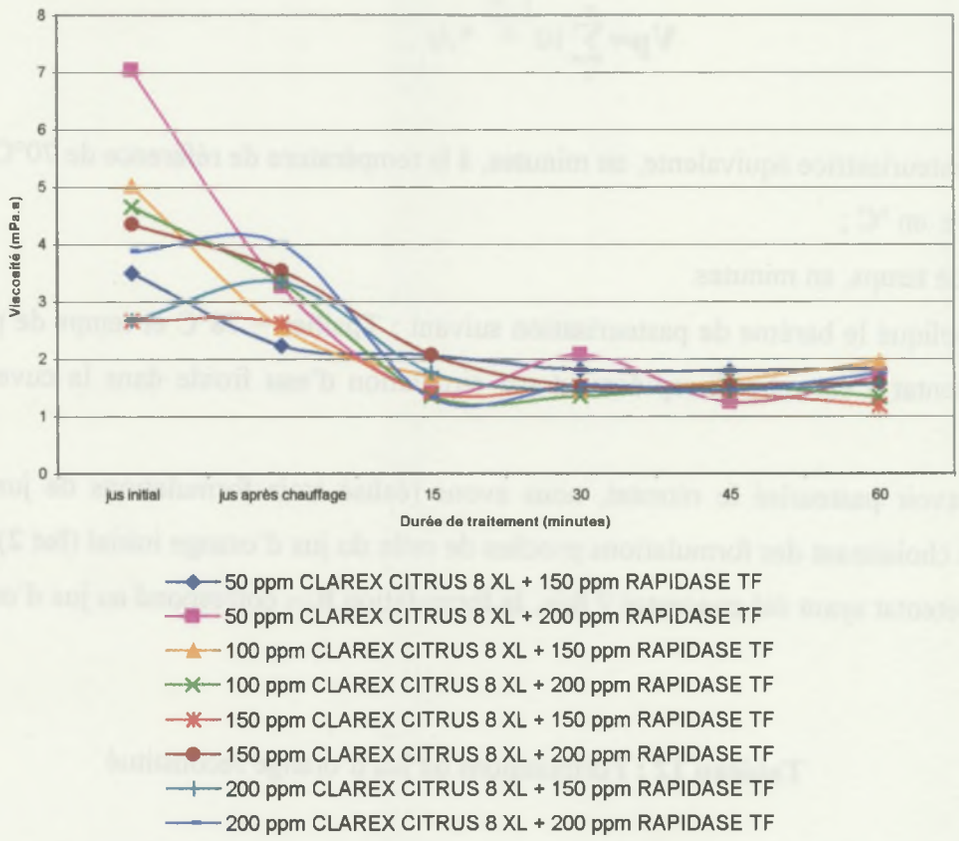
Après avoir appliqué le barème de pasteurisation suivant : Tpallier = 78°C et temps de pallier = 4 minutes, le rétentat a été refroidi rapidement par circulation d'eau froide dans la cuve à double enveloppe.

Après avoir pasteurisé le rétentat, nous avons réalisé trois formulations de jus d'orange reconstitué, en choisissant des formulations proches de celle du jus d'orange initial **(lot 2) (Tableau 12)**. Ainsi, le rétentat ayant été concentré 7 fois, la formulation $R_{1/7}$ correspond au jus d'orange frais initial.

Tableau 12 : Formulations de jus d'orange reconstitué

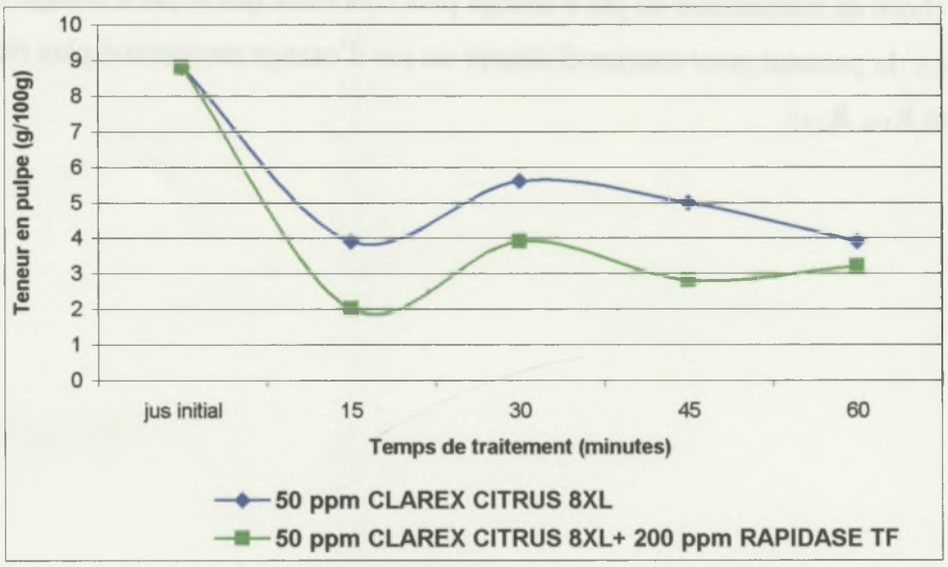
Formule	Rétentat (Fraction volumique)	Perméat (Fraction volumique)
$R_{1/3}$	1	3
$R_{1/5}$	1	5
$R_{1/7}$	1	7

Nous avons choisi de reconstituer un jus d'orange plus concentré que le jus d'orange frais initial, en utilisant moins de perméat pour essayer d'obtenir un jus d'orange reconstitué plus riche en arômes (Formulations $R_{1/3}$, $R_{1/5}$).



Conditions : **lot 1** (Rio de Janeiro), traitement enzymatique réalisé à 45°C

Figure 12 : Viscosité à 20°C de l'hydrolysat obtenu au cours des différents traitements enzymatiques



Conditions : **lot 1** (Rio de Janeiro), traitement enzymatique réalisé à 45°C

Figure 13 : Comparaison de la teneur en pulpe de l'hydrolysat obtenue avec différents traitements enzymatiques

IV. ETUDE DU TRAITEMENT ENZYMATIQUE

Quelques études sur la microfiltration tangentielle du jus d'orange montrent qu'un traitement enzymatique favorise ou peut favoriser la filtration en réduisant notamment la viscosité du jus (BALI, 1991, VENTURINI, 1999).

IV.1. CARACTERISATION DES PREPARATIONS ENZYMATIQUES UTILISEES

La société DSM FOOD, France nous a fourni quelques préparations enzymatiques utilisées en industrie pour clarifier les jus de fruit. Malheureusement, aucune préparation n'est encore spécifiquement produite pour la clarification du jus d'orange. Nous avons donc dû d'abord analyser les principales activités enzymatiques des préparations, choisir les plus intéressantes et les tester seules ou en les associant pour essayer de dégager un effet synergique (**Tableau 13**).
Les trois préparations enzymatiques qui nous ont été conseillées par DSM FOOD ont été : CLAREX CITRUS 65, CLAREX CITRUS 8 XL, préparations préconisées pour la clarification du jus de citron, et RAPIDASE TF.

Tableau 13 : Caractérisation des principales activités des préparations enzymatiques

Activité enzymatique (UE)	RAPIDASE CITRUS 65	CLAREX CITRUS 8 XL	RAPIDASE TF
Polygalacturonase (PG)	1352,4	5931,8	-
Pectine-lyase (PL)	1,5	0,6	-
Pectine-méthyle-estérase (PME)	2,6	2,6	-
Exocellulase (C1)	0,1	0,03	4,6
Endocellulase (Cx)	0,6	0 ,7	79,3
Xylanase	0 ,5	0,2	7,0
α-amylase	0,08	0,05	-

RAPIDASE CITRUS 65 et CLAREX CITRUS 8 XL présentent un profil d'activités enzymatiques assez proche avec une forte activité polygalacturonase. Cependant, CLAREX CITRUS 8 XL présente une activité plus importante, c'est-à-dire que l'on peut utiliser moins d'enzyme tout en ayant une même activité de polygalacturonase que RAPIDASE CITRUS 65. Nous avons donc retenue CLAREX CITRUS 8 XL comme préparation enzymatique riche en pectinases et surtout en polygalacturonase. DSM FOOD ne nous ayant fourni qu'une seule préparation de cellulases et hémi-cellulases, RAPIDASE TF, nous avons décidé dans un deuxième temps de la tester en

Tableau 14 : Comparaison des valeurs de teneur en pulpe, viscosité et vitamine C obtenues au cours des différents traitements enzymatiques

Traitements	Réduction moyenne* de la teneur en pulpe (%)	Réduction moyenne* de la viscosité (%)	Réduction de la vitamine C (%)	
			A 15 minutes	A 60 minutes
50 ppm CLAREX CITRUS 8 XL	52	12	1,5	23
100 ppm CLAREX CITRUS 8 XL	46	46	1,7	26
150 ppm CLAREX CITRUS 8 XL	54	71	1,8	27
200 ppm CLAREX CITRUS 8 XL	44	44	1,8	28
50 ppm CLAREX CITRUS 8 XL + 150 ppm RAPIDASE TF	35	46	1,2	24
50 ppm CLAREX CITRUS 8 XL + 200 ppm RAPIDASE TF	66	77	1,1	25
100 ppm CLAREX CITRUS 8 XL + 150 ppm RAPIDASE TF	65	67	1,3	22
100 ppm CLAREX CITRUS 8 XL + 200 ppm RAPIDASE TF	49	70	1,4	21
150 ppm CLAREX CITRUS 8 XL + 150 ppm RAPIDASE TF	39	48	1,2	23
150 ppm CLAREX CITRUS 8 XL + 200 ppm RAPIDASE TF	43	61	1,1	26
200 ppm CLAREX CITRUS 8 XL + 150 ppm RAPIDASE TF	55	42	1,5	28
200 ppm CLAREX CITRUS 8 XL + 200 ppm RAPIDASE TF	52	61	1,6	27

* Valeurs moyennes calculées entre 15 et 60 minutes

apport-Gratuit.com

association avec CLAREX CITRUS 8 XL pour essayer de dégager un effet synergique pectinases - cellulases.

IV.2. OPTIMISATION DU TRAITEMENT ENZYMATIQUE

IV.2.1. Effet sur la viscosité et la teneur en pulpe

Les paramètres utilisés pour évaluer la liquéfaction enzymatique ont été la viscosité et la teneur en pulpe. L'allure des courbes de teneur en pulpe et viscosité obtenues pour les différents traitements enzymatiques est semblable. Nous constatons, une diminution des valeurs jusqu'à 15 minutes de traitement, où elles sont minimales, puis les valeurs restent constantes jusqu'à 60 minutes de traitement (**Figures 12** et **13**). Donc, 15 minutes de traitement enzymatique suffisent pour obtenir une réduction maximale des valeurs de teneur en pulpe et viscosité. De plus, nous avons observé une diminution de la viscosité et de la teneur en pulpe dans le jus d'orange après chauffage. Nous pouvons penser que les enzymes endogènes du jus, comme la pectine-méthyle-estérase, permettent la clarification du jus d'orange.

En comparant les traitements enzymatiques utilisant une seule enzyme et associant deux enzymes, nous pouvons observer un effet synergique de CLAREX CITRUS 8 XL et RAPIDASE TF. En effet, CLAREX CITRUS seule permet une diminution moyenne de 37% de la teneur en pulpe, alors qu'en l'associant avec RAPIDASE TF, nous arrivons à obtenir une diminution moyenne de 51% (**Figure 13** et **Tableau 14**). De même, cet effet synergique des 2 enzymes est observé pour la viscosité : diminution moyenne de 43% avec CLAREX CITRUS seule, et 59% en associant CLAREX CITRUS et RAPIDASE TF (**Tableau 14**). Dans la gamme de concentration d'enzymes étudiée, nous n'observons aucun effet de la dose d'enzymes sur la teneur en pulpe ou la viscosité après 15 minutes de traitement enzymatique.

Le choix du traitement enzymatique optimal a été déterminé en se basant sur les résultats obtenus pour la teneur en pulpe et la viscosité. Le meilleur traitement enzymatique permettant les diminutions en teneur en pulpe et en viscosité les plus importantes est celui associant 50 ppm de CLAREX CITRUS 8 XL et 200 ppm de RAPIDASE TF pendant 15 minutes (**Tableau 14**).

IV.2.2. Effet sur la composition chimique

Les valeurs de pH, de Brix et d'acidité sont restées constantes au cours des différents traitements enzymatiques réalisés, indépendamment du temps de traitement et de la concentration d'enzymes utilisée (respectivement valeurs moyennes de pH = 3,7 ; 9,7°Brix et 0,82 g d'acide citrique pour 100 g pour le traitement utilisant CLAREX CITRUS 8 XL seul et pH = 3,7 ; 9,4°Brix et 0,98 g d'acide citrique pour 100 g pour le traitement utilisant CLAREX CITRUS 8 XL en association avec RAPIDASE TF). Les teneurs en saccharose, glucose et fructose sont également

Tableau 15 : Résultats du test de Tukey effectué sur le jus d'orange hydrolysé par différents traitements enzymatiques au temps de 15 minutes

Traitements	**Descripteurs**						
	Arôme Caractéristique	***Saveur caractéristique***	***Arôme Peau d'orange***	***Saveur Peau d'orange***	***Particules en suspension***	***Goût acide***	***Goût sucré***
Jus d'orange frais initial (**lot 1**)	**7,96**	**8,16**	**2,80**	**3,30**	**5,46**	**4,14**	**3,43**
50 ppm CLAREX CITRUS + 150 ppm RAPIDASE	7,65 [a]	6,94 [a]	3,03 [a]	3,01 [a]	**2,09** [b]	4,59 [a]	2,69 [a]
50 ppm CLAREX CITRUS + 200 ppm RAPIDASE	7,99 [a]	7,90 [a]	2,74 [a]	3,26 [a]	**1,70** [b]	4,93 [a]	3,52 [a]
100 ppm CLAREX CITRUS + 150 ppm RAPIDASE	8,19 [a]	8,02 [a]	2,56 [a]	2,93 [a]	**1,68** [b]	4,41 [a]	3,76 [a]
100 ppm CLAREX CITRUS + 200 ppm RAPIDASE	8,06 [a]	7,80 [a]	2,68 [a]	2,74 [a]	**1,43** [b]	4,41 [a]	3,46 [a]
150 ppm CLAREX CITRUS + 150 ppm RAPIDASE	8,19 [a]	8,00 [a]	2,75 [a]	2,81 [a]	**1,17** [b]	4,76 [a]	2,96 [a]
150 ppm CLAREX CITRUS + 200 ppm RAPIDASE	8,19 [a]	8,16 [a]	2,88 [a]	2,61 [a]	**1,07** [b]	4,96 [a]	3,26 [a]
200 ppm CLAREX CITRUS + 150 ppm RAPIDASE	7,79 [a]	8,05 [a]	2,74 [a]	2,89 [a]	**0,79** [b]	3,94 [a]	3,6 [a]
200 ppm CLAREX CITRUS + 200 ppm RAPIDASE	8,16 [a]	8,05 [a]	3,03 [a]	2,88 [a]	**0,69** [b]	4,55 [a]	2,74 [a]

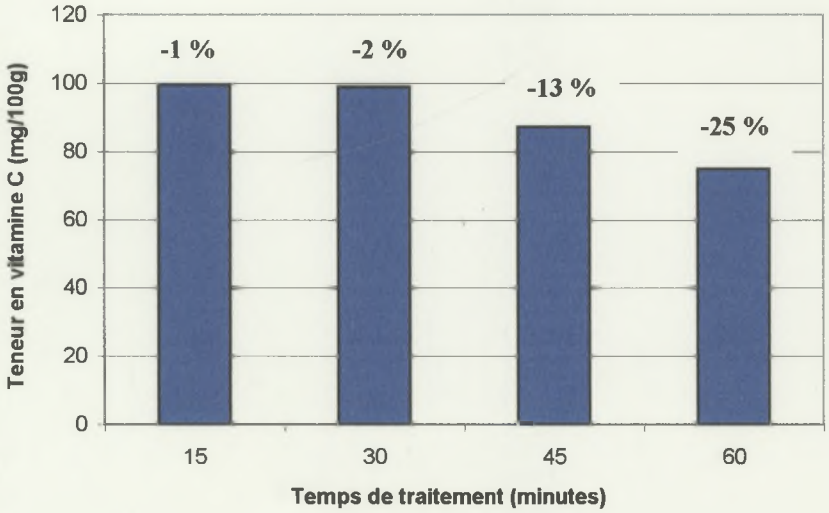
Conditions : le jus d'orange de référence est le jus d'orange initial (**lot 1**, Rio de Janeiro)

a : différence non significative

b : différence significative

restées constantes (respectivement 1,8 g glucose/100mL ; 1,9 g fructose/100mL et 4,1 g saccharose/100mL).

Les pertes en vitamine C sont limitées (1% environ à 15 minutes de traitement enzymatique), mais nous constatons que plus la durée du traitement est longue, plus la perte en vitamine C est importante (**Figure 14**). En effet, les pertes varient de 1 à 25% respectivement à 15 et 60 minutes de traitement enzymatique. Après 60 minutes, ces pertes s'échelonnent de 21 à 28% (**Tableau 14**).



Conditions : **lot 1** (Rio de Janeiro), T = 45°C, 50 ppm de CLAREX CITRUS 8 XL et 200 ppm de RAPIDASE TF

Figure 14 : Teneur en vitamine C dans les échantillons de jus d'orange hydrolysé en fonction du temps de traitement.

IV.2.3. Analyse sensorielle

Le jus d'orange hydrolysé par traitement enzymatique a été soumis à l'appréciation du jury et noté suivant les échelles définies pour évaluer la qualité sensorielle, à travers des descripteurs retenus.

Le **Tableau 15** montre que les descripteurs qualifiant le jus d'orange (*arôme* et *saveur caractéristiques*, *arôme* et *saveur de peau d'orange*, *goût acide*, *goût sucré*) n'ont pas présenté de différence significative en fonction des concentrations d'enzymes utilisées au temps de 15 minutes. Cette constatation s'est répétée pour les différents temps étudiés. Mais, le jury a identifié une différence entre les différents traitements enzymatiques pour les particules en suspension. En effet, en fonction du traitement enzymatique (concentration d'enzyme et temps de traitement), le jury n'a pas détecté de particules en suspension dans le jus d'orange hydrolysé par rapport au jus d'orange initial.

L'analyse sensorielle a confirmé que le traitement enzymatique n'a pas altéré la qualité sensorielle du jus d'orange.

IV.2.4. Conclusion

L'allure des courbes obtenues a montré que 15 minutes suffisaient à atteindre des valeurs minimales de teneur en pulpe et de viscosité. CLAREX CITRUS 8 XL et RAPIDASE TF ont un effet synergique et permettent de diminuer de 66% la teneur en pulpe et 77% la viscosité du jus d'orange. Ces valeurs ont été obtenues pour un traitement enzymatique associant 50 ppm de CLAREX CITRUS 8 XL et 200 ppm de RAPIDASE TF pendant 15 minutes.

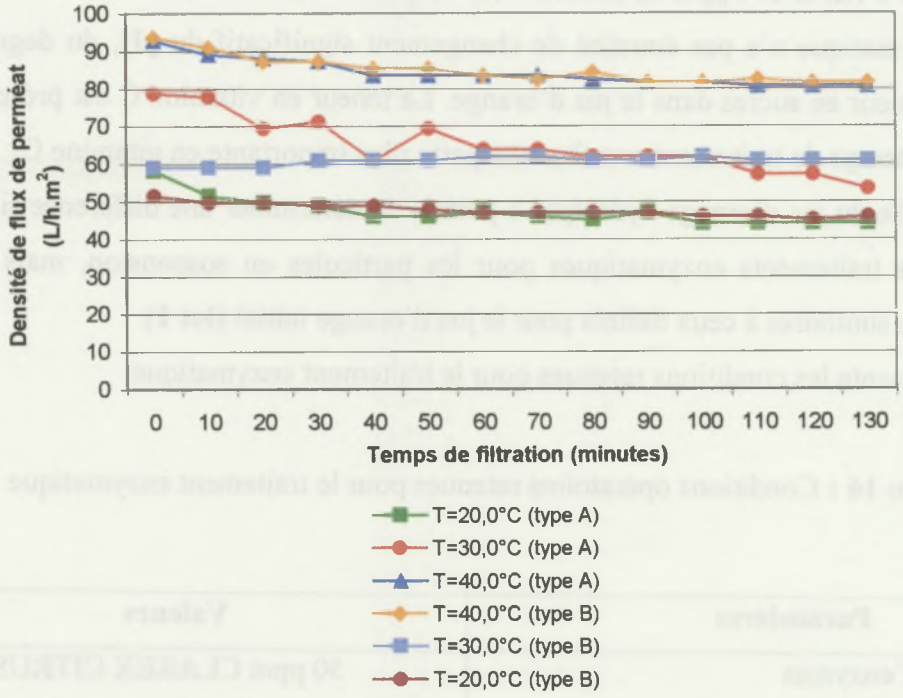
Le traitement enzymatique n'a pas entraîné de changement significatif du pH, du degré Brix, de l'acidité et de la teneur en sucres dans le jus d'orange. La teneur en vitamine C est préservée, mais l'augmentation du temps de traitement entraîne une perte plus importante en vitamine C.

L'analyse sensorielle du jus d'orange hydrolysé a permis de déterminer une différence significative entre les différents traitements enzymatiques pour les particules en suspension, mais les autres descripteurs restent similaires à ceux définis pour le jus d'orange initial (**lot 1**).

Le **Tableau 16** présente les conditions retenues pour le traitement enzymatique.

Tableau 16 : Conditions opératoires retenues pour le traitement enzymatique

Paramètres	Valeurs
Concentration d'enzymes	50 ppm CLAREX CITRUS 8 XL 200 ppm RAPIDASE TF
Activités enzymatiques	Polygalacturonase : 297 UE Exocellulase : 0,8 UE Endocellulase : 16 UE
Température du traitement enzymatique	45°C
Durée du traitement enzymatique	15 minutes



Type A : traitement enzymatique dans une cuve chauffée au gaz

Type B : traitement enzymatique danhs la cuve d'alimentation du pilote de filtration

Conditions de traitement enzymatique : **lot 2** (Botucatu), 50 ppm de CLAREX CITRUS 8 XL et 200 ppm de RAPIDASE TF, 15 minutes à 45°C. Conditions de filtration : U = 3 $m.s^{-1}$, Ptm = 2 bar

Figure 15 : Densité de flux de perméat à différentes températures de filtration et conditions de traitement enzymatique

V. COUPLAGE TRAITEMENT ENZYMATIQUE ET MICROFILTRATION TANGENTIELLE

V.1. ETUDE SANS CONCENTRATION

L'objectif est de déterminer quels sont les paramètres opératoires de la microfiltration tangentielle à mettre en place et qui permettront de maximiser la densité de flux de perméat. Il s'agit de définir les conditions de filtration (température, vitesse tangentielle, pression transmembranaire) et les configurations du traitement enzymatique.

Ce travail a été réalisé en mode re-circulation en réintroduisant dans la boucle « rétentat », le perméat extrait. Ce mode a pour but de limiter la consommation de matière première et de s'affranchir de l'incidence de l'augmentation de la concentration en solides insolubles en suspension dans la boucle de rétentat.

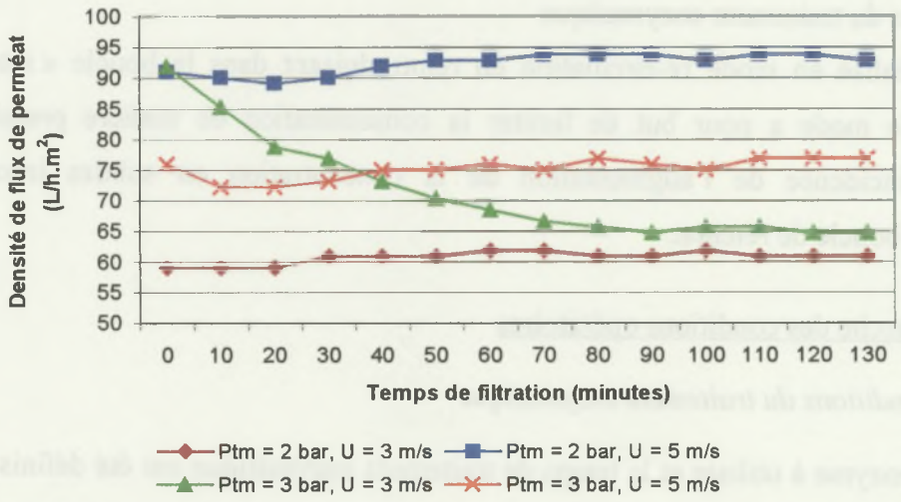
V.1.1 Recherche des conditions opératoires

V.1.1.1. Conditions du traitement enzymatique

La dose d'enzyme à utiliser et le temps de traitement enzymatique ont été définis au CTAA de Rio de Janeiro, néanmoins, nous avons testé si le traitement enzymatique devait se faire hors pilote de filtration ou s'il pouvait être effectué au sein même du pilote. Nous avons étudié 3 températures de filtration du jus d'orange (20, 30 et 40°C). Les résultats sont présentés sur la **Figure 15**.

Dans un premier temps, le traitement enzymatique du jus d'orange a été réalisé séparément de la filtration, dans une cuve chauffée au gaz en maintenant la température à 45°C pendant 15 minutes (conditions de traitement définies au CTAA). Puis le jus d'orange a été transféré vers la cuve d'alimentation du pilote et la filtration a été réalisée en testant les 3 températures. Dans un deuxième temps, en ouvrant les vannes V1 et V6 du pilote de microfiltration de Botucatu (**Figure 10**), le jus d'orange passe dans un circuit retournant vers la cuve d'alimentation. En laissant le jus circuler dans cette boucle, la température augmente et atteint 44°C en 15 minutes, température proche de celle du traitement enzymatique. Les enzymes sont alors ajoutées et après 15 minutes de circulation à 44°C, temps nécessaire pour réaliser le traitement enzymatique, la vanne V6 est fermée. Le jus d'alimentation hydrolysé par traitement enzymatique est envoyé vers la membrane de filtration et, grâce au système de refroidissement, une température de filtration peut être atteinte et maintenue.

La **Figure 15** montre que quelque soit les configurations utilisées pour le traitement enzymatique, la densité de flux de perméat ne varie pas. Le traitement enzymatique peut donc être réalisé



Conditions de filtration : **membrane céramique**, pilote de Botucatu.

Figure 16 : Comparaison des différentes densités de flux de perméat à différentes vitesses tangentielles et pressions transmembranaires après traitement enzymatique préalable du jus d'orange (**lot 2**).

directement dans le pilote de filtration ce qui permet d'éviter les contaminations et de gagner du temps, tout en étant plus pratique à manipuler. De plus les pertes en vitamine C dans les échantillons de jus hydrolysé dans le pilote sont plus limitées que celles obtenues hors pilote (respectivement 22% et 34%). En effet, le traitement enzymatique réalisé en cuve chauffée au gaz occasionne des surchauffes locales en fond de cuve.

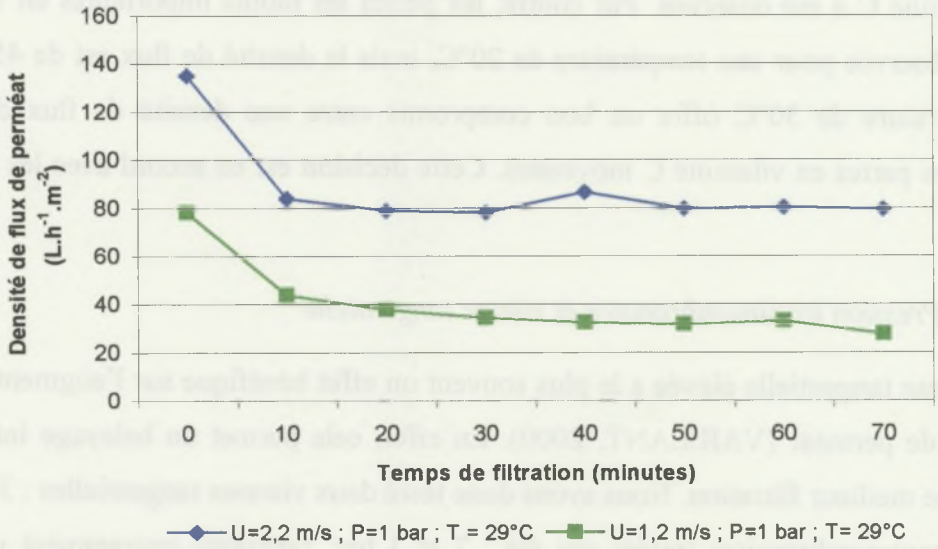
La température de filtration retenue (30°C) permet d'obtenir une densité de flux de perméat acceptable industriellement (62 $L.h^{-1}.m^{-2}$) tout en évitant une perte trop importante de vitamine C (22%). Le meilleur flux a été obtenu avec une température de 40°C (80 $L.h^{-1}.m^{-2}$) mais une perte de 30% de la vitamine C a été observée. Par contre, les pertes les moins importantes en vitamine C (19%) ont été observée pour une température de 20°C, mais la densité de flux est de 45 $L.h^{-1}.m^{-2}$. Donc, la température de 30°C offre un bon compromis entre une densité de flux de perméat importante et des pertes en vitamine C moyennes. Cette décision est en accord avec les travaux de BALI (1991).

V.1.1.2. Pression transmembranaire et vitesse tangentielle

Une vitesse tangentielle élevée a le plus souvent un effet bénéfique sur l'augmentation de la densité de flux de perméat (VAILLANT, 2000). En effet, cela permet un balayage intense de la membrane et une meilleur filtration. Nous avons donc testé deux vitesses tangentielles : 3 et 5 $m.s^{-1}$. Les pressions transmembranaires testées ont été : 2 et 3 bar, pressions couramment utilisées en microfiltration tangentielle. La **Figure 16** présente les résultats obtenus à 30°C.

L'allure des courbes obtenues est différente, en effet, lorsque la vitesse tangentielle est élevée (cas des flux obtenus avec Ptm = 2 bar, U = 5 $m.s^{-1}$ et Ptm = 3 bar, U = 5 $m.s^{-1}$), cette dernière provoque un balayage de la membrane, augmentant ainsi les turbulences au voisinage de la membrane de filtration et limitant ainsi le colmatage externe de la membrane (BALI, 1991). La densité de flux de perméat observée dans ces conditions est alors constante au cours du temps et plus élevée. Lorsque la pression transmembranaire est élevée, cela favorise le colmatage externe, les solides en suspension sont compactés au voisinage de la membrane et forment une seconde assise filtrante : la densité de flux de perméat diminue (cas du flux obtenu avec Ptm = 3 bar, U = 3 $m.s^{-1}$).

Les résultats de densité de flux de perméat et de pertes en vitamine C obtenus dans les différents échantillons sont présentés dans le **Tableau 17**.



Traitement enzymatique préalablement réalisé : **lot 1** (Rio de Janeiro), 50 ppm de CLAREX CITRUS 8 XL et 200 ppm de RAPIDASE TF à 45°C pendant 15 minutes en tank d'incubation.

Conditions de microfiltration : **membrane organique** (KOCH, Rio de Janeiro).

Figure 17 : Evolution de la densité de flux de perméat à différentes vitesses tangentielles

Tableau 17 : Densités de flux de perméat et pertes en vitamine C dans les différents échantillons obtenus après traitement enzymatique du jus d'orange (**lot 2**) et microfiltration tangentielle à 30°C

Conditions opératoires	**Densité moyenne* de flux de perméat ($L.h^{-1}.m^{-2}$)**	**Pertes en vitamine C** (%)**		
		Hydrolysat***	***Perméat***	***Rétentat***
Ptm = 2 bar U = 5 $m.s^{-1}$	93,5	25,9	40,2	37,3
Ptm = 3 bar U = 5 $m.s^{-1}$	76,5	30,2	51,5	41,4
Ptm = 3 bar U = 3 $m.s^{-1}$	65,0	20,8	30,5	27,8

*Densité de flux de perméat moyenne lorsque le flux est stabilisé.

Pertes en vitamine C calculées par rapport au jus d'orange initial (lot 2**).

*** jus d'orange traité avec 50 ppm de CLAREX CITRUS 8 XL et 200 ppm de RAPIDASE TF à 44°C pendant 15 minutes.

Une augmentation de la vitesse tangentielle entraîne une augmentation de la densité de flux de perméat (de 65 à 93,5 $L.h^{-1}.m^{-2}$). A l'inverse, une augmentation de la pression transmembranaire entraîne une chute de la densité de flux de perméat (93,5 à 76,5 $L.h^{-1}.m^{-2}$).

Lorsque la vitesse tangentielle augmente de 3 à 5 $m.s^{-1}$, nous observons une augmentation de la perte en vitamine C dans le perméat de 30,5 à 51,5 % respectivement. Des essais réalisés sur des membranes organiques à Rio de Janeiro ont montré qu'une diminution de la vitesse tangentielle permettait de limiter les pertes en vitamine C. Une perte de 25% en vitamine C dans le perméat a été observée pour la filtration tangentielle réalisée à 2,2 m.s-1. Cette perte de vitamine C a été réduite à 15% lorsque la vitesse tangentielle est de 1,2 m.s-1, mais la densité de flux de perméat a diminué de 60% (**Figure 17**).

De même, lorsque la pression transmembranaire augmente de 2 à 3 bar, une augmentation des pertes en vitamine C dans le perméat est observée (de 40,2 à 51,5% respectivement).

Nous constatons que les pertes en vitamine C dans le perméat sont toujours plus importantes que celles observées dans le rétentat et l'hydrolysat. En effet, notre méthode manuelle de retour du perméat dans la cuve d'alimentation conduit à une aération importante du perméat et du jus d'alimentation. Le perméat aéré à chaque prélèvement retourne dans la cuve d'alimentation et donc engendre une entrée d'air et une possible dégradation de la vitamine C dans les produits obtenus à l'issu de la microfiltration tangentielle. De plus, si de l'air est resté dans le circuit du pilote de

Rapport-Gratuit.com

filtration, cela entraîne une aération des produits et une dégradation de la vitamine C. Il faut donc veiller à ce que la purge du pilote de microfiltration soit effectuée correctement afin de chasser tout l'air dans le circuit de filtration. Une désaération préalable du jus d'alimentation peut être envisagée ainsi que la mise en place d'un système de retour du perméat à l'aide d'un tuyau en plastique plongeant directement dans la cuve d'alimentation. Néanmoins, des vitesses tangentielles plus basses pourraient être testées pour vérifier les observations de Rio de Janeiro.

En faisant un consensus entre la meilleure densité de flux et la plus petite perte en vitamine C, les conditions de pression transmembranaire et de vitesse tangentielle retenues pour la microfiltration de jus d'orange hydrolysé, sur membrane céramique sont : 2 bar et 5 $m.s^{-1}$.

V.1.2. Bilan de l'étude des variables opératoires

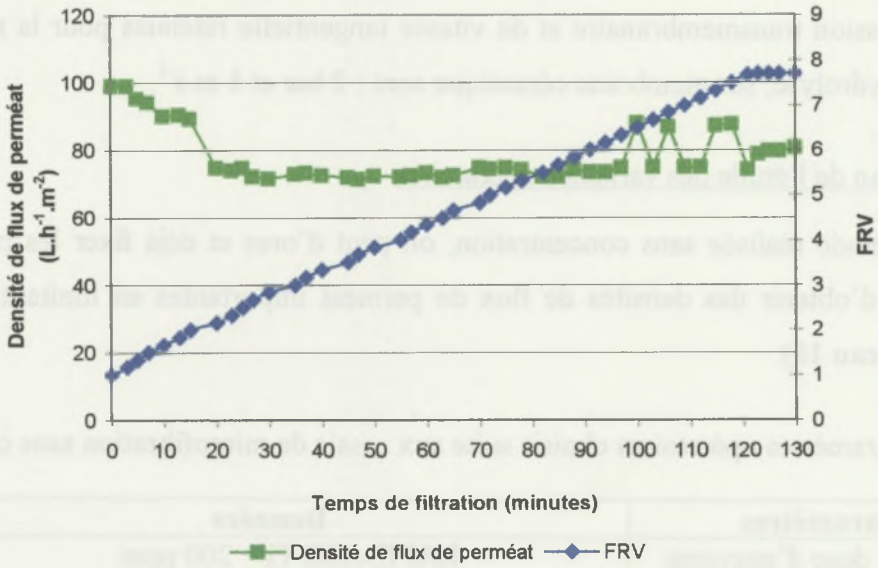
Suite à l'étude réalisée sans concentration, on peut d'ores et déjà fixer les paramètres qui nous ont permis d'obtenir des densités de flux de perméat importantes en limitant les pertes en vitamine C **(Tableau 18)**.

Tableau 18 : Paramètres opératoires choisis suite aux essais de microfiltration sans concentration

Paramètres	**Données**
Type et dose d'enzymes	RAPIDASE TF : 200 ppm CLAREX CITRUS 8 XL : 50 ppm
Température du traitement enzymatique	44°C
Temps du traitement enzymatique	15 minutes (dans la cuve d'alimentation du pilote)
Vitesse tangentielle	5 $m.s^{-1}$
Pression transmembranaire	2 bar
Température de filtration	30°C

V.2. ETUDE AVEC CONCENTRATION

Le mode concentration consiste à prélever le perméat sans le recycler dans la cuve d'alimentation. L'unité est alors alimentée en continu avec du jus d'orange frais, non hydrolysé. Un nouveau paramètre est alors introduit : le facteur de réduction volumique (FRV). Il correspond au rapport du volume de jus ayant alimenté l'unité de filtration et du volume total de rétentat obtenu. Il rend compte en fait de la répartition des volumes entre le perméat et le rétentat à un instant donné. Pour cette étape, nous avons fixé tous les paramètres aux valeurs sélectionnées lors de l'étude réalisée en mode sans concentration.



Conditions du traitement enzymatique : **lot 2**, 50 ppm de CLAREX CITRUS 8 XL et 200 ppm RAPIDASE TF à 44°C pendant 15 minutes en cuve d'alimentation du pilote de filtration.

Conditions de filtration : U=5 m.s-1 ; Ptm=2 bar ; T=30°C ; FRV = 7,7.

Figure 18 : Evolution de la densité de flux de perméat au cours de la filtration en mode concentration.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

Le bac d'alimentation est maintenu à un niveau constant, en remplaçant en continu avec du jus d'orange non hydrolysé (**lot 2**), le volume de perméat filtré. Dans notre cas, le bac d'alimentation n'est pas alimenté avec du jus d'orange hydrolysé. En effet, nous avons vérifié à Rio de Janeiro que les enzymes sont retenues dans le rétentat et ne passent donc pas dans le perméat. A Botucatu cela n'a pas pu être vérifié, mais nous avons constaté que la teneur en pulpe dans le rétentat continuait à diminuer même si le bac d'alimentation n'était pas alimenté avec du jus d'orange hydrolysé. Une des hypothèses possibles pour expliquer ces résultats pourrait être la concentration locale d'activités enzymatiques qui permettraient de réaliser une hydrolyse enzymatique du jus d'alimentation.

A chaque 600 mL de perméat récupéré, le temps de remplissage du perméat est noté et nous alimentons le pilote avec 600 mL de jus d'orange frais. Les résultats obtenus sont présentés sur la **Figure 18**.

Dans notre cas, nous observons que la densité de flux de perméat reste constante (75 $L.h^{-1}.m^{-2}$) tout au long du procédé ce qui est surprenant car les solides insolubles en suspension et la viscosité augmentent dans le rétentat ce qui devrait logiquement entraîner une chute de la densité de flux de perméat en fonction du FRV. Dans notre cas, on peut penser que les enzymes retenues dans le rétentat se concentrent et permettent la liquéfaction des polyosides pariétaux. Ainsi, la teneur en pulpe diminue dans le rétentat. Or VAILLANT (2000) a constaté que, pour d'autres jus et d'autres conditions opératoires, lorsque les solides insolubles en suspension sont inférieurs à 5% dans le rétentat, la valeur du FRV pour laquelle on observe une chute importante de la densité de flux de perméat est supérieure à 8. Il serait alors intéressant de poursuivre la concentration jusqu'à FRV = 10 et de suivre l'évolution des activités enzymatiques dans le rétentat ainsi que les solides insolubles en suspension au cours de la concentration.

Nous avons choisi de concentrer jusqu'à atteindre un FRV de 7,7 car notre stock de jus d'orange initial (**lot 2**) disponible était limité.

Néanmoins, nous observons que la teneur en vitamine C dans les échantillons de jus hydrolysé, de perméat et de rétentat récupérés à FRV = 7,7 accuse une perte importante de presque 50%. Encore une fois, la bonne purge du pilote doit être vérifiée pour éviter l'aération du jus au cours de la filtration.

La **Figure 19** présente le bilan de masse du procédé de microfiltration tangentielle avec concentration. Le procédé mis en place permet d'obtenir 2 produits différents : le perméat stérile et le rétentat concentré jusqu'à FRV = 7,7. Le volume de rétentat à pasteuriser est donc moins important que le volume de jus d'orange classiquement pasteurisé industriellement. Même si la microfiltration tangentielle entraîne une perte importante de rétentat, les résultats obtenus sont compatibles avec une exploitation industrielle : la densité de flux de perméat est importante (75 $L.h^{-1}.m^{-2}$) et le FRV élevé permet de réduire le volume à pasteuriser.

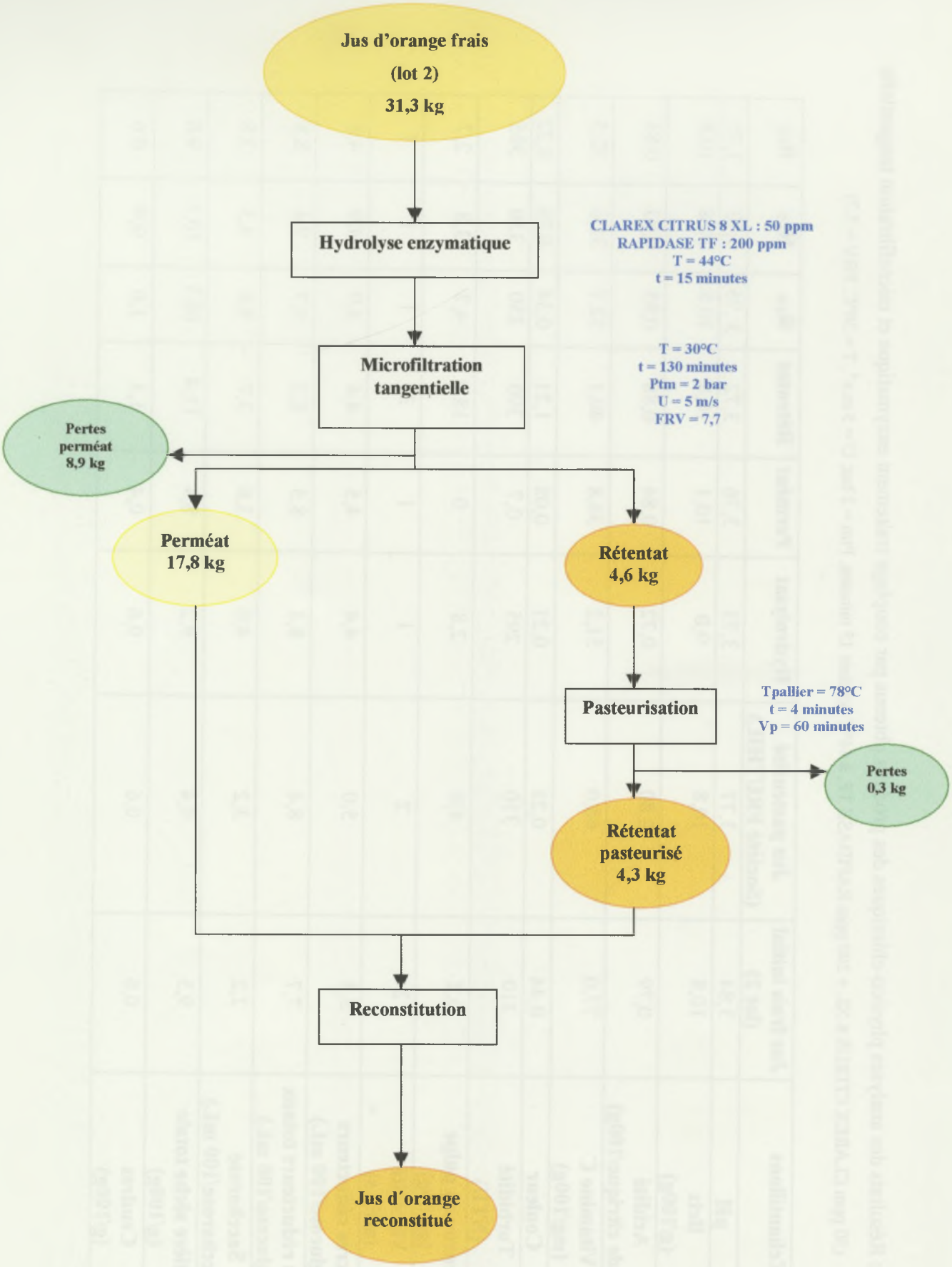


Figure 19 : Bilan de masse du procédé de couplage traitement enzymatique et microfiltration tangentielle en mode concentration

Tableau 19 : Résultats des analyses physico-chimiques des produits obtenus par couplage traitement enzymatique et microfiltration tangentielle

(50 ppm CLAREX CITRUS 8 XL + 200 ppm RAPIDASE TF, à 44°C pendant 15 minutes, Ptm = 2 bar, U = 5 $m.s^{-1}$, T = 30°C, FRV = 7,7)

Echantillons	Jus frais initial (lot 2)	Jus pasteurisé (Société FRUTHIL)	Hydrolysat	Perméat	Rétentat	$R_{1/3}$	$R_{1/5}$	$R_{1/7}$
pH	3,84	3,77	3,73	3,76	3,72	3 ,75	3,73	3,75
Brix (g/100g)	10,8	10,8	9,0	10,1	10,8	10,8	10,8	10,8
Acidité (g acide citrique/100g)	0,79	0,80	0,72	0,84	0,88	0,85	0,83	0,83
Vitamine C (mg/100g)	77,0	68,0	51,2	36,8	40,1	32,7	32,6	32,5
Couleur	0,44	0,21	0,21	0,08	1,21	0,34	0,29	0,22
Turbidité (NTU)	310	310	295	0,7	390	350	330	305
Teneur en pulpe (g/100g)	6,2	4,8	2,8	0	18,9	4,7	3,8	2,7
Viscosité (mPa.s)	2	2	1	1	3	1	1	1
Sucres réducteurs (g glucose/100 mL)	5,5	5,0	4,4	4,5	4,4	4,9	4,9	4,8
Sucres réducteurs totaux (g glucose/100 mL)	7,7	8,4	8,3	8,5	8,2	9,7	9,4	8,8
Saccharose (g saccharose/100 mL)	2,2	3,2	4,0	3,8	3,7	4,6	4,3	3,8
Matière sèche totale (g/100g)	9,5	9,4	9,2	8,4	11,4	10,3	10,1	9,8
Cendres (g/100g)	0,6	0,6	0,6	0,4	1,3	1,0	0,9	0,6

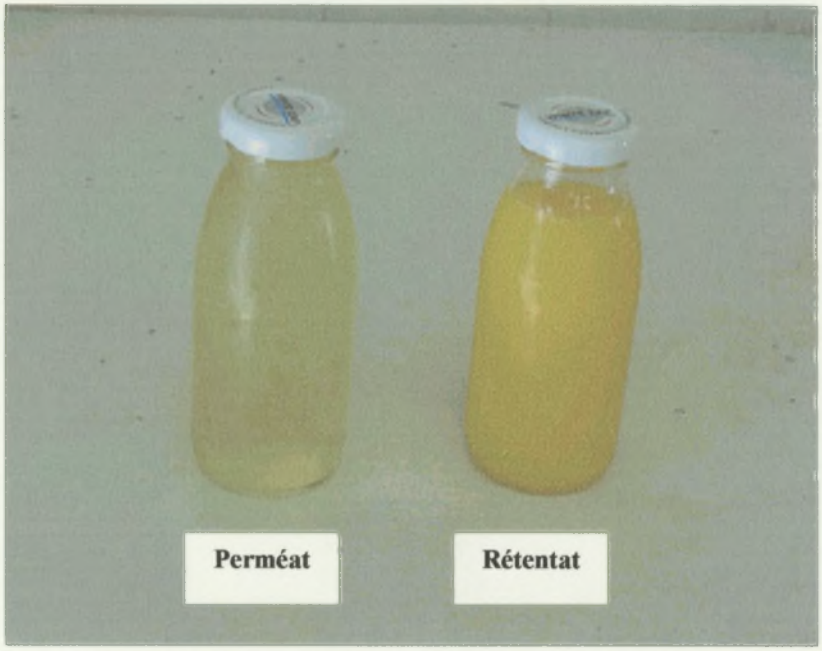
VI. EVALUATION DE LA QUALITE DES PRODUITS OBTENUS

VI.1. ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES

Le **Tableau 19** présente les résultats des analyses physico-chimiques réalisées sur les produits obtenus à l'issu du couplage traitement enzymatique et microfiltration tangentielle (hydrolysat, perméat et rétentat à FRV = 7,7 et jus reconstitués, $R_{1/3}$, $R_{1/5}$, $R_{1/7}$) en les comparant avec ceux du jus de référence (jus initial **lot 2** et jus pasteurisé FRUTHIL).

Par comparaison avec le jus d'orange frais initial, l'hydrolysat, le perméat, le rétentat obtenus et les jus reconstitués ont un pH, degré Brix, acidité et teneur en sucres similaires. Néanmoins, l'hydrolyse enzymatique a un effet sur les caractéristiques physico-chimiques de l'hydrolysat obtenu. En effet, la teneur en pulpe et la viscosité ont diminuée de 55 et 47% respectivement. Le jus d'orange a subit une clarification, donc la couleur et la turbidité diminuent dans l'hydrolysat. Mais le traitement enzymatique a engendré une perte en vitamine C dans l'hydrolysat de 33,5%, pouvant être expliquée par une aération importante du jus d'orange au cours de la filtration.

La microfiltration tangentielle en mode concentration (FRV = 7,7) a permis d'obtenir 2 produits très différents : un perméat incolore et un rétentat (**Figure 20**).

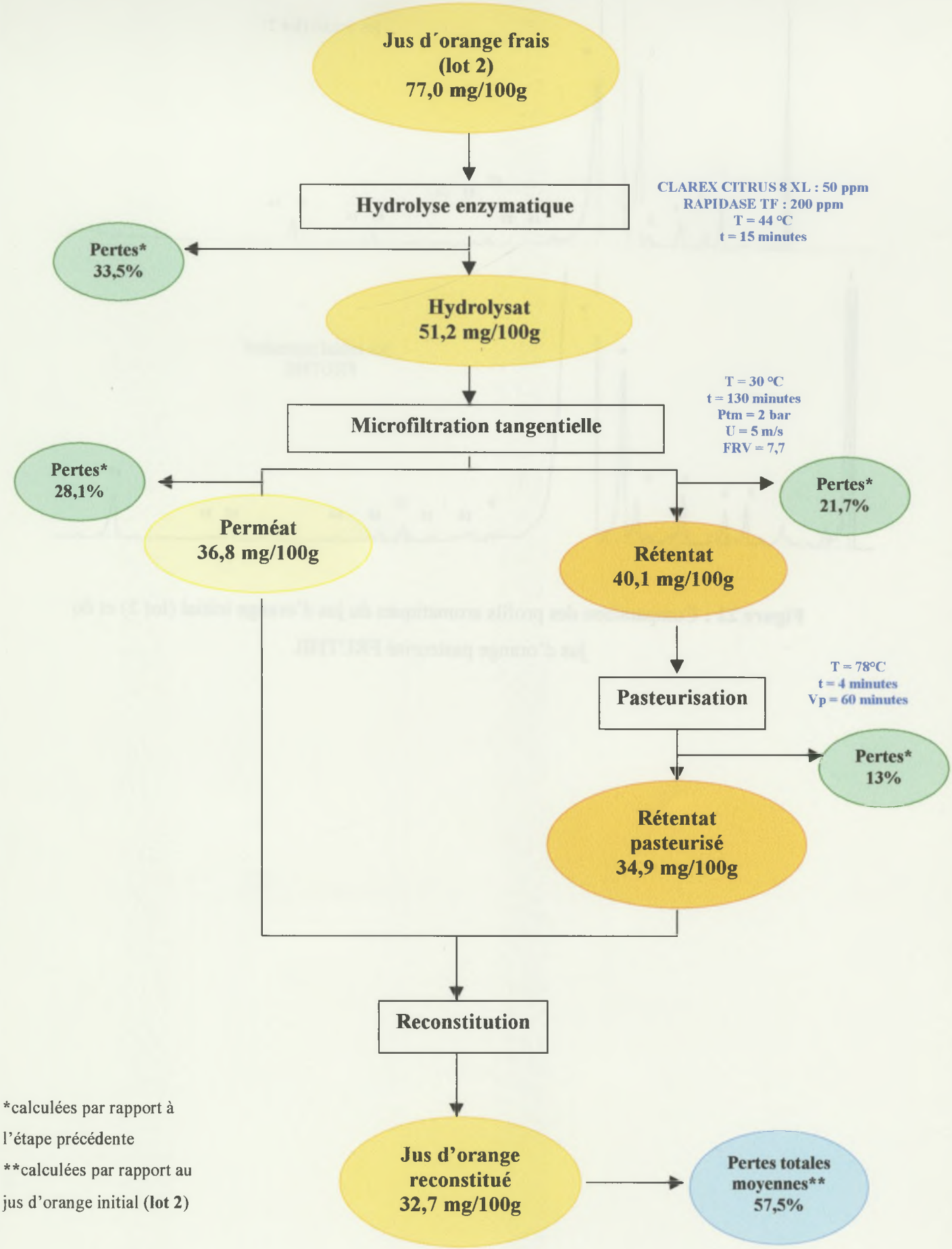


Conditions de traitement enzymatique préalable : **lot 2**, 50 ppm CLAREX CITRUS 8 XL et 200 ppm RAPIDASE TF, à 44°C pendant 15 minutes dans la cuve du pilote de filtration.

Conditions de la microfiltration : **lot 2**, Ptm = 2 bar, U = 5 m.s-1, T = 30°C, FRV = 7,7.

Figure 20 : Perméat et rétentat obtenus après microfiltration du jus d'orange préalablement hydrolysé par traitement enzymatique.

Figure 21 : Bilan des pertes de dégradation de la vitamine C au cours de la production de jus d'orange par couplage traitement enzymatique et microfiltration tangentielle



*calculées par rapport à l'étape précédente

calculées par rapport au jus d'orange initial (lot 2**)

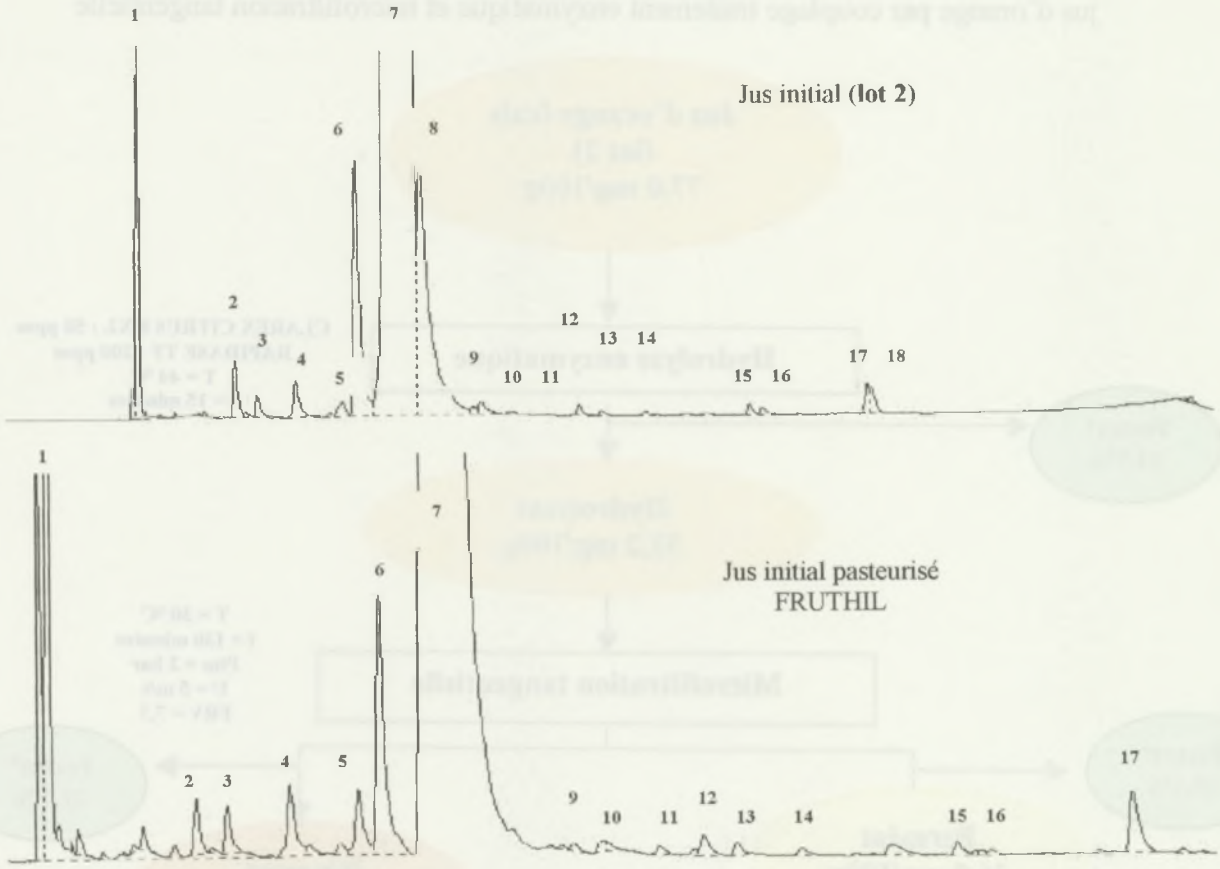


Figure 22 : Comparaison des profils aromatiques du jus d'orange initial (**lot 2**) et du jus d'orange pasteurisé FRUTHIL

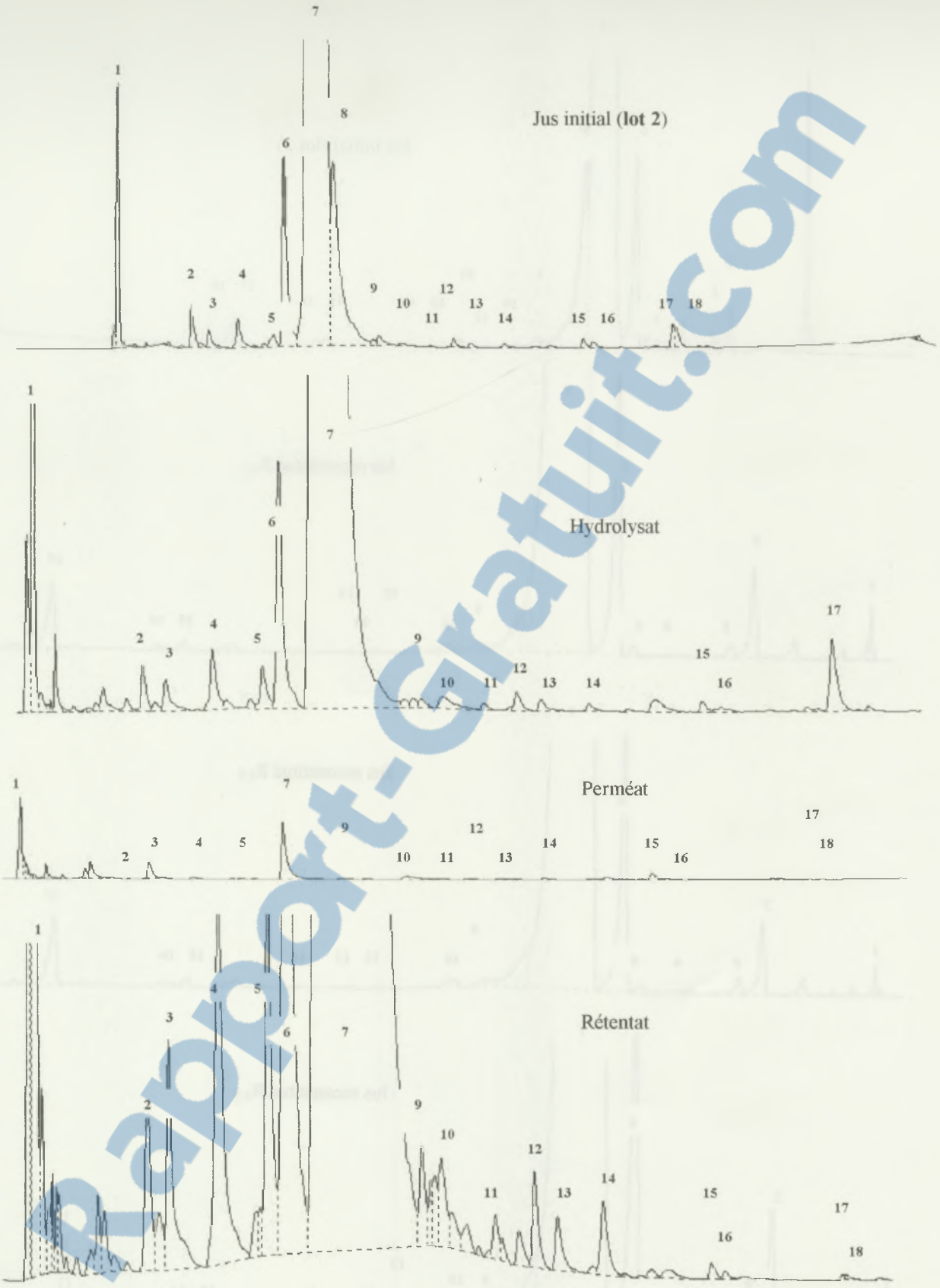


Figure 23 : Comparaison des profils aromatiques du jus d'orange initial (**lot 2**), de l'hydrolysat, du perméat et du rétentat

Rapport-Gratuit.com

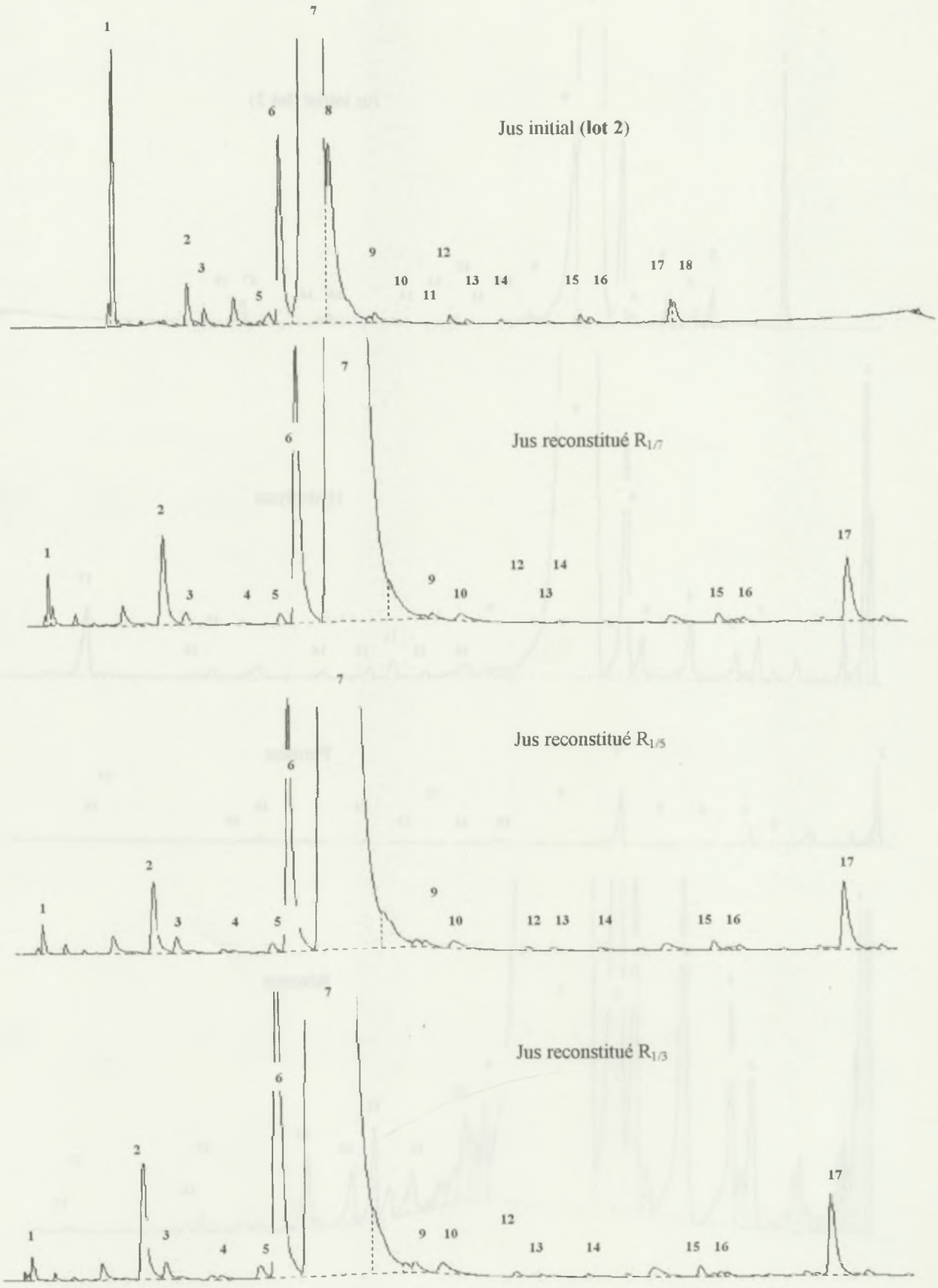


Figure 24 : Comparaison des profils aromatiques du jus d'orange initial (**lot 2**) et des jus reconstitués ($R_{1/7}$, $R_{1/5}$ et $R_{1/3}$)

Le perméat ne contient pas de solides insolubles en suspension, le produit obtenu est donc clair et possède une faible turbidité. Mais, nous constatons une perte en vitamine C de 52% dans le perméat ainsi que la perte totale de la couleur jaune – orange. Les composés responsables de la couleur caractéristique du jus d'orange semblent donc avoir été retenus par la membrane. On peut penser qu'ils ont peut-être été retenus dans le gâteau de filtration.

Le rétentat contient une teneur en pulpe 7 fois plus importante que celle du jus d'orange initial. En effet, il a été concentré 7 fois. Par conséquent, la turbidité du rétentat augmente. L'augmentation des solides insolubles en suspension entraîne aussi une augmentation de la viscosité de 59%. Contrairement au perméat, la concentration des composés responsables de la couleur caractéristique du jus d'orange entraîne l'augmentation de la couleur dans le rétentat. Mais, la microfiltration tangentielle engendre une perte en vitamine C de 48% dans le rétentat.

La perte en vitamine C dans le perméat et le rétentat peut être expliquée par une aération importante lors du recyclage des produits pendant la microfiltration. L'aération du jus d'orange initial pourrait être limitée en effectuant une désaération préalable. L'utilisation de gaz inerte pourrait éviter la présence d'air dans le circuit. Afin de comprendre si l'aération du produit est responsable de la perte de la vitamine C, quelques tests simples en laboratoire pourraient être effectués : jus d'orange laissé à l'air ambiant, bullage d'oxygène dans le jus, et jus d'orange mis en contact avec un gaz inerte (azote notamment).

Les jus d'orange reconstitués $R_{1/3}$, $R_{1/5}$, $R_{1/7}$ présentent des caractéristiques physico-chimiques proches de celles du jus d'orange pasteurisé (jus pasteurisé par la société FRUTHIL). La différence importante réside dans la teneur en vitamine C. En effet, les jus reconstitués présentent une perte en vitamine C de 58% (**Figure 21**). En plus de l'aération du jus d'orange au cours de la filtration, la pasteurisation du rétentat vient accroître la perte en vitamine C. Cette perte en vitamine C dans le rétentat pasteurisé a été estimée à 13%. Le jus pasteurisé par la société FRUTHIL présente une perte de 12% de la vitamine C par rapport au jus d'orange frais initial.

VI.2. ANALYSE DES AROMES

Les arômes présents dans les différents échantillons prélevés (jus initial, jus initial pasteurisé, hydrolysat, perméat, rétentat, rétentat pasteurisé et jus reconstitués) ont été dosés par la méthode chromatographique avec extraction par espace de tête dynamique.

Les chromatogrammes des jus d'orange initial et pasteurisé sont présentés sur la **Figure 22**. Les autres chromatogrammes des différents produits obtenus sont présentés sur les **Figures 23** et **24**.

Nous avons identifiés 18 pics principaux. Le pic majoritaire (n°7), par comparaison avec les travaux de VENTURINI (1999) et BALI (1991), a été identifié comme le d-limonène, composé majoritaire de l'arôme orange présent dans les glandes à huiles essentielles.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

Tableau 20 : Comparaison des pics de composés d'arôme obtenus pour, l'hydrolysat, le perméat, le rétentat à FRV 7,7 par rapport au jus initial (**lot2**) et les jus reconstitués ($R_{1/3}$, $R_{1/5}$, $R_{1/7}$), par rapport au jus pasteurisé FRUTHIL.

Pics	Jus d'orange frais initial	Jus pasteurisé FRUTHIL*	Hydrolysat	Perméat	Rétentat	$R_{1/3}$	$R_{1/5}$	$R_{1/7}$
2	100	72,3	65,0	0,4	**291,3**	**329,2**	**253,4**	**200,7**
3	100	**141,5**	**118,0**	51,6	**858,0**	46,7	44,8	46,7
6	100	57,6	69,4	**0**	**315,6**	**237,4**	**160,4**	**153,0**
7	100	73,2	93,2	0,4	**243,4**	**190,2**	**149,0**	**144,4**
10	100	**440,8**	**589,6**	**222,4**	**2275,5**	88,9	**101,5**	**133,8**
11	100	**442,7**	**349,3**	52,9	**2171,0**	100	100	100
12	100	**122,8**	39,8	8,2	**573,3**	31,6	24,2	12,3
13	100	**128,3**	**248,3**	22,2	**749,6**	30,3	30,0	15,6
14	100	80,8	**181,5**	26,7	**1071,7**	76,2	69,1	48,9
15	100	69,6	52,4	48,1	92,5	**116,2**	**107,8**	**102,4**
16	100	71,8	69,7	15,1	47,7	31,6	26,3	21,9
17	100	**245,1**	34,4	4,3	9,1	**176,7**	**158,5**	**141,4**
18	100	**0**	**260,6**	4,6	10,0	100	100	100

*provenant du même lot que le jus d'orange initial (**lot2**)

La comparaison des pics obtenus pour le jus pasteurisé FRUTHIL, l'hydrolysat, le perméat, le rétentat à FRV 7,7 et les jus reconstitués est présenté dans le **Tableau 20**.

Le profil aromatique du jus pasteurisé est différent de celui du jus d'orange initial : en effet, la surface de certains pics (3, 10, 11, 12, 13, 17) a augmenté alors que celle d'autres pics (2, 6, 7, 14, 15, 16) a diminué. Un pic a même disparu (18). Ce changement du profil aromatique est dû au traitement thermique du jus d'orange. La chaleur dégrade les arômes, entraînant ainsi la diminution ou la disparition complète de certains pics (2, 6, 7, 14, 15, 16, 18) ; d'autres composés d'arômes apparaissent, d'où l'augmentation de certaines aires de pics (3, 10, 11, 12, 13, 17). Ceci a déjà été constaté par NISPEROS-CARRIEDO, SHAW (1990).

Le traitement enzymatique du jus d'orange entraîne un changement dans le profil aromatique de l'hydrolysat obtenu : certains pics augmentent (3, 10, 11, 13) ou diminuent (2, 6, 7, 15, 16) de façon commune à l'hydrolysat et au jus pasteurisé. Mais, nous observons que le profil aromatique change seulement dans l'hydrolysat et rend compte de l'effet du traitement enzymatique : les pics 12 et 17 diminuent dans l'hydrolysat, alors que les pics 14 et 18 augmentent. Le traitement enzymatique aurait donc un effet sur les composés d'arômes. Une identification de ces pics serait donc intéressante pour mieux comprendre l'effet du traitement enzymatique sur ces composés d'arômes.

Après la microfiltration tangentielle, le profil aromatique dans les différentes fractions obtenues est très différent. Le perméat présente un appauvrissement en composés d'arômes : tous les pics montrent une diminution importante. Le rétentat à FRV = 7,7 s'est enrichi : la surface de pics 2, 3, 6, 7, 10, 11, 12, 13, 14 augmente alors que la surface des pics 15, 16, 17 et 18 diminue. Ce phénomène a déjà été observé par MEDINA et GARCIA (1988), BALI (1991) et VENTURINI (1999). En effet, d'après BALI, certains composés d'arôme seraient adsorbés sur les parois cellulaires de la pulpe et seraient donc retenus par la membrane. De plus, d'autres phénomènes d'interactions physico-chimiques au niveau de la couche filtrante empêcheraient le passage des composés d'arômes dans le perméat.

Les jus reconstitués se sont appauvris en certains composés d'arôme (pics 3, 12, 13, 14, 16) et enrichis en d'autres (pics 2, 6, 7, 15 et 17). Une identification des différents pics serait intéressante pour savoir s'ils participent à l'arôme principal du jus d'orange ou s'ils correspondent à des composés de dégradation issus de la microfiltration tangentielle et de la pasteurisation du rétentat.

Le bilan matière des composés d'arômes a permis de montrer une perte des composés d'arôme dans le perméat (94%) et le rétentat (40%), conduisant à une perte totale des composés d'arômes de 44% dans les jus d'orange reconstitués. Ce phénomène a déjà été constaté par VENTURINI (1999).

L'analyse des composés d'arôme semble très complexe (certains pics disparaissent, d'autres apparaissent) et difficile à interpréter : est-ce un problème d'analyse ? les échantillons sont-ils bien représentés ?...

Les pertes en composés d'arôme et en vitamine C sont similaires dans les jus reconstitués. Les produits obtenus au cours de la microfiltration doivent être protégés de l'air et de la lumière. L'utilisation d'un gaz inerte dans le pilote pendant la microfiltration pourrait aider à préserver d'une part les composés d'arôme, et, d'autre part la vitamine C. Le recyclage des différents produits au cours de la filtration (perméat, jus d'alimentation) doit être maîtrisé afin de minimiser l'aération des produits.

VI.3. ANALYSE SENSORIELLE DES JUS D'ORANGE RECONSTITUES

Les jus d'orange reconstitués ($R_{1/3}$, $R_{1/5}$, $R_{1/7}$) ont été soumis à une analyse sensorielle. En effet, nous voulions savoir si le jury percevrait la différence de concentration de ces jus. Les différentes formulations ont donc d'abord été soumises à un test de préférence au cours duquel les descripteurs suivant ont été notés : *saveur caractéristique*, *goût acide*, *saveur de peau d'orange* et *goût sucré*. $R_{1/3}$, $R_{1/5}$, $R_{1/7}$ ont été jugés semblables à l'issu du test de préférence **(Tableau 21)**.

Tableau 21 : Résultats de l'analyse sensorielle des jus d'orange reconstitués

Echantillons	*Saveur caractéristique*	*Goût acide*	*Saveur de peau d'orange*	*Goût sucré*
$R_{1/3}$	3,3 [a]	2,8 [a]	2,0 [a]	2,2 [a]
$R_{1/5}$	3,6 [a]	2,8 [a]	1,8 [a]	2,5 [a]
$R_{1/7}$	3,5 [a]	3,1 [a]	2,3 [a]	1,9 [a]

a : non significatif

Le jus reconstitué $R_{1/7}$ (jus en proportions identiques à celles du jus initial) et le jus d'orange pasteurisé FRUTHIL ont été comparés afin de savoir si le jus reconstitué est préféré au jus pasteurisé produit industriellement. Les résultats sont présentés dans le **Tableau 22**.

Tableau 22 : Résultats de l'analyse sensorielle du jus d'orange reconstitué $R_{1/7}$ par comparaison avec le jus pasteurisé FRUTHIL

Echantillons	*Saveur caractéristique*	*Goût acide*	*Saveur de peau d'orange*	*Goût sucré*
Pasteurisé FRUTHIL	3,4 [a]	3,3 [a]	2,1 [a]	2,7 [a]
$R_{1/7}$	4,0 [a]	2,2 [b]	1,9 [a]	2,7 [a]

a : non significatif, b : significatif

Le jus d'orange reconstitué ($R_{1/7}$) ne présente aucune différence significative par comparaison avec le jus d'orange pasteurisé FRUTHIL. Néanmoins, le jury a trouvé que $R_{1/7}$ était moins acide que le jus d'orange pasteurisé industriellement. Pourtant, l'acidité titrable ne diminue pas dans ce jus.

Nous constatons que le jury ne décèle pas l'appauvrissement aromatique des jus reconstitués, détecté par chromatographie gazeuse. L'identification des pics d'arôme pourrait montrer que les pics qui augmentent dans les jus reconstitués correspondent à des composés d'arômes participant à la note principale du jus d'orange.

Le jus d'orange peut être reconstitué en utilisant moins de perméat (formulation $R_{1/3}$) car cette formulation n'a montré aucune différence par comparaison avec le jus d'orange pasteurisé FRUTHIL. Ainsi, le perméat restant pourrait être valorisé dans différentes industries : boissons gazeuses, pâtisserie et viennoiserie....

VII. ANALYSE DU COUT DE REVIENT DU JUS D'ORANGE RECONSTITUE

Le coût de revient du jus d'orange reconstitué doit prendre en compte tous les coûts engendrés par les différents procédés mis en ouvre (traitement enzymatique, microfiltration tangentielle et pasteurisation). Ainsi, il ne faut pas oublier les intrants des différentes étapes (produits de nettoyages, eau) ainsi que la consommation énergétique des différents appareils utilisés au cours des procédés (pilote de microfiltration et bain-marie, pasteurisateur).

Les données pour le calcul du prix de revient du jus d'orange reconstitué et la consommation électrique des équipements utilisés sont présentées sur les **Tableaux 23** et **24** respectivement.

Tableau 23 : Données pour le calcul du coût de revient du jus d'orange reconstitué

Données	Coût
Eau (m^3)	2,54 $
Soude (kg)	0,66 $
Acide Nitrique (kg)	3,04 $
kWh	0,08$
Enzymes (/kg)	CLAREX CITRUS 8 XL 26 $ RAPIDASE TF 29 $
Jus d'orange (L)	0,5$

Tableau 24 : Consommation électrique des équipements utilisés

Equipements	Consommation électrique
Pilote de filtration	2,2 kWh
Bain-marie	4 kWh
Pasteurisateur	0,175 kWh

Le **Tableau 25** présente le détail du calcul du coût de revient hors investissement, en dollars par litre de jus d'orange reconstitué.

Le calcul du coût énergétique du traitement enzymatique prend en compte les 15 minutes effectives du traitement, mais aussi les 15 minutes de circulation du jus d'orange dans le pilote pour atteindre la température de 44°C, avant le traitement enzymatique. Le calcul du coût énergétique de la filtration tangentielle prend en compte 130 minutes de filtration, durée nécessaire pour atteindre le FRV de 7,7, sans avoir recours au bain-marie. En effet, le bain-marie ne sert qu'à l'étape de nettoyage du pilote, pendant 30 minutes, pour amener les produits de nettoyage (soude et acide nitrique) à leur température de consigne. La consommation d'eau au cours de l'étape de nettoyage s'élève à 45 L. Nous avons estimé que les coûts des produits de nettoyage pour le pasteurisateur étaient identiques à ceux calculés pour l'étape de filtration.

Tableau 25 : Calcul du coût de revient hors investissement, en dollars par litre de jus d'orange reconstitué

	Coût ($/L de jus reconstitué)
Matière première	**0,5**
Traitement enzymatique :	**0,016**
Enzymes : *CLAREX CITRUS 8 XL* *RAPIDASE TF* Coût énergétique du traitement enzymatique	0,0071 *0,0013* *0,0058* 0,0088
Microfiltration :	**0,12**
Coût énergétique de la filtration	0,038
Coût énergétique du nettoyage	0,07
Produits de nettoyage : *Soude* *Acide nitrique*	0,001 *0,0004* *0,0006*
Coût de l'eau	0,011
Pasteurisation du rétentat :	**0,043**
Coût énergétique de la pasteurisation	0,0014
Coût énergétique du nettoyage	0,018
Produits de nettoyage : *Soude* *Acide nitrique*	0,001 *0,0004* *0,0006*
Coût de l'eau	0,023
Coût total	**0,68**

Coût du jus pasteurisé	**0,9**

Le prix de revient du jus d'orange reconstitué dépend du FRV. En effet, plus le FRV augmente, plus la quantité de rétentat à pasteuriser sera faible, donc plus la consommation énergétique de cette étape diminuera.

Pour pouvoir réellement comparer le coût de production du jus d'orange reconstitué par rapport à celui du jus d'orange pasteurisé, il faudrait prendre en compte les investissements. Les coûts d'investissements, la première année, pour une installation de microfiltration sont beaucoup plus élevés que ceux faisant appel à un pasteurisateur. Mais, même en rajoutant 30% (estimation de la part due aux investissements) au coût de revient du jus d'orange reconstitué, ce dernier reste encore plus faible que celui d'un jus pasteurisé.

VIII. CONCLUSION GENERALE

Notre travail avait pour but d'élaborer un jus d'orange en combinant traitement enzymatique et microfiltration tangentielle. Pour ce faire, il était d'abord indispensable d'étudier et de définir les conditions opératoires de la liquéfaction des polyosides pariétaux de l'orange en testant deux préparations enzymatiques commerciales. Par la suite, les conditions opératoires de la microfiltration tangentielle ont été définies pour augmenter le rendement de filtration. Différentes reconstitutions rétentat - perméat ont été testées et les caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques des produits obtenus ont été comparées à celles d'un jus d'orange pasteurisé.

Les résultats obtenus sont les suivants :

- ✓ il existe un effet synergique entre CLAREX CITRUS 8 XL, riche en polygalacturonase, et RAPIDASE TF, riche en cellulases ;
- ✓ 15 minutes de traitement enzymatique à 45°C suffisent à obtenir des teneurs en pulpe et des viscosités minimales (respectivement 44 et 33%) en associant 50 ppm de CLAREX CITRUS 8 XL et 200 ppm de RAPIDASE TF. Ce temps de traitement enzymatique est compatible avec une application industrielle ;
- ✓ le traitement enzymatique semblerait libérer quelques composés d'arôme dans l'hydrolysat ;
- ✓ la microfiltration tangentielle couplée au traitement enzymatique a permis d'obtenir deux produits différents : le perméat, incolore, pauvre en composés d'arôme et en vitamine C (6 et 50% respectivement) ; le rétentat, de coloration orange vif, avec une perte en composés d'arôme et de vitamine C de 40 et 48% respectivement ;
- ✓ les densités de flux de perméat obtenues dans les conditions opératoires définies ($U = 5$ $m.s^{-1}$; $Ptm = 2$ bar ; $T = 30°C$ et $FRV = 7,7$) sont élevées (environ 75 $L.h^{-1}.m^{-2}$) et compatibles avec des exigences industrielles ;
- ✓ le jus d'orange reconstitué présente des caractéristiques physico-chimiques et sensorielles semblables à celles d'un jus d'orange pasteurisé et a même été jugé moins acide par un jury d'analyse sensorielle. Néanmoins, il présente une perte en vitamine C importante, environ 60% ;
- ✓ le coût de production du jus d'orange reconstitué est inférieur à celui d'un jus d'orange pasteurisé, mais il serait intéressant de comparer le coût de production du jus d'orange reconstitué obtenu en conditions industrielles.

Afin de mieux comprendre et d'optimiser le couplage traitement enzymatique et microfiltration tangentielle du jus d'orange, certains points restent à approfondir :

Traitement enzymatique :

- ✓ le traitement enzymatique doit être optimisé : les activités enzymatiques mises en jeu doivent être suivies au cours du temps ;
- ✓ la liquéfaction des polyosides pariétaux de l'orange doit être optimisée afin de vérifier si le traitement permettant une réduction maximale de la teneur en pulpe entraîne la meilleure densité de flux de perméat ;

Microfiltration tangentielle :

- ✓ pour essayer de limiter les pertes en vitamine C observées au cours de la filtration, plusieurs solutions pourraient être envisagées : une désaération préalable du jus d'alimentation, la vérification obligatoire de la bonne purge du pilote de filtration, l'utilisation d'un gaz inerte et l'usage d'un tuyau en plastique plongeant directement dans la cuve d'alimentation permettant ainsi un recyclage facile des produits au cours de la filtration ;
- ✓ des essais de filtration à des vitesses tangentielles plus basses (inférieures à 3 $m.s^{-1}$) pourraient être réalisés pour vérifier les résultats obtenus à Rio de Janeiro ;
- ✓ l'évolution du rétentat au cours de la filtration doit être étudiée pour suivre, d'une part, la concentration des solides insolubles en suspension et, d'autre part, suivre les activités enzymatiques dans le rétentat ;
- ✓ l'évolution de la densité de flux de perméat en fonction du FRV pourrait être étudiée pour déterminer à partir de quel facteur de concentration une chute brutale de la densité de flux est observée ;
- ✓ la stabilité du trouble dans le perméat pourrait être étudiée au cours du temps.

Pasteurisation :

- ✓ la durée de conservation d'un jus pasteurisé pourrait être comparée à celle d'un jus reconstitué ;
- ✓ d'autres moyens de pasteurisation pourraient être testés (utilisation des hautes pressions) pour limiter les goûts de cuit souvent constatés par les dégustateurs.

Rapport-Gratuit.com

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ABECITRUS (Association des Producteurs d'Oranges de l'Etat de São Paulo, Brésil). (Page consultée le 3 février 2001). *Associação Brasileira dos Produtores de Laranja*. Adresse URL : http://www.abecitrus.com.br.

ANDERSON *et al.*(1998). **Nutrição**. Ed. Guanabara, Rio de Janeiro 17ª éd. : Cap.8.

BALI, R. (1991). **Microfiltration en flux tangentiel : applications et intérêts dans le procédé technologique de transformation de l'orange**. Thèse de Doctorat, Montpellier, France, Université de Montpellier I - Faculté de Pharmacie : 114 p.

BOTRELLI, N. (2001). **Determinação da pectina metil esterase**. Communiqué interne, CTAA – EMBRAPA, Rio de Janeiro, Brésil.

CAPANNELLI, G., BOTTINO, A., MUNARI, S., BALLARINO, G., MIRZAIAN, H., RISPOLI, G., LISTER, D.G. and MASCHIO, G. (1992), **Ultrafiltration of Fresh Orange and Lemon Juices**, Food Science and Technology, **25** (6) : p.518-522.

CAPANNELLI, G., BOTTINO, A., MUNARI, S., LISTER, D.G., MASCHIO, G. et BECCHI, I. (1994). **The use of membrane processes in the clarification of orange and lemon juices.** Journal of Food engineering **21** (4) : p.473-483.

CECCHI, H.M. (1999). **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. Editora da UNICAMP, Campinas, Brésil : 212p.

COMBES, M. (1998). **Etude de la production d'un sirop de fructanes et d'un sirop de fructose par ultrafiltration à partir du yacon (*Polymnia sonchifolia*)**. Rapport de stage, CERAT-UNESP, Botucatu, Brésil. ISIM, Montpellier, France. 72p.

COUREL, M. (1999). **Etude des transferts de matière en évaporation osmotique : application à la concentration des jus de fruits**. Thèse de Doctorat. Université Montpellier II, Montpellier, France. 180p.

COURI, S. (1993). **Efeito de cátions na morfologia do agregado e na produção de poligalacturonasa por *Aspergillus niger* mutante 3T5B8**. Thèse de Doctorat. Escola de química, UFRJ, Rio de Janeiro, Brésil. 304p.

DECLOUX, M., PROTHON, F. (1998). **Jus de fruits, légumes et jus sucrés**. *dans* Les séparations par membrane dans les procédés de l'industrie alimentaire. G. DAUFIN, F. RENE et P. AIMAR (Ed.). Paris, LAVOISIER Tech & Doc : p.473-506.

EBC (EUROPEAN BREWERY CONVENTION) (1987). Brauerei und Getränke. Analytica-EBC (Ed.) 4ed., Zurique, Rundschau : 271p.

FAIGH, JG. (1995). **Enzyme Formulations for Otpimizing Juice Yields**. Food Technology, numéro spécial septembre : p.79-83

FAO. (Page consultée le 6 avril 2001). *Banques de données*. Adresse URL : http://apps.fao.org/page/collections.

FAVIER, J.C., LAUSSUCQ, C., FEINBERG, M., IRELAND-RIPERT, J. (1993) **Répertoire général des aliments : Table de composition des aliments, Fruits exotiques, Fruits de cueillette d'Afrique, Tome 3**. ORSTOM éd., INRA éd. Technique & Documentation : p.70.

FRANQUIN, S. (2002). **Etude des composés de la paroi cellulaire de la banane et de sa liquéfaction enzymatique**. Thèse de Master of Science ENSIA-SIARC. Montpellier, 89p.

GIRARD, B., FUKUMOTO, L.R. (2000). **Membrane processing of fruit juices and beverages : a review**. Critical Review in Biotechnology **20** (2) : p.109-175.

GOMES, I., GOMES, J., STEINER, W., ESTERBAUER, H ; (1992). **Production of celulase and xylanase by a wild strain of *Trichoderma viride***. Applications in Microbiology Biotechnology **36** : p.701-707.

HEINONEN, M.I., OLLILAINN, V., LINKOLA, E.K., VARO, P.T., KOIVISTOINEN, P.E. (1989). **Carotenoids in finnish foods : vegetables, fruits and berries**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, **37** : p.655-659.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (1985). **Normas Analíticas : Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**. São Paulo, 396p.

KASHYAP, D.R., VOHRA, P., K., CHOPRA, S., TEWARI, R. (2001). **Applications of pectinases in the commercial sector : a review** . Bioresource Technology, **77** : p.215-227.

LOEILLET, D. (1997). **Le marché international des jus d'agrumes**. Fruitrop **33** : p.8-17.

LOZANO, Y. (1992). **Applications des techniques séparatives membranaires aux jus de fruits tropicaux**. Fruits **47** : p.268-274.

MARTIN, C.O. (1980). **Produção de preparações amilásicas a partir de farinha de mesocarpo do fruto de *Orbygnia martiana* (babaçu)**. Mémoire de DEA. Escola de química, UFRJ, Rio de Janeiro, Brésil. 123p.

MEDINA, B.G., GARCIA, A. (1988). **Concentration of orange juice by reverse osmosis**. Journal of Food Engineering **10** : p.217-230.

NISPEROS-CARRIEDO, M., O., SHAW, E.P. (1990). **Comparison of Volatile Flavor Components in Fresh and Processed Orange Juice**. Journal of Agricultural and Food Chemistry **38** (4) : p.1048 – 1052.

PRALORAN, J.C. (1971). **Botanique des agrumes**. d*ans* Les agrumes. G.P. MAISONNEUVE & LAROSE Editions, Paris : p. 34-87.

REED, B.J., HENDRIX Jr., C.M., HENDRIX, D.L. (1986). **Quality Control for Citrus Processing Plants**. Florida. Intercit **1** : p.126-133.

SAUNT, J. (1990). Citrus varieties of the World. Sinclair International Limited World, Norwich, England. 204p.

SILVA, M.F.V. (1999). **Efeito de diferentes tratamentos e embalagens na polpa de acerola e caracterização dos teores de ácido ascórbico e das antocianinas durante o tempo de armazenamento**. Thèse de Doctorat. Faculté de Pharmacie, UNICAMP, Campinas, SP, Brésil : p.66 – 67.

SOBRINHO, D.C .A.P., PASSOS, O.S., SOARES, D.S.W., ROCHA, A.F.M. (1997). **Present status of the citrus nursery in Brazil** . *dans* Proceedings of the 5th World Congress of the International Society of Citrus Nurserymen (ISCN). Montpellier, France : p.169-176.

TIA (Entreprise de ventes de membranes et pilotes de filtration, Bollène, France). (Page consultée le 18 février 2002). *TIA Techniques Industrielles Appliquées*. Adresse URL : http://www.tia.fr.

TODISCO, S.P., DRIOLI, E, TALLARICO, P. (1996). **Analysis of the fouling mechanism in microfiltration of orange juice**. Journal of Food Processing and Preservation **20** (6) : p. 453-466.

ULTIMATE CITRUS (Site d'information et de promotion du jus d'orange de Floride). (Page consultée le 18 février 2002). *The Ultimate Citrus Page – Your Source For Citrus Information.* Adresse URL : http://www.ultimatecitrus.com.

VAILLANT, F. (2000). **Clarification et concentration de jus de fruits tropicaux pulpeux associant traitements enzymatiques, microfiltration tangentielle et évaporation osmotique**. Thèse de Doctorat ENSIA , Massy : 247p.

VENTURINI, W. (1999). **Microfiltração tangencial de suco de laranja**. Rapport scientifique de post-doctorat, Montpellier : 100p.

VENTURINI, W. (2001). **Manual de Laboratório**. Communiqué interne. Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu, Brésil.

Axe de travail : **N°**

AUTEUR : **Marilídia CLOTTEAU**

TITRE : **PRODUCTION D'UN JUS D'ORANGE PAR COUPLAGE TRAITEMENT ENZYMATIQUE ET MICROFILTRATION TANGENTIELLE**

Régions : Rio de Janeiro, Botucatu, Brésil ; Montpellier, France.

Institutions : CIRAD-FLHOR, EMBRAPA, UNESP.

Encadrants : **Lourdes CABRAL**, CTAA EMBRAPA ; **Manuel DORNIER**, CIRAD-FLHOR ; **Dominique PALLET**, CIRAD-FLHOR ; **Waldemar VENTURINI**, FCA UNESP.

Mots-clés : Jus d'orange, traitement enzymatique, microfiltration tangentielle.

- RESUME -

La microfiltration tangentielle permet de stabiliser les jus de fruits à froid et de préserver leurs composés thermosensibles (composés d'arômes, vitamine C), contrairement à la pasteurisation classiquement utilisée. Cette technique membranaire, peu utilisée dans l'industrie des jus d'orange au Brésil, est souvent précédée d'un traitement enzymatique permettant de diminuer la viscosité du jus et donc d'augmenter le rendement de filtration. Tout d'abord, différentes concentrations de 2 préparations enzymatiques commerciales ont été testées (CLAREX CITRUS 8 XL, riche en polygalacturonase, et RAPIDASE TF, riche en cellulases) à 45°C pendant 60 minutes afin d'étudier le traitement enzymatique du jus d'orange. Ces essais ont montré qu'il existe un effet synergique entre les 2 préparations enzymatiques étudiées, conduisant à une diminution de la teneur en pulpe (77%) et de la viscosité (66%). L'allure des courbes obtenues a montré que 15 minutes suffisent à atteindre ces valeurs, en combinant 50 ppm de CLAREX CITRUS 8 XL et 200 ppm de RAPIDASE TF. Par la suite, le couplage traitement enzymatique et microfiltration tangentielle a été étudié en testant 2 pressions transmembranaires (Ptm de 2 et 3 bar) et 2 vitesses tangentielles (U de 3 et 5 $m.s^{-1}$). Les densités de flux de perméat ont été maximales (75 $L.h^{-1}.m^{-2}$), en utilisant U = 5 $m.s^{-1}$ et Ptm = 2 bar, à 30°C, en mode concentration jusqu'à FRV = 7. Le rétentat pasteurisé a été mélangé au perméat afin de reconstituer un jus d'orange ayant des caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques similaires à celles du jus d'orange pasteurisé industriellement. Cependant, le procédé doit être amélioré afin de limiter les pertes en vitamine C, proches de 60%.

Côte bibliothèque CNEARC/SIARC :