

Montpellier SupAgro
Centre international d'études supérieures en sciences agronomiques

ECOLE DOCTORALE SCIENCES DES PROCEDES – SCIENCES DES ALIMENTS

Doctorat

Biochimie, Chimie et Technologie des Aliments

Aurélie Psychès-Bach

INTERACTIONS VIN/EMBALLAGE/ENVIRONNEMENT

Application au Bag-in-Box®

Thèse dirigée par Michel Moutounet

Soutenue le 3 février 2009

Jury :

Violette Ducruet	Ingénieur de Recherche, INRA, UMR Ingénierie Procédés Aliments, Massy	Rapporteur
David Chassagne	Maître de Conférence, Institut Universitaire de la Vigne et du Vin, EA EMMA, Université de Bourgogne, Dijon	Rapporteur
Gilles Trystram	Professeur, AgroParisTech, UMR GénIAL, Massy	Examineur
Pascale Chalier	Maître de Conférence, Université Montpellier II, UMR IATE, Montpellier	Encadrant
Jean-Michel Salmon	Directeur de Recherches, INRA, UMR SPO, Montpellier	Co-directeur de thèse
Michel Moutounet	Professeur, INRA, UMR SPO, Montpellier	Directeur de thèse

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES	I
REMERCIEMENTS	IX
VALORISATION DU TRAVAIL DE RECHERCHE	XIII
ABREVIATIONS	XVII
INTRODUCTION	1
APERÇU BIBLIOGRAPHIQUE	9
Le BIB (Bag-in-Box[®])	11
I. Généralités	11
I.1. Définition	11
I.2. Conditionnement du vin en BIB	12
I.3. Fabrication des poches	13
II. Les polymères utilisés dans les films constitutifs du BIB	16
II.1. Les polyoléfines	16
II.1.i. Polyéthylène (PE)	16
II.1.ii. Polypropylène (PP)	17
II.2. Les polyester	18
II.3. Les polyamides	19
II.4. Les copolymères d'éthylène	21
II.4.i. Copolymère d'Éthylène/Alcool Vinylique (EVOH)	21
II.4.ii. Copolymère d'Éthylène/Acétate de Vinyle (EVA)	22
Transfert de petites molécules dans les polymères	24
I. Introduction	24
II. Transport de masse dans les emballages	25
II.1. La diffusion	26
II.1.i. Les lois de diffusion de Fick	27
II.1.ii. Les mécanismes de diffusion	28
II.2. La sorption	29
II.2.i. La sorption d'après la loi de Henry	30
II.2.ii. Le mécanisme de sorption selon Langmuir	31
II.2.iii. Le mécanisme de sorption « dual »	31
II.2.iv. Le mécanisme de Flory-Huggins	31
II.2.v. Le mécanisme Brunauer-Emmet-Teller (BET)	32
II.3. La perméabilité	33
III. Paramètres influençant le transfert	34
III.1. Facteurs liés à l'emballage	34
III.1.i. T_g et volume libre	34
III.1.ii. Cristallinité	35
III.2. Facteurs liés aux molécules transportées	36
III.2.i. Poids moléculaire	36
III.2.ii. Polarité et hydrophobicité	37
III.2.iii. Concentration	38
III.3. Facteurs liés à l'environnement	38
III.3.i. Température	38

III.3.ii.	Humidité	40
Impact du transfert de gaz et de composés volatils sur la qualité organoleptique du vin		43
I.	Oxygène	43
I.1.	L'oxygène dans le vin	43
I.1.i.	Généralités	43
I.1.ii.	Dissolution de l'oxygène	44
I.1.iii.	Consommation de l'oxygène par le vin	46
	• Formes actives de l'oxygène	47
	• Substrats de l'oxygène	47
I.2.	Transfert de l'oxygène à travers l'emballage	50
I.3.	Pièges à oxygène	52
II.	Arômes	53
II.1.	Transfert de composés d'arôme à travers l'emballage	53
II.2.	Impact du transfert sur la qualité sensorielle de l'aliment	53
 MATERIEL ET METHODES		 57
Matériel		59
I.	Matériel biologique	59
I.1.	Saccharomyces cerevisiae K1M	59
I.2.	OptiWHITE®	59
II.	Milieux ou solutions	60
II.1.	Milieu de culture	60
II.1.i.	Solution mère d'acides aminés	61
II.1.ii.	Solution mère d'oligo-éléments	61
I.1.i.	Solution mère de vitamines	62
I.1.ii.	Solution mère des facteurs anaérobies de croissance	62
II.2.	Milieux d'analyses	62
II.2.i.	Tampon CMP	62
II.2.ii.	Tampon phtalate	62
II.2.iii.	Solution modèle Arômes	63
II.2.iv.	Vin blanc de Villaray	64
II.2.v.	Vin blanc « Mont Baudille »	64
II.2.vi.	Vin blanc « Pech Rouge »	65
III.	Les films plastiques de Bag-in-Box	65
III.1.	Epaisseur	66
III.2.	Densité	66
III.3.	Caractérisation des films par DSC	66
III.4.	Détermination du branchement par spectroscopie infrarouge	67
IV.	Mise en œuvre technologique des lies	67
IV.1.	Capillaires et tubes	67
IV.2.	Billes d'alginates	68
 Méthodes		 69
I.	Méthodes analytiques	69
I.1.	Comptage cellulaire	69
I.2.	Masse sèche	69
I.3.	Dosage SO ₂	69
I.3.i.	Principe	69
I.3.ii.	Mode opératoire	70
I.4.	Dosage du fer	71
I.4.i.	Principe	71
I.4.ii.	Mode opératoire	71
I.5.	Dosage du glutathion	73

I.5.i.	Principe	73
I.5.ii.	Mode opératoire	74
II.	Spectrophotométrie et Colorimétrie	75
II.1.	Colorimétrie	75
II.2.	Spectrophotométrie	76
III.	Transfert et consommation d'oxygène	76
III.1.	Méthode polarographique (sonde de Clark)	76
III.1.i.	Principe de mesure	76
III.1.ii.	Oxygraphe haute résolution Oroboros® Oxygraph-2k	77
•	• Description de l'appareillage	77
•	• Mesures et analyse	78
•	• Oxygénation des échantillons	79
III.1.iii.	Oxi 197S	79
•	• Description de l'appareillage	79
•	• Mesures et Analyse	80
III.2.	Sonde optique/chimique	81
III.2.i.	Principe de mesure	81
III.2.ii.	Dispositifs mis en place	82
•	• Bouteilles verres	83
•	• BIB	83
IV.	Transfert et sorption des composés d'arômes	84
IV.1.	Mesure de la perméation par chromatographie en phase gazeuse (CPG)	84
IV.1.i.	Dispositif de mesure	84
IV.1.ii.	Analyses	86
•	• Analyse du flux d'arôme	86
IV.2.	Mesure de la perméation par SPME/CPG	87
IV.3.	Mesure de la sorption par CPG et par spectroscopie infra rouge à transformée de Fourier (IR-TF)	91
IV.3.i.	Préparation des échantillons	91
IV.3.ii.	Extraction et analyse par chromatographie en phase gazeuse	92
•	• Analyse des extraits	92
IV.3.iii.	Analyse par spectroscopie IR-TF	93
V.	Détermination du coefficient de diffusion	94
V.1.	Cinétiques de perméation	94
V.1.i.	Cinétiques de sorption	96
VI.	Analyse statistique	97
VI.1.	Ecart-type	97
VI.2.	RMSE	98
VI.3.	Anova	98

RESULTATS ET DISCUSSION **99**

Transfert de composés d'arôme dans et à travers les films de BIB **101**

I.	Caractérisation des films de polyéthylène	102
I.1.	Epaisseur	102
I.2.	Densité	103
I.3.	Cristallinité et structure	103
I.4.	Perméabilité à la vapeur d'eau	104
II.	Détermination des coefficients de transfert des composés volatils	105
II.1.	Coefficient de perméabilité	105
II.1.i.	Films de polyéthylène	105
•	• Composés d'arômes	105
•	• Ethanol	108
II.1.ii.	Films multicouches	109

II.1.iii.	Conclusion	111
II.2.	Coefficient de sorption	112
II.2.i.	Phase vapeur	112
•	• Mesure du coefficient de sorption par méthode gravimétrique	112
•	• Mesure du coefficient de sorption par méthode semi-dynamique de perméation	115
II.2.ii.	Sorption des composés d'arôme en phase liquide	118
II.2.iii.	Conclusion	119
II.3.	Diffusion	119
II.3.i.	Cinétiques de perméation	119
II.3.ii.	Cinétiques de sorption	122
II.3.iii.	Conclusion	124
II.4.	Conclusion sur les transferts d'arômes purs	125
III.	Détermination des coefficients de transfert par Spectroscopie IR-TF	125
III.1.	Transmission	126
III.2.	Réflectance totale atténuée	127
III.3.	Conclusion	128
IV.	Détermination des phénomènes de transfert dans une solution modèle	128
IV.1.	Sorption par immersion (solution en contact avec les deux faces du film)	128
IV.1.i.	Solution aqueuse (sans éthanol)	128
•	• Coefficient de sorption	129
•	• Coefficient de diffusion	131
•	• Conclusion	132
IV.1.ii.	Influence de l'éthanol	132
•	• Coefficient de sorption	132
•	• Coefficient de diffusion	135
•	• Conclusion	136
IV.1.iii.	Influence de la présence des autres composés d'arôme sur la sorption dans les PE	136
IV.2.	Pertes en composés d'arôme par sorption et perméation (solution en contact avec une seule face du film)	137
V.	Conclusions	140
Transfert de gaz dans les BIB		142
I.	Mise au point du système de mesure	142
II.	Transfert d'oxygène avec le tampon CMP	143
II.1.	Méthodologie	143
II.2.	Modélisation linéaire	146
II.3.	Modélisation exponentielle	148
II.3.i.	Effet emballage	149
II.3.ii.	Autres effets	149
II.3.iii.	Comparaison des méthodes de mesure	150
II.3.iv.	Sorption détecté par spectroscopie IR-TF	151
III.	Transfert d'oxygène dans les vins	152
III.1.	Méthodologie	152
III.2.	Essai avec le vin blanc « Mont Baudille »	153
III.3.	Essai avec le vin blanc « Pech Rouge »	154
III.3.i.	Effet emballage	156
III.3.ii.	Autres effets	157
III.3.i.	Présence du ciel gazeux	157
III.3.ii.	Couleur des vins conditionnés en BIB	159
IV.	Conclusion	160
Mise au point du piège à oxygène		161
I.	Les lies de levures	161
I.1.i.	Définition légale de la lie de vin	161
I.1.ii.	Utilisations des lies de vin	161

I.2.	Conséquences de l'utilisation des lies sur le vin	162
I.2.i.	Levures et oxygène pendant le vieillissement de boissons fermentées	162
I.2.ii.	Levures et polyphénols	163
I.2.iii.	Interactions levure/oxygène/polyphénols	163
I.3.	Consommation d'oxygène par les milieux modèles	164
I.4.	Consommation d'oxygène par les lies	165
I.4.i.	Comparaison des lies avec d'autres systèmes levuriens	165
I.4.ii.	Impact de la concentration cellulaire	167
I.4.iii.	Impact du milieu	168
I.4.iv.	Impact de l'agitation	169
I.5.	Consommation d'oxygène par le vin	170
II.	Mise en œuvre du piège à oxygène	173
II.1.	Comparaison des différents pièges	173
II.2.	Impact de l'agitation	174
II.3.	Autres paramètres	175
II.4.	Essais industriels	179
III.	Piégeage du fer	181
IV.	Conclusion	182
CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES		183
RÉFÉRENCES		189
LISTE DES FIGURES		207
LISTE DES TABLEAUX		213
ANNEXES		217

REMERCIEMENTS

Un grand merci...

... A **Michel Moutounet**, pour la confiance qu'il m'a accordée en acceptant d'être mon directeur de thèse. Merci pour ses compétences scientifiques et ses longues discussions sur l'oxygène,

... A **Jean-Michel Salmon**, Directeur de Recherche à SupAgro de Montpellier, pour son implication dans ce projet, pour ses idées lumineuses et pour ses conseils avisés qui ont permis le bon déroulement de ce travail,

... A **Pascale Chalier**, Maître de Conférence à l'Université Montpellier 2, pour m'avoir fait partager son expérience, pour son dynamisme et son aide précieuse, pour toutes les discussions que nous avons eu aussi bien professionnelles que personnelles,

... A **André Laville**, Directeur de Vinobag, pour avoir accepté de porter le projet de thèse et pour ses connaissances techniques du sujet,

... A **Patrick Shea**, pour son enthousiasme pour la recherche et pour m'avoir soutenu depuis le début de cette aventure,

... Aux **membres de Performance BIB**, pour m'avoir permis de réaliser cette thèse,
... Aux **membres du jury de thèse**, Violette Ducruet, Ingénieur de Recherche à l'INRA de Massy, David Chassagne, Maître de Conférence de l'Université de Bourgogne à Dijon, et Gilles Trystram, Professeur à AgroParisTech, pour avoir accepté de juger ce travail,

... A **tous mes collègues de l'UMR SPO**, pour leur accueil et en particulier Evelyne Aguerra, Jean-Claude Boulet, David Fournand, Jean-Paul Lepoutre, Jean-Paul Mazauric, Christian Picou, Alain Samson, François-Xavier Sauvage, Louise Sidhoum, Jean-Claude Vidal, qui a un moment ou à autre m'ont apporté leur aide,

... A **mes collègues de l'UMR IATE**, Stéphane Peyron, pour son initiation à la spectroscopie infrarouge, Valérie Guillard, Sylvie Marchesseau, Emmanuelle Gastaldi, Carole Guillaume, Hélène Angellier, Alain Lagaude, Nathalie Gontard, Philippe Lusseau et Patricia Havelange pour leur bonne humeur et leur accueil,

... Aux **doctorants, post-doctorants et stagiaires**, Abdul, Benjamin, Carine, Carole, Caroline, Chloé, Christine, Claire, Florence, Jean-Eude, Laëtitia, Maeva, Maryam, Miguel, Morgane, Francis, Isabelle, Sana, Simon, et tous ceux que j'oublie, pour les sorties, les rendez-vous sportifs et les rires partagés,

... A **tous ceux qui ont participé au bon déroulement de ce travail de recherche**,

... A **ma famille**, pour son soutien inconditionnel,

... A **mon mari, ma fille et mon fils**, pour leur présence et leur joie de vivre !!!

VALORISATION DU TRAVAIL DE RECHERCHE

Publications

Aurélie Psychès-Bach, Michel Moutounet, Stéphane Peyron, Pascale Chalier, Influence of measurement conditions on aroma compounds transfer coefficients, *Journal of Food Engineering* (article accepté)

Aurélie Bach, Michel Moutounet, Stéphane Peyron, Pascale Chalier, Influence of Ethanol on Aroma Compounds Sorption into a Polyethylene Film, *Proceedings of the 12th International Weurman Flavour Research Symposium*, Interlaken, Switzerland, 1-4 July 2008

Posters

Aurélie Bach, Pascale Chalier, Stéphane Peyron, Jean-Michel Salmon, Michel Moutounet, Interactions vin/emballage/environnement : Application au Bag-in-Box® (BIB), *Journée de l'école doctorale Science des Procédés-Science des Aliments*, Montpellier, France, 20 juin 2007.

Aurélie Bach, Michel Moutounet, Stéphane Peyron, Pascale Chalier, Influence of Ethanol on Aroma Compounds Sorption into a Polyethylene Film, *The 12th International Weurman Flavour Research Symposium*, Interlaken, Switzerland, 1-4 July 2008

Aurélie Bach, Michel Moutounet, Stéphane Peyron, Pascale Chalier, Sorption of Aroma Compounds into Low Density Polyethylene Films: Comparative Study, *4th International Symposium on Food Packaging*, Prague, Czech Republic, 19-21 November 2008

Conférences Orales

Aurélie Bach, Michel Moutounet, Stéphane Peyron, Pascale Chalier, sorption of aroma compounds into low density polyethylene film, *SLIM Shelf Life International Meeting 2008*, Ischia, Italie, 25-27 juin 2008

ABBREVIATIONS

AOC : Appellation d'Origine Contrôlée
AOVDQS : Appellation d'Origine Vin De Qualité Supérieure
BIB : Bag-in-Box®
D : coefficient de diffusion
EVA : Acétate d'éthylène-vinyle
EVOH : Copolymère d'Éthylène/Alcool Vinylique
HR : Humidité Relative
mPET : PolyEster métallisé
P : coefficient de perméabilité
PA : PolyAmide
PE : PolyÉthylène
PEBD : PolyÉthylène Basse Densité
PEHD : PolyÉthylène Haute Densité
PELBD : PolyÉthylène Linéaire Basse Densité
PEN : PolyÉthylène Naphtalate
PET : PolyÉthylène Téréphtalate
PEUBD : PolyÉthylène Ultra Basse Densité
PP : PolyPropylène
PPBO : PolyPropylène Bi-Orienté
PVE : Perméabilité à la Vapeur d'Eau
PVOH : alcool PolyVinylique
S : coefficient de sorption

INTRODUCTION

Qu'on l'appelle Bag-in-Box® (marque déposée par la société Smurfit Kappa), BIB, caisse-outré ou fontaine à vin, ce contenant a réalisé une véritable explosion sur le marché du vin depuis une dizaine d'années. Alors que le BIB ne représentait qu'un volume de 33 000 hectolitres vendus en grande distribution en 1994, les ventes sont montées à 1,404 millions d'hectolitres pour 2006, soit 4 fois plus.

Le Bag-in-Box®, c'est aujourd'hui une part de marché de 17,6% en volume en grande distribution, contre 7,9% pour le cubitainer, alors qu'à ses débuts en France, le BIB était souvent assimilé au "cubi" et l'est même parfois encore... Le cubitainer prend désormais la troisième place en termes de volumes vendus sur 2007, avec 7,9% de part de marchés contre 11% en 1994.

La part de marché en volume des bouteilles en verre ne représente aujourd'hui en France plus que 66% contre 71% en 1994 et 80% en 2001. Malgré ces baisses importantes, le contenant « bouteille » reste leader des ventes en grande distribution (GD), avec 6,25 millions d'hectolitres vendus.

Il faut dire que le BIB présente de nombreux avantages. Constitué d'une outre souple, d'un suremballage en carton personnalisable et d'un robinet, le bag-in-box® assure au vin une conservation de plusieurs semaines grâce à sa poche se rétractant au fur et à mesure ce qui limite au maximum l'oxydation. Sous vide d'air et abrité de la lumière, le vin conserve mieux ses arômes et sa couleur.

Mais le succès du BIB tient aussi à son côté pratique : facile à transporter, résistant, plus facile à stocker dans un réfrigérateur que des bouteilles (les versions 2L et 3L sont très vendues), mais également adapté à une consommation occasionnelle (nul besoin d'ouvrir une bouteille entière pour deux verres) et souvent moins cher au litre que le vin en bouteille. Le Bag-in-Box® séduit avant tout le consommateur de vins peu connaisseur et urbain qui ne possède pas de cave.

Une étude récente de Viniflor (établissement public chargé des filières vin, fruits, légumes et horticulture qui participe à l'élaboration de la réglementation, analyse l'évolution des marchés et met en œuvre les soutiens nationaux et communautaires destinés aux filières dont il a la charge) révèle que :

- la consommation des vins en BIB est plus importante dans les grandes villes et dans l'agglomération parisienne,
- la consommation est davantage le fait de 'seniors' (80% des volumes sont achetés par les plus de 50 ans contre 70% pour l'ensemble des vins) et couples sans enfants.
- la catégorie 'aisée' compte davantage d'adeptes du BIB que la catégorie 'modeste'. Aujourd'hui, 30% des ventes de vins en BIB en grande distribution se font en AOC/AOVDQS.

Cependant, comme tout emballage alimentaire, ce contenant présente certains défauts. L'association « Performance BIB » (annexe 1), regroupant plus de cinquante entreprises issues de la filière Bag-in-Box, a identifié parmi ces problèmes deux cibles majeures : l'oxydation prématurée du vin, et les problèmes d'intégrité de l'emballage.

Très peu d'études ont été consacrées au conditionnement du vin en BIB. Souvent confidentielles et à la demande d'opérateurs privés, elles portent principalement sur les conséquences qualitatives du transport (Doyon *et al.*, 2005). Les travaux antérieurs de l'INRA (Institut National de la Recherche Agronomique) en partenariat avec l'association Performance BIB sur le sujet ont contribué à mieux connaître l'effet individualisé de quelques paramètres de l'environnement : température de stockage, concentration en oxygène dissous au conditionnement, et effets des films et robinet (Boulet *et al.*, 2004). Dans cette étude INRA/Performance BIB, les auteurs ont montré que le robinet n'avait pas d'impact sur l'oxydation des vins conditionnés en BIB : ainsi aucune différence n'est observée entre les vins conditionnés en BIB avec un robinet ciré et ceux conditionnés en BIB avec un robinet non ciré. De plus, le niveau d'oxygène initial avait un impact sur l'oxydation des vins (mesures analytiques telles que les teneurs en SO₂ libre et total, en SO₄, les concentrations en O₂ et en CO₂ ainsi que les mesures colorimétriques et l'absorbance à 420 nm) mais pas sur le profil sensoriel. D'autres résultats ont été observés : ainsi, le volume gazeux de la bulle piégée lors du remplissage du BIB augmente avec la température, ceci pouvant être lié au dégazage de CO₂. De plus, il a été observé une perte de masse due sans doute à une perte d'eau car elle s'accompagne d'une augmentation de la concentration en alcool.

Aucun travail ne s'est pour l'instant attaché à comprendre et quantifier le comportement de certaines espèces chimiques dont dépend la qualité du vin : gaz ou arômes, en fonction de la qualité des films employés dans la construction du BIB. C'est l'objet et l'originalité de ce sujet de thèse.

La liste suivante reprend les principales questions posées par l'association « Performance BIB » suite à l'étude INRA (Boulet *et al.*, 2004) :

1) Comment mieux mesurer la perméabilité réelle de l'O₂ de l'environnement vers le vin à travers l'emballage BIB en tenant compte des interfaces gaz/matériau/liquide et la spécificité des interactions avec le vin ?

2) Comment mieux mesurer les transferts gaz (CO₂, O₂, vapeur d'eau, SO₂ libre) de l'intérieur du BIB vers l'extérieur ?

3) Peut-on mieux prévoir la durée de conservation du vin en BIB à partir des caractéristiques mesurables du produit de base (acidité volatile, pH, alcool, contenu phénolique, ...) ?

4) Peut-on intervenir sur certains paramètres intrinsèques du produit (par exemple, les ions cuivriques et ferreux) pour limiter l'oxydation des vins en BIB ?

5) Comment mieux mesurer la contamination organoleptique de l'environnement ou de l'emballage vers le produit vin ?

6) Comment évaluer l'incidence réelle du phénomène de « Scalping » des arômes par le polyéthylène sur le profil aromatique des vins ?

7) Peut-on modéliser le transport du vin en BIB pour mieux comprendre son impact sur les performances du produit ?

8) Peut-on faire un meilleur modèle de prévision de la durée de conservation du vin en BIB, qui englobe tous les paramètres clés tout en restant très pratique pour les centres de remplissage ?

9) Est-il possible d'imaginer des mesures de contrôle de l'emballage ou du vin conditionné en BIB suffisamment simples pour être mises en application dans les centres de conditionnement et pas seulement dans les centres de recherche ?

Afin de répondre à ces questions, trois volets de recherche complémentaires sont développés.

Le premier volet porte sur la perméabilité de la poche aux gaz d'intérêt œnologique, et principalement à l'oxygène. Les protocoles de mesure de perméabilité aux gaz sont en effet normalisés en transfert gaz/gaz et il n'existe pas de mesure de perméabilité en transfert liquide/gaz qui correspond bien mieux à la réalité du conditionnement en BIB. Ce travail a consisté à mettre au point un protocole de mesure de la perméabilité des films constitutifs du BIB qui permette une extrapolation des résultats aux conditions réelles.

Le second volet s'intéresse aux interactions des composés d'arômes du vin avec la poche plastique du BIB. Deux types de film de PE couramment utilisés pour le contact avec le vin ont été caractérisés par la détermination des coefficients de perméabilité, de sorption et de diffusion dans des conditions différentes. L'importance quantitative de la perte en arôme a été évaluée sur une solution modèle en tenant compte des différents phénomènes de transfert pouvant se produire : perméabilité résultant de la diffusion des arômes à travers le film et sorption des composés au sein du film.

Le troisième volet porte sur la mise au point d'une solution technologique permettant de limiter l'oxydation des vins, quel que soit le conditionnement. En effet, la limitation des phénomènes d'oxydation est actuellement basée sur une seule majoration des doses de SO₂. Cette pratique limite ou ralentit mais n'empêche pas l'oxydation du vin en BIB. Elle présente en outre de nombreux inconvénients : risques accrus d'allergie, perte globale de qualité du vin, et pratique contraire à l'évolution de la réglementation qui tend à diminuer l'emploi du SO₂ dans la filière agro-alimentaire. Pour toutes ces raisons, d'autres alternatives à l'utilisation du SO₂ doivent être recherchées. Nous avons étudié l'utilisation de lies de levures comme piège à oxygène biologique qui ont été mis en œuvre sous différentes formes (capillaires remplis par les lies, lies piégées dans des billes d'alginate). L'impact du piégeage du fer par l'acide phytique a aussi été évalué sur la consommation d'oxygène par les vins et donc la limitation des phénomènes d'oxydation.

Ce manuscrit s'organise en cinq parties. Après une partie introduisant le sujet de l'étude, l'aperçu bibliographique rappellera ce qu'est un BIB ainsi que les propriétés des

éléments constitutifs du BIB. Cet aperçu bibliographique présentera également le transfert de petites molécules dans les polymères avec la définition des différents phénomènes de transfert et les paramètres les influençant pour terminer sur l'impact du transfert de gaz et de composés volatils sur la qualité organoleptique du vin.

Le matériel et les méthodes utilisés au cours des trois volets de l'étude seront présentés dans la troisième partie. Puis suivront les résultats et les discussions (quatrième partie) portant sur le transfert de composés d'arôme dans et à travers les films de BIB, sur le transfert de gaz dans les BIB et sur la mise au point du piège à oxygène.

Enfin, le manuscrit se termine par une conclusion reprenant les principaux résultats de cette étude puis les perspectives envisagées pour la poursuite de l'étude.

APERÇU BIBLIOGRAPHIQUE

LE BIB (BAG-IN-BOX®)

I. Généralités

I.1. Définition

Le Bag-in-Box® (BIB) littéralement « sac dans une boîte » ou encore « caisse outre » est une forme d'emballage pour les produits alimentaires et non-alimentaires, liquides et semi-liquides.

Le concept de Bag-in-Box est apparu aux USA vers la fin des années 1950. Dès 1957, cet emballage sous forme d'un sac possédant un film unique a été présenté à l'industrie laitière à destination des distributeurs de grande quantité de lait. Ce conditionnement permettait une certaine facilité d'utilisation avec un allègement du poids de l'emballage.

Initialement, les propriétés physiques (perméabilité à l'oxygène, résistance mécanique ou au solvant) des films monocouches utilisés (principalement des homopolymères de polyéthylène basse densité) ont limité les applications. De plus l'équipement permettant le remplissage était lent et souvent imprécis du fait de mécanismes semi-automatiques. Cette situation a changé de manière significative avec l'introduction dans les années 1960 de films de copolymère d'acétate d'éthylène-vinyle (EVA) qui ont permis d'apporter de meilleures propriétés des films constitutifs comme une bonne étanchéité à l'oxygène et une bonne résistance mécanique.

Ensuite sont apparus des équipements de remplissage totalement automatiques qui permettaient une alimentation continue des sacs en ligne, leur séparation, leur remplissage et leur fermeture. Puis les sacs étaient placés dans une boîte cartonnée externe.

En parallèle, des films possédant des propriétés barrière plus importantes ont été développés permettant l'amélioration du maniement et du stockage. En particulier, l'application d'un film barrière à la poche a permis le conditionnement de vins sensibles à l'oxygène et d'aliments hautement acides comme les jus d'ananas et les concentrés de tomate. En 1979, les films multicouches utilisant des feuilles de métal (aluminium) ou du polyester métallisé sont adoptés et sont largement utilisés depuis 1982.

Actuellement, le BIB est constitué de trois composants principaux (Figure 1) :

- une poche flexible, souple, entièrement scellée et constituée d'une (monocouche) ou plusieurs couches (multicouches) de films plastiques,
- un goulot et un robinet par lesquels le contenu est rempli et distribué sans entrée d'air,
- une boîte ou un récipient externe rigide en carton contenant habituellement une poche flexible, mais parfois plus d'une.

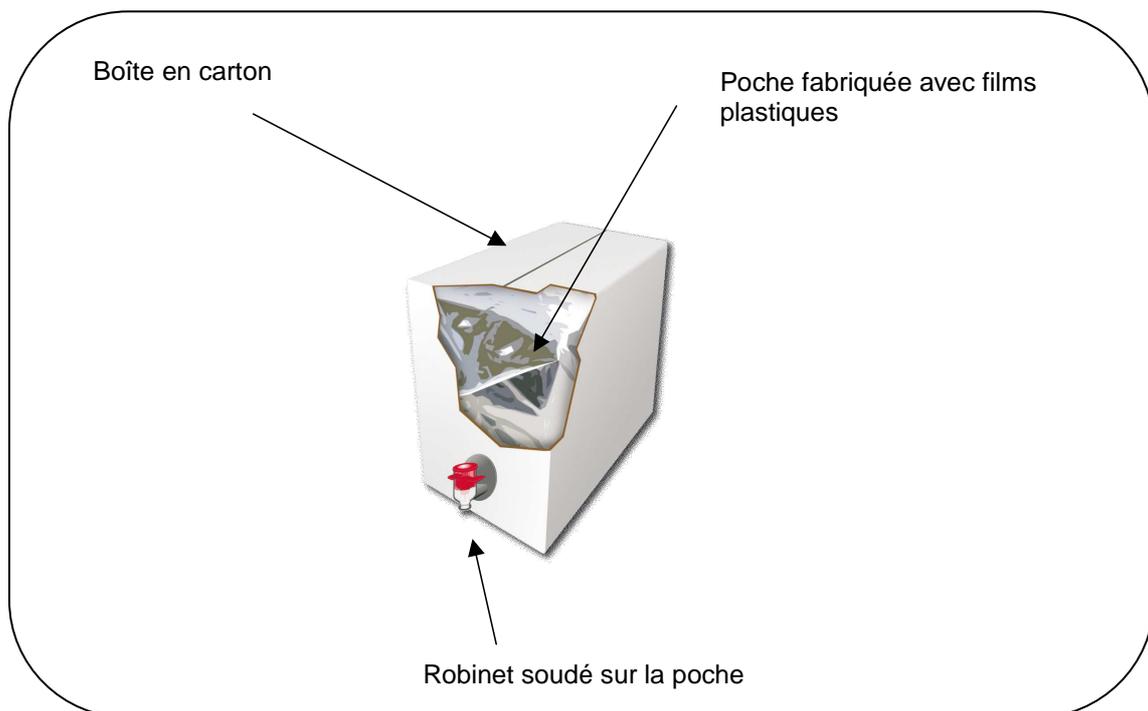


Figure 1 : Schéma d'un Bag-in-Box®

1.2. Conditionnement du vin en BIB

Les machines de remplissage sont semi-automatiques ou automatiques (Figure 2). En général, les machines automatiques gèrent l'introduction des poches dans le poste de remplissage, le décapsulage, le vide, le remplissage avec dosage, l'injection de gaz neutre, le recapsulage et l'évacuation de la poche. En amont du remplissage de la poche elle-même, il est nécessaire de contrôler le vin (filtration, niveau de CO₂, SO₂, etc.). Puis

lorsque la poche est remplie, elle est insérée dans une boîte en carton qui est étiquetée puis acheminée vers le circuit de distribution (Figure 3).



Figure 2 : Exemple d'une machine de remplissage automatique

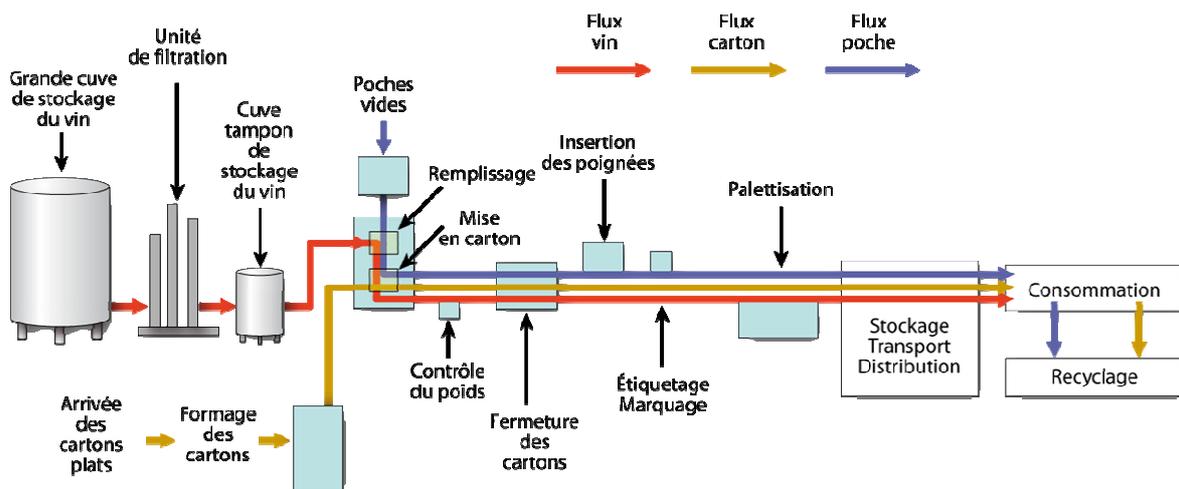


Figure 3 : Schéma du conditionnement du vin en BIB (issu du Guide de Bonnes Pratiques pour le conditionnement du vin en BIB, Performance BIB)

1.3. Fabrication des poches

Dans la filière vin, la poche est généralement constituée de plusieurs films : chaque face est composée d'un film extérieur et d'un film intérieur au contact du vin. La face supérieure est perforée afin de souder le goulot puis les faces supérieure et inférieure sont assemblées et thermoscellées. Le robinet est ensuite positionné sur le goulot puis les

poches sont prédécoupées (Figure 4) avant d'être envoyées vers les centres de remplissage.

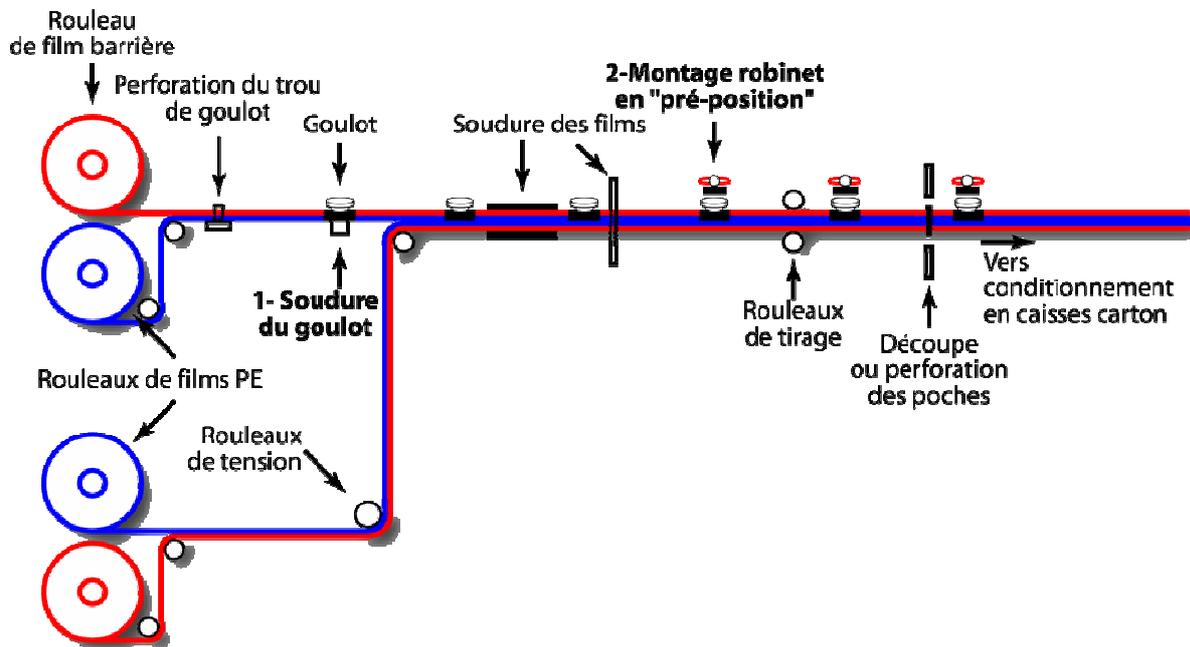


Figure 4 : Schéma de la production d'une poche de BIB

Le film extérieur correspond donc au film barrière dont le but est de limiter les transferts de molécules (eau, gaz ou arômes). Ce film est généralement constitué de plusieurs couches de polymères différents obtenus par co-extrusion ou par laminage (Figure 5).

L'extrusion consiste à mettre en contact dans une filière plusieurs résines à leur sortie d'extrudeuse et à effectuer un étirage commun des films. Il est nécessaire de bien maîtriser la rhéologie des polymères (viscosité, fluidité, élasticité) pour éviter des interpénétrations non voulues. L'adhésion entre les films reste souvent faible et les couches peuvent avoir tendances à se séparer sous pression et il peut être nécessaire de rajouter une couche liante intermédiaire qui permettra une meilleure adhésion.

Le laminage consiste à coller un ou des polymères sur un support en utilisant un polymère adhésif qui permet de maintenir les différentes couches entre elles. Le laminage reste un procédé relativement plus cher que le procédé de co-extrusion à cause des épaisseurs de films mises en jeu.

Différentes combinaisons peuvent ainsi être utilisées (liste non exhaustive) :

- PELBD-PEBD/Polyester métallisé/ PELBD-PEBD
- PELBD/EVOH/PELBD
- PP/EVOH/PP
- PELBD-PEBD /Nylon bi-orienté/ PELBD-PEBD
- PE-EVA/Polyester métallisé/PE-EVA
- PE-PA/Aluminium/PE-PA

Le film intérieur, directement mis au contact de l'aliment conditionné, est généralement fabriqué à base de polyéthylène (PEBD, PELBD, PEMD et PEHD en mélange ou non) dont les propriétés seront discutées par la suite.

Le mélange de PE (PEBD et PEBDL) est souvent réalisé pour augmenter l'étirabilité des films ; mais même si le mélange est souvent aussi homogène que ce que l'on peut trouver pour un polymère seul, il peut y avoir des problèmes de compatibilité car la structure moléculaires des 2 polymères est très différente. On peut ainsi observer un élargissement du pic de fusion en DSC correspondant à la superposition des pics de fusion des 2 polymères et à une modification de l'épaisseur lamellaire des cristaux due à la co-cristallisation des 2 polymères (Selke *et al.*, 2004).

Le film barrière et le film intérieur peuvent être séparés par une fine couche d'air si les films extérieur et intérieur ne sont pas correctement scellés (électro statiquement) lors de la fabrication de la poche. L'impact de cette couche peut être non négligeable car il a été observé (par des membres de Performance BIB) l'apparition d'une bulle d'air contenant des arômes entre les deux films.

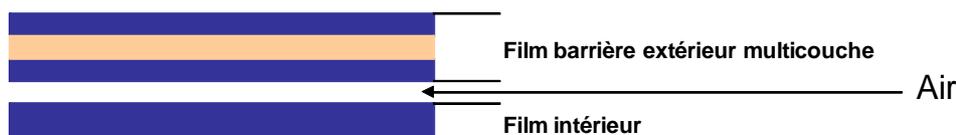


Figure 5 : Schéma des films multicouches constituant la poche.

II. Les polymères utilisés dans les films constitutifs du BIB

Les polymères présentés ici sont ceux habituellement utilisés pour la fabrication des films constitutifs du BIB.

II.1. *Les polyoléfines*

II.1.i. Polyéthylène (PE)

Le polyéthylène (PE) fait partie de la famille des polyoléfines et peut être directement utilisé au contact des aliments puisqu'il est inerte chimiquement. C'est pourquoi il est retrouvé dans le cas des Bag-in-Box® directement en contact du vin. De plus, il est thermoscellable avec une température de fusion comprise entre 105 et 138°C, ce qui est un avantage considérable lors de la fabrication des poches de BIB.

Le PE est un polymère thermoplastique formé à partir de la polymérisation de l'éthylène (Figure 6). Le PE est généralement caractérisé par une structure de chaîne régulière et flexible.

C'est un matériau extrêmement dur, flexible et résistant. Par contre, sa résistance à la chaleur est limitée (Brydson, 1999).

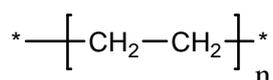


Figure 6 : Structure moléculaire du PE.

Il est disponible dans une large gamme de poids moléculaires et de densités, qui permettent d'avoir des propriétés telles que la perméabilité aux gaz ou aux arômes très différentes. Il peut être linéaire ou branché sous forme d'homopolymères ou d'hétéropolymères. Selon le degré de branchement réalisé, la cristallinité est plus ou moins importante et la densité sera plus ou moins importante : plus la cristallinité est élevée, plus la densité est haute. La classification des films de polyéthylène est généralement basée sur la densité des films (Tableau 1). De plus, le film devient plus flexible lorsque la densité est basse et plus craquant lorsque la densité et donc la cristallinité sont importantes.

Le polyéthylène haute densité (PEHD) est très peu branché, c'est-à-dire qu'il présente une structure empaquetée et dense et une forte cristallinité (70% à 90%), alors que le polyéthylène basse densité (PEBD) possède des branchements importants, ces branchements pouvant eux-mêmes avoir des ramifications. Par conséquent, le PEBD est moins ordonné et possède une plus basse cristallinité que le PEHD.

Le polyéthylène moyenne densité (PEMD) est caractérisé par des ramifications plus courtes et en moins grand nombre que le PEBD. Le PEMD possède une cristallinité généralement comprise entre 55% et 75%. Il est plus dur et rigide que le PEBD ; il peut être moulé à des températures plus élevées que celles du PEBD. Il semble avoir une surface qui se ternit moins que celle du PEHD (Crawford & Throne, 2002).

Le polyéthylène linéaire basse densité (PELBD) est très proche du PEBD de part sa densité mais il possède des branchements beaucoup plus courts. Sa densité est contrôlée par la présence et la taille des co-monomères ajoutés tels que le butène, l'hexène ou l'octène. La présence de ces co-monomères (1 à 10%) donne lieu à des chaînes de branchement courtes, à une structure plus régulière et à une distribution de poids moléculaires plus faible engendrant de meilleures propriétés mécaniques par comparaison au PEBD de même densité (Selke *et al.*, 2004).

Tableau 1 : Classification des différents types de films de polyéthylène.

Film de polyéthylène	Densité (g cm ⁻³)
Polyéthylène haute densité (PEHD)	0,940-0,970
Polyéthylène moyenne densité (PEMD)	0,925-0,940
Polyéthylène linéaire basse densité (PELBD)	0,915-0,925
Polyéthylène basse densité (PEBD)	0,915-0,940

II.1.ii. Polypropylène (PP)

Le polypropylène (PP) fait également partie de la famille des polyoléfinés et possède une structure similaire à celle du polyéthylène, avec un groupe méthyle attaché sur chaque second atome de carbone du squelette (Figure 7). Ce sont des thermoplastiques caractérisés par des densités comprises entre 0,89 et 0,92 g cm⁻³ et des

températures de fusion comprises entre 160 et 175°C (Selke *et al.*, 2004) donc plus élevées que celles du PE.

Les groupements méthyle restreignent fortement la rotation et la flexibilité de la molécule, ce qui entraîne une plus grande rigidité que celle du PE. Cette rigidité est une propriété intéressante lorsque le PP est utilisé pour des applications où le film doit être étiré.

Les molécules de polypropylène s'enroulent et cristallisent à un haut degré entraînant une excellente résistance aux solvants chimiques, une opacité du matériau, une bonne résistance aux produits chimiques et à la fatigue mécanique (Brydson, 1999).

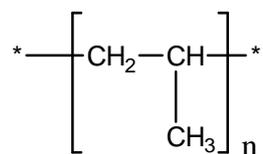


Figure 7 : Structure moléculaire du PP.

Le PP possède une température de fusion plus élevée que le PE et peut donc être stérilisable.

Dans le cas du Bag-in-Box, le polypropylène peut entrer dans la composition des films extérieurs et est généralement utilisé pour la fabrication des robinets.

II.2. *Les polyesters*

Les polyesters ont des squelettes hydrocarbonés contenant des liaisons esters. Les trois types de polyesters les plus répandus sont le polyéthylène téréphtalate, PET – issu de la condensation de *p*-xylène et d'éthylène – (Figure 8) et le polyéthylène naphtalate, PEN (Figure 9). Les groupements esters de la chaîne de polyester sont polaires, l'oxygène du groupement carbonyle étant électronégatif et le carbone électropositif. Les charges positives et négatives des différents groupes esters sont attirées les unes par les autres, ce qui conduit à un réarrangement des chaînes sous forme de cristaux (Cheremisinoff, 2001).

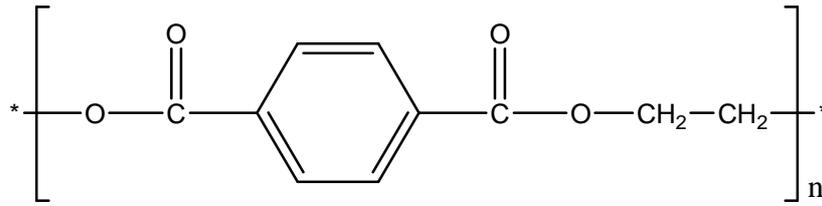


Figure 8 : Structure moléculaire du PET.

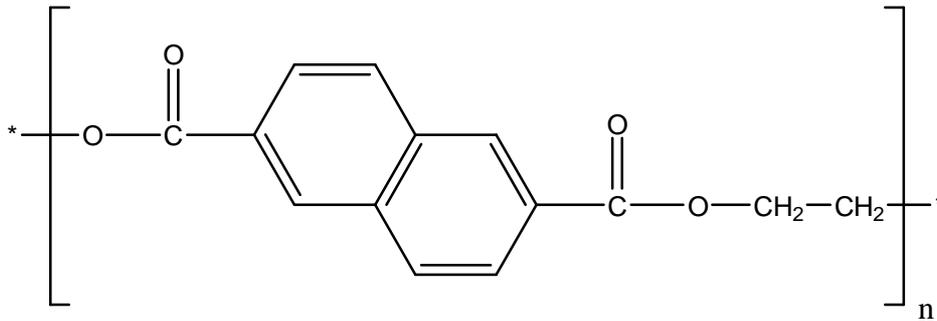


Figure 9 : Structure moléculaire du PEN.

Le PET est très utilisé pour la fabrication de bouteilles pour les boissons non alcoolisées carbonatées ou non car il possède une faible perméabilité au CO₂ (1,13 – 1,35 10⁻¹⁸ m³(STP) m /cm² s cmHg). Ce polymère, dont la température de fusion est comprise entre 245 et 265°C et la densité comprise entre 1,29 et 1,49 g cm⁻³, présente de très bonnes propriétés barrière aux gaz (Selke *et al.*, 2004). Sa stabilité thermique fait que le PET est utilisé comme matériau de couchage (couche extérieure) pour les emballages allant dans les fours traditionnels et à micro-ondes (Cheremisinoff, 2001).

Les poches fabriquées avec des films extérieurs à base de polyester métallisé sont particulièrement sensibles mécaniquement. En effet, Doyon *et al.* (2005) ont montré que le transport et la durée de stockage diminuait les propriétés barrière à l'oxygène des poches métallisées utilisées pour le conditionnement du vin en Bag-in-Box. Cette diminution des propriétés barrière est liée à l'apparition de micro-fissures au sein du film (flex-cracking).

II.3. Les polyamides

Le polyamide (PA) est le matériau barrière standard. Les polyamides aliphatiques sont généralement désignés par des chiffres, relatifs au nombre d'atomes de carbone

contenus dans le motif de répétition du polymère. Par exemple PA 6 (Figure 10), PA 11, PA 12 sont obtenus par polymérisation d'un acide aminé ou d'un lactame avec respectivement 6, 11 ou 12 atomes de carbone dans le motif. PA 6.6 (Figure 11), PA 4.6, PA 6.10, PA 6.12, sont obtenus par polycondensation d'un diacide et d'une diamine. Dans ce cas, le premier chiffre correspond au nombre d'atomes de carbone de la diamine alors que le deuxième correspond au nombre d'atomes de carbone du diacide. Les polyamides aromatiques n'utilisent pas de règle de désignation précise (Figure 12). Ils présentent un très bon compromis entre les caractéristiques mécaniques, thermiques et chimiques. Une des principales différences entre les différents types de polyamides est leur température de fusion (de 64°C pour un nylon de type MXD6 à 210°C pour un nylon 11, par exemple), et par conséquent leur tenue thermique (Selke *et al.*, 2004).

L'inconvénient principal de tous les polyamides est le caractère hydrophile important du groupement « amide » qui entraîne une absorption d'eau importante par le matériau affectant ses propriétés mécaniques et dimensionnelles. Les polyamides sont généralement résistants, solides, ayant de bonnes propriétés de protection, ainsi qu'une haute résistance à l'abrasion et à la fatigue. Si ces nylons sont très résistants aux huiles, graisses, solvants et alcalis, il en est autrement par rapport aux acides qui ont tendance à les hydrolyser.

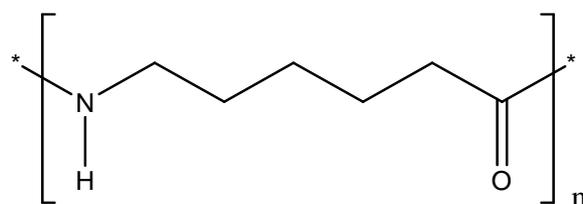


Figure 10 : Structure moléculaire du polyamide 6.

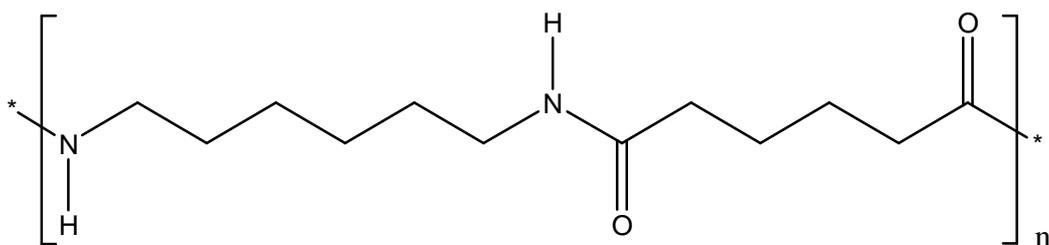


Figure 11 : Structure moléculaire du polyamide 6.6.

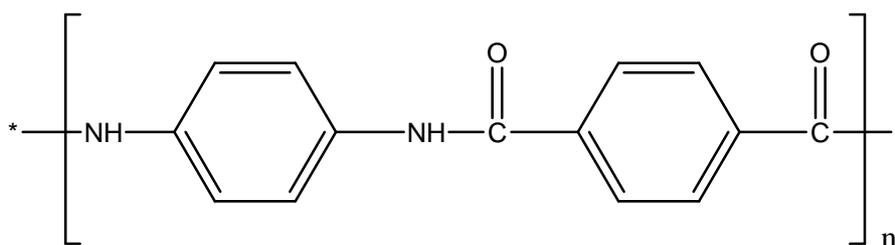


Figure 12 : Structure moléculaire d'un polyamide aromatique.

Le terme « nylon® » (inventé par la société DuPont), qui correspondait initialement au polyamide 66, peut désigner actuellement l'ensemble des polyamides.

Le nylon peut être utilisé dans la fabrication des poches de Bag-in-Box® mais ce polymère reste cher par rapport aux autres polymères plus traditionnellement utilisés comme l'EVOH et le polyester métallisé.

II.4. Les copolymères d'éthylène

II.4.i. Copolymère d'Éthylène/Alcool Vinylique (EVOH)

C'est le matériau haute barrière le plus fréquemment utilisé en Europe et obtenu par co-extrusion. L'EVOH (Figure 13) est un polymère formé à partir de la polymérisation de l'éthylène et de l'alcool polyvinylique (PVOH).

Différents types d'EVOH sont utilisés avec des concentrations différentes en éthylène. Cela permet d'obtenir différentes propriétés barrière et mécaniques : plus la quantité d'éthylène est basse, plus les propriétés barrière de l'EVOH aux molécules volatiles sont élevées alors que l'EVOH contenant une plus haute quantité d'éthylène possède une température de fusion plus basse et est donc plus facile à extruder. Les EVOH standards contiennent entre 32% d'éthylène (température de fusion = 181°C, densité : 1,19 g cm⁻³) et 44% d'éthylène (température de fusion = 164°C, densité : 1,14 g cm⁻³).

Parmi les avantages de ce polymère, nous pouvons citer ses hautes propriétés barrière aux gaz en environnement sec, sa bonne protection générale aux arômes, sa tenue à la stérilisation et la pasteurisation, sa résistance aux micro-ondes et sa transparence.

Cependant, l'EVOH, qui est un polymère hydrophile, possède de faibles propriétés barrière à la vapeur d'eau et ses propriétés de perméabilité aux gaz sont fortement influencées par l'humidité (Neumann, 2001). De plus, l'EVOH est un polymère plus cher que le polyester métallisé (mPET).

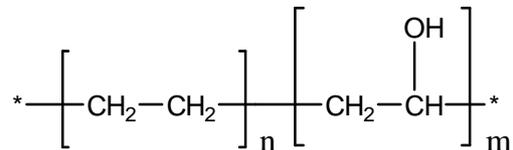


Figure 13 : Structure moléculaire de l'EVOH.

Ce polymère entre dans la composition des films barrière du conditionnement Bag-in-Box.

II.4.ii. Copolymère d'Éthylène/Acétate de Vinyle (EVA)

L'EVA est le copolymère de l'éthylène et de l'acétate de vinyle (Figure 14), la quantité d'éthylène variant entre 60 et 90%. Pour les applications alimentaires, la quantité d'acétate de vinyle varie de 5 à 20%. L'acétate de vinyle est une molécule polaire et l'inclusion de ces monomères polaires dans la chaîne principale d'éthylène abaisse la cristallinité, améliore la flexibilité et résulte en de meilleures propriétés barrière à l'eau du film. Lorsque la teneur en acétate de vinyle augmente, la cristallinité du film diminue mais sa densité augmente (Selke *et al.*, 2004).

Il s'agit d'un polymère souple, flexible, clair et brillant. Il présente de bonnes propriétés barrière, est résistant aux basses températures, ainsi qu'au « stress-cracking » (capacité d'un matériau à se fissurer suite à diverses contraintes mécaniques ou physiques), et aux radiations UV. Grâce à son excellente capacité d'adhésion et à sa facilité de mise en œuvre, l'EVA est souvent utilisé au cours du procédé d'extrusion couchage et comme couche co-extrudée thermoscellable. Comme l'EVA possède une température de fusion basse, il doit être façonné à des températures relativement basses (150-205°C) et est principalement utilisé dans les emballages tels que les sacs de glaçons et les films d'emballage étirables pour la viande.

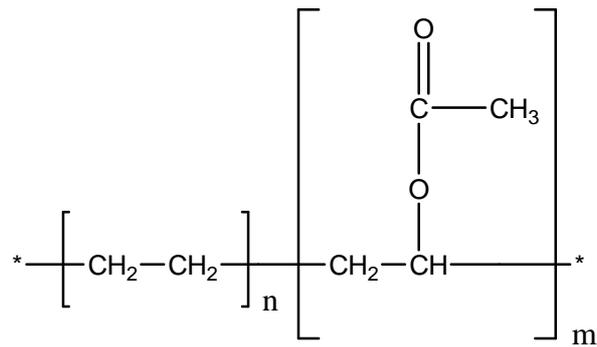


Figure 14 : Structure moléculaire de l'EVA.

Les propriétés barrières des films constitutifs des poches de BIB sont liées aux polymères eux-mêmes, à la structure du film mais également aux molécules volatiles transportées dans les films et aux conditions environnementales. Les phénomènes de transfert des molécules volatiles ainsi que les facteurs influençant ces phénomènes sont décrits dans le chapitre suivant.

TRANSFERT DE PETITES MOLECULES DANS LES POLYMERES

I. Introduction

Les aliments par leur nature sont périssables et des procédés physiques et chimiques ou même microbiologiques sont mis en jeu pour permettre de les stabiliser et d'augmenter leur durée de vie. Même si l'emballage possède d'autres fonctions comme promouvoir le produit, offrir une certaine facilité d'ouverture ou améliorer l'appréciation du consommateur, son but principal est de contenir et préserver le produit conditionné. En ce sens, il va donc contribuer fortement à la stabilité du produit au cours du stockage (Armstrong, 2002).

Trois types de dégradation des produits alimentaires sont principalement rencontrés (Armstrong, 2002):

- le dommage physique (dommages liés à des coups, talure d'un fruit par exemple),
- les modifications chimiques et biochimiques qui peuvent entraîner une détérioration de l'aliment et réduire sa durée de vie [sorption d'eau, réactions oxydatives (oxydation des lipides, des vitamines, des protéines, des arômes), réactions enzymatiques, brunissement non enzymatique],
- les altérations microbiologiques.

L'emballage va contribuer à la conservation du produit en maintenant le plus longtemps possible sa qualité (organoleptique et sanitaire) en ralentissant ou supprimant les effets des mécanismes d'altération physico-chimiques ou microbiologiques.

Afin de prévenir la détérioration de la qualité de l'aliment, des emballages adéquats doivent être utilisés pour éviter une prise ou une perte en eau des aliments sensibles à l'eau comme les biscuits ou les gâteaux, ou éviter le développement de microorganismes ou encore pour limiter les réactions d'oxydations par transferts d'oxygène pour les produits sensibles à l'oxygène comme les matières grasses ou encore éviter les pertes en composés volatils odorants qui modifieraient le profil aromatique et donc l'acceptabilité

du produit. Il est bien connu que pendant le stockage des aliments emballés les composés volatils peuvent être perdus par dégradation mais aussi par « scalping » (rétention dans le polymère) ou par perméation (diffusion à travers le polymère). Une des propriétés limitantes des matériaux polymériques dans le domaine de l'emballage alimentaire est leur perméabilité inhérente aux molécules de faibles poids moléculaires, i.e. les gaz, la vapeur d'eau et les arômes volatils (Cava *et al.*, 2004a). Il faut donc trouver un compromis entre les propriétés des matériaux et la qualité du produit à préserver.

De plus, les additifs (antioxydants, plastifiants et agents de liaison) qui sont utilisés pour améliorer la qualité physique du plastique et le procédé de fabrication, peuvent causer des goûts déplaisants pour le consommateur. Les polymères synthétiques contiennent souvent de petites quantités de monomères résiduels volatils (styrène, acétate de vinyle, acrylate) dérivés du procédé de fabrication. Il a été montré que le goût de « plastique » transmise à l'eau par contact avec un PE était due principalement à la présence d'un composé aldéhydique : le 8-nonenal (Sanders *et al.*, 2005). De plus, il a été observé que la quantité de 8-nonenal dans l'eau doublait lorsque la température augmentait de 21°C à 38°C. Deux autres composés dérivés des matières plastiques et responsables de mauvaises odeurs dans l'eau ont été dépistés : le 2,4-heptadienal et le nonanal (Villberg *et al.*, 1997).

La détermination des propriétés de transfert de l'oxygène et des composés d'arôme à travers les films utilisés dans les BIB pour conditionner les vins reste un challenge, dans la mesure où il n'existe pas d'instrument ou de méthodologie standard pouvant être appliquée à cette détermination.

II. Transport de masse dans les emballages

D'une manière générale, les phénomènes de transport de gaz, composés volatils et d'eau à travers un système polymérique (non poreux tel qu'une membrane ou un emballage) peuvent être décomposés en trois étapes successives dépendant de la

différence de potentiel chimique exprimée avec la pression partielle ou l'activité de l'eau (Cava *et al.*, 2004a; Naylor, 1989) :

- condensation et solubilisation dans la membrane (sorption),
- diffusion sous forme de liquide à travers la membrane sous l'influence du gradient de concentration (potentiel chimique),
- évaporation sur l'autre face à l'état gazeux (désorption).

Le phénomène général de perméation résulte de ces trois étapes (Figure 15).

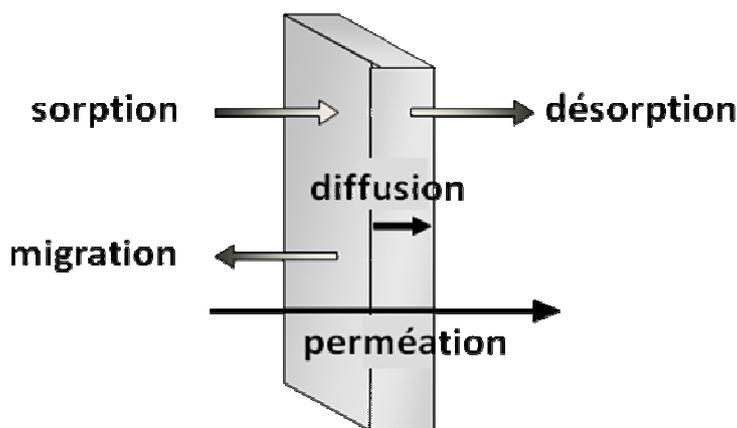


Figure 15 : Phénomènes de transport de matière au travers d'un film

La migration de composés volatils ou non-volatils provenant de l'emballage peut également se produire. Les molécules migrant peuvent être des résidus de la polymérisation des plastiques (monomères, oligomères) ou des molécules stabilisant la matrice (additifs, solvants, pigments).

Deux revues récentes présentent les propriétés de transport de gaz (Kloppfer & Flaconnèche, 2001) et d'arômes (Dury-Brun *et al.*, 2007a) des différents films et montrent les nombreux facteurs qui influencent ces propriétés. Dans la partie qui suit, nous allons donc détailler les différents phénomènes de transport et les facteurs qui les influencent.

II.1. *La diffusion*

La diffusion est le processus par lequel une petite molécule (liquides organiques, vapeurs, gaz, etc.) est transférée dans le système du fait des mouvements aléatoires des

molécules. C'est donc un terme cinétique qui reflète la mobilité du pénétrant dans la phase polymérique.

II.1.i. Les lois de diffusion de Fick

On considère une membrane polymérique (et un emballage) d'épaisseur l de surface A soumise à un fluide et Q la quantité totale de pénétrant qui passe à travers la membrane pendant un temps t .

La quantité de pénétrant, qui traverse le polymère pendant une unité de temps et par unité de surface, est J , le flux diffusif de la molécule pénétrante, donné par :

$$J = \frac{Q}{At} \quad \text{Équation 1}$$

La première loi de Fick établit une relation proportionnelle entre le flux de substance diffusante à travers la membrane et le gradient de concentration entre les deux côtés de la membrane :

$$J = -D\nabla C \quad \text{Équation 2}$$

où D est le coefficient de diffusion ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$). Cette première loi est applicable à l'état d'équilibre qui est atteint quand la concentration ne varie plus et que le flux est constant. Quand la diffusion se passe seulement dans une direction x (unidirectionnelle), la relation se réduit à :

$$J_x = -D \frac{\partial C}{\partial x} \quad \text{Équation 3}$$

La simplification est valide quand l'épaisseur de la membrane considérée est beaucoup plus petite que les autres dimensions (par exemple, au diamètre dans le cas d'une membrane circulaire). Si cette condition n'est pas vérifiée, les phénomènes de diffusion dans les autres directions ne peuvent plus être négligés.

En dynamique, le transfert de matière par diffusion est lié à la concentration du pénétrant qui est fonction de la position du pénétrant dans la matrice polymérique et du

temps. La seconde loi de diffusion de Fick décrit cet état de non-équilibre et est donné (dans le cas unidirectionnel) par :

$$\frac{\partial C(x,t)}{\partial t} = -\frac{\partial J_x}{\partial x} = \frac{\partial(D\nabla C)}{\partial x} = \frac{\partial D}{\partial x} \frac{\partial C}{\partial x} + D(C) \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} \quad \text{Équation 4}$$

$C(x, t)$ est la concentration locale de pénétrant à une position x et à un temps t . Cette équation différentielle peut être intégrée, en tenant compte de la condition initiale ($t=0$) et des conditions limites ($x=0, l$) et constitue la référence théorique pour de nombreux problèmes communs de diffusion.

La résolution de cette équation donne le profil de concentration dans la zone de diffusion à différents intervalles de temps. Pour de nombreux systèmes polymère/pénétrant, et dans des conditions définies, D peut être considéré comme constant dans toute l'épaisseur de la membrane. L'équation précédente se réduit alors à :

$$\frac{dC}{dt} = D \frac{d^2C}{dx^2} \quad \text{Équation 5}$$

II.1.ii. Les mécanismes de diffusion

Pour comprendre les mécanismes de diffusion au niveau microscopique, il est important d'étudier les interactions polymères/solutés. La structure du polymère est un paramètre important à prendre en compte car les phénomènes de transport dans un polymère vitreux sont totalement différents de ceux qui ont lieu dans un polymère caoutchouteux. La diffusion dans la matrice polymérique peut être classée en trois catégories :

- cas I (ou comportement Fickien) : le processus de diffusion s'effectue à une vitesse beaucoup plus faible que ceux des modes de relaxation de la matrice polymérique. L'équilibre de sorption est rapidement atteint, les conditions limites sont indépendantes du temps et ne dépendent pas des cinétiques de gonflement ;
- cas II (ou comportement non Fickien) : le processus de diffusion est rapide par comparaison au processus simultané de relaxation du polymère. Ici, les phénomènes

de sorption sont compliqués par une forte dépendance avec les cinétiques de gonflement. Ces déviations par rapport au comportement Fickien sont généralement rencontrées dans le cas de sorption de vapeurs organiques par des polymères solides et peuvent persister jusqu'à une température de transition vitreuse (T_g) du polymère de + 15°C ;

- la diffusion anormale se réfère à un processus où les taux de diffusion et de relaxation du polymère sont comparables. La sorption et le transport des molécules sont affectés par la présence de micro-vides préexistants dans la matrice, le déplacement de molécules étant influencé par la structure géométrique du polymère.

De nombreux chercheurs (Karlsson *et al.*, 2004; Lim *et al.*, 1999; Togawa *et al.*, 2001) ont rapporté que le gonflement d'un polymère par un perméant augmente grandement la diffusion. Pendant le processus d'absorption, les molécules sont absorbées dans le volume libre (« trous ») qui est toujours présent dans les régions amorphes. La diffusion et la relaxation lente du polymère, en réduisant les forces inter-caténares (entre les chaînes) et également en favorisant le gonflement du polymère contrôle le taux d'absorption. Ceci améliore le taux de diffusion, ce qui influence la relaxation. En conséquence, la perméation d'un composé, par exemple, affecte celle d'un autre composé, c'est-à-dire que l'effet plastifiant devient apparent (van Willige *et al.*, 2002a).

II.2. *La sorption*

La sorption est le terme généralement employé pour décrire la dissolution des molécules pénétrant dans la matrice du polymère. Ce terme inclut l'absorption (avec, par exemple, le piégeage dans les microvides et la formation d'agrégats) et l'adsorption.

Il est important de noter que dans une même membrane polymérique, les molécules diffusantes peuvent être sorbées de différentes manières. De plus, la distribution du pénétrant selon ces modes divers peut changer avec la température, la concentration sorbée, le comportement du gonflement de la matrice, le temps, etc.

La quantité de molécules dissoutes dispersées dans la matrice du polymère à l'équilibre et leur mode de sorption, dans des conditions données, sont gouvernés par la

thermodynamique du système polymère/pénétrant, en particulier par la nature et la force des interactions. Il existe cinq cas classiques de sorption (Figure 16) : sorption d'après la loi de Henry, selon Langmuir, les mécanismes « dual », de Flory-Huggins et BET (Brunauer-Emmet-Teller).

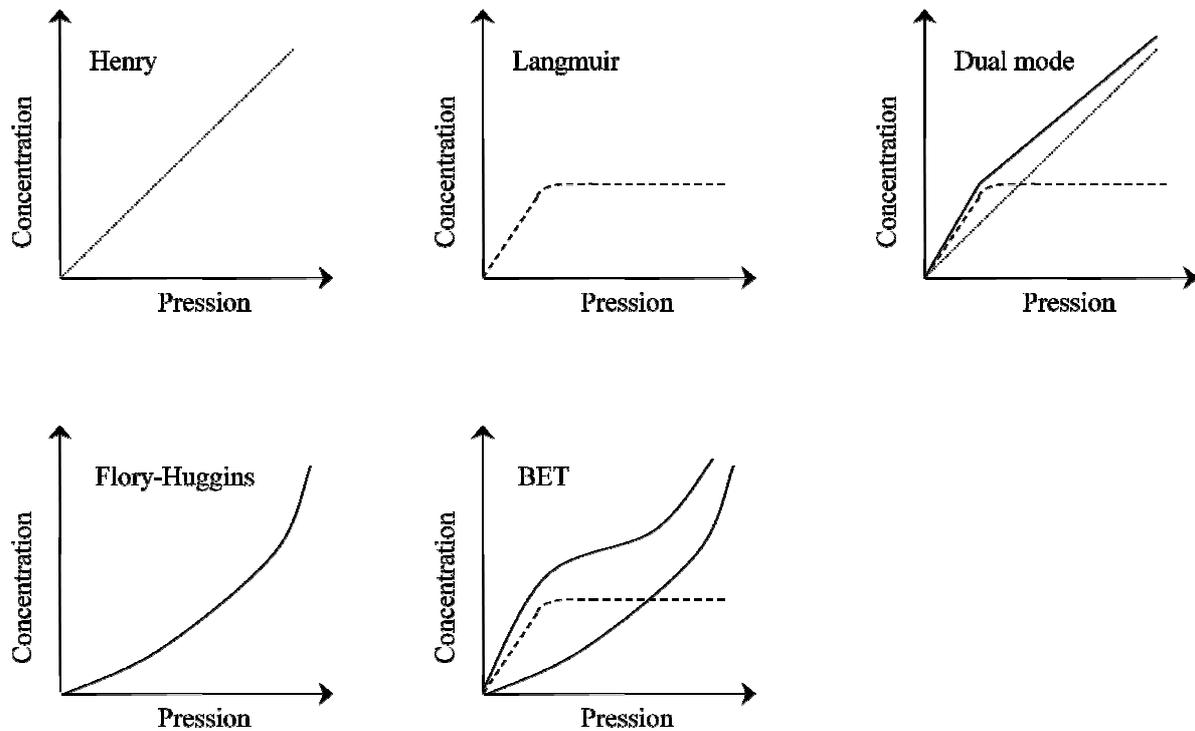


Figure 16 : Isothermes typiques de la concentration de molécules sorbées en fonction de la pression de vapeur (Klopffer & Flaconnèche, 2001).

II.2.i. La sorption d'après la loi de Henry

Ce premier cas est le plus simple : le composé volatil est considéré comme idéal et il existe donc une relation linéaire entre la concentration du pénétrant dans la membrane et sa pression partielle :

$$C = k_D p \quad \text{Équation 6}$$

La constante k_D est en fait S , le coefficient de sorption dans le polymère, indépendant de la concentration à une température donnée. Le gaz est ici dispersé aléatoirement dans la matrice, ce qui fait que ni les couples pénétrant/polymère ni les

couples pénétrant/pénétrant ne sont préférés. Ce mode est essentiellement observé pour de faibles pressions et quand les interactions pénétrant/pénétrant et pénétrant/polymère sont faibles par rapport aux interactions polymère/polymère.

II.2.ii. Le mécanisme de sorption selon Langmuir

Ce mécanisme correspond à une prédominance des interactions pénétrant/polymère. Les molécules diffusantes occupent des sites spécifiques dans le polymère, par exemple des microvides préexistants ou des comblements inorganiques de grandes tailles.

II.2.iii. Le mécanisme de sorption « dual »

Cette modalité était proposée pour décrire les courbes observées dans les cas de sorption des volatiles de faible activité dans les polymères. Elle postule l'existence de deux populations de molécules diffusantes. Cette situation correspond à la combinaison des deux modes précédents. Néanmoins, ce modèle est valide pour des pressions modérées, en absence de fortes interactions. Il ne peut pas décrire le phénomène de sorption qui a lieu lors du gonflement ou de la plastification de la matrice par les molécules sorbées.

II.2.iv. Le mécanisme de Flory-Huggins

Les interactions entre les molécules diffusantes sont plus fortes que les interactions pénétrant/polymère et le coefficient de solubilité augmente continuellement avec la pression. Deux interprétations physiques de ce comportement sont possibles :

- plastification du polymère par les molécules sorbées
- association de clusters dans le cas d'un système polymérique hydrophobe

La valeur de S est alors donnée par :

$$\ln(a) = \ln \frac{p}{p^0} = \ln \phi_1 + (1 - \phi_1) + \chi(1 - \phi_1)^2 \quad \text{Équation 7}$$

où a représente l'activité thermodynamique du composé dans le mélange, définie par la pression saturante de vapeur (p) divisée par la pression de vapeur saturante (p^0) à la température expérimentale, ϕ_1 est la fraction volumique du perméant dans le polymère et χ le paramètre enthalpique d'interaction entre le soluté et le polymère.

II.2.v. Le mécanisme Brunauer-Emmet-Teller (BET)

Ce dernier cas correspond à la combinaison des mécanismes de Langmuir et de Flory-Huggins. En pratique, il peut être représentatif de la sorption de l'eau dans des polymères fortement hydrophiles : initialement, les molécules d'eau sont fortement sorbées dans des sites spécifiques correspondant aux groupes polaires, puis à de plus hautes pressions, le processus d'agglomération se produit.

Il est important de souligner que lorsqu'un polymère est fortement plastifié par un perméant, les coefficients de diffusion et de solubilité deviennent fonction de la concentration et du temps. Par conséquent, le problème devant être résolu est non-Fickien. Pour avoir une idée du mécanisme de transport impliqué, une pratique standard consiste à ajuster les résultats de sorption par une loi du type :

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \quad \text{Équation 8}$$

où M_t et M_∞ représentent respectivement la prise de masse du pénétrant au temps t et au temps infini. Donc k est une constante lorsque l'équilibre est atteint. La valeur de n informe du type de mécanisme de transport. Une valeur de $n = 0,5$ indique que la diffusion est Fickienne alors que $n = 1$ est associé au cas non-Fickien.

Des valeurs intermédiaires suggèrent une combinaison de ces deux mécanismes. D'un autre côté, les divergences entre les courbes expérimentales de sorption et de désorption sont représentatives de cinétiques différentes et donc d'un coefficient de diffusion dépendant de la concentration.

Le modèle BET (Brunauer *et al.*, 1938) constitue une des toutes premières modélisations, mais son domaine d'application se limite aux a_w inférieures à 0,4. Le modèle le plus utilisé est le modèle GAB (Guggenheim, 1966) recommandé par le groupe « Activité de l'Eau » du projet européen COST 90 (Spiess & Wolf, 1983). Il comporte trois paramètres et il fournit une bonne représentation de l'isotherme de sorption jusqu'à des a_w de 0,94.

II.3. La perméabilité

Quand la loi de Henry est satisfaite (« *A température constante et à saturation, la quantité de gaz dissous dans un liquide est proportionnelle à la pression partielle qu'exerce ce gaz sur le liquide* »), le flux diffusif à l'état stationnaire est donné par :

$$J = DS \left(\frac{p_M - p_V}{l} \right) \quad \text{Équation 9}$$

avec l , l'épaisseur de la membrane plane homogène, p_M et p_V , les pressions partielles des deux côtés de la membrane ($p_M > p_V$), D , le coefficient de diffusion et S , le coefficient de sorption.

Le coefficient de perméabilité apparaît donc comme étant le produit d'un facteur cinétique (D) qui reflète la dynamique du système pénétrant/polymère et d'un terme thermodynamique (S) qui dépend des interactions pénétrant/polymère. Ainsi, ce coefficient représente la facilité avec laquelle le gaz traverse la membrane quand celle-ci est soumise à un gradient de pression.

L'équation suivante est donc valable pour un matériau dense :

$$P = DS \quad \text{Équation 10}$$

D'une manière très générale, la perméabilité d'un composé dépend de la nature du polymère, du composé, des pressions en amont et en aval et de la température.

III. Paramètres influençant le transfert

III.1. Facteurs liés à l'emballage

Les propriétés d'un polymère affectent le transfert de petites molécules au travers de celui-ci. Trois paramètres dont le rôle est essentiel pour les transferts de masse à travers des matrices polymériques sont généralement décrits. Ce sont le volume libre, la température de transition vitreuse et la cristallinité du polymère, qui sont fonction des caractéristiques intrinsèques des emballages. Celles-ci sont le poids moléculaire du polymère, la symétrie de la chaîne principale, la présence de chaînes latérales (branchements), le degré d'insaturation des chaînes, la présence de groupements polaires, l'orientation des chaînes, le degré de réticulation, l'énergie cohésive du polymère et la présence d'additifs.

III.1.i. T_g et volume libre

La transition vitreuse est la phase au cours de laquelle le polymère amorphe passe de l'état vitreux à l'état caoutchouteux. A cette phase correspond une température appelée température de transition vitreuse, dont l'abréviation est T_g . Quand le polymère est refroidi en-dessous de sa T_g , il devient dur et fragile, comme le verre. Et lorsque le polymère est utilisé à une température supérieure à sa T_g , il est à l'état caoutchouteux, donc mou et flexible.

Dans les polymères semi-cristallins (PP, PE, PET...), le volume libre est lié à la température de transition vitreuse (T_g) de la partie amorphe. En effet, le volume libre du PE augmente avec la T_g lorsque le polymère passe de l'état vitreux à l'état caoutchouteux (Muramatsu *et al.*, 2003). Plusieurs auteurs ont étudié l'effet du volume libre et de la T_g sur les transports dans les matériaux polymères. En règle générale, la solubilité des gaz, la diffusivité et la perméabilité augmentent avec l'augmentation du volume libre (Hu *et al.*, 2003; Ito *et al.*, 2001; Krizan *et al.*, 1990). La diffusivité change de façon importante au niveau de la T_g (Duda *et al.*, 1994). La plastification, par l'eau par exemple, réduit la T_g et

provoque une augmentation du volume libre ce qui entraîne une augmentation des transferts (Ito *et al.*, 2001).

Inversement, un anti-plastifiant induit une augmentation de la T_g et une diminution du volume libre, qui se traduisent par une diminution des transferts, par exemple dans les systèmes CO_2 /polysulfone (Jasse *et al.*, 1999) et toluène/polystyrène (Duda *et al.*, 1994). Toutefois, lors du gonflement du polymère, qui est souvent une conséquence de sa plastification, sa T_g et le volume libre ne sont pas toujours directement reliés, comme le montre les études portant sur le transfert d'eau dans les polymères hydrophiles (Chiang & Fernandez-Garcia, 2003). Ces auteurs considèrent qu'il existe deux populations de molécules d'eau. La première population d'eau occupe le volume libre (condensation des sorbats dans les micropores) alors que la seconde population infiltre la structure du polymère et forme des clusters par liaisons hydrogène. Seule cette dernière population provoquerait le gonflement du polymère.

En ce qui concerne les composés d'arôme, l'état du polymère et donc sa T_g peut affecter de façon importante la sorption par le polymère. En effet, la sorption d'arôme dans les polymères caoutchouteux (PP ou PEBD) peut être plusieurs milliers de fois supérieure à la sorption dans les polymères vitreux (PET, PC, PEN), même si le pourcentage de cristallinité (autre paramètre affectant la sorption) est plus important dans les polymères caoutchouteux (van Willige *et al.*, 2002b).

III.1.ii. Cristallinité

La sorption et la diffusion ont lieu (presque) exclusivement dans les régions amorphes. Les zones cristallines agissent comme des volumes exclus du processus de sorption et sont des barrières imperméables pour le processus de diffusion. Plus exactement, ces zones cristallines ont deux effets sur la diffusion des molécules. D'un côté, elles augmentent la longueur du chemin effectif pour la diffusion et d'un autre côté elles semblent réduire la mobilité des chaînes de polymère dans la phase amorphe (parce

que les terminaisons des chaînes sont piégées dans les lamelles cristallines environnantes) et ce qui entraîne donc une énergie d'activation de diffusion plus haute.

Il a été montré que lorsque la cristallinité du polypropylène augmente, la sorption de vapeurs de dichlorométhane diminue (D'Aniello *et al.*, 2000). La diffusivité diminue elle aussi fortement et puis plus linéairement quand la cristallinité atteint environ 50%, probablement parce que les cristallites formées dans la membrane de PP augmentent la tortuosité (D'Aniello *et al.*, 2000). De même, la solubilité et la diffusivité du toluène et du n-heptane dans un PE semi-cristallin diminue avec l'augmentation de la cristallinité parce que la longueur du chemin de diffusion autour des cristallites augmente avec le degré de cristallinité (Lützow *et al.*, 1999). D'une façon générale, la perméabilité, la diffusion et la sorption des gaz et des composés organiques volatils diminuent lorsque la cristallinité augmente (Armstrong, 2002; Compañ *et al.*, 2007; Flaconnèche *et al.*, 2001; van Willige *et al.*, 2002b).

III.2. Facteurs liés aux molécules transportées

L'état des composés volatils transportés (liquide ou vapeur) ainsi que les propriétés physico-chimiques telles que le poids moléculaire, la polarité, l'hydrophobicité ont un effet sur les phénomènes de sorption et de diffusion. La concentration des molécules peut également moduler ces phénomènes de transfert.

III.2.i. Poids moléculaire

La diffusion est influencée par le poids moléculaire et le volume molaire des molécules : plus le poids moléculaire et le volume molaire sont faibles, plus la diffusion est importante. Il a été montré que les esters à chaînes courtes (C8 à C12) diffusaient plus rapidement à travers un film de polychlorure de vinyle (PVC) que ceux à plus longues chaînes (C14 à C18) à 50°C (Ducruet *et al.*, 1996). De plus, les esters de méthyle diffusent plus rapidement que les esters d'éthyle dans les mêmes conditions, car l'encombrement stérique du groupe éthyle est plus important (Jasse *et al.*, 1999; Kwan *et al.*, 2003).

La sorption est également influencée par le poids moléculaire des molécules qui sont transportées mais de façon inversée à la diffusion : au sein d'une même famille chimique, plus elles présentent un poids moléculaire important, plus leur sorption est grande (Arora *et al.*, 1991; Johansson & Leufven, 1994) mais cet effet peut être lié à la modification de la polarité par augmentation de la taille de la partie hydrophobe. Il a été reporté que la sorption dans le PE des n-alcanes, n-aldéhydes, n-alcools et esters d'éthyle aliphatiques avec un nombre de carbones allant de quatre à douze augmentait linéairement jusqu'à dix atomes de carbones avant d'atteindre une valeur plateau (Shimoda *et al.*, 1987).

Les molécules linéaires sorbent plus facilement dans la matrice du polymère que les molécules cycliques parce que leur volume molaire est plus petit (Jasse *et al.*, 1999; Kwan *et al.*, 2003).

III.2.ii. Polarité et hydrophobicité

Le comportement de sorption des molécules dans un film polymérique dépend fortement de leur polarité et de leur hydrophobicité qui sont toutes les deux liées. L'hydrophobicité d'une molécule peut être évaluée par une valeur sans dimension représentant le coefficient de partage P de la molécule entre l'octanol et l'eau dont le résultat est exprimé en échelle logarithmique (logP). Les molécules hydrophiles ont des valeurs de logP négatives (par exemple, pour l'éthanol le logP est de - 0,32) alors que les molécules hydrophobes ont des valeurs de logP positives, supérieure à 2 (par exemple, le logP du d-limonène est de 4,58).

La polarité peut être estimée par la distribution des charges électriques dans une molécule et est caractérisée par sa constante diélectrique. Pour exemple, la constante diélectrique de l'hexanoate d'éthyle est d'environ 4 alors qu'elle est d'environ 80 pour l'eau. Il est possible de classer les familles de composés d'arôme dans l'ordre de polarité décroissant suivant : acides, alcools, esters, éthers, aldéhydes, cétones, hydrocarbures aromatiques, hydrocarbures aliphatiques insaturés et hydrocarbures aliphatiques saturés (Lefaux, 1972). Les composés sont plus facilement sorbés si la polarité ou la constante diélectrique (ϵ) du composé et du polymère sont proches (van Willige *et al.*, 2002b). Par

exemple, la sorption du limonène ($\epsilon = 2,30$) dans un film de PE ($\epsilon = 2,26$) est donc plus importante que la sorption de l'hexanol ($\epsilon = 13,30$) dans ce même film (Hernandez-Muñoz *et al.*, 1998).

III.2.iii. Concentration

En phase vapeur, la sorption de composés d'arôme dans des films de PEBD et PELBD est indépendante de leur concentration dans une gamme de coefficient d'activité (coefficient correspondant au ratio de la pression partielle du composé sur la pression de vapeur saturante) allant de 0,05 à 0,4 (Barr *et al.*, 2000). Les mêmes conclusions ont été reportées pour la sorption en phase vapeur du butanoate d'éthyle et de l'acétate d'hexyle dans un film de PP (Johansson & Leufven, 1997) pour des concentrations comprises entre 0,12-3,4 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Par contre, la perméabilité de la 2-heptanone à travers un film à base de gluten de blé augmente fortement avec la concentration du composé d'arôme (Chalier *et al.*, 2007b). Le même comportement est observé pour la 2-heptanone dans un film à base de methylcellulose (Quezada-Gallo *et al.*, 1999) alors que ce n'est pas le cas pour la 2-nonanone. Pour le d-limonène, la sorption et la perméabilité dans et à travers un film à base de PEHD augmente avec une concentration en arôme allant de 0,3 à 7,0 ppm (Mohny *et al.*, 1988). Les comportements peuvent donc être très différents selon le système arôme/polymère utilisé.

En phase liquide constituée d'une solution à 40% (v/v) d'éthanol, la sorption du butanoate d'éthyle et de l'acétate d'hexyle par un film de PP est aussi dépendante de la concentration : la sorption augmente lorsque la concentration en composés d'arôme augmente de 5 à 1 000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Johansson & Leufven, 1997).

III.3. Facteurs liés à l'environnement

III.3.i. Température

Barrer (Barrer, 1937) a été le premier à montrer que la diffusion de petites molécules dans les polymères caoutchouteux était un processus activé thermiquement. Un grand nombre de données dans la littérature suggère que les coefficients de transport

dépendent de la température, à une pression donnée, via la loi d'Arrhenius sur une gamme étroite de températures :

$$S(T) = S_0 \exp\left(-\frac{\Delta H_S}{RT}\right) \quad \text{Équation 11}$$

$$D(T) = D_0 \exp\left(-\frac{E_D}{RT}\right) \quad \text{Équation 12}$$

$$P(T) = P_0 \exp\left(-\frac{E_P}{RT}\right) \quad \text{Équation 13}$$

Les termes exponentiels représentent les valeurs limites des différents coefficients de transport pour une agitation moléculaire infinie ($T \rightarrow \infty$). E_P représente l'énergie d'activation apparente pour le processus de perméation et est égale à la somme de E_D , l'énergie apparente d'activation du processus de diffusion, et ΔH_S , l'enthalpie nécessaire à la dissolution d'une mole de perméant dans la matrice :

$$E_P = E_D + \Delta H_S \quad \text{Équation 14}$$

Cette enthalpie de sorption peut être exprimée comme suit :

$$\Delta H_S = \Delta H_{cond} + \Delta H_{mix} \quad \text{Équation 15}$$

avec ΔH_{cond} , l'enthalpie molaire de condensation et ΔH_{mix} , l'enthalpie du mélange.

Pour les gaz « permanents » (les moins condensables) qui sont bien en-dessous de leur température critique en conditions ambiantes (O_2 , N_2), ΔH_{cond} est très faible. Comme les interactions sont négligeables entre les gaz et le polymère, ΔH_{mix} et donc ΔH_S sont positifs et la sorption augmente avec la température (Comyn, 1985).

Pour des gaz plus condensables (CO_2 , SO_2 , NH_3 et les hydrocarbures) mais aussi pour les composés organiques volatils et donc les composés d'arôme, ΔH_{cond} apporte une importante contribution par rapport à ΔH_{mix} du fait des interactions non négligeables entre les molécules et l'emballage. Comme ΔH_{cond} est toujours négative, ΔH_S l'est aussi et la sorption devrait diminuer lorsque la température augmente (Leufvén & Stöllman, 1992). Cependant, de nombreuses études ont montré que la sorption des composés

d'arômes dans les films polymériques augmentait avec l'accroissement de la température (Nielsen *et al.*, 1992a; van Willige *et al.*, 2002b).

L'effet de la température sur la perméabilité est principalement déterminé par l'impact de la température sur la diffusivité et la sorption. La diffusivité augmente généralement avec la température aussi bien pour les gaz permanents que pour les gaz condensables et les composés organiques volatils (Leufvén & Stöllman, 1992). Comme la sorption montre plus de variations avec la température, si la variation du coefficient de diffusion avec la température prime sur celle de la sorption, la perméabilité augmentera avec la température et vice versa.

III.3.ii. Humidité

L'effet de l'humidité relative sur le transfert de l'oxygène a été largement étudié (Aucejo *et al.*, 1998; Hernandez & Gavara, 1994; Lopez-Carballo *et al.*, 2005; Marais *et al.*, 2002; Morillon *et al.*, 2000) pour les polymères hydrophiles (cellophane, EVOH, polyamides) mais quelques études ont également été réalisées avec des polymères hydrophobes (PET, PP, PE) bien qu'ils ne puissent sorber que très peu d'eau, généralement moins de 2% en poids à l'équilibre de saturation (Launay *et al.*, 1999).

Pour les polymères **hydrophiles amorphes**, quand l'humidité relative augmente, il y a un effet compétitif entre la vapeur d'eau et l'oxygène pour la sorption dans le volume libre du polymère. Comme les polymères hydrophiles ont une plus grande affinité pour la vapeur d'eau que pour l'O₂, lorsque l'humidité relative augmente le volume libre est comblé par les molécules d'eau et la sorption d'O₂ diminue (Hernandez, 1994).

Pour les polymères **hydrophiles semi-cristallins** (PA, EVOH), un mécanisme à deux modes peut être observé (Gavara & Hernandez, 1994; Muramatsu *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2001a). En générale, pour les HR inférieures à 50%, un phénomène de compétition entre les molécules de gaz et d'eau est observé. Pour une HR plus grande que 50%, les molécules d'eau s'auto-associent (clusters), ce qui peut provoquer des réarrangements

dans la conformation des chaînes de polymère entraînant la disponibilité d'un plus grand nombre de sites actifs (Gavara & Hernandez, 1994; Lim *et al.*, 1999; Marais *et al.*, 2002; Zhang *et al.*, 2001a). Par conséquent, la sorption et la perméation des molécules d'O₂ augmentent.

L'eau absorbée peut aussi avoir un effet plastifiant sur certains polymères hydrophiles, comme l'EVOH, la cellophane et la plupart des polyamides. On pense que les molécules d'eau absorbées à haute humidité relative se combinent aux groupements hydroxyles dans la matrice du polymère et affaiblissent les liaisons hydrogène existant entre les molécules polymériques. En conséquence, la distance entre les chaînes augmente, ainsi que le volume libre, facilitant la diffusion d'oxygène et probablement d'autres gaz. La présence d'eau dans les polymères hydrophiles n'influence pas seulement la sorption et la diffusion du polymère, mais entraîne également une diminution de la température de transition vitreuse (T_g) du polymère à cause de l'effet plastifiant de l'eau (van Willige *et al.*, 2002a). Les mêmes observations ont été réalisées concernant l'influence de l'humidité relative sur le transfert des composés d'arômes. Les polymères hydrophiles peuvent être plastifiés par la sorption d'eau, ce qui entraîne une augmentation des coefficients de diffusion et de perméabilité des composés d'arôme lorsque l'HR augmente (Zhang *et al.*, 2001b). Un effet de compétition peut également se produire entre la vapeur d'eau et les composés d'arômes pour la sorption dans le film mais sans effet de plastification (Aucejo *et al.*, 1998).

Pour les polymères **hydrophobes**, comme le polyéthylène, le transfert d'eau dépend seulement de la différence des pressions de vapeur d'eau des deux côtés du film et non des interactions eau/polymère. On constate un effet indirect de l'humidité relative. En effet les perméabilités des films étudiés diminuent avec la température, cela serait dû à l'effet prépondérant de la température sur la diffusion de l'eau. L'énergie d'activation apparente de la perméation de l'eau augmente avec la différence d'humidité relative parce que ce paramètre tient compte de tous les phénomènes qui ont lieu pendant la perméation (sorption de l'eau, gonflement, solubilisation, etc.) et correspond à la sensibilité du film vis-à-vis de l'eau (Morillon *et al.*, 2000).

Le même comportement est observé pour les polymères amorphes ou semi-cristallins moins hydrophobes (PET, PLA). Ils peuvent sorber une petite quantité d'eau dans leur phase amorphe qui peut ainsi entrer en compétition avec les gaz (Auras *et al.*, 2004; Johansson & Leufvén, 1994). Pour les polymères tels que le PP et PEHD, l'évolution de la perméabilité à l'oxygène en fonction de l'humidité relative est très variable et reste inexplicée (Johansson & Leufvén, 1994). Enfin, le transfert de composés d'arômes à travers les polymères hydrophobes n'est généralement pas affecté par l'humidité relative (Lopez-Carballo *et al.*, 2005).

IMPACT DU TRANSFERT DE GAZ ET DE COMPOSES VOLATILS SUR LA QUALITE ORGANOLEPTIQUE DU VIN

Le vin est par définition le produit obtenu exclusivement par la fermentation alcoolique, totale ou partielle, de raisins frais, foulés ou non, ou de moûts de raisins (Règlement (CEE) n° 1493/99 du Conseil du 17 mai 1999). Il s'agit donc d'un produit alimentaire alcoolisé dont les constituants déterminent sa qualité organoleptique.

La durée de conservation d'un vin dépend essentiellement de l'appréciation du consommateur. A partir du moment où celui-ci découvre un défaut organoleptique (goût, odeur ou défaut visuel) dans le vin, la date limite de conservation de ce vin est dépassée. Bien souvent ce défaut est lié à l'oxydation du vin mais il peut être aussi dû à l'impact de l'emballage si celui n'est pas neutre ou barrière comme le verre. Ce chapitre récapitule les principaux composants du vin pouvant avoir un impact sur l'oxydation, les composants du vin soumis à l'oxydation ainsi qu'aux modifications par sorption dans l'emballage.

I. Oxygène

I.1.L'oxygène dans le vin

I.1.i. Généralités

Si «l'oxygène est le pire ennemi du vin» selon Pasteur, ce dernier affirmait également : «c'est l'oxygène qui fait le vin, c'est par son influence qu'il vieillit» (Pasteur, 1866).

L'évolution des caractères olfactifs et gustatifs dépend directement des doses et des moments d'apports d'oxygène qui sont responsables des modifications des arômes, des apparitions du bouquet et de la transformation des tanins et des anthocyanes. Alors que le contact avec l'oxygène de l'air est généralement néfaste pour la qualité des vins blancs, il s'avère plus bénéfique pour celle des vins rouges. Ainsi, la technique de micro-oxygénation a été développée (Moutounet *et al.*, 1995) permettant un ajout contrôlé continu ou semi-continu d'oxygène dans le vin rouge. Les effets bénéfiques rapportés sont l'augmentation de l'intensité colorante, une sensation en bouche plus douce, une ampleur augmentée, une diminution des arômes de type «herbacés» et une intensité plus

grande des arômes variétaux (Atanasova *et al.*, 2002; Cano-Lopez *et al.*, 2008 ; Moutounet *et al.*, 1995).

Lors d'une étude sur la conservation d'un vin blanc (Chardonnay) en BIB ou en bouteille, il a été montré qu'une grande différence d'appréciation du vin par un panel de consommateurs était perçue dès trois mois de conservation (Boulet *et al.*, 2004), différence attribuée à l'oxydation prématurée de ces vins.

I.1.ii. Dissolution de l'oxygène

Lorsqu'un gaz est mis en contact avec une phase liquide, il y diffuse progressivement jusqu'à ce qu'un état d'équilibre entre les deux phases s'établisse. La dissolution d'un gaz est caractérisée par sa pression partielle et dépend de la température. La pression partielle d'un gaz dissous dans un liquide est la pression exercée par ce gaz sur la surface du liquide pour maintenir un certain niveau de dissolution du gaz à l'équilibre. La pression partielle de l'oxygène à l'équilibre dans l'eau ou dans le vin saturé d'air est de 188 hPa, à 20°C et à la pression normale (Moutounet & Mazauric, 2001). Si la phase liquide est surmontée d'oxygène pur à la place de l'air, la pression partielle dans le liquide sera environ cinq fois plus grande. En effet, la concentration du gaz dissous dans la phase liquide est proportionnelle à la pression partielle de ce gaz dans la partie gazeuse. Pour connaître la concentration molaire en oxygène dissous, il faut disposer du coefficient de solubilité pour la température et la pression auxquelles les mesures d'oxygène ont été réalisées. Celui-ci est donné par la loi de Henry (équation 16).

$$C^* = \frac{1}{H} P(O_2) \quad \text{Équation 16}$$

où C^* , la concentration de l'oxygène à l'équilibre, $P(O_2)$, la pression partielle de l'oxygène et H , la constante de Henry pour l'oxygène. La teneur en oxygène dissous (en mg L⁻¹) dans un milieu liquide est généralement mesuré à l'aide d'un oxymètre.

Pour les gaz peu solubles, comme l'oxygène, H est très grand puisque C^* est faible. La solubilité de l'oxygène dans le vin saturé en air à température ambiante et à la pression atmosphérique est de l'ordre de 6 mL L⁻¹ (soit 8,4 mg L⁻¹). Elle croît avec la pression pour atteindre déjà 15 mg L⁻¹ sous 1,5 bars.

La température a également un impact sur la solubilité de l'oxygène qui augmente lorsque la température diminue. Ainsi, la constante de Henry est fonction de la température et présente un maximum (qui correspond au minimum de solubilité) qui est fonction du gaz : vers 100 °C pour l'oxygène. La solubilité de l'oxygène peut également être calculée à partir d'algorithmes, le plus fiable étant celui de Benson (Benson & Krause, 1984), qui est utilisé en océanographie:

$$\ln C = -135,29996 + \frac{1,572288 \times 10^5}{T} - \frac{6,637149 \times 10^7}{T^2} + \frac{1,243678 \times 10^{10}}{T^3} - \frac{8,621061 \times 10^{11}}{T^4} - \left(0,020573 - \frac{12,142}{T} + \frac{2,3631 \times 10^3}{T^2} \right) \times S$$

avec C , concentration en oxygène dans l'eau ($\mu\text{mol O}_2 \text{ kg}^{-1}$), T , température thermodynamique (K) et S , salinité (unité de salinité pratique).

Par exemple, un abaissement de 5°C augmente la solubilité d'environ 10% : elle est d'environ 11 mg L⁻¹ à 0°C, 10 mg L⁻¹ à 5°C, 8 mg L⁻¹ à 20°C et 4 mg L⁻¹ seulement à 40°C.

Enfin, la vitesse de dissolution du gaz dans la phase liquide dépend de la surface de contact gaz-liquide. Plus la surface est grande, plus la vitesse de solubilisation augmente. La vitesse de solubilisation de l'oxygène de l'air dans un milieu aqueux dépend principalement de la convection et de la diffusion. Cependant, il ne faut pas oublier le transfert de matière dans la phase liquide qui dépend principalement de la température et du degré de turbulence et qui équivaut à une résistance au transfert.

Cette vitesse de solubilisation a tout d'abord été proposée (Adeney & Becker, 1919) comme suit :

$$\Phi = \frac{dC}{dt} = k_L a (C_i - C) = \frac{D}{e} A (C_i - C)$$

avec Φ , la vitesse de solubilisation du gaz dans le liquide, dC/dt , la différence de concentration en gaz en fonction du temps, $k_L a$, le coefficient volumétrique du transfert de masse, D , le coefficient de diffusion moléculaire du gaz, e , épaisseur de la couche

liquide, A , aire à l'interface, C_i , la concentration à l'interface à saturation et C , la concentration au temps t .

I.1.iii. Consommation de l'oxygène par le vin

La consommation d'oxygène par un vin (10-30 jours) est beaucoup plus lente que sa dissolution mais croît avec la température. Elle est accrue par la présence de SO_2 libre pour les vins blancs, l'acide ascorbique et les composés phénoliques (dans les vins rouges). Moutounet et Mazauric (Moutounet & Mazauric, 2001) ont constaté que l'ampleur des phénomènes d'oxydation au cours du stockage et de l'élevage des vins dépend du rapport de la surface du vin au contact de l'air par rapport au volume du récipient. Plus le volume de la cuve est grand, plus les phénomènes d'oxydation sont réduits. Les échanges gazeux sont optimaux en barriques. Cependant, même si les possibilités de dissolution de l'oxygène sont plus grandes en barrique qu'en cuve, la teneur en oxygène dissous dans les vins est du même ordre de grandeur dans les deux cas : 20-50 $\mu\text{l L}^{-1}$ (Moutounet & Mazauric, 1999).

L'oxygène dissous dans les vins est progressivement consommé par divers substrats. Un vin saturé en air consomme l'oxygène présent en quelques jours. La vitesse de consommation dépend de la température. Plus la température est élevée, plus la consommation est rapide : 25 jours à 13°C et 3 jours à 30°C pour un vin rouge (Ribéreau-Gayon & Peynaud, 1961). Si l'air est renouvelé ou si le vin est traité par de l'oxygène, la consommation de l'oxygène continue. En effet, la capacité totale d'absorption des vins est très élevée. Elle est comprise entre 80 mg L^{-1} pour les vins blancs et 800 mg L^{-1} pour les vins rouges riches en composés phénoliques (Singleton, 1987).

Les phénomènes d'oxydation sont très complexes et pas entièrement élucidés à ce jour. Singleton a été un des premiers auteurs à proposer des mécanismes de réaction dans ce domaine (Singleton, 1982). Cet auteur a considéré que les réactions entre l'oxygène et les composés du vin sont initiées par les formes activées de l'oxygène ou du substrat.

- *Formes actives de l'oxygène*

L'oxygène moléculaire est un biradical formé de molécules à deux atomes présentant sur leurs orbitales externes deux électrons non appariés de spins parallèles, ce qui explique que l'oxygène moléculaire est peu réactif, et ne se combine pas spontanément aux structures organiques. La réactivité de l'oxygène est augmentée lorsqu'un de ces deux électrons non appariés est déplacé afin d'obtenir l'état singulet de l'oxygène, ceci a lieu en présence de photosensibilisateurs.

L'oxygène moléculaire peut accepter des électrons un par un, ce qui conduit à la formation des radicaux superoxyde $O_2^{\cdot-}$ et peroxyde O_2^{2-} . Les radicaux $O_2^{\cdot-}$ formés aux valeurs physiologiques de pH se protonent immédiatement pour donner du peroxyde d'hydrogène qui a un pK_a très élevé ($pK_a \sim 11-12$). En solution aqueuse acide ou neutre, le radical superoxyde réagit principalement par dismutation pour former également du H_2O_2 . Cette dernière espèce peut réagir avec les ions ferreux (réaction de Fenton) et avec des radicaux superoxyde $O_2^{\cdot-}$ (réaction d'Haber-Weiss).

Réaction de Fenton :



Réaction d'Haber-Weiss :



- *Substrats de l'oxygène*

- Polyphénols

Les substances les plus impliquées dans le phénomène d'oxydation sont les polyphénols (Ribéreau-Gayon, 1933; Singleton, 1987). Par ailleurs la capacité des vins à consommer l'oxygène est directement liée à leur teneur en polyphénols. Les composés phénoliques peuvent être divisés en deux groupes : les non-flavonoïdes, qui sont des dérivés hydroxybenzoïque et hydroxycinnamique, sont les principales molécules

phénoliques des vins blancs. Les flavonoïdes, avec deux cycles phénoliques reliés à un noyau pyranne, sont des structures plus complexes. Dans les vins jeunes, ils sont sous formes non polymérisées, mais quand le vin vieillit, ils subissent différentes réactions de polymérisation dans lesquelles l'oxygène joue un rôle important (Cheynier & Fulcrand, 1998; Toit *et al.*, 2006). Les flavonoïdes les plus importants du vin sont les anthocyanines, les flavanols et les flavonols. Parmi les polyphénols, les ortho-diphénols sont les plus facilement oxydables, le produit d'oxydation étant la forme ortho-quinone. L'oxydation des composés phénoliques est soit catalysée par des ions métalliques soit auto-catalytique.

La dissolution de l'oxygène de l'air dans le vin entraîne des modifications de ses caractères organoleptiques. Les processus d'oxydation affectant les composés phénoliques peuvent être responsables de changements de la couleur et de la flaveur, et être à l'origine de troubles et de sédiments. L'oxygène apporté lors de l'élevage, même en présence de SO₂ libre, provoque une brusque augmentation des populations des bactéries lactiques et acétiques, d'où des risques d'altération. L'action de l'oxygène sur la couleur et les tanins est observée depuis toujours. Il y a d'abord augmentation de l'intensité colorante mais aussi de la teinte évoluant des nuances vertes aux nuances orangées tuilées. La fraction jaune de la couleur des vins provient de l'oxydation d'autres phénols que les tanins – les flavonols – puis de leur polymérisation en molécules plus grosses. Les (petites) formations d'éthanal, par oxydation de l'éthanol, accentuent l'ensemble de ces phénomènes (Blouin & Peynaud, 2002).

Généralement, l'oxydation poussée est défavorable à la qualité des vins, tandis qu'une dissolution lente et continue, comme c'est le cas dans l'élevage des vins en barriques, joue un rôle positif (Ribéreau-Gayon, 1933).

o Acide tartrique

L'acide tartrique est également oxydé en présence d'un catalyseur métallique du vin pour donner les acides dioxytartrique et dioxymaléique, puis le glyoxal et l'acide oxalique et enfin l'acide glyoxalique qui peut entraîner le brunissement des vins (Fulcrand *et al.*, 1997).

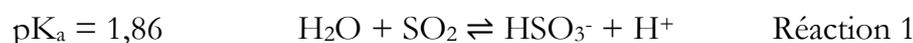
○ Arômes

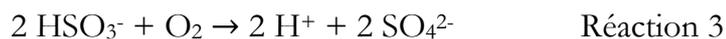
L'oxygène interfère avec les arômes variétaux, en transformant par exemple les composés terpéniques (cas des variétés de raisin muscatées) en oxydes moins aromatiques ou les thiols aromatiques (cas du Sauvignon, du Cabernet Sauvignon, ou du Merlot) en dérivés pouvant présenter des défauts d'odeur. Les vins blancs oxydés sont décrits avec des descriptifs tels que caramel (par ex. : vanilline, furanéol), fruit trop mûr, pomme écrasée (par ex. : éthyl-2-méthyl butyrate), boisé (par ex. : furfural, eugénol), rance (par ex. : acide hexanoïque), miel (par ex. : phénylacétaldéhyde) ou légumes cuisinés (par ex. : 3-méthylthiopropionaldéhyde) (Escudero *et al.*, 2002; Silva Ferreira *et al.*, 2003). De façon similaire, l'oxydation des composés soufrés négatifs formés par les levures (H₂S, méthane-thiol, ...) élimine leurs caractères déplaisants (odeurs d'ail, de chou, d'œuf pourri...), mais ceux-ci peuvent se reformer ultérieurement (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998)

Dans les élevages de type oxydatif (utilisés pour beaucoup de vins doux naturels, vins de Banyuls, vins de Porto...), gardés pendant de nombreuses années dans des récipients en vidange, parfois exposés en plein soleil, on observe la formation d'arômes caractéristiques de « rancio » (aldéhydes et cétones). Ce type d'évolution est rejeté pour l'ensemble des autres vins. Dans le cas d'une oxygénation exagérée, les arômes du vin sont irréversiblement altérés pour laisser place à des arômes d'oxydations tels que l'éthanal. L'éthanal (ou acétaldéhyde) présente une odeur caractéristique d'évent, de pomme acide et provient de l'oxydation de l'alcool par le peroxyde d'hydrogène (Wildenradt & Singleton, 1974).

○ Dioxyde de soufre (SO₂)

Il y a inactivation du SO₂ sous forme de combinaison irréversible. Les réactions suivantes peuvent se produire dans le vin en contact avec l'oxygène :



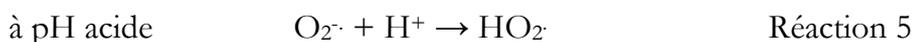


Le phénomène d'auto-oxydation du SO_2 est catalysé par des métaux de transition tels que le fer, le cuivre et le manganèse présents dans le vin (Connick & Zhang, 1996; Danilewicz, 2007).

- o Le fer et le cuivre

Les quantités d'espèces radicalaires de l'oxygène en solution aqueuse peuvent être augmentées de façon importante sous l'effet catalytique des cations métalliques.

L'oxygène moléculaire se fixe directement sur certaines substances qui, pour cette raison, sont appelées substances auto-oxydables (Fe^{3+} , Cu^{2+}) en donnant des formes instables qui oxydent à leur tour d'autres substances dites accepteurs d'oxygène, qui ne seraient pas oxydées par l'oxygène moléculaire (oxydant très faible). Plus exactement, les électrons des cations métalliques (M) peuvent être facilement transférés sur l'oxygène moléculaire par les réactions de Fenton, pour former des radicaux libres oxygénés et du peroxyde d'hydrogène :



Le fer et le cuivre jouent un rôle important dans les phénomènes d'oxydation du vin : un vin riche en fer et en cuivre vieillit plus vite (Delanöe *et al.*, 2001).

I.2. Transfert de l'oxygène à travers l'emballage

Pour avoir une durée de vie maximale, différents facteurs environnementaux clés doivent être contrôlés, comme la température, la teneur en eau et la composition des gaz entourant le produit. Quelques valeurs de perméabilité à l'oxygène de films utilisés dans les BIB sont reportées dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Valeurs de perméabilité à l'oxygène de différents matériaux

Matériaux	Epaisseur (μm)	HR (%)	Température ($^{\circ}\text{C}$)	Perméabilité à l'oxygène ($10^{-15} \text{ m}^3 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$)
EVOH ⁽¹⁾	1	65	20	1,576
EVOH (32%) ⁽²⁾	25	0	-	0,231
EVOH (32%) ⁽²⁾	25	85	-	2,315
EVOH (32%) ⁽²⁾	25	100	-	5,787 - 11,574
PVDC ⁽¹⁾	1	65	20	3,541
Nylon 6 ⁽¹⁾	1	65	20	79,674
PA semi-aromatique (MXD6) ⁽²⁾	25	-	-	5,787
PA6 ⁽²⁾	25	-	-	57,87
PVDC ⁽²⁾	25	-	-	1,736
BOPP ⁽²⁾	20	-	-	1736,11
BOPP met. ⁽²⁾	20	-	-	23,148
BOPP SiO _x ⁽²⁾	20	-	-	17,361
BOPP SiO _x + Ormocer ⁽²⁾	20	-	-	0,058
PET-O (standard) ⁽²⁾	12	-	-	127,3148
PET-O (standard) met. ⁽²⁾	12	-	-	1,1574
PET-O (standard) SiO _x ⁽²⁾	12	-	-	0,5787
PET-O (standard) SiO _x + Ormocer ⁽²⁾	12	-	-	0,05787
PET/Al/PE ⁽³⁾	114	-	13	0
Nylon/PE ⁽³⁾	107	-	13	0,0538
Nylon co-extrudé multicouches ⁽³⁾	87	-	13	0,1586
PEBD ⁽³⁾	83	-	13	1,1645

⁽¹⁾ (Armstrong, 2002) ; ⁽²⁾ (Neumann, 2001) ; ⁽³⁾ (Lee *et al.*, 2002)

SiO_x : couche d'oxyde de silicium, Ormocer[®] : polymère hybride organique/inorganique

L'utilisation de films multicouches de polymères organiques ou de polymères hybrides inorganique/organique améliore les propriétés barrière à l'oxygène des emballages, par comparaison avec les films fabriqués avec un seul polymère (Lee *et al.*, 2002). De plus, il est démontré que les perméabilités à l'oxygène de l'EVOH, polymère hydrophile, sont fortement influencées par l'humidité relative : quand l'humidité augmente, la perméabilité à l'oxygène augmente également (Armstrong, 2002; Neumann, 2001). Le Tableau 2 montre que la perméabilité à l'oxygène peut varier d'un facteur

30 000 en fonction du matériau utilisé. Etant donné que les modifications chimiques par oxydation peuvent être accélérées en présence d'oxygène, la teneur en oxygène initiale dans un emballage et/ou le taux d'oxygène entrant dans l'emballage sont souvent les paramètres les plus importants dans le choix du matériau barrière (Armstrong, 2002). Ceci est particulièrement vrai dans le cas du vin.

I.3. Pièges à oxygène

De forts niveaux de transferts d'oxygène à travers les emballages alimentaires peuvent faciliter la croissance microbienne, le développement de mauvaises odeurs ou de mauvais goûts, les changements de couleur et une perte nutritionnelle provoquant une diminution de la durée de conservation de l'aliment (Kerry *et al.*, 2006).

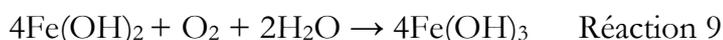
Bien que les aliments sensibles à l'oxygène comme le vin puissent être contenus dans des emballages à atmosphère modifiée ou des emballages sous vide, ce type d'emballage ne permet pas d'éliminer l'oxygène dissous initialement dans le vin ou perméant à travers les films. Des films comportant des pièges à oxygène ont donc été développés.

Les technologies de « pièges » à oxygène utilise un ou plusieurs des concepts suivants (Floros *et al.*, 1997) :

- Oxydation de poudre de fer (Brandon *et al.*, 2008),
- Oxydation de l'acide ascorbique,
- Oxydation de colorant photosensible,
- Oxydations enzymatiques basées par exemple sur les activités enzymatiques glucose oxydase et alcool oxydase (Darnet *et al.*, 1993; Wong *et al.*, 2008),
- Acides gras insaturés d'extrait de riz,
- Levures immobilisées (Altieri *et al.*, 2004).

Les pièges à oxygène peuvent avoir la forme d'un sachet, d'une étiquette, d'un film (incorporé directement dans le film d'emballage) ou au niveau d'un bouchon.

La majorité des pièges à oxygène actuellement disponibles sont basés sur le principe de l'oxydation du fer, à l'aide des réactions suivantes :



Ce type de pièges à oxygène sous forme de sachet permet de diminuer très rapidement la teneur en oxygène jusqu'à quelques ppm. Les inconvénients majeurs de ce type de pièges sont qu'ils ne peuvent être mis en œuvre dans les phases liquides sauf s'ils sont mis directement dans l'emballage (cela existe dans le cas du PET) et le risque d'ingestion du fer.

II. Arômes

II.1. *Transfert de composés d'arôme à travers l'emballage*

Bien que les composés organoleptiques soient des constituants minoritaires des produits alimentaires, de petites altérations de leur quantité ou de leur présence relative (déséquilibre aromatique) peuvent produire des changements détectables qui résultent en un rejet du consommateur.

II.2. *Impact du transfert sur la qualité sensorielle de l'aliment*

Il a été montré qu'un panel expérimenté et indépendant ne peut pas distinguer de différences entre un jus d'orange stocké à 4°C pendant 24 semaines en bouteilles de verre et celui stocké en emballage en carton laminé avec du PEBD en contact malgré 50% de sorption de d-limonène (Pieper *et al.*, 1992).

Il a été également montré que la qualité sensorielle d'un jus de fruit stocké en bouteille de verre au contact de bandelette de LDPE pendant un mois à 20°C n'est pas affectée jusqu'à 40% d'absorption de d-limonène. L'oxydation du d-limonène qui entraîne une dégradation aromatique du jus par apparition de produits d'oxydation a lieu pendant les étapes initiales du stockage ; en étant absorbé dans le polymère, le limonène est protégé de l'oxydation. Une telle sorption peut donc améliorer le profil de la saveur d'un

jus d'orange commercial puisqu'il élimine temporairement le limonène, précurseur de mauvais goûts indésirables (van Willige *et al.*, 2003). Mais ce cas est assez rare et généralement la sorption de composé d'arôme est néfaste pour le profil aromatique du produit.

Le Tableau 3 reprend quelques valeurs de coefficients de transfert de composés d'arôme à travers différents matériaux. Les coefficients de transfert du limonène, un des composés d'arôme les plus étudiés varient fortement en fonction du matériau et des conditions de mesure : la perméabilité est comprise entre $0,107 \cdot 10^{-15}$ et $149 \cdot 10^{-15} \text{ kg m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ et la diffusivité entre $34,7 \cdot 10^{-15}$ et $378 \cdot 10^{-15} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$. On constate que la présence d'EVOH et de nylon dans des films multicouches diminue la perméabilité et la diffusivité du butanoate d'éthyle et du limonène à travers les films PEHD. De plus la présence d'un autre composé d'arôme a tendance à augmenter les coefficients de transfert des composés d'arôme constitutif du mélange. C'est pourquoi il est intéressant d'étudier les composés d'arôme dans des matrices modèles afin de s'approcher des conditions réelles.

Par ailleurs, l'absorption de composés d'arôme augmente la perméabilité à l'oxygène du PP et du PEBD respectivement de 130% et 21% après 8h d'exposition aux différents composés. Du fait de cette importante perméabilité à l'oxygène, il est attendu une diminution de la durée de conservation des produits conditionnés dans du PP ou PEBD et contenant les composés d'arôme suivants : limonène, décanal, hexyl acétate, 2-nonanone. Par contre, la perméabilité à l'oxygène du PET n'est pas influencée par la présence de composés d'arômes (van Willige *et al.*, 2002a). Bien que le « scalping » du limonène augmente la perméabilité à l'oxygène du PEBD, il pourrait être bénéfique pour la qualité organoleptique du jus d'orange (Kutty *et al.*, 1994), puisque la sorption élimine temporairement le limonène, précurseur de mauvais goûts indésirables (van Willige *et al.*, 2003).

Tableau 3 : Valeurs des coefficients de transfert de composés d'arôme à travers différents matériaux avec le coefficient de perméabilité P (10^{-15} kg m⁻¹ s⁻¹ Pa⁻¹), le coefficient de diffusion D (10^{-15} m² s⁻¹) et le coefficient de sorption S (10^{-3} kg m⁻³ Pa⁻¹) en fonction de la température T (°C) et l'humidité relative HR (%)

Polymères (épaisseur, µm)	Arômes (concentration)	T	HR	P	D	S
Nylon 6,6 (25,4 µm) ^a	Limonène	35	100		24	
EVOH 44% éth. (15 µm) ^a	Limonène	35	100		3,2	
EVOH 32% éth. (15 µm) ^a	Limonène	35	100		7,5	
PEHD/PEHD/EVOH/ PEHD (86,4) ^b	Limonène (21 µg mL ⁻¹)	25	0	1,94	34,7	55,8*
PEHD/PEHD/EVOH/ PEHD (86,4) ^b	Butanoate d'éthyle (109 µg mL ⁻¹)	25	0	0,108	48,5	2,22*
PEHD/PEHD/Nylon/P EHD (88,9) ^b	Limonène (21 µg mL ⁻¹)	25	0	2,11	35,7	59,1*
PEHD/PEHD/Nylon/P EHD (88,9) ^b	Butanoate d'éthyle (109 µg mL ⁻¹)	25	0	0,107	55,4	1,94*
PEHD/PEHD (68,6) ^b	Limonène (21 µg mL ⁻¹)	25	0	121	378	323*
PEHD/PEHD (68,6) ^b	Butanoate d'éthyle (109 µg mL ⁻¹)	25	0	13	558	23,2*
PEHD/PEHD/EVOH/ PEHD (86,4) ^b	Limonène (11 µg mL ⁻¹) et butanoate d'éthyle (55 µg mL ⁻¹)	25	0	1,90 0,245	46,3 71,6	41,1* 3,43*
PEHD/PEHD (68,6) ^b	Limonène (11 µg mL ⁻¹) et butanoate d'éthyle (55 µg mL ⁻¹)	25	0	149 31	281 428	531* 72,2*
PEUBD (45) ^c	Phényl-2-éthanol (300 ppb)	23	-	2,6	13	200*
PEUBD (45) ^c	Limonène (300 ppb)	23	-	5,9	79	70*
PEUBD (45) ^c	Hexanoate d'éthyle (600 ppb)	23	-	4,8	190	30*

* calculé à partir de P=DS comme proposé par les auteurs

^a (Zhang *et al.*, 2001b)

^b (Zhou *et al.*, 2004)

^c (Hernandez-Muñoz *et al.*, 1999)

La réactivité des composés d'arômes dans la matrice alimentaire peut altérer leur transfert à travers l'emballage et donner lieu à un phénomène de compétition entre leur dégradation (par oxydation par exemple) et leur sorption (Ducruet *et al.*, 2001; van Willige

et al., 2002b). Un tel phénomène de compétition peut avoir un rôle positif sur la qualité de l'aliment en sorbant les mauvaises odeurs issues de produits de dégradation, tel que l' α -terpinéol dans le jus d'orange (Ducruet *et al.*, 2000).

Les phénomènes pouvant modifier la qualité sensorielle d'un produit et leur interrelation sont complexes et ne sont pas toujours prédictibles. Il existe peu d'études scientifiques sur le vin, son conditionnement en plastique étant récent. Muratore *et al.* (Muratore *et al.*, 2005) ont montré la sorption dans des films de PE à 20°C de composés d'arôme contenus dans le vin tels que l'acétate d'amyle, le 3-méthyl-1-butanol, l'hexanoate d'éthyle, l'octanoate d'éthyle, le succinate de diéthyle, le décène-9-oate d'éthyle, le décanol, le méthyldecanoate d'éthyle et le phényl éthanol. Cette sorption a lieu dès 30 jours de contact entre le vin et le film. Il est ainsi facile d'imaginer que le mauvais choix de l'emballage peut avoir des effets très néfastes et conduire au rejet du produit par le consommateur.

MATERIEL ET METHODES

MATERIEL

I. Matériel biologique

I.1. *Saccharomyces cerevisiae* K1M

La souche de levure *Saccharomyces cerevisiae* K1M utilisée dans cette étude a été sélectionnée par l'ICV (Institut Coopératif du Vin, Lattes) et l'INRA-Montpellier et est produite et commercialisée par la société Lallemand (Toulouse). Elle se présente sous forme de levures sèches actives (LSA). Ne nécessitant pas de pré-culture avant leur utilisation, ces LSA sont au préalable réhydratées : 1 g de ces levures sèches actives sont mises en suspension dans 10 mL d'eau glucosée à 50 g L⁻¹. Cette suspension est placée au bain-marie à 37°C pendant 30 minutes avec une homogénéisation toutes les 10 minutes. Le milieu de culture est ensuite inoculé avec cette préparation de levures réhydratées. Le taux d'ensemencement est de 5 grammes par hectolitre, soit 500 µL de la suspension de levures réhydratées dans 1 L de milieu de culture.

I.2. *OptiWHITE*®

OptiWHITE® (Lallemand, Toulouse) est une levure œnologique inactivée, sélectionnée et préparée spécifiquement pour garantir une libération de glutathion dans le milieu (molécule à fort pouvoir antioxydant). Ces levures inactivées ont été utilisées de deux façons :

- en conditions œnologiques : soit 30 g hL⁻¹ en début ou en fin de fermentation alcoolique
- en solution dans un milieu hydroalcoolique (tampon CMP décrit ci-dessous)

II. Milieux ou solutions

II.1. *Milieu de culture*

Le milieu de fermentation utilisé est un milieu synthétique (MS300), qui simule la composition moyenne d'un moût de raisin. Il permet ainsi de travailler dans des conditions standards et de s'affranchir des variations de composition observées sur moûts naturels. Le milieu MS300 contient tous les acides aminés, vitamines et facteurs de croissance, fournis par Sigma (Saint Quentin Fallavier, France), nécessaires au bon développement de la souche K1M en anaérobiose (Bely, 1990; Salmon *et al.*, 2003b). C'est à partir de cette croissance levurienne que nous récolterons ensuite des lies de levures (après 12 jours de fermentation). La quantité d'azote assimilable de ce milieu est d'environ 312 mg L⁻¹.

Pour fabriquer un litre de MS300, il faut :

- 200 g de glucose (source carbonée)
- 6 g d'acide malique (DL)
- 6 g d'acide citrique
- 0,75 g de phosphate de potassium (KH₂PO₄)
- 0,50 g de sulfate de potassium (K₂SO₄)
- 0,25 g de sulfate de magnésium (MgSO₄, 7H₂O)
- 0,155 g de chlorure de calcium (CaCl₂, 2H₂O)
- 0,20 g de chlorure de sodium (NaCl)
- 0,46 g de chlorure d'ammonium (NH₄Cl)
- 13,09 mL de la solution mère d'acides aminés
- 1 mL de la solution mère d'oligo-éléments
- 10 mL de la solution mère de vitamines
- 1 mL de la solution mère des facteurs anaérobies

La composition des solutions mères entrant dans la formule de ce milieu est la suivante.

II.1.i. Solution mère d'acides aminés

Pour fabriquer un litre de la solution mère d'acides aminés, il faut :

- 1,4 g de tyrosine
- 13,7 g de tryptophane
- 2,5 g d'isoleucine
- 3,4 g d'acide aspartique
- 9,2 g d'acide glutamique
- 28,6 g d'arginine
- 3,7 g de leucine
- 5,8 g de thréonine
- 1,4 g de glycine
- 38,6 g de glutamine
- 11,1 g d'alanine
- 3,4 g de valine
- 2,4 g de méthionine
- 2,9 g de phénylalanine
- 6,0 g de sérine
- 2,5 g d'histidine
- 1,3 g de lysine
- 1,0 g de cystéine
- 46,8 g de proline
- 20 g de NaHCO_3

II.1.ii. Solution mère d'oligo-éléments

Pour réaliser un litre de cette solution mère, nous avons besoin de :

- 4,0 g de $\text{MnSO}_4, \text{H}_2\text{O}$
- 4,0 g de $\text{ZnSO}_4, 7 \text{H}_2\text{O}$
- 1,0 g de $\text{CuSO}_4, 5 \text{H}_2\text{O}$
- 1,0 g de KI
- 0,4 g de $\text{CoCl}_2, 6 \text{H}_2\text{O}$
- 1,0 g de H_3BO_3
- 1,0 g de $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$

I.1.i. Solution mère de vitamines

Un litre de solution mère de vitamines est fabriqué comme suit :

- 2 g de myo-inositol
- 0,15 g de pantothénate de calcium
- 0,025 g de thiamine, hydrochloride
- 0,2 g d'acide nicotinique
- 0,025 g de pyridoxine
- 3 mL de biotine

I.1.ii. Solution mère des facteurs anaérobies de croissance

Cette solution, maintenue à 70°C, contient pour 100 mL :

- 50 mL d'éthanol pur
- 50 mL de Tween 80
- 1,5 g d'ergostérol
- 0,5 mL d'acide oléique

II.2. *Milieux d'analyses*

II.2.i. Tampon CMP

Ce milieu est un milieu hydroalcoolique dont le pH correspond à celui du vin et qui a été utilisé lors de la mesure de la consommation d'oxygène par les lies. Il comprend :

- Acide citrique : 31 mM
- Acide D,L-malique : 45 mM
- KH_2PO_4 : 10 mM
- Ethanol : 11,8 % (v/v)

Le pH est ajusté à 3,3 avec de la potasse KOH (10N).

II.2.ii. Tampon phtalate

Ce milieu avait été considéré par (Fornairon-Bonnefond, 2000) comme le milieu optimum pour l'analyse des vitesses de consommation d'oxygène. C'est une solution 0,1 M de phtalate ajusté à pH 4,5. Ce tampon a été utilisé lors de la mesure de la consommation d'oxygène.

II.2.iii. Solution modèle Arômes

Cette solution modèle a pour but de simuler un vin (très simplifié). Il s'agit d'une solution hydro-alcoolique (Barrera-Garcia *et al.*, 2006; Bouchilloux *et al.*, 2000; Chalier *et al.*, 2007a; Murat *et al.*, 2003), contenant :

- 12 % d'éthanol (v/v)
- 3,5 g L⁻¹ d'acide tartrique
- pH de 3,5 ajusté avec de la potasse (KOH)
- 1 mg L⁻¹ de butanoate d'éthyle
- 1 mg L⁻¹ d'hexanoate d'éthyle
- 1 mg L⁻¹ d'éthyl-4-phénol
- 40 mg L⁻¹ de phényl-2-éthanol

Les concentrations en composés d'arôme ont été déterminées d'après des valeurs trouvées dans la littérature (Fretz *et al.*, 2005; Gomez-Plaza *et al.*, 1999; Pérez-Coello *et al.*, 1999; Vilanova & Martínez, 2006; Zoecklein *et al.*, 1999). Cette solution modèle a été utilisée lors de l'étude du transfert des composés d'arôme.

Les deux esters (hexanoate d'éthyle et butanoate d'éthyle) et deux composés phénoliques (phényl-2-éthanol et éthyl-4-phénol) ont été fournis par Sigma (Saint Quentin Fallavier, France), avec une pureté supérieure à 99%. Les caractéristiques physico-chimiques de ces composés sont présentées dans le Tableau 4.

Cette solution modèle sera modifiée en fonction des différents paramètres étudiés :

- Solution aqueuse : cette solution contient les mêmes composés d'arôme ainsi que l'acide tartrique et est également ajustée à pH 3,5 mais ne contient pas d'éthanol.
- Solution 10% (v/v) et 15% (v/v) d'éthanol : seule la concentration en éthanol varie par rapport à la solution modèle de base.

Tableau 4 : Caractéristiques physico-chimiques des composés d'arômes utilisés

Composés d'arôme (Formule)	Butanoate d'éthyle (C ₆ H ₁₂ O ₂)	Hexanoate d'éthyle (C ₈ H ₁₆ O ₂)	Phenyl-2-éthanol (C ₈ H ₁₀ O)	Ethyl-4-phénol (C ₈ H ₁₀ O)	Ethanol (C ₂ H ₆ O)
PM ^a	116,16	144,21	122,16	122,16	46,07
P _{vap} ^b (Pa)	88,38	12,51	0,47	0,44	142,10
Log P ^c	1,9	2,8	1,6	2,6	-0,14
T _f (°C)	-98	-67	-27	45	-114
D (g cm ⁻³)	0,875	0,869	1,020	-	0,785
Conc. vap. ^f (mg L ⁻¹)	1885 ^d	215 ^d	9,62 ^e	8,96 ^e	7642 ^e
S _{eau} (g L ⁻¹)	4,9 ^g	0,51 ± 0,11 ^h	15,96 ± 3,25 ^h	5,65 ± 0,39 ⁱ	-
S _{SM} (g L ⁻¹)	-	1,03 ± 0,2 ^h	19,19 ± 3,6 ^h	5,92 ± 0,22 ⁱ	-
Vm ^a (cm ³ mol ⁻¹)	133,6 ^g	165,5 ^g	120,2 ^h	123,3 ^h	59,6 ^g

^a PM : poids moléculaire, T_f = température de fusion, Vm = volume molaire, S_{eau} = solubilité du composé dans l'eau, S_{SM} = solubilité du composé dans une solution modèle de vin,

^b P_{vap} = pression de vapeur saturante à 25°C

^c Hydrophobicité exprimée sous forme de logP, P étant le coefficient de partage du composé d'arôme entre l'octanol et l'eau, calculé avec le logiciel d'estimation de SRC (www.syrres.com/esc/)

^d Valeurs mesurées par Covarrubias-Cervantes *et al.* (Covarrubias-Cervantes *et al.*, 2004)

^e Valeurs calculées à partir des couples vapeur/pression/température (Lide, 2004)

^f Concentrations en composés d'arôme dans la phase vapeur déterminées d'après la loi des gaz parfaits PV=nRT

^g (Bocquet *et al.*, 2006)

^h (Ramirez Ramirez *et al.*, 2001)

ⁱ (Barrera-Garcia *et al.*, 2006)

^g Volume molaire estimé à partir de corrélation basée sur les contributions des groupements chimiques proposé par Fedors et calculé via le site web www.pirika.com

^h Volume molaire issu de Yaws (Yaws, 1999)

II.2.iv. Vin blanc de Villaray

Ce vin est un vin blanc sec conditionné par Vinobag (Saint Jean de la Blaquière, France). Son pH est de 3,3 et il contient 11 % d'éthanol (v/v). La teneur en SO₂ libre est de 54 mg.L⁻¹. Il est issu de BIB 3 litres ou 5 litres, reconditionnés au laboratoire dans des bouteilles en verre mises sous atmosphère d'argon.

II.2.v. Vin blanc « Mont Baudille »

Ce vin blanc est un vin de Pays « Mont Baudille » 2007 et analysé avant conditionnement chez Vinobag en avril 2008. Son pH est de 3,3, son titre alcoométrique

volumique est de 12,5%, sa teneur en SO₂ libre est de 51 mg L⁻¹ et sa teneur en SO₂ total de 137 mg L⁻¹.

II.2.vi. Vin blanc « Pech Rouge »

Ce vin est un vin blanc issu d'une fermentation d'un moût de Sauvignon de Puychéric (Aude) enrichi en bourbes. Ce vin riche en thiols est sensible à l'oxydation. Un ajout de 30 g hL⁻¹ de SO₂ a été réalisé avant son conditionnement. Il a été conditionné en BIB dès la fin de fermentation. Son pH est de 3,48 et il contient 12,6 % v/v d'éthanol.

III. Les films plastiques de Bag-in-Box

Les films sont issus de poches de Bag-in-Box fournies par Vinobag (Saint Jean de la Blaquière, France).

Les deux films de polyéthylène (films intérieurs des poches) étudiés sont nommés PE 1 et PE 2. Les spécifications techniques des poches données par les fournisseurs de poches sont présentées Tableau 5. L'épaisseur et la densité des films de PE ont été par la suite mesurées.

Tableau 5 : Caractéristiques des films de polyéthylène données par les fournisseurs de poches

Films	Epaisseur (µm)	Densité (kg m ⁻³)	Composition
PE 1	45	920	75% PELBD/25% PEBD
PE 2	45	922-926	PEMD/PELBD

Les films extérieurs des poches ont également été étudiés lors de la perméation des composés d'arôme : un film nommé EVOH (à base d'EVOH, 80 µm d'épaisseur), deux films à base de polyester métallisé nommés mPET 1 et mPET 2 avec une épaisseur respective de 82 µm et 75 µm.

Lors de l'étude sur le transfert d'oxygène, quatre poches différentes de 3L ont été utilisées :

Poche 1 : film extérieur à base d'EVOH (PE/EVOH/PE), film intérieur en PE, épaisseur totale de 160 µm, $P(O_2) = 0,171 \text{ à } 0,228 \cdot 10^{-9} \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ sous 100% O₂ à 23°C et 75%HR

Poche 2 : film extérieur à base de polyester métallisé (PE/Al-PET/PE), film intérieur en PE, épaisseur totale de 122 μm , $P(\text{O}_2) = 0,057$ à $0,114 \cdot 10^{-9} \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ sous 100% O_2 à 23°C et 75%HR

Poche 3 : film extérieur à base d'EVOH (PE/EVOH/PE), film intérieur à base d'EVOH (PE/EVOH/PE), épaisseur totale de 160 μm , $P(\text{O}_2) = 0,057$ à $0,079 \cdot 10^{-9} \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$

Poche 4 : film extérieur à base de polyester métallisé (PE/Al-PET/PE), film intérieur en PE, épaisseur totale de 120 μm , $P(\text{O}_2) = 0,057 \cdot 10^{-9} \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$

III.1. *Épaisseur*

L'épaisseur moyenne est déterminée à 25°C et 50% HR à l'aide d'un micromètre manuel (Braive Instruments, Belgique) à partir de 20 mesures prises au hasard sur toute la surface de l'échantillon.

III.2. *Densité*

La densité moyenne des films est déterminée à 25°C à partir de 20 mesures de masse de films ayant une surface définie préalablement.

III.3. *Caractérisation des films par DSC*

Afin de caractériser les matériaux en polyéthylène, la technique de calorimétrie différentielle à balayage (DSC, Differential Scanning Calorimetry) a été employée. Les mesures ont été réalisées grâce à un DSC 2920 (TA Instruments, New Castle, DE, USA). Les échantillons ont été encapsulés dans des coupelles propres. Les mesures d'enthalpie ont été réalisées en triplica à une vitesse de chauffage de 5°C min⁻¹ de 40 à 180°C. Les échantillons ont une masse comprise entre 6 et 10 mg. La température de fusion et l'enthalpie de fusion sont calculées respectivement à partir du maximum du pic endothermique et de l'aire de ce pic. La cristallinité est calculée comme suit :

$$X_C = \frac{\Delta H_{PE}^*}{\Delta H_{PE}^0} \quad \text{Équation 17}$$

Avec ΔH^0 , l'enthalpie de fusion par gramme d'un PE 100% cristallin - 289 J g⁻¹ (Milicevic *et al.*, 2007 ; Wunderlich, 1973) – et ΔH^* , l'enthalpie de fusion mesurée pour nos films de polyéthylène.

III.4. *Détermination du branchement par spectroscopie infrarouge*

Les échantillons de film PE ont été analysés grâce à la spectroscopie par transmission infrarouge à transformée de Fourier (IRTF). Les spectres sont acquis à l'aide d'un spectromètre Nexus 4700 (ThermoElectron Corp.) équipée d'un séparateur de polarisation HeNe et d'un détecteur MCT refroidi à l'azote. Les données spectrales sont accumulées à partir de 64 scans avec une résolution de 2 cm⁻¹ dans la gamme 800-4000 cm⁻¹. Dix échantillons de chaque PE ont été utilisés pour la mesure et trois spectres ont été enregistrés pour chaque échantillon. Tous les spectres ont été par les logiciels Omnic v7.3 et TQ Analyst v7.3 (ThermoElectron). Le procédé est le suivant :

- une correction linéaire de la ligne de base à l'aide de multiples points
- une normalisation par rapport à la hauteur du pic de la bande correspondant à la vibration du groupement CH₂ (1462 cm⁻¹). Le pourcentage de branchements à chaînes courtes a été évalué comparativement à l'aide de la bande correspondant à la déformation des méthyles à 1378 cm⁻¹.

IV. **Mise en œuvre technologique des lies**

Différentes solutions ont été proposées : les lies peuvent être enfermées (« piégées ») dans des capillaires membranaires ou des tubes ou piégées dans des billes d'alginate.

IV.1. *Capillaires et tubes*

Les membranes utilisées sont les suivantes :

- Membrane de microfiltration CAPFIL MF02 M2 (X-Flow, Enschede, Pays-Bas),
- Membrane de microfiltration MD200 CV2N (Microdyn-Nadir, Wiesbaden, Allemagne),
- Tube en silicone Tygon® R-3603 (Saint-Gobain, Akron, Etats-Unis).

Le Tableau 6 présente les caractéristiques principales des différentes membranes testées.

Tableau 6 : Caractéristiques des membranes utilisées pour le piégeage des lies.

	MF02 M2	MD200 CV2N	R-3603
Composition	Polyethersulfone & polyvinylpyrrolidone	Polypropylène	Silicone
Caractère hydrophile	Modérément hydrophile	Hydrophobe	Hydrophile
Diamètre extérieur (m)	$2,5 \cdot 10^{-3}$	$2,5 \cdot 10^{-3}$	$2,38 \cdot 10^{-3}$
Diamètre intérieur (m)	$1,5 \cdot 10^{-3}$	$1,6 \cdot 10^{-3}$	$3,97 \cdot 10^{-3}$
Diamètre maximal des pores (m)	$0,2 \cdot 10^{-6}$	-	-
Diamètre moyen des pores (m)	$0,09 \cdot 10^{-6}$	-	-
Taille absolue des pores (m)	-	$0,2 \cdot 10^{-6}$	-
Rh_0 (10^{-11} m^{-1})	$0,98 \pm 0,14$	$1,16 \pm 0,21$	-
Surface spécifique ($\text{m}^2 \text{ g}^{-1}$)	10,63	15,54	-

IV.2. Billes d'alginate

Le protocole suivant d'immobilisation de levure dans une matrice d'alginate de calcium a été retenu (Kawaguti *et al.*, 2006; Lu & Wilkins, 1996; Podrazky & Kuncova, 2005; Riordan *et al.*, 1996):

Un mélange de solution d'alginate de sodium à 3 % (p/v) et de la solution contenant les cellules à immobiliser est laissé tomber goutte à goutte à l'aide d'une pompe péristaltique dans une solution de chlorure de calcium (0,15 M). La quantité de cellules immobilisées sera précisée pour chaque expérience.

METHODES

I. Méthodes analytiques

I.1. *Comptage cellulaire*

L'évaluation de la biomasse levurienne se fait par numération à l'aide d'un compteur électronique de particules Multisizer™ 3 Coulter Counter® (Beckman-Coulter, Roissy, France). Au préalable, l'échantillon à tester est dilué grâce à un diluteur automatique Microlab 500 (Hamilton, Bonaduz, Suisse) avec une solution isotonique de comptage Isoton (Beckman-Coulter, Roissy, France) afin d'obtenir entre 4 000 et 80 000 cellules par mL dans l'échantillon. L'échantillon dilué est passé aux ultra-sons pendant 30 secondes sur le générateur Sonifier® S250A (Branson, Danbury, Etats-Unis) afin de séparer les agrégats éventuellement formés. Enfin la numération cellulaire est réalisée sur le compteur de particules.

I.2. *Masse sèche*

Trois fois 10 mL d'échantillon sont filtrés sous vide à travers un filtre Durapore® dont les pores ont un diamètre de 0,22 µm (Millipore, Guyancourt, France), le filtre étant préalablement séché et taré. Le gâteau de cellules récupéré avec la membrane est séché au four à 108°C pendant 24 heures. Les échantillons sont ensuite pesés.

I.3. *Dosage SO₂*

I.3.i. Principe

Le SO₂ ou dioxyde de soufre existe sous 2 formes : libre et combiné. La forme libre est dosée en milieu acide par titrage iodométrique direct et la forme combinée par la différence entre l'anhydride sulfureux total et l'anhydride sulfureux libre. Le SO₂ combiné est hydrolysé en milieu alcalin (OIV).

I.3.ii. Mode opératoire

Les réactifs nécessaires à la mesure du SO₂ libre et du SO₂ total sont les suivants :

- Sel disodique de l'acide éthylène-diamine-tétraacétique (EDTA)
- Solution 4 M d'hydroxyde de sodium (160 g L⁻¹)
- Solution au 1/10 (v/v) d'acide sulfurique ($\rho_{20^{\circ}\text{C}} = 1,84 \text{ g mL}^{-1}$)
- Solution 0,025 M d'iode
- Solution à 5 g L⁻¹ d'empois d'amidon : délayer 5 g d'amidon dans 500 ml d'eau environ. Porter à ébullition en agitant et maintenir l'ébullition pendant 10 minutes; ajouter 200 g de chlorure de sodium. Porter au litre après refroidissement.

Pour mesurer le dioxyde de soufre libre, il faut mélanger dans une fiole conique de 500 mL :

- 50 mL de vin
- 5 mL d'empois d'amidon
- 30 mg d'EDTA
- 3 mL de H₂SO₄ au 1/10 (v/v)

Puis titrer cette solution immédiatement par l'iode 0,025 M jusqu'à ce que la coloration bleue persiste nettement durant 10 à 15 secondes. Le volume d'iode utilisé est noté n mL.

Le dioxyde de soufre combiné est ensuite mesuré. Pour cela, ajouter 8 mL de solution 4 M d'hydroxyde de sodium, agiter une seule fois et laisser 5 minutes en contact. Verser d'un seul coup et en agitant énergiquement 10 mL d'acide sulfurique au 1/10. Titrer immédiatement par l'iode 0,025 M. Le volume d'iode utilisé est noté n' mL.

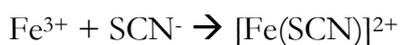
Puis ajouter 20 mL de solution 4 M d'hydroxyde de sodium, laisser en contact 5 minutes après avoir agité une seule fois. Diluer avec 200 mL d'eau aussi froide que possible. En agitant énergiquement, verser d'un seul coup 30 mL d'acide sulfurique au 1/10. Titrer par l'iode 0,025 M le dioxyde de soufre libéré. Soit n'' le volume d'iode employé.

Pour calculer la concentration de dioxyde de soufre libre en mg L⁻¹, il faut multiplier le volume n par 32. Quant à la concentration en dioxyde de soufre total, il faut faire la somme de $n + n' + n''$ et multiplier par 32.

I.4. Dosage du fer

I.4.i. Principe

Ce dosage est fondé sur la formation d'ions thiocyanatoferriques (III), [Fe(SCN)]²⁺. Ces ions complexes qui confèrent une couleur rouge à la solution qui les contient, sont formés à partir d'ions fer (III) et d'ions thiocyanate SCN⁻ suivant la réaction :



La transformation associée à cette réaction chimique est considérée comme totale.

Dans un vin, pour obtenir la totalité de l'élément fer sous forme d'ions fer (III), il faudra dissocier les ions complexes du fer avec une solution d'acide chlorhydrique et oxyder tous les ions Fe²⁺ en ions Fe³⁺ avec de l'eau oxygénée.

I.4.ii. Mode opératoire

Le dosage du fer dans le vin se fait en créant tout d'abord une échelle de teinte mesurée à 500 nm avec des concentrations en ion Fe³⁺ différentes. Pour réaliser cette gamme étalon, sept solutions sont fabriquées avec 0,1 mL, 0,15 mL, 0,2 mL, 0,5 mL, 0,8 mL, 1 mL et 1,5 mL d'une solution de fer à 0,05 g L⁻¹ dont le volume total est ajusté à 4 mL avec de l'eau distillée. Sont ensuite ajoutés 5,5 mL de la solution synthétique (dont la composition est indiquée ci-dessous), 1 mL de KSCN (thiocyanate de potassium) à 250 g L⁻¹ et 1 goutte de H₂O₂ (peroxyde d'hydrogène). La gamme étalon obtenue est représentée Figure 17.

Pour fabriquer 1 litre de la solution synthétique, il faut :

- 100 mL d'acide chlorhydrique
- 2,25 g d'acide tartrique
- 3,39 g de tartrate neutre de potassium
- 110 mL d'éthanol
- 10 g de glycérol
- Eau distillée qsp 1 litre

Pour mesurer la concentration en fer dans le vin, il faut mélanger 5 mL de vin avec 0,5 mL d'une solution HCl 50% (v/v), 5 mL de KSCN à 50 g L⁻¹ et 1 goutte de H₂O₂. Après avoir laissé reposer quelques minutes, 10 mL d'acétate d'isoamyle et 5 mL d'éthanol sont ajoutés. Les solutions sont agitées doucement par retournement puis la phase amylique (coloration rose) est récupérée après 5 min de repos. La phase organique est ensuite déshydratée par addition de sulfate de sodium anhydre (Na₂SO₄). Enfin, la coloration obtenue est lue au spectrophotomètre à 500 nm.

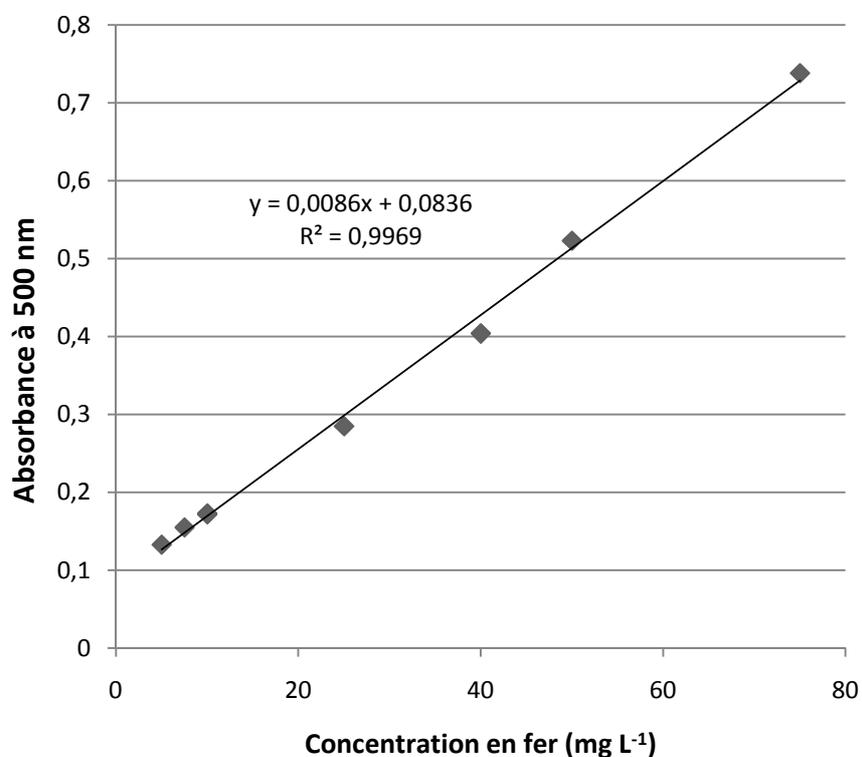


Figure 17 : Absorbance mesurée à 500 nm en fonction de la concentration en fer (mg L⁻¹).

I.5. Dosage du glutathion

I.5.i. Principe

Le dosage du glutathion se fait à l'aide d'un kit enzymatique proposé par Sigma (Saint Quentin Fallavier, France), qui mesure la teneur totale en glutathion sous ses formes réduites et oxydées (Akerboom *et al.*, 1981). Ce composé se caractérise par son groupement thiol (-SH) qui peut être réduit. Le glutathion réduit (GSH) est le tripeptide γ glutamylcystéinyglycine (Figure 18).

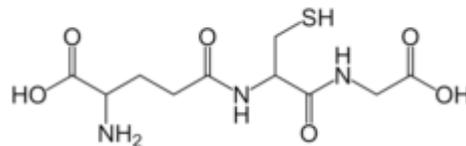


Figure 18 : Structure moléculaire du glutathion sous sa forme réduite

Le GSH joue différents rôles tels que la protection contre les espèces réactives de l'oxygène et le maintien des groupements -SH des protéines sous forme réduite. Pendant ces réactions, le GSH est converti en disulfure de glutathion GSSG, ou forme oxydée du glutathion. Dans les organismes, le GSSG est réduit par l'activité enzymatique glutathion réductase. Le DTNB (l'acide 5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoïque)), ou réactif d'Ellman, est utilisé pour la détection des fonctions thiols. Le principe du dosage enzymatique du glutathion (Figure 19) repose sur la formation d'acide 2-nitro-5-thiobenzoïque (produit coloré jaune) par réaction du glutathion avec le DTNB. Le glutathion oxydé produit par cette réaction est régénéré par l'activité glutathion réductase. La variation de concentration en acide 2-nitro-5-thiobenzoïque est déterminée par mesure de l'absorbance à 412 nm. La mesure de la vitesse initiale de cette réaction en boucle permet un dosage de la teneur en glutathion total avec une grande sensibilité.

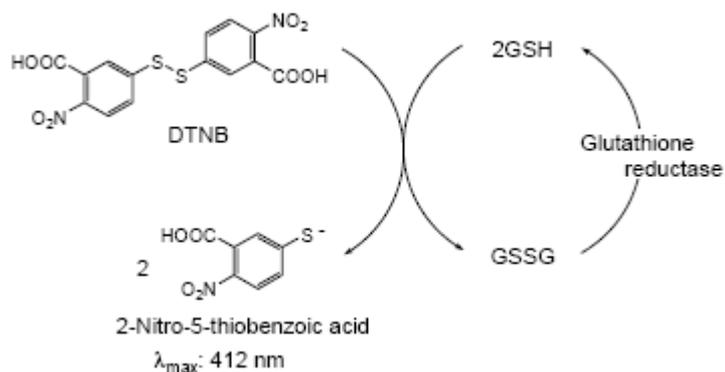


Figure 19 : Principe du dosage du glutathion.

I.5.ii. Mode opératoire

Une gamme étalon (Figure 20) est réalisée avec différentes concentration de GSH connues et permet de déterminer la concentration en glutathion total dans les échantillons.

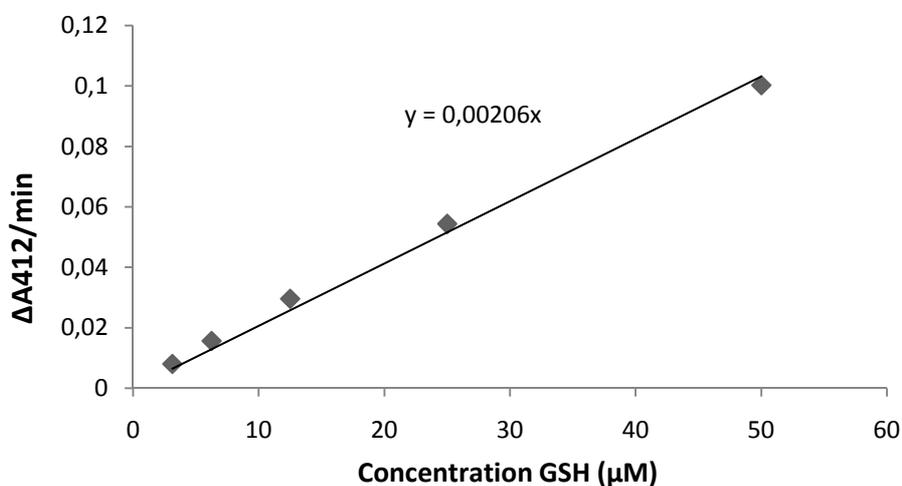


Figure 20 : Courbe étalon du dosage enzymatique du glutathion total.

La concentration finale des différents composants dans le mélange réactionnel est 95 mM de tampon phosphate de potassium, 0,038 mg mL⁻¹ (48 μM) de NADPH, 0,031 mg mL⁻¹ de DTNB, 0,115 U mL⁻¹ de glutathion réductase et 0,24% d'acide 5-sulfosalicylique.

II. Spectrophotométrie et Colorimétrie

Les méthodes de spectrophotométrie et de colorimétrie ont été utilisées afin de caractériser les vins de façon visuelle.

II.1. Colorimétrie

Les mesures de la couleur ont été effectuées en double sur les bouteilles à l'aide d'un colorimètre (Chromamètre Minolta modèle CR 200, Osaka, Japon) ou sur les poches transparentes de BIB ou à travers une fenêtre en verre collée sur un robinet préalablement découpé pour les poches métallisées (Spectromètre de réflectance Minolta modèle CM 508D, Osaka, Japon).

Les données sont présentées à l'aide du système $L^* a^* b^*$ développé par la Commission Internationale de l'Eclairage (CIE). Le système est représenté sur la Figure 21.

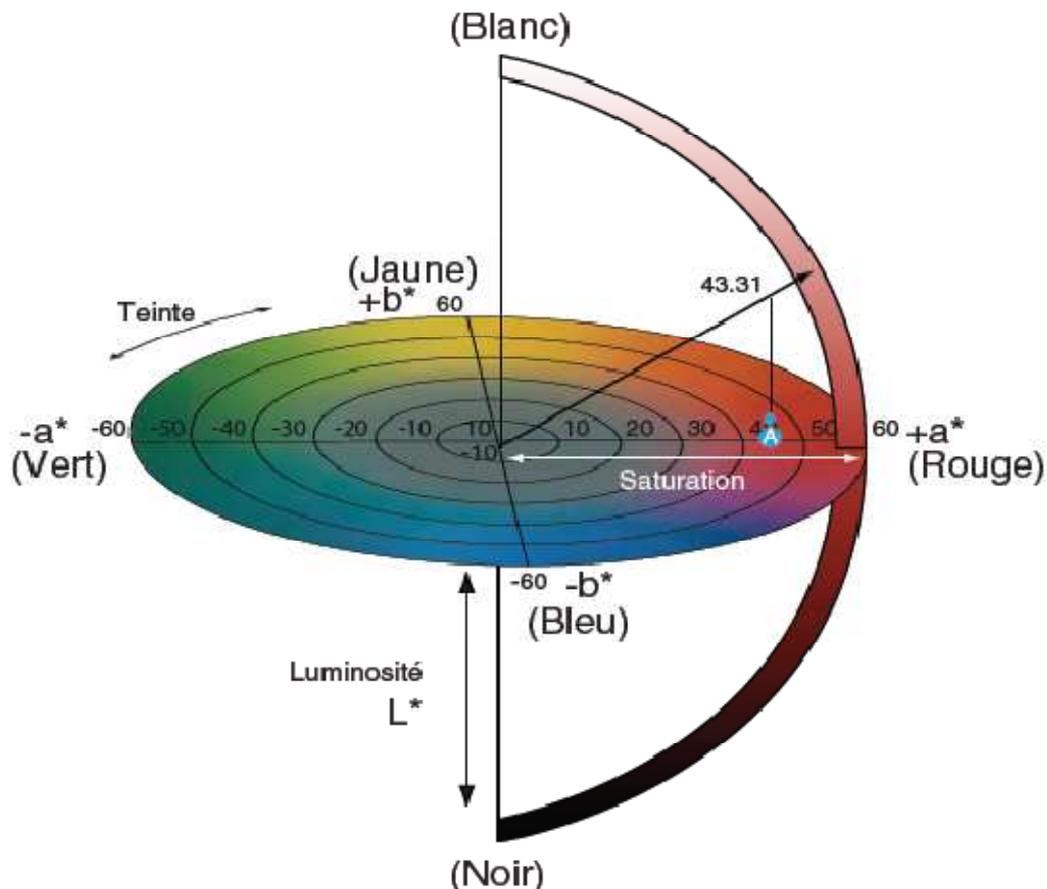


Figure 21 : Représentation du système CIE $L^* a^* b^*$.

La gamme du paramètre L^* (clarté) varie du noir (valeur 0) vers le blanc (valeur 100), le paramètre a^* (composante rouge) varie du vert (valeur -60) vers le rouge (valeur +60) et la gamme du paramètre b^* (composante jaune) varie du bleu (valeur -60) au jaune (valeur +60). En pratique la norme CIE 1976 $L^*a^*b^*$ vise à uniformiser la perception des différences de couleurs. Les relations non-linéaires pour L^* , a^* et b^* ont pour but d'imiter la réponse logarithmique de l'œil (dans l'espace $L^*a^*b^*$ l'œil détecte un point de variation de a^* ou b^* pour cinq points de L^*).

II.2. *Spectrophotométrie*

La technique de spectrophotométrie est basée sur la propriété de molécules absorbant à certaines longueurs d'ondes du spectre UV-visible.

Les composés phénoliques absorbent les rayonnements UV (280 nm) et quelquefois visible (380-700 nm). Ainsi, tous les polyphénols peuvent être dosés à 280 nm mais il est plus pertinent de les quantifier à leur maximum d'absorption qui est pour les anthocyanes autour de 520 nm, pour les flavonols à 360 nm, pour les dérivés cinnamiques à 320 nm et pour les dérivés benzoïques et les flavanols à 280 nm. Les spectres du vin blanc Villaray ont été enregistrés avec le spectrophotomètre UV mc2® (SAFAS, France) sur la gamme de longueur d'onde de 260 à 600 nm.

III. Transfert et consommation d'oxygène

Pour mesurer les vitesses de consommation de l'oxygène de nos échantillons, plusieurs méthodes ou sonde ont été utilisées.

III.1. *Méthode polarographique (sonde de Clark)*

III.1.i. Principe de mesure

La sonde est constituée de deux électrodes polarisables concentriques et séparées du milieu à tester par une membrane de polymère perméable au gaz. Une solution électrolytique appropriée réalise un film de très faible épaisseur entre la membrane et la

cathode. L'oxygène diffusant à travers cette membrane est réduit au contact de la cathode sous l'effet d'une polarisation convenable ce qui se traduit par la création d'un courant directement proportionnel à la quantité d'oxygène qui a traversé la membrane, quantité proportionnelle à celle contenue dans la solution à tester.

Réaction à la cathode



Réaction à l'anode



III.1.ii. Oxygraphe haute résolution Oroboros[®] Oxygraph-2k

Pour mesurer les vitesses de consommation de l'oxygène des échantillons, l'Oxygraphe 2k (Oroboros[®] Instruments, Innsbruck, Autriche) a été utilisé.

• *Description de l'appareillage*

C'est un oxygraphe à haute résolution qui possède deux chambres en parallèle permettant une analyse de deux échantillons dans des conditions identiques (Figure 22).

Le dispositif possède une régulation très précise de la température par effet Peltier, des chambres en verre, des bouchons et canules en titane minimisant les fuites et la diffusion d'oxygène. Chaque chambre a un volume réactionnel de 2 mL pouvant être agité de façon maîtrisée, à l'aide de barreaux magnétiques en PEEK[®], matériau qui ne piège pas l'oxygène.

Les sondes à oxygène polarographiques (Orbisphère[®]) sont insérées latéralement, en biais par rapport à la cellule en verre. L'oxygène diffuse de l'échantillon vers la surface de la cathode à travers une couche non-agitée de l'échantillon situé au niveau extérieur de la membrane, puis à travers la membrane et enfin à travers la couche d'électrolyte. Pour minimiser cette couche d'échantillon non agité, une agitation constante et forte de l'échantillon est nécessaire.

Les caractéristiques de la sonde Orbisphère modèle 2120 sont :

- Une cathode en or avec une surface relativement importante (diamètre de 2 mm) pour avoir une haute sensibilité et un zéro constant
- Une anode en argent/chlorure d'argent dont la surface est plus large que celle de la cathode
- Un électrolyte de chlorure de potassium (KCl à 1 M)
- Une membrane FEP (fluorinated ethylene-propylene) de 0,25 μm d'épaisseur
- Une tension de polarisation de 0,8 V

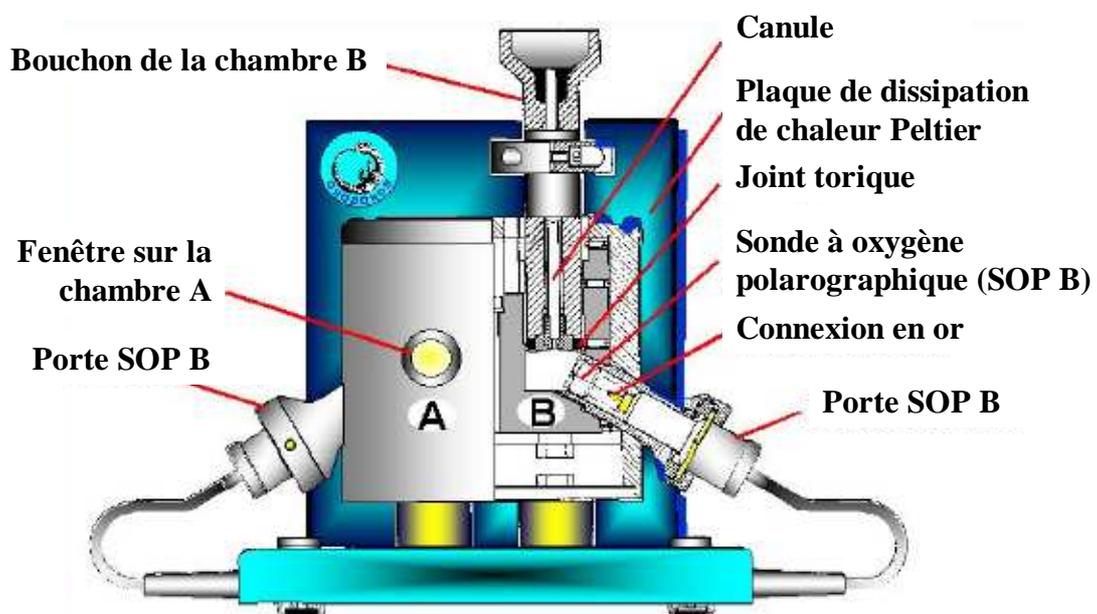


Figure 22 : Dispositif permettant la mesure de la consommation d'oxygène : Oxygraph-2k

• Mesures et analyse

Les vitesses de consommation en oxygène de différents échantillons ont été mesurées en enregistrant les données toutes les 2 secondes. Les échantillons sont agités à 750 rpm et maintenus à 30°C.

- *Oxygénation des échantillons*

Dans la plupart des cas, les échantillons ont été oxygénés à saturation avec l'oxygène de l'air. Les échantillons sont agités manuellement pendant une minute. Pour les expériences où est mentionné que les échantillons ont été saturés à l'oxygène pur, le dispositif schématisé dans la Figure 23 a été employé.

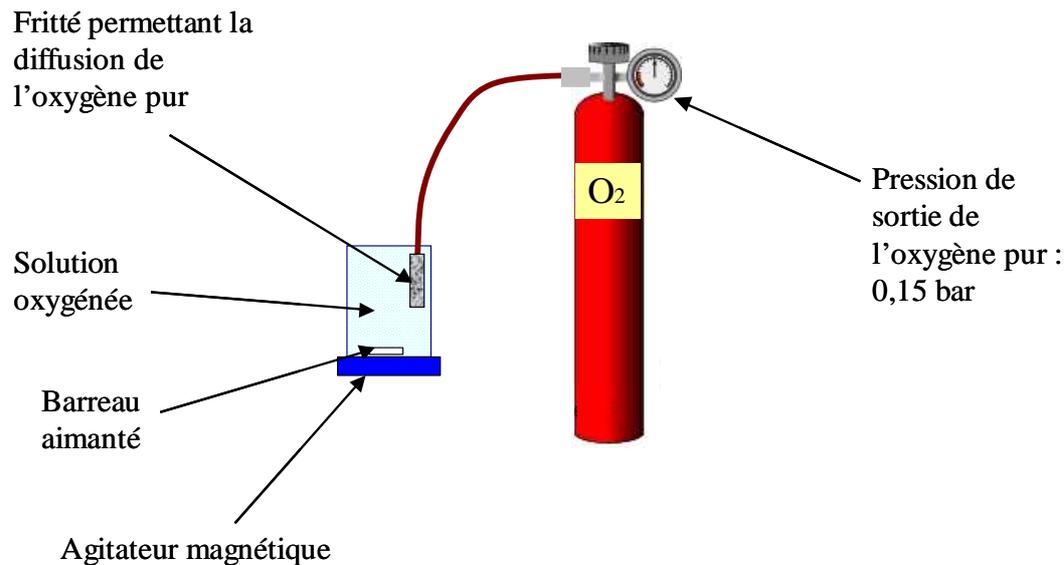


Figure 23 : Dispositif d'oxygénation des échantillons avec de l'oxygène pur.

III.1.iii. Oxi 197S

Afin de déterminer l'évolution de la concentration en oxygène au cours du temps et la quantité maximale totale de consommation d'oxygène, l'oxymètre OXI 197S (WTW, Weilheim, Allemagne) à électrode de Clark permet de mesurer la concentration en oxygène de nos échantillons (Figure 24).

- *Description de l'appareillage*

La sonde utilisée est une sonde CellOx 325 (WTW, Weilheim, Allemagne) dont les caractéristiques sont les suivantes :

- Une électrode de travail en or
- Une contre-électrode en plomb

- Un électrolyte non spécifié
- Une membrane FEP (fluorinated ethylene-propylene) de 13 μm d'épaisseur

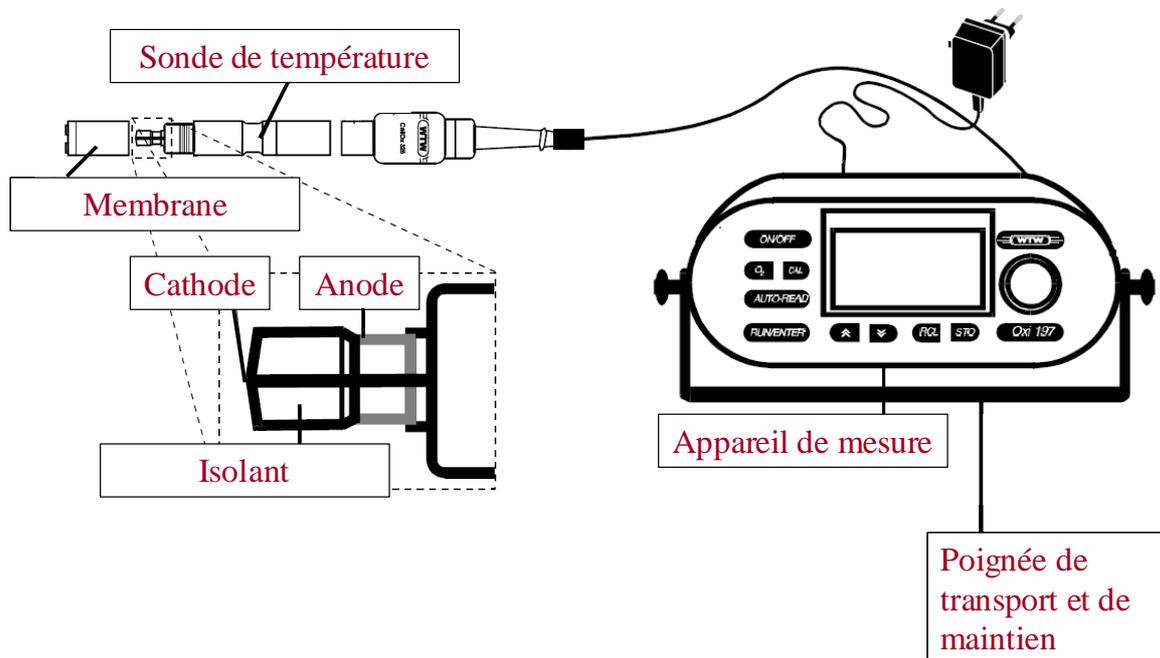


Figure 24 : Schéma de l'Oxi 197S, dispositif permettant la mesure de la consommation d'oxygène.

• Mesures et Analyse

Tout d'abord, la mesure de la quantité maximale d'oxygène consommé est réalisée dans une fiole régulée thermiquement par circulation d'eau dans une double enveloppe. Un agitateur magnétique assure l'homogénéisation du milieu réactionnel au cours de la mesure. Les données sont enregistrées toutes les 3 secondes. Après saturation en oxygène de l'air par agitation manuelle (vigoureuse) de la solution à mesurer, la mesure de concentration en oxygène est lancée dans le flacon fermé hermétiquement jusqu'à ce que l'on atteigne un palier. Puis la solution est ré-oxygénée à l'air, le flacon est refermé puis la mesure est relancée. Et ainsi de suite. La quantité totale d'oxygène consommé est déterminée à partir des données récupérées et analysées en cumul.

Dans un second temps, l'évolution de la concentration en oxygène au cours du temps a été mesurée. Chaque échantillon (vin seul et vin contenant des lies en suspension) est porté à saturation en oxygène de l'air par agitation et réparti dans des flacons étanches

de 70 mL. Les flacons sont tous maintenus à 30°C et les échantillons contenant des lies sont soit homogénéisés par agitation magnétique, soit ne sont pas agités. Les courbes obtenues à partir des différentes mesures sont ensuite lissées par le logiciel Sigmaplot® (SPSS inc., Richmond, Etats-Unis).

III.2. *Sonde optique/chimique*

Ce système de mesure élaboré et fourni par PreSens (Precision Sensing GmbH, Allemagne) a permis de mesurer l'entrée d'oxygène et sa consommation dans les vins conditionnés en BIB.

III.2.i. Principe de mesure

Le principe de mesure est basé sur l'effet dynamique du quenching de la luminescence d'une substance chimique (composition non connue) par l'oxygène moléculaire. Le schéma, présenté à la Figure 25, explique le principe de l'extinction de la luminescence par l'oxygène. La collision entre la substance luminescente à l'état excité et l'oxygène entraîne une désactivation radiative et est appelé extinction par collision (« quenching » dynamique). Au cours de la collision, le transfert d'énergie se fait du de la substance luminescente excitée vers l'oxygène, ce qui a pour conséquence la transformation de l'oxygène qui était à l'état fondamental (triplet) vers son état excité singulet. Quant à la substance excitée, elle ne peut pas émettre de luminescence et la luminescence totale mesurable diminue.

Il existe une relation entre la concentration d'oxygène dans l'échantillon et l'intensité de luminescence ainsi que sa durée de vie.

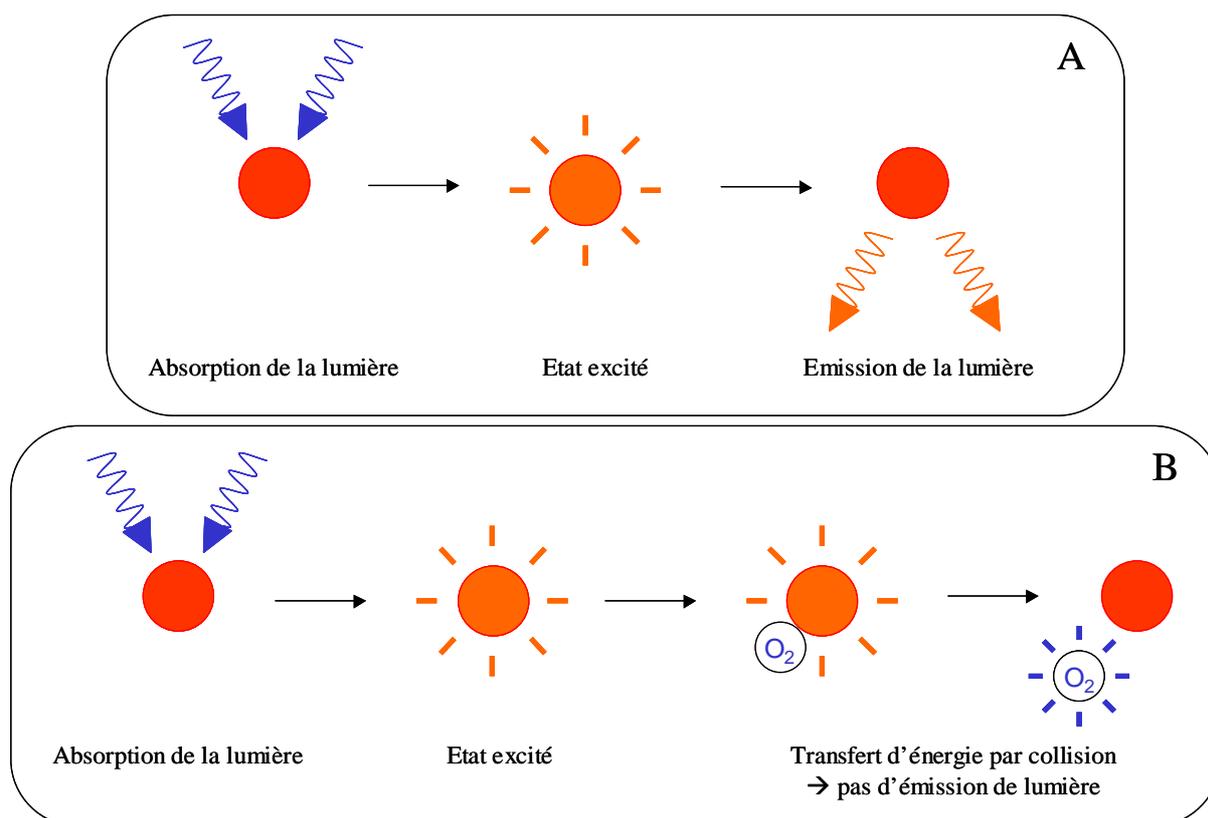


Figure 25 : Principe d'extinction de la luminescence par l'oxygène moléculaire. (A) Processus de luminescence en absence d'oxygène ; (B) Désactivation de la molécule indicatrice de luminescence par l'oxygène moléculaire.

L'oxymètre utilise une source lumineuse bleu-verte pour l'excitation, modulée à une fréquence de 4,4 kHz pour illuminer la sonde. Une fibre optique est utilisée comme transducteur de signal. Cette même fibre amène la lumière émise à une photodiode (longueur d'onde de réception inconnue) qui permet de mesurer le temps de déclin de luminescence.

III.2.ii. Dispositifs mis en place

Les pastilles incluant le luminophore sont de deux types : Pst3 et Pst6 dont les caractéristiques sont présentées dans Tableau 7. Toutes les mesures ont été effectuées à 20°C.

Tableau 7 : Caractéristiques des pastilles utilisées

	Pst3		Pst6	
	Oxygène dissous	Oxygène gazeux	Oxygène dissous	Oxygène gazeux
Gamme de mesure	0-45 mg L ⁻¹ (ppm)	0-100% oxygène	0-1,8 mg L ⁻¹ (ppm)	0-4,2% oxygène
Limite de détection	15 ppb	0,31 hPa	1 ppb	0,02 hPa
Résolution à 20°C et 1013 hPa	0,09 ± 0,005 ppm	0,21 ± 0,01 %	1 ± 0,40 ppb	0,002 ± 0,0009 %
	2,72 ± 0,01 ppm	6,3 ± 0,02 %	10 ± 0,41 ppb	0,02 ± 0,0010 %
	9,06 ± 0,05 ppm	20,9 ± 0,1 %	200 ± 0,63 ppb	0,46 ± 0,0015 %
	22,65 ± 0,15 ppm	52,4 ± 0,35 %		
Précision (20°C)	±1 % à 21 % d'oxygène ; ±0,15 % à 0,21 % d'oxygène		5 % des concentrations respectives	

- *Bouteilles verres*

Les pastilles placées dans les bouteilles en verre (Figure 26) ont permis de déterminer les vitesses de diffusion de l'oxygène au sein de l'échantillon ainsi que les vitesses de consommation des vins blanc Mont Baudille et Pech-Rouge.

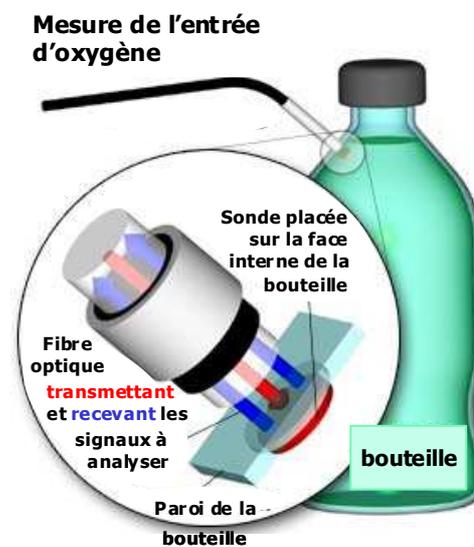


Figure 26 : Dispositif de mesure de l'oxygène dissous ou gazeux dans une bouteille en verre.

- *BIB*

La perméabilité globale des BIB a été déterminée par une méthode statique développée dans notre laboratoire. La pastille de mesure est collée sur une lamelle en verre elle-même fixée sur le coupleur d'un passe-paroi (Figure 27) à l'aide d'un mastic

epoxy. Ainsi, la mesure est effectuée directement en passant la fibre optique dans la vis de fixation sans être obligé de délaminer les films métallisés.

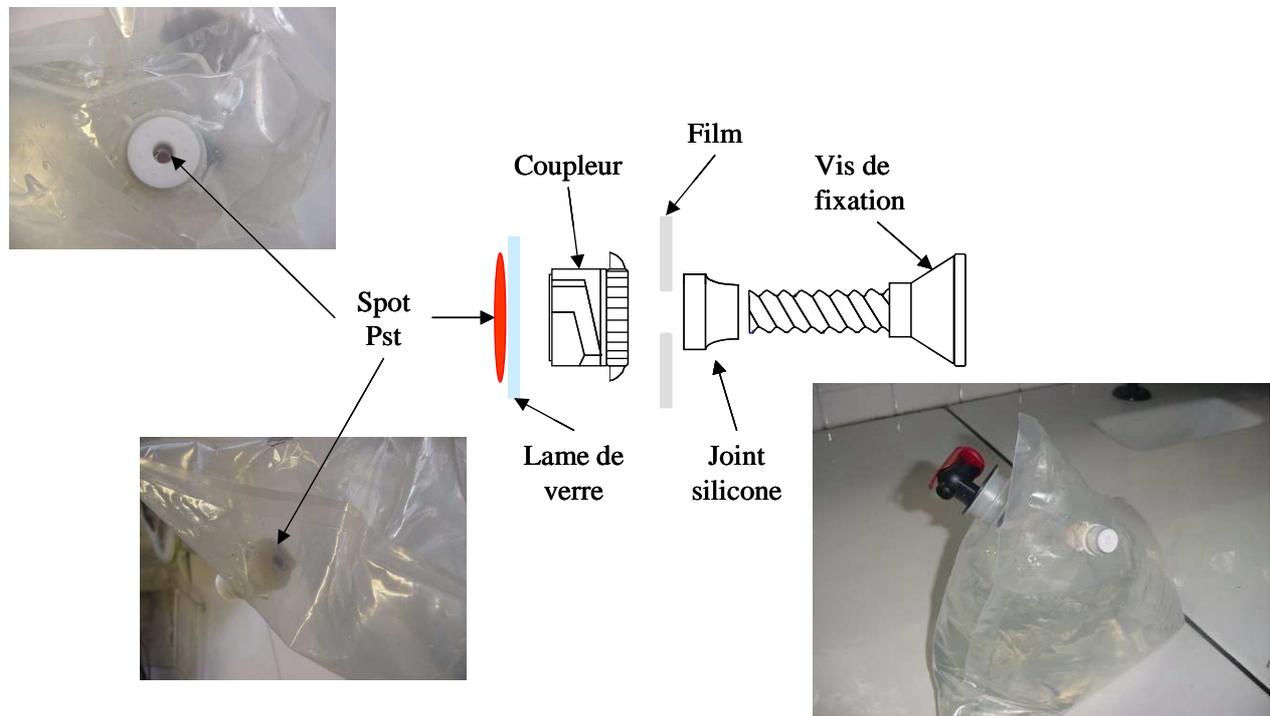


Figure 27 : Dispositif de mesure de l'oxygène dissous ou gazeux dans un BIB.

IV. Transfert et sorption des composés d'arômes

IV.1. Mesure de la perméation par chromatographie en phase gazeuse (CPG)

IV.1.i. Dispositif de mesure

La perméation des arômes a été mesurée par une méthode semi-dynamique développée dans le laboratoire ISM, Université Montpellier II, France (Chalier *et al.*, 2007b). Dans cette méthode, le film est placé entre deux joints en téflon directement vissés sur un flacon contenant le composé d'arôme pur et soumis à une agitation magnétique. Le flacon est placé dans une cellule de diffusion qui est balayée par un flux d'azote fixé à 20 mL min^{-1} à l'aide d'un débitmètre (Figure 28). La cellule de diffusion est maintenue dans une étuve ventilée à 25°C . A des intervalles de temps réguliers, 1 mL du

flux sortant chargé d'arôme est injecté dans le chromatographe grâce à une valve automatique. L'aire du film exposé aux composés d'arômes est de $0,785 \cdot 10^{-3} \text{ m}^2$.

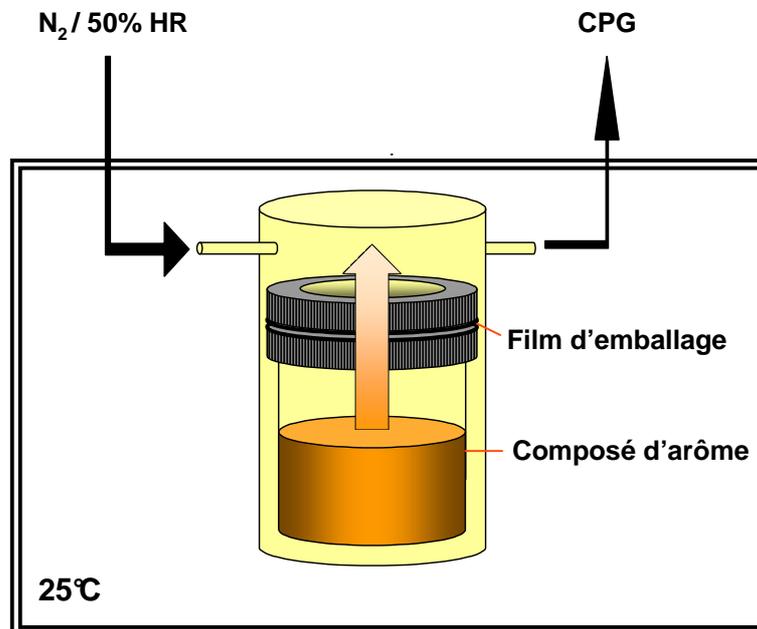


Figure 28 : Dispositif de mesure de perméation.

Les films sont équilibrés à 25°C et à une humidité relative définie : une solution saline saturée de nitrate de magnésium ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$) est utilisée pour obtenir une humidité relative de 50% et du pentoxyde de phosphore (P_2O_5) pour une humidité de 0% utilisée lors de la mesure de la perméation d'éthanol. Pour maintenir les conditions d'humidité lors de la mesure de perméabilité, le gaz (azote) est envoyé soit sous forme sèche directement dans la cellule de diffusion soit sous forme humidifiée par bullage dans un flacon laveur contenant de l'eau et placé dans un cryostat à 13°C. Cette différence de température imposée entre le cryostat et l'étuve permet d'atteindre l'humidité recherchée.

Les films ayant été soumis aux vapeurs des composés volatils dans la cellule de diffusion sont ensuite récupérés. Les composés d'arômes sont ensuite extraits par la méthode décrite dans la partie sorption.

I.1.ii. Analyses

L'acquisition du signal et le traitement des chromatogrammes sont effectués à l'aide du logiciel Star Chromatography Workstation version 6 (Varian, Les Ulis, France). Les analyses sont réalisées au minimum en triple. Elles sont stoppées lorsque le flux maximal d'arôme est atteint.

- *Analyse du flux d'arôme*

Le chromatographe en phase gaz Varian 3800 (Les Ulis, France) est équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID, hydrogène : 30 mL min⁻¹, air : 300 mL min⁻¹, azote : 30 mL min⁻¹).

Tableau 8 : Conditions d'injection du chromatographe en phase gaz.

Colonne	Colonne capillaire (DB-5 [®] , 30 m x 0,2 mm, diamètre interne 0,25 µm)	
Température de la valve	170°C	
Température de l'injecteur	250°C	
Température du détecteur	250°C	
Température du four	130°C pour hexanoate d'éthyle	150°C pour butanoate d'éthyle
Gaz vecteur	Hydrogène, 2 mL min ⁻¹	

Le flux de l'arôme (kg m⁻² s⁻¹) est déterminé par comparaison de la surface du pic du composé d'arôme obtenu avec le film à celle du pic obtenu sans le film et en appliquant la loi des gaz parfait. A partir de cette loi, les concentrations en phase vapeur des composés volatils ont été calculées (Tableau 4) et ont permis de déterminer le coefficient de perméabilité en kg m⁻² s⁻¹ Pa⁻¹.

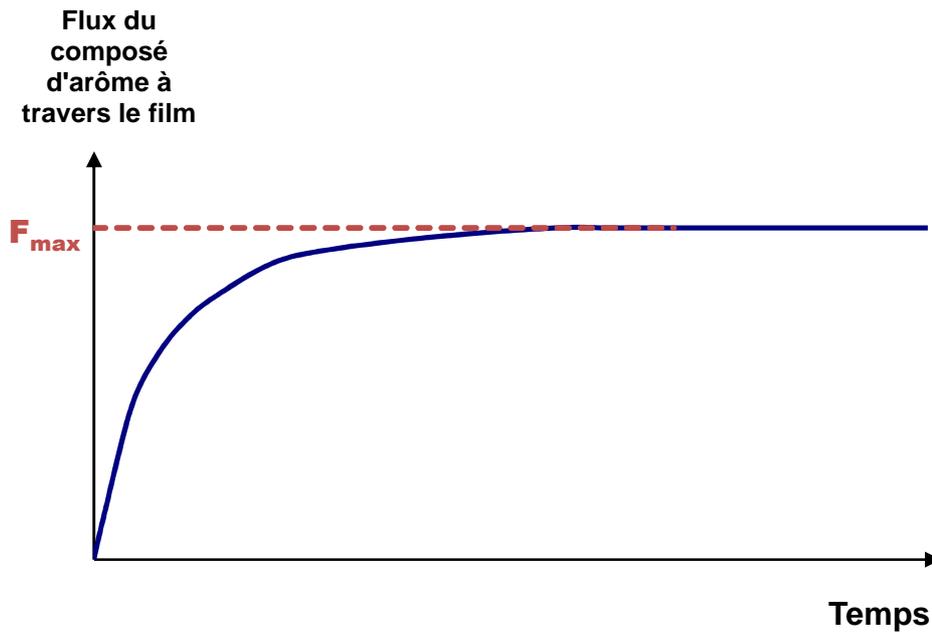


Figure 29 : Evolution du flux en fonction du temps permettant la détermination des coefficients de perméation (rouge).

Les coefficients de perméabilité ($\text{kg m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1}$) sont déterminés à partir de la courbe du flux tracé en fonction du temps (Figure 29). P est déterminé à l'état stationnaire à partir de l'équation suivante :

$$P = F_{\text{max}} \frac{l}{\Delta p} \quad \text{Équation 18}$$

avec F_{max} , le flux du composé d'arôme à l'état stationnaire ($\text{kg m}^{-2} \text{s}^{-1}$), l , l'épaisseur du film (m), et Δp , la différence de pression du composé d'arôme de part et d'autre du film (Pa).

IV.2. Mesure de la perméation par SPME/CPG

Dans le cas où la perméation des composés d'arôme est évaluée à partir de la solution modèle contenant de faible quantité de composés, la quantification des composés d'arômes ayant traversé le film a été accomplie à l'aide de la méthode SPME (micro-extraction en phase solide) qui permet une concentration.

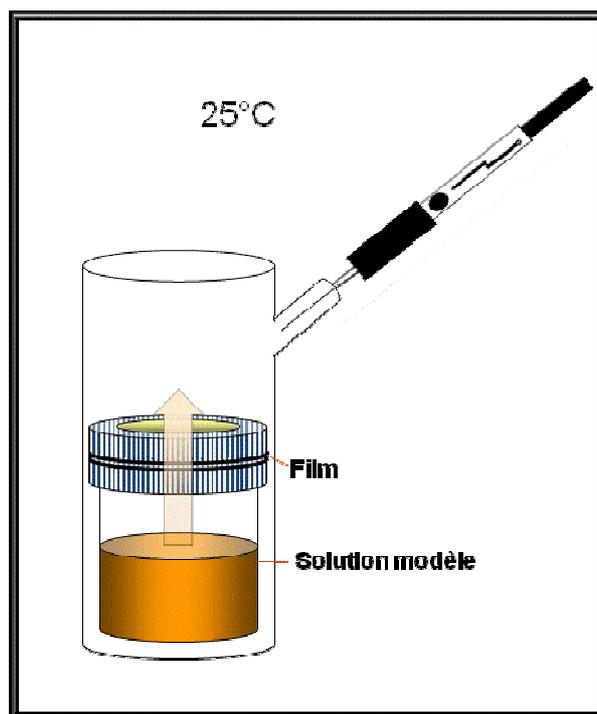


Figure 30 : Dispositif de mesure par SPME.

Dans cette méthode, le film est placé entre deux joints en téflon directement vissés sur un flacon contenant 5 mL de la solution modèle. Le flacon est placé dans une cellule de diffusion d'un volume de 100 mL (Figure 30). La cellule de diffusion est maintenue dans une étuve ventilée à 25°C. L'aire du film exposé aux composés d'arômes est de $0,785 \cdot 10^{-3} \text{ m}^2$. Après 5 jours de perméation, les composés d'arôme ayant traversés le film sont concentrés pendant une heure sur la fibre puis cette fibre est placée dans l'injecteur pendant 5 min (Gonzalez-Rios *et al.*, 2007; Pastorelli *et al.*, 2006). La fibre en polydiméthylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) est fournie par Supelco Co. (Bellefonte, PA, USA, elle est recouverte d'une couche de divinylbenzène/carboxen (50/30 μm).

Chaque fibre est préalablement conditionnée avant utilisation selon les instructions du fournisseur en l'insérant dans l'injecteur du chromatographe.

La détermination de la quantité d'arôme (g) ayant traversée le film nécessite tout d'abord la connaissance des coefficients de partage entre l'air et la solution éthanolique contenant les composés d'arôme (Tableau 9). Ceci permet d'accéder à la concentration en arôme dans l'espace de tête en contact avec le film.

Tableau 9 : Coefficients de partage des composés d'arôme entre l'air et la solution modèle d'arôme ($K_{air/SM}$) mol/mol

Composés d'arôme	Butanoate d'éthyle	Hexanoate d'éthyle	Phényl-2-éthanol	Ethyl-4-phénol
$K_{air/SM}$	15 ^a	28 ^b	0,03 ^c	4 ^b

^a(Harvey *et al.*, 1995), ^b(Ragazzo Sanchez, 2001), ^c(Ramirez Ramirez *et al.*, 2001)

Ces coefficients de partage ont pu être déterminés à partir de la constante de Henry largement utilisée dans la littérature :

$$H_{ci} = \frac{C_{Gi}}{C_{Li}} = K_{air/SM} \quad \text{Équation 19}$$

où H_{ci} est la constante de Henry sans dimension, C_{Gi} est la concentration du composé d'arôme dans la phase gazeuse (en mol/L) et C_{Li} est la concentration du composé d'arôme dans la phase liquide (en mol/L). La constante de Henry sans dimension est quelquefois appelée coefficient de partage gaz/liquide. Si la concentration de soluté est dans la zone de dilution, les deux définitions de la constante de Henry peuvent être reliées ainsi :

$$H_i^* = RT \frac{H_{ci}}{v_w} \quad \text{Équation 20}$$

où v_w est le volume molaire de l'eau (L/mol), R est la constante universelle des gaz et T la température absolue. La constante de Henry sans dimension peut être reliée au coefficient d'activité à dilution infinie comme suit :

$$\gamma_i^\infty = H_{ci} \frac{RT}{v_w P_i^{sat}} \quad \text{Équation 21}$$

où γ_i^∞ est le coefficient d'activité à dilution infinie du soluté i dans l'eau, P_i^{sat} est la pression de vapeur du soluté à une température donnée et v_w , R , T et H_{ci} ont été définis précédemment.

Il faut ensuite établir la relation de linéarité existant entre l'aire des composés d'arôme et la concentration en arôme en phase vapeur. Une gamme étalon a ainsi été réalisée en utilisant des solutions diluées de la solutions modèle et pour s'affranchir du coefficient de partage fibre/arôme, les résultats ont été exprimés en rapport d'aire en

ramenant l'aire des composés d'arôme des solutions diluées à celle de l'aire de la solution modèle non diluée (Figure 31).

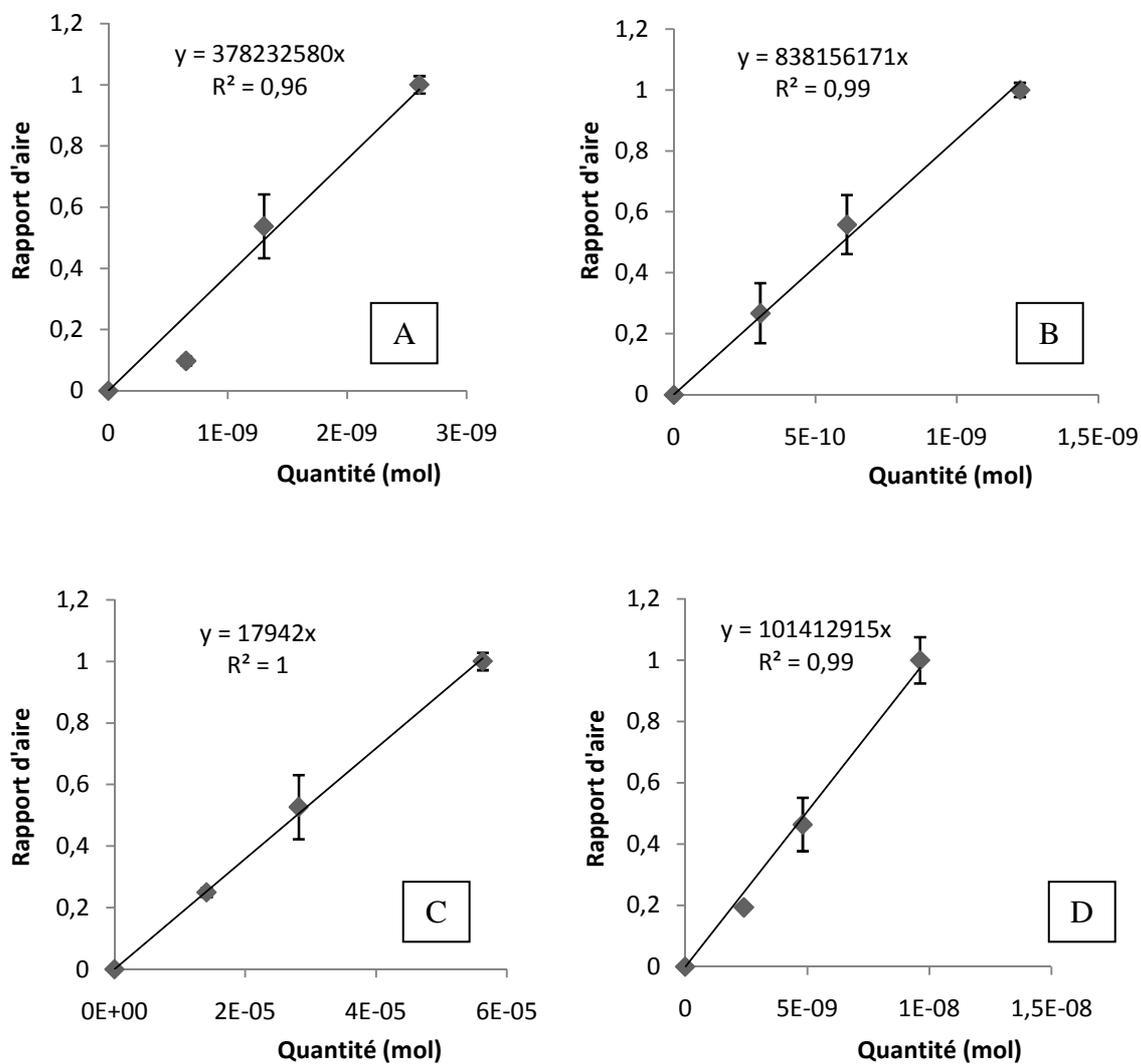


Figure 31 : Courbes étalon de l'extraction par fibre SPME des composés d'arôme présents dans l'espace de tête : butanoate d'éthyle (A), hexanoate d'éthyle (B), phényl-2-éthanol (C) et éthyl-4-phénol (D).

IV.3. Mesure de la sorption par CPG et par spectroscopie infra rouge à transformée de Fourier (IR-TF)

IV.3.i. Préparation des échantillons

La quantité de composés d'arômes sorbée dans le film est déterminée dans différentes conditions :

- après la mesure de perméation : une seule face du film est alors exposée aux composés d'arôme et à leur sorption,
- en phase vapeur (méthode de microatmosphère modifié (Quezada-Gallo *et al.*, 1999)) : de petits morceaux de film (9 cm²) sont exposés à une atmosphère saturée en composés volatils purs dans un flacon fermé. L'atmosphère est maintenue à une concentration constante de composés d'arôme en remplissant le flacon avec l'arôme pur (Figure 32).
- en phase liquide (Figure 32), de petits morceaux de film (9 cm²) sont immergés dans un flacon rempli d'arôme pur ou de la solution modèle (décrite précédemment).

Dans le cas des deux dernières conditions, les flacons sont placés dans une chambre maintenue à 25°C. Les films sont prélevés à différents temps jusqu'à l'équilibre de sorption, lavés dans de l'eau distillée (2 fois) puis essuyés. Les cinétiques de sorption pourront être modélisées.

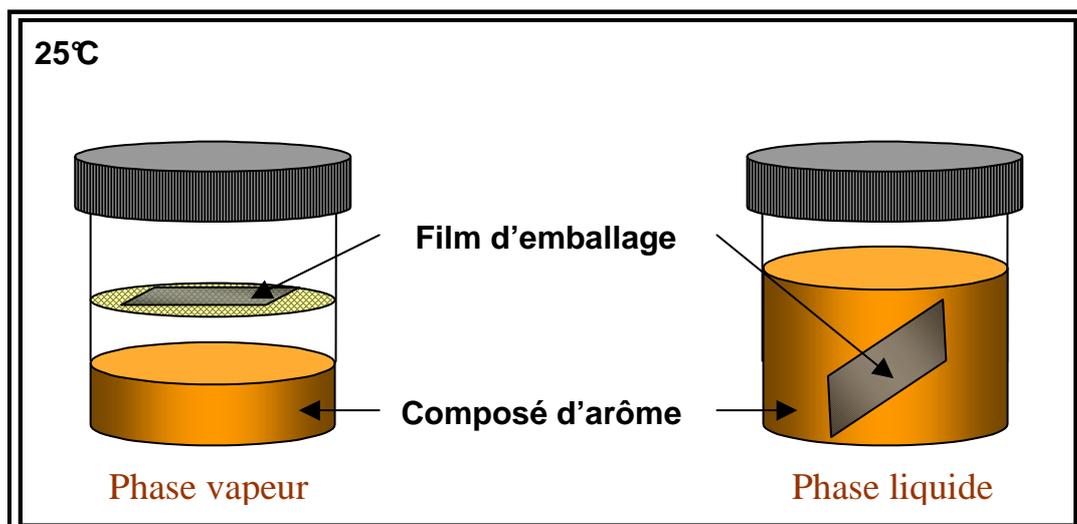


Figure 32 : Dispositifs de mesure de la sorption de composé d'arôme.

IV.3.ii. Extraction et analyse par chromatographie en phase gazeuse

La quantité totale du composé volatil sorbé dans le film est extraite (à différent temps de sorption) par 5 mL de dichlorométhane. Une quantité connue d'étalon interne (100 μL d'une solution à 25 g L^{-1} de 2-heptanol dans de l'éthanol ou du dichlorométhane) est ajoutée. Les flacons sont maintenus pendant 16h à température ambiante sous agitation magnétique (300 rpm). L'extrait est ensuite séché au sulfate d'ammonium, puis concentré sous flux d'azote si nécessaire, et enfin analysé par chromatographie en phase gazeuse.

• Analyse des extraits

Le chromatographe en phase gaz Varian 3800 (Les Ulis, France) est équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID, hydrogène : 30 mL min^{-1} , air : 300 mL min^{-1}) et d'une colonne capillaire DB-5 (30 m x 0,2 mm, diamètre interne 0,25 μm , Agilent Technologies, Inc ; USA).

Tableau 10 : Conditions d'analyse du chromatographe en phase gaz

Colonne	Colonne capillaire (DB-5 [®] , 30 m x 0,2 mm, diamètre interne 0,25 μm)
Température de l'injecteur	250°C
Température du détecteur	250°C
Température du four	Programmée de 50°C à 90°C (4°C min^{-1}) puis de 90°C à 250°C (15°C min^{-1}) et maintenue à 250°C pendant 10 min
Gaz vecteur	Hydrogène, 2 mL min^{-1}

L'injection se fait avec les conditions décrites dans le Tableau 10, en mode « Split » avec un ratio de 1/20. Les coefficients de réponse des composés d'arôme par rapport à l'étalon interne ainsi que les rendements d'extraction sont déterminés au préalable.

Les coefficients de réponse mesurés sont de $1,24 \pm 0,09$ pour le butanoate d'éthyle, $1,07 \pm 0,04$ pour l'hexanoate d'éthyle, $0,96 \pm 0,04$ pour le phényl-2-éthanol, $0,99 \pm 0,09$ pour l'éthyl-4-phénol et $1,52 \pm 0,07$ pour l'éthanol.

Le rendement d'extraction a été déterminé en déposant une quantité d'arôme connue sur les films et en réalisant l'extraction après 10 min de contact et les résultats suivants ont été obtenus (respectivement PE 1 et PE 2) : 87 % et 75 % pour le butanoate d'éthyle, 88 % et 100 % pour l'hexanoate d'éthyle, 86 % et 100 % pour le phényl-2-éthanol, 96 % et 100 % pour l'éthyl-4-phénol et 100% pour l'éthanol.

L'acquisition du signal et le traitement des chromatogrammes sont effectués à l'aide du logiciel Star Chromatography Workstation version 6 (Varian, Les Ulis, France). Les analyses sont réalisées au minimum en triple.

Le coefficient de sorption est alors calculé et peut-être exprimé de différentes façon : g m^{-3} , $\text{g m}^{-3} \text{ Pa}^{-1}$. K_p/v , le coefficient de partage entre le polymère et le composé d'arôme, peut aussi être déterminé en faisant le rapport entre la concentration d'arôme dans le polymère (g m^{-3}) et la concentration en composé d'arôme (g m^{-3}) au contact du film lorsque l'équilibre est atteint.

IV.3.iii. Analyse par spectroscopie IR-TF

Le spectromètre ThermoNicolet 4700 (Thermo Electron Corporation, Madison, USA) a été utilisé pour mesurer l'absorbance en transmission ou par réflexion totale atténuée (ATR : *attenuated total reflectance*) des composés d'arôme sorbés dans les films lors de la sorption en phase vapeur et liquide avec les composés d'arôme purs. Le détecteur est un détecteur MCT-B refroidi à l'azote liquide et la séparatrice (*beamsplitter*) est à base de KBr. Les spectres résultent de l'accumulation de 64 acquisitions avec une résolution de 4 cm^{-1} et sont récupérés grâce au logiciel OMNIC (Thermo Electron Corporation, Madison, USA). Les pics situés dans des régions spécifiques de chaque arôme sont normalisés sur une bande spectrale spécifique du polyéthylène (Tableau 11).

Tableau 11 : Caractéristiques des bandes spectrales spécifiques des composés analysés

	Régions spectrales (cm ⁻¹)	Caractéristiques
Polyéthylène	1420-1480	Groupelements –CH ₂ et –CH ₃
Butanoate d'éthyle et hexanoate d'éthyle	1720-1760	Elongation de –C=O
Phényl-2-éthanol et éthyl-4-phénol	940-1120	Elongation de =C–O–

Des cinétiques de sorption ont pu être modélisée par le logiciel Matlab (MathWorks, Inc., Natick, MA, USA)

V. Détermination du coefficient de diffusion

V.1. Cinétiques de perméation

Pour réaliser cette modélisation, on considère l'emballage comme une membrane d'épaisseur L avec de chaque côté une concentration en composé d'arôme maintenue constante, la substance étant transportée de la concentration la plus élevée vers la plus faible par diffusion (Figure 33).

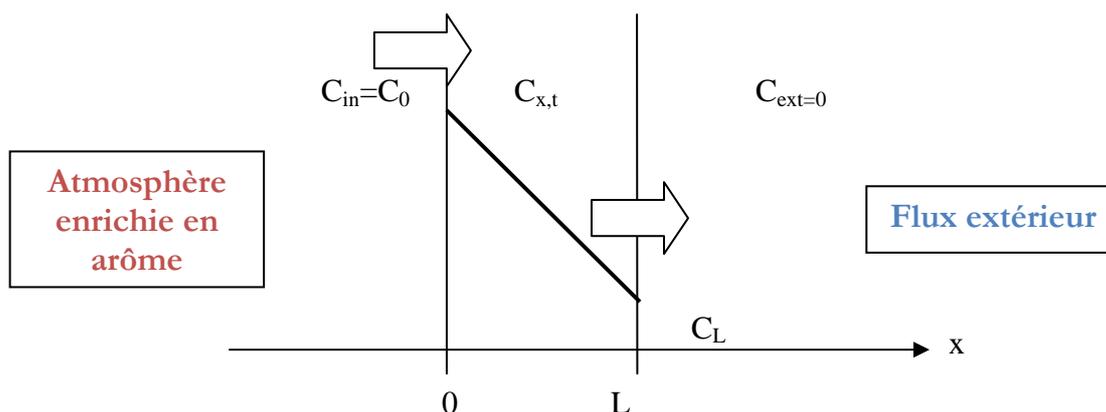


Figure 33 : Schéma du modèle du film d'épaisseur L. La concentration de l'atmosphère en contact avec le film est C_{in} (côté arôme) et C_{ext} (côté extérieur).

A chaque interface film/atmosphère, le coefficient de convection est considéré infini.

Le processus est contrôlé par l'équation transitoire à une dimension de la diffusion à travers le film (seconde loi de Fick) :

$$\frac{\partial C}{\partial x} = D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} \quad \text{Équation 22}$$

où : C est la concentration du composé d'arôme au temps t et à la position x
D est la diffusivité constante du composé.

Quand le coefficient de convection est considéré infini des deux côtés de la membrane, la concentration sur chaque surface de la membrane est égale à celle de l'atmosphère qui est en contact, dès que le processus démarre.

Les conditions initiale et limite pour un film d'épaisseur L jouant le rôle d'une membrane sont les suivantes :

$$t = 0, 0 < x < +L, C = 0 \quad \text{Équation 23}$$

$$t > 0, x = 0, C = C_0 = C_{in} \quad \text{Équation 24}$$

$$t > 0, x = +L, C_L = 0 \quad \text{Équation 25}$$

Dans ces conditions, la quantité de composés d'arôme, qui émerge du côté où la concentration est la plus basse, à la position L, est exprimée par la série :

$$\frac{M_t}{C_{in}} = \frac{D.t}{L} - \frac{L}{6} - \frac{2L}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^n}{n^2} \exp\left[-n^2 \pi^2 \frac{D.t}{L^2}\right] \quad \text{Équation 26}$$

La quantité de composé d'arôme sortant augmente avec le temps de telle façon que la série disparaît. Enfin après une période de temps donnée, la cinétique du composé traversant la membrane a tendance à devenir linéaire, et l'expression de l'asymptote est donnée par :

$$M_t = \frac{DC_0}{L} \left[t - \frac{L^2}{6D} \right] \quad \text{Équation 27}$$

l'interception avec l'axe du temps est :

$$t_i = \frac{L^2}{6D} \quad \text{Équation 28}$$

Si M_t représente la quantité totale de composé diffusant qui entre dans le film pendant un temps t et M_∞ la quantité correspondante au temps infini, alors :

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \cdot \exp\left[-\frac{(2n+1)^2 \pi^2}{L^2} D \cdot t\right] \quad \text{Équation 29}$$

La valeur de D peut être déterminée en modélisant la cinétique expérimentale par l'équation 29.

V.1.i. Cinétiques de sorption

Dans ce cas, le flux de transfert à travers le film immergé dans une atmosphère à concentration constante en composé d'arôme est mesuré. Quand la diffusivité, D , est constante, et indépendante de la concentration, le flux à travers une membrane d'épaisseur $2L$ dans une atmosphère de volume infini avec une concentration C_{eq} avec un coefficient de convection, h , infini (Figure 34) peut être exprimé comme suit :

$$\frac{\partial C}{\partial x} = D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} \quad \text{Équation 30}$$

avec les conditions initiale et limite telles que :

$$t = 0, -L < x < +L, C = C_0 \quad \text{Équation 31}$$

$$t > 0, x = \pm L, C = C_{eq} \quad \text{Équation 32}$$

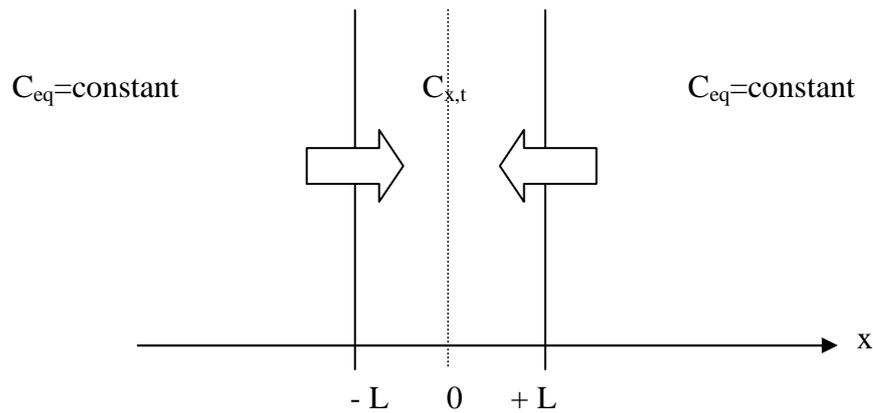


Figure 34 : Schéma du film d'épaisseur \$2L\$ immergé dans une atmosphère de volume infini avec \$h \rightarrow \infty\$.

La cinétique du transfert de matière dans le film d'épaisseur \$2L\$ est exprimée par la relation suivante :

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \cdot \exp\left[-\frac{(2n+1)^2 \pi^2}{4L^2} D \cdot t\right] \quad \text{Équation 33}$$

\$D\$ peut donc être déduit à partir des courbes expérimentales modélisées par l'équation 33.

VI. Analyse statistique

VI.1. *Ecart-type*

L'écart-type représente la dispersion des observations d'une variable. L'écart-type d'un ensemble de valeurs purement **aléatoires** est la racine carrée de la variance qui représente la somme des carrés des écarts à la moyenne divisée par le nombre de degré de liberté de l'ensemble des écarts.

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad \text{Équation 34}$$

avec \$X_i\$, la valeur expérimentale, \$\bar{x}\$, la moyenne arithmétique des valeurs expérimentales et \$n\$, la taille de la population.

VI.2. *RMSE*

La racine carrée de l'erreur quadratique moyenne RMSE (Root Mean Square Error) est utilisée pour estimer la qualité de l'ajustement du modèle et est calculé d'après l'équation 29.

$$RMSE = \sqrt{\frac{(\hat{y}-y)^2}{(N-p)}} \quad \text{Équation 35}$$

avec \hat{y} , le vecteur des valeurs prédites, y , le vecteur des valeurs expérimentales, N , le nombre de termes dans le vecteur prédit ou expérimental et p , le nombre de paramètres estimés.

L'ajustement du modèle est considéré comme correct lorsque la valeur du RMSE est proche de l'erreur expérimentale.

VI.3. *Anova*

L'ANOVA, l'analyse de la variance (ANalysis Of VAriance), est une méthode qui permet d'étudier les différences de moyenne entre populations. Cette analyse a été réalisée à l'aide du logiciel Matlab (MathWorks, Inc., Natick, MA, USA).

RESULTATS ET DISCUSSION

TRANSFERT DE COMPOSES D'AROME DANS ET A TRAVERS LES FILMS DE BIB

Dans cette première partie, nous nous sommes principalement intéressés aux films intérieurs de la poche en contact avec le vin, c'est-à-dire aux films en polyéthylène. Nous avons choisis deux films de polyéthylène les plus couramment utilisés, nommés PE 1 et PE 2.

Dans le cas des vins conditionnés en BIB, le transfert de composés d'arôme peut se faire de deux façons (Figure 35) :

- quand le vin et la poche ne sont pas en contact direct, il existe un espace de tête situé entre le liquide et l'emballage. Les composés d'arômes se retrouvent dans cet espace à l'état vapeur et leur concentration en phase vapeur est déterminée par leur concentration en phase liquide. Les phénomènes qui ont lieu sont la sorption et la diffusion en phase vapeur ainsi que la perméation.
- quand le vin et la poche sont en contact direct, l'interface est de type liquide/solide. Les différents coefficients de transfert déterminés sont comme précédemment les coefficients de sorption et de diffusion mais en phase liquide.

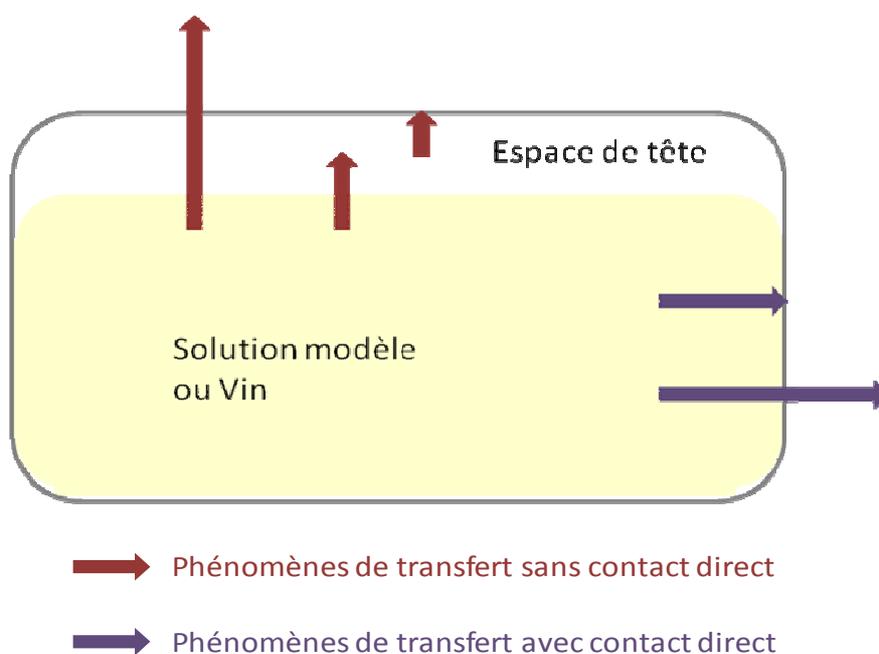


Figure 35 : Schéma représentant les différents types de transfert étudiés

Dans une première étape, les différents phénomènes mis en jeu ont été évalués avec des composés d'arômes purs. L'utilisation de composés purs correspond à des conditions extrêmes qui permettent une certaine facilité de mise en œuvre (liée aux limites de détection des méthodes) et une caractérisation fonctionnelle des films de PE.

Ensuite dans une seconde partie, des conditions plus proches de celles rencontrées dans le vin ont été utilisées.

Les transferts des composés d'arôme étant influencés par la nature des matériaux, il nous a paru important de les caractériser, pour être à même de mieux interpréter les résultats.

I. Caractérisation des films de polyéthylène

Les films PE 1 et PE 2 sont différents par leur structure (Tableau 5). En effet, le PE 1 contient un mélange de PELBD et de PEBD dans des proportions de 75% et 25% respectives. Le PE 2 quant à lui est un mélange de PEMD et de PELBD dont les proportions respectives ne sont pas connues. Ils ont la même épaisseur de 50 μm et une densité proche (920 kg m^{-3} pour le PE 1 et entre 922-926 kg m^{-3} pour le PE 2).

I.1. *Épaisseur*

L'épaisseur des deux films en polyéthylène utilisés dans cette étude est reportée Tableau 12. Malgré le fait que les données délivrées par les fournisseurs indiquent que les deux PE ont la même épaisseur, soit 50 μm , les deux films montrent des différences significatives en épaisseur avec une faible variabilité pour chaque type de film. Cette différence peut s'expliquer par une non-homogénéité du film, la valeur donnée par les fournisseurs étant une valeur moyenne (à une température inconnue) sur la totalité de la bobine du film alors que les mesures ont été faites pour deux BIB. De plus, les conditions de stockage et le vieillissement du film peuvent avoir une influence sur l'épaisseur du film en entraînant des délaminations, l'apparition de trous et de failles.

Les épaisseurs mesurées seront prises en compte lors de l'étude des transferts d'arôme.

I.2. Densité

Aucune différence n'a été trouvée entre les densités des deux films mesurées avec la méthode que nous avons employée (Tableau 12). Les densités mesurées bien que différentes de celles annoncées par les fournisseurs, restent cependant très proches. Cette différence peut s'expliquer par un vieillissement du matériau, une grande hétérogénéité du matériau mais aussi par des méthodes de mesures différentes entre les fournisseurs et avec celle utilisée ici. Les densités sont en accord avec les valeurs précédemment rapportées pour les polymères à base de PE : PELBD ($916\text{-}940\text{ kg m}^{-3}$), PEBD ($910\text{-}925\text{ kg m}^{-3}$), PEMD ($925\text{-}940\text{ kg m}^{-3}$) (Selke *et al.*, 2004). Ce paramètre ne sera pas considéré comme déterminant pour la suite de cette étude lors de la comparaison des deux films.

Tableau 12 : Caractéristiques des films polyéthylène

Films plastiques	PE1	PE2
Épaisseur (10^{-6} m)	$51,3 \pm 1,4^a$	$40,3 \pm 2,1^b$
Densité (kg m^{-3})	963 ± 94^c	896 ± 45^c
Température de fusion ($^{\circ}\text{C}$)	$114,9 \pm 0,5^d$	$122,5 \pm 1,1^e$
Cristallinité (%)	$24,9 \pm 0,6^f$	$27,8 \pm 0,6^g$
A_{1378}/A_{1462}	$0,060 \pm 0,001^h$	$0,066 \pm 0,001^i$
PVE* ($10^{-12}\text{ g m}^{-1}\text{ s}^{-1}\text{ Pa}^{-1}$)	$2,8 \pm 0,1^j$	$1,4 \pm 0,1^k$

Les valeurs avec la même lettre ne sont pas significativement différentes avec un intervalle de confiance de 95%

* mesurée à 20°C et pour un gradient de 50% HR.

I.3. Cristallinité et structure

A partir des mesures de calorimétrie différentielle, le point de fusion de chaque film de PE a été obtenu ainsi que leur cristallinité qui a été calculée à partir de l'équation 17. Comme reporté dans le Tableau 12, le PE 2 présente la température de fusion la plus haute et est plus cristallin que le PE 1. Les différences de distribution de poids moléculaire de polymère sont connus pour affecter la température de fusion : une basse température étant liée à une distribution de bas poids moléculaire (Hernandez-Muñoz *et al.*, 1998). Cela suggère que le film de PE 1, particulièrement riche en PELBD, présente un plus faible poids moléculaire que le PE 2. Les résultats de cristallinité sont en accord avec la composition de PE 2 (PEMD/PELBD) comparé à celle du PE 1

(PELBD/PEBD), en considérant que le PEMD est généralement plus cristallin que le PEBD car plus la densité est importante, plus la cristallinité est élevée. Dans des études précédentes, les valeurs de cristallinité de films de LDPE varient entre 26% et 34,5% (Auras *et al.*, 2004; Paik, 1992) en accord avec nos résultats.

De plus, le niveau de branchement des films a été évalué par spectroscopie infrarouge (IR-TF) selon le ratio A_{1378}/A_{1462} , correspondant respectivement à l'absorbance mesurée à 1378 cm^{-1} en rapport avec la déformation de CH_3 et l'absorbance mesurée à 1462 cm^{-1} en rapport avec la déformation de CH_2 . Malgré son plus haut degré de cristallinité, le PE 2 exhibe un niveau de branchement plus élevé que le PE 1 suggérant que cette caractéristique structurale est un facteur mineur vis-à-vis de la cristallinité. La longueur du branchement (paramètre non évalué dans cette étude) serait le facteur ayant le plus d'influence sur la cristallinité. En effet, le PEBD et le PEMD sont connus pour avoir de longues chaînes irrégulières alors que le PELBD présente des branchements à chaînes courtes entraînant différents degrés de cristallinité (Selke *et al.*, 2004).

I.4. Perméabilité à la vapeur d'eau

Comme les propriétés barrière sont généralement reliées à la cristallinité des films plastiques (Auras *et al.*, 2004; Compañ *et al.*, 2007; Matsui *et al.*, 1992c; Paik, 1992), la détermination des perméabilités à la vapeur d'eau (PVE) nous a paru être une bonne méthode pour confirmer la caractérisation des films. La perméabilité à la vapeur d'eau a été mesurée à 20°C avec un gradient d'HR de 50% (Tableau 12). Le film PE 1 montre une valeur de PVE deux fois plus importante que celle du film PE 2. Ces valeurs sont dans la gamme de celles précédemment reportées dans la littérature avec des valeurs de $1,9 \cdot 10^{-12}\text{ g m}^{-1}\text{ s}^{-1}\text{ Pa}^{-1}$ pour un PEBD (Peroval *et al.*, 2002), entre $1,8$ et $2,2 \cdot 10^{-12}\text{ g m}^{-1}\text{ s}^{-1}\text{ Pa}^{-1}$ en fonction de la température pour un PEUBD (Morillon *et al.*, 2000), et $0,19 \cdot 10^{-12}\text{ g m}^{-1}\text{ s}^{-1}\text{ Pa}^{-1}$ pour un PEHD (Briston, 1988). Le PE 1, qui est le polyéthylène le plus amorphe, montre une plus faible résistance au transfert d'eau que le PE 2. Ce résultat confirme l'impact de la cristallinité sur les propriétés barrière à la vapeur d'eau et l'importance de ce facteur discriminant entre les deux films de PE, dont il sera tenu compte dans la suite de l'étude.

II. Détermination des coefficients de transfert des composés volatils

Les coefficients de transfert (perméabilité, sorption et diffusion) ont été déterminés à 25°C pour quatre composés d'arôme purs (butanoate d'éthyle, hexanoate d'éthyle, phényl-2-éthanol et éthyl-4-phénol) dont les caractéristiques sont présentées Tableau 4, ainsi que pour l'éthanol. Ces composés présentent des caractéristiques différentes et ont un impact positif ou négatif sur le profil aromatique du vin. Nous avons choisis deux esters : l'hexanoate d'éthyle et le butanoate d'éthyle, qui sont couramment retrouvés dans le vin mais aussi dans les jus de fruits. Nous avons également étudié 2 alcools avec un noyau phényl (phényl-2-éthanol, l'éthyl-4-phénol). Le phényl-2-éthanol est un produit issu de la levure et l'éthyl-4-phénol est un arôme de défaut à forte concentration que l'on peut retrouver si les levures *Brettanomyces* sont présentes. Le choix des composés d'arômes nous permettra d'observer l'impact de la polarité, de la volatilité et de la taille des molécules sur les phénomènes de transfert.

II.1. Coefficient de perméabilité

La perméabilité au composé d'arôme a été déterminée pour les deux films de PE mais aussi pour les films extérieurs.

II.1.i. Films de polyéthylène

- *Composés d'arômes*

Parce que les composés phényliques présentent des pressions de vapeur saturante et donc des concentrations en phase vapeur très basses, jusqu'à deux cent fois plus basses que celle des esters (Tableau 13), aucun coefficient de perméabilité n'a pu être mesuré pour ces composés avec la méthode semi-dynamique utilisée. Nous pouvons seulement supposer que le flux d'arôme ayant perméé est inférieur à la limite de détection de la méthode, c'est-à-dire à $0,05 \cdot 10^{-6} \text{ kg m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Les coefficients de perméabilité auraient éventuellement pu être mesurés par une méthode statique qui permet l'accumulation des quantités d'arôme ayant transférées (Hernandez-Muñoz *et al.*, 1999; Mohny *et al.*, 1988; Yilmaz *et al.*, 2004).

Tableau 13 : Flux et coefficient de perméabilité des composés d'arôme à travers les films de PE (mesurés à 25°C et avec un flux d'azote à 50% HR).

Composés d'arôme	P_{vap} (Pa)	PE 1		PE 2	
		F (10^{-6} kg m ⁻² s ⁻¹)	P (10^{-15} kg m ⁻¹ s ⁻¹ Pa ⁻¹)	F (10^{-6} kg m ⁻² s ⁻¹)	P (10^{-15} kg m ⁻¹ s ⁻¹ Pa ⁻¹)
Butanoate d'éthyle	1885	32,4 ± 2,6	878 ± 70	3,4 ± 0,3	72 ± 7
Hexanoate d'éthyle	215	0,75 ± 0,06	174 ± 14	0,34 ± 0,02	63 ± 3
Phenyl-2-éthanol	9,62	< 0,05	ND	< 0,05	ND
Ethyl-4-phénol	8,96	< 0,05	ND	< 0,05	ND

Pvap : pression de vapeur saturante, F : flux, P : coefficient de perméabilité, ND : non déterminé

Pour les esters, le flux est bien supérieur à la limite de détection, et la perméabilité des composés d'arôme mesurée pour les deux films est différente. Elle est toujours supérieure quelque soit l'ester pour le PE 1. Elle peut être corrélée à la cristallinité, comme pour la perméabilité à la vapeur d'eau. Il est bien connu que la morphologie du polymère affecte les propriétés du matériel au transport de masse puisque les molécules qui pénètrent comme l'eau, les gaz et les composés d'arôme diffusent exclusivement dans les zones amorphes de la matrice polymérique (Hernandez-Muñoz *et al.*, 1998). L'augmentation de la cristallinité provoque donc une diminution significative du flux à l'état stationnaire (Yilmaz *et al.*, 2004). La cristallinité est bien le facteur le plus important puisque les valeurs de flux, qui ne sont pas corrigées par l'épaisseur du film, montrent la même tendance que les valeurs de P : par exemple pour le butanoate d'éthyle, le flux est divisé par 10 entre le PE 1 et le PE 2 et le coefficient de perméabilité est divisé par 12.

La perméabilité au butanoate d'éthyle reportée dans une étude précédente réalisée sur un film de PEBD (80 µm d'épaisseur) a été trouvée égale à $76 \cdot 10^{-15}$ kg m⁻¹ s⁻¹ Pa⁻¹ (Lopez-Carballo *et al.*, 2005). Cette valeur est similaire à la perméabilité du PE 2 bien que ce film soit composé d'un mélange de PEMD et PELBD. La forte perméabilité au butanoate d'éthyle du film PE 1 doit être reliée à sa structure faiblement cristalline mais

aussi aux caractéristiques du composé d'arôme qui peut être un facteur influençant la perméation. Nous pouvons supposer un effet de la concentration en composé d'arôme qui a entraîné une plastification du film. En effet, la plastification mène à une relaxation de la chaîne polymérique, et finalement à un gonflement du film induisant une réduction des propriétés barrière des films à l'eau, aux gaz et aux composés volatils (Mohney *et al.*, 1988; van Willige *et al.*, 2002a; Zhou *et al.*, 2004).

Lorsque les flux du butanoate d'éthyle à travers le PE 1 et le PE 2 sont comparés, le transfert à travers le PE 2 ne présente pas un profil typique bien que le début des deux courbes se superpose parfaitement (Figure 36). Ce comportement pourrait également être dû à la présence de composés volatils gênant le transfert. En effet, la génération de composés volatils tels que des aldéhydes, des cétones, des acides ou des esters peut se produire lors de la fabrication du PE. La courbe obtenue pourrait être le résultat d'une perméation et d'une désorption de volatils concomitantes. La désorption d'un composé volatil non identifié a été vérifiée.

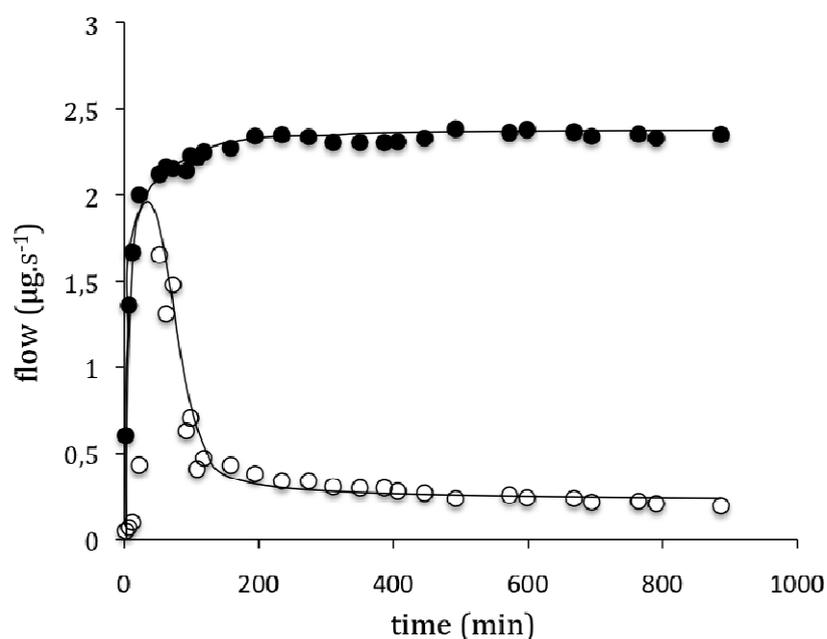


Figure 36 : Flux de butanoate d'éthyle à travers PE1 (●) et PE2 (○) en fonction du temps (en minutes).

L'influence de la taille de la molécule sur le transfert de composés d'arôme est remarquable pour le PE 1 mais est moins marqué pour le PE 2 : l'hexanoate d'éthyle, ayant le poids moléculaire, le volume molaire et la taille la plus importante des esters

étudiés, est transféré dans une moindre quantité (environ 6 fois moins) par rapport au butanoate d'éthyle dans le cas du PE 1. Les résultats obtenus pour le PE 2 suggèrent que la taille de la molécule n'a pas le même effet sur les propriétés de transfert lorsque qu'un certain degré de cristallinité est atteint ou si le polymère est fortement branché.

Le phénomène de perméation est décrit comme étant fonction à la fois de la sorption et de la diffusion. Etant donné l'influence de la taille du perméant sur le film PE 1, la diffusion, qui est fortement affecté par ce paramètre, semble être le facteur le plus impactant.

- *Ethanol*

La Figure37 représente les coefficients de perméabilité de l'éthanol pur et de l'éthanol à 12% mesurés à 25°C travers les films de polyéthylène déterminés dans différentes conditions d'humidité (flux d'azote sec ou humidifié à 50%).

La perméabilité semble influencée par l'HR puisque le transfert est plus élevé lorsque le flux d'azote est non humidifié. Pour rappel, ce flux d'azote permet d'amener les molécules ayant traversées le film jusqu'au chromatographe. Il semblerait donc que les molécules d'eau entrent en compétition avec les molécules d'éthanol et diminuent la perméabilité à l'éthanol.

De plus, alors que les coefficients de perméabilité à l'éthanol ne sont pas significativement différents pour les deux films de PE lorsque le flux d'azote est sec, ceux-ci sont significativement différents lorsque l'HR est de 50%. On note cependant une grande variabilité pour les deux PE avec un flux sec puisque la perméabilité varie de 50 à $75 \cdot 10^{-15} \text{ kg m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ autour d'une valeur moyenne de $62 \cdot 10^{-15} \text{ kg m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$. A 0% HR, la cristallinité des PE ne semble plus intervenir sur la valeur de la perméabilité.

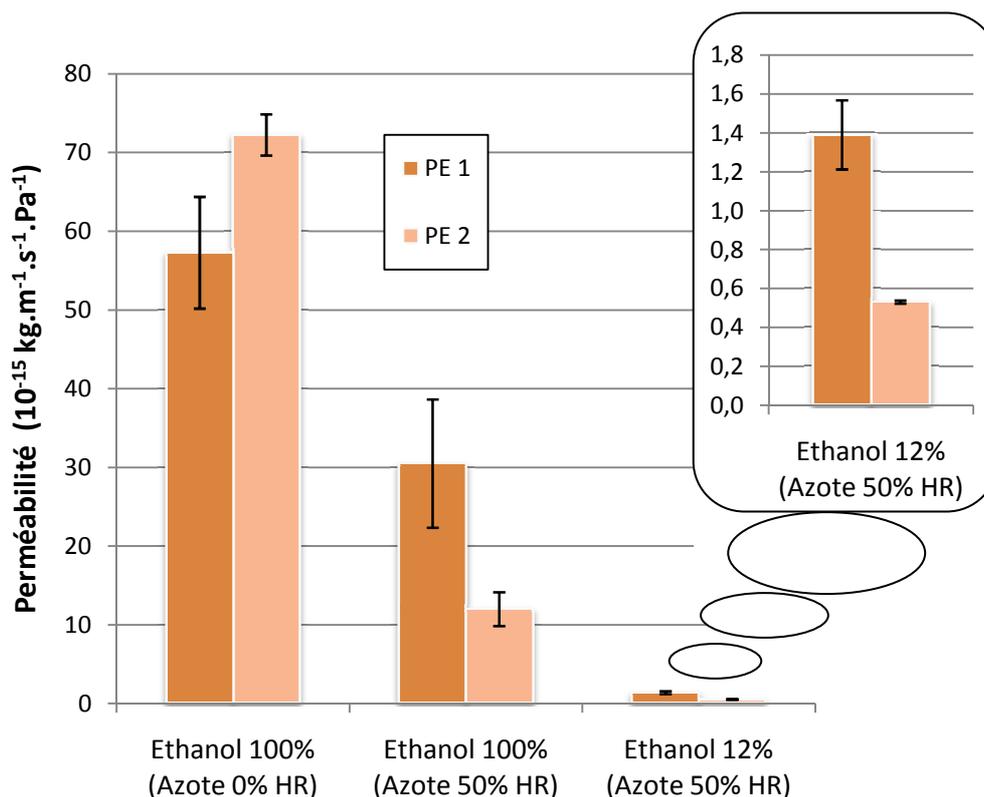


Figure 37 : Coefficients de perméabilité mesurés à 25°C travers les films de polyéthylène de l'éthanol pur (à 0% et 50% HR) et de l'éthanol à 12% (50% HR).

Avec un flux humidifié à 50%, la perméabilité à l'éthanol de PE 2 est plus faible que celle de PE 1 ce qui est en accord avec leur différence de cristallinité, cristallinité qui est plus élevée pour PE 2. Un facteur de 2,5 de différence entre les deux PE est trouvé pour les perméabilités à l'éthanol quelque soit la concentration en éthanol. Ce facteur est proche de celui déterminé pour les perméabilités à la vapeur d'eau, ce dernier étant de 2. De plus, le ratio entre la perméabilité de la solution à 12% (v/v) d'éthanol et la perméabilité de l'éthanol 100% (v/v) est d'environ 22 pour les deux PE. Il semblerait donc que seule la concentration en éthanol exerce un impact sur le transfert de l'éthanol.

II.1.ii. Films multicouches

Parce que les BIB sont constitués de films multicouches, il nous a paru important de mesurer la perméabilité de l'hexanoate d'éthyle à travers les films barrière (mPET 1,

mPET 2 ou EVOH) seuls et des systèmes multicouches constitués d'un film intérieur (PE 1 ou PE 2) et d'un film barrière (mPET 1, mPET 2 ou EVOH). Les résultats obtenus sont présentés Tableau 14.

Les films barrière présentent des valeurs de coefficient de perméabilité supérieures à celle du PE : entre 1,3 et 3,5 fois supérieur pour le film EVOH et 1,5 et 28,4 pour les films mPET, ceci étant surprenant pour des films barrières. Toutefois ce comportement peut-être expliqué (pour EVOH et mPET 1) par leurs épaisseurs deux fois plus importantes que celles des PE, épaisseurs qui sont prises en compte dans le calcul du coefficient de perméabilité (Tableau 14).

Si la perméabilité du film EVOH est assez stable, il n'en est pas de même pour les deux mPET avec des coefficients de variation particulièrement élevés pouvant atteindre 40%. Cette variabilité peut s'expliquer par une intégrité non conservée de la surface métallisée. Cette perte d'intégrité et son effet sur la perméabilité à l'oxygène des films ont déjà été mis en évidence par Doyon *et al.* (Doyon *et al.*, 2005). Nous avons donc vérifié cette perte d'intégrité par microscopie optique (Figure 38) et des trous de la surface métallisée peuvent être observés simplement par diffusion de la lumière. Leur présence explique l'hétérogénéité de ces films ainsi que les valeurs élevées des coefficients de perméabilité.

Tableau 14 : Coefficient de perméabilité (en $10^{-15} \text{ kg m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$) de l'hexanoate d'éthyle à travers les films multicouches (MC) mesurés à 25°C et 50% HR.

	PE	Film barrière	PE/Film barrière
MC 1 (PE 1/EVOH)	174 ± 14	223 ± 33	291 ± 11
MC 2 (PE 2/EVOH)	63 ± 3	223 ± 33	217 ± 1
MC 3 (PE 1/mPET 1)	174 ± 14	258 ± 105	1275 ± 638
MC 4 (PE 2/mPET 2)	63 ± 3	1791 ± 572	895 ± 409

Enfin lorsque le film de PE et le film de mPET sont associés, nous retrouvons cette hétérogénéité qui peut atteindre 50%. Pour ce qui est du système multicouche comprenant le film d'EVOH (MC 1 et MC 2), une valeur de perméabilité plus faible que celle du film barrière seul était attendue. En effet, le transfert de masse dans un emballage

multicouches peut être assimilé à des résistances en séries (Chalier *et al.*, 2007b; Crank, 1975). Selon cette approche, la perméabilité des multicouches est égale à la perméabilité résultante à travers trois couches (PE, film barrière et air) et est exprimée par l'équation suivante :

$$\frac{e_{totale}}{P_{totale}} = \frac{e_{PE}}{P_{PE}} + \frac{e_{barrière}}{P_{barrière}} + \frac{e_{air}}{P_{air}}$$

avec e_{totale} , e_{PE} , $e_{barrière}$, e_{air} , P_{totale} , P_{PE} , $P_{barrière}$ et P_{air} les épaisseurs et perméabilités respective du film multicouches, du film de PE, du film barrière et de la couche d'air. Les films intérieur et extérieur étant collés électrostatiquement alors e_{air}/P_{air} peut être considéré comme négligeable.

Dans le cas présent, nous ne retrouvons pas cette loi. Dans le cas de MC 1 et MC 2, il semblerait que la perméabilité des films multicouches dépende du film ayant la plus forte perméabilité.



Figure 38 : Observations en microscopie optique des films de mPET (grossissement X40)

II.1.iii. Conclusion

La méthode semi-dynamique utilisée ici n'a pas permis de mesurer la perméabilité des composés avec un noyau phényle car leur concentration en phase vapeur est inférieure à 10 mg mL^{-1} .

La perméation des esters à travers les films de PE a permis de mettre en évidence l'influence de la taille du composé d'arôme sur le coefficient de perméabilité : plus la taille est importante, moins il y a de transfert d'arôme, ceci indiquant que la diffusion, fortement

influencée par la taille de la molécule diffusant, est le paramètre qui a le plus d'impact sur la perméabilité.

En ce qui concerne la perméation de l'éthanol, nous avons mis en évidence l'influence de l'humidité relative avec une compétition entre les molécules d'eau et l'éthanol qui abaisse le coefficient de perméabilité. Lorsque le flux d'azote balayant le film est humidifié à 50%, la différence de perméabilité entre les deux PE est alors reliée à leur cristallinité. Par ailleurs, la concentration en éthanol influence le transfert comme le montre les résultats pour l'éthanol pur (100 %) et la solution à 12 % (v/v) d'éthanol.

II.2. *Coefficient de sorption*

Il n'existe pas de méthode de mesure standard pour mesurer la sorption des composés d'arôme. Les différentes approches utilisées dans la littérature dépendent des objectifs à atteindre (caractérisation des films, simulation de la réalité, etc.) et du type de phénomène considéré. En effet, la sorption peut effectivement se produire en phase vapeur sans contact direct (système solide/vapeur) ou au contraire par contact direct (système solide/liquide) avec le produit.

Nous avons donc souhaité analyser ces différents phénomènes en analysant la sorption d'arôme en phase vapeur saturée d'arômes et la prise en masse (ou en mole) d'arôme dans le matériau au contact de composés d'arôme purs liquides. Nous nous sommes placés dans des conditions extrêmes de concentration qui ne sont pas celles rencontrées dans le cas des aliments.

II.2.i. Phase vapeur

- *Mesure du coefficient de sorption par méthode gravimétrique*

Les coefficients de sorption obtenus lors de la mesure de sorption en phase vapeur du butanoate d'éthyle, de l'hexanoate d'éthyle, du phényl-2-éthanol, de l'éthyl-4-phénol et de l'éthanol dans les films PE 1 et PE 2 sont présentés Figure 39. Les coefficients de sorption sont déterminés après 21 jours de tests lorsque l'équilibre est atteint comme le

montre la cinétique obtenu pour l'hexanoate d'éthyle (par exemple Figure 43). Ils sont exprimés en fonction de la pression de vapeur des arômes dans l'espace de tête, donc ici de la pression de vapeur saturante.

Pour les deux films de PE, une différence significative entre les esters et les composés phényliques est observée avec une affinité des polymères plus importante pour les composés phénoliques que pour les esters. En effet, relativement à leur faible concentration de l'espace de tête en lien avec leur faible pression de vapeur saturante, les composés phénoliques sont fortement sorbés. Si les résultats n'étaient pas ramenés à la pression de vapeur saturante, la sorption des esters exprimée en kg m^{-3} serait très élevée montrant clairement la dépendance entre la sorption et la concentration.

En accord avec la nature apolaire des films de PE (Ducruet *et al.*, 2001; van Willige *et al.*, 2002b), les coefficients de sorption augmentent avec l'hydrophobicité au sein de la famille des esters. Le coefficient de sorption de l'hexanoate d'éthyle est 10 à 15 fois supérieur à celui du butanoate d'éthyle. L'éthanol qui est un composé polaire, est sorbé encore moins que butanoate d'éthyle dans les films sans différence significative entre PE 1 et PE 2.

D'une façon générale, dans une même classe chimique, plus le logP est élevé (Tableau 4), plus le coefficient de sorption est important (Lebosse *et al.*, 1997).

L'effet est moins remarquable pour les composés phényliques. Par ailleurs, l'augmentation de la sorption avec l'hydrophobicité ne se retrouve pas entre les familles.

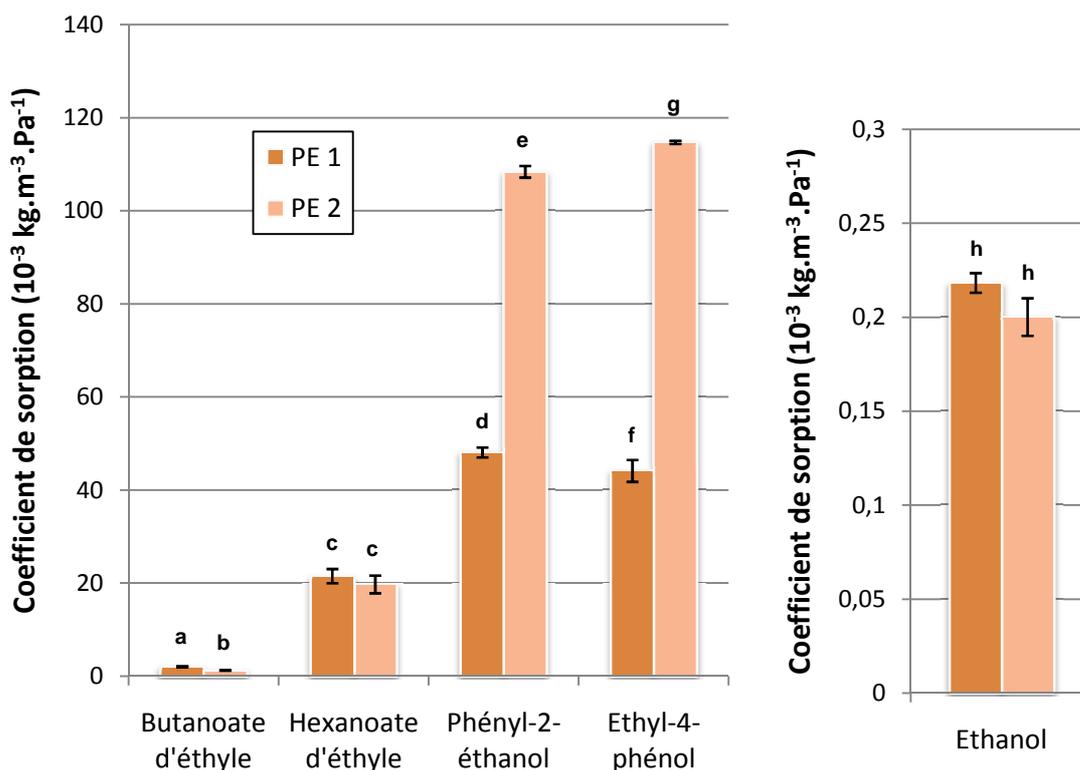


Figure 39 : Valeurs des coefficients de sorption ($10^{-3} \text{ kg m}^{-3} \text{ Pa}^{-1}$) du butanoate d'éthyle, de l'hexanoate d'éthyle, du phényl-2-éthanol, de l'éthyl-4-phénol et de l'éthanol dans les films PE 1 et PE 2 obtenues par sorption en phase vapeur. Les valeurs avec la même lettre ne sont pas significativement différentes.

En ce qui concerne le comportement des films de polyéthylène, le PE 2 sorbe beaucoup plus que le PE 1 les composés phénoliques alors que pour les esters, la différence est très faible entre les deux films de PE pour le butanoate d'éthyle et il n'y a pas de différence pour l'hexanoate d'éthyle.

Dans le cas des esters, les phénomènes de sorption apparaissent ainsi essentiellement liés à leur polarité, indépendamment de la structure du PE. En effet, l'hexanoate d'éthyle qui est le composé le plus apolaire ($\log P = 2,8$) sorbe plus que le butanoate d'éthyle ($\log P = 1,9$) dans les films PE de nature apolaire. A l'inverse, la sorption des composés à noyau phényle ne semble pas influencée par la polarité des composés d'arôme et fait ressortir la différence de structure des deux PE sans qu'il y ait de corrélation avec la cristallinité. Comme le PE 2 possède le niveau de branchement le plus élevé, nous pouvons supposer que la distribution des régions amorphes et cristallines, et par conséquent l'accessibilité, est différente de celle du PE 1 et favorise les phénomènes de sorption selon la théorie du volume libre. Les branchements seraient

essentiellement présents dans les zones amorphes qui seraient plus volumineuses que dans les cas du PE 1 où le nombre plus restreint de branchements favoriseraient la multiplicité de zone cristalline.

- *Mesure du coefficient de sorption par méthode semi-dynamique de perméation*

Nous avons voulu comparer ces résultats avec les résultats de sorption issus de la perméation, c'est-à-dire que les films ayant subi la perméation sont récupérés et extraits. En effet, il a été montré dans un travail précédent réalisé au laboratoire sur des films de PPBO que les coefficients de sorption pouvaient être estimés dans ces conditions (Dury-Brun *et al.*, 2008). Il est à noter cependant que ces analyses n'ont pas été réalisées dans les mêmes conditions d'humidité relative (0% d'HR pour la mesure de sorption en statique et 50% d'HR pour la méthode dynamique de mesure de perméation). Les valeurs obtenues à partir de la perméation sont présentées dans la Figure 40. Elles sont plus élevées d'un facteur 3,8 pour le PE 1 et 1,7 pour le PE 2 par rapport aux valeurs de sorption obtenues avec la méthode statique. On peut faire plusieurs hypothèses :

- l'équilibre de sorption n'était pas vraiment atteint lors de la détermination précédente (la cinétique devenant très lente)
- la présence d'un flux humidifié dans le cas de la perméation favoriserait la sorption des composés d'arôme soit par entraînement (cas du butanoate d'éthyle qui est assez soluble dans l'eau) soit en modifiant le polymère
- l'utilisation d'une méthode dynamique qui permet de renouveler le flux continuellement entraîne une différence de concentration entre le côté extérieur et le côté intérieur qui reste identique et élevée. Ce gradient favoriserait le transfert et la sorption qui se ferait de façon plus rapide que dans le cas de la méthode statique.

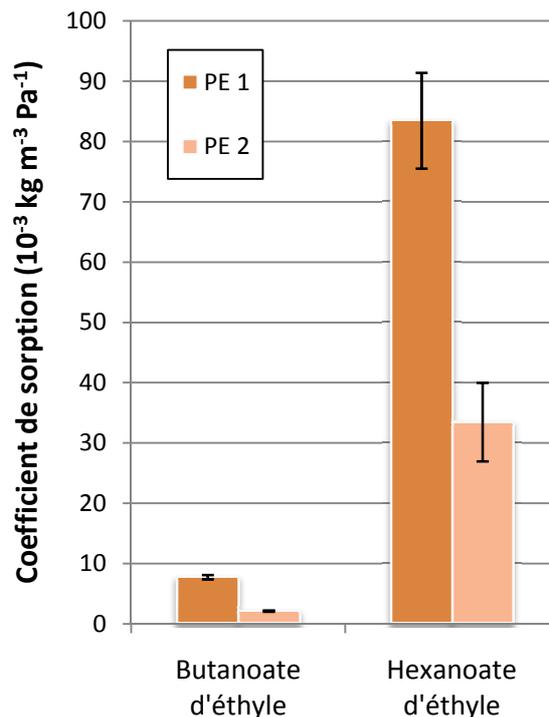


Figure 40 : Coefficient de sorption du butanoate d'éthyle et de l'hexanoate d'éthyle dans les films PE 1 et PE 2 ayant subi le phénomène de perméation

Comme précédemment montré, les coefficients de sorption sont clairement liés à l'hydrophobicité des deux esters : en effet, plus la molécule est apolaire, plus elle est sorbée dans un film de polyéthylène apolaire par nature (Hernandez-Muñoz *et al.*, 1998). Par contre, on montre clairement que les coefficients de sorption sont plus faibles pour le PE 2 que pour le PE 1 quelque soit l'ester. Le PE 2 est le film le plus cristallin et comme précédemment décrit, les zones cristallines sont des zones d'exclusion du phénomène de sorption (Compañ *et al.*, 2007; D'Aniello *et al.*, 2000; Letinski & Halek, 1992). La sorption des esters, molécule linéaire, est donc moindre dans le PE 2.

En ce qui concerne l'éthanol, lorsque les coefficients de partage pour les deux films de PE sont déterminés en utilisant soit l'éthanol pur et dilué à 12% (v/v) et sous flux d'azote humidifié ou non, des comportements différents sont observés (Figure 41) :

- pas de différence significative entre les deux films de polyéthylène pour la sorption d'éthanol pur sous flux sec.

- la présence d'eau due au flux d'azote humidifié diminue clairement la sorption de l'éthanol pur confirmant que les molécules d'eau entrent en compétition avec les molécules d'éthanol et diminue ainsi la sorption d'éthanol.
- lorsque les coefficients de partage de l'éthanol pur et en solution aqueuse à 12% (v/v) sont comparés, ceux-ci augmentent lorsque la concentration en éthanol diminue. En effet les films de PE semblent avoir une capacité maximale à absorber l'éthanol estimée à 35 000 g m⁻³ pour le PE 1 et 55 000 g m⁻³ pour le PE 2. Contrairement à ce qui a été trouvé avec les esters, les coefficients de partage sont plus importants pour le PE 2 que pour le PE 1, comme si l'accessibilité des sites de sorption était plus élevée dans le cas du PE 2 comme cela a été supposé précédemment dans le cas des alcools à noyau phényle.

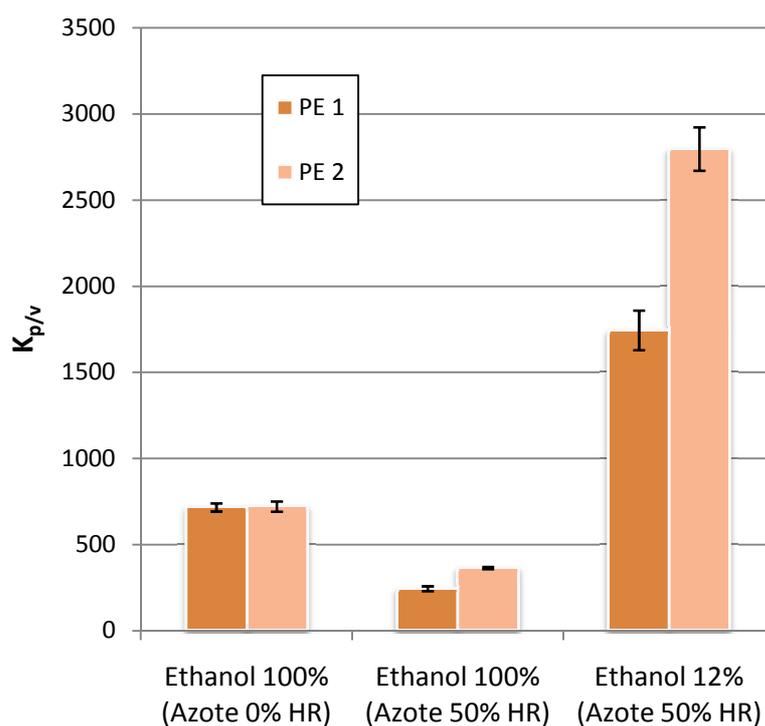


Figure 41 : Coefficient de partage entre l'éthanol 100% et 12% (v/v) et les films de polyéthylène

II.2.ii. Sorption des composés d'arôme en phase liquide

Cette expérience a été réalisée dans le but d'accéder à la capacité maximale des films de PE à sorber les composés d'arôme puisque la concentration joue un rôle important. Le Tableau 15 présente les valeurs de « prise » en composés d'arôme en phase liquide exprimé en mol m⁻³, mais aussi en phase vapeur pour comparaison.

Tableau 15 : Valeurs de la prise en mole à 25°C en phase liquide (M_{liq}) et la prise en mole de la phase vapeur (M_{vap}) du butanoate d'éthyle, de l'hexanoate d'éthyle, du phényl-2-éthanol et de l'éthyl-4-phénol dans PE 1 et PE 2.

Aroma compound	M _{liq} (mol m ⁻³)		M _{vap} (mol m ⁻³)	
	PE1	PE2	PE1	PE2
Butanoate d'éthyle	57 ± 5	18 ± 2	34 ± 1	21 ± 1
Hexanoate d'éthyle	125 ± 25	61 ± 5	32 ± 2	29 ± 3
Phényl-2-éthanol	61 ± 2	44 ± 4	3,8 ± 0,1	8,5 ± 0,1
Ethyl-4-phénol	-	-	3,2 ± 0,2	8,4 ± 0,0
Ethanol	711 ± 16	1396 ± 31	36 ± 0,8	33 ± 0,7

L'état solide de l'éthyl-4-phénol à la température de travail (25°C) n'a pas permis de faire des mesures de sorption, dans des conditions comparables aux autres composés d'arôme.

En phase liquide, les valeurs de prise en mol m⁻³ augmentent de façon visible avec l'hydrophobicité des esters, mais d'un facteur différent entre les deux PE. Pour le PE 1, la prise en mole est très similaire pour le phényl-2-éthanol et le butanoate d'éthyle alors que pour le PE 2, une différence marquée est observée. Ces deux composés d'arôme ont un logP très proche (respectivement 1,6 et 1,9) et le fait qu'ils soient sorbés de façon identique dans le PE 1 prouve que la prise en arôme est principalement reliée à la polarité du composé d'arôme. Par contre, la nature du composé joue un rôle non négligeable dans le cas du PE 2, le film le plus cristallin. De plus, la sorption dans les deux films de PE est en relation avec leur nature amorphe relative : le PE 1 sorbe de façon plus importante tous les composés comparativement au PE 2. La sorption très élevée en phase liquide peut s'expliquer par un phénomène de plastification par les arômes du fait de leur concentration élevée. Il est connu que l'effet des plastifiants induit une augmentation de la

mobilité des chaînes du polymère et par conséquent augmente l'accessibilité aux sites de sorption (Fayoux *et al.*, 1997; Quezada-Gallo *et al.*, 1999). Nous pouvons supposer que le PE 1, avec une région amorphe plus importante que le PE 2, est plus facilement plastifié et sorbe plus facilement les composés d'arôme.

Si on s'intéresse aux résultats obtenus en phase vapeur pour des concentrations en arôme plus faibles, on constate que ni l'effet de l'hydrophobicité ni l'effet du matériau n'est retrouvé indiquant clairement que la concentration en arôme joue un rôle non négligeable. Il semblerait que l'effet cristallinité ne se fasse sentir que lorsque la sorption est très élevée.

II.2.iii. Conclusion

Ces résultats ont clairement montré la forte capacité de sorption des composés d'arômes par les deux PE. La concentration influence fortement le degré de sorption et induit des capacités de sorption différentes. L'hydrophobicité mais aussi la nature de la molécule reste un paramètre clé quelque soit la méthode de sorption explorée.

II.3. *Diffusion*

Les coefficients de diffusion ont été mesurés à partir des cinétiques de perméation et de sorption en phase vapeur et liquide et les résultats sont reportés dans le Tableau 16 et le Tableau 17.

II.3.i. Cinétiques de perméation

Les coefficients ont tout d'abord été déterminés à partir des cinétiques de perméation. Comme pour la perméabilité, les coefficients de diffusion du phényl-2-éthanol et de l'éthyl-4-phénol n'ont pas pu être déterminés à partir des cinétiques de perméation à cause de leur faible volatilité. Un exemple de ces courbes est donné Figure 42 pour le butanoate d'éthyle.

Dans le cas du transfert de ce composé à travers le film PE 2, le coefficient de diffusion n'a pas pu être estimé à cause de la forme en cloche de la courbe obtenue (Figure 36).

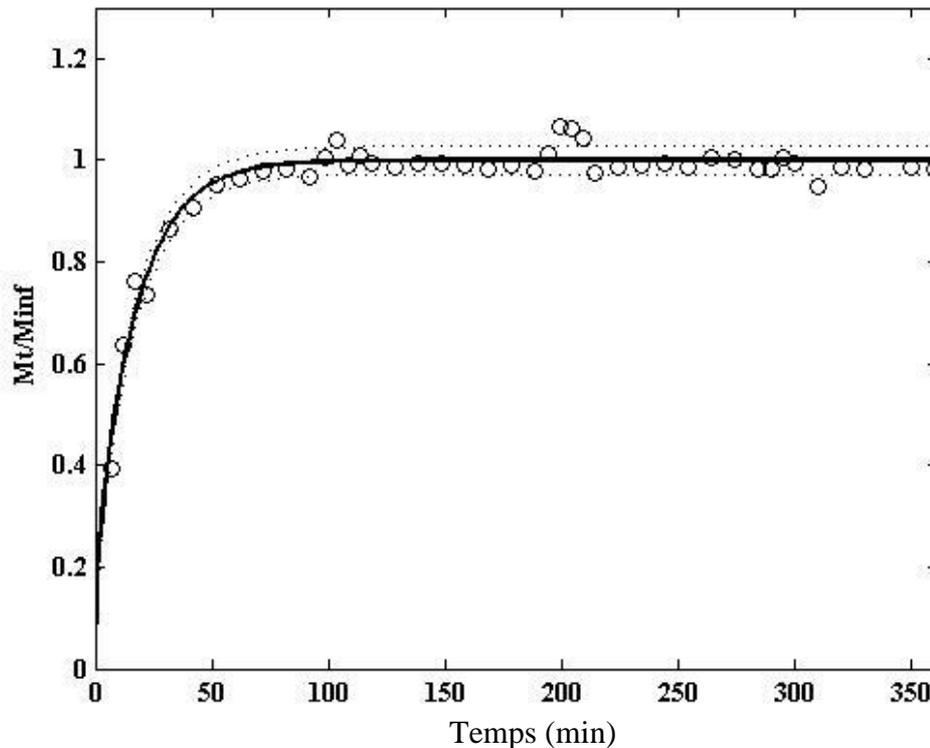


Figure 42 : Exemple de cinétique de perméation représentée par M_t/M_{inf} (ratio entre la quantité ayant traversé le film au temps t et la quantité traversant à l'équilibre au temps infini) en fonction du temps en minutes. Les cercles représentent les points expérimentaux, la ligne continue : la modélisation d'après l'équation 29 et la ligne en pointillé : le RMSE de la modélisation

Les coefficients de diffusion des esters d'éthyle ont été calculés de deux façons soit à partir du temps de délai « time lag » (Équation 28) soit par modélisation des cinétiques avec le programme Matlab® (Équation 29). Comme le modèle s'ajuste bien aux résultats expérimentaux (Figure 42) et que les RMSE, qui représentent la qualité du modèle, sont toujours dans la même gamme ou plus bas que les erreurs expérimentales, nous pouvons supposer que l'approche de la modélisation des cinétiques réalisée permet d'obtenir une bonne estimation de D .

Pourtant les résultats obtenus par les deux méthodes sont différents : les coefficients obtenus par le temps de délai étant plus élevé que ceux obtenu par modélisation.

Tableau 16 : Coefficients de diffusion déterminés à partir des cinétiques de perméation à 25°C.

Coefficient de diffusion $10^{-16} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$	Butanoate d'éthyle		Hexanoate d'éthyle	
	PE 1	PE 2	PE 1	PE 2
D^a	6244 ± 651	ND	4737 ± 393	4348 ± 291
D^b	2977 ± 48	ND	2867 ± 53	2722 ± 52
RMSE	0,03	ND	0,06	0,09

ND : non déterminé

^a D déterminé à partir du temps de délai (équation 28)

^b D déterminé à partir de la cinétique entière de perméation avec le logiciel MatLab® (équation 29)

Pourtant, il avait été précédemment démontré que cette méthode de modélisation donnait un coefficient de diffusion pour l'hexanoate d'éthyle avec une bonne précision pour un emballage polyoléfine (Dury-Brun *et al.*, 2008) et comparable à celui déterminé par la méthode de perméation. Dans le cas présent, nous pouvons supposer que la modélisation qui tient compte de l'ensemble de la courbe permet d'obtenir une valeur plus moyenne que celle obtenue par le temps de délai car, dans ce dernier cas, seule la dernière partie de la cinétique est prise en considération sans tenir compte d'éventuelles variations de la diffusion avec la concentration (en particulier au début de la cinétique). Même si l'hypothèse de non variabilité de la diffusion en fonction de la concentration a été posée, cette variation n'est pas exclue et peut s'exprimer dans la variabilité des résultats.

Les résultats obtenus pour le film PE 1, et le butanoate d'éthyle et l'hexanoate d'éthyle sont attendus puisque la plus petite molécule montre la plus grande diffusivité en accord avec sa perméabilité (Tableau 16)

Le coefficient de diffusion de l'hexanoate d'éthyle pour le PE 1 est légèrement plus élevé (de 8%) que celui du PE 2, montrant que les phénomènes de diffusion peuvent être reliés à l'augmentation de la cristallinité de 10% du film entre le PE 1 et le PE 2 (Hernandez-Muñoz *et al.*, 1998; Letinski & Halek, 1992). Les coefficients de diffusion

déterminés pour l'hexanoate d'éthyle peuvent être comparées aux valeurs auparavant reportées ($11,3 \cdot 10^{-13} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$) à travers un film de PEBD ($50 \mu\text{m}$, température de fusion = $104,4^\circ\text{C}$) considéré comme moins cristallin que les mélanges utilisés ici (Matsui *et al.*, 1992c) ou encore à ceux d'un film de PEUBD (Hernandez-Muñoz *et al.*, 1998) ($1,9 \cdot 10^{-13} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$) mesurée pour une concentration en arôme de 600 ppb (~ 21 fois moins importante que dans ce travail).

II.3.ii. Cinétiques de sorption

Comme pour la cinétique de perméation, les modèles permettant d'accéder à D s'ajustent bien aux résultats expérimentaux et permettent de déterminer des coefficients de diffusion pertinents pour toutes les cinétiques de sorption que ce soit en phase vapeur ou liquide (Figure 43) à partir de l'équation 33. Les valeurs de RMSE sont toujours inférieures à 0,1 et sont du même ordre ou inférieur aux erreurs expérimentales qui sont de l'ordre de 8% (Tableau 17).

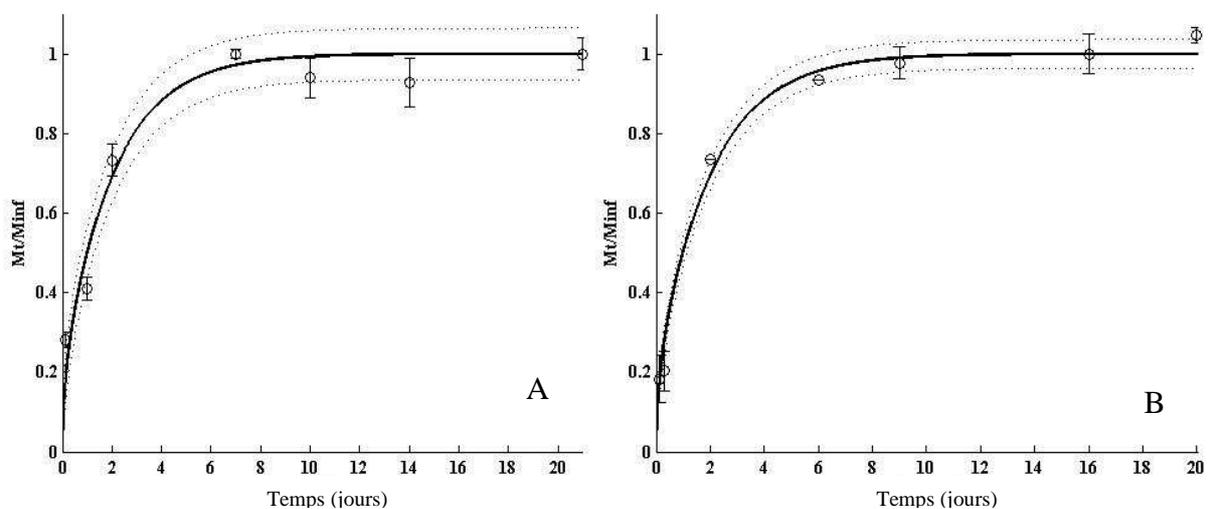


Figure 43 : Cinétiques de sorption de l'hexanoate d'éthyle dans le PE en A) phase vapeur et B) phase liquide. Les données expérimentales sont représentées par les cercles, la courbe ajustée et de RMSE sont respectivement les lignes continue et en pointillé.

Les coefficients de diffusion obtenus à partir des cinétiques de sorption en phase vapeur sont de 60 à 500 fois plus faibles que ceux obtenus à partir des cinétiques de perméation (Tableau 17). Nous pouvons supposer que lors de la sorption en phase vapeur la présence de couches limites autour des échantillons de film entraîne une résistance au

transfert d'arôme qui ne peut pas être négligée, alors que la modélisation la néglige en prenant en compte un coefficient de convection infini. Ce phénomène a déjà été mis en évidence précédemment et nécessite le calcul du coefficient de résistance au transfert (Dury-Brun *et al.*, 2008). Cette résistance pourrait expliquer aussi les résultats de sorption plus faibles obtenus par cette méthode que par la méthode de perméation où la différence de concentration de part et d'autre du film est maximale. Pour valider cette hypothèse, il aurait été nécessaire d'estimer la résistance au transfert en calculant le coefficient de convection pour le système de mesure utilisé, à partir des coefficients de diffusion obtenus en perméation. Cependant, comme des résultats différents ont été obtenus selon la méthode de détermination de D en perméation, il était difficile d'accéder à une valeur précise du coefficient de convection.

Cependant, ces données permettent de comparer les arômes entre eux ainsi que les PE :

- l'impact du volume molaire au sein d'une famille chimique : plus la molécule est petite, plus le coefficient de diffusion est élevé ;
- l'impact de la cristallinité : la diffusivité est plus importante pour le PE 1, PE le moins cristallin;
- l'impact de la nature chimique de l'arôme : malgré le plus petit volume molaire des composés phénoliques, ils diffusent plus lentement que les esters en raison de leur faible volatilité. L'impact du poids moléculaire et de la volatilité sur la diffusivité des arômes à travers un film de PEUBD a déjà été souligné (Hernandez-Muñoz *et al.*, 1998).

En phase liquide, les coefficients de diffusion suivent globalement la même tendance qu'en phase vapeur. Ils sont cependant encore plus faibles qu'en phase vapeur. Dans ce cas, les faibles valeurs trouvées peuvent être reliées aux interactions arôme/arôme limitant leur mobilité. La différence de diffusivité entre l'hexanoate d'éthyle et le phényl-2-éthanol est moins marquée que pour les valeurs obtenues en phase vapeur car les valeurs de coefficients de diffusivité du phényl-2-éthanol sont plus élevées. On peut l'expliquer par un effet concentration plus fort que la résistance aux transferts dû aux

interactions arôme/arôme. Par ailleurs, nous pouvons supposer que les fortes concentrations utilisées pour les différents arômes entraînent la plastification du polymère et une modification de la mobilité des molécules comme précédemment suggéré. Généralement l'effet plastifiant mène à une relaxation de la chaîne polymérique, et finalement à un gonflement du film induisant une réduction des propriétés barrière des films à l'eau, aux gaz et aux composés volatils (Mohny *et al.*, 1988; van Willige *et al.*, 2002a; Zhou *et al.*, 2004). Cependant Quezada-Gallo *et al.* (Quezada-Gallo *et al.*, 1999) ont émis une autre hypothèse pour expliquer une faible diffusivité : les composés d'arôme à concentration élevée dans un film de PEBD pourrait former des clusters réduisant la diffusivité par un processus de friction entre les molécules d'arôme et la matrice polymérique.

Tableau 17 : Coefficients de diffusion déterminés à partir des cinétiques de sorption à 25°C

	Coefficient de diffusion $10^{-16} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$	Butanoate d'éthyle		Hexanoate d'éthyle		Phényl-2-éthanol		Ethyl-4-phénol	
		PE 1	PE 2	PE 1	PE 2	PE 1	PE 2	PE 1	PE 2
Phase vapeur	D	47	16	22	8	5	3	3	2
	RMSE	0,08	0,09	0,07	0,09	0,06	0,06	0,08	0,03
Phase liquide	D	21	14	14	3	12	6	ND	ND
	RMSE	0,09	0,09	0,09	0,10	0,09	0,05	ND	ND

ND : non déterminé

D déterminé à partir de la cinétique de sorption entière avec le logiciel MatLab® (équation 33)

II.3.iii. Conclusion

Les coefficients de diffusion ont été déterminés à partir des cinétiques de perméation (méthode dynamique) et des cinétiques de sorption (méthode statique) en phase vapeur et en phase liquide.

Les coefficients de diffusion déterminés à partir des cinétiques de perméation sont plus élevés que dans les autres conditions de mesure car il n'y a pas de résistance au transfert ou qu'elle est négligeable par rapport à celle qui se produit lorsque les films sont placés dans une atmosphère saturée en arôme ou immergé directement dans le composé d'arôme pur.

La cristallinité des films, la taille des molécules d'arôme ainsi que leur nature ont un impact sur la diffusion. Cet impact est très marqué pour les coefficients déterminés à partir des cinétiques de sorption.

II.4. *Conclusion sur les transferts d'arômes purs*

L'ensemble des résultats montre l'influence de la nature de l'arôme qui se retrouve dans tous les cas, ainsi qu'un effet de la concentration qui explique les différences de résultats entre les méthodes. Si ces dernières permettent de comparer des matériaux ou des composés d'arôme, il est difficile de savoir si elles vont permettre de prédire ce qui va se passer dans des conditions proches de la réalité.

Par perméation, nous avons accès aux trois coefficients déterminés exactement dans les mêmes conditions. L'équation $P = D \times S$ n'est pas vérifiée. En effet, les valeurs de P trouvées par calcul ($D \times S$) sont plus faibles que celles mesurées. Pourtant les valeurs obtenues pour D et S sont élevées comme si cette méthode favorisait les transferts. Cette méthode permet aussi clairement de mettre en avant l'effet de la cristallinité, mais n'est pas adaptée aux faibles concentrations.

Par sorption en phase vapeur, les coefficients de sorption mais aussi de diffusion obtenus sont plus faibles que ceux obtenus par perméation sans doute par effet de résistance au transfert de l'air et l'influence de la cristallinité est clairement mise en évidence pour la diffusion mais pas pour la sorption.

Par sorption en phase liquide, la forte capacité des PE à sorber les composés d'arôme a été démontrée et nous avons mis clairement en évidence l'importance de la cristallinité que ce soit par la détermination de D ou de S.

III. Détermination des coefficients de transfert par Spectroscopie IR-TF

Nous avons déterminé les coefficients de diffusion par spectroscopie infrarouge afin d'avoir une méthode rapide de mesure des coefficients de transferts. Ces coefficients ont été déterminés à partir des films qui ont subi la sorption en phase vapeur et en phase

liquide avec les composés d'arôme purs car la limite de détection est assez élevée de l'ordre de 1000 g m^{-3} . Les films ont été analysés en mode transmission et en mode réflectance totale atténuée (ATR).

III.1. *Transmission*

Les mesures réalisées par transmission ont permis de mesurer la quantité relative d'arôme sorbée dans les films de polyéthylène puis les coefficients de diffusion ont été déterminés par modélisation (équation 33) à partir des cinétiques de sorption. Ils sont présentés Tableau 18.

Les coefficients de diffusion n'ont pas pu être calculés pour les composés phénoliques car la sorption mesurée est maximale dès les premières mesures. La sensibilité de la bande de l'élongation de la liaison C-O ne permet pas de mesurer des différences de quantité d'arôme sorbée. En fait, nous pouvons observer une ligne de base sinusoïdale pour les deux films de PE qui modifie donc les aires mesurées. Cette fonction sinusoïdale (franges d'interférence) n'est pas constante avec les échantillons : à chaque changement d'échantillon, la ligne de base se déplace sur l'axe des fréquences (nombre d'onde). Si le même échantillon de film avait été conservé tout le long de la mesure de sorption, cette ligne de base aurait pu être soustraite facilement.

En ce qui concerne les coefficients de diffusion déterminés pour les esters, ils ont des valeurs plus élevées d'un facteur 10 environ qui peuvent également être expliquées par cette ligne de base sinusoïdale.

En phase vapeur (méthode statique), les coefficients de diffusion sont en accord avec ceux que l'on a déterminé grâce à la chromatographie en phase gazeuse. La diffusion est liée à la taille du composé d'arôme : le butanoate d'éthyle qui est plus petit que l'hexanoate d'éthyle diffuse le plus rapidement. Ce phénomène est également relié à la cristallinité du film de polyéthylène puisque le PE 2 qui est le plus cristallin laisse le moins diffuser les composés d'arôme.

En phase liquide, il n'y a pas de corrélation de la diffusion avec la taille du composé d'arôme ni avec la cristallinité.

Tableau 18 : Coefficient de diffusion ($10^{-16} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$) déterminé par transmission en spectroscopie IR-TF

Films	Butanoate d'éthyle		Hexanoate d'éthyle	
	PE 1	PE 2	PE 1	PE 2
D (phase vapeur) $10^{-16} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$	487	252	309	118
RMSE	0,08	0,06	0,08	0,08
D (phase liquide) $10^{-16} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$	238	346	674	710
RMSE	0,10	0,08	0,06	0,06

III.2. Réflectance totale atténuée

Les mesures réalisées par réflectance totale atténuée ont permis également de déterminer les coefficients de diffusion par modélisation (équation 33) à partir des cinétiques de sorption. Ils sont présentés Tableau 19. La profondeur de pénétration du rayonnement n'est que de quelques micromètres avec ce mode de mesure. Dans ce cas-là, nous estimons que le film de polyéthylène est une membrane homogène. Les valeurs obtenues par spectroscopie infra-rouge sont proches des valeurs obtenues par chromatographie phase gazeuse.

En phase vapeur, la diffusion est liée à la taille du composé d'arôme et à la cristallinité des films de PE, comme précédemment décrit.

 Tableau 19 : Coefficient de diffusion ($10^{-16} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$) déterminé par réflectance totale atténuée en spectroscopie IR-TF

Films	Butanoate d'éthyle		Hexanoate d'éthyle	
	PE 1	PE 2	PE 1	PE 2
D (phase liquide) $10^{-16} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$	48	12	36	3,5
RMSE	0,08	0,10	0,09	0,10
D (phase vapeur) $10^{-16} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$	9	5	4	2
RMSE	0,10	0,09	0,07	0,10

En phase liquide, les coefficients de diffusion sont plus faibles qu'en phase vapeur mais ont le même comportement qu'en phase vapeur, les coefficients de diffusion étant plus importants dans le PE 1 que dans le PE 2 (pour chacune des molécules d'arôme) et ces coefficients étant plus importants pour le butanoate d'éthyle que pour l'hexanoate d'éthyle. Dans ce cas, les faibles valeurs trouvées peuvent être reliées aux interactions arôme/arôme limitant leur mobilité.

III.3. Conclusion

La spectroscopie infrarouge est une méthode rapide d'évaluation des matériaux. Quelques études trouvées dans la littérature proposent l'utilisation de la spectroscopie infrarouge par réflectance totale atténuée (Balik & Simendinger, 1998; Guo & Barbari, 2008) et/ou par transmission (Cava *et al.*, 2004a; Wan *et al.*, 2007). L'utilisation de la réflectance totale atténuée a pour désavantage de mesurer les propriétés de surface d'un polymère qui sont généralisés à l'ensemble de l'échantillon, le film doit donc être homogène. La transmission prend en compte toute l'épaisseur du film mais dans notre cas, nous avons des interférences qui gênent l'acquisition du signal.

IV. Détermination des phénomènes de transfert dans une solution modèle

Dans cette partie, nous avons essayé de nous rapprocher de ce qui se passe dans des conditions proches de la réalité.

Dans un premier temps, les coefficients de sorption des composés d'arôme présents en solution modèle ont été déterminés après immersion des films dans la solution modèle contenant de faibles quantités de composés d'arôme en présence ou non d'éthanol.

Dans un deuxième temps, les pertes en arôme par perméation et sorption ont été évaluées pour la solution modèle en contact avec le film par une seule de ces faces.

IV.1. Sorption par immersion (solution en contact avec les deux faces du film)

IV.1.i. Solution aqueuse (sans éthanol)

Dans cette partie, la sorption a été réalisée dans des conditions plus réalistes, c'est-à-dire que les polymères étaient en contact avec une solution aqueuse contenant le mélange des quatre arômes à des faibles concentrations (1 mg L⁻¹ pour le butanoate d'éthyle, l'hexanoate d'éthyle et l'éthyl-4-phénol ; 40 mg L⁻¹ pour le phényl-2-éthanol) pendant 21 jours. Ces concentrations sont proches de celles trouvées habituellement dans

le vin (Tableau 20). Dans un premier temps les phénomènes de sorption ont été évalués en absence d'éthanol.

Tableau 20 : Concentration des quatre arômes retrouvée dans différents vins.

Composés d'arôme	Concentration dans le vin (ppm)
Butanoate d'éthyle	0,45-0,72 ^b 0,016 ^c 0,08-1.8 ^f
Hexanoate d'éthyle	0,02-0,04 ^a 0,079-1,8 ^c 0,152 ^e traces-3.4 ^f
Phényl-2-éthanol	11,03-13,96 ^a 17,16-33,24 ^b 17-58 ^c 16,91-40,17 ^d 4-197 ^f
Ethyl-4-phénol	0,16-0,39 ^a 0,007 ^e 0,0006-6,48 ^f

^a (Gomez-Plaza *et al.*, 1999), ^b (Pérez-Coello *et al.*, 1999), ^c (Fretz *et al.*, 2005), ^d (Vilanova & Martínez, 2006), ^e (Zoecklein *et al.*, 1999), ^f (Etievant, 1991)

- *Coefficient de sorption*

Pour rendre compte de l'affinité relative des arômes pour le milieu en contact, la sorption des arômes dans les films de PE a été caractérisée par le coefficient de partage de chaque composé entre le film et la solution aqueuse contenant les quatre composés d'arôme (Figure 44). La stabilité des composés d'arôme au cours du temps dans nos conditions expérimentales a été contrôlée : la solution contenant le mélange d'arôme a été stockée pendant 21 jours à 25°C puis analysée ce qui a permis de confirmer qu'il n'y avait pas de phénomène de dégradation des composés d'arômes utilisés puisque les concentrations mesurées restaient stables.

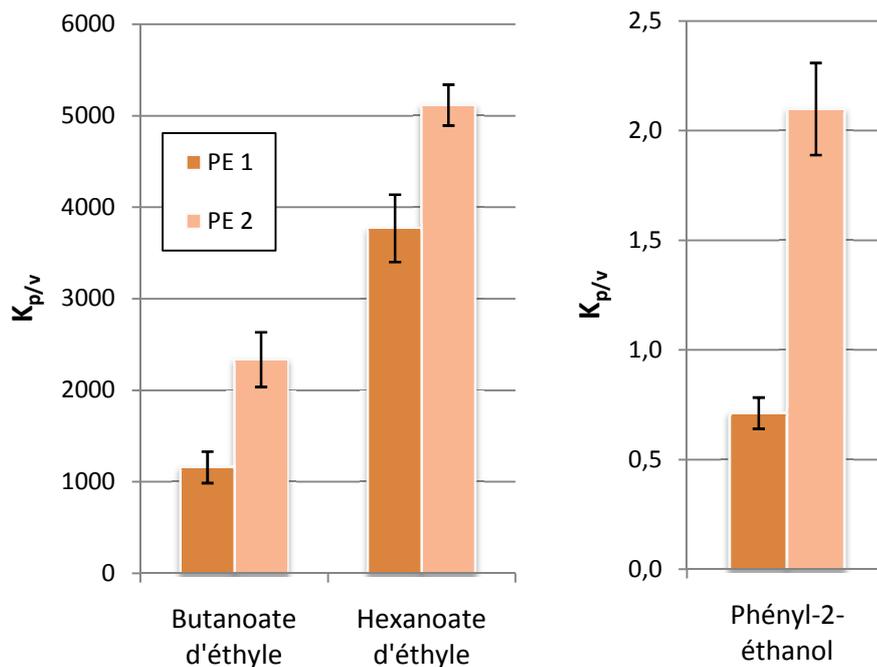


Figure 44 : Coefficients de partage ($K_{p/v}$) entre le polymère (PE 1 et PE 2) et la solution aqueuse contenant le butanoate d'éthyle, l'hexanoate d'éthyle et le phényl-2-éthanol.

Rappelons que plus le coefficient de partage est faible, plus la sorption dans le matériau est faible. Ici la plus forte sorption est donc trouvée pour l'hexanoate d'éthyle, ce qui confirme les résultats précédemment trouvés pour les composés d'arôme purs.

La sorption de l'éthyl-4-phénol n'a pas pu être détecté à la concentration utilisée, ce qui signifie qu'elle est inférieure 2 g m^{-3} .

Malgré le fait que la concentration en phényl-2-éthanol soit supérieure à celle des esters (quarante fois plus élevée) et qu'il ait une forte affinité pour les PE, comme précédemment démontré, sa sorption reste faible. La présence d'eau et des autres composés d'arôme dans la solution peut modifier la sorption respective de chacun des arômes. La faible sorption du phényl-2-éthanol s'explique clairement par son affinité plus importante pour l'eau que pour les films apolaires.

Les coefficients de partage des esters sont particulièrement élevés, montrant ainsi la forte affinité de ces composés pour les films de PE. Comme précédemment décrit, la sorption de l'hexanoate d'éthyle par les films de PE est supérieure à celle du butanoate d'éthyle en accord avec leur hydrophobicité respective.

Une différence de comportement entre les deux PE est observée mais ne peut pas être reliée à la cristallinité puisque le film le plus cristallin, PE 2, induit une plus forte sorption. Ce phénomène avait déjà été observé pour les composés phénoliques en phase vapeur. Le PE 2 possède le niveau de branchement le plus élevé ce qui induirait des zones amorphes plus volumineuses par rapport au PE 1. Par conséquent l'accessibilité aux sites d'interactions serait plus importante dans le cas du PE 2 Que du PE 1. Par ailleurs, la présence d'eau et d'éthanol peut également affecter le phénomène de sorption. Le film PE 1 est plus affecté par le transfert d'eau que le PE 2 (Tableau 12) et les molécules d'eau peuvent entrer en compétition avec les arômes pour les même sites de sorption (Aucejo *et al.*, 1998).

• *Coefficient de diffusion*

Les coefficients de diffusion sont obtenus à partir des cinétiques de sorption des films de polyéthylène immergé dans la solution modèle d'arôme. En solution aqueuse, D a été seulement déterminé pour les esters à cause de l'absence de sorption de l'éthyl-4-phénol ou de la trop faible sorption du phényl-2-éthanol empêchant la modélisation de la cinétique de sorption.

Tableau 21 : Coefficients de diffusion déterminés à partir des cinétiques de sorption à 25°C

Coefficient de diffusion $10^{-16} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$	Butanoate d'éthyle		Hexanoate d'éthyle	
	PE 1	PE 2	PE 1	PE 2
D	252	206	60	39
RMSE	0,07	0,10	0,07	0,04

ND : non déterminé

D déterminé à partir de la cinétique de sorption entière avec le logiciel MatLab® (équation 33)

Les coefficients de diffusion sont plus importants que ceux trouvés pour les arômes purs (phases liquide ou vapeur) à partir des cinétiques de sorption, mais 10 à 60 fois inférieurs aux valeurs déterminées par les cinétiques de perméation (respectivement pour le butanoate d'éthyle et l'hexanoate d'éthyle). Ces résultats peuvent être expliqués par la dépendance de D à la concentration mais aussi par le rôle de la matrice alimentaire qui agit en ralentissant la diffusion. La sorption de l'eau dans les films bien que faible, car

ils sont de nature apolaire, peut résulter en une diffusion plus difficile pour les molécules apolaires.

Une grande disparité dans les valeurs de D est observée en fonction de la méthode de mesure employée comme déjà observée par Dury-Brun *et al.* (2008) mais aussi en fonction de la concentration en arôme et du milieu contenant les composés d'arôme. Cependant, dans toutes les conditions la diffusivité est associée à la dimension moléculaire du composé d'arôme au sein d'une famille chimique et à la cristallinité du film même si la nature chimique du perméant peut avoir un grand impact.

- *Conclusion*

En solution aqueuse, l'impact de l'hydrophobicité ainsi que celui de la nature de l'arôme sont retrouvés pour D et S . Par contre, si l'impact de la cristallinité des films est retrouvé sur la diffusion, il n'est pas déterminant pour la sorption. Il semblerait que ce soit plutôt la distribution des zones amorphes et cristallines influençant l'accessibilité des zones d'interaction qui soit responsable des différences observées sur les valeurs de coefficients de sorption trouvées entre les deux PE.

IV.1.ii. Influence de l'éthanol

La sorption des composés d'arôme a été étudiée pour trois concentrations en éthanol (10, 12, 15% v/v) afin de déterminer l'influence de l'éthanol sur les phénomènes de transfert des composés d'arôme dans des conditions proches de la réalité d'un vin conditionné en BIB.

- *Coefficient de sorption*

Dans les solutions hydro-alcooliques, la sorption du phényl-2-éthanol dans les films de PE n'a pas été détecté alors que ce composé est en forte concentration. Cela peut s'expliquer par sa plus grande affinité pour la solution éthanolique que pour les films de PE apolaires.

L'éthyl-4-phénol qui est plus apolaire que le phényl-2-éthanol est particulièrement sorbé par les films de PE. La présence d'éthanol est connue pour favoriser la solubilité de l'éthyl-4-phénol (Ragazzo Sanchez, 2001) et nous pouvons supposer que l'éthanol joue un rôle de vecteur dans les phénomènes de sorption de l'éthyl-4-phénol. Cette hypothèse est confirmée par sa sorption croissante avec la concentration en éthanol (Figure 45). Excepté pour l'éthyl-4-phénol, la sorption des autres composés d'arôme dans les films de PE est plus basse en présence d'éthanol en solution que dans l'eau, avec un facteur pouvant atteindre 252 pour le butanoate d'éthyle et 116 pour l'hexanoate d'éthyle.

Pour le butanoate d'éthyle comme pour l'éthyl-4-phénol, la sorption maximale est observée pour une solution à 15% d'éthanol. Par contre, pour l'hexanoate d'éthyle, le maximum de sorption est atteint pour les solutions d'éthanol à 10% (v/v) ou 12% (v/v). La sorption décroît de façon frappante pour une solution à 15% (v/v). Fukamachi *et al.* (1996) ont trouvé des valeurs de coefficient de partage du butanoate d'éthyle et de l'hexanoate d'éthyle dans un film de PEBD (50 μm d'épaisseur) égales à 2,1 et 30,9 respectivement avec une solution contenant 10% (v/v). Ces valeurs sont inférieures à celle obtenues dans notre étude, vraisemblablement attribuables à des procédures expérimentales différentes (concentration en composés d'arôme = 15 ppm et température de mesure = 20°C contre 25°C dans notre cas) et aux caractéristiques des PE testés.

De plus, ces auteurs ont montré que les coefficients de sorption dans un film de PEBD augmentaient avec la concentration en éthanol, les sorptions maximales ont été observées à 5-10% (v/v). Par exemple le coefficient de sorption augmente d'un facteur 1,7 entre 0% (v/v) et 10% (v/v) pour l'hexanoate d'éthyle. Ceci est en contradiction avec les résultats de cette étude puisque le coefficient de partage est supérieur dans l'eau pour ce composé. Toutefois pour des concentrations supérieures à 10% (v/v) ou 15% (v/v) selon le composé d'arôme, la sorption diminuait comme dans notre cas. Les auteurs ont essayé d'expliquer ces variations de sorption par les variations de constantes diélectriques des solutions éthanoliques et la structure hétérogène des solutions eau-éthanol.

Des comportements similaires ont été observés pour les films d'EVOH avec une sorption maximale pour les solutions à 10-20% (v/v) d'éthanol.

On retrouve clairement l'effet de l'hydrophobicité au sein de la famille des esters même en présence d'éthanol : plus le composé est apolaire, plus la sorption est importante dans le PE. Mais, ce n'est plus vrai quand la sorption de l'hexanoate d'éthyle ($\log P = 2,8$) est comparée à la sorption d'éthyl-4-phénol ($\log P = 2,6$) laissant supposer l'influence de la nature chimique de l'arôme dans les phénomènes de sorption mais également l'influence d'interactions potentielles avec l'éthanol.

Les différences de valeurs de sorption entre les deux films de PE sont peu marquées et ne permettent pas d'amener plus de conclusions.

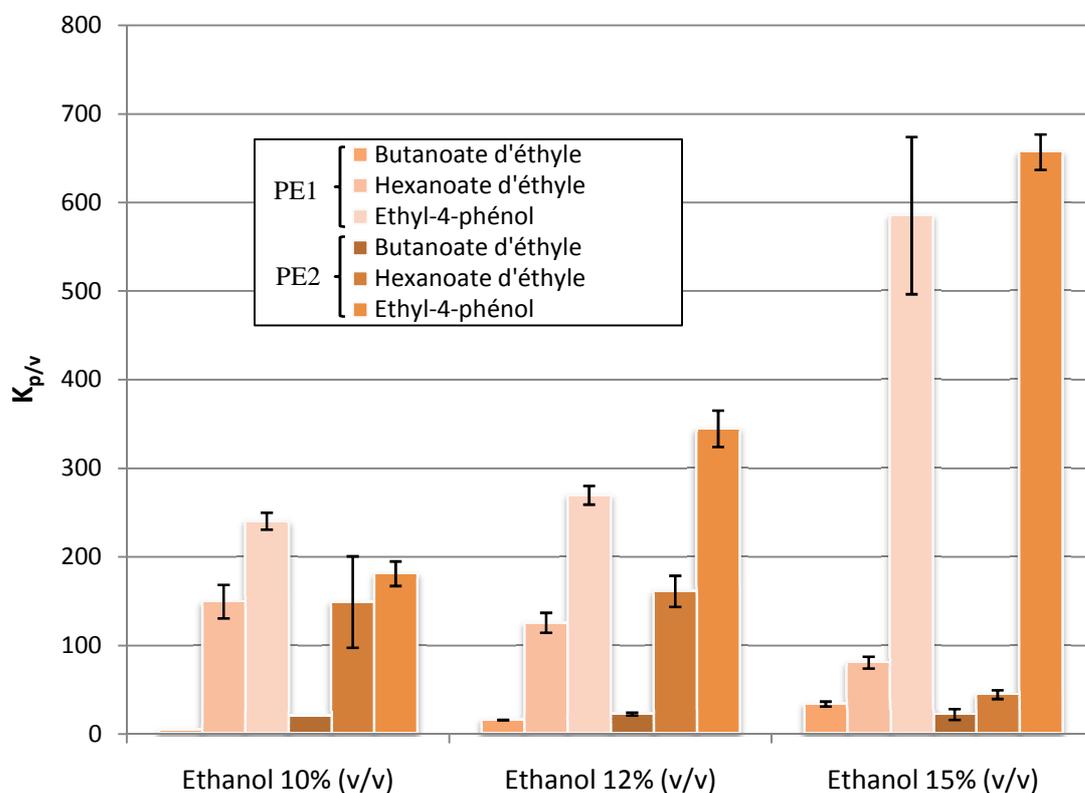


Figure 45 : Coefficient de partage du butanoate d'éthyle, de l'hexanoate d'éthyle et de l'éthyl-4-phénol dans les films PE 1 et PE 2 en fonction de la concentration en éthanol.

- *Coefficient de diffusion*

Les coefficients de diffusion des esters ont été déterminés à partir des cinétiques de sorption des composés d'arôme présents en solution hydroalcoolique et sont présentés Figure 46.

Les coefficients ainsi déterminés ont des valeurs plus faibles que celles des coefficients de diffusion mesurés avec la solution aqueuse. La diffusion de l'éthanol gêne certainement la diffusion des esters et donc la présence d'éthanol diminue leurs coefficients de diffusion. Par contre, la diffusion de l'éthyl-4-phénol n'a pas pu être mesurée car la sorption mesurée est maximale dès la première mesure.

Cependant, l'impact de la taille des molécules sur la diffusion est toujours présent : en effet, le butanoate d'éthyle, la molécule la plus petite et la plus légère diffuse plus vite que l'hexanoate d'éthyle.

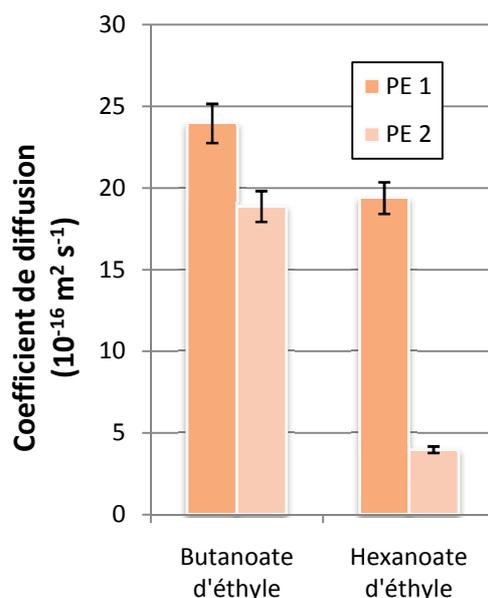


Figure 46 : Coefficients de diffusion du butanoate d'éthyle et de l'hexanoate d'éthyle dans les films de PE 1 et PE 2. Les composés d'arôme sont présents en solution modèle contenant de l'éthanol à 12% (v/v).

De plus, la diffusion au sein du PE 1 est toujours plus importante que celle observée au sein du PE 2, en lien avec le taux de cristallinité plus important du PE 2 qui limite la diffusion en augmentant la tortuosité (D'Aniello *et al.*, 2000).

La valeur du coefficient de diffusion calculée pour l'hexanoate d'éthyle dans le PE1 est beaucoup plus faible (facteur 100) que celle trouvée ($1900 \pm 200 \cdot 10^{-16} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$) par Hernandez-Muñoz *et al.* (1999) pour un film de PEUBD d'épaisseur de 78 μm avec une cristallinité élevée de 46% et mesurée en phase vapeur pour une concentration de 600ppb. Ceci s'explique par une mesure en phase vapeur dans un cas et en phase liquide dans l'autre avec en plus un effet de l'éthanol.

• Conclusion

L'éthanol par son affinité avec les composés d'arôme diminue la sorption dans l'emballage (sauf pour l'éthyl-4-phénol) mais son effet est dépendant de l'hydrophobicité de la molécule pour une même famille chimique et de la nature du composé d'arôme.

Il diminue également la diffusion des esters présents en solution. Cette diminution peut être expliquée par un phénomène de compétition. Une autre hypothèse peut être avancée : en effet, les coefficients de diffusion déterminés en solution hydroalcoolique ont des valeurs proches de celles trouvées pour la sorption en phase liquide avec des arômes purs. Nous pouvons supposer qu'il existe des interactions esters/éthanol limitant leur mobilité, comme lorsqu'il y a une forte concentration en arôme avec des interactions inter arôme.

IV.1.iii. Influence de la présence des autres composés d'arôme sur la sorption dans les PE

Les coefficients de partage des composés d'arôme obtenus quand ils sont en mélange ont été comparés aux coefficients de partage obtenus quand chaque composé d'arôme est seul, pour des solutions à 12% (v/v) d'éthanol (Figure 47). Comme précédemment observé, la présence du phényl-2-éthanol n'a pas été détectée dans les PE. Alors que la sorption du butanoate d'éthyle augmente de 1,5 fois lorsque ce composé d'arôme est seul par rapport au mélange, les coefficients de partage des composés les plus apolaires – l'hexanoate d'éthyle et l'éthyl-4-phénol – sont, lorsqu'ils sont seuls, environ 2 et 21 fois plus faibles (respectivement) que les coefficients obtenus lorsqu'ils sont en mélange. Ce comportement surprenant peut être expliqué par des phénomènes

d'entraînement, effet synergique de l'éthyl-4-phénol et l'hexanoate d'éthyle en solution hydro alcoolique quand ils sont en mélange, favorisant leur sorption dans les PE.

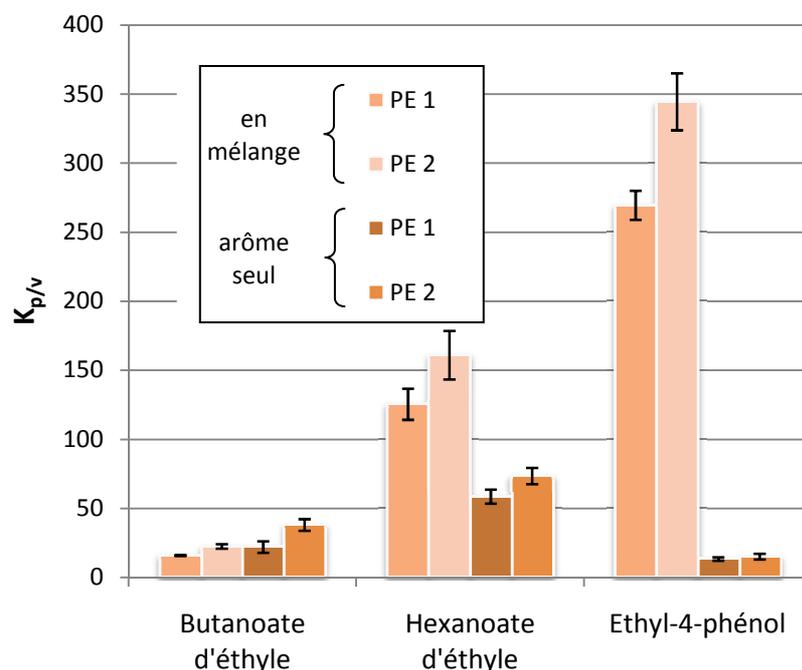


Figure 47 : Coefficient de partage entre les films PE 1 et PE 2 et les composés d'arôme (butanoate d'éthyle, hexanoate d'éthyle et éthyl-4-phénol) présents en mélange ou seuls dans une solution d'éthanol à 12% (v/v)

IV.2. *Pertes en composés d'arôme par sorption et perméation (solution en contact avec une seule face du film)*

Lors de cette expérience, nous avons mesuré à la fois les pertes en composés d'arôme par perméation et par sorption seulement après contact pendant 5 jours d'une face du film avec la solution hydro alcoolique. Ce temps bien que court est déjà suffisant pour observer les phénomènes de transferts.

On se retrouve ainsi dans un cas très proche de celui du Bag in Box mais avec un rapport surface/volume différent. En effet, dans un BIB de 3 litres, le ratio de la surface au contact du vin sur le volume de vin est de $26,13 \text{ m}^{-1}$ alors que, dans notre méthode de sorption, le ratio est de $15,7 \text{ m}^{-1}$. De plus, il n'y a pas d'espace de tête, retourné ou non.

Tout d'abord, les coefficients de partage obtenus dans ces conditions ont été comparés avec les coefficients de partage (rapport entre la concentration d'arôme dans le polymère (g m^{-3}) et la concentration en composé d'arôme (g m^{-3}) au contact du film lorsque l'équilibre est atteint) déterminés par immersion des films dans la même solution pendant 21 jours et sont présentés dans le Tableau 22.

De façon surprenante et malgré un temps de contact plus court, les coefficients de partage pour les films en contact avec la solution par une seule face ont des valeurs plus élevées que ceux déterminés par immersion. Comme pour les composés d'arôme purs, nous pouvons supposer que le gradient de concentration différent entre chaque phase augmente le transfert et donc la sorption. Un coefficient de partage de 45, proche de la valeur obtenue dans le PE 1, a été trouvé par Sheung *et al.* (Sheung *et al.*, 2007) pour le butanoate d'éthyle au contact d'un film multicouche (LDPE/papier/PE/Al/LDPE) dont l'épaisseur totale de LDPE est égale à 76,31 μm .

Comme précédemment décrit et observé aux plus faibles concentrations, le PE 2 sorbe de façon plus importante les esters que le PE 1, l'accessibilité aux sites d'interaction serait plus grande dans le PE 2 du fait de son niveau de branchement.

Tableau 22 : Coefficient de partage entre les films PE 1 et PE 2 et les composés d'arôme (butanoate d'éthyle et l'hexanoate d'éthyle) en solution hydroalcoolique (éthanol 12% v/v), les films étant mis en contact de la solution par une face ou directement immergés.

Composés d'arôme	Contact avec 1 face		Contact avec 2 faces	
	Butanoate d'éthyle	Hexanoate d'éthyle	Butanoate d'éthyle	Hexanoate d'éthyle
PE 1	65 \pm 7	394 \pm 4	16 \pm 0,001	125 \pm 11
PE 2	343 \pm 3	735 \pm 7	22 \pm 2	161 \pm 18

Dans un deuxième temps, les pertes en composés d'arômes ont été calculées en tenant des quantités sorbées mais aussi de celles qui ont perméé et des quantités résiduelles restant en solutions 25°C. Les résultats sont présentés Figure 48 pour le butanoate d'éthyle, pour l'hexanoate d'éthyle et pour l'éthyl-4-phénol. Ils montrent que l'on retrouve bien les composés d'arôme puisque la somme des différentes quantités

estimées correspond bien à la quantité d'arôme présente au départ. La méthode utilisée (SPME) et les conditions de prélèvement sont bien adaptées. Alors que la perméation du butanoate d'éthyle représente 9% et 11% du bilan final (solution finale + perméation + sorption) respectivement pour le PE 1 et le PE 2, elle n'est que de 3 % pour l'hexanoate d'éthyle à travers les deux PE. Ce comportement avait déjà été observé lors des mesures de perméation de ces deux composés purs. Le butanoate d'éthyle étant le plus léger des deux esters, il traverse le film polymérique de façon plus importante. Par contre, la structure des films de PE ne semble pas influencer la perméation des arômes car la différence de perméation entre les films n'est pas significativement différente.

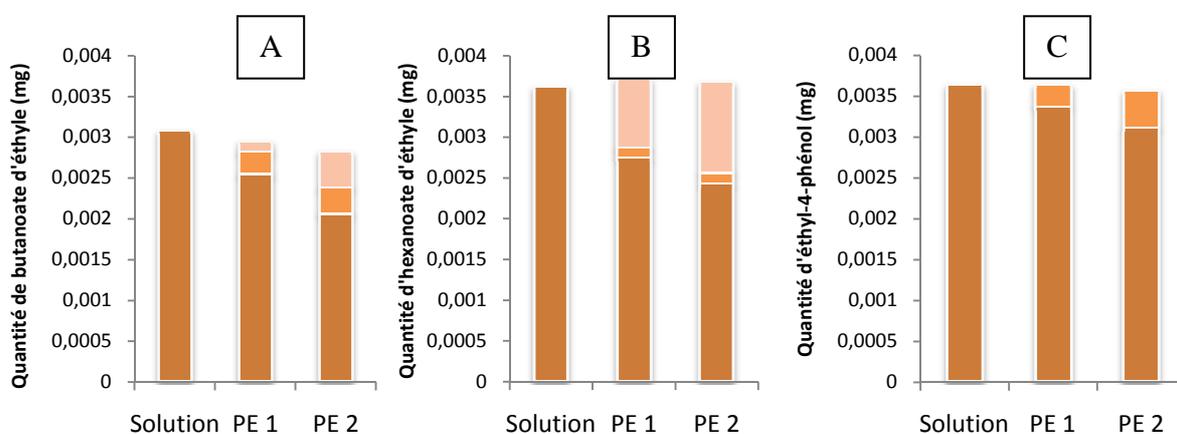


Figure 48 : Quantité de butanoate d'éthyle (A), d'hexanoate d'éthyle (B) et d'éthyl-4-phénol(C) dans la solution (■), perdue par perméation à travers les films (■) et perdue par sorption dans les films (■) à 25°C après 5 jours de contact entre les films de PE et les composés d'arômes en solution hydroalcoolique modèle.

Le phénomène de sorption est celui qui entraîne le plus de perte dans le cas de l'hexanoate d'éthyle mais qui est négligeable dans le cas de l'éthyl-4-phénol. L'absence de cette molécule d'arôme dans les films de PE peut être expliquée par le fait qu'elle peut se désorber sur l'autre face du PE et que la diffusion est tellement rapide que l'on ne peut pas mesurer la présence d'éthyl-4-phénol dans les films.

La perte totale respectivement pour le PE 1 et le PE 2 est de 26 et 33% pour l'hexanoate d'éthyle, de 13 et 27% pour le butanoate d'éthyle, 7 et 13% pour l'éthyl-4-phénol. La perte maximale en arôme observée dans ce travail est donc de 33%. Bien que cette valeur paraisse importante, nous n'avons pas relié cette perte aux conséquences

qu'elle peut avoir sur le profil organoleptique d'un vin. Cependant, des études portant sur le jus d'orange conditionné dans des emballages plastiques ont montré qu'un panel ne percevait pas la perte du d-limonène, la sorption pouvant atteindre 50% (Pieper *et al.*, 1992; van Willige *et al.*, 2003).

La perte de 30% d'hexanoate d'éthyle et de butanoate d'éthyle dans la solution modèle équivaut à une teneur finale de 0,7 mg L⁻¹ pour chaque arôme. En sachant que les seuils de perception dans le vin de l'hexanoate d'éthyle et du butanoate d'éthyle sont respectivement de 0,08 mg L⁻¹ (Etievant, 1991) et 0,02 mg L⁻¹ (Vilanova & Martínez, 2006), les teneurs finales sont plus de dix fois supérieures aux seuils de perception. Nous pouvons donc supposer que la perte en arôme ne sera pas perçue par le consommateur.

V. Conclusions

L'ensemble des résultats obtenus nous ont permis de mettre en avant les effets associés aux composés d'arôme et à la structure des films de polyéthylène. D'une façon générale, la sorption est influencée par la polarité des composés, par la concentration de ces composés ainsi que l'état des molécules. La diffusion est pour sa part influencée par le poids moléculaire et l'encombrement stérique des composés d'arôme ainsi que leur concentration. Une concentration élevée en composé d'arôme peut provoquer une plastification du polymère, un gonflement, une augmentation de la mobilité des chaînes polymériques et une diminution de ces propriétés barrières. Cet effet expliquerait en particulier les valeurs trouvées lors de la sorption des arômes purs en phase liquide.

La sorption et la diffusion obtenues avec les composés d'arôme purs permettent d'avoir une bonne indication des caractéristiques des films. L'utilisation de ces méthodes se justifie car elle permet d'établir les relations entre le transfert d'arôme et la structure du film.

La détermination des pertes par perméation et sorption en composé d'arôme d'une solution modèle donne des résultats plus réalistes, mais la méthode est plus délicate à

mettre en place à cause des faibles concentrations en arôme et ne prend pas en compte l'espace de tête.

TRANSFERT DE GAZ DANS LES BIB

Dans ce chapitre, nous nous sommes principalement intéressés au transfert d'oxygène dans le BIB. En effet, il apparaît que l'oxygène est le facteur le plus important dans l'évolution des vins en BIB. En 2004, Boulet *et al.* ont montré que les vins conditionnés en BIB ont un caractère plus oxydé et une moins bonne qualité d'ensemble que les vins en bouteilles dès trois mois de stockage. Ils ont également montré l'impact de l'oxygène initialement dissous sur cette caractéristique.

Le but était de développer une méthode de mesure des transferts d'oxygène dans l'emballage BIB entier et de pouvoir relier les perméabilités mesurées en phase gaz aux transferts réels.

I. Mise au point du système de mesure

Afin de mesurer l'oxygène dissous dans les BIB, il nous a paru important de mettre au point une méthode de mesure spécifique à cet emballage.

Classiquement, la mesure de l'oxygène dissous est réalisée à l'aide d'une sonde polarographique utilisée dans un montage spécifique (mis au point à l'Unité Expérimentale de Pech Rouge) : il faut placer une vanne trois voies au niveau de la chambre de circulation où est installée la sonde polarographique afin de permettre soit la purge du circuit à l'azote, soit l'admission du vin dans la chambre à circulation. Le BIB est positionné à 2-3 m de hauteur par rapport à la chambre de circulation pour obtenir un débit supérieur à 9 L h⁻¹. Le circuit est tout d'abord purgé à l'azote jusqu'à ce que l'oxygène mesuré soit inférieur à 5 µg L⁻¹. Ensuite, le vin est mis en circulation afin de mesurer l'oxygène dissous qu'il contient.

Bien que cette méthode soit précise et répétable, elle oblige à utiliser beaucoup de BIB lorsque l'on souhaite faire un suivi au cours du temps de la quantité d'oxygène dissous dans le vin. En effet, par exemple, si on veut faire une mesure toutes les semaines pendant trois mois avec trois répliques pour chaque point, il faut utiliser 39 BIB.

Nous avons donc cherché à mettre au point un système de mesure de l'oxygène dissous en continu. Les sondes optiques proposées par PreSens (Precision Sensing GmbH, Allemagne) sont intéressantes car elles permettent un suivi en continu de

l'oxygène dissous et ont été utilisées initialement pour les bouteilles de PET (Huber, 2006). Dans le cas du BIB, elles peuvent être utilisées sur les poches transparentes mais pas sur les poches à base de polyester métallisé à cause de l'opacité de ces poches. Une première solution envisagée avait été de délaminer le film extérieur afin d'enlever la couche métallisée mais avec le risque d'abîmer la poche. L'idée que nous avons retenue est l'utilisation d'un passe paroi (Figure 27) permettant la mesure de l'oxygène dissous en continu tout en pouvant réutiliser les sondes pour d'autres mesures. Nous avons vérifié qu'il n'y avait pas de fuite au système en comparant le transfert d'oxygène mesuré avec une pastille directement collée sur la face intérieure d'une poche transparente et une pastille insérée grâce au système de passe-paroi. Puis le transfert d'oxygène a été mesuré dans les BIB remplis avec le tampon CMP et avec différents vins blancs.

II. Transfert d'oxygène avec le tampon CMP

II.1. *Méthodologie*

Il s'agit de mesurer l'entrée d'oxygène dans les BIB et définir l'impact de différents facteurs tels que le type d'emballage, l'oxygène dissous initialement, l'agitation, la présence de SO₂ et d'alcool.

En statistiques, un plan d'expérience est une expérience étudiant deux facteurs ou plus (A, B, C...), chacun avec des valeurs possibles discrètes ou « niveaux ». Une telle expérience permet d'étudier l'effet de chaque facteur sur la variable « réponse », aussi bien que les effets des interactions entre les facteurs sur la variable de réponse.

Pour un plan complet, le nombre k de facteurs détermine les 2^k expériences à deux niveaux. Si le nombre d'expériences pour un plan factoriel complet est trop élevé pour être logistiquement réalisable, un plan factoriel partiel peut être conçu si tous les facteurs ont deux niveaux. Dans cette étude, un des facteurs a 4 niveaux et les quatre autres facteurs en ont 2.

De plus, le but était d'identifier quels facteurs parmi tous les facteurs sont les plus importants, sans tenir compte des interactions possibles. Pour ce faire, un plan d'expérience avec le plus faible nombre d'essais a été choisi parmi les matrices proposées par Génichi Taguchi. Il a été choisi une matrice L8 (avec 8 essais à réaliser au lieu de 64 essais pour un plan factoriel complet). Suivant cette matrice, le plan d'expérience détaillé dans le Tableau 23 a été conçu. Ce plan traite 4 niveaux pour le paramètre « emballage » (EVOH 1, mPET 1, EVOH 2, mPET 2), 2 niveaux pour l'oxygène dissous initial (0,5 mg L⁻¹ et 4 mg L⁻¹), 2 niveaux pour l'agitation (sans agitation et tous les 3,5 jours), 2 niveaux pour le SO₂ initial (sans et 76 mg L⁻¹) et 2 niveaux pour l'alcool (sans et 11,8% v/v éthanol). L'agitation simule le transport que peuvent subir les poches de BIB. Les essais ont été réalisés en triples dans une chambre régulée à 20°C et 60% d'humidité relative.

Tableau 23 : Plan Taguchi L8(4¹2⁴) utilisé pour étudier les effets des 5 facteurs sur 8 essais avec la solution modèle. Chaque ligne représente un essai du plan et chaque colonne les paramètres du facteur.

	Emballage	Oxygène initial	Agitation	SO ₂	Alcool	Réponse
Essai 1	1	1	1	1	1	r ₁
Essai 2	1	2	2	2	2	r ₂
Essai 3	2	1	1	2	2	r ₃
Essai 4	2	2	2	1	1	r ₄
Essai 5	3	1	2	1	2	r ₅
Essai 6	3	2	1	2	1	r ₆
Essai 7	4	1	2	2	1	r ₇
Essai 8	4	2	1	1	2	r ₈

Paramètre « emballage » : EVOH 1, mPET 1, EVOH 2, mPET 2

Paramètre « oxygène dissous initial » : 0,5 mg L⁻¹ et 4 mg L⁻¹

Paramètre « agitation » : sans agitation et tous les 3,5 jours

Paramètre « SO₂ initial » : sans et 76 mg L⁻¹

Paramètre « alcool » : sans et 11,8% v/v éthanol

Le plan d'expérience est utilisé pour étudier simultanément des variables multiples X (également appelé facteurs ou paramètres : emballage, oxygène initial, agitation, SO₂ et alcool dans le Tableau 23), par calcul de leur effet moyen $\alpha(X)$ sur une réponse précise r_i (i étant l'essai : 1 à 8 dans le Tableau 23). La réponse observée est le résultat des variations combinées des différents facteurs étudiés dans chacun des essais. Dans notre cas, les essais sont les suivis d'entrée d'oxygène, les facteurs sont les paramètres pouvant influencer sur l'entrée d'oxygène et/ou sa consommation et la réponse r est la constante de vitesse.

L'effet d'un facteur X est la variation calculée $\alpha(X)$ induit sur la réponse étudiée quand le facteur X change d'un niveau à un autre.

Pour exemple, prenons un facteur ayant deux niveaux :

- $\alpha_1(X)$ est la moyenne des réponses r_i obtenues quand le niveau 1 est affecté au facteur X.
- $\alpha_2(X)$ est la moyenne des réponses r_i obtenues quand le niveau 2 est affecté au facteur X.
- $\alpha(X)$ est la moyenne de la différence entre $\alpha_1(X)$ et $\alpha_2(X)$: $\alpha(X)=[\alpha_2(X) - \alpha_1(X)]/2$.

$$\alpha_1(\text{agitation}) = [r_1 + r_3 + r_5 + r_7]/4$$

$$\alpha_2(\text{agitation}) = [r_2 + r_4 + r_6 + r_8]/4$$

$$\alpha(\text{agitation})=[\alpha_1(\text{agitation}) - \alpha_2(\text{agitation})]/2 = [(r_2 + r_4 + r_6 + r_8) - (r_1 + r_3 + r_5 + r_7)]/8$$

L'effet $\alpha(X)$ est plus ou moins important et peut être positif ou négatif. Quand $\alpha(X)$ est positif, cela signifie que la réponse est plus affectée par le niveau 2 que par le niveau 1 et vice versa.

La réponse moyenne Y des variations de tous les facteurs pour toutes les expériences est la moyenne de toutes les réponses r_i : $Y = [r_1 + r_2 + r_3 + r_4 + r_5 + r_6 + r_7 + r_8]/8$

L'effet des facteurs peut être symbolisé sur un graphique (Figure 49):

- sur l'axe des abscisses, les différents niveaux sont représentés,
- sur l'axe des ordonnées, la moyenne des effets $\alpha_1(X)$ and $\alpha_2(X)$ correspondant au facteur.

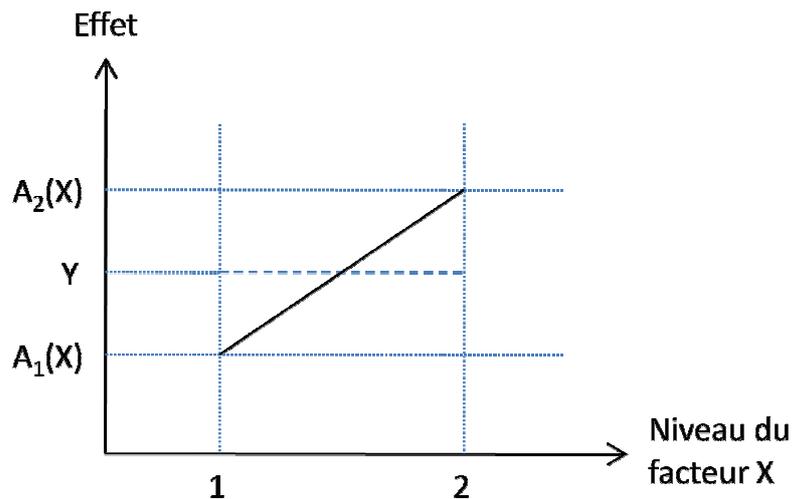


Figure 49 : Représentation graphique de l'effet de variation d'un facteur dans un plan d'expérience.

La ligne représente l'effet ascendant ou descendant du facteur : plus la pente est importante, plus l'effet est fort. Cette représentation, complétée avec l'effet des autres facteurs, permet d'apprécier et de comparer les effets des différents paramètres de façon rapide et efficace.

II.2. Modélisation linéaire

Classiquement en œnologie, le taux de transfert d'oxygène est mesuré sur différentes périodes avec un ajustement linéaire (Lopes *et al.*, 2005). Ainsi, le taux de transfert a été mesuré au cours de la première semaine, puis pendant la deuxième semaine et la troisième période correspond au début de la troisième semaine jusqu'à la fin de période transitoire de la cinétique. La Figure 50 représente la cinétique de transfert d'oxygène exprimée avec le ratio de la quantité d'oxygène à un temps t sur la quantité d'oxygène à un temps infini (ici, à saturation) en fonction du temps.

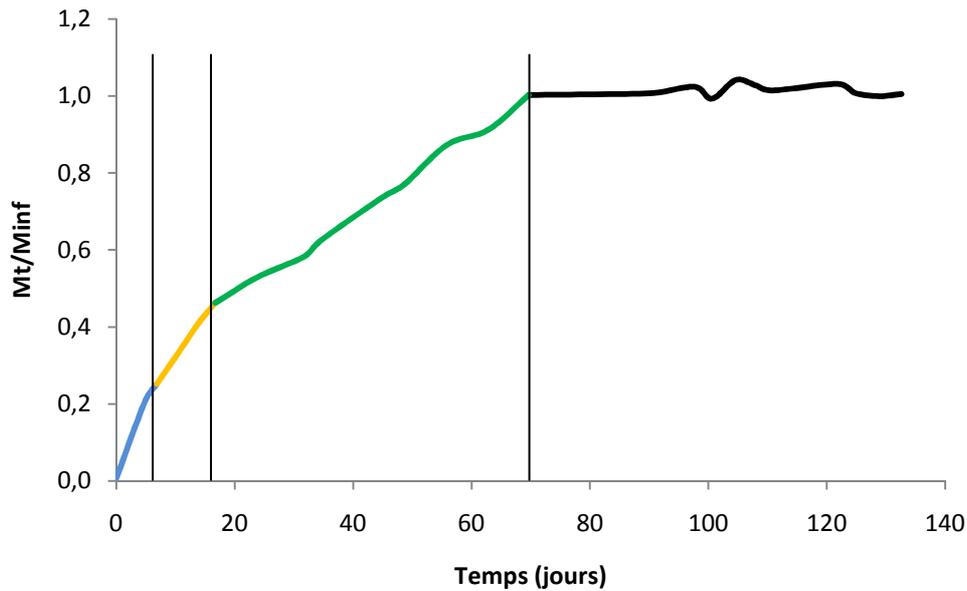


Figure 50 : Exemple de cinétique de transfert d'oxygène obtenue avec la décomposition en plusieurs périodes (1^{ère} semaine en bleu, 2^{ème} semaine en orange et 3^{ème} période en vert). Cet exemple est issu de l'essai 5.

Les équations des droites de corrélation linéaire obtenues pour chaque période sont du type $y = a + kx$, avec k le coefficient de vitesse de la droite correspondant au taux de transfert d'oxygène pouvant être exprimé en $\text{mg L}^{-1} \text{ jour}^{-1}$ (Tableau 24). De façon similaire, des valeurs du taux d'entrée d'oxygène dans des bouteilles en verre ont été déterminées par des régressions linéaires (Lopes *et al.*, 2006). Ces auteurs ont trouvé des valeurs comprises entre $0,024$ et $0,073 \text{ mg L}^{-1} \text{ jour}^{-1}$ pendant le premier mois et entre $0,0002$ et $0,024 \text{ mg L}^{-1} \text{ jour}^{-1}$ pour la période comprise entre le deuxième et le trente sixième mois. Il semblerait que les valeurs de transfert d'oxygène obtenues avec des poches de Bag-in-Box soient proches de la gamme de valeurs obtenues avec les bouteilles en verre avec bouchons synthétiques ou naturels. De plus, les valeurs de transfert d'oxygène mesurées au-delà d'un mois de stockage sont similaires à celles trouvées par Lopes *et al.* (2006) un mois après embouteillage.

Alors que les différences apparaissent de façon très nette entre les essais au cours de la première semaine, ces écarts diminuent au cours de la deuxième et la troisième période. La modélisation linéaire ne semble pas cependant la plus adéquate car elle ne

tient pas compte de l'ensemble de la cinétique. C'est pourquoi les résultats présentés dans le Tableau 24 ne seront pas plus commentés.

Tableau 24 : Coefficients de vitesse ($\text{mg L}^{-1} \text{ jour}^{-1}$) déterminés par équations de droites de corrélation linéaire pendant les trois périodes de la cinétique

	1 ^{ère} période		2 ^{ème} période		3 ^{ème} période	
	Moyenne	Ecart-type	Moyenne	Ecart-type	Moyenne	Ecart-type
Essai 1	0,100 ^a	0,041	0,100 ^a	0,007	0,044 ^{a,b,c,d,f,g}	0,029
Essai 2	0,105 ^a	0,001	0,044 ^b	0,003	0,067 ^a	0,001
Essai 3	0,627 ^b	0,163	0,024 ^c	0,005	0,029 ^b	0,005
Essai 4	0,362 ^b	0,092	0,080 ^d	0,004	0,044 ^c	0,004
Essai 5	0,255 ^b	0,077	0,143 ^e	0,001	0,087 ^d	0,001
Essai 6	0,073 ^c	0,024	0,024 ^c	0,001	0,143 ^e	0,001
Essai 7	0,074 ^c	0,009	0,065 ^f	0,007	0,053 ^f	0,002
Essai 8	0,036 ^d	0,012	0,051 ^b	0,010	0,030 ^g	0,007

^{a, b, c, d, e, f, g} Anova réalisée par colonne. Les valeurs avec la même lettre ne sont pas significativement différentes avec un intervalle de confiance de 95%.

II.3. Modélisation exponentielle

Au vu de la forme des cinétiques de transfert, un ajustement de type exponentiel [$y=a(1-e^{-kx})$ ou $y=y_0 + a(1-e^{-kx})$] semble meilleur qu'un ajustement linéaire sur les différentes périodes décrites car l'ajustement prend en compte l'ensemble de la courbe. Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 25. Les résultats sont très différents selon l'approche adoptée. L'estimation de l'ajustement exponentiel permet de choisir entre les deux simulations : la seconde [$y=y_0 + a(1-e^{-kx})$] apparaît comme étant la plus juste car l'estimation de l'ajustement est plus faible (environ 0,05).

Tableau 25 : Vitesses de transfert de l'oxygène ($\text{mg L}^{-1} \text{ jour}^{-1}$) déterminées dans les poches de BIB par ajustements de type exponentiel.

	$y=a(1-e^{-kx})$			$y=y_0 + a(1-e^{-kx})$		
	Moyenne	Ecart-type	SEE	Moyenne	Ecart-type	SEE
Essai 1	0,051 ^a	0,029	0,09	0,036 ^a	0,021	0,05
Essai 2	0,030 ^b	0,001	0,12	0,053 ^b	0,001	0,05
Essai 3	0,018 ^c	0,002	0,10	0,013 ^c	0,003	0,07
Essai 4	0,984 ^d	0,012	0,15	0,015 ^c	0,008	0,05
Essai 5	0,028 ^b	0,004	0,05	0,026 ^a	0,004	0,05
Essai 6	0,023 ^c	0,004	0,07	0,005 ^d	0,001	0,04
Essai 7	0,030 ^b	0,001	0,10	0,013 ^c	0,001	0,05
Essai 8	0,194 ^e	0,055	0,14	0,006 ^d	0,001	0,05

SEE : erreur standard de la simulation ;

^{a, b, c, d, e} : Anova réalisée par colonne. Les valeurs avec la même lettre ne sont pas significativement différentes avec un intervalle de confiance de 95%.

A partir de ces résultats, une analyse du plan Taguchi a été effectuée et donne les résultats suivants.

II.3.i. Effet emballage

Grâce à la représentation graphique de la vitesse de transfert de l'oxygène (Figure 51), nous pouvons observer l'effet moyen lié aux différents niveaux de la modalité « emballage ». Ainsi, la poche 1 a un comportement très différent des trois autres : la poche à base d'EVOH, très sensible à l'humidité, est beaucoup plus perméable que les poches issues de films en polyester métallisé ou fabriquées avec deux films d'EVOH.

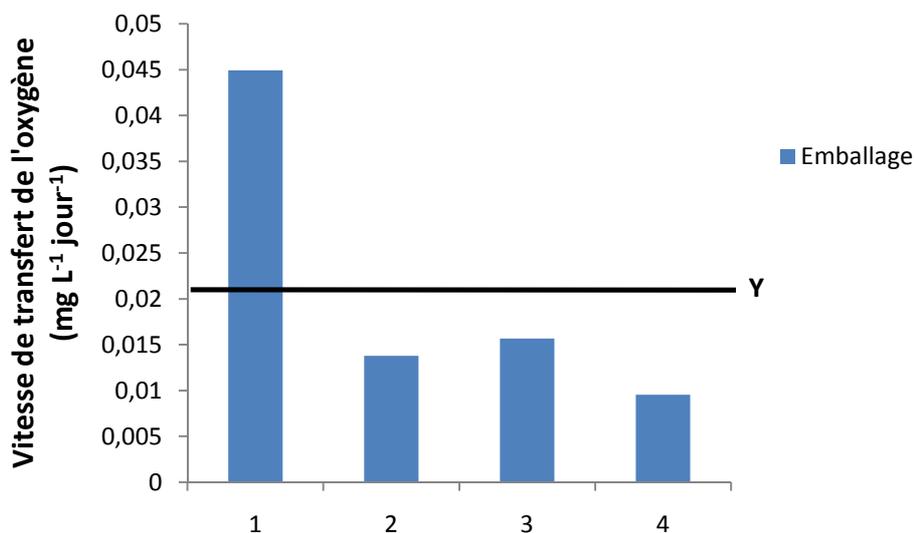


Figure 51 : Représentation graphique de l'effet moyen de chaque niveau de la modalité « emballage » ainsi que l'effet moyen de toutes les modalités (Y).

II.3.ii. Autres effets

Comme précédemment, la représentation graphique de la vitesse de transfert de l'oxygène présentée Figure 52 nous permet d'observer l'effet moyen lié aux différents niveaux des modalités « oxygène », « agitation », « SO₂ » et « alcool ». L'impact de l'agitation est le plus important, vient ensuite l'effet de l'alcool, l'effet de l'oxygène et enfin l'effet du SO₂ initial : respectivement, les modalités présentent 38, 20, 6 et 1% de variation

par rapport à la moyenne des effets. Alors que l'impact positif de la présence d'alcool et de l'agitation sur le transfert d'oxygène était attendu, les deux autres sont plus surprenants. En fait, si la concentration en oxygène initial est élevée, la différence de concentration entre l'intérieur et l'extérieur de la poche est plus petit et donc le transfert d'oxygène s'en trouve réduit. Le SO₂ n'a pratiquement pas d'impact en solution modèle. Le SO₂ ne semble donc pas augmenter le transfert comme nous l'attendions. En effet, la consommation rapide du SO₂ aurait pu entraîner une augmentation du transfert de l'oxygène en augmentant rapidement la différence de pression partielle de l'oxygène de part et d'autre de la poche.

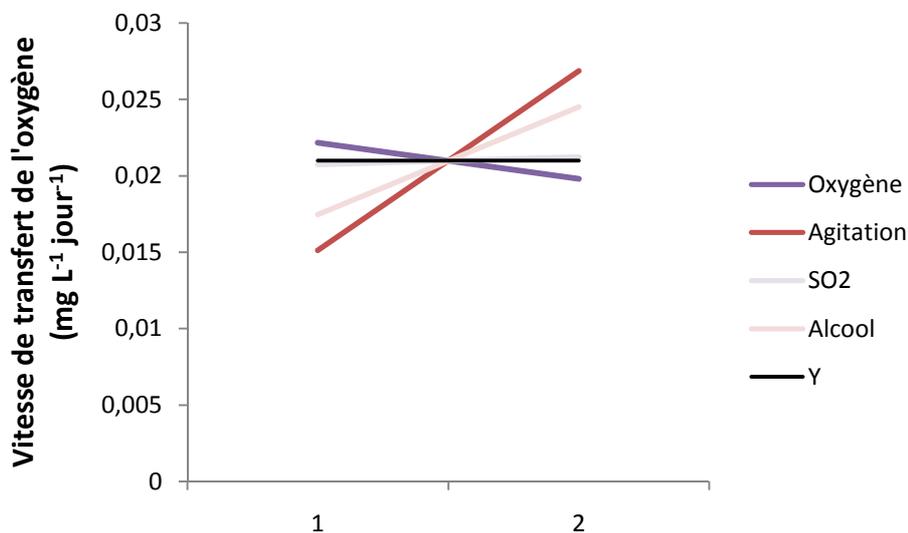


Figure 52 : Représentation graphique de l'effet moyen de chaque niveau des modalités « oxygène », « agitation », « SO₂ » et « alcool » ainsi que l'effet moyen de toutes les modalités (Y). 4 répétitions pour chaque modalité.

II.3.iii. Comparaison des méthodes de mesure

Les perméabilités à l'oxygène des films données par les fournisseurs de poches ont été utilisées afin d'estimer le taux de transfert d'oxygène à travers la poche entière (sans tenir compte du robinet et de la valve). Ce taux de transfert a été comparé avec celui que nous avons mesuré avec la solution modèle.

La poche 1 qui était donnée comme la plus perméable reste la plus perméable dans nos conditions. Le classement des trois autres poches ne suit pas le même ordre en fonction des conditions de mesure. La poche 2 semble avoir des propriétés barrière à l'oxygène meilleures dans le cas de la mesure avec une solution modèle. Les films semblent être influencés de façon différente en fonction de leur composition.

De plus, les valeurs obtenues dans la présente étude sont 2 fois moins importantes, ceci pouvant être dû à la vitesse de dissolution de l'oxygène dans la solution modèle, cette étape de dissolution n'ayant pas lieu en phase gaz/gaz. De plus, les résultats obtenus sont moins disparates. En effet, les poches se classent en 2 groupes alors qu'elles sont toutes différentes en phase gaz/gaz.

Tableau 26 : Valeurs de transfert d'oxygène ($\text{mg L}^{-1} \text{ jour}^{-1}$) à travers les poches remplies avec le tampon CMP et à travers les films mesurés dans des conditions standards en phase gaz (données par les fournisseurs de poches)

Poches	Transfert d'oxygène ($\text{mg L}^{-1} \text{ jour}^{-1}$)	
	Liquide	Gaz
1	$0,044 \pm 0,012$	0,073
2	$0,014 \pm 0,0013$	0,037
3	$0,016 \pm 0,0015$	0,026
4	$0,010 \pm 0,005$	0,018

II.3.iv. Sorption détecté par spectroscopie IR-TF

Une des questions posées par les conditionneurs de BIB est de savoir s'il y a ou non une perte de SO_2 par sorption dans les films. Les spectres obtenus par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier ne montre pas de sorption de SO_2 . En effet, aucune bande d'absorbance n'est détectée aux fréquences spécifiques du SO_2 suivantes : 1150 et 1360 cm^{-1} (Giguère & Savoie, 1965; Vasiljeva *et al.*, 1995). Cependant, la limite de détection de la spectroscopie infra-rouge est élevée (1000 g.m^{-3}), ce qui ne permet peut-être pas de détecter la sorption de SO_2 .

Cependant, ces spectres nous ont permis de mettre en évidence la présence d'eau sorbée dans les films de PE aux fréquences comprises entre 3800-2800 cm^{-1} (Wan *et al.*,

2007). Ainsi sur la Figure 53, un pic est détecté vers 3400 cm^{-1} . Le transfert d'eau a déjà été montré précédemment.

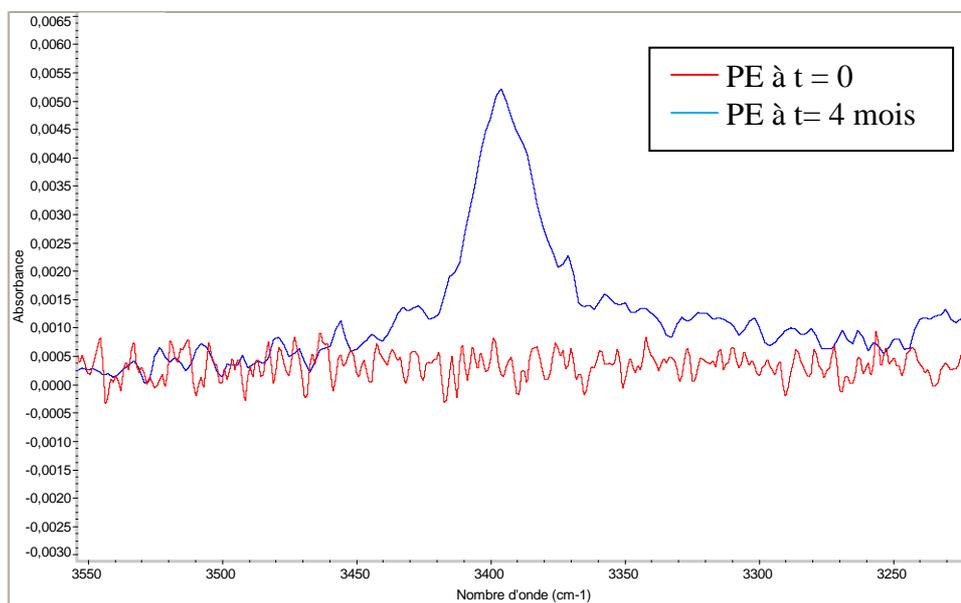


Figure 53 : Exemple de spectre infrarouge obtenu : films de polyéthylène au temps initial (rouge) et après 4 mois de contact avec la solution modèle (bleu)

III. Transfert d'oxygène dans les vins

III.1. Méthodologie

Comme précédemment, il s'agit de mesurer l'entrée d'oxygène dans les BIB et de définir l'impact de différents facteurs tels que le type d'emballage, l'oxygène dissous initialement et l'agitation, la présence de SO_2 et d'alcool n'étant pas dans le cas du vin des paramètres de variation. Le plan choisi est une matrice Taguchi L8 dont le plan d'expérience est détaillé dans le Tableau 27 a été conçu. Ce plan traite 4 niveaux pour le paramètre « emballage » (EVOH 1, mPET 1, EVOH 2, mPET 2), 2 niveaux pour l'oxygène dissous initial ($0,5$ et 4 mg L^{-1}) et 2 niveaux pour l'agitation (sans agitation et tous les 3,5 jours).

Tableau 27 : Plan Taguchi L8(4¹2²) pour étudier les effets des 3 facteurs sur 8 essais avec le vin Pech Rouge et Mont Baudille. Chaque ligne représente un essai du plan et chaque colonne les paramètres du facteur.

	Emballage	Oxygène initial	Agitation	Réponse
Essai 1	1	1	1	X ₁
Essai 2	1	2	2	X ₂
Essai 3	2	1	1	X ₃
Essai 4	2	2	2	X ₄
Essai 5	3	1	2	X ₅
Essai 6	3	2	1	X ₆
Essai 7	4	1	2	X ₇
Essai 8	4	2	1	X ₈

Paramètre « emballage » : EVOH 1, mPET 1, EVOH 2, mPET 2

Paramètre « oxygène dissous initial » : 0,5 et 4 mg L⁻¹

Paramètre « agitation » : sans agitation et tous les 3,5 jours

III.2. Essai avec le vin blanc « Mont Baudille »

Suite à des problèmes techniques (le mastic qui tient le système se dissout dans le vin), seuls les essais 2, 4, 7 et 8 ont été réalisés avec le vin de Pays Mont Baudille dont les résultats sont présentés dans le Tableau 28.

Tableau 28 : Vitesse de transfert de l’oxygène (mg L⁻¹ jour⁻¹) dans les poches de BIB

	y=a(1-e ^{-ky})			y=y ₀ + a(1-e ^{-ky})		
	Moyenne	Ecart-type	SEE	Moyenne	Ecart-type	SEE
X ₁	-	-	-	-	-	-
X ₂	0,086 ^a	0,001	0,02	0,087 ^a	0,002	0,02
X ₃	-	-	-	-	-	-
X ₄	0,050 ^b	0,005	0,09	0,017 ^b	0,002	0,06
X ₅	-	-	-	-	-	-
X ₆	-	-	-	-	-	-
X ₇	0,129 ^c	0,012	0,03	0,132 ^c	0,012	0,03
X ₈	0,044 ^d	0,006	0,09	0,042 ^d	0,004	0,08

SEE : erreur standard de la simulation ;

^{a, b, c, d} : Anova réalisée par colonne. Les valeurs avec la même lettre ne sont pas significativement différentes avec un intervalle de confiance de 95%.

Les résultats obtenus sont insuffisants pour pouvoir comparer les différentes modalités.

En plus de ces essais, la vitesse de consommation d’oxygène du vin en bouteille (sans espace de tête) a été mesurée avec une teneur en oxygène dissous initial de 2 et 4 mg L⁻¹. Les vitesses respectives de consommation d’oxygène obtenues sont de 0,10 ± 0,02 et

$0,066 \pm 0,004 \text{ mg L}^{-1} \text{ jour}^{-1}$. Lorsque l'on essaie de modéliser l'ensemble des phénomènes se produisant dans les BIB (transfert d'oxygène – consommation de l'oxygène par le vin) avec l'équation 36, la modélisation ne s'ajuste pas aux points expérimentaux. En fait, la vitesse de consommation d'oxygène dans les bouteilles ne correspond pas à la capacité maximale de consommation du vin. Si le vin était à nouveau mis en présence d'oxygène, il continuerait à consommer de l'oxygène.

$$y = y_0 + a(1 - e^{-kx}) + a'e^{-k'x} \quad \text{Équation 36}$$

III.3. *Essai avec le vin blanc « Pech Rouge »*

Après avoir résolu les problèmes techniques, des essais ont été mis en place avec le vin blanc Sauvignon de Pech Rouge en utilisant toujours le plan Taguchi (Tableau 27). Les essais ont des comportements très différents selon les modalités, ce qui rend difficilement exploitables les données. En effet, les cinétiques de transfert d'oxygène semblent constituées de deux phases (Figure 48) :

- avec un niveau d'oxygène dissous initial bas, une première phase (0 à 60 jours) pendant laquelle la teneur en oxygène augmente : le transfert de l'oxygène prime sur la consommation de l'oxygène par le vin ; puis vient une seconde phase (après 60 jours) où la consommation de l'oxygène l'emporte sur le transfert de l'oxygène ;
- avec un niveau d'oxygène dissous initial haut, une première phase avec une légère consommation apparente de l'oxygène jusqu'à atteindre un plateau : il semblerait que le transfert et la consommation de l'oxygène par le vin s'équilibrent. Puis la seconde phase débute à partir du 60^{ème} jour, la teneur en oxygène diminuant rapidement montre que la consommation d'oxygène prime très largement sur le transfert.

En fait il existe toujours une balance entre le transfert d'oxygène à travers la poche (sans oublier la présence de l'oxygène dans le ciel gazeux piégé lors du remplissage) et la consommation d'oxygène par le vin.

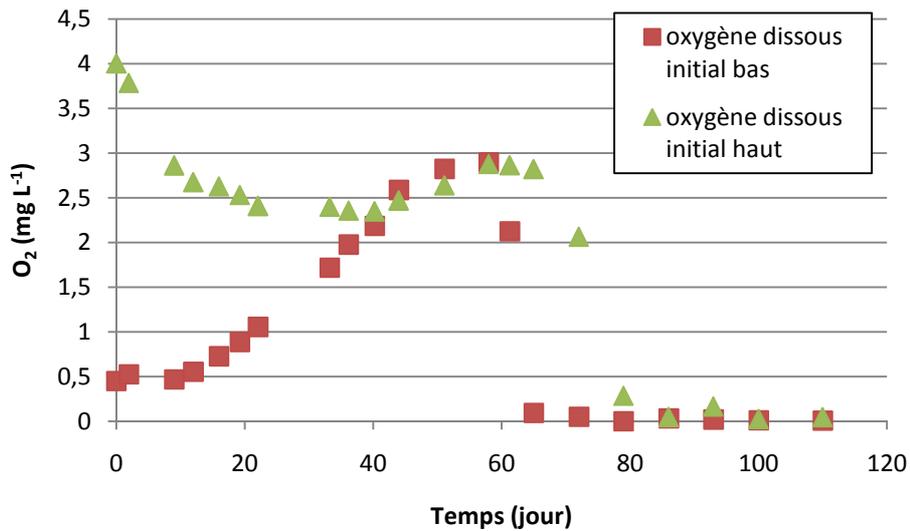


Figure 54 : Exemple de mesure de la concentration en oxygène dissous dans le vin blanc « Pech Rouge » conditionné dans la poche 4 en fonction du temps.

Les mesures de concentration d’oxygène en fonctions du temps ont été ajustées avec une régression linéaire pour la première phase et avec des régressions exponentielles pour la deuxième phase. Les vitesses de d’évolution de la teneur en oxygène dissous dans le vin ainsi calculées sont exposées dans le Tableau 29.

Tableau 29 : Evolution de la teneur en oxygène dissous (mg L⁻¹ jour⁻¹) dans les poches de BIB

	Phase 1			Phase 2					
	y=a + kx			y=a(1-e ^{-kx})			y=y ₀ + a(1-e ^{-kx})		
	Moyenne	Ecart-type	SEE	Moyenne	Ecart-type	SEE	Moyenne	Ecart-type	SEE
X ₁ ²	0,017 ^a	0,001	0,07	0,195 ^{a,d}	0,094	0,05	0,193 ^a	0,093	0,06
X ₂ ²	-0,008 ^b	0,001	0,06	0,055 ^b	0,008	0,08	0,052 ^b	0,010	0,08
X ₃ ²	0,006 ^c	0,001	0,08						
X ₄ ²	-0,011 ^b	0,001	0,08	0,077 ^c	0,008	0,09	0,063 ^b	0,006	0,09
X ₅ ²	0,014 ^a	0,003	0,11	0,232 ^d	0,067	0,09	0,231 ^c	0,068	0,10
X ₆ ²	0,011 ^d	0,001	0,09	0,097 ^{b,c}	0,039	0,08	0,118 ^a	0,001	0,07
X ₇ ²	0,017 ^a	0,001	0,10	0,174 ^d	0,069	0,11	0,158 ^a	0,084	0,11
X ₈ ²	-0,012 ^b	0,001	0,07	0,196 ^d	0,076	0,08	0,186 ^c	0,091	0,06

SEE : erreur standard de la simulation ;

a, b, c, d : Anova réalisée par colonne. Les valeurs avec la même lettre ne sont pas significativement différentes avec un intervalle de confiance de 95%.

A partir des résultats de la phase 2, une analyse du plan Taguchi a été effectuée et donne les résultats suivants.

III.3.i. Effet emballage

Grâce à la représentation graphique de la vitesse de transfert de l'oxygène (Figure 55), nous pouvons observer l'effet moyen lié aux différents niveaux de la modalité « emballage ».

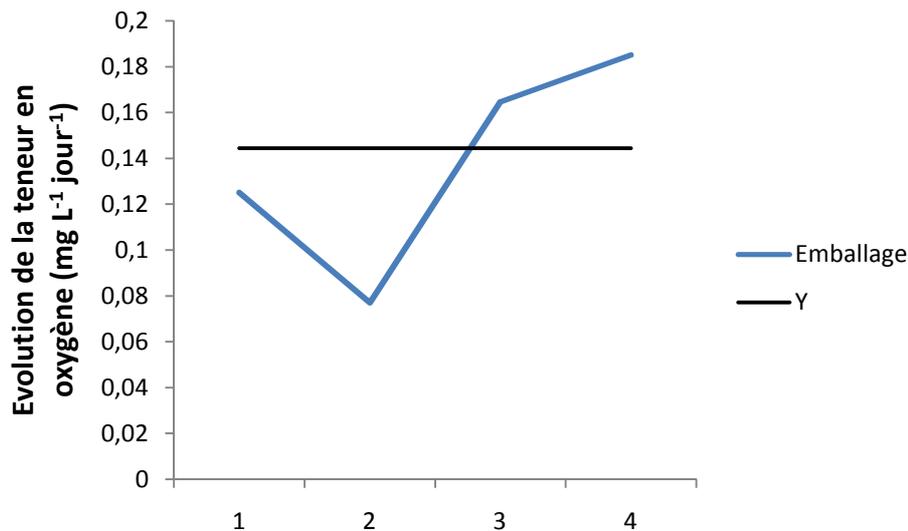


Figure 55 : Représentation graphique de l'effet moyen de chaque niveau de la modalité « emballage » ainsi que l'effet moyen de toutes les modalités (Y)

Cette représentation nous permet de voir quel est l'emballage le plus barrière. Toujours en considérant les deux phénomènes se produisant dans le BIB (transfert + consommation d'oxygène), les poches se classent dans l'ordre suivant : poche 2 > poche 1 > poche 3 > poche 4. Si la consommation d'oxygène par le vin est considérée comme identique quelques soient les poches, les poches se classent de la façon suivante en fonction de leur propriété barrière au transfert d'oxygène (du plus barrière au moins barrière) : poche 4 > poche 2 > poche 3 > poche 1. Ce classement est similaire à celui obtenu avec la solution modèle (tampon CMP) excepté pour la poche 2 car il manque l'essai 3 qui n'a pas de donner de résultats en termes de consommation.

III.3.ii. Autres effets

Comme précédemment, la représentation graphique de la vitesse de transfert de l'oxygène présentée Figure 56 nous permet d'observer l'effet moyen lié aux différents niveaux des modalités « oxygène » et « agitation ».

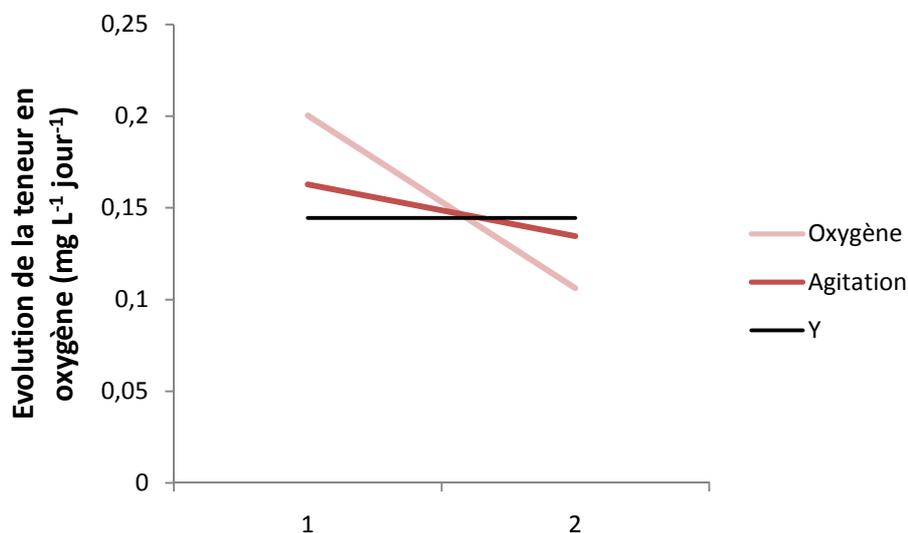


Figure 56 : Représentation graphique de l'effet moyen de chaque niveau des modalités « oxygène » et « agitation » ainsi que l'effet moyen de toutes les modalités (Y).

L'effet négatif de la concentration en oxygène initial est le même que celui mesuré avec le tampon CMP. Par contre, la modalité « agitation » a un effet inverse, ce qui montre que la consommation a bien un poids plus important sur la cinétique que le transfert.

III.3.i. Présence du ciel gazeux

Des essais ont été réalisés sur le vin blanc sauvignon « Pech Rouge » conditionné avec la poche 1 (la poche la plus perméable) avec le ciel gazeux présent dans les poches protégé ou non par une enduction de colle araldite sur le film plastique du côté du ciel gazeux afin d'essayer de limiter le transfert d'oxygène au niveau de ce ciel gazeux.

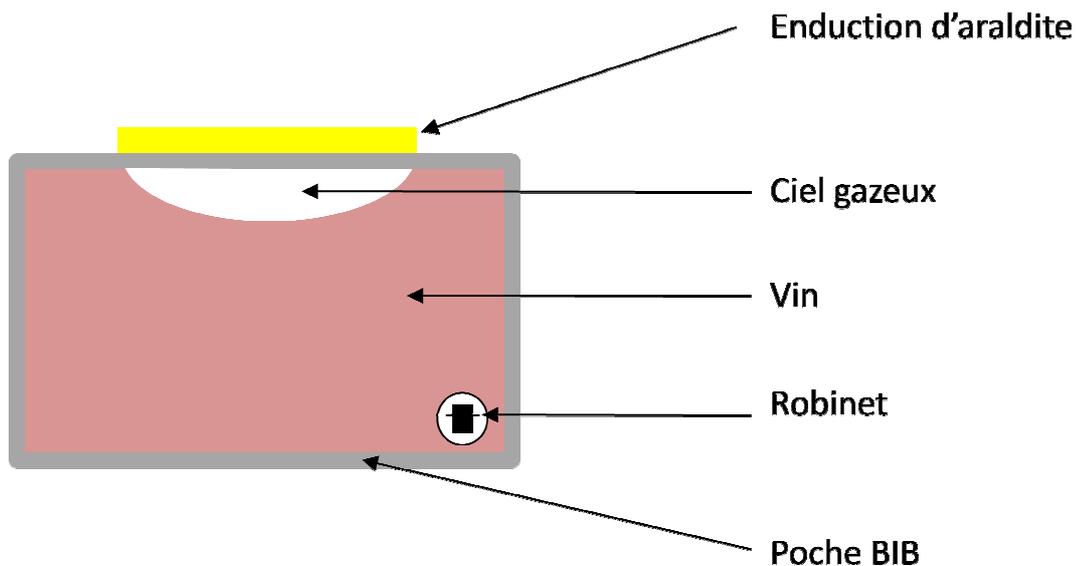


Figure 57 : Schéma représentant la protection du ciel gazeux présent dans les poches de BIB.

L'évolution de la quantité d'oxygène en fonction du temps dans les deux cas est représentée Figure 58. Il apparaît clairement que le fait de protéger le ciel gazeux permet de limiter l'entrée d'oxygène : au bout de 90 jours, on observe seulement un gain de 1,5 mg L⁻¹ d'oxygène dissous au lieu de 2,2 mg L⁻¹ pour une poche non protégée.

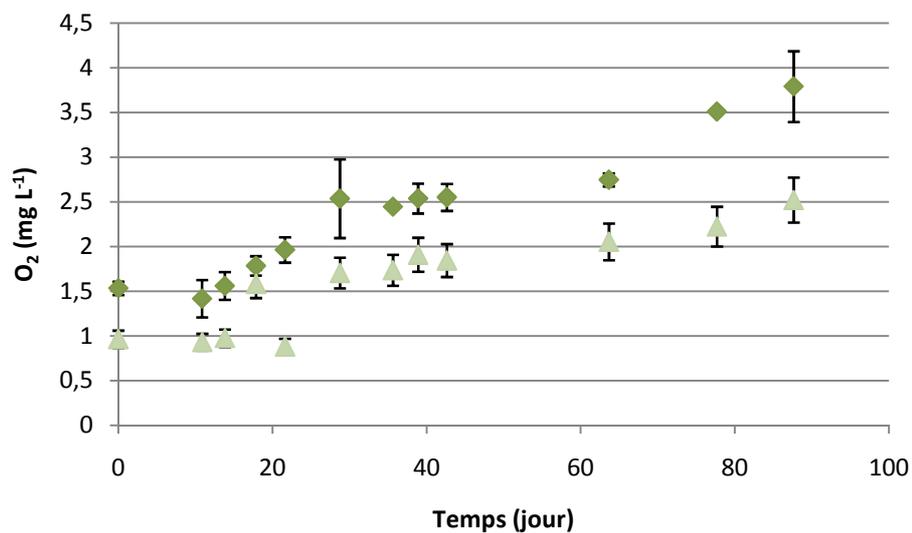


Figure 58 : Evolution en fonction du temps de la concentration en oxygène dissous dans le vin blanc Pech Rouge avec (▲) ou sans (◆) protection du ciel gazeux.

III.3.ii. Couleur des vins conditionnés en BIB

La couleur du vin blanc « Pech Rouge » conditionné selon les modalités X'_1 à X'_8 a été déterminée d'après le système de colorimétrie CIE $L^*a^*b^*$. Le paramètre L^* , représentant la clarté, ne semble pas évoluer en fonction du temps. Par contre, les paramètres a^* , représentant la gamme de couleur allant du vert au rouge, et b^* , tendant vers le jaune avec le temps, augmentent et donc montre l'oxydation des vins (Figure 59).

La mesure en colorimétrie ne permet pas de faire la différence entre les poches. Nous obtenons juste une tendance générale de l'oxydation des vins en BIB.

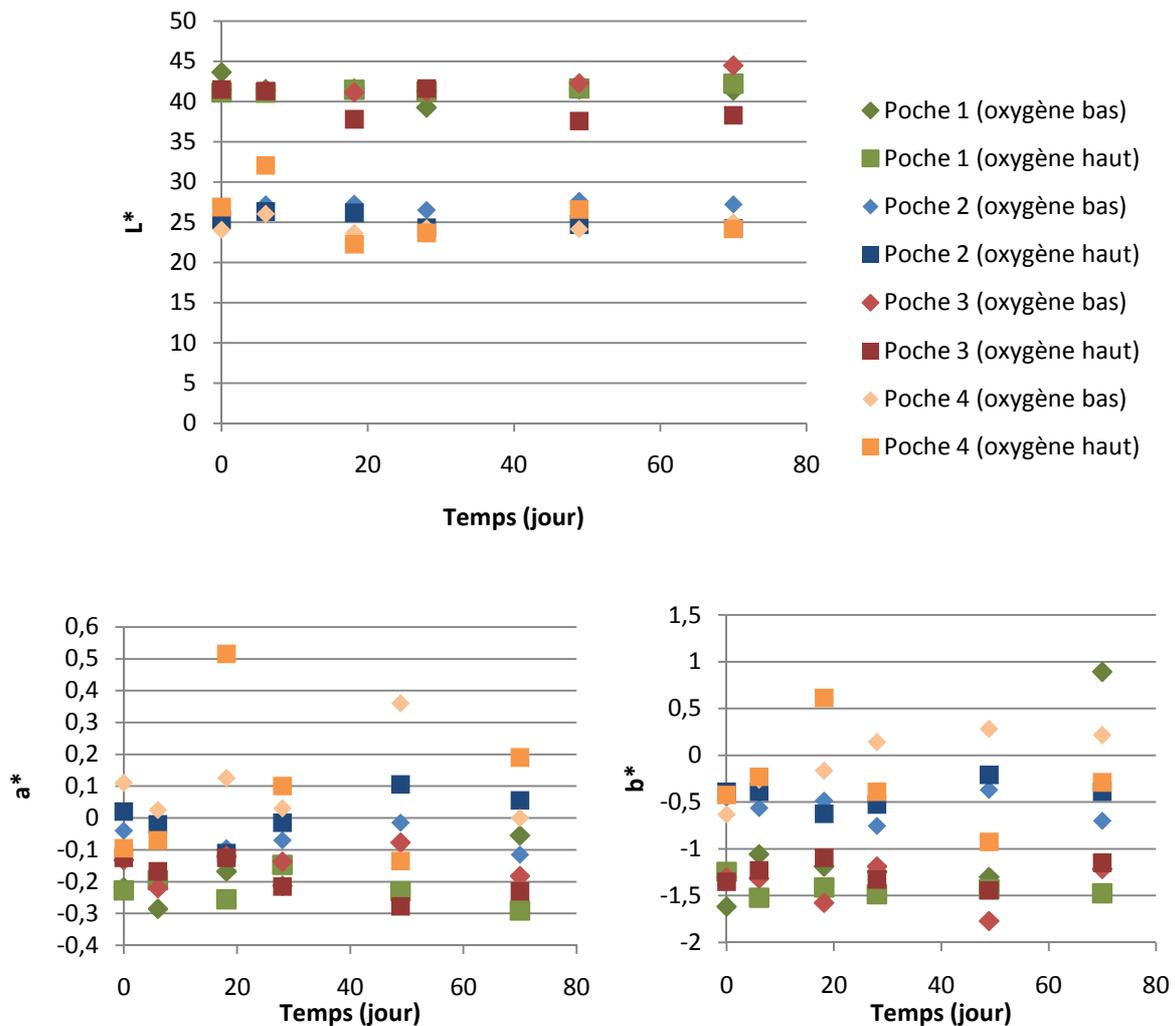


Figure 59 : Evolution des paramètres tristimulaires L^* , a^* et b^* en fonction du temps dans le vin blanc « Pech Rouge » conditionné dans les poches 1, 2, 3 et 4.

IV. Conclusion

Le système de mesure mis au point permet de faire un suivi en continu du transfert d'oxygène avec ou sans la consommation d'oxygène par le vin.

Nous avons vu que le transfert d'oxygène en présence du tampon CMP permet de classer les différentes poches et les valeurs de transfert obtenues sont proches de celles données par les fournisseurs de poche en phase gaz (mesure réalisée sur les films sans contact avec une solution et avec un flux de part et d'autre du film).

Lorsque les BIB sont remplis avec le vin, nous retrouvons le même classement. Donc cette méthode est utile pour pouvoir différencier les poches et en faire un classement de la poche la plus barrière à celle la plus perméable.

De plus nous avons pu démontrer que la présence d'un ciel gazeux entraînait une dissolution plus forte d'oxygène dans le vin. Ce résultat montre que le transfert d'oxygène au travers du film au niveau du ciel gazeux est un événement important à prendre en compte dans les transferts d'oxygène au sein d'un BIB.

MISE AU POINT DU PIEGE A OXYGENE

I. Les lies de levures

Pourquoi nous sommes-nous intéressés aux lies de levures ? La vinification en fût des vins blancs, suivie d'un élevage sur lies pendant plusieurs mois a toujours été une technique traditionnelle en Bourgogne. L'effet protecteur de telles lies vis-à-vis de l'effet oxydant de l'oxygène lors du vieillissement du vin a été mis en évidence (Fornairon-Bonnefond & Salmon, 2003).

I.1.i. Définition légale de la lie de vin

La base de la législation actuelle portant sur l'organisation commune du marché vitivinicole est déterminée par le règlement (CE) No 1493/1999 du Conseil du 17 mai 1999 (JO L 179 du 14.7.1999, p. 1).

La lie de vin, définie dans l'annexe 1 de ce document, correspond au résidu se déposant dans les récipients contenant du vin après la fermentation alcoolique ou lors du stockage ou après traitement autorisé, ainsi que le résidu issu de la filtration ou de la centrifugation de ce produit.

Sont également considérés comme lie de vin:

- le résidu se déposant dans les récipients contenant du moût de raisins lors du stockage ou après traitement autorisé,
- le résidu obtenu lors de la filtration ou de la centrifugation de ce produit.

Généralement, dans la filière œnologique, les lies issues du moût sont appelées bourbes et donc sont différenciées des lies de vin.

I.1.ii. Utilisations des lies de vin

Parmi la liste des pratiques et traitements œnologiques autorisés (annexe IV du règlement communautaire N° 1493/1999), on peut remarquer l'utilisation dans des vins

secs de quantités non supérieures à 5 % de lies fraîches, saines et non diluées qui contiennent des levures provenant de la vinification récente de vins secs.

Cette pratique peut être utilisée pour le moût de raisins partiellement fermenté destiné à la consommation humaine directe en l'état, le vin apte à donner du vin de table, le vin de table, le vin mousseux, le vin mousseux gazéifié, le vin pétillant, le vin pétillant gazéifié, les vins de liqueur et les v.q.p.r.d. Il existe aussi une technique utilisée traditionnellement pour la production de « Tokaji forditas » et de « Tokaji maslas » dans la région hongroise de Tokajhegyalja qui consiste en un versage de vin sur de la lie.

Le reste des lies est généralement envoyé aux distilleries. Selon l'article 44 point 8, il ne peut être obtenu à partir de la lie de vin ni vin ni boisson destinés à la consommation humaine directe, sauf l'alcool, l'eau-de-vie ou la piquette.

1.2. Conséquences de l'utilisation des lies sur le vin

1.2.i. Levures et oxygène pendant le vieillissement de boissons fermentées

Après la fermentation alcoolique, il y a différentes façons de garder les vins en présence de lie de levures. Traditionnellement les vins sont clarifiés tardivement ou sont gardés, avec agitation périodique (bâtonnage), sur des lies pendant tout le processus de vieillissement (8 à 10 mois). Dans une méthode plus récente, les vins sont clarifiés tôt et sont ensuite conservés sur des fines lies. Les lies utilisées sont seulement une petite proportion de la totalité produite pendant la fermentation alcoolique.

Pendant le vieillissement de produits fermentés en présence de lies de levures non-viables (récoltées à la fin des fermentations alcooliques), les lies peuvent consommer de l'oxygène pendant au moins trois ans après leur récolte (Fornairon *et al.*, 1999; Salmon *et al.*, 2000b). Les lies de levures peuvent utiliser l'oxygène à des vitesses de consommation allant de 1 à 4 $\mu\text{moles O}_2 \text{ h}^{-1} 10^{-10}$ cellules à partir du second mois jusqu'à la troisième année de leur conservation en absence d'oxygène.

La consommation d'oxygène par les lies de *Saccharomyces cerevisiae* est reliée à l'oxydation modérée des lipides de la membrane de la levure par des radicaux libres : les peroxydes de lipide, qui sont trouvés principalement au niveau de la membrane plasmique, sont les premières espèces chimiques facilement détectables au cours de la consommation d'oxygène par les lies (Salmon *et al.*, 2000a).

I.2.ii. Levures et polyphénols

Il est bien connu que les polyphénols interagissent principalement avec les protéines sous formes de colloïdes par des liaisons de Van der Waals (Spencer *et al.*, 1988). Les levures peuvent modifier la couleur des vins colorés soit en établissant des interactions faibles et réversibles entre les anthocyanines et la paroi des levures (Morata *et al.*, 2003; Vasserot *et al.*, 1997) soit à travers l'activité de la β -glucosidase périplasmique ciblée sur la partie 3-O-glucoside des anthocyanines (Delcroix *et al.*, 1994). Cependant l'interaction des lies de levures avec les polyphénols du vin maintient la morphologie sphérique des cellules de levure, alors que la dégradation de la paroi cellulaire des levures a bien lieu lors de l'autolyse (Salmon *et al.*, 2003b). Une étude récente a montré que seulement très peu de monomères de composés phénoliques restent adsorbés sur les lies de levures et que les tanins polaires à haut degré de polymérisation semblent spécifiquement piégés par les lies par des interactions protéines/tanins (Mazauric & Salmon, 2005; Mazauric & Salmon, 2006). De plus, il a été montré (Chassagne *et al.*, 2005) que les lies de levures sont efficaces dans la suppression des 4-éthylguaiacol et 4-éthylphénol produit par des levures contaminantes (*Brettanomyces*), qui confèrent au vin des odeurs négatives de cheval, médicales et épicées.

I.2.iii. Interactions levure/oxygène/polyphénols

Les cellules de levures et les lies ont toutes les deux des vitesses de consommation potentielle d'oxygène plus grandes et une affinité plus importante pour l'oxygène que les polyphénols (Fornairon-Bonnefond, 2000; Salmon, 2006).

Dans ces conditions, la dissolution de l'oxygène est moindre par rapport à sa consommation, même si des tonneaux, des fûts ou des tanks sont utilisés.

La moyenne du contenu phénolique des vins rouges est comprise entre 3 et 9 g L⁻¹, et le vieillissement des vins sur lies utilise près de 5 % de lies fraîches (soit environ 1,5 à 2,0 10⁸ cellules par mL). Les levures peuvent donc entrer en compétition avec les composés phénoliques pour l'oxygène et retarder l'oxydation qui est observée pendant le vieillissement (Tableau 30).

Tableau 30 : Vitesse initiale de consommation d'oxygène des lies de levures et des polyphénols à 30°C.

	Vitesse de consommation de l'oxygène (mg L ⁻¹ h ⁻¹)	Vitesse de consommation de l'oxygène (ng mL ⁻¹ s ⁻¹ 10 ⁻¹⁰ cellules)
Lies de levures (1,75 10⁸ cellule mL⁻¹)	0,77 ± 0,15	12,22 ± 2,38
Solution de polyphénols du vin (3 g L⁻¹)	0,46 ± 0,10	-
Lies de levures (1,75.10⁸ cellule par mL et solution de polyphénols du vin (3 g L⁻¹) après 100 h de contact en milieu alcoolique synthétique	0,72 ± 0,16	11,43 ± 2,54

Valeurs issues de (Salmon *et al.*, 2002)

Remarque : les capacités de consommation d'oxygène des lies de levures mélangées à des polyphénols de vin sont plus faibles que la réactivité de chaque composant étudié seul. Une interaction forte entre les polyphénols adsorbés et les lipides membranaires de la levure serait une explication à ce comportement (Salmon, 2006).

I.3. Consommation d'oxygène par les milieux modèles

Les vitesses de consommation d'oxygène de deux solutions tampons ont été comparées avec le vin utilisé dans ces expériences (Figure 60). Le tampon phtalate consomme moins d'oxygène que le tampon CMP comme l'avait précédemment montré (Fornairon-Bonnefond, 2000). Le tampon CMP avec 11,8 % d'éthanol sera tout de même notre solution modèle, car c'est un milieu hydroalcoolique au même pH que le vin et qui simule donc mieux le vin que le seul tampon phtalate.

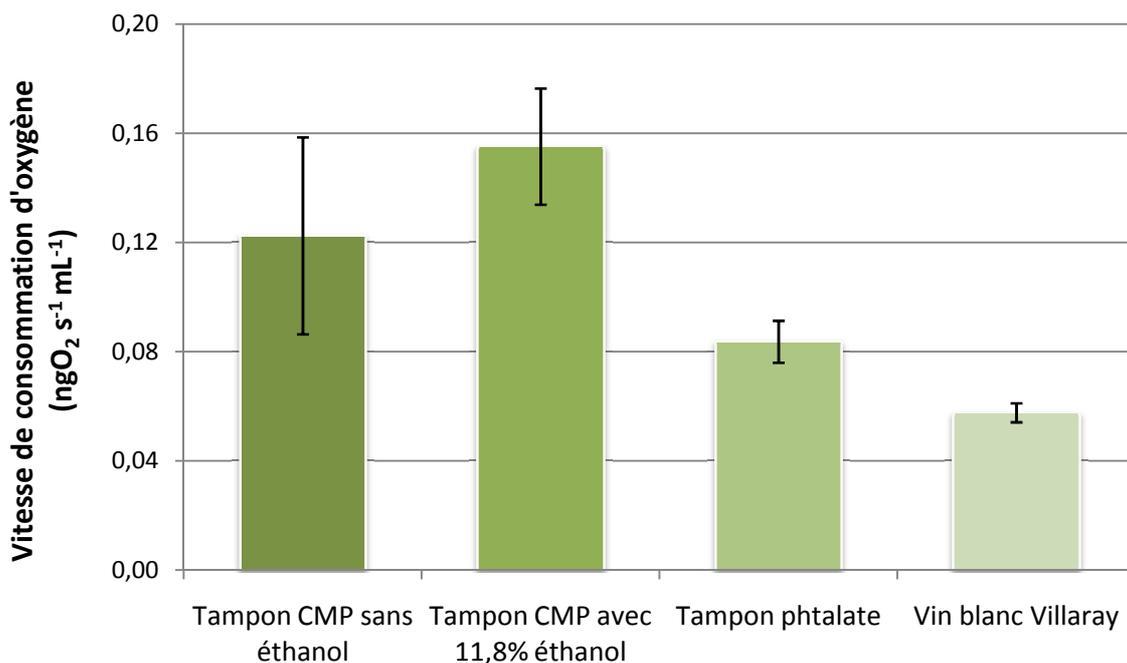


Figure 60 : Comparaison des vitesses de consommation d'oxygène du tampon CMP (Ac. citrique 31 mM, Ac. D,L-malique 45 mM, KH₂PO₄ 10 mM, pH 3,3), en présence ou non d'éthanol 11,8 % (v/v), le tampon phtalate et le vin blanc Villaray. Les moyennes et écart-types de 4 mesures pour chaque série sont représentés sur le graphe.

I.4. Consommation d'oxygène par les lies

I.4.i. Comparaison des lies avec d'autres systèmes levuriens

Les vitesses de consommation d'oxygène par les levures sèches actives (LSA) K1 (Lallemand, Toulouse) ont été comparées à celles des lies (issues de fermentation des LSA sur moût MS 300) et à celle de levures inactivées OptiWhite (Lallemand, Toulouse) qui contiennent du glutathion (et d'autres peptides cystéinylés) en plus fortes concentrations que de simples LSA. Les résultats obtenus sont montrés sur la Figure 61 et confirment l'intérêt des lies à consommer l'oxygène dissous dans le vin au vu de la forte consommation d'oxygène obtenue.

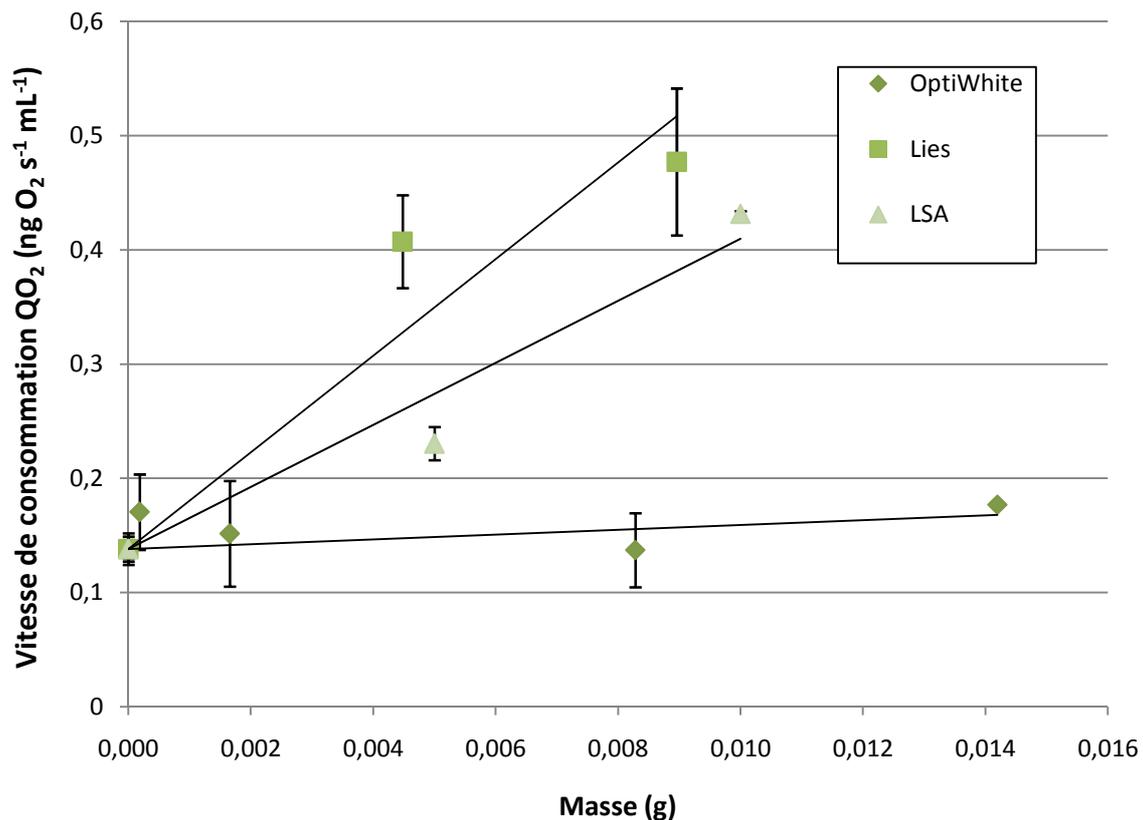


Figure 61 : Consommation d'oxygène mesurée à 30°C en fonction de la masse sèche de lies, de LSA et de levures inactivées OptiWhite dans le milieu hydroalcoolique tampon CMP (pH 3,3 ; 11,8 % (v/v) éthanol).

Les levures inactivées OptiWhite ne semblent pas consommer d'oxygène. Ceci pourrait être dû au procédé utilisé pour leur inactivation qui affecterait leur membrane (ou tout au moins la disponibilité en stérols de la membrane pour une consommation d'oxygène). De telles cellules inactivées ne pourraient plus consommer l'oxygène au contraire des LSA qui n'ont subi aucun traitement. Cependant ces levures inactivées contiennent du glutathion (3 à 4 fois plus que des levures normales) et donc restent intéressantes du point de vue de la protection des arômes (particulièrement les thiols volatiles). En effet, dans la littérature, l'effet protecteur des lies vis-à-vis de l'évolution des vins a été expliqué différemment (Dubourdiou *et al.*, 2002; Lavigne-Cruége & Dubourdiou, 2004). Le glutathion (ou d'autres acides aminés ou peptides soufrés) pourrait protéger les arômes soufrés de leur détérioration par formation de ponts disulfure.

I.4.ii. Impact de la concentration cellulaire

La consommation d'oxygène des lies obtenues après fermentation de la souche K1 sur un moût synthétique exhibe des vitesses (mesurées à 30°C) identiques ou similaires à celles trouvées dans la littérature (Figure 62). Ainsi, Salmon *et al.* (Salmon *et al.*, 2002) ont trouvé une vitesse de consommation d'oxygène par des lies de levures suspendues dans un milieu hydroalcoolique (concentration cellulaire = 175 millions de cellules par mL) de $11,43 \text{ ng mL}^{-1} \text{ s}^{-1} 10^{-10} \text{ cellules}$. Les valeurs que nous avons obtenues sont effectivement du même ordre de grandeur.

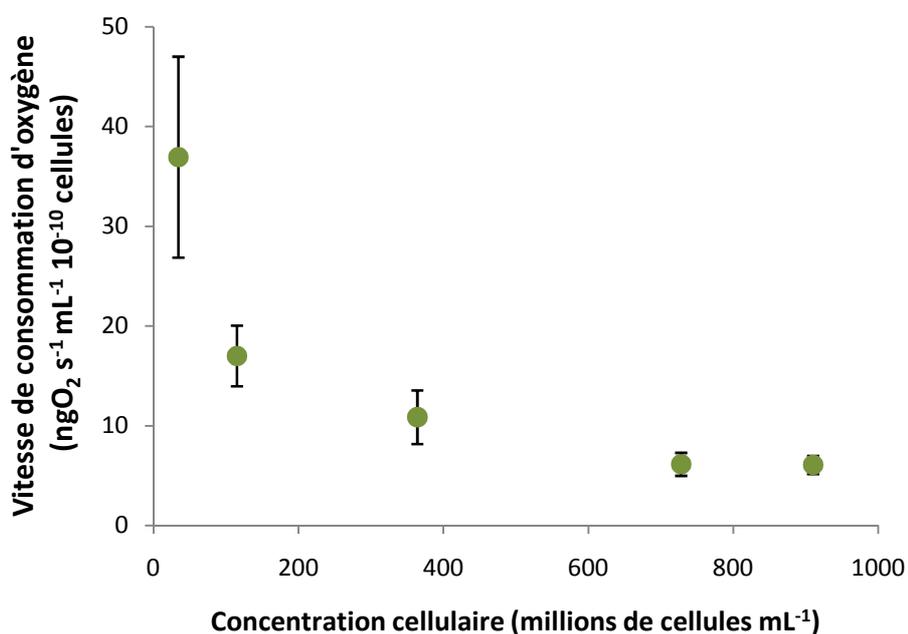


Figure 62 : Evolution de la vitesse de consommation d'oxygène par cellule mesurée à 30°C en fonction de la concentration cellulaire des lies de levures resuspendues dans le tampon CMP (pH 3,3 ; 11,8 % (v/v) éthanol). Les moyennes et écart-types de 4 mesures sont représentés sur le graphe.

La vitesse de consommation d'oxygène (par cellules) diminue avec la densité de cellules. Ce phénomène déjà décrit en d'autres circonstances (Rosenfeld *et al.*, 2002) correspond à une diminution du phénomène de diffusion de l'oxygène au travers les cellules du fait de l'encombrement stérique des levures qui ralentissent sa diffusion jusqu'à l'électrode de mesure.

I.4.iii. Impact du milieu

Lorsqu'on mesure la consommation d'oxygène par des lies de levures, on s'aperçoit que dans un premier temps la vitesse de consommation pour une faible concentration cellulaire est moins importante que celle obtenue avec du tampon seul. Une hypothèse est que la mesure obtenue avec le milieu hydroalcoolique (CMP) sans levures correspond à la consommation de l'électrode elle-même et que lorsqu'on rajoute les lies, cette consommation devient négligeable à cause de l'affinité importante des lies pour l'oxygène qui ne va donc pas être consommé par l'électrode (Figure 62).

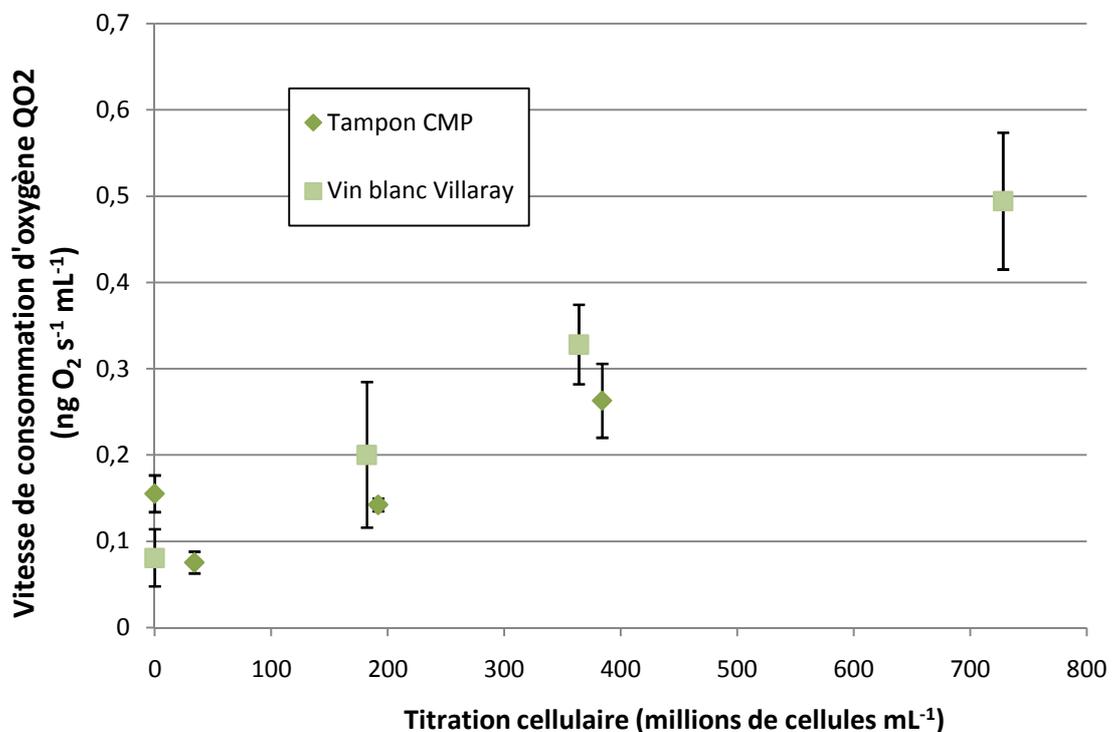


Figure 63 : Evolution de la vitesse de consommation d'oxygène mesurée à 30°C en fonction de la concentration cellulaire des lies de levures resuspendues dans le tampon CMP (pH 3,3 ; 11,8 % (v/v) éthanol) et dans le vin blanc Villaray (pH 3,3 ; 11% EtOH (v/v)). Chaque point représente la moyenne et l'écart-type de 4 mesures.

La consommation d'oxygène par les lies dans le vin blanc Villaray a également été suivie (Figure 63). Comme attendu, lorsque que la quantité de levures augmente, la vitesse de consommation d'oxygène augmente. On ne remarque pas de diminution de la vitesse lorsque des lies sont rajoutées au vin blanc. La consommation d'oxygène par l'électrode

elle-même devient négligeable à cause de l'affinité importante du vin (et des polyphénols) pour l'oxygène.

I.4.iv. Impact de l'agitation

Afin de mesurer la diminution de la concentration en oxygène du vin (avec ou sans lies), l'oxymètre Oxi-197s a été utilisé. Trois modalités ont été analysées :

- Vin blanc Villaray
- Vin blanc Villaray avec des lies à 460 millions de cellules par mL (avec et sans agitation magnétique)
- Vin blanc Villaray avec des lies à 1,2 milliard de cellules par mL (avec et sans agitation magnétique)

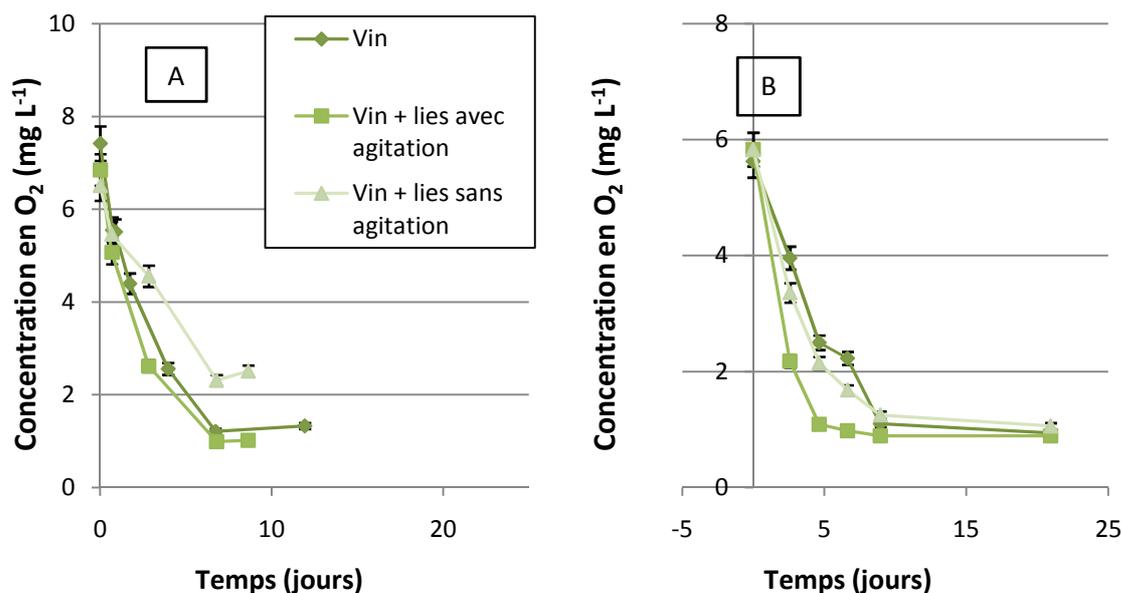


Figure 64 : Comparaison de la consommation d'oxygène à 30°C du vin blanc Villaray seul, du vin blanc Villaray contenant des lies et maintenu avec ou sans agitation magnétique, la concentration en lies étant de $460 \cdot 10^6$ cellules mL⁻¹ pour le graphe A et de $1,2 \cdot 10^9$ cellules mL⁻¹ pour le graphe B.

Les résultats obtenus sont présentés sur la Figure 64. Tout d'abord, nous pouvons remarquer sur le graphe A que la concentration en oxygène du vin blanc est inférieure à celle du vin contenant des lies et maintenu sans agitation dès 2 jours. L'hypothèse formulée est qu'il existe un gradient de concentration à l'intérieur du flacon dû aux lies qui

consomment l'oxygène et qui ont sédimenté. Cette hypothèse a été vérifiée grâce à une mesure progressive dans le flacon (après une semaine de contact entre les billes et le vin) à l'aide de l'oxymètre (Figure 65) :

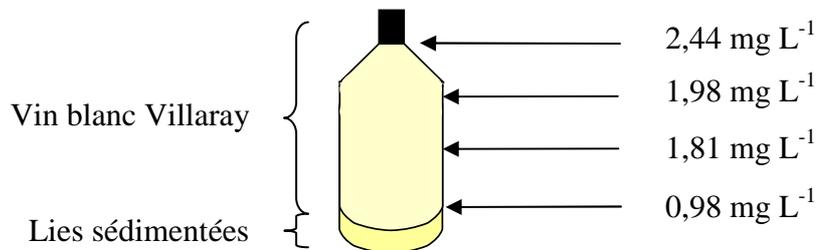


Figure 65 : Schéma de la formation d'un gradient de concentration en oxygène dans les flacons contenant des lies avec du vin blanc Villaray maintenu à 30°C sans agitation. Exemple de résultats obtenus.

De plus, sur le graphe B, il est bien montré que les lies consomment plus rapidement l'oxygène que le vin (à 5 jours, deux fois moins d'oxygène est retrouvé dans le vin contenant les lies avec une agitation qui améliore la diffusion de l'oxygène) sans oublier le fait que l'oxygène aurait plus d'affinité pour les lies que pour les polyphénols (Fornairon-Bonnefond, 2000; Salmon, 2006) et donc protégerait le vin de l'oxydation.

1.5. Consommation d'oxygène par le vin

Le vin blanc Villaray a été « oxygéné » pendant plusieurs heures avec de l'oxygène pur et sa vitesse de consommation d'oxygène a été mesurée à différents temps d'oxygénation. La vitesse semblerait évoluer en fonction de la quantité d'oxygène consommée par le vin (Figure 66).

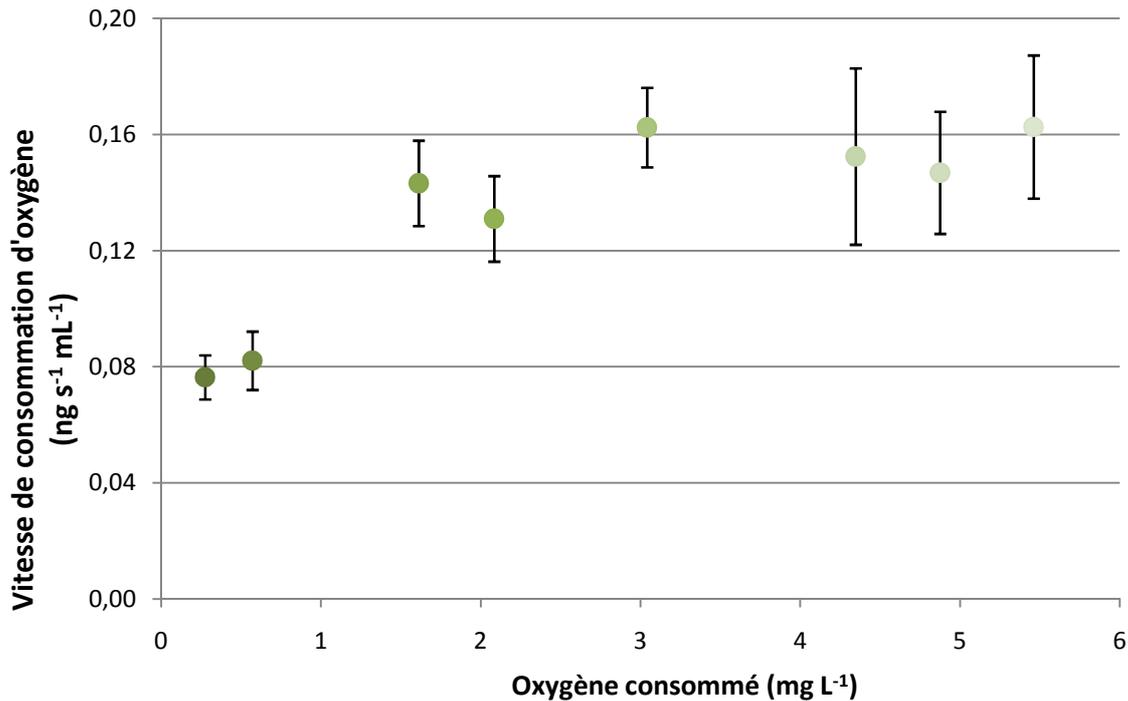


Figure 66 : Evolution de la vitesse de consommation d’oxygène mesurée à 30°C en fonction de la quantité d’oxygène consommée par le vin blanc Villaray au cours d’une oxygénation au dioxygène pur. Chaque barre représente la moyenne et l’écart-type de 4 mesures.

Le même vin contenant 10 et 100 millions de cellules de lies (par mL) a été oxygéné à l’oxygène pur avec le dispositif décrit précédemment (Figure 23). Ces différentes fractions de vin ont été ensuite analysées en spectrophotométrie (Figure 67). L’absorbance à 320 nm, à 420 nm, et à 520 nm fournit respectivement une estimation de la concentration en flavonols mais également la présence d’acides cinnamiques (Somers & Vérette, 1988), du brunissement (Palma & Barroso, 2002) et du rosissement (Zoecklein *et al.*, 1990). L’estimation de la concentration en phénols totaux est réalisée à 280 nm (OIV).

A 280 nm, 320 et 420 nm, l’absorbance augmente en fonction de la quantité d’oxygène consommé par le vin. Les lies semblent exercer un effet protecteur surtout visible pour une concentration de 100 millions de cellules par mL.

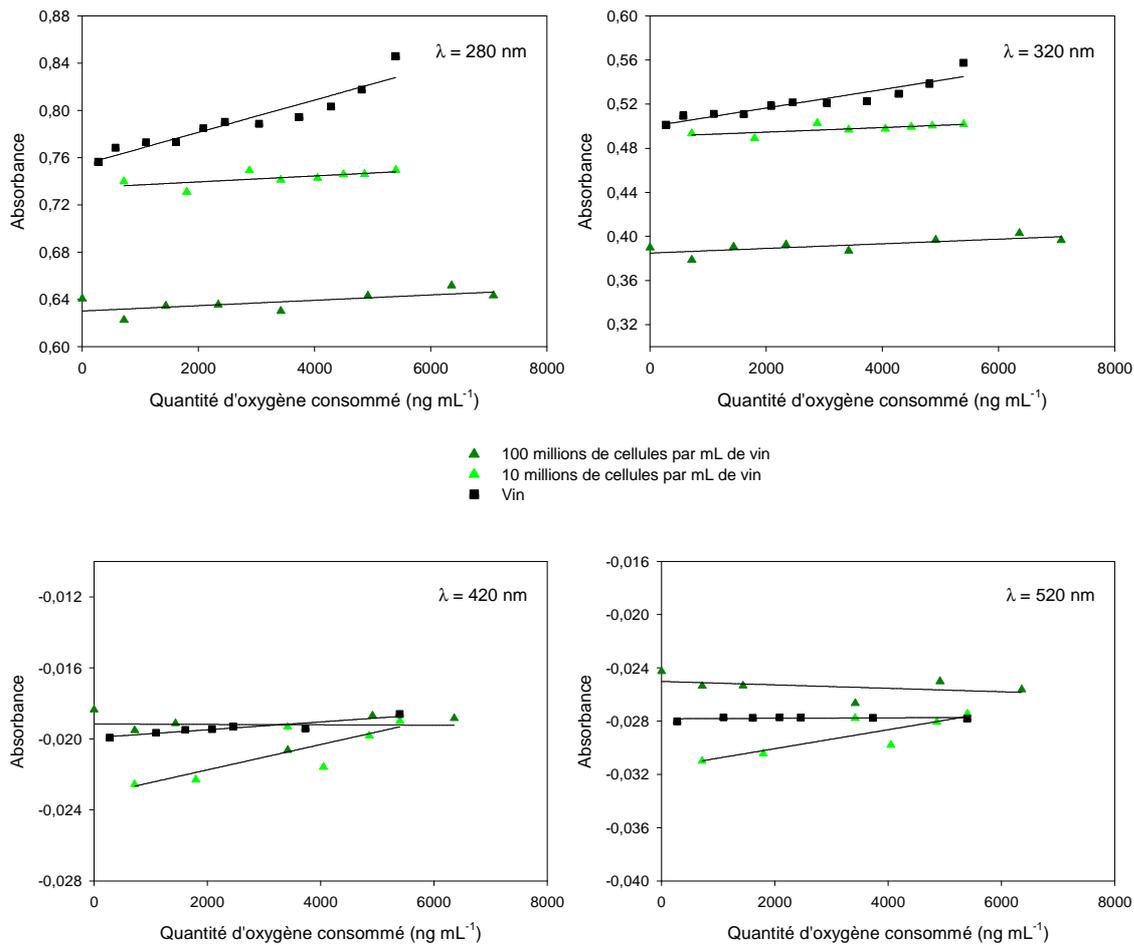


Figure 67 : Absorbances à 280, 320, 420 et 520 nm du vin blanc Villaray en fonction de la quantité d'oxygène consommé par le vin, par le vin contenant 10 10⁶ et 100 10⁶cellules mL⁻¹ en fonction de la quantité d'oxygène consommé par les lies.

Les absorbances observées à 280 nm et à 320 nm pour le vin contenant 100 millions de cellules par mL sont plus basses (en ordre de grandeur) que celles du vin seul. Ceci peut être expliqué par l'adsorption des polyphénols sur la paroi des levures (Salmon *et al.*, 2003a). Sur certains échantillons, l'absorbance à 280 nm est très forte et est vraisemblablement due à l'autolyse des levures qui provoque un relargage de protéines dans le milieu, ce qui entraîne une absorbance importante à 280 nm.

II. Mise en œuvre du piège à oxygène

Après avoir obtenu ces résultats encourageants, des tentatives de mise en œuvre technologiques ont été faites.

II.1. Comparaison des différents pièges

Différents matériaux ont été employés : membranes hydrophile et hydrophobe de microfiltration tangentielle, tubes en silicone utilisés habituellement dans l'oxygénation des moûts (p. 67). Seule la membrane hydrophile a donné des résultats intéressants (Figure 68). Des essais ont également été réalisés en immobilisant les lies dans des billes d'alginate.

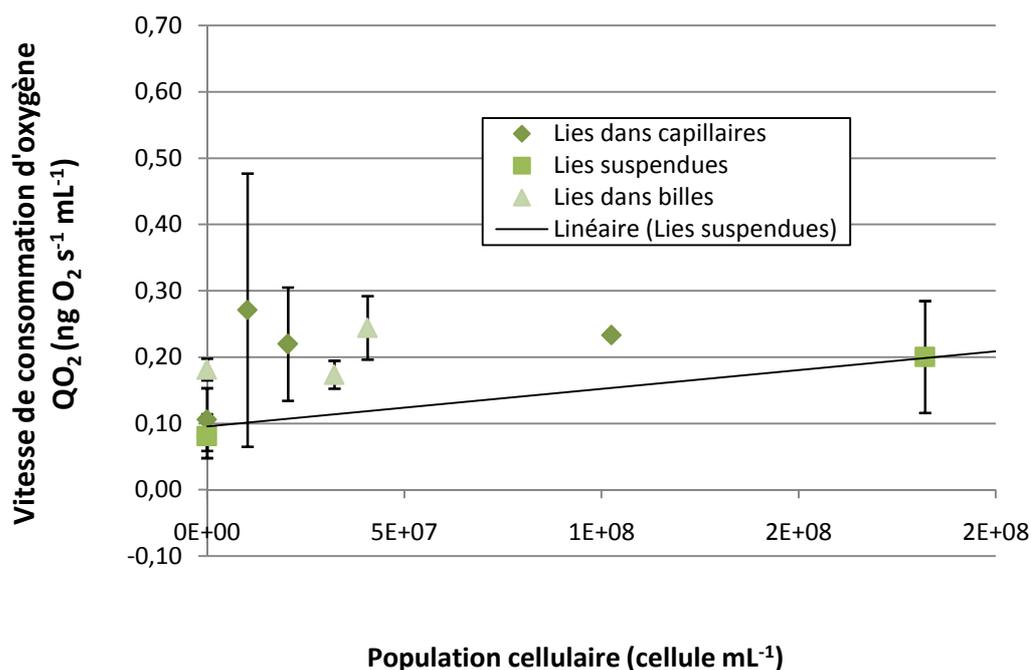


Figure 68 : Consommation d'oxygène mesurée à 30°C dans le vin blanc Villaray (pH : 3,3 ; 11% (v/v) éthanol) en fonction de la population cellulaire des lies de levures resuspendues, dans un capillaire type M2 ou immobilisées dans des billes d'alginate. Chaque point représente la moyenne et l'écart-type d'au moins 2 mesures.

Ces résultats sont encourageants car les deux méthodes employées pour mettre en œuvre ces lies semblent maintenir les capacités des lies à consommer l'oxygène.

Cependant, les capillaires donnent des résultats plus hétérogènes que ceux obtenus avec les billes au vu des écart-types très importants obtenus pour les valeurs de vitesse de consommation d'oxygène dans les capillaires. Compte tenu de la façon avec laquelle sont obtenus ces tubes, il apparaît normal de trouver de tels écarts. En effet, la solution de lies est injectée dans le capillaire qui est lui-même hétérogène et il faut plus ou moins de pression pour pouvoir insérer toutes les lies. Cette hétérogénéité n'est pas observée avec les billes qui sont issues d'une solution homogénéisée par agitation magnétique sous argon.

Les billes semblent être une solution technologique très intéressante car avec une concentration cellulaire inférieure à celle des capillaires la consommation d'oxygène est deux fois plus rapide. Les billes peuvent être encore plus concentrées en lies et devraient donc permettre d'obtenir une vitesse de consommation plus rapide encore. De plus, l'alginate est déjà utilisé comme additif alimentaire.

II.2. *Impact de l'agitation*

Les résultats de la Figure 68 ont été obtenus en milieu (vin blanc) homogénéisé par agitation magnétique. Il a donc fallu vérifier leur efficacité en milieu non agité. Pour cela, l'oxymètre Oxi 197S a été utilisé pour faire un suivi sur plusieurs jours de la consommation d'oxygène par le vin contenant des lies immobilisées sous forme de capillaires ou dans des billes d'alginate avec et sans agitation. Il ne semble pas y avoir d'efficacité des lies immobilisées dans les capillaires (Figure 69) puisqu'il n'y a pas d'effet significatif de consommation d'oxygène par rapport au vin témoin, et qu'il ne semble pas y avoir de différence entre les capillaires maintenus sans agitation ou sous agitation.

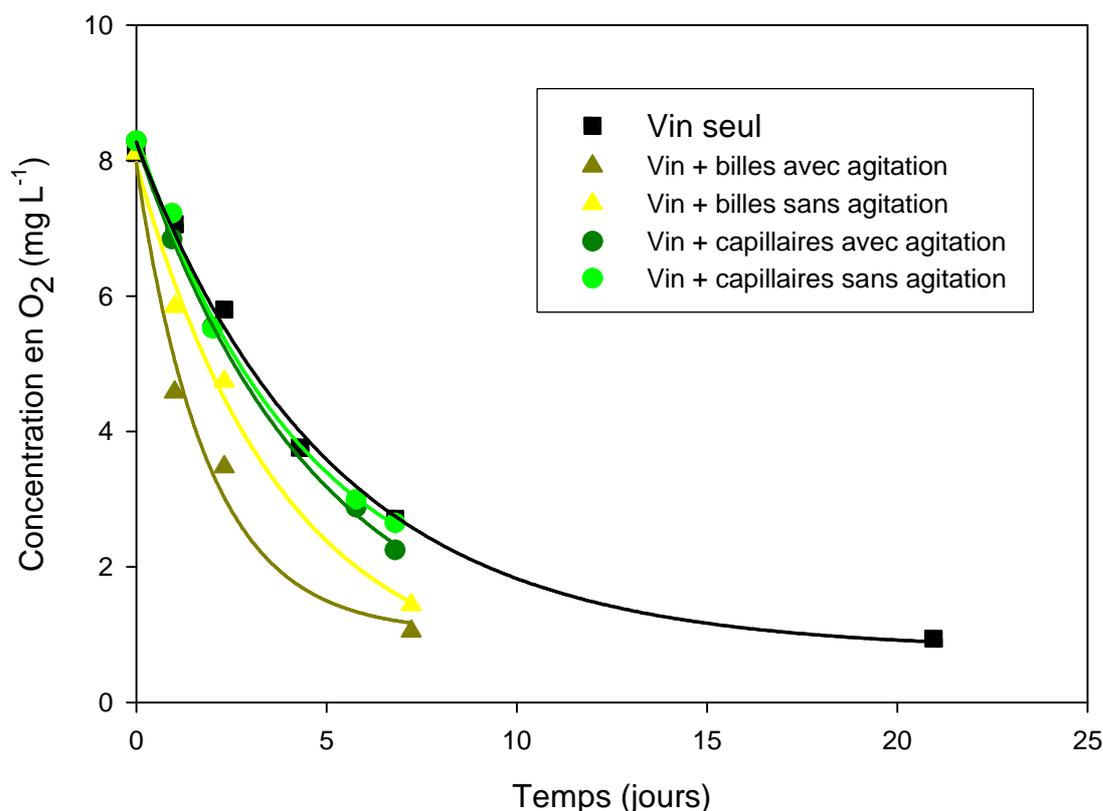


Figure 69 : Comparaison de la consommation d'oxygène à 30°C du vin blanc Villaray, du vin blanc Villaray avec des capillaires contenant des lies à une concentration équivalente de $12 \cdot 10^6$ cellules mL⁻¹ et avec des billes contenant des lies à une concentration équivalente de $2,3 \cdot 10^6$ cellules mL⁻¹.

II.3. Autres paramètres

Afin de connaître les effets de l'utilisation de billes d'alginate immobilisant des lies de levures sur le vin, d'autres paramètres (Figure 70, Figure 71 et Figure 72) ont été évalués. Ainsi, des billes contenant à la fois des lies de levure K1 à une concentration finale équivalente de $2,3 \cdot 10^6$ cellules mL⁻¹ et des levures inactivées Optiwhite® équivalente de $0,35$ mg mL⁻¹ ont été introduites dans le vin blanc Villaray. L'utilisation d'Optiwhite a été jugée nécessaire afin de protéger les composés d'arôme, en particulier les thiols, de leur dégradation. L'effet sur la concentration en oxygène dissous est présenté sur la Figure 61. Les valeurs de potentiel d'oxydoréduction, de concentration en glutathion ainsi que de colorimétrie du vin sont présentées sur la Figure 72. Comme précédemment montré, le vin contenant les lies immobilisées dans les billes d'alginate consomme plus rapidement l'oxygène (Figure 70), le piège consommant l'oxygène à la place des composants du vin.

Ainsi, au bout de quatre jours, le vin avec le piège biologique contient deux fois moins d'oxygène que le vin témoin et au bout de cinq jours, il ne contient plus que 0,20 mg L⁻¹. Le potentiel d'oxydoréduction a été mesuré en parallèle de la consommation d'oxygène et de la concentration en glutathion. Le vin avec le piège biologique contient 50 fois plus de glutathion que le vin témoin. Sa teneur diminue au cours du temps. Le glutathion (ou d'autres acides aminés ou peptides soufrés) pourrait protéger les molécules soufrées de leur détérioration par oxydation. De même, le potentiel d'oxydoréduction diminue au cours du temps. Si le vin s'oxydait, il devrait augmenter (del Álamo *et al.*, 2006). Les lies piégées dans les billes d'alginate libèrent des molécules, telles que des acides aminés, polysaccharides,... mais surtout du glutathion, qui maintiennent à un niveau plus élevé le potentiel d'oxydoréduction du milieu.

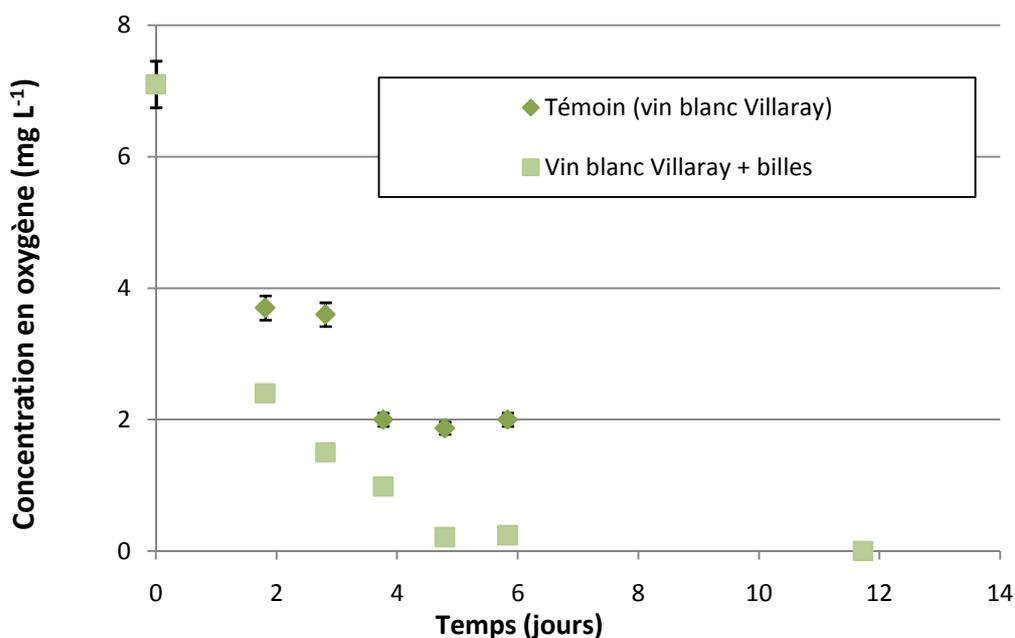


Figure 70 : Evolution en fonction du temps de la concentration en oxygène dissous dans le vin blanc Villaray avec ou sans piège à oxygène (lies immobilisées dans des billes d'alginate).

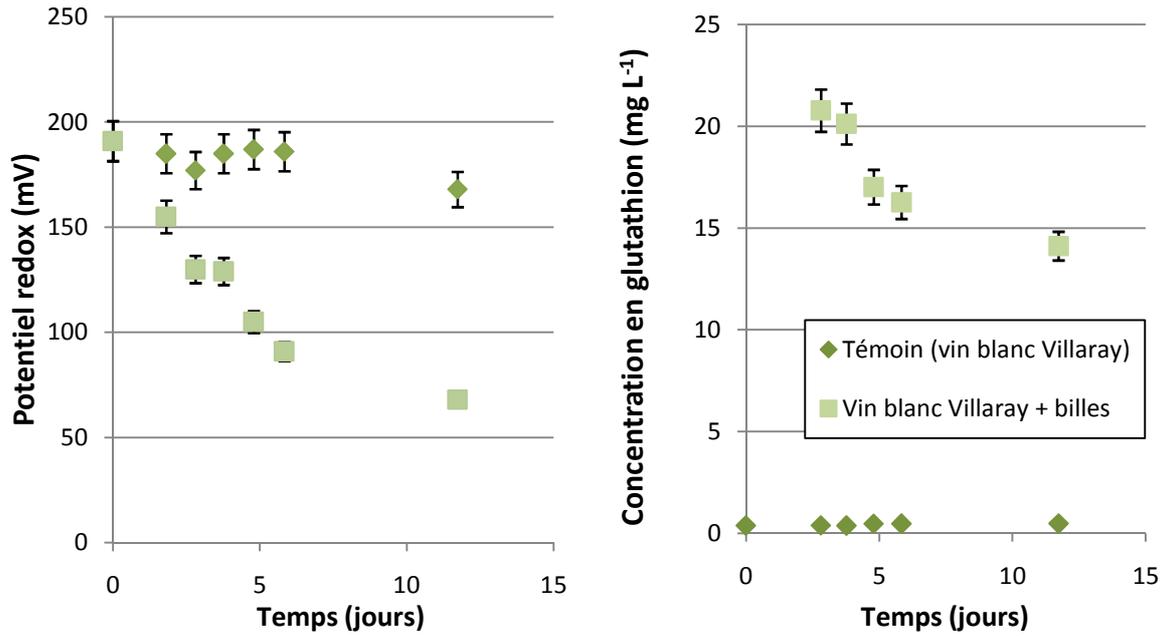


Figure 71 : Evolution du potentiel redox (A) et de la concentration en glutathion (B) en fonction du temps dans le vin blanc Villaray avec ou sans piège à oxygène (lies immobilisées dans des billes d'alginate).

Le paramètre L^* n'est pas significativement différent entre le témoin et l'essai contenant le piège biologique et il ne varie pas en fonction du temps. Par contre, les paramètres a^* et b^* sont différents entre les deux modalités et évoluent en fonction du temps.

Bien que le paramètre a^* soit plus important pour le témoin que pour le vin contenant les billes, il diminue sensiblement dans les deux cas. Cela signifie que le témoin possède plus une nuance rouge que l'essai mais que les teintes des deux échantillons tendent vers le vert.

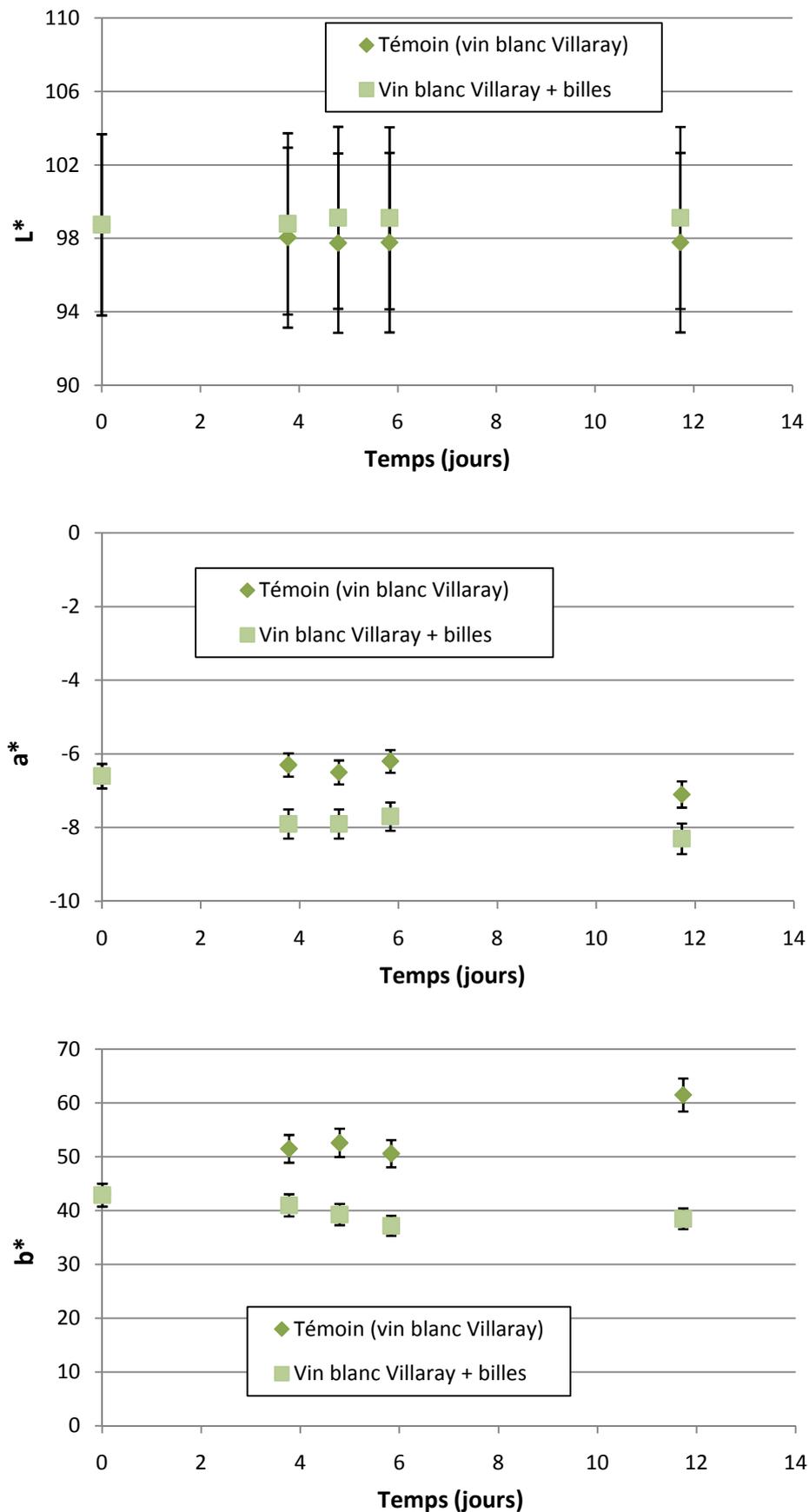


Figure 72 : Evolution des paramètres tristimulaires L*, a* et b* en fonction du temps dans le vin blanc Villaray avec ou sans piège à oxygène (lies immobilisées dans des billes d'alginate).

En ce qui concerne le paramètre b^* , deux évolutions différentes peuvent être observées : alors que ce paramètre reste stable voire diminue légèrement en fonction du temps pour le vin contenant le piège, il augmente fortement pour le vin seul. Ce paramètre montre clairement l'oxydation du vin avec une augmentation significative de la teinte jaune. Il a en effet déjà été montré que l'augmentation de la composante jaune de la couleur résulte de l'oxydation de vin de Chardonnay (Mané, 2007). La différence de couleur entre le vin seul et le vin contenant le piège biologique après 12 jours à 30°C est clairement montrée Figure 73.



Figure 73 : Bouteillons remplis avec le vin seul (à gauche et à droite) et le vin contenant le piège à oxygène (au milieu) après 12 jours d'essai à 30°C.

II.4. *Essais industriels*

Sur une chaîne d'embouteillage en BIB® de vin blanc de Sauvignon (société Skalli SARL Fortant de France, Sète), des billes d'alginate contenant des lies à une concentration équivalente de $2,3 \cdot 10^6$ cellules mL^{-1} ont été ajoutés avant remplissage sur la chaîne.

Les BIB contenant seulement le vin ont pu être remplis sur la ligne automatique. Cependant, les poches avec le piège à oxygène ont été conditionnées manuellement car la présence des billes bloquaient le passage des poches dans la machine de remplissage.

Cette différence de conditionnement a entraîné des teneurs initiales en oxygène dissous très différentes entre les lots témoins et les essais : 1,8 mg L⁻¹ et 3,2 mg L⁻¹ respectivement. L'évolution de cette teneur en oxygène dissous au cours du temps est présentée Figure 74.

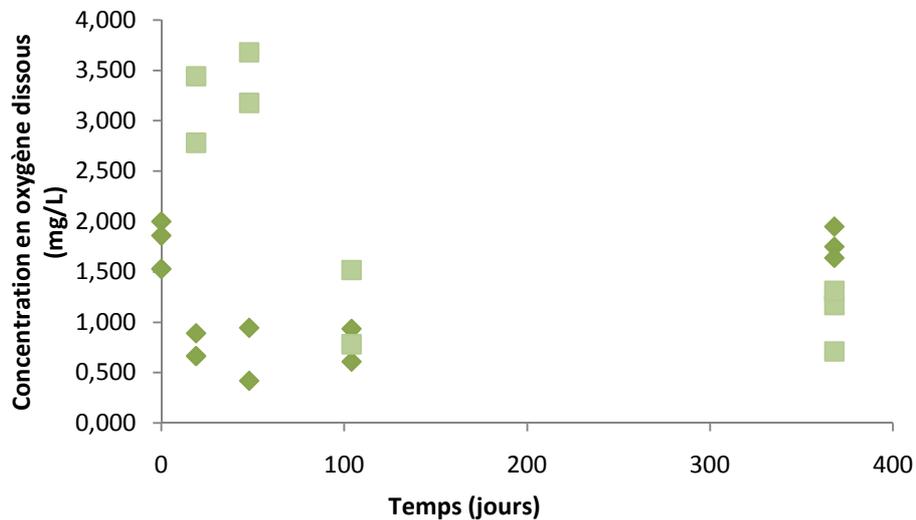


Figure 74 : Evolution en fonction du temps de la concentration en oxygène dissous dans le vin blanc Villaray sans (◆) ou avec piège à oxygène (lies immobilisées dans des billes d'alginate) (■)

Le vin sans piège à oxygène montre une diminution de la teneur en oxygène dissous au cours du premier mois puis une augmentation alors qu'on peut constater une chute remarquable de la teneur en oxygène du vin en présence des lies à partir de deux mois sur tout la période.

Le potentiel d'oxydoréduction a également été suivi au cours du temps et est présenté Figure 75. Le potentiel d'oxydoréduction augmente avec le temps pour le vin seul alors qu'il est stable pour le vin contenant le piège biologique, montrant ainsi la limitation des phénomènes d'oxydation en présence des lies.

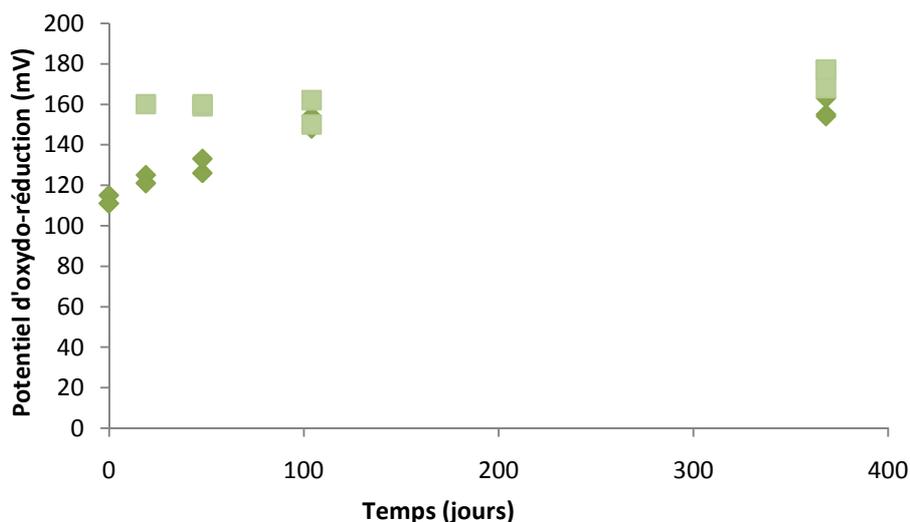


Figure 75 : Evolution du potentiel redox en fonction du temps dans le vin blanc Villaray sans (◆) ou avec le piège à oxygène (lies immobilisées dans des billes d'alginate) (■).

III. Piégeage du fer

Le fer joue un rôle important dans les phénomènes d'oxydation comme précédemment expliqué (p. 46). L'acide phytique a été utilisé afin de piéger le fer pour former des sels insolubles : des phytates de fer. Le but d'un tel piégeage est de ralentir les phénomènes d'oxydation liés à la catalyse par les ions métalliques dans un vin. La Figure 76 présente les cinétiques de consommation d'oxygène dans le vin en présence ou en absence d'acide phytique. L'acide phytique ne semble pas avoir complexé tout le fer présent, puisqu'il n'y a pas réduction importante de la consommation d'oxygène. En effet, seuls 2 mg de fer ont été piégés par l'acide phytique ajouté sur les 13 mg présents initialement dans le vin. Un brevet portant sur une méthode permettant d'enlever le fer du vin (Trela & Graf, 2008) mentionne le fait qu'il faut ajouter l'acide phytique avec un ratio molaire de 1:1 (phytate:fer), ce qui correspond à 11,8 mg L⁻¹ d'acide phytique pour 1 mg L⁻¹ de fer présent. Ensuite, un sel de calcium doit être ajouté en quantité suffisante pour co-précipiter le complexe phytate/fer, de préférence avec un ratio molaire de 5:1 (calcium:phytate), ce qui correspond à 3,6 mg L⁻¹ de Ca²⁺. Dans le protocole utilisé, le calcium n'a pas été ajouté et donc le fer n'a pas été totalement enlevé du milieu. Ces résultats sont intéressants, mais dans les conditions testées, ce type de piège apparaît

moins efficace que les lies de levures quant à une lutte potentielle contre l'oxydation du vin.

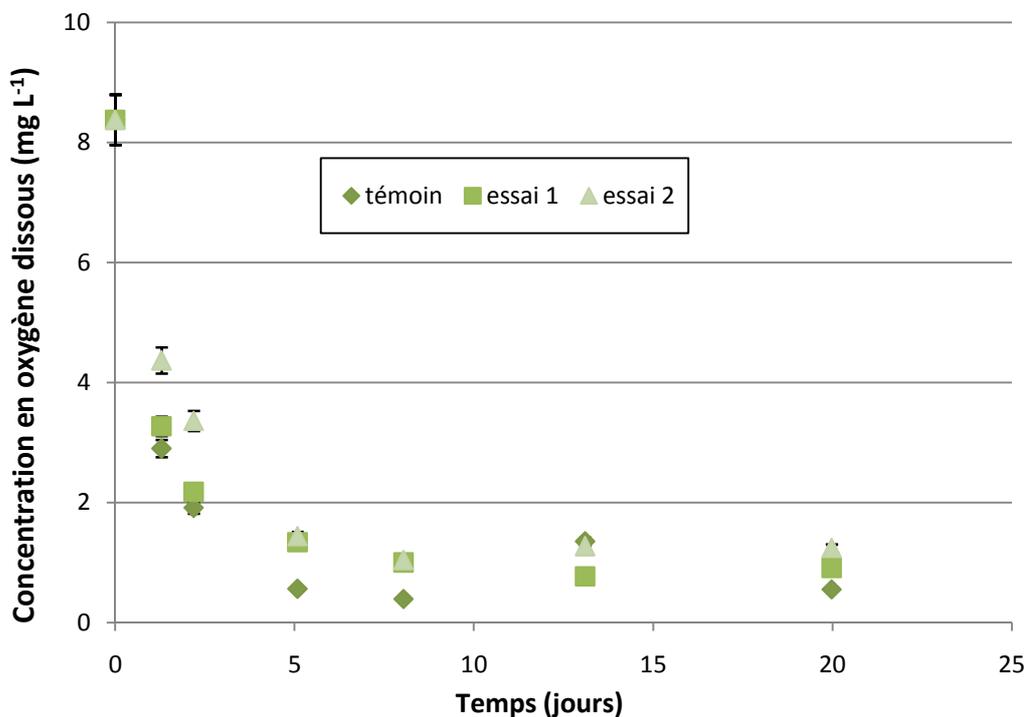


Figure 76 : Cinétiques de consommation d'oxygène du vin blanc villaray (◆), de ce même vin avec 28,3 mg L⁻¹ d'acide phytique (Phytate 1 ■) ou avec 56,7 mg L⁻¹ d'acide phytique (Phytate 2 ▲).

IV. Conclusion

La consommation d'oxygène par les lies est un phénomène pouvant être mis en œuvre pour entrer en compétition avec la consommation d'oxygène par les composants du vin. Comme nous l'avons montré, les lies consomment l'oxygène beaucoup plus rapidement que le vin seul : à 5 jours, il reste deux fois moins d'oxygène dans le vin mis en présence de lies que dans le vin seul.

L'immobilisation de ces lies sous forme de billes d'alginate nous a permis de tester des conditions de mise en œuvre semi-industrielles. En effet, dans ces conditions, la concentration en lies est importante, contrairement à d'autres moyens d'immobilisation.

Suite à ces travaux, un brevet portant sur l'utilisation de ce type de piège biologique a été déposé et s'intitule : Composition pour la stabilisation d'un liquide aqueux alimentaire sensible à l'oxydation (Brevet français INRA déposé le 23 janvier 2008, sous le numéro n°08-50421) (voir annexe 3).

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Le projet de thèse a été lancé à partir des différentes questions des industriels de l'association Performance BIB afin d'améliorer la qualité des vins conditionnés en BIB et de générer des connaissances supplémentaires sur le BIB.

Un certain nombre de réponses ont pu être apportées grâce à ce travail à la fois en mettant en avant l'impact de la sorption et la perméation des composés d'arôme sur le profil aromatique des vins, en mettant au point une méthode du dosage d'oxygène pénétrant dans la poche du BIB et en trouvant un moyen de limiter la présence d'oxygène dans le vin.

En ce qui concerne les transferts d'arôme dans et à travers les films de BIB, nous avons choisis de tester plusieurs méthodes pour déterminer les coefficients de transferts et de travailler avec des composés d'arômes purs pour caractériser plus facilement les deux films de polyéthylène. Il a pu ainsi être montré que la structure plus cristalline du PE 2 influençait la diffusion en la diminuant. Par contre, au niveau de la sorption, la nature hydrophobique des PE favorise la sorption des composés les plus apolaires. Il semble que le taux de branchement soit le facteur prépondérant car il influence l'accessibilité des sites de fixation. Au niveau des arômes, la sorption est clairement influencée par la nature des composés d'arôme, leur polarité, la concentration de ces composés ainsi que l'état des molécules. La diffusion est pour sa part influencée par le poids moléculaire et l'encombrement stérique des composés d'arôme mais aussi par leur concentration.

L'utilisation de différentes méthodes a permis de montrer qu'il est important de connaître leurs limites car elles peuvent mener à des interprétations différentes et qu'il est souvent judicieux de les confronter pour mieux cerner l'impact des différents facteurs. Quoiqu'il en soit, l'affinité des arômes pour le PE, et ce d'autant plus qu'ils sont hydrophobes, est clairement prouvée en accord avec sa nature apolaire

L'importance de la concentration mais aussi de la matrice dans laquelle se trouvent les composés a été mise en évidence en travaillant avec une solution modèle du vin contenant les composés d'arôme à des niveaux de concentrations trouvées dans le vin. Dans ce cas, la présence d'eau et d'éthanol va modifier l'affinité du composé d'arôme pour le matériau soit par effet compétitif pour les sites, par effet « solvant » et donc en favorisant la sorption ou le transfert ou encore par modification de la structure du

matériau et donc des propriétés. Aux faibles concentrations, la cristallinité n'affecte pas directement les transferts d'arôme mais de façon plus indirecte en jouant sur les transferts des constituants à plus forte concentration comme l'éthanol. Il a d'ailleurs été montré la forte capacité de sorption de ce solvant et que des faibles variations de concentration de ce dernier impactait fortement la sorption des arômes.

Par ailleurs, l'utilisation de conditions plus proche de la réalité d'un vin conditionné en Bag in Box a permis d'avoir une estimation des pertes en arômes par sorption et perméation. Celles-ci peuvent monter à plus de 30 % en couplant sorption et perméation et cela après un temps de contact très court entre le matériau et la solution. Ces résultats indiquent clairement que l'utilisation de film de PE au contact du vin n'est pas des plus adaptée. Toutefois il aurait fallu coupler ces résultats avec des analyses sensorielles permettant de connaître l'impact réel de la sorption et de la perméation sur le profil organoleptique d'un vin. Il semble difficile de mettre en place une telle approche car il faut s'affranchir ou au moins maîtriser tous les phénomènes d'oxydation contrôlés en partie par les propriétés barrière à l'oxygène du film et qui influencent de façon certaine le profil organoleptique du vin. Il faudrait aussi tenir compte des phénomènes de migration (du film vers le vin) qui n'ont pas été étudiés mais dont l'impact n'est pas à exclure. Enfin, la complexité de la matrice avec la présence de composés phénoliques, de tannins et autres macromolécules doit certainement interférer avec le transfert des composés d'arôme. On peut souhaiter que les connaissances apportées sur les phénomènes de transfert d'arôme dans et à travers les films de BIB permettent d'élaborer un emballage innovant avec une meilleure barrière aux arômes.

Dans le deuxième volet, un système de mesure du transfert d'oxygène a été mis au point afin de pouvoir mesurer dans des conditions proches de la réalité les phénomènes mis en jeu. Une différenciation des poches en fonction de leur propriété barrière a été réalisée en solution modèle et est applicable aux essais réalisés avec le vin. Cette méthode de mesure a l'avantage d'être exploitable dans les centres de conditionnement. Par la suite, il faudrait pouvoir relier le transfert d'oxygène au profil organoleptique des vins avec des molécules marqueurs de l'oxygène par exemple. Il serait également intéressant de trouver une méthode de mesure en ligne des autres gaz pour modéliser l'ensemble des transferts. De plus, nous avons vu que le ciel gazeux présent dans la poche a un impact important

sur le transfert d'oxygène au sein de la poche. Il faudrait soit trouver un système de remplissage qui ne laisse pas d'air (surtout emprisonné au moment de la pose du robinet après le remplissage) soit utiliser un piège à oxygène comme nous l'avons proposé qui consommerait l'oxygène initialement présent dans la poche plus rapidement que les vins.

Enfin, dans le troisième volet, un piège à oxygène biologique a été développé à base de lies de levures. Nous avons vérifié ainsi l'efficacité des lies à consommer l'oxygène dans une solution modèle puis dans un vin blanc. Ces lies ont été mises en œuvre de deux façons : par remplissage de capillaires et par immobilisation dans des billes d'alginate. Cette deuxième solution apparaît comme être la plus opérante. Nous avons vu que le piège biologique est efficace mais il faudrait poursuivre l'étude si l'on veut obtenir un produit industriellement intéressant. Il faudrait tout d'abord s'assurer de son impact positif sur le profil organoleptique. Il faudrait l'optimiser : en effet nous avons fait des essais sur des machines de remplissage sur lesquelles finalement nous n'avons pas pu remplir les BIB contenant le piège. Il faudrait peut-être l'utiliser sous d'autres formes et pour d'autres produits sensibles à l'oxygène. Par exemple, le piège pourrait être installé directement au sein du film de l'emballage, mais il faudrait un système qui protège le piège de l'oxygène de la fabrication au remplissage de la poche.

Une meilleure prise en compte des transferts d'arôme et d'oxygène ainsi que la mise en place de moyen pour les contrôler devrait permettre d'améliorer la qualité du vin conditionné en Bag-in-Box ou au moins d'indiquer la durée pendant laquelle leur consommation est acceptable. La prédiction de la durée de vie du vin repose sur de nombreux paramètres. Au cours de ces travaux de recherche, nous avons porté notre attention plus particulièrement sur les composés d'arôme et l'oxygène. D'autres paramètres importants pourraient être envisagés, comme par exemple la présence de sucres ou de polyphénols. Si cet aspect n'a pas été abordé durant la thèse faute de temps, il est clair que l'ensemble des résultats obtenus devrait être validés sensoriellement en tenant compte du facteur temps.

RÉFÉRENCES

(2004). CRC Handbook of Chemistry and Physics, 85th Edition. pp. 2712. Edited by D. R. Lide: CRC Press.

Adeney, W. E. & Becker, H. G. (1919). The determination of the rate of solution of atmospheric nitrogen and oxygen by water. *Philosophical Magazine* **38**, 317-337.

Akerboom, T. P. M., Sies, H. & William, B. J. (1981). [48] Assay of glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples. In *Methods in Enzymology*, pp. 373-382: Academic Press.

Altieri, C., Sinigaglia, M., Corbo, M. R., Buonocore, G. G., Falcone, P. & Del Nobile, M. A. (2004). Use of entrapped microorganisms as biological oxygen scavengers in food packaging applications. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* **37**, 9-15.

Armstrong, R. B. (2002). Effects of Polymer Structure on Gas Barrier of EVOH (Ethylene Vinyl Alcohol) and Considerations for Package Development. *TAPPI 2002 PLACE Conference Proceedings*.

Arora, D. K., Hansen, A. P. & Armagost, M. S. (1991). Sorption of Flavor Compounds by Low Density Polyethylene Film. *Journal of food science* **56**, 1421-1423.

Atanasova, V., Fulcrand, H., Cheynier, V. & Moutounet, M. (2002). Effect of oxygenation on polyphenol changes occurring in the course of wine making. *Analytica Chimica Acta* **458**, 15-27.

Aucejo, S., Pozo, M. J. & Gavara, R. (1998). Effect of water presence on the sorption of organic compounds in ethylene-vinyl alcohol copolymers. *Journal of Applied Polymer Science* **70**, 711-716.

Auras, R., Harte, B. & Selke, S. (2004). Effect of water on the oxygen barrier properties of poly(ethylene terephthalate) and polylactide films. *Journal of Applied Polymer Science* **92**, 1790-1803.

Balik, C. M. & Simendinger, W. H. (1998). An attenuated total reflectance cell for analysis of small molecule diffusion in polymer thin films with Fourier-transform infrared spectroscopy. *Polymer* **39**, 4723-4728.

Barr, C. D., Giacini, J. R. & Hernandez, R. J. (2000). A determination of solubility coefficient values determined by gravimetric and isostatic permeability techniques. *Packaging Technology and Science* **13**, 157-167.

Barrer, R. M. (1937). Nature of the Diffusion Process in Rubber. *Nature* **140**, 106-107.

Barrera-Garcia, V. D., Gougeon, R. D., Voilley, A. & Chassagne, D. (2006). Sorption Behavior of Volatile Phenols at the Oak Wood/Wine Interface in a Model System. *J Agric Food Chem* **54**, 3982-3989.

Bely, M. (1990). Détection automatique et correction des carences en azote assimilable des fermentations alcooliques en conditions œnologiques - étude cinétique et approche physiologique: Université de Montpellier II.

Benson, B. B. & Krause, D. J. (1984). The concentration and isotopic fractionation of oxygen dissolved in freshwater and seawater in equilibrium with the atmosphere. *Limnology and Oceanography* **29**, 620-632.

Berlinet, C., Brat, P., Brillouet, J.-M. & Ducruet, V. (2006). Ascorbic acid, aroma compounds and browning of orange juices related to PET packaging materials and pH. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **86**, 2206-2212.

Blouin, J. & Peynaud, E. (2002). *Connaissance et travail du vin*, 3e edn: Editions La Vigne, Dunod.

Bocquet, S., Gascons Viladomat, F., Muvdi Nova, C., Sanchez, J., Athes, V. & Souchon, I. (2006). Membrane-based solvent extraction of aroma compounds: Choice of configurations of hollow fiber modules based on experiments and simulation. *Journal of Membrane Science* **281**, 358-368.

Bouchilloux, P., Darriet, P., Dubourdiou, D., Henry, R., Reichert, S. & Mosandl, A. (2000). Stereodifferentiation of 3-mercapto-2-methylpropanol in wine. *European Food Research and Technology* **210**, 349-352.

Boulet, J. C., Vidal, J. C., Deage, M. & Moutounet, M. (2004). Les effets de différents processus d'oxydation. Présentation des résultats de l'étude INRA. In *Performance BIB* pp. 47-64. Barossa valley (AUS).

Brandon, K., Beggan, M., Allen, P. & Butler, F. (2008). The performance of several oxygen scavengers in varying oxygen environments at refrigerated temperatures: implications for low-oxygen modified atmosphere packaging of meat. *International Journal of Food Science & Technology* **on line**.

Briston, J. H. (1988). *Plastic films*, 3rd edn. New York, USA: Wiley.

Brunauer, S., Emmett, P. H. & Teller, E. (1938). Adsorption of gases in multimolecular layers. *Journal of the American Chemical Society* **60**, 309-319.

Brydson, J. A. (1999). *Plastics Materials*: Butterworth-Heinemann.

Cano-Lopez, M., Pardo-Minguez, F., Schmauch, G., Saucier, C., Teissedre, P., Lopez-Roca, J. & Gomez-Plaza, E. (2008). Effect of micro-oxygenation on color and anthocyanin-related compounds of wines with different phenolic contents. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* **56** 5932-5941.

Cava, D., Lagaron, J. M., Lopez-Rubio, A., Catala, R. & Gavara, R. (2004a). On the applicability of FT-IR spectroscopy to test aroma transport properties in polymer films. *Polymer Testing* **23**, 551-557.

- Cava, D., Lagaron, J. M., Lopez-Rubio, A., Catala, R. & Gavara, R. (2004b).** On the applicability of FT-IR spectroscopy to test aroma transport properties in polymer films. *Polym Test* **23**, 551-557.
- Chalier, P., Angot, B., Delteil, D., Doco, T. & Gunata, Z. (2007a).** Interactions between aroma compounds and whole mannoprotein isolated from *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Food Chemistry* **100**, 22-30.
- Chalier, P., Peyches-Bach, A., Gastaldi, E. & Gontard, N. (2007b).** Effect of Concentration and Relative Humidity on the Transfer of Alkan-2-ones through Paper Coated with Wheat Gluten. *J Agric Food Chem* **55**, 867-875.
- Chalier, P., Peyches-Bach, A., Gastaldi, E. & Gontard, N. (2007c).** Effect of Concentration and Relative Humidity on the Transfer of Alkan-2-ones through Paper Coated with Wheat Gluten. *J Agric Food Chem* **55**, 867-875.
- Chassagne, D., Guilloux-Benatier, M., Alexandre, H. & Voilley, A. (2005).** Sorption of wine volatile phenols by yeast lees. *Food Chemistry* **91**, 39-44.
- Cheremisinoff, N. P. (2001).** *Condensed Encyclopedia of Polymer Engineering Terms*: Butterworth-Heinemann.
- Cheyrier, V. & Fulcrand, H. (1998).** Oxydation des polyphénols dans les moûts et les vins. In *Oenologie - Fondements scientifiques et technologiques*, pp. 581-596. Edited by C. Flanzy. Paris: Editions Lavoisier Technique et Documentation.
- Chiang, M. Y. M. & Fernandez-Garcia, M. (2003).** Relation of swelling and T_g depression to the apparent free volume of a particle-filled, epoxy-based adhesive. *Journal of Applied Polymer Science* **87**, 1436-1444.
- Compañ, V., Castillo, L. F. D., Hernández, S. I., López-González, M. M. & Riande, E. (2007).** On the crystallinity effect on the gas sorption in semicrystalline linear low density polyethylene (LLDPE). *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics* **45**, 1798-1807.
- Comyn, J. (1985).** *Polymer Permeability*. London: Chapman & Hall.
- Connick, R. E. & Zhang, Y.-X. (1996).** Kinetics and Mechanism of the Oxidation of HSO₃- by O₂. 2. The Manganese(II)-Catalyzed Reaction. *Inorganic Chemistry* **35**, 4613-4621.
- Covarrubias-Cervantes, M., Mokbel, I., Champion, D., Jose, J. & Voilley, A. (2004).** Saturated vapour pressure of aroma compounds at various temperatures. *Food Chemistry* **85**, 221-229.
- Crank, J. (1975).** *The Mathematics of Diffusion*, 2nd edn. Oxford, U.K.: Clarendon Press/Oxford University Press.
- Crawford, R. J. & Throne, J. L. (2002).** *Rotational Molding Technology*: William Andrew Inc.

D'Aniello, C., Guadagno, L., Gorrasi, G. & Vittoria, V. (2000). Influence of the crystallinity on the transport properties of isotactic polypropylene. *Polymer* **41**, 2515-2519.

Danilewicz, J. C. (2007). Interaction of Sulfur Dioxide, Polyphenols, and Oxygen in a Wine-Model System: Central Role of Iron and Copper. *American Journal of Enology and Viticulture* **58**, 53-60.

Darnet, S., Thomas, D. & Legoy, M.-D. (1993). Use of enzymatic oxygen scavengers to prevent lactate dehydrogenase inactivation by oxygen radicals. *Enzyme and Microbial Technology* **15**, 8-12.

del Álamo, M., Nevares, I. & Cárcel, L. M. (2006). Redox potential evolution during red wine aging in alternative systems. *Analytica Chimica Acta* **563**, 223-228.

Delanöe, D., Maillard, C. & Maisondieu, D. (2001). *Le vin : De l'analyse à l'élaboration*, 5e edn: Editions Tec & Doc.

DeLassus, P. T. (1994). Permeation of flavors and aromas through glassy polymers. *TAPPI polymers, laminations and coatings conference* **77**, 109-113.

Delcroix, A., Günata, Z., Sapis, J.-C., Salmon, J.-M. & Bayonove, C. (1994). Glycosidase activities of three enological yeast strains during winemaking - effect on the terpenol content of muscat wine. *American Journal of Enology and Viticulture* **45**, 291-296.

Doyon, G., Clément, A., Ribéreau, S. & Gérald Morin (2005). Canadian bag-in-box wine under distribution channel abuse: material fatigue, flexing simulation and total closure/spout leakage investigation. *Packaging Technology and Science* **18**, 97-106.

Dubourdieu, D., Moine-Ledoux, V., Lavigne-Cruége, V. & Tominaga, T. (2002). Elevage des vins blancs sur lies - Acquisition récentes. In *MONDIAVITI*, pp. 13. Bordeaux.

Ducruet, V., Lebossé, R. & Feigenbaum, A. (2000). Le polypropylène en tant que matériau d'emballage actif pour la sorption d'arômes d'une solution modèle de jus d'orange. In *Les emballages actifs*. Edited by N. Gontard.

Ducruet, V., Fournier, N., Saillard, P., Feigenbaum, A. & Guichard, E. (2001). Influence of Packaging on the Aroma Stability of Strawberry Syrup during Shelf Life. *J Agric Food Chem* **49**, 2290-2297.

Ducruet, V. J., Rasse, A. & Feigenbaum, A. E. (1996). Food and packaging interactions: Use of methyl red as a probe for PVC swelling by fatty acid esters. *Journal of Applied Polymer Science* **62**, 1745-1752.

Duda, J. L., Hadj Romdhane, I. & Danner, R. P. (1994). Diffusion in glassy polymers -- relaxation and antiplasticization. *Journal of Non-Crystalline Solids* **172-174**, 715-720.

Dury-Brun, C., Chalier, P., Desobry, S. & Voilley, A. (2007a). Multiple Mass Transfers of Small Volatile Molecules Through Flexible Food Packaging. *Food Reviews International* **23**, 199-255.

- Dury-Brun, C., Chalier, P., Desobry, S. & Voilley, A. (2007b).** Multiple Mass Transfers of Small Volatile Molecules Through Flexible Food Packaging. *Food Rev Int* **23**, 199-255.
- Dury-Brun, C., Hirata, Y., Guillard, V., Ducruet, V., Chalier, P. & Voilley, A. (2008).** Ethyl hexanoate transfer in paper and plastic food packaging by sorption and permeation experiments. *Journal of Food Engineering* **89**, 217-226.
- Escudero, A., Asensio, E., Cacho, J. & Ferreira, V. (2002).** Sensory and chemical changes of young white wines stored under oxygen. An assessment of the role played by aldehydes and some other important odorants. *Food Chemistry* **77**, 325-331.
- Etievant, P. X. (1991).** Wine. In *Volatile compounds in foods and beverages*, pp. 483-546. Edited by H. Maarse. New York: Marcel Dekker.
- Fayoux, S. C., Seuvre, A.-M. & Voilley, A. J. (1997).** Aroma transfers in and through plastic packagings: orange juice and *d*-limonene. A review. Part II: overall sorption mechanisms and parameters - a literature survey. *Packaging Technology and Science* **10**, 145-160.
- Flaconnèche, B., Martin, J. & Klopffer, M. H. (2001).** Permeability, Diffusion and Solubility of Gases in Polyethylene, Polyamide 11 and Poly(vinylidene fluoride). *Oil & Gas Science and Technology* **56**, 261-278.
- Floros, J. D., Dock, L. L. & Han, J. H. (1997).** Active packaging technologies and applications. *Food Cosmetics and Drug Packaging* **20**, 10-17.
- Fornairon-Bonnefond, C. (2000).** Réactivité post-fermentaire de *Saccharomyces cerevisiae* vis-à-vis de l'oxygène. In *Sciences et Techniques du Languedoc*, pp. 257. Montpellier, France: Montpellier II.
- Fornairon-Bonnefond, C. & Salmon, J.-M. (2003).** Impact of oxygen consumption by yeast lees on the autolysis phenomenon during simulation of wine aging on lees. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**, 2584-2590.
- Fornairon, C., Mazauric, J.-P., Salmon, J.-M. & Moutounet, M. (1999).** Observations sur la consommation de l'oxygène pendant l'élevage des vins sur lies. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* **33**, 79-86.
- Franz, R. (1993).** Permeation of volatile organic compounds across polymer films - Part I: Development of a sensitive test method suitable for high-barrier packaging films at very low permeant vapour pressures. *Packaging Technology and Science* **6**, 91-102.
- Fretz, C., Känel, S., Luisier, J.-L. & Amadò, R. (2005).** Analysis of volatile components of Petite Arvine wine. *European Food Research and Technology* **221**, 504-510.
- Fukamachi, M., Matsui, T., Hwang, Y.-H., Shimoda, M. & Osajima, Y. (1996).** Sorption Behavior of Flavor Compounds into Packaging Films from Ethanol Solution. *J Agric Food Chem* **44**, 2810-2813.

- Fulcrand, H., Cheynier, V., Oszmianski, J. & Moutounet, M. (1997).** An oxidized tartaric acid residue as a new bridge potentially competing with acetaldehyde in flavan-3-ol condensation. *Phytochemistry* **46**, 223-227.
- Gavara, R. & Hernandez, R. J. (1994).** The effect of water on the transport of oxygen through nylon-6 films. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics* **32**, 2375-2382.
- Giguère, P. A. & Savoie, R. (1965).** Sur le spectre infrarouge de SO₂ à haute température. *Canadian Journal of Chemistry* **43**, 2357-2362.
- Gomez-Plaza, E., Gil-Munoz, R., Carreno-Espin, J., Fernandez-Lopez, J. A. & Martinez-Cutillas, A. (1999).** Investigation on the aroma of wines from seven clones of Monastrell grapes. *European Food Research and Technology* **209**, 257-260.
- Gonzalez-Rios, O., Suarez-Quiroz, M. L., Boulanger, R., Barel, M., Guyot, B., Guiraud, J.-P. & Schorr-Galindo, S. (2007).** Impact of "ecological" post-harvest processing on the volatile fraction of coffee beans: I. Green coffee. *Journal of Food Composition and Analysis* **20**, 289-296.
- Guggenheim, E. A. (1966).** *Applications of Statistical Mechanics*: Oxford University Press.
- Guo, J. & Barbari, T. A. (2008).** A Dual Mode, Local Equilibrium Relaxation Model for Small Molecule Diffusion in a Glassy Polymer. *Macromolecules* **41**, 238-245.
- Harvey, B. A., Druaux, C. & Voilley, A. (1995).** Effect of Protein on the Retention and Transfer of Aroma Compounds at the Lipid-Water Interface. In *Food Macromolecule and Colloids*, pp. 154-163. Edited by E. Dickinson & D. Lorient: The Royal Society of Chemistry.
- Hensley, T. M., Giacín, J. R. & Hernandez, R. J. (1991).** Permeation of multi-component organic vapor mixtures through polymeric barrier films. In *IAPRI 7th World Conference on Packaging*. Utrecht, The Netherlands.
- Hernandez-Muñoz, P., Catalá, R., Hernandez, R. J. & Gavara, R. (1998).** Food Aroma Mass Transport in Metallocene Ethylene-Based Copolymers for Packaging Applications. *J Agric Food Chem* **46**, 5238-5243.
- Hernandez-Muñoz, P., Catalá, R. & Gavara, R. (1999).** Effect of Sorbed Oil on Food Aroma Loss through Packaging Materials. *J Agric Food Chem* **47**, 4370-4374.
- Hernandez, R. J. (1994).** Effect of water vapor on the transport properties of oxygen through polyamide packaging materials. *Journal of Food Engineering* **22**, 495-507.
- Hernandez, R. J. & Gavara, R. (1994).** Sorption and transport of water in nylon-6 films. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics* **32**, 2367-2374.
- Hu, C.-C., Chang, C.-S., Ruaan, R.-C. & Lai, J.-Y. (2003).** Effect of free volume and sorption on membrane gas transport. *Journal of Membrane Science* **226**, 51-61.
- Huber, C. (2006).** Oxygen Ingress Measurement into PET Bottles using Optical-Chemical Sensor Technology. Edited by <http://www.presens.de>.

- Ito, K., Saito, Y., Yamamoto, T., Ujihira, Y. & Nomura, K. (2001).** Correlation Study between Oxygen Permeability and Free Volume of Ethylene-Vinyl Alcohol Copolymer through Positronium Lifetime Measurement. *Macromolecules* **34**, 6153-6155.
- Jasse, B., Seuvre, A. M. & Mathlouthi, M. (1999).** Permeability and structure in polymeric packaging materials. In *Food Packaging and Preservation*, pp. 1-22. Edited by M. Mathlouthi: Aspen Publishers.
- Johansson, F. & Leufven, A. (1994).** Food Packaging Polymer Films as Aroma Vapor Barriers at Different Relative Humidities. *Journal of Food Science* **59**, 1328-1331.
- Johansson, F. & Leufvén, A. (1994).** Influence of sorbed vegetable oil and relative humidity on the oxygen transmission rate through various polymer packaging films. *Packaging Technology and Science* **7**, 275-281.
- Johansson, F. & Leufven, A. (1997).** Concentration and Interactive Effects on the Sorption of Aroma Liquids and Vapors into Polypropylene. *Journal of Food Science* **62**, 355-358.
- Karlsson, G. E., Gedde, U. W. & Hedenqvist, M. S. (2004).** Molecular dynamics simulation of oxygen diffusion in dry and water-containing poly(vinyl alcohol). *Polymer* **45**, 3893-3900.
- Kawaguti, H. Y., Manrich, E. & Sato, H. H. (2006).** Production of isomaltulose using *Erwinia* sp. D12 cells: Culture medium optimization and cell immobilization in alginate. *Biochemical Engineering Journal* **29**, 270-277.
- Kerry, J. P., O'Grady, M. N. & Hogan, S. A. (2006).** Past, current and potential utilisation of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: A review. *Meat Science* **74**, 113-130.
- Klopffer, M. H. & Flaconnèche, B. (2001).** Transport Properties of Gases in Polymers: Bibliographic Review. *Oil & Gas Science and Technology* **56**, 223-244.
- Kobayashi, M., Kanno, T., Hanada, K. & Osanai, S.-I. (1995).** Permeability and Diffusivity of d-Limonene Vapor in Polymeric Sealant Films. *Journal of Food Science* **60**, 205-209.
- Krizan, T. D., Coburn, J. C. & Blatz, P. S. (1990).** Structure of Amorphous Polyamides: Effect on Oxygen Permeation Properties. In *Barrier Polymers and Structures*, pp. 111-125. Edited by W. J. Koros. Washington, DC: American Chemical Society.
- Kutty, V., Braddock, R. J. & Sadler, G. D. (1994).** Oxidation of d-Limonene in Presence of Low Density Polyethylene. *Journal of Food Science* **59**, 402-405.
- Kwan, K. S., Subramaniam, C. N. P. & Ward, T. C. (2003).** Effect of penetrant size, shape, and chemical nature on its transport through a thermoset adhesive. II. Esters. *Polymer* **44**, 3071-3083.
- Launay, A., ThomINETTE, F. & Verdu, J. (1999).** Water sorption in amorphous poly(ethylene terephthalate). *Journal of Applied Polymer Science* **73**, 1131-1137.

- Lavigne-Cruége, V. & Dubourdiou, D. (2004).** Rôle du glutathion dans l'élaboration des vins blancs secs. In *MONDIAVITI*, pp. 7. Bordeaux.
- Lebosse, R., Ducruet, V. & Feigenbaum, A. (1997).** Interactions between Reactive Aroma Compounds from Model Citrus Juice with Polypropylene Packaging Film. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **45**, 2836-2842.
- Lee, D. S., Jang, J. D. & Hwang, Y. I. (2002).** The effects of using packaging films with different permeabilities on the quality of Korean fermented red pepper paste. *International Journal of Food Science and Technology* **37**, 255-261.
- Lefaux, R. (1972).** *Les Matières plastiques dans l'industrie alimentaire*: Compagnie française d'éditions.
- Letinski, J. & Halek, G. W. (1992).** Interactions of Citrus Flavor Compounds with Polypropylene Films of Varying Crystallinities. *Journal of Food Science* **57**, 481-484.
- Leufvén, A. & Stöllman, U. (1992).** Polymer films as aroma barriers at different temperatures. *Z Lebens Forsch* **194**, 355-359.
- Lide, D. R. (2004).** *CRC Handbook of Chemistry and Physics, 85th Edition*: CRC Press.
- Lim, L.-T., Britt, I. J. & Tung, M. A. (1999).** Sorption and transport of water vapor in nylon 6,6 film. *Journal of Applied Polymer Science* **71**, 197-206.
- Lopes, P., Saucier, C. & Glories, Y. (2005).** Nondestructive colorimetric method to determine the oxygen diffusion rate through closures used in winemaking. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**, 6967 - 6973.
- Lopes, P., Saucier, C., Teissedre, P.-L. & Glories, Y. (2006).** Impact of Storage Position on Oxygen Ingress through Different Closures into Wine Bottles. *J Agric Food Chem* **54**, 6741-6746.
- Lopez-Carballo, G., Cava, D., Lagaron, J. M., Catala, R. & Gavara, R. (2005).** Characterization of the Interaction between Two Food Aroma Components, α -Pinene and Ethyl Butyrate, and Ethylene-Vinyl Alcohol Copolymer (EVOH) Packaging Films as a Function of Environmental Humidity. *J Agric Food Chem* **53**, 7212 - 7216.
- Lu, Y. & Wilkins, E. (1996).** Heavy metal removal by caustic-treated yeast immobilized in alginate. *Journal of Hazardous Materials* **49**, 165-179.
- Lützow, N., Tihminlioglu, A., Danner, R. P., Duda, J. L., De Haan, A., Warnier, G. & Zielinski, J. M. (1999).** Diffusion of toluene and n-heptane in polyethylenes of different crystallinity. *Polymer* **40**, 2797-2803.
- Mané, C. (2007).** Phénomènes oxydatifs et composés phénoliques dans les vins blancs de Champagne. In *Sciences des Aliments*. Montpellier: Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier.

- Marais, S., Hirata, Y., Langevin, D., Chappey, C., Nguyen, T. & Metayer, M. (2002).** Permeation and Sorption of Water and Gases Through EVA Copolymers Films. *Materials Research Innovations* **6**, 79-88.
- Matsui, T., Nagashima, K., Fukamachi, M., Shimoda, M. & Osajima, Y. (1992a).** Application of the solubility parameter in estimating the sorption behavior of flavor into packaging film. *J Agric Food Chem* **40**, 1902-1905.
- Matsui, T., Ono, A., Shimoda, M. & Osajima, Y. (1992b).** Thermodynamic elucidation of depression mechanism on sorption of flavor compounds into electron beam irradiated LDPE and EVA films. *J Agric Food Chem* **40**, 479-483.
- Matsui, T., Ono, A., Shimoda, M. & Osajima, Y. (1992c).** Thermodynamic elucidation of depression mechanism on sorption of flavor compounds into electron beam irradiated LDPE and EVA films. *J Agric Food Chem* **40**, 479-483.
- Mazauric, J.-P. & Salmon, J.-M. (2005).** Interactions between yeast lees and wine polyphenols during simulation of wine aging. I. Analysis of remnant polyphenolic compounds in the resulting wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**, 5647-5653.
- Mazauric, J. P. & Salmon, J. M. (2006).** Interactions between Yeast Lees and Wine Polyphenols during Simulation of Wine Aging: II. Analysis of Desorbed Polyphenol Compounds from Yeast Lees. *J Agric Food Chem* **54**, 3876-3881.
- Milicevic, D., Trifunovic, S., Popovic, M., Milic, T. V. & Suljovrujic, E. (2007).** The influence of orientation on the radiation-induced crosslinking/oxidative behavior of different PEs. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* **260**, 603-612.
- Mohney, S. M., Hernandez, R. J., Giacini, J. R., Harte, B. R. & Miltz, J. (1988).** Permeability and Solubility of d-Limonene Vapor in Cereal Package Liners. *Journal of Food Science* **53**, 253-257.
- Morata, A., Gomez-Cordoves, M. C., Suberviola, J., Bartolome, B., Colomo, B. & Suarez, J. A. (2003).** Adsorption of Anthocyanins by Yeast Cell Walls during the Fermentation of Red Wines. *J Agric Food Chem* **51**, 4084-4088.
- Morillon, V., Debeaufort, F., Blond, G. & Voilley, A. (2000).** Temperature influence on moisture transfer through synthetic films. *Journal of Membrane Science* **168**, 223-231.
- Moutounet, M., Ducourneau, P., Chassin, M. & Lemaire, T. (1995).** Appareillage d'apport d'oxygène aux vins. Son intérêt technologique. In *Oenologie 95, Vème Symposium International d'Oenologie*, pp. 411-414. Edited by A. Lonvaud-Funel. Bordeaux, France: TecDoc Lavoisier (Paris).
- Moutounet, M. & Mazauric, J. P. (1999).** Dosage de microquantités d'oxygène dans les vins. *Feuillets verts de l'OIV* **1085**.
- Moutounet, M. & Mazauric, J.-P. (2001).** L'oxygène dissous dans les vins. *Revue Française d'Oenologie* **186**, 12-15.

Muramatsu, M., Okura, M., Kuboyama, K. & other authors (2003). Oxygen permeability and free volume hole size in ethylene-vinyl alcohol copolymer film: temperature and humidity dependence. *Radiation Physics and Chemistry* **68**, 561-564.

Murat, M.-L., Tominaga, T., Saucier, C., Glories, Y. & Dubourdiou, D. (2003). Effect of Anthocyanins on Stability of a Key Odorous Compound, 3-Mercaptohexan-1-ol, in Bordeaux Rose Wines. *Am J Enol Vitic* **54**, 135-138.

Muratore, G., Guarrera, N., Nicolosi Asmundo, C., Del Nobile, M. A. & Fava, F. (2005). Study on the absorption of flavour compounds from wine by polyethylene film. *Italian Beverage Technology* **13**, 5-7.

Naylor, T. V. (1989). Permeation properties. In *Comprehensive Polymers Science*, pp. 643-668: Pergamon Press.

Neumann, A. (2001). Compendium on the subject of barrier films and barrier properties: Présentation Dipl.-Ing Nordenia Deutschland.

Nielsen, T. J., Jägerstad, I. M. & Öste, R. E. (1992a). Study of factors affecting the absorption of aroma compounds into low-density polyethylene. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **60**, 377-381.

Nielsen, T. J., Jagerstad, I. M., Oste, R. E. & Wesslen, B. O. (1992b). Comparative Absorption of Low Molecular Aroma Compounds into Commonly Used Food Packaging Polymer Films. *J Food Sci* **57**, 490-492.

Nielsen, T. J., Jägerstad, I. M. & Rickard E. Öste (1992c). Study of factors affecting the absorption of aroma compounds into low-density polyethylene. *J Sci Food Agric* **60**, 377-381.

OIV RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – Dioxyde de soufre
<http://news.reseau-concept.net/images/oiv/Client/MA-F-AS323-04-DIOSOU.pdf>.

OIV Codex Oenologique International.

Paik, J. S. (1992). Comparison of sorption in orange flavor components by packaging films using the headspace technique. *J Agric Food Chem* **40**, 1822-1825.

Palma, M. & Barroso, C. (2002). Application of a new analytical method to determine the susceptibility of wine to browning. *European Food Research and Technology* **214**, 441-443.

Pasteur, L. (1866). *Etudes sur le vin : ses maladies, causes qui les provoquent, procédés nouveaux pour le conserver et pour le vieillir.*, Imprimerie impériale edn. Paris.

Pastorelli, S., Valzacchi, S., Rodriguez, A. & Simoneau, C. (2006). Solid-phase microextraction method for the determination of hexanal in hazelnuts as an indicator of the interaction of active packaging materials with food aroma compounds. *Food Additives & Contaminants: Part A* **23**, 1236 - 1241.

- Pérez-Coello, M. S., Martín-Álvarez, P. J. & Cabezudo, M. D. (1999).** Prediction of the storage time in bottles of Spanish white wines using multivariate statistical analysis. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A* **208**, 408-412.
- Peroval, C., Debeaufort, F., Despre, D. & Voilley, A. (2002).** Edible Arabinoxylan-Based Films. 1. Effects of Lipid Type on Water Vapor Permeability, Film Structure, and Other Physical Characteristics. *J Agric Food Chem* **50**, 3977-3983.
- Pieper, G., Borgudd, M., Ackermann, P. & Fellers, P. (1992).** Absorption of Aroma Volatiles of Orange Juice into Laminated Carton Packages Did Not Affect Sensory Quality. *Journal of food science* **57**, 1408-1411.
- Podrazky, O. & Kuncova, G. (2005).** Determination of concentration of living immobilized yeast cells by fluorescence spectroscopy. *Sensors and Actuators B: Chemical* **107**, 126-134.
- Quezada-Gallo, J. A., Debeaufort, F. & Voilley, A. (1999).** Interactions between Aroma and Edible Films. 1. Permeability of Methylcellulose and Low-Density Polyethylene Films to Methyl Ketones. *J Agric Food Chem* **47**, 108-113.
- Ragazzo Sanchez, J. A. (2001).** Equilibres gaz-liquide de composés d'arôme en solutions hydroalcooliques : capteurs d'arômes et maîtrise des procédés biologiques. Montpellier: Université Montpellier II.
- Ramirez Ramirez, G., Lubbers, S., Charpentier, C., Feuillat, M., Voilley, A. & Chassagne, D. (2001).** Aroma Compound Sorption by Oak Wood in a Model Wine. *J Agr Food Chem* **49**, 3893-3897.
- Ribéreau-Gayon, J. (1933).** *Contribution à l'étude des oxydations et réductions dans les vins.*, Delmas edn. Bordeaux.
- Ribéreau-Gayon, J. & Peynaud, E. (1961).** *Traité d'oenologie Tome 2:* Librairie Polytechnique Ch. Béranger
- Ribéreau-Gayon, P., Dubourdiou, D., Donèche, B. & Lonvaud, A. (1998).** *Traité d'oenologie. 1. Microbiologie du vin Vinifications.* Paris: Dunod.
- Riordan, C., Love, G., Barron, N., Nigam, P., Marchant, R., McHale, L. & McHale, A. P. (1996).** Production of ethanol from sucrose at 45[deg]C by alginate-immobilized preparations of the thermotolerant yeast strain *Kluyveromyces marxianus* IMB3. *Bioresource Technology* **55**, 171-173.
- Rosenfeld, E., Beauvoit, B., Rigoulet, M. & Salmon, J.-M. (2002).** Non-respiratory oxygen consumption pathways in anaerobically-grown *Saccharomyces cerevisiae*: evidence and partial characterization. *Yeast* **19**, 1299-1322.
- Sajilata, M. G., Savitha, K., Singhal, R. S. & Kanetkar, V. R. (2007).** Scalping of Flavors in Packaged Foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **6**, 17-35.

Salmon, J.-M., Fornairon-Bonnefond, C., Mazauric, J.-P. & Moutounet, M. (2000a). Oxygen consumption by wine lees : impact on lees integrity during wine ageing. *Food Chemistry* **71**, 519-528.

Salmon, J.-M., Fornairon-Bonnefond, C., Mazauric, J.-P. & Moutounet, M. (2000b). L'enjeu oenologique de l'élevage sur lie des vins rouges- I- les lies de levures et la consommation d'oxygène. *Journal des Sciences et Techniques de la Tonnellerie - Connaissances actuelles et Avenir de l'élevage en barriques (numéro spécial)*, 39-42.

Salmon, J.-M., Fornairon-Bonnefond, C. & Mazauric, J.-P. (2002). Interactions between wine lees and polyphenols: influence on oxygen consumption during simulation of wine aging. *Journal of Food Science* **67**, 1604-1609.

Salmon, J.-M., Vuchot, P., Doco, T. & Moutounet, M. (2003a). Maintenance and protection of yeast morphology by contact with wine polyphenols during wine aging on fine lees. In *VIIIth International Enology Symposium*. Arcachon, France.

Salmon, J.-M., Vuchot, P., Doco, T. & Moutounet, M. (2003b). Maintenance and protection of yeast morphology by contact with wine polyphenols during simulation of wine aging on lees. *Journal of Food Science* **68**, 1782-1787.

Salmon, J.-M. (2006). Interactions between yeast, oxygen and polyphenols during alcoholic fermentations: Practical implications. *LWT - Food Science and Technology* **39**, 959-965.

Sanders, R. A., Zyzak, D. V., Morsch, T. R., Zimmerman, S. P., Searles, P. M., Strothers, M. A., Eberhart, B. L. & Woo, A. K. (2005). Identification of 8-Nonenal as an Important Contributor to "Plastic" Off-Odor in Polyethylene Packaging. *J Agric Food Chem* **53**, 1713-1716.

Selke, S. E. M., Culter, J. D. & Hernandez, R. J. (2004). *Plastics Packaging: Properties, Processing, Applications, And Regulations*, 2nd edn: Hanser Gardner Publications.

Sheung, K. S. M., Min, S. & Sastry, S. K. (2004). Dynamic Head Space Analyses of Orange Juice Flavor Compounds and Their Absorption into Packaging Materials. *Journal of Food Science* **69**, 549-556.

Sheung, K. S. M., Sastry, S. K. & Min, D. B. (2007). Diffusion coefficient of orange juice flavor compounds into packaging materials: A mathematical model. *LWT - Food Science and Technology* **40**, 157-163.

Shimoda, M., Matsui, T. & Osajima, Y. (1987). Effects of the number of carbon atoms of flavor compounds on diffusion, permeation and sorption with polyethylene films. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* **34**, 535-539.

Silva Ferreira, A. C., Hogg, T. & Guedes de Pinho, P. (2003). Identification of Key Odorants Related to the Typical Aroma of Oxidation-Spoiled White Wines. *J Agric Food Chem* **51**, 1377-1381.

Singleton, V. L. (1982). Oxidation of wine. *Proceedings of the international symposium, Oxford University*, 1-13.

- Singleton, V. L. (1987).** Oxygen with Phenols and Related Reactions in Musts, Wines, and Model Systems: Observations and Practical Implications. *American Journal of Enology and Viticulture* **38**, 69-77.
- Somers, T. & Vérette, E. (1988).** Phenolic composition of natural wine types. In *Modern methods of plant analysis*, pp. 219–257. Edited by H. Linskens & J. Jackson. Heidelberg: Springer-Verlag.
- Spencer, C. M., Cai, Y., Martin, R., Gaffney, S. H., Goulding, P. N., Magnolato, D., Lilley, T. H. & Haslam, E. (1988).** Polyphenol complexation--some thoughts and observations. *Phytochemistry* **27**, 2397-2409.
- Spies, W. E. L. & Wolf, W. (1983).** The result of the COST 90 project on water activity. In *Physical Properties of Foods*, pp. 65–88. Edited by R. Jowitt, F. Escher, B. Hallstrom, H. F. T. Meffert, W. E. L. Spies & G. Vos. Londres: Applied Science Publishers.
- Togawa, J., Kanno, T., Horiuchi, J.-i. & Kobayashi, M. (2001).** Gas permeability modification of polyolefin films induced by -limonene swelling. *Journal of Membrane Science* **188**, 39-48.
- Toit, W. J. d., Marais, J., Pretorius, I. S. & Toit, M. d. (2006).** Oxygen in Must and Wine: A review. *South African Journal of Enology and Viticulture* **27**, 76-94.
- Trela, B. C. & Graf, E. (2008).** Method for iron removal from wine and other beverages. In <http://www.freepatentsonline.com/7335385html>. United States.
- van Willige, R. W. G., Schoolmeester, D., van Ooij, A., Linssen, J. & Voragen, A. G. J. (2001).** Influence of Storage Time and Temperature on Absorption of Flavor Compounds from Solutions by Plastic Packaging Materials. *J Food Sci* **67**, 2023-2031.
- van Willige, R. W. G., Linssen, J. P. H., Meinders, M. B. J., van der Stege, H. J. & Voragen, A. G. J. (2002a).** Influence of flavour absorption on oxygen permeation through LDPE, PP, PC and PET plastics food packaging. *Food Additives And Contaminants* **19**, 303-313.
- van Willige, R. W. G., Schoolmeester, D., van Ooij, A., Linssen, J. & Voragen, A. G. J. (2002b).** Influence of Storage Time and Temperature on Absorption of Flavor Compounds from Solutions by Plastic Packaging Materials. *Journal of Food Science* **67**, 2023-2031.
- van Willige, R. W. G., Linssen, J. P. H., Legger-Huysman, A. & Voragen, A. G. J. (2003).** Influence of flavour absorption by food-packaging materials (low-density polyethylene, polycarbonate and polyethylene terephthalate) on taste perception of a model solution and orange juice. *Food Additives and Contaminants* **20**, 84-91.
- Vasiljeva, L. L., Dultsev, F. N. & Milekhin, A. H. (1995).** IR spectroscopic study of SO₂ adsorption on polysiloxane layers containing tertiary amino groups. *Thin Solid Films* **261**, 296-298.

Vasserot, Y., Caillet, S. & Maujean, A. (1997). Study of Anthocyanin Adsorption by Yeast Lees. Effect of Some Physicochemical Parameters. *Am J Enol Vitic* **48**, 433-437.

Vergnaud, J.-M. & Rosca, I.-D. (2006). *Assessing Food Safety of Polymer Packaging*. Shawbury, Shropshire, UK: Smithers Rapra Ltd.

Vilanova, M. & Martínez, C. (2006). First study of determination of aromatic compounds of red wine from *Vitis vinifera* cv. Castañal grown in Galicia (NW Spain). *European Food Research and Technology*.

Villberg, K., Veijanen, A., Gustafsson, I. & Wickstrom, K. (1997). Analysis of odour and taste problems in high-density polyethylene. *Journal of Chromatography A* **791**, 213-219.

Wan, L.-S., Huang, X.-J. & Xu, Z.-K. (2007). Diffusion and Structure of Water in Polymers Containing N-Vinyl-2-pyrrolidone. *The Journal of Physical Chemistry B* **111**, 922-928.

Wildenradt, H. L. & Singleton, V. L. (1974). The production of acetaldehyde as a result of oxidation of phenolic compounds and its relation to wine aging. *American Journal of Enology and Viticulture* **25**, 119-126.

Wong, C., Wong, K. & Chen, X. (2008). Glucose oxidase: natural occurrence, function, properties and industrial applications. *Applied Microbiology and Biotechnology* **78**, 927-938.

Wunderlich, B. (1973). *Macromolecular Physics: Crystal Structure, Morphology, Defects*. New York: Academic Press.

Yaws, C. L. (1999). *Chemical Properties Handbook: Physical, Thermodynamic, Environmental, Transport, Safety, and Health Related Properties for Organic and Inorganic Chemicals*: McGraw-Hill Professional.

Yilmaz, G., Jongboom, R. O. J., Feil, H., vanDijk, C. & Hennink, W. E. (2004). Permeation of Volatile Compounds through Starch Films. *Biomacromolecules* **5**, 650-656.

Zhang, Z., Britt, I. J. & Tung, M. A. (2001a). Permeation of oxygen and water vapor through EVOH films as influenced by relative humidity. *Journal of Applied Polymer Science* **82**, 1866-1872.

Zhang, Z., Lim, L.-T. & Tung, M. A. (2001b). Limonene transport and mechanical properties of EVOH and nylon 6,6 films as influenced by RH. *Journal of Applied Polymer Science* **79**, 1949-1957.

Zhou, Q., Guthrie, B. & Cadwallader, K. R. (2004). Development of a system for measurement of permeability of aroma compounds through multilayer polymer films by coupling dynamic vapour sorption with purge-and-trap/fast gas chromatography. *Packaging Technology and Science* **17**, 175-185.

Zoecklein, B., Fugelsang, K., Gump, B. & Nury, F. (1990). *Production wine analysis*. New York: Chapman & Hall.

Zoecklein, B. W., Hackney, C. H., Duncan, S. E. & Marcy, J. E. (1999). Effect of fermentation, aging and thermal storage on total glycosides, phenol-free glycosides and volatile compounds of White Riesling (*Vitis vinifera* L.) wines. *J ind microbiol biotech* **22**, 100-107.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Schéma d'un Bag-in-Box [®]	12
Figure 2 : Exemple d'une machine de remplissage automatique	13
Figure 3 : Schéma du conditionnement du vin en BIB (issu du Guide de Bonnes Pratiques pour le conditionnement du vin en BIB, Performance BIB)	13
Figure 4 : Schéma de la production d'une poche de BIB	14
Figure 5 : Schéma des films multicouches constituant la poche.	15
Figure 6 : Structure moléculaire du PE.	16
Figure 7 : Structure moléculaire du PP.	18
Figure 8 : Structure moléculaire du PET.	19
Figure 9 : Structure moléculaire du PEN.	19
Figure 10 : Structure moléculaire du polyamide 6.	20
Figure 11 : Structure moléculaire du polyamide 6.6.	20
Figure 12 : Structure moléculaire d'un polyamide aromatique.	21
Figure 13 : Structure moléculaire de l'EVOH.	22
Figure 14 : Structure moléculaire de l'EVA.	23
Figure 15 : Phénomènes de transport de matière au travers d'un film	26
Figure 16 : Isothermes typiques de la concentration de molécules sorbées en fonction de la pression de vapeur (Klopffer & Flaconnèche, 2001).	30
Figure 17 : Absorbance mesurée à 500 nm en fonction de la concentration en fer (mg L^{-1}).	72
Figure 18 : Structure moléculaire du glutathion sous sa forme réduite	73
Figure 19 : Principe du dosage du glutathion.	74
Figure 20 : Courbe étalon du dosage enzymatique du glutathion total.	74
Figure 21 : Représentation du système CIE $L^*a^*b^*$.	75
Figure 22 : Dispositif permettant la mesure de la consommation d'oxygène : Oxygraph-2k	78
Figure 23 : Dispositif d'oxygénation des échantillons avec de l'oxygène pur.	79
Figure 24 : Schéma de l'Oxi 197S, dispositif permettant la mesure de la consommation d'oxygène.	80
Figure 25 : Principe d'extinction de la luminescence par l'oxygène moléculaire. (A) Processus de luminescence en absence d'oxygène ; (B) Désactivation de la molécule indicatrice de luminescence par l'oxygène moléculaire.	82
Figure 26 : Dispositif de mesure de l'oxygène dissous ou gazeux dans une bouteille en verre.	83
Figure 27 : Dispositif de mesure de l'oxygène dissous ou gazeux dans un BIB.	84
Figure 28 : Dispositif de mesure de perméation.	85
Figure 29 : Evolution du flux en fonction du temps permettant la détermination des coefficients de perméation (rouge).	87
Figure 30 : Dispositif de mesure par SPME.	88
Figure 31 : Courbes étalon de l'extraction par fibre SPME des composés d'arôme présents dans l'espace de tête : butanoate d'éthyle (A), hexanoate d'éthyle (B), phényl-2-éthanol (C) et éthyl-4-phénol (D).	90
Figure 32 : Dispositifs de mesure de la sorption de composé d'arôme.	91
Figure 33 : Schéma du modèle du film d'épaisseur L. La concentration de l'atmosphère en contact avec le film est C_{in} (côté arôme) et C_{ext} (côté extérieur).	94
Figure 34 : Schéma du film d'épaisseur 2L immergé dans une atmosphère de volume infini avec $h \rightarrow \infty$.	97
Figure 35 : Schéma représentant les différents types de transfert étudiés	101
Figure 36 : Flux de butanoate d'éthyle à travers PE1 (●) et PE2 (○) en fonction du temps (en minutes).	107
Figure 37 : Coefficients de perméabilité mesurés à 25°C travers les films de polyéthylène de l'éthanol pur (à 0% et 50% HR) et de l'éthanol à 12% (50% HR).	109
Figure 38 : Observations en microscopie optique des films de mPET (grossissement X40)	111
Figure 39 : Valeurs des coefficients de sorption ($10^{-3} \text{ kg m}^{-3} \text{ Pa}^{-1}$) du butanoate d'éthyle, de l'hexanoate d'éthyle, du phényl-2-éthanol, de l'éthyl-4-phénol et de l'éthanol dans les films PE 1 et PE 2 obtenues par sorption en phase vapeur. Les valeurs avec la même lettre ne sont pas significativement différentes.	114
Figure 40 : Coefficient de sorption du butanoate d'éthyle et de l'hexanoate d'éthyle dans les films PE 1 et PE 2 ayant subi le phénomène de perméation	116
Figure 41 : Coefficient de partage entre l'éthanol 100% et 12% (v/v) et les films de polyéthylène	117
Figure 42 : Exemple de cinétique de perméation représentée par M_t/M_{inf} (ratio entre la quantité ayant traversé le film au temps t et la quantité traversant à l'équilibre au temps infini) en fonction du temps en minutes. Les cercles représentent les points expérimentaux, la ligne continue : la modélisation d'après l'équation 29 et la ligne en pointillé : le RMSE de la modélisation	120

Liste des figures

Figure 43 : Cinétiques de sorption de l'hexanoate d'éthyle dans le PE en A) phase vapeur et B) phase liquide. Les données expérimentales sont représentées par les cercles, la courbe ajustée et de RMSE sont respectivement les lignes continue et en pointillé.	122
Figure 44 : Coefficients de partage ($K_{p/v}$) entre le polymère (PE 1 et PE 2) et la solution aqueuse contenant le butanoate d'éthyle, l'hexanoate d'éthyle et le phényl-2-éthanol.	130
Figure 45 : Coefficient de partage du butanoate d'éthyle, de l'hexanoate d'éthyle et de l'éthyl-4-phénol dans les films PE 1 et PE 2 en fonction de la concentration en éthanol.	134
Figure 46 : Coefficients de diffusion du butanoate d'éthyle et de l'hexanoate d'éthyle dans les films de PE 1 et PE 2. Les composés d'arôme sont présents en solution modèle contenant de l'éthanol à 12% (v/v).	135
Figure 47 : Coefficient de partage entre les films PE 1 et PE 2 et les composés d'arôme (butanoate d'éthyle, hexanoate d'éthyle et éthyl-4-phénol) présents en mélange ou seuls dans une solution d'éthanol à 12% (v/v)	137
Figure 48 : Quantité de butanoate d'éthyle (A), d'hexanoate d'éthyle (B) et d'éthyl-4-phénol(C) dans la solution (), perdue par perméation à travers les films () et perdue par sorption dans les films () à 25°C après 5 jours de contact entre les films de PE et les composés d'arômes en solution hydroalcoolique modèle.	139
Figure 49 : Représentation graphique de l'effet de variation d'un facteur dans un plan d'expérience.	146
Figure 50 : Exemple de cinétique de transfert d'oxygène obtenue avec la décomposition en plusieurs périodes (1 ^{ère} semaine en bleu, 2 ^{ème} semaine en orange et 3 ^{ème} période en vert). Cet exemple est issu de l'essai 5.	147
Figure 51 : Représentation graphique de l'effet moyen de chaque niveau de la modalité « emballage » ainsi que l'effet moyen de toutes les modalités (Y).	149
Figure 52 : Représentation graphique de l'effet moyen de chaque niveau des modalités « oxygène », « agitation », « SO ₂ » et « alcool » ainsi que l'effet moyen de toutes les modalités (Y). 4 répétitions pour chaque modalité.	150
Figure 53 : Exemple de spectre infrarouge obtenu : films de polyéthylène au temps initial (rouge) et après 4 mois de contact avec la solution modèle (bleu)	152
Figure 54 : Exemple de mesure de la concentration en oxygène dissous dans le vin blanc « Pech Rouge » conditionné dans la poche 4 en fonction du temps.	155
Figure 55 : Représentation graphique de l'effet moyen de chaque niveau de la modalité « emballage » ainsi que l'effet moyen de toutes les modalités (Y)	156
Figure 56 : Représentation graphique de l'effet moyen de chaque niveau des modalités « oxygène » et « agitation » ainsi que l'effet moyen de toutes les modalités (Y).	157
Figure 57 : Schéma représentant la protection du ciel gazeux présent dans les poches de BIB.	158
Figure 58 : Evolution en fonction du temps de la concentration en oxygène dissous dans le vin blanc Pech Rouge avec () ou sans () protection du ciel gazeux.	158
Figure 59 : Evolution des paramètres tristimulaires L*, a* et b* en fonction du temps dans le vin blanc « Pech Rouge » conditionné dans les poches 1, 2, 3 et 4.	159
Figure 60 : Comparaison des vitesses de consommation d'oxygène du tampon CMP (Ac. citrique 31 mM, Ac. D,L-malique 45 mM, KH ₂ PO ₄ 10 mM, pH 3,3), en présence ou non d'éthanol 11,8 % (v/v), le tampon phthalate et le vin blanc Villaray. Les moyennes et écart-types de 4 mesures pour chaque série sont représentés sur le graphe.	165
Figure 61 : Consommation d'oxygène mesurée à 30°C en fonction de la masse sèche de lies, de LSA et de levures inactivées OptiWhite dans le milieu hydroalcoolique tampon CMP (pH 3,3 ; 11,8 % (v/v) éthanol).	166
Figure 62 : Evolution de la vitesse de consommation d'oxygène par cellule mesurée à 30°C en fonction de la concentration cellulaire des lies de levures resuspendues dans le tampon CMP (pH 3,3 ; 11,8 % (v/v) éthanol). Les moyennes et écart-types de 4 mesures sont représentés sur le graphe.	167
Figure 63 : Evolution de la vitesse de consommation d'oxygène mesurée à 30°C en fonction de la concentration cellulaire des lies de levures resuspendues dans le tampon CMP (pH 3,3 ; 11,8 % (v/v) éthanol) et dans le vin blanc Villaray (pH 3,3 ; 11% EtOH (v/v)). Chaque point représente la moyenne et l'écart-type de 4 mesures.	168
Figure 64 : Comparaison de la consommation d'oxygène à 30°C du vin blanc Villaray seul, du vin blanc Villaray contenant des lies et maintenu avec ou sans agitation magnétique, la concentration en lies étant de 460 10 ⁶ cellules mL ⁻¹ pour le graphe A et de 1,2 10 ⁹ cellules mL ⁻¹ pour le graphe B.	169
Figure 65 : Schéma de la formation d'un gradient de concentration en oxygène dans les flacons contenant des lies avec du vin blanc Villaray maintenu à 30°C sans agitation. Exemple de résultats obtenus.	170
Figure 66 : Evolution de la vitesse de consommation d'oxygène mesurée à 30°C en fonction de la quantité d'oxygène consommée par le vin blanc Villaray au cours d'une oxygénation au dioxygène pur. Chaque barre représente la moyenne et l'écart-type de 4 mesures.	171

Figure 67 : Absorbances à 280, 320, 420 et 520 nm du vin blanc Villaray en fonction de la quantité d'oxygène consommé par le vin, par le vin contenant $10 \cdot 10^6$ et $100 \cdot 10^6$ cellules mL^{-1} en fonction de la quantité d'oxygène consommé par les lies. _____ 172

Figure 68 : Consommation d'oxygène mesurée à 30°C dans le vin blanc Villaray (pH : 3,3 ; 11% (v/v) éthanol) en fonction de la population cellulaire des lies de levures resuspendues, dans un capillaire type M2 ou immobilisées dans des billes d'alginate. Chaque point représente la moyenne et l'écart-type d'au moins 2 mesures. _____ 173

Figure 69 : Comparaison de la consommation d'oxygène à 30°C du vin blanc Villaray, du vin blanc Villaray avec des capillaires contenant des lies à une concentration équivalente de $12 \cdot 10^6$ cellules mL^{-1} et avec des billes contenant des lies à une concentration équivalente de $2,3 \cdot 10^6$ cellules mL^{-1} . _____ 175

Figure 70 : Evolution en fonction du temps de la concentration en oxygène dissous dans le vin blanc Villaray avec ou sans piège à oxygène (lies immobilisées dans des billes d'alginate). _____ 176

Figure 71 : Evolution du potentiel redox (A) et de la concentration en glutathion (B) en fonction du temps dans le vin blanc Villaray avec ou sans piège à oxygène (lies immobilisées dans des billes d'alginate). _____ 177

Figure 72 : Evolution des paramètres tristimulaires L^* , a^* et b^* en fonction du temps dans le vin blanc Villaray avec ou sans piège à oxygène (lies immobilisées dans des billes d'alginate). _____ 178

Figure 73 : Bouteillons remplis avec le vin seul (à gauche et à droite) et le vin contenant le piège à oxygène (au milieu) après 12 jours d'essai à 30°C. _____ 179

Figure 74 : Evolution en fonction du temps de la concentration en oxygène dissous dans le vin blanc Villaray sans () ou avec piège à oxygène (lies immobilisées dans des billes d'alginate) () _____ 180

Figure 75 : Evolution du potentiel redox en fonction du temps dans le vin blanc Villaray sans () ou avec le piège à oxygène (lies immobilisées dans des billes d'alginate) (). _____ 181

Figure 76 : Cinétiques de consommation d'oxygène du vin blanc villaray (), de ce même vin avec $28,3 \text{ mg L}^{-1}$ d'acide phytique (Phytate 1) ou avec $56,7 \text{ mg L}^{-1}$ d'acide phytique (Phytate 2). _____ 182

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Classification des différents types de films de polyéthylène.....	17
Tableau 2 : Valeurs de perméabilité à l'oxygène de différents matériaux.....	51
Tableau 3 : Valeurs des coefficients de transfert de composés d'arôme à travers différents matériaux avec le coefficient de perméabilité P ($10^{-15} \text{ kg m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$), le coefficient de diffusion D ($10^{-15} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$) et le coefficient de sorption S ($10^{-3} \text{ kg m}^{-3} \text{ Pa}^{-1}$) en fonction de la température T ($^{\circ}\text{C}$) et l'humidité relative HR (%).....	55
Tableau 4 : Caractéristiques physico-chimiques des composés d'arômes utilisés	64
Tableau 5 : Caractéristiques des films de polyéthylène données par les fournisseurs de poches	65
Tableau 6 : Caractéristiques des membranes utilisées pour le piégeage des lies.	68
Tableau 7 : Caractéristiques des pastilles utilisées.....	83
Tableau 8 : Conditions d'injection du chromatographe en phase gaz.	86
Tableau 9 : Coefficients de partage des composés d'arôme entre l'air et la solution modèle d'arôme ($K_{\text{air/SM}}$) mol/mol.....	89
Tableau 10 : Conditions d'analyse du chromatographe en phase gaz.....	92
Tableau 11 : Caractéristiques des bandes spectrales spécifiques des composés analysés	94
Tableau 12 : Caractéristiques des films polyéthylène	103
Tableau 13 : Flux et coefficient de perméabilité des composés d'arôme à travers les films de PE (mesurés à 25°C et avec un flux d'azote à 50% HR).	106
Tableau 14 : Coefficient de perméabilité (en $10^{-15} \text{ kg m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$) de l'hexanoate d'éthyle à travers les films multicouches (MC) mesurés à 25°C et 50% HR.	110
Tableau 15 : Valeurs de la prise en mole à 25°C en phase liquide (M_{liq}) et la prise en mole de la phase vapeur (M_{vap}) du butanoate d'éthyle, de l'hexanoate d'éthyle, du phenyl-2-éthanol et de l'éthyl-4-phénol dans PE 1 et PE 2.....	118
Tableau 16 : Coefficients de diffusion déterminés à partir des cinétiques de perméation à 25°C	121
Tableau 17 : Coefficients de diffusion déterminés à partir des cinétiques de sorption à 25°C	124
Tableau 18 : Coefficient de diffusion ($10^{-16} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$) déterminé par transmission en spectroscopie IR-TF.....	127
Tableau 19 : Coefficient de diffusion ($10^{-16} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$) déterminé par réflectance totale atténuée en spectroscopie IR-TF.....	127
Tableau 20 : Concentration des quatre arômes retrouvée dans différents vins.....	129
Tableau 21 : Coefficients de diffusion déterminés à partir des cinétiques de sorption à 25°C	131
Tableau 22 : Coefficient de partage entre les films PE 1 et PE 2 et les composés d'arôme (butanoate d'éthyle et l'hexanoate d'éthyle) en solution hydroalcoolique (éthanol 12% v/v), les films étant mis en contact de la solution par une face ou directement immergés.	138
Tableau 23 : Plan Taguchi $L8(4^1 2^4)$ utilisé pour étudier les effets des 5 facteurs sur 8 essais avec la solution modèle. Chaque ligne représente un essai du plan et chaque colonne les paramètres du facteur.....	144
Tableau 24 : Coefficients de vitesse ($\text{mg L}^{-1} \text{ jour}^{-1}$) déterminés par équations de droites de corrélation linéaire pendant les trois périodes de la cinétique.....	148
Tableau 25 : Vitesses de transfert de l'oxygène ($\text{mg L}^{-1} \text{ jour}^{-1}$) déterminées dans les poches de BIB par ajustements de type exponentiel.	148
Tableau 26 : Valeurs de transfert d'oxygène ($\text{mg L}^{-1} \text{ jour}^{-1}$) à travers les poches remplies avec le tampon CMP et à travers les films mesurés dans des conditions standards en phase gaz (données par les fournisseurs de poches)	151
Tableau 27 : Plan Taguchi $L8(4^1 2^2)$ pour étudier les effets des 3 facteurs sur 8 essais avec le vin Pech Rouge et Mont Baudille. Chaque ligne représente un essai du plan et chaque colonne les paramètres du facteur.....	153
Tableau 28 : Vitesse de transfert de l'oxygène ($\text{mg L}^{-1} \text{ jour}^{-1}$) dans les poches de BIB.....	153
Tableau 29 : Evolution de la teneur en oxygène dissous ($\text{mg L}^{-1} \text{ jour}^{-1}$) dans les poches de BIB	155
Tableau 30 : Vitesse initiale de consommation d'oxygène des lies de levures et des polyphénols à 30°C	164

ANNEXES

Annexe 1 : Contexte de la thèse – Association Performance BIB

L'association Performance BIB regroupe une soixantaine d'entreprises issues de la filière du Bag-in-Box (BIB), de la matière première (plastique ou vin) jusqu'au distributeur, en passant par les fabricants de poches, les fabricants de robinet, les remplisseurs, les transporteurs,...

Un de ses membres, Vinobag, est le porteur du projet de thèse.

L'association a pour but de promouvoir :

- La recherche

La recherche visant à définir de manière plus précise les limites techniques du conditionnement en BIB, surtout en termes de transfert de gaz et de composés d'arôme. Cette recherche aura aussi pour but de trouver une solution technologique au niveau de la préparation des vins pour diminuer leur oxydation prématurée.

- L'amélioration de la qualité du vin conditionné en BIB grâce :

- au perfectionnement des méthodes de remplissage et de stockage. Le Guide des Bonnes Pratiques de remplissage et de stockage destiné à l'industrie est paru.

- à des meilleures spécifications techniques de l'emballage et des essais plus standardisés au niveau international. Un guide intitulé « Spécifications techniques de l'emballage BIB pour le vin » est également paru sur le site web de l'association www.b-i-b.com.

La liste des membres actuels de Performance BIB est reprise ci-après :

Ackerman Rémy Pannier, Andrew Peller Limited, Anecop S. Coop, Amcor Flexible, Aran Packaging, Arcus, Bag-in-Box Italia, Braid Logistics, Cape Wrappers, Cartobol, Castel, Cellier des Chartreux, Chais Beaucairois, Chais du Sud, Concha y Toro, Conotainer, Conro Precision, Constellation Europe, Corby Bottlers, CRP Print, C.T.I. - Chaigneau Techniques Industrielles, Dow, DuPont Liquid Packaging System, Ecoupak, Fiée des Lois, Flextainer, Foster's, Friedrich, Gallo, E. & J., Gandía, Hardy Wine Company, Institut Coopératif du Vin, Industri-bag, Inter-Rhône, Jacques Wein-Depot, Jeanjean, JF Hillebrand, LGR – Reine, Maverick, Montibox, Nampak Flexibles Cape, Napiag, Origin Service, Orlando Wyndham, Parsat Vins, Pernod Ricard, Plasticos Vicent, Quinn, Rapak, SAQ, Scholle, Smurfit Kappa, Systembolaget, Technibag, V&S, Vignerons de Caractère, Vignerons de la Méditerranée, Vincor, Vinobag, Vitop, Vlachos Bros, Worldwide Dispensers, Yalumba Wine Company, Zimmermann-Graeff & Müller.

Annexe 2 : Article accepté dans “Journal of Food Engineering”

Influence of measurement conditions on aroma compounds transfer coefficients

Aurélie Psychès-Bach[†], Michel Moutounet[†], Stéphane Peyron[‡], Pascale Chalier^{‡*}

[†] Unité Mixte de Recherche Sciences Pour l’Oenologie, UMR 1083 SPO, INRA, UM1, Montpellier

SupAgro

INRA, Bâtiment 28, 2 pl Viala, F-34060 Montpellier cedex 2, France

[‡] Unité Mixte de Recherche Ingénierie des Agropolymères et Technologies Emergentes, UMR 1208

IATE, UM2, CIRAD, INRA, Montpellier SupAgro

CC 023 Université Montpellier II, Pl. E. Bataillon, F-34095 Montpellier cedex 5, France

*Corresponding author: Pascale Chalier, Tel.: +33 (0)4 67 14 38 91; Fax: + 33 (0)4 67 14 45 90, e-mail: chalier@univ-montp2.fr

Abstract

In this study, aroma sensitivity of two PE films having different composition was evaluated with four aroma compounds by measuring i) aroma permeation ii) aroma uptake by immersing films in pure aroma compounds, iii) aroma vapour sorption by exposing films to saturated vapour phase and finally iv) aroma sorption in realistic conditions by immersing films in water solution containing low concentration of aroma compounds. From permeation and sorption kinetics, diffusivity coefficients were determined by modelling curve over time.

Results were related to the conditions of measurement but also to the characteristics of the aroma compounds chemical nature of aroma, hydrophobicity and size. Independently to the studied phenomena, the method or the presence of water, crystallinity of PE films, chemical aroma compounds nature were found as the most critical factors.

Keywords: Aroma compound, polyethylene, sorption, permeation, diffusion, crystallinity

INTRODUCTION

Packaging facilitates the use of products, promotes and transmits information, but its main goal is to contain and to protect conditioned products. By nature foodstuffs are perishable and they should be kept with an acceptable quality during packing and storage: the decisive factors of quality determine the shelf life of the product (1). One of the limiting properties which can affect the shelf life of a packaged product are sorption and transfer through the film of low molecular weight molecules, such as gases, water vapour and volatile compounds (2). In spite of their weak concentration in foodstuffs, permeation and sorption of aroma compounds (scalping) on polymeric packaging materials can be detrimental to the organoleptic quality of food. Some alterations in quantity or in relative presence of aroma compounds (unbalance profile) produce significant changes and the reject of a product by the consumers (3) causing economic losses.

In order to prevent this quality deterioration of food, adapted packaging design has to be used avoiding losses of volatile compounds. Numerous plastic materials are commercialised for food packaging. Among them polyethylene (PE) and polypropylene (PP) are the most common type for the food contact surface because of their good chemical resistance and inertness and their high water barrier property. However, apolar polyolefins such as PE or PP absorb larger quantities of aroma compounds than more polar polymers, such as polyesters [polyethylene terephthalate (PET), polycarbonates (PA), or ethyl vinyl alcohol (EVA)] (4). Low-density polyethylene (LDPE) films, which have extensively been studied, sorb a wide variety of flavour compounds such as aldehydes, methyl ketones, methyl esters, and sulphur compounds (5, 6). Factors that affect sorption include molecular size, polarity, solubility, and concentration of the aroma compounds along with the properties of polymers such as morphology, glass transition, crystallinity, and polarity (7-9). Flavour sorption in rubbery polymer as PE can be several thousand times higher than sorption in glassy polymers as PET, or polycarbonate (PC). PE is a family of based ethylene addition polymers which can be linear or branched; LDPE (low density polyethylene) and MDPE (medium density

polyethylene) has a highly branched structure, are thermoplastic and partially crystalline while HDPE (high density polyethylene) and LLDPE (linear low density polyethylene) are respectively a linear homopolymer strongly crystalline and a weakly crystalline linear copolymer having as co monomer alkene. These varied structures can induce some differences in materials properties such as density and barrier properties (8, 10).

Determination of aroma compounds transport properties into polymers for the packaging application keep the challenge, all the more so because no standard method is available. Consequently sorption was measured by different way i.e. by contact between polymer and: i) saturated or diluted vapour of aroma compounds (11-14), ii) diluted aqueous solution of aroma compounds (5, 15-20) or iii) foodstuff (7, 21-23). Permeation measurements are usually made with saturated vapour of aroma compound (12) or after dilution in gas stream (8, 24). An important factor of transfer properties is the diffusivity coefficient which can be determined from permeation or sorption kinetic. Depending on the conditions and permeation methods, the diffusion coefficient of limonene vapour, a hydrophobic aroma compound largely studied in the literature, was found to vary between $370 \times 10^{-16} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ and $1700 \times 10^{-16} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ in high density polyethylene (HDPE) films (25-29).

The aims of this study are to investigate i) different conditions of measuring transport coefficients such as permeate state – vapour phase, liquid phase – aroma compound concentration – saturated or diluted solution, ii) for different aroma compounds and iii) for two PE films with different characteristics. The selected four aroma compounds are ethyl hexanoate, ethyl butanoate, 2-phenylethanol and 4-ethylphenol, which have different physicochemical properties and are found in varied products such as fruit juices, tomatoes puree, wines.

MATERIALS AND METHODS

Materials.

Aroma Compounds and Solvents. Esters (ethyl hexanoate and ethyl butanoate) and phenolic compounds (2-phenylethyl alcohol and 4-ethylphenol) with purity superior to 99% were obtained from Sigma Chemical Co (Sigma-Aldrich, France). The physico-chemical characteristics of these compounds are presented in Table 1. Dichloromethane with purity > 99.5% (Carlo Erba, France) was used as extraction solvent and 2-heptanol with purity > 99% (Fluka, France) as internal standard.

Plastic Films. The two LDPE films chosen are commonly used for food packaging. These two films exhibit different properties provided by suppliers: PE1 (thickness: 45µm, density: 920 kg.m⁻³, 75%LLDPE/25%LDPE) and PE2 (thickness: 45µm, density: 922-926 kg.m⁻³, MDPE/LLDPE).

Table 1: Physicochemical characteristics of aroma compounds used in this study

Aroma compound (Formula)	MW ^a	Melting point (°C)	Density ^b (g.cm ⁻³)	P _{vap} ^{a, b} (Pa)	Log P ^c	Molar volume ^d (cm ³ .mol ⁻¹)
Ethyl butanoate (C ₆ H ₁₂ O ₂)	116.16	-98	0.875	1885 ^e	1.9	133.6
Ethyl hexanoate (C ₈ H ₁₆ O ₂)	144.21	-67	0.869	215 ^e	2.8	165.5
2-phenylethyl alcohol (C ₈ H ₁₀ O)	122.16	-27	1.020	9.62 ^f	1.6	104.2
4-ethyl phenol (C ₈ H ₁₀ O)	122.16	45	-	8.96 ^f	2.6	102.6

^a MW: Molecular weight, P_{vap} = saturated vapour pressure

^b Values at 25°C

^c Value of logP, partition coefficient between n-octanol and water, calculated with SRC's estimation software (www.syrres.com/esc/)

^d Molar volume has been estimated from the correlation based on the group contributions proposed by Fedors and calculated via the website www.pirika.com

^e (45)

^f Calculated from vapour/pressure/temperature couples (46)

Methods

Films Characterisation

Thickness and Density Measurements. The average thickness was determined using a hand-held calliper micrometer (Braive Instruments, Belgium) from 20 measurements taken randomly over the surface. The average density was the result of 20 determinations of film mass to a defined area.

Differential scanning calorimetry. Thermal properties were recorded by using a differential scanning calorimeter DSC 2920 (TA Instruments, New Castle, DE, USA). The samples were heated at a heating rate of $5^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ and the melting temperature and enthalpy of fusion were calculated respectively from the maximum and from the area of the endothermic peak. The crystallinity was calculated by:

$$X_c = \frac{\Delta H_{PE}^*}{\Delta H_{PE}^0} \quad \text{Equation 1}$$

with ΔH^0 , the enthalpy of melting per gram of 100% crystalline PE - $289 \text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$ (Milicevic *et al.*, 2007 ; Wunderlich, 1973) - and ΔH^* , the measured enthalpy of melting for polyethylene.

FTIR measurement. PE film samples were analyzed by means in transmission FTIR. Spectra were acquired using a Nexus 5700 spectrometer (ThermoElectron Corp.) equipped with HeNe beam splitter and a cooled MCT detector. Spectral data were accumulated from 64 scans with a resolution of 2 cm^{-1} in the range $800\text{-}4000 \text{ cm}^{-1}$. Ten samples of each PE were employed for the measure and three spectra were recorded for each sample.

All spectra pre-treatments were performed using Omnic v7.3 and TQ Analyst v7.3 softwares (ThermoElectron) Processing included: (1) a multipoint linear baseline correction, (2) a normalization according to the peak height of CH_2 wagging band (1462 cm^{-1}). Short chain branching was comparatively evaluated on the basis of methyl deformation band at 1378 cm^{-1} .

Water vapour permeability

To determine water vapour permeability (WVP), a gravimetric method adapted from ASTM E96 (ASTM, 1995) was used. Film samples were conditioned for 1 week in a chamber at 20°C and 50% relative humidity maintained with saturated solution of a salt ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$). Following, test films were sealed with a Teflon ring on a permeation cell filled with deionised water. Permeation cells were placed in a desiccator maintained at 20°C and relative humidity controlled by the desiccant (P_2O_5). The principle of the measurement consisted in measuring weight loss of the permeation cell

closed with the PE film and the WVP was calculated from the slope of the linear regression of weight loss versus time.

$$WVP = \frac{\Delta w}{\Delta t} \frac{e}{A \Delta P} \quad \text{Equation 2}$$

where $\Delta w/\Delta t$ is the water vapour flow rate ($\text{g}\cdot\text{s}^{-1}$), e is the film thickness (m), ΔP is the water vapour pressure gradient, and A is the film area (m^2).

Aroma Permeation Measurements. The permeation of aroma compounds was measured by the semidynamic method developed in our laboratory (12). In this method, the test film was sealed (with a Teflon ring) directly on the top of a flask containing pure aroma compound. The flask was placed in a permeation diffusion cell, which was flushed by a $20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ nitrogen flow humidified. At regular time intervals, 1 mL of the outgoing flow charged in aroma compound was injected with an automatic valve into the gas chromatograph. The film area exposed was $0.785 \times 10^{-3} \text{ m}^2$.

Permeation measurements were carried out at 25°C , placing the permeation cells in an oven adjusted to the selected temperature. Films were equilibrated at 25°C and at the selected humidity (50% RH) before permeability tests. To maintain the humidity conditions, the gas (nitrogen) was humidified by bubbling in a wash bottle containing water and placed in a cryostat at controlled temperature. The differential of temperature imposed between the cryostat and the oven permitted the selected humidity to be reached. After each experiment, film humidity was controlled using an a_w -meter (Fa-st/1, GBX, France). The 3800 Varian (Les Ulis, France) gas chromatographs were equipped with a flame ionising detector (FID; hydrogen, $30 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; nitrogen, $30 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; air, $300 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$). Conditions of gas chromatographs are listed in Table 2.

Table 2: Gas chromatography conditions

<i>Column</i>	Capillary DB-5 [®] column (30m x 0.2 mm i.d., 0.25 µm)	
Valve temperature	170°C	
Injector temperature	250°C	
Detector temperature	250°C	
Oven temperature	130°C for EB	150°C for EH
Carrier gas	Hydrogen, 2 mL.min ⁻¹	

The aroma compound flow rate ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) was determined by comparing the aroma compound peak surface obtained when using the film with that obtained without the film and by applying the perfect gas law. Depending on the vapour pressure of the volatile and using perfect gas law at 25°C, vapour concentrations were estimated to 88.38 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ for ethyl butanoate, 12.51 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ for ethyl hexanoate, 0.47 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ for 2-phenylethyl alcohol and 0.44 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ for 4-ethylphenol.

Permeability, P ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}$), coefficients were determined from the curve of flow rate plotted against time. P was calculated at the steady state using the equation:

$$P = \frac{F \cdot e}{A \Delta P} \quad \text{Equation 3}$$

where F is the flow rate of the volatile ($\text{kg}\cdot\text{s}^{-1}$), e is the film thickness (m), ΔP is the aroma vapour pressure gradient, and A is the film area (m^2).

Aroma Sorption Measurements. The quantity of volatiles adsorbed in the film was studied in three conditions: i) in vapour phase condition by a modified microatmosphere method (32) where films were exposed to an atmosphere saturated with pure volatile in a closed chamber; ii) in liquid phase conditions where films were immersed in pure aroma compounds and iii) in more realistic conditions by immersing film in aqueous solution containing low concentration of aroma

compounds, i.e. 40 ppm for 2-phenylethanol and 1 ppm for ethyl butanoate, ethyl hexanoate and 4-ethylphenol. The experiments were realised at 25°C, in triplicate using small pieces of film (9 cm²). The total amount of volatile compound absorbed by the film at a given time corresponding to constant amount in the sample was extracted with dichloromethane. A known amount of internal standard (100 µl of 2-heptanol solution at 25 g.L⁻¹ in ethanol) was added and the mixture was submitted to magnetic agitation (300 rpm) during for 16 h. The resulting organic phase was dried using ammonium sulphate and analysed by gas chromatography. A Varian 3800 GC-FID equipped with a DB-5[®] column (Varian) (30m x 0.2 mm i.d., 0.25 µm) and a flame ionisation detector (FID; hydrogen, 30 mL.min⁻¹; nitrogen 30 mL.min⁻¹; air, 300 mL.min⁻¹) was used. Hydrogen was used as carrier gas with a flow rate of 2 mL.min⁻¹. The oven temperature initially at 60°C was raised by 4°C.min⁻¹ to 150°C, then by 15°C.min⁻¹ to 250°C, and was kept at 250°C for 10 min. Injector and detector temperatures were 250°C. Injection was done in split mode with a ratio of 1:20. The extraction yield was determined by depositing known amounts of compounds on films and tests of recovery for each films (respectively PE1 and PE2) gave the following results: 87 % and 75 % for ethyl butanoate, 88 % and 100 % for ethyl hexanoate, 86 % and 100 % for 2-phenylethanol, 96 % and 100 % for 4-ethylphenol. The sorption coefficient and mass uptake was determined and expressed in kg.m⁻³. The diffusivity coefficient was also determined from curve of sorption against the time. Three replicates were made for each experiment.

Determination of diffusivity coefficients.

Diffusivity coefficient was determined by modelling of permeation and sorption kinetic using appropriate equations proposed by Crank (33, 34).

From permeation kinetics: The film is considered as a sheet of thickness L whose sides are maintained at constant concentrations, while the substance is transported from the higher to the

lower concentration by diffusion. The process is controlled by the one-dimensional transient equation of diffusion through the sheet defined by the second law of Fick:

$$\frac{\partial C}{\partial x} = D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} \quad \text{Equation 4}$$

where: C is the concentration of the substance at time t and position x

D is the constant diffusivity of the substance.

The initial and boundary conditions for a sheet of thickness L playing the role of a membrane are as follows:

$$t = 0, 0 < x < +L, C = 0 \quad \text{Equation 5}$$

$$t > 0, x = 0, C = C_0 = C_{in} \quad \text{Equation 6}$$

$$t > 0, x = +L, C_L = 0 \quad \text{Equation 7}$$

The coefficient of convection was considered as infinite on both side of the film. This means that the concentration on each surface of the membrane is equal to the concentration of atmosphere in contact with each side of film, as soon as the process starts.

If M_t denotes the total amount of diffusing substance which enters the sheet during time t, and M_∞ the corresponding amount during infinite time (33), then:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp\left[-\frac{(2n+1)^2 \pi^2}{L^2} D.t\right] \quad \text{Equation 8}$$

Another approach to determine D is to calculate the total amount of diffusing compound which has gone through the film in time t:

$$\frac{M_t}{C_0} = \frac{D.t}{L} - \frac{L}{6} - \frac{2L}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^n}{n^2} \exp\left[-n^2 \pi^2 \frac{D.t}{L^2}\right] \quad \text{Equation 9}$$

Thus after a given period of time the kinetics of the compound leaving the film tends to become linear, and the expression of the asymptote is given by:

$$M_t = \frac{DC_0}{L} \left[t - \frac{L^2}{6D} \right] \quad \text{Equation 10}$$

with the intercept on the time-axis which is:

$$t_i = \frac{L^2}{6D} \quad \text{Equation 11}$$

From sorption or mass uptake kinetics: When the diffusivity, D , is constant, and independent of the concentration, the rate of transfer in a sheet of thickness $2L$ immersed in an atmosphere of infinite volume with a concentration of diffusing substance constant and equal to C_{eq} with infinite coefficient of convection could be expressed with initial and boundary conditions as:

$$t = 0, -L < x < +L, C = C_0 \quad \text{Equation 12}$$

$$t > 0, x = \pm L, C = C_{eq} \quad \text{Equation 13}$$

The kinetics of transport substance into the sheet of thickness $2L$ is expressed by the following relationship:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \cdot \exp \left[-\frac{(2n+1)^2 \pi^2}{4L^2} D \cdot t \right] \quad \text{Equation 14}$$

Mathematical modeling of diffusivity: Simulations of aroma compounds diffusivities were programmed on MATLAB® software (The Mathworks Inc, Natick, MA, USA). Diffusivities through PE films were obtained from experimental data by minimizing the sum of squared error between experimentally measured and predicted values of aroma compounds permeation or sorption using Levenberg-Marquardt algorithm.

The root mean square error (RMSE) was used to estimate the quality of model fitting and was calculated as follow:

$$RMSE = \sqrt{\frac{(\hat{y} - y)^2}{(N - p)}} \quad \text{Equation 15}$$

Where \hat{y} is the vector of the predicted values, y is the vector of the experimental values, N is the number of terms in the predicted or experimental vector and p the number of estimated parameters. The model fitting was considered as good if the RMSE value is close to the experimental error (average values of confidence intervals obtained for each experimental point).

RESULTS AND DISCUSSION

Films characterisation

The thickness and density of the two polyethylene films were reported in Table 3. Although supplier's data indicated similar thickness, the two films exhibited significant differences in thickness with a low variability. This difference will be take account in the aroma transfer characterization of the films and consequently the coefficients will always be relative to film volume. In contrast and according to the employed method, no significant differences in the density values of both PE were found. The density were close to that announced by supplier data and were in agreement with values previously reported for the polymers constitutive of both films blend: LLDPE (916-940 kg.m⁻³), LDPE (910-925 kg.m⁻³), MDPE (925-940 kg.m⁻³) (10). This parameter will be not considered as determinant in the following of the study.

From DSC measurements, the melting point of each PE film and their crystallinity, calculated from equation 1, were obtained (Table 3). PE2 exhibited the highest melting temperature and was more crystalline than PE1. Difference in molecular weight and molecular distribution were known to affect melting temperature: a lowest temperature being consistent with a lowest molecular weight distribution (8). This suggested that PE1 film, particularly rich in LLDPE, possessed a lower molecular weight than PE2. Crystallinity results were in agreement with the composition of PE2

(MDPE/LLDPE) films compared to PE1 (LLDPE/LDPE), considering that MDPE is generally more crystalline than LDPE, and suggested a high relative proportion of MDPE in PE2 composition. In previous studies and for both LDPE films (14, 35), crystallinity values varied in the range of 26% and 34.5%.

Table 3: Characteristics of polyethylene films

Plastic Films	Thickness (10^{-6} m)	Density (kg.m^{-3})	Melting point ($^{\circ}\text{C}$)	Crystallinity (%)	A_{1378}/A_{1462}	WVP ⁱ (10^{-12} $\text{g.m}^{-1}.\text{s}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$)
PE1	51.3 ± 1.4 a	963 ± 94 c	114.9 ± 0.5 d	24.9 ± 0.6 f	0.060 ± 0.001 h	2.8 ± 0.1 j
PE2	40.3 ± 2.1 b	896 ± 45 c	122.5 ± 1.1 e	27.8 ± 0.6 g	0.066 ± 0.001 i	1.4 ± 0.1 k

Values with the same letter are not significantly different with a confidence interval of 95%.

ⁱ measured at 20°C and for a 50% RH gradient.

In addition, branching level of the films was assessed by FT-IR spectroscopic method according to the ratio A_{1378}/A_{1462} . In spite of its highest crystallinity degree, PE2 exhibited higher branching level than PE1 suggesting minor influence of this structural characteristic on the crystallinity degree and that branch length (not evaluated) was the main influence. Indeed, LDPE and MDPE have irregular long-chain branching while LLDPE exhibits short-chain branching resulting in different degrees of crystallinity (10).

Because the crystallinity was usually related to the barrier properties of plastic films (14, 17, 35, 36), it was generally associated to water vapour permeabilities (WVP) in common procedure of film characterisation. Consequently, WVP of both film were measured at 20°C for a 50% RH gradient (Table 3).

PE1 showed actually a WVP value twice as high as PE2. Values were in range of those already reported in literature with values of $1.9 \cdot 10^{-12}$ $\text{g.m}^{-1}.\text{s}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$ for LDPE (37), between 1.8 and $2.2 \cdot 10^{-12}$ $\text{g.m}^{-1}.\text{s}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$ for ULDPE depending on temperature (38), and of $0.19 \cdot 10^{-12}$ $\text{g.m}^{-1}.\text{s}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$ for HDPE (39).

PE1, which is the most amorphous polyethylene, showed a low resistance to water transfer related to PE2. This result confirmed the crystallinity impact on barrier properties and the importance of this discriminating factor between the two PE films.

Aroma Permeation.

Using the described semidynamic method and because phenolic compounds exhibited low saturated vapour pressures, until 200-times less important than ester pressures, no permeability coefficients could be measured for these compounds. Indeed, the poor concentrations of phenolic compounds were not detected and as indicated in Table 3, the aroma flow rate expressed in $10^{-6} \text{ kg.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ was inferior to the detection limit of the method, i.e. $0.05 \cdot 10^{-6} \text{ kg.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. For esters, the flow rate was largely superior and the aroma compound permeability measured for both films could be correlated as for water vapour permeability to the crystallinity since higher value was found for PE1 than for PE2. It was well known that polymer morphology affects the mass transport characteristics of material since penetrant molecules such as water, gas and aroma compounds diffuse exclusively through the amorphous regions of polymer matrix (8). And thus, the increase in crystallinity occurs in a significant decrease in steady state flow (40). On this basis, the P values, reported in Table 3, were in accordance with crystallinity degree of distinct PE films. The crystallinity was well confirmed as the most critical factor since flow rate values, not corrected by the film thickness, showed the same tendency than P values.

Ehyl butanoate permeability reported in a previous study performed on LDPE film ($76.10^{-15} \text{ kg.m}^{-1}.\text{s}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$) was very similar to PE2 permeability (41) although PE2 film was composed with a blend of MDPE and LLDPE. The strong ethyl butanoate permeability through PE1 film had to be related to its poor crystalline structure but also to the aroma compound characteristic which proved to be influencing factor of permeation.

Table 4: Aroma compounds flow rate and permeability coefficient through PE films measured at 25°C and 50%RH

Aroma compound	P _{vap} (Pa)	PE1		PE2	
		F (10 ⁻⁶ kg.m ⁻² .s ⁻¹)	P (10 ⁻¹⁵ kg.m ⁻¹ .s ⁻¹ .Pa ⁻¹)	F (10 ⁻⁶ kg.m ⁻² .s ⁻¹)	P (10 ⁻¹⁵ kg.m ⁻¹ .s ⁻¹ .Pa ⁻¹)
Ethyl butanoate	1885	32.4 ± 2.6	878 ± 70	3.4 ± 0.3	72 ± 7
Ethyl hexanoate	215	0.75 ± 0.06	174 ± 14	0.34 ± 0.02	63 ± 3
2-phenylethanol	9.62	< 0.05	ND	< 0.05	ND
4-ethylphenol	8.96	< 0.05	ND	< 0.05	ND

Pvap: saturated vapour pressure, F: flow rate, P: permeability coefficient, ND: not determined

In particular, the influence of molecule size was remarkable for PE1: ethyl hexanoate, the largest ester, was permeated in a less extent than ethyl butanoate. Results obtained on PE2 suggested that the molecule size had not the same impact on transfer properties when a critical crystallinity degree is reached or if the polymer is strongest branched.

Permeation phenomenon is described as a function of both sorption and diffusion process. Regarding the influence of permeant size on PE1 film, the diffusion seemed to be the most impacting parameter for this film.

Aroma Sorption.

No standard method exists for measuring aroma sorption and different approaches were used depending on the objectives. All the more, the sorption phenomenon occurs in vapour phase and by direct contact with the product. In this study, monitoring of sorption was realized by analysing: aroma vapour sorption, aroma uptake with pure liquid aroma compounds and aroma uptake from diluted aqueous solutions, i.e. in more realistic conditions of concentration.

Aroma Sorption in Vapour Phase

Vapour sorption coefficients of ethyl butanoate, ethyl hexanoate, 2-phenylethanol and 4-ethylphenol through PE1 and PE2 were presented in Figure 1. Sorption coefficients were determined at equilibrium state after 21 days of testing and expressed in relation to aroma vapour pressure. For the two PE films, a significant difference between esters and phenolic compounds was

observed with a highest affinity for phenolic compounds in regard to the weak headspace concentrations of these compounds. In agreement with apolar nature of PE films (4, 21), sorption coefficients increased with compounds hydrophobicity within the ester or phenol family, i.e. in the same chemical class, higher the log P is (Table 1) higher the sorption coefficient is.

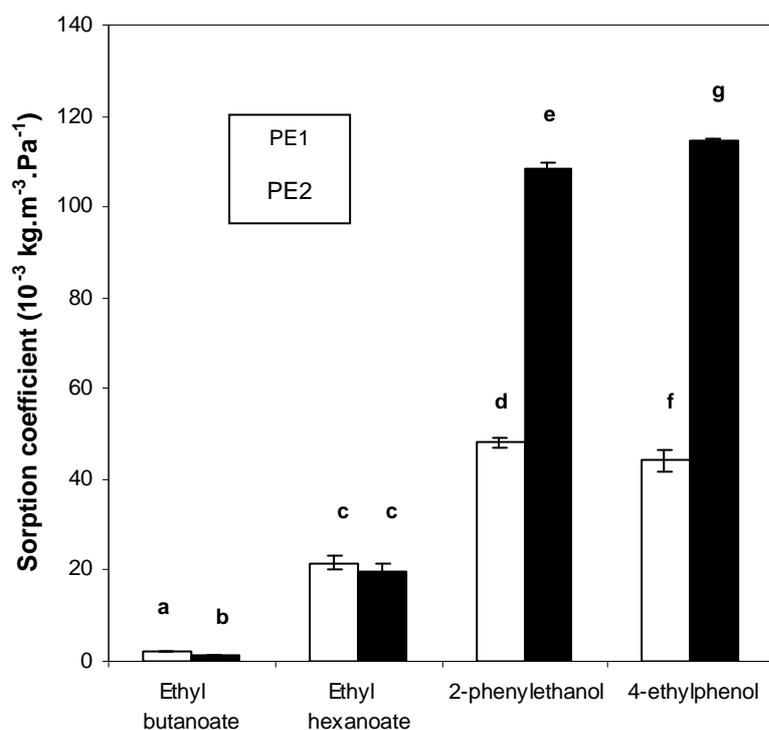


Figure 1: Values of the vapour sorption coefficient ($10^{-3} \text{ kg.m}^{-3}.\text{Pa}^{-1}$) of ethyl butanoate, ethyl hexanoate, 2-phenylethanol and 4-ethylphenol through PE1 and PE2. Values with the same letter are not significantly different.

Regarding polyethylene films behaviour, PE2 sorbed more phenolic compounds than PE1 while for esters, the difference was very low between both PE films. In the case of esters, sorption phenomena appeared to be essentially related to their polarity, independently of PE structure. On the contrary the sorption of phenolic compounds brought out the difference in structure of the two PE but could be not correlated with crystallinity. As PE2 possessed the highest branching level, it can be assumed that the distribution of amorphous and crystalline regions and consequently, the

accessibility was different of that PE1 and favoured the sorption phenomena according to the free volume theory.

Whatever the PE film, sorption coefficients of ethyl hexanoate were not significantly different. As previously suggested, it could be pointed out that permeability was mainly lead by diffusion.

Aroma Uptake in Liquid Phase

This experiment was performed in order to assess the maximal capacity of PE films to sorb aroma flavour. Table 5 summarises the aroma compound uptake in liquid phase expressed in mol.m^{-3} . The solid state of 4-ethylphenol at temperature condition (25°C) prevented sorption measurement.

Table 5: Values of mole uptake at 25°C in liquid phase (M_{liq}) and of mole uptake in vapour phase (M_{vap}) of ethyl butanoate, ethyl hexanoate, 2-phenylethanol and 4-ethylphenol through PE1 and PE2.

Aroma compound	M_{Liq} (mol.m^{-3})		M_{vap} (mol.m^{-3})	
	PE1	PE2	PE1	PE2
Ethyl butanoate	57 ± 5	18 ± 2	34.0 ± 1.0	21.0 ± 1.0
Ethyl hexanoate	125 ± 25	61 ± 5	32.0 ± 2.0	29.0 ± 3.0
2-phenylethanol	61 ± 2	44 ± 4	3.8 ± 0.1	8.5 ± 0.1
4-ethylphenol	-	-	3.2 ± 0.2	8.4 ± 0.0

In liquid phase, mole uptake values clearly increased with esters hydrophobicity. For PE1, the mole uptake was very similar between to 2-phenylethanol and ethyl butanoate while for PE2, a marked difference was observed. These two aroma compounds have close $\log P$ (1.6 and 1.9 respectively) and were sorbed in a less extent than ethyl hexanoate having the highest $\log P$. The aroma uptake proved to be mainly related to the aroma compound polarity but also to the aroma compound nature for the more crystalline film. An other difference was observed between the two PE films in agreement with their relative amorphous nature: PE1 film sorbed more all compounds than PE2. Both results were in partial contradiction with aroma vapour sorption except for hydrophobicity. This can be explained by aroma plasticization phenomenon due to the high aroma concentration

used. It is known that plasticizer effect induces an increase of polymer mobility and consequently on the sorption site accessibility. It can be assumed that PE1 with its higher amorphous region than PE2, was easier plasticized, explaining high uptake sorption.

Moreover, comparison with values obtained from vapour phase (expressed also in mole uptake) showed clearly that the vapour aroma concentration, i.e. volatility was the critical parameter (Table 5).

Aroma Sorption in “realistic” conditions

Here, sorption in realistic conditions, referee to contact of polymers with an aqueous solution containing a mixture of the four aroma compounds at low concentrations (1 to 40 mg/L) usually found in different beverages. In this experiment, aroma sorption in PE films was characterized by the partition coefficients between polymer and the aqueous solution of the four aroma compounds as reported in Figure 2.

Before sorption experiments were conducted, the stability of aroma compounds in the defined experimental conditions was controlled. The aroma mixture solution was stored during 21 days at 25°C and analysed; it was confirmed that not degradation of aroma compounds occurred.

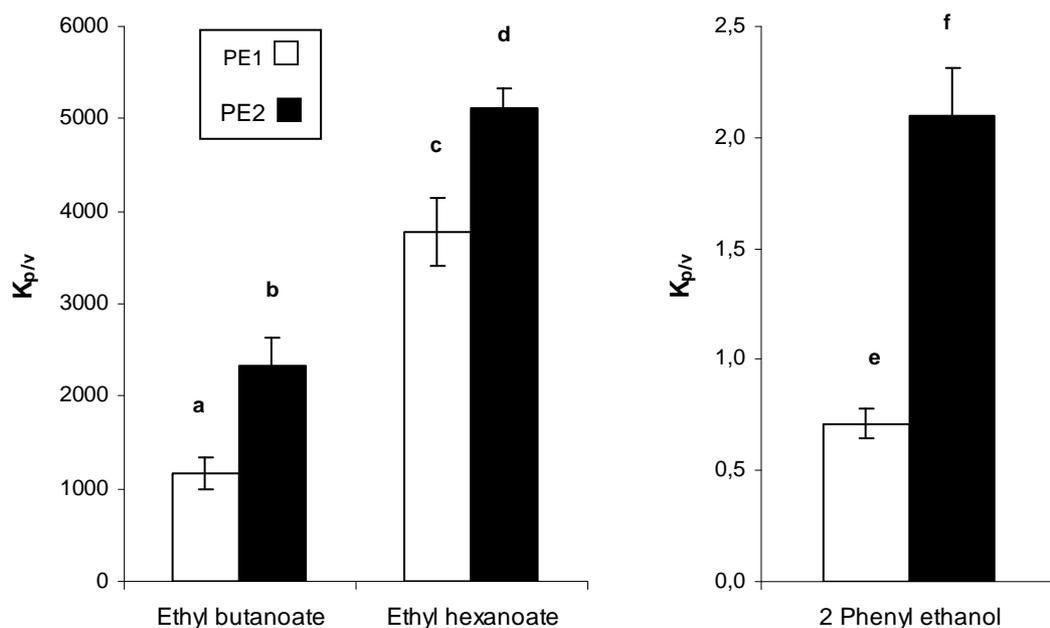


Figure 2 : Values of partition coefficient ($K_{p/v}$) between polymer (PE1 and PE2) and aqueous solution of ethyl butanoate, ethyl hexanoate and 2-phenylethanol. Values with the same letter are not significantly different.

Considering the influence of both aroma compounds and PE films characteristic, results were clearly different than those previously observed in liquid phase with pure aroma compounds. No 4-ethylphenol uptake could be detected ($< 2 \text{ g.m}^{-3}$) at the low concentration used. In spite of a higher concentration than esters, the sorption of 2-phenylethanol was weak. The presence of water and other aroma compounds in solution co-permeating could modify respective sorption of each aroma. The weak sorption of 2-phenylethanol was clearly explained by its greater affinity for water than for apolar films. It could be noted that PE2 sorbed more the phenolic compounds than PE1 as showed in vapour phase. Coefficient partitions of ester were particularly high showing the strong affinity of these compounds for PE films. As previously described, the sorption of ethyl hexanoate by PE films was superior to the sorption of ethyl butanoate in agreement with hydrophobicity impact.

A difference in behaviour of the two PE was observed but could not relate to the amorphous region since PE2 the less amorphous material, induced more sorption. In this case, the presence of either water or aroma compounds could affect the sorption phenomenon. PE1 was more affected by water

transfer than PE2 (Table 3) and water molecules could act as competitors for the same interacting sites (42). Therefore, additional studies are required to evaluate the impact of the other aroma compound on the sorption. Furthermore the relationship between aroma compounds solubility in water and sorption coefficients as showed by Matsui *et al.* (18) was not found in this study proving the complexity of phenomena.

Diffusivity coefficients

Diffusivity coefficients were measured from permeation and sorption kinetics and were reported in Table 6.

Diffusivity coefficients from permeation kinetics

As for permeability, 2-phenylethanol and 4-ethylphenol diffusivity coefficients could neither be determined from permeation kinetics because of their poor volatility.

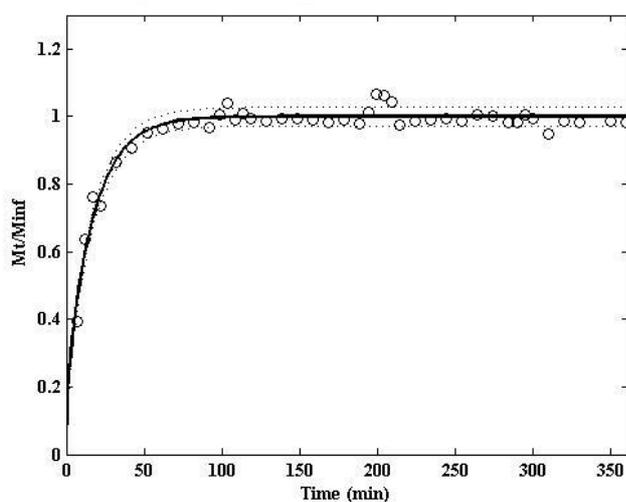


Figure 3: Ethyl butanoate permeation kinetic through PE1. Experimental data are plotted with symbols; the fitted and RMSE curves are respectively plotted in solid and dotted lines.

Ethyl esters diffusivity coefficients have been calculated from the time lag (Equation 11) and have been found different and more important than diffusivity coefficients determined with modelling all kinetic using Matlab[®] program (Equation 8). As the model fitted well the experimental results

(Figure 3) and that the RMSE, which represents the quality of the model fitting, were always in the same range or lower than the experimental errors, it could be assumed that the kinetic modelling approach, permitted to obtain a good estimation of D .

In agreement, it had previously been demonstrated that this method gave ethyl hexanoate coefficient diffusion with a good accuracy for polyolefine packaging (43). Indeed ethyl hexanoate diffusivity through BOPP determined by permeation method was in the same range of value than diffusivity determined by gravimetric method using microbalance maintained in an aroma saturated atmosphere without external resistance to mass transfer.

Table 5: Diffusivity coefficients of the four aroma determined from permeation and sorption kinetics at 25°C

		Diffusivity coefficient $10^{-16} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$	Ethyl butanoate		Ethyl hexanoate		2-phenylethanol		4-ethylphenol	
			PE1	PE2	PE1	PE2	PE1	PE2	PE1	PE2
Permeation kinetics	vapour phase	D^a	6244 ± 651	ND	4737 ± 393	4348 ± 291	ND	ND	ND	ND
		D^b	2977 ± 48	ND	2867 ± 53	2722 ± 52	ND	ND	ND	ND
		RMSE	0.03	ND	0.06	0.09	ND	ND	ND	ND
Sorption kinetics	vapour phase	D^b	47	16	22	8	5	3	3	2
		RMSE	0.08	0.09	0.07	0.09	0.06	0.06	0.08	0.03
	liquid phase	D^b	21	14	14	3	12	6	ND	ND
		RMSE	0.09	0.09	0.09	0.10	0.09	0.05	ND	ND
	aqueous solution	D^b	252	206	60	39	ND	ND	ND	ND
		RMSE	0.07	0.10	0.07	0.04	ND	ND	ND	ND

ND: not determined

^a D determined from time lag (equation 11)

^b D determined from entire kinetic with MatLab[®] software (equations 8 and 14)

In the case of ethyl butanoate transfer through PE2 film, not diffusivity coefficient could be estimated considering the curve shape obtained (Figure 4) comparatively to normal permeation kinetic through PE1. This behaviour could be attributed neither to the PE structure nor to the aroma compound but to the presence of disturbing volatiles. Indeed, generation of volatile compounds as aldehydes, ketones, acids or esters can occur during PE process. The obtained curve might be the result of concomitant permeation and desorption of volatiles.

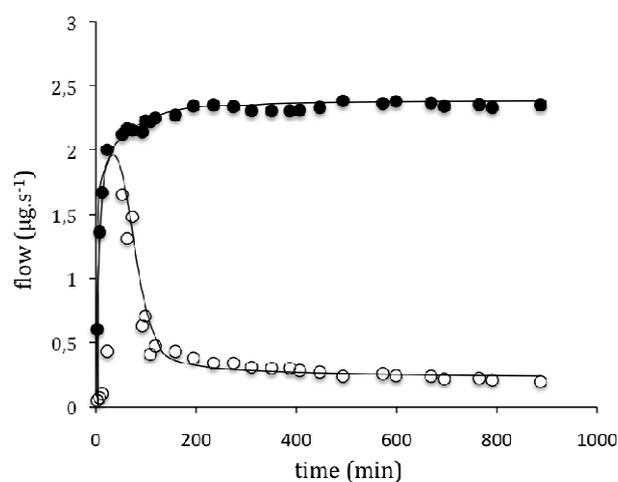


Figure 4: Ethyl butanoate flow through PE1 (●) and PE2 (○)

Expected results were obtained for PE1 film comparing ethyl butanoate and ethyl hexanoate diffusivity since the smallest molecule having the highest diffusivity in agreement with highest permeability. However, it was observed that a relative weak difference in diffusivity induced a strong variation of permeability (Table 4).

Ethyl hexanoate coefficient diffusivity for PE1 was always higher than PE2 one's, showing that diffusion phenomena was related to film crystallinity (Hernandez-Muñoz *et al.*, 1998; Letinski & Halek, 1992) since PE1 was less crystalline than PE2. The diffusivity coefficients determined for ethyl hexanoate were in the same order of magnitude that values previously reported ($11300 \cdot 10^{-16} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) through a LDPE film ($50 \mu\text{m}$, $T_m = 104.4^\circ\text{C}$) (17) or through ULDPE film (8) ($1900 \cdot 10^{-16} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) using a concentration of 600 ppb (~21-times less than in this study).

Diffusivity coefficients from sorption kinetics

As for permeation kinetic, the models fitted well the experimental results and permitted to determined relevant diffusivity coefficients from all kinetic sorption (Figure 5). The RMSE were always inferior to 0.1 and in the same range or lower than the experimental errors (Table 6).

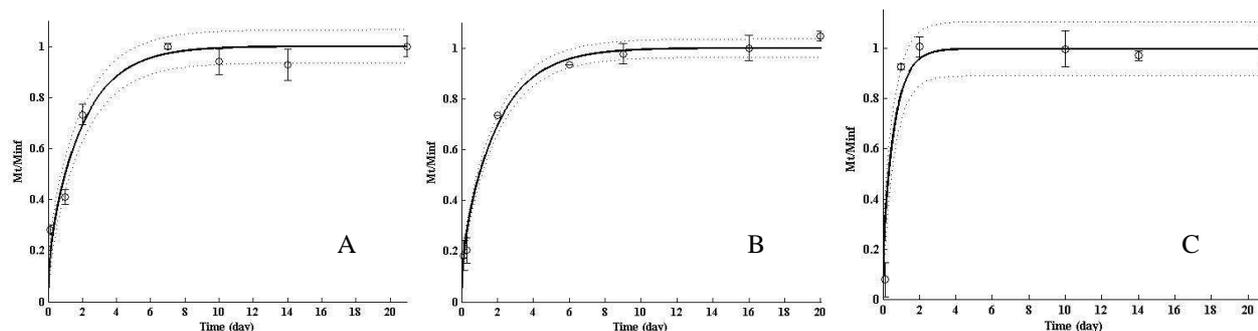


Figure 5: Ethyl hexanoate sorption kinetics in PE1 from A) vapour phase, B) liquid phase and C) aqueous solution. Experimental data are plotted with symbols; the fitted and RMSE curves are respectively plotted in solid and dotted lines.

From vapour sorption kinetic, diffusivity coefficients were 60 to 500 fold weaker than from permeation kinetic (Table 6). As previously stated (43) during vapour kinetic sorption by microatmosphere method, boundary layers present around film sample could not be neglected and induced resistance to aroma transfer. However, these data have been used for comparison purpose and it could be observed i) the impact of molar volume within a chemical family, smaller the molecules is, higher the diffusivity coefficient is, ii) the impact of crystallinity, diffusivity is weaker for the less crystalline PE, and finally iii) the impact of chemical aroma nature, despite smallest molar volume of phenolic compounds, they diffused slower than esters in relation with their poor volatility. Impact of molecular weight and volatility on aroma diffusivity D through ULDPE film was already underlined (8).

In liquid phase, diffusivity coefficients followed globally the same trend that in vapour phase. The weak values found could be related to aroma-aroma interactions limiting their mobility. The difference between ethyl hexanoate and 2- phenylethanol diffusivity was less marked that for values obtained from vapour sorption, supposing plasticization of polymer inducing modification of the molecules mobility as previously suggested. Indeed, the plasticizing effect leads a relaxation of polymer chain, eventually a swelling of the film and induced a reduction of water, gas or volatile barrier properties of films (19, 29, 44). Quezada-Gallo *et al.* (32) have emitted an other hypothesis:

aroma compounds at high concentration in LDPE film may form clusters reducing diffusivity by a friction process between aroma molecules and polymer network.

In aqueous solution D were only determined for esters due to the absence (4-ethyl phenol) or weak sorption of 2-phenylethyl alcohol. Diffusivity coefficients were more important than those found in pure state (liquid or vapour) from sorption kinetic, but 10 times or 60 times lower than the value determined by permeation kinetic for ethyl butanoate and ethyl hexanoate respectively. These results could be explained by a concentration dependence of D but also by the role of the matrix which acted by slowing the diffusion. The sorption of water in films could result in difficult diffusivity for apolar molecules.

Large disparities in D values were observed according to the employed determination procedure. However, in all conditions, the diffusivity was related to the molecular dimension of aroma compound within a chemical family and to the crystallinity of the film even if the chemical nature of permeant could have a great impact.

An effect of measurement conditions was clearly found on coefficient transfer values and was mainly related to the aroma concentration, to the aroma state and to the presence of matrix. However, each method has permitted to point out the impact of films composition and particularly the crystallinity on aroma transfer.

Abbreviations Used

PE: PolyEthylene

LDPE: Low Density PolyEthylene

HDPE: High Density PolyEthylene

MDPE: Medium Density PolyEthylene

LLDPE: Linear Low Density PolyEthylene

WVP: Water Vapour Permeability

EB: Ethyl Butanoate

EH: Ethyl Hexanoate

P: Permeability coefficient

D: Diffusivity coefficient

S: Sorption coefficient

Literature cited

1. Armstrong, R. B. Effects of Polymer Structure on Gas Barrier of EVOH (Ethylene Vinyl Alcohol) and Considerations for Package Development. *TAPPI* **2002**, 2002 *PLACE Conference Proceedings*.
2. Cava, D.; Lagaron, J. M.; Lopez-Rubio, A.; Catala, R.; Gavara, R. On the applicability of FT-IR spectroscopy to test aroma transport properties in polymer films. *Polym. Test* **2004**, *23*, 551-557.
3. Sajilata, M. G.; Savitha, K.; Singhal, R. S.; Kanetkar, V. R. Scalping of Flavors in Packaged Foods. *Compr. Rev. Food. Sci. Food Saf.* **2007**, *6*, 17-35.
4. van Willige, R. W. G.; Schoolmeester, D.; van Ooij, A.; Linssen, J.; Voragen, A. G. J. Influence of Storage Time and Temperature on Absorption of Flavor Compounds from Solutions by Plastic Packaging Materials. *J. Food Sci.* **2001**, *67*, 2023-2031.
5. Arora, D. K.; Hansen, A. P.; Armagost, M. S. Sorption of Flavor Compounds by Low Density Polyethylene Film. *J. Food Sci.* **1991**, *56*, 1421-1423.
6. Letinski, J.; Halek, G. W. Interactions of Citrus Flavor Compounds with Polypropylene Films of Varying Crystallinities. *J. Food Sci.* **1992**, *57*, 481-484.
7. Dury-Brun, C.; Chalier, P.; Desobry, S.; Voilley, A. Multiple Mass Transfers of Small Volatile Molecules Through Flexible Food Packaging. *Food Rev. Int.* **2007**, *23*, 199-255.
8. Hernandez-Muñoz, P.; Catalá, R.; Hernandez, R. J.; Gavara, R. Food Aroma Mass Transport in Metallocene Ethylene-Based Copolymers for Packaging Applications. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 5238-5243.
9. Nielsen, T. J.; Jägerstad, I. M.; Rickard E. Öste Study of factors affecting the absorption of aroma compounds into low-density polyethylene. *J. Sci. Food Agric.* **1992**, *60*, 377-381.
10. Selke, S. E. M.; Culter, J. D.; Hernandez, R. J., *Plastics Packaging: Properties, Processing, Applications, And Regulations*. 2nd ed.; Hanser Gardner Publications: 2004.

11. Barr, C. D.; Giacin, J. R.; Hernandez, R. J. A determination of solubility coefficient values determined by gravimetric and isostatic permeability techniques. *Packag. Technol. Sci.* **2000**, *13*, 157-167.
12. Chalier, P.; Peyches-Bach, A.; Gastaldi, E.; Gontard, N. Effect of Concentration and Relative Humidity on the Transfer of Alkan-2-ones through Paper Coated with Wheat Gluten. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 867-875.
13. Johansson, F.; Leufven, A. Food Packaging Polymer Films as Aroma Vapor Barriers at Different Relative Humidities. *J. Food Sci.* **1994**, *59*, 1328-1331.
14. Paik, J. S. Comparison of sorption in orange flavor components by packaging films using the headspace technique. *J. Agric. Food Chem.* **1992**, *40*, 1822-1825.
15. Barrera-Garcia, V. D.; Gougeon, R. D.; Voilley, A.; Chassagne, D. Sorption Behavior of Volatile Phenols at the Oak Wood/Wine Interface in a Model System. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 3982-3989.
16. Sheung, K. S. M.; Min, S.; Sastry, S. K. Dynamic Head Space Analyses of Orange Juice Flavor Compounds and Their Absorption into Packaging Materials. *J. Food Sci.* **2004**, *69*, 549-556.
17. Matsui, T.; Ono, A.; Shimoda, M.; Osajima, Y. Thermodynamic elucidation of depression mechanism on sorption of flavor compounds into electron beam irradiated LDPE and EVA films. *J. Agric. Food Chem.* **1992**, *40*, 479-483.
18. Matsui, T.; Nagashima, K.; Fukamachi, M.; Shimoda, M.; Osajima, Y. Application of the solubility parameter in estimating the sorption behavior of flavor into packaging film. *J. Agric. Food Chem.* **1992**, *40*, 1902-1905.
19. van Willige, R. W. G.; Linssen, J. P. H.; Meinders, M. B. J.; van der Stege, H. J.; Voragen, A. G. J. Influence of flavour absorption on oxygen permeation through LDPE, PP, PC and PET plastics food packaging. *Food Addit. Contam.* **2002**, *19*, 303-313.

20. Nielsen, T. J.; Jagerstad, I. M.; Oste, R. E.; Wesslen, B. O. Comparative Absorption of Low Molecular Aroma Compounds into Commonly Used Food Packaging Polymer Films. *J. Food Sci.* **1992**, *57*, 490-492.
21. Ducruet, V.; Fournier, N.; Saillard, P.; Feigenbaum, A.; Guichard, E. Influence of Packaging on the Aroma Stability of Strawberry Syrup during Shelf Life. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 2290-2297.
22. Berlinet, C.; Brat, P.; Brillouet, J.-M.; Ducruet, V. Ascorbic acid, aroma compounds and browning of orange juices related to PET packaging materials and pH. *J. Sci. Food Agric.* **2006**, *86*, 2206-2212.
23. Sheung, K. S. M.; Sastry, S. K.; Min, D. B. Diffusion coefficient of orange juice flavor compounds into packaging materials: A mathematical model. *LWT-Food Sci. Technol.* **2007**, *40*, 157-163.
24. Leufvén, A.; Stöllman, U. Polymer films as aroma barriers at different temperatures. *Z. Lebens Forsch* **1992**, *194*, 355-359.
25. DeLassus, P. T. Permeation of flavors and aromas through glassy polymers. *TAPPI polymers, laminations and coatings conference* **1994**, *77*, 109-113.
26. Franz, R. Permeation of volatile organic compounds across polymer films - Part I: Development of a sensitive test method suitable for high-barrier packaging films at very low permeant vapour pressures. *Packag. Technol. Sci.* **1993**, *6*, 91-102.
27. Hensley, T. M.; Giacini, J. R.; Hernandez, R. J. In *Permeation of multi-component organic vapor mixtures through polymeric barrier films.*, IAPRI 7th World Conference on Packaging, Utrecht, The Netherlands, 14-17 april, 1991; Utrecht, The Netherlands, 1991.
28. Kobayashi, M.; Kanno, T.; Hanada, K.; Osanai, S.-I. Permeability and Diffusivity of d-Limonene Vapor in Polymeric Sealant Films. *J. Food Sci.* **1995**, *60*, 205-209.

29. Mohny, S. M.; Hernandez, R. J.; Giacin, J. R.; Harte, B. R.; Miltz, J. Permeability and Solubility of d-Limonene Vapor in Cereal Package Liners. *J. Food Sci.* **1988**, *53*, 253-257.
30. Milicevic, D.; Trifunovic, S.; Popovic, M.; Milic, T. V.; Suljovrujic, E. The influence of orientation on the radiation-induced crosslinking/oxidative behavior of different PEs. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. Sect. B-Beam Interact. Mater. Atoms* **2007**, *260*, 603-612.
31. Wunderlich, B., *Macromolecular Physics: Crystal Structure, Morphology, Defects*. Academic Press: New York, 1973; Vol. 1, p 568 + xiv
32. Quezada-Gallo, J. A.; Debeaufort, F.; Voilley, A. Interactions between Aroma and Edible Films. 1. Permeability of Methylcellulose and Low-Density Polyethylene Films to Methyl Ketones. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 108-113.
33. Crank, J., *The Mathematics of Diffusion*. 2nd ed.; Clarendon Press/Oxford University Press: Oxford, U.K., 1975; p 414.
34. Vergnaud, J.-M.; Rosca, I.-D., *Assessing Food Safety of Polymer Packaging*. Smithers Rapra Ltd.: Shawbury, Shropshire, UK, 2006; p 290.
35. Auras, R.; Harte, B.; Selke, S. Effect of water on the oxygen barrier properties of poly(ethylene terephthalate) and polylactide films. *J. Appl. Polym. Sci.* **2004**, *92*, 1790-1803.
36. Compañ, V.; Castillo, L. F. D.; Hernández, S. I.; López-González, M. M.; Riande, E. On the crystallinity effect on the gas sorption in semicrystalline linear low density polyethylene (LLDPE). *J. Polym. Sci. Pt. B-Polym. Phys.* **2007**, *45*, 1798-1807.
37. Peroval, C.; Debeaufort, F.; Despre, D.; Voilley, A. Edible Arabinoxylan-Based Films. 1. Effects of Lipid Type on Water Vapor Permeability, Film Structure, and Other Physical Characteristics. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 3977-3983.
38. Morillon, V.; Debeaufort, F.; Blond, G.; Voilley, A. Temperature influence on moisture transfer through synthetic films. *J. Membr. Sci.* **2000**, *168*, 223-231.
39. Briston, J. H., *Plastic films*. 3rd ed.; Wiley: New York, USA, 1988.

40. Yilmaz, G.; Jongboom, R. O. J.; Feil, H.; vanDijk, C.; Hennink, W. E. Permeation of Volatile Compounds through Starch Films. *Biomacromolecules* **2004**, *5*, 650-656.
41. Lopez-Carballo, G.; Cava, D.; Lagaron, J. M.; Catala, R.; Gavara, R. Characterization of the Interaction between Two Food Aroma Components, α -Pinene and Ethyl Butyrate, and Ethylene-Vinyl Alcohol Copolymer (EVOH) Packaging Films as a Function of Environmental Humidity. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 7212 - 7216.
42. Aucejo, S.; Pozo, M. J.; Gavara, R. Effect of water presence on the sorption of organic compounds in ethylene-vinyl alcohol copolymers. *J. Appl. Polym. Sci.* **1998**, *70*, 711-716.
43. Dury-Brun, C.; Hirata, Y.; Guillard, V.; Ducruet, V.; Chalier, P.; Voilley, A. Ethyl hexanoate transfer in paper and plastic food packaging by sorption and permeation experiments. *J. Food Eng.* **2008**, *89*, 217-226.
44. Zhou, Q.; Guthrie, B.; Cadwallader, K. R. Development of a system for measurement of permeability of aroma compounds through multilayer polymer films by coupling dynamic vapour sorption with purge-and-trap/fast gas chromatography. *Packag. Technol. Sci.* **2004**, *17*, 175-185.
45. Covarrubias-Cervantes, M.; Mokbel, I.; Champion, D.; Jose, J.; Voilley, A. Saturated vapour pressure of aroma compounds at various temperatures. *Food Chem.* **2004**, *85*, 221-229.
46. CRC Handbook of Chemistry and Physics, 85th Edition. In Lide, D. R., Ed. CRC Press: 2004; p 2712.

Annexe 3 : Dépôt de brevet

Composition pour la stabilisation d'un liquide aqueux alimentaire sensible à l'oxydation. Brevet français INRA déposé le 23 janvier 2008, sous le numéro n°08-50421.

TITRE

Composition pour la stabilisation d'un liquide aqueux alimentaire sensible à l'oxydation.

DEPOSANT

Institut National de la Recherche Agronomique
(INRA)

ABREGE

L'invention concerne une composition pour protéger de l'oxydation un liquide alimentaire contenant des substances sensibles à l'oxydation au cours de sa conservation comprenant une combinaison de deux types de cellules de levures :

- (i) des cellules de levures non viables et aptes à consommer rapidement l'oxygène, et
- (ii) des cellules de levures inactivées enrichies en glutathion.

Pas de figure

Titre

Composition pour la stabilisation d'un liquide aqueux alimentaire sensible à l'oxydation.

5 **Domaine de l'invention**

La présente invention se rapporte au domaine de la conservation des liquides qui peuvent être altérés par des phénomènes d'oxydation.

Art antérieur

10 De manière générale, il existe un besoin constant pour la mise au point de nouveaux procédés permettant de stabiliser les liquides aqueux alimentaires sensibles à l'oxydation, afin d'améliorer leurs conditions de conservation ou d'allonger leur durée de stockage.

15 Les inconvénients liés à l'altération des propriétés physico-chimiques ou des propriétés organoleptiques des liquides aqueux pour l'alimentation humaine ou animale sont connus depuis longtemps. Des solutions permettant de surmonter de tels inconvénients ont déjà été décrites dans l'état de la technique.

20 Les moyens connus pour réduire ou bloquer l'oxydation des liquides aqueux alimentaires au cours du temps de conservation englobent : (i) les moyens physiques, (ii) les moyens mettant en oeuvre des agents chimiques à propriété anti-oxydantes et (iii) les moyens mettant en oeuvre des agents biologiques, par exemple des microorganismes.

25 Parmi les différents moyens mécaniques, on peut citer ceux qui permettent l'élimination de l'oxygène dissous dans des liquides tels que :

- un procédé de mise sous pression du liquide, de préférence un jus de fruit, par utilisation d'azote gazeux, tel que décrit dans le brevet JP2006141319 ;

30 - un film absorbant l'oxygène qui est posé à la surface du liquide à protéger, tel que décrit dans la demande de brevet JP6100044 ;

- une double couche de films pour isoler le liquide à protéger, la couche externe étant imperméable à l'oxygène et la couche interne pouvant absorber l'oxygène, telle que décrite dans la demande de brevet JP5319459 ;

- un procédé d'application d'une couche de gaz inerte plus dense que l'air compatible avec la nourriture sur la surface de liquides, notamment de boissons exposés à l'oxygène dans un contenant ouvert, tel que décrit dans la demande de brevet EP0134687.

5 Parmi les moyens de traitement chimique utilisés pour stabiliser contre l'oxydation les liquides à destination alimentaire, notamment les boissons fermentées, plus particulièrement les vins, l'utilisation de PVPP (Polyvinylpyrrolidone), d'acide ascorbique et/ou de sulfite (SO_2) est pratiquée. Mais de tels procédés de stabilisation chimique contre l'oxydation
10 sont susceptibles d'être fortement réglementés dans l'avenir et même, au moins pour certains d'entre ces procédés, interdits.

Parmi les moyens biologiques, on connaît l'utilisation de microorganismes tels que les bactéries de grains de kéfir comme additifs antioxydants, pour des boissons notamment, comme décrit dans la demande
15 de brevet EP1607476.

Selon les types de liquides aqueux alimentaires, les réactions d'oxydation des substances que ces liquides contiennent, au cours du temps de conservation, entraînent des altérations de degré variable de leurs propriétés physico-chimiques ou organoleptiques.

20 Parmi les liquides aqueux alimentaires pour lesquels une oxydation entraîne des altérations les rendant impropres à la consommation, on cite en premier lieu les vins, et par ordre d'importance le vin blanc.

Les réactions d'oxydation qui ont lieu dans les vins, en particulier dans les vins blancs, les vins rosés et certains vins rouges, provoquent une perte
25 des arômes variétaux, un profil organoleptique modifié et une coloration brune des vins. Ces modifications indésirables sont provoquées, au moins en partie, par des réactions d'oxydation.

En particulier, on attribue le brunissement des vins blancs à des réactions de polymérisation oxydatives de certains polyphénols. Certains
30 polyphénols, en réagissant avec l'oxygène, sont transformés en quinones et semi-quinones. Ces composés très réactifs se complexent avec d'autres composés à fonction sulfanyle, tels que les thiols volatils, pour former des pigments bruns. Cette complexation avec les quinones et les semi-quinones détruit les propriétés aromatiques des thiols volatils.

Les vins blancs sont élaborés avec l'objectif d'obtenir des vins fruités, frais, à consommer assez rapidement, ou bien des vins de garde de type "premium" vieillissant pendant plusieurs années.

Il est essentiel de protéger les vins, en particulier les vins blancs, de l'oxydation et du brunissement qui peuvent détériorer leur profil organoleptique. Notamment, la détérioration des arômes et le brunissement apportent un impact organoleptique négatif entraînant une forte dépréciation à la vente, et en conséquence une perte économique significative.

Dès le moment où les vins blancs sont conditionnés dans différents contenants, après l'étape de filtration qui est réalisée en fin de fermentation, ils sont exposés de manière continue à l'oxygène de l'air. En effet, de l'oxygène est piégé avec le vin blanc, au moment du conditionnement. Puis, les contenants n'étant en général pas totalement hermétiques aux gaz, de l'oxygène pénètre dans le contenant tout au long de la conservation du vin et de son vieillissement.

Plusieurs solutions ont été envisagées pour prévenir ce brunissement et les altérations organoleptiques qui y sont associés, dus au contact du vin avec de l'oxygène au cours du temps de conservation, telles que :

- limiter l'exposition à l'oxygène,
- utiliser des anti-oxydants naturels ou de synthèse ou,
- éliminer les polyphénols responsables du brunissement.

Toutefois, avec les techniques actuelles utilisées pour conditionner les liquides aqueux à destination alimentaire, y compris les vins, il est très difficile d'exclure totalement tout contact desdits liquides avec l'oxygène de l'air durant leur transport jusqu'à l'unité de conditionnement.

De plus, après le conditionnement en bouteille de verre, l'oxygène peut diffuser à travers un bouchon de liège ou provenir de l'espace de tête gazeux situé sous le bouchon après l'embouteillage.

Dans le cas du vin, le contact avec l'oxygène de l'air a lieu aussi pour d'autres types de conditionnement, tels que en outre à vin ou BIB® (pour « Bag-In-Box »). Dans les BIB®, le vin est conditionné sous vide dans une poche en matière plastique, ladite poche en matière plastique étant disposée à l'intérieur d'un emballage en carton. La poche en matière plastique est fabriquée dans un matériau qui fait barrière à l'oxygène sur sa face externe, mais n'est pas totalement hermétique à l'oxygène.

Pour limiter ou bloquer les réactions d'oxydation dans le vin au cours de sa conservation, l'apport d'agents chimiques antioxydants tels le sulfite (SO_2) pour empêcher l'oxydation des composés sensibles du vin est très limité car il est soumis à la réglementation sur les denrées alimentaires. Le dioxyde de soufre ajouté en excès peut également altérer la qualité organoleptique du vin.

Pour éliminer les polyphénols afin de corriger le brunissement des vins blancs, des agents de collage sont communément employés, comme le charbon activé ou la PVPP (polyvinylpyrrolidone) (Fialdes, E., Rev. des oenologues, 1989,54, 19-22 ; Baron, R. et al., Z. Lebensm. Unters Forsch, 1997, 205,474-78). Cependant, ces substances présentent l'inconvénient d'altérer les saveurs et les arômes des vins (Sims, C. A., et al., Am. J. Enol. Vitic ; 1995,46 (2), 155-158). En outre, certains polyphénols tels que le resvératrol, ayant des propriétés physico-chimiques et organoleptiques très intéressantes d'un point de vue alimentaire et sur la santé, leur élimination doit si possible être évitée.

Des travaux de recherche académique ont montré que l'addition à l'embouteillage de 10mg/L de glutathion à un vin blanc, limite le jaunissement de sa couleur, l'érosion de son arôme et sa tendance à ne pas bien vieillir. Le glutathion pourrait réagir lors de l'élevage ou après la mise en bouteille, avec les quinones pour former un complexe incolore, empêchant alors ces mêmes quinones de réagir avec de nombreux composés à fonction sulfanyle dont les thiols du vin (molécules aromatiques), ce qui provoque habituellement un complexe brun, et qui empêche l'expression aromatique.

Ces résultats ne sont cependant pas susceptibles d'être transposés dans la pratique des viticulteurs, car l'ajout de glutathion sur un vin produit fini n'est pas autorisé dans les pratiques oenologiques. Par ailleurs, l'introduction de glutathion dans le moût pose le problème de sa consommation durant la fermentation alcoolique par les levures actives inoculées.

Ainsi, si ces études présentent un intérêt pour la compréhension des phénomènes en jeu dans la détérioration des arômes et le brunissement des vins blancs, aucune solution technique n'est proposée pour permettre de s'affranchir en pratique de ces problèmes.

Comme déjà mentionné, il a aussi été envisagé d'utiliser des agents biologiques pour limiter les phénomènes d'oxydation dus à la présence d'oxygène, notamment par l'utilisation de levures consommatrices d'oxygène.

5 La demande de brevet européen n° EP 0 305 005 B1 décrit l'utilisation de levures consommant de l'oxygène pour limiter les phénomènes d'oxydation dans les produits contenant de l'eau au cours de leur conservation. Cette demande de brevet décrit en particulier une levure et un procédé plus particulièrement adaptés à la conservation de la bière. Les
10 levures utilisées consistent en des levures déshydratées qui sont ultérieurement réhydratées par l'eau contenue dans la bière. Après leur réhydratation, ces levures sont viables et se reproduisent. Pour éviter la génération de turbidité dans la bière du fait de la multiplication des levures consommatrices d'oxygène, ces cellules de levures sont immobilisées dans
15 des supports solides compatibles avec les normes alimentaires, telles que des cires ou des gommes. Ces supports sont perméables à l'eau et à l'oxygène. Lors de l'étape de pasteurisation, réalisée pour le conditionnement de la bière, les cellules de levure restent viables, capables de consommer de l'oxygène. Cette consommation de l'oxygène n'est pas réalisée par une
20 réaction de fermentation.

Afin de remédier aux phénomènes d'oxydation pendant le vieillissement ou la conservation du vin, il a été suggéré de traiter le vin avec des cellules de levures de boulangerie (Bonilla et al., J. Agric. Food Chem., 2001, 49, 1928-1933). En effet, les membranes des levures ont la
25 propriété de retenir certains composés, et notamment des substances colorantes telles que les anthocyanes. Les vins ont été traités par des doses de levure allant de 0,5 g/L à 5 g/L durant 24 heures, puis ont été filtrés. Un effet sur la coloration a été observé, tandis que les propriétés gustatives étaient préservées. Cette technique appartenant aux "technologies vertes" a
30 cependant l'inconvénient de nécessiter une stérilisation microbiologique subséquente afin d'éviter que les cellules de levure résiduelles se multiplient et altèrent la transparence ainsi que les propriétés organoleptiques du vin traité.

La demande PCT n° WO 2005/080543 décrit un procédé de
35 préparation d'un vin permettant de prévenir les problèmes d'oxydation

rencontrés lors du vieillissement du vin, de préférence un vin blanc, grâce à l'introduction de levure enrichie en glutathion dans le moût avant la mise en fermentation, de préférence au début ou en cours de fermentation. Grâce à ce procédé, il est possible d'obtenir, en utilisant uniquement des ingrédients naturels, des vins blancs de qualité, répondant aux critères suivants :

5 ron deur du vin, fraîcheur et fruité, stabilité dans le temps des arômes, stabilité dans le temps de la couleur. Aucun ajout de substances étrangères tels que des anti-oxydants chimiques n'est requis, aucune manipulation complexe n'est nécessaire.

10 Selon la demande PCT n° WO 2005/080543, il est recommandé d'introduire la levure enrichie en glutathion dans le moût en début de fermentation.

Les traitements post-fermentation du vin pour obtenir un produit fini apte au vieillissement ou à la consommation, notamment les étapes de filtration, permettent l'élimination des levures enrichies en glutathion. Lors de la conservation du vin blanc dans un contenant, les problèmes d'oxydation, de brunissement, d'altération des propriétés gustatives et odorantes restent donc non résolus.

20 Il existe donc un besoin pour de nouveaux procédés de stabilisation des liquides aqueux alimentaires, aptes à protéger lesdits liquides de l'oxydation provoquée par l'oxygène pendant leur durée de conservation.

Résumé de l'invention

25 L'invention a pour objet une composition pour protéger de l'oxydation un liquide alimentaire contenant des substances sensibles à l'oxydation au cours de sa conservation comprenant une combinaison de deux types de cellules de levures : (i) des cellules de levures non viables et sélectionnées pour leur aptitude à consommer rapidement de l'oxygène et (ii) des cellules de levures inactivées produites de façon à être riches en glutathion.

30 Un autre objet de l'invention est un procédé de stabilisation, d'un liquide aqueux alimentaire contenant des substances sensibles à l'oxydation au cours de sa conservation, comprenant une étape de mise en contact dudit liquide avec ladite composition de cellules de levure.

35 L'invention concerne aussi un traitement réalisé de manière à abaisser l'état réducteur du potentiel d'oxydoréduction d'un liquide aqueux alimentaire

de façon à favoriser l'expression optimale de certains composés en équilibre d'oxydo-réduction dans ledit liquide, et qui ont un intérêt organoleptique sous leur forme réduite.

- 5 L'invention est également relative à un vin blanc fini, stabilisé grâce au procédé ci-dessus, n'ayant pas bruni de manière détectable à l'oeil nu, et ayant un potentiel d'oxydo-réduction et des concentrations en composés, influant sur les propriétés organoleptiques dudit vin, au moins égal au potentiel d'oxydo-réduction et aux concentrations en lesdits composés au moment du conditionnement.
- 10 La présente invention a également pour objet une utilisation de la composition de cellules de levures ci-dessus pour stabiliser, au cours de leur conservation, les liquides aqueux alimentaires définis précédemment vis-à-vis de l'oxydation.