

UNIVERSITE DE BOURGOGNE
UMR CSGA (INRA/AgroSup Dijon/UB)

THÈSE

Pour obtenir le grade de
Docteur de l'Université de Bourgogne
en Sciences des Aliments

par

Yacine Merabtine

**Etude des relations entre la structure de molécules odorantes et
leurs équilibres rétention-libération entre phase vapeur et gels
laitiers**

Directeur de Thèse
Anne Tromelin

Co-directeur de thèse
Samuel Lubbers

Membres du Jury	Pr Andrée Voilley Pr Michel Grisel, rapporteur Dr Violette Ducruet, rapporteur Dr Anne Tromelin
Membres invités	Dr Barbara Rega Dr Samuel Lubbers

Je remercie Madame Violette Ducruet et Monsieur le Professeur Michel Grisel, rapporteurs, ainsi que Madame le Professeur Andrée Voilée et Madame Barbara Rega, membres du jury, pour avoir accepté de lire et de juger ce travail de thèse.

Je remercie Mesdames Marie-Christine Rallet, Isabelle Deleris, Nathalie Jourdan et Monsieur Jérôme Golebiowski pour leurs conseils et leur disponibilité en tant que membres de mon comité de thèse.

Je remercie Madame Elisabeth Guichard, directrice de l'unité mixte de recherche FLAVIC pour m'avoir accueilli au sein de son unité et de son équipe, et pour son implication dans mon travail de thèse.

Je remercie Madame Anne Tromelin pour avoir accepté de diriger cette thèse, pour avoir fait preuve d'une disponibilité exceptionnelle, pour m'avoir appris les bases importantes pour mener un travail de recherche et pour m'avoir initié aux relations structure-activité.

Je remercie Monsieur Samuel Lubbers pour avoir accepté de co-encadrer cette thèse, pour son grand investissement et pour ses connaissances qui m'ont été indispensables en physicochimie et en sciences des aliments.

Je remercie Madame Isabelle Andriot pour son soutien scientifique et technique ainsi que Emma Butler, Romain Longearet et Anthony Bellevrat pour leur contribution dans ce travail.

Je remercie l'équipe de Marie-Christine Ralet de l'unité de recherche "Biopolymères, Interactions, Assemblages" de l'Inra de Nantes pour les analyses de composition et de pureté de la pectine.

Je remercie Nathalie Cayot pour sa collaboration sur les analyses rhéologiques des gels de pectine et des gels laitiers.

Merci à Julien Jaffré pour m'avoir expliqué les traitements statistiques avec le logiciel Statistica.

Je remercie Olivier Palicki, Chantal Septier, Etienne Sémon et Karine Pernin pour leur aide dans la vie quotidienne du laboratoire.

Je remercie Nicolas Deprêtre, mon voisin de bureau pour sa sympathie, sa complicité et pour les échanges en culture musicale.

Je remercie toutes les personnes de l'UMR FLAVIC et de l'INRA de Dijon qui ont partagé mon quotidien. Merci pour votre sympathie votre bonne humeur.

Je remercie ma famille pour son soutien sans faille et pour avoir cru en moi, et je remercie également tous mes amis dijonnais pour leur amitié, leur soutien et pour m'avoir fait découvrir et aimé la vie dijonnaise.

Je remercie Madame Violette Ducruet et Monsieur le Professeur Michel Grisel, rapporteurs, ainsi que Madame le Professeur Andrée Voilée et Madame Barbara Rega, membres du jury, pour avoir accepté de lire et de juger ce travail de thèse.

Je remercie le Conseil Régional de Bourgogne pour son soutien financier.

Table des matières

<i>Résumé</i>	5
<i>Abstract</i>	6
<i>Liste des abréviations</i>	7
<i>Liste des tableaux</i>	8
<i>Liste des figures</i>	10
<i>Liste des annexes</i>	12
<i>introduction</i>	14
1 Contexte bibliographique	18
1.1 Equilibres physico-chimiques et interactions moléculaires	18
1.1.1 Les états de la matière	19
1.1.2 Equilibres.....	34
1.1.3 Les mélanges et les solutions	39
1.1.4 Potentiels chimiques.....	40
1.1.5 Cas de l'équilibre liquide vapeur.....	40
1.2 Gel laitier : yaourt	47
1.2.1 Définition.....	47
1.2.2 Composition et structure des protéines lactières	48
1.2.3 Gélification du lait par voie acide.....	48
1.2.4 Yaourt sans matière grasse	48
1.2.5 Substitution des matières grasses par des épaississants.....	49
1.2.6 Interactions protéines lactières/polysaccharides	49
1.3 Effet de la nature des ingrédients sur la libération/rétention des composés d'arôme ... 55	
1.3.1 Interaction protéines / composés d'arôme	55
1.3.2 Interactions polysaccharides / composés d'arôme.....	58
1.3.3 Effet du saccharose sur la libération-rétention des composés d'arôme.....	62
1.4 Quantification de l'affinité entre les composés d'arôme et la matrice	62
1.4.1 Constante d'affinité	62
1.4.2 Coefficient de partage.....	65
1.5 Relations structure-propriété	67
1.5.1 Application au domaine des arômes.....	68
1.6 Bilan	70

2	<i>Matériels et Méthodes</i>	73
2.1	Les composés volatils	73
2.1.1	Mesure de la pureté.....	73
2.1.2	Répartition des composés volatils en 6 mélanges	73
2.2	Milieux étudiés	76
2.2.1	La pectine	76
2.2.2	Préparation des gels.....	77
2.3	Contrôle rhéologique des gels obtenus	79
2.4	Aromatisation des milieux	80
2.4.1	Eau et gels de pectine	80
2.4.2	Gel laitier et gel laitier avec pectine.....	81
2.5	Analyse headspace	81
2.6	Calcul des coefficients de partage	82
2.7	Etude des relations structure-propriété	94
3	<i>Résultats</i>	96
3.1	Caractérisation des différents milieux	97
3.1.1	Gels de pectine.....	97
3.1.2	Gels laitiers	98
3.2	Obtention des coefficients de partage	99
3.3	Étude de l'impact de la nature du milieu modèle	103
3.3.1	Effet du saccharose, du tampon et du pH.....	103
3.3.2	Équilibres rétention-libération pour les molécules odorantes dans les cinq milieux	105
3.3.3	Recherche de l'effet pectine.....	108
3.3.4	Etude de la rétention/libération dans le gel laitier.....	108
3.3.5	Conclusion.....	110
3.4	Etude des relations structure-propriété	111
3.4.1	Ensemble des 28 composés	113
3.4.2	Sous-groupes de composés.....	116
3.4.3	Conclusion.....	138
4	<i>Discussion</i>	144
4.1	Obtention des résultats (conditions expérimentales)	144
4.1.1	Contrôle rhéologique des milieux étudiés	144
4.1.2	Méthode de détermination des coefficients de partage	144
4.1.3	Comparaison des valeurs de coefficients de partage avec celles de la littérature	148

4.1.4	Effet du saccharose et du pH.....	150
4.2	Rétention dans les différents milieux.....	150
4.2.1	Déplacement de l'équilibre.....	150
4.2.2	Effet de la pectine.....	151
4.2.3	Effet du gel laitier.....	152
4.3	Relations structure-propriété.....	154
4.3.1	Etude SAR sur l'ensemble des 28 composés.....	154
4.3.2	Etude SAR sur les différents sous-groupes.....	155
4.3.3	La structure de la chaîne carbonée.....	157
5	Conclusion.....	162
6	Bibliographie.....	167
7	Annexes.....	184

RESUME

Une approche intégrée physicochimie et relations structure-activité a été mise en œuvre afin d'étudier le phénomène rétention-libération des composés d'arôme dans un gel laitier allégé additionné de pectine. Notre objectif était d'identifier les propriétés moléculaires qui régissent ce phénomène en supposant que la modification de la structure entraîne forcément un changement dans la rétention-libération des composés d'arôme.

Dans ce but, nous avons déterminé les coefficients de partage de 28 composés d'arôme dans l'eau, dans des gels de pectine et dans des gels laitiers avec ou sans de pectine, à l'équilibre en utilisant la méthode PRV (Phase Ratio Variation). Nous avons ensuite effectué une étude des relations structure-rétention en évaluant les corrélations entre les coefficients de partage et quatre descripteurs traduisant quatre propriétés moléculaires : l'hydrophobie globale, la surface moléculaire, la polarisabilité et la densité de charge négative. Notre démarche d'étude des relations structure-activité (Structure-Activity Relationships, SAR) consistait à étudier des composés d'arôme appartenant à une gamme de structures variée, dans un même ensemble, puis en sous-groupes en fonction d'une particularité structurale donnée afin de révéler les particularités de la structure qui influent sur le phénomène rétention-libération.

La comparaison des rétentions entre les milieux n'a pas montré l'existence d'un effet pectine. Les études des relations structure-activité ont montré l'impact de certaines particularités structurales telles que la ramification et la double liaison sur la rétention. Elles ont également montré que l'hydrophobie globale des molécules n'était pas la propriété moléculaire la plus à même d'expliquer les phénomènes impliqués dans les interactions de molécules odorantes avec les constituants du milieu (eau ou gel laitier). La surface et la polarisabilité rendent mieux compte des rétentions des composés d'arôme. Les corrélations impliquant la surface, la polarisabilité et l'hydrophobie globale, confirment que les interactions de type van der Waals (essentiellement Keesom et London) sont favorables à la rétention dans les gels laitiers et défavorables à la rétention dans l'eau. De même, les corrélations impliquant la densité de charge montrent que les interactions polaires sont favorables à la rétention dans l'eau.

Notre choix de départ, qui consistait à faire varier la structure des composés d'arôme afin d'apprécier son effet sur le phénomène rétention-libération des composés d'arôme, s'est avéré concluant, et le groupe de 28 composés permet effectivement de mener une étude quantitative des relations structure-propriété. Cette démarche QSAR pourra se transposer à des systèmes alimentaires simples ou complexes.

Mots-clés: composé d'arôme, rétention-libération, coefficient de partage, pectine, gel laitier, headspace, PRV, relations structure-activité/structure-propriété, QSAR/QSPR.

ABSTRACT

An integrated approach physicochemistry and structures activity relationships has been carried out to study the aroma compounds retention-release phenomenon in a fat free dairy gel added with pectin. This study aimed to identify the molecular properties that govern this phenomenon assuming that modifying the structure leads automatically to a change in the retention-release of aroma compounds.

For this purpose, we have determined the partition coefficients of 28 aroma compounds in water, in pectin gels and in dairy gels supplemented or not supplemented with pectin, at equilibrium conditions using the PRV method (Phase Ratio Variation). Then, we have performed a structure-retention relationships study for the aroma compounds by estimating correlations between the partition coefficients and four descriptors representing four molecular properties: Global hydrophobicity, molecular area, polarizability and negative charge density. Our methodology concerning the structure-activity relationships study (SAR) consisted on studying a varied range of aroma compounds in terms of molecular structure, first taking into account all of them in the same set, then in separated subgroups according to a given structural particularity in order to reveal which structural particularities control the retention-release phenomenon.

The comparison of retention between the several media has not shown any effect of pectin. Structure-activity relationships studies have shown the impact of some structural particularities like branching and double linking. They have also shown that the global hydrophobicity was not the best molecular property to explain the phenomena involved in the interactions between aroma compounds and matrix components (water and dairy gel). Molecular area and polarizability are more likely to report of aroma retention-release. Correlations implying molecular area, polarizability or global hydrophobicity confirm that van der Waals (especially Keesom and London) are involved in the retention in dairy gels and unfavourable in the retention in water. Correlations implying negative charge density show that polar interactions are favourable in the retention in water as well.

Our strategy which consisted on varying the structure of aroma compounds to exanimate its effect on the retention-release phenomenon was found to be effective, and the set of 28 aroma compounds allowed as leading a quantitative structure-property relationships study. This QSAR approach can be transposed to simple or complex food systems.

Keywords: Aroma compound, retention-release, partition coefficient, pectin, dairy gel, headspace, PRV, structure-activity/structure-property relationships, QSAR/QSPR.

Liste des abréviations

a	activité
A	aire du pic chromatographique
ACE	capillary affinity electrophoresis
BSA	bovin serum albumin
C ₀	concentration initiale en composé d'arôme
C _G	concentration en composé d'arôme dans la phase gazeuse
C _M	concentration en composé d'arôme dans la matrice
C _M /C _G	coefficient de partage dans le sens rétention
DA	degré d'amidation
DE	degré d'estérification
E _{liais}	énergie de liaison
EPICS	equilibrium partitioning in closed systems
FA	frontal analysis
f _i	facteur de réponse du détecteur
FID	flamme ionisation detector
GDL	glucono-delta-lactone
GL	gel laitier simple
GLP	gel laitier additionné de pectine à 0,05%
HM	high methoxy
ITC	Isothermal titration calorimetry
K _{lib}	constante de libération
LM	low methoxy
LMA	low methoxy amidated
logP	coefficient de partage entre l'octanol et l'eau
M	mase molaire
MG	matières grasses
P04	gel de pectine à 0.4%
P08	gel de pectine à 0.8%
PRV	phase ratio variation
QSAR	quantitative structure activities relationships
QSPR	quantitative structure properties relationships
Ratio	rapport entre le coefficient de partage dans le gel laitier et le coefficient de partage dans l'eau
RNCG	relative negative charge surface area
RPS	résonance plasmonique de surface
SPME	solide phase micro extraction
T _{eb}	température d'ébullition
T _f	température de fusion
WP	whey protéins
WPI	whey protéins isolated
β	rapport de volume entre la phase gazeuse et la matrice (V _G /V _M)
γ	coefficient d'activité
μ	moment dipolaire chimique
η	coefficient de viscosité

Liste des tableaux

Tableau 1 : Energie et portée des différentes interactions.....	22
Tableau 2 : Contributions des trois forces de Van der Waals en pourcentage pour quelques exemples de molécules	26
Tableau 3 : Valeurs de masse molaire, de polarisabilité et de surface calculées par le logiciel DS Viewer Pro pour le butanoate d'éthyle le buténoate d'éthyle et le 2-méthylpropanoate d'éthyle.....	32
Tableau 4 : Répartition des composés volatils en 6 mélanges.	75
Tableau 5 : Composition (% , m/m) des différentes matrices.	78
Tableau 6 : Propriétés et structures des 51 composés volatils.....	84
Tableau 7 : Viscosité apparente et valeur de pH de gel de pectine à 0.8% au cours de la conservation.	98
Tableau 8 : Valeurs de η et de pH mesurées à J+2 sur 3 gels laitiers simples et 3 gels laitiers avec pectine.	98
Tableau 9 : Liste des 28 composés dont les coefficients de partage ont été mesurés dans tous les milieux (aldéhydes en orange, cétones en vert, esters en bleu).....	101
Tableau 10 : Matrice de corrélation pour les 4 descripteurs moléculaires pour l'ensemble des 28 composés	113
Tableau 11 : Coefficients de corrélation (r) entre les coefficients de partage et les descripteurs AlogP98, Polarizability et Surface Area.....	113
Tableau 12 : Matrice de corrélation (r) entre les descripteurs AlogP98, Surface, Polarisabilité et Jurs-RNCG, pour le sous-groupe des 13 esters.....	117
Tableau 13 : Coefficients de corrélation (r) entre les descripteurs AlogP98, Surface, Polarisabilité et Jurs-RNCG, et les coefficients de partage pour l'ensemble des esters.	118
Tableau 14 : Coefficients de corrélation (r) entre les descripteurs AlogP98, Surface, Polarisabilité et Jurs-RNCG pour le sous-groupe des 9 aldéhydes.....	119
Tableau 15 : Coefficients de corrélation (r) entre les coefficients de partage des aldéhydes et les descripteurs AlogP98, Surface, Polarisabilité et Jurs-RNCG pour le sous-groupe des 9 aldéhydes.	120
Tableau 16 : Coefficient de corrélation (r) entre les descripteurs AlogP98, Surface, Polarisabilité et Jurs-RNCG, et les coefficients de partage des cétones.	122
Tableau 17 : Coefficient de corrélation (r) entre les descripteurs AlogP98, Surface, Polarisabilité et Jurs-RNCG.....	123
Tableau 18: Corrélations entre les coefficients de partage des composés linéaires saturés et les descripteurs.	124
Tableau 19 : Coefficient de corrélation (r) entre les descripteurs AlogP98, Surface, Polarisabilité et Jurs-RNCG et les coefficients de partage des esters et des aldéhydes linéaires saturés.	124
Tableau 20 : Coefficient de corrélation (r) entre les valeurs descripteurs AlogP98, Surface, Polarisabilité et Jurs-RNCG, et le log des valeurs de coefficients de partage dans l'eau pour les composés ramifiés, insaturés et ramifiés-insaturés.	131

Tableau 21 : Coefficient de corrélation (r) entre les valeurs descripteurs AlogP98, Surface, Polarisabilité et Jurs-RNCG, et le log des valeurs de coefficients de partage dans le gel laitier pour les composés ramifiés, insaturés et ramifiés-insaturés.	131
Tableau 22 : Coefficient de corrélation (r) entre les valeurs descripteurs AlogP98, Surface, Polarisabilité et Jurs-RNCG, et les valeurs du « Ratio » pour les composés ramifiés, insaturés et ramifiés-insaturés.	132
Tableau 23 : Coefficient de partage dans l'eau et le gel laitier, polarisabilité, surface, AlogP98 et Jurs-RNCG, de l'heptanoate d'éthyle et du pentanoate de n-butyle.	135
Tableau 24 : Coefficient de partage dans l'eau et le gel laitier, polarisabilité et surface du (E)-but-2-énoate d'éthyle, 2-méthylpropanoate d'éthyle et butanoate d'éthyle.	136
Tableau 25 : Comparaison des valeurs de coefficients de partages obtenues dans l'eau et dans le gel de pectine à 0,04% avec celles de la littérature pour 10 composés d'arôme.	149

Liste des figures

Figure 1: Rayon covalent et rayon de van der Waals (exemple des molécules d'hydrogène).....	20
Figure 2: Moment dipolaire dans le cas de molécules asymétriques (H ₂ O et HCl).....	21
Figure 3: Moment dipolaire dans le cas de molécules symétriques (CO et Br ₂).....	21
Figure 4 : Liaison hydrogène intramoléculaire (ortho-hydroxybenzaldéhyde) et intermoléculaire (para-hydroxybenzaldéhyde).....	23
Figure 5 : Températures de fusion (T _f) et d'ébullition (T _{eb}) pour les éléments hydrogénés de la colonne de l'oxygène (tableau périodique des éléments).	24
Figure 6 : Orientations des moments dipolaires pour deux molécules de chloroforme (CHCl ₃).....	27
Figure 7: Induction par l'eau d'un moment dipolaire pour le diode.....	28
Figure 8 : Corrélacion entre le nombre de carbone et la température (°K), pour 5 esters linéaires saturés.	29
Figure 9: Surface (Å ²) de 5 esters linéaires saturés.	30
Figure 10: Températures d'ébullitions de trois esters : Butanoate d'éthyle (linéaire), buténoate d'éthyle (homologue insaturé) et 2-méthylpropanoate d'éthyle (isomère ramifié).	31
Figure 11 : Structures et surfaces du butanoate d'éthyle, buténoate d'éthyle (homologue insaturé) et 2-méthylpropanoate d'éthyle (isomère ramifié).	31
Figure 12 : Températures d'ébullition de 12 composés linéaires saturés à 6, 7 et 8 chaînons regroupant 3 esters (butanoate d'éthyle, pentanoate d'éthyle, et hexanoate d'éthyle), 3 aldéhydes (Hexanal, heptanal et octanal), 3 cétones (hexan-2-one, heptan-2-one et octan-2-one) et 3 alcools (hexan-1-ol, 1-heptan-1-ol et 1-octan-1-ol).	33
Figure 13 : Diagramme de phase liquide-vapeur d'un mélange binaire entre l'eau (A) et un composé B, à pression atmosphérique constante (isobare).	38
Figure 14: Valeurs des pressions au dessus d'un mélange acétone-chloroforme en fonction de sa composition.....	43
Figure 15 : Valeurs des pressions au dessus d'un mélange eau-propanol en fonction de sa composition. ..	44
Figure 16. Droite de régression 1/A = f (β) : (a) pour le pentanoate d'éthyle dans l'eau ; (b) pour le 2-méthylpentan-ol dans l'eau.	100
Figure 17: Coefficients de partages des 10 composés d'arôme dans deux milieux : Gel de pectine purifiée à 0.04% (m/m) et gel de pectine commerciale à 0.04% (m/m).....	104
Figure 18 : Coefficients de partages des 10 composés d'arôme dans deux milieux : eau et tampon + 0,1% de saccharose.	105
Figure 19 : Equilibre libération /rétention des 28 composés d'arôme dans l'eau (eau), le gel de pectine à 0.4% (P04), le gel de pectine à 0.8% (P08), le gel laitier simple (GL) et le gel laitier additionné de pectine à 0.05% (GLP).	107
Figure 20: Valeurs de K _{lib} pour les 28 composés d'arôme dans l'eau et dans le gel laitier simple (GL) en échelle logarithmique.....	109
Figure 21 : Graphes de corrélacion entre descripteurs Surface Area et Jurs-RNCG et coefficients de partage : (a) et (b) log(CM/CG) eau ; (c) et (d) log (CM/CG)GL ; (e) et (f) « ratio ».....	115

Figure 22 : Coefficients de partage pour le sous-groupe des 13 esters et valeurs de AlogP98 dans l'eau et dans le gel laitier (GL).	117
Figure 23 : Coefficients de partage du sous-groupe des 9 aldéhydes et courbe des valeurs du descripteur AlogP98 dans l'eau et dans le gel laitier (GL).	119
Figure 24 : Coefficients de partage des cétones dans l'eau et dans le gel laitier et valeurs de AlogP98.....	121
Figure 25 : Corrélation entre les valeurs de surface moléculaire et le coefficient de partage eau/phase vapeur pour les esters et les aldéhydes linéaires saturés	125
Figure 26 : Corrélation du AlogP98 avec les esters et les aldéhydes linéaires saturés.....	126
Figure 27 : Corrélation entre le descripteur Jurs-RNCG et les coefficients de partage dans l'eau, des esters linéaires saturés d'une part et des aldéhydes linéaires saturés d'autre part.....	127
Figure 28 : Corrélation entre le descripteur Surface Area et les coefficients de partage dans le gel laitier pour les esters linéaires saturés et des aldéhydes linéaires saturés.	128
Figure 29 : Corrélation entre le descripteur Jurs-RNCG et les coefficients de partage dans le gel laitier pour les esters linéaires saturés et des aldéhydes linéaires saturés.	129
Figure 30 : Corrélation entre le descripteur AlogP98 et « Ratio » pour les esters linéaires saturés et des aldéhydes linéaires saturés.	130
Figure 34 : Corrélations de la surface avec les esters et les aldéhydes linéaires saturés, et des esters et des aldéhydes ramifiés et/ou insaturés dans l'eau.	133
Figure 35 : Corrélations de la surface avec les esters (a) et aldéhydes (b), linéaires, ramifiés et/ou insaturés dans le gel laitier.....	134
Figure 36 : Rétention des 2 binômes d'isomères de cétones dans l'eau.....	137
Figure 37 : Evolution des aires de pics des alcools en fonction de la variation des volumes de la matrice (150 à 5000µL) dans l'eau.	146

Liste des annexes

Annexe 1 : Liste des composés dont les coefficients de partage ont été mesurés uniquement dans les milieux aqueux.	184
Annexe 2: Liste des composés dont les coefficients de partage n'ont pu être mesurés dans aucun milieu.	185
Annexe 3: Valeur des constantes d'équilibre des 28 composés d'arôme avec leur intervalle de confiance à 95% (IC 95%), dans l'eau (eau), le gel de pectine à 0.4% (P04), le gel de pectine à 0.8% (P08), le gel laitier simple (GL) et le gel laitier additionné de pectine à 0.05% (GLP).	186

INTRODUCTION

INTRODUCTION

La notion de qualité d'un aliment intègre communément quatre critères 4S : Sécurité, Santé, Saveur et Services. Chacun de ces mots clés renvoie aux notions de sécurité sanitaire des produits, à leur valeur nutritionnelle et santé, aux critères organoleptiques de goût, d'odeur et d'arôme et à l'ensemble des services associés au produit alimentaire notamment issu de l'industrie agro-alimentaire. On peut affirmer que si les notions de sécurité et de santé sont présentes à l'esprit du consommateur lors d'un achat, la dimension organoleptique d'un produit reste essentielle. Les composés de la flaveur, composés d'arôme et composés sapides qui ne représentent qu'un faible pourcentage de la composition de la plupart des produits alimentaires, sont par contre indispensables à la dimension organoleptique. Les composés d'arôme présents dans un produit doivent pour être perçus sensoriellement être libérés de la phase aliment. La libération de molécules odorantes de la matrice alimentaire, solide ou liquide, et leur passage en phase vapeur est donc la première étape avant une possible perception due à l'activation des récepteurs olfactifs présents dans la cavité nasale et à l'activation d'une « chaîne » d'événements neurophysiologiques complexes.

Sur le plan physico-chimique, la compréhension des phénomènes de libération/rétention des composés d'arôme via notamment l'étude des équilibres liquide-vapeur entre la matrice alimentaire et la phase gazeuse est une étape indispensable. Ces équilibres sont régis notamment par les interactions qui ont lieu entre les constituants de la matrice et les composés volatils. Les quantités d'arôme libérées vont dépendre non seulement de la concentration en composés d'arôme de la matrice mais également de leur nature : fonction chimique, conformation et de la structure de la matrice alimentaire. Les interactions entre le milieu alimentaire et les molécules odorantes apparaissent donc comme un élément déterminant de l'équilibre rétention/libération.

De nombreux travaux ont été conduits dans ce domaine et ont permis de statuer sur l'effet des trois catégories de macromolécules des aliments : glucides, protéines, lipides, sur la libération-rétention des composés d'arôme. Cependant il faut noter que la grande majorité des travaux ont été conduits sur des systèmes modèles simples et que l'extrapolation aux produits complexes : l'aliment, a été rarement couronnée de succès.

Les études menées directement sur des produits agro-alimentaires fournissent des résultats exploitables dans le cadre de la formulation du produit considéré mais sont ici encore difficilement extrapolables à tous les produits. L'effet de plusieurs épaississants sur la libération des composés d'arôme dans les yaourts allégés en matière grasse a fait l'objet de plusieurs études dans notre laboratoire, mettant en évidence un effet particulier de la pectine mais sur un faible

nombre de composés d'arôme appartenant à seulement deux classes chimiques (1, 2). Il ressort de ces travaux qu'une étude des relations structure-rétention des molécules odorantes pourrait apporter des informations sur la nature des interactions impliquées entre les molécules odorantes et les macromolécules de la matrice alimentaires. Pour mener à bien ce type d'étude en mettant en évidence des effets significatifs, il faut utiliser des données pour plusieurs dizaines de composés d'arôme de structures différentes obtenues pour diverses compositions de la matrice. Une telle étude des interactions entre arômes et matrice alimentaire se situe dans la démarche QSAR/QSPR (Quantitative Structure Activities Relationships/Quantitative Structure Properties Relationships), qui cherche à établir des corrélations entre des valeurs représentant des propriétés physico-chimiques (constantes d'affinité, coefficient de partage entre deux phases...) et des propriétés moléculaires traduites par les valeurs numériques (descripteurs moléculaires). Les matrices alimentaires étudiées peuvent être des milieux réels ou des milieux simplifiés. La complexité des matrices alimentaires est souvent un obstacle pour rationaliser leurs propriétés. Ici, il s'agit d'observer non pas la matrice dans sa complexité, mais, pour chaque expérience, le comportement d'une molécule d'arôme, connue et caractérisée qui aura un rôle de marqueur. Les milieux simplifiés et les matrices réelles possèdent en fait des rôles complémentaires au sein de cette approche, les mesures effectuées permettant d'obtenir, *via* le comportement des arômes, une image indirecte des interactions qui peuvent avoir lieu entre les constituants de la matrice. Il est donc tout à fait envisageable d'utiliser une matrice complexe, pour autant que ses ingrédients et leurs proportions soient constants, et qu'il soit possible de faire varier un seul constituant de manière rigoureuse et contrôlée. La démarche consistera à mesurer l'impact de la variation quantifiée de l'un des ingrédients de la matrice sur la propriété que l'on aura choisie d'étudier (par exemple constante de partage, constante de vitesse...) pour les marqueurs, c'est-à-dire les arômes sélectionnés. L'utilisation des données concernant les mêmes arômes dans un ensemble de matrices sera un moyen de cerner, à la fois, certaines caractéristiques clefs des arômes et des matrices.

Le contexte socio-économique a conduit à l'essor des produits allégés tels que des crèmes et des yaourts dont la matière grasse a été remplacée par des épaississants qui sont pour la plupart des polysides (amidon, pectine, carraghénanes, gommages d'origine végétale...). C'est pourquoi nous avons retenu un modèle de gel laitier additionné ou non de pectine pour notre travail. Notre démarche impliquant d'utiliser des données fiables de coefficients de partage liquide-vapeur afin d'étudier l'impact de la structure des composés volatils sur le phénomène rétention/libération, il fallait donc avant tout déterminer les coefficients de partage air-matrice par une méthode fiable et rapide étant donné le nombre de molécules odorantes et de milieux considérés. Nous avons alors recherché parmi les méthodes existantes celle qui paraissait le mieux adaptée à notre étude.

La sélection des molécules odorantes est une étape essentielle : il s'agit en effet de disposer de structures variées, mais tout en gardant une cohérence entre ces structures, cohérence sans laquelle la démarche QSAR/QSPR ne peut s'appliquer. La taille de cet ensemble de molécule devait également être suffisante pour pouvoir étudier des sous-ensembles, mais les contraintes expérimentales et le temps d'acquisition des données ne permettent bien sûr pas d'envisager l'utilisation de centaines de molécules. Nous avons estimé qu'une cinquantaine de molécules constituait un compromis acceptable. D'autre part, nous avons ici souhaité conduire une étude simple des relations structure-rétention plutôt qu'une étude QSPR classique faisant appel à des outils de régression plus ou moins sophistiqués et à de larges ensembles de descripteurs moléculaires. Notre but était avant tout d'examiner les relations entre quelques descripteurs simples et les valeurs de coefficients de partage air-matrice, soit pour l'ensemble des données obtenues, soit pour des sous-ensembles particuliers.

CONTEXTE BIBLIOGRAPHIQUE

1 CONTEXTE BIBLIOGRAPHIQUE

Nous avons abordé cette étude sous un angle théorique, en nous intéressant à la relation entre les structures des molécules odorantes et l'équilibre de ces molécules entre le milieu alimentaire, assimilé à un liquide, et la phase vapeur. De ce fait, nous avons fait appel aux principes fondamentaux des équilibres entre état liquide et état gazeux, et un exposé de ces notions constitue la première partie de ce contexte bibliographique. La seconde partie est consacrée aux caractéristiques des gels laitiers, de la pectine et de leur mélange. Enfin nous présentons dans quel cadre nous avons abordé l'étude des relations structure-activité/structurepropriété.

1.1 Equilibres physico-chimiques et interactions moléculaires

Les ouvrages suivants ont servi de base pour la rédaction de cette partie consacrée à des rappels théoriques :

Arnaud, P., *Chimie physique*. Dunod: Paris, 2001.

Bonchev, D.; Rouvray, D. H., *Chemical graph theory: Introduction and fundamentals*. Gordon and Breach Science Publishers S.A.: Paris, 1991; p 288

Burneau, A., *Thermodynamique et équilibres chimiques*. Inter Editions: Paris, 1991.

Cabane, B.; Hénon, S., *Liquides. Solutions, dispersions, émulsions, gels*. Belin: Paris, 2003.

Casalot, A.; Duruphy, A., *Chimie inorganique*. Hachette superieur: Paris, 2000.

Grécias, P.; Migeon, J.-P., *Physique 2 spé bio véto deug b: Cours et tests d'application*. Lavoisier: Paris, 1996.

Mesplède, J.; Queyrel, J.-L., *Précis de chimie, tome 4. Thermodynamique*. Bréal: Paris, 2000.

Pons, J. N.; M.Robineau, *Thermodynamique et équilibres chimiques*. Vuibert: Paris, 2001.

1.1.1 Les états de la matière

Les corps purs aussi bien que les molécules complexes existent principalement sous trois états : solide, liquide ou gazeux.

Les solides et les liquides sont des états où la matière est condensée car elle occupe un volume relativement petit. Par ailleurs, les liquides et les gaz n'ont pas de forme définie.

La variation des conditions de pression et de température conduit au changement de l'état de la matière.

Les forces intermoléculaires sont beaucoup plus faibles que les forces interatomiques à l'intérieur de la molécule. Cependant, ce sont elles qui sont responsables du fait qu'un composé existe sous les différents états, gazeux, liquide et solide.

Il convient tout d'abord de définir quelles sont les liaisons intermoléculaires mises en jeu.

1.1.1.1 Interactions moléculaires

Les liaisons chimiques au sens large sont dues à des phénomènes mettant en jeu les électrons de la couche de valence : Formation d'orbitales moléculaires dans le cas des liaisons intramoléculaires entre atomes, interaction de type dipôle-dipôle (permanent, induit ou instantané) pour les liaisons intermoléculaires. Elles sont donc responsables de la structure de la matière à l'échelle moléculaire.

Nous considérerons ici uniquement les liaisons mises en jeu dans le cas des molécules organiques.

Distances interatomiques et interactions électrostatiques

Les atomes des molécules organiques portent des charges partielles faibles. Les interactions de natures électrostatiques sont attractives, mais à courte distance elles sont contrebalancées par les forces répulsives. Ces forces répulsives sont des interactions à très courte portée que traduit le contact entre les cortèges électroniques des atomes.

Les forces répulsives sont importantes à courtes distances (r^{-12}). La distance ou le rayon atomique impénétrable par d'autres atomes est appelé le rayon de van der Waals (Figure 1). Il est défini comme étant la moitié de la distance minimale à laquelle peuvent s'approcher 2 atomes quand ils ne se lient pas. C'est donc la mesure de l'encombrement d'un atome vis-à-vis de ceux qui peuvent s'approcher de lui.

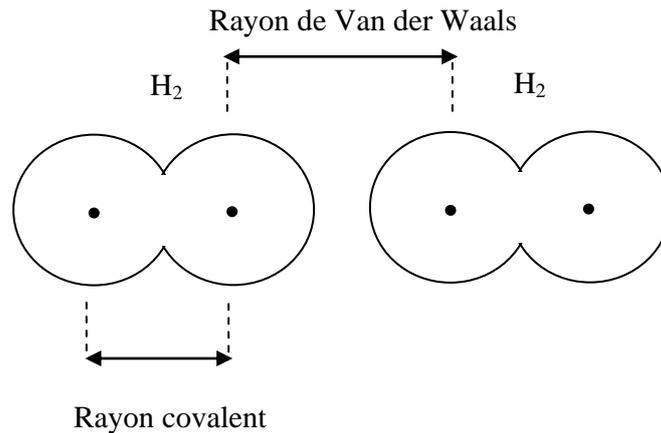


Figure 1: Rayon covalent et rayon de van der Waals (exemple des molécules d'hydrogène).

L'énergie totale E_t correspond au minimum d'énergie qui maintiendra les molécules à une certaine distance dans un état d'équilibre stable assurant la cohésion de l'ensemble.

$$E_t = U_{\text{attraction}} + U_{\text{répulsion}}$$

Les interactions attractives sont liées à la présence de dipôles et sont régies par la loi de Coulomb (attraction coulombienne) qui peut s'exprimer de la façon suivante :

$$F_{1 \rightarrow 2} \equiv \frac{q_1 \cdot q_2}{4\pi\epsilon_0 r_{12}^2}$$

où

r_{12} est la distance entre les deux charges,

q_1 et q_2 sont les charges électriques,

$\epsilon_0 = 8,854 \cdot 10^{-12} \text{ F} \cdot \text{m}^{-1}$ est la permittivité électrique du vide.

Le terme dipôle désigne une entité possédant deux pôles et caractérisée par le moment dipolaire qui est la grandeur traduisant la polarité d'une molécule. Le moment dipolaire chimique μ est représenté par un vecteur orienté du pôle négatif vers le pôle positif $\vec{\mu} = q \cdot \vec{d}$, d étant la distance entre les deux atomes et q la charge absolue portée par chacun des atomes. Le moment dipolaire d'un composé est la somme vectorielle des moments dipolaires qui existent entre chaque liaison et la valeur de ce moment dipolaire est mesurée expérimentalement.

Une molécule possède un moment dipolaire s'il y a une différence d'électronégativité entre atomes, si les charges positives possèdent un barycentre distinct du barycentre des charges négatives et si la molécule ne présente pas de centre de symétrie.

Les molécules diatomiques hétéronucléaires (HCl) et des molécules polyatomiques dissymétriques (H₂O) sont des molécules polaires avec moment dipolaire non nul (Figure 2).



Figure 2: Moment dipolaire dans le cas de molécules asymétriques (H₂O et HCl)

Les molécules diatomiques homonucléaires (Br₂) et des molécules polyatomiques symétriques possédant un centre de symétrie (CO₂, benzène...) ont un moment dipolaire nul (Figure 3).

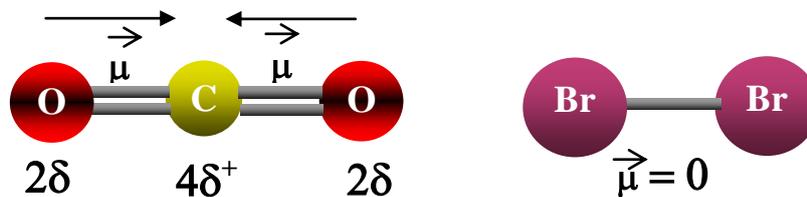


Figure 3: Moment dipolaire dans le cas de molécules symétriques (CO et Br₂)

- **Energie de liaison**

C'est l'énergie libérée au cours de la formation d'une liaison entre deux entités (atomes ou molécules) données. Elle est toujours négative car elle correspond à une perte d'énergie du système initial. Cette énergie E est exprimée en kJ mol^{-1} ou en eV ($1\text{eV} = 96.49 \text{ kJ mol}^{-1}$). Les énergies de liaison intramoléculaire sont de l'ordre de 150 à 1000 kJ mol^{-1} , et une liaison est chimiquement stable si $E_{\text{liais}} > 20$ ou 30 kJ mol^{-1} . Pour situer l'ensemble des ordres de grandeur, les valeurs des énergies et les portées des différentes liaisons intermoléculaires sont reportées dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Energie et portée des différentes interactions

Liaison	Force	Dépendance de l'énergie à la distance	Energie moyenne (kJ mol ⁻¹)
Hydrogène	moyennement forte	1/r ² courte portée	5-30
Dipôle-dipôle (Keesom)	faible	1/r ⁶ très courte portée	5-25
Dipôle-dipôle induit (Debye)	très faible	1/r ⁶ portée extrêmement courte	2-10
Dipôle instantané-dipôle induit (London)	très faible	1/r ⁶ portée extrêmement courte	0.05-40

Bien que beaucoup plus faibles que les forces interatomiques dans les molécules, les forces intermoléculaires peuvent prendre des valeurs importantes lorsque plusieurs de ces liaisons sont mises en jeu, et ce sont elles qui interviennent pour assurer la cohésion des états liquides et solides.

- **Liaisons hydrogènes**

C'est un cas particulier d'interaction dipôle-dipôle qui se manifeste uniquement entre une molécule qui comporte un atome d'hydrogène lié à un atome très électronégatif (F, O ou N) et un autre atome possédant au moins un doublet libre (F, O ou N). L'attraction de l'unique électron 1s que possède l'hydrogène réduit le cortège électronique du noyau favorisant ainsi l'attraction des doublets des molécules voisines puisque la distance d'attraction électrostatique est devenue très courte. Cette forte attraction conduit à la formation d'un dipôle induit au sein de la molécule comprenant l'atome électronégatif qui offre son doublet. Elle se fait à une distance inter-atomique inférieure à la somme des rayons de van der Waals. Cela justifie le recouvrement partiel entre l'orbitale du doublet et l'orbitale 1s de l'hydrogène, d'où un caractère covalent partiel.

Les interactions de type liaison hydrogène peuvent être intra ou intermoléculaires avec une énergie de liaison variant entre 10 et 30 kJ.mol⁻¹. Prenons l'exemple de l'hydroxybenzaldéhyde. Quand les fonctions OH et CHO sont éloignées (position para), il y a formation de liaison hydrogène intermoléculaire. Quand les fonctions OH et CHO sont proches (position ortho), une liaison hydrogène intramoléculaire se crée entre elles, et elles ne sont plus disponibles pour former des liaisons hydrogènes intermoléculaires (Figure 4). La cohésion entre les molécules de para-hydroxybenzaldéhyde est donc meilleure qu'entre les molécules d'ortho-hydroxybenzaldéhyde. Ceci explique la forte différence entre les températures de changement de phase pour les deux isomères et le fait qu'à température ambiante l'isomère ortho soit liquide et l'isomère para solide.

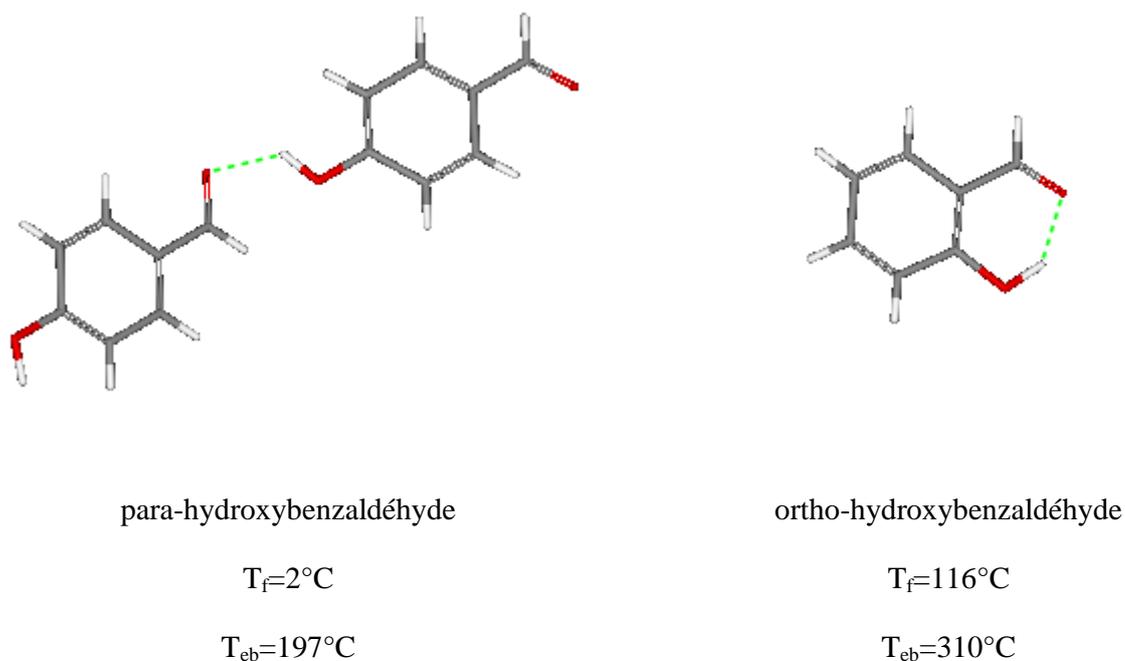


Figure 4 : Liaison hydrogène intramoléculaire (ortho-hydroxybenzaldéhyde) et intermoléculaire (para-hydroxybenzaldéhyde).

La possibilité d'établir ces liaisons hydrogènes intermoléculaires donne une forte énergie de cohésion aux molécules comme les alcools et les acides, et cette énergie est supérieure à celle que donneraient les autres forces intermoléculaires pour des molécules n'ayant pas cette fonction OH, par exemple en remplaçant l'oxygène par un autre atome du même groupe. L'exemple classique de l'eau est particulièrement impressionnant. En effet, la température d'ébullition de l'eau serait de -80°C au lieu de 100°C sans l'intervention des liaisons hydrogènes (Figure 5).

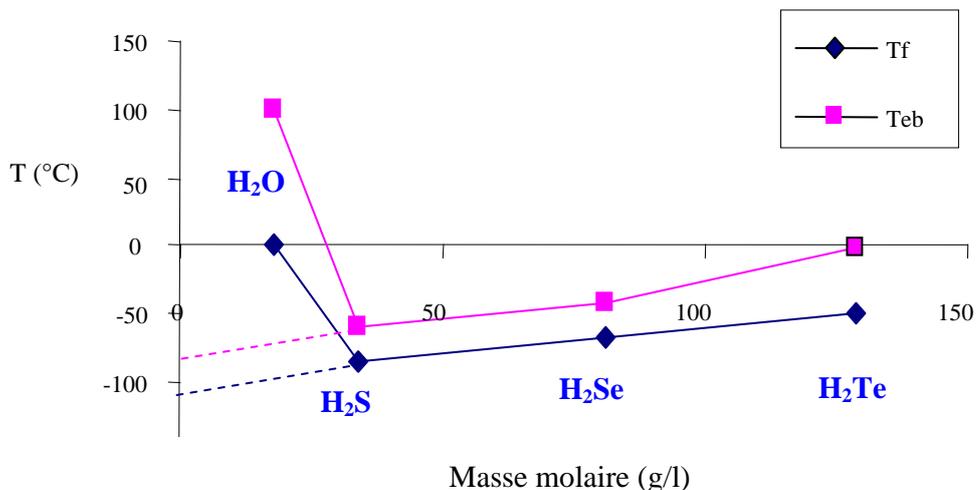


Figure 5 : Températures de fusion (Tf) et d'ébullition (Teb) pour les éléments hydrogénés de la colonne de l'oxygène (tableau périodique des éléments).

On observe le même type de phénomène pour des molécules organiques : par exemple, la cohésion qu'apportent les liaisons hydrogènes aux molécules de méthanol ($M=32 \text{ g mol}^{-1}$) fait que ce composé est à l'état liquide à 25°C alors que l'éthane ($M=30 \text{ g mol}^{-1}$), qui ne peut pas établir de liaisons hydrogène est gazeux.

Lorsqu'elles s'établissent entre molécules différentes, les liaisons hydrogènes peuvent aussi expliquer la solubilité dans les solvants polaires de molécules portant des atomes fortement électro-négatifs.

- **Interactions de van der Waals.**

Ces interactions existent pratiquement entre tous les atomes ou molécules. Elles sont difficiles à quantifier, sauf pour certaines entités (gaz inertes). Les interactions de van der Waals sont fortement impliquées dans la formation des structures secondaires et tertiaires des acides nucléiques et des protéines. L'association des macromolécules de structure tertiaire formant un complexe macromoléculaire de structure quaternaire est rendue possible grâce à une grande flexibilité et plasticité apportées par ces liaisons faibles.

Les forces de van der Waals sont des interactions de nature électrique causées par une modification temporaire du moment dipolaire. Ce moment dipolaire résulte d'un bref passage d'électrons orbitaux d'un côté d'un atome ou une molécule, créant un mouvement semblable dans les atomes ou les molécules voisines. Quand les molécules sont proches les unes des autres, une

attraction légère peut se développer entre les régions de charges opposées des molécules voisines. Ces charges peuvent être permanentes dans le cas de molécules plus ou moins polaires, mais elles peuvent aussi être instantanées et dues aux mouvements des électrons des couches périphériques.

L'énergie de liaison pour ce genre d'interaction est inférieure à 20-30 kJ.mol⁻¹ et peut être dans de nombreux cas plus faible que l'énergie d'agitation thermique qui est de 2,5 kJ.mol⁻¹.

On regroupe sous le terme de forces de van der Waals trois types de force : Keesom, Debye et London. Ces énergies peuvent s'additionner et l'énergie potentielle d'interaction de van der Waals s'écrit donc comme suit : $U_{vdW} = U_K + U_D + U_L$

$$E_{keesom} = -\frac{1}{r^6} \frac{\mu_1 \mu_2}{3(4\pi\epsilon_0\epsilon)^2 kT}$$

$$E_{Debye} = -\frac{1}{r^6} \frac{\mu_1^2\alpha_2 + \mu_2^2\alpha_1}{(4\pi\epsilon_0\epsilon)^2}$$

$$E_{London} = -\frac{1}{r^6} \frac{3h\nu\alpha_1\alpha_2}{4(4\pi\epsilon_0)^2}$$

avec :

- k , constante de Boltzmann ($1,38.10^{-23} \text{ J.K}^{-1}$)
- T , température (K)
- ϵ_0 , constante diélectrique ($8,854.10^{-12} \text{ C}^2.\text{J}^{-1}.\text{m}^{-1}$)
- ϵ , permittivité du milieu
- r , la distance moyenne entre les molécules considérées (m)
- μ , les moments dipolaires des molécules considérées
- α , les polarisabilités électriques ($\text{C}^2.\text{m}^2.\text{J}^{-1}$)
- h , constante de Plank ($6,626.10^{-34} \text{ J.s}$)
- ν , la fréquence électronique d'absorption

Le terme prédominant dépend des molécules considérées (Tableau 2). Toutefois, le rôle de l'interaction de London est toujours important, celui de l'interaction de Keesom est variable, et celui de l'interaction de Debye est le plus faible.

Tableau 2 : Contributions des trois forces de Van der Waals en pourcentage pour quelques exemples de molécules.

Espèce	Keesom en %	Debye en %	London en %
CCl ₄	0	0	100
C ₂ H ₅ OH	42	10	48
C ₆ H ₆	0	0	100
C ₆ H ₅ Cl	13	9	78
C ₆ H ₅ OH	14	9	77
H ₂ O	85	5	10

Forces de Keesom (effet d'orientation)

Elles résultent d'interactions de type "dipôle permanent - dipôle permanent" qui modifient mutuellement leurs orientations en alignant leurs dipôles. Les dipôles permanents s'orientent spontanément de façon à ce que leurs charges de signes opposés se fassent face (Figure 6). Ces interactions se produisent entre molécules polaires comme CO, SO₂, CHCl₃, (CH₃)₂CO. Ces interactions sont d'autant plus importantes que les moments dipolaires sont grands.

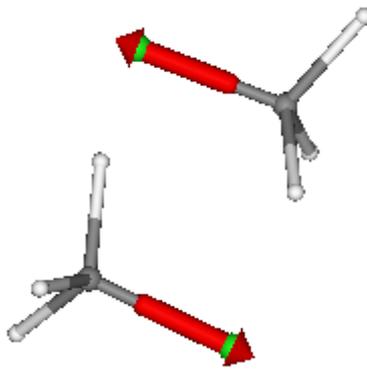


Figure 6 : Orientations des moments dipolaires pour deux molécules de chloroforme (CHCl_3).

A l'état solide, une faible élévation de température fait osciller et s'écarter les dipôles, diminuant la cohésion jusqu'à la fusion du solide.

Dans le cas de l'acétone et du butane, tous deux de même masse molaire ($M=58 \text{ g mol}^{-1}$) : les températures de changement d'état de l'acétone molécules sont sensiblement plus élevées car l'oxygène de la fonction carbonyle, en induisant une polarité de la molécule, permet l'établissement d'interactions de Keesom :

Butane : $T_f = -138^\circ\text{C}$, $T_{eb} = -0,5^\circ\text{C}$; Acétone : $T_f = -95^\circ\text{C}$; $T_{eb} = +56^\circ\text{C}$

Forces de Debye (effet d'induction)

Ces forces traduisent les interactions de type "dipôle permanent - dipôle induit" qui ont lieu entre des molécules possédant un moment dipolaire permanent et des molécules non polaires (benzène, cyclohexane...) qui se polarisent sous l'effet du champ électrique créé par les dipôles permanent (d'où le terme "induit"). Cette interaction est d'autant plus forte quand des molécules apolaires ayant une forte polarisabilité interagissent avec des molécules polaires ayant un fort moment dipolaire.

Ces interactions expliquent la solubilité des molécules apolaires dans l'eau, notamment le passage en solution aqueuse de I_2 , Br_2 , Cl_2 , O_2 , CO_2 . (Figure 7)

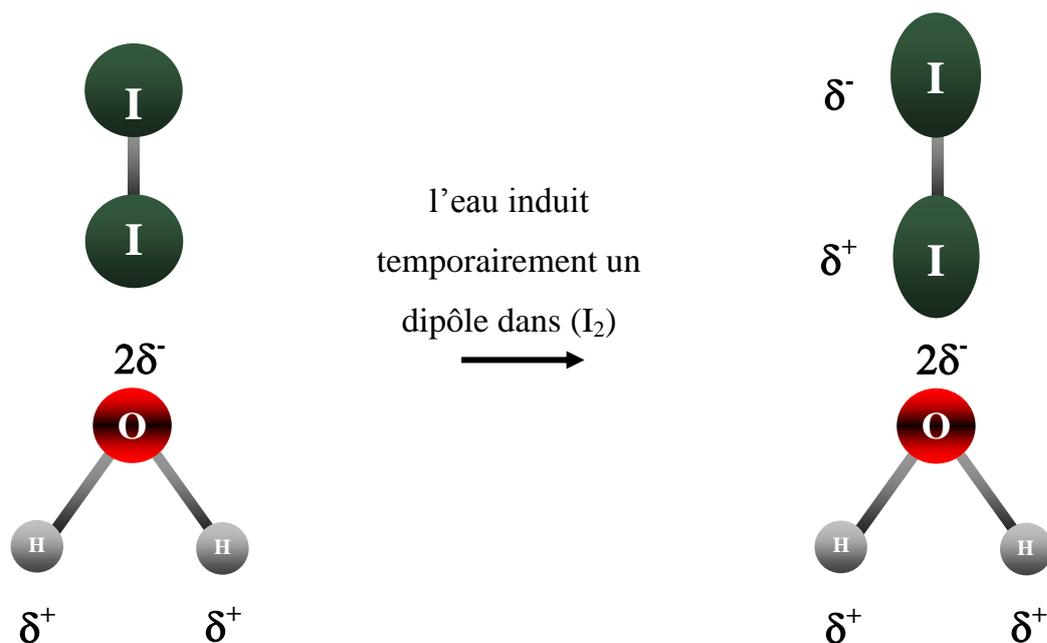


Figure 7: Induction par l'eau d'un moment dipolaire pour le diode.

Forces de London (effet de dispersion)

Elles résultent d'interactions de type "dipôle instantané - dipôle induit" ou "dipôle instantané - dipôle instantané" qui s'effectuent entre deux molécules apolaires.

Une molécule apolaire a à chaque instant, un moment dipolaire instantané non nul (dû aux déplacements des électrons) fluctuant très rapidement. Elle peut donc interagir avec une autre molécule ayant un moment dipolaire instantané, ou créer un moment dipolaire induit sur une molécule proche et interagir avec elle.

Ce sont ces forces qui expliquent la formation des phases condensées et des solutions par des molécules apolaires (benzène, gaz rares, tétrachlorométhane...). Ces forces sont d'autant plus élevées que la molécule est étendue et que le nombre d'électrons est important.

En effet, l'accroissement de la taille, du nombre des électrons augmente la polarisabilité des molécules de Cl₂ à I₂, d'où l'accroissement de l'interaction de London, du dichlore au diiode. Par conséquent, le dichlore est gazeux, le dibrome est liquide et le diiode est solide à la température ambiante. Ce sont aussi de telles forces qui permettent la liquéfaction ou la solidification de gaz tel que l'hélium ou l'argon.

Si on prend le cas d'une série homogène d'esters linéaires et saturés, on remarque que la température d'ébullition augmente avec le nombre de carbone de la chaîne (Figure 8). La fonction étant la même pour toutes ces molécules, le phénomène peut s'expliquer par les interactions de

type London qui sont d'autant plus fortes que la chaîne carbonée est longue et par conséquent que la surface est grande (Figure 9).

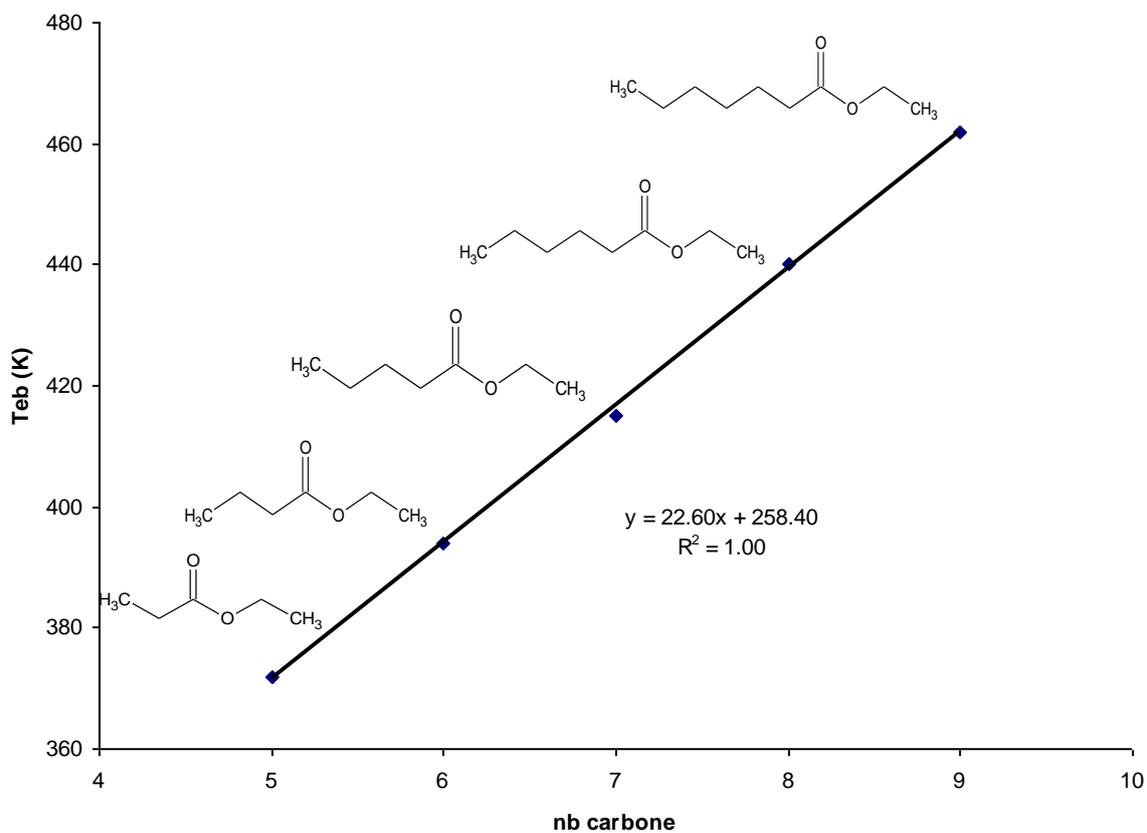


Figure 8 : Corrélation entre le nombre de carbone et la température (°K), pour 5 esters linéaires saturés.

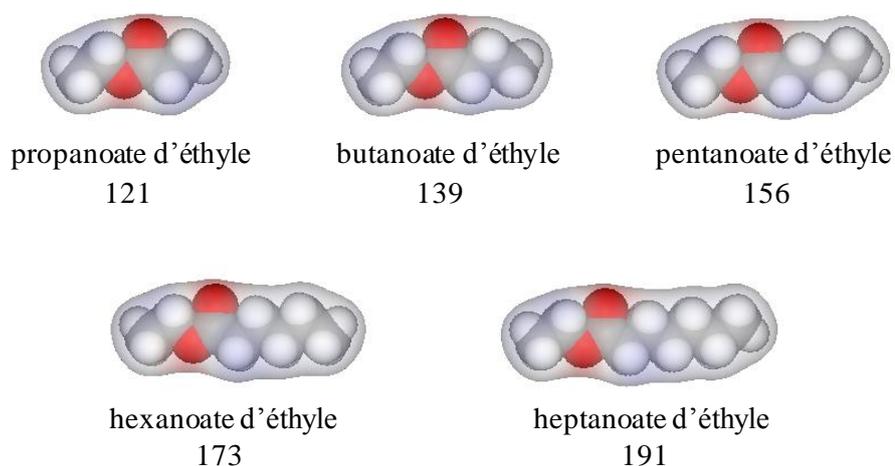


Figure 9: Surface (\AA^2) de 5 esters linéaires saturés.

Les forces de London dépendant de la surface et de la polarisabilité des molécules, il est intéressant d'observer cet effet sur les températures de changement de phase de molécules isomères et d'homologues insaturés.

Si on prend l'exemple du butanoate d'éthyle, de son isomère ramifié le 2-méthylpropanoate d'éthyle, et de l'homologue insaturé buténoate d'éthyle, on constate que la température d'ébullition de l'ester linéaire ($T_{\text{eb}}=121^\circ\text{C}$) est supérieure à celle de son isomère ramifié ($T_{\text{eb}}=110^\circ\text{C}$), et que l'homologue insaturé buténoate d'éthyle a la plus haute température d'ébullition pour ces trois esters ($T_{\text{eb}}=142^\circ\text{C}$, Figure 10) :

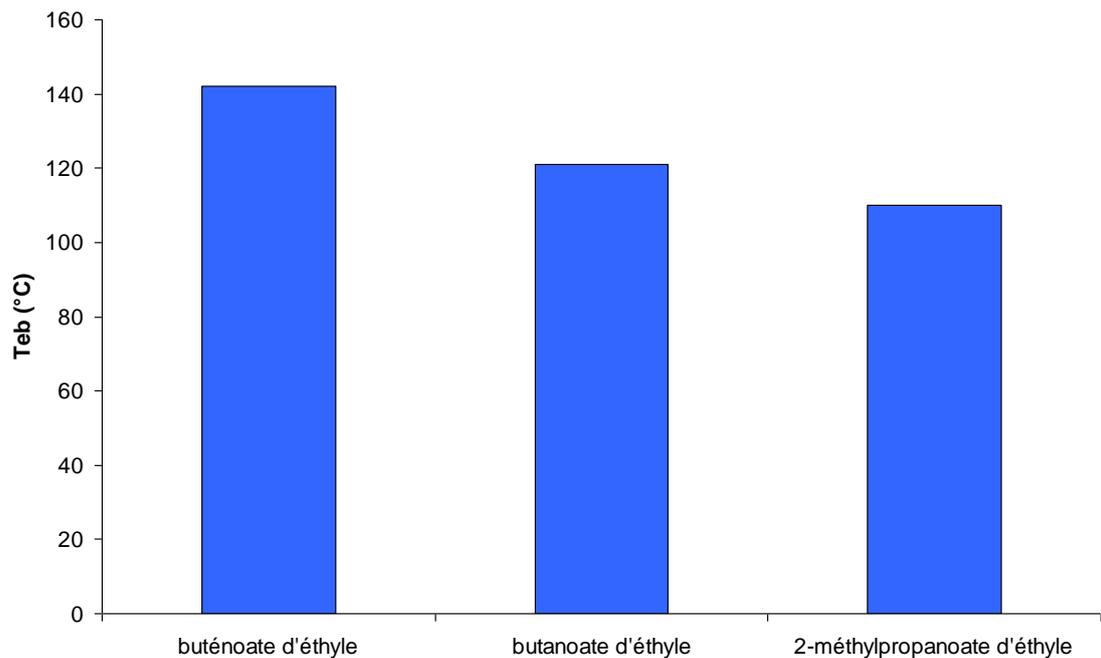


Figure 10: Températures d'ébullitions de trois esters : Butanoate d'éthyle (linéaire), buténoate d'éthyle (homologue insaturé) et 2-méthylpropanoate d'éthyle (isomère ramifié).

Les structures des composés sont représentées sur la Figure 11 et les valeurs des surfaces et polarisabilités des trois molécules sont reportées dans le Tableau 3.

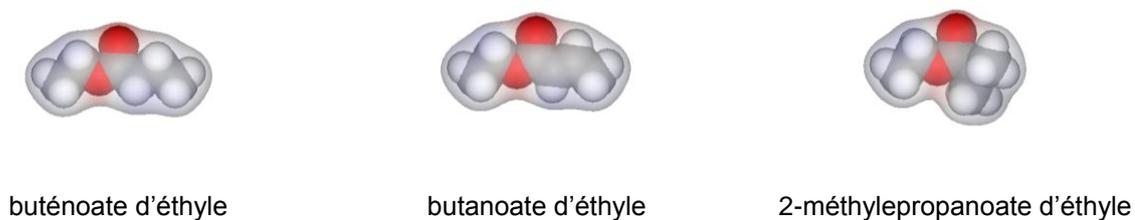


Figure 11 : Structures et surfaces du butanoate d'éthyle, buténoate d'éthyle (homologue insaturé) et 2-méthylpropanoate d'éthyle (isomère ramifié).

Tableau 3 : Valeurs de masse molaire, de polarisabilité et de surface calculées par le logiciel DS Viewer Pro pour le butanoate d'éthyle le buténoate d'éthyle et le 2-méthylpropanoate d'éthyle.

Molécule	Masse Molaire	T _{eb} (°C)	Polarisabilité	Surface (Å ²)
butanoate d'éthyle	116	121	4019	139
buténoate d'éthyle	114	142	4333	134
2-méthylpropanoate d'éthyle	116	110	4019	137

La différence de température d'ébullition entre le butanoate d'éthyle et le 2-méthylpropanoate d'éthyle peut s'expliquer par la différence de leurs surfaces : la surface de l'ester linéaire est plus grande que celle de l'isomère ramifié, ce qui explique le passage en phase vapeur à une température plus basse pour ce dernier, les interactions de type van der Waals étant liées à la surface des molécules. Par contre, la valeur de la surface n'explique pas que le buténoate d'éthyle ait la température d'ébullition la plus élevée alors que sa surface est la plus petite. Mais la présence des électrons π de la double liaison en augmentant la polarisabilité permet d'améliorer les interactions : cet ester est en effet celui pour lequel la polarisabilité est la plus élevée, alors que la valeur est la même pour le butanoate d'éthyle et le 2-méthylpropanoate d'éthyle.

Cet exemple rend compte des interactions de type London pour des molécules portant une même fonction chimique. Pour élargir à l'ensemble des interactions, on peut comparer des composés linéaires saturés et issus de 4 familles chimiques (esters, cétones, aldéhydes et alcools) pour 3 longueurs de chaîne (6, 7 et 8 carbones) (Figure 12).

Pour chaque longueur de chaîne, les esters ont la température d'ébullition la plus basse et les alcools ont les températures d'ébullition les plus élevées.

Le fait que les alcools aient les températures d'ébullition les plus élevées s'explique par les liaisons hydrogènes qu'ils peuvent mettre en jeu.

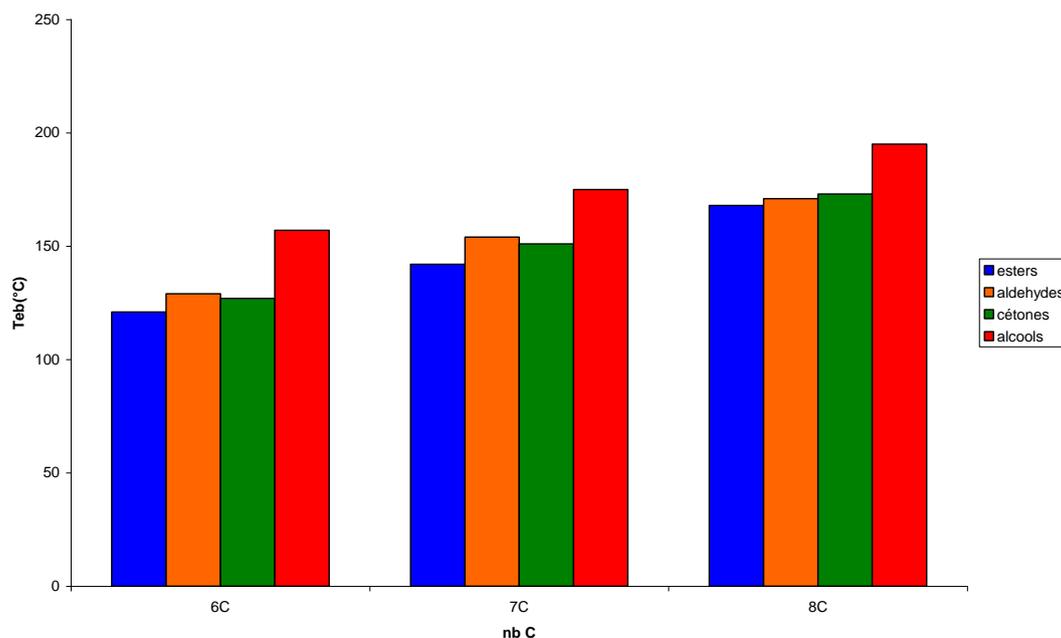


Figure 12 : Températures d'ébullition de 12 composés linéaires saturés à 6, 7 et 8 chaînons regroupant 3 esters (butanoate d'éthyle, pentanoate d'éthyle, et hexanoate d'éthyle), 3 aldéhydes (Hexanal, heptanal et octanal), 3 cétones (hexan-2-one, heptan-2-one et octan-2-one) et 3 alcools (hexan-1-ol, 1-heptan-1-ol et 1-octan-1-ol).

Les températures d'ébullition des cétones et des aldéhydes sont très proches pour une même longueur de chaîne. Toutefois, la hiérarchie entre les aldéhydes et les cétones varie selon le nombre de carbones de la chaîne : pour les chaînes à 6 et 7 carbones, les aldéhydes ont une température d'ébullition plus élevée que celle des cétones, alors que cet ordre est inversé pour les chaînes à 8 carbones. On peut aussi remarquer que les différences entre les températures d'ébullition des alcools et celles des molécules des trois autres familles diminuent avec l'augmentation du nombre de carbones de la chaîne, ce qui signifie que les interactions de van der Waals deviennent importantes par rapport aux liaisons hydrogène en termes de bilan énergétique.

1.1.1.2 Etat gazeux et état liquide

Nous ne présenterons pas ici les caractéristiques de l'état solide. L'état solide correspond à des associations intermoléculaires fortes qui ont pour conséquence une immobilisation des molécules à des positions dans l'espace. Les composés étudiés dans le cadre de notre travail n'étant pas solides dans les conditions de température et de pression utilisés, nous nous intéresserons uniquement aux états liquide et gazeux.

Etat liquide

Le liquide a un volume propre mais pas de forme propre. En effet, l'agitation thermique n'est pas en mesure d'écarter les molécules les unes des autres au point de supprimer totalement les interactions intermoléculaires (cas de l'état du gaz parfait) et il reste une cohésion qui assure un volume défini. Mais ces interactions sont plus faibles que dans l'état solide et ne peuvent pas empêcher les molécules de glisser les unes sur les autres : le liquide adopte donc la forme du récipient dans lequel il se trouve.

Etat gazeux

Nous nous limiterons ici au cas des gaz parfaits, pour lesquels on considère que les molécules sont indépendantes les unes des autres (la loi des gaz parfaits ne peut pas s'appliquer quand la pression est importante au point que le volume des molécules n'est plus négligeable devant le volume total occupé par le gaz). Les gaz parfaits n'ont ni forme ni volume défini, les molécules n'ayant aucune interaction entre elles.

La loi d'Avogadro sur les gaz parfaits relie la pression (P), le volume occupé par le gaz (V), le nombre de moles de gaz (n) et la température (T en K) :

$$P.V = n.R.T$$

Changement d'état

Le passage d'un état à un autre implique la mise en jeu d'une certaine quantité d'énergie. L'enthalpie de changement d'état, correspond à la quantité de chaleur nécessaire à un corps pour qu'il change d'état à température et pression constantes ; l'enthalpie de vaporisation est aussi appelée chaleur latente de vaporisation.

1.1.2 Equilibres

Dans le cadre de notre étude nous nous intéressons à l'équilibre physico-chimique qui régit le partage de composés d'arôme entre une phase vapeur et une matrice liquide, et rappelons ici les principes essentiels de ces équilibres.

1.1.2.1 Définitions

Système

On appelle système ce que renferme une partie de l'espace dans laquelle se trouve la matière étudiée. Cette partie ou cette portion peut être limitée par une paroi et le milieu extérieur n'intervient que dans les échanges avec le système.

Un système peut être :

Ouvert : échange de matière et d'énergie avec le milieu extérieur.

Fermé : échange d'énergie avec le milieu extérieur.

Isolé thermiquement : pas d'échange de chaleur avec l'extérieur (transformations adiabatiques).

Isolé : aucun échange avec le milieu extérieur.

Equilibre

C'est l'état d'un système chimique dont les variables intensives (température, pression, activités chimiques des réactifs et des produits) sont homogènes dans tout le système et restent constantes au cours du temps.

Phase

On désigne par le mot phase, toute portion homogène d'un système, séparée des autres par une surface définie. Un système homogène ne contient qu'une seule phase alors qu'un système hétérogène en contient plusieurs.

Fonctions et Variables d'état

Les fonctions d'état possèdent une propriété particulière : leurs variations ne dépendent pas de la nature de la transformation qui affecte le système. Elles dépendent uniquement des états final et initial du système à l'équilibre. C'est le cas de l'énergie interne.

Les variables d'état sont des paramètres utilisés pour définir l'état (d'équilibre) d'un système : pression, température, volume, quantité de matière, etc.

Grandeurs intensives et extensives

Un système se caractérise par des grandeurs macroscopiques intensives et extensives.

- **Grandeurs intensives**

Ce sont des grandeurs qui dépendent uniquement de l'état d'un système et non pas de la quantité de matière qui le constitue. Ces grandeurs ont la même valeur en tout point dans le système, à l'équilibre et ne sont pas additives.

On peut citer notamment, la pression, la température, la densité et la tension superficielle.

Dans un système non isolé, les grandeurs intensives à l'équilibre ont les mêmes valeurs que celle du milieu extérieur. Par ailleurs, si pour un système à l'équilibre les grandeurs intensives sont forcément uniformes, il peut y avoir des systèmes uniformes qui ne soient pas à l'équilibre. Aussi,

un système fermé dont les variables intensives ont les mêmes valeurs à l'intérieur et à l'extérieur peut encore évoluer s'il n'a pas atteint son équilibre chimique.

- **Grandeurs extensives**

Ce sont des grandeurs additives et proportionnelles à la quantité de matière comme l'énergie, le volume et la quantité de matière. Le système est isotherme lorsque la température est fixée, isobare lorsque la pression est fixée et isochore lorsque le volume est fixé.

1.1.2.2 Loi d'action de masse et activités

Cette loi a été établie en 1864 par C.Guldberg et P.Waage et rend compte par l'expression de la constante d'équilibre du fait que les concentrations des composés de départ et des composés finaux sont reliées par une expression dont la valeur est constante à une température et une pression donnée :

Pour la réaction $aA + bB \xrightleftharpoons{\quad} cC + dD$,

$$K(T, P) = \frac{(a_C)_{\text{éq}}^c \cdot (a_D)_{\text{éq}}^d}{(a_A)_{\text{éq}}^a \cdot (a_B)_{\text{éq}}^b}$$

Pour un système en équilibre chimique, les réactions en sens opposés se font avec des vitesses égales. Par conséquent, la composition du système ne change pas.

Les activités représentent la composition apparente et sont sans dimension.

$$a_n = \gamma_{z,n} \cdot z_n$$

$\gamma_{z,n}$ est le coefficient d'activité

z_n est une grandeur non dimensionnée reliée à la quantité de matière ou à la masse du constituant n.

On peut décrire la composition du système par des variables différentes : la pression partielle d'un gaz P_n , la molarité C_n et la fraction molaire X_n

Seule la fraction molaire x_n , indépendante de la masse totale du mélange, est sans dimension et :

$$x_n = \frac{n_n}{n_t} = \frac{n_n}{n_t} \quad n_t \text{ nombre total de moles dans le système}$$

et on peut directement relier a_n et x_n :

$$a_n = \gamma_{x,n} \cdot x_n$$

Dans les cas où l'on utilise une variable dimensionnée, il faut diviser par une valeur de référence de cette grandeur.

Ainsi on peut écrire :

$$a_{C,n} = \gamma_{C,n} \cdot \frac{C_n}{C_0} \quad C_0 = 1 \text{ mol l}^{-1}$$

$$a_{P,n} = \gamma_{P,n} \cdot \frac{P_n}{P^0} \quad P^0 = 1 \text{ atm}$$

Pour les gaz, le produit $\gamma_{P,n} \cdot P_n$ est appelé fugacité et $\gamma_{P,n}$, le coefficient de fugacité du constituant n ; pour les gaz parfait, $\gamma_{P,n} = 1$.

1.1.2.3 Variance

C'est le nombre de paramètres intensifs et indépendants qui caractérisent un état d'équilibre. En d'autres termes, c'est le nombre maximum de paramètres que l'on peut fixer librement sans rompre l'équilibre.

La variance est égale à la différence entre le nombre de paramètres (non indépendants) et le nombre de relations. Elle est définie par la règle de Gibbs :

$$v = n + 2 - \phi$$

où :

n est le nombre de constituants indépendants : $n = c - r$

c est le nombre de constituants.

r est le nombre de relations particulières.

2 correspond à la contribution de la pression et de la température.

ϕ est le nombre de phases.

Exemple de l'équilibre liquide-vapeur d'un mélange solvant A (eau) et composé B.

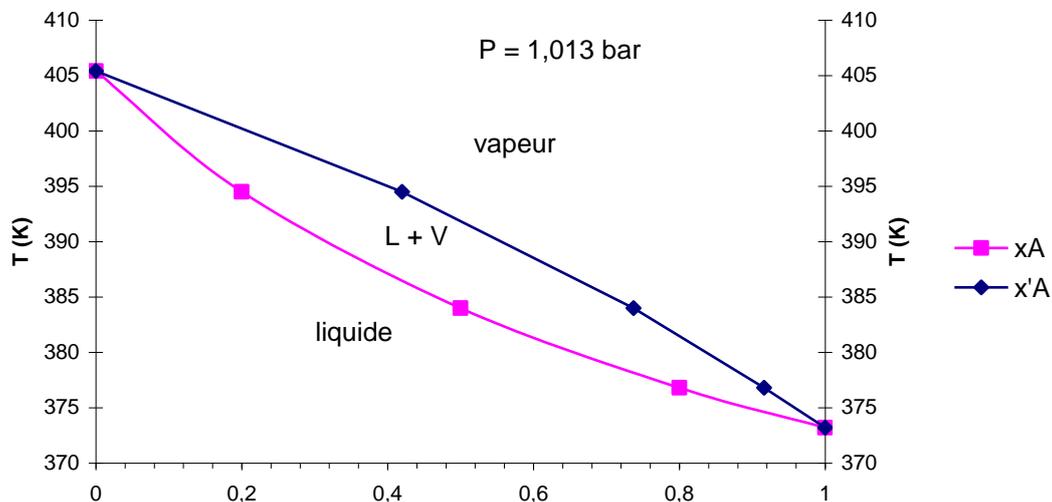


Figure 13 : Diagramme de phase liquide-vapeur d'un mélange binaire entre l'eau (A) et un composé B, à pression atmosphérique constante (isobare).

L'équilibre (Figure 13) comprend 2 constituants et la pression est constante ($P=1 \text{ atm}$).

À l'intérieure du domaine d'existence d'un état unique (phase liquide ou vapeur), la température et la fraction (molaire ou massique) sont deux variables indépendantes ; fixer la valeur de l'une ne détermine pas la valeur de l'autre. Dans ce cas, le système est formé d'une seule phase et est donc bivariant ($v = (2 - 0) + 1 - 1 = 2$).

A l'équilibre entre deux phases, le point représentant l'état du système se trouve entre les deux courbes. Si la valeur de l'une des variables est fixée, celle de l'autre est donc automatiquement déterminée. Il n'y a plus qu'une seule variable indépendante et le système est donc monovariant :

$$(v = (2 - 0) + 1 - 2 = 1).$$

1.1.3 Les mélanges et les solutions

On désigne par le terme mélange, toute phase gazeuse, liquide ou solide contenant plus d'une substance. Dans le cas où l'un des constituants du mélange est un solvant, les autres constituants sont appelés des solutés.

1.1.3.1 Composition

Les fractions molaires sont des grandeurs indépendantes de la masse totale du mélange.

Dans l'exemple d'un mélange de deux composés A et B, les fractions molaires de chacun des deux constituants s'exprime comme suit :

$$x_a = \frac{n_a}{n_a + n_b} = \frac{n_a}{n}, \quad x_b = \frac{n_b}{n_a + n_b} = 1 - x_a$$

1.1.3.2 Mélanges de gaz parfaits

Soit une enceinte renfermant trois composés A, B et C dont les quantités sont n_A , n_B et n_C . Le volume de l'enceinte est V , elle est à la température T et la pression totale est P .

L'équation des gaz parfaits s'écrit donc comme suit :

$$P V = (n_A + n_B + n_C) RT = nRT$$

Si A occupe le volume V avec la quantité n_A à la température T , la pression partielle P_A est égale à :

$$P_A \cdot V = n_A \cdot R \cdot T$$

et de même pour les autres constituants.

Si les trois constituants occupent le volume V à la même température T :

$$(P_A + P_B + P_C) \cdot V = (n_A + n_B + n_C) \cdot RT$$

$$P = \sum_{i=1}^n P_i \text{ et } P_i = x_i P_t$$

1.1.4 Potentiels chimiques

1.1.4.1 Les potentiels chimiques

Le potentiel chimique est égal à l'enthalpie libre molaire partielle :

$$\mu_i = \bar{G} = \left(\frac{\delta G}{\delta n_i} \right)_{T,P,n_{i \neq j}}$$

Prenons l'exemple d'un composé A_i présent dans deux phases (vapeur et liquide).

L'expression de son potentiel chimique à température et pression données pour une quantité de matière n , en fonction de l'activité s'écrit comme suit :

$$\mu_{i(T,P,composition)} = \mu_{i(T)}^{\circ} + RT \ln a_i$$

Avec :

a_i : activité du constituant A_i (grandeur sans dimension).

μ_i° : potentiel chimique standard de A_i à la température T .

1.1.5 Cas de l'équilibre liquide vapeur

Dans un système fermé, les molécules volatiles dissoutes dans un liquide se déplacent vers la phase vapeur jusqu'à atteindre un équilibre thermodynamique dans des conditions de température et pression données. A l'équilibre, la vitesse de passage dans le sens liquide-vapeur est égale à celle du passage dans le sens inverse, les concentrations des participants du système restent constantes dans chaque phase.

Lorsqu'un composé est présent dans plusieurs phases en équilibre, son potentiel chimique est le même quelque soit la phase considérée. Nous pouvons alors écrire :

$$\begin{aligned}\mu_{i(T,P,liq)} &= \mu_{i(T,P,vap)} \\ \mu_{i(T,P,liq)}^{\circ} + RT \ln a_{i(liq)} &= \mu_{i(T,P,vap)}^{\circ} + RT \ln a_{i(vap)} \\ \mu_{i(T,P,liq)}^{\circ} - \mu_{i(T,P,vap)}^{\circ} &= RT \ln a_{i(vap)} - RT \ln a_{i(liq)} \\ \Delta \mu_{i(T,P,liq-vap)}^{\circ} &= RT \ln \frac{a_{i(vap)}}{a_{i(liq)}}\end{aligned}$$

Sachant que la constante d'équilibre liquide-vapeur pour un composé i est le rapport entre son activité dans la phase vapeur et son activité dans la phase liquide, on arrive à l'équation suivante :

$$\Delta \mu_{i(T,P,liq-vap)}^{\circ} = RT \ln K$$

1.1.5.1 Solution infiniment diluée

Cas du soluté B : x_B négligeable.

$$\begin{aligned}\mu(B, T, l, x_B) &= \mu(B, T, g, p_B) \\ &= \mu^0(B, T, g, p^0) + RT \ln \frac{p_B}{p^0}\end{aligned}$$

La pression de vapeur saturante est K_B^H

$$p_B = x_B \gamma_B K_B^H$$

x_B tends vers 0 donc, γ_i tend vers 1, alors :

$$a_B = \gamma_B x_B = \frac{p_B}{K_B^H}$$

$$\begin{aligned}\mu(B, T, l, x_B) &= \mu^0(B, T, g, p^0) + RT \ln \frac{K_B^H \gamma_B x_B}{p^0} \\ \mu(B, T, l, x_B) &= \mu^0(B, T, g, p^0) + RT \ln \frac{K_B^H}{p^0} + RT \ln \gamma_B x_B \\ \mu(B, T, l, x_B) &= \mu^0(B, T, l) + RT \ln \gamma_B x_B\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\mu(B, T, l, x_B) &= \mu^0(B, T, l) + RT \ln a_B \\ \mu^0(B, T, l) &= \mu^0(B, T, g, p^0) + RT \ln \frac{K_B^H}{p^0}\end{aligned}$$

1.1.5.2 Solutions idéales et solutions réelles : Loi de Raoult et loi de Henry

Solution idéale : loi de Raoult

La formation du mélange est athermique ($\Delta H_{\text{mélange}} = 0$) et n'entraîne pas de variation de volume, et les interactions entre les constituants de même nature ne sont pas différentes des interactions entre constituants hétérogènes.

Dans le cas d'une solution idéale, les coefficients d'activité sont égaux à 1 :

$$\gamma_i \rightarrow 1 \quad a_{i(vap)} = \frac{P_i}{P^0} \quad \text{et} \quad a_{i(liq)} = \frac{C_i}{C^0}$$

Les potentiels chimiques dans les deux phases sont donc comme suit :

$$\mu_{(i,g,T,p_i)} = \mu_{(i,g,T,p^0)}^0 + RT \ln \frac{P_i}{P^0} \quad \text{et} \quad \mu_{(i,l,T,C_i)} = \mu_{(i,l,T,C^0)}^0 + RT \ln \frac{C_i}{C^0}$$

Les pressions des composés en phase vapeur suivent des lois linéaires en fonction de la composition de la phase liquide.

Solutions réelles : Loi de Henry

La formation du mélange entraîne un transfert thermique ($\Delta H_{\text{mélange}} \neq 0$) et une variation de volume. La pression au-dessus de la solution est différente des valeurs prévues par la loi de Raoult.

Les interactions entre les molécules semblables sont différentes des interactions entre molécules hétérogènes.

$$\gamma_i < 1 \quad a_{i(vap)} = \gamma_i \cdot \frac{P_i}{P^0} \quad \text{et} \quad a_{i(liq)} = \gamma_i \cdot \frac{C_i}{C^0}$$

Les potentiels chimiques dans les deux phases sont donc comme suit :

$$\mu_{(i,g,T,p_i)} = \mu_{(i,g,T,p^0)}^0 + RT \ln \gamma_i \cdot \frac{p_i}{p^0} \quad \text{et} \quad \mu_{(i,l,T,C_i)} = \mu_{(i,l,T,C^0)}^0 + RT \ln \gamma_i \cdot \frac{C_i}{C^0}$$

Il y a deux possibilités :

- Écart négatif par rapport à la loi de Raoult : la pression partielle de chacun des composés dans la phase vapeur en équilibre avec le mélange liquide est inférieure aux valeurs prévues par la loi de Raoult (Figure 14).

Ceci traduit une meilleure cohésion entre les molécules dans la phase liquide du mélange que pour chacun des composés purs, défavorisant le passage en phase vapeur.

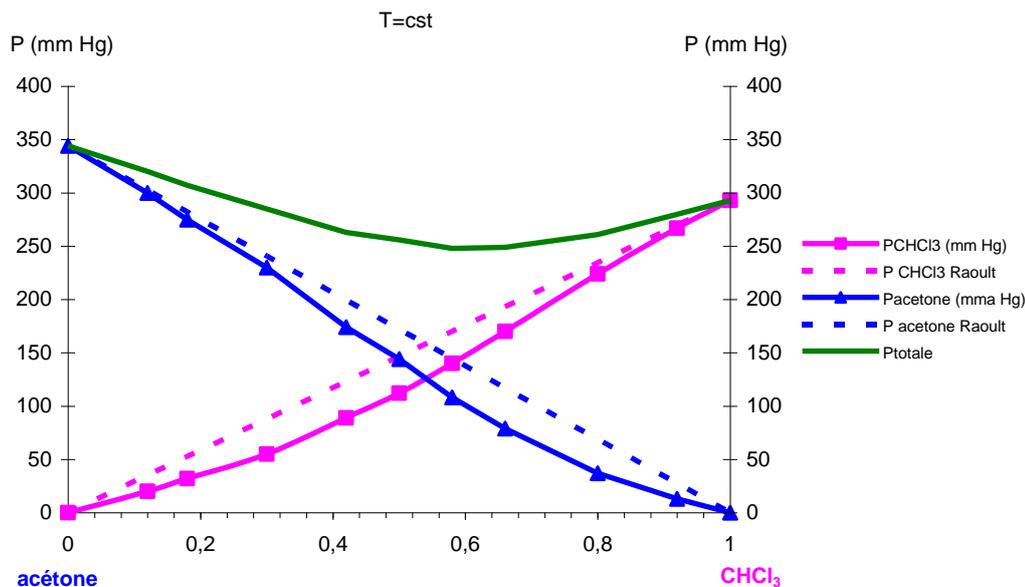


Figure 14: Valeurs des pressions au dessus d'un mélange acétone-chloroforme en fonction de sa composition.

- Écart positif par rapport à la loi de Raoult : la pression partielle de chacun des composés dans la phase vapeur en équilibre avec le mélange liquide est supérieure aux valeurs prévues par la loi de Raoult (Figure 15).

Dans ce cas, il y a une moins bonne cohésion entre les molécules dans la phase liquide qu'entre les molécules de chacun des deux liquides purs, favorisant ainsi le passage en phase vapeur.

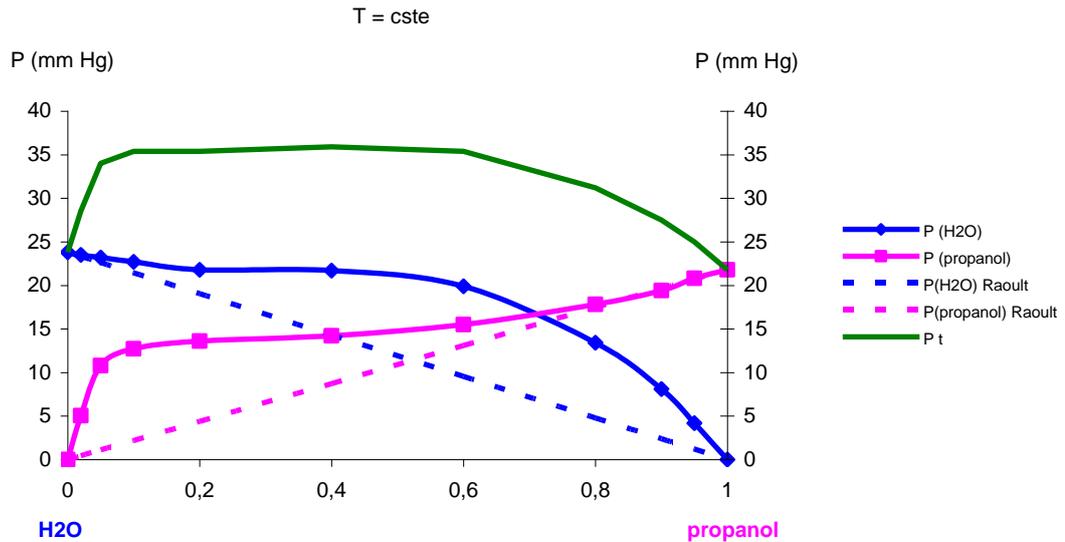


Figure 15 : Valeurs des pressions au dessus d'un mélange eau-propanol en fonction de sa composition.

1.1.5.3 Expression de la constante d'équilibre

Appliquons maintenant ces règles à l'étude des composés volatils que sont les molécules odorantes. K (loi d'action de masses) est une constante thermodynamique dont la valeur indique le sens de déplacement de l'équilibre libération/rétention des composés d'arôme.

Elle est égale au rapport d'activité entre les deux phases.

$$K_{lib} = \frac{a_G}{a_M}$$

La concentration dans la matrice liquide des composés d'arôme étudiés est d'environ 10^{-4} mol/l. On peut considérer que le système qui en résulte est constitué d'une phase liquide diluée se comportant comme une solution idéale (coefficients d'activité égaux à 1) en équilibre avec une phase gazeuse dont les constituants sont assimilables à des gaz parfait. Dans ces conditions les activités d'un composés dans les phases liquide et vapeur sont respectivement assimilables à la concentration du composé dans la phase liquide ramenée à la concentration de référence $C_0=1$ mol l^{-1} et à la pression partielle du composé ramenée à la pression de référence $P^0=1$ atm : $a_f=C_i/C_0$ et $a_G=P_G/P^0$.

La constante d'équilibre peut donc s'écrire :

$$K_{lib} = \frac{P/P^0}{C_M/C_0} \quad (C_0 = 1 \text{ mol.l}^{-1} \text{ et } P^0 = 1 \text{ atm})$$

La phase vapeur étant considérée gaz parfait, et l'équilibre étant isochore $V=cste$, donc $n/V=C_G$:

$$P = n/V RT \quad \rightarrow \quad P = C_G RT$$

$$R = 0,083145 \text{ atm}\cdot\text{l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$$

Le coefficient de partage apparaît avec la relation suivante :

$$K_{lib} = \frac{C_G}{C_M} \cdot RT \cdot \frac{C_0}{P^0}$$

Les termes C_0 et P^0 étant égaux à 1, l'expression de la constante de libération devient :

$$K_{lib} = \frac{C_G}{C_M} \cdot R \cdot T$$

Cette constante d'équilibre renseigne sur le sens de déplacement de l'équilibre rétention/libération de la façon suivante :

$K_{lib} > 1$, l'équilibre est déplacé dans le sens de la libération en phase vapeur.

$K_{lib} < 1$, l'équilibre est déplacé dans le sens de la rétention dans le liquide.

$K_{lib} = 1$, même activité dans les deux phases.

Déplacement de l'équilibre liquide-vapeur

- **Pression de vapeur saturante**

Si l'on introduit un corps liquide à la température T dans un récipient dont il fait le dixième en volume, toutes les molécules n'auront pas la même énergie de translation. Certaines auront une énergie cinétique supérieure à l'énergie de cohésion due aux forces intermoléculaires. Ainsi, elles peuvent s'échapper du liquide si elles s'approchent de la surface.

Une phase vapeur est alors créée dans l'espace initialement vide situé au dessus de la phase liquide.

Le système atteint un équilibre dynamique lorsqu'à une température donnée, le nombre de molécules qui quittent la phase liquide est égal au nombre de molécules qui y rentrent.

La pression au dessus du liquide qui caractérise cet équilibre est appelée pression de vapeur saturante.

- **Influence de la nature de la substance sur la pression de vapeur saturante**

A une température donnée, la pression de vapeur saturante dépend de la nature du composé liquide car les forces intermoléculaires résultent de la structure de la molécule : plus les forces intermoléculaires sont importantes dans le liquide et plus la température à laquelle la pression de vapeur saturante réalisée est élevée.

Si on introduit une substance pure dans un cylindre fermé par un piston mobile avec paroi diathermane (qui laisse passer la chaleur), et si on augmente la pression en diminuant le volume du système à température fixe, le nombre de chocs de molécules gazeuses augmente par unité de temps. Cette perturbation ainsi créée va favoriser le passage de molécules gazeuses dans la phase liquide. Le système évoluera donc dans le sens gaz \rightarrow liquide. La pression est alors ramenée à la valeur initiale (pression de vapeur saturante) pour laquelle les deux vitesses de passages des molécules d'une phase à une autre sont égales, c'est-à-dire, le rétablissement de l'équilibre. Lors de la transformation, il y a un dégagement de chaleur vers l'extérieur car il y a une diminution de l'énergie potentielle des molécules quand elles se rapprochent du fait des forces d'interaction intermoléculaires.

En revanche, si on augmente la température en fournissant de la chaleur tout en restant à pression constante, l'énergie de translation des molécules qu'elles soient gazeuses ou liquides augmente et le système évolue cette fois dans le sens liquide \rightarrow gaz. Ainsi, pour maintenir la température constante, le système tend à absorber l'énergie fournie sous forme de chaleur.

Donc, lorsqu'on introduit, à pression atmosphérique, dans un récipient fermé et de volume constant une certaine quantité d'un liquide contenant un soluté volatil « X », en maintenant une température constante, l'équilibre va s'établir par passage des molécules volatiles dans la phase vapeur jusqu'à ce que la pression partielle atteigne la valeur de pression de vapeur saturante $p_X = x_{ivap} \cdot p_{X-sat}$ (x_{ivap} fraction molaire dans la phase vapeur du composé X, p_{X-sat} : pression de vapeur saturante du composé pur). L'équilibre étant isochore et isotherme, la pression va donc augmenter dans la phase vapeur. Toutefois, si les molécules X sont très diluées dans la phase liquide, cette augmentation sera négligeable devant la pression totale initiale, et on peut considérer que la pression totale dans la phase vapeur reste égale à la pression atmosphérique.

1.2 Gel laitier : yaourt

La matrice alimentaire modèle que nous avons retenue pour notre étude est un gel laitier sans matière grasse. Dans les yaourts du commerce, l'absence de matière grasse peut être compensée par l'ajout de pectine LM (low methoxy) : ce polysaccharide est traditionnellement utilisé dans le secteur des produits laitiers comme les yaourts et les crèmes dessert pour re-texturer les produits à 0% MG.

Nous présentons ci-dessous tout d'abord les caractéristiques générales des gels laitiers obtenus par voie fermentaire ou par voie chimique. Puis nous présentons une synthèse non exhaustive sur l'effet de la nature des ingrédients de matrices alimentaires sur la libération/rétention des composés d'arôme.

1.2.1 Définition

« La dénomination yaourt, ou yoghourt, est réservée au lait fermenté obtenu, selon les usages loyaux et constants, par le développement des seules bactéries lactiques, *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*, qui doivent êtreensemencées simultanément et se trouver vivantes dans le produit mis en vente. La quantité d'acide lactique libre ne doit pas être inférieure à 0,8 g/100g lors de la vente au consommateur » (Codex alimentarius – norme A-11 (a) 1975).

On distingue deux types de yaourts : les yaourts fermes (traditionnels) et les yaourts à caillé brassé.

1.2.1.1 Les yaourts fermes (traditionnels)

Ils sont obtenus par une fermentation qui a lieu directement dans les pots de conditionnement. Ces yaourts sont généralement naturels, sucrés, ou aromatisés. Pour les yaourts fermes aromatisés, l'arôme est introduit dans le pot de conditionnement avec le lait et le ferment.

1.2.1.2 Les yaourts à caillé brassé

Après la fermentation en cuve, le caillé est brassé. Ce brassage se réalise soit par agitation mécanique (agitateur à hélice), soit par lamellation (passage du gel à travers un filtre) ou encore par homogénéisation sous pression. Ce sont des yaourts qui sont généralement naturels, à la pulpe de fruits, ou contenant des morceaux de fruits.

Dans le cas des yaourts brassés sans matière grasse, les agents de texture sont incorporés par l'intermédiaire de préparations de fruit aromatisées. Ainsi, la préparation de fruit et le yaourt sont mélangés ensemble.

1.2.2 Composition et structure des protéines lactières

Les protéines contenues dans le lait sont : les caséines (α -S1, α -S2, β , γ et κ) et les protéines du lactosérum, WP (Whey Proteins) formées par les α -lactalbumine, β -lactoglobuline, sérum albumine bovine, (BSA : Bovin Serum Albumin), immunoglobulines (A, D, E, G et M), lactoferrine et protéose peptone.

Le yaourt est obtenu en acidifiant du lait par l'activité fermentaire de bactéries lactiques. Au niveau moléculaire, le yaourt se présente comme un agglomérat de protéines emprisonnant de l'eau. Le lait contient deux grands types de protéines : les caséines qui sont en suspension et les albumines solubles qui sont présentes dans le lactosérum. La nature et la quantité des protéines contenues dans le lait sont déterminantes dans la formation du yaourt (3).

1.2.3 Gélification du lait par voie acide

1.2.3.1 Voie fermentaire

La fermentation du lactose du lait par les bactéries lactiques engendre la production d'acide lactique qui diminue ainsi le pH du milieu. Initialement le pH du lait se trouve entre 6,6 à 6,8 et il y a un équilibre entre les forces de répulsion et d'attraction entre micelles de caséines. Ces forces doivent leur existence en partie à la charge négative des caséines, et empêchent leur agrégation et les maintient en suspension. Pendant la fermentation, le pH du lait diminue jusqu'à atteindre le pH isoélectrique des micelles de caséines (pH isoélectrique = 4,6), qui vont s'agréger entre elles en emprisonnant de l'eau. Le réseau protéique du yaourt est alors formé.

1.2.3.2 Voie chimique

La gélification par glucono-delta-lactone (GDL) permet d'obtenir un gel laitier dont la structure est comparable à celle d'un yaourt obtenu par voie fermentaire. L'hydrolyse lente de la GDL qui provoque la libération d'acide gluconique engendre une diminution progressive du pH. La cinétique d'acidification est par ailleurs comparable à celle engendrer par la production d'acide lactique au cours de la fermentation du lactose du lait par les bactéries. Cette « gélification chimique » présente l'avantage de ne pas engendrée de composés volatils, et d'hexopolysaccharides bactériens contrairement à la fermentation bactérienne (4). De plus la gélification par GDL est plus répétable et la structure du gel obtenu est plus homogène (5).

1.2.4 Yaourt sans matière grasse

Les propriétés physico-chimiques d'un yaourt sans matière grasse sont très influencées par la teneur et le rapport entre protéines du lactosérum et les caséines. D'après Aguilera et Kinsella (1991) (6) le réseau de protéines sans matière grasse forme une structure en « collier de perles » de micelles de caséines. Modler et Kalab (1983) (7) ont montré que les gels de lait acidifié sans

matière grasse ayant un taux plus important de protéines de lactosérum étaient plus tendres et sujets à la synérèse par rapport à ceux obtenus avec une teneur plus forte en caséines. La formation du réseau protéique dans un yaourt sans matière grasse est conditionnée par une bonne gélification qui requiert la présence d'une quantité minimale de caséines.

1.2.5 Substitution des matières grasses par des épaississants

Plusieurs types de polysaccharides sont utilisés pour substituer la matière grasse dans les gels laitiers dits maigres : amidon, carraghénane et pectine pour les principaux.

1.2.6 Interactions protéines laitières/polysaccharides

L'introduction d'agents de texture pour substituer la matière grasse, entraîne des phénomènes d'interaction-floculation avec les protéines laitières à l'origine d'un renforcement du réseau. Il est également observé un phénomène déplétion-floculation à l'origine d'une séparation de phase.

Lorsque des polysaccharides sont mis en contact de protéines laitières dans un milieu aqueux, trois comportements peuvent être observés (8, 9):

- *Une incompatibilité* : elle provoque une séparation de phase,
- *Une co-solubilité* : répartition des protéines et des polysaccharides de manière homogène dans le produit sans qu'ils n'interagissent.
- *Une association/agrégation* : interaction entre les protéines et les polysaccharides, rendue possible par les conditions physico-chimiques du milieu. Ces interactions peuvent être associatives ou ségréгатives selon que l'enthalpie soit plus favorable (associatives) ou moins favorable (ségréгатives) que les interactions homotypiques (10).

Les interactions associatives se produisent notamment par des interactions électrostatiques entre les polyanions ou les polycations et peuvent conduire à une précipitation ou à la formation de réseaux de gels ou à des complexes solubles. Cela dépend de certains facteurs comme l'environnement ionique ou la concentration absolue ou relative des deux polymères.

Les interactions ségréгатives sont plus communes. À de fortes concentrations, elles peuvent conduire à une séparation en deux phases co-existantes où chacun des deux polymères est confiné dans une phase.

Pour avoir un aperçu des interactions entre protéines laitières et polysaccharides, nous avons fait une synthèse qui répertorie les études de la littérature par polysaccharide en choisissant les plus utilisés, à savoir l'amidon, les carraghénanes et la pectine. Nous allons tout d'abord présenter une brève description des structures des différents acteurs de ces interactions.

1.2.6.1 Protéines

Albumine sérique bovine

Les albumines (du latin *albus*, blanc) sont des protéines solubles dans l'eau pure, moins dans l'eau salée. Leur poids moléculaire est d'environ 65000 g/mol, elles sont composées d'environ 580 acides aminés et ne contiennent pas de glucides et coagulent aux alentours de 70 °C. La lactalbumine est une protéine du lait qui fait partie des albumines.

Caséines

Les caséines sont les protéines majeures du lait. Leur structure primaire est connue pour la plupart des variants génétiques de κ -caséines, et les plus représentées dans le lait sont les caséines α_1 , α_2 , β , γ et κ (ou kappa).

Toutes les caséines présentent un caractère similaire amphiphile, la chaîne polypeptidique pliée avec les chaînes latérales polaires enfouies à l'intérieur. L'une des plus étudiées est la caséine kappa, qui permet le maintien à l'état liquide du lait grâce à la formation de micelles. La dénaturation de cette protéine par acidification entraîne une déstructuration des micelles : le lait caille en rejetant de l'eau et formant un gel.

β -lactoglobuline

Parmi les différentes protéines dans les aliments, la β -lactoglobuline est l'une des protéines du lait les mieux caractérisée et étudiée. La β -lactoglobuline appartient à la super-famille des lipocalines(11). La structure commune des lipocalines est connue depuis plusieurs années(12). La chaîne est repliée en 8 feuillets β antiparallèles, formant un tonneau β qui constitue le cœur de la protéine, flanqué d'une hélice α à trois tours.

1.2.6.2 Polyosides

Carraghénanes

Les carraghénanes sont de grandes molécules hautement flexibles qui s'enroulent en formant des structures hélicoïdales. Il existe trois sortes de carraghénanes :

- les κ -carraghénanes, qui donnent des gels forts et rigides avec les ions potassium, et qui interagissent avec des protéines de lait,
- les ι -carraghénanes, qui donnent des gels faibles avec les ions calcium,
- les λ -carraghénanes, qui ne gélifient pas et sont utilisés pour épaissir les produits laitiers.

Amidons

L'amidon provient des organes de réserves de nombreuses plantes comme les graines de céréale (maïs et blé), les racines, les tubercules et les rhizomes (pomme de terre et manioc), ainsi que les fruits. C'est un mélange de deux polysaccharides : l'amylose et l'amylopectine, qui sont tous les deux des enchaînements de D-glucose en α (1-4). Le ratio entre l'amylose et l'amylopectine dépend de l'origine végétale de l'amidon.

L'amylopectine est une molécule ramifiée en α (1-6) de masse molaire importante (1 000 000 à 100 000 000 Dalton) avec de longues branches.

L'amylose est peu ramifié avec de courtes branches, sa masse molaire est plus faible, comprise entre 10 000 et 1 000 000 Dalton. L'amylose n'est pas linéaire mais organisé en hélice α , chaque tour étant composé de 8 résidus de sucre. L'amylose peut établir des liaisons fortes avec de petites molécules par formation de complexes. Lorsque l'amylose ne forme pas de complexe, il est sous la forme de double hélice (type-B) (13).

Pectines

Les pectines sont des polymères de polysaccharides acides et sont composées d'une chaîne principale d'acide uronique entre lesquels s'intercalent des molécules de rhamnose. Ce type de liaison entre les molécules d'acide uronique et de rhamnose forme des coudes et la macromolécule de pectine ressemble à un zig-zag. Il existe de plus des ramifications au niveau des acides uroniques comme au niveau du rhamnose par des molécules telles que galactane, arabinane etc.), et cet agencement donne des propriétés particulières aux pectines. Les pectines sont donc des molécules complexes et l'on doit plutôt parler « des pectines » que de « la pectine ».

Les fonctions carboxyles que possèdent les molécules d'acide uroniques confèrent aux pectines la capacité d'échanger des ions. Ces fonctions acides peuvent être estérifiées et selon la proportion de monomères méthylés ou non, la chaîne est plus ou moins acide. Une forte proportion de fonction carboxyle dans un pH alcalin favorise la cohésion des molécules de pectines entre-elles. Des chaînes peuvent ainsi se lier et les pectines forment alors un gel. De même qu'une augmentation de la méthylation couplée à une forte acidité favorise le relâchement de la pectine.

1.2.6.3 Interactions protéines lactières et amidon

Selon Verbeke (2006)(14), il n'y a pas d'interaction entre l'amidon et les protéines lactière. Cependant, par effet d'exclusion, la présence de l'amidon favorise la gélification d'autres agents texturant en accentuant leur concentration car l'amidon favorise la diminution de la synérèse en emprisonnant l'eau dans ses granules (14, 15).

1.2.6.4 Interactions protéines laitières et carraghénanes

Les carraghénanes sont des polysaccharides linéaires extraits d'algues rouges et constitués de plus de 1000 résidus de molécule de galactose plus ou moins substitués. La chaîne est formée de sous-unités de carrabioses qui sont constitués de deux galactoses liés par une liaison β (1-4). Ces sous-unités sont liées entre elles par des liaisons α (1-3). Par ailleurs, les galactoses peuvent être porteurs de groupes sulfates donnant aux carraghénanes un caractère acide. Selon le nombre de groupes sulfates, on distingue trois types de carraghénane : λ , ι et κ carraghénane, respectivement avec un, deux et trois groupes sulfates (16).

Les groupes sulfates donnent plus de sensibilité vis-à-vis de la structure et des groupes fonctionnels des petites molécules telles que les composés d'arôme et des macromolécules dont les protéines (17).

Les carraghénanes peuvent s'associer avec les protéines laitières comme les caséines (14, 15, 18-20) ou les protéines du lactosérum (WP) (21, 22).

Selon Weinbreck *et al.* (22) l'association des carraghénanes avec les WP est rendue possible par des interactions électrostatiques. Elle se manifeste par la présence de complexes solubles ou insolubles dont la formation dépend de plusieurs paramètres tels que le pH, la force ionique et la stœchiométrie.

La nature de ces interactions a d'ailleurs été proposées par Galazka (1999) (23, 24) et par Baeza (2002) (21), respectivement pour la BSA et la β -lactoglobuline. Harrington (2009) (10) montrant que l'association des κ -carraghénanes avec les protéines isolées du sérum du lait (WPI) est due à la gélification réversible des κ -carraghénanes dans les pores du réseau des WPI conduisant à une structure continue de co-gel.

Verbeken (2006) (14), a mis en évidence l'association entre les carraghénanes et les micelles de κ -caséine par le biais d'interactions électrostatiques entre les charges négatives des groupes sulfates des carraghénanes et la région des κ -caséines chargée positivement (15, 18, 19). Cela est d'autant plus vrai pour les ι -carraghénanes qui ont de plus hauts degrés of sulfatation et de densité de charge que les κ -carraghénanes (20). Selon Verbeken *et al.* (14), ces interactions ont pour impact de diminuer la concentration de carraghénanes nécessaires à la gélification et d'augmenter la force ainsi que les modules élastique et complexe du gel.

D'autres auteurs (25, 26) proposent une autre théorie selon laquelle, l'association entre les carraghénanes et les caséines se fait grâce à la formation d'un gel faible de κ -carraghénane qui emprisonne les micelles de caséines.

1.2.6.5 Interactions protéines laitières et pectines

Nous présentons plus particulièrement les pectines car c'est ce texturant que nous avons retenu pour la suite de notre étude sur la base de résultats montrant son rôle particulier dans la rétention de certains composés d'arôme (2, 27).

Les pectines proviennent majoritairement de l'écorce de citron ou du marc de pomme (28, 29). Elles sont formées par un enchaînement d'acide galacturonique lié en $\alpha(1-4)$ et possèdent un poids moléculaire moyen de 1.10^5 daltons. Des molécules de rhamnose viennent aléatoirement s'intercaler entre les chaînons d'acide galacturonique.

Les pectines sont caractérisées par leur degré d'estérification (DE) qui augmente avec le taux de fonction méthoxyle ($O-CH_3$).

On peut alors distinguer trois types de pectines : hautement méthoxylées ($DE > 50 =$ HM pour High Methoxy Pectin), faiblement méthoxylées ($DE < 50 =$ LMP pour Low Methoxy Pectin) et faiblement méthoxylées et faiblement amidées (LMA pour Low Amidated et low methoxyl Pectin).

La transformation de la pectine HM en pectine LM est possible par voie enzymatique en utilisant des méthylesterases (30).

Pour obtenir un gel, toutes les pectines doivent subir un traitement thermique dans un milieu aqueux. La gélification de ces pectines se produit pendant l'étape de refroidissement. Les gels de pectine LM sont thermoréversibles contrairement aux gels de pectine HM.

Plusieurs facteurs peuvent déterminer la gélification des pectines : pH, DE, DA, sucres, calcium et autres solutés (31). Les pectines HM gélifient en présence d'une forte concentration en sucres (obtention d'une matière sèche élevée) et d'un $pH \leq 3,5$. La présence d'une faible proportion d'eau favorise les interactions hydrophobes et le pH acide permet de protoner les groupements COO^- des acides galacturoniques. Ces deux facteurs favorisent l'association des chaînes de pectines qui peuvent former un gel.

Les pectines LM gélifient en présence de calcium à un pH faible pouvant varier de 3,5 et 4,5. Les ions divalents sont piégés entre les chaînes de pectines conduisant ainsi à la formation d'un gel.

Les pectines LMA gélifient selon le même processus que pour les pectines LM, mais à une température plus élevée. L'amidation des chaînons d'acides galacturoniques facilite le contrôle de la gélification en présence de calcium.

Plusieurs travaux ont mis en évidence l'existence d'interactions entre la pectine et les protéines laitières (32-34). Ye (2008) (35) a expliqué la formation de complexes entre les protéines laitières

et la pectine par des interactions électrostatiques. Ces complexes peuvent être solubles ou conduire à une séparation de phase. Par ailleurs d'après Zaleska (2000) (36), des interactions de type liaison hydrogène entre le groupe OH de la fonction carboxyle de la pectine et le groupe NH des protéines seraient à l'origine de la formation de ces complexes.

Parmi les protéines lactières impliquées dans les interactions avec les pectines, les plus souvent citées sont les protéines du sérum du lait (whey proteins, WP) (37-39), mais les caséines interagissent également (40). Le pH, la température et la force ionique jouent un rôle important dans la stabilité des complexes formés (41, 42).

Matia-Merino, Lau *et al.* (2004) (43) ont étudié l'impact de la pectine LMA sur des gels de caséines en présence ou en absence de calcium. Les gels ont été obtenus par acidification chimique avec la GDL. L'analyse du module élastique (G') effectuée pendant la gélification montre qu'en absence de Ca^{2+} , le temps de gélification diminue pour des concentrations en LMA $\leq 0,05\%$ (m:m) et la gélification est inhibée pour des concentrations en LMA $\geq 0,8\%$ (m:m). Ainsi, l'ajout de Ca^{2+} dans le milieu, modifie les mécanismes de gélification et augmente la fermeté des gels. Par conséquent, la présence de calcium est déterminante dans les interactions caséinates-LMA.

Les pectines LMA peuvent donc se lier aux caséines et consolider la structure des gels laitiers.

La stabilité du gel dépend de trois facteurs : le pH, la teneur en pectine LMA et la quantité de calcium présente.

Les interactions avec les caséines sont de nature électrostatique (44). Les interactions avec les WP peuvent avoir lieu avant le traitement thermique (45) et la pectine a pour effet de réduire le poids moléculaire des agrégats de WP.

Ayant un nombre de carboxyles plus important, la pectine LM peut former des complexes avec la β -lactoglobuline (46), notamment avec la zone d'acides aminés 76-83, 132-148, 41-60, et 1-14 (47). La nature des interactions mises en jeu serait électrostatique (48, 49) ou de type liaison hydrogène (49).

La pectine peut également former des complexes avec la BSA en mettant en jeu de fortes interactions électrostatiques (50).

1.3 Effet de la nature des ingrédients sur la libération/rétention des composés d'arôme

Les différentes classes d'ingrédients entrant dans la composition des aliments ont été étudiées vis-à-vis de leur capacité à interagir avec les composés d'arôme afin de comprendre l'impact de ces derniers sur la perception de la saveur des aliments.

Dans le secteur des produits laitiers, les principaux ingrédients entrant en jeu sont d'une part les constituants du lait : l'eau, les protéines (caséines et lactoglobulines), les triglycérides, et d'autre part les différents ingrédients et additifs utilisés pour sucrer, aromatiser, colorer et texturer les produits. Nous présentons ci-dessous les effets des constituants du modèle d'aliment utilisé pour notre étude à savoir : un gel laitier sans matière grasse, additionné de texturant comme substituant à la matière grasse.

1.3.1 Interaction protéines / composés d'arôme

La complexité de la structure des protéines est telle que celles-ci peuvent mettre en jeu différents types d'interactions qui dépendent des conditions du milieu (pH, température, force ionique, etc.) (51, 52). L'intensité de ces interactions dépend de l'état conformationnel de la protéine, conditionné par le milieu et par la nature du composé d'arôme (53).

Dans la plupart des cas, les interactions entre les protéines et les composés d'arôme sont réversibles, ce sont de type hydrophobe ou des liaisons hydrogènes (54). Cependant, il existe également des interactions irréversibles car covalentes notamment entre les aldéhydes et les résidus NH disponibles. Ainsi la fixation non réversible du (E) hex-2-énal sur des protéines lactiques a été mise en évidence (55, 56).

Parmi les protéines étudiées en milieu modèle, les protéines lactiques : caséines, caséinates, BSA et, lactoglobulines ont fait l'objet de nombreux travaux. Ces travaux ont révélé que les protéines du lactosérum, et en particulier la β -lactoglobuline (54, 57), jouent un rôle plus important vis-à-vis de la libération de la saveur que les caséines (58).

Les études reportées dans la littérature ont traité la question de deux manières :

La première consiste à prendre en compte l'effet de toutes les protéines lactiques comme dans les travaux de Meynier (2004) (55) cités ci-dessus ainsi que ceux de Kuhn (2008) (59) et ceux de Hansen (1997) (60).

Kuhn (2008) a remarqué que la liaison entre des protéines du lactosérum (WPI : Whey Proteins Isolated) avec certains composés d'arôme (2-nonanone, 1-nonanal et trans-2-nonenal) diminuent dans l'ordre trans-2-nonenal > 1-nonanal > 2-nonanone. Selon l'auteur, la différence de liaison peut s'expliquer par des interactions hydrophobes avec la 2-nonanone et par des liaisons

covalentes avec le 1-nonanal, et surtout avec trans-2-nonanal. Il a également montré que l'action de la température ou de la pression sur les WP fait que les interactions de type hydrophobe (avec la cétone) s'affaiblissent alors que les liaisons covalentes se renforcent.

Selon Kopjar *et al* (2010) (61), la rétention des composés d'arôme dans les yaourts contenant des lipides et des protéines induisent une plus grande rétention des composés d'arôme que dans des gels modèles. Hansen (1997) (60) a montré que les protéines laitières provoquent la diminution de l'intensité perçue pour la vanilline, le benzaldéhyde et le D-limonène. Il a également montré que la rétention des méthyl-cétones avec les protéines laitières est inversement proportionnelle à la taille du ligand.

La seconde manière de traiter la question met l'accent sur une protéine donnée. Afin de développer cette partie, les travaux de la littérature concernant les protéines les plus importantes (β -lactoglobuline, caséine et albumine sérique bovine) seront abordés séparément.

1.3.1.1 L'Albumine sérique bovine

L'albumine sérique bovine (bovine serum albumin, BSA) se lie aux composés carbonylés avec une grande affinité induisant un changement conformationnel pour cette protéine (62). La réduction chimique des ponts disulfure réduit l'affinité pour les composés carbonylés.

Selon Guichard (2006) (54), la BSA et les protéines de soja interagissent de la même façon avec les composés d'arôme. Contrairement à la β -lactoglobuline, les interactions qu'elles mettent en jeu sont faibles et non spécifiques, et elles ne dépendent pas du pH et de la température.

Damodaram (1980) (62) a montré que l'affinité des cétones pour la BSA diminue avec la longueur de la chaîne carbonée et que la température n'a pas d'influence significative sur les liaisons. Il en a donc conclu que les liaisons sont de nature hydrophobe.

Le nonanal a plus d'affinité avec la BSA que la 2-nonanone car pour cette dernière, la position de la fonction carbonyle fait apparaître une gêne stérique qui atténue les interactions hydrophobes (62). Selon l'auteur, la BSA aurait entre 5 sites de liaison avec la 2-heptanone et 6 sites de liaison avec la 2-nonanone. L'addition de la 2-nonanone conduit à une conformation où les sites hydrophobes se replient vers l'intérieur de la protéine.

L'existence d'interactions entre la 2-nonanone et la BSA dans une solution a été confirmée par Kuhn 2007 (58) dans une solution de protéines isolées du lactosérum (WPI). La BSA peut également mettre en jeu des liaisons covalentes. En effet, La vanilline se lie d'une façon covalente avec la BSA native par deux sites de liaison (63). Par ailleurs, la dénaturation de la BSA par voie acide et thermique agit négativement sur la liaison entre la vanilline et la BSA.

Tan et Siebert 2008 (64) ont étudié les interactions entre la BSA et les composés d'arôme de 4 classes chimiques (alcools, esters, aldéhydes, et cétones) en solution aqueuse. Les résultats obtenus indiquent des comportements différents selon la famille chimique des composés d'arôme : les alcools ne se lient pas d'une façon significative à la BSA, les interactions avec les esters sont d'autant plus fortes que le nombre de carbone et la température d'ébullition sont importants. La rétention des aldéhydes augmente avec le nombre de carbone et la température d'ébullition. La rétention des cétones augmente avec le nombre de carbone, la longueur de la chaîne carbonée et le degré de ramification.

1.3.1.2 Les Caséines

Bien que les interactions entre protéines laitières et composés d'arôme soient souvent attribués aux protéines du lactosérum, certains auteurs mentionnent que les caséines ont plus d'impact sur la libération de certains composés d'arôme comme c'est le cas avec la vanilline (65). Par ailleurs, d'après Le Thanh (1992) (52), la rétention des composés d'arôme (acétone, acétate d'éthyle, diacétyl, 2-propanol, n-hexanol et benzaldéhyde) par les caséines est plus importante comparativement aux oses et polyosides tels que le glucose, les maltodextrines, les beta-cyclodextrines et l'amidon. L'auteur suppose l'existence de liaisons hydrogène entre les polyosides, les molécules d'eau et les composés d'arôme, ainsi que l'existence d'interactions hydrophobes en présence des caséines.

Les travaux de Fares (1998) (66) confirment l'existence d'interactions avec le benzaldéhyde, le diacétyl, le 2-propanol, l'acétone et l'acétate d'éthyle en suggérant que les interactions avec ces deux derniers composés sont des liaisons hydrogène.

Landy *et al.* (1995) (67) ont mis en évidence que la rétention des esters homologues (acétate, butanoate et hexanoate d'éthyle) dans une solution aqueuse de caséinate de sodium, augmente avec le nombre de carbone. De plus, pour ces esters homologues et pour le diacétyl, la rétention augmente avec la concentration en caséine. Ces auteurs en déduisent que les interactions hydrophobes sont à l'origine de la rétention des esters de séries homogènes par les caséinates (67). Par ailleurs, étant donné que la chaîne polypeptidique des caséines est disposée en micelles renfermant la partie apolaire, certains auteurs avancent que l'association des caséines avec les petites molécules hydrophobes serait régie par un mécanisme d'inclusion (68, 69).

Les travaux de Saint-Eve, 2006 font également apparaître l'effet de rétention des composés d'arôme par des caséines. En effet, l'étude sur la libération de l'arôme fraise menée sur des yaourts fait état d'une diminution de la note fruitée avec une augmentation de la teneur en caséine (70, 71). Les mesures physicochimiques, en accord avec les tests sensoriels, ont montré une plus

grande rétention de la plus part des composés de l'arôme fraise dans les yaourts à fort taux de caséine.

1.3.1.3 La β -lactoglobuline

Parmi les protéines alimentaires, la β -lactoglobuline est la plus largement étudiée concernant les interactions protéine-arôme et la libération en relation avec la perception de la flaveur, impliquant les interactions de type hydrophobe et les liaisons hydrogène (54). Cette protéine interagit avec plusieurs composés d'arôme tels que les aldéhydes, les cétones, les ionones et les esters. Il a été démontré que dans la même classe chimique de composé d'arôme, l'affinité pour la BLG augmente avec la longueur de la chaîne carbonée exceptée pour les terpènes (54, 57, 72, 73).

Le modélisation moléculaire 3D-QSAR a suggéré l'existence de plusieurs types de liaison en confirmant la présence d'au moins deux modes de liaison (74) mettant en avant le rôle des liaisons hydrogènes.

Des travaux récents ont permis de préciser la « spécificité » de deux sites d'interactions sur la β -lactoglobuline vis à vis des composés d'arôme (75). Il a été montré que le site interne est favorable pour les composés de forme allongée et que le site externe peut interagir aussi bien avec des composés de forme compacte, qu'avec des composés de forme allongée capables de se replier pour adopter une forme plus compacte (76).

Les résultats obtenus par Reiners *et al* (72) montrent que la β -lactoglobuline a plus d'affinité avec les terpènes et les phénols, suivis des pyrazines et de loin par les furanes suggérant une faible affinité pour ces derniers. Ceux de Pelletier *et al* (77) sur les esters montrent que l'affinité augmente avec le nombre de carbone. Ces résultats sont en accord avec ceux de Sostmann *et al* (73) qui a trouvé que les meilleurs ligands pour cette protéine sont la β -ionone ($K_b = 19143$) suivie de l' α -ionone ($K_b = 13456$). Tavel *et al* confirme la forte affinité de la β -lactoglobuline pour la β -ionone (78) et constate également une grande affinité pour le guaiacol. Ces deux ligands ont montré une plus grande rétention par la β -lactoglobuline partiellement dénaturée (chauffée) que par la β -lactoglobuline native (78). La structure moins fermement empaquetée de la protéine chauffée favorise la liaison avec les ligands, particulièrement avec la cavité centrale qui devient plus accessible par le chauffage qui induit le changement conformationnel favorable à l'accès des ligands.

1.3.2 Interactions polysaccharides / composés d'arôme

L'addition de certains polysaccharides en solution aqueuse peut réduire significativement la libération de composés d'arôme, mais cet effet peut être différent dans les milieux complexes gélifiés comme les yaourts.

Dans un système simple, la mise en évidence d'une concentration limite en polysaccharides dans la solution à partir de laquelle la structure de la solution change a été bien décrite dans des gels de guar (79). En deçà de la concentration C^* en gomme guar, aucun impact sur la libération des composés d'arôme n'est mis en évidence, par contre au-delà de C^* , les agents de texture favorisent la rétention des composés d'arôme. Cependant il est à noter que lorsque les expérimentations sont conduites à l'équilibre thermodynamique du système, l'effet des polysaccharides (structure gélifiée) sur la rétention des composés d'arôme peut être nul, voire conduire à une plus grande libération des composés volatils.

Certains auteurs avancent que les groupes fonctionnels notamment alcools dans les polysaccharides ont comme conséquence, une diminution de l'hydrophobie globale de la macromolécule et d'où une modification des d'interactions vis-à-vis des composés d'arôme (17).

Compte tenu de la diversité des classes chimiques et des propriétés physico-chimiques des composés d'arôme, les interactions moléculaires mises en évidence pour quelques composés avec quelques polysaccharides ne peuvent pas être généralisées. Afin de montrer plus clairement l'effet de chaque polysaccharide sur le phénomène libération - rétention des composés d'arôme, les travaux concernant chacun des trois polysaccharides cités précédemment sont présentés ci-dessous.

1.3.2.1 Carraghénanes

Ce polysaccharide est souvent utilisé et étudié dans des milieux laitiers notamment en présence d'autres polysaccharides tels que l'amidon.

Les λ -carraghénanes sont responsables de l'augmentation de la rétention des composés les plus hydrophobes selon Bylaite (2004) (80).

Les κ -carraghénanes n'ont pas d'effet sur la libération et la perception de l'arôme fraise dans des desserts allégés selon Gonzales-tomas (2007) (81). Cependant, d'après Misharina *et al.* (17), les κ -carraghénanes mettent en jeu des interactions avec les aldéhydes, les cétones et les esters. Les interactions avec les alcools sont beaucoup plus faibles et les interactions avec les lactones, le guaiacol, et le methyl anthranilate sont les moins significatives. Les interactions avec le linalool, et l'hexanoate d'éthyle seraient de nature hydrophobe (17).

Savary *et al.* (2007) (82) ont observé que l'ajout de λ et κ -carraghénanes à un système composé d'une phase continue d'eau et d'une dispersion d'amidon, conduit à une plus grande concentration des composés d'arôme dans la phase continue contenant les carraghénanes que dans la phase de dispersion d'amidon.

Dans une étude sur des matrices contenant des ι -carraghénanes, Juteau *et al.* (2004) (83) ont montré que ce polysaccharide induit une augmentation de la rétention et une diminution du transfert de masse du butanoate d'éthyle et de l'hexanoate d'éthyle mais ceci n'est pas valable avec le linalool. Par contre, Chana *et al.* (84) ont montré que les ι -carraghénanes en système gélifié modulent mais ne changent pas la nature des interactions avec les composés d'arôme.

1.3.2.2 Amidon

Les interactions entre les composés d'arôme et l'amidon peuvent être classées en deux catégories : premièrement, les complexes d'inclusion où les composés d'arôme sont piégés à l'intérieur des hélices d'amylose par l'intermédiaire d'interactions hydrophobes ; deuxièmement, l'implication de liaisons hydrogènes entre les groupes hydroxyles de l'extérieur des hélices d'amylose et les composés d'arôme (13, 85, 86). Certains auteurs expliquent la rétention et la vitesse de libération des composés d'arôme en partie par la structure cristalline (type-V) de l'amylose (87).

L'augmentation de la concentration d'amidon dans les gels laitiers modèles se traduit généralement par une diminution de la libération des composés d'arôme (2).

Certains travaux ont fait état de compétitions d'interactions entre deux composés d'arôme et l'amidon. Rutschmann *et al.* (88) ont montré que la complexation du décanal et de la menthone diminue la stabilité de la liaison des complexes. De même selon Wulff *et al.* (89), des combinaisons de complexes d'amylose avec des inclusions d'hexanal et de guaiacol peuvent être formées. Ces combinaisons impliquent de plus faibles quantités de molécules susceptibles d'être incluses dans les hélices d'amylose, comparativement à un système composé d'un seul composé d'arôme.

Les composés volatiles comme les alcools, les aldéhydes, les terpènes et les lactones sont capables d'induire le passage de l'amylose à une structure d'hélice et d'agir en partenaires d'inclusion (90-93). Selon Tiez (2008) (94), il existe des interactions entre l'amidon et les composés d'arôme que sont l'hexanal et la menthone, mais ces interactions sont faibles. Par ailleurs, la combinaison entre ces deux composés d'arôme ne donne pas lieu à un effet de libération compétitive.

1.3.2.3 Pectines

Concernant les pectines, des liaisons de van der Waals ont été mises en évidence entre les pectines LM et les composés d'arôme dont la chaîne aliphatique contenait plus de six atomes de carbone. Braudo (2002) (95), Yoo et al. (96) ont montré que la diminution du degré d'estérification de pectines HM ou LM engendre une augmentation la libération des composés d'arôme (esters éthyliques). Les auteurs avancent l'hypothèse que la désestérification accroît le caractère hydrophile des pectines, limitant ainsi les interactions avec les composés à caractère hydrophobe. Rega *et al.* (2002) (97) ont montré qu'il existe une concentration en pectine (0,1 %) à partir de laquelle il y a formation d'un gel (transition sol-gel) qui engendre une diminution de la volatilité des composés d'arôme. Cependant, les auteurs n'ayant pas mis en évidence d'interaction moléculaire entre les composés d'arôme et la pectine, « l'effet réseau » (85) créé par l'enchevêtrement des pectines a été incriminé pour expliquer la diminution de la libération des composés volatils.

Les études menées sur la rétention-libération des composés d'arôme dans les yaourts donnent des conclusions différentes quant à l'effet de la pectine. En travaillant sur des yaourts allégés, Nongonierma *et al.* (2006) (98) ont trouvé que l'addition de pectine à un gel augmente légèrement la rétention des composés d'arôme, impliquant des interactions avec la pectine. Mais Lubbers *et al.* (2007) (2) ont montré qu'à partir d'une concentration de 0.1% la pectine induit une diminution de la rétention de certains composés d'arôme. De plus, selon Kora (2004) (51), la pectine a un rôle très faible dans la libération des composés d'arôme en travaillant également sur des yaourts allégés. Une autre étude menée sur des yaourts (99) indique que la pectine n'a pas d'effet sur la libération en bouche des composés d'arôme, en accord avec ce que nous avons trouvé lors d'une étude récente (100). En effet, les coefficients de partage de 13 composés (esters, aldéhydes et cétones) d'arôme mesurés dans l'eau, un gel de carraghénane et un gel de pectine étaient globalement similaires. Toutefois, l'interprétation de la modélisation de type QSAR fait état de l'implication des surfaces chargées positivement, dans la rétention des composés d'arôme par le gel de pectine.

En résumé, étant donné la divergence des auteurs sur le rôle de la pectine, il n'est pas simple de définir clairement son rôle vis-à-vis de la rétention ou de la libération des composés d'arôme sur la base des articles publiés.

1.3.3 Effet du saccharose sur la libération-rétention des composés d'arôme

Le saccharose est présent dans un grand nombre de produits alimentaires notamment dans les produits laitiers tels que les yaourts et en quantité importante dans les produits de confiserie, les préparations de fruits sur sucre et confitures. Dans ces derniers, le saccharose est souvent associé à de la pectine.

Roberts *et al.* (101) ont montré que la présence de saccharose en solution à concentration élevée conduit à une diminution la libération des composés d'arôme par une augmentation de la viscosité de la solution et un abaissement de l'activité de l'eau dans la solution. Lubbers et Guichard (1) ont également montré une diminution de la libération des composés d'arôme dans des sirops de sucres à 60% de matière sèche. Mei (2004) (99) a observé que l'ajout de saccharose et de fructose à des yaourts a un effet supprimeur sur la libération de certains composés d'arôme. Savary *et al.* (2007) (82) ont remarqué que l'ajout de saccharose à un système composé d'une phase continue d'eau et d'une dispersion d'amidon, conduit à une plus grande concentration des composés d'arôme dans la phase de dispersion d'amidon. Dans des solutions de saccharose à plus faible concentration, d'autres auteurs (51, 102) ont montré une augmentation de la libération des composés d'arôme en présence de saccharose, qualifiée de « salting out » (51, 103). Dans ce cas le saccharose favoriserait donc le passage des composés d'arôme vers la phase vapeur en piégeant l'eau libre du milieu.

1.4 Quantification de l'affinité entre les composés d'arôme et la matrice

Pour quantifier l'affinité d'un composé d'arôme pour une matrice donnée, deux approches sont possibles, soit par les constantes d'affinités, soit par les coefficients de partage.

Les constantes d'affinité sont plus adéquates pour la mesure de l'affinité ou d'association entre un composé d'arôme et un récepteur ou une protéine défini alors que les coefficients de partage sont plutôt utilisés pour étudier l'affinité des composés d'arôme avec une phase ou un milieu complexe en présence de macromolécules dont la structure est peu définie.

1.4.1 Constante d'affinité

Les constantes d'affinité sont utilisées pour étudier les liaisons inter-moléculaires pour des systèmes ligand-récepteur, antigène-anticorps, enzyme-substrat... Ces systèmes sont généralement étudiés dans des milieux simples qui sont liquides ou semi-solides. Les différentes méthodes d'obtention de ces constantes permettent souvent, par la même méthode de déterminer la stœchiométrie et de mesurer certaines grandeurs thermodynamiques. Plus l'affinité entre ces deux entités est grande et plus la valeur de la constante d'association sera élevée.

Contrairement à la démarche utilisant les coefficients de partage, l'obtention de la constante d'affinité implique forcément la connaissance du nombre du site de liaison sur le récepteur (104).

1.4.1.1 Dialyse à l'équilibre

Cette technique consiste à introduire en solution les composés d'arôme et leurs récepteurs (protéines en général) dans le même compartiment et de dialyser l'ensemble contre de l'eau distillée à travers une membrane semi-perméable (66, 105). A l'équilibre, les concentrations en composé d'arôme dans le compartiment contenant la solution aqueuse de protéine et les composés d'arôme et le compartiment contenant l'eau et le composé d'arôme sont déterminées par chromatographie en phase gazeuse. Une constante d'affinité peut être calculée en utilisant l'équation de Scatchard.

1.4.1.2 Chromatographie d'affinité

Le mode de fonctionnement de cette technique est le suivant : dans un premier temps, les protéines sont greffées sur la phase stationnaire qui est un support macromoléculaire chimiquement inerte, ensuite, la solution de composé d'arôme est injectée dans la colonne (72, 73, 77). Selon leurs affinités, les protéines et les composés d'arôme vont former un complexe. La mesure du temps de rétention et de la concentration de ce complexe serviront à calculer la constante d'affinité selon le Nilsson et Larsson (106)

1.4.1.3 Chromatographie d'exclusion stérique

La caractéristique initiale de cette technique de chromatographie liquide est la séparation des espèces en fonction de leur taille. Pour déterminer une constante d'affinité, la colonne contenant un gel poreux est initialement équilibrée avec une solution de composé d'arôme. La solution de récepteur (protéines, macromolécules) est alors introduite en tête de colonne. Lors de l'élution, s'il y a liaison ligand-protéine cela se traduit par un pic négatif dû une diminution de la concentration en ligand (composé d'arôme) dans l'éluant. La concentration en complexe ligand-récepteur est alors être obtenue. La constante d'affinité et le nombre de site de fixation sont calculés selon la méthode de Scatchard (77, 107).

1.4.1.4 Électrophorèse Capillaire

Le principe de cette technique se base sur la mobilité des composés injectés dans un capillaire contenant un tampon sous l'effet d'un fort champ électrique appliqué à ses extrémités.

Bien que cette technique soit connue comme étant une méthode séparative, elle permet de mesurer les constantes d'affinité des systèmes ligand-récepteur. Le récepteur peut être une protéine, et le ligand, une molécule de petite taille telle qu'un composé d'arôme (104). Afin de pouvoir appliquer cette technique aux composés d'arôme, il faut ajouter un tensioactif à la phase mobile

afin de les rendre mobiles. Les constantes d'affinité peuvent être obtenues plusieurs méthodes (108, 109). Nous pouvons citer pour exemple l'électrophorèse capillaire d'affinité, ACE (Capillary Affinity Electrophoresis) et l'analyse frontale, FA (Frontal analysis).

Le principe de l'ACE consiste à introduire séparément dans le capillaire d'électrophorèse, le ligand et le récepteur en faisant varier la concentration de l'un d'entre eux. Il s'en suit la formation du complexe ligand-récepteur.

Pour la FA, les deux analytes sont mis dans la même solution afin de former le complexe ligand-récepteur. Cette solution est ensuite injectée en continu dans le capillaire et les électrophoregrammes font apparaître deux plateaux d'absorbance, l'un appartenant au récepteur complexé et l'autre appartenant au récepteur libre.

Les constantes de liaison sont calculées d'après la corrélation entre la mobilité électrophorétique et le rapport de la concentration des analytes libres sur la concentration des analytes liés pour l'ACE, et par la corrélation entre l'absorbance et la concentration des analytes liés pour la FA.

1.4.1.5 La micro-calorimétrie par titration isothermique (ITC, Isothermal Titration Calorimetry)

C'est technique se base sur la mesure directe de la quantité de chaleur échangée lors d'une réaction entre deux molécules. Cette mesure permet de déterminer les caractéristiques thermodynamiques de la réaction telles la constante d'association, l'enthalpie, l'entropie, l'énergie libre et la stœchiométrie de l'interaction sachant que la quantité de chaleur est proportionnelle à la quantité de liaison formée (110-114). L'ITC permet de s'affranchir de l'utilisation de support pour la fixation des macromolécules ou de la modification chimique de ces macromolécules induite notamment par une sonde (76).

1.4.1.6 Résonance Plasmonique de Surface (RPS : Surface Plasmon Resonance).

Le mode de fonctionnement de cette technique est la détection des variations de masse à la surface d'une matrice sur laquelle le ligand est immobilisé de manière covalente ou non. L'analyte est injecté dans un tampon en flux continu à la surface de la matrice (76, 115-118). La mesure de la variation de l'indice de réfraction de l'interface lorsque le ligand se fixe aux récepteurs permet de déterminer les constantes d'association et de dissociation, la stœchiométrie, ainsi que certaines grandeurs thermodynamiques.

1.4.2 Coefficient de partage

Cette grandeur renseigne sur le partage d'un composé entre deux phases. Elle se mesure généralement à l'équilibre, à température, pression et volume constants. Dans le cas des composés volatils, ce qui est le cas des molécules odorantes, on s'intéresse plus spécifiquement à l'équilibre entre une phase solide ou liquide et la phase vapeur (ou espace de tête : « headspace »).

1.4.2.1 Liquide-vapeur

Les méthodes les plus utilisées pour le dosage des composés d'arôme dans les gels, et en particulier les yaourts, sont généralement basées sur l'analyse de l'espace de tête (119). Selon la méthode retenue, des variations importantes des valeurs mesurées sont généralement mises en évidence, notamment dues aux étapes d'étalonnage et d'extraction (120, 121).

Plusieurs études ont été menées pour améliorer soit l'étape de calibration du système chromatographique notamment par une calibration externe en phase vapeur (122-124), soit l'étape de dosage dans la phase liquide (125).

D'autres méthodes permettent de s'affranchir de l'étalonnage (et/ou de l'extraction des volatils de la phase liquide) telles que la Variation des rapports des volumes des phases (Phase ratio variation : PRV), Partage à l'équilibre dans des systèmes fermés (Equilibrium Partitioning In Closed Systems : EPICS) et la dilution exponentielle. Cependant ces dernières ne sont pas applicables pour des composés peu volatiles ou peu présents dans l'espace de tête ($CM/CG > 10-4$).

Headspace statique

- **Variation des rapports des volumes des phases (Phase Ratio Variation, PRV)**

Cette méthode a été proposée par Etré en 1993 (126). Son grand avantage est qu'elle ne nécessite ni étalonnage du système chromatographique, ni dosage en composé d'arôme de la phase liquide à l'équilibre. Le principe de cette méthode est de mesurer la variation de la concentration en composés volatils dans la phase vapeur en faisant varier le volume de l'échantillon liquide de concentration constante. La droite de régression de l'inverse de la surface du pic chromatographique en fonction du rapport de volume entre les deux phases donne une équation dont la résolution conduit directement au coefficient de partage.

Le principe de cette méthode sera détaillé dans la partie Matériels et Méthodes.

- **Partage à l'équilibre dans des systèmes fermés (Equilibrium Partitioning In Closed Systems : EPICS)**

L'EPICS est le partage de l'équilibre dans des systèmes fermés (Equilibrium Partitioning In Closed Systems) (127-130). Le principe de cette méthode est analogue à celui de la méthode PRV. Il consiste à mesurer la surface du pic chromatographique en faisant varier la concentration des composés à analyser tout en gardant ici, le même volume d'échantillon. Cette méthode est rapide, elle ne nécessite pas d'étalonnage et elle est très bien adaptée pour les composés fortement volatils. Cependant, il est nécessaire que les quantités de composés d'arôme soient constantes. Ainsi, la préparation de l'échantillon peut être problématique pour les composés peu solubles surtout pour les échantillons fortement concentrés.

- **Micro extraction en phase solide (Solide Phase Micro Extraction : SPME).**

Le principe de cette méthode consiste en l'extraction des composés d'arôme par adsorption sur une fibre en polymère puis par désorption dans l'injecteur d'un chromatographe en phase gazeuse (131, 132).

La surface du pic chromatographique obtenue permet de remonter à la concentration en phase gazeuse en effectuant un étalonnage (133-135). Le rapport entre la concentration en phase gazeuse et la concentration en phase liquide donne ainsi le coefficient de partage. Cependant, selon le mode d'aromatisation des matrices, il est parfois nécessaire de faire une extraction de la phase liquide afin de connaître précisément la concentration initiale.

Il est également possible d'utiliser la SPME sans étalonnage pour obtenir des valeurs relatives de coefficients de rétention (2). Dans ce cas, on s'intéresse aux variations de coefficients de rétention en fonction des modifications du milieu par rapport à une valeur de référence (par exemple coefficient de rétention dans l'eau, ou dans le milieu le plus simple).

Cette méthode présente l'avantage de pouvoir quantifier les composés très faiblement présents en phase gazeuse (136-138) mais elle met en jeu un nouvel équilibre entre la fibre et la phase vapeur. Ceci peut biaiser la quantification et la mesure du partage des composés d'arôme étudiés.

Headspace dynamique

- **Dilution exponentielle**

Le principe de cette méthode est de forcer la mise à l'équilibre liquide-vapeur du système par barbotage de gaz dans la phase liquide, puis de suivre l'épuisement de la phase liquide en composé d'arôme. Le système est un système ouvert où la phase vapeur est échantillonnée périodiquement et analysée en chromatographe en phase gazeuse. La surface du pic

chromatographique, qui est proportionnelle à la concentration en composé de la phase vapeur, croît jusqu'à l'équilibre entre les phases, puis décroît de façon exponentielle.

Le profil de concentration correspondant à la décroissance exponentielle permet d'obtenir un coefficient d'activité à partir duquel le coefficient de partage est calculé (139, 140).

L'avantage de cette méthode est que l'on peut s'affranchir de la connaissance de la concentration initiale des composés d'arôme comme c'est le cas avec la méthode PRV.

L'inconvénient de cette méthode qu'elle n'est pas applicable dans le cas des matrices complexes ou pour les mélanges de composés car il devient difficile de suivre la décroissance exponentielle de chaque composés en chromatographie. De plus, il est indispensable de connaître la valeur de la pression de vapeur saturante des composés purs afin de calculer leurs coefficients de partage (141).

1.5 Relations structure-propriété

L'étude des relations structure-activité, ou structure-propriété repose sur le postulat que des molécules ayant des caractéristiques identiques à l'échelle moléculaires auront des propriétés semblables. Cette notion a été exploitée pour la première fois en 1962 par Hansch et Fujita en reliant quantitativement une caractéristique moléculaire et une activité biologique (142).

Pour établir une relation quantitative entre deux propriétés, il faut que ces deux propriétés soient exprimées numériquement. La propriété physico-chimique ou biologique à laquelle on s'intéresse peut être une valeur de température (fusion, ébullition, point éclair...), de solubilité dans l'eau, une constante d'affinité, une dose létale... et est exprimée par un nombre. Il faut donc traduire par des valeurs numériques des propriétés moléculaires.

De la structure d'une molécule découle différentes caractéristiques intrinsèques telles que la surface, le volume, le moment dipolaire, la polarisabilité, etc.... Ces propriétés sont exprimées par des valeurs numériques, et ces nombres sont utilisés comme descripteurs moléculaires. A ces propriétés moléculaires s'ajoutent d'autres descripteurs qui sont des propriétés thermodynamiques des molécules estimées par calcul (énergie de solvation dans l'eau, coefficient de partage octanol-eau...).

Les progrès de l'informatique ont permis de proposer et de calculer un grand nombre de descripteurs moléculaires, ainsi que de développer des méthodes statistiques de régression (143).

L'étude des relations quantitatives entre structure et activité ou structure et propriété constituent donc l'approche Quantitative Structure-Activity-Relationship, ou QSAR, et Quantitative Structure-Property-Relationship, ou QSPR (144, 145).

D'un point de vue méthodologique, la modélisation QSAR/QSPR consiste à établir des corrélations entre une propriété expérimentale, activité mesurée (Y) et des caractéristiques de la structure représentée par des descripteurs moléculaires (X_1, X_2, X_3, \dots). Cela permet d'obtenir des modèles qui sont des équations de type :

$$Y = \text{« activité »} = f(aX_1 + bX_2 + \dots nX_n)$$

Les études QSAR sont très courantes dans le domaine biomédical notamment pour tester l'activité biologique (142, 146-148), la biodisponibilité, la solubilité ou la libération d'une molécule dans une matrice excipient (149, 150). Elles sont aussi utilisées en physico-chimie, pour prédire diverses propriétés. Une des premières applications du QSPR concernait la prédiction des points d'ébullition des alcanes (151), qui se base sur l'augmentation de la température d'ébullition avec le nombre d'atomes de carbone.

La solubilité est une des propriétés largement étudiées dans le contexte des relations structure-activité. Plusieurs études dès la fin du 19^e siècle ont montré que les activités biologiques étaient inversement corrélées à la solubilité dans l'eau, mais positivement corrélées au coefficient de partage entre un milieu hydrophobe et l'eau (152 et références citées).

L'hydrophobie apparaissant comme un élément déterminant de l'activité biologique a été quantifiée par le coefficient de partage entre l'octanol et l'eau. De nombreuses méthodes de calcul ont été proposées, approchant plus ou moins bien la valeur expérimentale (153, 154). D'un point de vue physico-chimique, la prédiction de la solubilité dans l'eau reste une question importante (150).

1.5.1 Application au domaine des arômes

Les équilibres liquide-vapeur de composés hydrophobes tels que les molécules odorantes entre un milieu aqueux plus ou moins complexe et la phase gazeuse est donc particulièrement difficile à prédire (155-161). La capacité prédictive d'un modèle QSAR est bien sûr souhaitable, mais une interprétation qualitative est une source d'information sur la nature des interactions qui régissent une propriété (146).

L'étude de relation structure-propriété sur des arômes a déjà fait l'objet de certains travaux.

Plusieurs auteurs se sont intéressés à la modélisation du seuil de détection des molécules odorantes. Nous citerons ici quelques unes de ces études.

Par exemple Anker en 1990 (162) a obtenu un modèle QSPR pour la prédiction du seuil de détection de d'odeur pour 49 alcools acycliques. Les propriétés mises en jeu seraient l'indice de connectivité, les charges partielles positives, la surface accessible au solvant et le principal

moment d'inertie. Egolf en 1993 (163) a étudié la structure-intensité odorante pour un groupe de 73 composés odorants en montrant l'impact de la flexibilité moléculaire, des liaisons hydrogènes et des interactions dipôle-dipôle notamment en utilisant les descripteurs de JURIS.

Plus récemment, on peut également citer le travail de Tan et Siebert (164) qui ont travaillé sur la modélisation des relations entre caractéristiques moléculaires de 38 alcools, 40 esters, 45 aldéhydes et 43 cétones et les seuils de détection dans la bière en utilisant l'approche QSAR. En utilisant des descripteurs simples¹, ces auteurs ont pu établir pour chaque classe de composés d'excellentes corrélations non-linéaires entre le logarithme de l'intensité et 4 ou 5 descripteurs, ainsi que des corrélations non-linéaires simples entre l'intensité des alcools, esters et aldéhydes et le nombre d'atome d'hydrogène dans les molécules. Dans une autre étude, Tan et Siebert (64) se sont intéressés aux interactions entre l'albumine bovine sérique (BSA) et des composés d'arôme de 4 classes chimiques (6 alcools, 8 esters, 8 aldéhydes et 9 cétones) dans des solutions aqueuses. Ils ont montré que les alcools ne se lient pas d'une façon significative à la BSA, mais que les composés de chacune des trois autres familles chimiques ont des règles d'interaction propre à chaque fonction. En effet, leurs résultats mettent en évidence que la liaison des esters et des aldéhydes à la BSA dépend de leur température d'ébullition, mais aussi du nombre d'atome d'hydrogène pour les aldéhydes et du nombre de carbone pour les esters. L'interaction entre les cétones et la BSA dépend à la fois du nombre de carbone, de la longueur de la chaîne carbonée et du degré de ramification.

L'étude du phénomène rétention-libération a jusqu'à présent été moins développée, mais l'équipe de A.J Taylor et R.S.T Linforth a fourni plusieurs travaux. Tout d'abord l'étude QSPR sur la libération de 39 composés d'arôme à partir d'une émulsion froide faible en matière grasse et la phase gazeuse (165). Ils ont montré que les deux facteurs affectant le partage des composés d'arôme étaient la concentration en huile et la nature des composés d'arôme. Le modèle obtenu montre l'intervention de l'hydrophobie (logP), de l'énergie des orbitales moléculaires basses vacantes (LUMO) ainsi que de la structure de la chaîne carbonée (indice de connectivité) sur la rétention dans le milieu.

¹Le nombre d'atomes de carbone dans la molécule, le nombre d'atomes d'hydrogène, le nombre d'atomes d'oxygène, le nombre de double liaisons carbone-carbone, le nombre de doubles liaisons conjuguées, le nombre d'atomes de carbone qui se connectent à trois ou quatre atomes autres que l'hydrogène, le nombre d'atomes de carbone sur le côté l'alcool d'une fonction ester, le nombre d'atomes de carbone dans la longue chaîne adjacente à une fonction cétone.

Dans une autre étude de modélisation QSPR (166), les coefficients de partage de 40 composés d'arôme dans des solutions de saccharose ont été déterminés. Les paramètres physicochimiques ont été calculés pour construire des modèles dont la variable expérimentale est la concentration en phase gazeuse. Les modèles font apparaître plusieurs propriétés telles que l'hydrophobie (logP), la structure de la chaîne carbonée (indice de connectivité), le moment dipolaire ou l'énergie électrostatique.

Citons enfin l'étude du partage des composés volatiles entre une émulsion froide et la phase gazeuse mesurée à l'équilibre en headspace (167). Sur la base des valeurs de coefficients de partage de 67 molécules et de leurs paramètres physicochimiques, cette étude a conduit à l'obtention d'un modèle empirique dont les termes significatifs sont : AlogP, le Log de la solubilité, le moment dipolaire et la fraction d'huile. Ce modèle prédit le partage des molécules en fonction de la teneur des émulsions froides en lipide avec un bon coefficient de corrélation ($R^2=0.83$).

Les bases d'une recherche alternative sur le mécanisme de la libération des composés d'arôme en utilisant l'approche (QSPR) a été précédemment utilisée dans notre laboratoire dans l'étude du comportement des composés volatiles dans un gel de carraghénane (84). L'influence de la structure chimique sur les équilibres rétention/libération de plusieurs composés d'arôme entre la phase vapeur et le gel de carraghénane a été évaluée et les relations entre les propriétés des molécules et les réponses expérimentales ont été trouvées. Ce travail a été suivi d'une étude QSPR sur la libération de 20 composés d'arôme dans des yaourts brassés épaissis (2). Cette étude a mis en avant le rôle des surfaces partielles chargées.

1.6 Bilan

Cette étude bibliographique nous a permis de poser les bases nécessaires pour orienter notre étude, de faire le point sur l'état de l'art et d'avoir des éléments de comparaison pour la discussion.

En résumé, il est important de tenir compte des paramètres thermodynamiques pour étudier l'équilibre liquide vapeur. La gélification par voie acide est la mieux adaptée pour la fabrication de notre gel laitier modèle. L'effet de la pectine sur la libération des composés d'arôme est un point à examiner. Les coefficients de partage semblent être le meilleur moyen pour la quantification de la rétention ou la libération des composés d'arôme. Par ailleurs, la PRV est la méthode la plus avantageuse pour les mesurer. L'approche QSAR/QSPR est un moyen d'investigation pour aider à la compréhension de la nature des interactions composés d'arôme-

matrice ; il s'agira dans notre cas de chercher à établir des corrélations entre la structure des composés d'arôme et leur propriétés de libération/rétention entre la phase vapeur et différentes matrices gélifiées : gels de pectines et gels laitiers.

Matériels et Méthodes

2 MATERIELS ET METHODES

2.1 Les composés volatils

51 composés volatils ont été sélectionnés pour cette étude (Tableau 6). Ils appartiennent aux quatre familles chimiques : alcools, aldéhydes, cétones et esters. Leur masse molaire est comprise entre 80 et 200 g/mol et leur structure est monofonctionnelle, linéaire ou branchée (non cyclique), comportant ou non une double liaison.

Ces composés sont suffisamment solubles aux concentrations étudiées (10^{-4} mol/L) et ont une pression de vapeur saturante suffisante pour passer en phase vapeur.

Ils présentent tous une note odorante, par contre ils ne sont pas tous utilisés dans les formulations d'arôme à destination agro-alimentaire. Les composés seront étudiés au sein de mélange de 5 à 10 molécules. Ces mélanges n'ont aucun intérêt organoleptique, notre étude ne comportant pas de volet sensoriel.

2.1.1 Mesure de la pureté

La pureté des composés volatils a été déterminée par chromatographie en phase gazeuse avec détection FID (flamme ionisation detector). Pour chaque composé, 1 µl d'une solution à 70 µg/ml dans le dichlorométhane a été injecté dans le chromatographe en mode programmation de température de 40°C à 240°C à une vitesse de 3°C/min (voir condition paragraphe analyse headspace).

Le pourcentage de pureté a été calculé en divisant l'aire du pic correspondant au composé, par la somme des aires des autres pics correspondant aux impuretés rapporté à 100.

2.1.2 Répartition des composés volatils en 6 mélanges

Pour optimiser le temps d'acquisition des données, l'ensemble des 51 composés a été réparti en 6 mélanges. Les mélanges de composés ont été constitués de telle sorte qu'ils puissent inclure le maximum de composés sans que ceux-ci soient co-élus entre eux (écart entre les indices de rétention ≥ 20), et qu'ils présentent une diversité en terme de fonction et de structure chimique. Les indices de rétention des composés ont été calculés à partir des chromatogrammes des composés volatils et de mélange d'alcane (C7-C18) sur une colonne DB WAX 20M.

Le principe d'obtention des indices linéaires de rétention a été défini par Kovats en 1958. Il est basé sur un système d'étalonnage utilisant des alcanes linéaires de type C_nH_{2n+2} avec $n \geq 5$. A chaque composé (i) correspond un indice linéaire de rétention $I(i)$, qui peut être calculé, soit en mode isotherme, soit en mode programmation de température.

En mode isotherme, les alcanes sont injectés sur la colonne à température et à pression constantes.

L'indice de rétention I_i est calculé par la formule suivante :

$$I_i = 100 \cdot \left[\frac{\log t'_r(i) - \log t'_r(n)}{\log t'_r(n+1) - \log t'_r(n)} \right] + 100 \cdot n$$

Avec, n , le nombre de carbone de l'alcane qui sort avant le soluté, $t'_r(n)$; $t'_r(n+1)$ et $t'_r(i)$, les temps de rétention réduits des alcanes et celui du soluté analysé.

En mode programmation de température la formule prend en compte les temps de rétention simples $t_r(i)$.

$$I_i = 100 \cdot \left[\frac{t_r(i) - t_r(n)}{t_r(n+1) - t_r(n)} \right] + 100 \cdot n$$

A partir des indices linéaires de rétention sur DB Wax disponibles dans la littérature, les composés ont été pré-répartis en mélange (70 µg/mL de chaque composé en dichlorométhane).

Pour chaque mélange, nous avons injecté en CPG le mélange d'alcanes (C7 à C18) puis le mélange de composés volatils en terminant par une deuxième injection d'alcanes afin de vérifier la répétabilité des conditions chromatographiques. Les indices linéaires de rétention ont été mesurés en mode programmation de température de 40°C à 240°C à une vitesse de 3°C/min.

Les indices de rétention ont été calculés. Dans le cas des co-élutions ou d'indices linéaires de rétentions trop proches entre deux composés, une nouvelle répartition a été effectuée. Le cas échéant, le programme de température du CPG a été adapté pour chaque mélange pour améliorer la résolution entre les composés (voir détail analyse headspace). Au final nous avons répartis les 51 composés en 6 mélanges (Tableau 1).

Tableau 4 : Répartition des composés volatils en 6 mélanges.

mélange 1

index	nom	famille	I ret
36	ethyl propanoate	ester	976
39	ethyl butanoate	ester	1044
32	5-methylhexan-2-one	cetone	1149
24	2-ethylhexanal	aldehyde	1184
44	ethyl hexanoate	ester	1245
47	n-butyl pentanoate	ester	1327
46	ethyl heptanoate	ester	1344
8	6-methyl-5-hepten-2-ol	alcool	1470
11	2-ethyl-1-hexanol	alcool	1490

mélange 2

index	nom	famille	I ret
29	4-methyl-2-pentanone	cetone	1016
16	2-methyl-2-butenal	aldehyde	1103
28	4-methyl-3-penten-2-one	cetone	1140
33	2-methylheptan-3-one	cetone	1176
22	heptanal	aldehyde	1194
2	1-hexen-3-ol	alcool	1251
26	2-isopropyl-5-methyl-2-hexenal	aldehyde	1354
10	3-octanol	alcool	1396
1	cis-4-hexen-1-ol	alcool	1423
6	cis-4-Hepten-1-ol	alcool	1500
12	1-nonanol	alcool	1677

mélange 3

index	nom	famille	I exp
19	2-ethylbutyraldehyde	aldehyde	1012
4	3-methylpentan-3-ol	alcool	1122
37	ethyl crotonate	ester	1171
31	2-heptanone	cetone	1192
17	trans-2-Hexenal	aldehyde	1217
42	isopropyl tiglate	ester	1242
23	octanal	aldehyde	1293
3	1-hexanol	alcool	1385
13	linalool	alcool	1555

mélange 4

index	nom	famille	I exp
27	hex-5-en-2-one	cetone	1141
34	5-methylheptan-3-one	cetone	1199
21	cis-4-Heptenal	aldehyde	1245
45	isobutyl angelate	ester	1299
49	isoamyl tiglate	ester	1480
51	hexyl tiglate	ester	1633
14	nerol	alcool	1810

mélange 5

index	nom	famille	I exp
30	3-methylpentan-2-one	cetone	-
20	hexanal	aldehyde	1083
41	isoamyl acetate	ester	1132
40	ethyl pentanoate	ester	1160
35	2,6-dimethyl-4-heptanone	cetone	1182
48	isobutyl isovalerate	ester	1201
5	2-methylpentan-1-ol	alcool	1301
7	2-heptanol	alcool	1322

mélange 6

index	nom	famille	I exp
38	ethyl 2-methylpropanoate	ester	1002
18	2-methyl-2-pentenal	aldehyde	1155
25	3,5,5-trimethylhexanal	aldehyde	1211
50	2-methylbutyl 2-methylbutanoate	ester	1290
43	propyl 2-methylbut-2-enoate	ester	1335
9	1-octanol	alcool	1564
15	3,7-dimethyl-1-octanol	alcool	1661

2.2 Milieux étudiés

Nous avons choisis de déterminer les coefficients de partage de composés volatils présent dans différents milieux :

- l'eau : milieu de référence.
- le gel de pectine (0.4 et 0.8%) : texturant.
- le gel laitier : matrice alimentaire modèle d'un yaourt à 0% de matière grasse.
- le gel laitier enrichi en 0.05% de pectine : matrice alimentaire modèle d'un yaourt à 0% de matière grasse texturée par ajout de pectine.

2.2.1 La pectine

La pectine dite « commerciale » pectine faiblement méthoxylée (32–36%) et faiblement amidée (14–18%) disponible chez CP Kelco (Danemark) est stabilisée par des adjuvants. La composition de la pectine utilisée pour cette étude a été analysée par chromatographie d'exclusion stérique. Les résultats de cette analyse ont montré que la pectine contenait 20% saccharose.

La pectine commerciale a donc été purifiée en vue d'étudier l'éventuel impact du stabilisant sur les coefficients de partage des composés volatils étudiés.

2.2.1.1 Purification de la pectine

Une solution pectine/éthanol a été préparée en dissolvant 6.25 g de pectine dans 500 g d'eau milliQ sous agitation pendant 30 minutes, puis diluée dans 3 litres d'éthanol. Cette solution a été laissée sous agitation pendant 20 heures à température ambiante puis la pectine a été isolée en quatre étapes.

Centrifugation

Après 20h deux phases sont apparues, une phase supérieure limpide qui ne contenait quasiment pas de pectine et une phase inférieure nettement plus dense. Cette phase dense a été centrifugée à 5000 tour/min avec un rotor AK 500-11 pendant 30 minutes à l'aide d'une centrifugeuse RR22i (Jouan, Thermo electron, St Herblain, France).

Filtration sous vide

Le culot récupéré à la fin de la centrifugation a été filtré sur Buchner avec filtre papier Wattman® (diamètre des pores : 30 µm) et le culot lavé à l'éthanol.

Dialyse

Le rétentat issu de la filtration sous vide a été dilué avec de l'eau milliQ puis placé à l'intérieur d'un boudin à dialyse MWCO 6-800 (Biovalley, Conches, France), préalable réhydrate pendant 10 heures.

Le boudin a été plongé dans un récipient d'eau milliQ sous agitation afin de favoriser le passage des petits solutés vers l'extérieur du boudin. L'eau du récipient a été changée au bout de 8 heures puis le contenu du boudin a été retiré 12 heures plus tard.

Lyophilisation

Le dialysat a été placé dans des bouteilles de lyophilisation à raison de 30% de leur capacité pour ensuite être congelé à -20°C dans un dispositif de réfrigération tournant rempli d'éthanol. L'objectif de ce dispositif était d'étaler le dialysat sur toute la surface de la bouteille. Les bouteilles ont été montées au lyophilisateur (Labconco, Avantec, Illkrich, France) et le vide a été enclenché jusqu'à ce que le contenu des bouteilles soit sec.

2.2.2 Préparation des gels

La composition des différents milieux est présentée dans le Tableau 5. La quantité préparée de chaque gel était de 500 g. Les constituants des gels étaient :

- pectine faiblement méthoxylée (32–36%) et faiblement amidée (14–18%) stabilisée avec 20% de sucrose (CP Kelco, Danemark),
- tampon pH acide citrique monohydraté (Merck, Darmstadt, Allemagne), citrate trisodique dihydraté (Prolabo, Fontenay-sous-Bois, France), dicitrate tricalcique tétrahydraté et sorbate de potassium (Prolabo, Briard le Canal, France),
- poudre de lait sans matière grasse composée à 35% de protéines laitières (INRA, Nantes, France),
- GDL (Glucono-delta-lactone, Sigma-Aldrich, Steinheim, Allemagne).

Tableau 5 : Composition (% , m/m) des différentes matrices.

Matrice	Eau	Poudre de lait	Citrates		Sorbate		GDL	Pectine	Sucrose	pH	
			Na	Ca	Ca (a)	Mg (a)					K
Eau	100	-	-	-	-	-	-	-	-	6.5	
GP 0.4	99,3	-	0.015	0.042	-	-	0.05	-	0.4	0.1	3.5
GP 0.8	98,8	-	0.015	0.042	-	-	0.05	-	0.8	0.2	3.5
GL	86,4	11.4	-	-	0.007	0.02	-	2.16	-	-	4.0
GLP0.05	86,3	11.4	-	-	0.006	0.02	-	2.16	0.05	0.01	4.0

^(a) Contenu dans l'eau minérale Evian®; Eau, eau pure ; GP0.4, gel de pectine 0.4% (m/m); GP0.8, gel de pectine 0.8% (m/m); GL, gel laitier ; GLP0.05, gel laitier avec 0.05% (m/m) de pectine.

2.2.2.1 Gels de pectine

Les gels de pectine ont été obtenus dans un tampon citrate pH 3.25. Le tampon citrate a été préparé à partir de citrate trisodique et de citrate tricalcique puis ajusté à un pH de 3.25 par une solution d'acide citrique/eau milliQ (10% m/m). Le sorbate de potassium a été ajouté à ce tampon comme conservateur, afin d'éviter la prolifération bactérienne.

La pectine en poudre est préalablement réhydratée dans l'eau. Deux solutions pectine/eau à 0.8% et 1.6% ont été préparées en additionnant lentement la pectine à l'eau milliQ sous agitation pendant 30 minutes puis en continuant d'agiter pendant 12 heures à température ambiante.

Afin d'éviter la formation de pré-gel, le mélange de la solution aqueuse de pectine et du tampon citrate a été effectué à chaud. Ainsi, 250 g de tampon ont été ajoutés à 250 g solution pectine/eau chauffée à 60°C au bain-marie. Le mélange a ensuite été placé dans un bain-marie sous agitation magnétique et la température a été augmentée jusqu'à 80°C. Cette température a été maintenue pendant 10 minutes. Après refroidissement à température ambiante, le pH du gel est contrôlé afin de s'assurer de la répétabilité de la fabrication. Le gel de pectine a été stocké à 10°C.

La concentration finale des deux gels de pectine était de 0.4% et 0.8%.

2.2.2.2 Gel laitier

La composition de notre gel laitier et le procédé d'obtention ont été fixés pour toute la durée de notre étude. La variable de composition étant l'ajout ou non de pectines et la nature des différents composés d'arôme.

La poudre de lait (57.2 g) sans matière grasse a été lentement additionnée à de l'eau minérale Evian® (432 g) sous agitation magnétique. Après deux heures d'agitation, le lait obtenu a été chauffé dans un bain-marie à 90°C sous agitation mécanique à 250 tr/min avec un agitateur Ika®. Quand la température du lait avait atteint 90°C, elle a été maintenue pendant 10 minutes. Le lait a ensuite été refroidi jusqu'à une température de 25°C, puis 10.8 g de GDL (glucono-delta-lactone, Aldrich) ont été ajoutés lentement sous agitation. Le lait acidifié a été réparti dans des seringues en plastique CODAN® de 100 ml. Les seringues ont été mises en incubation à 25°C pendant 24 heures pour la gélification. Le pH après acidification est mesuré permettant de s'assurer de la répétabilité de la gélification.

Après gélification, le gel laitier a été lissé en plusieurs étapes afin d'obtenir l'équivalent d'un yaourt maigre brassé.

Un réducteur de diamètre (diamètre interne de 3 mm) est fixé à la sortie des seringues de 100 ml contenant le gel laitier. Le gel a été extrudé de la seringue par pression manuelle.

Le gel a ensuite été repris dans une seringue de 50ml et extrudé en deux passages au travers une aiguille G20 (diamètre interne de 0.81 mm). Pour cette étape, un pousse seringue (Razel scientific instruments, USA) a été utilisé avec un débit de 50ml/min. Le gel laitier lissé était stocké à 10°C.

2.2.2.3 Gel laitier avec pectine

Le procédé décrit ci-dessus a été utilisé pour préparer un lait à partir de 57.2 g de poudre de lait sans matière grasse et de 400 g d'eau minérale. Pendant l'étape de montée en température, 31 g de solution pectine/eau à 0.8% (m/m) ont été ajoutés afin d'obtenir un gel laitier avec une concentration de 0.05% en pectine. Le gel laitier avec pectine a été acidifié, puis lissé selon le protocole décrit ci-dessus.

2.3 Contrôle rhéologique des gels obtenus

Afin de tester la répétabilité de la fabrication des gels, la viscosité apparente a été mesurée par un rhéomètre à cylindres coaxiaux (RM180, Rheometric scientific INC, Suisse) à 10°C.

Le protocole consistait à travailler en mode « courbe d'écoulement » avec gradient de cisaillement en progression logarithmique, en rampe montante et descendante pendant 180 secondes. La mesure a été lancée lorsque la température de l'échantillon présent dans le godet s'était stabilisée

à 10°C grâce à un système réfrigérant couplé au rhéomètre. Trois essais ont été réalisés pour chaque gel.

Le couple cylindre/godet était de type 1/1 pour le gel de pectine à 0.4%, 2/2 pour le gel de pectine à 0.8% et 3/3 pour les deux gels laitiers.

La rampe de cisaillement allait de 250s⁻¹ à 500 s⁻¹ pour revenir à 250s⁻¹, pour les deux gels de pectine. Afin d'avoir des conditions initiales identiques, les gels de pectine ont été pré-cisailés avant la mesure à l'aide d'un agitateur magnétique à 500 tour/min pendant 5 minutes. Pour les deux gels laitiers, la rampe de cisaillement allait et de 450s⁻¹ à 700s⁻¹ pour revenir à 450s⁻¹. La viscosité a été mesurée en rampe descendante au moment où la vitesse de cisaillement était de 400s⁻¹ pour les deux gels de pectine et à un cisaillement de 650s⁻¹ pour les deux gels laitiers.

La valeur de viscosité mesurée constitue un élément de comparaison dans le but d'apprécier la répétabilité de fabrication des gels.

2.4 Aromatisation des milieux

Les concentrations en composés volatils dans les mélanges ont été calculées de telle sorte que les concentrations finales dans les différentes matrices aromatisées soient de l'ordre de 10⁻⁴ mol/L.

Cependant, les composés ayant une volatilité faible ou élevée conduisent à des aires de pics chromatographiques très petites ou saturantes par rapport au bruit de fond. Dans ce cas, leur concentration a été multipliée ou divisée par un facteur 2.

Pour tous les composés, la concentration finale dans les différentes matrices était inférieure aux limites de solubilité de chacun d'eux (cf Tableau 6).

2.4.1 Eau et gels de pectine

Pour ces milieux aqueux, l'aromatisation s'est faite avec des mélanges de composés préparés dans l'eau. Pour les six mélanges, les composés ont donc été préparés en dissolvant 10⁻⁴ moles de chaque composé volatil dans 100 g d'eau milliQ sous agitation énergique pendant 2 heures. Ces mélanges se conservent pendant une semaine à froid.

L'aromatisation de l'eau s'effectue en additionnant 10 g du mélange d'arôme en agitation, à 90 g de d'eau. Cette nouvelle solution est ensuite laissée sous agitation énergique pendant 4 heures puis répartie dans des flacons pour être analysée.

L'aromatisation des gels de pectine s'effectue en additionnant 10 g du mélange d'arôme en agitation, à 90 g de gel de pectine. Cette nouvelle solution est agitée par un agitateur mécanique à ancre Ika® à une vitesse de 80 tour/min pendant 1 minute puis stockée à 10 °C pendant 24 heures avant l'analyse headspace.

2.4.2 Gel laitier et gel laitier avec pectine.

Ces gels sont aromatisés avec des mélanges de composés préparés dans le propylène glycol. Pour les six mélanges, les composés sont dissous à 10^{-3} moles dans 5 g de propylène glycol. Les mélanges sont agités par agitateur magnétique pendant 2 heures puis stockés à 5°C pendant 24 heures avant leur première utilisation.

L'aromatisation des gels laitiers est faite en additionnant 25 mg d'un mélange de composés à 50 g de gel laitier sous agitation mécanique (ancres Ika®) à une vitesse de 80 tour/min pendant 2 minutes. Les gels aromatisés sont ensuite stockés pendant 48 heures à 10°C avant l'analyse headspace.

2.5 Analyse headspace

Les analyses headspace ont été réalisées à l'équilibre des phases matrice et gazeuse, après 2 heures d'incubation à 30°C (168). En effet dans les travaux de Savary (168), pour tous les composés étudiés la concentration en phase vapeur avait atteint l'équilibre au bout de 2 heures au maximum.

La détermination des coefficients de partage a été effectuée selon le principe décrit par Ettre et al (126). Le principe de la méthode de *variation du rapport de volume* (PRV) est basé sur l'évolution de la concentration en composé volatil dans l'espace de tête en fonction de l'augmentation du volume de l'échantillon.

Des quantités allant de 150 à 1250 mg pour chaque milieu (eau, gels de pectine, gels laitiers) ont été introduites dans des flacons headspace de 22.8 ml (Supelco, USA). Ces flacons étaient immédiatement scellés avec des capsules magnétiques munies de septum en silicone (Supelco, USA).

Trois répétitions ont été effectuées pour chaque volume, ce qui représente 24 flacons pour mesurer le coefficient de partage de chaque composé volatil composant un mélange d'arôme et par milieu.

Les flacons headspace ont été placés dans un agitateur/incubateur d'un passeur automatique headspace (GERSTEL MPS 2, Gerstel Inc., USA) à 30°C pendant 120 minutes. Durant l'incubation, les flacons ont été agités pendant 30 secondes à 250 tour/min avec des cycles de 130 secondes.

Un échantillon de 1 ml de phase gazeuse (headspace) a été automatiquement prélevé par une seringue à gaz étanche (Gerstel, Australie) préchauffée à 35°C et injecté en chromatographie en phase gazeuse (TRACE GC Ultra, Thermo Electron, Italie).

La température de l'injecteur était de 240°C. Une seule injection par flacon a été effectuée. Une colonne capillaire DB-Wax (30 m, 0.32 mm i.d, 0.5 µm, J&W Scientific, USA) et un détecteur à ionisation de flamme (FID) à 250°C ont été utilisés. L'hélium a été utilisé en tant que gaz vecteur avec une vitesse de 30.9 cm. s⁻¹ en mode splitless. Le programme de température du four variait selon le mélange de composés volatils comme suit :

mélange 1 : 40°C $\xrightarrow{3^\circ\text{C/min}}$ 90°C $\xrightarrow{5^\circ\text{C/min}}$ 110°C $\xrightarrow{6^\circ\text{C/min}}$ 240°C

mélange 2 : 40°C $\xrightarrow{2^\circ\text{C/min}}$ 110°C $\xrightarrow{4^\circ\text{C/min}}$ 130°C $\xrightarrow{6^\circ\text{C/min}}$ 240°C

mélange 3 : 40°C $\xrightarrow{2^\circ\text{C/min}}$ 53°C $\xrightarrow{0.5^\circ\text{C/min}}$ 75°C $\xrightarrow{2^\circ\text{C/min}}$ 84°C $\xrightarrow{4^\circ\text{C/min}}$ 115°C $\xrightarrow{6^\circ\text{C/min}}$ 240°C

mélange 4 : 40°C $\xrightarrow{3^\circ\text{C/min}}$ 150°C $\xrightarrow{6^\circ\text{C/min}}$ 220°C

mélange 5 : 40°C $\xrightarrow{1^\circ\text{C/min}}$ 90°C $\xrightarrow{6^\circ\text{C/min}}$ 240°C

mélange 6 : 40°C $\xrightarrow{3^\circ\text{C/min}}$ 135°C $\xrightarrow{6^\circ\text{C/min}}$ 220°C

2.6 Calcul des coefficients de partage

La méthode de variation du rapport de volume (Phase Ratio Variation, PRV) décrite par Ettre et al (126, 169) est basée sur l'évolution de la concentration du composé volatil dans l'espace de tête en fonction de l'augmentation du volume de l'échantillon dans le flacon. Cette évolution est linéaire pour des volumes d'échantillon ni trop petit (problème surface d'échange air/matrice, épuisement de la matrice en composés volatils) ni trop grand (volume libre dans le flacon trop faible, saturation de l'espace de tête). Il faut aussi que les composés soient assez volatils pour mesurer des variations croissantes des aires chromatographiques. Enfin dans la mesure où les volumes d'échantillons sont bien choisis, il est possible d'écrire que la concentration finale en composés volatils dans la matrice est égale à la concentration initiale.

L'équation PRV (Equation1) prend en compte la variation de l'inverse de l'aire du pic d'un composé (1/A) en fonction du rapport de phase entre la phase gazeuse et la matrice ($\beta = V_G/V_M$).

$$\frac{1}{A} = \frac{1}{f_i \cdot C_M} \beta + \frac{1}{f_i \cdot C_M} (C_M / C_G)$$

Equation 1

A étant l'aire du pic à l'équilibre, C_M la concentration initiale de l'échantillon et f_i le facteur de réponse du détecteur.

L'équation 1 peut s'écrire sous forme de relation linéaire $1/A=f(\beta)$:

$$\frac{1}{A} = b\beta + a$$

Equation 2

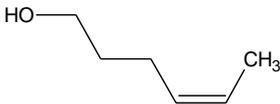
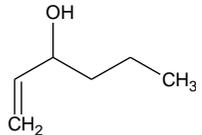
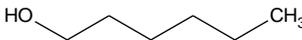
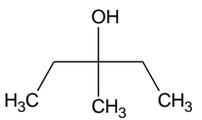
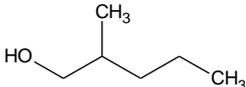
L'ordonnée à l'origine étant $a = \frac{1}{f_i \cdot C_M}$, la pente $b = \frac{1}{f_i \cdot C_M} (C_M / C_G)$

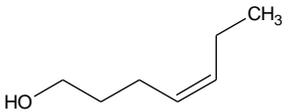
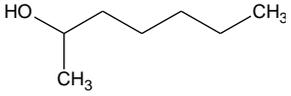
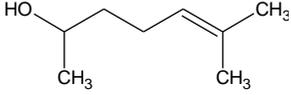
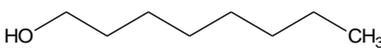
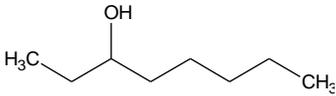
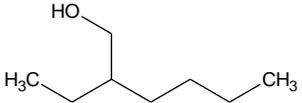
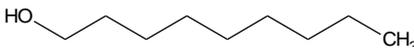
Donc, le coefficient de partage $K=C_G/C_M$ est égal au rapport b/a .

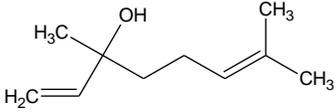
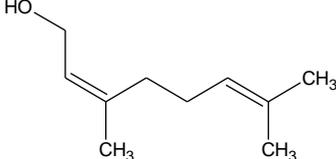
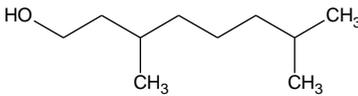
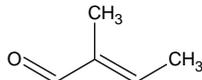
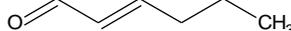
- **Molécules étudiées**

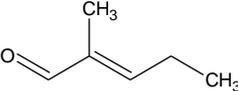
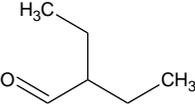
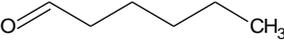
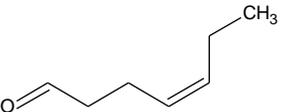
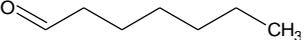
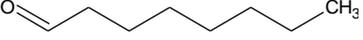
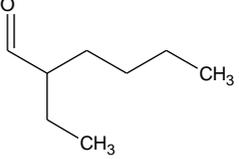
La liste des molécules étudiées comportant leurs structures ainsi que leurs caractéristiques principales sont reportées dans le Tableau 6

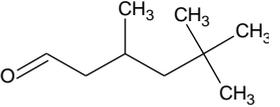
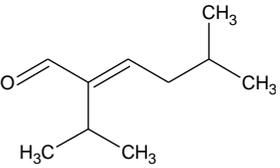
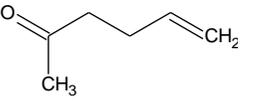
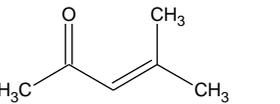
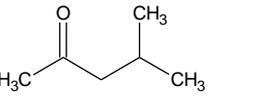
Tableau 6 : Propriétés et structures des 51 composés volatils

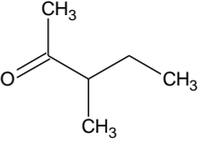
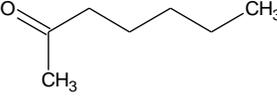
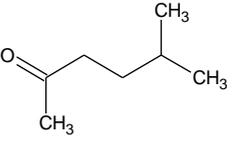
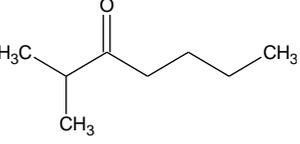
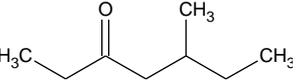
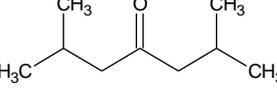
Index	Composé	Famille	CAS	Masse		Solubilité (g/L) ^b	AlogP98 ^c	Structure
				Molaire (g/mol)	Pureté ^a			
1	(E)-hex-4-én-1-ol (cis-4-hexen-1-ol)	alcool	928-91-6	100.16	0.975	6.0	1.44	
2	hex-1-én-3-ol (1-hexen-3-ol)	alcool	4798-44-1	100.16	0.956	25.0	1.62	
3	1-hexanol	alcool	111-27-3	102.17	0.987	6.0	1.88	
4	3-méthylpentan-3-ol (3-methylpentan-3-ol)	alcool	77-74-7	102.17	0.941	42.6	1.62	
5	2-méthylpentan-1-ol (2-methylpentan-1-ol)	alcool	105-30-6	102.18	1.000	6.0	1.75	

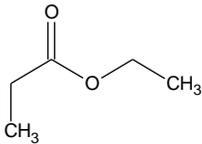
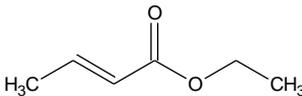
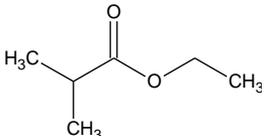
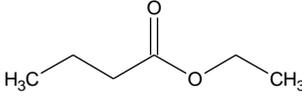
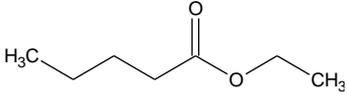
Index	Composé	Famille	CAS	Masse		Solubilité (g/L) ^b	AlogP98 ^c	Structure
				Molaire (g/mol)	Pureté ^a			
6	(Z)-Hept-4-én-1-ol (cis-4-Hepten-1-ol)	alcool	6191-71-5	114.19	0.980	5.0	1.89	
7	heptan-2-ol (2-heptanol)	alcool	543-49-7	116.20	0.997	3.3	2.26	
8	6-méthylhept-5-én-2-ol (6-methyl-5-hepten-2-ol)	alcool	1569-60-4	128.21	0.920	4.6	2.26	
9	octan-1-ol (1-octanol)	alcool	111-87-5	130.23	1.000	0.5	2.80	
10	octan-3-ol (3-octanol)	alcool	589-98-0	130.23	1.000	1.3	2.78	
11	2-éthylhexan-1-ol (2-ethyl-1-hexanol)	alcool	104-76-7	130.23	1.000	0.9	2.66	
12	nonan-1-ol	alcool	143-08-8	144.26	1.000	0.1	3.25	

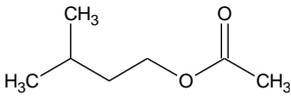
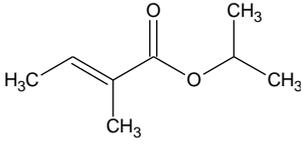
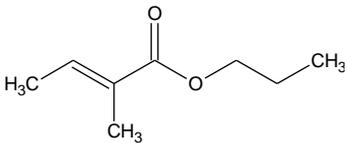
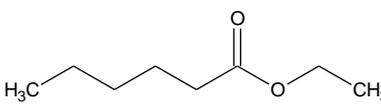
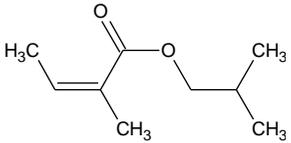
Index	Composé	Famille	CAS	Masse		Solubilité (g/L) ^b	AlogP98 ^c	Structure
				Molaire (g/mol)	Pureté ^a			
	(1-nonanol)							
13	3,7-diméthyl-2-octa-1,6-diène-3-ol (linalool)	alcool	78-70-6	154.25	0.860	1.6	2.74	
14	(Z)-3,7-diméthyl-2,6-octadién-1-ol (nerol)	alcool	106-25-2	154.25	0.983	0.1	2.93	
15	3,7-diméthyl-1-octanol (3,7-dimethyl-1-octanol)	alcool	106-21-8	158.28	0.998	22.0	3.30	
16	2-méthyl-2-butenal (2-methyl-2-butenal)	aldehyde	497-03-0	84.12	1.000	25.0	1.36	
17	(E)-hex-2-énal (trans-2-Hexenal)	aldehyde	6728-26-3	98.14	0.972	16.7	1.83	

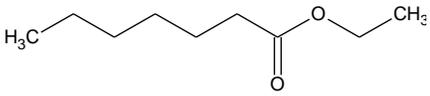
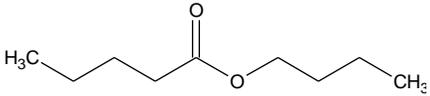
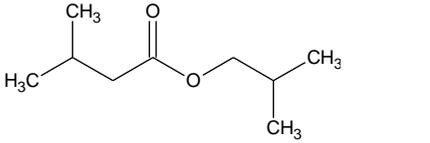
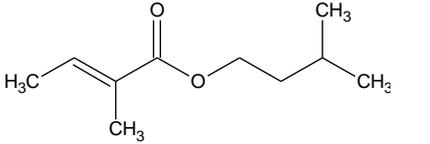
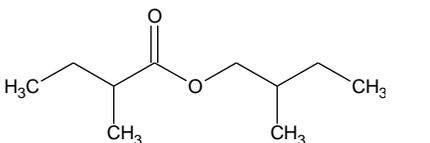
Index	Composé	Famille	CAS	Masse		Solubilité (g/L) ^b	AlogP98 ^c	Structure
				Molaire (g/mol)	Pureté ^a			
18	2-méthylpent-2-éanal (2-methyl-2-pental)	aldéhyde	623-36-9	98.14	1.000	27.5	1.82	
19	2-éthylbutanal (2-ethylbutyraldehyde)	aldéhyde	97-96-1	100.16	1.000	13.0	1.86	
20	hexanal	aldéhyde	66-25-1	100.16	1.000	5.6	1.85	
21	(Z)-hept-4-éanal (cis-4-Heptenal)	aldéhyde	6728-31-0	112.17	1.000	5.5	1.86	
22	heptanal	aldéhyde	111-71-7	114.19	0.937	1.3	2.31	
23	octanal	aldéhyde	124-13-0	128.21	0.977	0.6	2.77	
24	2-éthylhexanal (2-ethylhexanal)	aldéhyde	123-05-7	128.21	0.993	0.4	2.77	

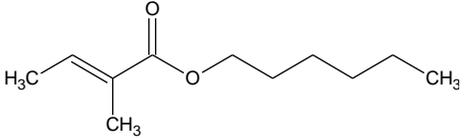
Index	Composé	Famille	CAS	Masse		Solubilité (g/L) ^b	AlogP98 ^c	Structure
				Molaire (g/mol)	Pureté ^a			
25	3,5,5-trimethylhexanal	aldéhyde	5435-64-3	142.24	0.993	1.1	2.56	
26	2-isopropyl-5-méthylhex-2-énal (2-isopropyl-5-methyl-2-hexenal)	aldéhyde	35158-25-9	154.25	0.980	0.9	3.24	
27	hex-5-én-2-one (hex-5-en-2-one)	cétone	109-49-9	98.14	0.892	11.4	1.08	
28	4-méthylpent-3-én-2-one (4-methyl-3-penten-2-one)	cétone	141-79-7	98.14	0.947	29.9	1.44	
29	4-méthylpentan-2-one (4-methyl-2-pentanone)	cétone	108-10-1	100.16	0.991	19.0	1.27	

Index	Composé	Famille	CAS	Masse		Solubilité (g/L) ^b	AlogP98 ^c	Structure
				Molaire (g/mol)	Pureté ^a			
30	3-méthylpentan-2-one (3-methylpentan-2-one)	cétone	565-61-7	100.16	0.984	20.9	1.48	
31	heptan-2-one (2-heptanone)	cétone	110-43-0	114.19	1.000	4.3	1.93	
32	5-méthylhexan-2-one (5-methylhexan-2-one)	cétone	110-12-3	114.19	0.986	5.4	1.73	
33	2-méthylheptan-3-one (2-methylheptan-3-one)	cétone	13019-20-0	128.21	1.000	2.0	2.60	
34	5-méthylheptan-3-one (5-methylheptan-3-one)	cétone	541-85-5	128.21	0.988	2.0	2.39	
35	2,6-diméthylheptan-4-one (2,6-dimethyl-4-	cétone	108-83-8	142.24	1.000	2.7	2.65	

Index	Composé	Famille	CAS	Masse		Solubilité (g/L) ^b	AlogP98 ^c	Structure
				Molaire (g/mol)	Pureté ^a			
	heptanone)							
36	propanoate d'éthyle (ethyl propanoate)	ester	105-37-3	102.13	0.970	19.2	1.04	
37	(E)-but-2-énoate d'éthyle ethyl crotonate	ester	623-70-1	114.14	1.000	9.4	1.47	
38	2-méthylpropanoate d'éthyle (ethyl 2- methylpropanoate)	ester	97-62-1	116.16	0.960	7.3	1.50	
39	butanoate d'éthyle (ethyl butanoate)	ester	105-54-4	116.16	0.969	4.3	1.49	
40	pentanoate d'éthyle (ethyl pentanoate)	ester	539-82-2	130.18	1.000	2.2	1.95	

Index	Composé	Famille	CAS	Masse		Solubilité (g/L) ^b	AlogP98 ^c	Structure
				Molaire (g/mol)	Pureté ^a			
41	acétate de 3-méthylbutyle (isoamyl acetate)	ester	123-92-2	130.18	1.000	2.0	1.60	
42	(E)-2-méthylbut-2-énoate de méthyléthyle isopropyl tiglate	ester	1733-25-1	142.20	1.000	2.7	2.29	
43	(E)-2-méthylbut-2-énoate de propyle (propyl 2-methylbut-2-enoate)	ester	61692-83-9	142.20	1.000	-	2.44	
44	hexanoate d'éthyle (ethyl hexanoate)	ester	123-66-0	144.21	1.000	0.6	2.41	
45	(Z)-2-méthylbut-2-énoate de 2-méthylpropyle (isobutyl angelate)	ester	7779-81-9	156.22	0.983	0.9	2.76	

Index	Composé	Famille	CAS	Masse		Solubilité (g/L) ^b	AlogP98 ^c	Structure
				Molaire (g/mol)	Pureté ^a			
46	heptanoate d'éthyle (ethyl heptanoate)	ester	106-30-9	158.24	0.953	0.03	2.86	
47	pentanoate de n-butyle (n-butyl pentanoate)	ester	591-68-4	158.24	1.000	0.1	2.93	
48	3-méthylbutanoate de 2-méthylpropyle (isobutyl isovalerate)	ester	589-59-3	158.24	1.000	0.4	2.59	
49	(E)-2-méthylbut-2-énoate de 3-méthylbutyle (isoamyl tiglate)	ester	41519-18-0	170.25	0.930	0.3	3.15	
50	2-méthylbutanoate de 2-méthylbutyle (2-methylbutyl 2-methylbutanoate)	ester	2445-78-5	172.26	1.000	0.1	3.25	

Index	Composé	Famille	CAS	Masse		Solubilité (g/L) ^b	AlogP98 ^c	Structure
				Molaire (g/mol)	Pureté ^a			
51	(E)-2-méthylbut-2-énoate d'hexyle (hexyl tiglate)	ester	16930-96-4	184.28	0.950	0.1	3.81	

a et b les valeurs de solubilité sont estimées par le logiciel Epi Suite (EPA's Office of Pollution Prevention Toxics and Syracuse Research Corporation (SRC)).

c Les valeurs AlogP98 sont des valeurs du logP estimées par le logiciel DS ViewverPRO®.

2.7 Etude des relations structure-propriété

Les molécules ont été téléchargées à partir du site NIST (<http://webbook.nist.gov/chemistry/>). Les structures ont ensuite été importées dans le logiciel DS Viewer Pro 6.0 (Accelrys Inc.) sous Windows XP pour générer les structures tridimensionnelles. Ces structures ont été minimisées en utilisant le champ de force Dreiding Forcefield disponible dans DS Viewer Pro (nombre d'itérations = 5000, critère de convergence = 0,0001 kcal mol⁻¹). Quatre propriétés moléculaires (descripteurs moléculaires) ont été calculées par DS Viewer Pro : la surface (notée Area, exprimée en Å²), la polarisabilité (notée Polarizability), l'hydrophobie globale (AlogP98, calcul de Ghose *et al.* (170)) et un descripteur de charge négative relative noté Jurs-RNCG (Jurs-RNCG= charge de l'atome le plus négatif divisé par la charge négative totale ($Jurs - RNCG = \frac{Q_{max}^-}{Q^-}$)).

Les corrélations entre les coefficients de partage et les propriétés moléculaires sont des corrélations linéaires simples effectuées avec Excel.

Résultats

3 RESULTATS

Le modèle « aliment » que nous avons retenu, un gel laitier sans matière grasse additionné ou non de pectine, a été obtenu en différents lots de production, pour lesquels nous avons effectué des contrôles rhéologiques afin de vérifier la reproductibilité des propriétés de ces gels. Nous avons également vérifié que ni la présence d'adjuvant au sein de la pectine ni l'utilisation de tampon n'avaient d'effet sur les valeurs de coefficients de partage mesurés.

Notre objectif était d'obtenir des données fiables de coefficients de partage liquide-vapeur afin d'étudier *in fine* l'impact de la structure des composés volatils sur le phénomène rétention/libération. Dans ce but, nous avons déterminé les coefficients de partage entre phase liquide ou gel et phase gazeuse en mettant en œuvre la méthode PRV (Phase Ratio Variation) pour plus de cinquante composés volatils dans des conditions d'équilibre thermodynamique identiques pour tous les composés. Après avoir vérifié la fiabilité des valeurs de coefficients de partage, nous avons retenus 28 molécules.

Afin d'identifier l'impact de la pectine, du gel laitier ainsi que celui de l'eau en tant que milieu de référence, nous avons étudié l'équilibre rétention-libération pour les 28 molécules odorantes dans les cinq milieux.

La démarche suivie pour l'étude proprement dite de l'impact des composés d'arôme sur leur libération-rétention consiste en l'étude de la relation entre structure des composés d'arôme et leur rétention/libération en utilisant des corrélations entre les valeurs de coefficients de partage et quatre propriétés moléculaires : hydrophobie globale, surface moléculaire, polarisabilité et densité de charge négative.

Cette démarche permet de mettre en exergue les propriétés moléculaires mises en jeux ou les caractéristiques structurales influant sur la libération-rétention. Pour cela, nous avons commencé par étudier les corrélations entre coefficients de partage et descripteurs pour l'ensemble des 28 molécules sélectionnées dans un premier temps. Puis nous avons étudié ces corrélations au sein de groupes de composés appartenant à une famille chimique différente (esters, aldéhydes cétones) ou à une famille structurale différente (linéarité, ramification, insaturation) dans un second temps.

Cette partie est construite en quatre étapes :

- Caractérisation des différents milieux
- Obtention des coefficients de partage
- Étude de l'impact de la nature du milieu modèle
- Étude des relations structure-propriété

3.1 Caractérisation des différents milieux

3.1.1 Gels de pectine

Afin de vérifier la répétabilité du procédé de fabrication des gels de pectine, le pH et la viscosité apparente η ont été mesurés sur 5 essais de fabrication de gel de pectine à 0.8% (m/m) à J+4. L'étude de répétabilité a été menée avec les gels à 0.8% en supposant que s'ils étaient répétables, des gels deux fois moins concentrés (0.04%) le seraient aussi.

Ces gels contiennent du sorbate de potassium utilisé comme conservateur afin de prévenir toute prolifération bactérienne, qui pourrait modifier les propriétés des gels. L'utilisation d'un lot de gel de pectine étant prévu sur 15 jours, nous avons également contrôlé que la viscosité des gels et le pH étaient stables dans le temps. Ainsi les mesures de pH et de viscosité apparente ont été effectuées à J+4, J+15 et J+28.

La valeur moyenne de viscosité apparente η des gels obtenus sur 5 fabrications est de $0.042 \text{ Pa.s} \pm 0.002$. La valeur moyenne du pH était de 3.5 ± 0.03 . Le procédé de fabrication peut être jugé répétable.

Les valeurs de η et de pH obtenus sur un gel à 0.8% de pectine à J+4, J+14 et J+28 sont présentées dans le Tableau 7.

Tableau 7 : Viscosité apparente et valeur de pH de gel de pectine à 0.8% au cours de la conservation.

temps	η à 400 s ⁻¹ (Pa.s)	pH
J+4	0.042 ± 0.002	3.52 ± 0.03
J+15	0.044 ± 0.003	3.58 ± 0.03
J+28	0.046 ± 0.002	3.48 ± 0.02

Les valeurs de η et de pH n'évoluent pas significativement avec le temps. Les propriétés des gels restent donc stables au moins jusqu'à 15 jours (voire plus), durée pendant laquelle ils pourront être utilisés.

3.1.2 Gels laitiers

Les gels laitiers ont été obtenus à partir de poudre de lait délipidé et par acidification avec de la glucono-delta-lactone. Les valeurs de viscosité apparente et de pH mesurées à J+2 sur 3 gels laitiers et 3 gels laitiers additionnés de pectine à 0.05% sont présentées ci-dessous (Tableau 8).

Tableau 8 : Valeurs de η et de pH mesurées à J+2 sur 3 gels laitiers simples et 3 gels laitiers avec pectine.

	η à 650 s ⁻¹ (Pa.s)	pH
Gel laitier	0.074 ± 0.002	4.08 ± 0.07
Gel laitier + pectine	0.076 ± 0.002	3.93 ± 0.09

La variabilité sur les mesures de viscosité apparente des trois lots de gels laitiers avec ou sans pectine est très faible, de même que pour les valeurs de pH. Nous pouvons donc conclure que notre procédé d'acidification par la GDL et les étapes de lissage du gel laitier sont répétables. On note également que l'addition de pectine à faible concentration (0.05%) ne modifie pas significativement la viscosité du gel laitier.

3.2 Obtention des coefficients de partage

La méthode PRV (Phase Ratio Variation) utilisée lors de cette étude pour le calcul des coefficients de partage est basée sur la variation du rapport de volume β (V_G/V_M) entre la phase gazeuse (G) et la matrice (M). La validité d'application de cette méthode repose sur deux conditions :

- La concentration des composés dans la matrice (C_M) doit rester constante et égale à la concentration de départ (C_0). En d'autres termes, la concentration des composés d'arôme dans la phase gazeuse (C_G) doit être négligeable devant la concentration dans la matrice.

$$C_M \approx C_{0M}$$

- Les paramètres de régression de la droite $1/A$ vs β (facteur de distribution F et coefficient de régression r^2) doivent être significatifs.

Par conséquent, si l'équilibre est fortement déplacé vers la phase vapeur, C_G n'est plus négligeable devant C_M , donc $C_M \neq C_{0M}$. Dans ce cas, la méthode PRV ne peut plus être appliquée.

Si l'équilibre est fortement déplacé vers phase liquide, il y a peu de variation de A en fonction de β .

Deux cas sont illustrés par la Figure 16.

Figure 16-a : cas d'une droite de régression exploitable pour le calcul de C_G/C_M .

Figure 16-b : faible variation de la surface des pics chromatographiques en fonction du rapport des volumes : la régression n'est alors pas significative et la valeur du coefficient de partage ne peut pas être mesurée.

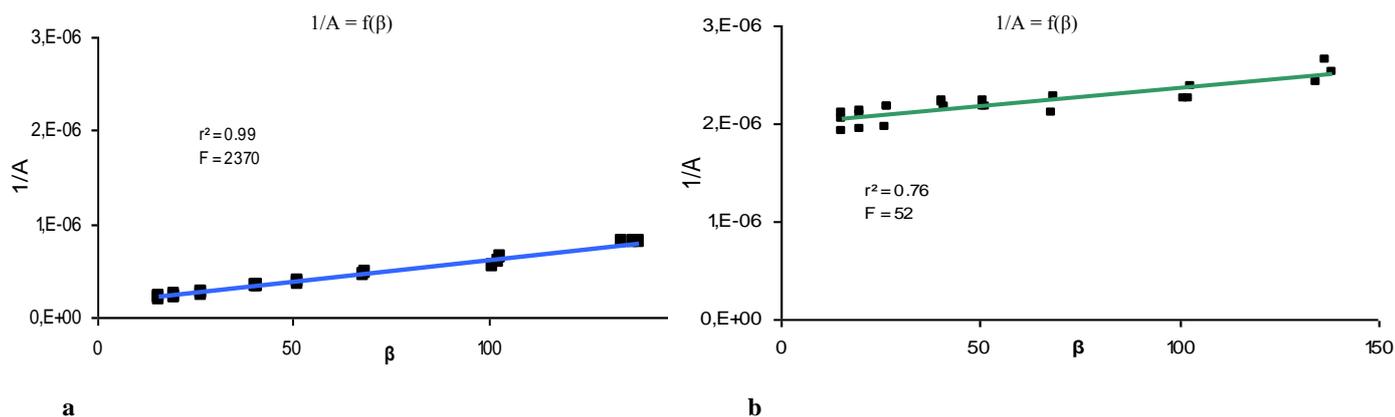


Figure 16. Droite de régression $1/A = f(\beta)$: (a) pour le pentanoate d'éthyle dans l'eau ; (b) pour le 2-méthylpentan-ol dans l'eau.

En raison de ces limites, les valeurs de coefficient de partage n'ont pas pu être mesurées pour tous les composés volatils que nous avons sélectionnés. La détermination des coefficients de partage dans tous les milieux n'a pas pu être effectuée par la méthode PRV pour 23 composés. Parmi ceux-ci se trouvent la totalité des alcools dont la rétention est trop importante, en particulier dans les gels laitiers, pour qu'une variation significative des pics chromatographique en fonction de β soit obtenue. Il en est de même pour 3 esters (index 48, 50 et 51), 3 cétones (index 28, 29 et 30) et 2 aldéhydes (index 16 et 17).

De ce fait, les composés se répartissent en trois catégories :

- 28 composés pour lesquels la méthode PRV s'applique dans tous les milieux (Tableau 2) ;
- 12 composés pour lesquels la méthode PRV s'applique uniquement dans les milieux aqueux (Annexe 1) ;
- 11 composés pour lesquels la méthode PRV ne s'applique dans aucun des milieux (Annexe 2).

Il reste ainsi 28 composés pour l'étude de l'impact de la structure moléculaire des composés d'arôme sur le phénomène rétention/libération : 13 esters, 6 cétones et 9 aldéhydes.

Tableau 9 : Liste des 28 composés dont les coefficients de partage ont été mesurés dans tous les milieux (aldéhydes en orange, cétones en vert, esters en bleu).

index	composé d'arôme	masse molaire (g/mol)	famille
18	2-méthylpent-2-éanal	98	aldéhyde
19	2-éthylbutanal	100	aldéhyde
20	hexanal	100	aldéhyde
21	(Z)-hept-4-éanal	112	aldéhyde
22	heptanal	114	aldéhyde
23	octanal	128	aldéhyde
24	2-éthylhexanal	128	aldéhyde
25	3,5,5-triméthylhexanal	142	aldéhyde
26	2-isopropyl-5-méthylhex-2-éanal	154	aldéhyde
27	hex-5-én-2-one	98	cétone
31	heptan-2-one	114	cétone
32	5-méthylhexan-2-one	114	cétone
33	2-méthylheptan-3-one	128	cétone
34	5-méthylheptan-3-one	128	cétone
35	2,6-diméthylheptan-4-one	142	cétone
36	propanoate d'éthyle	102	ester
37	(E)-but-2-énoate d'éthyle	114	ester
38	2-méthylpropanoate d'éthyle	116	ester
39	butanoate d'éthyle	116	ester

index	composé d'arôme	masse molaire (g/mol)	famille
40	pentanoate d'éthyle	130	ester
41	acétate de 3-méthylbutyle	130	ester
42	(<i>E</i>)-2-méthylbut-2-énoate de méthyléthyle	142	ester
43	(<i>E</i>)-2-méthylbut-2-énoate de propyle	142	ester
44	hexanoate d'éthyle	144	ester
45	(<i>Z</i>)-2-méthylbut-2-énoate de 2-méthylpropyle	156	ester
46	heptanoate d'éthyle	158	ester
47	pentanoate de n-butyle	158	ester
49	(<i>E</i>)-2-méthylbut-2-énoate de 3-méthylbutyle	170	ester

3.3 Étude de l'impact de la nature du milieu modèle

3.3.1 Effet du saccharose, du tampon et du pH

La recherche de l'impact potentiel de la présence de saccharose, de composés constitutifs du tampon citrate et du pH sur les valeurs de coefficients de partage a été effectuée sur un sous-ensemble de 10 molécules appartenant à 4 classes chimiques. Les milieux étudiés étant majoritairement aqueux, les coefficients de partage de trois alcools ont été déterminés. En effet, en rapport avec les limites d'acceptabilité de la méthode PRV, nous avons montré que les aires de pics des alcools en solution aqueuse (eau ou gel de pectine) sont suffisamment importantes pour être utilisées.

L'analyse de la composition de la pectine commerciale CP Kelco a révélé qu'elle est stabilisée avec 20% (m/m) de saccharose. Le saccharose en solution aqueuse peut engendrer une augmentation de la libération des composés d'arôme (51).

Afin de vérifier l'effet de la présence de saccharose dans le gel de pectine sur le coefficient de partage gel/vapeur de composés volatils, nous avons étudié deux types de gel de pectine à 0.4% (m/m), l'un étant à base de pectine purifiée (sans saccharose) et l'autre à base de pectine commerciale (la poudre de pectine commerciale contenant 80% m/m de pectine pure et 20% m/m de saccharose).

Les valeurs de coefficients de partage obtenues dans les deux milieux (Figure 17) avec les dix composés volatils ne sont pas significativement différentes. Par conséquent, la présence de saccharose à cette concentration n'a pas d'effet sur la volatilité relative des composés testés. En effet la concentration finale en saccharose dans le gel de pectine n'est que de 0.1 % (m/m), ce qui est très faible par rapport aux concentrations utilisées dans la littérature pour mettre en évidence l'impact du saccharose sur les coefficients de partage de composés volatils.

Pour la suite de nos expérimentations, nous utiliserons la pectine CP Kelco non purifiée, c'est à dire contenant 20% de saccharose.

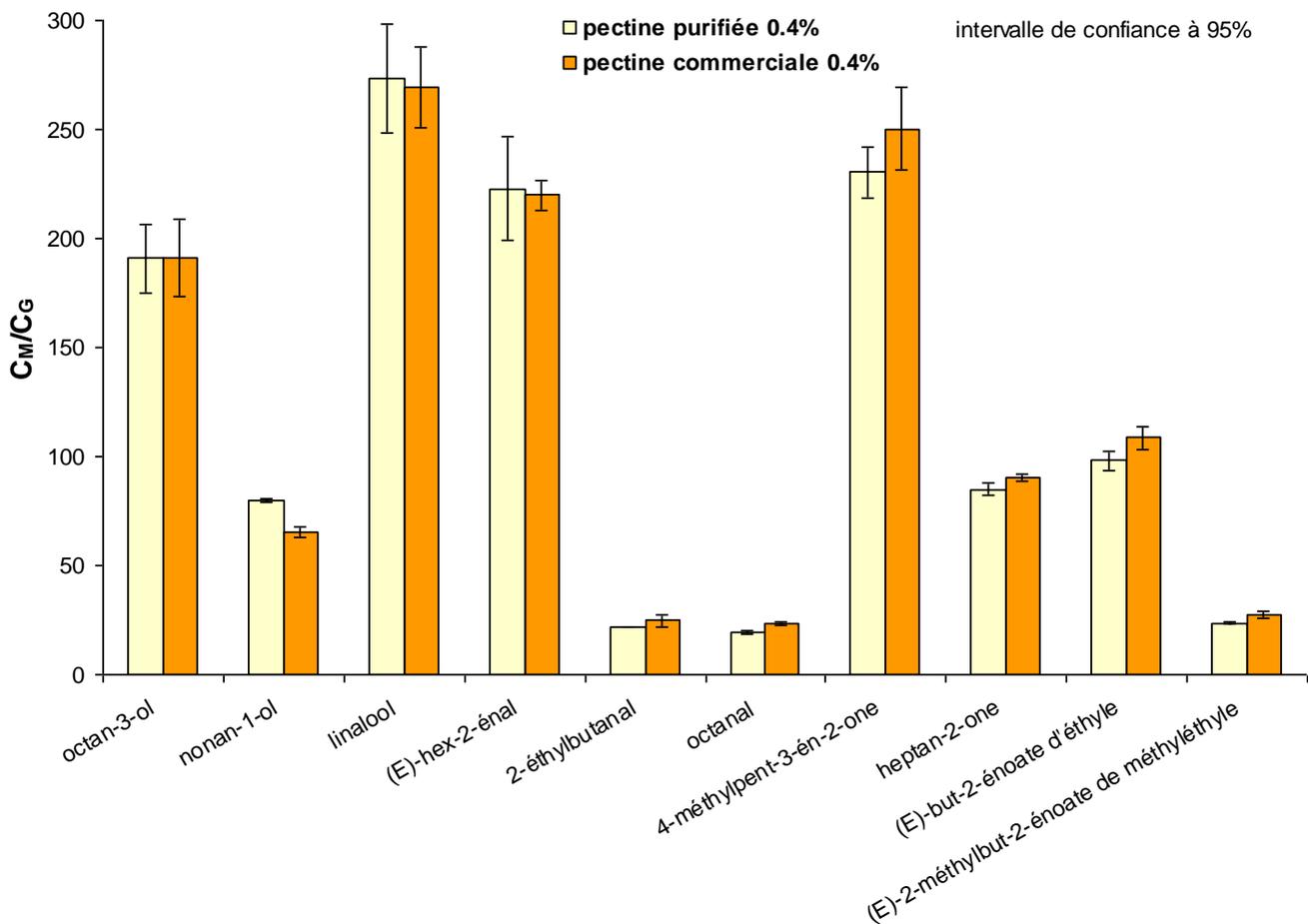


Figure 17: Coefficients de partages des 10 composés d'arôme dans deux milieux : Gel de pectine purifiée à 0.04% (m/m) et gel de pectine commerciale à 0.04% (m/m).

Une autre expérience a été menée afin de mettre en évidence l'effet de tous les constituants mineurs du gel de pectine que sont les sels de citrate de calcium et de sodium et de sorbate de potassium. Les valeurs de constantes de partage sont reportées dans la Figure 18. Les valeurs des coefficients de partage dans l'eau pure ne sont pas significativement différentes des coefficients de partage dans la solution tampon contenant du saccharose. Ces constituants ne modifient donc pas l'équilibre rétention/libération des composés d'arôme. Par ailleurs, cette même expérience montre que l'acidité des gels de pectine (pH=3.5) comparée à celle de l'eau pure n'influe pas sur la rétention/ libération des composés d'arôme.

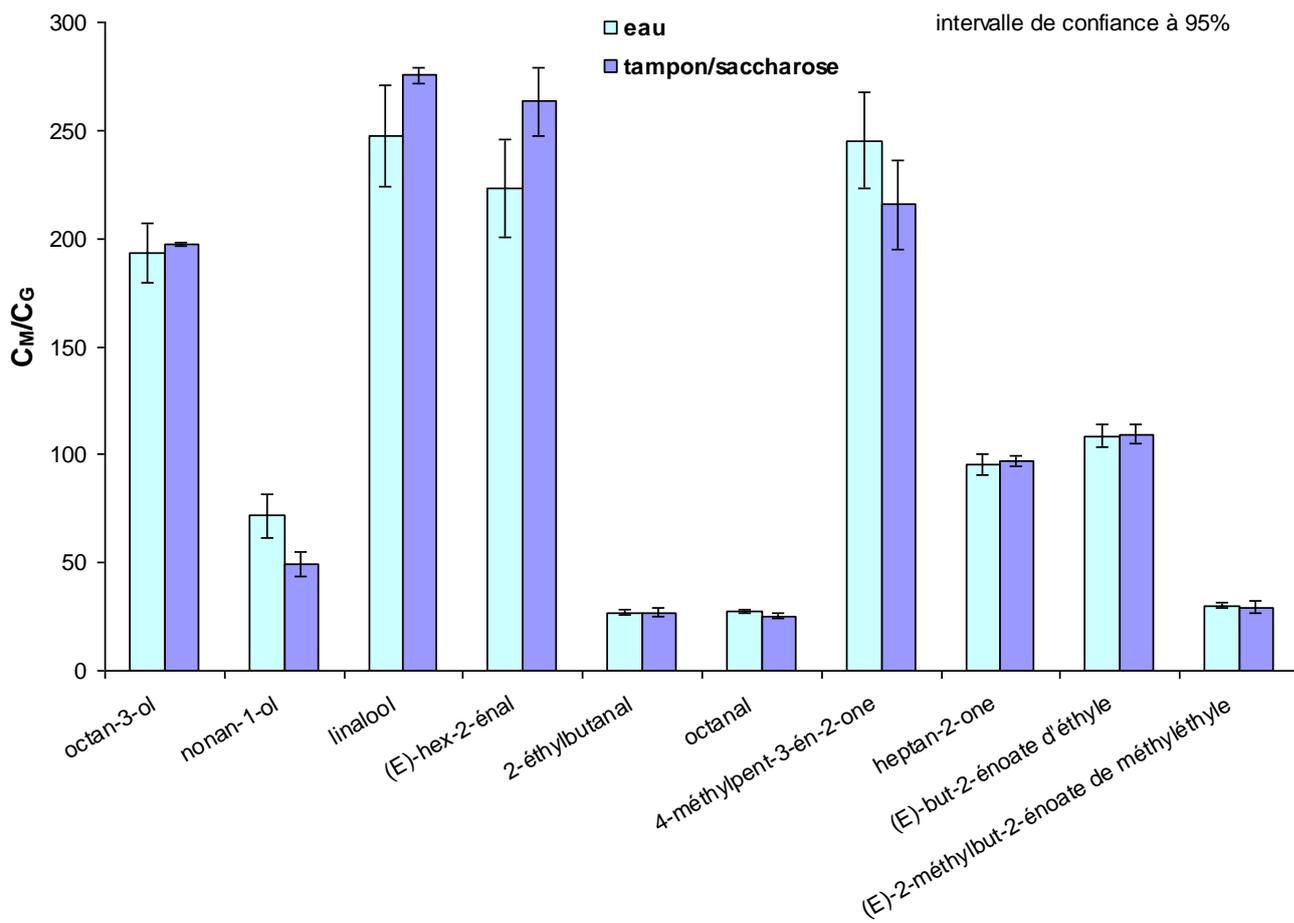


Figure 18 : Coefficients de partages des 10 composés d'arôme dans deux milieux : eau et tampon + 0,1% de saccharose.

3.3.2 Équilibres rétention-libération pour les molécules odorantes dans les cinq milieux

Les constantes d'équilibre de libération des 28 composés d'arôme dans les cinq milieux sont représentées dans la Figure 19 et reportées sur l'Annexe 3. Les composés sont classés de gauche à droite par famille chimique (aldéhydes, cétones et esters) puis par masse molaire croissante. A l'histogramme représentant les valeurs de la constante d'équilibre est ajoutée la courbe des valeurs AlogP98² des composés (l'axe principal des ordonnées indique la valeur de la constante de libération, l'axe secondaire des ordonnées indique la valeur de AlogP98).

L'examen des valeurs des constantes d'équilibre et des intervalles de confiance montre que le déplacement de l'équilibre libération/ rétention ne dépend ni de la classe chimique ni de la masse

² AlogP98 est une valeur calculée du log du coefficient de partage octanol-eau (logiciel DS ViewerPro, Acclerys Inc.)

molaire des composés d'arôme. En effet, d'une part, les composés les plus libérés (K_{lib} important) ou les moins libérés (K_{lib} faible) se trouvent aussi bien parmi les aldéhydes, que parmi les cétones et les esters, que ce soit dans les milieux aqueux ou dans les gels laitiers. D'autre part, quelque soit la famille chimique ou le milieu, la libération plus ou moins importante n'est liée ni à la masse molaire, ni à l'hydrophobie des molécules.

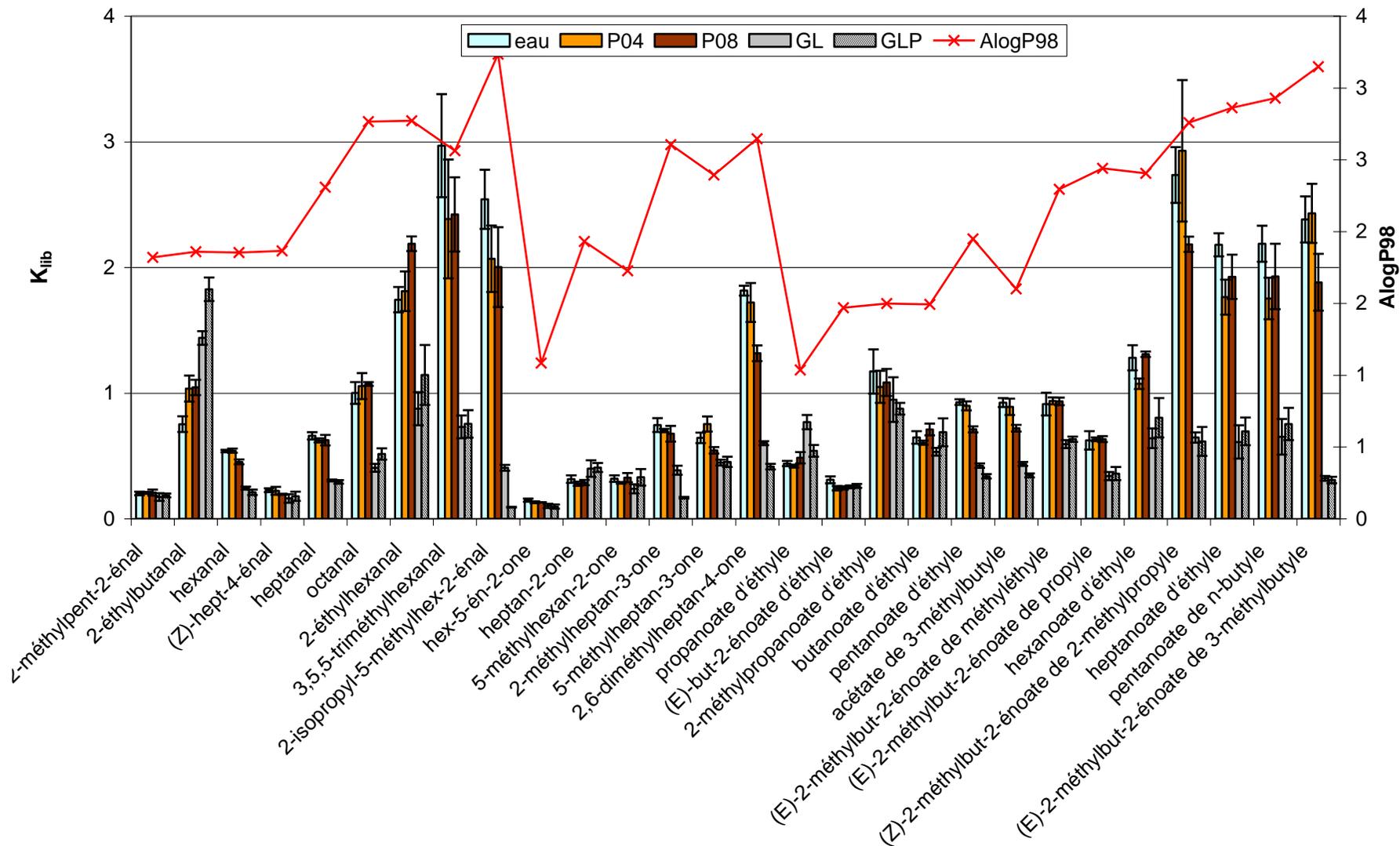


Figure 19 : Equilibre libération /rétention des 28 composés d'arôme dans l'eau (eau), le gel de pectine à 0.4% (P04), le gel de pectine à 0.8% (P08), le gel laitier simple (GL) et le gel laitier additionné de pectine à 0.05% (GLP).

3.3.3 Recherche de l'effet pectine.

L'influence de la pectine sur le phénomène rétention/libération des composés volatils a été déterminée en étudiant l'équilibre rétention-libération au sein des milieux suivants :

- gels de pectine à 0.4 et 0.8%.
- gel laitier à 0.05% de pectine pour mettre en évidence un éventuel effet de la pectine en association avec les protéines lactières.

Les constantes d'équilibre liquide-vapeur des 28 composés mesurées dans les deux gels de pectine ne sont pas significativement différentes de celles qui ont été mesurées dans l'eau (Figure 19).

Par conséquent, nous pouvons conclure qu'il n'y a pas d'effet de la présence de pectine sur la rétention/libération des composés d'arôme.

Globalement, nous avons constaté que les valeurs de coefficient de partage mesurée pour chaque sont très bien corrélées aux valeurs de coefficient de partage de chacun des autres milieux. Ceci indique qu'il n'y a pas de différence notable entre les constantes d'équilibre mesurées dans le gel laitier avec pectine et dans le gel laitier sans pectine, sauf pour certains composés (Figure 19):

- 2 aldéhydes (19, 23), pour lesquels la libération est plus importante dans le gel laitier avec pectine
- 1 aldéhydes (26), 2 cétones (33, 35) et 4 esters (36, 39, 40, 41) pour lesquels la libération est plus importante dans le gel laitier simple

Malgré ces différences, la pectine ne semble pas modifier la libération rétention des composés d'arôme dans les gels laitiers.

Etant donné que la pectine ne modifie apparemment pas la rétention/libération des composés d'arôme à la fois dans les milieux aqueux et dans les gels laitiers, seuls les milieux eau et gel laitier seront pris en compte pour la suite de notre étude.

3.3.4 Etude de la rétention/libération dans le gel laitier.

Pour mieux rendre compte du sens de déplacement des équilibres, nous avons utilisé la constante

d'équilibre thermodynamique dans le sens libération : $K_{lib} = \frac{C_G}{C_M} RT$

Les valeurs de K_{lib} dans l'eau et dans le gel laitier calculées sont reportées en échelle logarithmique dans l'histogramme (Figure 20). Cet histogramme montre que la plupart des équilibres sont déplacés vers la phase liquide ($K_{lib} < 1$). La libération des composés d'arôme est significativement plus importante dans l'eau que dans le gel laitier : dans l'eau, les équilibres sont déplacés vers la phase vapeur pour 8 composés : 3 aldéhydes (24, 25 et 26), 1 cétone (34) et 5 esters (38, 44, 45, 46, 47 et 49), alors que dans le gel laitier, le déplacement vers la phase vapeur n'est observé que pour le 2-éthylbutyraldéhyde (19).

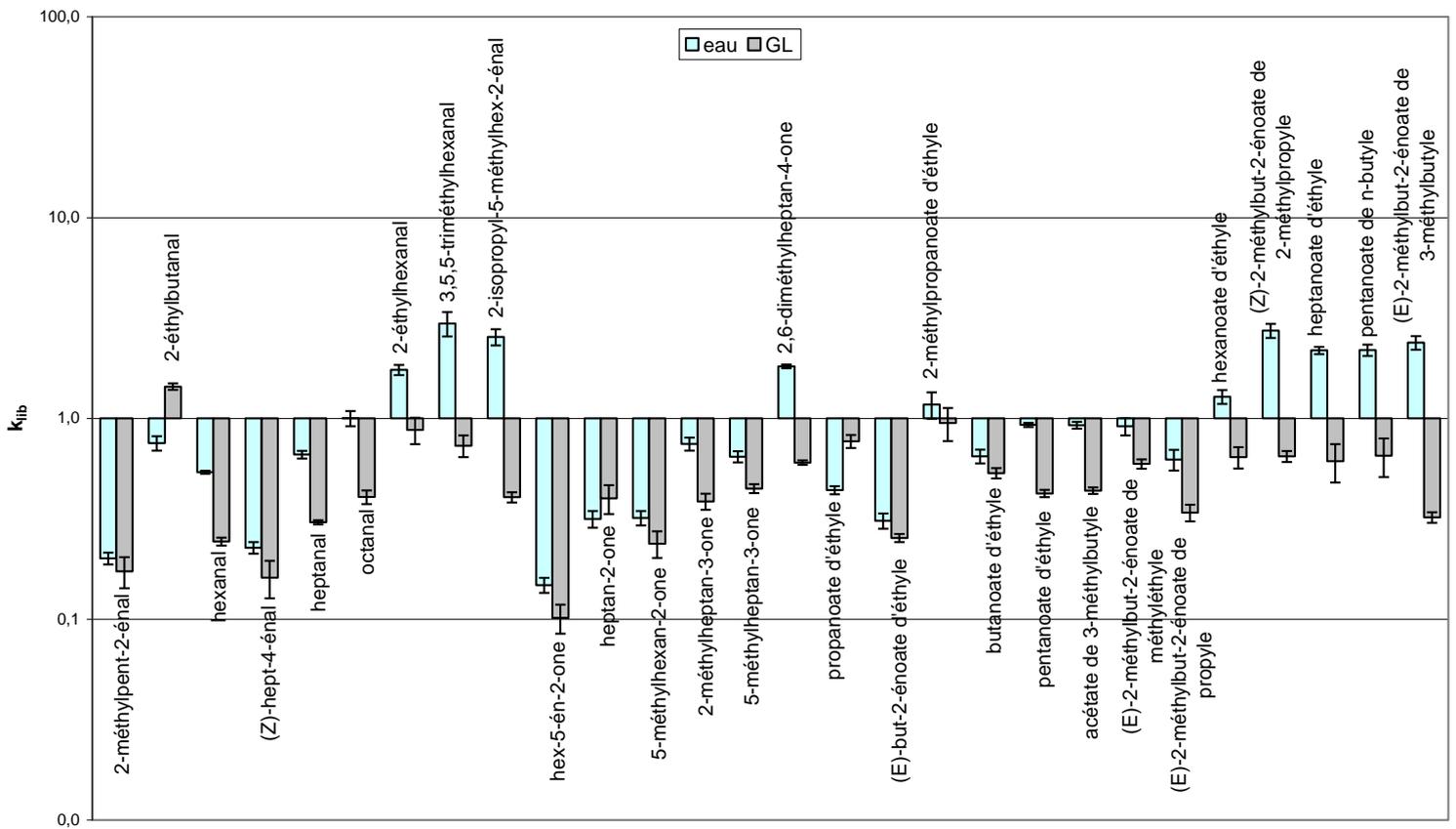


Figure 20: Valeurs de K_{lib} pour les 28 composés d'arôme dans l'eau et dans le gel laitier simple (GL) en échelle logarithmique.

3.3.5 Conclusion

Au vu des résultats concernant cette partie, nous retenons que la présence de pectine n'a pas entraîné d'effet significatif apparent sur le phénomène libération/rétention des composés d'arôme aux concentrations testées.

Par conséquent, l'étude de l'impact de la structure des composés d'arôme sur le phénomène rétention-libération concerne uniquement les 28 molécules du Tableau 9 dans deux milieux : l'eau et le gel laitier sans pectine.

Les équilibres étaient majoritairement déplacés dans le sens de la rétention, nous allons donc utiliser le coefficient de partage dans le sens rétention (C_M/C_G).

De plus, pour rendre compte de l'effet propre aux molécules du lait en s'affranchissant de l'effet de l'eau nous utiliserons un coefficient de partage fictif entre l'eau et le gel laitier. Ce coefficient de partage que nous appellerons « *Ratio* » est le rapport du coefficient de partage dans le gel laitier sur le coefficient de partage dans l'eau $(C_M/C_G)_{GL}/(C_M/C_G)_{eau}$. Ainsi, pour une même concentration dans la matrice, cette expression se simplifie en donnant :

$$"Ratio" = \frac{C_{G.eau}}{C_{G.GL}}$$

Si la valeur de « *Ratio* » est supérieure à 1, cela signifie que la rétention est plus importante dans le gel laitier. A l'opposé, si la valeur de « *Ratio* » est inférieure à 1, cela signifie que la rétention est plus importante dans l'eau.

3.4 Etude des relations structure-propriété

Comme nous l'avons vu sur la Figure 19, il n'apparaît pas de relation simple entre la valeur du coefficient de partage des composés et leur fonction chimique, leur masse molaire ou leur hydrophobie. Pour comprendre et mettre en évidence les effets de la structure des composés volatils sur leur comportement de libération ou de rétention dans un milieu donné, il est nécessaire de s'intéresser à d'autres propriétés moléculaires. Nous avons donc mis en œuvre une étude des relations structure-propriété (relations entre la structure des composés volatils et leur rétention/libération) en utilisant de manière simple l'approche QSAR/QSPR (Quantitative Structure-Activity/Property Relationships), qui consiste ici à établir des corrélations linéaires simples entre des descripteurs moléculaires et les coefficients de partage (142).

Pour rendre compte des interactions moléculaires impliquées dans le phénomène de rétention/libération, il faut choisir les descripteurs appropriés. Pour guider ce choix, il faut prendre en compte la mise en jeu des propriétés des chaînes carbonées des composés d'arôme, qui peuvent être traduites par l'hydrophobie globale, la surface des molécules et leur polarisabilité. Par ailleurs, les milieux étudiés étant aqueux et l'eau fortement polaire, il faut également prendre en compte des interactions de type polaire (liaisons hydrogène).

Notons que le gel laitier étant constitué à la fois d'eau et de protéines, les deux types d'interactions peuvent alors co-exister.

Les descripteurs que nous avons sélectionnés dans le cadre de ce travail sont les suivants :

- AlogP98 (calcul qui prédit le partage entre l'octanol et l'eau et traduit l'hydrophobie globale de la molécule) (170)
- Surface Area (surface de la molécule)
- Polarizability (aptitude à la déformation du nuage électronique de la molécule)
- Jurs-RNCG (rapport de charge de l'atome le plus négatif sur la charge négative globale)

Les descripteurs AlogP98, Surface Area et Polarizability traduisent les propriétés moléculaires liées à l'hydrophobie qui sont impliquées dans les interactions de type van der Waals. Le descripteur Jurs-RNCG traduit la densité de charge négative et les propriétés moléculaires impliquées dans les interactions polaires et les liaisons hydrogènes.

Afin de faciliter l'interprétation de ces corrélations et d'éviter la redondance d'information, nous avons jugé nécessaire de présenter des corrélations entre les descripteurs eux-mêmes qui sont présentées dans des tableaux en couleur grise.

3.4.1 Ensemble des 28 composés

Les trois descripteurs liés à l'hydrophobie sont corrélés entre eux (Tableau 10), mais le fait d'examiner les corrélations avec les coefficients de partage pour chacun d'entre eux peut néanmoins apporter des informations.

Tableau 10 : Matrice de corrélation pour les 4 descripteurs moléculaires pour l'ensemble des 28 composés

	AlogP98	Polarizability	Surface Area	Jurs-RNCG
AlogP98	1			
Polarizability	0.85	1		
Surface Area	0.87	0.93	1	
Jurs-RNCG	-0.44	-0.73	-0.75	1

La gamme des coefficients de partage étant relativement large (10-250) pour l'ensemble des 28 composés, nous avons utilisé les valeurs $\log C_M/C_G$. Toutefois, dans le cas des valeurs « *Ratio* » et pour les sous-groupes de composés lorsque le rapport entre les valeurs extrêmes de C_M/C_G est de l'ordre de 10, il est préférable d'utiliser directement les valeurs de coefficient de partage.

Les coefficients de corrélation entre les valeurs de coefficient de partage (C_M/C_G dans l'eau, dans le gel laitier et « *Ratio* ») et les quatre descripteurs sélectionnés sont reportés dans le Tableau 11.

Tableau 11 : Coefficients de corrélation (r) entre les coefficients de partage et les descripteurs AlogP98, Polarizability et Surface Area.

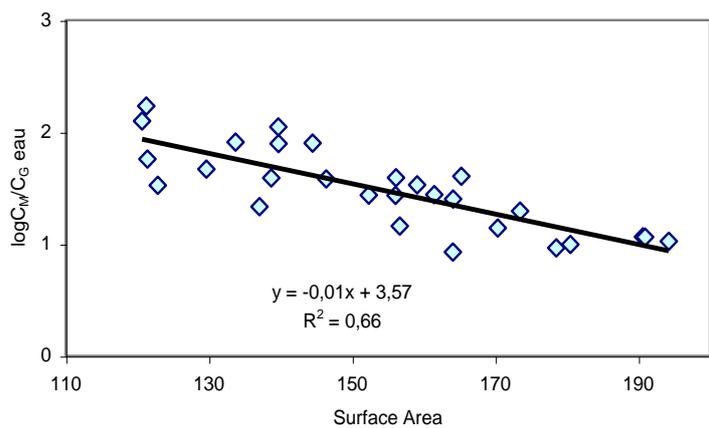
	AlogP98	Polarizability	Surface Area	Jurs-RNCG
$\log(C_M/C_G)_{\text{eau}}$	-0.76	-0.73	-0.82	0.66
$\log(C_M/C_G)_{\text{GL}}$	-0.26	-0.15	-0.31	0.34
« <i>Ratio</i> »	0.75	0.77	0.83	-0.54

Pour l'ensemble des 28 composés étudiés, la corrélation entre les valeurs des coefficients de partage rétention-libération et AlogP98, Surface Area et Polarizability est moyenne pour l'eau et

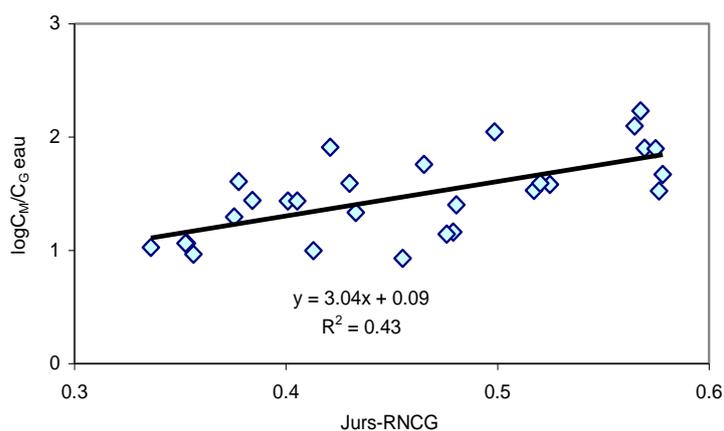
le « *Ratio* », les meilleures valeurs de r sont obtenues avec Surface Area, AlogP98 et Polarizability, donnant des résultats très proches. Les corrélations sont encore moins bonnes avec le descripteur Jurs-RNCG qui caractérise la polarité. Les corrélations entre les coefficients de partage dans le gel laitier et chacun des descripteurs sont très faibles dans tous les cas. On remarque aussi une inversion du signe des corrélations : les valeurs $\log(C_M/C_G)_{\text{eau}}$ sont négativement corrélées à AlogP98, Polarizability et Surface Area, tandis que la corrélation est positive avec Jurs-RNCG, et ces tendances sont inversées pour les corrélations entre les valeurs « *Ratio* » et les descripteurs.

Nous avons reporté graphiquement les valeurs des coefficients de partage dans l'eau et le gel laitier et la valeur « *Ratio* » en fonction des valeurs Surface Area et Jurs-RNCG (Figure 21).

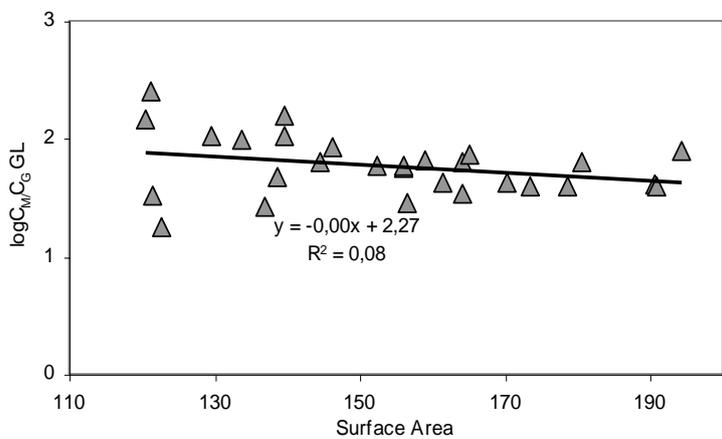
Dans le cas de l'équilibre avec l'eau, le graphe de corrélation met en évidence une tendance à la diminution de la rétention avec une augmentation de la surface du composé volatil. Cette tendance est moins marquée mais est inversée entre $\log(C_M/C_G)_{\text{eau}}$ et Jurs-RNCG.



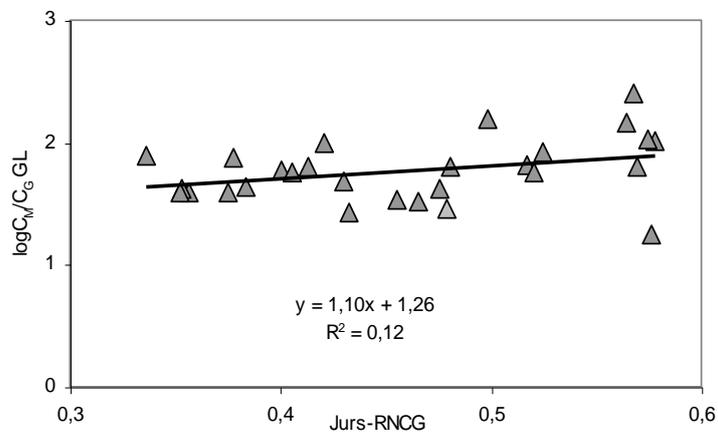
a



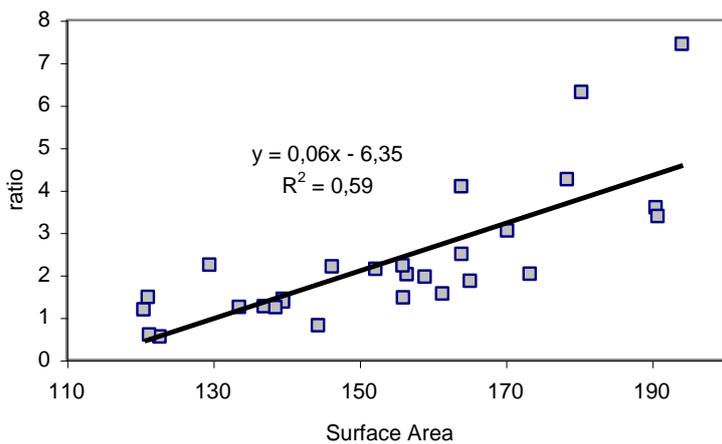
b



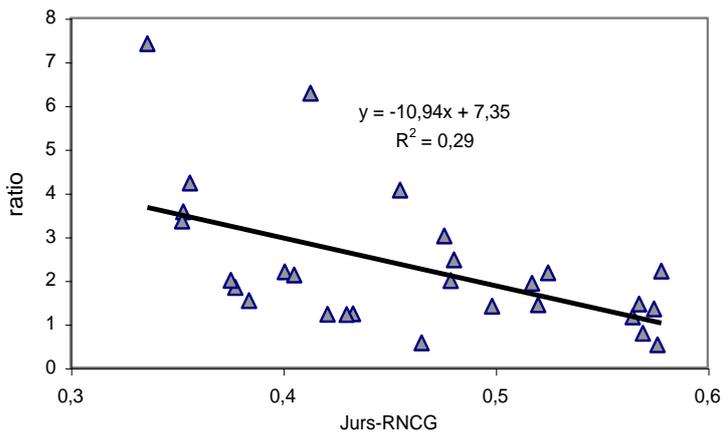
c



d



e



f

Figure 21 : Graphes de corrélation entre descripteurs Surface Area et Jurs-RNCG et coefficients de partage : (a) et (b) $\log(CM/CG)$ eau ; (c) et (d) $\log(CM/CG)GL$; (e) et (f) « ratio ».

Bien que la corrélation entre les coefficients de partage dans le gel laitier et chacun de ces trois descripteurs soit très faible, la représentation graphique fait toutefois apparaître une faible tendance négative entre les valeurs $\log(C_M/C_G)_{GL}$ et Surface Area, positive entre $\log(C_M/C_G)_{GL}$ et Jurs-RNCG.

En utilisant les valeurs « *Ratio* », on observe cette fois des corrélations moyennes positives avec les 3 descripteurs AlogP98, Surface Area et Polarizability. La corrélation entre les valeurs de « *Ratio* » et Jurs-RNCG est faible, mais on observe une tendance à une diminution de la rétention avec l'augmentation des valeurs de ce descripteur.

3.4.2 Sous-groupes de composés

Notre sélection de composés volatils a été conduite pour faire en sorte d'avoir des molécules, qui pour un nombre identique de carbones, pouvaient présenter soit une ramification soit une insaturation et cela en plus de la variation de classe chimique. Nous avons étudié des sets de composés volatils, la répartition étant faite d'abord en fonction de la famille chimique puis de la structure de la chaîne carbonée afin de mettre en évidence le rôle de cette structure dans le phénomène de libération/rétention.

3.4.2.1 Familles chimiques

Les esters

L'histogramme de la Figure 22 représente les valeurs de C_M/C_G obtenues pour les esters dans l'eau et le gel laitier. Les molécules sont classées, par masse molaire croissante et la courbe correspondant aux valeurs de AlogP98 est reportée. De même que pour l'ensemble des 28 composés, les variations des valeurs de coefficient de partage dans les deux milieux (Figure 22) ne correspondent pas aux variations des valeurs de AlogP98.

La rétention est plus forte dans le gel laitier pour la majorité des esters, à l'exception :

- de ceux pour lesquels, il n'y a pas de différence de rétention significative entre les deux milieux : 2-méthylpropanoate d'éthyle (38), (*E*)-but-2-énoate d'éthyle (37) et butanoate d'éthyle (39),
- du propanoate d'éthyle (36) pour lequel la rétention est plus forte dans l'eau que dans le gel laitier.

Ces quatre composés ont un nombre de carbone inférieur ou égal à 6.

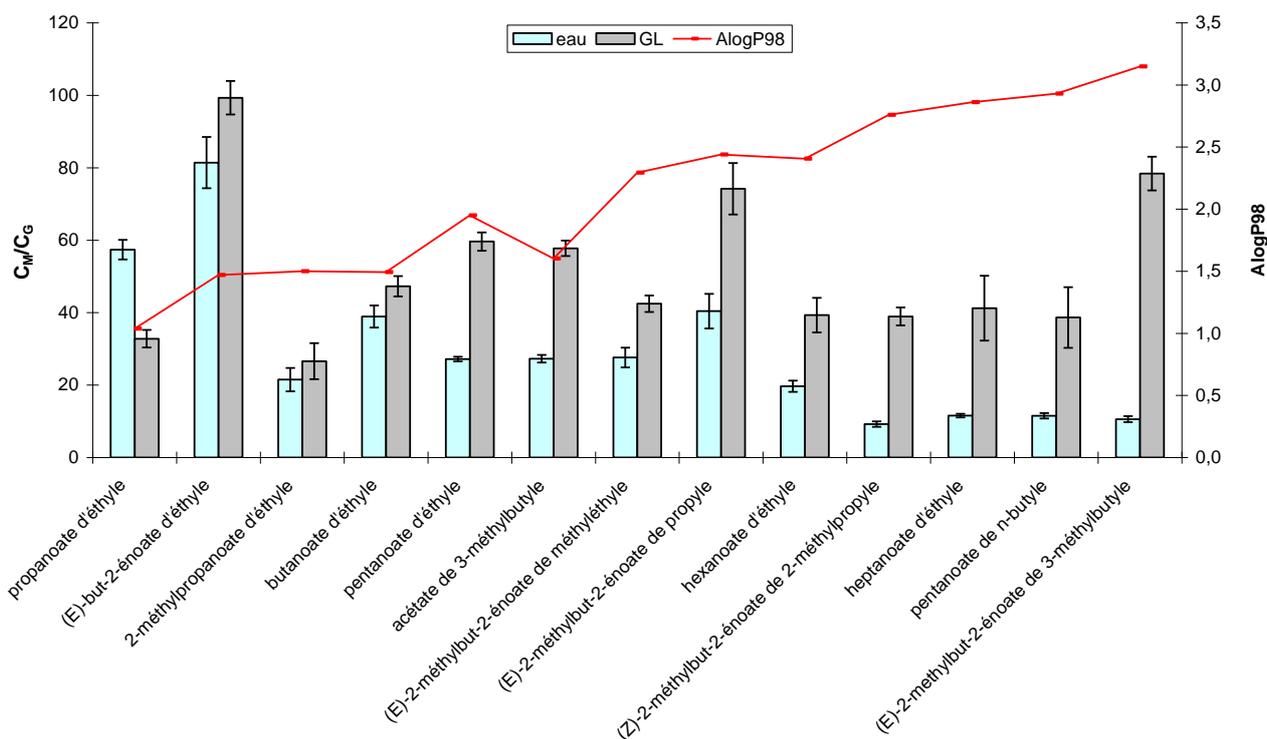


Figure 22 : Coefficients de partage pour le sous-groupe des 13 esters et valeurs de AlogP98 dans l'eau et dans le gel laitier (GL).

Pour ce sous-groupe, tous les descripteurs sont très fortement corrélés, la corrélation du descripteur Jurs-RNCG avec les autres descripteurs étant négative (Tableau 12).

Tableau 12 : Matrice de corrélation (r) entre les descripteurs AlogP98, Surface, Polarisabilité et Jurs-RNCG, pour le sous-groupe des 13 esters.

	AlogP98	Surface Area	Polarizability	Jurs-RNCG
AlogP98	1			
Surface Area	0,98	1		
Polarizability	0,97	0,93	1	
Jurs-RNCG	-0,98	-0,98	-0,98	1

Les corrélations entre les descripteurs et les coefficients de partage sont reportées Tableau 13. Les coefficients de partage dans l'eau sont médiocrement et négativement corrélés avec les descripteurs AlogP98, Surface Area et Polarizability. Ils sont moyennement et positivement corrélés avec le descripteur Jurs-RNCG. Il n'y a pas de corrélation entre les coefficients de partage dans le gel laitier et l'ensemble des descripteurs. Par contre les valeurs du « *Ratio* » donnent les meilleures corrélations, positives avec les descripteurs AlogP98, Surface Area et Polarizability, négative avec le descripteur Jurs-RNCG.

Tableau 13 : Coefficients de corrélation (r) entre les descripteurs AlogP98, Surface, Polarisabilité et Jurs-RNCG, et les coefficients de partage pour l'ensemble des esters.

	AlogP98	Surface Area	Polarizability	Jurs-RNCG
(C _M /C _G)eau	-0,72	-0,77	-0,64	0,70
(C _M /C _G)GL	0,04	-0,01	0,17	-0,13
« <i>Ratio</i> »	0,80	0,80	0,84	-0,81

Les aldéhydes

Le groupe des aldéhydes est constitué de 3 molécules linéaires (20, 22 et 23), 3 molécules ramifiées (19, 24, et 25), 1 molécule insaturée (21) et 2 molécules à la fois ramifiées et insaturées (18 et 26).

La Figure 23 montre l'histogramme représentant les rétentions des aldéhydes dans l'eau et le gel laitier, classés par masse molaire croissante ainsi que la courbe correspondant aux valeurs de AlogP98. Comme nous l'avons constaté pour l'ensemble des composés et pour les esters, les valeurs de coefficient de partage dans les deux milieux ne sont pas corrélées avec les valeurs de AlogP98. Tous les composés sont plus retenus dans le gel laitier que dans l'eau sauf le 2-éthylbutanal (19) qui est plus retenu dans l'eau et le 2-méthylpent-2-éanal (18) pour lequel il n'y pas de différence significative de rétention entre les milieux.

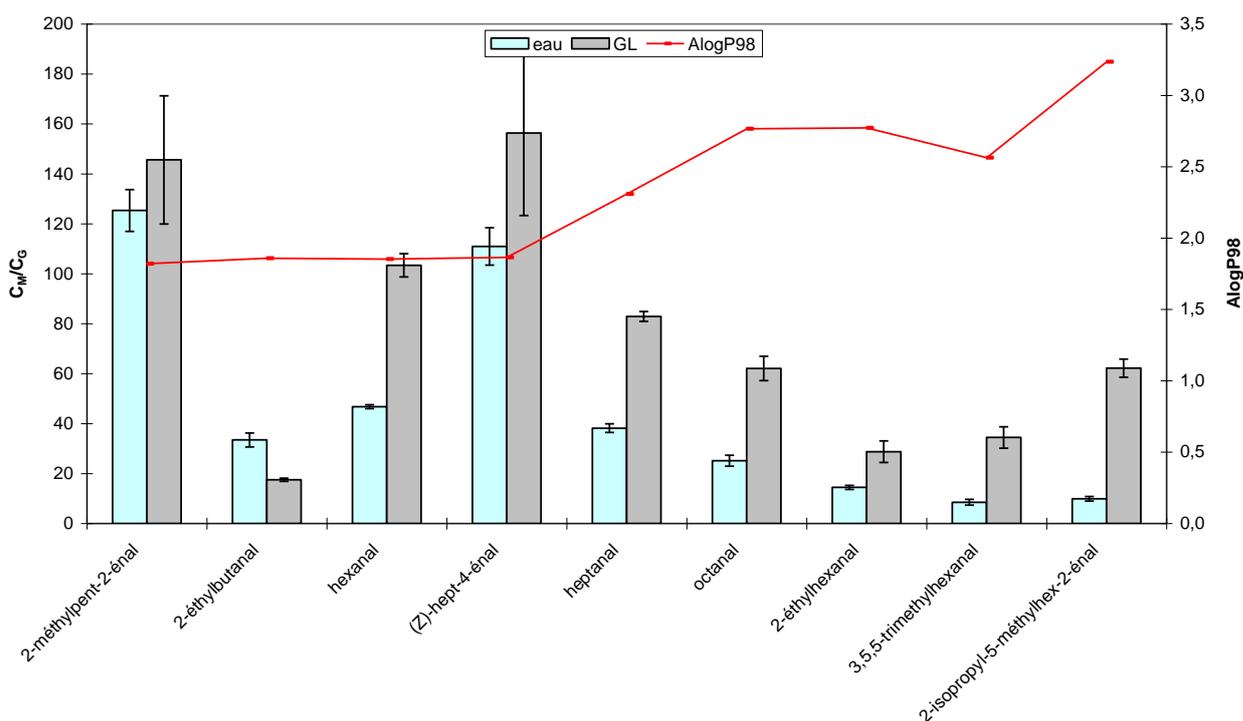


Figure 23 : Coefficients de partage du sous-groupe des 9 aldéhydes et courbe des valeurs du descripteur AlogP98 dans l'eau et dans le gel laitier (GL).

Les corrélations entre les descripteurs sont fortes, les descripteurs les moins corrélés étant AlogP98 et Polarisabilité d'une part et AlogP98 et Jurs-RNCG d'autre part (Tableau 14).

Tableau 14 : Coefficients de corrélation (r) entre les descripteurs AlogP98, Surface, Polarisabilité et Jurs-RNCG pour le sous-groupe des 9 aldéhydes.

	AlogP98	Surface Area	Polarizability	Jurs-RNCG
AlogP98	1			
Surface Area	0,95	1		
Polarizability	0,87	0,92	1	
Jurs-RNCG	-0,89	-0,96	-0,96	1

Si on examine les corrélations entre descripteurs et coefficients de partage (Tableau 15), on constate que les valeurs des quatre descripteurs sont modérément corrélées avec celles des coefficients de partage dans l'eau et très faiblement avec les coefficients de partage dans le gel

laitier. Dans les deux cas, la meilleure corrélation est obtenue avec AlogP98. Les valeurs des descripteurs sont bien corrélées avec celles du « *Ratio* » et la meilleure corrélation dans ce cas est obtenue avec Polarizability.

Tableau 15 : Coefficients de corrélation (r) entre les coefficients de partage et les descripteurs AlogP98, Surface, Polarisabilité et Jurs-RNCG pour le sous-groupe des 9 aldéhydes.

	AlogP98	Surface Area	Polarizability	Jurs-RNCG
$(C_M/C_G)_{\text{eau}}$	-0,72	-0,67	-0,46	0,50
$(C_M/C_G)_{\text{GL}}$	-0,52	-0,41	-0,25	0,28
« <i>Ratio</i> »	0,80	0,85	0,89	-0,82

Les cétones

Le groupe des cétones est constitué par 4 composés ramifiés (32 à 35), 1 insaturé (27) et 1 linéaire (31).

Si on classe ces composés par valeurs de AlogP98 croissantes (Figure 24), on remarque une diminution notable de la rétention avec l'augmentation de AlogP98, aussi bien dans l'eau que dans le gel laitier.

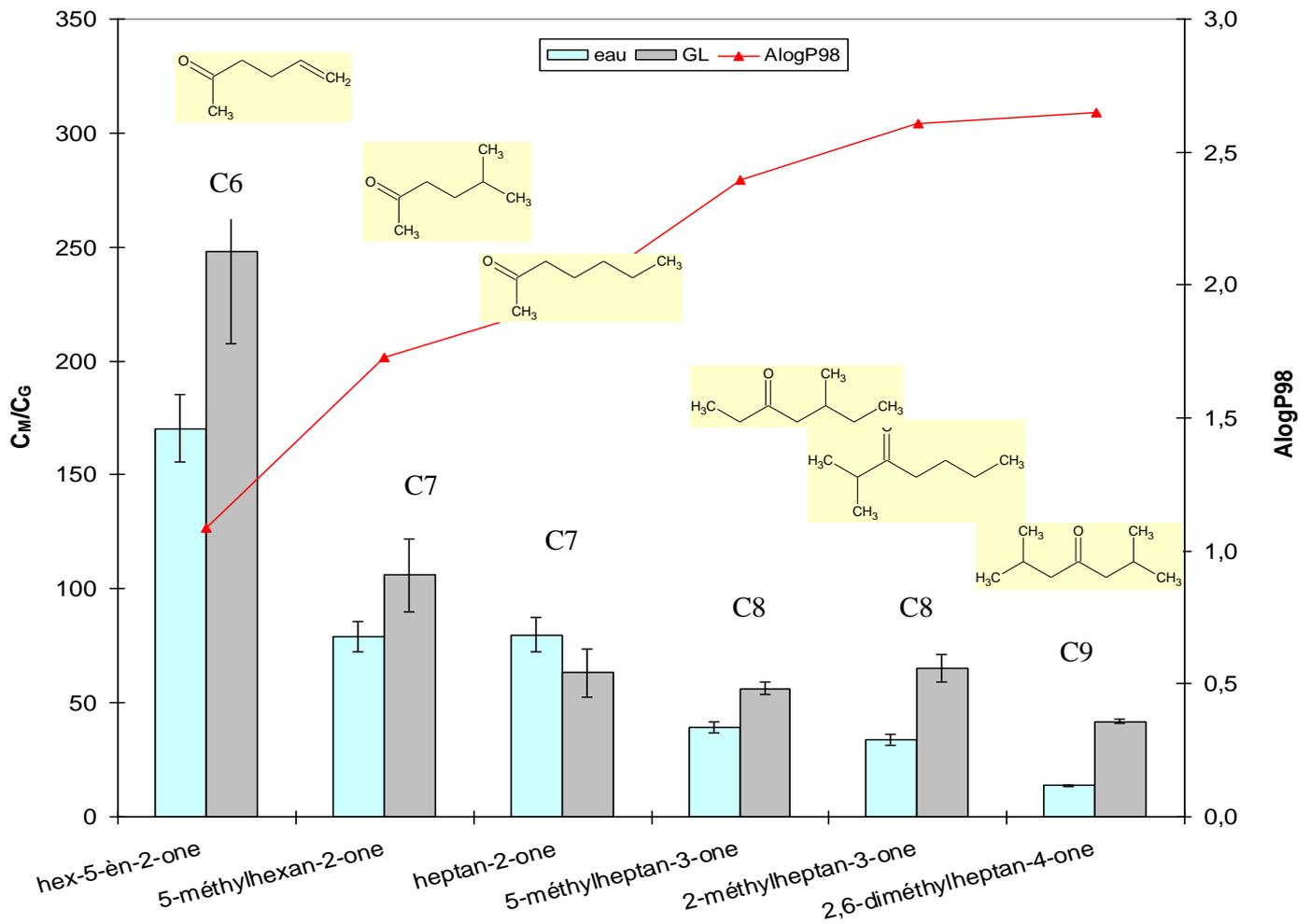


Figure 24 : Coefficients de partage des cétones dans l'eau et dans le gel laitier et valeurs de AlogP98.

Pour ce sous-groupe, il y a une forte corrélation des descripteurs entre eux, Jurs-RNCG et AlogP98 étant les moins corrélés ($r=-0.83$).

Si on examine la corrélation entre l'ensemble des valeurs des coefficients de partage des cétones (dans l'eau et dans le gel laitier) et chacun des 4 descripteurs, on remarque toujours une corrélation négative entre les coefficients de partage et les descripteurs AlogP98, Surface Area et Polarizability (AlogP98 donnant les moins bonnes corrélations), et une corrélation positive avec le descripteur Jurs-RNCG, bonne pour la rétention dans l'eau, plus médiocre pour la rétention dans le gel laitier (Tableau 16).

Tableau 16 : Coefficient de corrélation (r) entre les descripteurs AlogP98, Surface, Polarisabilité et Jurs-RNCG, et les coefficients de partage des cétones.

	AlogP98	Surface Area	Polarizability	Jurs-RNCG
$\log(C_M/C_G)_{\text{eau}}$	-0,93	-0,98	-0,98	0,93
$\log(C_M/C_G)_{\text{GL}}$	-0,93	-0,94	-0,81	0,70
« <i>Ratio</i> »	0,56	0,65	0,84	-0,88

A l'inverse les valeurs de « *Ratio* » sont corrélées positivement avec AlogP98, Surface Area et Polarizability, AlogP98 donnant la moins bonne corrélation et Polarizability la meilleure corrélation. La corrélation avec les valeurs de Jurs-RNCG est négative, mais c'est aussi la meilleure corrélation d'après les valeurs de r.

3.4.2.2 Familles structurales

Pour cette partie, nous avons étudié séparément les équilibres dans les 2 milieux en examinant les corrélations des coefficients de partage dans l'eau, dans le gel laitier et le ratio. Cela nous permet de voir des différences de comportement selon la structure de la chaîne carbonée. Dans chacun des cas nous avons distingué 2 sous-groupes de composés :

- * linéaires (20, 22, 23, 31, 36, 39, 40, 44, 46, 47)
- * Ramifiés et/ou insaturés :
 - Insaturés (21, 27, 37)
 - Ramifiés (19, 24, 25, 32, 33, 34, 35, 38, 41)
 - Insaturés et ramifiés (18, 26, 42, 43, 45, 49)

Globalement pour l'ensemble des sous-groupes, les descripteurs Surface Area et Polarizability sont très bien corrélés entre eux ($|r| \geq 0.98$). Ces descripteurs corrélaient bien avec le AlogP98 ($|r| \geq 0.88$) sauf dans le cas des composés ramifiés. Le Jurs-RNCG ne donne pas de bonne corrélation avec les autres descripteurs sauf dans le cas des composés ramifiés-insaturés avec Surface Area et Polarizability ($r = -0.91$).

Les composés linéaires

Nous avons rassemblé l'ensemble des composés linéaires saturés dans un même sous-groupe afin de mieux comprendre leurs différences et leurs points communs.

La matrice de corrélation entre les quatre descripteurs est reportée dans le Tableau 17. Pour ce sous-groupe, Jurs-RNCG est peu corrélé aux autres descripteurs, en particulier à AlogP98.

Tableau 17 : Coefficient de corrélation (r) entre les descripteurs AlogP98, Surface, Polarisabilité et Jurs-RNCG.

	AlogP98	Surface Area	Polarizability	Jurs-RNCG
AlogP98	1			
Surface Area	0,90	1		
Polarizability	0,88	1	1	
Jurs-RNCG	-0,41	-0,73	-0,73	1

Les corrélations entre les différents coefficients de partage dans l'eau et descripteurs sont reportées dans le Tableau 18 et apparaissent toutes médiocres ($|r| < 0.87$).

Les meilleures corrélations sont observées entre les valeurs « *Ratio* » et les descripteurs AlogP98, Surface Area et Polarizability, tandis que les moins bonnes corrélations concernent d'une part $(C_M/C_G)_{GL}$ avec AlogP98, Surface Area et Polarizability, d'autre part « *Ratio* » avec Jurs-RNCG.

Tableau 18: Corrélations entre les coefficients de partage des composés linéaires saturés et les descripteurs.

	AlogP98	Surface Area	Polarizability	Jurs-RNCG
$(C_M/C_G)_{eau}$	-0,70	-0,79	-0,78	0,80
$(C_M/C_G)_{GL}$	-0,04	-0,41	-0,44	0,77
« <i>Ratio</i> »	0,87	0,82	0,81	-0,52

Si on retire la heptan-2-one, seule cétone du sous-groupe des composés linéaires saturés, les corrélations entre les descripteurs et les coefficients de partage s'améliorent (Tableau 19).

Tableau 19 : Coefficient de corrélation (r) entre les descripteurs AlogP98, Surface, Polarisabilité et Jurs-RNCG et les coefficients de partage des esters et des aldéhydes linéaires saturés.

	AlogP98	Surface Area	Polarizability	Jurs-RNCG
$(C_M/C_G)_{eau}$	-0,89	-0,99	-0,98	0,75
$(C_M/C_G)_{GL}$	-0,03	-0,40	-0,44	0,83
« <i>Ratio</i> »	0,92	0,85	0,84	-0,39

- **Rétention dans l'eau**

Pour les esters et les aldéhydes linéaires, les meilleures corrélations sont obtenues entre les coefficients de partage dans l'eau et les descripteurs Surface Area d'une part et Polarisability d'autre part (Tableau 19). Dans les deux cas, les corrélations sont négatives ; la représentation graphique dans le cas du descripteur « Surface » est présentée Figure 25.

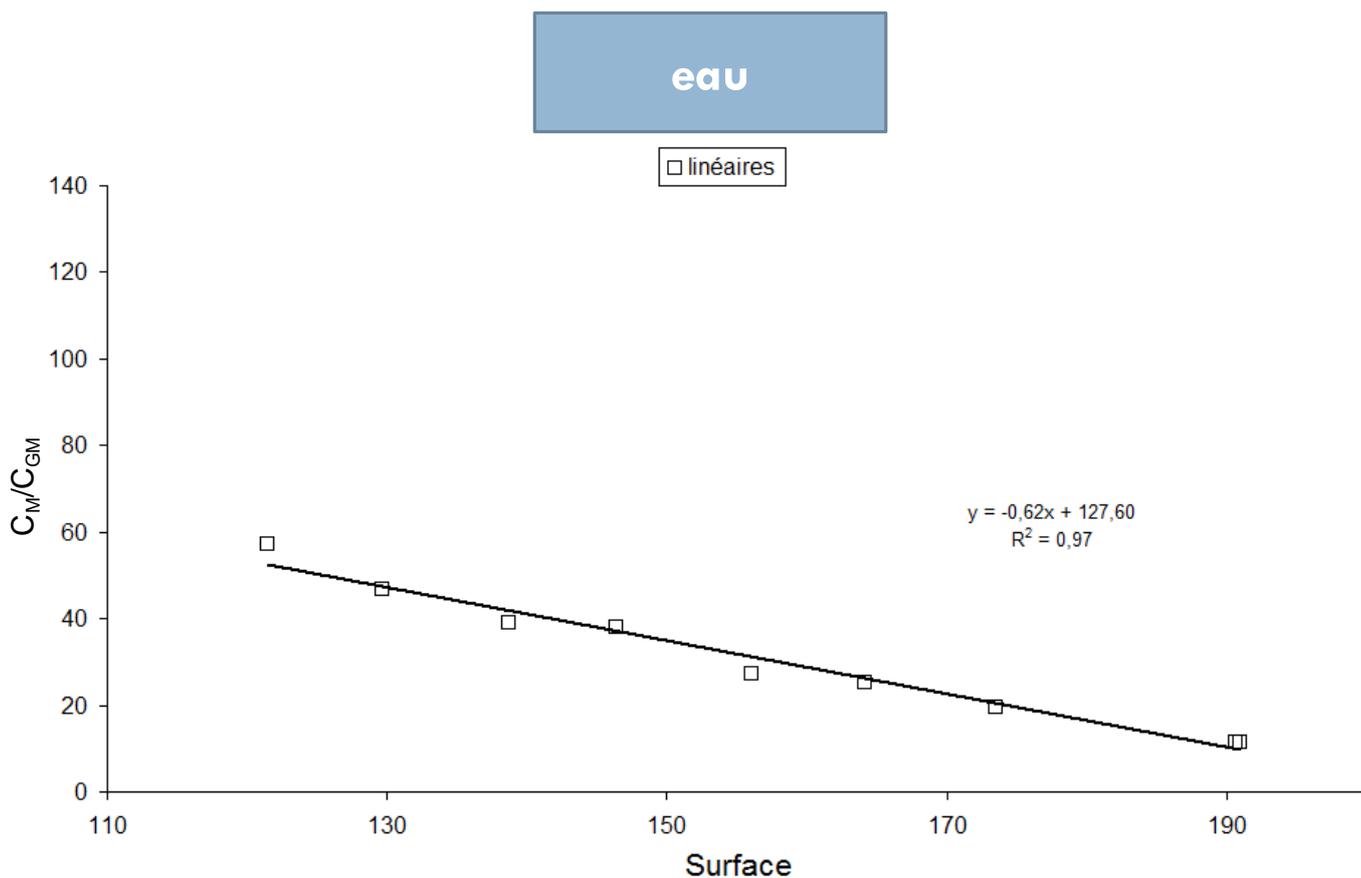


Figure 25 : Corrélation entre les valeurs de surface moléculaire et le coefficient de partage eau/phase vapeur pour les esters et les aldéhydes linéaires saturés

Avec les descripteurs AlogP98 et Jurs-RNCG, il n'est pas possible d'obtenir une bonne corrélation avec les coefficients de partage pour l'ensemble des esters et des aldéhydes linéaires. Par contre, on obtient des corrélations distinctes, l'une pour les esters linéaires saturés et l'autre pour les aldéhydes linéaires saturés.

Le graphe de corrélation entre les valeurs de $(C_M/C_G)_{eau}$ et AlogP98 (Figure 26) montre deux droites de pentes négatives quasiment parallèles (même coefficient directeur). La rétention dans les deux familles chimiques diminue donc de façon linéaire avec l'allongement de la chaîne carbonée.

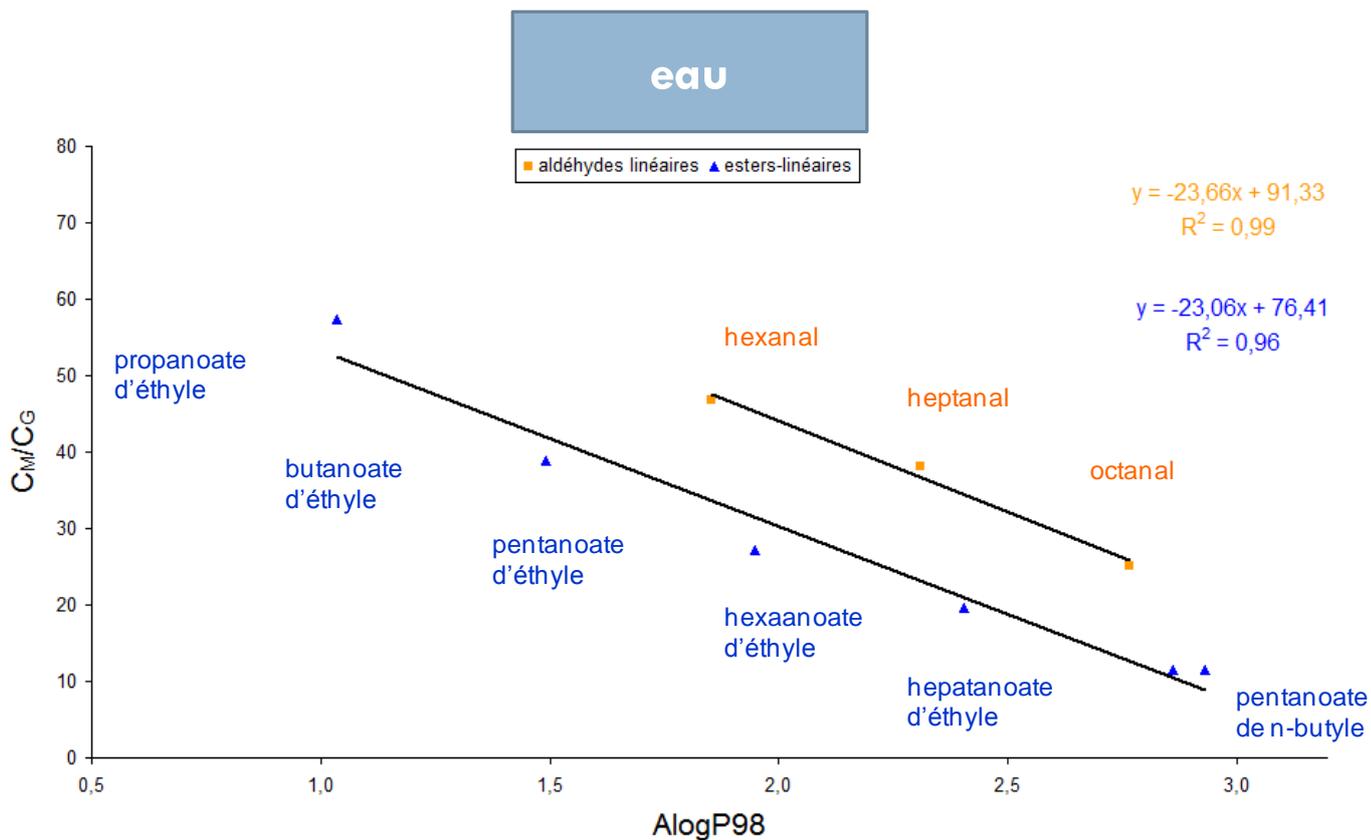


Figure 26 : Corrélation du AlogP98 avec les esters et les aldéhydes linéaires saturés.

Le descripteur Jurs-RNCG donne deux corrélations positives : la droite des esters ayant un coefficient directeur presque deux fois supérieur à celui de la droite de corrélation des aldéhydes (Figure 27).

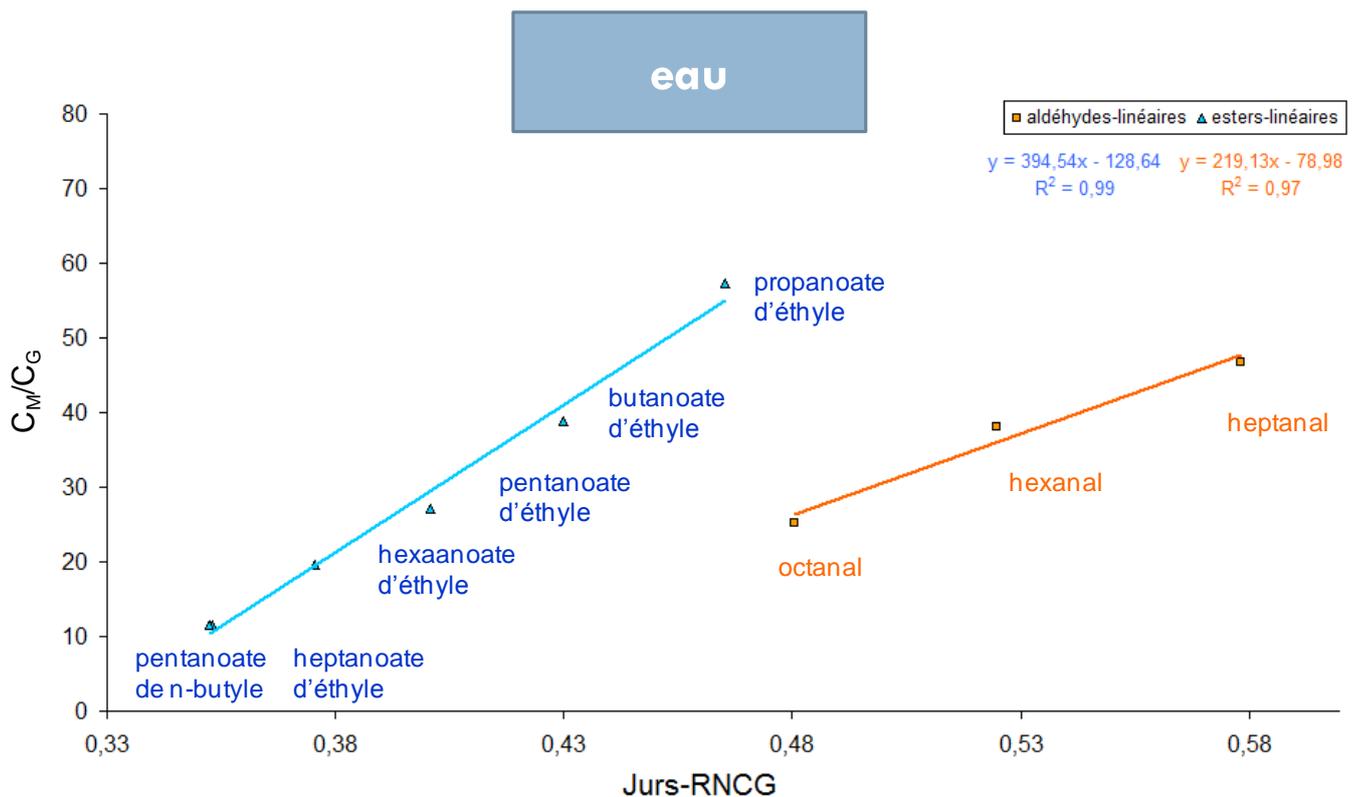


Figure 27 : Corrélation entre le descripteur Jurs-RNCG et les coefficients de partage dans l'eau, des esters linéaires saturés d'une part et des aldéhydes linéaires saturés d'autre part.

- **Rétention dans le gel laitier**

Dans le gel laitier, les esters et les aldéhydes linéaires saturés ont un comportement différent.

Le sous-groupe des esters linéaires saturés compte 6 composés. Le graphe de corrélation de la Figure 28, montre que la rétention des esters linéaires n'évolue pas linéairement avec le nombre de chaînons carbonés et de la surface : elle augmente avec l'allongement de la chaîne carbonée en passant du propanoate d'éthyle au butanoate puis au pentanoate d'éthyle, mais diminue ensuite pour l'hexanoate d'éthyle, l'heptanoate d'éthyle et le pentanoate de n-butyle (qui ont sensiblement la même valeur de coefficient de partage).

Il n'y a que trois aldéhydes linéaires saturés dans l'ensemble de molécules étudiées. Le même graphe (Figure 28) montre que la rétention de ces aldéhydes dans le gel laitier diminue avec l'augmentation du nombre de carbonese et de la surface, comme nous l'avons précédemment observé dans le cas de la rétention dans l'eau.

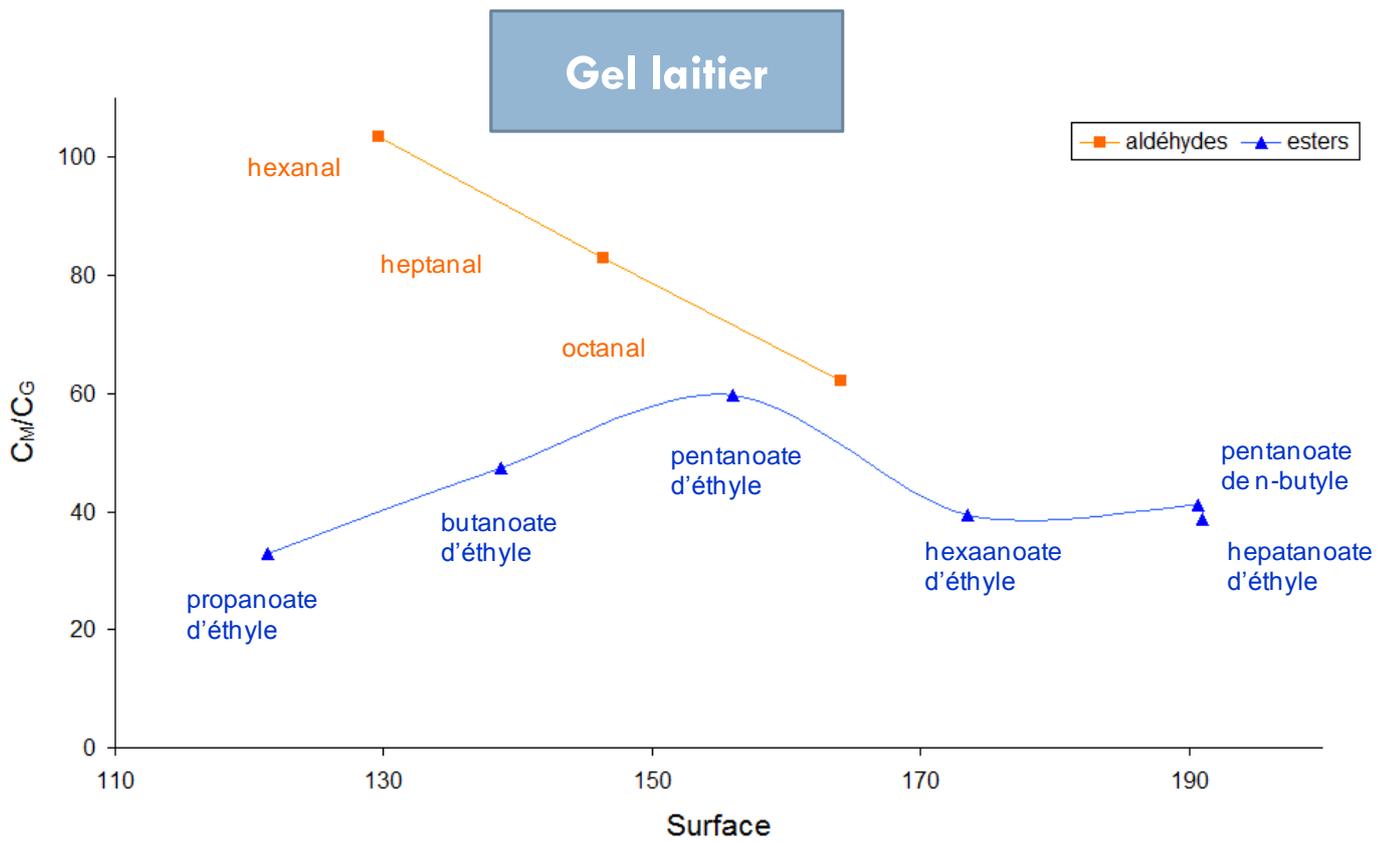


Figure 28 : Corrélation entre le descripteur Surface Area et les coefficients de partage dans le gel laitier pour les esters linéaires saturés et des aldéhydes linéaires saturés.

La meilleure corrélation entre les coefficients de partage dans le gel laitiers et les descripteurs est obtenue avec Jurs-RNCG. Cette corrélation positive reste médiocre (Figure 29).

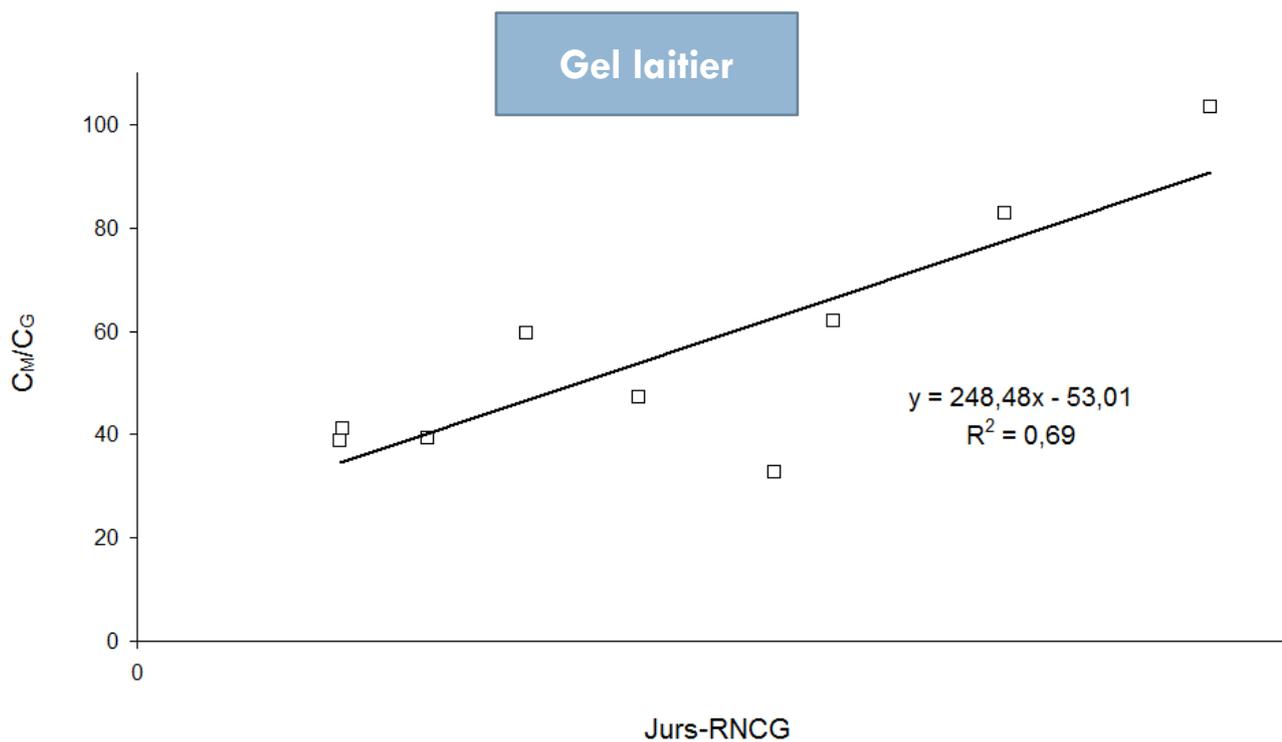


Figure 29 : Corrélation entre le descripteur Jurs-RNCG et les coefficients de partage dans le gel laitier pour les esters linéaires saturés et des aldéhydes linéaires saturés.

- **Rétention par les constituants propres du gel laitier (« Ratio »)**

Les descripteurs Surface Area et la polarisabilité donnent une bonne corrélation positive avec les valeurs « Ratio », mais la meilleure corrélation est obtenue avec le descripteur AlogP98 (Figure 30).

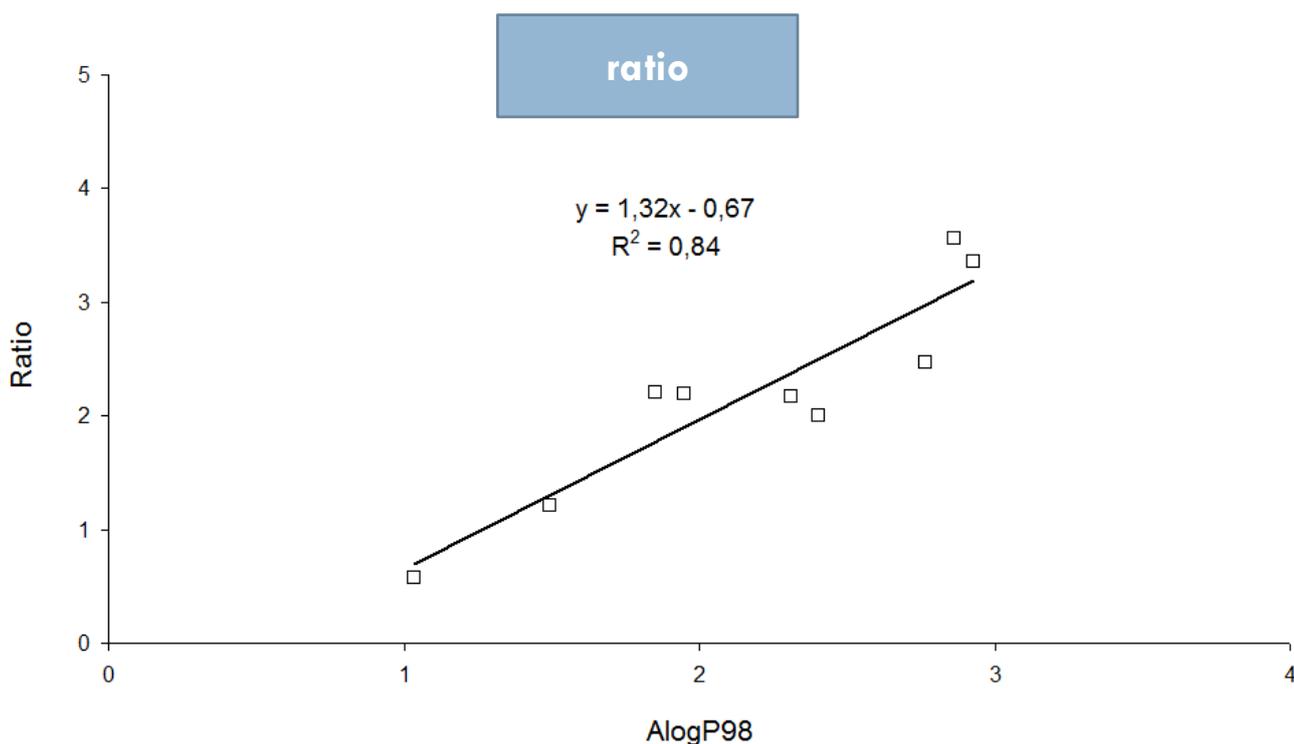


Figure 30 : Corrélation entre le descripteur AlogP98 et « Ratio » pour les esters linéaires saturés et des aldéhydes linéaires saturés.

Les composés ramifiés et/ou insaturés

- **Rétention dans l'eau**

L'examen des corrélations entre les coefficients de partage air-eau et les descripteurs pour les 3 sous-groupe structuraux (Tableau 20) montre des corrélations négatives de $(C_M/C_G)_{\text{eau}}$ avec AlogP98, Polarizability et Surface Area, positive avec Jurs-RNCG. Toutefois ces corrélations sont pour la plupart faibles, les corrélations obtenues pour le sous-groupe des composés ramifiés n'étant pas significatives. Les meilleures corrélations sont obtenues pour le sous-groupe des composés ramifiés-insaturés.

Tableau 20 : Coefficient de corrélation (r) entre les valeurs descripteurs AlogP98, Surface, Polarizabilité et Jurs-RNCG, et le log des valeurs de coefficients de partage dans l'eau pour les composés ramifiés, insaturés et ramifiés-insaturés.

$(C_M/C_G)_{\text{eau}}$	AlogP 98	Polarizability	Surface Area	Jurs-RNCG
Ramifiés	-0.44	-0.48	-0.45	0.67
Insaturés	-0.65	-0.79	-0.88	0.97
Ramifiés-insaturés	-0.85	-0.96	-0.95	0.93

- **Rétention dans le gel laitier**

Comme nous l'avons constaté pour l'ensemble des 28 composés étudiés, les corrélations entre les valeurs des descripteurs et le log des valeurs de coefficients de partage sont dans l'ensemble mauvaises à l'exception des valeurs de Jurs-RNCG qui sont très fortement corrélées avec les coefficients de partage des 3 composés insaturés, et dans une moindre mesure avec les coefficients de partage des composés ramifiés-insaturés (Tableau 21 et Figure 16)

Tableau 21 : Coefficient de corrélation (r) entre les valeurs descripteurs AlogP98, Surface, Polarizabilité et Jurs-RNCG, et le log des valeurs de coefficients de partage dans le gel laitier pour les composés ramifiés, insaturés et ramifiés-insaturés.

$(C_M/C_G)_{\text{GL}}$	AlogP98	Surface Area	Polarizability	Jurs-RNCG
Ramifiés	-0,03	0,33	0,26	0,13
Insaturés	-0,50	-0,67	-0,66	1,00
Ramifiés-insaturés	-0,41	-0,60	-0,61	0,74

- **Partage fictif entre eau et gel laitier (« Ratio »)**

Les corrélations entre descripteurs et valeurs du « Ratio » pour les 3 sous-groupes structuraux sont reportées dans le Tableau 22.

Les corrélations sont satisfaisantes et positives avec AlogP 98, Polarizability et Surface Area, négatives et faibles avec Jurs-RNCG, à l'exception des composés insaturés pour lesquels on observe l'inverse : peu de corrélations avec AlogP 98, Polarizability et Surface Area, et une apparente bonne corrélation avec Jurs-RNCG. Toutefois, cette corrélation obtenue sur la base de 3 points n'est pas significative ($F=11$, $F_{\text{crit}}=161$).

Tableau 22 : Coefficient de corrélation (r) entre les valeurs descripteurs AlogP98, Surface, Polarisabilité et Jurs-RNCG, et les valeurs du « Ratio » pour les composés ramifiés, insaturés et ramifiés-insaturés.

Ratio	AlogP98	Surface Area	Polarizability	Jurs-RNCG
Ramifiés	0,55	0,82	0,90	-0,51
Insaturés	-0,18	-0,38	-0,38	0,96
Ramifiés-insaturés	0,93	0,81	0,83	-0,52

Les valeurs de « Ratio » des composés ramifiés et ramifiés-insaturés sont positivement et relativement bien corrélées avec la polarisabilité. Nous avons remarqué que dans le sous-groupe des composés ramifiés-insaturés, constitué de 2 esters (42, 43, 45 et 49) et 2 aldéhydes (18 et 26), l'aldéhyde 18 se distingue par la plus petite masse molaire, et que sans cet aldéhyde la corrélation entre Polarisabilité et les valeurs « Ratio » pour les 5 composés restant est excellente ($r = 0,99$) et significative ($F=115$, $F_{crit}=10$).

Effets liés à la ramification et à l'insaturation

Afin de mettre en exergue le rôle de la ramification et de l'insaturation, nous avons pris comme référence les composés linéaires-saturés.

La représentation graphique (Figure 31) montre que les composés insaturés ont un coefficient de partage dans l'eau supérieur à celui que prédit la droite des composés linéaires saturés alors que les composés ramifiés (une seule ramification) ont un coefficient de partage inférieur à celui que prédit cette même droite.

Les valeurs des coefficients de partage des trois composés ramifiés saturés donnent une bonne corrélation avec les valeurs de Surface Area, et la droite de corrélation est quasiment parallèle à celle des composés linéaires saturés. Par contre, les valeurs des coefficients de partage des trois composés insaturés ne sont pas corrélées à celles de Surface Area.

L'écart entre la valeur expérimentale et la valeur prédite est plus prononcé dans le cas du composé contenant la double liaison que dans le cas du composé contenant une ramification.

La rétention du 2-méthylpent-2-ène contenant à la fois une ramification et une insaturation est supérieure à la rétention prédite par la droite des composés linéaires.

L'effet de la double liaison sur la rétention dans l'eau est plus prononcé dans le cas des aldéhydes que dans le cas des esters.

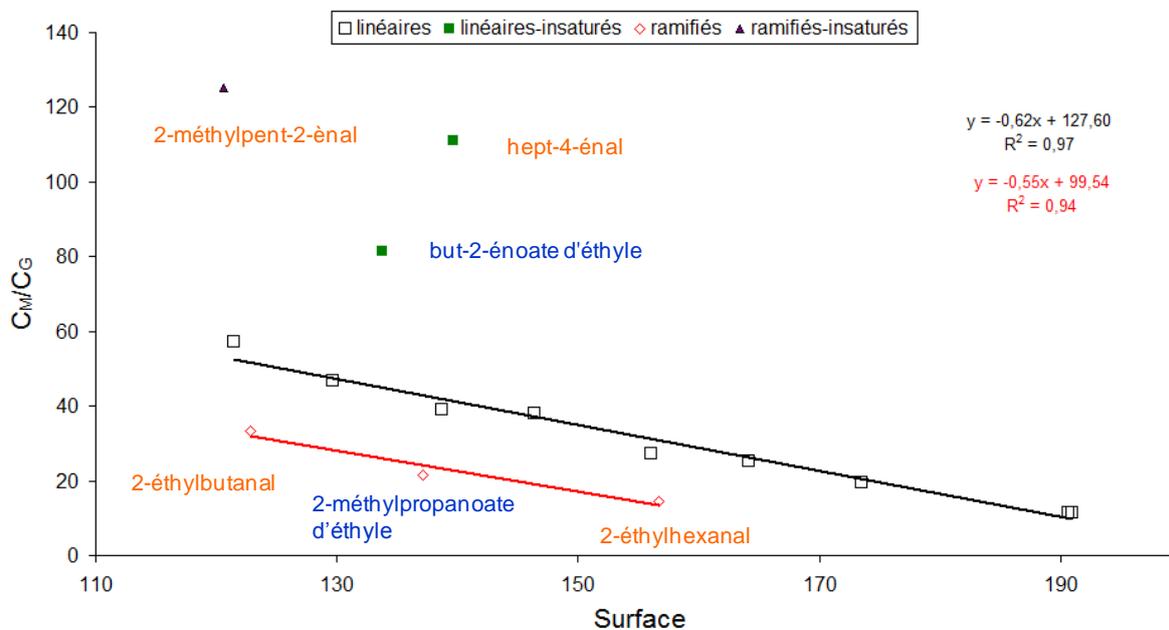
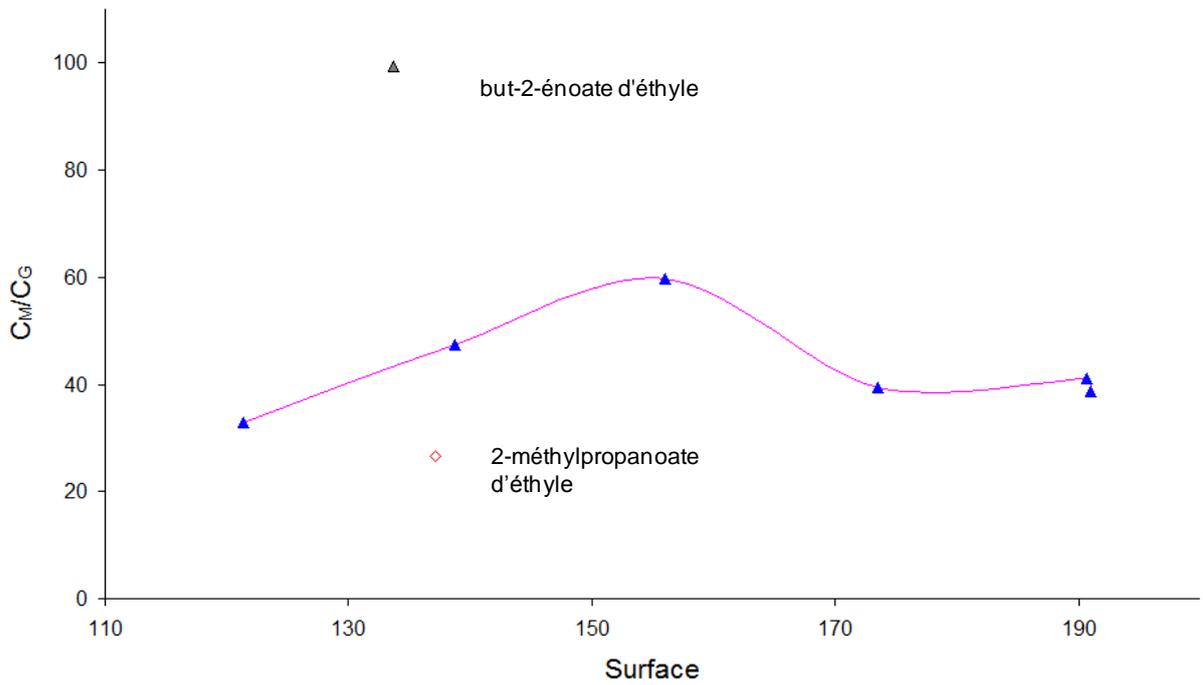


Figure 31 : Corrélations de la surface avec les esters et les aldéhydes linéaires saturés, et des esters et des aldéhydes ramifiés et/ou insaturés dans l'eau.

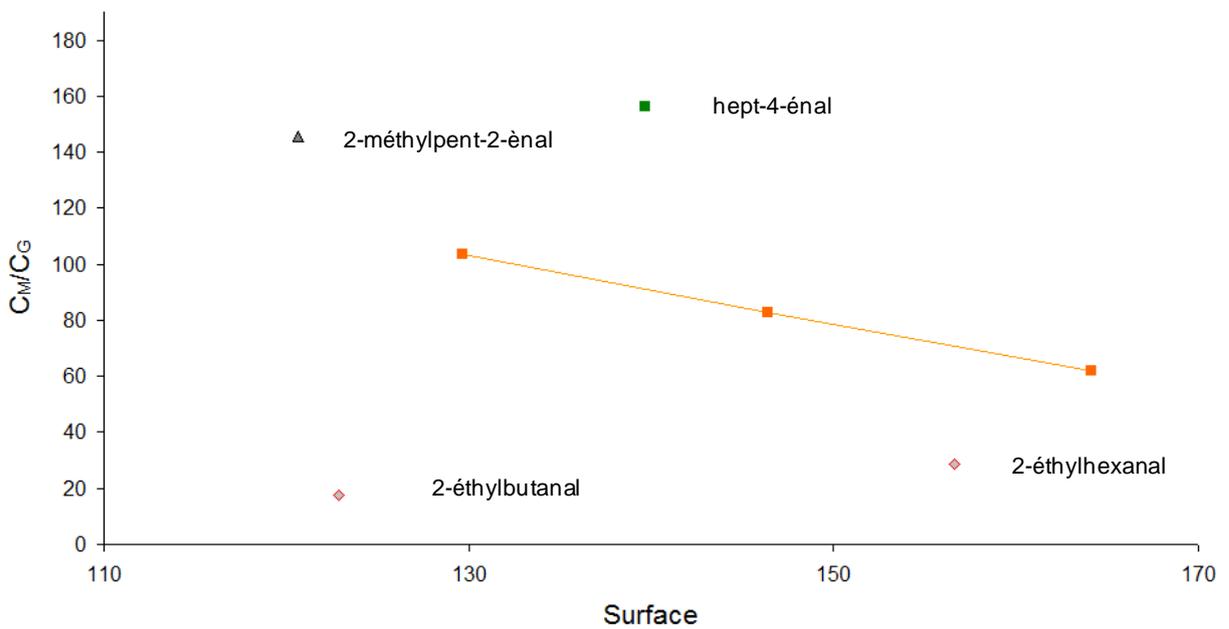
La rétention dans le gel laitier est également plus importante dans le cas des composés insaturés et diminue dans le cas des composés insaturés par rapport aux composés linéaires-saturés (Figure 32).

Comme nous l'avons observé dans l'eau, l'écart de la rétention par rapport aux composés linéaires est plus prononcé pour l'ester insaturé, le (*E*)-but-2-énoate d'éthyle, comparativement à son homologue ramifié, le 2-méthylpropanoate d'éthyle (Figure 32-a).

Cependant, contrairement à ce que l'on peut observer dans le milieu eau, l'écart de la rétention des aldéhydes insaturés (2-méthylpent-2-énal et hept-4-énal) dans le gel laitier par rapport à la droite de corrélation $(C_M/C_G)_{GL}$ vs Surface Area, n'est pas très marqué comparativement à l'écart existant entre les aldéhydes ramifiés (2-éthylbutanal et 2-éthylhexanal) et cette même droite (Figure 32b).



a



b

Figure 32 : Corrélations de la surface avec les esters (a) et aldéhydes (b), linéaires, ramifiés et/ou insaturés dans le gel laitier.

- **Comparaison des isomères**

Cas des isomères de position de la fonction ester

Nous avons parmi les esters, deux isomères de position de la fonction qui sont l'heptanoate d'éthyle (46) et le pentanoate de n-butyle (47). Il est à noter que pour ces composés, il n'y a pas de différence de rétention dans l'eau et dans le gel laitier et que ces deux composés ont exactement les mêmes valeurs pour les 4 descripteurs (Tableau 23).

Tableau 23 : Coefficient de partage dans l'eau et le gel laitier, polarisabilité, surface, AlogP98 et Jurs-RNCG, de l'heptanoate d'éthyle et du pentanoate de n-butyle.

index	composé	$(C_M/C_G)_{\text{eau}}$	$(C_M/C_G)_{\text{GL}}$	Polarizability	Surface Area	AlogP98	Jurs-RNCG
46	heptanoate d'éthyle	12	41	5559	199	2,9	0,35
47	pentanoate de n-butyle	12	39	5559	199	2,9	0,35

Esters : ramification et insaturation

Intéressons-nous aux 3 composés : le butanoate d'éthyle, son isomère ramifié, 2-méthylpropanoate d'éthyle et leur homologue insaturé, (*E*)-but-2-énoate d'éthyle.

La surface du composé ramifié (2-méthylpropanoate d'éthyle) est inférieure à celle de l'homologue linéaire saturé (butanoate d'éthyle). Par contre l'homologue insaturé ((*E*)-but-2-énoate d'éthyle) qui a la valeur de surface la plus faible est le plus retenu aussi bien dans l'eau que dans le gel laitier. Ce composé possède, par ailleurs, la valeur de polarisabilité la plus forte alors que ces homologues saturés (38 et 39) ont la même valeur de polarisabilité (Tableau 24).

Tableau 24 : Coefficient de partage dans l'eau et le gel laitier, polarisabilité et surface du (E)-but-2-énoate d'éthyle, 2-méthylpropanoate d'éthyle et butanoate d'éthyle.

index	composé	$(C_M/C_G)_{\text{eau}}$	$(C_M/C_G)_{\text{GL}}$	Polarizability	Surface Area
37	(E)-but-2-énoate d'éthyle	81	99	4334	134
38	2-méthylpropanoate d'éthyle	21	27	4019	137
39	butanoate d'éthyle	39	47	4019	139

Cétones : effet de la ramification selon les milieux

Prenons le cas de deux couples d'isomères (Figure 33), le couple à 7 carbones (C7) de la 2-heptanone (31) et la 5-méthylhexan-2-one (32), et le couple à 8 carbones (C8) de 5-méthylheptan-3-one (33) et 2-méthylheptan-3-one (33).

Si on s'intéresse à leur rétention dans l'eau (Figure 33), on constate que les deux isomères C7, dont l'un est ramifié et l'autre est linéaire, ont une rétention identique. Les rétentions des deux isomères C8 sont à la limite de la significativité alors qu'ils sont tous les deux ramifiés.

Cela montre donc, que pour un même nombre de carbone, il n'y a pas de différence significative pour la rétention dans l'eau.

Il en va différemment dans le gel laitier, les rétentions sont : l'isomère ramifié en C7 (32) est plus retenu que le composé linéaire (31), et bien que les différences entre les valeurs de $(C_G/C_M)_{\text{GL}}$ ne soient pas significatives, la tendance à la rétention s'inverse pour les 2 isomères C8 entre l'eau et le gel laitier.

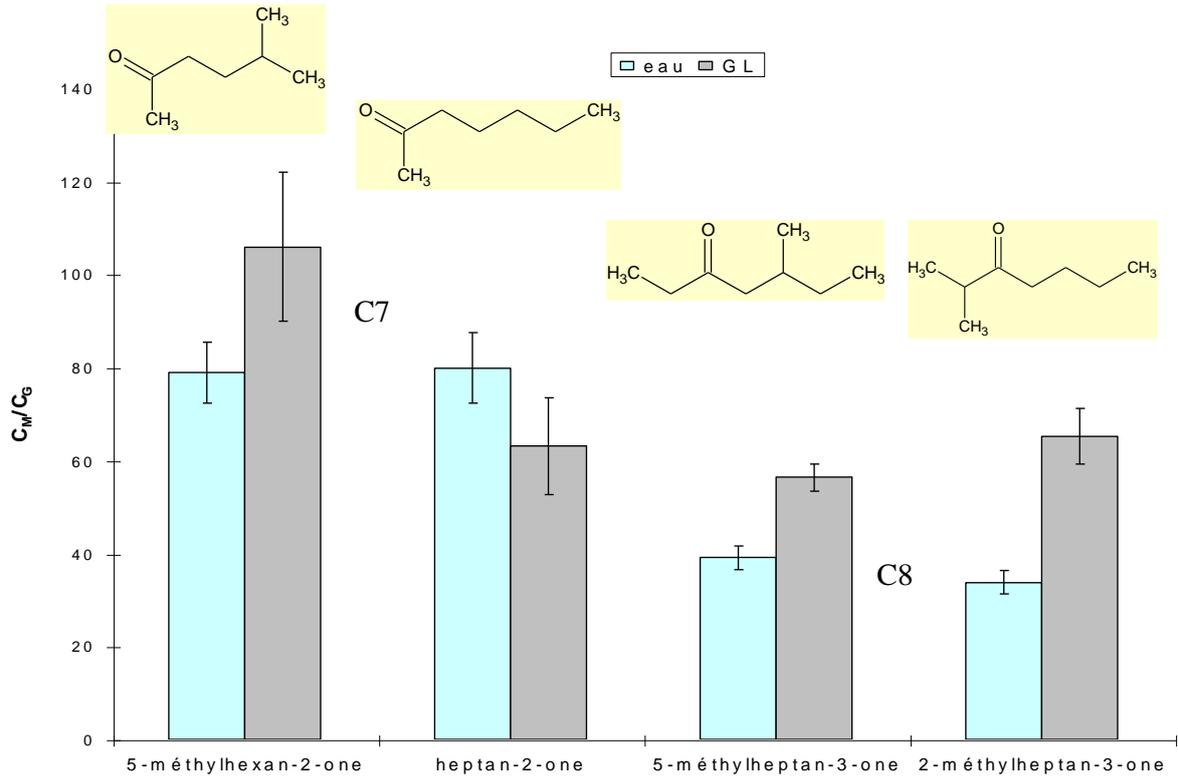


Figure 33 : Rétention des 2 binômes d'isomères de cétones dans l'eau.

L'augmentation du nombre de carbones favorise la rétention dans le gel laitier par rapport à l'eau pour les composés ramifiés. Le seul pour lequel la rétention est meilleure dans l'eau que dans le gel laitier est la heptan-2-one.

3.4.3 Conclusion

3.4.3.1 28 composés

Pour l'ensemble des 28 composés, les valeurs des descripteurs de surface, de polarisabilité ainsi que celles du AlogP98 sont négativement corrélées avec les coefficients de partage dans l'eau et dans le gel laitier et positivement corrélées avec les valeurs du « *Ratio* ». La tendance s'inverse avec le descripteur Jurs-RNCG car il donne une corrélation négative avec les autres descripteurs.

Les descripteurs donnent de meilleures corrélations avec les coefficients de partage dans l'eau et le « *Ratio* » qu'avec les coefficients de partage dans le gel laitier. Dans tous les cas, les meilleures corrélations sont obtenues avec la surface et les corrélations les plus faibles sont obtenues avec le Jurs-RNCG.

Pour l'ensemble des composés, la rétention dans l'eau diminue avec l'augmentation de l'hydrophobie (AlogP98), de la surface et de la polarisabilité des molécules. Cette tendance est inversée mais moins marquée avec l'augmentation de la polarité (Jurs-RNCG).

Les corrélations dans le gel laitier sont très faibles mais la tendance est la même que dans le cas de l'eau.

Dans le cas du « *Ratio* », les corrélations sont moyennes et la rétention tend à augmenter avec la taille des molécules et à diminuer avec l'augmentation des valeurs de Jurs-RNCG.

3.4.3.2 Esters

Les meilleures corrélations sont obtenues entre les valeurs « *Ratio* » et Polarizability ($r=0,84$) d'une part, Jurs-RNCG d'autre part ($r=-0,81$).

La rétention des esters dans l'eau diminue avec l'augmentation du nombre de carbones, mais la rétention de ces composés dans le gel laitier évolue selon une courbe « en cloche » avec le nombre de chaînons carbonés. De ce fait, il n'est pas possible d'observer des corrélations linéaires entre les descripteurs et le coefficient de partage gel laitier/air.

Pour les deux esters linéaires saturés (46 et 47) qui sont des isomères de position de la fonction ester, les valeurs des coefficients de partage sont sensiblement les mêmes, aussi bien pour l'eau que pour le gel laitier. Par contre les ramifications et insaturations ont un effet prononcé sur la rétention. Nous y reviendrons dans le bilan des effets de structure des chaînes carbonées.

3.4.3.3 Aldéhydes

Comme dans le cas des esters, les corrélations des coefficients de partage eau/air et gel laitier/air sont médiocres, et les meilleurs résultats sont obtenus avec les valeurs du « Ratio » ($r=0,89$ avec Polarizability, $r=-0,82$ avec Jurs-RNCG).

La rétention des aldéhydes linéaires étudiés (3 composés) diminue avec l'allongement de la chaîne aussi bien dans l'eau que dans le gel laitier, cet effet étant étonnamment plus marqué dans le gel laitier. Toutefois, les valeurs « Ratio » tendent à augmenter avec le nombre de carbones, indiquant une tendance globale pour ces 3 composés à une rétention favorisée dans le gel laitier.

De même que dans le cas des esters, les ramifications et insaturations des chaînes carbonées ont un effet important sur la rétention.

3.4.3.4 Cétones

Dans le cas des six cétones (1 linéaire 31, 1 insaturée 27 et 4 ramifiées 32 à 35), la rétention diminue avec le nombre de carbone et l'hydrophobie globale aussi bien dans l'eau que dans le gel laitier, mais l'effet est plus marqué dans l'eau.

Plusieurs éléments différencient les cétones des esters et les aldéhydes :

- les coefficients de partage donnent de meilleures corrélations avec les descripteurs que les valeurs de « Ratio »,
- les valeurs des coefficients de partage eau/air donnent de bonnes corrélations avec Jurs-RNCG ; les valeurs de ce descripteur sont également bien corrélées avec les valeurs « Ratio »,
- il ne semble pas y avoir d'effet important de la ramification ou de l'insaturation des chaînes carbonées.

3.4.3.5 Structure de la chaîne carbonée

En regroupant les molécules par famille structurale, nous n'avons pas mis en évidence un sous-groupe de composés ayant un comportement lié plus à la structure de la chaîne qu'à la fonction chimique, à l'exception des sous-groupes des composés insaturés, mais qui ne comporte que trois molécules, et des composés ramifiés et insaturés, qui ne comportent pas de cétones.

Nous présentons ci-après les principales caractéristiques observées pour chaque type de chaîne carbonée.

3.4.3.6 Molécules linéaires

L'ensemble des molécules linéaires ne permet pas d'obtenir de bonnes corrélations entre les descripteurs et les coefficients de partage car la cétone linéaire se comporte différemment des esters et des aldéhydes, aussi bien dans l'eau que dans le gel laitier, étant la plus fortement retenue dans l'eau et la moins retenue dans le gel laitier par rapport aux aldéhydes et aux esters.

Par contre, il est possible d'associer les esters et les aldéhydes. En effet, nous avons montré qu'il existe une très bonne corrélation entre les valeurs des coefficients de partage eau/air et les valeurs de polarisabilité des esters et aldéhydes linéaires, la rétention dans l'eau diminuant avec l'augmentation du nombre de chaînons carbonés. Avec le descripteur AlogP98, on observe deux droites de pentes négatives parallèles, l'une pour les esters et l'autre pour les aldéhydes. Avec Jurs-RNCG, on obtient aussi deux droites distinctes, de pentes positives, ces droites de corrélations ne sont pas parallèles. La droite correspondant aux esters a une pente deux fois plus importante que celle correspondant aux aldéhydes.

3.4.3.7 Ramification et insaturation

En étudiant les groupes structuraux de composés, nous avons constaté un comportement particulier des composés portant à la fois une ramification et une insaturation (aldéhydes 18 et 26, esters 42, 43, 45 et 49). Pour ce sous-groupe de composé, il existe de bonnes corrélations entre descripteurs et coefficients de partage, en particulier entre Polarizability et $C_M/C_{G\text{-eau}}$ ($r^2=0.92$) ainsi qu'entre « Ratio » et AlogP98 ($r^2=0.87$), et dans une moindre mesure entre Jurs-RNCG et $C_M/C_{G\text{-GL}}$ ($r^2=0.7$).

Les trois composés insaturés (aldéhyde 21, cétone 27 et ester 37) suivent apparemment une même loi en fonction de la polarité (Jurs-RNCG), mais les corrélations sont rarement significatives. Leur point commun est d'être parmi les composés les plus retenus, dans l'eau et dans le gel laitier.

Comme nous l'avons vu précédemment, seules les cétones étudiées ne semblent pas présenter de comportement différent en fonction de la structure de leur chaîne carbonée. Il n'en va pas de même pour les esters et les aldéhydes. Nous avons donc pris en considération en même temps les esters et les aldéhydes.

Dans le cas des esters et des aldéhydes, nous avons comparé les valeurs des coefficients de partage de composés linéaires, ramifiés et insaturés, et constaté que, dans l'eau comme dans le gel laitier, ces valeurs sont plus élevées pour les composés insaturés que pour leurs homologues

saturés, mais qu'en revanche, elles sont plus faibles pour les composés ramifiés que pour leurs isomères linéaires.

Dans le cas des esters, les corrélations entre les descripteurs et le « *Ratio* » montrent que les points des esters ramifiés et/ou insaturés se retrouvent dans la droite de corrélation. Ceci traduit le fait que l'effet de l'insaturation et de la ramification par rapport à la chaîne linéaire saturée est le même sur la rétention des esters dans l'eau et dans le gel laitier.

Il en va différemment dans le cas des aldéhydes : il n'est pas possible d'obtenir une régression significative entre « *Ratio* » et un descripteur, les valeurs de « *Ratio* » pour les trois aldéhydes linéaires étant du même ordre. Par contre, pour l'ensemble des aldéhydes non-linéaires les valeurs de « *Ratio* » sont fortement corrélées à Polarizability ($r^2=0.94$).

Si on prend en considération l'ensemble des esters et aldéhydes ramifiés ou insaturés (aldéhyde 19 et 21, esters 24, 25, 37, 38 et 41) on n'observe pas de corrélations entre les valeurs des descripteurs et celles des coefficients de partage (eau/air ou gel laitier/air), par contre une bonne corrélation existe entre les valeurs de Polarizability et « *Ratio* » ($r=0.92$). Il en est de même pour les cinq composés ramifiés seuls, la corrélation entre les valeurs de Polarizability et « *Ratio* » est meilleure ($r=0.96$), mais les deux droites sont parallèles et très proches.

En conclusion :

- les meilleures corrélations sont en général obtenues avec le descripteur Polarizability ou le descripteur Surface Area ; Jurs RNCG ne donne de bonne corrélation qu'avec les coefficients de partage des composés insaturés, et avec les coefficients de partage eau/air des cétones,
- les cétones ont un comportement différent de celui des esters et des aldéhydes, dont les comportements rétention/libération montrent des similitudes,
- en regroupant les esters et les aldéhydes, on constate que :
 - les comportements de rétention des molécules linéaires suivent la même loi pour l'équilibre eau/air,
 - les comportements des esters linéaires et des aldéhydes linéaires sont différents, et plus complexes, pour l'équilibre gel laitier/air,
 - les esters et aldéhydes ramifiés sont moins retenus dans l'eau et le gel laitier que leurs isomères linéaires,

- les esters et aldéhydes insaturés sont plus retenus dans l'eau et le gel laitier que leurs homologues saturés,
- les esters et aldéhydes qui sont à la fois ramifiés et insaturés suivent les mêmes lois pour les équilibres eau/air d'une part et gel laitier/air d'autre part,
- les 6 cétones suivent une même loi dans l'eau (C_M/C_G -eau vs Polarizability) et une même loi dans le gel laitier (C_M/C_G -GL vs Surface Area).

Discussion

4 DISCUSSION

Au vu des résultats obtenus, nous allons développer certains points qui nous ont paru importants. Tout d'abord, l'application de la méthode PRV qui nous a permis de mesurer les coefficients de partage de 28 composés dans tous les milieux, ainsi que ses limites et les possibles améliorations. Ensuite, le rôle du pH et des adjuvants et l'influence des différents milieux étudiés sur la rétention des composés d'arôme, et l'apport de la pectine et des composantes propres du gel laitier. Finalement, l'impact de la structure des composés d'arôme sur leurs rétentions dans les différents milieux.

4.1 Obtention des résultats (conditions expérimentales)

4.1.1 Contrôle rhéologique des milieux étudiés

Pour vérifier la répétabilité du procédé de fabrication de chaque matrice, nous avons mesuré les valeurs de coefficient de viscosité et les valeurs de pH. Les valeurs obtenues n'étaient pas significativement différentes. Cependant, nous émettons des réserves quand à la justification de la répétabilité du procédé de fabrication des matrices par la répétabilité des valeurs de coefficients de viscosité et de pH.

En effet, les valeurs de coefficient de viscosité ont été mesurées en régime permanent de cisaillement élevé pour des raisons pratiques de fiabilité de mesure. Or, il serait plus judicieux d'opérer à une faible vitesse de cisaillement afin de ne pas dénaturer la structure des réseaux. De plus, il serait plus approprié de caractériser les matrices en travaillant en régime dynamique dans le domaine de viscosité linéaire et en étudiant les propriétés visqueuses et élastiques par la mesure des modules élastique G' et le module visqueux G'' .

4.1.2 Méthode de détermination des coefficients de partage

Nous avons vu que le principe de calcul des coefficients de partage liquide/vapeur par la méthode PRV repose sur l'évolution de la surface chromatographique en fonction de la variation du volume de la matrice. La condition essentielle pour que cette relation soit applicable est que la concentration dans la phase liquide puisse être considérée comme constante. Or cette approximation peut ne pas être satisfaite. En effet, après introduction de la matrice dans le flacon headspace, il y a passage des composés d'arôme vers la phase vapeur jusqu'à atteindre l'équilibre (égalité des potentiels chimiques), c'est-à-dire que le rapport des concentrations dans les deux phases devient constant. Dans le cas des faibles volumes de matrice contenant des composés suffisamment volatils, la quantité de composé d'arôme qui passe en phase vapeur est importante

par rapport à celle initialement présente dans la matrice. Dans ce cas la méthode PRV ne peut pas être appliquée car la concentration de la matrice n'est plus égale à la concentration initiale.

Plus la quantité de matrice introduite est grande et plus le volume de phase vapeur se restreint. La quantité de composé d'arôme qui passe en phase vapeur devient alors négligeable par rapport à celle initialement introduite dans la matrice mais elle devient au contraire plus importante dans le volume de la phase vapeur qui se restreint de plus en plus.

L'équilibre d'un composé volatil entre une phase liquide et une phase vapeur est établi lorsque sa pression partielle atteint la valeur d'équilibre propre à ce composé, cette valeur dépendant de la nature de la phase liquide dans laquelle le composé volatil se trouve en solution, de sa concentration dans cette phase liquide, et de la température. Dans le cas des molécules odorantes en solution diluée étudiées, l'équilibre headspace est réalisé dans des conditions isochores et isothermes, et la variation de pression est suffisamment faible pour pouvoir être négligée devant la pression totale. Par conséquent, pour une concentration en phase liquide donnée, atteindre la valeur de concentration d'équilibre dans la phase vapeur nécessite le passage d'autant moins de molécules que le volume de phase vapeur est petit. De ce fait, la quantité de molécules restant dans la phase liquide est un tout petit peu plus importante pour les petits volumes de phase vapeur que pour les grands volumes de phase vapeur, ce qui nécessite le passage en phase vapeur d'une fraction εC (C en mol/l) supplémentaire pour atteindre la pression d'équilibre, ce phénomène se traduisant par une concentration légèrement d'autant plus élevée en phase vapeur que le volume de phase vapeur est petit. L'augmentation de la concentration de la phase gazeuse en composé d'arôme se traduit alors par une augmentation de la surface chromatographique.

La méthode PRV ne peut également pas s'appliquer aux composés trop retenus ($C_M/C_G < 1.10^2$) d'après Ettre et Kolb (1991). En effet dans ce cas, la variation de la concentration en phase gazeuse est extrêmement faible, en particulier pour les grands volumes de phase liquide. Lorsque cette variation est inférieure au seuil de sensibilité du détecteur, on peut ne pas observer de variation de la surface chromatographique. Nos résultats vont dans ce sens car sur les 50 composés sélectionnés, l'application de la méthode PRV a permis de mesurer les coefficients de partage de seulement 28 composés dans tous les milieux. La plupart des 23 composés pour lesquels la détermination s'est avérée impossible sont des alcools. L'examen du cas de ces molécules (Figure 34) montre que l'absence de variation sensible de l'aire du pic pour les composés les plus retenus (la rétention étant particulièrement forte dans les gels laitiers) ne permet pas d'effectuer une régression linéaire significative entre l'inverse de l'aire du pic chromatographique A et le rapport de volume β .

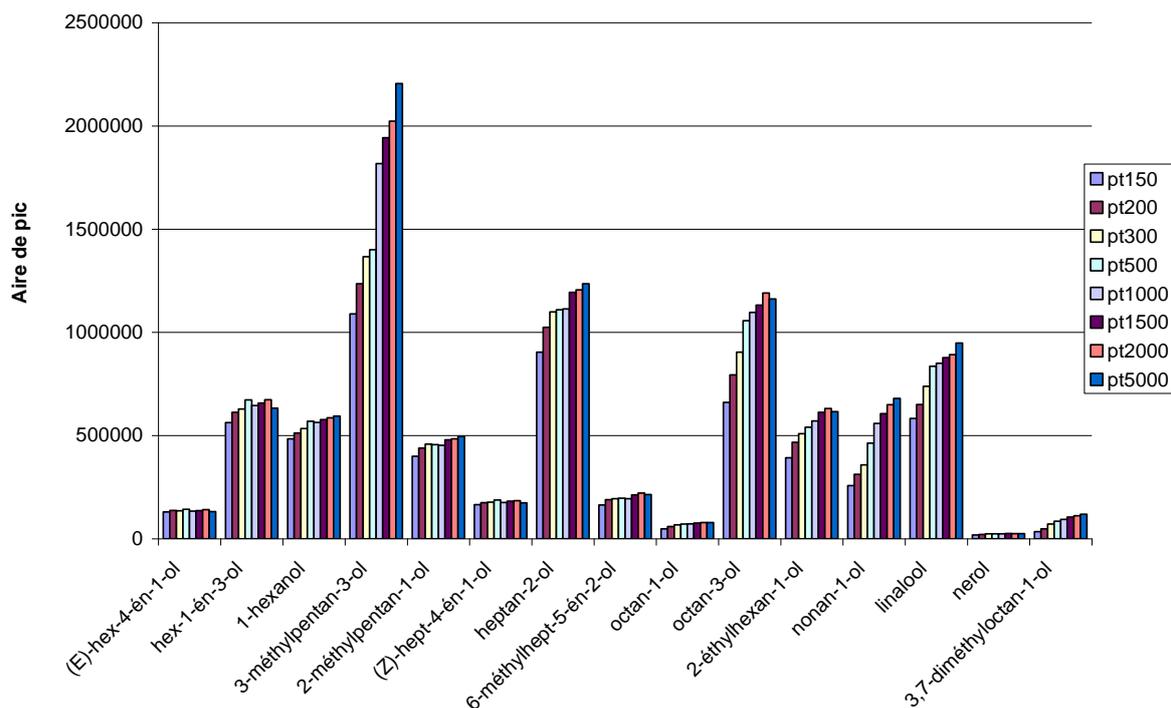


Figure 34 : Evolution des aires de pics des alcools en fonction de la variation des volumes de la matrice (150 à 5000 μ L) dans l'eau.

Il faut souligner que l'auteur de la PRV (126) a exposé l'application de cette méthode sur un nombre très restreint de composés, 3 dérivés aryles et la butan-2-one. De plus, les valeurs de coefficient de partage ont été obtenues pour des équilibres liquide-vapeur dont les températures allaient de 45 à 90°C favorisant ainsi le passage en phase vapeur.

Plusieurs travaux ont été menés en utilisant cette méthode exclusivement sur des composés d'arôme. Certains auteurs ont essayé de mesurer les coefficients de partage à 30°C, dans différentes matrices gélifiées par des épaississants (168), de gels laitiers (171) et des biscuits fourrés (103). Mais à chaque fois, la détermination des coefficients de partage n'a pu être effectuée que sur les composés suffisamment volatils pour être détectés en headspace. D'autres auteurs ont eu moins de difficulté à appliquer la PRV, en étudiant l'équilibre rétention/libération à des températures supérieures à 30°C. Bylaite (2004) a mesuré les coefficients de partage de 47 composé d'arôme dans des gels de carraghénanes à 37°C (80) en constatant toutefois une incertitude importante pour les valeurs obtenues avec les alcools, attribuée à leur faible présence dans la phase gazeuse.

Jouquand (2004) (172) a mesuré les coefficients de partage de 8 composés d'arôme dans des solutions de polysaccharides à 60, 70 et 80 °C. L'auteur a cependant noté que le seul alcool que comptait le set des 8 composés d'arôme était faiblement présent en phase gazeuse.

Nous avons choisi pour notre travail de limiter l'ensemble des données exploitables aux 28 composés pour lesquels la détermination des coefficients de partage a été possible par la méthode PRV sans modifier les conditions d'acquisition des données. Toutefois, nous avons envisagé un certain nombre de possibilités susceptible de fournir les valeurs de coefficient de partage pour les composés ne donnant pas de réponse fiable dans ces conditions habituelles d'application de la méthode PRV.

Pour permettre une détermination des coefficients de partage des molécules les moins volatiles par la méthode PRV, l'augmentation de température permettrait d'augmenter la concentration du composé étudié dans la phase vapeur. Cependant, il faut tenir compte du fait que le milieu étudié est un gel qui ne peut pas être chauffé sous peine de le dénaturer et aussi du fait qu'il faut rester dans une gamme de températures réalistes reflétant les conditions habituelles de consommation.

L'augmentation de la concentration des composés d'arôme dans la matrice pourrait également aider à contourner le problème du seuil de sensibilité du détecteur, le risque étant d'atteindre la limite de solubilité des composés dans la matrice, notamment en aromatisant avec des mélanges.

Enfin, il serait possible de choisir les gammes de volume les mieux adaptées, c'est-à-dire de privilégier les faibles volumes de liquide. On peut éventuellement envisager d'optimiser les volumes de phase gazeuse en jouant sur la géométrie des flacons, cette dernière option demandant une étude particulière.

Si malgré tout il n'est pas possible d'obtenir des valeurs de surface chromatographique permettant d'effectuer le calcul de régression, les alternatives seront d'utiliser soit une méthode de pré-concentration SPME avec étalonnage, soit d'autres méthodes d'étalonnage classiques.

La mesure de coefficient de partage par SMPE consiste à déterminer la concentration des coefficients de partage en déterminant leurs concentrations dans les deux phases en travaillant sur un seul volume d'échantillon: dans la matrice par extraction liquide-liquide des composés d'arôme puis par étalonnage liquide, et dans la phase gazeuse par la pré-concentration des composés d'arôme en phase gazeuse sur une fibre SPME suivie d'un étalonnage.

Les méthodes d'étalonnage classiques consistent également à déterminer les concentrations des composés d'arôme dans les deux phases. La détermination de la concentration des composés d'arôme dans la matrice est similaire à celle décrite pour la SMPE.

La détermination des composés d'arôme dans la phase gazeuse consiste à doser un échantillon de la phase gazeuse en utilisant un étalonnage en phase gazeuse ou en phase liquide.

Afin que les composés d'arôme présents dans la phase gazeuse soient détectés d'une façon fiable, il faut que l'échantillon de phase gazeuse prélevé soit important.

4.1.3 Comparaison des valeurs de coefficients de partage avec celles de la littérature

Il existe parfois une grande variabilité entre les valeurs de coefficients de partage trouvées dans la littérature, parfois même lorsque ces valeurs ont été obtenues dans les mêmes conditions. À titre d'exemple, Bylaite a publié des valeurs de coefficient de partage en 2003 (173) qui sont différentes de celles de 2005 (174) sachant qu'elles ont été obtenues dans les mêmes conditions. Les valeurs de coefficients de partage trouvées dans la littérature ne concernent que quelques uns des composés que nous avons étudiés. De plus, ces valeurs n'ont pas été toutes obtenues dans les mêmes conditions (température, pression..) et les matrices étudiées sont souvent différentes de celles étudiées dans ce travail.

Afin de comparer nos résultats avec ceux de la littérature nous avons recueilli quelques valeurs de coefficients de partage obtenues à 27, 30 ou à 37°C, dans l'eau et dans un gel de pectine à 0,04% (Tableau 25). Ces valeurs ont toutes été obtenues par la méthode PRV à l'exception celles de Jung (2003) (132) qui ont été obtenues par la méthode SPME.

Par ailleurs, il est à noter que les coefficients de partage dépendent de la température et de la pression du système étudié.

Globalement, les valeurs obtenues en utilisant la méthode PRV peuvent présenter une grande différence sans pour autant dépasser un facteur 2. En revanche ces valeurs sont en moyenne, quasiment 10 fois supérieures à celles obtenues en utilisant la méthode SPME.

Si nous faisons la comparaison des coefficients de partage obtenus dans l'eau avec ceux qui ont été obtenus par les autres auteurs en utilisant la méthode PRV, nous remarquons les points suivants :

Pour le linalool, la valeur de coefficient de partage mesurées dans l'eau est très proche de celle qu'a mesuré Savary (2006) (168) dans les mêmes conditions.

Par contre pour l'hexanal, le butanoate d'éthyle et l'hexanoate d'éthyle, nos valeurs sont nettement inférieures à celle de Savary (2006) ou à celles de Kopjar 2010(61).

Cependant, les valeurs obtenues dans l'eau par Bylaite (2004 et 2005) (80, 174) pour l'hexanal, heptanal, octanal, heptan-2-one, butanoate d'éthyle, acétate de 3-méthylbutyle et heptanoate d'éthyle, sont plus proches des nôtres même si elles ont été obtenues à 37°C.

Si on s'intéresse cette fois-ci aux valeurs qu'a obtenu ce même auteur (173) dans le gel de pectine à 0,4%, on remarque que celles-ci sont nettement inférieures à celles que nous avons obtenu pour les composés suivants : (E)-hex-2-éanal, hexanal, heptanal et octanal.

Tableau 25 : Comparaison des valeurs de coefficients de partages obtenues dans l'eau et dans le gel de pectine à 0,04% avec celles de la littérature pour 10 composés d'arôme.

C_M/C_G

Index	Composé	Eau							Pectine 0,04%	
		Nos résultats	Jung 2003	Bylate 2003	Bylate 2004	Bylaite 2005	Savary 2006	Kopjar 2010	Nos résultats	Bylate 2003
		(30°C)	(132) (27°C)	(173) (37°C)	(80) (37°C)	(174)(37°C)	(168) (30°C)	(61) (30°C)	(30°C)	(173) (37°C)
13	linalool	239					258			
17	(E)-hex-2-éanal	218		179					213	161
20	hexanal	47	6	39		46	63		46	38
22	heptanal	38		25		32			40	23
23	octanal	25		15		21			24	18
31	heptan-2-one	80	7		58	76				
39	butanoate d'éthyle	39			33	37	55	65		
41	acétate de 3-méthylbutyle	27	7		23	28				
44	hexanoate d'éthyle	20	2				33	31		
46	heptanoate d'éthyle	12			7	11				

4.1.4 Effet du saccharose et du pH

L'expérience préliminaire menée avec le set des 10 composés d'arôme dans un gel de pectine purifiée et dans un gel de pectine stabilisée avec 20% de saccharose a montré que ce stabilisant n'avait pas d'effet sur la libération/rétention. Le saccharose n'est présent qu'à 0,01% (m/m) dans le gel.

Cette concentration était trop faible pour avoir un effet sur la viscosité de la matrice et un abaissement de l'activité de l'eau dans la solution. Ces deux éléments auraient eu comme conséquence la diminution la libération des composés d'arôme (1, 101) : C'est le cas dans les matrices où le saccharose est présent à une concentration de l'ordre de 50%.

L'absence d'effet de la présence du saccharose dans notre cas montre que sa concentration n'était pas suffisante pour piéger l'eau libre du milieu et favoriser ainsi le passage des composés d'arôme vers la phase vapeur comme cela a pu être observé dans d'autres travaux (51, 102, 103).

La deuxième expérience préliminaire visait à comparer les rétentions dans l'eau et dans un milieu constitué du tampon et de saccharoses dont les concentrations et le pH (3,4), étaient les mêmes que dans les gels de pectine. Les rétentions dans les deux milieux n'étaient pas significativement différentes. Cela montre l'absence d'effet du pH faiblement acide sur le phénomène rétention/libération et confirme les résultats de la première expérience préliminaire sur la neutralité du saccharose par rapport à ce phénomène.

4.2 Rétention dans les différents milieux

4.2.1 Déplacement de l'équilibre

Pour la plupart des composés, les équilibres liquide-vapeur sont majoritairement déplacés vers la phase liquide, aussi bien dans l'eau que dans le gel laitier ($K_{lib} < 1$). Seul un tiers des composés (essentiellement des aldéhydes et des esters) sont déplacés vers la phase vapeur ($K_{lib} > 1$) quand ils sont en solution dans l'eau et trois composés seulement (éthylbutanal, heptan-2-one et propanoate d'éthyle) quand ils sont en solution dans le gel laitier.

La plupart des composés sont plus retenus dans le gel laitier que dans l'eau (Ratio > 1) sauf le 2-éthylbutanal, l'heptan-2-one et le propanoate d'éthyle (Ratio < 1) qui sont des composés saturés et ayant les masses molaires parmi les plus faibles dans chaque famille chimique.

Le fait que l'équilibre soit déplacé dans le sens de la rétention pour la majorité des composés d'arôme peut sembler étonnant étant donné leur caractère hydrophobe ($\log P \geq 1,1$).

Plusieurs modèles ont été proposés pour expliquer la solvataion de molécules hydrophobes dans l'eau (175-179), mais toutes se réfèrent au modèle de l'« iceberg » proposé par Frank et Evans en 1945 (180). Ce modèle propose comme principe que les molécules d'eau s'organisent en présence d'une molécule hydrophobe en formant un clathrate. Cette structure est une sorte de cage de molécules d'eau dont l'organisation est optimisée par un réseau de liaisons hydrogène.

Si les composés d'arôme ne sont pas suffisamment dilués, les clathrates fusionnent rapidement et rassemblent leurs contenus hydrophobes en un seul ensemble dont les molécules se lient par des interactions de type van der Waals (démixtion du mélange lorsqu'un composé en solution a dépassé sa limite de solubilité). Mais cela ne peut pas être le cas dans notre étude puisque les composés d'arôme sont présents à des concentrations inférieures à leurs concentrations de saturation.

4.2.2 Effet de la pectine

D'après les valeurs de coefficients de partage obtenus dans notre étude, il semble que la pectine n'ait pas, ou très peu, d'effet sur le phénomène libération/rétention des composés d'arôme aux concentrations testées par rapport à l'eau dans le cas des gels de pectine. Cela indique que la pectine ne met pas en jeu des interactions notables avec les composés d'arôme, et qu'elle ne modifie pas les interactions entre les constituants du gel laitier qui sont les protéines lactières et les composés d'arôme. Cette hypothèse est en accord avec Yoo (2009) (96) qui suggère qu'un faible taux d'estérification accroît le caractère hydrophile des pectines, limitant ainsi les interactions avec les composés à caractère hydrophobe.

L'absence de l'effet pectine a d'ailleurs été montrée par Bylaite (173), Mei (99) et Hansson (181).

Par contre, Lubbers (2) a montré que la libération de certains composés d'arôme augmentait avec la concentration de pectine dans les gels laitiers. L'étude avait été menée sur 9 composés (5 esters et 4 alcools), dont l'hexanol, l'octanol et l'hexanoate d'éthyle également présent dans notre étude. Les résultats montraient une plus forte rétention à la plus faible concentration en pectine (0,04%) par rapport au gel laitier sans ajout d'épaississant, tandis qu'à des concentrations plus élevées (0,1% et 0,15%) le passage en phase vapeur était favorisé. Seuls deux alcools n'étaient pas sensibles aux modifications du milieu : l'hexanol et le butanol. Cependant, la composition des milieux était différente de celle que nous avons utilisée. Le modèle utilisé était composé d'un gel yaourt (fermentation bactérienne) Danone (Vitapole, France) sans matière grasse, additionné de sirop de sucre contenant un seul épaississant (amidon ou pectine). Le mode de préparation différait car, dans cette étude, une solution aqueuse de pectine faiblement méthylée (LM) avait été chauffée à 80°C puis additionnée à un mélange composé d'un sirop de sucre et de citrate de sodium et de calcium ainsi que de sorbate de potassium. Par contre nous avons utilisé le même mode d'aromatisation (addition d'un mélange de composés d'arôme dilués dans le propan-1-2-diol au gel laitier).

De plus, la méthode utilisée pour quantifier la libération des composés d'arôme était la SPME (Solide Phase Micro Extraction). Cette méthode se base sur l'adsorption des composés sur la fibre SPME, puis la libération de ces composés dans l'injecteur du chromatographe pour être analysés. Ainsi, l'augmentation de la libération observée pourrait être imputée à l'équilibre rétention/libération des composés d'arôme entre la fibre SPME et la phase gazeuse. L'impact de la nature de la fibre constitue un paramètre de limitation pour l'usage de cette méthode (182, 183). Rega (97) a montré une augmentation de la rétention avec la concentration de la pectine à la transition sol-gel (à partir de 0.1%) en attribuant cet effet au réseau tridimensionnel créé par l'enchevêtrement des pectines, sans pour autant montrer l'existence d'interactions entre la pectine et les composés d'arôme. Dans notre cas, l'augmentation progressive de la viscosité entre les trois milieux aqueux (eau, gel de pectine à 0.4% et 0.8%) liée à la gélification de la pectine ne modifie pas la rétention/libération des composés d'arôme.

Nos résultats actuels ne mettent pas en évidence un effet du réseau tridimensionnel formé lors de la gélification de la pectine sur le phénomène de rétention pour les composés. Toutefois, plusieurs raisons peuvent être avancées pour expliquer la différence entre nos résultats et ceux observés lors de l'étude de 2007 : la nature des gels laitiers et la méthode de détermination, la composition exacte du milieu. Il sera donc nécessaire de vérifier les rôles respectifs de ces éléments pour déterminer si le mode de gélification est responsable et/ou si la méthode de détermination amplifie (dans le cas de l'utilisation des fibres SPME) ou gomme (dans le cas de la méthode PRV) les différences de rétention entre le gel laitier simple et le gel laitier additionné de pectine.

4.2.3 Effet du gel laitier

Alors que dans l'eau, près du tiers des composés (essentiellement des aldéhydes et des esters) est déplacé vers la libération, l'équilibre rétention/libération dans le gel laitier est déplacé vers la rétention pour tous les composés sauf le 2-éthylbutyraldéhyde (19).

Dans chaque famille chimique (à l'exception des aldéhydes linéaires), le composé possédant la plus faible masse molaire est plus retenu dans l'eau que dans le gel laitier. En augmentant la masse molaire, la rétention devient plus importante dans le gel laitier et les composés qui ont les plus grands écarts de rétention entre les deux milieux sont ceux qui ont les masses molaires les plus importantes. Cependant, nous n'avons pas observé de lien direct entre la masse molaire et l'écart de rétention entre le gel laitier et l'eau. Combien même l'hydrophobie est très bien corrélée avec la masse molaire, nous ne pouvons pas en déduire qu'elle explique la préférence des composés pour l'eau ou pour le gel laitier. Par contre, cela nous renseigne sur le caractère *hydrophobe* du gel laitier sachant qu'il ne contient pas de matière grasse.

La rétention des composés d'arôme dans les gels laitiers est imputable aux différents types d'interactions avec les protéines lactières. Ces protéines favorisent les interactions hydrophobes (184)

par interaction avec des sites hydrophobes (75) dont l'existence et l'accessibilité dépendent des conditions du milieu (pH, température, force ionique.etc) (51). Le terme hydrophobe désignant ce type d'interactions est un terme relativement vague. Il s'agit en réalité d'interactions de type van der Waals, qui ont été présentées en détail dans la partie bibliographique : forces de London, Debye et Keesom. Ces forces font appels à la polarisabilité des molécules, et aussi à leur surface. Des liaisons hydrogènes, liées à leur caractère polaire peuvent également être impliquées (74, 185, 186).

D'autre part, certains composés peuvent établir des liaisons covalentes avec les protéines laitières. C'est le cas de certains aldéhydes tels que les 2-alkénals et l'hexanal (55, 56). Nos résultats montrent que l'hexanal (20) et le 2-méthyl-2-pentenal (18) semblent effectivement très retenus par le gel laitier mais d'autres aldéhydes tels que le cis-4-heptenal (21) et l'heptanal (22) ou d'autres esters et cétones ont d'aussi fortes rétentions. Ces résultats ne peuvent donc pas faire clairement état de liaison covalente.

4.2.3.1 Bilan des déterminations des coefficients de partage

La rétention/libération des 28 composés dans les gels laitiers ne dépend ni de la classe chimique ni de la masse molaire des composés d'arôme. En effet les composés les plus retenus ou les moins retenus se trouvent aussi bien parmi les aldéhydes, que parmi les cétones et les esters. De plus, on observe une relation entre la rétention et la masse molaire uniquement pour les cétones.

Certaines études dans des gels de carraghénane (80), des solutions de polysaccharides (172) ou des préparations de fruit à contenant des épaississants (168) ont montré que la libération des composés d'arôme augmentait avec le nombre de carbone (168, 172) et le $\log P(80)$, mais ces études concernent uniquement des séries linéaires homologues.

Les résultats que nous avons obtenus avec l'ensemble des 28 composés ne montrent pas de lien entre la libération ou la rétention, et le nombre de carbone ou l'hydrophobie globale ($A\log P_{98}$). En effet, plusieurs types de structure sont représentés, et nos résultats prennent en compte les structures des composés ramifiés et/ou insaturés en plus de celles des composés linéaires. Il faut donc examiner le rôle des différentes caractéristiques de la structure des composés d'arôme (linéarité, ramification, insaturation des chaînes carbonées), ce que nous développons dans la partie suivante.

4.3 Relations structure-propriété

Nous avons tenté d'expliquer l'impact de la structure des composés d'arôme sur leur équilibre rétention/libération. Il s'agissait donc de confronter des propriétés moléculaires traduites par les descripteurs moléculaires, à la rétention/libération qui est la propriété expérimentale mesurée à l'aide des coefficients de partage.

Nous avons retenu des propriétés moléculaires simples : l'hydrophobie globale, la surface, la polarisabilité et la densité de charge négative, représentées respectivement par les descripteurs AlogP98, Surface Area, Polarizability et Jurs-RNCG.

Notre étude se démarque des précédents travaux publiés par l'utilisation d'une gamme de structures variées même si elles restent dans le même espace chimique (monofonctionnels ne comportant pas de cycles ou d'autres fonctions que les quatre utilisées). De plus, la démarche que nous avons suivie pour les études SAR a consisté à étudier les composés dans un même ensemble, puis en sous-groupes en fonction d'une particularité structurale donnée afin de révéler les particularités de la structure qui influent sur le phénomène rétention-libération.

4.3.1 Etude SAR sur l'ensemble des 28 composés

Nous avons vu plus haut que l'hydrophobie ne pouvait pas à elle seule expliquer le phénomène rétention/libération de tous les composés. Il en est de même pour la surface, la polarisabilité et la densité de charge négative. Cependant, la surface et la polarisabilité sont les descripteurs qui sont les plus à même de rendre compte des interactions de type van der Waals entre les composés d'arôme étudiés et les deux milieux.

Le descripteur AlogP98 est une estimation par calcul du log du coefficient de partage octanol-eau, et rend compte d'une hydrophobie globale de la molécule (170). Les résultats des essais de corrélations avec les coefficients de partage montrent qu'il n'est pas le meilleur descripteur pour rendre compte des interactions entre les composés d'arôme étudiés et les deux milieux pour les composés dont la chaîne carbonée n'est pas linéaire et saturée. La corrélation entre surface moléculaire (Surface Area) et rétention renseigne mieux sur l'existence d'interactions de type van der Waals dans l'eau et dans le gel laitier. La corrélation positive entre la surface et le « *Ratio* » indique l'existence de ce type d'interaction et renseigne sur le caractère hydrophobe des constituants propre du gel laitier. En revanche, la corrélation négative entre $(C_M/C_G)_{\text{eau}}$ et Surface Area montre que les critères favorables à l'établissement d'interactions de type van der Waals sont défavorables à la rétention dans l'eau.

La corrélation positive de Jurs-RNCG avec les coefficients de partage met en évidence des interactions polaires avec les molécules d'eau.

Globalement et pour l'ensemble des 28 composés, une forte polarité et une faible hydrophobie favorisent la rétention dans l'eau mais, au contraire, une faible polarité et une forte hydrophobie favorisent la rétention par les constituants propres du gel laitier. Le fait que chacun de ces deux descripteurs (Surface Area et Jurs-RNCG) donne des corrélations moyennes et opposées avec les coefficients de partage dans l'eau et le « *Ratio* » indique que la polarité et la surface, donc la forme des molécules, sont impliquées aussi bien pour les interactions avec les molécules d'eau qu'avec les macromolécules présentes dans le lait.

4.3.2 Etude SAR sur les différents sous-groupes

La séparation des 28 composés en sous-groupes selon la classe chimique et/ou la structure de la chaîne carbonée permet d'obtenir des corrélations linéaires satisfaisantes entre coefficient de partage et descripteurs moléculaires, et ainsi d'améliorer la compréhension des phénomènes mis en jeu.

4.3.2.1 Esters

La rétention dans l'eau diminue avec la surface et augmente avec la densité de charge, comme nous l'avons vu pour l'ensemble des 28 molécules. Mais les valeurs « *Ratio* » sont bien corrélées, positivement avec la polarisabilité et négativement avec la densité de charge négative. L'absence de toute corrélation entre les valeurs des descripteurs et les valeurs des coefficients de partage dans le gel laitier peut donc s'expliquer par une compétition entre la rétention dans l'eau et la rétention par les constituants du gel laitier, d'où la courbe en cloche que montre l'évolution des valeurs du coefficient de partage dans le gel laitier et le nombre de carbone.

4.3.2.2 Aldéhydes

Comme dans le cas des esters, la rétention des aldéhydes dans l'eau diminue avec la surface et augmente avec la densité de charge. Par contre, la rétention dans le gel laitier va dans le même sens pour les aldéhydes linéaires. Ce phénomène est inattendu car normalement, le gel laitier est un milieu hydrophobe qui, en tant que tel devrait favoriser la rétention des composés qui ont une longue chaîne carbonée, une grande surface et une grande polarisabilité, et défavoriser la rétention des composés à forte densité de charge négative. Il se peut que l'effet observé soit dû à une dégradation partielle de certains aldéhydes en présence des protéines du lait. Par contre, l'augmentation de la rétention dans le gel laitier avec l'augmentation du nombre de carbone est bien observée pour les aldéhydes non-linéaires. Toutefois, la rétention par les constituants propres du gel laitier est, comme dans le cas des esters, favorisée par la surface et la polarisabilité et défavorisée par la densité de charge.

4.3.2.3 Cétones

La rétention de la totalité des cétones, aussi bien dans l'eau que dans le gel laitier, est très bien liée à la masse molaire et au nombre de carbone, contrairement aux esters et aux aldéhydes où ce n'est valable que dans le cas des linéaires.

La rétention des cétones dans l'eau diminue avec la surface, la polarisabilité et l'hydrophobie générale et augmente avec la densité de charge négative. La tendance est la même dans le gel laitier mais elle s'affaiblit avec la polarisabilité et surtout avec la densité de charge négative.

La rétention par les constituants du gel laitier est plus sensible à la polarisabilité et à la densité de charge négative qu'à la surface et l'hydrophobie globale.

4.3.2.4 L'ensemble des trois familles chimiques

On distingue deux catégories de composés en fonction de la rétention dans les gels laitiers, d'une part les carbonylés (aldéhydes et cétones) d'autre part les esters. Pour les carbonylés, la rétention dans le gel laitier suit la même tendance que dans l'eau. Pour les carbonylés, la rétention diminue avec le nombre de carbone et évolue proportionnellement avec les descripteurs d'hydrophobie et inversement proportionnellement avec la densité de charge. Pour les esters, le manque de tendance supposerait une compétition entre l'augmentation de la rétention par les constituants du gel laitier, et une diminution de la rétention par les molécules d'eau.

La densité de charge négative qui traduit le caractère polaire est moins importante dans le cas des esters car la délocalisation des électrons π de la double liaison C=O vers l'oxygène est défavorisée par l'oxygène issu de la fonction alcool. Pour les carbonylés, cette délocalisation est plus favorisée dans les cas des cétones grâce à l'effet inductif donneur des chaînons carbonés de chaque côté de la fonction. Dans le cas des aldéhydes, l'effet inductif ne provient que d'un côté, celui de la chaîne carbonée, l'autre côté étant l'hydrogène de la fonction aldéhyde (O=CH). Par contre, à l'inverse de la fonction cétone, la fonction aldéhyde ne subit pas autant de gêne stérique car elle est en bout de chaîne, ce qui la rend plus accessible.

La différence de polarité entre les aldéhydes et les cétones est discutable mais il est clair que les esters sont les moins polaires.

Les valeurs du Jurs-RNCG vont dans le même sens si on prend l'exemple de trois composés qui ne diffèrent que par leur fonction : heptan-2-one (0,58), heptanal (0,57) et pentanoate d'éthyle (0,40).

La mésomérie et le pH acide du gel laitier sont propices à la formation d'énols plus retenus et capables d'impliquer la formation de liaison hydrogène. Seulement, cela ne peut pas être le cas à partir du

moment où il n'y a pas de différence de rétention entre l'eau (pH estimé à 7) et les gels de pectine (pH=3,5).

La différence de tendance à la rétention dans les gels laitiers entre les carbonyles et les esters peut s'expliquer de la façon suivante : à partir du moment où les valeurs de coefficients de partage des cétones et des aldéhydes dans l'eau et dans le gel laitier sont corrélées avec les valeurs des descripteurs avec la même tendance, ce sont les molécules d'eau qui influent le plus sur la rétention par rapport aux constituants du gel laitier. Les interactions de types polaires sont donc plus importantes que les interactions de type van der Waals. Cela est encore plus visible pour les cétones, car les corrélations entre valeurs des descripteurs sont moins bonnes avec les valeurs du « Ratio » qu'avec les valeurs des coefficients de partage dans l'eau et dans le gel laitier.

Pour les esters, les corrélations entre les valeurs des coefficients de partage et les valeurs des descripteurs sont quasiment absentes dans le gel laitier, alors que dans l'eau, la tendance était positive avec Jurs-RNCG (polarité) et négative avec les descripteurs Surface Area et Polarizability.

Cela montre l'intervention des molécules d'eau au même titre que les constituants du gel laitier, donc une compétition entre interactions de type polaire et interactions de type van der Waals. Le rôle des constituants propres du gel laitier est confirmé par les corrélations entre les valeurs du « Ratio » et les valeurs des descripteurs.

Au vu des différences de rétention qui apparaissent selon la fonction chimique, on peut avancer les points suivants :

(i)-Les interactions polaires liées aux molécules d'eau semblent prédominer pour les cétones que ce soit dans l'eau ou dans le gel laitier. Ces interactions prédominent dans l'eau pour les esters et les aldéhydes mais pas dans le gel laitier.

(ii)-Les interactions de type van der Waals sont fortement mises en jeu pour la rétention des esters et des aldéhydes par les constituants propres du gel laitier mais elles sont plus faiblement impliquées dans le cas des cétones.

4.3.3 La structure de la chaîne carbonée

Les meilleures corrélations sont en général obtenues avec la polarisabilité et la surface. La densité de charge ne présente de tendance qu'avec les rétentions des insaturés dans les deux milieux, et des cétones dans l'eau.

4.3.3.1 Les composés linéaires

Jouquand (172) a remarqué que les cétones linéaires dont la heptan-2-one, étaient plus retenues dans l'eau que leurs homologues aldéhydes, qui sont eux-mêmes plus retenus que leurs homologues esters. Pour ces séries homologues, la rétention diminue avec le nombre de carbone. Ces résultats concordent avec les nôtres car que ce soit la série homologue des aldéhydes ou celle des linéaires, elles montrent toutes les deux une diminution de la rétention dans l'eau avec le nombre de carbone, les esters étant moins retenus dans l'eau que les aldéhydes, qui sont eux même moins retenus que la heptan-2-one.

Cette unique cétone linéaire est la plus fortement retenue dans l'eau et la moins retenue dans le gel laitier par rapport aux aldéhydes, aux esters. Du fait de ce comportement particulier, le sous-groupe des linéaires ne donne pas de bonnes corrélations entre les rétentions et les descripteurs. En prenant en considération exclusivement les esters linéaires et les aldéhydes linéaires, les corrélations s'améliorent.

La rétention des esters et des aldéhydes linaires dans l'eau diminue avec le nombre de chaînons carbonés. La polarisabilité et la surface expliquent mieux la rétention de ces composés dans l'eau par une relation inversement proportionnelle, que l'hydrophobie globale qui distingue les esters linéaires des aldéhydes linéaires par deux relations également inversement proportionnelles. Le fait que la droite de corrélation entre les valeurs des coefficients de partage dans l'eau $(C_M/C_G)_{\text{eau}}$ et les valeurs de AlogP98 pour les aldéhydes est supérieure et parallèle à celle correspondant aux esters signifie que pour une même valeur d'hydrophobie globale, l'aldéhyde est plus retenu que son ester homologue.

La densité de charge distingue aussi les esters des aldéhydes par deux droites dont les pentes sont cette fois-ci positives et non-parallèles. La pente de la droite correspondant aux esters est deux fois plus importante que celle de la droite correspondant aux aldéhydes. Cela veut dire que la densité de charge négative a plus d'effet sur la rétention dans le cas des esters que dans le cas des aldéhydes et par conséquent, les interactions de types polaires seraient plus importantes dans le cas des esters linéaires que dans le cas des aldéhydes linéaires.

Ceci est en contradiction avec ce que nous avons déduit en prenant en considération l'ensemble des esters et l'ensemble des aldéhydes pour les interactions de type polaire, qui sont plus importantes dans le cas des esters que dans le cas des aldéhydes.

Les descripteurs n'expliquent pas la rétention des esters linéaires et des aldéhydes linéaires par la même loi dans le gel laitier ou par les constituants propres du gel laitier. En effet, dans un cas, pour les aldéhydes linéaires il y a une excellente corrélation entre les valeurs de l'ensemble des descripteurs et les valeurs des $(C_M/C_G)_{\text{GL}}$ contrairement aux esters linéaires. Dans un autre cas, il y a une très bonne corrélation entre les valeurs du « Ratio » et les valeurs de l'ensemble des descripteurs pour les esters et une moins bonne corrélation pour les aldéhydes.

4.3.3.2 Ramification et insaturation

Pour les composés qui sont à la fois ramifiés et insaturés (2 esters et 4 aldéhydes), c'est l'hydrophobie globale (AlogP98) qui explique le mieux la rétention par les composés propres du gel laitier. Si on les compare aux composés ramifiés et aux composés linéaires, par le biais de la relation entre le « Ratio » et AlogP98, on s'aperçoit que la rétention des composés ramifiés-insaturés croît plus vite avec l'hydrophobie que la rétention des composés ramifiés d'une part et des composés linéaires d'autre part.

Pour les aldéhydes non linéaires (ramifiés ou insaturés), la rétention par les constituants du gel laitier est fortement liée à la polarisabilité.

Pour les esters et les aldéhydes, l'insaturation conduit à une plus forte rétention dans l'eau et dans le gel laitier alors que la ramification conduit à une plus faible rétention.

Lorsqu'un composé est à la fois ramifié et insaturé, l'effet de l'insaturation l'emporte sur celui de la ramification. En effet, comme nous l'avons remarqué, la rétention du 2-méthylpent-2-éanal est plus importante que celle que prédit la droite de régression linéaire AlogP98 vs C_M/C_G dans les deux milieux, d'ailleurs elle est supérieure à celle de l'hexanal.

Pour les 3 esters à 6 chaînons carbonés, insaturé ((E)-but-2-énoate d'éthyle), linéaire (butanoate d'éthyle) ou ramifié (2-méthylpropanoate d'éthyle), on remarque que les températures d'ébullition (142, 121 et 110°C) évoluent de la même façon que les coefficients de partage dans l'eau (81, 39 et 21). En d'autres termes, l'effet de l'insaturation et de la ramification est le même sur la température de changement de phase (liquide-vapeur) que sur la rétention dans l'eau. Cela veut dire que le comportement relatif des composés d'arôme est le même que ce soit à l'état pur qu'en solution dans l'eau.

Dans le gel laitier l'effet de l'insaturation est légèrement plus prononcé que l'effet de la ramification (valeurs de C_M/C_G égales à 99, 39 et 27). Cela peut indiquer un comportement légèrement différent dans le gel laitier. Cependant, les corrélations entre les valeurs du « Ratio » et celles des descripteurs ne font pas état d'écarts liés à l'insaturation ou la ramification.

Pour les aldéhydes, l'effet de l'insaturation et de la ramification sur la rétention dans l'eau est similaire à celui des esters mais pour la rétention dans le gel laitier, l'effet de l'insaturation est comparable à celui de la ramification. De plus, la corrélation entre les valeurs de la surface et celles du « Ratio » place les points correspondant aux aldéhydes ramifiés et/ou insaturés en dessous de la droite de régression correspondant aux aldéhydes linéaires. Cela montre que la ramification et/ou insaturation diminue la rétention par les constituants propres du gel laitier.

L'insaturation et la ramification ont les mêmes effets sur la rétention des aldéhydes et des esters linéaires que sur leurs températures d'ébullition (cf contexte bibliographique).

Si on compare les rétentions dans l'eau des aldéhydes et les esters linéaires d'un côté et leurs homologues ramifiés d'un autre côté, on remarque que pour ces composés les deux droites de régression rétention (C_M/C_G) vs Surface Area sont parallèles. Sur cette représentation graphique, la droite correspondant aux composés linéaires se trouve au-dessus de celle qui correspond à leurs isomères ramifiés. Cela veut dire qu'on peut aussi bien prédire les rétentions des esters linéaires que les rétentions de leurs isomères ramifiés.

Dans le cas des esters, la ramification et l'insaturation ont un impact plus faible sur la rétention dans le gel laitier pour les composés à forte masse molaire.

Les 3 composés insaturés appartenant aux 3 familles chimiques sont parmi les plus retenus dans l'eau et dans le gel laitier mais pour ces composés, il n'y a que la densité de charge qui montre une tendance avec les rétentions et de manière peu significative.

Dans le cas des cétones, les effets de la ramification et de l'insaturation n'ont pas été observés. L'examen des valeurs des coefficients de partage des 2 isomères à 7 chaînons carbonés montre que la rétention dans l'eau n'est pas sensible à la ramification probablement parce que cette ramification se situe loin de la fonction carbonyle. Les isomères à 8 chaînons carbonés montrent que la position de la ramification ne modifie quasiment pas la rétention dans ce milieu. Dans le gel laitier, la rétention est sensible à la ramification mais beaucoup moins à la position de la ramification.

Conclusion

5 CONCLUSION

Nous avons étudié le phénomène rétention/libération de 51 composés d'arôme de structures variées appartenant aux quatre familles chimiques, alcool, aldéhyde, cétone et ester, en prenant en compte leur répartition entre la phase vapeur et différentes matrices : l'eau, des gels de pectine et des gels laitiers additionnés ou non de pectine. Pour cela, nous avons mesuré les coefficients de partage de chaque composé d'arôme dans les différentes matrices en utilisant la méthode PRV (Phase Ratio Variation). Nous avons constaté que cette méthode ne pouvait pas s'appliquer facilement aux composés les plus retenus par la matrice car leur concentration en phase vapeur était trop faible pour que les variations des surfaces chromatographiques en fonction du rapport des volumes de phase liquide et vapeur puissent être détectées. C'est notamment le cas des alcools.

Après avoir vérifié que le saccharose présent dans la poudre de pectine en tant que stabilisant n'avait pas d'influence vis-à-vis de la rétention/libération des composés d'arôme, nous avons comparé les valeurs des coefficients de partage obtenus dans les différents milieux. Nous n'avons pas observé d'effet lié à la présence de pectine, mais cette question reste posée, l'absence de mise en évidence d'un effet de la pectine pouvant être lié à plusieurs facteurs (mode de gélification du lait, mode d'incorporation de la pectine, méthode de détermination des coefficients de partage). Il sera nécessaire d'entreprendre une étude particulière pour répondre à cette question.

Dans le cadre du présent travail, nous avons donc concentré notre étude sur la comparaison des rétentions dans l'eau et dans le gel laitier, en utilisant en plus des coefficients de partage expérimentaux, un coefficient de partage fictif destiné à mettre en évidence les effets des constituants propres du gel laitier. Ces constituants augmentent la rétention des molécules odorantes, mais ce phénomène est trop complexe pour être expliqué par la seule hydrophobie ($\log P$).

Nous avons effectué une étude des relations structure-rétention des molécules odorantes en évaluant les corrélations entre les coefficients de partage et quatre descripteurs moléculaires : AlogP98, Polarizability, Surface Area et Jurs-RNCG.

L'étude de l'ensemble des 28 arômes a permis de donner certaines indications concernant les propriétés moléculaires impliquées dans les interactions avec les différents milieux. Tout d'abord, les résultats des études de corrélation montrent que l'hydrophobie globale des molécules, traduite par la valeur AlogP98, n'est pas la propriété moléculaire la mieux à même d'expliquer les phénomènes impliqués dans les interactions de molécules odorantes avec les constituants du milieu (eau ou gel laitier) dans lequel elles sont en solution. La surface et la polarisabilité rendent mieux compte des rétentions des composés d'arôme, aussi bien dans l'eau que dans le gel laitier. Le résultat global sur l'ensemble de 28 molécules

confirme qu'une forte polarité et une faible hydrophobie favorisent la rétention dans l'eau, tandis qu'une faible polarité et une forte hydrophobie favorisent la rétention par les constituants propres du gel laitier. Les corrélations opposées entre les descripteurs Surface Area et Jurs-RNCG et les coefficients de partage dans l'eau et le « *Ratio* » mettent en évidence le rôle de la structure de la chaîne dans le phénomène de rétention/libération aussi bien pour les interactions avec les molécules d'eau qu'avec les macromolécules présentes dans le lait. Le fait que ces corrélations soient assez médiocres suggère que des phénomènes plus complexes sont mis en jeu.

Pour tenter de mieux cerner la nature de ces phénomènes, nous nous sommes intéressés d'une part aux familles chimiques séparément, et d'autre part à des groupes structuraux.

L'étude par famille chimique des corrélations entre les descripteurs et les coefficients de partage nous a permis de mettre en évidence des similitudes de comportement pour certains sous-groupes :

Les cétones ont un comportement particulier car leur rétention dans l'eau augmente en fonction du nombre de carbone et indépendamment de la structure de la chaîne carbonée, contrairement aux aldéhydes et aux esters.

L'étude des rétentions par famille structurale nous a permis d'identifier des comportements propres aux composés linéaires et ramifiés et/ou insaturés :

- ✱ pour les cétones, nous n'avons pas observé d'effet de la ramification par rapport à celui de l'insaturation ;
- ✱ pour le sous-groupe constitué par les aldéhydes et les esters linéaires :
 - la rétention dans l'eau diminue proportionnellement avec l'augmentation du nombre de carbone, de la surface et la de polarisabilité et du A_{logP98} , et augmente avec la densité de charge ;
 - par rapport à une molécule linéaire de masse moléculaire très proche, la ramification diminue la rétention dans l'eau et dans le gel laitier tandis que l'insaturation l'augmente. Lorsqu'un ester ou un aldéhyde possède à la fois une ramification et une insaturation, sa rétention est supérieure à celle du composé linéaire correspondant. Dans le cas des trois esters à 6 carbones, cet effet est en fait le même pour les composés purs et en solution aqueuse ;
 - la rétention par les constituants propres du gel laitier évolue plus rapidement avec l'hydrophobie globale dans le cas des composés ramifiés-insaturés que dans le cas des autres composés.

Nous avons donc montré par ce travail que l'étude des corrélations entre les valeurs des descripteurs et les valeurs de coefficients de partage permet de remonter à la nature des interactions mises en jeu, à condition d'utiliser des structures moléculaires convenablement choisies, sans limiter les molécules aux seules structures linéaires. Les corrélations impliquant la surface, la polarisabilité et l'hydrophobie globale, confirment que les interactions de type van der Waals (essentiellement Keesom et London) sont favorables à la rétention dans les gels laitiers et défavorables à la rétention dans l'eau. De même, les corrélations impliquant la densité de charge montrent que les interactions polaires sont favorables à la rétention dans l'eau. Mais les études sur les différents groupes montrent bien que les molécules d'une même famille chimique ont des types de comportement différents, et que la structure de la chaîne explique parfois mieux le déplacement de l'équilibre rétention libération que la fonction chimique. C'est en particulier le cas des esters et des aldéhydes insaturés et ramifiés lorsqu'on utilise les valeurs de « *Ratio* ».

De l'ensemble de ces observations, il découle que notre choix de départ, qui consistait à faire varier la structure des composés d'arôme afin de voir son effet sur le phénomène rétention-libération des composés d'arôme, s'est avéré concluant, et le groupe de 28 composés permet effectivement de mener une étude de relations structure-propriété.

Toutefois, il serait nécessaire de disposer de plusieurs cétones linéaires, d'une plus large gamme de molécules insaturées et d'aldéhydes linéaires.

Il serait également important de connaître les coefficients de partage d'alcools et des composés plus fortement retenus par la matrice. L'augmentation de la température de l'équilibre ne peut pas être avancée comme solution mais des améliorations dans l'exploitation de la méthode PRV, ou le recours aux autres méthodes de mesure classique avec étalonnage peuvent être proposées.

La démarche que nous avons appliquée peut être utilisée comme outil d'aide à la formulation et pourra être transposée à d'autres modèles de matrices alimentaires complexes telles que les fromages, les boissons et des aliments élaborés... Cette transposition peut se faire non seulement à des systèmes alimentaires seuls, mais à tout système complexe lié à l'aspect alimentaire comme l'aliment en présence de salive, la limite étant, comme pour toute étude QSAR, le temps d'acquisition des données.

Pour parfaire les informations extraites des corrélations linaires simples, nous pourrions envisager de générer des équations complexes par différentes méthodes statistiques avec un plus grand nombre de descripteurs. Ceci permettra d'accéder à la mise en évidence d'effets plus subtils mis en jeu dans les interactions entre les molécules odorantes et les milieux où elles sont présentes. Toutefois, il faut bien noter que le QSAR n'est pas qu'une question de nombre de variables ni de puissance de calcul et de nombre de descripteurs (187). De plus, des travaux récents sur la prédiction de la solubilité ont montré

que l'approche par des régressions linéaires multiples peut être plus pertinente que les méthodes complexes de modélisation faisant appel à des régressions non-linéaires (188).

En tenant compte de ces principes, et en s'attachant à des choix raisonnés et judicieux de structures moléculaires appartenant au même espace chimique, l'application de l'approche QSAR/QSPR aux équilibres entre phases apparaît comme un excellent moyen d'appréhender les interactions moléculaires mises en jeu dans les milieux hétérogènes et complexes.

Bibliographie

6 BIBLIOGRAPHIE

1. Lubbers, S.; Guichard, E., The effects of sugars and pectin on flavour release from a fruit pastille model system. *Food Chemistry* **2003**, 81, (2), 269-273.
2. Lubbers, S.; Decourcelle, N.; Martinez, D.; Guichard, E.; Tromelin, A., Effect of thickeners on aroma compound behavior in a model dairy gel. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2007**, 55, (12), 4835-4841.
3. Puvanenthiran, A.; Williams, R. P. W.; Augustin, M. A., Structure and visco-elastic properties of set yoghurt with altered casein to whey protein ratios. *International Dairy Journal* **2002**, 12, (4), 383-391.
4. Lucey, J. A.; Tamehana, M.; Singh, H.; Munro, P. A., A comparison of the formation, rheological properties and microstructure of acid skim milk gels made with a bacterial culture or glucono- δ -lactone. *Food Research International* **1998**, 31, (2), 147-155.
5. Renan, M.; Arnoult-Delest, V.; Paquet, D.; Brule, G.; Famelart, M. H., Changes in the rheological properties of stirred acid milk gels as induced by the acidification procedure. *Dairy Science & Technology* **2008**, 88, (3), 341-353.
6. Aguilera, J. M.; Kinsella, J. E., Compression strength of dairy gels and microstructural interpretation. *Journal of Food Science* **1991**, 56, (5), 1224-1228.
7. Modler, H. W.; Kalab, M., Microstructure of yogurt stabilized with milk-proteins. *Journal of Dairy Science* **1983**, 66, (3), 430-437.
8. Dickinson, E.; Merino, L. M., Effect of sugars on the rheological properties of acid caseinate-stabilized emulsion gels. *Food Hydrocolloids* **2002**, 16, (4), 321-331.
9. de Kruif, C. G.; Tuinier, R., Polysaccharide protein interactions. *Food Hydrocolloids* **2001**, 15, (4-6), 555-563.
10. Harrington, J. C.; Foegeding, E. A.; Mulvihill, D. M.; Morris, E. R., Segregative interactions and competitive binding of Ca^{2+} in gelling mixtures of whey protein isolate with Na^{+} kappa-carrageenan. *Food Hydrocolloids* **2009**, 23, (2), 468-489.
11. Akerstrom, B.; Flower, D.; Salier, J.-S., Lipocalins: Unity in diversity. *Biochimica et Biophysica Acta* **2000**, 1482, 1-8.
12. Flower, D.; North, A.; Sansom, C., The lipocalin protein family: Structural and sequence overview. *Biochimica et Biophysica Acta* **2000**, 1482, 9-24.

13. Arvisenet, G.; Le Bail, P.; Voilley, A.; Cayot, N., Influence of physicochemical interactions between amylose and aroma compounds on the retention of aroma in food-like matrices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2002**, 50, (24), 7088-7093.
14. Verbeken, D.; Bael, K.; Thas, O.; Dewettinck, K., Interactions between k-carrageenan, milk proteins and modified starch in sterilized dairy desserts. *International Dairy Journal* **2006**, 16, (5), 482-488.
15. Arltoft, D.; Madsen, F.; Ipsen, R., Relating the microstructure of pectin and carrageenan in dairy desserts to rheological and sensory characteristics. *Food Hydrocolloids* **2008**, 22, (4), 660-673.
16. De Ruiter, G. A.; Rudolph, B., Carrageenan biotechnology. *Trends in Food Science and Technology* **1997**, 8, 389-395.
17. Misharina, T. A.; Terenina, M. B.; Krikunova, N. I.; Kalinchenko, M. A., Sorption of components from a mixture of odorants by polysaccharides of starch, chitosan, and carrageenan. *Applied Biochemistry and Microbiology* **2006**, 42, (1), 111-115.
18. Seuvre, A. M.; Turci, C.; Voilley, A., Effect of the temperature on the release of aroma compounds and on the rheological behaviour of model dairy custard. *Food Chemistry* **2008**, 108, (4), 1176-1182.
19. Everett, D. W.; McLeod, R. E., Interactions of polysaccharide stabilisers with casein aggregates in stirred skim-milk yoghurt. *International Dairy Journal* **2005**, 15, (11), 1175-1183.
20. Langendorff, V.; Cuvelier, G.; Launay, B.; Michon, C.; Parker, A.; De Kruif, C. G., Casein micelle/iota carrageenan interactions in milk: Influence of temperature. *Food Hydrocolloids* **1999**, 13, (3), 211-218.
21. Baeza, R. I.; Carp, D. J.; Perez, O. E.; Pilosof, A. M. R., Kappa-carrageenan - protein interactions: Effect of proteins on polysaccharide gelling and textural properties. *Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie-Food Science and Technology* **2002**, 35, (8), 741-747.
22. Weinbreck, F.; Nieuwenhuijse, H.; Robijn, G. W.; de Kruif, C. G., Complexation of whey proteins with carrageenan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2004**, 52, (11), 3550-3555.
23. Galazka, V. B.; Smith, D.; Ledward, D. A.; Dickinson, E., Interactions of ovalbumin with sulphated polysaccharides: Effects of ph, ionic strength, heat and high pressure treatment. *Food Hydrocolloids* **1999**, 13, (2), 81-88.
24. Galazka, V. B.; Smith, D.; Ledward, D. A.; Dickinson, E., Complexes of bovine serum albumin with sulphated polysaccharides: Effects of ph, ionic strength and high pressure treatment. *Food Chemistry* **1999**, 64, 303-310.

25. Bourriot, S.; Garnier, C.; Doublier, J.-L., Micellar-casein–carrageenan mixtures. I. Phase separation and ultrastructure. *Carbohydrate Polymers* **1999**, 40, (2), 145-157.
26. Spagnuolo, P. A.; Dagleish, D. G.; Goff, H. D.; Morris, E. R., Kappa-carrageenan interactions in systems containing casein micelles and polysaccharide stabilizers. *Food Hydrocolloids* **2005**, 19, (3), 371-377.
27. Decourcelle, N.; Lubbers, S.; Vallet, N.; Rondeau, P.; Guichard, E., Effect of thickeners and sweeteners on the release of blended aroma compounds in fat-free stirred yoghurt during shear conditions. *International Dairy Journal* **2004**, 14, (9), 783-789.
28. Kurita, O.; Fujiwara, T.; Yamazaki, E., Characterization of the pectin extracted from citrus peel in the presence of citric acid. *Carbohydrate Polymers* **2008**, 74, (3), 725-730.
29. Zykwiniska, A.; Boiffard, M. H.; Kontkanen, H.; Buchert, J.; Thibault, J. F.; Bonnin, E., Extraction of green labeled pectins and pectic oligosaccharides from plant byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2008**, 56, (19), 8926-8935.
30. Yoo, S. H.; Lee, B. H.; Savary, B. J.; Lee, S.; Lee, H. G.; Hotchkiss, A. T., Characteristics of enzymatically-deesterified pectin gels produced in the presence of monovalent ionic salts. *Food Hydrocolloids* **2009**, 23, (7), 1926-1929.
31. Willats, W. G. T.; Knox, J. P.; Mikkelsen, J. D., Pectin: New insights into an old polymer are starting to gel. *Trends in Food Science & Technology* **2006**, 17, (3), 97-104.
32. Kirby, A. R.; MacDougall, A. J.; Morris, V. J., Sugar beet pectin-protein complexes. *Food Biophysics* **2006**, 1, (1), 51-56.
33. Einhorn-Stoll, U.; Ulbrich, M.; Sever, S.; Kunzek, H., Formation of milk protein-pectin conjugates with improved emulsifying properties by controlled dry heating. *Food Hydrocolloids* **2005**, 19, (2), 329-340.
34. Doublier, J. L.; Garnier, C.; Renard, D.; Sanchez, C., Protein-polysaccharide interactions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **2000**, 5, (3-4), 202-214.
35. Ye, A. Q., Complexation between milk proteins and polysaccharides via electrostatic interaction: Principles and applications - a review. *International Journal of Food Science and Technology* **2008**, 43, (3), 406-415.
36. Zaleska, H.; Ring, S. G.; Tomasik, P., Apple pectin complexes with whey protein isolate. *Food Hydrocolloids* **2000**, 14, (4), 377-382.
37. Neiryneck, N.; Van der Meeren, P.; Lukaszewicz-Lausecker, M.; Cocquyt, J.; Verbeken, D.; Dewettinck, K. In *Influence of pH and biopolymer ratio on whey protein-pectin interactions in aqueous solutions and in o/w emulsions*, 17th European Chemistry at Interfaces Conference (ECIC-

17), Loughborough, ENGLAND, Jun 27-Jul 01, 2005; Elsevier Science Bv: Loughborough, ENGLAND, 2005; pp 99-107.

38. Kratchanova, M.; Slavov, A.; Kratchanov, C., Interaction of pectin with amino acids and other amino compounds in aqueous solution. *Food Hydrocolloids* **2004**, 18, (4), 677-683.

39. Wang, X.; Wang, Y. W.; Ruengruglikit, C.; Huang, Q., Effects of salt concentration on formation and dissociation of beta-lactoglobulin/pectin complexes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2007**, 55, (25), 10432-10436.

40. Tromp, R. H.; de Kruif, C. G.; van Eijk, M.; Rolin, C., On the mechanism of stabilisation of acidified milk drinks by pectin. *Food Hydrocolloids* **2004**, 18, (4), 565-572.

41. Bedie, G. K.; Turgeon, S. L.; Makhlof, J., Formation of native whey protein isolate-low methoxyl pectin complexes as a matrix for hydro-soluble food ingredient entrapment in acidic foods. *Food Hydrocolloids* **2008**, 22, (5), 836-844.

42. Mishra, S.; Mann, B.; Joshi, V. K., Functional improvement of whey protein concentrate on interaction with pectin. *Food Hydrocolloids* **2001**, 15, (1), 9-15.

43. Matia-Merino, L.; Lau, K.; Dickinson, E., Effects of low-methoxyl amidated pectin and ionic calcium on rheology and microstructure of acid-induced sodium caseinate gels. *Food Hydrocolloids* **2004**, 18, (2), 271-281.

44. Liu, J. R.; Nakamura, A.; Corredig, M., Addition of pectin and soy soluble polysaccharide affects the particle size distribution of casein suspensions prepared from acidified skim milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2006**, 54, (17), 6241-6246.

45. Beaulieu, M.; Corredig, M.; Turgeon, S. L.; Wicker, L.; Doublier, J. L., The formation of heat-induced protein aggregates in whey protein/pectin mixtures studied by size exclusion chromatography coupled with multi-angle laser light scattering detection. *Food Hydrocolloids* **2005**, 19, (5), 803-812.

46. Wang, Q.; Qvist, K. B., Investigation of the composite system of b-lactoglobulin and pectin in aqueous solutions. *Food Research International* **2000**, 33, 683-690.

47. Girard, M.; Turgeon, S. L.; Gauthier, S. F., Quantification of the interactions between b-lactoglobulin and pectin through capillary electrophoresis analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2003**, 51, 6043-6049.

48. Guzey, D.; McClements, D. J., Impact of electrostatic interactions on formation and stability of emulsions containing oil droplets coated by beta-lactoglobulin-pectin complexes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2007**, 55, (2), 475-485.

49. Girard, M. T., S. L.; Gauthier, S. F., Interbiopolymer complexing between β -lactoglobulin and low- and high-methylated pectin measured by potentiometric titration and ultrafiltration. *Food Hydrocolloids* **2002**, 16, 585-591.
50. Burova, T. V.; Grinberg, N. V.; Golubeva, I. A.; Mashkevich, A. Y.; Grinberg, V. Y.; Tolstoguzov, V. B., Flavour release in model bovine serum albumin/pectin/2-octanone systems. *Food Hydrocolloids* **1999**, 13, (1), 7-14.
51. Kora, E. P.; Souchon, I.; Latrille, E.; Martin, N.; Marin, M., Composition rather than viscosity modifies the aroma compound retention of flavored stirred yogurt. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2004**, 52, (10), 3048-3056.
52. Le Thanh, M.; Thibeau, P.; Thibaut, M. A.; Voilley, A., Interactions between volatile and non-volatile compounds in the presence of water. *Food Chemistry* **1992**, 43, (2), 129-135.
53. Tromelin, A.; Andriot, I.; Guichard, E., Protein-flavour interactions. In *Flavour in food*, CRC Press ed.; Voilley, A.; Etievant, P., Eds. Woodhead Publishing Limited: Cambridge, CB1 6AH (GBR), 2006; Vol. Part 2 Flavour retention and release from the food matrix, pp 172-207.
54. Guichard, E., Flavour retention and release from protein solutions. *Biotechnology Advances* **2006**, 24, (2), 226-229.
55. Meynier, A.; Rampon, V.; Dalgalarondo, M.; Genot, C., Hexanal and t-2-hexenal form covalent bonds with whey proteins and sodium caseinate in aqueous solution. *International Dairy Journal* **2004**, 14, (8), 681-690.
56. Kansci, G.; Genot, C.; Meynier, A.; Gandemer, G., The antioxidant activity of carnosine and its consequences on the volatile profiles of liposomes during iron/ascorbate induced phospholipid oxidation. *Food Chemistry* **1997**, 60, (2), 165-175.
57. Andriot, I.; Harrison, M.; Fournier, N.; Guichard, E., Interactions between methyl ketones and beta-lactoglobulin: Sensory analysis, headspace analysis, and mathematical modeling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2000**, 48, (9), 4246-4251.
58. Kuhn, J.; Zhu, X. Q.; Considine, T.; Singh, H., Binding of 2-nonanone and milk proteins in aqueous model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2007**, 55, (9), 3599-3604.
59. Kuhn, J.; Considine, T.; Singh, H., Binding of flavor compounds and whey protein isolate as affected by heat and high pressure treatments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2008**, 56, (21), 10218-10224.
60. Hansen, A. P., A review of the interactions between milk proteins and dairy flavor compounds. *Adv Exp Med Biol* **1997**, 415, 67-76.
61. Kopjar, M.; Andriot, I.; Saint-Eve, A.; Souchon, I.; Guichard, E., Retention of aroma compounds: An interlaboratory study on the effect of the composition of food matrices on

thermodynamic parameters in comparison with water. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **2010**, 90, (8), 1285-1292.

62. Damodaran, S.; Kinsella, J. E., Flavor protein interactions. Binding of carbonyls to bovine serum albumin: Thermodynamic and conformational effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1980**, 28, (3), 567-571.

63. Burova, T. V.; Grinberg, N. V.; Grinberg, V. Y.; Tolstoguzov, V. B., Binding of odorants to individual proteins and their mixtures. Effects of protein denaturation and association. A plasticized globule state. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **2003**, 213, (2-3), 235-244.

64. Tan, Y.; Siebert, K. J., Modeling bovine serum albumin binding of flavor compounds (alcohols, aldehydes, esters, and ketones) as a function of molecular properties. *Journal of Food Science* **2008**, 73, (1), S56-S63.

65. McNeill, V. L.; Schmidt, K. A., Vanillin interaction with milk protein isolates in sweetened drinks. *Journal of Food Science* **1993**, 58, (5 1142-1144), 1147.

66. Fares, K.; Landy, P.; Guilard, R.; Voilley, A., Physicochemical interactions between aroma compounds and milk proteins : Effect of water and protein modification. *Journal of Dairy Science* **1998**, 81, (1), 82-91.

67. Landy, P.; Druaux, C.; Voilley, A., Retention of aroma compounds by proteins in aqueous solution. *Food Chemistry* **1995**, 54, (4), 387-392.

68. Farrell, H. M.; Qi, P. X.; Brown, E. M.; Cooke, P. H.; Tunick, M. H.; Wickham, E. D.; Unruh, J. J., Molten globule structures in milk proteins: Implications for potential new structure-function relationships. *Journal of Dairy Science* **2002**, 85, (3), 459-471.

69. Guichard, E., Flavour retention and release from protein solutions. *Biotechnology Advances* 24, (2), 226-229.

70. Saint-Eve, A.; Levy, C.; Martin, N.; Souchon, I., Influence of proteins on the perception of flavored stirred yogurts. *Journal of Dairy Science* **2006**, 89, (3), 922-933.

71. Saint-Eve, A.; Martin, N.; Guillemain, H.; Semon, E.; Guichard, E.; Souchon, I., Flavored yogurt complex viscosity influences real-time aroma release in the mouth and sensory properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2006**, 54, (20), 7794-7803.

72. Reiners, J.; Nicklaus, S.; Guichard, E., Interactions between beta-lactoglobulin and flavour compounds of different chemical classes. Impact of the protein on the odour perception of vanillin and eugenol. *Le Lait* **2000**, 80, 347-360.

73. Sostmann, K.; Guichard, E., Immobilized beta-lactoglobulin on a hplc-column : A rapid way to determine protein/flavour interactions. *Food Chemistry* **1998**, 62, 509-513.

74. Tromelin, A.; Guichard, E., 2d-and 3d-QSAR models of interaction between flavor compounds and beta-lactoglobulin using catalyst and cerius(2). *Qsar & Combinatorial Science* **2004**, 23, (4), 214-233.
75. Tavel, L.; Andriot, I.; Moreau, C.; Guichard, E., Interactions between beta-lactoglobulin and aroma compounds: Different binding behaviors as a function of ligand structure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2008**, 56, (21), 10208-10217.
76. Tavel, L. Interaction entre la β -lactoglobuline et les arômes: Impact au niveau moléculaire. Université de Bourgogne, Dijon, 2008.
77. Pelletier, E.; Sostmann, K.; Guichard, E., Measurement of interactions between beta-lactoglobulin and flavor compounds (esters, acids and pyrazines) by affinity and exclusion size chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1998**, 46, (4), 1506 - 1509.
78. Tavel, L.; Moreau, C.; Bouhallab, S.; Li-Chan, E. C. Y.; Guichard, E., Interactions between aroma compounds and beta-lactoglobulin in the heat-induced molten globule state. *Food Chemistry* **2010**, 119, (4), 1550-1556.
79. Baines, Z. V.; Morris, E. R., Flavour/taste perception in thickened systems: The effect of guar gum above and below c^* . *Food Hydrocolloids: 1 (3) 197-205* **1987**, 1, (3), 197-205.
80. Bylaite, E.; Ilgunaite, Z.; Meyer, A. S.; Adler-Nissen, J., Influence of lambda-carrageenan on the release of systematic series of volatile flavor compounds from viscous food model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2004**, 52, (11), 3542-3549.
81. Gonzalez-Tomas, L.; Bayarri, S.; Taylor, A. J.; Costell, E., Flavour release and perception from model dairy custards. *Food Research International* **2007**, 40, (4), 520-528.
82. Savary, G.; Lafarge, C.; Doublier, J. L.; Cayot, N., Distribution of aroma in a starch-polysaccharide composite gel. *Food Research International* **2007**, 40, (6), 709-716.
83. Juteau, A.; Doublier, J. L.; Guichard, E., Flavour release from ι -carrageenan matrices: A kinetic approach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2004**, 52, (6), 1621-1629.
84. Chana, A.; Tromelin, A.; Andriot, I.; Guichard, E., Flavor release from iota-carrageenan matrix: A quantitative structure-property relationships approach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2006**, 54, (10), 3679-3685.
85. Boland, A. B.; Buhr, K.; Giannouli, P.; van Ruth, S. M., Influence of gelatin, starch, pectin and artificial saliva on the release of 11 flavour compounds from model gel systems. *Food Chemistry* **2004**, 86, (3), 401-411.
86. Boutboul, A.; Giampaoli, P.; Feigenbaum, A.; Ducruet, V., Influence of the nature and treatment of starch on aroma retention. *Carbohydrate Polymers* **2002**, 47, (1), 73-82.

87. Pozo-Bayon, M. A.; Biais, B.; Rampon, V.; Cayot, N.; Le Bail, P., Influence of complexation between amylose and a flavored model sponge cake on the degree of aroma compound release. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2008**, 56, (15), 6640-6647.
88. Rutschmann, M. A.; Solms, J., Inclusion complexes of potato starch-a binding model with synergism and antagonism. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie* **1991**, 24, (5), 473-475.
89. Wulff, G.; Avgenaki, G.; Guzman, M. S. P., Molecular encapsulation of flavours as helical inclusion complexes of amylose. *Journal of Cereal Science* **2005**, 41, (3), 239-249.
90. Heinemann, C.; Zinsli, M.; Renggli, A.; Escher, F.; Conde-Petit, B., Influence of amylose-flavor complexation on build-up and breakdown of starch structures in aqueous food model systems. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* **2005**, 38, (8), 885-894.
91. Heinemann, C.; Conde-Petit, B.; Nuessli, J.; Escher, F., Evidence of starch inclusion complexation with lactones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2001**, 49, (3), 1370-1376.
92. Nuessli, J.; Conde-Petit, B.; Trommsdorff, U. R.; Escher, F., Influence of starch flavour interactions on rheological properties of low concentration starch systems. *Carbohydrate Polymers* **1995**, 28, (2), 167-170.
93. Rutschmann, M. A.; Solms, J., Formation of inclusion complexes of starch in ternary model systems with decanal, menthone, and 1-naphthol. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie: 23* (5) 457-464 **1990**, 23, (5), 457-464.
94. Tietz, M.; Buettner, A.; Conde-Petit, B., Interaction between starch and aroma compounds as measured by proton transfer reaction mass spectrometry (ptr-ms). *Food Chemistry* **2008**, 108, (4), 1192-1199.
95. Braudo, E. E.; Plashchina, I. G.; Kobak, V. V.; Golovnya, R. V.; Zhuravleva, I. L.; Krikunova, N. I., Interactions of flavor compounds with pectic substances. In 2000; Vol. 44, pp 173-177.
96. Yoo, Y. H.; Lee, S.; Kim, Y.; Kim, K. O.; Kim, Y. S.; Yoo, S. H., Functional characterization of the gels prepared with pectin methylesterase (pme)-treated pectins. *International Journal of Biological Macromolecules* **2009**, 45, (3), 226-230.
97. Rega, B.; Guichard, E.; Voilley, A., Flavour release from pectin gels: Effects of texture, molecular interactions and aroma compounds diffusion. *Sciences Des Aliments* **2002**, 22, (3), 235-248.
98. Nongonierma, A. B.; Springett, M.; Le Quere, J. L.; Cayot, P.; Voilley, A., Flavour release at gas/matrix interfaces of stirred yoghurt models. *International Dairy Journal* **2006**, 16, (2), 102-110.

99. Mei, J. B.; Reineccius, G. A.; Knighton, W. B.; Grimsrud, E. P., Influence of strawberry yogurt composition on aroma release. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2004**, 52, (20), 6267-6270.
100. Tromelin A.; Merabtine Y.; Andriot I.; Lubbers S.; Guichard E., Retention-release equilibrium of aroma compounds in polysaccharide gels: Study by quantitative structure-activity/property relationships approach. *Flavour and Fragrance Journal* **2010**, In Press.
101. Roberts, D. D.; Elmore, J. S.; Langley, K. R.; Bakker, J., Effects of sucrose, guar gum, and carboxymethylcellulose on the release of volatile flavor compounds under dynamic conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1996**, 44, (5), 1321-1326.
102. Cayot, N.; Taisant, C.; Arvisenet, G.; Meunier, J. M.; Voilley, A., Flavouring ratios and partition coefficients for isoamyl acetate in various starch-based food matrices. *Sciences Des Aliments* **2000**, 20, (6), 561-574.
103. Martuscelli, M.; Savary, G.; Pittia, P.; Cayot, N., Vapour partition of aroma compounds in strawberry flavoured custard cream and effect of fat content. *Food Chemistry* **2008**, 108, (4), 1200-1207.
104. Tanaka, Y.; Terabe, S., Estimation of binding constants by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* **2002**, 768, (1), 81-92.
105. O'Neill, T. E.; Kinsella, J. E., Binding of alkanone flavors to beta-lactoglobulin: Effects of conformational and chemical modification. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1987**, 35, (5), 770-774.
106. Nilsson, K.; Larsson, P.-O., High-performance liquid affinity chromatography on silica-bound alcohol dehydrogenase. *Analytical Biochemistry* **1983**, 134, (1), 60-72.
107. Guichard, E.; Etiévant, P., Measurement of interactions between polysaccharides and flavour compounds by exclusion size chromatography: Advantages and limits. In 1998; Vol. 42, pp 376-379.
108. Heegaard, N. H. H.; Nilsson, S.; Guzman, N. A., Affinity capillary electrophoresis: Important application areas and some recent developments. *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* **1998**, 715, (1), 29-54.
109. Azad, M.; Silverio, C.; Zhang, Y.; Villareal, V.; Gomez, F. A., On-column synthesis coupled to affinity capillary electrophoresis for the determination of binding constants of peptides to glycopeptide antibiotics. *Journal of Chromatography A* **2004**, 1027, (1-2), 193-202.
110. Doyle, M. L., Characterization of binding interactions by isothermal titration calorimetry. *Current Opinion in Biotechnology* **1997**, 8, 31-35.

111. Leavitt, S.; Freire, E., Direct measurement of protein binding energetics by isothermal titration calorimetry. *Current Opinion in Structural Biology* **2001**, 11, (5), 635-643.
112. Perozzo, R.; Folkers, G.; Scapozza, L., Thermodynamics of protein-ligand interactions: History, presence, and future aspects. *Journal of Receptor & Signal Transduction Research* **2004**, 24, 1-52.
113. Pierce, M. M.; Raman, C. S.; Nall, B. T., Isothermal titration calorimetry of protein-protein interactions. *Methods* **1999**, 19, 213-221.
114. Turgeon, S. L.; Beaulieu, M.; Schmitt, C.; Sanchez, C., Protein-polysaccharide interactions: Phase-ordering kinetics, thermodynamic and structural aspects. *Current Opinion in Colloid and Interface Science* **2003**, 8, (4-5).
115. Cai, Z.; Greene, M. I.; Berezov, A., Modulation of biomolecular interactions with complex-binding small molecules. *Methods* **2008**, 46, (1), 39-46.
116. Homola, J.; Yee, S. S.; Gauglitz, G., Surface plasmon resonance sensors: Review. *Sensors and Actuators B-Chemical* **1999**, 54, (1-2), 3-15.
117. Scarano, S.; Mascini, M.; Turner, A. P. F.; Minunni, M., Surface plasmon resonance imaging for affinity-based biosensors. *Biosensors and Bioelectronics* **2010**, 25, (5), 957-966.
118. Thillaivinayagalingam, P.; Gommeaux, J.; McLoughlin, M.; Collins, D.; Newcombe, A. R., Biopharmaceutical production: Applications of surface plasmon resonance biosensors. *Journal of Chromatography B* **878**, (2), 149-153.
119. Stevenson, R. J.; Chen, X. D.; Mills, O. E., Modern analyses and binding studies of flavour volatiles with particular reference to dairy protein products. *Food Research International* **1996**, 29, (3-4), 265-290.
120. Chaintreau, A. In *Determination of partition coefficients and quantitation of headspace volatile compounds*, Interaction of food matrix with small ligands influencing flavour and texture, Dijon (France), 20-22 November, 1995; Dijon (France), 1995; pp 6-17.
121. Sancho, M. F.; Rao, M. A.; Downing, D. L., Infinite dilution activity coefficients of apple juice aroma compounds. *Journal of Food Engineering* **1997**, 34, (2), 145-158.
122. Kolb, B.; Welter, C.; Bichler, C., Determination of partition coefficients by automatic equilibrium headspace gas chromatography by vapor phase calibration. *Chromatographia* **1992**, 34, (5-8), 235-240.
123. Miyazawa, T.; Gallagher, M.; Preti, G.; Wise, P. M., Odor detection of mixtures of homologous carboxylic acids and coffee aroma compounds by humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2009**, 57, (21), 9895-9901.

124. Miyazawa, T.; Gallagher, M.; Preti, G.; Wise, P. M., Synergistic mixture interactions in detection of perithreshold odors by humans. *Chemical Senses* **2008**, 33, (4), 363-369.
125. Kora, E. Interactions physico-chimiques et sensorielles dans le yaourt brassé aromatisé: Quels impacts respectifs sur la perception de la structure et de la flaveur ? INA-PG, 2004.
126. Ettre, L. S.; Welter, C.; Kolb, B., Determination of gas-liquid partition-coefficients by automatic equilibrium headspace-gas-chromatography utilizing the phase ratio variation method. *Chromatographia* **1993**, 35, (1-2), 73-84.
127. Gossett, J. M., Measurement of henry's law constants for c1 and c2 chlorinated hydrocarbons. *Environmental Science & Technology* **1987**, 21, (2), 202-208.
128. Van Durme, J.; Dewulf, J.; Demeestere, K.; Leys, C.; Van Langenhove, H., Post-plasma catalytic technology for the removal of toluene from indoor air: Effect of humidity. *Applied Catalysis B: Environmental* **2009**, 87, (1-2), 78-83.
129. Copolovici, L. O.; Niinemets, Ü., Temperature dependencies of henry's law constants and octanol/water partition coefficients for key plant volatile monoterpenoids. *Chemosphere* **2005**, 61, (10), 1390-1400.
130. Ryu, S.-A.; Park, S.-J., A rapid determination method of the air/water partition coefficient and its application. *Fluid Phase Equilibria* **1999**, 161, (2), 295-304.
131. Zhang, Z. Y.; Yang, M. J.; Pawliszyn, J., Solid-phase microextraction. *Analytical Chemistry* **1994**, 66, (17), A844-A853.
132. Jung, D.-M.; Ebeler, S. E., Headspace solid-phase microextraction method for the study of the volatility of selected flavor compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2003**, 51, (1), 200-205.
133. Eisert, R.; Levsen, K., Solid-phase microextraction coupled to gas chromatography: A new method for the analysis of organics in water. *Journal of Chromatography A* **1996**, 733, (1-2), 143-157.
134. Elmore, J. S.; Erbahadir, M. A.; Mottram, D. S., Comparison of dynamic headspace concentration on tenax with solid phase microextraction for the analysis of aroma volatiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1997**, 45, (7), 2638-2641.
135. Roberts, D. D.; Pollien, P.; Milo, C., Solid-phase microextraction method development for headspace analysis of volatile flavor compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2000**, 48, (6), 2430-2437.
136. Boydboland, A. A.; Chai, M.; Luo, Y. Z.; Zhang, Z. Y.; Yang, M. J.; Pawliszyn, J. B.; Gorecki, T., New solvent free sample preparation techniques - based on fiber and polymer technologies. *Environmental Science & Technology* **1994**, 28, (13), A569-A574.

137. Fabre, M.; Aubry, V.; Guichard, E., Comparison of different methods: Static and dynamic headspace and solid-phase microextraction for the measurement of interactions between milk proteins and flavor compounds with an application to emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2002**, 50, (6), 1497-1501.
138. Miller, M. E.; Stuart, J. D., Comparison of gas-sampled and spme-sampled static headspace for the determination of volatile flavor components. *Analytical Chemistry* **1999**, 71, (1), 23-27.
139. Duhem, P.; Vidal, J., Extension of the dilutor method to measurement of high activity coefficients at infinite dilution. *Fluid Phase Equilibria* **1978**, 2, (3), 231-235.
140. Jouenne, E.; Crouzet, J., Effect of pH on retention of aroma compounds by b-lactoglobulin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2000**, 48, (4), 1273-1277.
141. Atlan, A. Modélisation de la libération des composés d'arôme à partir de matrices alimentaires dans des systèmes expérimentaux et en bouche : Détermination des propriétés et mécanismes de transfert de matière. AgroParisTech, Paris, 2007.
142. Hansch, C.; Fujita, T., P - σ - π analysis. A method for the correlation of biological activity and chemical structure. *Journal of the American Chemical Society* **1964**, 86, (8), 1616-1626.
143. Engel, T., Johann gasteiger - germany's pioneer in chemoinformatics. *Journal of Chemical Information and Modeling* **2006**, 46, (6), 2191-2192.
144. Cronin, M. T. D.; Schultz, T. W., Pitfalls in QSAR. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM* **2003**, 622, (1-2), 39-51.
145. Maggiora, G. M., On outliers and activity cliffs - why QSAR often disappoints. *Journal of Chemical Information and Modeling* **2006**, 46, (4), 1535-1535.
146. Guha, R., On the interpretation and interpretability of quantitative structure-activity relationship models. *Journal of Computer-Aided Molecular Design* **2008**, 22, (12), 857-871.
147. Kubinyi, H., From narcosis to hyperspace: The history of QSAR. *Quantitative Structure-Activity Relationships* **2002**, 21, (4), 348-356.
148. Hansch, C.; Kurup, A.; Garg, R.; Gao, H., Chem-bioinformatics and QSAR: A review of QSAR lacking positive hydrophobic terms. *Chemical Reviews* **2001**, 101, (3), 619-672.
149. Gafourian, T.; Safari, A.; Adibkia, K.; Parviz, F.; Nokhodchi, A., A drug release study from hydroxypropylmethylcellulose (hpmc) matrices using qspr modeling. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2007**, 96, (12), 3334-3351.
150. Jorgensen, W. L.; Duffy, E. M., Prediction of drug solubility from structure. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2002**, 54, (3), 355-366.

151. Bonchev, D.; Rouvray, D. H., *Chemical graph theory: Introduction and fundamentals*. Gordon and Breach Science Publishers S.A.: Paris, 1991; p 288
152. Selassie, C. D., History of quantitative structure-activity relationships. In *Burger's medicinal chemistry and drug discovery*, Sixth Edition ed.; Abraham, D. J., Ed. John Wiley&Sons, Inc.: New-York, 2003; Vol. 1: Drug Discovery.
153. Golmohammadi, H., Prediction of octanol-water partition coefficients of organic compounds by multiple linear regression, partial least squares, and artificial neural network. *Journal of Computational Chemistry* **2009**, 30, (15), 2455-2465.
154. Hsieh, C. M.; Lin, S. T., Prediction of 1-octanol-water partition coefficient and infinite dilution activity coefficient in water from the pr plus cosmosac model. *Fluid Phase Equilibria* **2009**, 285, (1-2), 8-14.
155. Ghasemi, J.; Saaidpour, S., Qspr prediction of aqueous solubility of drug-like organic compounds. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **2007**, 55, (4), 669-674.
156. Raevsky, O. A.; Raevskaja, O. E.; Schaper, K. J., Physicochemical properties/descriptors governing the solubility and partitioning of chemicals in water-solvent-gas systems. Vapor pressure and concentration of chemicals above saturated aqueous solutions. *Qsar & Combinatorial Science* **2007**, 26, (10), 1060-1064.
157. Raevsky, O. A.; Schaper, K. J., Unified physicochemical qspr model of the partitioning and solubility of chemicals in the triple system "Water-octanol-air". *Qsar & Combinatorial Science* **2008**, 27, (3), 347-356.
158. Huuskonen, J.; Livingstone, D. J.; Manallack, D. T., Prediction of drug solubility from molecular structure using a drug-like training set. *Sar and Qsar in Environmental Research* **2008**, 19, (3-4), 191-212.
159. Delaney, J. S., Predicting aqueous solubility from structure. *Drug Discovery Today* **2005**, 10, (4), 289-295.
160. Wegner, J. K.; Zell, A., Prediction of aqueous solubility and partition coefficient optimized by a genetic algorithm based descriptor selection method. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences* **2003**, 43, (3), 1077-1084.
161. Hughes, L. D.; Palmer, D. S.; Nigsch, F.; Mitchell, J. B. O., Why are some properties more difficult to predict than others? A study of qspr models of solubility, melting point, and log p. *Journal of Chemical Information and Modeling* **2008**, 48, (1), 220-232.
162. Anker, L. S.; Jurs, P. C.; Edwards, P. A., Quantitative structure-retention relationship studies of odor-active aliphatic compounds with oxygen-containing functional groups. *Analytical Chemistry* **1990**, 62, (24), 2676-2684.

163. Egolf, L. M.; Jurs, P. C., Quantitative structure-retention and structure-odor intensity relationships for a diverse group of odor-active compounds. *Analytical Chemistry* **1993**, 65, (21), 3119-3126.
164. Tan, Y. X.; Siebert, K. J., Quantitative structure-activity relationship modeling of alcohol, ester, aldehyde, and ketone flavor thresholds in beer from molecular features. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2004**, 52, (10), 3057-3064.
165. Friel, E. N.; Linforth, R. S. T.; Taylor, A. J., An empirical model to predict the headspace concentration of volatile compounds above solutions containing sucrose. *Food Chemistry* **2000**, 71, (3), 309-317.
166. Taylor, A. J.; Linforth, R. S. T., Modelling flavour release through quantitative structure property relationships (qspr). *Chimia* **2001**, 55, (5), 448-452.
167. Carey, M. E.; Asquith, T.; Linforth, R. S. T.; Taylor, A. J., Modeling the partition of volatile aroma compounds from a cloud emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2002**, 50, (7), 1985-1990.
168. Savary, G.; Guichard, E.; Doublier, J. L.; Cayot, N., Mixture of aroma compounds: Determination of partition coefficients in complex semi-solid matrices. *Food Research International* **2006**, 39, (3), 372-379.
169. Ettre, L. S.; Kolb, B., Headspace - gas chromatography - the influence of sample volume on analytical results. *Chromatographia* **1991**, 32, (1-2), 5-12.
170. Ghose, A. K.; Viswanadhan, V. V.; Wendoloski, J. J., Prediction of hydrophobic (lipophilic) properties of small organic molecules using fragmental methods: An analysis of alogp and clogp methods. *Journal of Physical Chemistry* **1998**, 102, 3762-3772.
171. Gierczynski, I.; Laboure, H.; Semon, E.; Guichard, E., Impact of hardness of model fresh cheese on aroma release: In vivo and in vitro study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2007**, 55, (8), 3066-3073.
172. Jouquand, C.; Ducruet, V.; Giampaoli, P., Partition coefficients of aroma compounds in polysaccharide solutions by the phase ratio variation method. *Food Chemistry* **2004**, 85, (3), 467-474.
173. Bylaite, E.; Meyer, A. S.; Adler-Nissen, J., Changes in macroscopic viscosity do not affect the release of aroma aldehydes from a pectinaceous food model system of low sucrose content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2003**, 51, (27), 8020-8026.
174. Bylaite, E.; Adler-Nissen, J.; Meyer, A. S., Effect of xanthan on flavor release from thickened viscous food model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2005**, 53, (9), 3577-3583.

175. Zhong, Y.; Patel, S., Electrostatic polarization effects and hydrophobic hydration in ethanol-water solutions from molecular dynamics simulations. *Journal of Physical Chemistry B* **2009**, 113, (3), 767-778.
176. Keutsch, F. N.; Saykally, R. J., Water clusters: Untangling the mysteries of the liquid, one molecule at a time. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2001**, 98, (19), 10533-10540.
177. Blokzijl, W.; Engberts, J., Hydrophobic effects - opinions and facts. *Angewandte Chemie-International Edition* **1993**, 32, (11), 1545-1579.
178. Muller, N., Search for a realistic view of hydrophobic effects. *Accounts of Chemical Research* **1990**, 23, (1), 23-28.
179. Southall, N. T.; Dill, K. A.; Haymet, A. D. J., A view of the hydrophobic effect. *Journal of Physical Chemistry B* **2002**, 106, (3), 521-533.
180. Frank, H. S.; Evans, M. W., Free volume and entropy in condensed systems iii. Entropy in binary liquid mixtures; partial molal entropy in dilute solutions; structure and thermodynamics in aqueous electrolytes *Journal of Chemical Physics* **1945**, 13, (11), 507.
181. Hansson, A.; Andersson, J.; Leufvén, A., The effect of sugars and pectin on flavour release from a soft drink-related model system. *Food Chemistry* **2001**, 72, (3), 363-368.
182. Marco, A.; Navarro, J. L.; Flores, M., Volatile compounds of dry-fermented sausages as affected by solid-phase microextraction (spme). *Food Chemistry* **2004**, 84, (4), 633-641.
183. Murray, R. A., Limitations to the use of solid-phase microextraction for quantitation of mixtures of volatile organic sulfur compounds. *Analytical Chemistry* **2001**, 73, (7), 1646-1649.
184. Guichard, E., Interactions between flavor compounds and food ingredients and their influence on flavor perception. *Food Reviews International* **2002**, 18, (1), 49-70.
185. Tromelin, A.; Guichard, E., Use of catalyst in a 3d-QSAR study of the interactions between flavor compounds and β -lactoglobulin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2003**, 51, (7), 1977-1983.
186. Tromelin, A.; Guichard, E., Interaction between flavour compounds and beta-lactoglobulin: Approach by NMR and 2d/3d-QSAR studies of ligands. *Flavour and Fragrance Journal* **2006**, 21, (1), 13-24.
187. Valerio, L. G., Jr., In silico toxicology for the pharmaceutical sciences. *Toxicol Appl Pharmacol* **2009**, 241, (3), 356-70.

188. Hewitt, M.; Cronin, M. T. D.; Enoch, S. J.; Madden, J. C.; Roberts, D. W.; Dearden, J. C., In silico prediction of aqueous solubility: The solubility challenge. *Journal of Chemical Information and Modeling* **2009**, 49, (11), 2572-2587.

Annexes

7 ANNEXES

Annexe 1 : Liste des composés dont les coefficients de partage ont été mesurés uniquement dans les milieux aqueux.

index	composé d'arôme	masse molaire (g/mol)	famille
4	3-méthylpentan-3-ol	102	alcool
10	octan-3-ol	130	alcool
12	nonan-1-ol	144	alcool
13	linalool	154	alcool
15	3,7-diméthylloctan-1-ol	158	alcool
16	2-méthylbut-2-enal	84	aldéhyde
17	(E)-hex-2-énal	98	aldéhyde
28	4-méthylpent-3-én-2-one	98	cétone
30	3-méthylpentan-2-one	100	cétone

Annexe 2: Liste des composés dont les coefficients de partage n'ont pu être mesurés dans aucun milieu.

index	composé d'arôme	masse molaire (g/mol)	famille
1	(E)-hex-4-én-1-ol	100	alcool
2	hex-1-én-3-ol	100	alcool
3	hexan-1-ol	102	alcool
5	2-méthylpentan-1-ol	102	alcool
6	(Z)-Hept-4-én-1-ol	114	alcool
7	heptan-2-ol	116	alcool
8	6-méthylhept-5-én-2-ol	128	alcool
9	octan-1-ol	130	alcool
11	2-éthylhexan-1-ol	130	alcool
14	nérol	154	alcool
29	4-méthylpentan-2-one	100	cétone
48	3-méthylbutanoate de 2-méthylpropyle	158	ester
50	2-méthylbutyl 2-méthylbutanoate	172	ester
51	(E)-2-méthylbut-2-énoate d'hexyle	184	ester

Annexe 3: Valeur des constantes d'équilibre des 28 composés d'arôme avec leur intervalle de confiance à 95% (IC 95%), dans l'eau (eau), le gel de pectine à 0.4% (P04), le gel de pectine à 0.8% (P08), le gel laitier simple (GL) et le gel laitier additionné de pectine à 0.05% (GLP).

index	famille	Composé d'arôme	eau		P04		P08		GL		GLP	
			K _{lib}	IC 95%								
18	aldéhyde	2-méthylpent-2-éanal	0,2	0,01	0,21	0,01	0,21	0,02	0,17	0,03	0,19	0,01
19	aldéhyde	2-éthylbutanal	0,75	0,06	1,04	0,1	1,05	0,06	1,44	0,05	1,83	0,09
20	aldéhyde	Hexanal	0,54	0,01	0,54	0,02	0,45	0,02	0,24	0,01	0,21	0,02
21	aldéhyde	(Z)-hept-4-éanal	0,23	0,02	0,22	0,03	0,19	0	0,16	0,03	0,18	0,04
22	aldéhyde	Heptanal	0,66	0,03	0,62	0,02	0,63	0,04	0,3	0,01	0,29	0,01
23	aldéhyde	Octanal	1	0,09	1,06	0,1	1,07	0,02	0,41	0,03	0,52	0,05
24	aldéhyde	2-éthylhexanal	1,74	0,1	1,81	0,16	2,19	0,06	0,88	0,13	1,14	0,24
25	aldéhyde	3,5,5-triméthylhexanal	2,97	0,41	2,39	0,47	2,42	0,3	0,73	0,09	0,76	0,11
26	aldéhyde	2-isopropyl-5-méthylhex-2-éanal	2,54	0,23	2,07	0,26	2	0,32	0,4	0,02	0,09	0
27	cétone	hex-5-én-2-one	0,15	0,01	0,13	0,01	0,13	0	0,1	0,02	0,1	0,02
31	cétone	2-heptanone	0,32	0,03	0,28	0,02	0,29	0,02	0,4	0,07	0,41	0,04
32	cétone	5-méthylhexan-2-one	0,32	0,03	0,29	0,01	0,33	0,04	0,24	0,04	0,33	0,07
33	cétone	2-méthylheptan-3-one	0,75	0,06	0,7	0,01	0,68	0,06	0,39	0,04	0,17	0,01
34	cétone	5-méthylheptan-3-one	0,64	0,04	0,75	0,06	0,54	0,03	0,45	0,02	0,45	0,04
35	cétone	2,6-diméthylheptan-4-one	1,82	0,04	1,72	0,16	1,32	0,06	0,6	0,02	0,41	0,02
36	ester	propanoate d'éthyle	0,44	0,02	0,42	0,01	0,49	0,05	0,77	0,06	0,54	0,05

index	famille	Composé d'arôme	eau		P04		P08		GL		GLP	
			K _{lib}	IC 95%								
37	ester	(E)-but-2-énoate d'éthyle	0,31	0,03	0,24	0,02	0,25	0,01	0,25	0,01	0,26	0,02
38	ester	2-méthylpropanoate d'éthyle	1,17	0,18	1,05	0,13	1,08	0,11	0,95	0,18	0,88	0,05
39	ester	butanoate d'éthyle	0,65	0,05	0,61	0,02	0,71	0,05	0,53	0,03	0,69	0,11
40	ester	pentanoate d'éthyle	0,93	0,02	0,9	0,04	0,71	0,02	0,42	0,02	0,34	0,02
41	ester	acétate de 3-méthylbutyle	0,92	0,04	0,89	0,07	0,72	0,03	0,44	0,02	0,34	0,02
42	ester	(E)-2-méthylbut-2-énoate de méthyléthyle	0,91	0,09	0,94	0,03	0,93	0,03	0,59	0,03	0,63	0,02
43	ester	(E)-2-méthylbut-2-énoate de propyle	0,62	0,07	0,63	0,02	0,63	0,02	0,34	0,03	0,36	0,05
44	ester	hexanoate d'éthyle	1,28	0,1	1,07	0,04	1,31	0,02	0,64	0,08	0,8	0,16
45	ester	(Z)-2-méthylbut-2-énoate de 2-méthylpropyle	2,74	0,22	2,93	0,56	2,18	0,06	0,65	0,04	0,62	0,12
46	ester	heptanoate d'éthyle	2,18	0,09	1,76	0,14	1,93	0,18	0,61	0,13	0,7	0,11
47	ester	pentanoate de n-butyle	2,19	0,14	1,75	0,17	1,93	0,26	0,65	0,14	0,75	0,13
49	ester	(E)-2-méthylbut-2-énoate de 3-méthylbutyle	2,38	0,18	2,43	0,23	1,88	0,23	0,32	0,02	0,19	0,01