

Dissolution et fixation de l'oxygène libre dans le jus d'orange

par R. HUET

Institut Français de Recherches Fruitières Outre-Mer (I. F. A. C.)

RÉSUMÉ. — L'absorption de l'oxygène libre par le jus des fruits est un phénomène jusqu'ici mal connu. Il a pu être étudié grâce à l'emploi d'un nouvel appareil d'analyse dont le principe est basé sur la polarographie.

Dans cette note, l'auteur étudie la cinétique de la fixation de l'oxygène libre dissous dans le jus d'orange en fonction de la teneur initiale en oxygène, et de la température du jus. Il cherche à déterminer le rôle des enzymes dans cette fixation en les inactivant par la chaleur.

Il établit qu'après une première phase de fixation rapide, l'absorption de l'oxygène se fait plus lentement; ce ralentissement ne correspond pas à une saturation des fonctions réductrices du jus. L'élévation de température accélère la fixation de l'oxygène; l'inactivation des enzymes n'empêche pas la fixation de se poursuivre. La légère perte d'acide ascorbique que l'on observe au cours de la première phase de fixation ne correspond qu'en partie à la quantité de l'oxygène fixé et l'on a recours à la théorie des oxydations couplées pour compléter l'explication de ce phénomène. Quelques causes possibles d'erreurs sont signalées au cours de ce travail.

L'oxygène gazeux qui se dissout dans les jus de fruits au cours de leur préparation et se fixe sur certains de leurs composants est tenu pour responsable de phénomènes fâcheux comme les brunissements, perte de saveur, développement de goûts désagréables et pertes de vitamines. On s'est efforcé avec succès d'atténuer les effets de l'oxydation en préservant les jus de tout contact avec les métaux catalyseurs et en les désaérant avant pasteurisation. Ce traitement qui consiste à faire ruisseler le jus en couche mince dans une cloche où règne le vide n'apporte pas, il faut bien le reconnaître, l'amélioration de qualité escomptée. Il n'est utile que par ses effets annexes, réduction du volume des mousses et deshuilage. Kefford (6) a observé qu'en réalisant une désaération efficace à 90 p. cent, ce qui est remarquable, c'est-à-dire en abaissant la teneur en oxygène libre du jus de 0,5 ml p. cent à 0,05 on ne réussissait pas à empêcher la détérioration de la saveur du jus, ni à préserver d'avantage la vitamine C. Les faits d'expérience montrent que l'oxygène gazeux exerce son action néfaste à très faible dose, ou bien de façon si rapide que la désaération intervient trop tard. Afin de préparer l'étude de ces phénomènes mal connus nous avons cherché à mettre en lumière ce qu'il advenait de l'oxygène en présence du jus d'orange.

L'air se dissout dans le jus d'orange d'autant mieux qu'il entre plus intimement en contact avec lui, et le taux de saturation se trouve défini par la pression de l'air et la température du jus. Également l'oxygène se dissout proportionnellement à sa pression partielle dans l'air. Sous la pression atmosphérique, de l'eau à 20° C est saturée par 9,17 p. p. m. d'oxygène. A 0° C la saturation correspondrait à 14,62 p. p. m., et à 50° C à seulement 5,6 p. p. m.

Pendant le jus d'orange n'est pas exactement assimilable à de l'eau à cet égard. D'après PULLEY et Van LOESECKE (1939) (9) des échantillons de jus d'orange fraîchement extraits contiennent de 2,5 à 4,7 ml d'oxygène par litre. LOEFFLER (8) en 1940 a observé en laboratoire une variation de 2,7 à 5,0 ml par litre et KEFFORD (1950) (6) indique que du jus d'orange extrait à la main sur extracteur à tête tour-

nante contient approximativement 5 ml par litre d'oxygène.

D'après JOSLYN (3) la solubilité de l'oxygène dans l'eau diminue avec sa teneur en sucres et autres solutés. Le jus d'orange contient en moyenne 12 % matières sèches dont 9 % de sucres. Son taux de saturation sera donc inférieur à celui de l'eau. Mais une difficulté majeure fait obstacle à la détermination précise de la solubilité de l'oxygène. Par suite de sa composition le jus d'orange constitue un milieu réducteur dans lequel l'oxygène dissous se fixe rapidement sur divers composants. On a cité les flavonoïdes, les composés phénoliques, l'acide ascorbique. Pour illustrer ce fait citons les travaux de PULLEY et Van LOESECKE 1939 (9) qui dans deux déterminations successives sur le même échantillon de jus trouvaient 3,4 ml d'oxygène par litre, puis 2,8. Cette difficulté

a pu être levée en partie et un grand progrès réalisé quand on a remplacé les méthodes de dosage volumétriques et chimiques, par les procédés polarographiques plus rapides. LINDQUIST (7) 1947, LEWIS et Mac KENZIE (1947). Actuellement l'industrie propose des appareils polarographiques conçus uniquement

pour le dosage de l'oxygène et qui permettent une détermination quasi instantanée.

Nous aborderons dans ce rapport, successivement l'influence du procédé d'extraction, de la température du jus et de la pasteurisation sur la teneur du jus d'orange en oxygène dissous.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Influence du procédé d'extraction sur la quantité d'oxygène dissous.

Un échantillon d'oranges fraîches du commerce, provenant du Maroc, est divisé en trois lots.

Les fruits du premier lot, coupés en deux avec un couteau en acier inoxydable sont pressés à la main, doucement, sur un presse-citron ménager, en verre.

Le jus recueilli dans un becher en verre pyrex de 1 litre est à la fin de l'opération qui dure 12 mn transvasé dans des erlenmeyers de 100 ml, en verre pyrex, bouchés à l'émeri. Les récipients sont remplis à ras bord de façon à éliminer le plus possible d'air entre le jus et le bouchon. La première mesure d'oxygène dissous est exécutée aussitôt après le remplissage du dernier flacon. Chaque flacon ne sert qu'à une mesure.

L'analyseur Beckman dont nous nous sommes servi pour cette étude, comprend deux électrodes réunies en une pièce unique le « sensor » et un amplificateur. Cathode en or, et anode en argent, reliées par un gel de chlorure de potassium sont soumises à une différence de potentiel de 0,8 v. L'oxygène dissous se trouve réduit à la cathode, et il se crée un courant de diffusion dont l'intensité est proportionnelle à la pression partielle de l'oxygène dans le milieu. L'erlenmeyer débouché est placé sur agitateur magnétique et le « sensor » de l'analyseur plongé dans le jus. Le diamètre du « sensor » n'est que légèrement inférieur à celui du col de l'erlenmeyer, de sorte qu'une incorporation d'air pendant la mesure n'est pas à craindre. L'agitateur magnétique permet de renouveler le jus au voisinage de l'électrode de façon continue. Le temps de réponse de l'appareil est environ de 10 secondes.

Les fruits du deuxième lot sont pressés de la même façon. De plus le jus est filtré sur un tamis en acier inoxydable dont les mailles ont un écartement de 8/10 mm. L'opération se trouve prolongée de 4 mn.

On se sert pour extraire le jus des fruits du troisième lot d'un extracteur à tête tournante du modèle de

ceux qui étaient utilisés il y a quelques années par l'industrie. Un premier tamisage est réalisé d'abord dans le bol rotatif de l'extracteur. Puis avec un tamis identique au précédent. L'opération complète dure 20 mn, bien que ce procédé soit plus rapide que les précédents, car le lot d'oranges était plus conséquent que les deux premiers. Une partie du jus obtenu a servi à la deuxième série d'expérimentations.

Les erlenmeyers contenant le jus ont été passés successivement à l'analyseur pendant une durée de 24 h pour les deux premiers lots et de 48 h pour le troisième.

Les résultats d'analyse sont exprimés dans le tableau I, illustré par le diagramme I.

Influence de la température du jus d'orange sur la quantité d'oxygène dissous.

Une partie du jus extrait précédemment du troisième lot d'oranges a servi à l'expérimentation. Le jus extrait avec l'extracteur à tête rotative, plus chargé en oxygène, se prêtait davantage à l'observation de différences. Un lot de 7 erlenmeyers est resté sur la paillasse du laboratoire où régnait une température ambiante de 23° C. Un lot identique fut placé au réfrigérateur à la température de 3 à 4° ; un troisième lot enfin dans une étuve à 40° C.

Afin de réduire les erreurs de mesure les lots 2 à 4° C et 3 à 40° C sont ramenés à 23° C \pm 5° C avant le dosage, c'est-à-dire respectivement à 18° C et 28° C.

Les résultats sont exprimés dans le tableau II et illustré par le diagramme II.

Influence de la pasteurisation sur la quantité d'oxygène dissous.

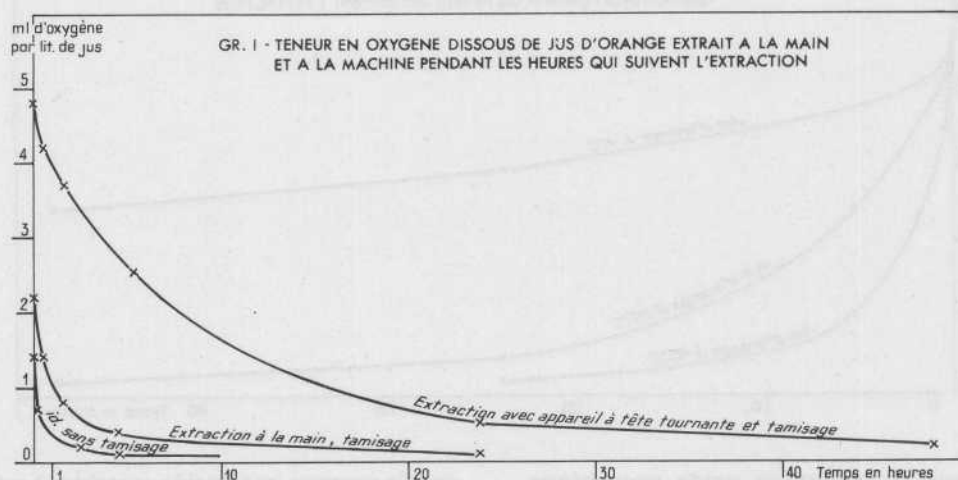
Cet essai fut réalisé dans le but de mettre en évidence le rôle des phénomènes enzymatiques dans la fixation de l'oxygène dissous. La flash-pasteurisation,

TABLEAU I.

Oxygène dissous dans le jus d'orange en fonction du procédé d'extraction du jus.

TEMPS A PARTIR DE LA PREMIÈRE MESURE	OXYGÈNE DISSOUS					
	Extrait au presse-citron		Extrait au presse-citron, tamisé		Extrait avec un appareil à tête tournante, tamisé	
	analyseur ⁽¹⁾	ml par l de jus ⁽²⁾	analyseur	ml par l de jus	analyseur	ml par l de jus
0 mn	22	1,4	35	2,2	75	4,8
8 mn	—	—	31	2,0	—	—
15	12	0,7	—	—	—	—
30	—	—	22	1,4	66	4,2
1 h 40	—	—	13	0,8	58	3,7
2 35	4	0,2	—	—	—	—
4 30	—	—	7	0,4	—	—
5 30	2	0,1	—	—	40	2,6
23 35	2	0,1	2	0,1	9	0,5
48 0	—	—	—	—	3	0,2

- (1) L'analyseur exprime les résultats en pour-cent de pression partielle d'oxygène correspondant à la saturation à la température de l'expérience.
 (2) La température du jus est de 23° C. La concentration en oxygène correspondant à la saturation est alors de 8,68 ppm.



telle qu'elle est pratiquée en usine n'a pas été employée ici, car nous tenions essentiellement à ce que le jus frais, mis en flacons à l'abri de l'air ne reprenne plus contact avec ce dernier.

Le jus extrait avec l'extracteur à tête tournante et tamisé a été transvasé en erlenmeyers de verre, bouchés à l'émeri et divisé en deux lots. Un lot témoin, et l'autre que nous avons plongé dans un bain marie porté à l'ébullition. Il y fut laissé jusqu'à ce que la température du jus atteigne 95° C et fut maintenu deux minutes à cette température. Puis les erlenmeyers

ont été plongés dans l'eau froide. Leur température était ainsi ramenée à l'ambiance 47 mn après le début de l'opération.

On signalera qu'au cours de la pasteurisation le jus s'est dilaté, a moussé et s'est échappé partiellement en soulevant le bouchon. Au cours du refroidissement, de l'air a pénétré dans le flacon où au niveau du col un espace libre d'environ 2 ml s'est établi.

Le résultat des analyses est consigné dans le tableau III illustré par le diagramme III.

TABLEAU II.

Oxygène dissous dans le jus d'orange en fonction de la température du jus.

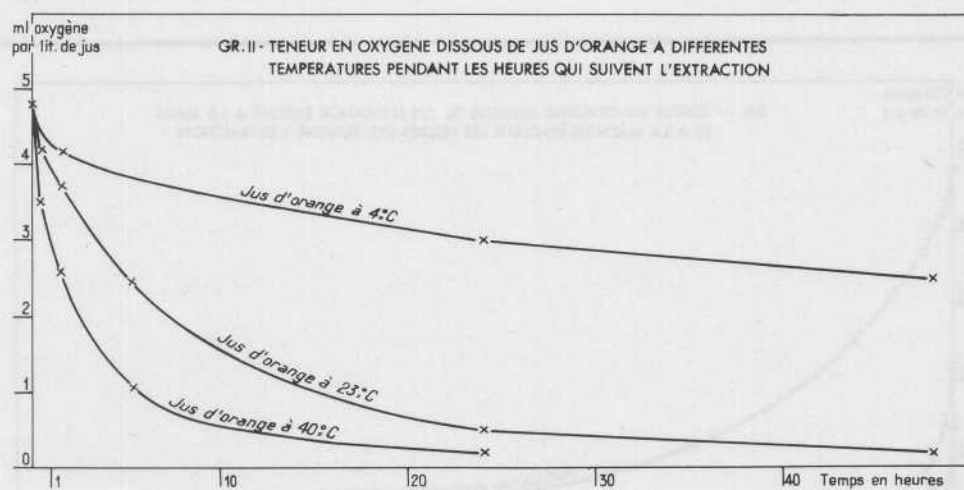
TEMPS A PARTIR DE LA PREMIÈRE MESURE	LOT 1 Température 23° C (2)		LOT 2 Température 4° C (2)		LOT 3 Température 40° C (2)	
	analyseur (1)	ml par l de jus	analyseur (1)	ml par l de jus	analyseur	ml par l de jus
0	75	4,8	75	4,8	75	4,8
30 mn	66	4,2	—	—	61	3,5
1 h 45	58	3,7	—	—	46	2,7
5 30	40	2,5	58	4,1	13	1,1
24	9	0,5	43	3,0	3	0,2
48	3	0,2	36	2,5	—	—
110	—	—	25	1,8	—	—
134	—	—	24	1,7	—	—
172	—	—	22	1,6	—	—

(1) L'analyseur exprime ses résultats en pour-cent de pression partielle d'oxygène correspondant à la saturation à la température de l'expérience

(2) A 23° C cette saturation est réalisée avec 8,68 p. p. m. d'oxygène.

23° C — 5° C = 18° C — — — 9,54 —

23° C + 5° C = 28° C — — — 9,92 —



Oxygène dissous et teneur en acide ascorbique du jus d'orange.

Sur le jus d'orange extrait à l'extracteur à tête tournante et préparé en erlenmeyers comme précédemment, on a déterminé la teneur en acide ascorbique aussitôt après passage à l'analyseur d'oxygène. La méthode de dosage d'acide ascorbique très simple et très rapide consiste à déterminer la quantité d'iode $\frac{N}{10}$ réduite par 50 ml de jus jusqu'à coloration persistante 30 s environ en présence d'empois d'amidon. Cette méthode ne donne que des résultats approchés puis-

qu'elle suppose que l'acide ascorbique est le seul corps réducteur du jus d'orange réduisant l'iode. Les résultats d'analyse sont exprimés dans le tableau IV.

Discussion des résultats.

L'analyseur d'oxygène Beckman n'est sensible qu'à la pression partielle de l'oxygène dans le milieu. Pour passer de la pression partielle de l'oxygène dissous à la quantité d'oxygène en poids ou en volume, il faut se référer à une table indiquant le taux de saturation de la solution en fonction de la température. Pour le jus de fruits cette table nous fait défaut en raison de ce que

TABLEAU III.

Effet de la pasteurisation sur la teneur du jus d'orange en oxygène dissous.

TEMPS A PARTIR DE LA PREMIÈRE MESURE	LOT TÉMOIN			
	jus frais		jus pasteurisé	
	analyseur (r)	ml d'oxygène par l de jus	analyseur	ml d'oxygène par l de jus
0	90	5,2	80	5,2
40 mn	68	4,5		
47 mn	—	—	18	1,3
1 h 35	57	3,8	11	0,7
5 50	45	2,9	5	0,3
24	26	1,7	5	0,3
96	5	0,3		

(1) L'analyseur exprime les résultats en pour-cent de pression partielle d'oxygène correspondant à la saturation à la température de l'expérience.
Température ambiante = 21° C.
Taux de saturation : 8,99 p. p. m. d'oxygène par litre de jus.

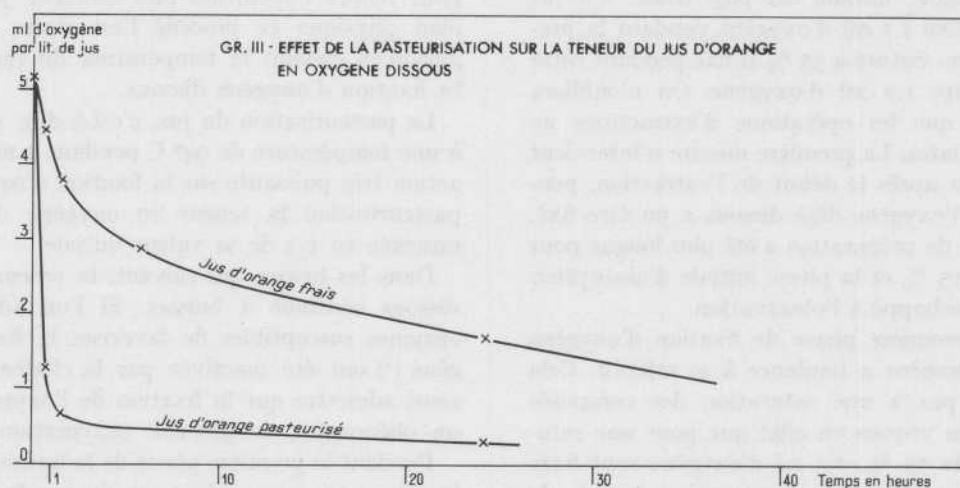


TABLEAU IV.

Diminution des teneurs en oxygène dissous et en composés réducteurs évalués en acide ascorbique dans le jus d'orange en fonction du temps.

TEMPS A PARTIR DE LA PREMIÈRE MESURE	OXYGÈNE DISSOUS		CONSOMMATION D'I $\frac{N}{10}$ par l de jus en ml	COMPOSÉS RÉDUCTEURS ÉVALUÉS EN ACIDE ASCORBIQUE par l de jus en mg
	analyseur (1)	ml d'oxygène par l de jus		
0	76	4,8	65,0	572
1 h 05 mn	66	4,2	64,4	566
2 50	59	3,8	64,0	563
4 31	46	2,9	64,0	563
6 05	40	2,5	64,0	563

(1) L'analyseur exprime les résultats en pour-cent de pression partielle d'oxygène correspondant à la saturation à la température de l'expérience.
Température ambiante : 23° C.
Taux de saturation : 8,68 p. p. m. d'oxygène.

nous avons vu précédemment. Force est donc de se servir de ce qui a été établi pour l'eau. De cette façon nous présenterons des chiffres entachés d'une erreur par excès mais comparable entre eux.

Comme l'on pouvait le prévoir le jus d'orange contient d'autant plus d'oxygène en solution que lors de son extraction, le contact avec l'air aura été plus intime. L'extraction au presse-citron ménager n'empêche pas malgré toutes les précautions une incorporation d'oxygène dans le jus non négligeable. Même en opérant sous gaz-inerte on ne pourrait empêcher que l'atmosphère interne du fruit, contenu dans les espaces intercellulaires ne contienne de l'oxygène qui se dissout dans le jus dès que les parois cellulaires sont brisées.

La teneur en oxygène dissous diminue rapidement avec le temps et semble-t-il d'autant plus rapidement que la teneur initiale est plus basse. Un jus saturé à 75 % fixe 1,1 ml d'oxygène pendant la première demi-heure. Saturé à 35 % il fixe pendant cette même demi-heure 1,7 ml d'oxygène. On n'oubliera pas cependant que les opérations d'extractions ne sont pas immédiates. La première mesure n'intervient que 15 à 23 mn après le début de l'extraction, pendant lesquelles l'oxygène déjà dissous a pu être fixé. Enfin la période de préparation a été plus longue pour le jus saturé à 75 % et la phase initiale d'absorption de l'oxygène a échappé à l'observation.

Après cette première phase de fixation d'oxygène dissous, le phénomène a tendance à se ralentir. Cela ne correspond pas à une saturation des composés réducteurs. Nous voyons en effet que pour une saturation initiale de 75 %, 2,3 ml d'oxygène sont fixés en 5 h 30 alors que pour une saturation initiale de 35 % la vitesse de consommation diminue au bout de 1 h 40 après fixation de 1,4 ml d'oxygène et que pour une saturation initiale de 22 % la vitesse de fixation diminue au bout de 15 mn après fixation de 0,7 ml d'oxygène. Sans que l'on puisse parler d'équilibre entre oxygène dissous et oxygène consommé, puisqu'en définitive tout l'oxygène dissous est consommé on peut avancer l'expression de tendance à l'équilibre.

BRAVERMANN (1) a déjà signalé l'influence de la température du jus sur l'absorption d'oxygène. Il apparaît sur le tableau II que l'élévation de température favorise la fixation d'oxygène. A 4° C l'absorption d'oxygène se trouve très ralentie. On peut supposer que ce résultat serait encore plus net si l'extraction du jus avait eu lieu à 4° C avec des fruits préalablement refroidis.

Mais l'action de la température est-elle aussi éner-

gique qu'il paraît ici, et n'intervient-il pas aussi un autre phénomène purement physique ? Nous avons déjà dit qu'une solution aqueuse saturée contenait d'autant moins d'oxygène que sa température était plus élevée. Pour les trois lots analysés ici on voit que la saturation à 4° C sous pression atmosphérique est obtenue avec 12,8 p. p. m. d'oxygène ; à 23° C avec 8,68 p. p. m. et à 40° C avec 6,6 p. p. m. Le jus d'orange était versé à 23° C dans les flacons bouchés à l'émeri mais non scellés. A-t-il pu y avoir départ de l'oxygène dans l'atmosphère pour les jus portés à 40° C et rentrée d'air dans les jus maintenus à 4° C ? Ce phénomène était d'ailleurs compensé en partie lors du refroidissement ou du réchauffement du jus préalablement au dosage.

Dans la pratique on a conseillé (Van Loesecke) de préchauffer le jus d'orange avant désaération pour rendre l'opération plus efficace. Justifié sur le plan physique ce procédé l'est moins par ailleurs puisqu'en élevant la température du jus on favorise la fixation d'oxygène dissous.

La pasteurisation du jus, c'est-à-dire son maintien à une température de 94° C pendant 2 mn exerce une action très puissante sur la fixation d'oxygène. Après pasteurisation la teneur en oxygène dissous a été ramenée au 1/4 de sa valeur initiale.

Dans les heures qui suivent, la teneur en oxygène dissous continue à baisser. Si l'on admet que les enzymes susceptibles de favoriser la fixation d'oxygène (1) ont été inactivées par la chaleur (2), on doit aussi admettre que la fixation de l'oxygène n'est pas un phénomène uniquement enzymatique.

Pendant la première phase de la fixation d'oxygène, la teneur en corps réducteurs du jus dosée par l'iode et évaluée en acide ascorbique diminue légèrement, puis reste stable.

D'après la réaction :

acide ascorbique + 1/2 O₂ + H₂O → acide déhydro-ascorbique
1 mg d'oxygène est fixé par 11 mg d'acide ascorbique. La perte de 9 mg d'acide ascorbique dans le tableau IV correspondrait à la fixation de 0,8 mg d'oxygène soit 0,56 ml. Or pendant le même

(1) L'étude de la consommation d'oxygène par les divers tissus de l'orange montre une forte activité enzymatique dans le flavedo, une activité plus faible dans l'albedo et très faible dans les membranes carpellaires et cellules à jus. On n'a mis en évidence ni acide ascorbique oxydase, ni polyphenol oxydase. Cette activité serait due à une cytochrome oxydase (Hussein 1944). HUELIN et STEPHEN (1948) ont trouvé de l'acide ascorbique oxydase dans l'écorce, mais pas dans le jus (4).

(2) Le trempage de sections de flavedo pendant 2 mn dans l'eau bouillante est suivi de l'arrêt de la consommation d'oxygène par ces tissus (Hussein 1944).

laps de temps, 1,03 ml d'oxygène ont été fixés soit un peu moins du double de la quantité calculée.

Déjà en 1936 EDDY (2) avait signalé cette proportion E. URION et col. (1960) (10) ont tenté d'expliquer ce phénomène par la théorie des oxydations couplées. Alors que dans une réaction catalytique classique un catalyseur est oxydé par l'oxygène de l'air et oxyde à son tour le substrat en se réduisant, dans la théorie des oxydations couplées, en présence d'oxygène et d'un

corps organique non autoxydable comme un sucre ou un alcool, le catalyseur s'oxyde en même temps que le corps organique. Un tel phénomène, en ne limitant pas aux corps réducteurs autoxydables la fixation de l'oxygène dissous multiplierait leur action. Il montre aussi que l'action des « protecteurs d'oxydation » comme l'acide ascorbique n'est pas toujours aussi efficace qu'on pourrait l'espérer.

CONCLUSION

Du choix de la méthode d'extraction dépend en grande partie la quantité d'oxygène dissous dans le jus d'orange. L'élévation de température du jus favorise la fixation de l'oxygène. Très rapide pendant les premiers temps qui suivent l'extraction les réactions de fixation tendent à se ralentir à mesure que diminue la concentration en oxygène dissous. A température ambiante cette fixation est pratiquement complète au bout de 24 h. La pasteurisation, en élevant considérablement la température du jus accélère la fixation. Après refroidissement la faible quantité d'oxygène restant continue à se fixer, ce qui indiquerait que les réactions d'absorption ne sont pas uniquement d'ordre enzymatique. L'oxygène dissous n'est que partiellement fixé par l'acide ascorbique ou les corps réducteurs dosés simultanément. Il semble que l'oxygène puisse se fixer aussi sur des corps qui ne sont pas normalement autoxydables suivant la théorie des oxydations couplées.

BIBLIOGRAPHIE

1. BRAVERMANN (J. B. S.). — Citrus Products, p. 14, Interscience Publishers Inc. New York, 1949.
2. EDDY (C. W.). — *Ind. Eng. Chem.*, 28, 480-483, 1936.
3. JOSLYN et SUPPLEE (1949), cités par TRESSLER (D. K.) et JOSLYN (M. A.). — *Fruit and Vegetable Juice*, p. 70. Avi Publish. Co. Westport Connecticut.
4. JOSLYN (M. A.) et PILNIK (W.). — *Enzymes and Enzyme Activity. The orange*, 12, p. 393-426 édité par Walter B. SINCLAIR, 1961.
5. KEFFORD (J. F.), Mc KENZIE (H. A.) et THOMPSON (P. C. O.). — Effect of oxygen on quality and ascorbic acid retention in canned and frozen orange juice. *J. Sci. Food Agric.*, 10, 51-56, 1959.
6. LEWIS (V. M.) et Mc KENZIE (H. A.). — Amperometric determination of dissolved oxygen in orange juice. *Ind. Eng. Chem. Analyt. Ed.* 19, 643, 1947.
7. LINDQUIST (J. R.). — Rapid observed oxygen test for fresh citrus juices *Food Ind.*, 19, 182, 1947.
8. LOEFFLER (H. J.). — Determination of air in citrus juices. *Ind. Eng. Chem. Analyst. Ed.* 12, 533 (1940).
9. PULLEY (G. N.) et VAN LOESECKE (H. W.). — Gases in the Commercial handling of citrus juices. *Ind. Eng. Chem.*, 21, 1275, oct. 1939.
10. URION (E.), CHAPON (L.) et CREFF (R.). — L'oxydation dans les jus de fruits et les boissons gazeuses. *Boissons de France*, 10, 31-37, 1960.

