

# L'ARÔME DES JUS D'AGRUMES

par R. HUET

*Institut Français de Recherches Fruitières Outre-Mer.*

L'ARÔME DES JUS D'AGRUMES

par R. HUET (I. F. A. C.)

*Fruits*, vol. 23, n° 9, oct. 1968, p. 453 à 471.

**RÉSUMÉ.** — A partir de données bibliographiques, l'auteur expose les connaissances actuelles sur l'arôme des jus d'agrumes. Après un rapide aperçu de l'importance économique du sujet, il présente une synthèse des nombreux travaux s'y rapportant et les classe en quatre chapitres :

Le premier concerne la distribution dans le fruit des composés volatils responsables de l'odeur.

Dans le deuxième chapitre, il étudie la préparation industrielle d'extraits aromatiques destinés à renforcer l'odeur des jus concentrés.

Composition chimique des arômes et méthodes d'analyse font l'objet du troisième chapitre.

Le quatrième chapitre traite des altérations d'odeurs et de goût se produisant dans les jus d'agrumes en conserve.

En conclusion l'auteur estime que des progrès doivent être réalisés dans l'identification des constituants en microquantité et dans la détermination quantitative de tous les composés participant à l'élabo-ration de l'odeur.

La transformation industrielle des fruits en jus ou concentrés de jus apporte une aide efficace au développement agricole. Elle est devenue un élément indispensable de l'agrumiculture, en absorbant les excédents de production en période de pointe et en répartissant sur toute l'année la consommation d'une production saisonnière. « D'après les statistiques du Ministère de l'Agriculture des États-Unis, 74 % de la récolte globale d'orange, 56 % de celle des pomélos et 47 % de celle des citrons ont été industrialisés pendant la campagne de 1966-1967 (\*) ».

Actuellement les échanges commerciaux sont tels que, tout au moins pour les agrumes, le consommateur peut en toute saison porter son choix soit sur des fruits frais, soit sur des jus de fruits en conserve. La vente de ces derniers se trouve donc étroitement déterminée par leur qualité. Aux U. S. A., industriels et pouvoirs publics ont très bien compris la nécessité de pousser les recherches dans ce domaine et grâce aux moyens dont ont été dotés les organismes de recherche, aussi bien qu'à la confiance et à la collaboration entre chercheurs et industriels de grands progrès ont été apportés à la technologie des jus de fruits.

Cette recherche est payante : de 1950 à 1960 la consommation de jus d'agrumes doublait aux U. S. A. La mise au point des concentrés congelés et des jus réfrigérés était à la base de cet extraordinaire essor. L'expansion ne s'est pas démentie au cours des dernières années car les chiffres qui nous ont été communiqués sur l'industrie agrumicole floridienne indiquaient que de la campagne 1963-1964 à la campagne 1966-1967 la production de jus d'agrumes pasteurisés, concentrés, congelés, et réfrigérés est passée de 5 600 000 hl à plus de 12 millions (\*).

Les progrès réalisés dans la préparation des jus, non concentrés, permettent actuellement aux États-Unis de conquérir de nombreux marchés extérieurs.

Les recherches se sont appliquées aux divers aspects de la qualité des jus d'agrumes : couleur et homogénéité, arôme et goût, valeur diététique. Celles qui concernent l'arôme comptent parmi les plus complexes. Elles nécessitent un équipement scientifique coûteux et un personnel très spécialisé. Leur avancement, bien que très perceptible, semble plus lent que dans d'autres domaines. Nous ne sommes en réalité qu'au départ d'une démarche qui demandera beaucoup d'efforts. Son but les justifie amplement.

(\*) Renseignements fournis par R. M. CADILLAT, directeur du Centre économique de l'Institut Français de Recherches Fruitières Outre-Mer.

## I. DISTRIBUTION DE L'ARÔME DANS LE FRUIT

La perception olfactive ressentie par le consommateur quand il pèle une orange, une mandarine, ou un pomélo est due à l'émission d'un brouillard d'huile essentielle provenant de petites poches ou glandes, de l'écorce qui viennent d'éclater.

L'odeur de cette huile essentielle caractérise le fruit et permet de le reconnaître les yeux fermés. Si l'on s'en enduit les lèvres, ou si l'on mâche un morceau d'écorce on est frappé par son goût doté d'une âcreté désagréable.

Par contre, si le consommateur se trouve face à un verre de jus d'orange frais il perçoit une odeur assez différente, beaucoup plus atténuée, plus fraîche et plus subtile. Le goût du jus est plus net et plus caractéristique que son odeur, il est d'une douceur qui forme un contraste saisissant avec celui de l'huile essentielle du zeste.

Ces différences n'ont pas manqué de frapper les observateurs :

D'après MERORY (41) « l'arôme caractéristique du jus de Citrus fraîchement exprimé est dû *en toute probabilité* à des substances aromatiques contenues dans le jus qui sont de composition fort différente de l'huile essentielle de l'écorce ».

PENNZIG (54) écrivait en 1887 : « l'examen histologique de sections de cellules à jus, de fruits de Citrus, a révélé la présence de minuscules dépôts d'huiles, de cire et de matières granuleuses. » D'après HALL et WILSON (1925) (21) « l'arôme du jus d'orange *semble* provenir de substances existant dans le jus lui-même distinctement différentes de l'huile essentielle de l'écorce ». DAVIS (1932) (15) se fiant aux colorations obtenues avec l'acide osmique crut percevoir des gouttelettes d'huile dans les cellules à jus de toutes les variétés sauf dans le cédrat, le rough lemon et le citron doux de Palestine. Or les huiles essentielles présentent les réactions colorantes des corps gras. La teinture d'orcanette, le bleu d'indophénol en solution alcoolique, le rouge Soudan, l'acide osmique les colorent fortement (DOP et GAUTIE) (17). Il pouvait donc s'agir aussi d'huiles essentielles. Cependant KING (1947) (30) mettait en défaut ces conclusions. L'acide osmique employé par ce dernier dans ces études histologiques n'était pas spécifique des lipides. KING montrait en fait que les structures colorées en noir par l'acide osmique étaient de nature protéique et glucidique.

BLAIR et col. (9) (1952) estimaient que du « jus

d'orange ne contenant absolument pas d'huile essentielle de zeste est relativement insipide bien qu'il ait à un degré variable un caractère fruité plaisant suggérant habituellement un mélange de jus de pomme et d'abricot. Mais il ne possède pas les caractéristiques distinctives de l'orange qui dans les jus normaux proviennent de la présence d'une petite quantité d'huile essentielle de zeste. RICE et col. (1952) (61) s'attachaient à la préparation de jus d'orange sans huile essentielle d'écorce et trouvaient dans ces jus 0,004 à 0,006 p. cent d'huile essentielle. Un jus obtenu par pression manuelle du fruit sans précaution particulière pouvait en contenir de 0,008 à 0,012 p. cent. Ils en concluaient que 50 p. cent de l'huile essentielle contenue dans un jus extrait par pression manuelle provenait de l'écorce. L'autre moitié étant dénommée huile essentielle de pulpe. Les auteurs ne mentionnaient pas la possibilité d'une différence qualitative entre les huiles essentielles de ces deux provenances. Reprenant ce genre d'étude sur pomélo, KIRCHNER (32) trouva dans le jus de ce fruit extrait de façon à éliminer la contamination par le zeste, 0,005 p. cent d'huile essentielle. Notons que ces résultats sont du même ordre de grandeur que ceux obtenus par RICE et col.

MORGAN (45) et col. (1953) relevaient la présence dans le jus de constituants volatils hydrosolubles qui contribuaient aussi à la formation de l'odeur. KIRCHNER et MILLER (1957) (32) isolaient 8 constituants hydrosolubles volatils et 29 constituants liposolubles dans le jus extrait d'oranges 'Valencia'. Leurs recherches n'indiquaient pourtant pas si ces derniers provenaient de l'écorce ou du jus.

A ce stade des recherches se dessine une évolution dans la conception de l'arôme. On ne distingue plus huile essentielle de zeste et huile essentielle de jus. STANLEY (1958) (65) estime que 50 à 80 p. cent des *essences volatiles* du jus obtenu par pression manuelle proviennent de l'écorce et que, dans le cas des concentrés, cette proportion est portée à plus de 90 p. cent. La dénomination « huile essentielle » sera désormais réservée à l'ensemble des constituants volatils de l'écorce physiquement présents à l'état liquide localisés dans les poches ou glandes de flavedo, et facilement extractibles par des moyens mécaniques. Les constituants volatils extraits du jus seront groupés sous l'appellation d'essence d'orange, d'essences aqueuses, ou de « flaveur »

volatile et classés en constituants hydrosolubles et constituants liposolubles.

WOLFORD et col. (1962) (78) admettent que la plupart des constituants volatils liposolubles du jus proviennent de l'huile essentielle de zeste et qu'ils jouent un rôle important dans la formation de l'arôme du jus. Il faut cependant préciser le sens de liposoluble. Un jus d'orange pressé à la main ne contient guère plus de 0,004 p. cent d'huile essentielle. Or, le constituant principal de l'huile essentielle qui y entre dans la proportion de 90 à 95 p. cent est légèrement hydrosoluble à 0,007 % environ. On voit donc que 18 % de cette fraction liposoluble de l'arôme peut être solubilisée dans le jus. D'après BLAIR et col. (9) la fraction insolubilisée d'huile essentielle de zeste se trouve adsorbée sur les solides colloïdaux dispersés dans le jus. Ce phénomène explique sans doute la dénomination « huile essentielle de pulpe » relevée chez divers auteurs. C'est un fait d'expérience qu'un jus d'orange filtré et clarifié a perdu avec sa couleur la plus grande partie de son arôme et c'est la raison pour laquelle à l'inverse du jus de pomme ou de raisin les jus d'agrumes sont toujours présentés pulpeux.

WOLFORD et col. (78) attachent une certaine importance à la fraction hydrosoluble, indispensable croient-ils, à l'originalité de l'arôme du jus d'une variété donnée de Citrus.

Pour mettre en évidence les constituants liposolubles qui ne proviennent pas de l'huile essentielle de zeste, WOLFORD et col. ont préparé avec grand soin des échantillons de jus non contaminés par l'écorce. Les oranges lavées étaient râpées avec un extracteur d'huile essentielle (Fraser Brace Grater) qui enlevait le

flavedo. Après triage des fruits insuffisamment grattés, un lavage dans une solution de permanganate de potassium à 1 p. cent, suivi d'un rinçage à l'eau, et d'un trempage dans une solution de bisulfite de sodium et enfin d'un rinçage à l'eau, éliminaient les traces d'huile essentielle qui auraient pu souiller la surface du fruit. Le jus était ensuite extrait. La récupération des arômes se pratiquait sur des échantillons d'environ 450 l de jus par un procédé que nous décrirons ultérieurement.

Malgré ces précautions, les essences obtenues contenaient une proportion non négligeable de constituants liposolubles identiques à ceux de l'huile essentielle de zeste.

Les travaux réalisés dans notre laboratoire sur de petits échantillons montrent qu'il est en fait extrêmement difficile d'éviter cette contamination du jus au moment de son extraction. Nous n'y sommes parvenus qu'avec certaines espèces de citrus se prêtant par leur morphologie à cette tentative.

En résumé il semble que la distinction entre huile essentielle de zeste et huile essentielle de jus ne s'appuie pas sur une observation scientifique indiscutable. La préparation de jus d'agrumes s'accompagne toujours d'une incorporation d'huile essentielle de zeste quelles que soient les précautions prises dans le but d'éviter un tel mélange. Mais nous verrons que l'invention de divers moyens technologiques de récupération des arômes d'agrumes et l'analyse comparative de la fraction liposoluble et de la fraction hydrosoluble des extraits volatils de jus avec l'huile essentielle de zeste a permis de progresser quelque peu dans la connaissance des constituants volatils particuliers au jus du fruit.

## II. PRÉPARATION INDUSTRIELLE D'EXTRAITS AROMATIQUES

La concentration des jus d'agrumes se pratique généralement par évaporation sous vide. Il en résulte une perte sensible de composés volatils aromatiques, et une certaine dégradation de ceux qui ont été retenus dans le concentré, sous l'action conjuguée de la chaleur et de l'acidité du milieu. L'arôme du concentré, *très atténué et quelquefois modifié*, doit alors être fortifié par adjonction d'un extrait aromatique. Malheureusement la fragilité des arômes de jus d'agrumes a rendu fort malaisées les recherches sur leur récupération.

### A. AROMATISATION DU JUS CONCENTRÉ AVEC DU JUS FRAIS.

Le 7 août 1945 un brevet pris par L. C. McDOWEL, LEKELAND, E. L. MOORE et C. D. ATKINS (37) donnait naissance au procédé largement utilisé depuis sous le nom de « cut back ». Constatant l'inefficacité pour les jus d'agrumes des récupérateurs d'arômes, tels que ceux que l'on employait dans l'industrie des jus de pomme et de raisin, ces chercheurs proposèrent un procédé très simple : à trois volumes de jus d'orange

concentré six fois, on incorpore un volume de jus frais. On obtient ainsi un jus concentré quatre fois possédant en partie les qualités aromatiques du jus frais.

Le concentré emballé en doses correspondant au volume d'un verre de jus reconstitué, ou à un volume plus grand est rapidement congelé et conservé à  $-20^{\circ}\text{C}$  jusqu'à son utilisation.

Il suffit alors de faire fondre une « dose » congelée dans trois volumes d'eau à température ambiante pour obtenir un jus d'orange bien rafraîchi et d'une concentration naturelle.

Le jus frais incorporé au jus concentré six fois constitue 7 à 10 p. cent du jus initial mis en œuvre. Cette proportion paraît suffisante. D'autant plus que ce jus frais est souvent préparé de telle sorte qu'il contienne une quantité d'huile essentielle de zeste supérieure à la normale. Il fait œuvre pour ainsi dire, d'extrait aromatique.

Le procédé du « cut back » a provoqué l'essor et le développement extraordinaire de l'industrie des concentrés congelés et les jus qu'il permet d'obtenir par redilution des concentrés servent de référence dans toute recherche sur l'aromatisation des concentrés de jus d'agrumes.

#### B. EXTRAITS AROMATIQUES PRÉPARÉS PAR DISTILLATION DU JUS.

La concentration des arômes de fruits par distillation est basée sur leurs propriétés volatiles, c'est-à-dire sur leur aptitude particulière à passer de l'état liquide à l'état gazeux. La volatilité d'un composé donné est liée à sa température d'ébullition ou si l'on veut à sa tension de vapeur à une température donnée. Le composé sous forme liquide est d'autant plus volatil que sa tension de vapeur sera plus élevée dans des conditions fixées de température et de pression. La notion de volatilité se complique lorsqu'il s'agit d'un mélange de composés ou d'une solution. La solubilité réciproque des constituants de l'arôme et principalement leur solubilité dans l'eau, puisque les jus de fruits sont des milieux aqueux, influent sur leur volatilité. Le fait d'être hydrosoluble diminue la volatilité d'un constituant du mélange aqueux. Avec les jus troubles il faut également tenir compte des phénomènes d'adsorption. Nous avons vu que les constituants de l'huile essentielle étaient partiellement adsorbés sur les colloïdes du jus. Ces derniers jouent envers l'arôme un rôle de support. Enfin les phénomènes d'azéotropie s'opposent également à l'extraction des arômes par distillation. Si un constituant de l'arôme forme avec

l'eau un mélange azéotrope, ce mélange binaire existera dans les mêmes proportions en phase vapeur et en phase liquide et l'on retrouvera ce constituant aussi bien dans le jus concentré que dans les eaux de condensation. Tel est le cas du mélange eau-anthranilate de méthyle.

Les récupérations d'arômes de jus de fruits comprennent schématiquement :

- un système de vaporisation du jus,
- un séparateur liquide-vapeur,
- une colonne de rectification,
- un condenseur muni d'un reflux vers la colonne de rectification et d'une série de pièges à basse température pour condenser les arômes.

Le système de vaporisation du jus doit tenir compte de la fragilité des composants de l'arôme dont l'intégrité est menacée dès que l'on élève la température du jus. Par ailleurs, l'éventail des températures d'ébullition des constituants de l'arôme sous pression atmosphérique est très étalé. Il va de la température ambiante par exemple pour l'acétaldéhyde à plus de  $250^{\circ}\text{C}$ . Les composés bouillant à ces températures élevées alcools ou cétones sesquiterpéniques ne sont volatils que grâce à leur faible solubilité dans l'eau.

Par suite de ces caractéristiques, les arômes des jus d'agrumes se retrouvent modifiés en nature et en quantité dans le condensat de vapeur. Les travaux de R. G. RICE, G. J. KELLER et E. A. BEAVENS (1952) (61) et de D. A. MORGAN, M. K. VELDHUIS, R. K. ESKEW et C. W. M. PHILLIPS (1953) (45) illustrent bien ces difficultés. R. C. RICE et col. (61) ont évaporé des jus d'orange à basse température  $14,5-16,5^{\circ}$  et ont rectifié les eaux condensées. L'essence obtenue n'était pas stable et des saveurs rappelant l'abricot se développaient dans les jus reconstitués. D. A. MORGAN et col. ont travaillé à des températures d'évaporation plus élevées : 43 et  $46^{\circ}\text{C}$ . Ils estimaient qu'il existait un rapport entre la puissance aromatique de l'essence aqueuse obtenue et la quantité d'huile essentielle de zeste incorporée au jus. Cependant l'effet de renforcement de l'arôme des concentrés par incorporation de cette essence aqueuse n'était pas durable. Pour ces chercheurs, le procédé le meilleur pour renforcer l'arôme des concentrés consistait à réincorporer l'huile essentielle de zeste, soit pure, soit dispersée dans un jus destiné au « cut back ».

Les travaux de MILLEVILLE et ESKEW ont été cités par DUPAIGNE (1959) (19). Pour éviter que le vide de la pompe ne rejette trop rapidement les incondensables à l'extérieur de l'appareillage ces chercheurs ont travaillé sous pression atmosphérique. Le jus frais est introduit dans un échangeur de température où il est



rapidement porté à une température élevée de l'ordre de 150° C pour un jus de pomme ; brusquement détendu après passage à travers une vanne de détente le jus se trouve en partie vaporisé. Le taux nécessaire d'évaporation varie suivant les fruits. De 8 à 10 p. cent pour les pommes, il doit atteindre 40 p. cent pour le raisin.

WOLFORD et col. (1962) (78) ont adopté un procédé semblable. Cependant ils ont ménagé la fragilité des arômes de l'orange en abaissant sensiblement la température de vaporisation. Le jus sortant de l'échangeur n'est pas porté à une température supérieure à 50° C et il est alors détendu sous vide partiel de 6 cm de mercure. Le taux d'évaporation n'est que de 4 p. cent. Le condenseur ramène le condensat à près de 0° C et les incondensés sont piégés avec un mélange réfrigérant glace carbonique et alcool. On peut par la suite

concentrer les essences aqueuses en séparant les arômes de la phase aqueuse par une extraction liquide-liquide avec un solvant organique, comme le chlorure de méthylène. Ce solvant convient tout particulièrement car sa température d'ébullition n'est que de 40° C ce qui permet sa séparation ultérieure dans un évaporateur rotatif sans perte appréciable des constituants volatils.

La séparation directe des constituants de l'arôme à partir du jus de fruit par l'intermédiaire d'un solvant organique n'est pas conseillée car on extrait de cette façon, en même temps que les constituants volatils, des colorants et des lipides. Après évaporation du solvant on obtient des « cires » jaunes brunâtres que l'on peut assimiler à des concrètes. La séparation des composés volatils de cette phase solide est une tâche très malaisée.

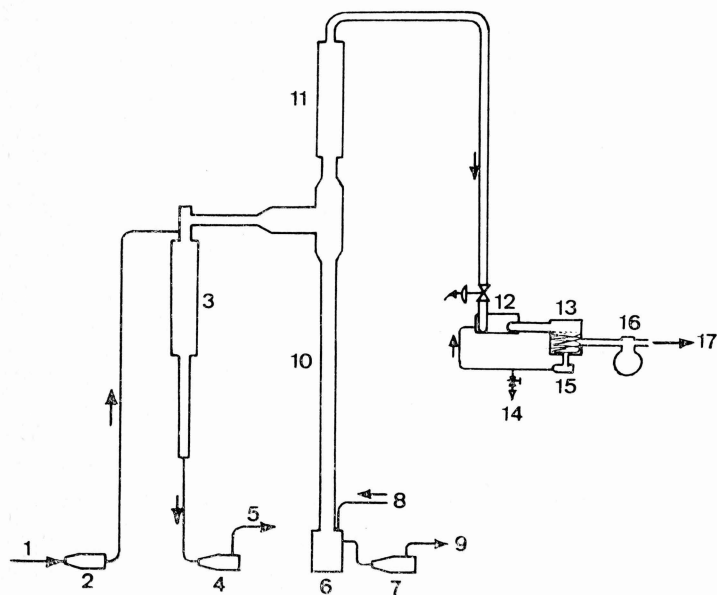


Diagramme schématisé du procédé W. U. R. V. A. C. (11).

1. Alimentation.
2. Pompe d'alimentation.
3. Évaporateur.
4. Pompe pour le jus évaporé.
5. Évacuation vers le refroidisseur.
6. Bouilleur.
7. Pompe d'évacuation.
8. Injection d'azote.
9. Évacuation des déchets.
10. Colonne de rectification.
11. Condenseur.
12. Pompe à vide.
13. Refroidisseur.
14. Évacuation de la solution aromatique.
15. Pompe de circulation.
16. Piège à neige carbonique.
17. Évacuation des incondensables.

J. BOMBEN et col. (1967) (11) ont apporté une nouvelle méthode de récupération d'arôme sous le nom de procédé W. U. R. V. A. C. (Western Utilisation Research Vacuum Aroma Column). Ils ont utilisé un évaporateur à couche mince et en distillant 20 p. cent du jus à 82° C, ils extrayaient 90 p. cent des volatils du jus. Des tests organoleptiques et des analyses chromatographiques ont montré que les arômes obtenus à 82° C n'étaient pas de qualité inférieure à ceux que l'on obtient à 46° C, la température de 82° C présentant de plus l'avantage de pasteuriser le jus. Par ailleurs, l'accroissement du taux d'évaporation de 20 à 30 p. cent n'augmentait pas sensiblement la quantité extraite.

L'originalité de ce procédé ne tient pas tant à sa colonne de rectification équipée d'un bouilleur avec injection d'azote, qu'au système de piégeage. Le vide est assuré par une pompe à anneau liquide et c'est le liquide de cette pompe recyclé et refroidi, en l'occurrence de l'eau distillée, qui fait office de piège à arômes. La récupération peut-être améliorée en ajoutant un piège à glace carbonique à la sortie de la pompe à vide. L'appareil fonctionne en continu et le liquide de la pompe est renouvelé de façon à obtenir une solution aromatique de concentration constante.

Les auteurs ont montré que du concentré de jus d'orange fortifié avec un mélange d'huile essentielle de zeste et de solution aromatique était supérieur à un

concentré aromatisé avec du jus frais même riche en huile essentielle.

#### C. EXTRAITS AROMATIQUES PRÉPARÉS PAR CENTRIFUGATION DU JUS.

Ce procédé de récupération d'arômes spécifiques des jus d'agrumes a été découvert par hasard.

DISTELKAMP (1962) (36) cherchait à décolorer les jus de pomélo roses. En effet certaines variétés de pomélo, Ruby, Foster, sont colorées intérieurement et sporadiquement sur l'écorce par des pigments rouges appartenant à la série des caroténoïdes, comme le lycopène. Ils ne sont pas en quantité suffisante pour imposer leur coloration au jus qui prend alors une teinte jaune brunâtre peu attrayante. Ces pigments fixés sur les matières solides en suspension dans le jus peuvent être séparés par dépulpage ; on peut du même coup atténuer l'amertume du jus de pomélo dont le principe amer, la naringine, est également fixée sur les fragments de membrane. La centrifugation du jus apportait une solution à ce problème. Mais DISTELKAMP s'aperçut que la centrifugeuse séparait également une émulsion plus *légère* que les autres produits de la centrifugation fortement odorante constituée de 5 p. cent d'huile essentielle dans le jus.

Ces recherches aboutissaient en 1962 à la prise d'un brevet pour la préparation d'émulsions aromatiques par Wesfalia Separator.

Les émulsions ainsi obtenues présentent de nombreux avantages. Elles permettent d'obtenir des concentrés à 58, 65 ou 72° Brix d'une qualité au moins aussi bonne, dit l'inventeur, que le 42° Brix obtenu par le procédé du « cut back ». On peut également à l'aide de l'émulsion préparer un concentré à 42° Brix sans addition de jus frais donc sans concentrer le jus à 58° Brix d'où une économie notable d'énergie. L'émulsion peut aussi être utilisée directement comme aromatisant dans l'industrie alimentaire et pour la préparation de boissons sans alcool. Elle se conserve longtemps par exemple d'une campagne de production de jus à l'autre grâce aux anti-oxydants qu'elle contient naturellement. Ces propriétés anti-oxydantes avaient également été reconnues aux « comminuted juices », produits que l'on obtient en broyant très finement l'orange entière, y compris l'écorce.

Cependant l'émulsion est plus riche en pectinestérase que les jus et ceci présente de sérieux inconvénients. La pectinestérase en deméthylant les chaînes pectiques entraîne la clarification indésirable du jus ou la gélification des concentrés. Un tel effet sera évité en inactivant l'enzyme par traitement thermique. Mais ce faisant on compromet la qualité aromatique de l'émulsion.

Cette difficulté semble avoir été surmontée par les ingénieurs de la firme de LAVAL (69). Comme DISTELKAMP, ils essayaient de résoudre un problème fort différent. Une quantité notable de jus d'orange est vendue aux États-Unis sans pasteurisation préalable, simplement réfrigérée (Chilled Juice). Le jus fraîchement extrait est temporairement stabilisé par traitement thermique de 12 s à 74° C, désaéré à contrecourant par de l'azote, expédié vers les zones urbaines de consommation dans de grands réservoirs refroidis entre + 1° C et + 5° C sous atmosphère d'azote. Ceci permet une conservation de quelques jours suffisante pour la distribution régulière du jus d'orange. La principale qualité de ce produit est sa fraîcheur et si le procédé d'extraction incorporait au jus un taux exagéré d'huile essentielle de zeste il serait impensable d'éliminer cet excès par la pratique du « déshuilage » sous vide ; ce traitement donnerait au jus un goût plat se rapprochant de celui du jus pasteurisé.

De Laval a résolu ce problème en opérant par centrifugation. Avec le séparateur CRPX 213, 50 p. cent de l'huile essentielle du jus est extraite sous forme d'émulsion. Cette émulsion est ensuite cassée à l'aide d'une petite centrifugeuse à cylindre. C'est alors que l'on a remarqué l'intérêt de l'huile essentielle extraite de l'émulsion. Provenant en tout ou en partie du zeste, son passage dans le jus l'a enrichie et elle dégage un arôme plus fruité. Réincorporée à un jus pasteurisé ou à un concentré elle lui donne un caractère de fraîcheur et de maturité. Cette huile essentielle très stable, débarrassée des enzymes de l'émulsion garderait cependant des propriétés anti-oxydantes.

Nous venons de voir que les recherches technologiques avaient débouché sur la production industrielle de concentrés aromatiques sous la forme d'essences distillées, d'émulsions ou d'huiles essentielles dites « de jus ». L'analyse chimique de ces extraits présente le plus grand intérêt et va permettre leur comparaison avec l'huile essentielle de zeste.

### III. ANALYSE ET COMPOSITION CHIMIQUE DES ARÔMES D'AGRUMES

L'étude des arômes d'agrumes a profité des immenses progrès réalisés au cours de ces dernières années dans les techniques instrumentales de séparation et d'analyse. Avant d'aborder la description des diverses méthodes chromatographiques et spectrales et l'énumération des résultats qu'elles ont permis d'obtenir, nous parlerons en premier lieu des procédés plus simples utilisables aussi bien pour la recherche appliquée que pour le contrôle routinier de la production.

#### A. TESTS OLFACTIFS ET ORGANOLEPTIQUES.

Quand il s'agit de déterminer la qualité d'un arôme les appareils les plus modernes ne donnent pas encore de renseignements suffisants pour remplacer le nez ou le palais. Le plus ancien procédé d'analyse d'arômes, la dégustation, est donc toujours en vigueur. Mais pour éliminer le côté subjectif du jugement, on a recours à l'analyse statistique de plusieurs jugements et par cette méthode on obtient des résultats dont on peut calculer le degré de signification. D. G. GUADAGNI (20) a exposé de façon très claire les principes modernes du test analytique :

On dispose d'une équipe de dégustateurs préalablement sélectionnés qui, face aux échantillons proposés, doivent répondre à une question simple et précise. Plusieurs techniques sont possibles :

Pour la *comparaison par paire*, chaque juge examine deux échantillons, il doit indiquer s'ils sont différents.

La *comparaison par triangle* permet un meilleur contrôle des résultats et par ailleurs sélectionne le dégustateur. Trois échantillons sont proposés, dont deux identiques. Le dégustateur indiquera lesquels.

Enfin d'après le *système duo-trio*, le dégustateur se verra proposer un échantillon contrôle et deux échantillons dont l'un est identique au contrôle. Il désignera celui qui est identique au contrôle.

Si N est le nombre total de réponses,

$x_1$  le nombre total de réponses correctes,

$x_2$  le nombre total de réponses non correctes,

le degré de signification X des résultats sera donné par les formules statistiques suivantes :

Dans le cas du test par paire ou duo-trio :

$$X^2 = \frac{[(x_1 - x_2) - 0,5]^2}{N}$$

Dans le cas du test triangulaire :

$$X^2 = \frac{[(2x_1 - x_2) - 0,5]^2}{2N}$$

Les laboratoires de contrôle des usines de transformation ne disposent pas toujours d'une équipe de dégustateurs, ni d'un appareillage scientifique hors de proportion avec leurs besoins. Ils ne sont pas pour autant désarmés. Des méthodes d'analyses simples ne demandant qu'un équipement peu coûteux ont été étudiées à leur usage.

#### B. MÉTHODES D'ANALYSES SIMPLÉS POUR LABORATOIRES DE CONTRÔLE.

La détermination de la teneur en huile essentielle d'un jus d'agrumes, ou de la fraction liposoluble de l'arôme, se fait aisément par distillation à l'aide de l'appareil CLEVINGER (1934). Cette méthode prend du temps car la distillation doit durer 90 mn et elle exige 1 à 2 l de jus. W. SCOTT et M. K. VELDHUIS (1966) (63) ont publié une nouvelle méthode chimique dont les avantages sont appréciables. Elle ne nécessite que 25 ml de jus et peut-être réalisée en 7 mn. Cette méthode est basée sur le fait que l'huile essentielle d'orange, de pommelo, ou de mandarine est constituée à plus de 90 p. cent de limonène. La bromuration des doubles liaisons de ce monoterpène à l'aide d'une solution titrée de bromure-bromate en milieu acide et en présence de méthylorange permet une estimation fine et précise. Avec le jus de citron et de lime dont l'huile essentielle est moins riche en limonène, la détermination demeure très convenable, par suite de réactions secondaires avec les autres composants. CHARLEY (1962) (14) a proposé une estimation de la fraction hydrosoluble de l'arôme. Sa méthode est basée sur les propriétés réductrices de cette fraction : la solution aromatique est chauffée à reflux en présence de bichromate de potassium. Après refroidissement, on ajoute de l'iodure de potassium et on titre la quantité d'iode libérée avec une solution décimale d'hyposulfite de soude. On obtient ainsi un « nombre d'oxydation ». Ce nombre est influencé par la teneur en alcool éthylique du milieu. Le dosage de l'éthanol peut se faire rapidement d'après le poids spécifique du distillat de solution aromatique. Par

correction du nombre d'oxydation on obtient alors un « nombre d'arôme ».

M. H. DOUGHERTY (1964) (18) analyse plus strictement la teneur en composés volatils hydrosolubles d'un jus d'orange. Par distillation et passage du distillat dans un piège Clevenger, il sépare l'huile essentielle et estime le pouvoir réducteur du distillat (C. O. D. = Chemical Oxygen Demand) par oxydation au bichromate de potassium. La quantité de bichromate ayant réagi est estimée par colorimétrie et le C. O. D. exprimé au moyen d'une courbe étalon obtenue avec une solution de saccharose.

Le C. O. D. sert à calculer la quantité d'essence (obtenue par distillation) à réincorporer à un concentré pour obtenir une qualité aromatique standard.

Les résultats obtenus par DOUGHERTY sur des jus frais d'orange des concentrés, des « essences » et des concentrés renforcés en extraits aromatiques, montrent bien que le C. O. D. est spécifique de la fraction hydrosoluble des arômes d'orange. Il montre également combien les « essences » ont une concentration variable en produits aromatiques.

Cependant le laboratoire de contrôle a lui-même quelquefois besoin d'une connaissance plus complète, plus détaillée des divers composés volatils aromatiques contenus dans un extrait. J. A. ATTAWAY et col. (1967) (6) ont apporté des méthodes d'analyses colorimétriques simples pour la mesure quantitative de quatre fractions importantes des essences aqueuses.

Les terpènes oxygénés sont estimés par la réaction colorée bleu-vert à bleu à laquelle ils donnent naissance en présence de vanilline sulfurique. Une solution alcoolique de citronellol, linalol, terpinène —4—ol et d' $\alpha$ -terpinéol permet d'établir une courbe étalon.

Les aldéhydes aliphatiques saturés donnent une coloration orange à noire avec la paraphényène diamine. Une solution alcoolique d'octanal sert d'étalon. Les aldéhydes insaturés donnent une coloration jaune foncé à jaune clair avec l'orthodanisidine. On établit la courbe étalon avec une solution alcoolique de citral.

Les esters sont mesurés par la coloration orange que l'on obtient avec le chlorure ferreux  $FeCl_3$  après réaction de la solution avec le chlorhydrate d'hydroxylamine. Les résultats sont exprimés en butyrate d'éthyle. Cette méthode est une adaptation de celle de KELLY (1958) utilisée pour estimer l'acétate d'éthyle dans les jus de fruit.

Les auteurs ont comparé les résultats obtenus par ces méthodes avec le C. O. D. sur diverses essences d'orange et de pomélo. Il n'y a pas de relation bien étroite entre ces deux façons d'estimer la concentration d'une essence et à la lumière des analyses colo-

rimétriques le C. O. D. semble donner des indications très approximatives.

La fraction liposoluble des essences d'agrumes présente sinon une similitude absolue du moins une grande parenté avec l'huile essentielle de zeste et les méthodes d'analyses globales des huiles essentielles peuvent lui être appliquées. On tirera des renseignements comparatifs intéressants, des mesures d'indice d'esters, de teneurs en composés carbonylés, et en alcools. Mais pour parvenir à une connaissance détaillée d'une essence, comme d'une huile essentielle, il est nécessaire d'avoir recours aux méthodes instrumentales d'analyse et d'identification.

### C. LES TECHNIQUES DE SÉPARATION.

Aux anciens procédés de séparation par distillation fractionnée qui exigeaient un volume important d'échantillon, sont venues s'ajouter les techniques plus fines, de chromatographie sur colonne, sur papier, en couche mince (CCM), en phase gazeuse (CPG). L'identification des fractions fait appel à la formation de dérivés caractéristiques, mais aussi à la spectrographie en lumière ultraviolette (UV), ou infrarouge (IR). La spectrographie de résonance magnétique nucléaire (RMN) et la spectrographie de masse (SM) tendent à se généraliser malgré le coût des appareils.

Le couplage de ces méthodes CPG-CCM, CPG-IR, CPG-SM, permet l'identification de constituants n'existant qu'à l'état de traces.

#### Séparation par chromatographie sur colonne.

Par chromatographie d'adsorption sur colonne on sépare les constituants d'une huile essentielle, ou de la fraction liposoluble d'une essence, en carbures d'hydrogène et composés oxygénés. Cette opération présente un grand intérêt pour l'analyse des huiles essentielles d'agrumes qui contiennent une proportion prépondérante d'hydrocarbures terpéniques.

J. M. MILLER et J. C. KIRCHNER (1952) (43) ont réalisé cette déterpénation avec une colonne d'acide silicique. Les hydrocarbures sont élués par un solvant apolaire, comme l'hexane ; un solvant polaire comme l'acétate d'éthyle élue les composés oxygénés. J. B. S. BRAVERMAN et L. SOMIANSKY (1957) (12) ont modifié ce procédé de façon à diminuer les quantités d'éluant nécessaire, et ainsi à abaisser le coût de l'opération. Après avoir comparé divers adsorbants, ils ont montré que l'acide silicique seul et le mélange alumine-Kieselghur étaient les plus efficaces. HUNTER

une certaine mesure à l'analyse qualitative et quantitative. Elle bénéficie d'améliorations constantes. En 1962, utilisant une technique déjà bien éprouvée, R. M. WOLFORD et col. (78) isolaient 53 composants dans l'essence de jus d'orange Hamlin. Les mêmes auteurs portaient ce nombre à plus de 200 en 1967 (83).

Nous ne reviendrons pas sur la préparation des échantillons d'analyse sous forme liquide. Elle a été exposée dans le chapitre 2. Les détecteurs à ionisation

de flamme (DIF) très sensibles rendent possible l'analyse d'échantillons gazeux de quelques cm<sup>3</sup> sous pression atmosphérique. D'après C. WEURMAN (77) (1963), les composants de l'arôme sont détectables par l'odorat humain à la concentration de 10<sup>-8</sup>, 10<sup>-9</sup>. Le DIF répond à des concentrations de 10<sup>-12</sup>. En fait il n'y a pas de corrélation entre la réponse de la muqueuse nasale et celle d'un DIF comme le montre le tableau suivant.

*Limite inférieure des concentrations détectées par CPG et par l'odorat humain.*

COMPOSÉ		CPG	ODORAT HUMAIN
n-propanol.....		0,125	0,17
n-butanol.....		0,12	0,07
n-hexanal.....		0,3	0,03
acétone.....	p. p. m. dans l'eau (1)	0,03	500
n-butanone.....		0,017	50
diméthyl sulfure...		0,002	0,012
méthylmercaptan...		0,013	0,002
2 heptanone.....	mg/l d'air (2)	6,5 × 10 <sup>-4</sup>	8,97 × 10 <sup>-4</sup>

(1) 50 ml de solution dans un flacon de 100 ml à 35° C.

(2) Après correction de l'absorption par les parois du récipient. Conditions expérimentales. Becker. Instr. Delft. (Hollande) C. P. G. Détection à ionisation avec flamme d'hydrogène. Sensibilité maximale. Colonne 2 m, 25 p. cent LAC-IR 296 sur chromosorb W. 24-30 mesh. 55° C. N 2-H 2-O 2. 40-20-100 ml/mm. Hauteur de pic minimale, 2,5 p. cent de l'échelle entière à 0,5 p. cent de bruit de fond.

On peut donc obtenir un chromatogramme en injectant directement dans un appareil de CPG, 1 000 à 4 000 ul de l'atmosphère en contact avec un fruit ou un jus de fruit. Si l'on opère dans des conditions bien précises de volume, de température, de pression, la méthode, dite de l'Espace de tête, est reproductible. Elle a été exposée par R. TERANISHI et R. G. BUTTERY (67) et utilisée par WOLFORD et col. (1963) sur le jus d'orange (79). VAN DEL DOOL (1965) (72) a signalé l'influence de la température et du solvant sur l'intensité de la réponse. La méthode est d'autant plus sensible que la température du mélange analysé est plus élevée; on est limité toutefois par la fragilité des constituants de l'arôme qui peuvent être modifiés sous l'effet de la chaleur. Par ailleurs, des essais d'analyse par espace de tête d'un mélange dissous dans divers solvants ont montré que les concentrations des constituants du mélange dans la phase vapeur, variaient fortement suivant le solvant utilisé. L'explication de ces observations a été apportée par NAWAR (49) (1966) qui a fait une étude critique détaillée de l'effet du milieu, des divers composants chimiques ajoutés, comme le sulfate de sodium ou le glucose, et de l'effet de la dilu-

tion sur l'équilibre quantitatif entre les constituants dans la phase vapeur. Si un constituant est très soluble dans la phase liquide il y a proportionnalité entre sa concentration dans la phase liquide et sa concentration dans la phase vapeur. S'il est peu soluble, sa concentration dans la phase vapeur atteint rapidement un maximum, quand elle augmente de façon continue dans la phase liquide. La saturation de la solution par un sel peut augmenter la concentration d'un constituant volatil dans la phase vapeur, mais cette action varie suivant les solutés et leur concentration dans la solution. Cette étude démontre bien avec quelle prudence doivent être interprétées les données quantitatives du chromatogramme d'un espace de tête. La méthode demeure cependant séduisante car elle ne nécessite aucune manipulation des constituants odorants. Elle rend de grands services dans l'étude des composés très volatils. Malheureusement elle manque de sensibilité pour les constituants à point d'ébullition élevé dont certains jouent un rôle primordial dans l'arôme de citrus.

Nous utilisons couramment cette technique dans notre laboratoire avec des échantillons de jus d'agrumes



et MOSHONAS (28) ont utilisé l'alumine neutre car l'alumine basique saponifie quelques esters de l'huile essentielle de citron ou de lime. E. KUGLER et E. SZ. KOVATS (1963) (35) dans un travail approfondi sur l'huile essentielle de mandarine ont choisi l'acide silicique imprégné d'émulphor *o* pour éviter la déshydratation des alcools. Ils ont neutralisé les effets néfastes de la chaleur d'absorption en refroidissant la colonne avec une chemise d'eau. Les auteurs utilisaient trois éluants : le pentane pour les hydrocarbures, le chloropropane pour les composés oxygénés autres que les alcools et le méthanol pour les alcools. Ils obtenaient un front net entre les solvants quand l'éluant à densité plus élevée se trouvait dans la colonne sous l'éluant le plus léger. A cet effet ils ont mis au point une colonne orientable pouvant pivoter de 180° de façon à inverser le haut et le bas.

#### Séparation par chromatographie sur papier.

On ne peut chromatographier directement sur papier les huiles essentielles car les constituants liposolubles n'ont pas d'affinité pour la phase stationnaire hydrophile imprégnant le papier. PARIS et GODON (53) ont cependant pu obtenir de bonnes séparations en utilisant des papiers hydrofugés par des dérivés celluloseux comme les nitrates de cellulose, l'éthylcellulose, des polymères vinyliques ou des paraffines et diphényles chlorés. Ces auteurs ont également élargi le champ des investigations en traitant l'huile essentielle par des sels mercuriques comme l'acétate mercurique, qui se fixent sur les liaisons éthyléniques et font apparaître les hydrocarbures sur le chromatogramme.

La chromatographie sur papier a surtout été utilisée pour la séparation des composés carbonylés extraits de l'huile essentielle sous forme de dérivés spécifiques, obtenus avec le réactif de Girard T ou la 2-4 dinitrophénylhydrazine.

G. M. RAYMOND (1968) (58) a fait une étude critique de ces méthodes appliquées à diverses huiles essentielles de Citrus. J. A. ATTAWAY et col. (1963) (3) ont séparé des mélanges d'alcools isolés par l'intermédiaire de leurs dérivés *o*-nitrophényl et *p*-phenylazophényluréthanes, et chromatographiés sur papier imprégné de vaseline.

#### Séparation par chromatographie en couche mince (CCM).

La CCM est bien mieux adaptée à la séparation des constituants des huiles essentielles, liposolubles, volatils et moyennement polaires. KIRCHNER et MILLER

(1952) (43) ont suivi la séparation chromatographique sur colonne d'une huile essentielle d'orange, grâce aux « chromatostrips », plaquettes de verre longues et étroites recouvertes d'acide silicique lié par de l'amidon. On préfère actuellement l'acide silicique lié par le plâtre. On trouve aussi dans le commerce des chromatoplaques non plus sur verre, mais sur papier photographique, qui peuvent être conservées. PARIS et GODON (1963) (53) ont dressé un tableau détaillé des techniques, solvants et révélateurs utilisés pour les huiles essentielles. J. A. ATTAWAY et col. (1964) (4) couplèrent CCM-CFG, soit de façon discontinue par piégeage préalable du pic effluent, soit de façon continue en faisant dégager directement le pic effluent sur la plaque. Solvant et révélateurs étaient adaptés à la fonction chimique des constituants à identifier. Les esters qui ne donnent pas de dérivés spécifiques peuvent être identifiés soit par leur Rf, soit par réaction colorée avec certains réactifs :  $MnO_4K-SO_4H_2$  et vanilline- $SO_4H_2$ . Une estimation quantitative est rendue possible par mesure de la densité optique au spectrophotomètre d'une solution des taches.

J. A. ATTAWAY (1965) (5), J. H. TUMLINSON et col. (1967) (71) ont utilisé le couplage CPG-CCM pour l'identification des composés carbonylés. Ils faisaient dégager le pic effluent de CPG sur une tache fraîchement déposée sur la plaque, de 2-4 dinitrophénylhydrazine, de *p*-nitrophénylhydrazine ou de 2-4 dinitrophénylsemicarbazide. S'inspirant des travaux de STANLEY-VANNIER sur l'huile essentielle de citron par « chromatostrips », McLEOD et BUIGUES (38) ont décrit une technique de CCM à deux dimensions permettant d'établir la pureté d'une huile essentielle de citron et de la différencier de l'huile essentielle de lime. L. PEYRON (1963) (55) a appliqué aux constituants des huiles essentielles la technique circulaire à cellule fermée de STAHL. La chromatographie radiale comprend trois variantes : la chromatographie d'adsorption, la chromatographie de partage et la chromatographie d'échange d'ions. Cette technique présente de grands avantages de simplicité et de précision. G. VERNIN (73) a étudié de façon très complète les différents aspects et variantes de la CCM appliquée aux composés terpéniques des huiles essentielles et aux substances aromatiques.

#### Séparation par chromatographie en phase gazeuse.

Mais la chromatographie en phase gazeuse demeure la méthode de choix pour la séparation des constituants des huiles essentielles et des arômes de fruits. Elle permet des séparations très fines et se prête dans

de 250 ml dans un flacon de 500 ml. J. BOMBEN et col. (1967) (11) l'ont utilisé comme moyen de contrôle pour les essences extraites avec l'appareil Wurvac.

L'arôme en phase gazeuse peut être concentré par le procédé décrit par G. L. K. HUNTER et W. B. BROGDEN Jr. (1964) (25). Un gaz neutre comme l'hélium barboté dans un volume donné de jus d'agrumes puis après dessiccation sur chlorure de calcium passe dans un tube en U, refroidi par de l'azote liquide, où les composants volatils entraînés sont piégés. Le tube est ensuite réchauffé et connecté avec l'arrivée du gaz vecteur du chromatographe. Avec 400 ml de jus frais d'orange les auteurs ont obtenu un chromatogramme représentant le gaz carbonique, l'acétaldéhyde le méthanol, l'éthanol, l'acétate d'éthyle, le butyrate d'éthyle, l' $\alpha$  pinène, le sabinène, le myrcène, l'hexanoate d'éthyle et le d-limonène (1).

Pour obtenir un chromatogramme plus complet d'un arôme ou d'une fraction d'arôme, il est donc nécessaire de l'injecter sous forme liquide : c'est-à-dire sous forme d'huile essentielle, ou fraction d'huile essentielle, ou sous forme d'essence concentrée. Nous avons là un mélange très complexe de constituants à températures d'ébullition très diverses et de polarité variable. *La programmation de température* de la colonne de 50 à 200° C par exemple permettra de surmonter cette difficulté et un « profil » complet de l'arôme s'inscrira sur l'enregistreur. L. M. A. RASQUINHO (1965) (57), R. HUET (1967) (24), R. W. WOLFORD et col. (1962) (78), séparèrent de 40 à 53 constituants dans les essences d'orange, avec la programmation de température. Leur chromatographe était équipé d'un détecteur à conductivité thermique (DCT) et de doubles colonnes longues de 3,65 m et de 6,3 mm de diamètre chargées avec du carbowax 20 M à 20 p. cent. Cette phase stationnaire moyennement polaire est toujours en faveur pour la séparation des constituants des huiles essentielles et des essences d'agrumes. La finesse des analyses est augmentée par l'emploi du détecteur à ionisation de flamme, mais pour éviter la dérive de ligne de base en programmation de température on ne charge les colonnes qu'à 5 ou 10 p. cent. Les colonnes capillaires à haute efficacité ont un pouvoir séparateur tel qu'il a permis de distinguer plus de 200 constituants dans les essences d'orange. Celles qui ont été utilisées par WOLFORD, ATTAWAY et BARABAS (1965) (81), présentaient les caractéristiques suivantes : longueur 91,4 m ; diamètre interne 0,25 mm ; phase stationnaire liquide : Apiezon 95 p. cent, Igepal co 880 à 4 p. cent, DOPC 1 p. cent.

R. WOLFORD et J. A. ATTAWAY (83) en utilisant un détecteur à capture d'électron ont révélé toute une caté-

gorie de composants qui n'apparaissaient pas avec les autres détecteurs. Les détecteurs à captures d'électrons ne donnent de réponse que s'ils sont traversés par des molécules ayant des affinités pour les électrons libres ; propriété qui les rend spécifiques d'une certaine catégorie de composés halogénés ou sulfurés. KIRCHNER et col. (1950) (31) avaient mis en évidence la présence d'hydrogène sulfuré dans les jus d'orange Valencia et W. Navel de Californie, et dans les jus de pomélo, Marsh. Nous avons également identifié ce gaz dans les fruits verts et tournants de Clémentine de Corse. Les composés capteurs d'électrons mis en évidence dans les essences et huiles essentielles de jus d'orange n'ont pas encore été identifiés. Ils semblent être en relation avec la fraîcheur de l'arôme.

#### D. LES TECHNIQUES D'IDENTIFICATION.

La mesure du point d'ébullition d'une fraction sous une pression donnée, son indice de réfraction, son pouvoir rotatoire donnent des indications utiles et furent indispensables avant l'apparition des méthodes modernes d'analyses. La mesure de Rf, rapport de la distance d'élution de la tache à la distance du front de solvant, en chromatographie sur papier, et en couche mince ne permet pas d'identification sans quelque ambiguïté et l'on préfère toujours comparer les distances d'élution à celles de composés témoins connus. En chromatographie gazeuse, il faut des conditions parfaites de fonctionnement pour se fier aux distances ou aux températures de rétention. Souvent un même pic peut représenter plusieurs constituants. Les mesures de rétention relatives à un composé étalon, ou mieux le calcul des indices de Kovats sur deux phases stationnaires distinctes, polaire et apolaire, donnent cependant des indications très sérieuses. PHAN TON CHON (1967) (56) a établi une équation générale permettant de calculer la température optimale d'utilisation et la température limite d'une phase stationnaire et de prévoir la distance de rétention d'un composé donné, dans des conditions expérimentales données connaissant son nombre d'atomes de carbone et sa fonction chimique.

Les techniques d'enrichissement avec des composés purs connus ou d'appauvrissement par piégeage préalable d'une catégorie de composés, R. W. WOLFORD, C. E. ALBERDING, J. A. ATTAWAY (1962) (78) pour les carbonyles, N. PAILLARD (1965) (52) pour les alcools légers sont aussi employées avec succès.

La séparation préalablement à l'analyse chromatographique de composés ayant une fonction commune

## COMPOSITION CHIMIQUE D'HUILES ESSENTIELLES D'AGRUMES ET DE DISTILLAT DE JUS D'AGRUMES

(5, 27, 29, 34, 35, 46, 47, 50, 64, 66, 81, 86)

Nom du composé	Composés volatils du jus d'orange	Huile essentielle					Nom du composé	Composés volatile du jus d'orange	Huile essentielle						
		orange	mandarine %	pomelo	citron	lime distillée %			orange	mandarine %	pomelo	citron	lime distillée %		
HYDROCARBURES											ALCOOLS (suite)				
Limonène	xx	xx	67,72	xx	xx	59,94	Nérol	x	xx	-	x	x	x		
p cymène	xx	xx	8,15	xx	xx	11,59	Nérolidol	-	-	-	x	-	-	-	
α Thuyène	xx	xx	0,45	x	x	-	Farnesol	x	-	-	-	-	-	-	
Myrcène	xx	xx	1,18	xx	xx	0,77	Terpinène I - ol	-	-	-	-	-	-	0,69	
α Phellandrène	xx	xx	-	-	-	-	Terpinène 4 - ol	xx	x	0,11	-	x	-	1,60	
β Phellandrène	x	x	-	-	xx	-	Citronellol	xx	xx	0,02	x	xx	-	-	
α Terpinène	xx	xx	-	-	-	-	Hydrate de sabinène	-	-	-	-	-	-	-	
γ Terpinène	xx	xx	9,18	xx	xx	0,62	- forme A	-	-	0,05	-	-	-	-	
Terpinolène	xx	xx	0,57	-	x	0,82	- forme B	-	-	0,11	-	-	-	-	
Sabinène	xx	xx	-	xx	xx	-	Alcool p triméthylbenzyl-ique	-	-	0,03	-	-	-	0,56	
α pinène	xx	xx	2,46	xx	xx	0,84	Elemol	-	xx	-	x	-	-	-	
β pinène	xx	xx	1,27	xx	xx	0,90	Trans-carveol	xx	xx	0,04	-	-	-	-	
Car 3(4)-ène	xx	xx	-	-	-	-	Cis-carveol	xx	xx	0,02	-	-	-	-	
Camphène	xx	xx	0,36	-	xx	0,77	Alcool benzylique	-	-	0,01	-	-	-	-	
p-méthyl-i propenyl benzène	xx	xx	-	-	-	-	Fenchol	-	-	-	-	-	-	1,19	
Farnesène	xx	xx	-	-	-	-	lp-menthène 9 - ol	xx	-	-	-	-	-	-	
Ylangène	xx	xx	0,01	xx	-	-	Cis et Trans 2-8p menthadiène I - ol	xx	-	-	x	-	-	-	
α Elemène	-	-	-	-	-	xx	Cis et Trans 1-8p menthadiène 9 - ol	xx	-	-	x	x	-	-	
β Elemène	xx	xx	-	xx	-	xx	Cis et Trans 8p menthène 1,2 diol	xx	-	-	x	-	-	-	
α Copaène	xx	xx	-	xx	-	-	Phenols	-	-	0,08	-	-	-	-	
β Copaène	xx	xx	-	xx	-	-	Thymol	-	-	-	-	-	-	-	
γ Caryophyllène	xx	xx	0,03	xx	xx	0,27	ESTERS								
α Humulène	xx	xx	-	xx	xx	xx	Formiate d'éthyle	xx	-	-	-	-	-	-	
β Humulène	xx	xx	-	xx	xx	-	Formiate de geranyle	xx	-	-	-	-	-	-	
Valencène	xx	xx	-	-	-	-	Formiate de terpenyle	xx	-	-	-	-	-	-	
Cadinène	xx	xx	-	xx	xx	-	Acétate d'éthyle	xx	-	-	-	-	-	-	
Longifolène	-	-	0,01	-	-	-	Acétate de n octyle	xx	-	-	-	xx	-	-	
α Selinène	-	-	0,02	-	-	-	Acétate de n decyle	x	-	0,002	-	xx	-	-	
γ Selinène	-	-	0,01	-	-	-	Acétate de citronellyle	x	-	-	-	-	xx	-	
β bisabolène	-	-	-	-	xx	0,94	Acétate de terpenyle	x	-	-	-	-	-	-	
Bergamotène	-	-	-	-	xx	0,52	Acétate de bornyle	x	-	-	-	-	-	-	
tétradécane	-	-	-	-	xx	xx	Acétate de néryle	-	-	-	-	-	-	0,01	
pentadécane	-	-	-	-	xx	xx	Acétate de géranyle	x	-	0,003	-	xx	-	0,28	
Azulène	-	-	-	-	xx	xx	Propionate d'éthyle	xx	-	-	-	-	-	-	
ALCOOLS											Propionate de linalyle				
Méthanol	xx	-	-	xx	-	-	Butyrate d'éthyle	xx	-	-	-	xx	-	-	
Ethanol	xx	-	-	xx	-	-	Butyrate de n octyle	x	-	-	-	-	-	-	
n propanol	xx	-	-	-	-	-	Butyrate de géranyle	x	-	-	-	-	-	-	
n butanol	xx	-	-	-	-	-	Butyrate de citronellyle	xx	-	-	-	-	-	-	
2 butanol	xx	-	-	-	-	-	i. pentanoate de méthyle	x	-	-	-	-	-	-	
3 méthylbutane I - ol	xx	-	-	-	-	-	i. pentanoate d'éthyle	x	-	-	-	-	-	-	
2 méthylbut 3 en 2 - ol	xx	-	-	-	-	-	i. pentanoate de n octyle	x	-	-	-	-	-	-	
i butanol	xx	-	-	-	-	-	Hexanoate d'éthyle	xx	-	-	-	-	-	-	
n pentanol	xx	-	-	-	-	-	3 Hydroxyhexanoate de méthyle	xx	-	-	-	-	-	-	
2 pentanol	xx	-	-	-	-	-	3 hydroxyhexanoate d'éthyle	xx	-	-	-	-	-	-	
i pentanol	xx	-	-	-	-	-	Octanoate d'éthyle	xx	-	-	-	-	-	-	
n hexanol	xx	-	-	-	-	-	Méthyl 2 éthyl hexanoate	x	-	-	-	-	-	-	
i hexanol	xx	-	-	-	-	-									
n hex x en I - ol	xxx	-	-	-	-	-									
n hex-2-en I - ol	xx	-	-	-	-	-									
n hex-3-en I - ol	xx	xx	0,02	-	-	-									
Heptanol	xx	xx	-	-	-	-									
Hept-3-en I - ol	xx	-	-	-	-	-									
Méthyl heptanol	x	-	-	-	-	-									
n octanol	xx	xx	0,08	x	x	0,01									
Méthyl heptanol	x	-	-	-	-	-									
n Nonanol	xx	xx	-	x	-	0,008									
2 Nonanol	x	-	-	-	-	-									
n Décanol	xx	xx	0,24	xx	xx	0,06									
Linalol	xx	xx	0,24	xx	xx	0,10									
α Terpèneol	xxx	xxx	1,11	xx	xxx	5,86									
β Terpèneol	-	-	-	-	-	0,69									
i Pulegol	-	-	-	-	-	0,60									
Borneol	-	-	-	-	-	-									
Undecanol	xxx	xx	-	-	-	-									
n dodecanol	xx	xxx	-	x	-	xx									
geraniol	x	xxx	0,01	xx	xxx	xx									
tetrahydro-geraniol	x	xxx	-	x	xx	-									

Erratum : 14<sup>e</sup> ligne à partir du bas du tableau, 1<sup>re</sup> colonne, lire : Méthyl heptanol.

## COMPOSITION CHIMIQUE D'HUILES ESSENTIELLES D'AGRUMES ET DE DISTILLAT DE JUS D'AGRUMES

(5, 27, 29, 34, 35, 46, 47, 50, 64, 66, 81, 86)

Nom du composé	Composés volatils du jus d'orange	Huile essentielle					Nom du composé	Composés volatils du jus d'orange	Huile essentielle				
		orange	mandarine %	pomelo	citron	lime distillée %			orange	mandarine %	pomelo	citron	lime distillée %
STERS (suite)						Geranial )	xx	xx	-	-	xx	-	
Anthranilate de méthyle	x	-	-	-	x	Citral )	xx	xx	-	-	xx	-	
Methylanthranilate de méthyle	x	-	0,850	-	-	Neral )	xx	xx	0,026	-	xx	-	
Ether méthylique des $\alpha\alpha$ p triméthyl benzyl alcools	-	-	-	-	-	Carvone	xx	xx	0,050	-	-	-	
						Aldehyde de Perilla	-	-	-	-	-	-	
						Citronellal	xx	xx	-	-	xx	-	
						Furfural	x	-	-	-	-	0,005	
						Piperitenone	-	-	-	-	-	-	
						Nootkatone	xx	x	-	xx	xx	-	
CIDES						OXYDES							
Formique	xx	x	-	-	-	2, 6, 6 Triméthyle	-	-	-	-	-	-	
Acétique	xx	x	-	xx	xx	2-vinyltetrahydro	-	-	-	-	-	0,16	
n Propionique	xx	x	-	-	-	dropyrane	-	-	-	-	-	-	
n butyrique	xx	x	-	-	-	Oxyde de linalol	xx	x	-	xx	-	-	
n Pentanoïque	xx	x	-	-	-	cis	xx	x	-	xx	-	-	
i Pentanoïque	x	x	-	-	-	Oxyde de linalol	xx	x	-	xx	-	-	
n Hexanoïque	x	x	-	-	-	trans	xx	x	-	xx	-	-	
i Hexanoïque	x	x	-	-	-	Oxyde de limo-	xx	x	-	-	-	-	
n Heptanoïque	-	-	0,004	-	-	nène cis	xx	x	-	-	-	-	
p Octanoïque	x	x	0,04	-	x	Oxyde de limo-	xx	x	-	-	-	-	
n Nonylique	-	-	0,013	-	-	nène trans	xx	x	-	-	-	-	
Undecanoïque	-	-	0,009	-	-	Oxyde de caryo-	-	-	-	xx	-	175	
n Dodecanoïque	-	-	0,006	-	x	phyllène	-	-	-	-	-	0,70	
n Decanoïque	xx	x	0,09	-	xx	1-4 Cinéole	-	-	-	-	-	0,30	
CARBONYLES						1-8 Cinéole	-	-	0,002	xx	-	-	
Acétaldehyde	xx	-	-	-	-	2-2 diméthyl-	-	-	-	-	-	-	
Acétone	xx	-	-	-	-	5 (1 méthyl-	-	-	-	-	-	-	
Butyraldehyde	xx	-	-	-	-	1 propenyl))	-	-	-	-	-	-	
2 Butanone	xx	-	-	-	-	tetrahydrofu-	-	-	-	-	-	-	
Ethyl butyraldehyde	x	-	-	-	-	rane	-	-	-	-	-	-	
Pentanal	xx	-	-	-	-	DIVERS							
n Hexanal	xx	-	-	-	-	Ether Ethyl-	-	-	-	-	-	-	
2 Hexenal	xx	-	-	-	-	2-butylrique	xx	-	-	-	-	-	
4 Methyl-2-pentanon	xx	-	-	-	-	Diethoxyethane	xx	-	-	-	-	-	
n Heptanal	-	-	-	-	x	5-Geranoxy-	-	-	-	-	xx	-	
Methylheptanone	-	-	-	-	xx	psoralène	-	-	-	-	-	-	
6 Methyl-5 heptène-2 one	xx	xx	-	-	-	8-Geranoxy-	-	-	-	-	xx	-	
n Octanal	xx	xx	0,03	-	-	psoralène	-	-	-	-	-	-	
2 Octanal	xx	-	-	-	-	5-7 Dimethoxy-	-	-	-	-	xx	-	
n Nonanal	-	xx	-	-	xx	coumarine	-	-	-	-	-	-	
n Decanal	xx	xx	0,04	-	xx	5 Geranoxy-	-	-	-	-	-	-	
2 Decanone	x	-	-	-	-	7 methoxycou-	-	-	-	-	xx	xx	
2 Decenal	x	-	-	-	-	marine	-	-	-	-	-	-	
n Undecanal	xx	xx	0,003	xx	-	Byakangelicine	-	-	-	-	xx	-	
n Dodecanal	x	xx	0,006	-	xx	Limettine	-	-	-	-	x	xx	
2 Dodecenal	x	-	-	-	-	i Pimpinelline	-	-	-	-	xx	-	
						Bergaptol	-	-	-	-	-	xx	
						Furocoumarine	-	-	-	-	-	xx	

c = identification présumée  
 cx = identification acceptable.

**Erratum :** 29<sup>e</sup> ligne à partir du bas du tableau, 1<sup>re</sup> colonne, lire : n Octanoïque.

8<sup>e</sup> ligne à partir du bas du tableau, 1<sup>re</sup> colonne, lire : 2 Octenal.

rend également de grands services. WOLFORD et col. (1962) (78) ont étudié les réactions d'addition de carbonyles avec le réactif de Girard T et avec le bisulfite de sodium. S. F. OSMAN et J. L. BARSON (1967) (51) ont développé une méthode de régénération des carbonyles à partir des hydrazines que donne le réactif de Girard T en présence de diméthyl sulfoxyde. M. G. MOSSONAS et G. L. K. HUNTER (1965) (46) ont séparé les alcools de l'huile essentielle d'orange par partition de

l'huile essentielle entre le tétrachlorure de carbone et le propylène glycol.

Toutefois il est toujours nécessaire de confirmer les identifications présumées en faisant appel à d'autres techniques : combinaison spécifique, chromatographie sur papier ou en couche mince, spectrographie IR, UV (VANNIER, 1965), de masse, résonance magnétique nucléaire (TERANISHI, 1963 (66) — SCHULTZ, 1964 (64).

### E. ANALYSE QUANTITATIVE.

Les mesures pondérales ne s'appliquent qu'aux diverses fractions séparées par distillations ou par chromatographie sur colonne. A l'intérieur de ces fractions les constituants sont généralement si nombreux et en si faible quantité que seule la chromatographie en phase gazeuse permet de déterminer leurs proportions.

On sait que l'aire d'un pic est proportionnelle à la quantité de soluté qui a traversé le détecteur du chromatographe. Un étalonnage est cependant nécessaire pour déterminer le coefficient de proportionnalité pour un soluté donné. La précision de la méthode est variable avec l'efficacité de la séparation du soluté. Dans de bonnes conditions elle peut atteindre 2 à 5 p. cent. En température programmée la simple mesure de la hauteur des pics est une façon très rapide d'obtenir une estimation semi-quantitative.

### F. RÉSULTATS.

H. E. NURSTEN et A. A. WILLIAMS (50) ont dressé une revue bibliographique détaillée des différents constituants actuellement connus, responsables de l'odeur des fruits. Nous nous en sommes aidés pour établir le tableau de composition des arômes d'agrumes que nous donnons plus loin. Nous l'avons toutefois quelque peu modifiée pour marquer la différence existant entre huile essentielle de zeste et essences volatiles, différence qui n'apparaît pas dans le travail de ces auteurs. KUGLER et KOVATS (35) ont donné une composition quantitative de l'huile essentielle de mandarine. Ces auteurs ont identifié 48 composants représentant 94,65 p. cent de l'huile essentielle. Ils ont également séparé 93 autres composants dont la quantité était si faible qu'il n'a pas été possible de les identifier. KOVATS (34) a établi la composition quantitative de l'huile essentielle de lime distillée.

L'arôme de jus d'orange dont l'importance économique est si grande, a été particulièrement étudié par l'équipe R. W. WOLFORD, J. A. ATTAWAY et col. (2, 4, 5, 78, 79, 80, 81, 82, 83). Ces auteurs se sont particulièrement attachés à l'analyse d'extraits aromatiques obtenus industriellement tels que nous les avons décrits dans la deuxième partie de cet article. Leurs analyses ont montré qu'il existe une grande similitude entre les divers extraits et que l'huile essentielle de zeste constitue une fraction très importante quantitativement et qualitativement de l'arôme du jus. Ils ont montré également que la fraction carbonylée de l'huile essentielle ou des essences était responsable de l'arôme

typique de l'orange. Les essences extraites du jus par distillation et concentrées après extraction au solvant se distinguent de l'huile essentielle de zeste par toute une fraction de composés très volatils hydrosolubles comprenant des alcools et des aldéhydes saturés et non saturés ayant jusqu'à six atomes de carbone et des esters allant jusqu'au butyrate d'éthyle.

L'extrait liposoluble séparé du jus par centrifugation et les essences distillées du jus et concentrées par extraction au solvant contiennent une quantité plus importante de valencène. HUNTER et BROGDEN (27) avaient déjà signalé cette particularité des extraits liposolubles de jus d'orange Valencia de Floride et de jus de pomélo.

Récemment une cétone sesquiterpénique, la nootkatone, a été découverte dans l'huile essentielle de zeste, et le jus de pomélo (McLEOD et BUIGUES, 1964). Elle semble jouer un rôle prépondérant dans l'odeur de ce fruit. R. E. BERRY et col. (8) ont montré que si le seuil de sensibilité du goût à la nootkatone était de 20 à 40 p. p. m. dans un sirop de sucre à 32° Baumé, il s'abaissait à 5 p. p. m. dans le jus de pomélo et à 1 p. p. m. dans l'eau pure. L'addition de nootkatone à un jus de façon à atteindre une concentration de 5 à 6 p. p. m. contribue à en améliorer le goût. Au-dessus de 8 p. p. m. elle provoque une amertume désagréable.

\* \* \*

Si l'évaluation globale de l'intensité d'un arôme est obtenue par des procédés relativement simples, qu'il s'agisse de tests olfactifs et organoleptiques ou de dosages chimiques, l'analyse qualitative et quantitative de la composition de ces arômes met en œuvre des procédés beaucoup plus complexes exigeant un équipement important. Les procédés de séparation font intervenir la distillation fractionnée, la chromatographie sur colonne, sur papier ou en couche mince. Les procédés d'identification plus élaborés font appel à la spectrographie en lumière ultraviolette ou infrarouge, à la résonance magnétique nucléaire et à la spectrographie de masse. Ces techniques évoluent, elles permettent de réaliser des analyses de plus en plus fines et par couplage entre elles de détecter des quantités très faibles de constituants.

Cependant elles ne donnent pas encore entièrement satisfaction pour les constituants mineurs et de grands progrès sont nécessaires, principalement dans le domaine de l'analyse quantitative.



#### IV. ALTÉRATIONS DE L'ODEUR ET DU GOÛT DES JUS D'AGRUMES EN CONSERVE

La pasteurisation demeure l'opération première et essentielle de stabilisation des jus d'agrumes. Elle a pour objet d'en assurer la stérilité, et aussi d'inactiver les systèmes enzymatiques dont l'action conduit à une détérioration rapide du jus et du concentré de jus. Grâce au  $pH$ , relativement bas du milieu, la stérilisation est obtenue avec une température de chauffage de 80° C, pendant une dizaine de secondes. Mais l'inactivation des enzymes pectiques exige une température plus élevée. Les appareils actuels de flash pasteurisation qui portent rapidement le jus à 92-95° C et assurent un refroidissement convenable immédiatement après, ont pratiquement éliminé les goûts de cuit ou de confiture. Ces goûts peuvent cependant se développer dans les concentrés stabilisés par la chaleur. C. D. ATKINS, E. L. MOORE et A. H. ROUSE (1) ont montré qu'il existait une relation entre la teneur en pulpe du jus et l'intensité du goût de cuit.

Quoi qu'il en soit tous les jus ayant subi la flash pasteurisation ont perdu une partie de la fraîcheur de leur arôme en même temps que leurs constituants les plus volatils.

La pratique de la désaération sous vide, et à chaud, s'avère néfaste et sans contrepartie sérieuse. Elle provoque une perte de constituants volatils et ne désoxyde pratiquement pas le jus, car ainsi que nous l'avons montré (23), l'oxygène introduit dans le jus au cours de l'extraction est très rapidement fixé surtout à chaud. Cette pratique ne se justifiait que pour éliminer l'excès d'huile essentielle incorporée au jus par des extracteurs archaïques.

Une odeur ressemblant à celle du beurre peut se développer lors de la concentration des jus d'orange ou de pomélo. Elle est provoquée par le diacétyl produit par les bactéries tolérantes aux acides comme *Lactobacillus* et *Leuconostoc*. Une méthode colorimétrique sensible basée sur la réaction de VOGES-PROSKAUER permet de détecter le diacétyl et l'acétylméthylcarbinol dans les jus et concentrés. (E. C. HILL, E. W. WENZEL, A. BARRETO (1954) (22)). Appliqué systématiquement, ce contrôle permet de détecter les développements microbiens dans les évaporateurs et des mesures sanitaires immédiates sont prises avant que la production ne soit contaminée au-delà d'une tolérance possible.

Diverses modifications de l'arôme se produisent au cours de l'entreposage.

Les unes semblent liées à l'oxydation du jus.

Dans certaines conditions — température d'entreposage trop élevée, présence d'air dans le récipient — le jus d'agrumes brunit, prend une saveur désagréable, perd graduellement son acide ascorbique et émet du gaz carbonique. Les jus concentrés six fois, entreposés à température ambiante sont très sensibles à ce phénomène. Ils noircissent et le dégagement de gaz carbonique est suffisant pour faire bomber les boîtes. La réaction se révèle ainsi très rapidement dans les jus clairs de citron ou de pomélo. Avec le jus d'orange le brunissement est masqué par la coloration propre du jus. De plus, BRAVERMAN (1958) (12) a montré que l'intensité du brunissement était inversement proportionnelle au  $pH$  entre  $pH$  2 et 3,5. Ce qui explique que le jus d'orange soit moins sensible à cet accident que les jus de pomélo ou de citron.

Divers mécanismes faisaient intervenir les hexoses et l'acide citrique, l'oxygène et l'acide ascorbique ont été invoqués. Il est démontré que ces réactions aboutissent à la formation de gaz carbonique et de furfural, composé doué d'une odeur désagréable et qui peut réagir avec les amino-acides pour donner naissance à des composés brunâtres (TRESSLER et JOSLYN, 1961 (70)).

Le phénomène se développe très lentement dans les récipients en fer blanc à basse température de l'ordre de 1 à 5°. L'étain recouvrant la boîte assure un effet réducteur qui bloque l'oxydation. Les récipients en verre n'offrent pas une telle protection. L'usage de cet emballage exige des précautions supplémentaires : soigneuse désaération du jus, remplissage des bouteilles sous un vide convenable, et remplissage stérile à froid, car les bouteilles en verre se prêtent moins bien à un refroidissement rapide que les boîtes métalliques.

Les concentrés congelés d'orange ou de pomélo sont quelquefois sujets à l'apparition d'une odeur désagréable d'huile de ricin, de suif ou de carton qui peut d'ailleurs disparaître à la longue. Cet accident dénommé « COF effect » aux États Unis — COF peut aussi bien signifier « Citrus off flavor » que « Citrus oxidized flavor » ou « Castor oil flavor », — a été étudié par BLAIR et col. (1957) (10). Il apparaît surtout dans les concentrés de jus préparés à partir de variétés hâtives et semble lié à l'immaturité physiologique. Le « COF effect » pourrait être dû à la déshydratation d'un précurseur de la biosynthèse des lipides du type 2-ène-1-al.

On a observé une relation entre le potentiel redox du jus et le développement de l'odeur de carton. Certains industriels préviennent cet accident en désaérant de façon très poussée le jus de « cut back » servant à préparer les concentrés congelés. La désaération est menée dans une colonne où le jus divisé circule de haut en bas, alors qu'un courant d'azote est insufflé de bas en haut. La suite des opérations, mélange de « cut back » avec le concentré, et emballage se fait rigoureusement sous atmosphère d'azote.

Un goût âcre de térébenthine se développe également pendant l'entreposage des jus, et ceci d'autant plus qu'ils sont riches en huile essentielle de zeste et que la température d'entreposage est plus élevée. Ce phénomène a également été étudié par BLAIR et col. (1952) (9). Les auteurs ont utilisé la spectrographie en infrarouge comme moyen d'analyse à une époque où la chromatographie en phase gazeuse n'était pas vulgarisée. Ils ont montré que ce mauvais goût provenait du manque de stabilité des hydrocarbures terpéniques de l'huile essentielle et en particulier du d-limonène en milieu acide. L'acidité principalement citrique et malique du jus catalyse des réactions d'hydratation et de déshydratation de ces constituants.

Le d-limonène s'hydraterait en  $\alpha$ -terpinéol, dont l'odeur n'est pas désagréable en elle-même. Mais les réactions ne s'arrêtent pas à ce stade. L'hydratation se complète avec formation de 1-8 terpène, peu odorante, et qui donne naissance par déshydratation au 1-8 cinéole d'odeur camphrée et de goût âcre.

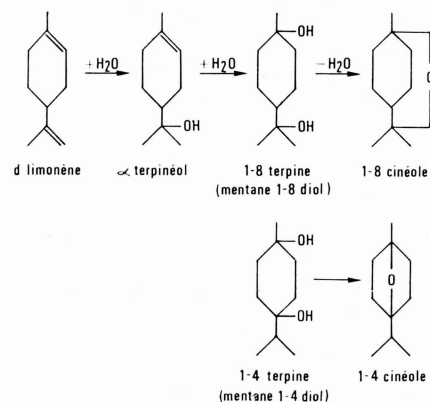
Le 1-4 cinéole encore plus âcre peut se former également (voir schéma ci-contre).

Les études de BLAIR et de son équipe, et les hypothèses qu'ils ont été amenés à formuler ont été vérifiées sur bien des points :

KIRCHNER et MILLER (32) ont trouvé une augmentation de la teneur en  $\alpha$ -terpinéol des jus d'orange et de pomélo au cours de l'entreposage. Pour le pomélo

ils avaient trouvé également une forte augmentation de la teneur en monoxyde de linalol. R. A. DENNISON (16) et R. W. WOLFORD (82) dans une étude récente de l'entreposage des jus d'orange en boîte ont montré qu'effectivement à une température de 27° C (80 F), on observait au bout de 27 mois une diminution de la teneur en d-limonène et en linalol alors que la teneur en  $\alpha$ -terpinéol augmentait.

A 27° C également une quantité notable de furfural prenait naissance dans ce jus, alors qu'à + 4° C (40° F) ce constituant n'apparaissait pas.



Certains constituants de l'huile essentielle de lime distillée tirent leur origine des réactions étudiées par BLAIR (9). On sait que l'huile essentielle de lime est obtenue par distillation d'un broyat de fruit entier ; l'huile essentielle de zeste dispersée dans un jus très acide, à la température d'ébullition, subit des modifications importantes, le citral se trouve détruit à 80 p. cent ; la teneur en terpinéol s'élève à plus de 5 p. cent et divers composés d'oxydation apparaissent comme le 1-4 et le 1-8 cinéole, le furfural, le triméthylvinyl tétrahydropyrane et le diméthyl tétrahydrofurane.

## CONCLUSION

Les recherches techniques pour l'amélioration de la qualité et pour la conservation de l'arôme des jus d'agrumes ont abouti à la mise en œuvre de procédés industriels efficaces tels que la flash pasteurisation, la désaération par courant d'azote, l'emballage stérile à froid. Les résultats obtenus avec les concentrés congelés et les jus réfrigérés ont donné lieu à de remarquables réussites commerciales. La gamme des concentrés

d'arômes s'est étendue. A la classique huile essentielle de zeste se sont ajoutées les essences aqueuses et les extraits d'essences aqueuses, les émulsions et les « huiles essentielles » de jus.

Un effort parallèle de la part des laboratoires d'analyse a permis d'accroître les connaissances sur la composition de ces préparations.

Des méthodes d'analyse et de dosage simple par test

organoleptique et par voie chimique ou spectrophotométrique permettent de chiffrer leur intensité odorante et de calculer les quantités qu'il convient d'utiliser.

Par ailleurs, les méthodes modernes de séparation par chromatographie et d'identification par spectrométrie ont ouvert la voie à la connaissance de plus en plus fine de constituants volatils participant à l'élaboration de l'arôme.

L'analyse des divers extraits aromatiques obtenus montre qu'il existe dans les jus d'agrumes deux catégories de constituants volatils : les constituants hydro-solubles produits par le métabolisme cellulaire et les constituants liposolubles. Les premiers apportent à l'arôme du jus fraîcheur et note fruitée. La composition de la fraction liposoluble est très semblable qualitativement et quantitativement à celle de l'huile essentielle de zeste d'où il semble qu'elle tire son origine. Dans le cas de l'orange et du pomélo cette fraction contient cependant une quantité de valencène, un hydrocarbure sesquiterpénique, notablement plus élevée que l'huile essentielle de zeste. D'une façon générale elle comprend également des composés comme l' $\alpha$ -terpinéol qui ont pris naissance au contact de l'huile essentielle de zeste avec le jus de fruit.

Les constituants liposolubles, principalement carbonylés donnent à l'arôme sa note dominante et caractéristique. On connaissait depuis de nombreuses

années le rôle important du décanal dans l'huile essentielle d'orange, celui du citral dans les huiles essentielles du citron et de lime. Plus récemment a été découverte la nootkatone qui apporte une note typique à l'huile essentielle de pomélo et l'odeur particulière de l'huile essentielle de mandarine peut être approximativement suggérée par un mélange en proportions définies de thymol et de méthylantranilate de méthyle.

Ces composés qualitativement très importants sont accompagnés d'un grand nombre de constituants volatils dont la liste connue continue à s'enrichir. Mais on éprouve de grandes difficultés à séparer et identifier les composants qui se trouvent en proportion infime dans les extraits aromatiques. Or, dans le domaine des odeurs, « infime » ne signifie jamais négligeable. La reconstitution intégrale de l'odeur nécessite la connaissance complète de tous les composants, mais aussi de leurs proportions dans le mélange ; le second point n'étant pas moins important que le premier. Seules les huiles essentielles de mandarine et de lime ont donné lieu à une étude quantitative précise, incomplète cependant pour la raison précédemment indiquée. C'est dans cette double perspective que se situe l'orientation des recherches : identification des constituants en microquantité, et détermination quantitative de tous les composés connus d'un extrait aromatique.

## BIBLIOGRAPHIE

- (1) ATKINS (C. D.), MOORE (E. L.) and ROUSE (A. H.). — Effect of Citrus components on chemical and physical properties of frozen citrus concentrates. *A. R. Univ. Fla. Gainesville ag. Exp. St.*, 1966, 236.
- (2) ATTAWAY (J. A.), WOLFORD (R. W.) and EDWARDS (G. J.). — Isolation and identification of some volatile carbonyl components from Orange essence. *Agr. and Food Chem.*, **10**, 2, mars-avril 1962.
- (3) ATTAWAY (J. A.), WOLFORD (R. W.), ALBERDING (C. E.) and EDWARDS (G. J.). — Paper chromatographic analysis of Terpene alcohols as their o nitrophenyl and p-phenylazophenylurethans derivatives. *Analytical Chemistry*, **35**, 234-236, févr. 1963.
- (4) ATTAWAY (J. A.), HENDRICK (V. D.) and WOLFORD (R. W.). — Use of gaz liquid and thin layer chromatographic techniques in Orange essence analysis. *Proc. Fla. State. Hortic. Soc.*, **77**, 305-307, 1964.
- (5) ATTAWAY (J. A.) and WOLFORD (R. W.). — Isolation and identification of volatile flavour components in recovered oranges essences using gas chromatography. *Gas chromatography*, 170-179. The Institute of Petroleum, London W 1, 1965.
- (6) ATTAWAY (J. A.), WOLFORD (R. W.), DOUGHERTY (M. H.) and EDWARDS (G. J.). — Methods for the determination of oxygenated terpene, aldehyde and ester concentration in aqueous Citrus essences. *J. Agric. Food Chem.*, **15**, 4, 688-692, juil.-août 1967.
- (7) BERLINER (J. J.) and STAFF. — A Berliner research. Report on fruit juices.
- (8) BERRY (R. E.), WAGNER (C. J.) JR. and MOSHOMAS (M. G.). — Flavor studies of Nootkatone on grapefruit juice. *J. of Food Science*, **32**, 75-78, 1967.
- (9) BLAIR (J. S.), GODAR (E. M.), MASTERS (J. E.) and RIESTER (D. W.). — Explorating experiments to identify chemical reactions causing flavor deterioration during storage canned Orange juice. I. Incompatibility of peel-oil constituents with the acid juice. *Food Research*, **17**, 235-260, 1952.
- (10) BLAIR (J. S.), GODAR (E. M.), REINKE (H. G.) and MARSHALL (J. R.). — The C. O. F. effect in frozen Citrus products. *Food Technology*, 61-68, février 1957.
- (11) BOMBEN (J. L.), MANNHEIM (H. C.) and MORGAN (A. J.) JR. — Operating conditions for aroma recovery by new vacuum stripping method and evaluation of aroma solutions. *Food Industry*, **12**, 2, 44-53, 1967.
- (12) BRAVERMAN (J. B. S.) and SOLOMIANSKY (L.). — Separation of terpeneless essential oils by the chromatographic method. *P. and E. O. R.*, 284-287, juin 1957.
- (13) BRAVERMAN (J. B. S.). — Some observations on non enzymic browning of glucose syrups and Citrus concentrates. Symposium sur les Concentrés de jus de fruits, Bristol, 1958.
- (14) CHARLEY (V. L. S.). — Volatile constituents of fruit juices. a) Methods of analysis (other than chromatographic techniques). b) Quality control in factory production. Symposium des arômes de fruits. Juris Verlag, Zurich, 365-375, Bern, 1962.
- (15) DAVIS (W. B.). — Deposits of oil in the juice sacs of citrus fruits. *Amer. J. Bot.*, **19**, 101-105, 1952.

- (16) DENNISON (R. A.). — Changes in the flavor constituents of canned orange juice. *A. R. Univ. Fla. Gainesvillegr. Exp. St.*, 1966, 131.
- (17) DOP et GAUTIE. — Manuel de Technique botanique, p. 205. Éd. J. Lamarre, 1928.
- (18) DOUGHERTY (E.). — Method for measuring the water soluble volatile constituents of citrus juices and products Citrus station. *Mineo. Report. C. E. S.*, 65-67, 6 oct. 1964.
- (19) DUPAIGNE (P.). — Les arômes des fruits et leur récupération. *Fruits*, **14**, 3, 127-141, 1958.
- (20) GUADAGNI (D. G.). — Organoleptic difference tests for measuring quality changes in fruit juices. Symposium des arômes de fruits, Juris Verlag, Zurich, 151-159, 1962.
- (21) HALL (J. A.) and WILSON (C. P.). — The volatile constituents of Valencia orange juice. *J. Am. Chem. Soc.* **47**, 2575, 1925.
- (22) HILL (E. C.) and WENZEL (F. W.). — The Diacetyl test as an aid for quality control of citrus products. I. Detection of Bacterial Growth in Orange juice during concentration. *Food Technology*, **11**, 4, 240-243, 1957.
- (23) HUET (R.). — Dissolution et fixation de l'oxygène libre dans le jus d'orange. *Fruits*, **20**, 7, 332-337, 1965.
- (24) HUET (R.). — L'identification des huiles essentielles d'agrumes par chromatographie en phase gazeuse. *Fruits*, **22**, 7, 177-181, 1967.
- (25) HUNTER (G. L. K.) and BROGDEN (W. B.) Jr. — Investigation into the highly volatile fraction of citrus juices by gas-chromatography and mass spectrometry. Proceedings of the Citrus Processing Conference, Winter Haven, Fla., 7 octobre 1964.
- (26) HUNTER (G. L. K.) and BROGDEN (W. B.) Jr. — Separation procedure and identification of hydrocarbons in Citrus oils. Proceedings of the Citrus Processing Conference, Winter Haven, Fla., 7 octobre 1964.
- (27) HUNTER (G. L. K.) and BROGDEN (W. B.) Jr. — Analysis of the Terpene and sesquiterpene hydrocarbons in some Citrus oils. *J. of Food Science*, **39**, 3, 383-387, mai-juin 1965.
- (28) HUNTER (G. L. K.) and MOSHONAS (M. G.). — Analysis of alcohols in essential oils of grapefruit, lemon, lime and tangerine. *J. of Food Science*, **31**, 2, 167-171, 1966.
- (29) KESTERSON (J. W.) and HENDRICKSON (R.). — The composition of valencia orange oil as related to fruit maturity. *American Perfumer and Cosmetics*, **77**, 21-25, Dec. 1962.
- (30) KING (G. S.). — Peripheral deposits of Citrus fruit vesicles stained by oil soluble dyes. *Am. J. of Botany*, **34**, 427-430, oct. 1947.
- (31) KIRCHNER (J. G.), RICE (R. G.), MILLER (J. M.) and KELLER (C. J.). — The presence of hydrogen sulfid in citrus juices. *Arch. Biochem.*, **25**, 231-232, 1950.
- (32) KIRCHNER (J. G.) and MILLER (J. M.). — Volatile water soluble and oil constituents of Valencia Orange Juice. *J. Agr. and Food Chem.*, **5**, 283, 1957.
- (33) KIRCHNER cité par W. L. STANLEY. — In Flavor research and Food acceptance. Chap. 34, Reinhold publishing Co., New York, 1958.
- (34) KOVATS (E. Sz.). — Zur Kenntnis des sog « destillierten » Limetten-Öls. (*Citrus medica* L., var. *Acida Brandis*, *Vitrus aurantifolia* Swingle). *Helvetica Chimica Acta*, **XLVI**, fasc. VII, n° 304, 2705-2751, 1963.
- (35) KUGLER and KOVATS (E. Sz.). — Zur Kenntnis des Mandarinienschalen-Öls. (*Citrus reticulata* Blanco, bzw. *Citrus nobilis* var. *dediciosa* Swingle « Mandarin »). *Helvetica Chimica Acta*, **XLVI**, 5, 1480-1513, 1963.
- (36) LAWLER (F. K.). — Centrifuges flavor from juice. *Food Engineering*, 42-45, August 1964.
- (37) Mac DOWEL (L. G.), LAKELAND and MOORE (E. L.), ATKINS (C. D.). — Method of preparing full flavored fruit juice concentrates. *United States Patent Office*, n° 2453, 109, nov. 9, 1948.
- (38) Mac LEOD (W. M. D.) Jr. and BUIGUES (N. M.). — Lemon Oil analysis. I. Two dimensional thin-layer chromatography. *Food Science*, n° 4, 588-590, 1966.
- (39) Mac LEOD (W. M. D.) Jr., Mc FADDEN (W. H.) and BUIGUES (N. H.). — Lemon oils analysis. II. Gas-liquid Chromatography on a temperature programmed long, open tubular column. *Food Science*, n° 4, 591-593, 1966.
- (40) Mc NARY (R. R.), DOUGHERTY (M. H.) and WOLFORD (R. W.). — Determination of the chemical oxygen demand of citrus waste waters. *Sewage and Industrial Wastes*, 894-900, août 1957.
- (41) MERORY (J.). — Food Flavorings, p. 60, *Avi. Pub. Co.* 1960, Westport Connecticut.
- (42) MILLER (E. V.) and MARSTELLER (R. L.). — The storage life of frozen orange concentrate from the standpoint of the consumer. *Food Technol.*, 119-122, avril 1952.
- (43) MILLER (J. M.) and KIRCHNER (J. G.). — Some improvements in chromatographic techniques for terpenes. *Analytical Chemistry*, **24**, 9, 1480-1482, sept. 1952.
- (44) MOORE (E. L.), ATKINS (C. D.), WIEDERHOLD (E.) and Mac DOWEL (L. G.). — Flavor and ascorbic acid retention in fresh Florida Citrus Juices. *Journal of Home Economics*, 290-293, mai 1945.
- (45) MORGAN (D. A.), VELDHIJS (M. K.), ESKEW (R. K.) and PHILLIPS (G. W. H.). — Studies on the recovery of essence from Florida orange juices. *Food Technol.*, 333-336, August 1953.
- (46) MOSHONAS (M. G.) and HUNTER (C. L. K.). — New and rapid analysis of alcohols in orange oil. Proceedings of the Citrus Processing Conference, Winter Haven, Fla., 7 octobre 1964.
- (47) MOSHONAS (M. G.). — Isolation of piperitenone and 6-Methyl 5-Heptene 2. One from Orange oil. *J. of Food Science*, **32**, 2, 206-207, 1967.
- (48) NATARAJAN (C. P.) and MACKINNEY (G.). — Studies on the darkening of Orange juice. *Food Technol.*, 373-375, nov. 1949.
- (49) NAWAR (W. W.). — Some considerations in interpretation of direct headspace gas chromatographic analysis of food volatiles. *Food Technol.*, 115-117, febr. 1966.
- (50) NURSTEN (H. E.) and WILLIAMS (A. A.). — Fruit aromas. A survey of components identified. *Chem. and Indus.*, 486-497, mars 1967.
- (51) OSMAN (S. F.) and BARSON (J. L.). — Solvent fractionation of Girard T derivatives of carbonyl compounds using dimethyl sulfoxide. *Anal. Chem.*, **39**, 4, 530-531, 1967.
- (52) PAILLARD (N.). — Analyse des produits volatils émis par les pommes. *Fruits*, 20, 5, 198-197, 1965.
- (53) PARIS (R.) et GODON (H.). — Chromatographie en couche mince et sur papier des huiles essentielles. *Recherches*, **13**, 48-77, 1963.
- (54) PENNZIG (D.). — Cité par W. L. STANLEY in Flavor Research and Food Acceptance. Chap. 34, p. 345, Reinhold Publishing Co., New York, 1958.
- (55) PEYRON (L.). — Applications de la chromatographie radiale à l'étude des produits d'origine végétale. *Chimie analytique*, **45**, 4, 186-192, avr. 1963.
- (56) PHAN-CHON-TON et DELACHE (R.). — Étude de la rétention de quelques composés chimiques volatils sur une phase stationnaire en chromatographie en phase gazeuse. *Chimie analytique*, **49**, 3, 142-144, mars 1967.
- (57) RASQUINHO (L. M. A.). — A practical approach of the qualitative characterization of essential oils by programmed temperature gas chromatography. *J. of Gas Chromatography*, 340-344, oct. 1965.
- (58) RAYMOND (G. H.). — Mode de détermination des constituants carbonylés contenus dans les huiles essentielles de citrus et les arômes de fruits (pomme). *Parf. Cosm. et Savons*, **11**, 1 et 2, 1968.
- (59) REIG FELIU (A.). — Le jus d'orange réfrigéré. Possibilité de production, de transport et de consommation en Europe. *Fruits*, **17**, 10, 489-493, 1962.
- (60) RHOADES (J. W.), MILLAR (J. D.) and REGISTER (J. W.). — Collection of fruit volatiles for gas chromatographic analysis. Lecture on Gas Chromatography, 1964, 211-218, Plenum Press, New York, 1965.
- (61) RICE (C.), KELLER (G. J.) and BEAVENS (E. A.). — Flavor fortification of California frozen Orange concentrate. *Food Technology*, 35-39, janv. 1952.

- (62) RICE (C.), KELLER (G. J.), Mac COLLOCH (R. J.) and BEAVENS (E. A.). — Flavor fortified high density frozen Citrus concentrates. *Agric. and Food Chemistry*, **2**, 4, 196-199, févr. 1954.
- (63) SCOTT (W. C.) and VELDHUIS (M. K.). — Rapid estimation of recoverable oil in citrus juices by Bromate Titration. *J. of the A. O. A. C.*, **49**, 3, 628-633, 1966.
- (64) SCHULTZ (T. H.), TERANISHI (R.), Mc FADDEN (M. H.), KILPATRICK (P. W.) and CORSE (J.). — Volatiles from oranges. II. Constituents of the juice identified by Mass Spectra. *J. of Food Science*, **29**, 6, 790-795, 1964.
- (65) STANLEY (W. L.). — Citrus flavors in flavor research and food acceptance. Chap. 34, A. D. Little, Inc. Reinhold Publishing Corporation, New York, 1958.
- (66) TERANISHI (R.), SCHULTZ (T. H.), Mc FADDEN (M. H.), LUNDIN (R. M.) and BLACK (D. R.). — Volatiles from Oranges. I. Hydrocarbons identified by nuclear magnetic resonance and mass spectra. *J. of Science*, **28**, 5, 511-545, 1963.
- (67) TERANISHI (R.). — Advances in fruit flavor chemistry. *Flavor Chemistry*, chap. 7, Am. Chem. Soc., Washington DC, 1966.
- (68) TERANISHI (R.). — High resolution gas chromatography in Aroma Research. *P. and E. O. R.*, 172-178, mars 1967.
- (69) THRUSH (R. E.). — Application of centrifuges in the recovery of Citrus flavor fractions.
- (70) TRESSLER (D. K.) and JOSLYN (M. A.). — Fruit and vegetable juice processing technology, 1961; p. 417-420, Flavor changes; p. 421-426, no enzymic browning; p. 358-362, volatile flavor recovery.
- (71) TUMLINSON (J. H.), MINYARD (J. P.), HEDIN (P. A.) and THOMSON (A. C.). — Gas liquid Thin layer chromatographic derivatization technique for the identification of carbonyl compounds. *J. Chromatog.*, **29**, 80-87, 1967.
- (72) VAN DEN DOOL (H.). — L'application des méthodes physiques dans la recherche sur les arômes alimentaires. *La France et ses Parfums*, 147-159, 1965.
- (73) VERNIN (G.). — Les techniques de la chromatographie en couche mince et leurs applications à l'étude des substances de nature terpénique. *La France et ses Parfums*, **7**, 40, 299-321, 1964.
- (74) VERNIN (G.). — Applications de la spectroscopie infrarouge à l'étude des huiles essentielles et de leurs constituants terpéniques et aromatiques. *La France et ses Parfums*, **10**, 52, 35-52, 1967.
- (75) WENZEL (F. W.), MOORE (E. L.), ATKINS (C. D.) and PATRICK (R.). — Chilled citrus products. *Citrus Magazine*, fév. 1956.
- (76) WENZEL (F. W.). — The aroma and flavor Florida orange juices and concentrate. Symposium des arômes de fruits. Juris Verlag Zurich, 205-224, Bern, 1962.
- (77) WEURMAN (C.). — Recents developments in food odour research methods in Recent Advances in Food Science. *J. Biochemistry and Biophysics*, p. 146, Butterworths, London, 1963.
- (78) WOLFORD (R. W.), ALBERDING (C. E.) and ATTAWAY (J. A.). — Analysis of recovered natural orange essence by gas chromatography. *Agric. and Food Chem.*, **10**, 4, 297-301, juil.-août 1962.
- (79) WOLFORD (R. W.), ATTAWAY (J. A.), ALBERDING (C. E.) and ATKINS (C. D.). — Analysis of the flavor and aroma constituents of Florida Orange Juices by gas chromatography. *J. of Food Science*, **28**, 320-328, 1963.
- (80) WOLFORD (R. W.), ATTAWAY (J. A.) and ALBERDING (C. E.). — Volatile flavor and aroma of orange juices. Some basic and applied aspects Citrus Station. *Mimeo Report CES*, 64-68, 8 oct. 1963.
- (81) WOLFORD (R. W.), ATTAWAY (J. A.) and BARABAS (L. J.). — The systematic analysis of volatile flavor components in Orange juices. *Florida State Horticultural Society*, 268-274, 1965.
- (82) WOLFORD (R. W.). — Effect of temperature of storage. Flavor of Canned Orange Juice. *A. R. Univ. Fla. Gainesville agr. exp. St.* 1966, 264.
- (83) WOLFORD (R. W.) and ATTAWAY (J. A.). — Analysis of recovered natural orange flavor enhancements materials using gas chromatography. *J. Agr. Food Chem.*, **15**, 3, 369-377, mai-juin 1967.
- (84) WRIGHT (C. E.). — New orange concentrate with 95 p. cent flavor esters. *Food Engin.*, févr. 1955.

Vient de paraître :

## CARENCES ET TROUBLES DE LA NUTRITION MINÉRALE CHEZ LE BANANIER

Guide de diagnostic pratique

par **J.-M. CHARPENTIER** et **P. MARTIN-PRÉVEL** (I. F. A. C.)

Cet album illustre, avec 86 diapositives en couleurs, reproduisant des photographies prises au cours d'expériences en culture hydroponique ou dans des plantations d'Afrique, des Antilles, d'Amérique latine, les aspects des divers troubles de la nutrition minérale actuellement connus chez le bananier : carences, déséquilibres et toxicités.

Les diapositives (24 × 36 mm) sous carton (50 × 50 mm) sont groupées par 6 dans des pochettes avec une légende explicative pour chacune d'elles.

Le livret qui les accompagne comporte trois parties :

- 1) un exposé des conditions de validité d'un diagnostic fondé sur l'observation visuelle de la plante ;
- 2) une description détaillée des carences, excès ou déséquilibres avec renvoi aux photographies correspondantes ;
- 3) un tableau synoptique résumant en quelques lignes chacune des descriptions précédentes.

L'ensemble est présenté sous un boîtier cartonné 13 × 18 cm.

Prix : 120 F.

Adresser les commandes à :

Institut Français de Recherches Fruitières Outre-Mer (Service des Publications)

6, rue du Général-Clergerie, 75-Paris (16<sup>e</sup>), France