

CONSIDÉRATIONS SUR L'HUILE ESSENTIELLE CONTENUE DANS LES JUS D'AGRUMES

par R. HUET

Service de biochimie. Institut Français de Recherches Fruitières Outre Mer.

CONSIDÉRATIONS SUR L'HUILE ESSENTIELLE CONTENUE DANS LES JUS D'AGRUMES

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

Fruits, vol. 24, n° 3, mars 1969, p. 129 à 136.

RÉSUMÉ. — D'après la littérature, l'huile essentielle contenue dans les jus d'agrumes semble avoir une origine externe (glandes à essence de l'écorce qui sont brisées au cours de l'extraction du jus) et une origine interne (vésicules remplies de jus).

L'auteur montre que la majeure partie de l'huile essentielle contenue dans le jus est fixée sur les particules solides en suspension dénommées globalement : pulpe. Par une extraction appropriée, il obtient des jus de citron et de clémentine pratiquement dépourvus d'huile essentielle et des jus d'orange et de pomélo dont la teneur ne dépasse pas 5 à 10 % de celle des jus industriels.

Ces résultats tendent à attribuer à l'huile essentielle contenue dans les jus d'agrumes une origine uniquement externe.

I. HISTORIQUE

L'extraction d'un jus d'agrumes sans précaution particulière s'accompagne obligatoirement de l'incorporation, dans ce jus, d'une fraction d'huile essentielle provenant de l'écorce de ce fruit.

Les extracteurs industriels de modèle ancien accentuent ce mécanisme et la présence d'huile essentielle en quantité exagérée dans le jus d'orange ou de pomélo provoque l'apparition de goûts désagréables qui se développent par vieillissement.

Les normes françaises limitent à 0,3 ml par litre de jus la concentration maximale en huile essentielle dans le jus d'orange, à 0,15 ml par litre dans le jus de pomélo, et à 0,6 ml par litre dans le jus de citron. Ceci pour les qualités « extra » (1).

Considérant que le jus tel qu'il existe dans les cellules du fruit peut contenir des constituants volatils odoriférants distincts de ceux de l'essence de zeste, nombre de chercheurs se sont proposés de préparer des jus d'agrumes en évitant cette contamination. RICE et COL. (5) ont ainsi trouvé que 50 % de l'huile essentielle contenue dans le jus d'orange ne provenait

pas de l'écorce. Ils dénommaient cette fraction « huile essentielle de pulpe ». KIRCHNER (3) a obtenu des résultats identiques avec le jus de pomélo. STANLEY (7) a estimé que 50 à 80 % d'essences volatiles du jus provenaient de l'écorce.

HUNTER et BROGDEN (2) et R. W. WOLFORD (9) ont montré que l'huile essentielle de pulpe était de composition très semblable à celle de l'huile essentielle de l'écorce, mais s'en distinguait par une teneur plus importante en valencène, hydrocarbure sesquiterpénique.

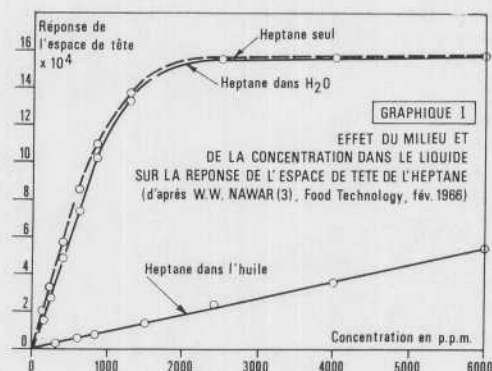
Le dosage de l'huile essentielle contenue dans un jus d'agrumes se fait par volumétrie en faisant bouillir 1 à 2 l de jus dans un ballon en verre Pyrex et en récupérant l'huile essentielle entraînée par la vapeur d'eau dans un piège de type Clevenger. W. CLIFFORD, SCOTT et M. K. VELDHUIS (6) ont proposé en 1966 une méthode chimique qui permet des analyses plus fines et plus rapides. Basée sur la quantité de brome qui peut être fixée sur les doubles liaisons des terpènes, elle ne nécessite qu'une quantité réduite de

jus, soit 25 ml, et elle est sensible à des concentrations en huile essentielle de l'ordre de 0,001 %.

Pour des concentrations plus faibles la technique des espaces de tête en chromatographie gaz-liquide permet une estimation semi-quantitative. Cette technique très simple consiste à injecter dans le chromatographe un échantillon de l'atmosphère située au-dessus du jus de fruit, quand l'équilibre liquide-vapeur a été réalisé. Dans des conditions normalisées l'analyse est reproductible. Elle n'est sensible que pour les composés les plus volatils. Néanmoins elle permet de caractériser les hydrocarbures terpéniques des huiles essentielles, y compris le d-limonène qui entre à lui seul pour plus de 95 % dans les huiles essentielles d'orange, de pomélo, de clémentine. Cependant une estimation quantitative par cette méthode, c'est-à-dire par la mesure de l'aire du pic du d-limonène n'est possible qu'en dessous d'une concentration maximale. W. W. NAWAR (4) en a donné l'explication : « Une expérience dans notre laboratoire, dit cet auteur, a montré que les chromatogrammes d'espace de tête d'une huile essentielle d'orange non diluée, dont 98 % sont composés d'hydrocarbures et d'une boisson gazeuse parfumée avec la même huile essentielle d'orange étaient presque identiques, bien que les composants aromatiques fussent dilués, dans le dernier cas, approximativement 5 000 fois. » W. W. NAWAR a montré qu'il fallait

rechercher la cause de ce phénomène dans l'insolubilité des hydrocarbures terpéniques dans l'eau. Nous reproduisons ci-dessous, toujours d'après le même auteur, le diagramme de l'effet du milieu et de la concentration dans le liquide sur la réponse en espace de tête de l'heptane. Le cas des hydrocarbures terpéniques serait identique. On voit que si le composé étudié est soluble dans son milieu, il y a proportionnalité entre la réponse en espace de tête et la concentration de ce composé dans le milieu. S'il est insoluble, cette proportionnalité n'existe que pour les très faibles concentrations.

Ces considérations sont indispensables à l'interprétation des résultats que nous allons exposer.



II. PARTIE EXPÉRIMENTALE

A. Répartition de l'huile essentielle dans les jus d'agrumes.

Echantillons 1 : jus d'orange pasteurisé provenant de l'industrie (Maroc) ;

- 2 : jus d'orange obtenu par pression manuelle après avoir écorcé, puis lavé le fruit dans une solution de MnO_4K à 0,1 % ; la solution de lavage est finalement rincée abondamment à l'eau ;

- 3 : jus de clémentine préparé de façon identique à 2.

Expérimentation :

Centrifugation des jus à 12 000 tours/mn. On obtient un surnageant jaune pâle présentant un très

léger trouble et un culot de centrifugation de couleur orange intense.

Analyse :

Dosage d'huile essentielle par la méthode chimique de SCOTT et VELDHUIS sur le jus entier, le surnageant et sur une suspension du culot dans un volume d'eau distillée suffisant pour restaurer le volume initial du jus entier.

Résultats :

Les résultats sont exprimés dans le tableau I. La pulpe en suspension fixe plus de 70 % de l'huile essentielle du jus d'orange industriel. Avec les échantillons 2 et 3 la quantité d'huile essentielle est trop faible pour être mesurable dans le surnageant.

La pulpe paraît donc être un support pour l'huile essentielle présente dans le jus. D'où le nom d'huile essentielle de pulpe donné par les auteurs précités à l'huile essentielle contenue dans le jus.

Le tableau I montre en outre que la teneur en huile essentielle de pulpe peut être fortement réduite en évitant la contamination du jus par l'huile essentielle de zeste au moment de l'extraction.

Ce qui signifie que l'huile essentielle dite « de pulpe » provient, sinon en totalité, du moins en majeure partie du flavedo.

TABLEAU I.

Répartition de l'huile essentielle en ppm.

ÉCHANTILLON	JUS ENTIER	CENTRIFUGATION DU JUS ENTIER à 12 000 tr/mn	
		Culot de centri- fugation	Sur- nageant
1. Jus d'orange industriel.....	140	110	20
2. Jus d'orange extrait à la main après avoir écorcé le fruit.....	20	20	0
3. Jus de clémentine extrait à la main après avoir écorcé le fruit...	20	20	0

B. Essais de préparation de jus d'agrumes sans huile essentielle de zeste.

Préparation des échantillons :

1) Jus d'agrumes préparé de façon coutumière en coupant le fruit en deux parties égales et en pressant manuellement chaque portion sur un presse-citron ménager. Le jus est finalement tamisé à travers une étamine.

2) Les fruits sont écorcés à la main, lavés dans une solution à 0,1 % de permanganate de potassium qui détruit les traces d'huile essentielle d'écorce pouvant contaminer l'albedo, lavés abondamment à l'eau, séchés avec du papier filtre, coupés en deux, pressés doucement au presse-citron ménager et tamisé.

3) Les fruits écorcés, lavés et séchés comme en (2) sont de plus soigneusement pelés. L'albedo est enlevée avec un scalpel et les membranes des segments sont détachées en prenant soin de ne pas crever les vésicules

remplies de jus. Les cellules mises à nu sont ensuite pressées manuellement à travers une étamine.

Les espèces suivantes ont été étudiées : Citron, Clémentine, Orange (Washington Navel), Pomélo.

Analyse. Mode opératoire :

On verse 250 ml de jus à analyser dans une fiole à vide de 500 ml, contenant le noyau en fer doux recouvert de polyéthylène, d'un agitateur magnétique. La fiole à vide est bouchée avec un bouchon en caoutchouc à deux trous. Dans l'un passe un tube en acier inoxydable prolongé à l'extérieur par un tube en polyvinyle souple qui peut être obturé avec une pince à vis. Dans l'autre passe un tube court bouché à l'extérieur par une pastille en caoutchouc maintenue en place par un capuchon ouvert vissé sur le tube. La prise de vide de la fiole est reliée au détendeur d'une bouteille d'azote comprimé, par un tube souple que l'on peut également obturer avec une pince à vis. Après avoir versé le jus, on balaye l'air contenu dans la fiole par un courant d'azote, puis on isole celle-ci en obturant les deux tubes souples. On la plonge dans un bain-marie à 25° C supporté par l'agitateur magnétique et on agite le jus 45 mn dans ces conditions afin de parfaire l'équilibre entre la phase liquide et la phase vapeur dans la fiole. On prélève alors 2 ml de cette phase vapeur avec une seringue à gaz de 10 ml à travers la pastille de caoutchouc. On fait aller et venir le piston de la seringue plusieurs fois pour compenser les phénomènes d'absorption. Il n'y a pas à craindre de condensation dans la seringue qui se trouve pratiquement à la même température que le jus.

Les 2 ml recueillis dans la seringue sont immédiatement injectés dans un chromatographe analytique Microtek 2 500 R. Cet appareil est équipé d'un système à double colonne et double détecteur à ionisation de flamme. L'expérience a montré que si l'on travaille à très haute sensibilité en température isotherme, la stabilité optimale de la ligne de base était obtenue en branchant le gaz vecteur sur une seule colonne et en n'allumant que la flamme du détecteur correspondante.

Colonne : en cuivre, longueur 2,5 m, diamètre 6,4 mm (1/4 pouce) ;

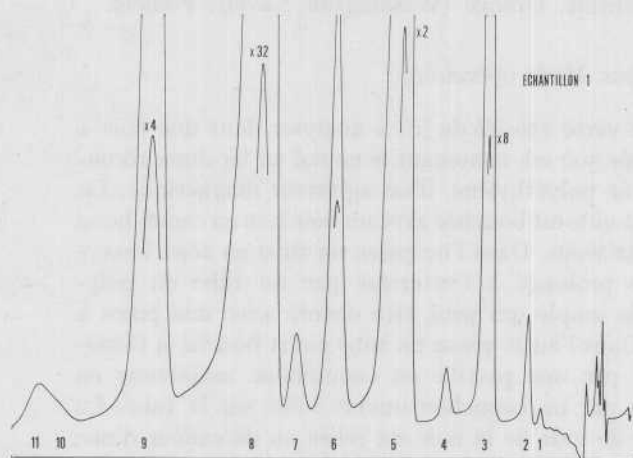
Remplissage : Carbowax 1540 à 15 % (15 g + 100 g) sur chromosorb W. HMDS, 60-80 mesh ;

Température de l'injecteur : 140° C ;

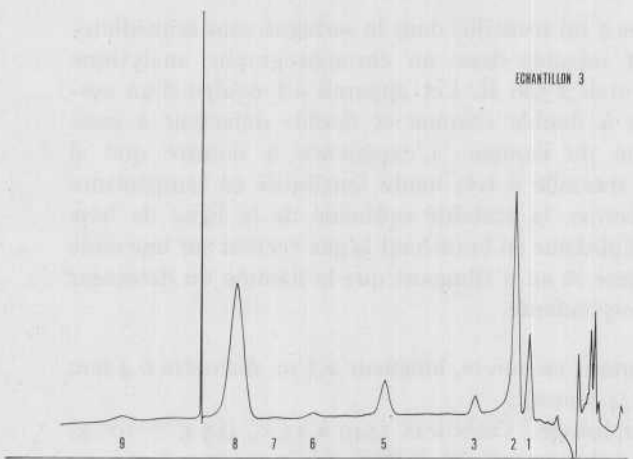
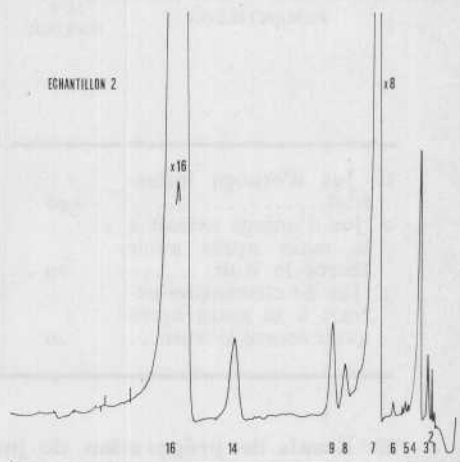
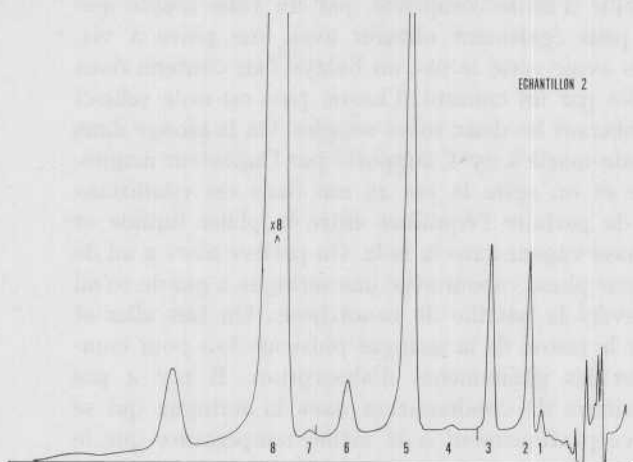
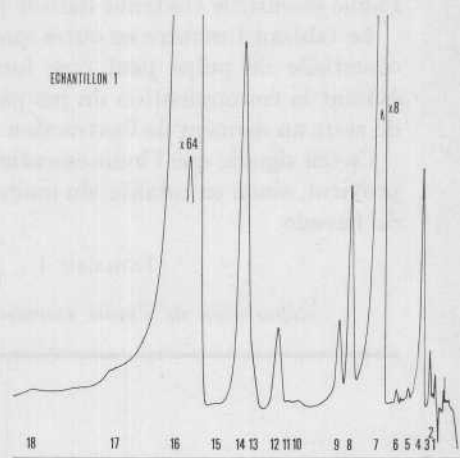
Température du four : 70° C ;

Température du détecteur : 170° C ;

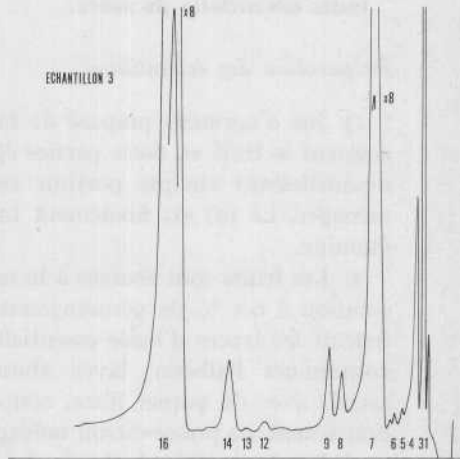
CHROMATOGRAMMES



N° des pics	Identification présumée
1	méthanol
2	éthanol
3	α-pinène
5	β-pinène
6	myrcène
8	d-limonène
9	γ-terpinène



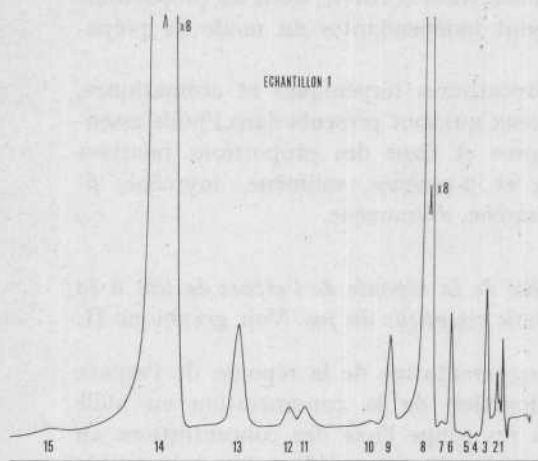
N° des pics	Identification présumée
4	acétaldéhyde
5	formiate d'éthyle
6	acétate d'éthyle
7	éthanol
8	α-pinène
9	butyrate d'éthyle
11	β-pinène
12	sabinène
13	Δ-3-carène
14	myrcène
16	d-limonène



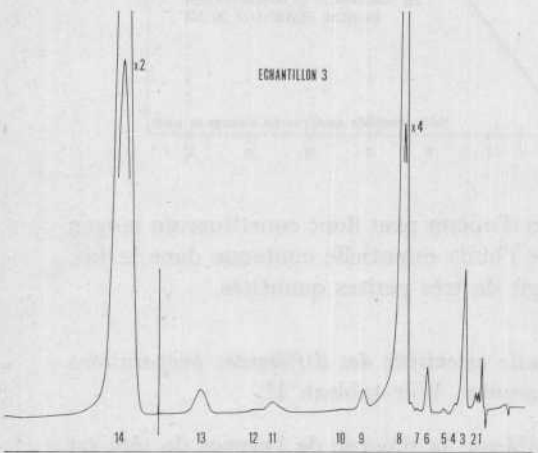
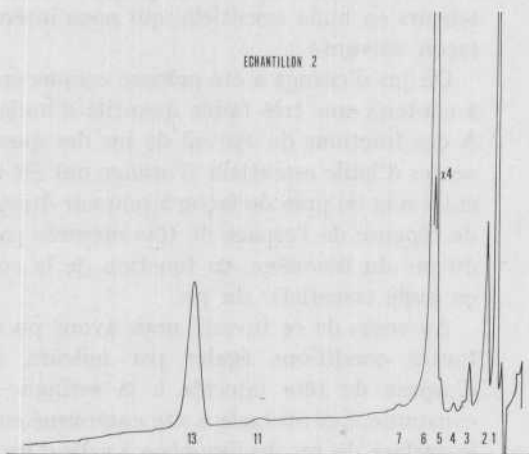
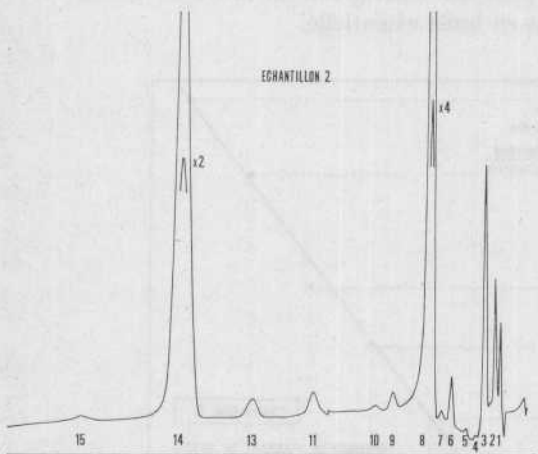
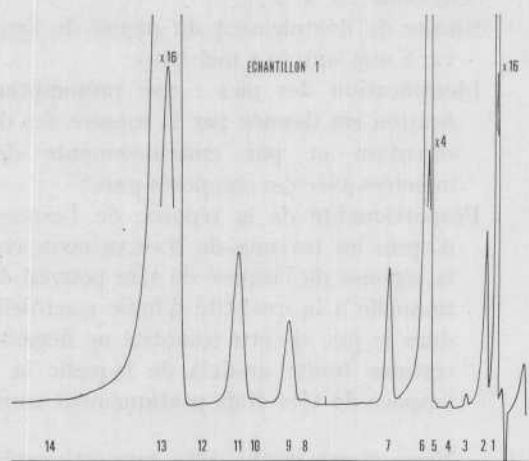
JUS DE CITRON

JUS D'ORANGE WASHINGTON NAVEL

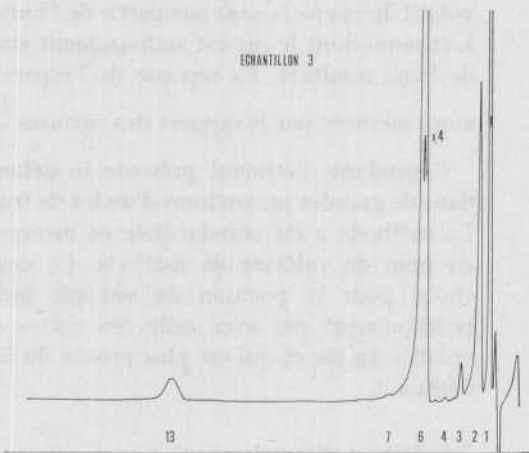
D'ESPACE DE TÊTE



N° des pics	Identification présumée
3	acétaldéhyde
6	acétate d'éthyle
8	éthanol
9	α -pinène
12	sabinène
13	myrcène
14	limonène



N° des pics	Identification présumée
2	acétaldéhyde
3	formiate d'éthyle
5	méthanol
6	éthanol
7	α -pinène
8	β -pinène
9	sabinène
11	myrcène
13	limonène



JUS DE POMÉLO MARSH

JUS DE CLÉMENTINE

Gaz vecteur : azote R. débit : 42 ml/mn ;
 Gaz alimentant la flamme : air 232 ml/mn,
 hydrogène : 45 ml/mn ;
 Sensibilité : 1×2 ;
 Vitesse de déroulement du papier de l'enregistreur :
 12,8 mm/mn, (0,5 inch/mn) ;
 Identification des pics : une présomption d'identification est donnée par la mesure des distances de rétention et par enrichissements des vapeurs injectées avec des composés purs ;
 Proportionnalité de la réponse de l'espace de tête : d'après les travaux de NAWAR nous avons vu que la réponse de l'espace de tête pouvait être proportionnelle à la quantité d'huile essentielle contenue dans le jus, si cette quantité ne dépassait pas une certaine limite au-delà de laquelle la réponse de l'espace de tête était pratiquement constante.

Nous avons vérifié cette proportionnalité pour les teneurs en huile essentielle qui nous intéressent de la façon suivante :

Du jus d'orange a été préparé comme en 2 de façon à contenir une très faible quantité d'huile essentielle. A des fractions de 250 ml de jus des quantités croissantes d'huile essentielle d'orange ont été incorporées, entre 0 et 60 ppm de façon à pouvoir dresser la courbe de réponse de l'espace de tête mesurée par la surface du pic du limonène, en fonction de la concentration en huile essentielle du jus.

Au cours de ce travail, nous avons pu vérifier que, toutes conditions égales par ailleurs, la quantité d'espace de tête injectée à la seringue n'était pas constante. Cet obstacle a été contourné en rapportant la surface du pic du limonène à celle d'un constituant volatil du jus ne faisant pas partie de l'huile essentielle. L'éthanol dont le pic est suffisamment grand a donné de bons résultats. La réponse de l'espace de tête est alors mesurée par le rapport des surfaces $\frac{\text{limonène}}{\text{éthanol}}$.

Cependant, l'éthanol présente le défaut de varier dans de grandes proportions d'un lot de fruits à l'autre. La méthode a été standardisée en incorporant au jus 40 ppm de valérate de méthyle. Ce composé a été choisi pour la position de son pic qui n'interfère pratiquement pas avec celle des autres constituants volatils du jus et qui est plus proche du limonène que l'éthanol.

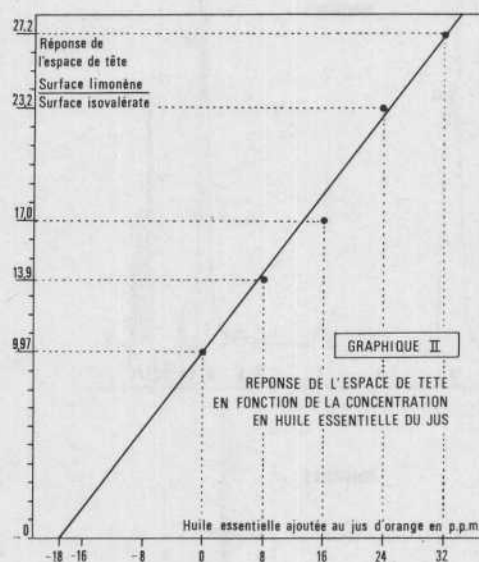
Résultats et discussion :

Les chromatogrammes des espaces de tête de jus d'agrumes révèlent la présence dans les jus :

- 1) de composés très volatils non identifiés ;
- 2) de composés volatils hydrosolubles comme l'acétaldéhyde, le formiate d'éthyle, le méthanol, l'éthanol et le butyrate d'éthyle, dont les proportions dans le jus sont indépendantes du mode de préparation ;
- 3) des hydrocarbures terpéniques et aromatiques, identiques à ceux qui sont présents dans l'huile essentielle de l'écorce et dans des proportions relatives identiques, α et β -pinènes, sabinène, myrcène, p -cymène, Δ -3 carène, d -limonène.

Proportionnalité de la réponse de l'espace de tête à la teneur en huile essentielle du jus. Voir graphique II.

La droite représentative de la réponse de l'espace de tête en fonction de la concentration en huile essentielle du jus coupe l'axe des concentrations au point — 18 ppm qui correspond en fait à la teneur initiale du jus en huile essentielle.



Cette façon d'opérer peut donc constituer un moyen de dosage de l'huile essentielle contenue dans le jus, quand il s'agit de très petites quantités.

Teneur en huile essentielle des différentes préparations de jus d'agrumes. Voir tableau II.

Dans ce tableau, la réponse de l'espace de tête est représentée par le rapport de la surface du pic du limonène à celle de l'éthanol contenu dans le jus. Il eût été plus rigoureux de la calculer par rapport

TABLEAU II.

*Surface du pic du limonène
pour les différentes préparations de jus,
rapportée à la surface du pic de l'éthanol.*

ÉCHAN- TILLONS	CLÉMEN- TINES	CITRON	POMÉLO	ORANGE
1	180,0	1 110	54	105
2	4,3	68	11	17
3	0,5	5	19	13

à la surface d'un étalon interne comme le valérate de méthyle. Cette méthode utilisée pour établir la courbe d'étalonnage, n'avait pas encore été mise au point au moment de l'expérimentation. Cependant nous avons pu vérifier que pour un même lot de fruits de même maturité, d'une même variété, la quantité d'éthanol était pratiquement constante. Par contre la quantité d'éthanol peut varier dans de grandes proportions d'une espèce à l'autre. Le citron par exemple en contient beaucoup moins que les autres espèces étudiées. Les chiffres exprimés ne sont comparables qu'à l'intérieur d'une même colonne.

La quantité d'huile essentielle présente dans l'espace de tête de la clémentine est 42 fois plus

faible dans l'échantillon 2 et, 360 fois plus faible dans l'échantillon 3, que dans l'échantillon 1.

Pour les citrons, la quantité d'huile essentielle est 16 fois plus faible en 2 et 222 fois plus faible en 3. Pour le pomélo les différences sont moins sensibles : 5 fois plus faible en 2 et seulement 2,6 fois plus faible en 3. Pour l'orange la teneur en huile essentielle est 6 fois plus faible en 2 et 8 fois plus faible en 3.

L'analyse chimique des échantillons 1 a montré que les teneurs en huile essentielle des différentes espèces étudiées étaient comprises entre 10 ppm pour le citron et 40 ppm pour l'orange et la clémentine. Les réponses de l'espace de tête sont donc proportionnelles aux concentrations du jus en huile essentielle.

Une extraction appropriée permet d'obtenir un jus de clémentine ne contenant plus que 0,1 ppm d'huile essentielle. Des concentrations du même ordre sont également obtenues avec le citron. Par contre avec l'orange nous n'avons pas obtenu moins de 5 ppm et pour le pomélo moins de 10 ppm.

Avec cette espèce les manipulations exigées pour la préparation n° 3 ne sont pas parvenues à diminuer la concentration en essence. Elles ont même eu un effet contraire. On peut en rechercher la cause dans la fragilité des membranes isolant les segments, et les vésicules de jus. De ce fait, ce mode de préparation n'a pas évité les contaminations du jus par l'essence de zeste.

III. CONCLUSION

Alors que les jus d'agrumes industriels contiennent plus de 100 ppm d'huile essentielle de zeste nous avons montré que cette quantité peut être abaissée dans de grandes proportions par une extraction appropriée. Nous avons obtenu des jus de clémentine et de citron dont la concentration en huile essentielle est de l'ordre de 0,1 ppm. Ce qui signifie que le jus tel qu'il existe à l'intérieur des vésicules ne contient pratiquement pas d'huile essentielle. Il est à noter que le jus ainsi obtenu ne dégage aucun arôme typique permettant de reconnaître l'espèce des fruits dont il provient. Nous ne sommes pas parvenu à un résultat aussi net avec les jus d'orange et de pomélo. Mais les concentrations minimales obtenues 5 et 10 ppm respectivement sont cependant très éloignées de celles des jus industriels.

D'après ces données, il apparaît fort douteux qu'une huile essentielle dite de pulpe, de composition semblable à celle de l'huile essentielle d'écorce préexiste dans les jus d'agrumes avant l'extraction. L'huile essentielle contenue dans les jus extraits provient de l'écorce soit en totalité, soit à plus de 90 %. Elle se fixe en majeure partie sur la pulpe en suspension. C'est elle qui donne au parfum du jus les notes typiques, caractéristiques de l'espèce du fruit.

Ce travail a été réalisé avec la collaboration technique de C. Guidicelli dans le cadre d'une recherche sur l'arôme de la clémentine, financée par la D. G. R. S. T.

BIBLIOGRAPHIE

1. AFNOR. Normes Française PN V 76 005, PN V 76 006, NF V 76 007.
2. HUNTER (G. L. K.) and BRODGEN (W. B.) Jr. — Analysis of the terpene and sesquiterpene hydrocarbone in some Citrus oils. *J. of Food Science*, 39, 3, 383-387, 1965.
3. KIRCHNER (J. G.) cité par W. L. STANLEY. — In Flavor Research and Food Acceptance. Chap. 34, Reinhold publishing Co. N. Y. 1958.
4. NAWAR (W. W.). — Some Considerations in interpretation of direct headspace gas chromatographic analysis of food volatils. *Food Technol.* 115-117, Feb. 1966.
5. RICE (C.), KELLER (G. J.) and BEAVENS (E. A.). — Flavor fortification of California frozen orange concentrate. *Food Technol.* 35-39, Jan. 1952.
6. 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.
7. STANLEY (W. L.). — Citrus flavors in Flavor Research and Food Acceptance. Chap. 34, A. D. LITTLE, Inc. Reinhold Publishing Co. New York, 1958.
8. VAN DEN DOOL (H.). — L'application des méthodes physiques dans la recherche sur les arômes alimentaires. *La France et ses Parfums*, 7, 40, 299-321, 1964.
9. WOLFORD (R. W.) and ATTAWAY (J. A.). — Analysis of recovered natural orange flavor enhancements materials using gas chromatography. *J. Agr. Food, Chem.*, 15, 3, 363-377, 1967.



LES ALTÉRATIONS ET LES MALADIES FONGIQUES D'ENTREPOSAGE DES AGRUMES ET DE DIVERS FRUITS TROPICAUX

par **Étienne LAVILLE**

(Service de Phytopathologie de l'I. F. A. C.)

Ce nouveau volume consacré aux maladies d'entreposage des fruits tropicaux complète celui consacré essentiellement aux Bananes, paru en 1967.

Il offre 80 diapositives en couleurs et par conséquent les *symptômes exacts* des maladies fongiques survenant après récolte, sur les fruits exotiques tels que l'Ananas, l'Avocat, la Mangue, et sur d'autres moins connus mais tout aussi appréciés comme le Mangoustan, la Passiflore, les Litchis, les Papayes, etc.

Le livret qui les accompagne se compose d'une part de conseils adaptés à chaque fruit, pour en assurer la meilleure conservation et par conséquent la meilleure présentation, et d'autre part de descriptions détaillées des principales maladies pouvant survenir, ainsi que les moyens de les éviter.

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

Prix : **130 F.**

Adresser les commandes à :

Institut Français de Recherches Fruitières Outre-Mer (Service des Publications)
6, rue du Général-Clergerie, 75-Paris (16^e)