

Mesure de la teneur en huile de la pulpe d'avocat par réfractométrie: avantages, limites et précision de la méthode.

Y. LOZANO, G. DUVERNEUIL et K. YAMASAKI*

MESURE DE LA TENEUR EN HUILE DE LA PULPE D'AVOCAT
PAR REFRACTOMETRIE :
AVANTAGES, LIMITES ET PRECISION DE LA METHODE.

Y. LOZANO, G. DUVERNEUIL et K. YAMASAKI

Fruits, sep. 1982, vol. 37, n° 9, p. 545-554.

RESUME - Utilisée pour la détermination de la teneur en huile dans divers fruits lipidiques, la méthode basée sur la mesure de la variation de l'indice de réfraction de solutions naphthaléniques d'huile végétale est appliquée au cas de l'avocat. L'abaque de corrélation obtenu indique une variation linéaire de cet indice avec la teneur en huile. Divers échantillons de fruits, jeunes ou matures, des variétés Nabal, Fuerte, Zutano, ont été utilisés pour la validation expérimentale de cet abaque. Les limites et la précision de la méthode sont discutées en effectuant un parallèle avec la méthode Soxhlet.

L'avocat est un fruit lipidique. La teneur en huile varie d'une variété à l'autre mais aussi tout au long du développement du fruit sur l'arbre. Les variétés originaires des Antilles contiennent généralement peu d'huile alors que les variétés Guatémaltèques et Mexicaines, ou certaines de leurs hybrides, peuvent atteindre jusqu'à 35 p. 100 d'huile dans la pulpe du fruit arrivé au stade de développement et de maturité optimum (1).

Ainsi on rencontre des variétés comme Pollock qui ne contiennent que 5 p. 100 d'huile alors que les variétés Fuerte ou Mexicola peuvent atteindre aisément 25 à 30 p. 100 (2, 3). Par ailleurs, la teneur en huile de la pulpe d'avocat varie avec l'âge physiologique du fruit dans une fourchette assez large. Dans le cas de la variété Fuerte, il a été

montré que ces variations pouvaient aller de 3 p. 100 (le fruit ne pesant que 100 g) à 25 p. 100 au cours d'une période de 7 mois de développement (3).

Les variations des constituants lipidiques de la pulpe d'avocat ont souvent été l'objet d'études pour tenter de déterminer par l'analyse l'état de maturité du fruit qui, au moment de la cueillette, conditionnera la qualité future du fruit (aspect, flaveur, onctuosité de la pulpe) ainsi que ses potentialités au transport et à la conservation. Préconisée par le code de l'Agriculture de l'Etat de Californie, une norme applicable surtout à la variété Fuerte stipule que «tout avocat au moment de la cueillette et même après ne devrait pas contenir moins de 8 p. 100 d'huile en poids par rapport à la pulpe fraîche». Cette recommandation amena le California State Department of Agriculture à proposer une méthode officielle pour le dosage de l'huile dans l'avocat (4).

Deux types de méthodes d'analyses ont été développés depuis le début du siècle pour déterminer les teneurs en

* - Y. LOZANO et G. DUVERNEUIL - IRFA-GERDAT, Technologie des Produits végétaux tropicaux - INRA - Domaine Saint Paul - 84140 MONTFAVET (France)
K. YAMASAKI - Elève Ingénieur SIARC - avenue central sur 15, Tapachula, Chiapas (Mexique).

huile dans les végétaux : des méthodes gravimétriques et des méthodes réfractométriques (6, 7, 9, 16).

Les premières sont basées essentiellement sur le principe de l'extraction par un solvant organique (éther de pétrole, chloroforme, méthanol, hexane ...) dans un appareil du type Soxhlet ou Kumagawa.

Elles restent celles qui sont le plus couramment utilisées et, pour certains végétaux (oléagineux, épices), elles sont à la base de normes officielles (AOAC - AFNOR - ISO) pour le dosage des matières grasses. Dans le cas de la mesure de la teneur de l'huile d'avocat contenue dans la pulpe du fruit, ces diverses variantes donnent des résultats reproductibles et similaires (8). Cependant ces techniques ne sont utilisables que dans un laboratoire équipé d'un minimum de possibilités (eau, électricité, verrerie spécifique, évaporateur rotatif, etc...). Elles peuvent être très difficilement utilisées sur le terrain par les agriculteurs eux-mêmes.

Les secondes, plus rustiques, utilisent comme paramètre la variation de l'indice de réfraction d'un solvant organique d'extraction de l'huile d'avocat, dont la propriété est d'être en relation avec la quantité d'huile dissoute dans le solvant. L'application de ces techniques au dosage de l'huile dans l'avocat a permis la publication d'une méthode officielle (5) qui a été reprise récemment par d'autres auteurs (8). Ces derniers aboutissent à une conclusion qui ne va pas dans le sens des affirmations des premiers au sujet de la loi qui régit les variations de l'indice réfractométrique d'une solution naphthalénique d'huile d'avocat. Sans entrer dans les détails, nous résumons ici la divergence essentielle qui apparaît entre ces deux articles : PORTER (5) propose une loi de variations linéaire alors que LEWIS et al. ont trouvé que l'abaque matérialisant ces variations était curviligne.

De plus, les précautions à prendre pour obtenir des résultats reproductibles ne sont pas toujours à la mesure d'une opération à réaliser sur le terrain (réfractomètre permettant d'apprécier le 1×10^{-4} unité d'indice de réfraction ou mieux, thermostatisation au $2/10^{\circ}\text{C}$, broyeur spécifique, etc ...).

Le but de notre étude est de déterminer des conditions opératoires simples pour que la mesure de la teneur en huile dans l'avocat reste un dosage élémentaire et que le résultat obtenu soit néanmoins juste. Dans la mesure où des simplifications ont été apportées, nous avons évalué les risques d'erreurs encourus et précisé les limites d'utilisation de la méthode simplifiée choisie.

DOSAGE DE L'HUILE SELON LA METHODE D'EXTRACTION AU SOXHLET

L'extraction au Soxhlet, bien qu'étant la plus fréquemment utilisée pour l'évaluation de la teneur en huile dans le plus grand nombre des cas, reste une technique longue et peu pratique pour être utilisée hors d'un laboratoire. Elle demande un équipement délicat et sophistiqué (verrerie fragile, chauffe ballon, source de vide, solvant inflammable, voire toxique, etc...). Les méthodes normalisées, tant sur le plan national qu'international (méthode de l'UICPA, de

l'ISO, de l'AFNOR) (10, 11), préconisent plusieurs extractions successives (2 à 3 en moyenne) de l'ordre de 2 à 3 heures chacune : par convention, on appelle huile la totalité des lipides extraits d'une substance par un solvant défini qui est en général l'hexane ou l'éther de pétrole.

Ces normes laissent néanmoins une certaine latitude à l'opérateur. Il est possible, quand on utilise l'hexane comme solvant d'extraction, de ramener le temps total d'extraction à 4 heures (8). Une modification apportée à l'appareillage permet d'atteindre un maximum d'extraction en moins de 20 minutes, mais il faut travailler sur de plus petites quantités de matières (2 g). La cartouche contenant l'échantillon est plongée dans le solvant en ébullition (extraction à solvant chaud) puis elle est mise à lessiver comme dans la méthode Soxhlet (extraction à solvant froid). Si cette nouvelle technique (13) apporte un avantage, il n'en reste pas moins que la pulpe d'avocat contient entre 60 et 85 p. 100 d'eau selon la variété et l'état de maturité du fruit (15) et que la technique du Soxhlet demande que l'échantillon soit déshydraté avant extraction. Dans le cas contraire, les difficultés d'extraction rencontrées ne permettent pas d'extraire l'huile dans sa totalité.

L'avocat est donc coupé en deux selon son plus grand axe. Le noyau étant retiré, chaque moitié est épulpée ou pelée puis est découpée en lamelles quand l'échantillon doit être lyophilisé, ou en gros morceaux lorsque celui-ci doit être desséché à l'étuve.

La lyophilisation s'opère dans un appareil à plateau de marque Serail type sublivac RP 12.

La congélation des échantillons s'effectue à moins 30°C pendant 24 heures puis l'enceinte de congélation est mise sous vide primaire pendant 48 heures. En fin de lyophilisation (les dernières 10 heures), un léger chauffage est appliqué à l'enceinte sous vide.

La dessiccation de la pulpe fraîche d'avocat s'effectue dans une étuve à 105°C pendant 24 heures. Le tableau 1 montre que les pertes en poids à l'issue de la lyophilisation coïncident avec les pertes en poids obtenues par la méthode de dessiccation à l'étuve.

La pulpe d'avocat lyophilisée garde sa couleur vert clair initiale tandis que l'échantillon mis à l'étuve en ressort marron foncé, indication que des réactions chimiques ont eu lieu au sein du produit. Cependant ces transformations ne semblent pas influencer sur la détermination de la teneur en huile.

TABLEAU 1 - Perte en poids au cours de la dessiccation, par lyophilisation et à l'étuve, de la pulpe d'avocat.

Variétés	perte en poids : p. 100 de la pulpe	
	lyophilisation	étuve
Zutano vert 1	84,50	85,70
Zutano vert 2	81,02	82,03
Zutano vert 3	78,22	79,92
Fuerte vert 1	83,70	83,76
Fuerte vert 2	85,18	85,69

7 à 8 g de pulpe d'avocat broyée (lyophilisée ou desséchée) sont mis dans la cartouche d'un Soxhlet de 500 ml ; 700 ml d'hexane sont utilisés pour l'extraction qui dure 5 à 7 heures. En général le solvant retenu et dans lequel baigne la cartouche n'est plus coloré en vert clair à partir du troisième lessivage, c'est-à-dire au bout d'une heure d'extraction.

Par hypothèse, nous utilisons ce protocole d'extraction comme base de référence pour la détermination de la teneur en huile dans l'avocat. Ceci peut être critiquable puisque l'hexane, tout en ayant un grand pouvoir dissolvant vis-à-vis des glycérides en général, se révèle un dissolvant pratiquement nul des autres composants qui existent dans le fruit (protéines, acides aminés, sucres ...) mais aussi et surtout des stérols et des phospholipides qui entrent dans la composition des lipides du fruit (2, 14). Cependant, certaines lipoprotéines peuvent être extraites au cours d'une opération prolongée. En effet, des expériences menées au laboratoire nous ont montré que si l'on poussait l'extraction à son maximum (plusieurs extractions jumelées à plusieurs broyages), on obtenait pour certains échantillons de pulpe un résidu verdâtre et floconneux qui se fige à température ambiante alors que l'application du protocole de référence donnait pour les mêmes échantillons un extrait vert qui reste toujours fluide et limpide.

TABLEAU 2 - Evolution des teneurs en constituants lipidiques contenus dans la pulpe d'avocat Fuerte au moment de la cueillette (en p. 100 de matière fraîche); d'après Y. KIKUTA, ERICKSON L.C. (4).

fraction lipidique	Epoque de cueillette	
	9 janvier 1965	17 février 1965
acides gras libres	0,12	0,10
triglycérides	16,40	19,96
diglycérides	1,63	1,29
monoglycérides	0,50	0,78
phospholipides	0,32	0,39
stérols, hydrocarbures et autres (*)	0,23	0,28
Total	19,20	22,80

(*) - extrait par le mélange chloroforme-méthanol (2 : 1).

Les résultats du tableau 2 montrent que les lipides neutres (glycérides) constituent plus de 85 p. 100 de la fraction lipidique de la pulpe d'avocat arrivée à maturité. Ceci est d'importance comme nous le verrons plus loin lors de la discussion sur la validité des méthodes de dosage de l'huile dans l'avocat.

DETERMINATION DE L'INDICE DE REFRACTION D'UN EXTRAIT NAPHTALENIQUE D'HUILE D'AVOCAT

L'extraction de l'huile par la méthode Soxhlet est, comme nous venons de le voir, longue, laborieuse et sujette à

caution dans la mesure ou toutes les fractions lipidiques de la pulpe de l'avocat ne sont pas extraites en totalité. D'autres méthodes plus simples et plus immédiates peuvent être utilisées pour un dosage global : densitométrie, réfractométrie, résonance magnétique nucléaire, etc ... La mesure de l'indice de réfraction est souvent utilisée pour la détermination de certains paramètres (solides solubles, sucres, hydrocarbures, protéines, huiles ...) et reste la méthode la plus simple dans le principe (lecture immédiate de la teneur du composé à doser) et dans la pratique (appareillage robuste, peu encombrant, peu exigeant).

5 g de pulpe fraîche d'avocat sont malaxés dans un mortier en présence de 5 cc de 1-chloronaphtalène ($d_{15}^{20} = 1,1938$) solvant organique à haut point d'ébullition ($258^{\circ}\text{C}/753$ mm), d'indice de réfraction élevé ($n = 1,63$) et insoluble dans l'eau. Au bout de 5 minutes, on obtient une phase semi-solide émulsionnée à base de pulpe d'avocat et une phase liquide verdâtre à base de solvant et d'huile extraite du fruit. Pour faciliter le malaxage, on peut ajouter du sable de Fontainebleau lavé et sec, mais nous avons jugé cet artifice inutile.

De plus, l'utilisation de cet abrasif pourrait être une source d'erreur supplémentaire s'il devait contenir des polluants ayant une incidence sur l'indice de réfraction. On mesure alors l'indice de réfraction de la phase liquide avec un réfractomètre d'Abbé travaillant à la lumière diffuse du jour ou celle d'une lampe à incandescence dépolie (12).

VARIATION DE L'INDICE DE REFRACTION DE MELANGES DE 1-CHLORONAPHTALENE ET D'HUILE D'AVOCAT

Afin de connaître la loi qui régit les variations de l'indice de réfraction d'un extrait naphthalénique d'huile d'avocat nous avons construit l'abaque correspondant en utilisant de l'huile d'avocat raffinée d'une part, et de l'huile d'avocat Fuerte extraite du fruit mûr par la méthode Soxhlet d'autre part. Les résultats sont donnés dans les tableaux 3 et 4.

Les graphes des figures 1a et 1b montrent que l'indice de réfraction varie quasi-linéairement avec la concentration en huile, résultat qui ne corrobore pas celui annoncé par LEWIS et al. (8). Ces derniers trouvent une ligne de calibration non linéaire pour l'abaque réalisé avec la variété Fuerte.

En fait une régression linéaire donne un coefficient de corrélation de $c = 0,9997$. Cependant, un diagramme à une échelle plus importante montre une légère convexité de la courbe. Une hypothèse de corrélation polynomiale du troisième degré permet un meilleur ajustement de la courbe d'étalonnage ($c = 0,99995$), mais n'apporte pas une grande amélioration.

L'abaque construit à partir d'une huile de presse (figure 2) est identique à celui obtenu à partir de l'huile d'avocat extraite par la méthode Soxhlet. Les équations de régression

linéaire montrent que ces deux abaques se confondent pratiquement sur le plan des caractéristiques réfractométriques, ces deux types d'huile sont donc semblables.

DISCUSSION

Nous avons vérifié la courbe d'étalonnage (figure 1a) avec

différents échantillons d'avocats, mûrs et verts, de variétés différentes, que nous avons pu recevoir au laboratoire. La vérification expérimentale de ces abaques (figures 1a et 2) nous a donné satisfaction dans le plus grand nombre de cas. Cependant nous avons mis en évidence que la méthode de détermination de la teneur en huile de la pulpe d'avocat par réfractométrie a certaines limites.

TABLEAU 3 - Variations de l'indice de réfraction d'une solution de 1-Chloronaphtalène (1 - CIN) en fonction de sa teneur en huile d'avocat mûr (variété Fuerte).

huile	poids en g huile + 1-CIN	pourcentage d'huile dans le mélange	indice de réfraction (*)	
			15,5°C	21°C
0,0		0,0	1,634 8	1,631 6
0,0170	3,4534	0,492	1,633 2	1,631 1
0,0156	1,5806	0,987	1,632 2	1,630 1
0,0337	2,2824	1,476	1,631 1	1,629 1
0,0503	2,5728	1,955	1,630 5	1,628 2
0,0531	2,1514	2,468	1,629 4	1,626 8
0,0623	2,1013	2,965	1,628 6	1,625 6
0,0854	2,4565	3,476	1,627 6	1,624 9
0,0921	2,3014	4,002	1,626 1	1,623 9
0,1007	2,0107	5,008	1,624 0	1,621 9
0,1143	1,9116	5,979	1,622 5	1,619 8
0,1464	2,0906	7,003	1,620 4	1,617 5
0,1810	2,1920	8,257	1,617 8	1,614 9
0,1875	2,0891	8,975	1,616 9	1,614 0
0,1971	1,9606	10,048	1,614 8	1,612 2
0,3047	2,5445	11,975	1,611 1	1,608 9
0,3636	2,4066	15,108	1,605 0	1,603 0
0,4333	2,1540	20,116	1,596 4	1,594 1
0,5949	2,3868	24,925	1,587 5	1,584 7
0,6960	2,2909	30,381	1,578 0	1,574 0

* - la quatrième décimale a été estimée, les graduations de l'appareil ne permettant de lire que la troisième décimale.

TABLEAU 4 - Variations de l'indice de réfraction d'une solution de 1-Chloronaphtalène (1-CIN) en fonction de sa teneur en huile d'avocat raffinée (préparée au laboratoire IRFA de Massy par G. MANGEOT).

huile	poids en g huile + 1 CIN	pourcentage d'huile dans le mélange	indice de réfraction (*)		
			16°C	21°C	24°C
0,0		0,0	1,633 5	1,631 6	1,630 0
0,0224	1,7209	1,302	1,631 1	1,629 8	1,628 1
0,0460	1,9257	2,389	1,629 0	1,627 2	1,626 0
0,0474	1,3354	3,549	1,626 8	1,625 0	1,623 6
0,0463	0,9283	4,988	1,623 4	1,621 6	1,619 8
0,0479	0,7039	6,805	1,619 9	1,618 1	1,616 4
0,0735	0,8576	8,570	1,616 2	1,614 8	1,612 9
0,0961	0,9106	10,553	1,612 2	1,610 8	1,609 0
0,1269	0,7937	15,988	1,601 9	1,600 2	1,598 3
0,1518	0,7318	20,743	1,593 9	1,591 9	1,590 9
0,2146	0,7306	29,373	1,577 8	1,576 0	1,575 0

* - la quatrième décimale a été estimée, les graduations de l'appareil ne permettant de lire que la troisième décimale.

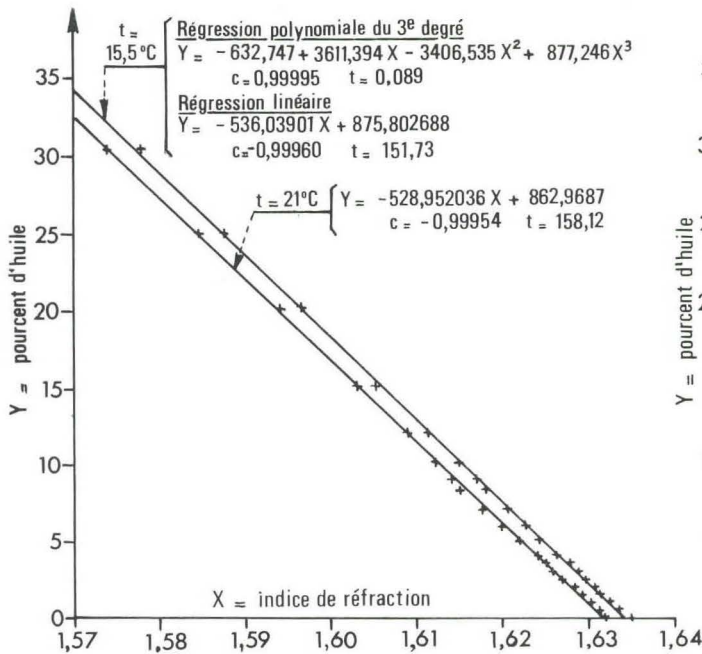


Figure 1a - Variation de l'indice de réfraction d'une solution de 1Cl-N en fonction de sa teneur en huile d'avocat mûr (Fuerte).

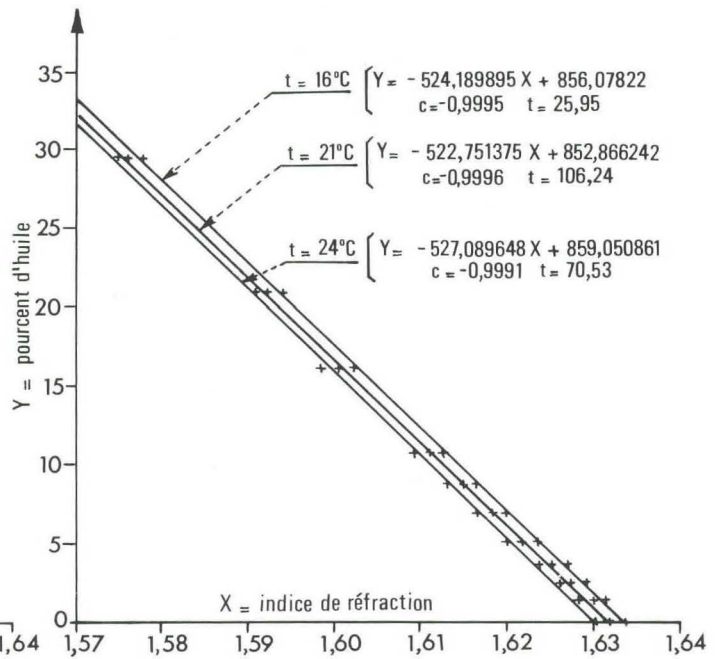


Figure 1b - Variation de l'indice de réfraction d'une solution de 1Cl-N en fonction de sa teneur en huile d'avocat raffinée.

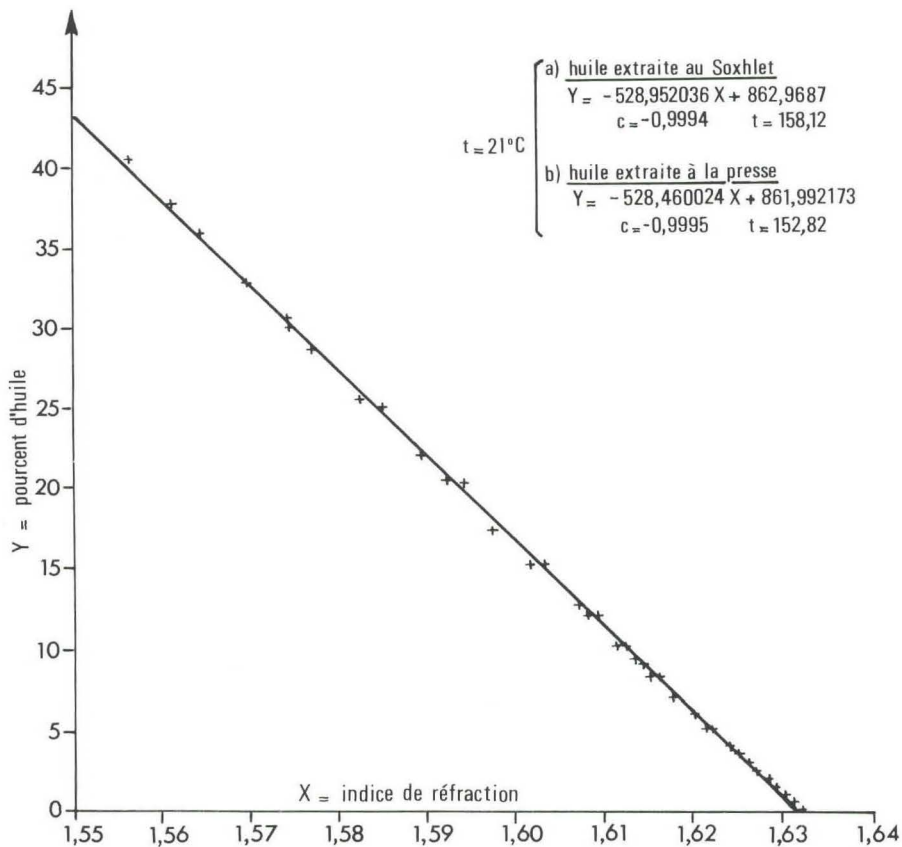


Figure 2 - Comparaison des abaques obtenus avec l'huile d'avocat : Abaque a) huile extraite au Soxhlet - Abaque b) huile extraite à la presse.

Si comme nous l'avons souligné, l'abaque construit avec l'huile d'avocat variété Fuerte extraite du fruit par la méthode Soxhlet donne de bons résultats, il n'en est pas de même quand on utilise l'abaque réalisé avec de l'huile raffinée. Une analyse réfractométrique utilisant la corrélation donnée par ce dernier abaque donne une valeur de teneur en huile bien plus faible que la valeur théorique obtenue par la méthode Soxhlet, prise par hypothèse comme référence. Ce fait est illustré par les résultats consignés dans le tableau 5.

TABLEAU 5 - Détermination de la teneur en huile contenue dans la pulpe d'avocat selon la méthode Soxhlet et la méthode réfractométrique.
(Zutano et Fuerte proviennent de la Station IRFA en Corse, Nabal provient d'Israël).

Variétés	pourcent d'huile dans la pulpe du fruit frais		
	abaque huile d'avocat	abaque huile raffinée	Soxhlet
Zutano vert	3,9	2,8	3,9
Fuerte vert	9,5	7,9	10,2
Nabal vert	7,5	6,8	7,4

Nous nous sommes surtout attachés à vérifier la validité des résultats obtenus par la méthode réfractométrique dans le domaine délicat qui concerne des fruits verts ou peu riches en huile.

En effet, la composition des différentes fractions lipidiques du fruit varie avec l'âge physiologique comme l'ont montré divers auteurs (2, 14, 15). Le cas de la variété Fuerte a été bien étudié de ce point de vue. La figure 3 que nous reproduisons ici, met en relief les variations saisonnières de la teneur en constituants lipidiques de la pulpe d'avocat Fuerte.

Mis en évidence par la variation de l'indice d'iode (15), le degré de saturation des lipides de l'avocat change au cours du grossissement du fruit. De plus, la variation de la composition de l'huile d'avocat au cours de la maturation du fruit sur l'arbre affecte, comme le montre la figure 4, l'indice de réfraction de l'huile extraite du fruit par pressage. Cependant cette variation reste heureusement réduite puisqu'elle n'est que le 1×10^{-3} unité d'indice de réfraction sur une année en ce qui concerne la variété Fuerte. Il n'y a pas lieu de penser qu'une situation différente prévale pour d'autres variétés, encore faudrait-il le vérifier.

De plus, nous avons aussi vérifié la validité de l'abaque établi avec de l'huile d'avocat Fuerte en réalisant des mélanges naphthaléniques de composition connue en huile, ceci dans le but de tester l'abaque sur toute l'étendue de son échelle (0-30 p. 100). Les huiles utilisées étaient extraites de diverses variétés d'avocats ou d'échantillons de fruits différents de la même variété (Nabal, Fuerte, Zutano) selon la méthode Soxhlet de référence décrite plus haut. Dans tous les cas, nous avons une bonne concordance entre le pourcentage d'huile du mélange élaboré et le pourcentage d'huile trouvé par la méthode réfractométrique. L'erreur relative maximum observée restait inférieure à 6 p. 100, dans les conditions d'une mesure standard et pour la zone la plus

délicate, à savoir celle des teneurs en huile inférieures à 10 p. 100.

Ce qui précède montre que la méthode réfractométrique préconisée pour la mesure de la teneur en huile n'est pas fondamentalement la plus exacte, pour le dosage global de toutes les fractions lipidiques contenues dans la pulpe d'avocat pas plus que ne l'est d'ailleurs la méthode d'extraction de l'huile par solvant. Elle-même reste une méthode globale qui donne un résultat qui devra être interprété diffé-

remment selon que l'on s'intéresse à la teneur en huile du fruit pour déterminer un optimum de développement physiologique et de qualité (maturité, flaveur, texture, goût, etc...) ou à la valeur potentielle commerciale d'un lot de fruits en vue de son utilisation comme matière première en huilerie.

Ayant travaillé sur de la pulpe de fruit lyophilisé, nous avons remarqué que l'eau, ordinairement présente dans la pulpe, avait une incidence sur la valeur de l'indice de réfraction de la solution d'extraction à l'alpha-chloronaphtalène. Comme l'indiquent les valeurs expérimentales rapportées dans le tableau 6, la détermination de la teneur en huile, selon le protocole décrit pour la mesure de l'indice de réfraction, donne une valeur trop élevée quand l'échantillon lyophilisé traité n'a pas été préalablement réhydraté avec une quantité d'eau en proportion équivalente à celle existante dans le fruit frais (tableau 6, expérience n° 1). Dans le cas d'une réhydratation convenable de l'échantillon, on obtient un résultat comparable à celui obtenu par la méthode Soxhlet (tableau 6, expérience n° 4). Les expériences n° 2 et 3 du tableau 6 mettent en évidence que des substances endogènes à l'échantillon lyophilisé autre que l'huile sont dissoutes par le 1-chloronaphtalène changeant ainsi la valeur de l'indice de réfraction de la solution d'extraction naphthalénique. En effet, on remarque que lors de la trituration de l'échantillon de pulpe déshuilée au Soxhlet, le 1-chloronaphtalène se colore en vert clair, témoin d'une extraction de pigments (chlorophylles en particulier). Ces derniers affectent l'indice de réfraction du 1-chloronaphtalène.

Il en est de même avec l'hexane résiduel. En effet comme le montrent les résultats rapportés dans le tableau 7, des quantités très faibles d'hexane présentes dans la solution de 1-chloronaphtalène (2 p. 100) affectent notablement la valeur de l'indice de réfraction de la solution de telle sorte que la lecture sur l'abaque nous donne une valeur de 3,2 p. 100 pour la teneur en huile de la solution alors qu'elle n'en contient en fait pas (tableau 7, expériences 2 et 3).

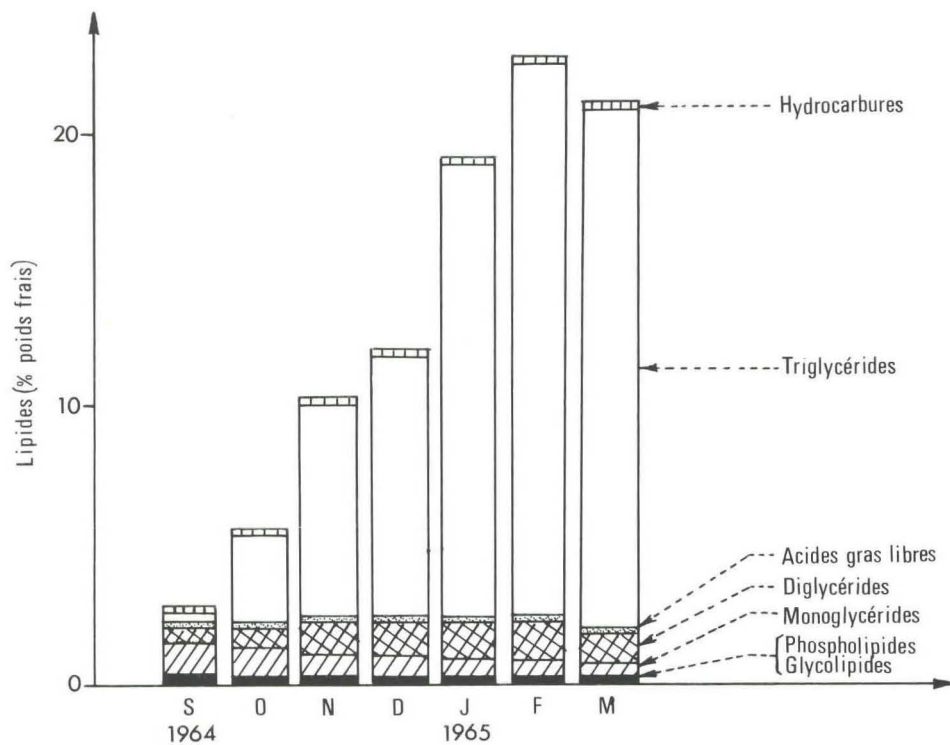


Figure 3 - Variation de la composition des lipides de l'avocat au cours des saisons, variété Fuerte (d'après KIKUTA Y., ERICKSON L.C. (4)).

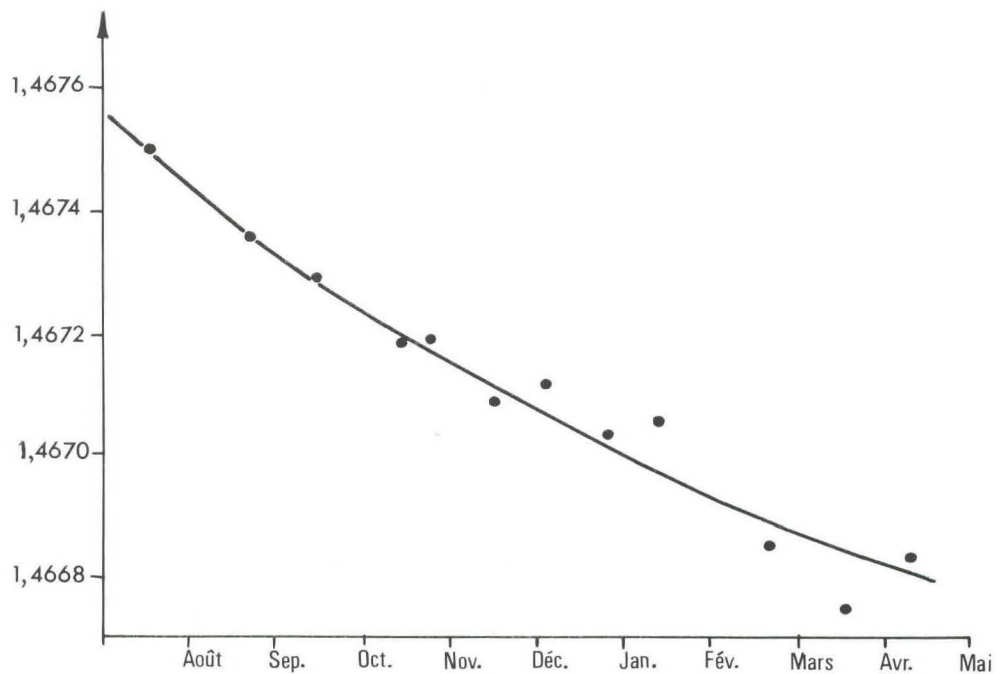


Figure 4 - Variation de l'indice de réfraction de l'huile d'avocat à différentes périodes de l'année. Variété Fuerte (d'après HULME A.C. (15)).

TABLEAU 6 - Mesure des teneurs en huile de la pulpe d'avocat lyophilisé. Incidence de l'addition d'eau à l'échantillon lyophilisé analysé sur la valeur de l'indice de réfraction de la solution naphthalénique d'extraction. Avocat variété Nabal : teneur en huile mesurée par la méthode Soxhlet : 7,4 p. 100.

Expérience N°	Masse de pulpe lyophilisée (g)	Masse d'eau ajoutée à la pulpe lyophilisée (g)	Volume de 1-Cl-N utilisé (ml)	Valeur de l'indice de réfraction mesuré (à 21°C)	p. 100 d'huile calculé par rapport à la pulpe réhydratée (eq.fig.1a) (%)	Traitement spécifique de l'échantillon
1	1,335 1	0,0	5	1,611 6	14	néant échantillon préalablement déshuilé au Soxhlet échantillon déshuilé et tiré sous vide 3 heures néant
2	1,345 9	3,655 5	5	1,621 9	6,4	
3	1,250 1	3,701 5	5	1,623 7	5	
4	1,341,0	3,682 0	5	1,620 2	7,6	

TABLEAU 7 - Incidence de la présence d'hexane en petites quantités dans 1-Cl-N sur l'indice de réfraction de la solution de 1-Cl-N/hexane résiduel

Expérience N°	Volume de 1-Cl-N utilisé (ml)	Hexane ajouté à 1-Cl-N (% de mélange 1-Cl-N/hexane)	Valeur de l'indice de réfraction mesurée (à 21°C)	pourcent d'huile lu sur l'abaque (fig 1a) (%)
1	5	0	1,631 0	0
2	5	2,02	1,628 3	3,2
3	5	6,50	1,611 2	12

Mis en évidence par d'autres auteurs (2, 7), ce fait montre que dans la zone citrique des faibles teneurs en huile, en glycérides s'entend, d'autres constituants organiques de la pulpe solubles dans 1-Chloronaphtalène viennent affecter les valeurs de l'indice de réfraction, rendant ainsi les mesures peu fiables. Cependant, il faut remarquer que les conditions expérimentales de ces essais ne sont pas les conditions standards pour lesquelles on doit utiliser de la pulpe fraîche, non déshydratée.

Pour une amplitude de 0-30 p. 100 de la teneur en huile, nous obtenons une variation de l'indice de réfraction de 593×10^{-4} unité de réfraction soit une variation globale de 2×10^{-3} unité de réfraction par pourcent d'huile (tableau 3). Or, le réfractomètre d'Abbe de laboratoire que nous avons utilisé dans notre étude, permet de lire la troisième décimale et d'apprécier 5×10^{-4} unité de réfraction dans le cas le plus pessimiste. Ceci met la lecture d'un opérateur, sans entraînement particulier, à un niveau de précision qui permettra de donner un résultat avec une précision de valeur absolue $\pm 0,13$ p. 100 pour la teneur en huile, et ce, quelle que soit la valeur de cette teneur.

Les réfractomètres à main que l'on trouve dans le commerce sont moins sophistiqués que ceux de laboratoire. Ils permettent d'apprécier sans problème 5×10^{-3} unité de réfraction, ce qui signifie que les teneurs en huile seront

entachées, dans ces conditions, d'une erreur absolue de $\pm 1,3$ p. 100 sur la valeur de la teneur en huile quel qu'en soit son niveau. Cependant les productions les plus courantes de ce type d'appareil ne permettent d'apprécier que des indices de réfraction se trouvant dans la zone de 1,33 à 1,52 et ce, sur plusieurs gammes. Il existe un modèle peu courant qui couvre la plage 1,325 à 1,647 d'indice de réfraction à l'aide de dix prismes interchangeables (17). Cependant cet appareil est notablement plus lourd que les traditionnels réfractomètres à main.

La construction d'un réfractomètre à main pour le dosage de l'huile dans l'avocat se heurte à des problèmes de dispersion chromatique. En effet, les solutions naphthaléniques utilisées ont des indices de réfraction qui s'évaluent sur une plage allant de 1,58 à 1,63 pour lesquelles les angles des prismes compensateurs du réfractomètre d'Abbe utilisé varient de 25 à 32 (valeurs relevées sur la couronne de positionnement des prismes, graduée par le constructeur).

D'après l'abaque de dispersion chromatique établi pour cet appareil, la valeur de la dispersion $\nu' = \frac{N_D - 1}{N_F - N_c}$ calculée à partir des raies α et β de l'hydrogène (486,1 nm et 656,3 nm) pour ces solutions naphthaléniques est de l'ordre de 22.

C'est là une valeur considérée comme parmi les plus élevées. Cette forte dispersion contribue à diminuer la précision des mesures par le fait que la limite entre les plages sombres et claires permettant de mesurer l'indice n'est pas filiforme. Cependant, les prismes d'Amici installés dans le réfractomètre d'Abbe permettent de compenser, en lumière du jour, cette dispersion. Un pointé précis est alors possible. Cette dispersion demeure un facteur gênant dans le cas des réfractomètres à main qui n'ont pas la possibilité d'une telle compensation. On pourrait contourner la difficulté en achromatisant les rayons incidents venant frapper le prisme. Ceci est réalisé en partie en utilisant un contre prisme en matière synthétique ne laissant passer qu'une faible bande chromatique de radiations. Cependant, on engendre de ce fait une très forte atténuation de l'intensité lumineuse. Il en résulte une certaine difficulté dans le repérage de la limite entre les deux plages quand on travaille en lumière du jour.

L'indice de réfraction est en général une fonction linéaire de la température dans un domaine étroit (10°C). La variation de l'indice est de 0,000 35 par degré au voisinage de 20°C pour les triglycérides (18). Les valeurs des tableaux 3 et 4 confirment cette remarque qui s'explique d'autant plus facilement dans notre cas que les lipides de l'avocat arrivés à l'optimum de son développement sont constitués en majorité par des triglycérides (figure 3). Nos résultats expérimentaux donnent en moyenne une variation de 4×10^{-4} unité de réfraction par degré celsius. Ce qui correspond à une variation absolue de 0,25 p. 100 d'huile en plus ou moins par degré d'écart quand la mesure est faite à une température plus élevée ou plus basse que 21°C, température à laquelle l'abaque de référence a été établi. On à l'équation suivante :

$$(p. 100 \text{ huile})_t = (p. 100 \text{ huile})_{21^\circ\text{C}} + (t - 21) \times 0,25 \text{ p. } 100.$$

Le choix du 1-Chloronaphtalène comme solvant d'extraction trouve ici une justification supplémentaire. Solvant à haut point d'ébullition, il permet d'éviter les phénomènes parasites de variation de concentration des solutions huileuses pendant les manipulations et de se prévenir des gradients de concentration qui se créeraient certainement entre les prismes à faces parallèles avec d'autres solvants plus volatils à cause d'un mauvais équilibre de température. On obtiendrait alors un gradient d'indice qui engendrerait un système interférent gênant pour une lecture précise comme dans le cas des méthodes de strioscopie où ce phénomène est mis à profit pour la mesure de la non-homogénéité des milieux (méthodes de Toepler et Foucault ou de Ronchi et Scharadin).

Le coefficient de température $\Delta n/\Delta t$ des solutions naphthaléniques confectionnées est l'un des plus faibles parmi ceux rencontrés pour les liquides dont les coefficients varient de 4.10^{-4} à 8.10^{-4} . Seule l'eau, pour laquelle $\Delta n/\Delta t = 3.10^{-5}$, fait exception.

Une mauvaise correction de température, une optique de qualité courante peuvent donc être des sources d'erreurs dans l'estimation de la teneur en huile de l'avocat par la méthode réfractométrique. Cependant leur incidence sur le

résultat final reste quand même minime pour des mesures de routine pour lesquelles le but recherché est davantage la mesure globale d'une teneur en huile qu'une analyse exagérément précise des fractions lipidiques que l'on peut trouver dans ce fruit. Les amplitudes des variations des paramètres qui ont permis de construire l'abaque de référence (figure 1a) peuvent être appréciées avec suffisamment de précision (notamment l'indice de réfraction) pour permettre des mesures correctes. Dans les conditions fixées par le protocole, la méthode s'est avérée reproductible. L'abaque s'est révélé être utilisable pour trois variétés d'avocats. Il resterait à vérifier son universalité. La justesse de la méthode n'a été étudiée dans la mesure où le terme «huile» n'est généralement pas défini précisément mais est souvent compris comme dans la définition que nous avons donnée ci-dessus, à savoir : lipides extractibles à l'hexane.

Si l'abaque que nous donnons ici doit être utilisé pour des déterminations de teneur en huile dans la pulpe d'avocat, nous conseillons de vérifier au préalable l'indice de réfraction du 1-chloronaphtalène qui sera utilisé. En effet, il n'est pas rare que l'indice de ce produit varie d'un lot de fabrication à un autre ou bien qu'une altération de ce produit puisse se produire au cours du temps (absorption ou dissolution de substances polluantes). Entre les valeurs données dans le Hand Book (19), celles que nous avons pu mesurer sur divers produits et celles données dans la littérature, des variations de l'ordre de 6.10^{-4} unité de réfraction ont été rencontrées. De même, on doit s'assurer du parfait calage du réfractomètre avant une série de mesures afin que ces mesures ne soient pas entachées d'erreurs systématiques. De ce point de vue, l'opérateur aura intérêt à tenir compte des recommandations rapportées par les normes AFNOR (20) ou ISO (21) codifiant les mesures réfractométriques appliquées à la détermination conventionnelle du résidu sec soluble dans les fruits et légumes.

CONCLUSION

La mesure de la teneur en huile dans l'avocat par la méthode réfractométrique est une méthode relativement fiable et d'une assez bonne reproductibilité. Elle peut être utilisée sans trop de problèmes pour la mesure de la teneur en huile de l'avocat car le protocole est simple et l'instrumentation utilisée robuste et opérationnelle dans pratiquement toutes les situations.

L'équation de l'abaque expérimental témoigne d'une proportionnalité parfaite entre la teneur en huile d'un extrait naphthalénique d'huile de pulpe fraîche d'avocat et l'indice de réfraction correspondant.

Cette méthode peut être utilisée pour déterminer les teneurs en huile contenue dans l'avocat. Le même abaque peut être utilisé dans le cas des variétés Zutano, Nabal (d'origine Mexicaine, Guatémaltèque) et de la variété Fuerte (hybride Guatémaltèque-Mexicain). Il peut être utilisé pour déterminer les teneurs en huile dans des fruits

jeunes ou immatures ou dans des fruits arrivés à leur plein développement ou mûrs.

Le compromis atteint entre la facilité de mise en oeuvre de cette technique et la fiabilité du résultat obtenu font que la méthode réfractométrique s'avère être très intéressante pour des mesures rapides et sûres des teneurs en huile contenues dans la pulpe d'avocat.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier Messieurs PELISSE et DUPRAT, Station de Technologie des Produits végétaux - INRA - Montfavet, pour l'aide qu'ils nous ont apportée dans la réalisation de ce travail.

BIBLIOGRAPHIE

1. LEWIS (C.). 1978. The maturity of avocados. A general review. *J. Agric. Fd Chem.*, 29, 857-866.
2. SCHWOB (R.). 1951. Composition chimique de l'avocat. *Fruits*, 6 (5), p. 177-183.
3. HAENDLER (L.). 1965. L'huile d'avocat et produits dérivés du fruit. *Fruits*, 20 (11), 625-633.
4. KIKUTA (Y.) et ERICKSON (L.C.), 1968. Seasonal changes of avocados lipides during fruit development and storage. *Calif. Avocado Soc. Yearbk*, 52, 102-108.
5. PORTER (R.S.). 1947. *Calif. Dept Agric. Bull.*, 38 (3), 20-26.
6. SHANNON (A.F.). 1949. Refractive index and ether extraction methods for oil in avocados. *Calif. Dept Agr. Bull.*, 38 (3), 127-132.
7. LESLEY (B.E.) et CHRISTIE (A.W.). 1922. Some changes in the composition of California avocados during growth. *Washington D.C., U.S. Department Agricultural Bulletin*, n° 1073.
8. LEWIS (L.E.), MORRIS (R.) et O'BRIEN (K.). 1978. The oil content of avocado mesocarp. *J. Sc. Fd Agric.*, 29, 943-949.
9. LESLEY (B.E.) et CHRISTIE (A.W.). 1929. Use of the refractometric method in the determination of oils in avocados. *In. : Eng. Chem. Anal. Ed.*, 1, 24.
10. AFNOR norme NF V 03-905, décembre 1973.
11. UICPA. Méthodes d'analyses unifiées par la section des MG I B2.
12. Société SOPELEM. Réfractomètre universel type ABBE (RU) - Levallois-Perret (France)
13. Société TRIPETTE et RENAUD. Note d'application n° 7 pour le dosage de la matière grasse avec le Rafatec. Paris (France).
14. MAZLIAK (P.). 1971. Constitution lipidique de l'avocat. *Fruits*, 26 (9), 615-623.
15. HULME (A.C.). 1971. The biochemistry of fruits and their products. *Academic Press, London & New York*, vol. 2, 1-63.
16. MAYNARD (A.I.). 1970. Methods in food analysis. *Academic Press, London*, 2e édition, 238-266.
17. CARL ZEISS JENA. Eintauchrefractometer mit Eintauchprismen - R.D.A.
18. WOLFF (J.P.) 1968. Manuel d'analyse des corps gras. *Azoulay Editeur, Paris*.
19. Handbook of Chemistry and Physics - *CRC Press. Cleveland Ohio*.
20. AFNOR NF V 05-109, décembre. 1970.
21. ISO - norme 2173 - 1978 (F).



ERRATUM.

Une erreur s'est glissée dans l'article de J. GODEFROY (mars 1982, p. 152, 2e colonne, 4e paragraphe, 19e ligne :

Il fallait lire : Ils s'expliquent par la composition biochimique de la matière végétale d'ananas qui est très pauvre en lignine et riche en substances facilement biodégradables».