

## Les caroténoïdes et le $\beta$ carotène dans les jus d'oranges italiens

### Étude comparative des méthodes de détermination

par **Maria CALVARANO**

*Station Expérimentale pour l'Industrie des Essences et des Dérivés d'Agrumes de Reggio de Calabre, Italie.*

La connaissance de la teneur en caroténoïdes des jus d'oranges revêt à l'heure actuelle une importance considérable en raison de l'augmentation de la production des jus et de leur utilisation dans les boissons. Aussi devient-il urgent de protéger ces produits contre certaines manipulations, qui peuvent modifier dangereusement leurs propriétés organoleptiques et nutritives.

La détermination de la teneur en caroténoïdes apportée dans les conditions actuelles, une contribution nouvelle et très utile à l'évaluation de la pureté du produit bien que, évidemment, des falsifications par addition de  $\beta$  carotène soient possibles, soit pour améliorer la coloration des jus qui pour des raisons diverses a subi des modifications, soit simplement pour donner la couleur du jus naturel à des mélanges qui n'ont que peu de rapport avec celui-ci.

Sous le nom de caroténoïdes totaux, nous désignons toutes les substances colorantes présentes dans le jus, pouvant être extraites par l'éther de pétrole et insolubles dans l'alcool méthylique à 90%. Ils constituent un mélange de composition complexe qui s'enrichit toujours de nouvelles découvertes. Récemment CURL et BAILEY (7) ont porté à 24 le nombre des caroténoïdes présents dans le jus d'oranges Valencia de Floride.

La détermination de la teneur en caroténoïdes totaux consiste en une extraction du jus avec des solvants adéquats : éther de pétrole, hexane, acétone, alcool méthylique, alcool éthylique, etc., seuls ou en mélange et ensuite en une évaluation colorimétrique ou photométrique. Les résultats s'expriment en milligrammes de  $\beta$  carotène par litre de jus.

A première vue la technique analytique ne semble pas présenter de difficulté. Cependant, jusqu'à ces derniers temps, les quelques résultats rapportés dans la littérature au sujet de la teneur en caroténoïdes totaux étaient fortement discordants suivant la technique employée. Après une période d'essai incertaine, les travaux récents donnent des chiffres concordants pour la teneur totale en caroténoïdes dans les jus d'oranges.

Dans le tableau I nous avons reporté les résultats des recherches les plus récentes faites en Italie sur la détermination des caroténoïdes totaux.

TABLEAU I

	Caroténoïdes totaux exprimés en $\beta$ carotène (mg/kg)	
	Minimum	Maximum
Pennisi (12).....	12,00	20,00
Pennisi et coll. (13).....	8,00	20,40
Calvarano (8).....	9,80	23,24
Di Giacomo et Rispoli (9).....	8,10	15,60
Calvarano (6).....	7,80	19,88

CURL et BAILEY (8) ont même trouvé un chiffre de 41 mg/kg pour un échantillon de jus d'oranges Valencia de Californie, teneur que ces deux auteurs considèrent toutefois eux-mêmes comme particulièrement élevée.

L'évaluation de la teneur en caroténoïdes totaux dans un jus n'est toutefois pas suffisante pour déceler les additions éventuelles de  $\beta$  carotène, les valeurs limites de la teneur en caroténoïdes étant plutôt larges et pour cela facilement reconsti-

tuables. Une indication plus sûre peut être fournie par la détermination du  $\beta$  carotène et plus précisément par le rapport  $\beta$  carotène/caroténoïdes totaux.

Ces derniers temps, quelques méthodes analytiques se servant précisément de cette détermination pour déceler les additions de carotène aux jus d'oranges concentrés, ont fait leur apparition dans les publications scientifiques.

Sur la teneur en  $\beta$  carotène dans les jus d'oranges on trouve cependant de rares informations.

CURL et BAILEY (8) trouvèrent dans le jus d'orange Valencia de Californie un rapport de 5 % entre les carotènes  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\zeta$  et les caroténoïdes totaux, rapport qui peut s'élever jusqu'à 6,1 %, si l'on y inclut les deux autres carotènes à structure d'hydrocarbures, le phytoène et le phytofluène. Le  $\beta$  carotène seul représente 1,3 % du total.

NATARAJAN et MACKINNEY (11) rapportèrent qu'environ 66 % des pigments du jus d'orange Valencia sont composés d'esters de la xanthophylle, 25 % de xanthophylle libre et 9 % de pigments du type carotène libres ou insaponifiables.

Sinclair (15) rapporte que la fraction représentant les hydrocarbures des caroténoïdes des jus d'oranges siciliens varie entre 3 et 10 % du total.

En examinant les jus concentrés d'oranges ayant une teneur en caroténoïdes totaux de 3,5-9,6 mg/kg, BENK (2) a relevé que le  $\beta$  carotène en représente 9-18 %. Dans un autre travail, au contraire, le même auteur (3), indique pour le  $\beta$  carotène un rapport de 1,9-11,5 %.

ROTHER (14) a effectué récemment une étude approfondie sur 41 échantillons de jus concentrés d'oranges provenant des plus importants centres de production, afin d'établir le rapport existant entre le  $\beta$  carotène et les caroténoïdes totaux. Ce rapport n'est en aucun cas supérieur à 6 %, oscillant entre des valeurs de 1,4 et 5,8 %. Pour la majeure partie des échantillons examinés, les valeurs sont représentées par des chiffres légèrement supérieurs à 2-3 %. Pour les jus italiens purs, des valeurs de 2,0-2,9 % ont été trouvées tandis que pour les jus de Californie et d'Afrique du Sud, les chiffres étaient plus élevés (autour de 5 %). Ces résultats ont été obtenus avec une méthode élaborée par cet auteur.

Cette discordance existant dans la littérature indique clairement les difficultés que présente la détermination de la teneur en  $\beta$  carotène des jus d'oranges.

Il est bien connu que la teneur en caroténoïdes des jus est influencée par de nombreux facteurs : en premier se place la variété du fruit utilisé dont les jus peuvent présenter des caractéristiques diverses et se différencier par la teneur en caroténoïdes et en  $\beta$  carotène.

La maturation provoque des changements dans la composition des caroténoïdes. BAUERNFEIND (1) rapporte en effet que la teneur en caroténoïdes s'élève au cours de la maturation. Il y a par conséquent, d'une manière générale, une augmentation du rapport carotène/xanthophylle et esters de la xanthophylle. Lorsque le fruit atteint l'optimum de la maturation, le lycopène diminue et le carotène augmente. La teneur la plus élevée en carotène se rencontre pendant la période de récolte (10).

Le climat (16) et la technique d'extraction du jus (3) exercent également une influence sur la teneur en caroténoïdes.

La technique analytique employée représente enfin un facteur déterminant pour une évaluation exacte du  $\beta$  carotène dans les jus d'oranges. Les méthodes employées jusqu'à présent ont recours en général à la séparation par chromatographie sur colonne du  $\beta$  carotène, en éluant avec des solvants adéquats et en faisant ensuite une détermination photométrique. Le choix de l'adsorbant et du solvant, ou du mélange des solvants à employer, revêt évidemment une grande importance. Le degré d'activation de l'adsorbant, la vitesse de l'éluion et, dans le cas particulier du  $\beta$  carotène, l'action de l'air et de la lumière au cours de la séparation, influent également sur la détermination.

En fonction de tous ces facteurs qui ont une incidence sur la détermination exacte de la teneur en  $\beta$  carotène dans les jus d'oranges, le problème primordial qui se pose est de connaître le plus précisément possible les caractéristiques des jus provenant de divers pays de production en ce qui concerne leur teneur en caroténoïdes totaux et en  $\beta$  carotène en suivant le cycle entier de la maturation du fruit. En même temps apparaît la nécessité de rechercher une méthode unique standardisée qui soit au maximum indépendante des facteurs qui faussent les résultats et qui puisse assurer une très bonne reproductibilité.

Avec le présent travail, nous apportons notre contribution à la solution de cet important problème. Il a donc le double but d'indiquer les caractéristiques des jus d'oranges italiens et de comparer quelques méthodes parues dans la littérature pour l'évaluation des caroténoïdes totaux et du  $\beta$  carotène.

Au cours de notre étude analytique, nous avons examiné 48 échantillons de jus obtenus au laboratoire avec des oranges prélevées durant la période de janvier à avril dans les usines de transformation et provenant de la zone de la Piana qui fournit à l'industrie la presque totalité de la matière première, de la zone ionienne et d'autres zones de moindre production.

Pour la détermination nous avons employé trois méthodes qui se différencient entre elles par le type de solvant employé soit dans l'extraction des caroténoïdes totaux soit dans l'éluion du  $\beta$  carotène.

De ces méthodes, deux ont été employées pour l'examen de la totalité des échantillons et la troisième, dont nous avons eu connaissance alors que notre travail était déjà en cours, a été appliquée seulement à 20 échantillons compris dans la période mars-avril.



## DESCRIPTION DES MÉTHODES

### PREMIÈRES MÉTHODES : CALVARANO.

L'extraction des caroténoïdes totaux du jus a été effectuée suivant les règles déjà décrites dans un précédent travail de I. CALVARANO (6).

On centrifuge 100 ml de jus naturel à 3 500 t/mn pendant 15 mn. On filtre sur Buchner et on épuise le liquide par deux fois avec un mélange éther de pétrole-acétone dans la proportion de 70 : 30. On transporte le résidu de la centrifugation dans un Becher de 250 ml et on y ajoute le solvant employé pour l'extraction du filtrat. On agite mécaniquement pendant quelques minutes ; on élimine le solvant et on continue l'extraction, en agitant toujours mécaniquement, avec des fractions successives du mélange de solvants jusqu'à obtenir un extrait incolore.

On réunit les diverses fractions de solvants, on lave avec de l'eau, puis avec des petites quantités d'alcool méthylique à 90% jusqu'à ce qu'il reste incolore. On lave encore avec de l'eau, on sèche sur du sulfate de sodium anhydre, on filtre sur coton qu'on lave ensuite avec de l'éther de pétrole, on évapore le tout au bain-marie à 80° jusqu'à éliminer tout l'acétone et on porte finalement à 100 ml avec de l'éther de pétrole (solution A). 10 ml de cette solution sont étendus à 25 avec de l'éther de pétrole et on mesure l'absorption à 452 m $\mu$  par rapport à l'éther de pétrole avec un spectrophotomètre Beckman DU.

On exprime la teneur en caroténoïdes totaux, en  $\beta$  carotène par litre de jus en tenant compte que l'extinction d'une solution de  $\beta$  carotène à 1 % dans l'éther de pétrole à 452 m $\mu$  est égale à 2 560 (9).

Le  $\beta$  carotène a été déterminé par photométrie après séparation par chromatographie sur colonne d'alumine. Le reste de la solution A a été concentré jusqu'en un petit volume et introduit dans une colonne (11 mm  $\times$  100 mm) d'alumine Merck pour chromatographie standardisée selon Brockmann, préalablement lavée avec de l'éther de pétrole. Après adsorption de la solution on a procédé à l'élution du  $\beta$  carotène par addition d'un mélange : éther de pétrole-acétone (98 : 2) selon une prescription de Merck (17). L'élution a été favorisée par une très légère aspiration.

L'opération est très rapide et déjà les premiers millilitres de l'éluant amènent une séparation assez nette des zones. La zone inférieure colorée en jaune orange très intense contient le  $\beta$  carotène et est par suite éluee complètement et recueillie.

On élimine de l'éluat tout l'acétone par évaporation, on porte le résidu à 25 ml avec de l'éther de pétrole et on mesure l'absorption à 452 m $\mu$ , exprimant les résultats en mg de  $\beta$  carotène par litre de jus.

### DEUXIÈME MÉTHODE : BENK.

Dans cette seconde méthode c'est la technique décrite par BENK (4) qui est appliquée. 50 ml de jus d'oranges sont traités dans une ampoule à décantation avec 150 ml d'un mélange éther de pétrole-alcool méthylique 1 : 1, en agitant énergiquement pendant 5 mn. On laisse séparer les deux couches. On soutire la couche inférieure, que l'on épuise par deux fois avec de petites quantités du solvant éther de pétrole-alcool méthylique, puis on met de côté. On réunit les différentes portions du solvant et on filtre. BENK prescrit la filtration sur coton qu'on lave ensuite avec le solvant, mais puisque nous opérons sur une quantité plus grande de produit, cette phase devient très longue et difficile, tout en causant des pertes. Aussi avons-nous préféré filtrer sur un petit Buchner préparé avec une couche de sulfate de sodium anhydre qui évite l'engorgement du filtre par les petits fragments de pulpe qui demeurent en suspension dans le solvant, et qui est en outre facilement lavable avec de l'éther de pétrole.

On remet le filtrat limpide ainsi obtenu dans une ampoule à décantation, on lave avec 50 ml d'eau, puis avec des portions de 25 ml d'alcool méthylique à 90 % jusqu'à ce qu'il reste incolore. On lave encore avec de l'eau pour enlever les dernières traces d'alcool méthylique, on sèche sur du sulfate de sodium anhydre et on porte à 200 ml avec de l'éther de pétrole (solution A).

On mesure l'absorption de cette solution à 452 m $\mu$  au lieu de 470 comme le recommande BENK, étant donné que l'absorption maximum du  $\beta$  carotène se trouve autour de 450 m $\mu$  et on calcule les caroténoïdes totaux exprimés en  $\beta$  carotène par litre de jus.

On réduit 100 ml de la solution A à un petit volume par évaporation sous vide et on introduit dans une colonne (11 mm  $\times$  100 mm) d'alumine pour chromatographie selon Brockmann. On procède

à l'éluat du  $\beta$  carotène avec un mélange éther de pétrole-benzène 3 : 2 jusqu'à ce que le solvant passe incolore. On recueille l'éluat, on évapore jusqu'à siccité, on porte à 25 ml avec de l'éther de pétrole et on mesure l'absorption à 452 m $\mu$ , en calculant la teneur en  $\beta$  carotène comme à l'ordinaire.

#### TROISIÈME MÉTHODE : ROTHER.

La méthode qui suit est celle indiquée par ROTHER (14). Dans un Becher de 250 ml on introduit 20 ml de jus auquel on ajoute une pointe d'acide ascorbique, une quantité à peu près égale de palmitate d'ascorbyle rendu légèrement alcalin avec de l'ammoniaque et 4 g de sulfate de sodium. On ajoute ensuite 120 ml d'un mélange constitué d'éther de pétrole, d'alcool éthylique, d'éther éthylique dans les proportions respectives de 20, 3 et 10. On agite mécaniquement pendant 20 mn. On transporte le tout dans une ampoule à décantation, on soutire la couche aqueuse qu'on épuise par deux fois au moins avec de petites portions du mélange solvant qui sont ensuite réunies à la couche organique. On lave ensuite avec de l'eau pour éliminer tout l'alcool, on sèche sur sulfate de sodium anhydre, on filtre sur un filtre à filtration lente, on lave bien le sulfate de sodium avec de l'éther de pétrole en séchant éventuellement sur Buchner et on porte à 200 ml avec de l'éther de pétrole.

On mesure l'absorption à 452 m $\mu$  et on calcule la teneur en caroténoïdes totaux en l'exprimant en  $\beta$  carotène par litre de jus.

On procède par la suite à la détermination du  $\beta$  carotène.

Pour cela la solution restant après la détermination des caroténoïdes totaux, environ 180-190 ml, est évaporée jusqu'à siccité, et est reprise avec quelques millilitres d'éther de pétrole. Elle est introduite dans une colonne d'alumine par chromatographie d'après Brockmann, préalablement désactivée partiellement au moyen d'une addition de 8 % d'eau.

On élue avec de l'éther de pétrole jusqu'à ce que celui-ci sorte incolore de la colonne, on porte à 25 ml avec de l'éther de pétrole, on mesure l'absorption à 452 m $\mu$  et on calcule la teneur en  $\beta$  carotène par litre de jus.

On lave ensuite la colonne d'alumine avec de l'acétone en recueillant ainsi la totalité des caroténoïdes à l'exception de ceux de nature acide qui restent fixés au sommet de la colonne. On évapore l'éluat jusqu'à siccité, on porte à 50 ml avec de l'éther de pétrole et, après mesure de l'absorption à 452 m $\mu$ , on détermine la teneur en caroténoïdes qui servira à calculer le rapport  $\beta$  carotène/caroténoïdes totaux.

## RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Nous reportons dans le tableau II les valeurs analytiques relatives à la teneur en caroténoïdes totaux et  $\beta$  carotène des 48 échantillons de jus d'oranges examinés.

Ainsi qu'il a été dit, les échantillons compris dans la période janvier à avril ont été examinés par deux méthodes et vingt échantillons de la période mars-avril ont été analysés par les trois méthodes. Même dans ces conditions il nous semble toutefois possible d'examiner comparativement ces trois méthodes à la lumière des résultats obtenus et d'après les observations d'ordre pratique faites au cours de leur exécution.

En ce qui concerne la teneur en caroténoïdes totaux, on peut retenir que les trois méthodes donnent des résultats en général concordants.

En effet la méthode n° 1 a fourni des valeurs qui varient de 7,65 à 19,90 mg/l ; avec la méthode n° 2 on a eu des valeurs comprises entre 7,52 et 19,72 mg/l. Pour les échantillons examinés avec la méthode n° 3 on ne peut établir une limite minimum, puisqu'elle n'a pas été appliquée au cours de la période dans laquelle on a enregistré les valeurs les plus basses. En comparant toutefois les résultats particuliers avec ceux obtenus par les autres méthodes on peut relever que cette dernière méthode fournit des données légèrement plus élevées, atteignant un maximum de 20,70 mg/l contre 19,90 et 19,72 obtenus avec les autres méthodes. Ceci peut être expliqué par les diverses précautions recommandées par ROTHER en ce qui concerne l'extraction des caroténoïdes. En effet, comme l'observe cet auteur, la présence de l'alcool éthylique dans le mélange solvant empêche la formation d'une émulsion trop résistante et permet en même temps la séparation des deux couches avec une rapidité considérable. On évite en outre l'extraction des substances solubles dans l'alcool méthylique à 90 %, parce que celles-ci restent dès le début dans la phase aqueuse.

L'action préjudiciable de l'air et de la lumière au cours de l'extraction est limitée par la présence d'antioxydants comme l'acide ascorbique ou le palmitate d'ascorbyle.



TABLEAU II

n°	Date	Méthode 1		Méthode 2		Méthode 3			
		Caroténoïdes totaux mg/litre	$\beta$ carotène mg/litre	Caroténoïdes totaux mg/litre	$\beta$ carotène mg/litre	Caroténoïdes totaux mg/litre	$\beta$ carotène mg/litre	Caroténoïdes extraits avec acétone mg/litre	$\beta$ carotène + caroténoïdes dans acétone mg/litre
1	3-1-62	7,90	1,30	7,81	0,13				
2	5-1-62	7,65	1,30	7,52	0,25				
3	7-1-62	8,59	1,28	8,45	0,20				
4	9-1-62	7,80	1,27	7,66	0,15				
5	10-1-62	8,69	1,08	8,65	0,21				
6	11-1-62	8,88	0,83	8,66	0,17				
7	12-1-62	8,38	1,15	8,10	0,19				
8	13-1-62	9,18	1,36	9,10	0,20				
9	15-1-62	10,74	1,58	10,60	0,25				
10	17-1-62	9,62	1,40	9,52	0,19				
11	19-1-62	9,76	1,57	9,68	0,20				
12	20-1-62	10,30	0,79	10,19	0,25				
13	22-1-62	9,00	1,20	9,02	0,17				
14	26-1-62	8,00	1,42	7,88	0,17				
15	30-1-62	8,95	1,50	8,78	0,12				
16	8-2-62	9,78	1,34	9,20	0,20				
17	8-2-62	11,60	1,51	11,56	0,25				
18	10-2-62	12,00	1,68	11,70	0,30				
19	13-2-62	11,80	1,59	11,50	0,35				
20	16-2-62	13,27	1,63	13,17	0,27				
21	20-2-62	13,95	1,55	13,72	0,32				
22	23-2-62	13,60	1,40	13,40	0,28				
23	25-2-62	12,83	1,35	12,56	0,38				
24	28-2-62	12,00	1,45	11,84	0,35				
25	1-3-62	12,55	1,38	12,50	0,35				
26	3-3-62	12,83	1,58	12,88	0,40				
27	5-3-62	13,08	1,45	12,89	0,30				
28	6-3-62	13,60	1,60	13,44	0,25				
29	7-3-62	13,28	1,73	13,24	0,33	13,90	0,19	10,83	11,02
30	8-3-62	15,80	1,75	15,60	0,35	14,10	0,22	11,11	11,33
31	8-3-62	13,38	1,67	13,34	0,28	14,26	0,20	12,85	13,05
32	9-3-62	15,78	2,73	15,62	0,27	14,65	0,27	12,44	12,71
33	10-3-62	14,50	2,74	14,50	0,37	15,70	0,30	13,88	14,18
34	12-3-62	13,40	1,96	13,28	0,31	17,58	0,30	15,41	15,71
35	13-3-62	14,80	2,81	14,68	0,27	15,63	0,28	14,39	14,67
36	14-3-62	13,26	2,73	13,28	0,23	17,19	0,30	13,36	13,66
37	15-3-62	13,30	2,38	13,28	0,27	18,75	0,30	12,18	12,48
38	16-3-62	15,20	2,38	15,15	0,35	18,75	0,28	13,36	13,64
39	16-3-62	16,53	2,27	16,30	0,35	18,56	0,30	13,15	13,45
40	18-3-62	16,90	2,40	16,70	0,30	17,98	0,27	12,86	13,13
41	20-3-62	14,88	2,51	14,73	0,36	16,13	0,26	13,10	13,36
42	21-3-62	16,08	2,45	16,01	0,38	16,41	0,27	12,62	12,89
43	23-3-62	15,28	2,82	15,23	0,31	16,02	0,25	12,85	13,10
44	24-3-62	16,70	2,60	16,64	0,39	18,55	0,33	13,82	14,05
45	28-3-62	16,35	2,60	16,28	0,25	17,00	0,25	13,16	13,41
46	30-3-62	15,80	2,25	15,60	0,29	17,19	0,30	13,80	14,10
47	8-4-62	17,38	3,00	17,18	0,35	20,50	0,35	18,00	18,35
48	19-4-62	19,90	2,98	19,72	0,40	20,70	0,35	18,20	18,55

L'addition du sulfate de sodium jusqu'à saturation de la phase aqueuse provoque une forte accélération du processus d'extraction et de la séparation des couches. En effet les caroténoïdes sont fortement liés aux tissus cellulaires (18). C'est pourquoi il est nécessaire que le solvant organique pénètre profondément dans les particules pour qu'ils puissent être extraits quantitativement et une plus grande concentration en électrolytes favorise la pénétration du solvant en agissant probablement sur l'eau adhérent aux particules cellulaires.

Pour ce qui est de la teneur en caroténoïdes totaux dans les jus que nous avons examinés, on peut enfin noter son augmentation progressive au cours de la maturation.

Les trois méthodes ont donné au contraire des résultats discordants dans la détermination du  $\beta$  carotène et plus précisément les résultats obtenus avec la méthode n° 1 s'écartent notablement de ceux fournis par les deux autres (tableau II et III). En effet la méthode n° 1 donne une teneur en  $\beta$  carotène égale à 7,66-20,58 % des caroténoïdes totaux tandis qu'avec les deux autres méthodes les valeurs ne dépassent pas de beaucoup 3 %.

Les pourcentages élevés fournis par la méthode n° 1 s'expliquent à notre avis par le fait que le mélange solvant employé pour l'éluion du  $\beta$  carotène éther de pétrole-acétone (98 : 2) retire de la colonne également d'autres substances. Ces substances ne sont probablement pas seulement les carotènes  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\zeta$  et le phytofluène qui sont disposés dans la partie inférieure du chromatogramme (15), parce que comme CURL et BAILEY l'ont rapporté (8), ils représentent au maximum 6,1 % des caroténoïdes totaux, mais on doit penser que l'acétone présent dans le mélange est capable de déplacer aussi les substances oxygénées qu'on trouve dans d'autres zones du chromatogramme.

Au cours de l'application de la méthode, nous avons pu observer en outre que les résultats sont rarement reproductibles et cela apparaît d'une manière évidente dans le tableau III où l'on observe que la progression des valeurs est quelque peu désordonnée en ce sens qu'on trouve des pourcentages de  $\beta$  carotène plus bas pour une teneur en caroténoïdes totaux plus élevée, alors qu'on devrait s'attendre à trouver une augmentation proportionnelle du  $\beta$  carotène avec l'augmentation des caroténoïdes totaux (1).

TABLEAU III  
Rapport en pourcentage carotène - caroténoïdes totaux

Echantillon n°	Méthode 1	Méthode 2	Méthode 3 *	
1	16,45	1,66		
2	16,99	3,32		
3	14,90	2,36		
4	16,28	1,95		
5	12,42	2,42		
6	9,34	1,96		
7	13,72	2,34		
8	14,01	2,19		
9	14,71	2,35		
10	14,55	1,99		
11	16,08	2,06		
12	7,66	2,45		
13	13,33	1,68		
14	17,75	2,15		
15	16,75	1,36		
16	13,70	2,04		
17	11,60	2,16		
18	14,00	2,56		
19	13,47	3,04		
20	13,28	2,05		
21	11,11	2,33		
22	10,29	2,08		
23	10,52	3,02		
24	12,08	2,95		
25	10,99	2,60		
26	12,31	3,10		
27	11,08	2,32		
28	11,76	1,86		
29	13,02	2,49	1,38	1,72
30	11,07	2,24	1,56	1,94
31	12,48	2,09	1,40	1,53
32	17,30	1,72	1,84	2,12
33	18,89	2,55	1,91	2,11
34	14,62	2,33	1,70	1,90
35	18,98	1,83	1,79	1,90
36	20,58	1,73	1,74	2,19
37	17,89	2,03	1,60	2,40
38	15,65	2,31	1,49	2,05
39	13,73	2,14	1,61	2,23
40	14,20	1,79	1,50	2,05
41	16,86	2,44	1,61	1,94
42	15,23	2,37	1,64	2,09
43	18,45	2,03	1,56	1,90
44	15,56	2,34	1,77	2,34
45	15,90	1,53	1,47	1,86
46	14,24	1,85	1,74	2,12
47	17,26	2,03	1,70	1,90
48	14,97	2,02	1,69	1,88

\* - Rapport en pourcentage entre le  $\beta$  carotène et la somme des caroténoïdes élus dans la colonne avec acétone et du carotène déterminé auparavant

A notre avis ces erreurs sont dues en partie à l'action exercée par la lumière et l'air sur les carotènes, action qui est davantage marquée dans la seconde partie de l'application de la méthode, dans la mesure où le  $\beta$  carotène reste exposé plus longtemps lors des diverses opérations, et en partie aux variations incontrôlables du degré d'activité de l'alumine.

La méthode n° 2 relève pour les jus d'oranges italiens une teneur en  $\beta$  carotène qui va de 1,66 à 3,32%, par rapport aux caroténoïdes totaux, valeur qui comme on le voit est loin de la limite maximum de 18 % fournie par BENK (2).

Pour cette méthode dont on rapproche pourtant les résultats de ceux obtenus avec la méthode 3 nous avons observé en général une mauvaise reproductibilité. Le point faible de cette méthode est, à notre avis, représenté par le choix du type de solvant employé pour l'élution.

L'addition de benzène à l'éther de pétrole augmente la rapidité de migration non seulement du  $\beta$  carotène, mais encore des autres substances. D'autre part étant donné la petite quantité de  $\beta$  carotène à éluer on rend quasiment impossible l'évaluation visuelle de la fin de l'élution et l'on risque de la prolonger jusqu'à entraîner d'autres substances dans la solution. La séparation des diverses zones n'est pas suffisamment nette pour garantir la précision maximum de la détermination.

La méthode n° 3 est, à ce qu'il nous semble, la plus apte à fournir les garanties de précision et de reproductibilité des résultats.

L'addition d'une certaine quantité d'eau à l'adsorbant rend la méthode indépendante des fluctuations dues à son degré d'activation, et garantit en outre une meilleure séparation du  $\beta$  carotène, sans augmenter la rapidité de migration des autres composés. Dans ces condi-

tions le  $\beta$  carotène peut être facilement élué avec le seul éther de pétrole.

Dans cette méthode le rapport du  $\beta$  carotène se calcule de préférence par rapport à la somme du  $\beta$  carotène et des caroténoïdes élus dans la colonne par l'acétone en comprenant dans cette fraction tous les caroténoïdes à l'exception de ceux de nature acide.

De cette manière, on obtient des valeurs plus exactes dans la mesure où on fait abstraction des pertes de  $\beta$  carotène et on peut en outre éventuellement déceler l'addition d'autres colorants artificiels qui ne sont pas solubles dans l'acétone.

Les valeurs de  $\beta$  carotène obtenues avec cette méthode représentent des chiffres qui ne dépassent pas 2 % des caroténoïdes totaux et atteignent 2,40 % dans le rapport entre le  $\beta$  carotène et la somme  $\beta$  carotène + caroténoïdes élus avec l'acétone.

## CONCLUSIONS

La détermination de la teneur en  $\beta$  carotène par rapport aux caroténoïdes totaux offre, mieux que la simple évaluation du complexe des caroténoïdes, la possibilité de déceler les falsifications des jus d'oranges réalisées par des additions de  $\beta$  carotène synthétique.

On souligne la nécessité de fournir aux analystes les informations les plus larges et les plus complètes au sujet de la teneur en  $\beta$  carotène et en caroténoïdes totaux des jus provenant des divers pays de production.

Pour l'évaluation de ces constituants une importance considérable est attribuée à la méthode analytique à suivre. D'après les résultats obtenus au cours du présent travail et des observations pratiques qui ont pu être faites, on



peut conclure qu'entre les méthodes le plus connues pour cette détermination, celle indiquée et perfectionnée par ROTHER doit avoir la préférence.

Elle offre d'appréciables avantages de facilité d'exécution, réduit au minimum les causes d'erreur et présente une bonne reproductibilité.

Les jus d'oranges italiens obtenus de fruits récoltés dans la période janvier-avril durant laquelle ils ont été dirigés vers la fabrication industrielle présentent une teneur en caroténoïdes qui augmente au cours de la maturation et qui va d'un minimum de 7,80 à un maximum de 19,90 mg/litre s'ils ont été examinés avec la méthode n° 1.

La méthode n° 2 a fourni pour les mêmes échantillons des valeurs de 7,52 à 19,72 mg/l, alors qu'avec la méthode n° 3 ont été atteints des chiffres maxima de 20,70 mg/l.

Quant au rapport existant entre les teneurs en  $\beta$  carotène et en caroténoïdes totaux, on signale que s'il est déterminé par la méthode ROTHER, qui offre le plus de sécurité, il n'atteint pas 3 p. cent.

Les résultats obtenus par la méthode ROTHER, même s'ils ne concernent que 20 échantillons, peuvent pourtant être considérés comme significatifs pour établir la limite maxima de la teneur en  $\beta$  carotène, dans la mesure où les échantillons ont été obtenus dans la période pendant laquelle on enregistre, comme on le sait, les valeurs les plus élevées.

En raison de l'importance considérable du problème concernant la détermination de la teneur en  $\beta$  carotène des jus d'oranges nous nous proposons de compléter notre étude au cours de la prochaine campagne, par des analyses d'échantillons couvrant le cycle entier de la maturation du fruit.

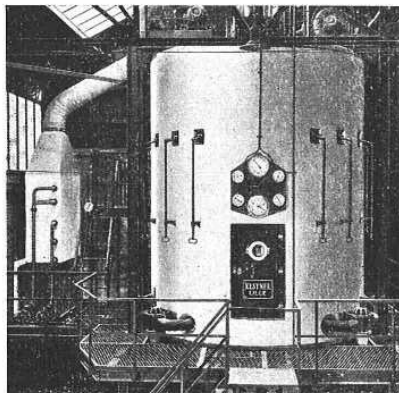
*Communication présentée au 6<sup>e</sup> Congrès International d'Agrumiculture Méditerranéenne (Nice, mai 1962) Section Industrie.*

Traduit par L. BUR.

Adapté par R. SCHWOB.

#### BIBLIOGRAPHIE

- (1) BAUERNFEIND, J. C. — Symposium Fruchtsaft-Konzentrat. Bristol, 1958, p. 266.
- (2) BENK, E. — Mineralwasser, 14, 469 (1961).
- (3) BENK, E. — Dtsch Lebensm. Rdsch. 57, 324 (1961).
- (4) BENK, E. — Naturbrunnen, 3, 46 (1960).
- (5) CALVARANO I. — Essence-Deriv. agr., 30, 3 (1960).
- (6) CALVARANO I. — Essence-Deriv. agr., 31, 5 (1961).
- (7) CURL A. L. et BAILEY G. F. — Food Techn., 13, 394 (1959).
- (8) CURL A. L. et BAILEY G. F. — Food Research 20, 371 (1955).
- (9) DI GIACOMO A. et RISPOLI G. — Conserv. Deriv. agr., 9, 171 (1960).
- (10) LIME B. T. — Food Techn., 8, 566 (1954).
- (11) NATARAJAN C. P. et MACKINNEY G. — J. Sci. Ind. Res., 11 B 416 (1952).
- (12) PENNISI L. — Rivista Agrum., 1, 225 (1956).
- (13) PENNISI L. et COLL. — Rivista Agrum., 1, 401 (1956).
- (14) ROTHER H. — Naturbrunnen, 11, 204 (1961).
- (15) SINCLAIR W. B. — The orange. Its Biochemistry and Physiology. University of California Printing Department, 1961 p. 312 et suiv.
- (16) STEANS C. R. et YOUNG G. F. — Florida State Hort. Soc. Proc., 55, 59 (1942).
- (17) Vitaminanalyse, Herausg. E. Merck, Darmstadt.
- (18) WODSACK W. — Die Nahrung 4, 170 (1960).



## KESTNER

7, rue de Toul, Lille (Nord)

Téléph. : 57-34-60 et la suite.

### ÉVAPORATEURS

pour jus de fruits avec récupération des arômes

### SÈCHEURS-ATOMISEURS

pour fabrication d'extraits solubles en poudre

Sécheur-Atomiseur