

# Quinzièmes journées de l'aromatisation Grenoble, 7-8 octobre 1983.

## "Les nouveautés en aromatisation"

Centre européen de Recherche sur l'Aromatisation.

*Les 15ème Journées de l'Aromatisation organisées comme chaque année, et avec autant de bonheur, par Madame le Professeur VERAÏN et Messieurs les Professeurs ROUZET et TRAISNEL, ont eu pour thèmes : La réglementation, la technologie, la formulation et l'analyse. Nous proposons ici au lecteur, un compte rendu des principales communications, en l'invitant à se référer à la revue «LABO PHARMA» qui publiera dans le courant de l'année 1984 les textes complets fournis par les auteurs.*

R. HUET \*

### LE PROJET DE REGLEMENTATION DES SUBSTANCES AROMATISANTES

M. CHARPIN - Service des Fraudes - Paris

La réglementation actuelle de l'usage des substances aromatisantes repose sur la loi du 1<sup>er</sup> août 1905 et sur les différents décrets concernant l'usage des additifs alimentaires qui l'ont complétée. Le principe essentiel étant que l'adjonction de substances chimiques aux denrées alimentaires et aux boissons n'est pas la règle, mais l'exception.

Dans l'attente d'une réglementation plus précise, une convention entre l'administration et les fabricants d'arômes alimentaires a été établie en 1957, admettant l'usage des agents aromatisants artificiels dont l'innocuité a été reconnue soit par le long usage, soit par l'expérience. Cette convention a été ratifiée par le Ministère de l'Agriculture en 1963. Mais elle se trouve très dépassée actuellement. L'usage, de plus en plus répandu, des arômes et des composés aromatiques, les progrès réalisés dans l'extraction et la synthèse, les réglementations adoptées dans les pays étrangers, imposent la mise en place d'une réglementation moderne, bien adaptée à l'usage des arômes.

### Classification des agents aromatisants.

On se propose d'adopter une classification suffisamment large pour inclure tous les cas possibles, sans multiplier les titres. Cette classification comprendra les chapitres suivants :

- Extraits naturels : par exemple : les produits tirés des aromates : extraits de vanille, huile essentielle d'orange, jus concentré de fraise.
- Extraits composés naturels : mélanges d'extraits naturels.
- Arômes renforcés : matières aromatisantes naturelles renforcées par l'adjonction de substances de synthèse, dans des proportions définies.
- Arômes reproduits : compositions contenant des substances synthétiques, identiques au naturel : citral, menthol, décanal.
- Préparations aromatiques : mélanges complexes globalement préparés par le chauffage d'un mélange naturel pré-curseur : ex. : arômes de type Maillard.

### Fabrication et utilisation des arômes.

Divers arrêtés réglementeront le choix des solvants, des supports, des véhicules d'arômes.

Le fabricant sera tenu à établir une fiche de composition pour faciliter les contrôles.

- Règle d'autorisation d'emploi : le principe des listes positives - tout ce qui n'est pas autorisé est interdit - a été retenu. On établira une liste de produits autorisés ; mais n'y figureront pas les composés naturels et les composés de synthèse identiques aux naturels. Cette liste sera complétée par une liste de composés naturels reconnus toxiques : liste négative où tout ce qui n'est pas interdit est autorisé. On a donc une liste de produits interdits.

- Règle d'étiquetage : on souhaite un étiquetage explicite avec la qualification de l'origine des arômes : naturels, artificiels, reproduits. Comme la représentation de l'arôme suggère la présence d'un produit naturel, il sera nécessaire d'étudier une représentation « graduée », s'il est fait usage d'arômes de synthèse.

- Le contrôle : il est destiné à assainir le marché. Les problèmes analytiques et toxicologiques seront confiés à des commissions mixtes. Les produits importés seront soumis aux mêmes règles.

- Propositions des fabricants : les industriels proposent de réserver aux listes positives les substances artificielles, et d'utiliser les listes négatives pour tous les autres composants. L'adoption de listes positives est en fait controversée, car, si le principe donne bien satisfaction aux consommateurs, le nombre considérable de substances aromatiques rend leur établissement difficile.

### DEVIATION ISOTOPIQUE ET SON EMPLOI DANS LE DOMAINE DES SUBSTANCES AROMATISANTES

Professeur DERBEZY, E N C I M - Marseille.

On sait que les éléments de base des composés organiques, carbone, oxygène, hydrogène, azote, se présentent sous diverses formes isotopiques. Par suite de la présence d'un ou plusieurs protons supplémentaires dans leurs noyaux, ces atomes peuvent avoir des masses différentes :

A côté de l'hydrogène  $^1\text{H}$  on observe aussi, en très petite quantité,  $^2\text{H}$  le deutérium et  $^3\text{H}$  le tritium.

L'oxygène  $^{16}\text{O}$  est accompagné de  $^{17}\text{O}$  et de  $^{18}\text{O}$ .

L'azote  $^{14}\text{N}$ , de  $^{15}\text{N}$ , le carbone  $^{12}\text{C}$  se présente aussi sous forme de  $^{13}\text{C}$  et de  $^{14}\text{C}$ . Certains de ces isotopes sont stables, les autres instables, sont radioactifs :  $^{14}\text{C}$ , 32p.

Si l'on appelle R le rapport quantitatif entre deux isotopes d'une même élément, par exemple  $R = ^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  dans une molécule organique, et si nous comparons ce rapport dans un étalon standard, par exemple l'azote atmosphérique, on appellera déviation isotopique :

$$\delta 1 = \frac{R \text{ échantillon} - R \text{ étalon}}{R \text{ étalon}} \text{ ou bien :}$$

$$\delta o/oo = \delta 1 \times 1000 = \left[ \frac{R \text{ échantillon}}{R \text{ étalon}} - 1 \right] 1000$$

Pour l'hydrogène et l'oxygène, on utilise l'étalon SMOW (Standard Mean Ocean Water) ; pour le carbone, l'étalon PDB (Pee Dee Belemnite = gaz carbonique libéré d'une roche calcaire de Caroline du Sud).

Le  $^{14}\text{C}$ , radioactif, est instable. Il se désintègre lentement. Si un composé organique est obtenu par synthèse à partir de carbone fossile (pétrole, charbon), il contiendra moins de  $^{14}\text{C}$  qu'un composé organique isolé d'un végétal contemporain.

Ainsi, pour la vanilline synthétisée à partir de gaïacol (fossile), le taux de radioactivité de  $^{14}\text{C}$  par minute et par g sera  $< 0,3$ , mais pour la vanilline synthétisée à partir de la lignine ou extraite d'une oléorésine de gousse, le taux de désintégration sera de 18,2. On peut de même, distinguer l'anéthole extrait de la badiane, et l'anéthole synthétique.

Les mesures de déviation isotopique du  $^{13}\text{C}$  par rapport au  $^{12}\text{C}$  permettent de mettre en évidence des composés issus de cycles biosynthétiques différents. La plupart des plantes qui utilisent le cycle photosynthétique de CALVIN ( $\text{C}_3$ ) ont un  $\delta ^{13}\text{C}$  entre -22 et -33. Celles qui ont un cycle photosynthétique de type HATCH-SLACK ( $\text{C}_4$ ) ont un  $\delta ^{13}\text{C}$  entre -10 et -20. Les plantes à métabolisme crassulacéen et qui peuvent fonctionner suivant le cycle  $\text{C}_3$  ou le cycle  $\text{C}_4$ , ont un  $\delta$  intermédiaire. On peut, de cette manière, différencier le sucre de canne du sucre de betterave, ou détecter l'addition frauduleuse de sirop de maïs à des miels ou à des jus de fruits.

BRICOUT et col. ont montré que l'eau des oranges présente un net enrichissement en deutérium par rapport à l'eau d'irrigation des orangeries, en raison vraisemblablement du phénomène d'évapotranspiration. On peut ainsi reconnaître un jus d'orange obtenu par dilution d'un concentré.

Mais la lutte contre la fraude n'est jamais terminée. La vanilline de synthèse peut être produite avec un méthyle ( $\text{CH}_3$ ) dopé en  $^{14}\text{C}$ . Le chimiste devra donc déméthyliser la vanilline avant la mesure isotopique.

(\*) N. du R. : sur la Station de Recherches agronomiques de Corse SRA-INRA-IRFA. BRICOUT a mesuré un enrichissement de 9,5 p. 1000 en  $^{18}\text{O}$  et de 40 p. 1000 en  $^2\text{H}$  de l'eau des oranges, par rapport à l'eau d'irrigation.

LES IONS NEGATIFS EN SPECTROMETRIE DE MASSE  
APPLICATION EN ALIMENTATION ET EN PHARMACIE  
(N C I - negative chemical ionisation)

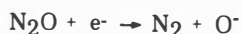
M. GEORGE - Ets MERO-BOYVEAU SANOFI - Grasse.

En spectrométrie de masse classique, les molécules de l'échantillon sont soumises à un faisceau d'électrons qui les fragmente en ions positifs, ces ions sont séparés suivant leur masse ou, plus exactement, suivant le rapport masse/charge = m/e, et l'enregistrement du signal causé par leur impact sur le détecteur constitue le spectre de masse.

L'impact des ions sur le détecteur provoque un signal qui s'inscrit sur le papier enregistreur sous forme de pic dont la hauteur est proportionnelle à la concentration de l'ion et dont l'ordre d'enregistrement est fonction du rapport m/e. Si l'énergie du faisceau d'électrons ne dépasse pas 15 électrons-volts, un seul électron est arraché à la molécule pour former ce que l'on appelle le «pic-parent» ou «pic-moléculaire» qui présente un intérêt particulier puisqu'il permet d'afficher le poids moléculaire de l'échantillon. Quand l'énergie du faisceau d'électrons atteint 70 électrons-volts, la fragmentation de la molécule qui en résulte réduit considérablement la concentration du pic-parent. L'ensemble du spectre, caractéristique de la recherche, est comparé aux spectres connus figurant dans une bibliothèque et, dans la majorité des cas, identifié. Cette comparaison se fait de façon automatique, par ordinateur.

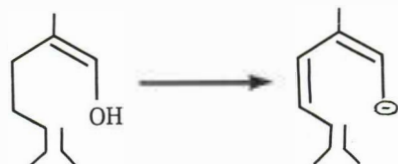
Si le bombardement de la molécule est réalisé avec des ions chimiques et non plus des électrons, on obtient un ion moléculaire plus gros donc plus aisément identifiable. Le bombardement par des ions négatifs comme OH<sup>-</sup> donne les résultats les plus encourageants.

OH<sup>-</sup> est obtenu de la façon suivante à partir du protoxyde d'azote :

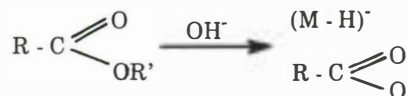


OH<sup>-</sup> arrache un proton H<sup>+</sup> à la majorité des composés organiques. La masse de l'ion moléculaire est alors M - 1.

Suivant la conformation de la molécule et suivant la fonction chimique, apparaissent des ions caractéristiques. Avec les alcools par exemple, les ions (M - 1)<sup>-</sup> mais aussi (M + 17)<sup>-</sup>, (M - 3)<sup>-</sup> (M - 19)<sup>-</sup>. Par exemple, les alcools allyliques comme le nérol et le géraniol donnent l'ion (M - 19)<sup>-</sup>.



Les esters sont coupés en deux fragments.



dont la masse permet d'identifier la masse moléculaire de l'ester et la nature de l'ester.

Les hydrocarbures terpéniques donnent le pic (M - H)<sup>-</sup> et quatre autres pics : (M + 43)<sup>-</sup> = (M - H + N<sub>2</sub>O) (M + 25)<sup>-</sup> (M + 15)<sup>-</sup> (M - 3)<sup>-</sup>.

Un exemple sur l'arôme du fruit de la passion permet de préciser l'intérêt de cette technique appliquée aux esters.

L'ionisation chimique négative demeure une technique complémentaire en spectrométrie de masse et n'est pas dépourvue d'inconvénients pratiques : la source d'ionisation doit être nettoyée fréquemment et le filament voit sa durée de vie diminuée.

DEVELOPPEMENTS RECENTS DANS LE DOMAINE  
DES HUILES ESSENTIELLES

Professeur H. RICHARD - E N S I A A.

Les colonnes capillaires en verre.

Apparues depuis 15 ans, ces colonnes dont l'imprégnation est demeurée plus un art qu'une technique, présentent l'inconvénient de la fragilité et d'une durée de vie variable. Les colonnes en silice fondue, engainées dans un film de polyamide, apparues depuis quelques années, sont beaucoup plus maniables car, très souples, elles se branchent facilement.

Les colonnes peuvent être imprégnées d'une phase stationnaire «greffée» suivant une technique qui les rend beaucoup plus durables et dont les caractères se prêtent à divers montages :

Colonnes reliées bout à bout : une colonne peut être reliée à une extrémité en Y dont les deux branches, constituées de capillaires courts, sont branchées sur deux détecteurs différents ou dont une branche reste libre et permet à l'opérateur de renifler l'effluent.

On peut aussi relier deux colonnes de polarités différentes dont le pouvoir de séparation sera supérieur à celui de chacune d'elle. Ex. : silicone (D B 1) relié à silicone cyano-propylée (D B 1701). Ce type de colonne peut être aussi relié à un spectrographe de masse et déboucher directement dans la chambre d'ionisation, grâce à sa souplesse. On évite ainsi les traînées.

### L'extraction d'huiles essentielles.

Les huiles essentielles peuvent être modifiées dans leur composition pendant leur extraction. On peut illustrer ce propos par l'étude d'un composé particulièrement fragile : l'acétate de linalyle. A pH 7, après une heure d'hydrodistillation, les deux cinquièmes de l'ester sont détruits, avec néoformation de divers produits. A pH 2, la dégradation est beaucoup plus sévère avec 61 p. 100 de destruction accompagnée de nombreux réarrangements.

Pour minimiser les réactions d'hydrolyse il faut contrôler le pH du milieu et éviter le contact prolongé des constituants terpéniques avec la phase aqueuse.

Au laboratoire, des appareils d'extraction combinent l'entraînement à la vapeur et l'extraction par solvant, permettant de réduire les modifications de constitution des composants. Appareils de NIKENS-NICKERSON, appareil de GODEFROOT.

### Détection des fraudes par l'analyse.

Certaines huiles essentielles présentent une grande homogénéité dans leur composition, comme l'huile essentielle de citron. Il est cependant possible, par l'analyse multivariable des compositions quantitatives, de déterminer la provenance (Italie, Côte d'Ivoire ...) et les fraudes.

Par contre, d'autres huiles essentielles ont une composition variable. Les chemotypes du Thym, *Thymus vulgaris* et de l'Armoise, *Artemisia herba alba* en sont des exemples.

Pour l'armoise, sept races chimiques ont été mises en évidence par BENJILALI et RICHARD, au Maroc : chemotype à  $\alpha$  thuyone, à  $\beta$  thuyone, à camphre, à chrysanthénone, à davanone, à cis-chrysanthényle et à  $\alpha$  thuyone plus camphre. Il pourrait exister aussi des passages d'un chemotype à l'autre. Il est important de connaître l'existence de ces chemotypes sur le plan taxonomique, et aussi à l'occasion de la recherche des fraudes.

### Effets des traitements technologiques.

On a remarqué (DAUDIN et RICHARD, 1982) que, de façon paradoxale, la rétention des arômes de persil au cours du séchage est d'autant plus grande que la température de séchage est plus élevée. En fait, cela peut s'expliquer par l'effet de piégeage des arômes si la dessiccation du végétal est rapide. Mais, pour ne pas tomber dans un excès qui conduirait à une dégradation thermique des arômes, on préconise un séchage en deux temps : à température élevée au début, ou à température supérieure à 100°C, puis une température plus modérée en fin d'opération.

## LA NOTION NOUVELLE DE PROFILS CHROMATOGRAPHIQUES ET LA QUALITE DES HUILES ESSENTIELLES

Professeur ROUZET - Faculté de Pharmacie - NANTES.

Le niveau de qualité d'une huile essentielle est fonction de sa composition chimique.

Il a été longtemps apprécié, et il l'est toujours, par le jugement olfactif de l'aromaticien ou du parfumeur : jugement olfactif qui suppose une bonne mémorisation des expériences passées et la référence à un étalon. Cependant, de tels spécialistes sont rares. C'est pourquoi, les contrôles de qualité, nécessaires aux transactions commerciales, se font dans les laboratoires d'analyses chimiques, en utilisant des méthodes normalisées, et en se référant à des statistiques de résultats considérées comme caractéristiques d'une huile essentielle de bonne qualité, dont l'origine botanique et géographique, et la technologie d'extraction ont été authentifiées. Les méthodes d'analyse et la monographie sont répertoriées par l'AFNOR, l'ISO, l'EOA, etc.

L'analyse chimique des huiles essentielles n'a pas dépassé, pendant longtemps, la détermination d'un certain nombre d'indices représentatifs de la globalité des composants du produit : indice de réfraction, densité, déviation polarimétrique, indice d'ester, de carbonyle, résidu fixe.

Actuellement, la chromatographie en phase gazeuse, avec colonne capillaire, permet la séparation et la qualification rapide, automatique et reproductible des très nombreux constituants de l'huile essentielle. Tout au moins au niveau de l'analyse de contrôle. On peut simplifier en retenant, pour une huile essentielle donnée, une sélection de composés caractéristiques, de 6 à 10, dont la quantification sera précisée, au facteur de réponse du détecteur près pour une phase stationnaire donnée, ex. : les huiles essentielles de sauge. Tableau 1.

La sélection des constituants qui seront retenus se fait suivant divers critères. On retiendra :

1) les constituants dont la concentration est la plus élevée. Les constituants importants sur le plan quantitatif ne sont pas toujours caractéristiques. Ex. : le limonène pour les agrumes, le linalol pour la lavande.

2) les composants ayant un aspect discriminatif, ex. : le camphre, important dans l'huile essentielle d'aspic et de lavandin, en faible quantité dans la lavande vraie ; le guaïadiène du géranium bourbon et l'eudesmol du géranium africain.

Le traitement par ordinateur de données quantitatives de ces constituants permet de sélectionner les pics significatifs et de retrouver la «famille» des écotypes ou des chimiotypes par l'analyse statistique pluridimensionnelle.

TABLEAU 1 -

Constituants	Sauge d'Espagne	Sauge officinale	Sauge sclérée
$\alpha$ pinène p. 100	4 - 10	3 - 9	< 0,3
camphène	5 - 9	4 - 7	< 0,1
sabinène	0,4 - 3	0 - 1	< 0,2
limonène	3 - 5	1 - 4	< 0,1
1-8 cinéole	11 - 25	8 - 15	< 0,0
thuyones ( $\alpha + \beta$ ) (*)	< 0,1	20 - 52	< 0,2
camphre	11 - 36	6 - 28	< 0,3
linalol	0,5 - 12	0 - 2	10 - 25
acétate de linalyle	1 - 5	0 - 2	6 - 7
bornéol	1 - 8	1 - 6	< 0,1
acétate de terpényle	2 - 6	< 0,5	< 0,0

(\*) - l'huile essentielle de sauge officinale est extrêmement toxique par suite de sa teneur en thuyone.

#### L'identification des pics.

Le chimiste de contrôle n'a ni les moyens, ni le temps, d'identifier seul les pics du chromatogramme. Cependant, sachant que pour l'huile essentielle qu'il doit contrôler, et dont il a la référence, il existe un ensemble de pics caractéristiques, il pourra se contenter de les identifier par dopage ou par comparaison des temps de rétention. Il devra donc, soit enrichir son échantillon avec les témoins, soit faire le chromatogramme d'un mélange témoin dans les mêmes conditions.

Cette opération présente, il faut bien le dire, des difficultés pour le néophyte scrupuleux. Elle devient très

vite assez simple pour le praticien qui prend l'habitude de lire son chromatogramme. Elle suppose que l'on dispose de substances témoins répertoriées dans les monographies. Le normalisateur aura donc soin de ne répertorier, dans le mélange étalon figurant sur la monographie d'une huile essentielle, que des composés chimiques offerts par le commerce.

Compte tenu de ces contraintes et de l'équilibre à trouver entre le souci de la précision et celui de l'efficacité, la technique des profils chromatographiques représente un progrès considérable dans le contrôle des huiles essentielles.





E. E. AZOULAY & C°

tous les fruits  
exotiques

2. rue des Tropiques  
E 108-94538 RUNGIS Cedex  
tél. 687 25 40 - télex 270079