

Examen des arômes de vanille et des produits alimentaires vanillés par chromatographie liquide à haute performance = Determination of vanilla aromatic compounds in aromas and foods

Autor(en): **Dalang, F. / Martin, E. / Vogel, J.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **73 (1982)**

Heft 4

PDF erstellt am: **22.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983459>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Examen des arômes de vanille et des produits alimentaires vanillés par chromatographie liquide à haute performance

Determination of Vanilla Aromatic Compounds in Aromas and Foods

F. Dalang, E. Martin et J. Vogel
Laboratoire cantonal de chimie, Genève

Introduction

L'arôme de vanille est des plus utilisé dans l'industrie alimentaire. Le prix élevé de l'épice incite à la remplacer par des arômes composés de substances aromatisantes synthétiques identiques à celles présentes dans la vanille ou par des substances artificielles, c'est-à-dire non présentes dans la nature. En l'état actuel des connaissances ce remplacement total ou partiel ne présente aucun danger pour la santé du consommateur. En revanche, l'emploi de ces produits est soumis à l'ordonnance sur les additifs dans les denrées alimentaires, ce qui nécessite des contrôles réguliers.

Parmi les nombreuses méthodes d'examen des produits vanillés il faut citer la chromatographie sur couche mince (1-3), la chromatographie en phase gazeuse (1, 2, 4, 5), la spectrophotométrie UV (2, 6) et la détermination du rapport isotopique (7-9). La chromatographie sur couche mince permet de déceler et d'identifier rapidement les constituants aromatiques. Elle n'est pas toujours suffisamment sensible et ne permet qu'un dosage semiquantitatif. La spectrophotométrie par contre permet un dosage précis mais n'est pas assez sélective. La détermination du rapport isotopique rend possible la distinction entre la vanilline d'origine naturelle et celle préparée par synthèse, mais elle est assez coûteuse et n'est pas suffisante pour caractériser un produit. La chromatographie en phase gazeuse enfin permet à la fois la détection, l'identification et le dosage des produits, mais le temps de rétention, surtout pour la parahydroxybenzaldéhyde, est long ce qui rend son dosage imprécis. Les conditions sont améliorées si l'on passe par la silylation du produit, mais ceci complique l'analyse.

Le chimiste qui contrôle les denrées alimentaires vanillées est confronté aux problèmes suivants: 1. détecter, identifier et doser des constituants aromatiques qui ne sont pas présents dans la vanille naturelle; 2. doser les constituants aromatiques majeurs présents dans la vanille naturelle; 3. distinguer entre la vanille naturelle et un arôme de synthèse, et ceci non pas seulement dans des arômes ou extraits, mais aussi dans des produits finis.

C'est certainement cette dernière tâche qui est la plus difficile. Dans la pratique, l'examen consiste à déterminer le rapport de la vanilline (V) sur la parahydroxybenzaldéhyde (P) soit V/P. Ce rapport ne doit pas dépasser une certaine limite. Pour 12 échantillons différents de vanille V/P se trouve avec une probabilité de 95% dans l'intervalle allant de 9,4 à 18,2 (1). Dans une étude plus récente effectuée sur 30 échantillons de provenances différentes le rapport V/P est compris entre 8,0 et 18,1 avec une valeur moyenne de 11,1 (10). Comme il y a sur le marché de plus en plus d'arômes synthétiques contenant de la vanilline et de la parahydroxybenzaldéhyde dans le rapport correspondant au naturel, ce critère ne suffit plus pour distinguer les arômes naturels des synthétiques.

La méthode HPLC (10, 11) permet de combiner le pouvoir de résolution de la chromatographie avec une certaine sélectivité de la spectrophotométrie UV et permet en plus par l'utilisation d'un gradient de concentration de l'éluant, la séparation d'une plus grande gamme de produits que la chromatographie en phase gazeuse. Cette méthode, appliquée aux arômes de vanille ou aux extraits des produits finis vanillés permet de détecter, d'identifier et de doser avec précision aussi bien les arômes de synthèse que les constituants aromatiques naturels de la vanille. Les pics autres que ceux de la vanilline et de la parahydroxybenzaldéhyde peuvent servir comme une «empreinte digitale» pour distinguer l'arôme naturel d'un arôme synthétique.

Dans notre travail nous décrivons une modification de la méthode HPLC susmentionnée (11) ainsi que son application à différents produits laitiers, notamment le yoghourt vanillé.

Partie expérimentale

Réactifs

Vanilline (puriss) et p-hydroxybenzaldéhyde (purum) Fluka ou équivalent;
Solution A: 3,37 ml acide phosphorique 85% p. a. complété à 1 litre avec de l'eau distillée et filtré sur 0,45 μm ;
Solution B: Méthanol pour la chromatographie Merck ou équivalent à 90 vol% filtré sur 0,45 μm ;
Méthanol à 5, à 25 et à 50 vol% dans l'eau distillée;
Ether rectifié;
Filtres Gelman Acrodisc-CR 0,45 μm ;
Extrait de vanille authentique (référence);
Yoghourt «nature»;
Solution de Carrez I: 3,6 g $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ dans 100 ml d'eau;
Solution de Carrez II: 7,2 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dans 100 ml d'eau.

Appareillage

Chromatographe liquide «Varian 5000» avec élution à gradient, détecteur à absorption UV «Varian UV-50» et intégrateur «Autolab Minigrator» de Spectra-Physics;

Phase stationnaire: colonne à phase inversée «MicroPak MCH-10» (octadécylsilane en couche monomérique, dimensions: 30 cm x 4 mm, 2450 plateaux théoriques).

Préparation des échantillons

Etalon: solution contenant 100 mg de vanilline et 20 mg de parahydroxybenzaldéhyde par litre de méthanol à 25 vol%.

Arômes, extraits et sucres vanillés: les échantillons sont dilués dans du méthanol à 25 vol%.

Gousses de vanille: une gousse, coupée en morceaux de 3 mm environ est extraite trois fois avec 25 ml de méthanol à 50 vol% pendant environ 30 minutes par ébullition à reflux. Les extraits sont réunis et filtrés.

Produits finis: l'échantillon est d'abord extrait au méthanol à 5 vol%, puis clarifié avec les solutions de Carrez I et II selon la méthode de *Meili* et *Chaveron* (1). La solution déféquée est filtrée puis extraite à l'éther diéthylique. A l'extrait ajouter 5 ml de méthanol, puis concentrer le mélange presque à sec à l'évaporateur rotatif et reprendre le résidu avec du méthanol à 25 vol% en complétant à 10 ml sans ajouter d'étalon interne.

Tous les échantillons sont filtrés sur membrane 0,45 μm avant l'injection afin de protéger la colonne.

Chromatographie HPLC

Débit: 2 ml/min; volume injecté: 10 μl (par boucle d'injection); température de la colonne: 30 °C; détection: 280 nm; fente: 8 nm; phase mobile: mélange des solutions A et B selon le programme représenté dans le tableau 1.

Tableau 1. Composition de l'éluant

Temps (min)	% solvant B
0,0	10
2,0	10
6,0	20
12,0	20
25,5	65
28,0	100

Ces points fixes du programme sont reliés par des gradients linéaires.

Résultats et discussion

Les temps de rétention obtenus de composés naturels et artificiels sont indiqués dans le tableau 2. Il est possible de séparer 17 substances différentes, notam-

Tableau 2. Temps de rétention

Temps de rétention (min)	Substance (no. d'identification)*
3,2	? (1)
4,9	? (2)
8,7	alcool vanillique
9,2	aldéhyde protocatéchique (3)
11,2	acide p-hydroxybenzoïque (4)
13,1	aldéhyde p-hydroxybenzoïque (5)
15,5	acide vanillique (6)
18,3	iso-vanilline
18,6	vanilline (7)
18,6	alcool anisique
21,7	ortho-vanilline
22,0	éthylvanilline
22,8	pipéronal
23,3	méthylvanilline
23,8	acide anisique
23,8	coumarine
24,9	alcool cinnamique
26,4	aldéhyde cinnamique
30,3	propénylguaéthol
31,1	néroline

* Voir figures 1 à 3. Tous les pics numérotés (ici entre parenthèses) sont typiques de la vanille Bourbon.

ment la vanilline, la parahydroxybenzaldéhyde, l'éthylvanilline, la coumarine et le vanitrope. Plusieurs composés typiques de la vanille Bourbon n'ont pas pu être identifiés. Ils figurent dans le tableau 2 avec le signe «?». Afin d'évaluer le taux de récupération de la vanilline et de la parahydroxybenzaldéhyde, de l'extrait de vanille a été ajouté à du yoghourt «nature». Simultanément une solution aqueuse de même concentration en extrait ainsi que du yoghourt sans ajout ont été analysés. Les essais ont été effectués sur 30 g de yoghourt avec un ajout de 2 ml d'extrait de vanille. Les résultats quantitatifs sont donnés dans le tableau 3. La présence de yoghourt n'influence pas le rendement en vanilline et en parahydroxybenzaldéhyde, malgré la défécation. Cependant l'extraction à l'éther abaisse quelque peu le rendement jusqu'à 90%, sans pour autant changer le rapport V/P. Pour obtenir les résultats les plus précis il faut donc doser la vanilline à l'aide du chromatogramme de la solution primaire et déterminer le rapport V/P dans le chromatogramme de l'extrait étheré.

La figure 1 montre que le yoghourt ne modifie pas l'allure générale du chromatogramme d'un arôme de vanille après la défécation et l'extraction. Les pics typiques du yoghourt se superposent tout simplement au chromatogramme de l'extrait ajouté. Dans le cas du yoghourt aromatisé, il est donc facile de reconstituer le chromatogramme du produit aromatisant utilisé à partir du chromatogramme

Tableau 3. Rendement des extractions de vanilline et de parahydroxybenzaldéhyde

		Rendement				V/P
		Vanilline		Parahydroxybenzaldéhyde		
		mg	%	mg	%	
Après défécation	sans yoghourt	3,84	100	0,260	100	14,8
	avec yoghourt	3,82	99	0,278	107	13,7
Extrait étheré	sans yoghourt	3,47	90	0,234	90	14,8
	avec yoghourt	3,26	85	0,219	84	14,9

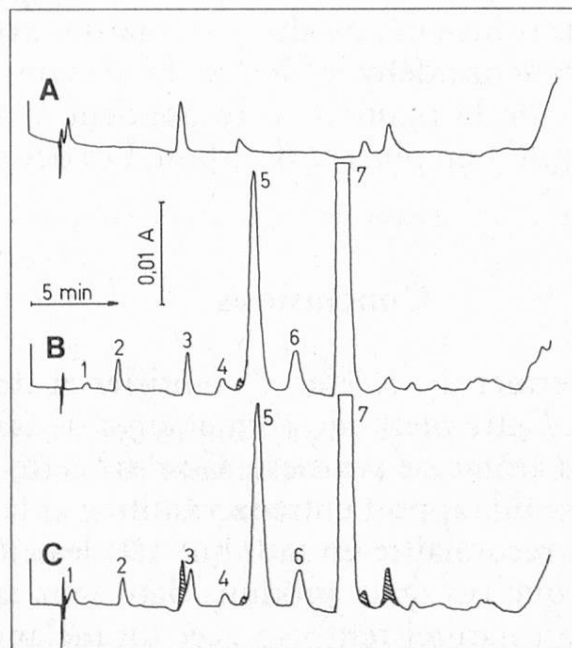


Figure 1. Chromatogrammes des extraits étherés: A de 30 g de yoghourt
 B de 2 ml, d'extrait de vanille
 C du mélange A + B

Les pics hachurés sont dûs au yoghourt ou à une contamination lors de l'extraction

de l'extrait. C'est ce qui ressort de la figure 2: si l'on déduit du chromatogramme de l'extrait de yoghourt vanillé les pics dus au yoghourt, il ne reste, mis à part un pic dû à une impureté, que les deux pics de la vanilline et de la parahydroxybenzaldéhyde. Il s'agit donc, malgré le rapport satisfaisant V/P, d'un produit à l'arôme de synthèse.

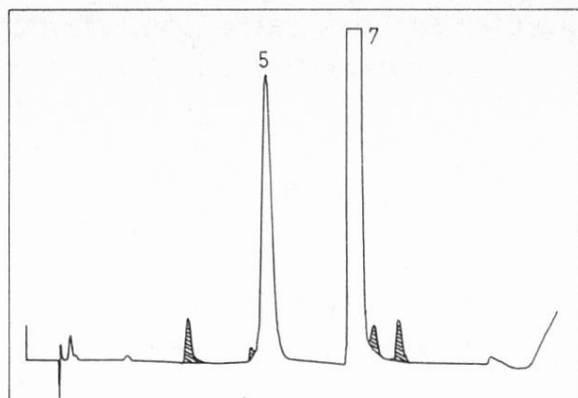


Figure 2. Chromatogramme de l'extrait étheré d'un yoghourt «vanille» aromatisé avec un mélange de vanilline et de parahydroxybenzaldéhyde synthétiques. Les pics hachurés sont dûs au yoghourt ou à une contamination. Le rapport V/P = 20,8

Dans le cadre d'une petite campagne, nous avons analysé, par la présente méthode, les produits vanillés suivants: 4 yoghourts, 2 crèmes, 6 arômes, 1 paquet de gaufrettes et 4 extraits ou sucres vanillés. C'est seulement parmi les yoghourts et les arômes que nous avons trouvé des produits aromatisés avec un mélange de vanilline et de parahydroxybenzaldéhyde de synthèse dans le rapport naturel.

Les chromatogrammes de la figure 3 correspondent à des extraits dilués de gousses de vanille Tahiti (pic 4 en plus) et Bourbon. Les deux extraits sont très faciles à distinguer.

Conclusions

La méthode décrite permet de déceler, d'identifier et de doser les composés aromatiques de la vanille. Cette méthode permet aussi de faire la distinction entre un extrait naturel et un arôme de synthèse. Comme cette distinction ne se fait pas uniquement sur la base du rapport entre la vanilline et la parahydroxybenzaldéhyde, il est possible de reconnaître en tant que tels les arômes de synthèse reconstitués, ne contenant que ces deux produits dans leur rapport naturel. Dans certaines limites, un extrait naturel renforcé avec un mélange de vanilline et de parahydroxybenzaldéhyde synthétique peut également être reconnu. L'examen peut être effectué non seulement sur les arômes et les extraits, mais aussi sur des produits finis, notamment des produits laitiers. Il est aussi facile de distinguer entre la vanille Bourbon et la vanille Tahiti.

Pour mieux identifier les extraits naturels renforcés avec des composés de synthèse ainsi que pour l'examen d'autres denrées alimentaires, il serait souhaitable de connaître les variations des concentrations réciproques des constituants naturels et d'établir les chromatogrammes des denrées non aromatisées correspondantes. Pour de nombreux produits, notamment les crèmes de vanille et les produits de pâtisserie, la méthode d'extraction et de préconcentration devrait encore être améliorée.

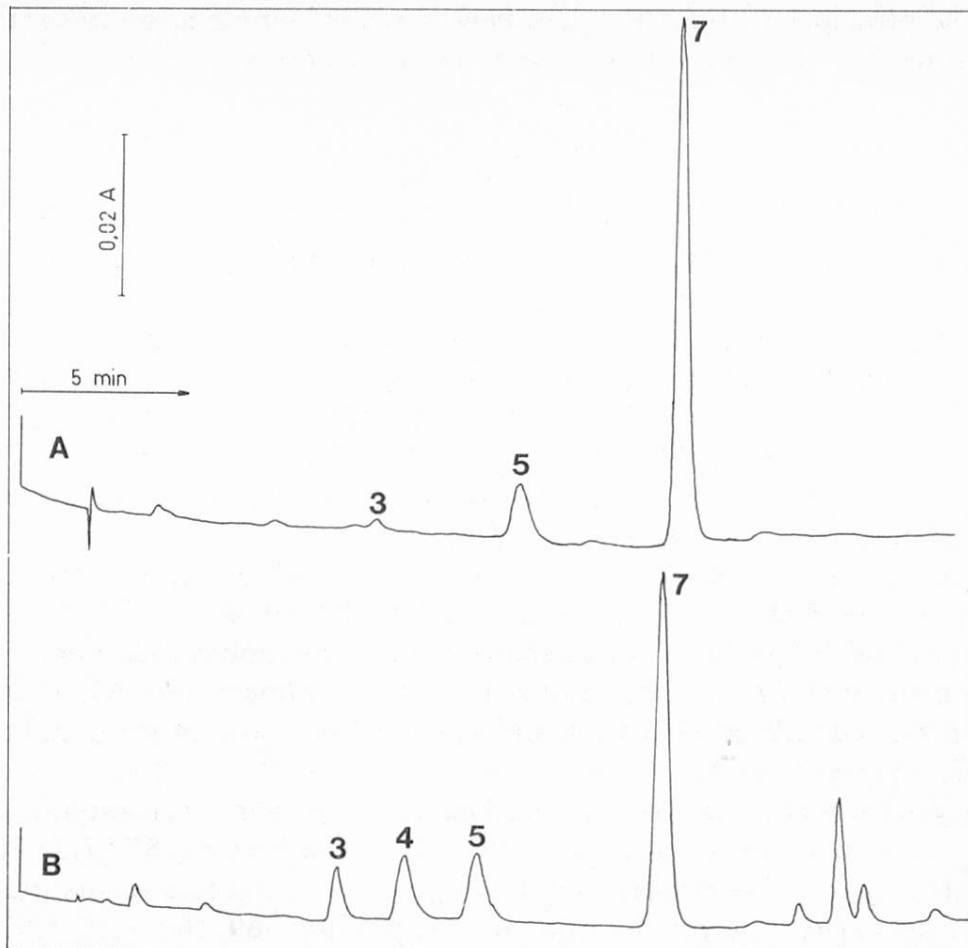


Figure 3. Chromatogrammes des extraits de gousses de vanille avec du méthanol à 50%:
 A vanille Bourbon
 B vanille Tahiti

Résumé

L'analyse de plusieurs produits vanillés par une méthode HPLC est décrite. Il est possible de déceler, identifier et doser les principaux constituants de la vanille et les arômes artificiels les plus courants. La méthode permet, en outre, de reconnaître un arôme synthétique reconstitué par l'absence des constituants naturels secondaires.

Zusammenfassung

Verschiedene Produkte mit Vanille-Geschmack wurden nach einer HPLC-Methode analysiert. Die Methode erlaubt die qualitative und quantitative Analyse der Hauptkomponenten eines Vanilleextrakts sowie der gebräuchlichsten künstlichen Aromen. Ebenso ermöglicht sie die Erkennung eines synthetischen Aromagemisches aufgrund der Abwesenheit der natürlichen Nebenkomponten.

Summary

Several vanilla-flavoured products have been analyzed by a HPLC method. This method allows the qualitative and quantitative analysis of the major constituents of a vanilla

extract and the principal artificial flavours as well as the identification of synthetic reconstituted mixtures by the absence of natural minor components.

Bibliographie

1. *Meili, M. et Chaveron, H.*: Examen des extraits de vanille et de produits alimentaires aromatisés à l'aide de ces extraits. *Ann. fals. exp. chim.* **69**, 745–756 (1976).
2. *Courcelles, C., Carbonel, F., Dupont, A. et Van Doorn, M.*: Vanilline dans le beurre concentré. Caractérisation et dosage. *Ann. fals. exp. chim.* **69**, 411–424 (1976).
3. *Courcelles, C., Rey, S., Carbonel, F., Dupont, A., Van Doorn, M. et Zelbstein, P.*: Vanille et produits à goût de vanille. *Ann. fals. exp. chim.* **71**, 121–128 (1978).
4. *Martin, G. E., Dyer, R., Jansen, J. and Sabn, M.*: Determining the authenticity of vanilla extracts. *Food Technol.* **29** (6), 54–59 (1975).
5. *Tabacchi, R., Nicollier, G. et Garnero, J.*: A propos de quelques particularités des extraits de vanille Tahiti. *Ann. fals. exp. chim.* **71**, 109–114 (1978).
6. *Mérat, E. et Vogel, J.*: Quelques considérations sur les méthodes spectrométriques de dosage de constituants d'arômes de vanille. *Trav. chim. aliment. hyg.* **67**, 438–447 (1976).
7. *Hoffman, P. G. and Salb, M.*: Isolation and stable isotope ratio of vanillin. *J. Agric. Food Chem.* **27**, 352–355 (1979).
8. *Bricout, J., Fontes, J. Ch. and Merlivat, L.*: Detection of synthetic vanillin in vanilla extracts by isotopic analysis. *J. Assoc. Offic. Analyt. Chemists* **57**, 713–715 (1974).
9. *Bricout, J. et Koziat, J.*: Détermination de l'origine des substances aromatiques par spectrographie de masse isotopique. *Ann. fals. exp. chim.* **69**, 845–855 (1976).
10. *Jürgens, U.*: Zur hochdruckflüssigchromatographischen Analyse von Aromen: Untersuchung von Lebensmitteln mit Vanillegeschmack. *Deut. Lebensm. Rundschau* **77**, 93–96 (1981).
11. *Jürgens, U.*: Zur hochdruckflüssigchromatographischen Analyse von Aromen. II. Untersuchung von Grundstoffen und Getränken sowie von Vanille- und Vanillin-Zuckern in Kleinpackungen. *Deut. Lebensm. Rundschau* **77**, 211–213 (1981).

Dr F. Dalang
Dr E. Martin
Dr J. Vogel
Laboratoire cantonal de chimie
22, quai Ernest Ansermet
CH-1211 Genève 4