



Comparaison de deux méthodes d'entraînement par l'azote pour isoler les constituants volatils de la framboise

Elisabeth Guichard

► To cite this version:

Elisabeth Guichard. Comparaison de deux méthodes d'entraînement par l'azote pour isoler les constituants volatils de la framboise. *Sciences des aliments = Food science : an international journal of food science and technology*, 1984, 4, pp.317-324. <hal-01595307>

HAL Id: hal-01595307

<https://hal.science/hal-01595307v1>

Submitted on 26 Sep 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

Note

COMPARAISON DE DEUX MÉTHODES D'ENTRAÎNEMENT
PAR L'AZOTE POUR ISOLER LES CONSTITUANTS VOLATILS
DE LA FRAMBOISECOMPARISON OF TWO N_2 ENTRAINMENT METHODS
FOR THE EXTRACTION OF VOLATILS COMPOUNDS FROM RASPBERRY

Elisabeth GUICHARD (1)

RÉSUMÉ

Travaillant sur des framboises de la variété "Lloyd George", nous avons expérimenté une méthode d'entraînement par l'azote couplée à une extraction directe par solvant, décrite précédemment par RAPP et KNIPSER. Nous avons comparé les extraits ainsi obtenus à ceux que nous obtenons après entraînement par l'azote et piégeage sur Chromosorb 105. Les résultats du test t de Student effectué après une analyse de variance (tableau 1) nous montrent que les profils chromatographiques sont significativement différents. En utilisant la méthode de RAPP et KNIPSER, un recyclage permanent du solvant nous a permis de poursuivre l'entraînement par l'azote pendant 24 heures sans risque de saturation et ainsi d'accroître la proportion d'alcools terpéniques et de ionones dans l'extrait. De plus, cette méthode est suffisamment reproductible pour permettre de comparer différents échantillons.

Mots clés : framboise, volatiles, entraînement par l'azote.

SUMMARY

In this work, we tested the extraction method described by RAPP and KNIPSER, on a raspberry cultivar "Lloyd George". This method combines N_2 entrainment with solvent extraction. We compared the flavour extracts obtained by this method with those obtained after N_2 entrainment and trapping on Chromosorb 105. Results from Student's t performed after analysis of variance (table 1) show significant variations between chromatographic profiles.

(1) Institut National de la Recherche Agronomique, Laboratoire de Recherches sur les Arômes, 17 rue Sully, 21034 Dijon cedex

The RAPP and KNIPSER method enabled us to continue the entrainment for 24 hours without any saturation and thus to increase the proportion of terpene alcohols and ionones in the extract. This method is reproducible enough to allow comparison of samples.

Key words : raspberry, volatiles, N_2 entrainment.

INTRODUCTION

Dans une étude antérieure, GUICHARD et ISSANCHOU (1983) ont comparé trois méthodes d'isolement des constituants volatils de la framboise : un entraînement par l'azote et piégeage sur Chromosorb 105, une extraction directe par solvant et une distillation sous vide. La méthode d'extraction directe par solvant fournit le profil chromatographique le plus représentatif des diverses classes chimiques. Cette méthode est, cependant, peu reproductible et les extraits, trop riches, en pigments, doivent être soumis à une distillation en doigt de gant. La méthode la plus reproductible est l'entraînement par l'azote et piégeage sur Chromosorb 105. Cependant, cette technique présente certaines limites dues à l'utilisation d'un adsorbant :

- les conditions de piégeage doivent être contrôlées rigoureusement afin d'éviter de saturer le piège en composés légers et peu polaires, tout en récupérant, en quantité suffisante, d'autres constituants plus polaires (BROWN et PURNELL, 1979) ;
- certains composés à haut point d'ébullition peuvent être incomplètement désorbés (WILLIAMS *et al.*, 1978) ;
- on obtient après désorption, un extrait d'une concentration souvent insuffisante pour permettre une identification de composés présents à l'état de traces.

RAPP et KNIPSER (1980) ont proposé un entraînement par l'azote couplé à une extraction directe au Fréon 11. Cette technique allie les avantages de l'entraînement par un gaz inerte à ceux de l'extraction directe par solvant. Elle permet de poursuivre l'entraînement des constituants volatils plusieurs heures sans saturation au cours du piégeage en raison de la rectification permanente du solvant. Elle a été appliquée avec succès par SIMPSON et MILLER (1983) sur des échantillons de vin.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. La préparation de l'échantillon

Les framboises de la variété "Lloyd George" ont été récoltées en juillet 1982 dans les Hautes Côtes près de Dijon, congelées immédiatement et conservées à -20°C . Les échantillons ont été analysés trois mois après la récolte. Pour l'analyse, les baies sont broyées, à 4°C , dans l'eau préalablement purifiée par passage sur du charbon actif.

2. Entraînement par l'azote et piégeage sur Chromosorb 105

Nous avons utilisé la méthode mise au point par LOYLAUX *et al.* (1980) et modifiée par GUICHARD (1982).

250 g de baies sont broyées dans 250 ml d'eau puis placées dans un flacon de 500 ml maintenu dans un bain-marie à 25°C . Les constituants volatils sont entraînés par un balayage d'azote de deux heures à un débit de 60 ml/min. L'azote traverse l'échantillon par l'intermédiaire d'une canne de verre terminée par un piège sur 1 g de Chromosorb 105. Ils sont élués du piège avec 6 ml de dichlorométhane.

3. Méthode de Rapp et Knipsner

400 g de baies sont broyées dans 400 ml d'eau puis placées dans un flacon de 1 l maintenu dans un bain-marie à 25°C . Les constituants volatils sont entraînés par un balayage d'azote de 24 heures à un débit de 60 ml/min. L'azote traverse l'échantillon par l'intermédiaire d'une canne de verre terminée par un fritté de porosité 1. Les constituants volatils entraînés sont piégés dans 250 ml d'une solution hydro-alcoolique à 10 % d'éthanol. Cette solution est extraite en continu par 100 ml de Fréon 11 selon la méthode décrite par RAPP et KNIPSER (1980) et légèrement modifiée : le Fréon 11 est condensé dans une canne de verre terminée par un fritté de porosité 2 pour disperser le solvant en fines gouttelettes dans la solution hydroalcoolique.

Le condenseur est maintenu à -30°C et l'ensemble du montage est situé dans une pièce climatisée à 16°C .

4. Chromatographie en phase gazeuse

Les extraits sont concentrés dans un bain-marie à 28°C pour le Fréon 11 et 48°C pour le dichlorométhane, jusqu'à un volume final de 30 μl , en utilisant des colonnes de Dufton de différentes tailles en fonction du volume de l'extrait. Chaque extrait est injecté dans un chromatographe Girdel 3000 sur une colonne capillaire en verre recouverte de phase SE 52 (45 m \times 0,4 mm). La surface des pics est calculée par un intégrateur Minigrator (Spectra Physics). Les identifications sont réalisées par couplage chromatographie en phase gazeuse - spectrométrie de masse.

Tableau 1
Différents constituants volatils de la framboise
extraits par deux méthodes
Pourcentage de chaque constituant dans l'extrait ($\times 10\,000$)
Moyenne (\bar{x}) et coefficient de variation ($\sigma/\bar{x} \times 100$)
calculés pour trois répétitions

Table 1
Comparison of raspberry volatiles
extracted by two different methods
Calculated percentage of G.C. peaks ($\times 10\,000$),
mean (\bar{x}) and coefficient of variation (σ/\bar{x}), $n = 3$

Composé	Piégeage sur Chromosorb 105		Extraction au Fréon		t de Student (a)
	\bar{X} $\times 10\,000$	σ/\bar{X} $\times 100$	\bar{X} $\times 10\,000$	σ/\bar{X} $\times 100$	
α -pinène	3 529	10	1 742	37	4,1 *
β -pinène	154	15	73	46	3,4 *
Myrcène	435	6	240	29	4,5 *
α -phellandrène	1 634	1	1 195	25	NS
p-cymène	315	16	158	17	4,7 **
β -phellandrène	1 016	5	622	21	4,8 **
γ -terpinène	107	8	135	23	NS
Terpinolène	19	16	139	15	9,9 **
Caryophyllène	249	17	167	39	NS
Humulène	13	31	67	25	5,3 **
Total terpènes	74,7 %		45,4 %		
Acétate d'isopentényle	193	34	190	44	NS
Acétate de cis-3- hexényle	58	26	57	9	NS
Acétate de menthyle	52	34	196	34	3,6 *
Total esters	3 %		44 %		

(a) : t de Student pour les valeurs significatives

* : Significatif à $P < 0,05$

** : Significatif à $P < 0,01$

*** : Significatif à $P < 0,001$

NS : Non significatif

(a) : Student's t for significant value

* : Significant at $P < 0,05$

** : Significant at $P < 0,01$

*** : Highly significant at $P < 0,001$

NS : Not significant

Tableau 1 (suite)

Composé	Piégeage sur Chromosorb 105		Extraction au Fréon		t de Student (a)
	\bar{X} × 10 000	σ/\bar{X} × 100	\bar{X} × 10 000	σ/\bar{X} × 100	
Heptanone-2	938	13	960	19	NS
Nonanone-2	81	4	56	10	6,5 **
Pipéritone	2	10	10	20	NS
Décanone-2	0		6	10	NS
Dihydro- α -ionone ...	24	8	47	42	NS
α -ionone	129	25	332	35	2,9
Dihydro- β -ionone ...	45	35	102	35	NS
β -ionone	125	22	363	50	NS
Total cétones	13,4 %		18,8 %		
Hexanol-1	170	26	801	31	4,3*
Heptanol-2	16	7	70	13	15,3***
Linalool	306	7	1 246	19	5,3**
Terpinen-4-ol	60	3	241	2	58,0***
α -terpinéol	10	5	77	14	10,5***
Nérol	12	8	87	11	12,9***
Géranioïl	54	11	301	14	9,9***
Total alcools	6,3 %		28,2 %		
Théaspirane	20	5	23	48	NS
Inconnu	189	42	247	15	NS
Inconnu	48	27	49	49	NS
Total divers	2,6 %		3,2 %		
Compound	N ₂ entrainment trapping on Chromosorb 105		N ₂ entrainment Freon extraction		Student's t (a)
	\bar{X} × 10 000	σ/\bar{X} × 100	\bar{X} × 10 000	σ/\bar{X} × 100	

5. Analyse statistique

A partir d'un même lot de framboises, nous avons prélevé trois échantillons de 250 g pour l'entraînement par l'azote et piégeage sur Chromosorb 105 (première méthode) et trois échantillons de 400 g pour la méthode de Rapp et Knipser (deuxième méthode). Pour l'analyse statistique des profils chromatographiques, nous avons sélectionné trente-et-un composés bien séparés par chromatographie en phase gazeuse. Nous avons calculé pour chaque pic le pourcentage de sa surface par rapport au total des surfaces des trente-et-un pics sélectionnés puis nous avons calculé la moyenne des trois échantillons par population (méthode) ainsi que le coefficient de variation pour chacun des pics retenus. Un calcul du *t* de Student permet de mettre en évidence les variations observées sur chaque pic entre les deux méthodes d'isolement.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. Reproductibilité de la méthode

Le tableau 1 donne, pour chacun des trente-et-un pics sélectionnés, la moyenne des trois répétitions et le coefficient de variation pour chacune des méthodes.

La méthode de Rapp et Knipser est un peu moins reproductible que la première méthode. En effet, 33 % seulement des pics considérés ont des coefficients de variation inférieurs à 15 %, contre 58 % des pics avec la première méthode. Cette moins bonne reproductibilité est surtout nette pour les hydrocarbures terpéniques. Nous pouvons tenter d'expliquer ce phénomène en considérant que ces composés, à caractère hydrophobe, sont mal piégés dans la solution hydroalcoolique et qu'une petite fraction est sans doute entraînée par l'azote sans être extraite au Fréon 11. Sur les autres constituants, les coefficients de variation sont du même ordre de grandeur pour les deux méthodes. Ces résultats sont meilleurs que ceux obtenus par NOBLE (1978) ou CORDNER *et al.* (1978) qui effectuent un entraînement par l'azote et piégeage sur du Tenax GC. Par contre, NOBLE *et al.* (1980) ont amélioré la reproductibilité de la méthode en utilisant une technique de déplacement des vapeurs décrite par WILLIAMS *et al.* (1978), qui a cependant l'inconvénient de conduire à des extraits moins riches en constituants volatils que lors d'un entraînement par l'azote.

2. Différents constituants isolés par chaque méthode

Les résultats du test *t* de Student, effectué pour chacun des pics retenus, nous ont permis de comparer les moyennes calculées pour chaque méthode. Les résultats du test figurent sur le tableau 1.

Pour 55 % des constituants, les variations observées sont significatives à un seuil inférieur à 5 %. Les hydrocarbures terpéniques sont relativement très abondants dans les extraits obtenus après deux heures de piégeage sur Chromosorb 105, ils représentent 74,7 % des pics considérés contre 45,4 % dans les extraits obtenus par la deuxième méthode. Par contre, en utilisant la méthode de Rapp et Knipser, nous avons pu

augmenter la durée de l'entraînement par l'azote jusqu'à 24 heures sans risque de saturation, en raison du recyclage permanent du Fréon 11. Nous avons ainsi pu entraîner des composés plus polaires, comme les alcools terpéniques, dont le pourcentage total dans l'extrait passe de 6,3 % à 28,2 %. Les cétones et, parmi elles, les ionones, qui ont une grande importance dans l'arôme de la framboise, sont un peu mieux récupérées par cette deuxième méthode.

CONCLUSION

En combinant une extraction par solvant à un entraînement par l'azote, nous avons obtenu, après 24 heures d'entraînement, un profil chromatographique qui se rapproche de celui obtenu après extraction directe du jus de framboise par solvant et est donc plus représentatif de l'arôme de la framboise que celui obtenu après deux heures de piégeage sur un adsorbant. Les extraits ne contiennent aucun pigment et n'ont pas à être distillés.

Cette nouvelle technique est encore suffisamment reproductible pour être appliquée à l'étude de différents échantillons de framboises par exemple, et les extraits sont suffisamment riches en constituants volatils pour permettre d'identifier facilement un grand nombre d'entre eux par couplage chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse.

Manuscrit reçu le 24 octobre 1983, accepté le 19 janvier 1984.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BROWN R.H., PURNELL C.J., 1979. Collection and analysis of trace organic vapor pollutants in ambient atmospheres: The performance of Tenax-GC adsorbent tubes. *J. Chrom.*, **178**, 79.
- CORDNER C.W., OUGH C.S., KASIMATIS A.N., KISSLER J.J., 1978. Effects of crop level on chemical composition and headspace volatiles of Lodi Zinfandel grapes and wines. *Am. J. Enol. Vitic.*, **29** (4), 247.
- GUICHARD E., 1982. Identification des constituants volatils aromatiques de la variété de framboises "Lloyd George". *Sciences des Aliments*, **2** (2), 173.
- GUICHARD E., ISSANCHOU S., 1983. Extraction of volatile compounds from raspberry by different methods. Application of principal component analysis to gas chromatographic data. *Sciences des Aliments*, **3** (3), 427.
- LOYAUX D., ROGER S., ADDA J., 1981. The evolution of champagne volatiles during ageing. *J. Sci. Food Agric.*, **32**, 1254.
- NOBLE A.C., 1978. Sensory and instrumental evaluation of wine aroma, in "Analysis of foods and beverages. Headspace techniques, G. Charalambous G. Academic Press, p. 203.
- NOBLE A.C., FLATH R.A., FORREY R.R., 1980. Wine headspace analysis. Reproducibility and application to varietal classification. *J. Agric. Food Chem.*, **28**, 346.
- RAPP A., KNIPSER W., 1980. Eine neue Methode zur Anreicherung von DampfkompONENTEN. Dargestellt am Beispiel des Weines. *Chromatographia*, **13** (11), 698.

SIMPSON R.F., MILLER G.C., 1983. Aroma composition of aged Riesling wine. *Vitis*, **22**, 51.

WILLIAMS A.A., MAY H.V., TUCKNOTT O.C., 1978. Observations on the use of porous polymers for collecting volatiles from synthetic mixtures preminiscent of fermented ciders. *J. of Sci. Of Food and Agric.*, **29**, 1041.

CONCLUSION

En combinant une extraction par solvant à un entraînement par l'azote, nous avons obtenu, après 14 heures d'entraînement, un profil chromatographique qui ne différait de celui obtenu après extraction directe de jus de framboise par solvant et qui était plus représentatif de l'arôme de la framboise que celui obtenu après deux heures de piégeage sur le adsorbant. Les extraits ne contenant aucun pigment et n'ont pas à être clarifiés.

Cette nouvelle technique est encore suffisamment reproductible pour être appliquée à l'étude de différents échantillons de framboises par exemple, et les extraits sont suffisamment riches en composants volatils pour permettre d'identifier facilement au grand nombre d'autres esters couplage chromatographique en phase gazeuse-spectrométrie de masse.

Manuscrit reçu le 24 octobre 1983, accepté le 19 janvier 1984.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- GUICHARD E., 1981. Identification des composés volatils aromatisants de la framboise "Riesling de la France". *Journal des Arômes*, **2**, 11-17.
- GUICHARD E., 1982. L'arôme de la framboise. *Journal des Arômes*, **3**, 1-10.
- KESSELMAN K.W., OREN L.S., KALISH J.W., 1978. Effects of fruit level on chemical composition and volatile content of Red Raspberry (*Rubus idaeus* L.). *J. Food. Sci.*, **43**, 1547-1551.
- MOORE A.C., 1975. Sensory and instrumental analysis of wine aroma. In "Analysis of taste and odour". Academic Press, p. 307.
- MOORE A.C., WATTS R.A., ROBERTS R., 1980. Wine headspace analysis: background, capability and application to varietal identification. In "Food Food Chem.", **28**, 245.
- MOORE A.C., 1982. Sensory and instrumental analysis of wine aroma. In "Analysis of taste and odour". Academic Press, p. 307.
- MOORE A.C., 1983. Sensory and instrumental analysis of wine aroma. In "Analysis of taste and odour". Academic Press, p. 307.
- MOORE A.C., 1984. Sensory and instrumental analysis of wine aroma. In "Analysis of taste and odour". Academic Press, p. 307.