

Economie

Partage de la valeur dans les filières agro-alimentaires et du droit à la concurrence



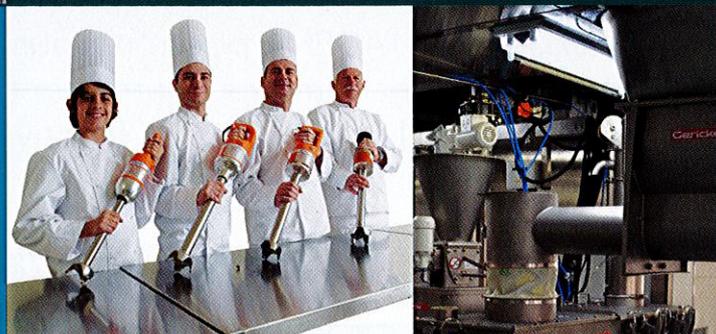
Actualité technique et industrielle



- La performance environnementale au cœur des filières et entreprises alimentaires : la démarche d'éco conception une source de compétitivité
- ScanMat, une plateforme d'analyses multi-échelle pour le soutien à l'innovation : exemple de l'étude « Aquafaba »
- L'analyse des odeurs dans les matrices alimentaires.
- La classification holistico-réductionniste Siga des aliments en fonction de leur degré de transformation
- Faut-il des aides alimentaires en France ? Une autre approche de la question de l'alimentation
- L'histoire du Cemafruid-Tecnea, le centre technique de la chaîne du froid et de la réfrigération

FOCUS

PESAGE, DOSAGE, MÉLANGE



L'analyse des odeurs dans les matrices alimentaires.

Damien STEYER, Nathalie BRIGNIER, Céline LEITAO, TWISTAROMA

L'analyse des odeurs concerne tous les acteurs de l'industrie agro-alimentaires. Mais qu'est-ce qu'une odeur véritablement ? Comment la décrit-on ? Qu'est-ce qu'un seuil de perception ? Et enfin comment peut-on analyser et interpréter une odeur ? Cet article répond succinctement à ces questions au travers d'exemples issus du laboratoire TWISTAROMA. Un cas concret d'étude des odeurs du café montre les possibilités offertes par ce type d'analyse.

ABSTRACT

Odour analysis concerns all the food industry. But what is an odour ? How is it described ? What is a perception threshold ? And finally, how can we analyze and interpret a smell ? This article briefly answers these questions through examples from the TWISTAROMA laboratory. A real case study of coffee odours shows the possibilities offered by this type of analysis.

INTRODUCTION

Dans l'industrie alimentaire les odeurs jouent un rôle déterminant sur la qualité du produit. Elles peuvent être sa signature et/ou responsables de dérives, évoluant durant le temps ou bien à cause de changements de process ou de matières premières. Dans l'industrie agro-alimentaire elles proviennent de nombreuses sources, végétales, animales et fermentaires (bactérie et levures) et parfois même des 3. Pour les comprendre et les maîtriser il est nécessaire de les étudier.

CHIMIE ET BIOCHIMIE DES ODEURS

Les odeurs sont un ensemble de stimuli olfactifs que l'être humain perçoit via des récepteurs (des protéines G [1]) situés dans l'épithélium olfactif. Lorsqu'une molécule se fixe sur ces récepteurs, un signal électrique est produit et est transmis jusqu'au cerveau qui va alors l'interpréter comme une odeur.

Les molécules chimiques permettant cette activation sont par définition volatiles, car conduites ou portées par l'air. C'est une des caractéristiques chimiques des odeurs à la différence du goût. Lorsque nous mangeons ou buvons, les molécules volatiles sont ainsi transportées par l'air.

-de l'aliment vers le nez

-de la bouche vers notre muqueuse nasale après mastication (c'est la perception rétro-nasale).

On peut alors attribuer une odeur ou un descriptif olfactif à une molécule donnée. En réalité, cette notion d'odeur est plus complexe car il existe des effets de synergie entre les molécules, mais le plus souvent on trouve un ou plusieurs descriptifs olfactifs associés à une molécule dans la littérature (Figure 1).

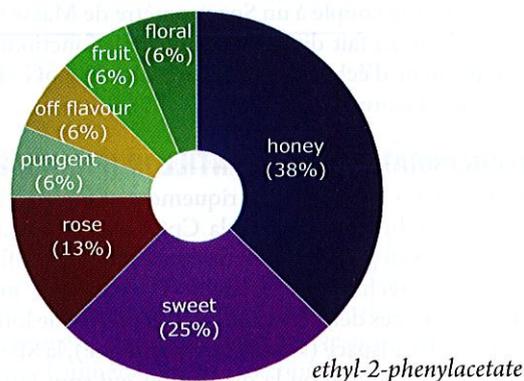
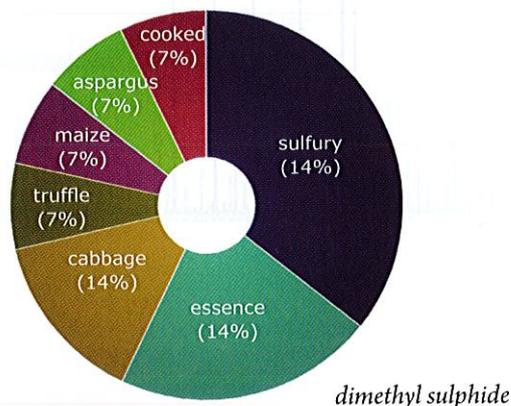


Figure 1 : Description olfactive du diméthyl sulfide (14 descriptifs, 12 publications) et de l'éthyl-2-phénylacétate (16 descriptifs, 15 publications) en fonction de la fréquence de citation dans la littérature (source TWISTAROMA)

OBJECTIFS ET ÉTUDES DES ODEURS

Les objectifs dans les études d'odeurs sont souvent variés, l'identification d'« off-flavors », d'arômes responsables de vieillissement, l'effet d'un nouveau process de fabrication, le changement d'une matière première, le profil olfactifs des produits concurrents, des essais R&D...

Les odeurs sont étudiées dans les laboratoires spécialisés ou des centres de recherche publique, dans lesquels on fait appel à un panel dédié et entraîné. Il est alors possible de définir le seuil de perception. Ce seuil est par définition la concentration de la molécule étudiée à partir de laquelle 50% du panel testeur est capable de sentir une odeur. Evidemment, cette perception varie suivant les personnes et leur entraînement. Dans la littérature, on peut trouver plusieurs seuils de perception pour une même molécule (exemple Table 1). Le seuil de perception varie également en fonction de la matrice utilisée, l'eau ou une matrice alcoolisée (mimant le vin ou la bière) sont des matrices souvent utilisées dans la littérature.

Table 1: Exemples de seuils de composés volatils en fonction de la matrice étudiée

Molécules	Seuils de perception (µg/L)		
	Eau	Vin	Bière
Isoamyl acétate	2-20 [2]	30 [3]-160 [4]	500-2 300 [5]
Diméthyl sulfide	0,3-1 [6]	10-25 [7]	30 [8]
Géosmine	0,2-0,9 [9]	0,05[10]	

DIVERSITÉ DES COMPOSÉS VOLATILS

L'odeur que nous percevons des aliments ou des boissons est en fait constituée de plusieurs milliers de molécules volatiles diverses,

chacune dans des concentrations différentes. On comprend aisément cela lorsque l'on parle du vin, c'est un mélange subtil de milliers de molécules qui vont lui donner son arôme. Les dégustateurs œnologues les plus experts vont ainsi donner plusieurs dizaines de descriptifs aux vins, résultant en réalité de la concentration de chacune des molécules olfactives qu'ils auront réussi à percevoir. Ajoutons à cela qu'il existe des phénomènes de synergies entre les molécules, ce qui complexifie encore davantage l'étude des odeurs et arômes.

ANALYSE DES ODEURS

L'analyse des odeurs se fait plus souvent en Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à un Spectromètre de Masse (CpG-SM). Cet outil est en fait divisé en 3 appareils fonctionnant ensemble : le préparateur d'échantillon (Figure 2A), la CpG (Figure 2B) et le détecteur (Figure 2C).

LE PRÉPARATEUR D'ÉCHANTILLON (FIGURE 2A)

Même s'il est possible théoriquement d'injecter directement un liquide (vin, bière, eau) dans la CpG, il est nécessaire de préparer l'échantillon au préalable afin de concentrer et purifier l'échantillon. Différentes techniques existent et ont été miniaturisées et automatisées ces dernières années. On préfère de loin les techniques comme la Headspace (simple ou dynamique), la SBSE¹ ou la SPME² à l'extraction liquide ou la distillation qui sont fastidieuses et non respectueuses de l'environnement. Le préparateur d'échantillon (Figure 2A1) peut être comme sur la Figure 2, un robot sur lequel un bras Figure 2A1 déplace les échantillons du plateau à échantillon (Figure 2A3) pour les incuber (Figure 2A2) ou simplement les injecter. Il est alors possible de passer les échantillons de façon séquentielle et/ou de préparer un échantillon pendant que la CpG analyse le précédent.

LA CPG (FIGURE 2B)

La CpG est une technique séparative. Le mélange de composés volatils injectés va être séparé en ses constituants les plus purs possibles pour que le détecteur ou le spectromètre de masse puisse les identifier. Pour cela, ce mélange est injecté dans une colonne d'une longueur pouvant atteindre plusieurs dizaines de mètres, remplie d'un polymère spécial permettant la séparation des composés volatils (colonne de type DB-WAX, DB-5, DB-624 par exemple). Le gaz vecteur, l'hélium le plus généralement, pousse le mélange au travers de la colonne. Les molécules n'ayant aucune affinité pour la colonne, sortent de celle-ci instantanément, en même temps que le gaz vecteur, celles qui sont retenues sont éluées au fur et à mesure que l'on va chauffer la colonne, ce qui diminue leur affinité pour cette dernière. Lorsque la ou les molécules n'ont plus d'affinité, ne sont plus retenues par la colonne, elles s'en détachent complètement et sont conduites par le gaz vecteur jusqu'au détecteur. C'est ainsi qu'elles arrivent les unes après les autres dans le détecteur sous forme pure lorsque les conditions sont bien optimisées. Il est nécessaire de chauffer la colonne de 30°C à parfois plus de 350°C sur plusieurs dizaines de minutes suivant des rampes de température définies et extrêmement bien contrôlées.

LE DÉTECTEUR (FIGURE 2C)

- 1 Stir Bar Sorptive Extraction : Extraction des composés volatils à partir d'un barreau aimanté
- 2 Solid Phase Micro Extraction : Extraction des composés volatils à partir d'une fibre

Il s'agit dans notre cas d'un spectromètre de masse (Figure 2C1), mais il existe de nombreux détecteurs (FID, PFPD, ECD...). Les molécules, une fois séparées, sont directement envoyées dans le spectromètre de masse dans lequel elles sont fragmentées. Les fragments générés sont comme une signature propre à chaque molécule. Il existe des bases de données permettant d'identifier ces signatures et d'attribuer un nom à la molécule. La quantité de molécules que l'analyseur fragmente se traduit par le tracé d'un pic (Figure 3). La surface de ce dernier permet d'en déduire la concentration.

Il est également possible d'analyser les molécules avec d'autres détecteurs, comme l'olfactomètre (Figure 2C2). Ce petit masque permet à l'utilisateur de sentir les molécules les unes après les autres. Le nez humain étant parfois plus sensible qu'un spectromètre de masse, l'olfactomètre peut venir en complément de la spectrométrie de masse.

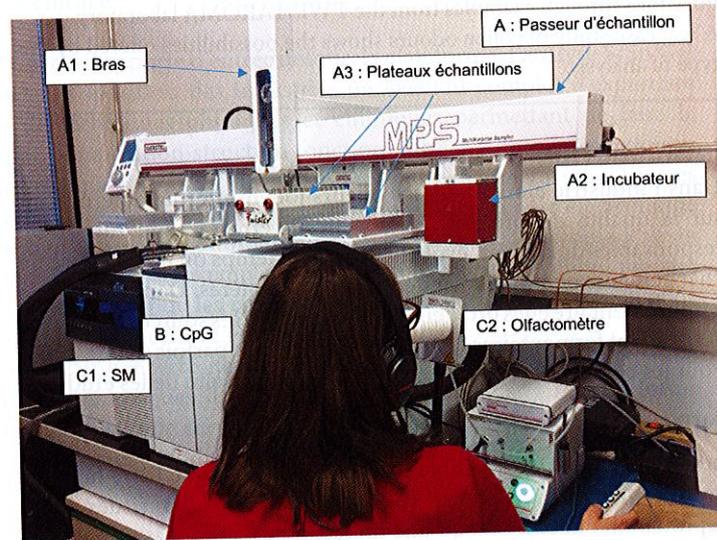
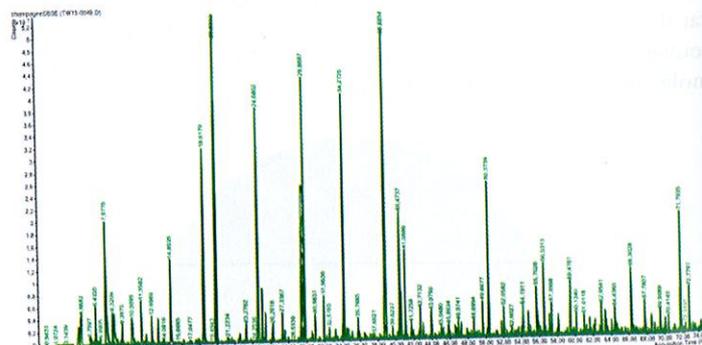


Figure 2 : Photo d'une séance d'analyse par CpG couplée à un olfactomètre et un spectromètre de masse (source TWISTAROMA)

Sample : Champagne commercial
Analytical method : SBSE-TD (internal method)
Carrier gas : Helium
GC : Agilent 7890
MS : Agilent 5977B inert MSD
Column : DB-Wax capillary column
Identification : Déconvolution, NIST14 et RI





www.twistaroma.fr

TWISTAROMA
Caractérisation et dosage des arômes et antioxydants
Expertises, R&D

CAS	Nom	Famille	RT (min)	Champagne Comerca (µL rel 3-octanol)
78-93-3	2-Butanone	Ketone	7,5	1 954,62
141-78-6	Ethyl acetate	Acetate Ester	7,6	646,78
71-43-2	Benzene	Inconnue	8,9	1,63
97-82-1	Ethyl isobutanoate	Ester	9,4	61,68
109-60-4	propyl acetate	Acetate Ester	9,6	3,74
124-18-5	Decane	Alcane	10,1	189,24
123-86-4	butyl acetate	Acetate Ester	11,1	28,48
2867-05-2	a-Thujene	Terpene	11,3	83,96
80-56-3	a-Pinene	Terpene	11,3	164,93
110-19-0	Isobutyl acetate	Acetate Ester	11,3	24,29
105-64-4	Ethyl butanoate	Ester	11,6	118,06
554-14-3	2-methylthiophene	Inconnue	11,7	6,67
7452-79-1	Ethyl 2-methyl butanoate	Ester	12,1	31,07
4466-24-4	2-Butylfuran	Furan	12,2	0,86
79-92-5	Camphene	Terpene	12,6	3,38
1120-21-4	Undecane	Alcane	13,2	247,48
76-83-1	isobutanol	Alcool	13,5	67,57
13442-89-2	1-(1-ethoxyethoxy)-pentane	Acetal	13,9	3,01
127-91-3	b-pinene	Terpene	14,3	33,21
123-92-2	Isoamyl acetate	Acetate Ester	14,8	282,78
7045-71-8	2-methyl undecane	Inconnue	15,6	37,80

Figure 3 : Chromatogramme d'une analyse de Champagne commercial (Source TWISTAROMA)

INTERPRÉTATIONS ET ANALYSES

Les technologies actuelles permettent de réaliser des profils larges spectres sur tous types de matrices alimentaires. Pour cela il est souvent nécessaire de disposer de la composition volatile de la matrice à analyser (via la littérature scientifique) afin d'utiliser la bonne méthode d'extraction et les bons paramètres chromatographiques, d'une base de données la plus exhaustive possible (Figure 4), d'outils d'analyses entretenus et si possible de dernière génération. Les répétitions (trop souvent absentes des rapports et vulgarisations) doivent être suffisantes pour pouvoir réaliser des analyses statistiques poussées comme des Analyses de Variances, Analyse en Composante Principale ou encore Dendrogrammes.

A

CAS	Nom	Famille
106-10-1	Methyl isobutyl ketone	Ketone
108-28-1	5-methylsine-2(3H)-furanone	Inconnue
106-38-3	1,3-dimethylbenzene	Inconnue
110-38-3	Ethyl decanoate	Ester
110-43-0	2-Heptanone	Ketone
110-54-3	Hexane	Inconnue
110-62-3	Phenol	Alcool
110-82-7	Cyclohexene	Terpene
110-93-0	6-methyl-5-hepten-2-one	Ketone
111-13-7	2-Octanone	Ketone

B

CAS	Nom officiel
3142-66-3	3-Hydroxypentan-2-one
620-17-7	m-Ethylphenol
624-92-0	Dimethyl disulfide
75-16-3	Dimethyl sulfide

Figure 4: Interrogation de la base de données de TWISTAROMA par matrice (A) et par odeurs (B)

Exemple analyses de 4 cafés commerciaux (en capsule)

Pour illustrer l'analyse d'odeurs, nous présentons ici notre étude portant sur 4 cafés en capsule de marque commerciale. La préparation de 4 cafés est effectuée à l'aide d'une machine Nespresso™ (Magimix, M130-U) et d'eau déminéralisée. L'extraction est réalisée sur 10mL de café par SPME (Stableflex 2cm 50/30µm DVB/Car/PDMS) dans des vials de 20mL après addition de 10 µL de témoin interne (3-octanol) à une concentration finale de 750 µg/L. L'extraction des composés volatils est réalisée suivant le protocole suivant :

- équilibrage 20 minutes 60°C sous agitation
- adsorption des composés volatils 15 min à 60°C.

La préparation des échantillons est automatisée et effectuée par l'échantillonneur MultiPurpose Sampler MPS (Gerstel®).

L'analyse des composés volatils est effectuée en CpG 7890 B et SM 5977B (Agilent Technologies®) sur colonne capillaire DB-Wax (J&W Scientific, 60 m x 320 µm x 0,5 µm).

Les conditions opératoires sont les suivantes : injection splitless; température d'injection à 250°C ; programme de température du four : 40 °C puis augmentation à 5°C/min jusqu'à 240°C, maintien de la température pendant 11 min. Le gaz vecteur utilisé est l'hélium (Alphagaz 1) dans un flux continu à 1 mL/min [11].

L'identification des composés volatils est effectuée en comparant les spectres de masse avec la librairie de spectre (NIST14) et les données bibliographiques de la base de données TWISTAROMA®. Chaque échantillon de café est analysé en triple. Les analyses statistiques sont réalisées sous R (3.4-3) et les packages Rcommander (2.4-1) et FactomineR [12].

Résultats : Sur les 4 cafés analysés plus de 300 composés sont détectés et semi quantifiés en équivalent 3-octanol. Après Analyse de la variance, seuls 91 composés sont différents entre les 4 cafés (risque $\alpha < 0,05$). L'Analyse en Composante Principale est représentée Figure 5. L'axe 1 explique 77% des variations observées et permet de discriminer les 4 cafés en 2 groupes : le café 3 d'un côté et le groupe des cafés 1/2/4 de l'autre.

Le café numéro 3 est le plus riche en composés volatils. En effet, 67 composés volatils sont en concentrations supérieures dans ce café par rapport aux cafés 1, 2 et 4. Les descriptifs olfactifs de ces molécules sont « phénoliques » ou encore « épiciées » ce qui correspond pour partie aux descriptifs donnés par le fabricant : « ristretto corsé, riche en notes grillées ».

Des analyses statistiques multiples permettent d'identifier les différences entre les 4 cafés et d'identifier les molécules clés. Par exemple il est possible d'identifier ce qui distingue le café 4 des 3 autres cafés. Il est plus riche en dicétones (diacétyl et acétoïne (beurre)) et 4 aldéhydes (furfural, 5-méthylfurfural, 1H-pyrrole-2-carboxyaldehyde et 5-hydroxy-méthylfurfural (oxydée)). Le café 4 est un Arabica, dont les caractéristiques sont des concentrations plus élevées en acétoïne, diacétyl et furfural notamment [13].

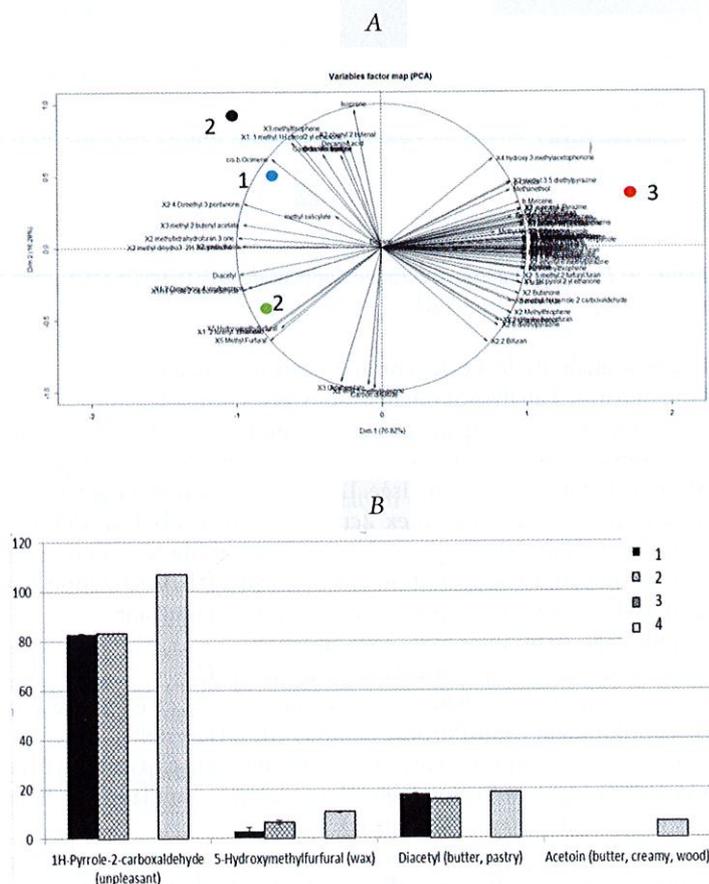


Figure 5 : Analyse en composante principale des 4 cafés (A) et représentation graphique des concentrations des molécules clés des cafés (en $\mu\text{g/L}$ rel 3-octanol) (B)

CONCLUSION

L'analyse des odeurs et perceptions olfactives est essentielle pour tout industriel qui veut comprendre son produit ou étudier celui de la concurrence, innover ou simplement réduire ses coûts.

Grâce à des outils et des technologies de plus en plus innovantes il est maintenant possible de réaliser des profils de composés volatils impliqués dans les odeurs. Pour cela il est nécessaire de disposer d'un véritable savoir-faire ainsi que de connaissances approfondies dans l'analyse et l'interprétation des données générées. ■

- [1] L. Buck and R. Axel, "A novel multigene family may encode odorant receptors: A molecular basis for odor recognition," *Cell*, vol. 65, no. 1, pp. 175–187, Apr. 1991.
- [2] R. R. Jetti, E. Yang, A. Kurnianta, C. Finn, and M. C. Qian, "Quantification of selected aroma-active compounds in strawberries by headspace solid-phase microextraction gas chromatography and correlation with sensory descriptive analysis," *J. Food Sci.*, vol. 72, no. 7, 2007.
- [3] R. Perestrelo, a. Fernandes, F. F. F. Albuquerque, J. C. C. Marques, J. S.

- Câmara, and J. S. C., "Analytical characterization of the aroma of Tinta Negra Mole red wine: Identification of the main odorants compounds," *Anal. Chim. Acta*, vol. 563, no. 1–2, pp. 154–164, Mar. 2006.
- [4] R. A. Peinado, J. Moreno, J. E. Bueno, J. A. Moreno, and J. C. Mauricio, "Comparative study of aromatic compounds in two young white wines subjected to pre-fermentative cryomaceration," *Food Chem.*, vol. 84, pp. 585–590, 2004.
- [5] D. Saison, D. P. De Schutter, B. Uyttenhove, F. Delvaux, and F. R. Delvaux, "Contribution of staling compounds to the aged flavour of lager beer by studying their flavour thresholds," *Food Chem.*, vol. 114, no. 4, pp. 1206–1215, 2009.
- [6] M. Rychlik, P. Schieberle, and W. Grosch, "Compilation of odor thresholds, odor qualities and retention indices of key food odorants," 1998.
- [7] F. S. Juan, J. Cacho, V. Ferreira, and A. Escudero, "Aroma chemical composition of red wines from different price categories and its relationship to quality," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 60, no. 20, pp. S045–56, May 2012.
- [8] P. S. Hughes and E. D. Baxter, "Beer: quality, safety and nutritional aspects." Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2001. 138 pp ISBN 0-85404-588-0," *J. Sci. Food Agric.*, Apr. 2001.
- [9] S. E. S. Elli, C. E. R. Annou, C. A. P. Rost, J. O. E. L. R. Obin, S. Selli, C. Rannou, C. Prost, J. Robin, and T. Serot, "Characterization of aroma-active compounds in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eliciting an off-odor," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 54, no. 25, pp. 9496–502, Dec. 2006.
- [10] S. Boutou and P. Chatonnet, "Rapid headspace solid-phase microextraction/gas chromatographic/mass spectrometric assay for the quantitative determination of some of the main odorants causing off-flavours in wine," *J. Chromatogr. A*, vol. 1141, no. 1, pp. 1–9, Feb. 2007.
- [11] F. J. Delgado, J. González-Crespo, R. Cava, J. García-Parra, and R. Ramírez, "Characterisation by SPME-GC-MS of the volatile profile of a Spanish soft cheese P.D.O. Torta del Casar during ripening," *Food Chem.*, vol. 118, no. 1, pp. 182–189, Jan. 2010.
- [12] S. Lè, J. Josse, and F. Husson, "FactoMineR: an R package for multivariate analysis," *J. Stat. Softw.*, 2008.
- [13] N. Caporaso, M. B. Whitworth, C. Cui, and I. D. Fisk, "Variability of single bean coffee volatile compounds of Arabica and robusta roasted coffees analysed by SPME-GC-MS," *Food Res. Int.*, vol. 108, pp. 628–640, Jun. 2018.

La société TWISTAROMA a été fondée en 2011 par le Dr. Damien Steyer (PDG de TWISTAROMA) et le Dr. Céline Leitaou (responsable R&D à TWISTAROMA) sur la base de leurs thèses respectives (INRA et CNRS). Depuis 8 ans TWISTAROMA s'est imposée comme laboratoire de référence dans l'analyse de composés volatils et d'antioxydants auprès d'industriels prestigieux. Doté de son propre système d'analyse (SBSE/SPME/HEADSPACE-GC/MS et GC/O) et d'une base de données de plus de 300 000 composés, elle est capable de pouvoir analyser tous types de matrices et d'en donner le profil aromatique et/ou métabolique. Son personnel qualifié (2 docteurs et une BAC+5) collabore étroitement avec l'équipe du Pr Marchioni au sein de la faculté de Pharmacie de Strasbourg. TWISTAROMA est régulièrement sollicitée pour des projets de R&D par de grands groupes de l'industrie agro-alimentaire sur de nombreux produits (bière (Carlsberg), vin (INRA), champagne, café, fromage, luzerne, levures ou encore plantes médicinales). Grâce à ses développements informatiques, TWISTAROMA est en mesure d'analyser les fichiers générés par des outils d'analyses tels que la GC/MS ou l'HPLC/MS afin d'en identifier les pics : <https://www.twistaroma.fr/demande-devis-pour-analyse-de-fichiers-gc-ms-format-netcdf-ou-d/> Les analyses de matrices sont personnalisées et réalisées en toute confidentialité. Pour toute demande de projets ou d'analyses : <https://www.twistaroma.fr/formulaire-pour-demande-de-devis-analyse-laboratoire/>