



Analyse des phénols dans les produits fumés : utilisation de la microextraction en phase solide (SPME*)

Christel GRONDIN et Anne-Sophie GUILLARD (CTSCCV)

RESUME

Les composés phénoliques font partie des produits apportés par le fumage. Ils contribuent en particulier à l'arôme caractéristique du produit fumé. Parmi ces composés, on peut citer le phénol, le guaiacol ou le syringol. Selon la nature du bois utilisé, la température de pyrolyse ou la technique de fumage, les proportions relatives de ces composés varient. La méthode classique de dosage colorimétrique des phénols totaux ne permet pas de caractériser les différents composés phénoliques présents. Le dosage respectif de ceux-ci nécessite une méthode lourde faisant appel à la distillation puis la dérivatisation avant analyse par chromatographie. La méthode développée au CTSCCV utilise la micro-extraction en phase solide (SPME) pour extraire spécifiquement et qualitativement les composés phénoliques avant de les analyser directement par chromatographie. La composition de saucisses de Francfort fumées par fumage traditionnel ou par revaporisation de fumée liquide, ainsi que la cinétique d'adsorption des phénols, ont été étudiées.

QU'EST-CE QUE LE FUMAGE ?^{1,2}

Le fumage consiste à soumettre une denrée alimentaire à l'action des produits gazeux qui se dégagent lors de la combustion incomplète de certains végétaux. Il agit sur la conservabilité des produits par une action antioxydante (retarde la dégradation oxydative des lipides) et une action bactériostatique, qui permet de stabiliser la charge microbienne du produit fumé. Le fumage apporte aussi un goût, une odeur et une couleur typiques aux produits fumés.

Actuellement, le fumage des produits a pour principal but le développement des caractéristiques sensorielles (flaveur, couleur). Aussi, aux produits

charcutiers traditionnels (saucisse de Francfort, saucisson et saucisse de Morteau, bacon...) et aux poissons fumés (hareng, saumon), sont venus s'ajouter divers produits tels que des spécialités apéritives, des hors d'œuvre, du fromage mais aussi des produits issus de la pêche comme la truite, l'anguille ou l'huître.

La production de la fumée

La production de fumée est une réaction de combustion incomplète. Sous l'action de la chaleur, les polymères constitutifs du bois sont hydrolysés en molécules organiques de faible poids moléculaire (pyrolyse). Les molécules ainsi produites subissent ensuite des réactions

* SPME = *Solid Phase MicroExtraction* (microextraction en phase solide)

d'oxydation, de polymérisation et de condensation. Suivant les conditions de combustion (température, aération, type de bois), différentes réactions se produisent. La complexité et le nombre de mécanismes mis en jeu conduit à une multitude de composés.

Les composés impliqués

Les principaux composés responsables de la flaveur sont les phénols, les lactones, les composés carbonylés, les furannes, les alcools et les esters. Les composés carbonylés sont aussi les principaux responsables du développement de la couleur à la surface des produits. La couleur se développe au cours d'une succession de réactions, de type Maillard, entre ces composés et les groupements aminés libres des protéines.

De nombreux chercheurs se sont attachés à l'étude des composés phénoliques, en raison de leur rôle, présumé essentiel, dans l'arôme du produit fumé. Ils seraient également responsables de l'action antioxydante et bactériostatique du fumage.

Les phénols

Les phénols et les éthers phénoliques tels que le guaïacol, le syringol et leurs homologues et dérivés proviennent principalement de la décomposition de la lignine. La quantité et la nature des phénols présents dans la fumée sont directement liées à la nature du bois, à la température de pyrolyse, ainsi qu'à la technique utilisée.

Par exemple, les produits oxygénés tels que la vanilline, l'acétovanillone et l'acide vanillique n'apparaissent que si la production de fumée se déroule en présence d'air. Par contre, les composés de type guaïacol et dérivés sont obtenus dans des atmosphères enrichies en azote.

D'autre part, les fumées produites à partir de bois de feuillus (chêne, hêtre, noyer pour les bois durs, aulne, tilleul, bouleau pour les bois tendres) sont plus riches en guaïacol, syringol et leurs dérivés que les résineux (pin, cèdre), plus riches en phénol et crésols. Les épices et aromates (girofle, poivre, muscade, cannelle) apportent aussi des composés phénoliques, en particulier l'eugénol.

L'analyse des phénols

Etant donné l'importance de la contribution des composés phénoliques à la qualité des produits fumés, une méthode d'analyse rapide, qualitative et quantitative, a été développée au CTSCCV, dans le but de compléter les informations partielles et peu descriptives données par le dosage colorimétrique des phénols totaux ou la mesure instrumentale de la couleur.

La microextraction en phase solide (SPME) a été utilisée pour extraire sélectivement les phénols à partir de saucisses fumées préalablement broyées. Les phénols sont ensuite quantifiés et identifiés individuellement après séparation par chromatographie en phase gazeuse. Cette méthode a été développée à partir de produits issus du programme «comparaison entre le fumage traditionnel et le fumage par fumée liquide», conduit dans le cadre de l'ACTIA (Association de Coordination Technique pour l'Industrie Agro-alimentaire).

PRINCIPE DE LA MICROEXTRACTION EN PHASE SOLIDE (SPME)^{3,4}

La SPME est une technique d'extraction qui utilise le principe du partage des composés entre une phase aqueuse ou gazeuse et une phase stationnaire constituée d'un film de faible épaisseur fixé sur la fibre SPME. Le film est choisi en fonction du type de composés que l'on souhaite extraire.

La SPME n'exige ni solvant, ni appareillage compliqué et permet de concentrer des composés volatils ou non. L'extraction des composés volatils est d'autant plus efficace que la température d'incubation est proche de leur température d'ébullition. Les composés peu volatils peuvent être extraits en trempant la fibre dans la solution à analyser (par exemple pour l'analyse des polluants organiques dans les eaux). Les composés extraits sont ensuite analysés par chromatographie en phase gazeuse (CPG).

Extraction des composés

L'échantillon à analyser, sous forme liquide ou solide, est placé dans un flacon étanche scellé. La fibre SPME est introduite dans le flacon, soit dans l'échantillon, soit juste au-dessus de l'échantillon, dans la phase vapeur.

Les composés ayant une affinité pour la fibre s'y adsorbent. Leur affinité pour la phase stationnaire et la phase vapeur dépend de leur coefficient de partage (q), rapport des concentrations de soluté A dans les deux phases à l'équilibre, à une température donnée, tel que

$$q = \frac{[A]_{\text{fibre}}}{[A]_{\text{vapeur}}}$$

Lors de l'extraction, divers paramètres interviennent, tels que le temps de contact avec l'échantillon, la température de chauffage de l'échantillon, l'agitation ou non de celui-ci, ainsi que la durée de pré incubation... Par exemple, le chauffage des échantillons permet d'augmenter la diffusion des analytes. Mais un chauffage trop important peut entraîner des réactions de dégradation du produit pouvant conduire à une modification artificielle des résultats.

Désorption pour analyse

Après un temps déterminé d'exposition, la fibre est retirée du flacon contenant l'échantillon et introduite directement dans l'injecteur du chromatographe. Les analytes sont alors thermiquement désorbés par la température de l'injecteur et entrent directement dans la colonne capillaire pour y être séparés puis identifiés.

ANALYSE DES PHENOLS DES PRODUITS FUMES PAR SPME

La quantité moyenne de phénols totaux dans les produits de charcuterie fumés se situe entre 10 et 200mg/kg. Ces quantités sont relativement faibles et nécessitent donc des méthodes de dosage à seuil de détection bas. La méthode SPME développée permet de déterminer la composition des différents types de phénols présents dans le produit fumé avec un seuil de détection de 0,09 mg/kg de produit.

Analyse qualitative des fumées

Il existe différentes techniques de fumage des produits : traitement traditionnel à chaud ou à froid, dans la cellule de fumage; fumage électrostatique ou traitement par des condensats de fumées.

Dans le cas du fumage par revaporisation de fumée liquide, la méthode SPME a été utilisée avec succès pour caractériser chaque type de fumée utilisée (*figure 1*). Par exemple, le

composé majeur observé avec le fumage liquide de type 1 est le guaïacol (2), alors que les phénol (5), guaïacol (2), et 4-ethyl-guaïacol (1) sont majoritaires avec le fumage liquide de type 2. Les guaïacol (2), phénol (5) et *o*-crésol (4) sont majoritaires dans les saucisses fumées par fumage traditionnel. De plus, le rapport *p*-crésol / *m*-crésol (6 / 7) est différent selon le type de fumage : 1,94 (liquide 1), 3,16 (liquide 2) et 0,85 (traditionnel).

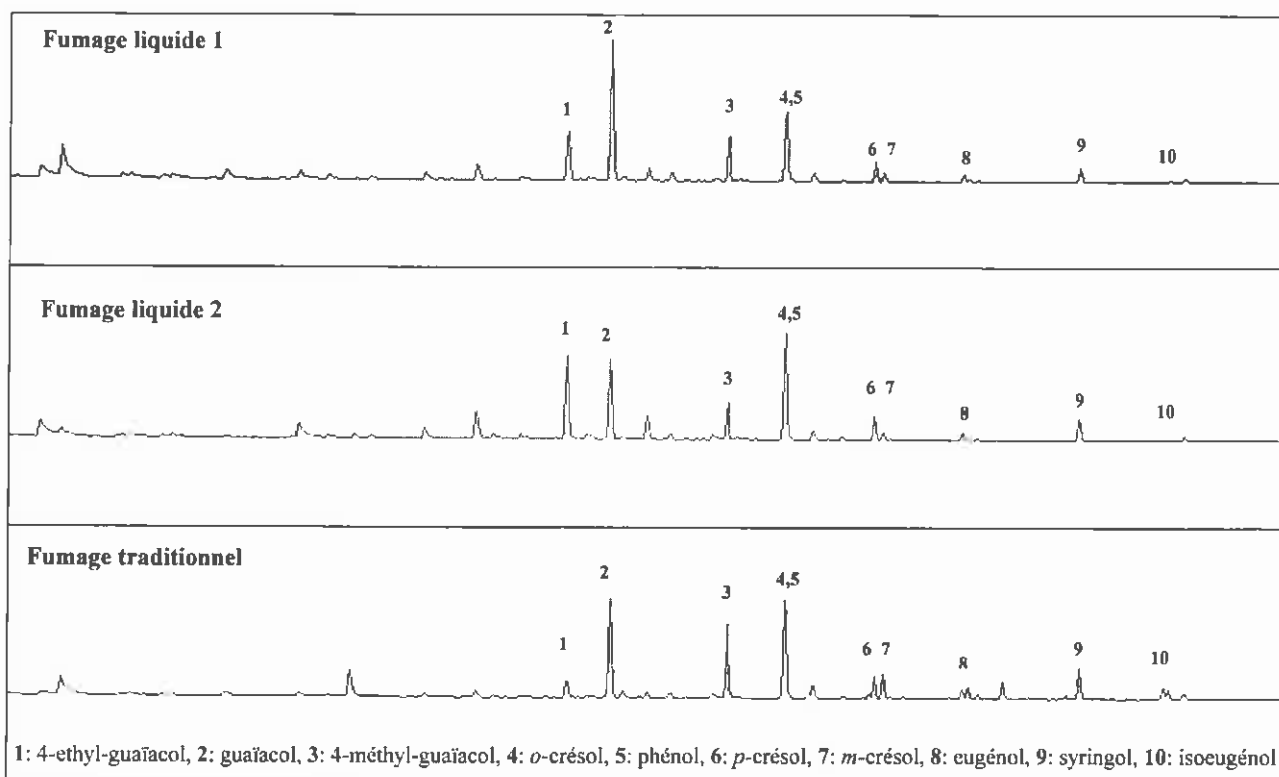


Figure 1 : Analyse par SPME de saucisses de Francfort fumées par revaporisation de fumée liquide (2 fournisseurs différents) ou par fumage traditionnel .

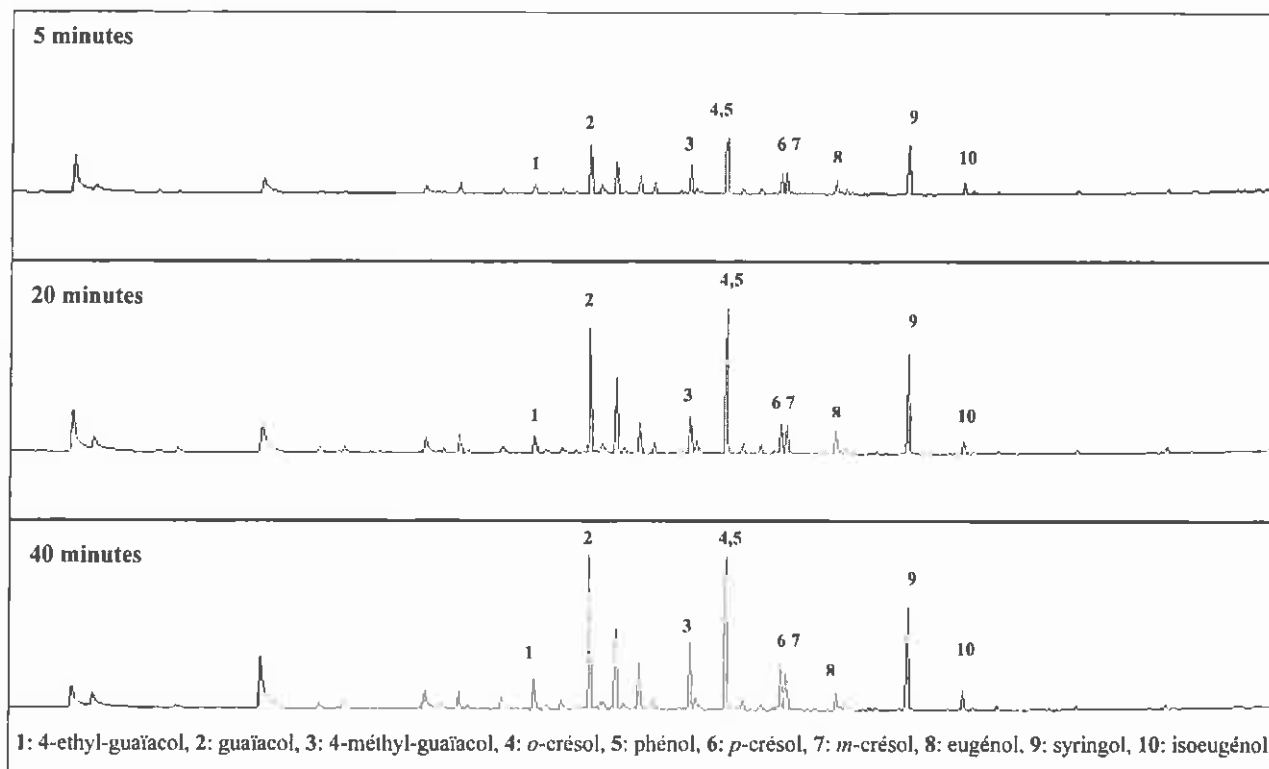


Figure 2 : Analyse par SPME de la cinétique de fumage de saucisses de Francfort, fumées par revaporisation de fumée liquide.

Etude de la cinétique de fumage

L'analyse des phénols par SPME permet aussi d'optimiser le procédé, par exemple en effectuant une étude de la cinétique de dépose des phénols pendant la durée du fumage (*figure 2*).

Les résultats obtenus montrent que, dans les conditions de l'essai, la quantité totale de phénols augmente fortement entre 5 et 20 minutes de fumage. Les principaux composés adsorbés par les produits, au cours du fumage réalisé,

sont le guaïacol (2), le phénol (5) et le syringol (9). Entre 20 et 40 minutes de fumage, ce sont principalement les proportions de 4-méthyl-guaïacol (3), *p*-crésol (6) et *m*-crésol (7) qui augmentent.

L'étude de la cinétique de pénétration des constituants de la fumée peut aussi être réalisée avec cette méthode. Des travaux sont en cours pour mettre en place un suivi de la qualité des fumées liquides elles-mêmes (stabilité, contrôle de la reproductibilité des lots, ...).

CONCLUSION : INTERET DE LA METHODE

Le dosage des phénols dans les produits fumés est une opération délicate : ils sont volatils et de plus ce sont des substances réactives. Ainsi, dans les produits carnés, ils peuvent réagir avec les groupements aminés libres des protéines, les composés carbonylés et les nitrites du produit. De plus, même s'ils sont présents en quantité importante dans les condensats de fumée, ils ne sont pas forcément détectables dans le produit fumé, ni présents dans les mêmes rapports de concentration.

La méthode SPME permet de s'affranchir des pertes dues à la volatilité et la réactivité des phénols puisque très peu d'étapes sont nécessaires à la préparation et à l'analyse des échantillons. Elle permet d'obtenir des résultats représentatifs du mode de fumage et apporte des informations pertinentes sur les caractéristiques de composition de la fumée utilisée sur les produits.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Durand P. (1999) «Le fumage» *in* Technologie des produits de charcuterie et des salaisons, TEC & DOC LAVOISIER ed., 253.
2. Maga, J.A. (1988) «Smoke in food processing» CRC Press Inc. 160 p.
3. Arthur C. L. and Pawliszyn J. (1990) «Solid-Phase Microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers», *Anal. Chem.*, 62, 2145.
4. Harmond, A.D. (1997) «Solid-Phase Microextraction for the Analysis of Flavors» *in* Techniques for analyzing Food Aroma, Ray Marsili ed., 81.

Pour tout renseignement complémentaire,
Contacter Anne-Sophie Guillard
Service Recherche et Développement
Tél. 01.43.68.57.85 - Fax 01.43.76.07.20
email guillard@vet-alfort.fr