

Les molécules de la caramélisation : structure et méthodologies de détection et d'évaluation

Jacques Defaye* directeur de recherche CNRS, José Manuel García Fernández** chercheur CSIC, Valérie Ratsimba*** responsable recherche

Summary : *The molecules of caramelization : structure and methodologies of detection and evaluation*

Caramelization, that takes place on heating sugars or food products rich in sugars results in a minor volatile fraction containing mainly 5-(hydroxymethyl)-2-furaldehyde and a major proportion of nonvolatile components (90-95 %) shown to be spirodioxanyl acetals derived from fructose along with their products of glycosylation. Also present are branched oligosaccharides likewise found in commercial Polydextrose. The relative proportion of these components and especially the cyclic acetals depends on the starting material and its processing. Methodologies have been settled for food and food additives authentication based on these acetals as suitable tracers of caramelization.

Mots clés : *Caramel, dianhydrides du fructose, pseudo-oligosaccharides spirodioxaniques, additifs alimentaires, analyse alimentaire, authenticité et traçabilité des aliments.*

Key-words : *Caramel, difructose dianhydrides, spirodioxanyl pseudo-oligosaccharides, food additives, food analysis, food authentication.*

La caramélisation est un procédé culinaire traditionnel qui consiste à chauffer le saccharose au-delà de son point de fusion, de préférence en présence d'un catalyseur acide, jus de citron ou vinaigre. Depuis quelques années, c'est également un procédé industriel de préparation d'additifs ou d'ingrédients alimentaires qui utilise aussi bien le glucose, le fructose ou des maltodextrines comme matières premières et des catalyseurs variés, acides carboxyliques (caramels aromatiques), ammoniac, hydroxydes alcalins ou sulfites (caramels colorants) [1]. La caramélisation appartient au groupe des réactions de brunissement non enzymatique des aliments au

même titre que la réaction de Maillard [2], responsable de la saveur caractéristique des viandes grillées. Cette dernière, relativement plus connue, implique la présence simultanée de sucres, d'acides aminés ou de protéines. En dépit d'un siècle et demi de recherches, nos connaissances quant à la nature du caramel sont récentes. Après un bref rappel historique, nous ferons le point sur la structure moléculaire des composants oligosaccharidiques les plus spécifiques du caramel, à savoir les spirodioxanyl-oligosaccharides, résultats qui ont permis de déboucher sur des méthodologies de caractérisation de produits souvent largement utilisés dans l'alimentation.

solubilité dans un mélange alcool-eau, première indication de la nature polymérique du caramel confirmée ensuite par Graham [5] par des essais de dialyse. Ce n'est qu'en 1936 que van Elbe [6] établit une relation plus précise avec des composants glucidiques en indiquant que ces constituants ne sont en fait que des mélanges « de produits incolores étroitement apparentés au saccharose et de substances humiques à caractère colloïdal ». Bien que ces affirmations aient été en fait surtout étayées par la faculté d'acylation du caramel mise en évidence par Cuningham et Dorée [7] quelques années auparavant, elles préfigurent assez bien nos résultats. Beaucoup plus récemment, Descotes et son équipe [8] identifient les constituants de la fraction volatile du caramel, à savoir des dérivés furaniques dont essentiellement le 5-(hydroxyméthyl)-2-furaldéhyde ainsi que des pyrones, des aldéhydes, alcools, et acides carboxyliques de faible masse moléculaire. La composition moléculaire de la fraction non volatile du caramel, laquelle constitue plus de 90-95 % en poids du caramel, restait à établir.

Communication

* Département de pharmacochimie moléculaire, UMR 5063, CNRS et Université Joseph Fourier, Grenoble I, BP 138, 38243 Meylan. Tél. : 04.76.04.10.18. Fax : 04.76.04.10.13.

E-mail : J.Defaye@ujf-grenoble.fr

** Instituto de Investigaciones Químicas, CSIC, Américo Vespucio s/n, Isla de la Cartuja, E-41092 Sevilla, Espagne.

E-mail: jogarcia@cica.es

*** Nigay SA, 42110 Feurs. Tél. : 04.77.26.21.33. Fax : 04.77.26.22.12. E-mail : nigay.sa@wanadoo.fr

Rappels historiques

Les premiers travaux sur le caramel remontent au chimiste français Eugène Péligot [3] qui, dès 1838, note le caractère acide du caramel de saccharose. Vingt ans plus tard, Gélis [4] fractionne le caramel en trois composants non identifiés, caramélane, caramélène et caraméline, séparés par leur différence de

Les composants oligosaccharidiques de la fraction non volatile du caramel

Les dianhydrides du fructose, composants essentiels du caramel

Des travaux antérieurs de notre laboratoire, réalisés pour partie dans le cadre du groupement de recherche 1008 « Sucrochimie » du CNRS, et dont l'objectif était de déboucher sur des applications non alimentaires du saccharose, nous avaient conduits à mettre au point des méthodes commodées de préparation d'acétals cycliques intermoléculaires dérivés du fructose - dianhydrides du fructose, DAFs - susceptibles de trouver des applications dans le domaine des matériaux [9]. Les conditions faiblement déshydratantes utilisées pour optimiser l'accès à ces structures - lesquelles font intervenir notamment l'action du fluorure d'hydrogène anhydre ou de ses complexes avec des amines sur des solutions concentrées d'hexuloses, de pentuloses, ou encore de saccharose ou d'inuline - pouvaient laisser supposer la présence d'oligosaccharides de ce type dans le produit de la caramélisation des sucres. C'est en fait plus de 18 % en poids de dianhydrides du fructose qui furent initialement trouvés par fractionnement chromatographique du produit d'acétylation d'un caramel pâtisier commercial obtenu par thermolyse du saccharose à 160 °C en présence de 0,1 % d'acide acétique [10]. Une étude utilisant la spectrométrie de masse en mode d'ionisation par bombardement d'atomes accélérés - technique FAB - montrait par la suite que la fraction non volatile du caramel était essentiellement constituée de DAFs, de leurs produits de glycosylation ainsi que d'oligosaccharides du glucose, permettant d'estimer à plus de 40 % la proportion relative de ces molécules inusuelles dans le caramel pâtisier. Celles-ci étaient, par ailleurs, retrouvées dans des caramels colorants, obtenus par traitement du saccharose ou du glucose en présence de soude, de sulfite d'ammonium ou d'ammoniac [11].

Plus récemment, c'est une proportion relative de plus de 80 % de ce type de molécules qui a été retrouvée dans un caramel de fructose [12]. La formation de ces composés à partir du fructose ou d'oligosaccharides contenant le fructose peut être aisément rationalisée sur la base d'un cation fructosyle intermédiaire sujet à dimérisation (schéma 1). Cette transformation est particulièrement favorisée pour des concentrations élevées en sucres - comme c'est le cas pour la préparation du caramel. Le réarrangement classique de Lobry de Bruyn-Alberda van Ekenstein, qui implique un intermédiaire énolique, permet d'expliquer par ailleurs la formation de ces produits par traitement thermique du glucose dans les conditions de caramélisation. Comme attendu, la formation des produits cinétiques à cinq chaînons difuranosidiques est initialement favorisée. Leur réarrangement, dans des conditions thermodynamiques, doit conduire à des isomères à six chaînons pyranose qui ont été effectivement retrouvés parmi les composants spirodioxaniques du caramel. Mais c'est en fait pas moins de quatorze isomères, incluant un spirodioxane mixte fructosyl-glucoside, qui ont été jusqu'à présent caractérisés [12] et dont les structures ont pu être établies par des méthodes conjointes de spectroscopie de RMN (¹H, ¹³C) et de

cristallographie de rayons X (schéma 2). Ces structures sont en équilibre et on a noté que leur proportion dépendait de la matière première utilisée, du catalyseur et de l'intensité du traitement thermique. Les critères de dimension de cycles ne suffisent évidemment pas à expliquer la présence d'un aussi grand nombre de structures isomères parmi les produits de thermolyse de sucres alimentaires et seule une étude de la structure tridimensionnelle de ces molécules rigides a permis de mettre en évidence le rôle essentiel du contrôle stéréoélectronique dans la formation des dianhydrides du fructose.

L'excellent article de Serge David dans ce périodique [13] a d'ores et déjà familiarisé le lecteur avec l'importance de l'effet anomère dans l'équilibre énergétique des acétals cycliques. Cet effet, qui se manifeste par la propension toute particulière d'un substituant électronégatif en position 2 d'un hétérocycle tétrahydropyranique à adopter une position axiale, joue également un rôle déterminant dans la stabilité et la réactivité des dioxaspirocétals [14]. On pouvait attendre qu'il se manifeste également dans le cas présent de tétraoxaspirocétals comportant un cycle dioxane-1,4 avec comme résultat une conformation impliquant une orientation axiale privilégiée pour les substituants oxygénés issus du cycle dioxane.

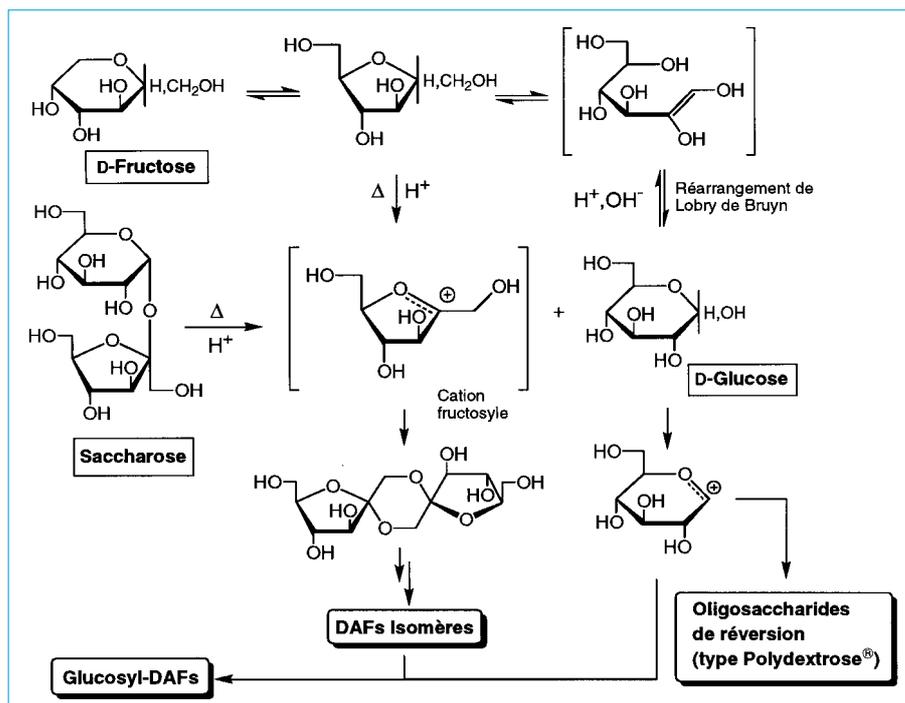


Schéma 1 - Formation de dianhydrides du fructose (DAFs), glucosyl-DAFs et oligosaccharides du glucose par traitement thermique du saccharose, du D-fructose ainsi que du D-glucose.

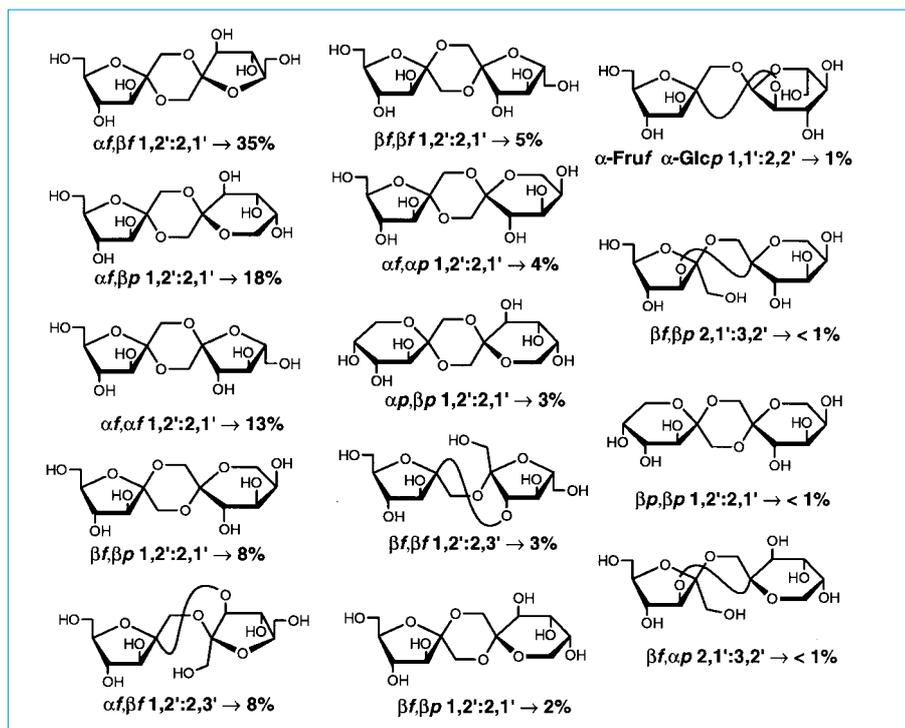


Schéma 2 - Les acétals spirodioxaniques identifiés dans un caramel pâtissier et leur proportion relative ; f, furanose ; p, pyranose.

nique - et lorsque c'est le cas du ou des cycles pyranose - dans leur conformation la plus stable, ce qui a été confirmé (schéma 3). Les différences souvent faibles entre les énergies de conformation de ces acétals spirodioxaniques permettent d'expliquer la très large réparti-

tion d'isomères de cycles et de configuration acétalique en équilibre retrouvés dans les produits d'activation thermique des sucres. Il est tentant d'imaginer que cet équilibre moléculaire subtil, inhérent à des pratiques culinaires ancestrales, pourrait être étroitement associé aux pro-

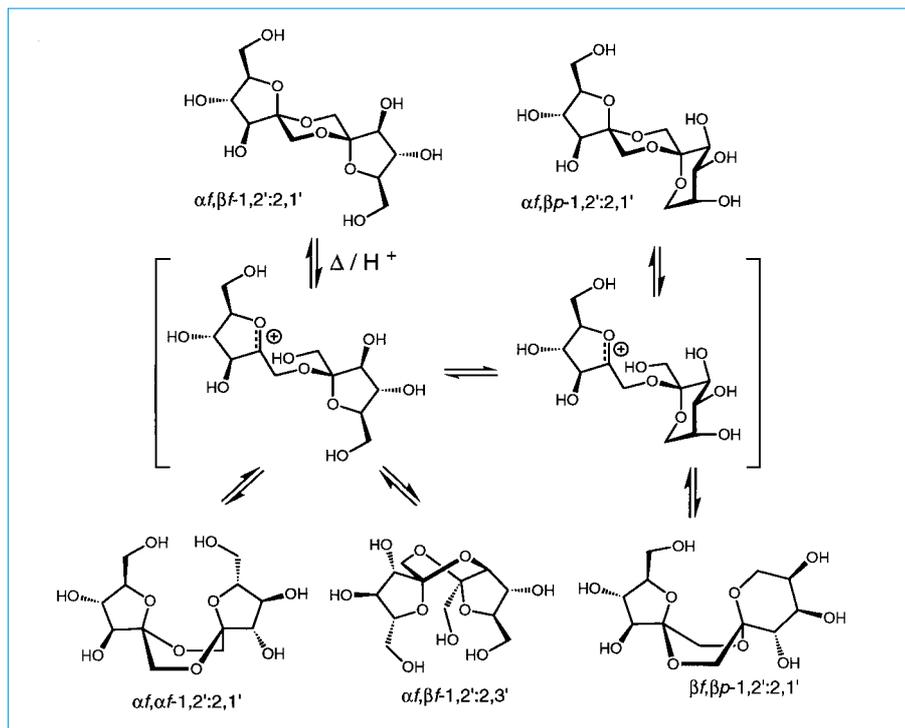


Schéma 3 - Réactions d'isomérisation des DAFs faisant apparaître le contrôle stéréoelectronique dans l'établissement des structures des composants spirodioxaniques majoritaires du caramel. Les formules représentées correspondent aux cinq DAFs majoritaires présents dans un caramel commercial de saccharose.

priétés organoleptiques des caramels et des aliments caramélisés. Des travaux sont actuellement poursuivis pour vérifier cette hypothèse.

Les dianhydrides du fructose, marqueurs de la caramélisation

La connaissance de la structure moléculaire de constituants aussi spécifiques du caramel que sont les DAFs permettrait d'envisager leur utilisation pour l'authentification des caramels commerciaux. Rappelons que le caramel pâtissier dit « aromatique » est un ingrédient largement utilisé pour l'aromatisation des desserts lactés, et que le caramel « colorant » est un additif de nombreuses boissons, eaux de vie, aliments pour animaux ou encore de produits pharmaceutiques. Ces deux types de caramels sont définis par la norme Afnor NF V00-100 comme devant provenir exclusivement du traitement thermique ménagé de sucres alimentaires en présence de catalyseurs définis [15].

Plusieurs méthodes, surtout basées sur des réactions colorées du 5-hydroxyméthyl-2-furaldéhyde (HMF), sont actuellement utilisées pour l'identification des caramels, mais le fait que le HMF soit un produit commercial abondant et bon marché enlève tout intérêt à ce type de caractérisation. Les dianhydrides du fructose ne sont, par contre, pas commercialement accessibles - et ne pourront vraisemblablement pas l'être dans des conditions économiques compétitives avec celles utilisées pour l'obtention des caramels - ce qui permet de privilégier leur utilisation pour l'authentification de produits alimentaires les contenant si des méthodologies accessibles en routine industrielle peuvent être proposées pour leur caractérisation.

C'est une de ces méthodologies que nous avons mise au point [12], basée sur la transformation de ces structures polyhydroxylées en dérivés triméthylsilylés volatils susceptibles de caractérisation en chromatographie en phase gazeuse. La transformation préalable en dérivés oximes des glucooligosaccharides réducteurs et du fructose résiduel éventuellement présents dans le caramel permet de dégager la plage d'apparition des DAFs dans le chromatogramme tout en limitant le nombre des isomères possibles pour les sucres

réducteurs aux formes syn et anti des dérivés oximes-TMS.

Cette méthodologie peut être éventuellement complétée par l'utilisation d'une détection en spectrométrie de masse, avec ionisation par impact électronique, qui permet de caractériser les DAFs par leur fragmentation spécifique - ions à m/z 217 et 204 caractéristiques respectivement des composantes furanose et pyranose du spirodioxanyl-disaccharide. La *figure 1* montre l'application de cette méthodologie à la détection de l'adultération d'un « caramel » commercial. Le chromatogramme inférieur témoigne à l'évidence que le « caramel » examiné, vendu en grande surface, n'a pas subi le traitement thermique préconisé par la norme Afnor NF V00-100 et consiste vraisemblablement en un mélange artificiel de produits du commerce.

La méthode a été ensuite étendue à la caractérisation de produits alimentaires dont les procédés de préparation font intervenir l'action de la chaleur sur des matières premières végétales riches en sucres. C'est le cas de la chicorée qui est obtenue par torréfaction de racines de plantes de la famille des composacées riches en inuline. La *figure 2* montre distinctement la présence attendue de DAFs, dont certains diffèrent qualitativement et quantitativement de ceux présents dans le caramel. Ces molécules sont également présentes dans les pruneaux d'Agen, raisins de Corinthe et abricots secs dont la dessiccation fait intervenir l'action de la chaleur [12].

Conclusion

Les fructo-oligosaccharides spirodioxaniques, curiosités de laboratoire jusqu'à un passé récent, sont en fait des constituants de beaucoup de produits utilisés de façon ancestrale dans l'alimentation. On peut probablement s'interroger quant au point de savoir si le principe de précaution, qui prévaut actuellement pour l'homologation d'additifs et ingrédients destinés à l'alimentation humaine, aurait permis à l'aube de ce troisième millénaire leur mise sur le marché sans études et contrôles approfondis. Fort heureusement, l'épreuve du temps a répondu à cette question. Qui plus est, certains

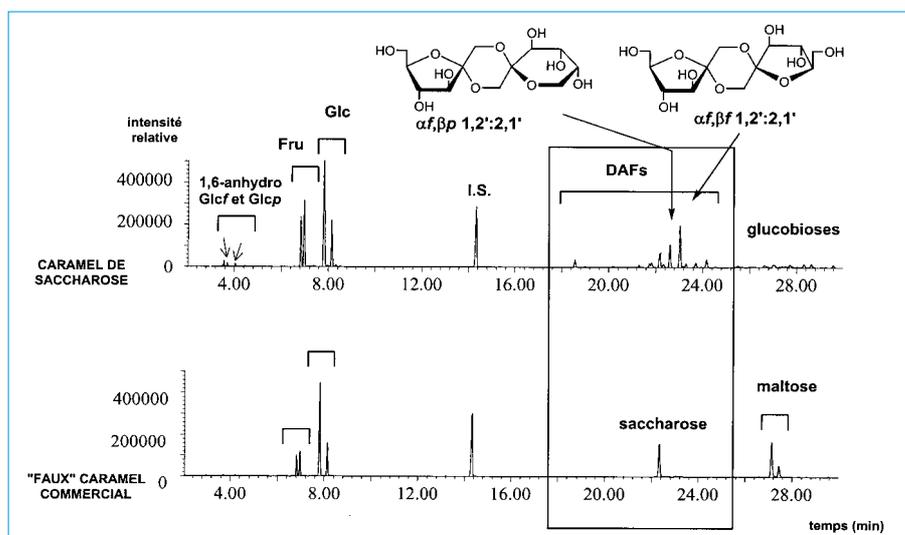


Figure 1 - Chromatogrammes en phase gazeuse comparatifs des composants glucidiques sous forme de leurs dérivés TMS-oximes d'un caramel pâtisseries commercial et d'un caramel commercial adultéré ; Fru, fructose ; Glc, glucose ; I.S., standard interne.

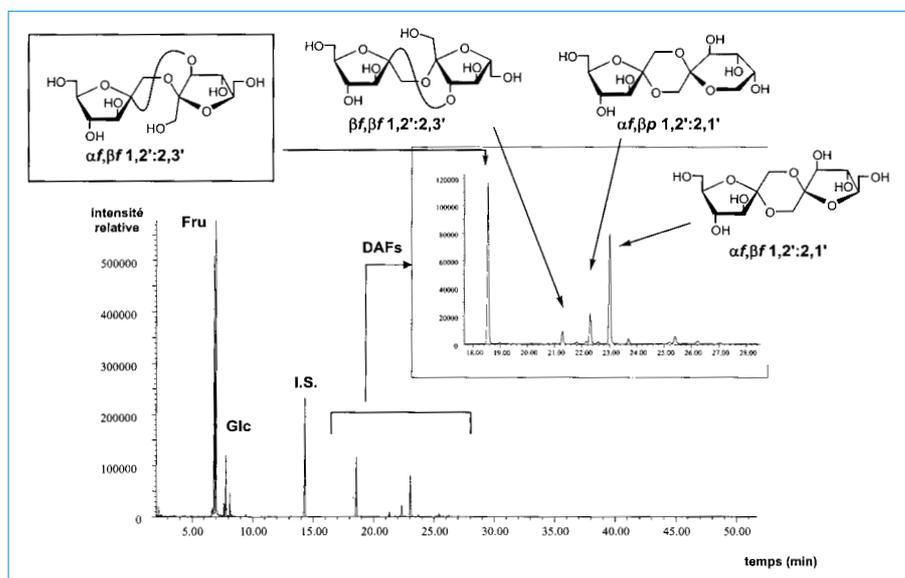


Figure 2 - Chromatogramme en phase gazeuse des composants glucidiques d'une chicorée soluble commerciale sous forme de leurs dérivés TMS-oximes.

résultats récents indiquent que ces composés pourraient avoir un effet bénéfique dans l'alimentation humaine et animale [16]. Des effets sur la rétention d'arômes sont également probables [17]. Dans l'immédiat, la connaissance de ces molécules doit contribuer à répondre aux exigences des contrôles de qualité, d'authenticité et de traçabilité en alimentation humaine.

Références

[1] Tomasik P., Palasinski, Wiejak S., *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **1989**, 47, p. 203.
 [2] Ledl F., Schleicher E., *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **1990**, 29, p. 565.
 [3] Péligot E., *Ann. Chim. Phys., 2nd Ser.*, **1838**, 67, p. 113.
 [4] Gélis A., *Ann. Chim. Phys., 3rd Ser.*, **1858**, 52, p. 352.

[5] Graham T., *J. Chem. Soc.* **1862**, 15, p. 258.
 [6] Von Elbe G., *J. Am. Chem. Soc.*, **1936**, 58, p. 600.
 [7] Cunningham M., Dorée C., *J. Chem. Soc.*, **1917**, 61, p. 589.
 [8] Cottier L., Descotes G., Neyret C., Nigay H., *Ind. Aliment. Agric.*, **1989**, 106, p. 567.
 [9] García Fernández J.M., Gabelle A., Defaye J., *Carbohydr. Res.*, **1994**, 265, p. 249.
 [10] Defaye J., García Fernández J.M., *Carbohydr. Res.*, **1994**, 256, p. C-1.
 [11] Defaye J., García Fernández J.M., *Zuckerind.*, **1995**, 120, p. 700.
 [12] Ratsimba V., García Fernández J.M., Defaye J., Nigay H., Voilley A., *J. Chromatogr. A*, **1999**, 844, p. 283.
 [13] David S., *L'Actual. Chim.*, **2000**, p. 25.
 [14] Perron F., Albizati K.F., *Chem. Rev.*, **1989**, 89, p. 1617.
 [15] Association Française de Normalisation, Paris : Standard Afnor NF V00-100, sept. **1988**, ISSN 0335-3931.
 [16] Manley-Harris M., Richards G.N., *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **1997**, 52, p. 207.
 [17] Ratsimba V., thèse de doctorat de l'université de Bourgogne, mars **2000**.