

COMMISSION DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES

INFORMATIONS INTERNES sur
L'AGRICULTURE

Recherche sur les additifs
pouvant être utilisés
comme révélateurs
pour la matière grasse butyrique

Partie III

COMMISSION DES COMMUNAUTES EUROPEENNES

DIRECTION GENERALE DE L'AGRICULTURE

Direction Economie Agricole – Division Bilans, Etudes, Informations Statistiques

*La reproduction, même partielle, du contenu de ce rapport est subordonnée
à la mention explicite de la source*

COMMISSION DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES

INFORMATIONS INTERNES sur
L'AGRICULTURE

Recherche sur les additifs
pouvant être utilisés
comme révélateurs
pour la matière grasse butyrique

Partie III

La présente étude a été entreprise dans le cadre du programme d'Etudes de la Direction Générale de l'Agriculture des Communautés Européennes.

Les travaux ont été réalisés par :

la Station Laitière du Centre de Recherches Agronomiques de l'Etat à Gembloux en collaboration avec l'Institut de Recherches Chimiques de Tervueren

Les travaux ont été menés avec la participation des divisions :

" Bilans, Etudes, Informations Statistiques " et
" Produits laitiers "

LA DIRECTION GENERALE DE L'AGRICULTURE DES COMMUNAUTES EUROPEENNES,
PROPRIETAIRE DES DROITS AFFERENTS AUX RESULTATS, AU SAVOIR-FAIRE ET AUX
TECHNIQUES MISES EN OEUVRE POUR LA PRESENTE RECHERCHE, AYANT RENONCE A TOUTE
EXCLUSIVITE, CEUX-CI TOMBENT DANS LE DOMAINE PUBLIC ET NE PEUVENT FAIRE EN
AUCUN CAS L'OBJET D'UNE PRISE DE BREVET.

*

* * *

Cette étude reflète uniquement l'opinion des auteurs responsables ; elle ne peut être considérée comme reflétant nécessairement les conceptions de la Commission des Communautés Européennes. Elle ne préjuge en rien de l'attitude ni des décisions que la Commission pourrait être amenée à prendre dans ce domaine.

AVANT - PROPOS

Le présent rapport constitue le compte-rendu final, détaillant les techniques mises en oeuvre, les résultats obtenus et le savoir-faire pour l'ensemble des travaux réalisés dans le cadre de la IIIème partie de l'étude:

"Recherche sur les additifs pouvant être utilisés comme révélateurs pour la matière grasse butyrique".

Les travaux de cette IIIème partie comprenaient:

1. la synthèse des traceurs;
2. l'examen de leurs caractéristiques;
3. les méthodes analytiques de dépistage et de dosage;
4. l'effet des processus industriels de raffinage;
5. les essais biochimiques par action enzymatique.

L'ensemble de ce programme de recherches a été exécuté sous la direction de Mr A. GUYOT, Chef de Travaux, par la Section de Chimie et de Physique de la Station laitière de l'Etat à Gembloux, avec l'aide technique de Mr. J.M. Istace, Technicien de la Recherche. - La partie concernant la synthèse et l'examen des propriétés des traceurs a été confiée à l'Institut de Recherches Chimiques de Tervuren.

Nous remercions vivement Mr. X. MONSEUR, Chef de la Section de Chimie Organique de cet Institut, pour la collaboration précieuse qu'il nous a accordée à cette occasion.

Nos remerciements s'adressent aussi au Dr. P. HERMAN, Directeur de l'Institut de Tervuren, qui nous a autorisé à disposer, pour cette recherche, de l'équipement de son laboratoire spécialisé pour les travaux de synthèse.

La Direction Générale de l'Agriculture de la Commission des Communautés Européennes, propriétaire des droits afférents aux résultats, au savoir-faire et aux techniques mises en oeuvre pour la présente recherche, ayant renoncé à toute exclusivité, ceux-ci tombent dans le domaine public et ne peuvent faire en aucun cas l'objet d'une prise de brevet.

Nos remerciements sincères s'adressent également à Monsieur le Directeur Général F. LIEVENS, de l'Administration de la Recherche agronomique, qui a bien voulu nous autoriser à entreprendre cette étude dans le cadre des activités de la Personnalité Juridique de la Station laitière de l'Etat.

Le Président de la P.J.

P. JAMOTTE.

Gembloux, le 28 février 1974.

SOMMAIRE

	<u>Page</u>
Introduction	1
1. Mise au point des traceurs	2
1.1. Synthèse des esters de sésamol	2
1.2. Etude des produits de synthèse	4
1.3. Contrôle de la pureté	5
2. Application des traceurs au "marquage" de la matière grasse butyrique	6
2.1. Contrôle de la pureté des esters de sésamol commerciaux ..	6
2.2. Contrôle de la présence des traceurs dans la matière grasse butyrique	20
2.3. Choix du type et du taux d'ester pouvant être utilisé comme traceur de la matière grasse butyrique	26
2.4. Effet des processus industriels de raffinage des corps gras	27
2.5. Techniques expérimentales d'élimination des traceurs des corps gras	35
2.6. Essais biochimiques par voie enzymatique	38
3. Synthèse et conclusions générales	44
3.1. Synthèse	44
3.2. Conclusions générales	45
4. Addendum	48
4.1. Partie expérimentale	48

On trouvera à la fin du volume une table des matières détaillée.

INTRODUCTION

Le but de l'étude effectuée est la mise au point de révélateurs de la matière grasse butyrique, biologiquement et économiquement acceptables, qui soient décelables rapidement par des tests simples et sensibles et en même temps, qui ne soient pas extractibles des corps gras par des procédés industriels rentables.-

Il apparaît que de tels traceurs, s'ils existent, n'ont pas encore fait jusqu'à présent l'objet d'une utilisation commerciale.- Il est pourtant du plus haut intérêt, pour la facilité du contrôle de " marquage " et des beurres " marqués ", de pouvoir disposer de révélateurs décelables par un test simple et rapide, à la portée d'un personnel non spécialisé, ne disposant que d'un outillage rudimentaire.-

Selon le résultat de nos études antérieures sur les traceurs de la graisse butyrique (1), ces traceurs rapides, sensibles et non économiquement extractibles des corps gras pourraient être, par exemple, des esters d'un acide gras et de sésamol. De tels produits seront liposolubles et on peut escompter qu'ils donneront à l'hydrolyse des produits naturels non toxiques, biologiquement acceptables. Selon le type d'acide gras combiné au sésamol, on dispose ainsi d'une série de substances à fonction chimique identique mais dont les propriétés physiques sont différentes. Ces substances étant préparées par synthèse, on considèrera les aspects économique, analytique et biologique du " marquage ".

Le rapport présenté comportera donc deux parties descriptives des travaux effectués, l'une concernant la mise au point des traceurs, l'autre leur application au " marquage " de la graisse butyrique. Dans une troisième partie de synthèse, on dégagera les conséquences essentielles des résultats obtenus au point de vue du " marquage " et on tirera les conclusions générales.

X. MONSEUR

Institut de Recherches Chimiques

TERVUREN

A. GUYOT

Station laitière

GEMBLoux

(1) Recherches sur les additifs pouvant être utilisés comme révélateurs pour la matière grasse butyrique

" Informations internes sur l'Agriculture " Partie I n° 74, mai 1971

" Informations internes sur l'Agriculture " Partie II n° 96, janv.1973

Commission des Communautés Européennes - Direction Générale de l'Agriculture.

I. MISE AU POINT DES TRACEURS

1.1 Synthèse des esters de sésamol

1.1.1 Produits de base.

C'est à partir de deux substances, le sésamol et une série d'acides gras que la synthèse du traceur a été effectuée.

1.1.1.1 Le sésamol: 3-4 méthylènedioxyphenol.

1) synthèse industrielle.

Celle-ci se fait par oxydation peracétique du pipéronal.

2) Brevets : deux brevets, à notre connaissance, couvrent la préparation du sésamol.

1. Le brevet de Fédérico Benassati, Italy, 572305 jan. 24, 1958.

Il consiste à faire réagir de façon ménagée l'acide peracétique en présence de catalyseur, à la température de 30°C. L'acétate de sésamol obtenu est ensuite hydrolysé en sésamol.

2. Le brevet de James E. Hardwicke et coll. U.S. 2885407 May, 5, 1959.

Le procédé consiste à maintenir les réactifs : pipéronal, acide peracétique en présence d'un catalyseur à la température de 50° - 70° jusqu'à ce que tout le pipéronal soit oxydé en acétate de sésamol. Par hydrolyse et distillation sous vide, on obtient le sésamol.

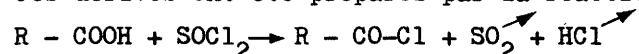
Ces techniques d'oxydation ne sont pas sans danger d'explosion et se réalisent à l'échelle semi industrielle.

Il faut remarquer que les auteurs japonais, K. FUKUI et M. NAKAYAMA ⁽²⁾ ont amélioré la technique. Ils préconisent de travailler en solution peracétique diluée sans catalyseur. Ils obtiennent un rendement intéressant (65 %) et une plus grande sécurité.

1.1.1.2 Les acides gras.

Il s'agit des acides caprique, laurique, myristique, palmitique et stéarique ou de leurs chlorures d'acide.

Ces dérivés ont été préparés par la réaction suivante :



$$R = (\text{CH}_2)_n - \text{CH}_3 \quad \text{ou } n = 8, 10, 12, 14, \text{ et } 16$$

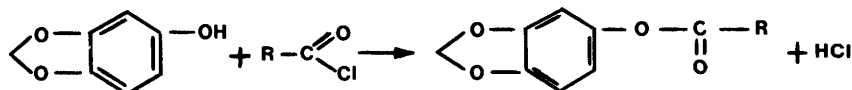
Les acides gras ou leurs chlorures d'acide sont fabriqués à l'échelle industrielle.

(2) K.FUKUI and M. NAKAYAMA J. Sci : Hiroshima Univ. Ser. A II 26, 2-3, 131-135 1963.

1.1.2 Estérification

1.1.2.1 Principe

L'estérification se réalise à partir du sésamol et du chlorure d'acide suivant la réaction :



Le caprate, le laurate, le myristate, le palmitate et le stéarate de sésamol ont été préparés suivant cette formule.

1.1.2.2 Purification et rendement

La purification des esters peut se faire de deux façons ,
par rectification sous haut vide ou par cristallisation de l'éther de pétrole.
Dans le premier cas, les rendements sont de 90 % ; dans le second cas, ils sont de 65 à 85 % pour le premier jet de cristaux.

Brevet :

Le brevet de Fédérico Benassati, Italy, 575725, April 18, 1958, couvre la préparation des esters benzylique, palmitique, propionique et oléique de sésamol ainsi que leurs éthers propionique, butyrique, amylique, isoamylique, n-octylique et benzylique.

1.1.3 Economie

L'économie du projet de synthèse des esters d'acides gras de sésamol nous paraît difficile à établir actuellement par suite du bouleversement de la situation économique mondiale depuis la crise pétrolière.

Les firmes spécialisées dans les produits nécessaires à la synthèse des esters de sésamol regrettent de ne pouvoir faire offre à cause de la pénurie des matières premières.

Nous avons reçu pour le sésamol une seule offre de 200 U.C. le kilo et seulement pour une quantité de 100 à 150 kilos. Les autres firmes invoquent le manque de pipéronal.

Il en est de même pour les acides gras. Cependant, nous avons pu avoir connaissance des prix pratiqués actuellement (février 1974) sur le marché ; ils sont de 1 U.C. le kilo pour l'acide stéarique, de 1,2 U.C. le kilo pour l'acide palmitique, de 1,34 U.C. le kilo pour l'acide myristique, de 2,18 U.C. le kilo pour l'acide laurique et de 1,94 U.C. le kilo pour l'acide caprique. Ces acides ont un degré de pureté de 90 à 92 %.

A partir de ces données, nous avons estimé le prix des esters de sésamol :

125,9 U.C. pour le kilo de stearate
132 U.C. pour le kilo de palmitate
139 U.C. pour le kilo de myristate
151,4 U.C. pour le kilo de laurate
157,6 U.C. pour le kilo de caprate

Si le présent projet propose de mélanger à une tonne de beurre, une quantité d'ester de sésamol correspondant à 100 g de sésamol, sur la base des prix précédents, le prix des esters à la tonne de beurre s'établira comme suit :

pour le stearate, 36,88 U.C.
pour le palmitate, 36,05 U.C.
pour le myristate 35,06 U.C.
pour le laurate, 35,13 U.C.
pour le caprate, 33,41 U.C.

Ces prix sont sujets à variation. Le caprate est le moins cher à la tonne de graisse. Dans la conjoncture actuelle, le prix du laurate continuera très probablement à monter.

Si dans quelques mois, la situation économique permet la réalisation d'un tel projet, il sera nécessaire alors de recalculer le coût de l'opération et de faire jouer la concurrence au sein des pays du marché commun.

1.2 Produits de synthèse

La synthèse des esters d'acides gras de sésamol consiste à mettre en présence, dans une atmosphère sèche, des quantités équimoléculaires de sésamol et de chlorure d'acide gras en $C_{10} - C_{12} - C_{14} - C_{16} - C_{18}$.

Pour des grandes quantités, il est souhaitable que l'addition du chlorure d'acide se fasse progressivement à la température ordinaire et dans des appareils en acier inoxydable.

Lorsque les quantités requises sont en présence, les produits sont chauffés au bain-marie et de l'acide chlorhydrique se dégage. La synthèse est terminée lorsque le dégagement d'acide cesse. On procède ensuite à la purification de l'ester. L'extrait total est solubilisé par du chlorure de méthylène et lavé successivement par une solution normale d'hydroxyde de sodium et par de l'eau jusqu'à pH neutre. La solution organique est distillée complètement. Le rendement obtenu est de l'ordre de 95 %.

Afin de rester dans le cadre des travaux présentés ici, nous avons mis en addendum à ce travail la partie expérimentale de synthèse des esters d'acides gras de sésamol effectuée au laboratoire ainsi que la description détaillée des propriétés physico-chimiques de chacun d'eux.

Une étude comparative de l'ensemble de ces propriétés résume ensuite les caractéristiques principales de ces molécules.

1.3 Contrôle de la pureté.

Les esters de sésamol préparés au laboratoire et qui ont servi aux essais décrits ultérieurement sont des produits de grande pureté.

Les produits industriels de base tels que les acides gras ou leurs dérivés de chlorures d'acides gras possèdent une pureté se situant entre 90 et 95 %. Il faut conclure à la présence d'autres acides gras, mais également d'autres impuretés organiques. Par conséquent, les déterminations physiques seront légèrement différentes de celles décrites en addendum pour des produits purs.

Afin de contrôler la pureté de ces produits nous préconisons deux techniques : la spectrométrie d'absorption dans l'ultra-violet ou le visible et la chromatographie en phase gazeuse.

Les spectres d'absorptions dans l'ultra-violet mettront en évidence la présence du chromophore des esters de sésamol à la longueur d'onde de 288 nm et celui du sésamol libre à la longueur d'onde de 298 nm.

Cette technique s'appliquera plus largement dans la région visible du spectre à la longueur d'onde de 518 nm lors du dosage colorimétrique du sésamol, obtenu après hydrolyse de l'ester, en présence de matière grasse. Le sésamol donne une réaction colorée avec le furfural en milieu acide suivant la réaction de Villavecchia, réaction colorée qu'il ne donne pas avec l'ester.

La chromatographie gazeuse permettra d'identifier les esters homologues et de les doser. Ces deux techniques seront développées dans la deuxième partie de cette étude.

2.- Application des traceurs au "marquage" de la matière grasse butyrique

2.1- Contrôle de la pureté des esters de sésamol commerciaux

2.1.1. Contrôle succinct basé sur la vérification rapide de certaines propriétés physiques et chimiques

Un contrôle élémentaire de la nature du produit commercial peut être effectué par la vérification de propriétés physiques ou chimiques rapidement évaluées tels les points de fusion, les indices de réfraction et la réaction de Villavecchia .

Puisqu'il est possible d'obtenir des produits commerciaux très purs, il est souhaitable pour des facilités de contrôle de réclamer une grande pureté. Si la pureté exigée est supérieure à 95 % et atteint par exemple environ 98 % comme on peut l'envisager, la mesure des points de fusion des produits commerciaux ne sera sans doute pas significativement différente de la mesure des points de fusion des produits absolument purs ; ceci se vérifiera particulièrement si la technique de détermination utilisée est une méthode classique (appareillage selon Tottoli, Mettler etc...) . Les indices de réfraction seront également fort semblables, de même d'ailleurs que les autres propriétés physiques (spectres U.V., I.R., de R.M.N., solubilité dans les solvants etc...) . On peut aussi effectuer rapidement la réaction de Villavecchia sur le sésamol ou l'ester de sésamol saponifié. Cette réaction est nettement positive sur 0,1 mg de sésamol (en solution dans environ 5 ml d'hexane) ; elle est négative si le sésamol engagé dans la liaison ester n'est pas libéré.

2.1.2 Contrôle basé sur l'analyse spectroscopique

2.1.2.1 Spectroscopie d'absorption dans l'U.V.

a) Courbe d'absorption dans l'U.V.

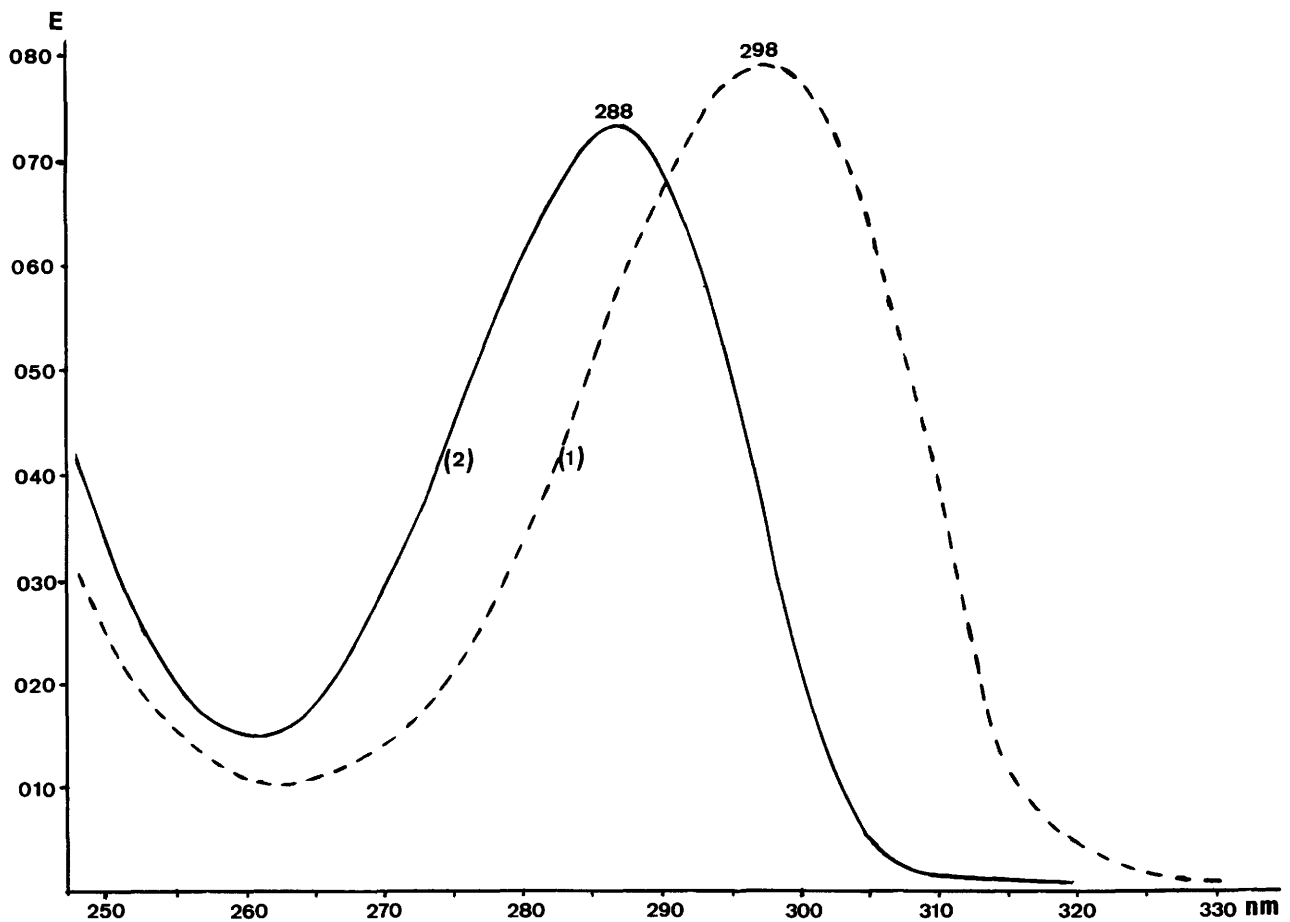
Le sésamol engagé dans une fonction ester d'acide gras, tout comme le sésamol à l'état libre, peut se doser par spectroscopie d'absorption dans l'U.V. Les deux courbes d'absorption possèdent en fait une allure comparable, mais les extinctions maximales sont légèrement déplacées. Les valeurs de ces extinctions sont données dans la littérature (3) (4) pour le sésamol, la sésamine et la sésamoline, mais nous n'avons pas trouvé de données pour les esters d'acide gras.-

(3) Budowski P., R.T. O'Connor and E.T. Field J. Amer Oil Chem. Soc. 27, 307-310, 1950.

(4) id. 28, 51-54, 1951.

Nous les avons donc recherchées par l'établissement de courbes d'absorption dans l'hexane. Afin de rester dans les limites de linéarité de la loi de Lambert-Beer, les courbes d'absorption ont été réalisées à partir de solutions à 0,0025 % de sésamol et d'esters purifiés. Les concentrations des cinq types d'esters utilisés (C_{10} , C_{12} , C_{14} , C_{16} , C_{18}) ont été exprimées en sésamol libre, afin que comme prévu théoriquement, toutes les courbes se confondent et qu'ainsi on ne se réfère qu'à une seule courbe de référence, ce qui s'est parfaitement vérifié en pratique.

Fig. 1 Spectrométrie U.V. de solutions à 0,0025 % de sésamol (1) et d'esters de sésamol (2) dans l'hexane.



La courbe d'absorption établie entre 230 et 330 nm, laisse apparaître deux valeurs maximales de l'extinction, tant pour les solutions de sésamol libre que pour les solutions d'esters, une première valeur vers 240 nm commune aux deux types de substances et une deuxième valeur plus importante à 298 nm pour le sésamol libre et à 288 nm pour le sésamol lié sous forme d'esters. Les valeurs minimales se situent aux environs de 256 nm pour les deux composés. Pour le sésamol libre, l'extinction à 298 nm est égale à 0,79, correspondant à une extinction spécifique de 316, tandis que pour le sésamol engagé dans une liaison ester, l'extinction à 288 nm est de 0,73 correspondant à une extinction spécifique de 292. A 240 nm, l'extinction de 0,46 pour la solution de sésamol libre correspond à une extinction spécifique de 184, et l'extinction de 0,58 pour les solutions d'esters correspond à une extinction spécifique de 232.

b) Méthode de dosage

1) Principe

Une méthode générale de dosage par spectrométrie U.V. du sésamol libre ou du sésamol lié dans une fonction ester peut être basée sur la lecture des extinctions des solutions de ces produits dans un solvant spectroscopiquement pur à la longueur d'onde de l'absorption maximale. Si on utilise l'hexane comme solvant on effectuera donc les mesures à 298 nm pour le sésamol et à 288 nm pour les esters de sésamol et d'acides gras. Dans les limites de linéarité de la loi de Lambert - Beer, les extinctions sont proportionnelles aux concentrations.

2) Réactifs

n Hexane spectroscopiquement pur

3) Mode opératoire

On prépare par dilutions successives une solution de concentration comprise entre 1,500 et 3,000 mg par 100 ml, soit entre 0,0015 et 0,0030 % de produit commercial dans l'hexane.

On mesure les extinctions à 298 nm s'il s'agit de sésamol pur ou à 288 nm s'il s'agit d'un de ses esters d'acides gras.

On calcule le pourcentage de pureté exprimé en sésamol libre ou en sésamol lié, respectivement selon les formules (1) et (2)

$$(1) \quad p = \frac{E_{298} \times V \times 10}{P \times 316} \times 100 \quad \% \text{ sésamol libre}$$

$$(2) \quad p' = \frac{E_{288,5} \times V \times 10}{P' \times 292} \times 100 \quad \% \text{ sésamol lié}$$

où p est le pourcentage de sésamol libre dans le sésamol commercial analysé,

p' est le pourcentage de sésamol lié dans l'ester commercial de sésamol analysé,

E 298 et E 288 sont les mesures des extinctions à 298 et 288 n m des solutions respectives de sésamol et d'ester de sésamol.

V et V' sont les volumes en ml des solutions envisagées, soit ici $V = V' = 100$
P et P' sont les poids respectifs de sésamol libre et d'ester de sésamol en mg (avec trois décimales) dans 100 ml de solution.

316 et 292 sont des facteurs constants correspondant aux extinctions spécifiques des solutions de sésamol et d'esters de sésamol purifiés dans l'hexane normal, aux longueurs d'onde respectives de 298 n m pour le sésamol et de 288 n m pour ses esters.

Exemples :

Dans le cas de produits purifiés, si V et V' = 100 ml et si P et P' = 2,000 mg , E 298 = 0,632 pour la solution de sésamol libre et E 288 = 0,584 pour la solution de sésamol lié dans une fonction d'ester d'acide gras.

4) Expression des résultats selon le taux d'esters

Puisqu'en fait, c'est toujours le sésamol libéré et non l'ester en tant que tel qui est dosé, pour exprimer les résultats en esters, il suffit de multiplier les taux de sésamol libéré par les facteurs d'analyse correspondant à chaque type d'acide gras, c'est à dire 2,116 - 2,319 - 2,522 - 2,725 et 2,928 pour les cinq esters respectifs des acides caprique, laurique, myristique, palmitique et stéarique.

5) Champs d'application

La méthode étant basée sur les propriétés chromogènes particulières du sésamol libre et du sésamol engagé dans une liaison ester, elle n'est strictement applicable que pour autant que la concentration moléculaire de ces groupes chromogènes soit connue, donc,

- a) qu'il n'y ait pas dans le produit à analyser des substances étrangères susceptibles de donner une absorption sensible dans l'U.V. ;
- b) que la formule moléculaire du produit soit bien définie, en d'autres termes que dans un type d'ester commercial, il n'y ait qu'un seul acide gras estérifié et que cet ester commercial soit exempt de sésamol libre.

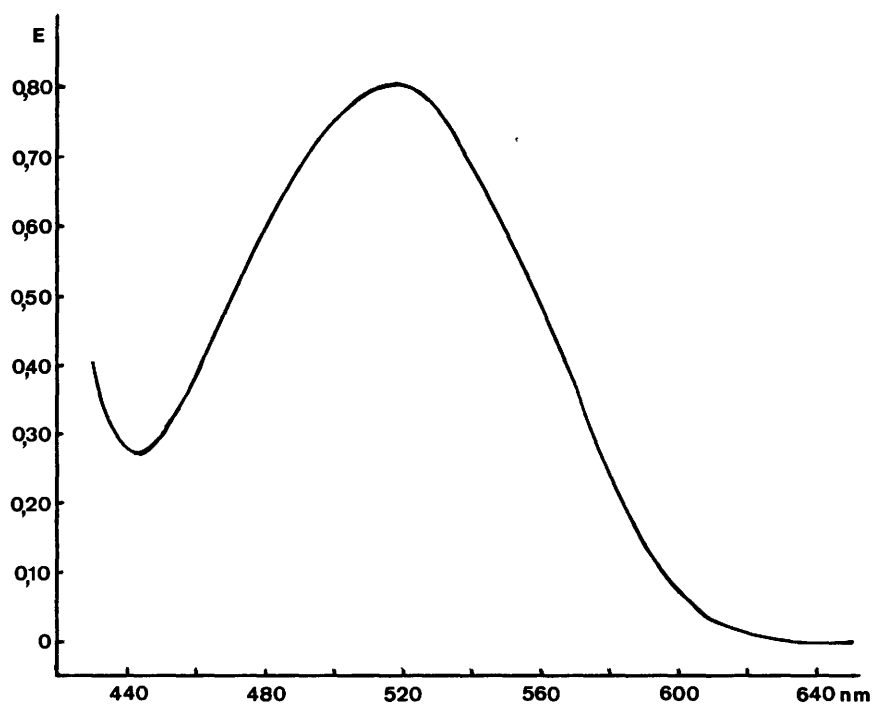
La méthode n'a qu'une signification limitée dans le cas de mélanges d'esters de différents types d'acides gras.

2.1.2.2 Spectroscopie d'absorption à 518 n m

a) Courbe d'absorption dans le visible du produit de la réaction de Villavecchia

Le sésamol à l'état libre donne avec le furfural en milieu acide concentré une coloration rouge violacée caractéristique ; c'est la réaction Villavecchia.-

Fig.2 Spectre d'absorption dans le visible de la coloration de Villavecchia pour une solution à 5 mg de sésamol par litre de H_2SO_4 D = 1,51 .



L'intensité de la coloration n'est pas stable en milieu chlorhydrique ; elle est beaucoup plus stable en milieu sulfurique, quoique liée à l'acidité. La réaction est extrêmement sensible.

La courbe ci-dessus est relative à une solution de 0,5 mg de sésamol dans 100 ml d'acide sulfurique D = 1,515. On prépare cette solution de la manière suivante : On dilue 100,0 mg de sésamol purifié dans 100 ml d'éthanol. On prélève exactement 1 ml de cette solution que l'on dépose dans un ballon jaugé de 200 ml. On porte au volume avec H_2SO_4 D = 1,515 et 2 ml de solution à 2 % de furfural dans l'alcool. On agite et laisse développer la coloration pendant 45 minutes. On mesure la courbe d'absorption par rapport à un témoin constitué par de l'acide sulfurique D = 1,515 pur.

La courbe d'absorption présente une extinction maximale à 518 nm. Cette extinction est très proche de 0,80, correspondant à une extinction spécifique de l'ordre de 1590 à 1600. Dans le cadre des limites d'application de la loi de Lambert - Beer, les extinctions sont proportionnelles aux concentrations.

b) Méthode de dosage

1) Principe

Des méthodes de dosage du sésamol libre basées sur la réaction de Villavecchia sont proposées dans la littérature (5) (6) (7). On peut en dériver directement des méthodes de dosage du sésamol total après une simple hydrolyse préalable du sésamol lié.-

La différence entre le taux de sésamol total et le taux de sésamol libre donne le taux de sésamol lié.- Dans le cas d'un ester, la libération du sésamol sera la plus aisée par saponification en milieu alcoolique.

2) Réactifs

Solution d'hydroxyde de potassium à 40 % (dissoudre 400 g de potasse en pastilles dans 600 g d'eau distillée).

n Hexane ou éther de pétrole 60 - 80°C

Ethanol 95° G.L.

Solution à 2 % de furfural distillé dans l'éthanol 95° G.L.

Acide sulfurique concentré D = 1,515 (diluer un volume d'acide sulfurique D = 1,84 par un volume d'eau distillée).

3) Mode opératoire

On prépare une solution à 0,1 % exprimée en sésamol total, de sésamol purifié et de chacun des différents esters de sésamol dans l'hexane de la manière suivante :

On pèse exactement 100,0 mg de sésamol ou son équivalent en ester sur un verre de montre.

Suivant le rapport des poids moléculaires, 100,0 mg de sésamol sont équivalents pour le dosage du sésamol total à

211,6 mg d'ester caprique,
231,9 mg d'ester laurique,
252,2 mg d'ester myristique,
272,5 mg d'ester palmitique,
292,8 mg d'ester stéarique.

On tranvase quantitativement chacun de ces six échantillons dans un ballon jaugé de 100 ml que l'on porte au trait avec de l'hexane et on dispose ainsi de six solutions d'une concentration équivalente exprimée en sésamol total.

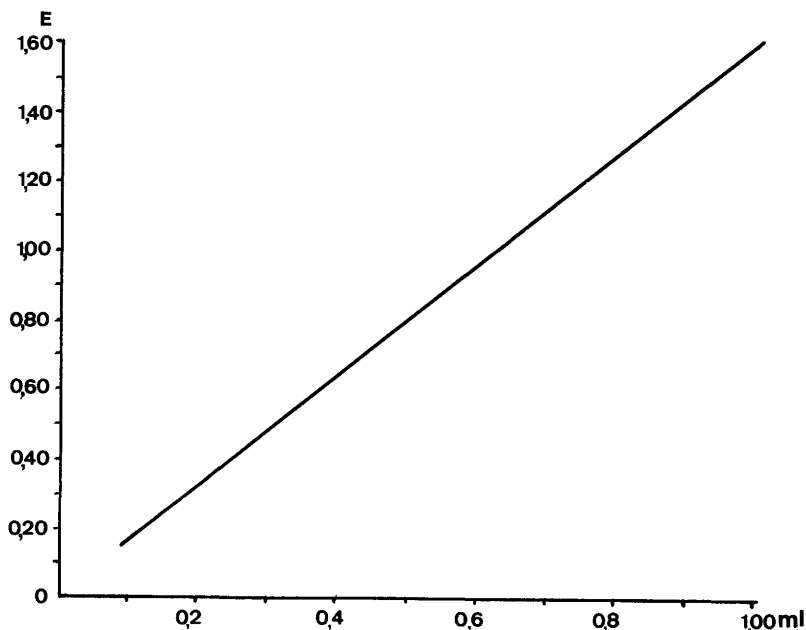
(5) Mehlenbacher, V.C. ; The Analysis of oils and Fats - Garrard Press Champaign, Ill. 594, 1960.

(6) Wolff, J.P. ; Manuel d'analyse des corps gras - Azoulay, Paris - 347, 1968.

(7) Leroy, M., J. Goursaud, F.M. Luquet - Revue Laitière Française, 274 - 3, 181-183, 1970.

On prélève exactement 5 ml de chacune de ces solutions et également 5 ml d'hexane pur qui servira de témoin ; on les dépose dans des erlenmeyers à large col de 100 ml. On ajoute 10 ml d'éthanol à 95°G.L. et 1 ml de solution d'hydroxyde de potassium à 40 %. On place les erlenmeyers dans un bain-marie réglé à 87 - 90°C et on saponifie pendant 15 à 20 minutes en agitant constamment jusqu'à ce que l'évaporation de l'hexane et de l'alcool ait réduit le volume de solvant à environ 5ml. On verse alors le contenu de chaque erlenmeyer dans un tube à essai gradué à 10 ml; on rince chaque erlenmeyer par 3 fois 1,5 ml d'éthanol à 95° G.L., que l'on verse dans les tubes à essai correspondants. On porte au trait de 10 ml avec de l'alcool à 95°G.L.. Après avoir bouché et agité les tubes à essai, on prélève exactement 1 ml de chacun d'entre eux et on porte au volume de 100 ml dans un ballon jaugé avec H_2SO_4 concentré, $D = 1,515$ et 1 ml de solution à 2 % de furfural dans l'éthanol. On agite, laisse développer la coloration au moins 45 minutes, et on mesure l'extinction par rapport au témoin endéans 90 minutes, au spectrophotomètre à 518 nm, sous une épaisseur de 1 cm. L'extinction moyenne obtenue est de 0,797 (écart maximum de 0,005) correspondant à une extinction spécifique calculée sur le sésamol du produit de réaction dans H_2SO_4 , $D = 1,51$ de 1594.

Fig. 3 Spectrométrie d'absorption à 518 nm de solutions de sésamol libre ou libéré par hydrolyse alcaline dans H_2SO_4 $D = 1,51$ après réaction colorimétrique de Villavecchia



La courbe de calibrage dans le domaine des extinctions de 0,20 à 1,60 est parfaitement linéaire comme l'ont démontré nos essais effectués à partir de prélèvements initiaux de 1 à 10 ml de solutions à 0,1 % exprimées en équivalent sésamol, de sésamol ou d'esters de sésamol purifiés dans l'hexane.

Dans les conditions d'utilisation de la méthode décrite ci-dessus, la pureté d'un sésamol ou d'un ester commercial du sésamol peut être calculée à l'aide de la formule

$$p = \frac{E_{518}^{1 \text{ cm}} \times V \times 10}{P \times 1594} \times 100 \quad \%$$

où p est le pourcentage exprimé en sésamol total

$E_{518}^{1 \text{ cm}}$ est la mesure de l'extinction à 518 nm, sous 1 cm d'épaisseur de la solution finale colorée de volume V, mesurée par rapport à l'extinction considérée comme nulle d'un témoin exempt de sésamol, mais contenant les autres réactifs.

V est le volume en ml de la solution colorée finale dans H_2SO_4 D = 1,515 (ici V = 100).

P est le poids en mg d'équivalent sésamol contenu dans le volume V de la solution colorée finale.

1594 est l'extinction spécifique du produit de réaction de Villavecchia (exprimée en sésamol) dans H_2SO_4 D = 1,515

Ainsi, dans le cas d'un produit purifié, pour une prise d'essai finale correspondant à 0,5 mg exprimée en équivalent sésamol, on a

$$P = 0,5 ; V = 100 ; E_{518}^{1 \text{ cm}} = 0,797 \text{ et } p = 100 \%$$

4) Expression des résultats selon le taux d'esters

Pour autant que l'on analyse un ester d'un seul type d'acide gras et que l'on exprime les poids des prises d'essai en équivalent sésamol selon les rapports moléculaires donnés dans le mode opératoire, la formule reste valable.-

Ainsi, dans le cas d'un ester laurique purifié, pour une prise d'essai finale dans 100 ml d'acide sulfurique de 1 mg d'ester correspond une prise d'essai de 0,4312 mg d'équivalent sésamol, on a :

$$P = 0,4312 ; V = 100 ; E_{518}^{1 \text{ cm}} = 0,686 \text{ et } p = 100 \%$$

5) Champs d'application

Le champs d'application de la méthode de dosage par spectrométrie d'absorption du produit coloré à 518 nm est globalement celui de la méthode de dosage par spectrométrie U.V. Il faut noter cependant que par colorimétrie, on peut doser séparément le sésamol libre et le sésamol total, et donc par différence, on peut mesurer le taux de sésamol lié par exemple dans une fonction ester.-

A ce point de vue, cette dernière technique présente donc un avantage incontestable sur la spectrométrie U.V.

Si les produits sont relativement purs et surtout exempts de souillures importantes ayant un spectre d'absorption non négligeable dans l'U.V., la méthode de dosage par spectrométrie U.V. sera plus facile, plus rapide, plus reproductible et donc relativement plus précise.

2.1.3 Contrôle de la pureté spécifique basé sur l'analyse en chromatographie gazeuse

2.1.3.1 Objet

Les méthodes de dosage basées sur l'analyse spectrométrique présentant l'inconvénient d'être imprécises, au moins dans le cas de mélanges d'esters de différents acides gras, il est hautement souhaitable de pouvoir disposer d'une technique permettant d'évaluer les proportions respectives de chaque esters dans de tels mélanges.- La technique la plus simple et la plus efficace qui réponde à cet objectif est incontestablement la chromatographie gazeuse.

2.1.3.2 Méthode analytique

Etant donné les propriétés physicochimiques des esters, il est indiqué d'effectuer leur séparation sur des phases polaires ou demi-polaires. Nous avons utilisé avec un égal succès des silicones de types SE 30 et SE 52.

Pour la mise en évidence d'esters d'acides gras secondaires dans un ester principal et pour l'évaluation de chacun des taux, il a été nécessaire de travailler en programmation de température. On a admis que la réponse du détecteur à ionisation de flamme restait proportionnelle aux quantités décelées sur toute l'étendue des concentrations injectées et on a vérifié que les coefficients d'atténuation de cette réponse étaient exacts. Les modalités opératoires de la chromatographie gaz-liquide ont été généralement les suivantes:

Appareil : Perkin - Elmer F. 30
Colonne : acier inox , l = 2,5 m, d = 3 mm (1/8 de pouce) ;
support: aeropak 30 de granulométrie 100 à 120 m ;
phase : 5 % SE 30 ;
température : 150°C pendant 2 min., puis programmée
à 4 ou 5°C/min. jusqu'à 290°C ;
gaz vecteur : azote : 23 ml/min.
Détecteur : F.I.D.
Injecteur : 300°C ; 4 microlitres d'une solution à 2,5% d'ester dans
l'éther diéthylique
Electromètre: atténuateur : 100 x 64 à 100 x 1
Enregistreur : Perkin - Elmer 56 ; sensib. : 1 mv., vitesse:0,5 à 2 cm/min.

Fig. 4 - Chrom. gazeuse isotherme (240°C) de
l'ester laurique du sésamol
Colonne : acier inox 2,5 m , 3 mm
5 % SE 30 sur aeropak 30

1 Ester C₁₀

2 Ester C₁₂

3 Ester C₁₄

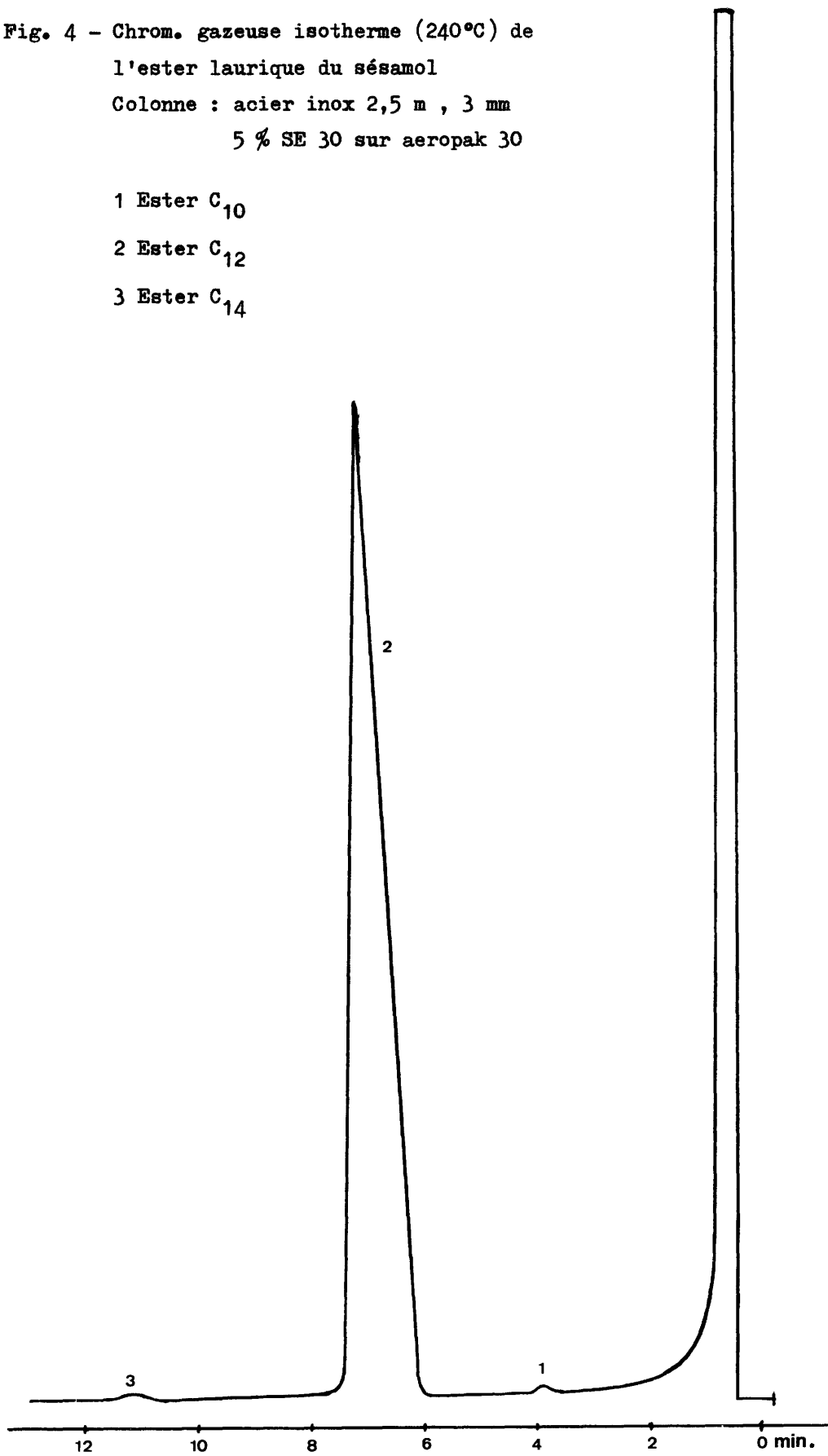


Fig. 5 : Chrom. gazeuse en température program. de l'ester laurique du sésamol

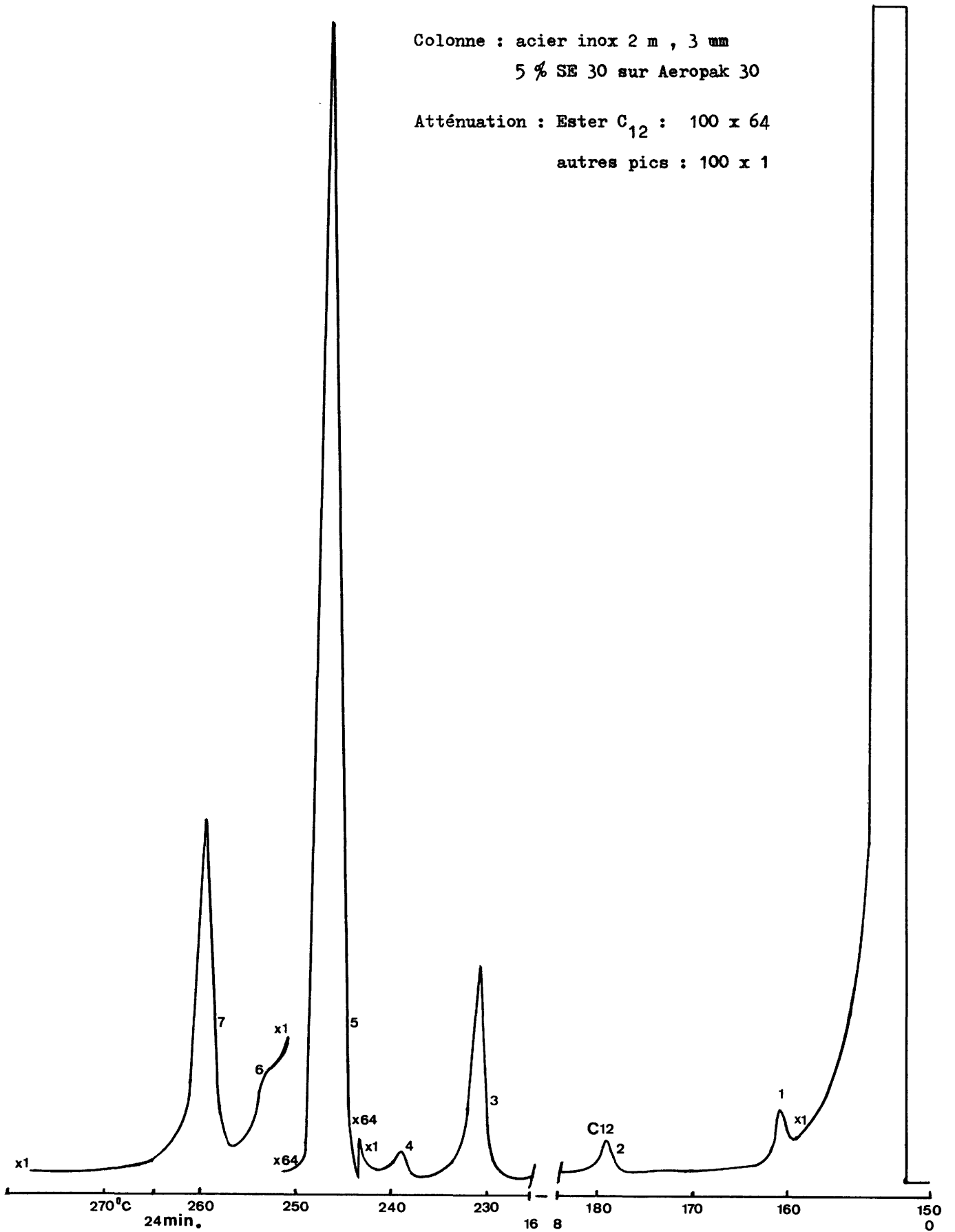
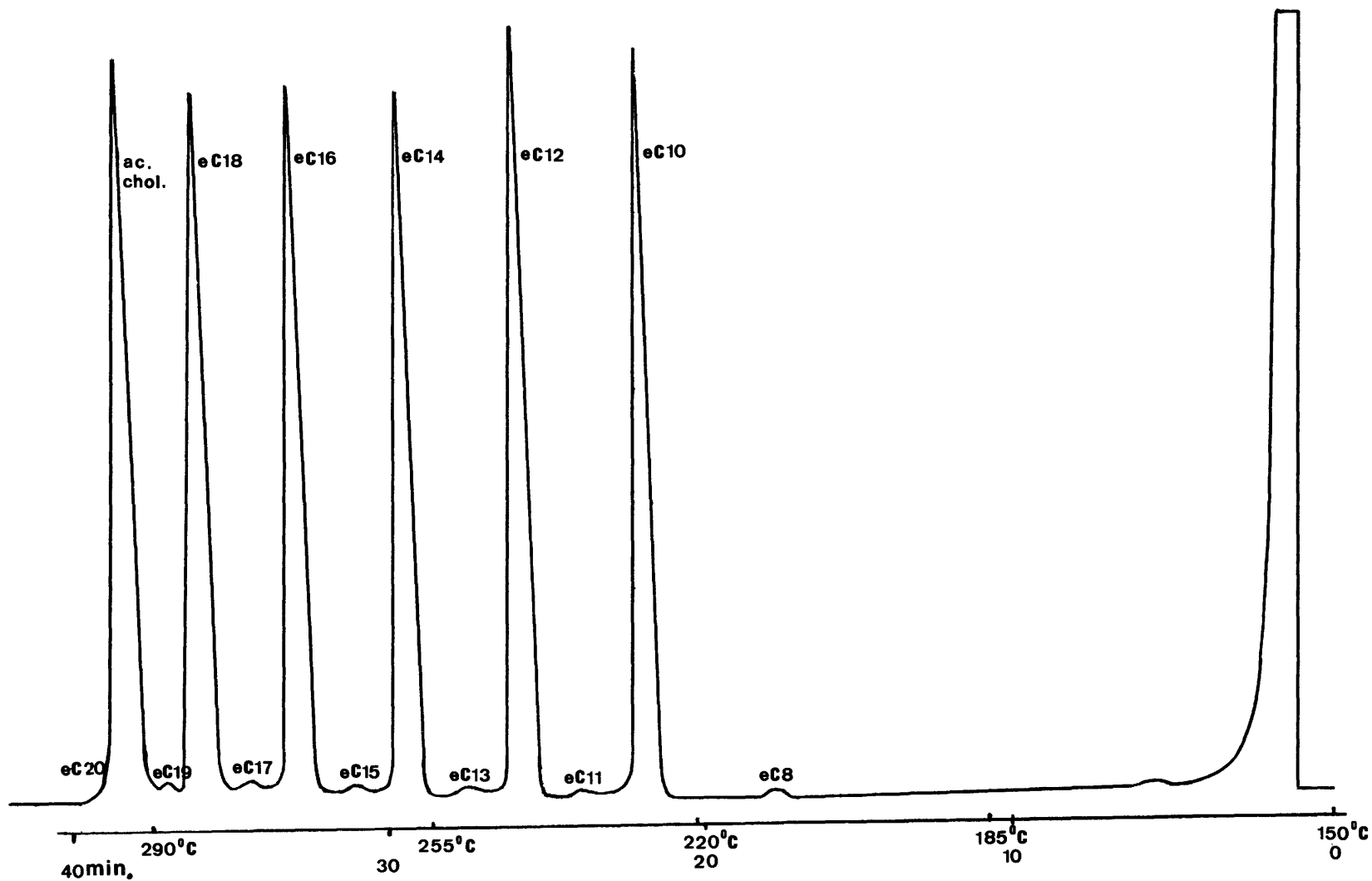


Fig. 6 Chrom. gazeuse en température programmée d'un mélange en quantités sensiblement équivalentes des cinq esters C₁₀, C₁₂, C₁₄, C₁₆, C₁₈ de sésamol et d'acétate de cholestérol :

Colonne : ac. inox. 2,50 m , 3 mm
5 % SE 30 sur aeropak 30



En ce qui concerne le dosage, les aires des pics ont été mesurées par triangulation. Il a été assumé que la totalité des substances étaient éluées dans les conditions de l'analyse. On a utilisé de l'acétate de cholestérol purifié comme témoin.

2.1.3.3 Résultats

Les cinq esters respectifs des acides caprique, laurique, myristique, palmitique et stéarique préparés selon le processus décrit dans la première partie de cette étude ont fait l'objet d'une analyse chromatographique. On sait que ces esters pourraient fort bien correspondre à des produits commerciaux, puisqu'ils sont préparés à partir de sésamol pur commercial et d'acides gras distillés commerciaux et qu'ils sont purifiés dans des conditions analogues à celles qui pourraient exister dans l'industrie. Selon toute probabilité, la pureté de chaque ester est donc liée principalement à la pureté de l'acide gras entrant en réaction avec le sésamol et à cause des processus ultérieurs de purification, elle lui sera même supérieure.

L'identification des pics est assumée d'après les temps de rétention et n'a donc pas posé de difficultés pour les cinq esters principaux, le sésamol et les acides gras. Quant aux composés mineurs élués entre deux esters principaux d'acides à nombre pair de carbones, ils ont été identifiés "selon toute probabilité" comme esters des acides impairs intermédiaires. Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau suivant :

Composition de cinq esters de sésamol et d'acides gras, déterminée par chromatographie gaz-liquide.

	<u>Ester C₁₀</u>	<u>Ester C₁₂</u>	<u>Ester C₁₄</u>	<u>Ester C₁₆</u>	<u>Ester C₁₈</u>
Sésamol	0,03 %	0,05 %	0,04 %	0,03 %	0,07 %
Acide caprique	0,03	—	—	—	—
Acide laurique	—	0,05	—	—	—
Acide myristique	—	—	0,05	—	—
Acide palmitique	—	—	—	0,04	—
Acide stéarique	—	—	—	—	0,28
Ester C ₈	0,15	—	—	—	—
Ester C ₉	0,05	—	—	—	—
Ester C ₁₀	<u>99,45</u>	0,30	0,03	0,01	—
Ester C ₁₁	0,04	0,05	—	—	—
Ester C ₁₂	0,15	<u>98,8</u>	2,65	0,11	—
Ester C ₁₃	—	0,2	0,12	tr	—

	<u>Ester C₁₀</u>	<u>Ester C₁₂</u>	<u>Ester C₁₄</u>	<u>Ester C₁₆</u>	<u>Ester C₁₈</u>
Ester C14	0,07	0,55	<u>96,8</u>	0,38	0,40
Ester C15	--	--	0,11	0,26	0,02
Ester C16	tr	tr	0,20	98,25	1,11
Ester C17	--	--	--	0,17	0,08
Ester C18	--	--	tr	0,74	<u>97,9</u>
Ester C19	--	--	--	--	0,02
Ester C20	--	--	--	tr	0,13

Si on considère que la mesure des aires est approximativement proportionnelle aux quantités décelées, on peut constater que la pureté des esters de sésamol que nous avons préparés à partir de produits commerciaux est très grande ; elle dépasse pour chacun 96 % et à l'exception de l'ester myristique, elle atteint même 98 %. Pour vérifier cette hypothèse de proportionnalité des réponses selon les types d'esters décelés, nous avons recherché, dans les conditions opératoires décrites, le coefficient de réponse du détecteur pour chaque ester, par rapport à la réponse témoin donnée par l'acétate de cholestérol purifié.

Les valeurs des coefficients d'étalonnage ont été établies à

1,01 pour les esters des acides palmitique et stéarique

1,00 pour l'ester de l'acide myristique et le témoin acétate de cholestérol

0,99 pour l'ester de l'acide laurique

0,97 pour l'ester de l'acide caprique

Les différences entre les divers coefficients d'étalonnage de chaque ester sont donc très faibles et pour une analyse d'un ester à plus de 95 % de pureté, elles pourront être négligées.

2.1.3.4 Signification des résultats et conclusions

Les résultats de l'analyse en chromatographie gazeuse sont de la plus haute importance en ce qui concerne le contrôle de la pureté des esters commerciaux envisagés comme traceurs de la graisse butyrique. En effet, c'est par la chromatographie gazeuse qu'on pourra, le plus simplement, vérifier ou établir la structure d'un ester de sésamol et d'un acide gras déterminé ; c'est par elle encore, qu'on déterminera très facilement les taux des esters mineurs au sein d'un ester principal, condition essentielle pour l'application des

méthodes de dosage basée sur la spectroscopie U.V. et la colorimétrie. Si l'ester principal contient de notables proportions (plus de 20 % par exemple) d'esters secondaires, certains facteurs d'analyse des formules de dosage changent de manière sensible et les méthodes deviennent de plus en plus imprécises avec l'augmentation de ce taux particulier d'impuretés. Pour les échantillons examinés qui pourraient être des échantillons industriels et commerciaux, ce taux d'impuretés est très faible puisqu'il est dans tous les cas inférieur à 4 % et dans quatre cas sur cinq, il ne dépasse pas sensiblement 2 %. En outre, ces impuretés sont constituées en majeure partie par des esters dont les propriétés d'absorption en spectrométrie ont tendance à se compenser. En conséquence, la précision des méthodes de dosage par spectrométrie U.V. ou par spectrométrie d'absorption à 518 nm ne peut être affectée que dans une mesure insignifiante et négligeable.

D'ores et déjà, on peut affirmer, qu'avec la production commerciale de chacun des cinq esters étudiés, on disposera de traceurs dont la pureté sera aisément contrôlable.

2.2 Contrôle de la présence des traceurs dans la matière grasse butyrique.

2.2.1 Méthode de mise en évidence du sésamol estérifié dans un corps gras

2.2.1.1 Elaboration d'un test

Suivant l'objectif proposé dans cette étude, la méthode de mise en évidence du sésamol estérifié comme traceur dans une graisse butyrique, devra être simple, sensible, rapide, économique et si possible spécifique. Si on admet que le test de Villavecchia utilisé pour détecter le sésamol libre, possède pour l'essentiel ces diverses qualités, on s'efforcera de libérer le sésamol de son ester pour pouvoir avoir recours à ce test. L'ester, en effet, ne réagit pas directement au test de Villavecchia car il est assez stable en milieu acide. Par contre, au même titre que les triglycérides, il se saponifie en milieu alcalin et, dans ces conditions, l'hydrolyse est même plus rapide que celle des triglycérides; le sésamol libéré peut alors réagir selon le test classique, après réacidification du milieu. Il nous a donc fallu mettre au point une méthode simple donnant la sensibilité optimale. Cette méthode comprendra nécessairement une saponification de la graisse en milieu potasse alcoolique, suivie d'une acidification du milieu par un acide fort et de l'addition de furfural comme dans le test classique. Comme la saponification de l'ester s'effectue plus rapidement que celle des triglycérides, il n'est pas indiqué d'ajouter un grand excès de potasse, celui-ci devant être compensé plus tard par un plus grand volume d'acide pour garder la même sensibilité au test. En pratique, les quantités habituellement

ajoutées pour saponifier les graisses sont largement suffisantes pour assurer la saponification de l'ester et on a donc intérêt à ne pas les dépasser. Si par contre, ces quantités ne sont pas atteintes, la réaction peut n'être que partielle et l'intensité de la coloration est difficilement reproductible.

Une efficacité optimale pour la mise en évidence du sésamol estérifié dans un corps gras a été obtenue par le test proposé ci-après.

2.2.1.2 Test de la présence d'un ester de sésamol dans un corps gras

a) Principe

La graisse et l'ester de sésamol sont saponifiés en milieu alcoolique alcalin. Le sésamol libéré est révélé par la réaction de Villavecchia.

b) Réactifs.

Ethanol à 96° G.L.

Solution à 2 % de furfural distillé dans l'éthanol

Solution aqueuse à 40 % de potasse (dissoudre 400 g de potasse en pastilles avec 600 gr d'eau distillée).

Acide chlorhydrique D = 1,19

Acide chlorhydrique 25 % (diluer un volume d'acide chlorhydrique D = 1,19 par 1/2 volume d'eau distillée)

c) Mode opératoire

On fait fondre au bain-marie à 60 - 70°C, le beurre ou la matière grasse de l'échantillon à analyser et on sépare les phases aqueuse et grasse. On prélève environ 6 ml de la phase grasse, que l'on verse dans un erlenmeyer à large col de 100 ml. On ajoute 10 ml d'éthanol à 96° G.L. et 2,5 ml de potasse à 40 %. On saponifie au bain-marie à 87-90°C pendant 15 à 20 minutes jusqu'à évaporation de la majeure partie de l'éthanol. On transvase ensuite le contenu de l'erlenmeyer qui est de l'ordre de 10 à 13 ml, dans un tube en verre muni d'un bouchon rodé, d'une capacité de 50 ml. On ajoute 10 ml de H Cl D = 1,19, puis 0,5 ml de la solution à 2 % de furfural dans l'alcool et on agite vigoureusement pendant 30 secondes ; s'il y a présence de sésamol libéré, donc au départ d'ester, une coloration rouge violacée caractéristique apparaît endéans les dix minutes. Cette coloration est nettement perceptible lorsque l'échantillon contient 5 g d'équivalent sésamol par tonne de graisse ; elle est plus confuse et non caractéristique pour des taux de 2,5 g d'équivalent sésamol par tonne de graisse. Exposée à la lumière et à l'air, la coloration s'obscurcit et perd sa spécificité.

N.B. Certains échantillons de beurre pur, surtout en hiver où ils peuvent être additionnés de colorants tolérés comme le rocou, sont susceptibles de donner une très légère coloration rose au test de Villavecchia,

coloration qui, à la limite, pourrait être imputée à la présence d'environ 5 g de sésamol libre par tonne de graisse butyrique. Pour éviter une telle méprise, il est alors nécessaire de réaliser le test après une élimination maximale des colorants liposolubles (8). Dans ce but, on lave un volume déterminé de graisse butyrique par des volumes équivalents de HCl à 25 %, jusqu'à disparition de la coloration dans la phase acide ; ensuite, on sépare soigneusement les deux phases par centrifugation et on effectue le test sur 6 ml de graisse comme décrit ci-dessus.- Si la coloration persiste après ce traitement acide, elle est due effectivement au sésamol libéré à partir de l'ester.

d) Interprétation et signification des résultats

Suivant la technique proposée, il est aléatoire de vouloir déterminer avec certitude la présence de moins de cinq grammes d'équivalent sésamol dans une graisse butyrique. En conséquence, si l'objectif visé pour le choix du taux d'un traceur sensible du beurre est la mise en évidence rapide de 5 % de beurre tracé incorporé dans un beurre normal, le taux minimum d'ester à inclure dans une graisse butyrique pour la tracer, sera de l'ordre de 100 g d'équivalent sésamol sous forme d'ester, par tonne de graisse.

La méthode décrite ci-dessus est donc une méthode générale de mise en évidence de l'équivalent sésamol ; elle ne fait pas de distinction entre le sésamol libre et le sésamol engagé dans une fonction ester d'un acide gras quelconque.

2.2.2 Méthode de dosage du sésamol estérifié dans un corps gras

2.2.2.1 Elaboration d'une méthode de dosage

Comme pour le sésamol libre, il n'est pas possible de doser le sésamol estérifié d'un beurre tracé par spectrométrie U.V. quand le taux de traceur n'atteint au maximum que 100, voire 200 g en équivalent sésamol par tonne de graisse. En effet, pour présenter des extinctions significatives dues au sésamol estérifié, la matière grasse doit être dissoute dans un solvant pour spectroscopie U.V. à des concentrations très élevées (supérieures à 10 %), et dans ce cas, l'absorption de fonds de la solution lipidique est trop importante. Les seules méthodes de dosage du sésamol estérifié, qui soient aisément praticables, reposent donc sur la réaction colorimétrique de Villavecchia, comme celles proposées dans la littérature pour le dosage du sésamol et de la sésamoline ; mais, contrairement à la sésamoline, les esters de sésamol et d'acides gras, ne sont

(8) De Vleeschauer, A., H. Hendrickx, G. Heyndrickx ; Onderzoekingsmethoden van zuivelproducten, N.V. Standaard, Antwerpen, 140, 1948

pratiquement pas hydrolysés en milieu acide sulfurique concentré. Il sera donc nécessaire, préalablement à la réaction de coloration, d'effectuer une hydrolyse en milieu alcalin, comme pour le test décrit au paragraphe précédent.

2.2.2.2 Méthode de dosage

a) Principe

La graisse et l'ester de sésamol qu'elle contient sont saponifiés en milieu alcalin par la potasse alcoolique. Le sésamol libéré est dosé par colorimétrie après réaction du furfural selon Villavecchia, effectuée en milieu acide sulfurique qui permet d'obtenir une certaine stabilité de la coloration. La courbe d'extinction du produit de réaction présentant une valeur maximale à 518 nm, on réalise une courbe d'étalonnage à cette longueur d'onde.

b) Réactifs

Ethanol 96° G.L.

Solution à 2 % de furfural fraîchement distillé dans l'éthanol.

Acide sulfurique D = 1,515, (diluer un volume de H₂SO₄

D = 1,84 par un volume d'eau distillée).

Solution aqueuse à 40 % de potasse, (dissoudre 400 g de potasse en pastilles dans 600 ml d'eau distillée).

c) Mode opératoire

1) Préparation de l'échantillon

On pèse exactement 6 g de graisse de beurre dans un erlenmeyer à large col de 100 ml. On ajoute 10 ml d'alcool à 96° G.L. et 2,5 ml de potasse à 40 %. On saponifie dans un bain-marie réglé à 87-90°C avec agitation constante pendant 20 à 25 minutes jusqu'à l'obtention par évaporation de l'alcool, d'un volume de 10 à 12 ml. On transvase la solution de graisse saponifiée dans un tube en verre gradué à 15 ml, lave l'erlenmeyer par trois fractions d'environ 1 ml d'alcool à 95° G.L. que l'on verse dans le tube à essai gradué et on porte au trait de 15 ml avec l'alcool. On bouche le tube et agite quelques instants. A l'aide d'une pipette, on prélève 10 ml (correspondant à 4 g de la graisse saponifiée) que l'on verse dans un tube en verre de 50 ml, muni d'un bouchon rodé. On ajoute 25 ml de H₂SO₄ D = 1,515, puis 1 ml de la solution alcoolique à 2 % de furfural, ferme le tube avec son bouchon rodé et agite pendant trente secondes. On place les tubes à l'étuve à 60°C pendant dix minutes et centrifuge à environ 1000 tours/minute pour obtenir une bonne séparation de la phase grasse reconstituée. On enlève le maximum de cette phase grasse avec une pipette et on laisse refroidir les tubes dans un courant d'eau froide pendant vingt minutes.

On filtre sur filtre plissé ordinaire de 12,5 cm, dans des erlenmeyers de 100 ml. On mesure l'extinction du filtrat à 518 n m par rapport à un témoin réalisé exactement dans les mêmes conditions mais ne contenant pas d'ester de sésamol, entre 45 et 90 minutes après l'addition de furfural.

2) Courbe d'étalonnage

Cette courbe a été réalisée à partir de graisse de beurre contenant 0, 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100 g d'esters de sésamol et des acides laurique, myristique et palmitique. Elle a été vérifiée en partant de graisses butyriques contenant 20, 40, 100 g de sésamol pur et des esters des acides caprique et stéarique, toutes les concentrations étant exprimées en équivalent sésamol.

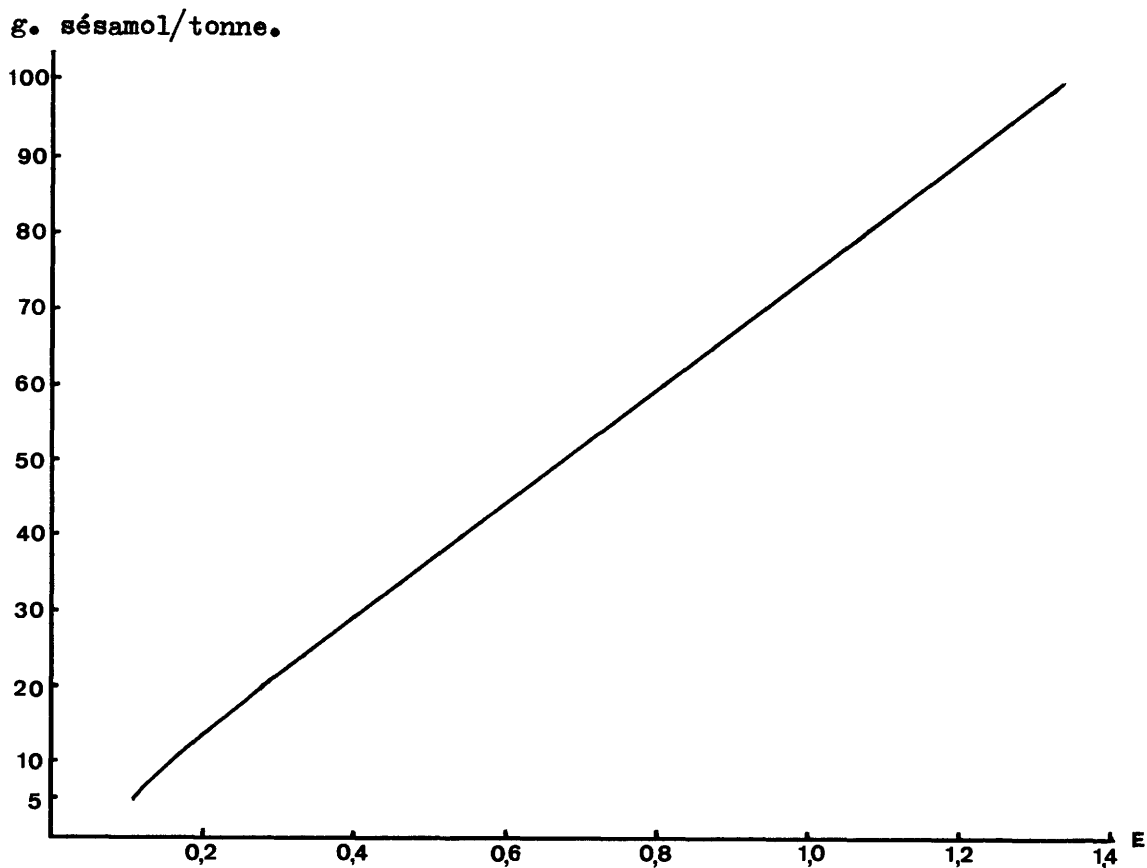
Pour des teneurs correspondantes en équivalent sésamol, l'écart maximum entre deux lectures n'a pas dépassé 0,05 en extinction et on a obtenu les valeurs moyennes suivantes :

Teneurs en équivalent sésamol en grammes par tonne de graisse	Extinction à 518 n m
5	0,10
10	0,16
20	0,28
40	0,54
60	0,81
80	1,08
100	1,34

Ces valeurs ont été reprises pour établir la courbe d'étalonnage en figure 7, montrant la liaison entre les extinctions et les taux d'ester dans la matière grasse.

La courbe est pratiquement linéaire comme le prévoit la loi de Lambert -Beer, si les concentrations exprimées en équivalent sésamol sont comprises entre 20 et 100 g par tonne de matière grasse. En dessous de 20 g/tonne, l'erreur absolue ne change pas, mais l'erreur relative devient très importante et la mesure de l'extinction laisserait prévoir, si on s'en tenait à une interprétation rigoureuse de la loi de Lambert dans ce domaine, un taux d'ester supérieur à la réalité.

Fig. 7. Dosage spectrométrique des esters de sésamol dans un corps gras après réaction de Villavecchia sur le sésamol libéré.
Courbe des extinctions en fonction des taux d'esters dans la matière grasse butyrique.



d) Interprétation et signification des résultats

Comme pour le test, la méthode ci-dessus est en fait une méthode de dosage du sésamol total. Si le produit à analyser contient du sésamol libre et du sésamol estérifié, il est possible de doser en premier lieu le sésamol libre par une méthode ordinaire sans saponification, ensuite le sésamol total après saponification et enfin d'obtenir le sésamol estérifié par différence.

La prise d'essai du mode opératoire est tributaire des quantités d'esters effectivement présentes dans les beurres tracés, donc du choix du taux des traceurs. Si ce taux est de 100 g d'équivalent sésamol par tonne de graisse, la lecture d'une extinction de 1,35 ne garantit peut être pas une très grande précision, mais celle-ci reste amplement suffisante. Par contre, la technique proposée a le grand avantage de n'exiger qu'une seule prise d'essai ne donnant lieu qu'à une seule courbe d'étalonnage, pour doser de 20 à 100 g d'équivalent sésamol par tonne de graisse, d'estimer 10 g par tonne et de se rendre compte de la présence de 5 g par tonne.

Cette méthode est donc parfaitement adaptée au choix d'un taux de traceur voisin de 100 g d'équivalent sésamol par tonne de graisse et elle paraît difficilement adaptable au choix de taux sensiblement moindres.

2.3 Choix du type et du taux d'ester pouvant être utilisé comme traceur de la matière grasse butyrique

2.3.1 Choix du type d'ester

Ce choix reposera principalement sur une base économique, puisque les méthodes de mise en évidence ou de dosage dans les graisses butyriques sont identiques pour tous les esters.

Le prix varie, selon le type d'ester de 126 à 158 U.C. par kg, soit en moyenne de 334 à 370 U.C. par kg d'équivalent sésamol. Si le prix de revient du traceur est actuellement le moins élevé pour l'ester stéarique et le plus élevé pour l'ester caprique, il n'en est pas de même pour le prix du "marquage".

Le "marquage" par l'ester caprique paraît en effet actuellement le plus économique ; son prix de revient serait environ 10 % moindre que celui du "marquage" par l'ester stéarique qui serait le plus élevé. (paragraphe 1.1.3). Les différences de prix entre les divers esters ne sont donc pas très importantes et elles sont susceptibles de varier suivant l'état de conjoncture économique.

Notons qu'on pourrait proposer comme traceur, non un ester d'un acide gras déterminé, mais un produit dont l'équivalent sésamol sous forme d'ester est fixé, par exemple un mélange d'esters dosant 40 % de sésamol lié. Le prix d'un tel mélange serait certainement moins élevé que celui d'un ester purifié, puisqu'au départ de la synthèse, on pourrait utiliser un mélange d'acides gras au lieu d'un acide pur. Cependant, l'économie réalisée serait certainement très faible, en raison du peu d'incidence des variations de prix des acides libres sur le prix de revient des esters de synthèse. Nous pensons qu'il vaut mieux renoncer à cette économie et donc au choix d'un mélange brut d'esters comme traceur de la graisse de beurre, étant donné qu'une définition trop large des traceurs autorisés compliquera nécessairement la tâche des organismes de contrôle, les traceurs ayant alors une composition globale variable suivant leurs origines commerciales.

Le choix du type d'ester peut aussi être influencé par des problèmes pratiques immédiats. Il est certain que l'ester caprique, liquide visqueux à température ordinaire demande un conditionnement spécial ; l'ester laurique, solide à froid, liquide dès que la température atteint 31°C est de manipulation désagréable aux températures courantes. Les esters des acides myristique, palmitique et stéarique sont de plus en plus fermes à température ordinaire, mais leur dissolution dans les corps gras est moins rapide que celle des esters précédents et il faut l'effectuer à une température plus élevée. On ne doit cependant pas accorder une importance excessive à ces inconvénients car, dans une large mesure, sur le plan industriel et sur le plan du marquage, on peut y remédier. En fait on peut donc utiliser indifféremment n'importe quel type d'ester comme traceur mais non un mélange indéterminé. Actuellement, pour des motifs économiques et

pratiques, nous aurions cependant tendance à accorder notre préférence au choix d'un des trois esters inférieurs, le caprate, le laurate ou le myristate.

2.3.2 Choix du taux d'ester

Ce choix dépend uniquement de considérations analytiques, puisque du point de vue économique, les traceurs étant très coûteux, le taux de "marquage" doit être le plus faible possible. Du point de vue analytique, c'est la sensibilité du test de mise en évidence qui impose le choix du taux d'ester à incorporer dans la matière grasse butyrique. Or, le test proposé dans cette étude peut être indiscutable pour la mise en évidence de 5 % de matière grasse tracée mélangée dans une matière grasse butyrique pure, mais il devient aléatoire pour la mise en évidence de quantités deux fois moindres, quand on "marque" la graisse par 100 g d'équivalent sésamol à la tonne. Nous estimons qu'on ne peut descendre sous cette dernière quantité, sans risquer de compromettre fortement les possibilités de contrôle.

Nous préconisons donc le "marquage" de la graisse de beurre par les quantités minimales à la tonne suivantes: 212 g de caprate, 232 g de laurate, 252 g de myristate, 273 g de palmitate ou 293 g de stéarate, tous ces esters ayant une pureté proche de 100 %.

Cependant, nous estimons raisonnable d'accepter comme traceurs, tout ester dont la pureté en équivalent sésamol est au moins égale à 95 %, si elle est calculée par spectrométrie U.V. ou colorimétrie à 518 nm et dont la pureté de l'ester principal est au moins de 80 % des composés organiques décelés lors de l'analyse en chromatographie gazeuse.

On doit tolérer des traces de sésamol libre dans les esters, car ceux-ci, à la faveur d'un stockage prolongé à température ordinaire, peuvent subir un début d'hydrolyse. Ces traces estimées par chromatographie gazeuse ne pourront dépasser 0,2 % de l'ester total. Si les esters ont une pureté en équivalent sésamol supérieure à 95 % et si on adopte le taux de "marquage" de 100 g d'équivalent sésamol par tonne de graisse, il est souhaitable pour être précis, mais nullement indispensable pour obtenir une sensibilité suffisante des méthodes de mise en évidence, de corriger le taux d'ester à ajouter à la graisse pour un "marquage" efficace, en fonction de cette pureté.

2.4 Effets des processus industriels de raffinage des corps gras.

2.4.1 Effets du chauffage

Stockés tels quels pendant une longue période (trois mois) à température ordinaire les esters de sésamol et d'acides gras subissent un début d'hydrolyse très peu perceptible, mis en évidence par un test de Villavecchia positif, s'il est réalisé sur 5 mg d'ester en équivalent sésamol. Dissous dans une matière grasse butyrique, ils sont relativement stables lors d'un chauffage modéré. Ils ne

seront pas affectés par les traitements de pasteurisation à basse ou à haute température . Le taux de sésamol estérifié d'une matière grasse butyrique chauffée 48h à 105°C ne décroît pas alors que le taux de sésamol libre tend à se réduire à cause de l'oxydation. En milieu acide, les esters ne commencent à se décomposer de manière sensible qu'à des températures très supérieures à 120°C à un moment où la matière grasse butyrique est susceptible d'acquérir des odeurs et des saveurs désagréables et irréversibles. En milieu alcalin, les esters sont beaucoup moins résistants et ont tendance à se saponifier. La saponification est plus rapide que celle des triglycérides, mais elle débute en même temps.

2.4.2 Effets de la neutralisation et des lavages par des solutions alcalines ou acides

2.4.2.1 Effets de la neutralisation

La neutralisation des acides gras libres de la matière grasse butyrique suivie d'un ou de plusieurs lavages à l'eau distillée n'affecte en rien la teneur en sésamol estérifié d'une graisse butyrique tracée par 100 g d'équivalent sésamol à la tonne.

Des expériences ont été conduites sur 200 g de matière grasse des esters C₁₀ et C₁₂, neutralisés par des volumes comparables de solutions de carbonate de soude et de soude caustique dont l'alcalinité atteignait 150 % de la quantité nécessaire à la neutralisation de l'acidité de la matière grasse butyrique. La présence de sésamol libre n'a pas été démontrée dans les solutions aqueuses de neutralisation. Le taux de sésamol estérifié (100 g/tonne) de la graisse neutralisée n'a pas été apparemment modifié.

2.4.2.2 Effets du lavage par des solutions alcalines relativement concentrées

On n'a pas pu extraire directement de la graisse de beurre par des solutions de soude 0,5 N, sans obtenir une saponification dangereuse de la matière grasse butyrique qui risquait de lui faire perdre toute valeur commerciale, car en raison du point de fusion des triglycérides il fallait opérer en pratique à plus de 40°C.

On a dissous alors un volume de graisse butyrique dans deux volumes d'hexane n et on a extrait le mélange à température ordinaire par un volume de soude approximativement normale et lavé par deux fois un demi volume d'eau distillée. La matière grasse a été récupérée par évaporation du solvant et son taux de sésamol estérifié a été estimé par la méthode décrite en paragraphe 2.2.2. Celui-ci dépassait 90 % du taux initial.

2.4.2.3 Effets du lavage par des solutions acides

Les esters de sésamol ne sont pas solubles et ne sont pratiquement pas hydrolysés dans les solutions aqueuses acides, même concentrées. On ne peut donc les extraire par des solutions aqueuses acides.

2.4.3 Effets de la décoloration

On sait qu'un handicap du sésamol comme traceur réside dans le fait qu'il peut être retenu sur les terres décolorantes au cours du blanchiment des huiles de sésame.

2.4.3.1 Expérimentation

Nous avons donc réalisé des expériences de décoloration dans des conditions fort sévères où une partie de plus en plus importante de sésamol était enlevée.

Nous avons utilisé d'une part une terre à foulon (Merck 1901) et d'autre part une terre acide particulièrement active, couramment utilisée dans l'industrie (Tonsil optimum FF).

Trois séries d'essai ont été réalisées. On a utilisé un échantillon de matière grasse butyrique pure ordinaire et six échantillons de matière grasse butyrique tracée par 100 g d'équivalent sésamol, soit en sésamol pur, soit en esters des acides caprique, laurique, myristique, palmitique et stéarique.

1e série

On a travaillé sur 200 g de graisse fondue à 75°C, à laquelle on a ajouté 3 g de terre décolorante (1,5 %). Cette terre a été dispersée dans la graisse à l'aide d'un mixer pendant 25 minutes et on a filtré sur papier filtre ordinaire sous vide de la trompe à eau. La première filtration a servi à l'élaboration d'une couche filtrante de 3 à 4 mm d'épaisseur. La graisse a été recueillie après une deuxième filtration et le taux de sésamol total a été mesuré selon la méthode décrite au paragraphe 2.2.2.

2e série

Les mêmes quantités de graisse fondue et de terre décolorante ont été utilisées et la dispersion de celle-ci dans la graisse s'est faite dans les mêmes conditions qu'au cours du premier essai. On a alors filtré environ 150 g de matière grasse à l'étuve à 65 °C sur une colonne de verre de 1,5 cm de diamètre munie d'une bourre de laine de verre à son extrémité inférieure. Les premiers 30 ml de l'éluat ont été écartés et on a commencé à recueillir la matière grasse au moment où l'ébullition se ralentissait à moins d'une goutte par seconde.

La filtration se poursuivait pendant une nuit et était pratiquement terminée le lendemain matin, alors que la couche filtrante était de l'ordre de 3 cm. La matière grasse complètement claire était alors recueillie en vue du dosage

du sésamol estérifié.

3e série

On a utilisé 200 g de graisse fondue et 6 g de Tonsil optimum FF (3 %). La dispersion a eu lieu à 95°C pendant trente minutes. On a filtré 100 g sur colonne de verre de 1,5 cm de diamètre, munie d'une bourre de laine de verre à son extrémité, on a écarté les trente premiers ml élués et on a recueilli la graisse après une nuit de filtration à 90 °C alors que la couche filtrante était de l'ordre de 3 cm.

2.4.3.2 Résultats

Dans tous les cas, les échantillons étaient parfaitement décolorés. Ils avaient acquis une odeur et une saveur particulière, rendant obligatoire un traitement de désodorisation très poussé pour les rendre de nouveau aptes à la consommation. Pour le dosage du sésamol total, on a utilisé comme référence une matière grasse butyrique pure, décolorée dans les mêmes conditions.

1e série

Il n'y a eu aucune perte apparente en sésamol total sur les beurres tracés par du sésamol estérifié, quel que soit le type d'ester et pour l'une ou l'autre terre décolorante.

Il y a eu perte de 20 % (terre à foulon) à 26 % (Tonsil) du sésamol libre de la matière grasse tracée au sésamol.

Le test de Villavecchia appliqué dans ses conditions habituelles, sur la matière grasse tracée par le sésamol estérifié est resté négatif.

2e série

La perte en sésamol calculée sur le beurre tracé par le sésamol libre a atteint 50 % pour la terre à foulon et 65 % pour la "Tonsil". Il n'y a eu de même aucune perte en sésamol estérifié sur les beurres tracés par les cinq esters étudiés.

Le test de Villavecchia appliqué sur ces cinq derniers échantillons est resté négatif.

3e série

La perte en sésamol calculée sur le beurre tracé par le sésamol libre a dépassé 85 %. Aucune perte significative en sésamol total n'a pu être établie sur les beurres tracés par l'un ou l'autre des cinq esters étudiés. Cependant, le test de Villavecchia appliqué sur ces échantillons donnait une réaction rose très claire, qu'on peut expliquer sans doute par une très légère décomposition de l'ester à la chaleur.

2.4.3.3 Conclusions

Les traitements de décoloration qu'on a fait subir à la matière grasse tracée sont en principe plus sévères que ceux qui pourront être utilisés par les industriels, bien que ceux-ci peuvent travailler à des températures un peu plus élevées. Ordinairement, on ne dépasse pas le taux de 1 % de terres décolorantes dans l'industrie et on effectue la décoloration à l'abri des phénomènes d'oxydation.

Le fait que le taux de sésamol estérifié, à l'inverse du taux de sésamol libre, n'est pas modifié dans la graisse butyrique tracée après décoloration, constitue un avantage appréciable en faveur du choix du sésamol estérifié comme traceur de la matière grasse butyrique, par rapport à celui du sésamol libre.

2.4.4 Effets de la désodorisation à la vapeur sous vide poussé.

On sait que le sésamol, dont le point d'ébullition à pression atmosphérique est de l'ordre de 265°C, peut être complètement entraîné à la vapeur à 180°C sous un vide de l'ordre de 1 à 2 mm Hg. De telles conditions sont absolument courantes dans l'industrie des corps gras, au cours de certains procédés de désodorisation et de raffinage et ce fait constitue l'inconvénient principal de l'utilisation du sésamol sous forme libre comme traceur de la matière grasse butyrique. Le but principal de cette étude est d'ailleurs de remédier à cet inconvénient et c'est pour y arriver que nous avons cherché à produire des dérivés plus lourds que le sésamol, mais gardant l'essentiel de ses qualités analytiques. Les esters de sésamol ont en effet des propriétés physiques telles que l'on peut raisonnablement prévoir que leur entraînement à la vapeur sous vide, dans les conditions habituelles de l'industrie des corps gras ne soit plus possible. En effet, nous savons que les esters du sésamol sont pratiquement aussi lourds que les stérols et nous avons établi que l'ester le plus volatil parmi les cinq composés étudiés a un point d'ébullition de 200°C sous 0,01 mm Hg ; de telles conditions simultanées de température et de pressions ne sont pas réalisées dans les installations industrielles ordinaires et une température de 200°C est la température maximale qu'on pourrait envisager pour la matière grasse butyrique sans provoquer une décoloration non souhaitée et une résistance diminuée à l'apparition de saveurs oxydées lors de la conservation de la graisse .

La vapeur pourrait cependant provoquer à température élevée une hydrolyse appréciable de l'ester, dont les produits de décomposition seraient ensuite entraînés facilement. D'autre part, il faut s'attendre quand-même pour les esters de sésamol, à un entraînement mécanique plus poussé que celui des tri-

glycérides. C'est pourquoi des expériences de désodorisation sous vide au laboratoire restaient toujours indispensables.

On a donc effectué des essais de "stripping" sur des échantillons tracés par 100 g de sésamol estérifié par tonne de graisse butyrique, en utilisant chacun des cinq esters à notre disposition, avec comme référence une graisse de beurre tracée par 100 g de sésamol par tonne.

2.4.4.1 Désodorisation sous vide au laboratoire

a) Technique

Appareillage : appareil en verre selon le modèle proposé par Cocks et Van Rede (8) raccordé à une pompe à vide

Echantillons : 350 g de graisse butyrique tracée par 100 g d'équivalent sésamol par tonne de corps gras.

Températures : 185 à 190°C.

Pressions ; 1 à 3 mm Hg.

Injection d'eau (vapeur): 35 à 45 ml.

Débit de vapeur : environ 5 %/heure.

Durée de l'opération : 2 h à 2 h 30 min.

On fait le vide par l'intermédiaire d'une trappe dans un ballon en verre de 3 l. contenant 350 g de graisse tracée. Le ballon est relié latéralement par une tubulure sous vide à un petit ballon de 250 ml surmonté d'une ampoule à décantation contenant le volume nécessaire à l'opération et munie d'un robinet permettant le réglage de l'arrivée de l'eau dans le système sous vide. Celle-ci est volatilisée dans le petit ballon sous l'effet de la dépression et est aspirée par une tubulure qui se prolonge jusqu'au fond du ballon de graisse ; à cet endroit elle est portée à la température souhaitée et subit de ce fait une dilatation considérable qui provoque une agitation intense et permanente au sein de la graisse. La vapeur entraîne alors les éléments les plus volatils vers une trappe maintenue à 0°C et contenant 10 ml de solution de soude normale.

Le réglage du débit de vapeur est le point le plus délicat de l'opération ; aussi la durée de celle-ci a quelque peu varié pour maintenir les quantités injectées entre 35 et 45 ml.- Plus le débit de vapeur est élevé, plus le vide a tendance à s'abaisser, mais on a veillé à ne pas travailler à une pression

(8) Cocks, L.V. and C. Van Rede - Laboratory handbook for oil and fat analysis - Academic Press London - 336 - 1966

supérieure à 3 mm Hg. Quand l'opération est terminée, le ballon de graisse est refroidi à température ordinaire avant de couper le vide. Si on ne dépasse pas la température de 190°C en cours de désodorisation, la graisse n'est que partiellement décolorée.

b) Essais

La désodorisation dans les conditions décrites ci-dessus a été appliquée sur deux échantillons au moins de graisse butyrique "marquée" par chaque type d'ester et par le sésamol libre. On a dosé le taux d'équivalent sésamol avant et après "stripping".- On a estimé le taux d'équivalent sésamol et le taux de sésamol libre dans plusieurs trappes. Il faut signaler qu'aucun des échantillons tracés par un ester ne répondait avant la désodorisation au test de Villavecchia. Au départ du "stripping", tous les échantillons contenaient donc 100 g d'équivalent sésamol par tonne de graisse et on pouvait considérer, pour les traceurs étudiés, que cet équivalent sésamol était intégralement du sésamol estérifié.

c) Résultats et effets de la désodorisation

1) Après "stripping", le taux de sésamol des échantillons tracés par le sésamol libre est pratiquement réduit à néant et ne peut plus être estimé ; le sésamol est donc complètement éliminé.

2) Le taux d'équivalent sésamol des échantillons tracés par le sésamol estérifié diminue, mais cette diminution est toujours relativement faible. En effet, pour tous les échantillons, les résultats indiquent une diminution comprise entre 4 et 13 % (7 à 8 % en moyenne).- On n'a pas pu mettre en évidence un effet différent selon le type d'ester. S'il y a une différence, celle-ci ne peut être que dérisoire et certainement inférieure à celle provoquée par la reproductibilité imparfaite des conditions d'analyse.

3) Le taux d'équivalent sésamol des échantillons tracés par des esters demeure sensiblement égal à celui du sésamol estérifié. En effet, si le test de Villavecchia laisse apparaître une très légère coloration rose pour tous les échantillons désodorisés, il n'a pas été possible de doser le sésamol libre, celui-ci n'atteignant pas 5 g de sésamol libre par tonne de graisse ;

4) la quasi-totalité de l'ester de sésamol perdu par la graisse tracée se retrouve sous forme de sésamol libre dans la trappe. La récupération dans celle-ci n'a malheureusement pas été parfaite ; 60 % au maximum du sésamol perdu a été recueilli dans la phase aqueuse de la trappe. On n'a jamais pu établir une différence significative entre le taux de sésamol libre et le taux d'équivalent

sésamol. Le "stripping" a entraîné des quantités très faibles de corps gras (moins de 0,5 %) qui n'ont pas été analysés.

Comme le démontre le contenu de la trappe, les pertes en traceurs enregistrées au cours des essais de désodorisation résultent pour l'essentiel, non de l'entraînement de l'ester en tant que tel, mais de l'hydrolyse partielle de celui-ci sous l'action de la vapeur surchauffée, suivie de l'entraînement des produits hydrolysés.

d) Interprétation et signification des résultats

Nos essais de désodorisation à la vapeur sous vide ont été effectués dans des conditions comparables à celles que peut réaliser l'industrie ; ces conditions ne sont pas loin de correspondre au traitement le plus sévère qu'on puisse faire subir à la graisse de beurre, sans compromettre de manière irréversible certaines de ses qualités spécifiques. Or, ces essais n'ont permis d'enlever que des quantités relativement faibles d'esters, ne compromettant aucunement la mise en évidence ultérieure du traceur dans l'échantillon "marqué". En conséquence on peut admettre qu'il en sera de même dans l'industrie. Celle-ci ne pourra pas, par ses procédés ordinaires de désodorisation les plus sévères, éliminer de manière rentable une partie importante du traceur. On peut en conclure qu'à la différence du sésamol libre, les esters du sésamol et des cinq acides gras considérés constituent des traceurs qui rendent la "marquage" des beurres efficace, c'est à dire facilement et rapidement contrôlable et économiquement irréversible.

2.4.5 Stabilité des traceurs en fonction de la conservation de la graisse tracée

Les esters de sésamol étant très stables en milieu acide, même à température élevée (paragraphe 2.4.1), on peut prévoir qu'ils ne se dégraderont pratiquement pas dans une graisse butyrique au cours d'un stockage, même prolongé, à basse température.

Le taux de sésamol estérifié d'une matière grasse butyrique tracée reste absolument inchangé après six mois de stockage à -20°C. Il n'y a aucune libération de sésamol libre qui puisse être mise en évidence par les tests utilisés. Des échantillons tracés, gardés à 13°C pendant trois mois, gardent également leur taux de sésamol estérifié inchangé alors que la graisse est devenue fort rance.

On peut donc considérer que le mode de conservation n'influence aucunement le taux de sésamol estérifié, celui-ci étant même théoriquement plus stable que celui des graisses tracées par du sésamol libre, lequel, peut diminuer par

oxydation, encore que d'une manière peu perceptible dans des conditions normales de stockage du beurre.

2.5 Technique expérimentale d'élimination des traceurs des corps gras

2.5.1 Elaboration d'une méthode

Si les processus industriels normaux de raffinage des corps gras ne compromettent pas le principe de la méthode de "marquage" de la graisse butyrique par du sésamol estérifié, parce que la quantité enlevée de traceur est trop faible, on peut se demander si techniquement, par des modifications légères et rentables de certains procédés, on ne peut pas augmenter sensiblement cette quantité. Les méthodes envisagées seront évidemment des méthodes de désodorisation à la vapeur sous vide. Puisque, lors du "stripping", les pertes sensibles de traceurs ne sont consécutives qu'à l'hydrolyse de l'ester, on tentera de rendre cette hydrolyse plus complète. Pour satisfaire cet objectif, deux possibilités existent, augmenter la température ou effectuer une hydrolyse préférentielle de l'ester de sésamol par rapport aux triglycérides. La première possibilité peut être écartée, car la température choisie est pratiquement une température limite pour le "stripping" de la graisse butyrique et parce qu'une température supérieure de quelque dix ou vingt degrés n'exerce à ce niveau que peu d'influence sur la stabilité de l'ester. Par contre, la deuxième possibilité présente des perspectives plus intéressantes. Les esters de sésamol se saponifient en effet en présence d'hydroxydes et même de sels alcalins, dans des conditions moins sévères et plus rapidement que les triglycérides. Plus la quantité d'alcalins ajoutée à la graisse est importante, plus on risque évidemment d'obtenir une saponification indésirable des triglycérides, laquelle pourrait rendre la matière grasse commercialement difficilement récupérable pour des fins alimentaires.

2.5.2 Méthode expérimentale

2.5.2.1 Principe

On réalise l'hydrolyse préférentielle de l'ester de sésamol au cours de la méthode de désodorisation elle-même, par l'action catalytique à haute température de très faibles quantités d'hydroxyde. Les produits de saponification sont des sels instables dans les conditions du "stripping" qui libèrent des acides gras et du sésamol, éliminés par la vapeur sous vide.

2.5.2.2 Technique

On a préparé des échantillons contenant 100 g de sésamol estérifié

sous forme de chaque type d'ester, par tonne de graisse butyrique. Immédiatement avant le début de la désodorisation, la graisse a été fondue à 60°C et additionnée de quantités déterminées de potasse en solution aqueuse (1 à 5 ml) par dispersion à l'aide d'un mixer.

Les quantités ajoutées correspondaient à 1/2, 1/4, 1/10, 1/40 de la quantité nécessaire à la neutralisation des acides gras, laquelle était de l'ordre de 190 à 220 mg de potasse pure selon les cas. La quantité minimale ajoutée a donc été de 5 mg de potasse dans 1 ml d'eau.

Les modalités opératoires du "stripping" ont été exactement les mêmes que celles annoncées au paragraphe 2.4.4. sauf les températures de l'ordre de 210 à 215°C au lieu de 190°C. Pour observer l'effet éventuel de cette augmentation de température, on a cependant réalisé deux essais à partir de graisse tracée par les esters stéarique et laurique, désodorisée à la température de 215°C et sans addition de potasse.

Les essais effectués à partir de graisse additionnée de 1/2, 1/4, 1/10 de la quantité de potasse nécessaire à la neutralisation des acides gras n'ont pris en considération que deux esters différents pour chaque type d'essai, les résultats obtenus étant manifestement conclusifs même à l'égard des autres esters. On a considéré les cinq esters pour effectuer les essais à partir de graisse additionnée de 1/40 de la quantité de potasse nécessaire à la neutralisation.

2.5.2.3 Résultats

Les pertes en sésamol estérifié, enregistrées sur les deux échantillons témoins non additionnés de potasse ont été de 5 et de 9 %, comparables à celles enregistrées lors des essais de "stripping" effectués à 190°C.

Dans tous les autres cas, on a réussi à enlever pratiquement tout l'ester de sésamol, à tel point qu'un dosage n'a jamais été possible.

Seuls, les échantillons additionnés de 1/10 et de 1/40 de la quantité de potasse nécessaire à la neutralisation des acides gras, ont donné une légère coloration rose variable au test de mise en évidence. L'intensité de cette coloration n'était d'ailleurs pas toujours négativement corrélée à la quantité d'alcalin utilisée.

2.5.2.4 Interprétation et signification des résultats

On peut considérer que la potasse et les savons ont agi en fait comme catalyseur de l'hydrolyse des esters, intervenant constamment dans les réactions d'échange. Ce n'est pas tant la concentration en potasse qui joue, du moins aux niveaux envisagés, que l'agitation convenable du mélange. Celle-ci

favorise le contact intime du catalyseur avec le produit subissant la réaction. La réaction peut être activée par l'élévation de température, mais comme cette élévation ne peut être que très faible dans le cas de "stripping" de la graisse de beurre, son action sur l'accélération de l'hydrolyse ne sera que secondaire. Certains essais où, par accident, l'agitation du mélange était plus faible (débit de vapeur affaibli ou irrégulier), ont montré qu'il restait une quantité importante et dosable de traceurs dans la graisse traitée, même si on avait ajouté préalablement à la désodorisation, la moitié de la quantité de potasse nécessaire à la neutralisation des acides gras.

2.5.2.5 Conclusions

Les essais effectués démontrent donc qu'on pourrait envisager industriellement l'élimination presque totale de l'ester de sésamol présent comme traceur dans un corps, en modifiant à peine les conditions dans lesquelles s'effectue un procédé de désodorisation à la vapeur sous vide. Mais que devient la matière grasse butyrique après un tel traitement ? En aucune façon, elle n'est consommable telle quelle à cause des savons présents et de leurs saveurs particulières. Ces savons peuvent être éliminés par des lavages à l'eau ou des filtrations sur filtres spéciaux, mais les saveurs désagréables ne disparaissent pas facilement. Pratiquement, après l'élimination des savons, on est obligé de recourir à une deuxième opération de désodorisation et, économiquement, c'est difficilement pensable. On sait que le "stripping" de la graisse de beurre est effectué dans des conditions normales, à une température limite qu'on peut dépasser difficilement si on désire ne pas hypothéquer certaines qualités gustatives et commerciales de la graisse de beurre. Cette température limite est peut être déjà dépassée si l'on provoque la formation même légère de savons ; la stabilité du produit et sa résistance aux phénomènes d'oxydation sont diminuées. La graisse se décolore et commercialement se dévalorise, car il est souvent demandé de lui ajouter des colorants.

En conclusion, si pour des beurres tracés, l'élimination du sésamol estérifié, quel que soit le type d'ester de sésamol, est techniquement possible, peut être même rentable, cette rentabilité ne pourra jamais être excellente. A ce point de vue, les questions économiques vont jouer un rôle essentiel, telle la différence entre le prix courant de la graisse butyrique et celui de la graisse excédentaire livrée au "marquage". Il est également très important de pouvoir prévoir s'il y aura une certaine continuité dans le temps, des opérations de "marquage" avec un traceur déterminé et quelle sera l'importance des quantités tracées. Or cette prévision, pour des raisons économiques

et politiques, ne sera sans doute jamais possible; ce fait est susceptible de décourager des tentations de fraude qui, pour être bien exécutées, demandent l'utilisation d'un matériel coûteux et peu courant en industrie laitière.

La tentation d'enlever le sésamol estérifié de la graisse de beurre ne peut en effet intervenir sur une petite échelle, au niveau traditionnel de la laiterie, d'ailleurs insuffisamment équipée ; certaines installations perfectionnées de l'industrie des corps gras sont nécessaires. Ces installations ne peuvent être acquises dans un but aussi restreint et d'ailleurs illégal, mais elles doivent exister sur place où leur rentabilité est assurée par le travail courant. La mise au point sur ces installations d'une technique d'élimination du sésamol estérifié en tant que traceur est coûteuse et ne peut être rentabilisée qu'en traitant de grandes quantités de graisses donc, par des fraudes importantes, mais dans ce cas, les risques courus sont également grands et les organismes de contrôle peuvent être facilement efficaces.

2.6 Essais biochimiques par voie enzymatique

2.6.1 Objet

Le sésamol et les acides gras sont des composés reconnus depuis longtemps non toxiques par tous les milieux scientifiques, encore qu'un seul auteur ait étudié la toxicité du sésamol (9). Ces produits entrent d'ailleurs dans les aliments consommés par l'homme, le premier épisodiquement avec l'huile de sésame, le deuxième couramment avec tous les corps gras.

La non-toxicité des produits entrant dans la réaction de synthèse n'est pas nécessairement significative de la non-toxicité du composé de synthèse. Dans le cas d'un ester de sésamol, il est cependant notoire que le point le plus fragile de la molécule est la liaison ester et que s'il y a rupture de cette molécule sous l'effet d'un traitement physique, chimique ou biologique quelconque, elle se fera nécessairement en premier lieu à ce point. Mais y a-t-il rupture ?

Les essais ci-après, réalisés "in vitro" dans les conditions optimales d'action d'un enzyme de la digestion, la lipase pancréatique, répondent à cette question.

(9) Ambrose, A.M., A. Cox, J. and F. Deeds - Agricultural and Food Chemistry
6 . 2 . 600 - 604 - 1958

2.6.2 Méthode expérimentale d'hydrolyse des esters de sésamol et des triglycérides par la lipase pancréatique

Pour réaliser de bonnes conditions de lipolyse, nous n'avions pas les possibilités techniques de partir de grandes quantités de graisses tracées, ni les possibilités analytiques de doser le sésamol libre et le sésamol estérifié de faibles quantités de graisses tracées. Nous avons donc effectué deux séries d'essais de lipolyse, une première série sur des esters purifiés et une deuxième série sur des mélanges d'esters purifiés et de graisse de beurre dans un rapport de quantités de 10 à 1.

La méthode de lipolyse utilisée est une adaptation d'une méthode proposée par M.H.Coleman (10) pour la détermination de la structure des glycérides.

2.6.2.1 Principe

On réalise l'hydrolyse des esters de sésamol dans les mêmes conditions que la lipolyse des triglycérides et par le même système enzymatique. Les produits à lipolyser sont d'abord émulsifiés en solution aqueuse tamponnée à pH = 8,5 et contenant des sels biliaires et des éléments minéraux ; ils sont amenés à une température optimale pour la lipolyse, puis on ajoute la lipase et on maintient l'émulsion pendant un temps déterminé. La lipolyse peut être arrêtée par l'addition d'acide chlorhydrique concentré abaissant sensiblement le pH.

2.6.2.2 Réactifs

- a) Lipase : glycerol ester hydrolase Sigma Chemical Company
St Louis - U.S.A - Type II.
Solution à 5 % de lipase délipidée à l'éther (11)
dans l'eau distillée.
- b) Sels biliaires : bacto-oxgall Difco - Détroit - U.S.A
Solution à 2,5 % dans l'eau distillée.
- c) Tampon : Solution à 1,2 M de chlorure d'ammonium, ajustée au
pH de 8,5 par addition d'ammoniaque à 10 %.
- d) Sels minéraux : Solution à 22 % de NH_4Cl , 6 H_2O dans l'eau distillée.

(10) Coleman, M.H., Advances in Lipid Research, Vol 1, 25-28
Academic Press, New-York - 1963.

(11) Jurriens, G. - Analysis and Characterization of Oils, Fats and Fat
Products. Vol 2, 273, Interscience Publishers - New-York
1968.

e) Acide chlorhydrique concentré D = 1,19

f) Ammoniaque à 10 %

2.6.2.3 Appareillage

Vibreux - Vortex Jr Mixer

Tubes à culture à visser en verre ; hauteur 12 cm ; capacité 25 ml

Matériel courant de verrerie

2.6.2.4 Mode opératoire

a) Lipolyse

On pèse 10 mg en équivalent sésamol (1e série d'essais) ou 10 mg d'équivalent sésamol + 100 mg de graisse butyrique (2e série d'essais) dans un tube à culture à bouchon vissant de 25 ml.

10 mg d'équivalent sésamol correspondant à 21,2 mg d'ester caprique, 23,2 mg d'ester laurique, 25,2 mg d'ester myristique, 27,3 mg d'ester palmitique, 29,3 mg d'ester stéarique et 10 mg de sésamol libre pur

On ajoute 7 ml de la solution de tampon à pH 8,6

1,5 ml de la solution à 22 % de chlorure de calcium

0,5 ml de la solution de sels biliaires

On émulsifie l'ester de sésamol (et les triglycérides) à 40°C pour les esters caprique et laurique, 50 à 60°C pour les esters myristique, palmitique et stéarique à l'aide du vibreur.

On ramène les tubes à la température de 40°C et on ajoute 1 ml de la solution aqueuse à 5 % de lipase. On émulsifie chaque tube au vibreur à la température de 38-39°C pendant une heure pour laisser agir la lipase, en maintenant le pH de 8,4 à 8,6 par l'addition occasionnelle de une ou deux gouttes d'ammoniaque à 10 %.

On retire chaque échantillon lipolysé de l'étuve à 38°C et on arrête la lipolyse par l'addition de 4 gouttes d'acide chlorhydrique concentré.

Des témoins ont été préparés à partir des mêmes prises d'essai d'esters et d'additions semblables de tous les réactifs à l'exception de la solution de lipase, remplacée par de l'eau distillée.

b) Contrôle de la lipolyse

1) Dosage du sésamol libre

Les mesures relatives des taux de sésamol libre dans chaque tube d'ester lipolysé ont été effectuées par rapport à la mesure prise dans des conditions semblables à partir du tube contenant les 10 mg de sésamol libre. Dans ce but, on a prélevé 0,5 ml de chaque tube qu'on a déposé dans un ballon jaugé de 50 ml et on a porté au trait avec de l'acide sulfurique D = 1,515 et 1 ml de solution à 2 % de furfural dans l'alcool (réaction de Villavecchia). On laisse développer la coloration trente minutes et on mesure l'extinction à 518 nm par rapport à un témoin sans ester.

2) Chromatographie sur couche mince

Nous avons utilisé des plaques de gel de silice de 0,25 mm d'épaisseur, type Merck F 254. Les solvants de développement ont été, soit un mélange éther de pétrole - éther diéthylique acide acétique, 60-40-2, soit un mélange benzène-méthanol 97 - 3 . Le révélateur consiste soit en une solution de 0,5 ml de furfural à 2 % dans l'alcool additionnée à 10 ml d'acide chlorhydrique concentré, soit une solution à 20 % d'acide phosphomolybdique dans l'alcool à 95 %. Le furfural en solution chlorhydrique colore directement les spots de sésamol en rouge violacé. L'acide phosphomolybdique révèle directement les spots de sésamol en bleu et les spots des divers lipides en bleu violet après exposition de la plaque à 105°C pendant 10 minutes.

L'ester de sésamol ne réagit pas en principe ; cependant, à chaud il y a une légère dégradation du sésamol qui indique sa position sur la plaque.

Les R f approximatifs pour un développement de 14 à 15 cm et un dépôt de 10 microlitres par cm (0,01 mg d'ester lipolysé et 0,1 mg de glycérides lipolysés) sont les suivants :

R F approximatifs sur plaque de gel de silice

	E. pétrole	E. diéthyl. H.Ac.	Benzène-Méthanol
	60-40-2		97-3
Monoglycérides	0,10		0,08
1-2 diglycérides	0,35		0,58
Stérols	0,36		0,46
1-3 diglycérides	0,42		0,72
Sésamol	0,50		0,42
Acides libres	0,50 à 0,70		0,08 à 0,35
Esters de sésamol	0,86		0,86
Triglycérides	0,92		0,93

2.6.2.5 Résultats

a) Dosage du sésamol libre

1e série d'essais

Le sésamol est entièrement libéré des esters des acides caprique et laurique, il est libéré à 95 % de l'ester de l'acide myristique, à 90 % de l'ester palmitique et de l'ester stéarique. Il n'est pas présent dans les témoins non additionnés de lipase.

2e série d'essais

Le sésamol est entièrement libéré des esters des acides caprique, laurique et myristique et libéré à plus de 85 % des esters des acides

palmitique et stéarique.

b) Chromatographie sur couche mince de gel de silice

1e série d'essais

Les spots de sésamol libre obtenus à partir de quantités équivalentes d'ester de sésamol et de sésamol pur ont une intensité comparable, ce qui confirme une hydrolyse pratiquement totale. On a mis en évidence des traces d'esters de sésamol des acides myristique, palmitique et stéarique dans des proportions croissantes.

Les spots d'esters sont les seuls à être mis en évidence dans les témoins non additionnés de lipase

2e série d'essais

Les spots de sésamol libre sont tous d'intensité comparable. Des traces d'esters subsistent pour les esters palmitique et stéarique.

La lipolyse des triglycérides est presque totale. Les 1-2 diglycérides, les acides gras et le sésamol constituent les spots majeurs. Viennent ensuite en ordre d'intensité décroissante, les spots des monoglycérides et des triglycérides. Les 1-3 diglycérides sont absents ou sous forme de traces.

2.6.2.6 Interprétation et signification des résultats

La lipase pancréatique est capable "in vitro" de provoquer une hydrolyse quasi complète des esters de sésamol quels qu'ils soient.

Si la lipolyse paraît plus difficile et incomplète pour les esters palmitique et stéarique, on peut présumer que c'est à cause d'une émulsion beaucoup plus difficilement maintenue à 38°C pour ces esters à point de fusion plus élevé. On sait en effet que la lipolyse n'est possible que si les molécules soumises à l'action de la lipase sont en état d'émulsion totale.

La lipase agit aussi bien sur les triglycérides que sur les esters de sésamol, si ces produits sont présents dans un mélange bien émulsifié.

Pour les esters inférieurs au moins, les vitesses de lipolyse sont comparables à celles des triglycérides.

2.6.3 Conclusions

Si la lipolyse pancréatique hydrolyse aussi complètement et aussi rapidement "in vitro" les esters de sésamol que les triglycérides, il est évident que son action sera comparable "in vivo", où les conditions optimales de son activité seront réalisées. Le problème biologique du métabolisme des esters de sésamol se ramène donc à celui du métabolisme des acides gras et du sésa-

mol. Le métabolisme des acides gras est bien connu et il est biologiquement naturel puisqu'il concerne les corps gras; celui du sésamol est moins connu, bien qu'étudié sous divers aspects (12), mais le produit est non toxique à des taux infiniment supérieurs à ceux où il peut être consommé par l'homme à l'occasion de l'ingestion de beurres tracés.

En conséquence, sur le plan biologique, l'utilisation des esters de sésamol et d'acides gras, ne peut pas soulever de réticences fondées.

(12) Bryson, C., F. Bishoff - Sesamol transport by human blood - Res. Comm. Chem. Pathol. Pharmacol. 1 (2) , 185-192 - 1970.

3. Synthèse et conclusions générales

3.1 Synthèse

L'étude effectuée concerne la mise au point et l'utilisation des esters du sésamol et d'acides gras comme révélateurs pouvant être additionnés à la matière grasse butyrique. Elle répond à l'objet précisé dès le début, de rechercher un ou plusieurs traceurs de la graisse de beurre, qui rendent le "marquage" de celle-ci efficace, c'est à dire économiquement irréversible, et sur le plan analytique, simplement et rapidement contrôlable. L'étude présente deux parties principales, la mise au point des traceurs par synthèse chimique et l'utilisation de ces traceurs pour le "marquage" de la matière grasse butyrique. Elle se termine par cette synthèse et nos conclusions générales.

3.1.1 Mise au point des traceurs

La mise au point des traceurs résulte d'un processus de synthèse chimique basée sur une même réaction globale. Elle concerne cinq esters de sésamol et d'acides gras, à savoir les esters caprique, laurique, myristique, palmitique et stéarique. L'acquisition des produits de base de la synthèse ne soulève pas de problème, si ce n'est pour le sésamol, dont la préparation fait l'objet de deux brevets, qui est coûteux et qui risque de ne pas être disponible en quantités commerciales suffisantes. Le caprate paraît actuellement (février 1974) le traceur qui assure le prix du "marquage" le moins élevé. Sur cette base, viendraient ensuite le myristate, le laurate, le palmitate et le stéarate, mais le prix du "marquage" par ce dernier composé serait à peine supérieur de 10 % à celui réalisé par le caprate.

Du point de vue analytique, les propriétés physiques et chimiques des cinq esters ont été mesurées. Certaines différencieront les esters entre eux et on les appliquera au contrôle de la pureté des produits commerciaux ; d'autres seront à la base de tests de mise en évidence et de méthodes de dosage des traceurs au sein des corps gras.

3.1.2. Le "marquage" de la matière grasse butyrique

Après avoir mis au point un test rapide et sensible de la présence des traceurs dans un corps gras et établi sur le même principe, une méthode de dosage, on a pu fixer le choix du type de traceur et le taux minimum à incorporer dans un corps gras pour un "marquage" convenable. Un taux minimum de 100 g exprimé en équivalent sésamol, peu importe le type d'ester, nous a paru indispensable. Un tel choix n'est pas remis en cause par les effets des procédés classiques industriels de raffinage des corps gras. Par contre, un traitement industriel spécial, relativement peu onéreux dans son application, mais assez éprouvant pour la graisse

butyrique, dont les qualités particulières sont rapidement compromises, a abouti à une élimination presque totale des esters utilisés comme traceurs.- Enfin, afin de répondre à des objections d'ordre biologique, nous avons étudié l'effet de la lipase pancréatique "in vitro", sur les esters isolés ou en présence de triglycérides. La lipase pancréatique hydrolysant les esters dans les mêmes conditions et aussi rapidement que les triglycérides, le métabolisme des traceurs se ramène à celui du sésamol et des acides gras, produits parfaitement inoffensifs au taux où l'homme pourrait les ingérer en consommant des beurres tracés.

3.2 Conclusions générales

3.2.1. Le problème de la synthèse

On peut obtenir par voie de synthèse, selon un procédé facilement adaptable par l'industrie, des esters de sésamol et d'acides gras d'une pureté suffisante pour leur utilisation comme traceurs des beurres. Le rendement de la synthèse est excellent et le matériel est classique pour l'industrie chimique, de sorte que le prix de revient est surtout fonction du prix offert pour le sésamol et pour chaque type d'acide gras ou son chlorure

Le sésamol est, dans la conjoncture actuelle, assez rare et coûteux, tandis que les acides gras et leurs chlorures d'acides devraient en principe être beaucoup moins chers et ne pas poser de grandes difficultés d'approvisionnement.

La disponibilité commerciale, le prix de sésamol, les quantités de graisse butyrique susceptibles d'être tracées sont donc les facteurs limitants à envisager dans le cas de la production commerciale de certains esters de sésamol et d'acides gras. Actuellement (février 1974), le facteur essentiel reste cependant la disponibilité du sésamol qui semble interdire la fabrication des esters sur une grande échelle et leur utilisation comme traceurs dans l'immédiat, à plus de quelques milliers de tonnes de graisse butyrique.

En admettant pour le sésamol un prix de 200 U.C./Kg et pour les acides gras un prix de 1 à 2,18 U.C./Kg nous avons estimé que le prix de revient des esters pourraient être de l'ordre de 126 à 158 U.C./Kg. Cette estimation est évidemment susceptible d'être corrigée en fonction de données techniques plus précises et surtout en fonction de la conjoncture économique.

3.2.2 Le problème du "marquage"

a) Aspect analytique

Chacun des cinq types d'ester d'acide gras et de sésamol, éventuellement même un mélange de plusieurs de ces cinq types ou un mélange d'autres esters, possèdent, sur le plan analytique, les qualités indispensables d'un bon traceur.

Pour des raisons pratiques concernant le contrôle des traceurs commerciaux et du "marquage" de la graisse de beurre, nous souhaitons éviter l'utilisation de mélanges trop disparates d'esters, à moins que l'économie réalisée ainsi ne soit réellement substantielle, ce qui est douteux. Si l'emploi de tels traceurs était quand même autorisé, il faudrait à tout le moins que l'utilisateur connaisse la proportion de sésamol estérifié du produit commercial et les firmes devront donc l'en informer clairement.

Pour des raisons économiques d'autre part, nous estimons aussi qu'il faut se garder de ne retenir uniquement que la possibilité d'utiliser comme traceurs, des esters purifiés d'un acide gras déterminé, tels ceux dont on a effectué la synthèse et étudié les propriétés. Un tel choix serait évidemment idéal, mais il pourrait être très coûteux puisque les acides techniques à la base de la synthèse des esters sont d'autant plus coûteux qu'ils sont purifiés.

En conséquence, il est nécessaire de concilier à la fois les aspects pratiques concernant le contrôle des traceurs et les aspects économiques du "marquage".

Si, un jour, le sésamol estérifié peut être utilisé comme traceur des beurres, nous pensons donc qu'il faudra choisir un ester d'acide gras relativement pur. A notre avis, on pourrait exiger pour les produits commerciaux, une pureté minimale de 80 % par rapport à l'ensemble des composés organiques (esters secondaires) déterminés par chromatographie gazeuse et une pureté minimale de 95 % exprimée en sésamol estérifié grâce à une méthode spectrométrique et calculée avec le facteur d'analyse propre à l'acide gras de l'ester principal. L'ester commercial sera exempt de tout composé toxique ou suspect et on ne pourra éventuellement y mettre en évidence que des traces de sésamol libre (moins de 0,2 %).

Il n'y a pas d'objection à l'utilisation de l'ester caprique, s'il s'avère que cet ester est le produit le plus économique de la série. Toutefois, il faut signaler que les autres esters conduisent à un "marquage" à peine plus coûteux (10% maximum) que celui réalisé à partir du caprate.

Le taux minimum de traceur à dissoudre dans la graisse butyrique en vue d'obtenir un "marquage" suffisant est de l'ordre de 100 g de sésamol estérifié par tonne, soit en poids d'ester pur ou éventuellement même en poids du produit commercial à 95 % de pureté, exprimée en équivalent sésamol : 212g de caprate , 232 g de laurate, 252 g de myristate, 273 g de palmitate et 293 g de stéarate.

Dans ce cas, la présence de 5 % de graisse butyrique tracée, mélangée dans une graisse butyrique pure, peut être décelée par une méthode simple et rapide de mise en évidence, ce qui répond à l'objet proposé au début de cette étude.

Sur le plan du raffinage industriel ordinaire des corps gras, le "marquage" de la graisse de beurre à l'aide de 100 g d'équivalent sésamol sous forme d'ester par tonne de graisse, est efficace, mais sur le plan technique général, il n'est pas totalement irréversible.

Le "marquage" est efficace puisqu'aucune technique industrielle de raffinage des corps gras n'extrait des quantités importantes de sésamol estérifié ; à ce sujet, les procédés qui réduisaient sensiblement ou même totalement le taux de sésamol libre des beurres tracés par celui-ci, tels l'extraction aqueuse alcaline, la désodorisation à la vapeur sous vide et dans une mesure moindre la décoloration sur terres siliceuses, sont presque totalement inopérants pour abaisser sensiblement le taux du sésamol estérifié.

Le "marquage" sur un plan technique, n'est pas totalement irréversible, puisque dans des conditions fort particulières, après avoir hydrolysé la majeure partie de l'ester en sésamol et en acides gras, ces composés se laissent enlever à la désodorisation à la vapeur sous vide. La destruction de l'ester ne se réalise cependant pas sans une saponification partielle et continue des glycérides, accompagnée d'altération de la matière grasse et de pertes de masse substantielles ; on remédie à l'altération très difficilement et très imparfaitement, par l'application onéreuse de nouveaux traitements industriels qui sont la source de nouvelles pertes de matière grasse.

D'autre part, toute tentative sérieuse de fraude par élimination des traceurs ne peut être conçue que là où on dispose d'un matériel très spécialisé, inconnu dans une laiterie classique, matériel qui devra traiter des quantités importantes de graisses. Dans ces conditions, le contrôle sera facilité, les risques courus lors de la tentative frauduleuse seront énormes et les possibilités de réaliser une opération rentable tenderont à s'annuler.

b) Aspect biologique

Puisque, sous l'action des enzymes de la digestion, les traceurs s'hydrolysent en composés inoffensifs, dans des conditions comparables à celles existant in "vivo", leur absence de toxicité paraît démontrée. Le fait qu'il existe des brevets pour des produits semblables (ester palmitique), signifie que l'utilisation des esters comme traceurs du beurre a été pour le moins envisagée et donc que les auteurs des brevets ont au moins admis que les produits mis au point n'avaient pas d'incidence biologique néfaste aux taux où ils pourraient être consommés par l'homme. Le sésamoline et la sésamine, produits naturellement présents dans l'huile de sésame et qui renferment du sésamol lié, n'ont d'ailleurs jamais montré d'effet pathologique chez l'homme.

c) Aspect économique

Seule la production de l'ester palmitique, parmi les cinq esters synthétisés, a fait l'objet de la déposition d'un brevet. Parmi les quatre autres esters, le choix du caprate comme traceur rendrait actuellement le "marquage" le moins cher et celui du stéarate, le plus cher.

Entre les prix de revient des "marquages" par les différents esters examinés la différence ne devrait toutefois pas être très grande (10 % maximum en valeur relative).

Dans l'état de conjoncture actuelle (février 1974), nous avons estimé que le prix commercial pour le traceur rendant le "marquage" le plus économique, c'est à dire le caprate, serait proche de 158 U.C. par Kg. A ce prix, le coût du "marquage" d'une tonne de graisse (212 g de caprate) serait de l'ordre de 34 U.C. Un tel prix peut-il être jugé excessif alors qu'actuellement, on le dépasserait si on continuait à tracer le beurre, d'une façon tout à fait inefficace, par 200 g de sésamol libre à la tonne ?

On doit noter que les firmes susceptibles de produire les esters pourraient ne s'engager dans cette voie qu'avec la certitude de débouchés assurés.

En conclusion, on peut dire que si l'aspect économique de l'utilisation de sésamol estérifié comme révélateur de la graisse butyrique, n'est actuellement pas très engageant, la valeur analytique des traceurs mis au point et la facilité de contrôle du "marquage" qui en résulte sont telles, qu'il faut prendre garde d'y renoncer sur la base de données économiques incertaines et fluctuantes. Peut-être d'ailleurs, l'évolution des facteurs économiques et une situation concurrentielle entre diverses firmes productrices, sera-t-elle susceptible de conduire finalement à l'obtention de prix moins élevés ?

4. Addendum

4.1 Partie expérimentale

Les points de fusion pris en tubes capillaires sont corrigés. Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés en solution chloroformique, à une concentration voisine de 1 % et à une température de 20°C à l'aide du polarimètre Zeiss. Les indices de réfraction sont pris à 60°C à l'aide d'un butyroréfractomètre Zeiss.

Les spectres U.V. ont été déterminés dans l'hexane, sous une épaisseur de 1 cm, à l'aide du Cary 15.

Les spectres I.R. ont été pris, sauf exception, en pastilles de KBr à l'aide de l'Infracord.

Les spectres de R.M.N. ont été effectués en solution dans le deutérochloroforme avec le Varian T 60, les déplacements chimiques sont exprimés en p.p.m. (tétraméthylsilane, référence zéro) et les constantes de couplage au Hz, les lettres s, t, m, désignent un singulet, un triplet, un multiplet.

Les spectres de masse ont été mesurés à l'aide d'un varian Mat, 311. Les intensités relatives des ions étaient exprimées en % de $\Sigma 40$.

La chromatographie gazeuse des esters a été effectuée sur des colonnes en acier inoxydable contenant 5 % de phase SE 30 ou 5 % de SE 52 sur Aeropak 30, 100-120,

à l'aide d'un Perkin - Elmer F. 30 muni de détecteurs F.I.D.

1.2.2 Chlorures d'acides gras.

1 mole d'acide gras et 1,2 mole de chlorure de thionyl fraîchement distillé sont chauffés lentement jusqu'à 70° pendant 2 h. L'excès de chlorure de thionyl est éliminé par distillation sous vide. Le chlorure d'acide est ensuite rectifié sous vide. Le rendement est de 90 %.

1.2.3 Synthèse des esters

1 mole de sésamol pur (recristallisé d'un mélange d'éther de pétrole -chloroforme) et 1 mole de chlorure d'acide gras sont chauffées pendant deux heures au bain-marie, soit telles quelles, soit en présence d'un solvant organique anhydre, le chlorure de méthylène. La solution refroidie est lavée par une solution de NaOH N, puis par de l'eau jusqu'au pH de 7. La solution organique séchée sur sulfate de sodium est mise à sec et pesée. Le rendement est de 90-95 %.

1.2.3.1 Décanoate ou caprate de sésamol

Il est obtenu pur par rectification sous haut vide avec un rendement de 90 %

$E_{b_{0,01}} = 200^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_D = 0$, $n = 1,4823$.

Spectre U.V. : $\lambda_{\text{max}} 238 \text{ nm}$, $\log. \epsilon 2,55$; $\lambda_{\text{max}} 288$, $\log. \epsilon 2,52$

Spectre I.R. : $\nu 1775 \text{ cm}^{-1}$ Ar-O-C=O, $\nu 1170 \text{ cm}^{-1}$ et 1130 cm^{-1} C-O-C, $\nu 850$
et 814 cm^{-1} benzene trisubstitué, $\nu 720 \text{ cm}^{-1}$ (CH_2) > 3

Spectre R.M.N. : \underline{t} , 0,92 (CH_3); \underline{s} , 1,25 (CH_2) $_7$; \underline{m} , 2,20, 2H en α de O-C=O;
 \underline{s} , 6, O- CH_2 -O; \underline{m} , 6,7, 3 H-Ar.

Spectre de masse : $M^{+} 292$, confirme la formule $\text{C}_{17} \text{H}_{24} \text{O}_4$, ainsi que les
ions à m/e = 172 0,52 %, 155 (M-137 0,52 %), 143 (0,52%),

138 (26 %), 137 (3,9 %), 129 (3,14 %), 115 (1,3 %), 101 (3,15 %),
88 (6,5 %), 73 (6,5 %), 71 (0,6 %), 70 (1,5 %), 60 (7,3 %), 57 (5,7 %),
55 (4,4 %), 43 (5,2 %), 42 (1,3 %).

Chromatographie gazeuse : caprylate 0,15 % ; caprate 99,45 % ; laurate 0,15%.

1.2.3.2 Laurate de sésamol

L'ester est purifié par cristallisation de l'éther de pétrole 40-60

F = 30,5°C, $[\alpha]_D = 0$, $n = 1,4795$.

Spectre U.V. λ max 238 nm log. ϵ 2,55 , λ max 288 log. ϵ 2,52

Spectre I.R. : ν 1775 cm^{-1} Ar O-C , ν 1170 cm^{-1} et 1130 cm^{-1} C-O-C ,
 ν 850 cm^{-1} et 814 cm^{-1} benzène trisubstitué , ν 720 cm^{-1}
(CH₂)₄ .

Spectre de R.M.N. : \underline{m} , 0,92 , (CH₃) , \underline{s} , 1,25 , (CH₂)₇ , \underline{m} , 2,22 , 2H en α
de O-C=O , \underline{s} , 6 , O-CH₂-O , \underline{m} , 6,7 ; 3 H -Ar.

Spectre de masse : M⁺ 320 , confirme la formule C₁₉H₂₈O₄ ainsi que les ions
à m/e correspondants à : 183 (M-137 , 0,3 %) , 139 (4,2 %) , 138 (4,6 %) ,
137 (4,64 %) , 121 (0,62 %) 109 (1,8 %) , 79 (0,77 %) , 71 (1,5 %) , 69 (1,5%) ,
57 (4,64 %) , 43 (5 %) , 41 (4,9 %) .

Chromatographie gazeuse : caprate 0,30 % ; laurate 98,8 % ; ester C₁₃ 0,20 % ;
myristate 0,55 %.

1.2.3.3 Myristate de sésamol

L'ester est purifié par cristallisation de l'ether de pétrole 40-60.

F = 37,5°C , $[\alpha]_D = 0$, n = 1,4773

Spectre U.V. : λ max 238 nm , log. ϵ 2,55 ; λ max 288 log. ϵ 2,52

Spectre I.R. : ν 1775 cm^{-1} Ar-O-C=O , ν 1170 cm^{-1} et 1130 cm^{-1} C-O-C ,
 ν 850 cm^{-1} et 814 cm^{-1} benzène trisubstitué , ν 720 cm^{-1}
(CH₂)₄ .

Spectre de R.M.N. : \underline{m} , 0,92 , (CH₃) ; \underline{s} , 1,25 , (CH₂)₁₁ ; \underline{m} , 2,20 ,
2 H en α de O-C-O ; \underline{s} , 6,0 , O-CH₂-O₁ ; \underline{m} , 6,7 ,
3 H - Ar

Spectre de masse : M⁺ 348 de formule C₂₁H₃₂O₄ et les ions de m/e
correspondants : 228 (1,3 %) , 211 (M-137 , 0,51 %) ,
199 (0,4 %) , 185 (1,6 %) , 171 (0,8 %) , 157 (1,2 %) , 149 (0,4 %) ,
143 (1,2 %) , 139 (3,0 %) , 138 (13,6 %) , 137 (1,5 %) , 129 (3,21 %) ,
115 (1,2 %) , 101 (1,39 %) , 85 (2 %) , 73 (6,3 %) , 71 (4,4 %) ,
69 (3,78 %) , 60 (6,8 %) , 57 (8,19 %) , 55 (5,6 %) , 43 (4,4 %) ,
41 (7,3 %) .

Chromatographie gazeuse : laurate 2,65 % ; ester C₁₃ 0,12 % ; myristate
96,8 % ; ester C₁₅ 0,11 % ; palmitate 0,20 % .

1.2.3.4 Palmitate de sésamol

L'ester est purifié par cristallisation de l'ether de pétrole 40-60

F = 45°C , $[\alpha]_D = 0$, n = 1,4755

Spectre U.V. : λ max 238 nm log. ϵ 2,55 , λ max 288 nm log. ϵ 2,52

Spectre I.R. : ν 1775 cm^{-1} Ar-O-C=O , ν 1170 cm^{-1} et 1130 cm^{-1} C-O-C , ν 850 et 814 cm^{-1} benzène trisubstitué , ν 720 cm^{-1} $(\text{CH}_2)_4$.

Spectre R.M.N. : \underline{m} , 0,92 (CH_3) , \underline{s} , 1,25 $(\text{CH}_2)_x$, \underline{m} , 2,20 2H en α de O-C=O ,
 \underline{s} , 6,0 O-CH₂-O , \underline{m} , 6,7 3H-Ar .

Spectre de masse : M^+ 376 confirme la formule $\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{O}_4$ et les ions de m/e
correspondants : 239 (M-137, 0,19 %) , 180 (0,48 %) ,

149 (0,48 %) , 139 (9,3 %) , 138 (38,7 %) , 137 (3,76 %) , 109 (2,13 %) ,
79 (0,58 %) , 71 (1,9 %) , 69 (2 %) , 57 (5,13 %) , 55 (3,8 %) , 43 (7,5 %) ,
41 (5,04 %) .

Chromatographie gazeuse : laurate 0,12 % ; myristate 0,38 % ; ester C_{15} 0,26 % ;
palmitate 98,24 % ; ester C_{17} 0,17 % ; stéarate 0,74 % .

1.2.3.5 Stéarate de sésamol

L'ester est purifié par cristallisation de l'ether de pétrole 40°-60° ,

F = 52,5°C $[\alpha]_D = 0$, n = 1,4748

Spectre U.V. : λ max 238 nm log. ϵ 2,55 , λ max 288 nm log. ϵ 2,52

Spectre I.R. : ν 1775 cm^{-1} Ar-O-C=O , ν 1170 cm^{-1} et 1130 cm^{-1} C-O-C ,
 ν 850 cm^{-1} et 814 cm^{-1} benzène trisubstitué , ν 720 cm^{-1} $(\text{CH}_2)_4$.

Spectre R.M.N. : \underline{m} , 0,92 (CH_3) , \underline{s} , 1,25 $(\text{CH}_2)_x$, \underline{m} , 2,20 , 2H ou α de O-C=O
 \underline{s} , 6 O-CH₂-O , \underline{m} , 6,7 , 3H-Ar .

Spectre de masse : M^+ 404 - confirme la formule $\text{C}_{25}\text{H}_{40}\text{O}_4$ et les ions de m/e
correspondants : 312 (0,34 %) , 283 (0,11 %) , 269 (0,12 %) ,

267 (M-137 , 0,34 %) , 241 (0,11 %) , 227 (0,11 %) , 213 (0,34 %) , 199 (0,23%) ,
185 (0,23 %) , 171 (0,28 %) , 157 (0,85 %) , 143 (0,28%) , 139 (4,7 %) ,
138 (39 %) , 137 (2 %) , 129 (0,4 %) , 115 (0,68 %) , 109 (1,13 %) , 101 (2,9%) ,
89 (1,19 %) , 88 (5,6 %) , 73 (1,13) , 71 (1,81%) , 70 (1,13%) , 69 (2,21%) ,
60 (0,68 %) , 57 (3,6 %) , 55 (3,4%) , 43 (5,3 %) , 41 (3,6 %) .

Chromatographie gazeuse : myristate 0,40 % ; palmitate 1,11 % ; ester C_{17}
0,08 % ; stéarate 97,9 % ; arachidate 0,13 % .

1.3 Etude comparative de l'ensemble des propriétés.

Ces esters sont des homologues ; en effet ils se différencient entre eux par un ou plusieurs méthylènes.

L'examen du point de fusion, de l'indice de réfraction et du spectre de masse caractérisent parfaitement ces différences.

Les points de fusion du laurate au stéarate de sésamol s'établissent comme suit :

$$30,5^{\circ} - 37,5^{\circ} - 45^{\circ} - 52,5^{\circ} - \Delta T 7,5^{\circ}C$$

Le décanoate ou caprate de sésamol est liquide et a un point d'ébullition sous vide de 0,01 mm de 200°C.

Les indices de réfraction s'établissent comme suit du décanoate au stéarate de sésamol :

$$1,4823 - 1,4795 - 1,4773 - 1,4755 - 1,4748$$

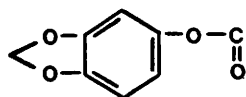
Les spectre de masse caractérisent sans ambiguïté les esters, d'abord par la masse moléculaire, M^{+} , et ensuite par les fragments ioniques :

M^{+} masse moléculaire : l'ion à $m/e = (M-137)$ dû à la perte de sésamol.

La relation suivante $[R-COO/R'] \xrightarrow{+e} [R-COOH]^{+e} + [R'-H]$ donne la suite d'ions à m/e $HO-C=O - (CH_2)_n$ +. lorsque $n = 1, 2, 3, \text{etc...}$, soit les ions m/e 59, 73, 101, 115, 129, 143, 157, 171, 185, 199, 213, 227, 241, 255, 269, . Les ions à m/e 138 ($M_s^{+e} = \text{masse de sésamol}$) m/e 137 ($M_s^{+e} - 1$), m/e 69 (M_s^{2+}).

Les spectres de masse du laurate et du palmitate de sésamol que nous avons effectués, n'ont pas donné tous les fragments ioniques semblables aux autres. Cependant il n'y a aucune difficulté pour identifier ces esters.

Par contre, l'examen comparatif des spectres U.V. - I.R. - R.M.N. confirme leur appartenance à la même série. En effet, les spectres U.V. montrent un spectre d'absorption identique pour tous les esters, présentant deux maxima dans la région de l'ultraviolet et caractéristique d'une même fonction chromophore.



$$\lambda \text{ max } 238 \text{ log. } \xi 2,55 \text{ et } \lambda \text{ max } 288 \text{ nm log. } \xi 2,52.$$

Les spectres I.R. sont identiques, ils montrent une forte bande d'un ester aromatique à $\nu 1775 \text{ cm}^{-1}$, deux fortes bandes de la fonction C-O-C appartenant au méthylènedioxy à $\nu 1170 \text{ cm}^{-1}$ et à $\nu 1130 \text{ cm}^{-1}$ pour la fonction ester, deux bandes à $\nu 850 \text{ cm}^{-1}$ et 814 cm^{-1} d'un benzène trisubstitué et une bande à $\nu 720 \text{ cm}^{-1}$ de méthylènes aliphatiques.- Il faut noter que les

faibles différences dans la région des vibrations des méthylènes n'ont pas retenu notre attention.

Les spectres R.M.N. sont identiques, ils montrent un multiplet à 0,92 du méthyle, un singulet à 1,25 des méthylènes de la chaîne aliphatique, un multiplet à 2,20 de 2 protons en α de O-C=O, un singulet à 6 du méthylène-dioxy et un multiplet à 6,7 dû à 3 protons aromatiques. Ces spectres sont identiques ; cependant l'intégration du singulet à 1,25 pourrait différencier les esters les uns des autres.

4.1.4. Contrôle de la pureté.

Si les produits sont purs, la vérification de l'ensemble des propriétés sera assurée.

Les spectres I.R., R.M.N. et surtout de masse les caractériseront sans discussion possible.

S'il s'agit de produits commerciaux, certaines propriétés vont refléter dans une mesure variable les taux d'impureté. On aura le choix entre plusieurs méthodes pratiques de dosage du sésamol estérifié dans un produit commercial. Pour l'identification et la détermination du taux des impuretés organiques, la chromatographie gazeuse s'imposera.- Ce problème sera développé dans la deuxième partie de cette étude.

TABLE DES MATIERES

	<u>Page</u>
Introduction	1
1. Mise au point des traceurs	2
1.1. Synthèse des esters de sésamol	2
1.1.1. Produits de base	2
1.1.1.1. Le sésamol	2
1.1.1.2. Les acides gras	2
1.1.2. Estérification	3
1.1.2.1. Principe	3
1.1.2.2. Purification et rendement (Brevet)	3
1.1.3. Economie	3
1.2. Etude des produits de synthèse	4
1.3. Contrôle de la pureté	5
2. Application des traceurs au "marquage" de la matière grasse butyrique	6
2.1. Contrôle de la pureté des esters de sésamol commerciaux	6
2.1.1. Contrôle succinct basé sur la vérification rapide de certaines propriétés physiques et chimiques	6
2.1.2. Contrôle basé sur l'analyse spectroscopique	6
2.1.2.1. Spectroscopie d'absorption dans l'U.V.	6
a) Courbe d'absorption dans l'U.V.	6
b) Méthode de dosage	8
1) Principe	8
2) Réactifs	8
3) Mode opératoire	8
4) Expression des résultats selon le taux d'esters	9
5) Champs d'application	9
2.1.2.2. Spectroscopie d'absorption à 518 nm	9
a) Courbe d'absorption dans le visible du produit de la réaction de Villavecchia	9
b) Méthode de dosage	11
1) Principe	11
2) Réactifs	11
3) Mode opératoire	11
4) Expression des résultats selon le taux d'esters	13
5) Champs d'application	13

2.1.3. Contrôle de la pureté spécifique basé sur l'analyse en chromatographie gazeuse	14
2.1.3.1. Objet	14
2.1.3.2. Méthode analytique	14
2.1.3.3. Résultats	18
2.1.3.4. Signification des résultats et conclusions	19
2.2. Contrôle de la présence des traceurs dans la matière grasse butyrique	20
2.2.1. Méthode de mise en évidence du sésamol estérifié dans un corps gras	20
2.2.1.1. Elaboration d'un test	20
2.2.1.2. Test de la présence d'un ester de sésamol dans un corps gras	21
a) Principe	21
b) Réactifs	21
c) Mode opératoire	21
d) Interprétation et signification des résultats	22
2.2.2. Méthode de dosage du sésamol estérifié dans un corps gras	22
2.2.2.1. Elaboration d'une méthode de dosage	22
2.2.2.2. Méthode de dosage	23
a) Principe	23
b) Réactifs	23
c) Mode opératoire	23
1) Préparation de l'échantillon	23
2) Courbe d'étalonnage	24
3) Interprétation et signification des résultats	25
2.3. Choix du type et du taux d'ester pouvant être utilisé comme traceur de la matière grasse butyrique	26
2.3.1. Choix du type d'ester	26
2.3.2. Choix du taux d'ester	27
2.4. Effet des processus industriels de raffinage des corps gras	27
2.4.1. Effet du chauffage	27
2.4.2. Effet de la neutralisation et des lavages par des solutions alcalines ou acides	28
2.4.2.1. Effet de la neutralisation	28
2.4.2.2. Effet du lavage par des solutions alcalines relativement concentrées	28
2.4.2.3. Effet du lavage par des solutions acides	29

2.4.3. Effet de la décoloration	29
2.4.3.1. Expérimentation	29
2.4.3.2. Résultats	30
2.4.3.3. Conclusions	31
2.4.4. Effets de la désodorisation à la vapeur sous vide poussé"	31
2.4.4.1. Désodorisation sous vide au laboratoire	32
a) Technique	32
b) Essais	33
c) Résultats et effets de la désodorisation	33
d) Interprétation et signification des résultats	34
2.4.5. Stabilité des traceurs en fonction de la conservation de la graisse tracée	34
2.5. Techniques expérimentales d'élimination des traceurs des corps gras	35
2.5.1. Elaboration d'une méthode	35
2.5.2. Méthode expérimentale	35
2.5.2.1. Principe	35
2.5.2.2. Technique	35
2.5.2.3. Résultats	36
2.5.2.4. Interprétation et signification des résultats	36
2.5.2.5. Conclusions	37
2.6. Essais biochimiques par voie enzymatique	38
2.6.1. Objet	38
2.6.2. Méthode expérimentale d'hydrolyse des esters de sésamol et des triglycérides par la lipase pancréatique	39
2.6.2.1. Principe	39
2.6.2.2. Réactifs	39
2.6.2.3. Appareillage	40
2.6.2.4. Mode opératoire	40
a) Lipolyse	40
b) Contrôle de la lipolyse	40
1) Dosage du sésamol libre	40
2) Chromatographie sur couche mince	41
2.6.2.5. Résultats	41
a) Dosage du sésamol libre	41
b) Chromatographie sur couche mince de gel de silice	42
2.6.2.6. Interprétation et signification des résultats	42
2.6.3. Conclusions	42

3. Synthèse et conclusions générales	44
3.1. Synthèse	44
3.1.1. Mise au point des traceurs	44
3.1.2. Le " marquage " de la matière grasse butyrique.	44
3.2. Conclusions générales	45
3.2.1. Le problème de la synthèse	45
3.2.2. Le problème du "marquage"	45
a) aspect analytique	45
b) aspect biologique	46
c) aspect économique	46
4. Addendum	48
4.1. Partie expérimentale	48
4.1.1. Chlorures d'acides gras	49
4.1.2. Synthèse des esters	49
4.1.2.1. Décanoate ou caprate de sésamol	49
4.1.2.2. Laurate de sésamol	49
4.1.2.3. Myristate de sésamol	50
4.1.2.4. Palmitate de sésamol	51
4.1.2.5. Stéarate de sésamol	51
4.1.3. Etude comparative de l'ensemble des propriétés	52
4.1.4. Contrôle de la pureté	53
Table des matières	54

Gembloux, le 15 mai 1974

Informations internes sur L'AGRICULTURE

		Date	Langues
N° 1	Le boisement des terres marginales	juin 1964	F ⁽¹⁾ D ⁽¹⁾
N° 2	Répercussions à court terme d'un alignement du prix des céréales dans la CEE en ce qui concerne l'évolution de la production de viande de porc, d'œufs et de viande de volaille	juillet 1964	F ⁽¹⁾ D ⁽¹⁾
N° 3	Le marché de poissons frais en république fédérale d'Allemagne et aux Pays-Bas et les facteurs qui interviennent dans la formation du prix du hareng frais	mars 1965	F ⁽¹⁾ D ⁽¹⁾
N° 4	Organisation de la production et de la commercialisation du poulet de chair dans les pays de la CEE	mai 1965	F ⁽¹⁾ D ⁽¹⁾
N° 5	Problèmes de la stabilisation du marché du beurre à l'aide de mesures de l'Etat dans les pays de la CEE	juillet 1965	F D
N° 6	Méthode d'échantillonnage appliquée en vue de l'établissement de la statistique belge de la main-d'œuvre agricole	août 1965	F ⁽¹⁾ D ⁽²⁾
N° 7	Comparaison entre les «trends» actuels de production et de consommation et ceux prévus dans l'étude des perspectives «1970» 1. Produits laitiers 2. Viande bovine 3. Céréales	juin 1966	F ⁽¹⁾ D
N° 8	Mesures et problèmes relatifs à la suppression du morcellement de la propriété rurale dans les Etats membres de la CEE	novembre 1965	F ⁽¹⁾ D
N° 9	La limitation de l'offre des produits agricoles au moyen des mesures administratives	janvier 1966	F D
N° 10	Le marché des produits d'œufs dans la CEE	avril 1966	F ⁽¹⁾ D ⁽¹⁾
N° 11	Incidence du développement de l'intégration verticale et horizontale sur les structures de production agricole – Contributions monographiques	avril 1966	F ⁽¹⁾ D
N° 12	Problèmes méthodologiques posés par l'établissement de comparaisons en matière de productivité et de revenu entre exploitations agricoles dans les pays membres de la CEE	août 1966	F ⁽¹⁾ D
N° 13	Les conditions de productivité et la situation des revenus d'exploitations agricoles familiales dans les Etats membres de la CEE	août 1966	F D
N° 14	Situation et tendances des marchés mondiaux des principaux produits agricoles – «bovins – viande bovine»	août 1966	F D
N° 15	Situation et tendances des marchés mondiaux des principaux produits agricoles – «sucre»	février 1967	F D ⁽¹⁾
N° 16	Détermination des erreurs lors des recensements du bétail au moyen de sondages	mars 1967	F ⁽¹⁾ D ⁽³⁾

(1) Epuisé.

(2) La version allemande est parue sous le n° 4/1963 de la série «Informations statistiques» de l'Office statistique des Communautés européennes.

(3) La version allemande est parue sous le n° 2/1966 de la série «Informations statistiques» de l'Office statistique des Communautés européennes.

		Date	Langues
N° 17	Les abattoirs dans la CEE I. Analyse de la situation	juin 1967	F D
N° 18	Les abattoirs dans la CEE II. Contribution à l'analyse des principales conditions de fonctionnement	octobre 1967	F D
N° 19	Situation et tendances des marchés mondiaux des principaux produits agricoles – « produits laitiers »	octobre 1967	F D ⁽¹⁾
N° 20	Les tendances d'évolution des structures des exploitations agricoles – Causes et motifs d'abandon et de restructuration	décembre 1967	F D
N° 21	Accès à l'exploitation agricole	décembre 1967	F D
N° 22	L'agrumiculture dans les pays du bassin méditerranéen – Production, commerce, débouchés	décembre 1967	F D
N° 23	La production de produits animaux dans des entreprises à grande capacité de la CEE – Partie I	février 1968	F D
N° 24	Situation et tendances des marchés mondiaux des principaux produits agricoles – « céréales »	mars 1968	F D
N° 25	Possibilités d'un service de nouvelles de marchés pour les produits horticoles non-comestibles dans la CEE	avril 1968	F D
N° 26	Données objectives concernant la composition des carcasses de porcs en vue de l'élaboration de coefficients de valeur	mai 1968	F D
N° 27	Régime fiscal des exploitations agricoles et imposition de l'exploitant agricole dans les pays de la CEE	juin 1968	F D
N° 28	Les établissements de stockage de céréales dans la CEE – Partie I	septembre 1968	F D
N° 29	Les établissements de stockage de céréales dans la CEE – Partie II	septembre 1968	F D
N° 30	Incidence du rapport des prix de l'huile de graines et de l'huile d'olive sur la consommation de ces huiles	septembre 1968	F D
N° 31	Points de départ pour une politique agricole internationale	octobre 1968	F D
N° 32	Volume et degré de l'emploi dans la pêche maritime	octobre 1968	F D
N° 33	Concepts et méthodes de comparaison du revenu de la population agricole avec celui d'autres groupes de professions comparables	octobre 1968	F D
N° 34	Structure et évolution de l'industrie de transformation du lait dans la CEE	novembre 1968	F D
N° 35	Possibilités d'introduire un système de gradation pour le blé et l'orge produits dans la CEE	décembre 1968	F D
N° 36	L'utilisation du sucre dans l'alimentation des animaux – Aspects physiologiques, technologiques et économiques	décembre 1968	F D

(¹) Épuisé.

		Date	Langues
N° 37	La production de produits animaux dans des entreprises à grande capacité de la CEE – Partie II	février 1969	F D
N° 38	Examen des possibilités de simplification et d'accélération de certaines opérations administratives de remboursement	mars 1969	F D
N° 39	Evolution régionale de la population active agricole – I : Synthèse	mars 1969	F D
N° 40	Evolution régionale de la population active agricole – II : R.F. d'Allemagne	mars 1969	F D
N° 41	Evolution régionale de la population active agricole – III : Bénélux	avril 1969	F D
N° 42	Evolution régionale de la population active agricole – IV : France	mai 1969	F
N° 43	Evolution régionale de la population active agricole – V : Italie	mai 1969	F D
N° 44	Evolution de la productivité de l'agriculture dans la CEE	juin 1969	F D
N° 45	Situation socio-économique et perspectives de développement d'une région agricole déshéritée et à déficiences structurelles – Etude méthodologique de trois localités siciliennes de montagne	juin 1969	F I ⁽¹⁾
N° 46	La consommation du vin et les facteurs qui la déterminent I. R.F. d'Allemagne	juin 1969	F D
N° 47	La formation de prix du hareng frais dans la Communauté économique européenne	août 1969	F D
N° 48	Prévisions agricoles – I : Méthodes, techniques et modèles	septembre 1969	F D
N° 49	L'industrie de conservation et de transformation de fruits et légumes dans la CEE	octobre 1969	F D
N° 50	Le lin textile dans la CEE	novembre 1969	F D
N° 51	Conditions de commercialisation et de formation des prix des vins de consommation courante au niveau de la première vente – Synthèse, R.F. d'Allemagne, G.D. de Luxembourg	décembre 1969	F D
N° 52	Conditions de commercialisation et de formation des prix des vins de consommation courante au niveau de la première vente – France, Italie	décembre 1969	F D
N° 53	Incidences économiques de certains types d'investissements structurels en agriculture – Remembrement, irrigation	décembre 1969	F
N° 54	Les équipements pour la commercialisation des fruits et légumes frais dans la CEE – Synthèse, Belgique et G.D. de Luxembourg, Pays-Bas, France	janvier 1970	F

(¹) Cette étude n'est pas disponible en langue allemande.

		Date	Langues
N° 55	Les équipements pour la commercialisation des fruits et légumes frais dans la CEE – R.F. d'Allemagne, Italie	janvier 1970	F
N° 56	Agriculture et politique agricole de quelques pays de l'Europe occidentale I. Autriche	mars 1970	F D
N° 57	Agriculture et politique agricole de quelques pays de l'Europe occidentale II. Danemark	avril 1970	F D
N° 58	Agriculture et politique agricole de quelques pays de l'Europe occidentale III. Norvège	avril 1970	F D
N° 59	Constatation des cours des vins de table à la production I. France et R.F. d'Allemagne	mai 1970	F D
N° 60	Orientation de la production communautaire de viande bovine	juin 1970	F D en prép.
N° 61	Evolution et prévisions de la population active agricole	septembre 1970	F D
N° 62	Enseignements à tirer en agriculture d'expérience des «Revolving funds»	octobre 1970	F D
N° 63	Prévisions agricoles II. Possibilités d'utilisations de certains modèles, méthodes et techniques dans la Communauté	octobre 1970	F D
N° 64	Agriculture et politique agricole de quelques pays de l'Europe occidentale IV. Suède	novembre 1970	F D
N° 65	Les besoins en cadres dans les activités agricoles et connexes à l'agriculture	décembre 1970	F D
N° 66	Agriculture et politique agricole de quelques pays de l'Europe occidentale V. Royaume-Uni	décembre 1970	F D
N° 67	Agriculture et politique agricole de quelques pays de l'Europe occidentale VI. Suisse	décembre 1970	F D
N° 68	Formes de coopération dans le secteur de la pêche I. Synthèse, R.F. d'Allemagne, Italie	décembre 1970	F D
N° 69	Formes de coopération dans le secteur de la pêche II. France, Belgique, Pays-Bas	décembre 1970	F D
N° 70	Comparaison entre le soutien accordé à l'agriculture aux Etats-Unis et dans la Communauté	janvier 1971	F D
N° 71	Agriculture et politique agricole de quelques pays de l'Europe occidentale VII. Portugal	février 1971	F D
N° 72	Possibilités et conditions de développement des systèmes de production agricole extensifs dans la CEE	avril 1971	F D
N° 73	Agriculture et politique agricole de quelques pays de l'Europe occidentale VIII. Irlande	mai 1971	D

		Date	Langues
N° 74	Recherche sur les additifs pouvant être utilisés comme révélateurs pour la matière grasse butyrique – Partie I	mai 1971	F ⁽¹⁾ D en prép. ⁽¹⁾
N° 75	Constatation de cours des vins de table II. Italie, G.D. de Luxembourg	mai 1971	F D
N° 76	Enquête auprès des consommateurs sur les qualités de riz consommées dans la Communauté	juin 1971	F D I
N° 77	Surfaces agricoles pouvant être mobilisées pour une réforme de structure	août 1971	F D
N° 78	Problèmes des huileries d'olive Contribution à l'étude de leur rationalisation	octobre 1971	F I
N° 79	Gestion économique des bateaux pour la pêche à la sardine – Recherche des conditions optimales – Italie, Côte Méditerranéenne française I. Synthèse	décembre 1971	F I
N° 80	Gestion économique des bateaux pour la pêche à la sardine – Recherche des conditions optimales – Italie, Côte Méditerranéenne française II. Résultats des enquêtes dans les zones de pêche	décembre 1971	F I
N° 81	Le marché foncier et les baux ruraux – Effets des mesures de réforme des structures agricoles I. Italie	janvier 1972	F D
N° 82	Le marché foncier et les baux ruraux – Effets des mesures de réforme des structures agricoles II. R.F. d'Allemagne, France	janvier 1972	F D
N° 83	Dispositions fiscales en matière de coopération et de fusion d'exploitations agricoles I. Belgique, France, G.D. de Luxembourg	février 1972	F
N° 84	Dispositions fiscales en matière de coopération et de fusion d'exploitations agricoles II. R.F. d'Allemagne	février 1972	D
N° 85	Dispositions fiscales en matière de coopération et de fusion d'exploitations agricoles III. Pays-Bas	février 1972	N
N° 86	Agriculture et politique agricole de quelques pays de l'Europe occidentale IX. Finlande	avril 1972	F D
N° 87	Recherche sur les incidences du poids du tubercule sur la floraison du dahlia	mai 1972	F D
N° 88	Le marché foncier et les baux ruraux – Effets des mesures de réforme des structures agricoles III. Pays-Bas	juin 1972	F D
N° 89	Agriculture et politique agricole de quelques pays de l'Europe occidentale X. Aperçu synoptique	septembre 1972	F en prép. D

(1) Etude adressée uniquement sur demande.

	Date	Langues
N° 90 La spéculation ovine	Septembre 1972	F D en prép.
N° 91 Méthodes pour la détermination du taux d'humidité du tabac	Octobre 1972	F D en prép.
N° 92 Recherches sur les révélateurs pouvant être additionnés au lait écrémé en poudre	Octobre 1972	F ⁽¹⁾ D ⁽¹⁾
N° 93 Nouvelles formes de collaboration dans le domaine de la production agricole - I : Italie	Novembre 1972	F D en prép. I
N° 94 Nouvelles formes de collaboration dans le domaine de la production agricole - II : Benelux	Décembre 1972	F D en prép. N
N° 95 Nouvelles formes de collaboration dans le domaine de la production agricole - III : R.F. d'Allemagne	Décembre 1972	F D
N° 96 Recherche sur les additifs pouvant être utilisés comme révélateurs pour la matière grasse butyrique - Partie II	Janvier 1973	F ⁽¹⁾ D ⁽¹⁾
N° 97 Modèles d'analyse d'entreprises de polyculture-élevage bovin - I : Caractéristiques et possibilités d'utilisation	Janvier 1973	F D
N° 98 Dispositions fiscales en matière de coopération et de fusion d'exploitations agricoles - IV : Italie	Janvier 1973	F I
N° 99 La spéculation ovine II. France, Belgique	Février 1973	F D en prép.
N° 100 Agriculture de montagne dans la région alpine de la Communauté I. Bases et suggestions d'une politique de développement	Février 1973	F D I
N° 101 Coûts de construction de bâtiments d'exploitation agricole - Etables pour vaches laitières, veaux et jeunes bovins à l'engrais	Mars 1973	F en prép. D
N° 102 Crédits à l'agriculture I. Belgique, France, G.D. de Luxembourg	Mars 1973	F D
N° 103 La spéculation ovine III. R.F. d'Allemagne, Pays-Bas	Avril 1973	F D en prép.
N° 104 Crédits à l'agriculture II. R.F. d'Allemagne	Avril 1973	F en prép. D
N° 105 Agriculture de montagne dans la région alpine de la Communauté II. France	Mai 1973	F D
N° 106 Intégration verticale et contrats en agriculture I. R.F. d'Allemagne	Juin 1973	F D
N° 107 Agriculture de montagne dans la région alpine de la Communauté III. R.F. d'Allemagne	Juin 1973	F D

(1) Etude adressée uniquement sur demande.

		Date	Langues
N° 108	Projections de la production et de la consommation de produits agricoles - «1977» I. Royaume-Uni	Août 1973	F en prép. D E en prép.
N° 109	Projections de la production et de la consommation de produits agricoles - «1977» II. Danemark, Irlande	Août 1973	F en prép. D E en prép.
N° 110	Nouvelles formes de collaboration dans le domaine de la production agricole IV. Synthèse	Septembre 1973	F D
N° 111	Modèles d'analyse d'entreprises de polyculture-élevage bovin II. Données technico-économiques de base Circonscription Nord-Picardie et région limoneuse du Limbourg belge	Septembre 1973	F D en prép.
N° 112	La consommation du vin et les facteurs qui la déterminent II. Belgique	Septembre 1973	F N
N° 113	Crédits à l'agriculture III. Italie	Octobre 1973	F D en prép. I
N° 114	Dispositions législatives et administratives concernant les résidus dans le lait, les produits laitiers et les aliments pour le cheptel laitier	Octobre 1973	F D
N° 115	Analyse du marché du porcelet dans l'optique d'une stabilisation du mar- ché du porc	Octobre 1973	F en prép. D
N° 116	Besoins de détente en tant que facteurs pour le développement régional et agricole	Novembre 1973	F
N° 117	Projections de la production et de la consommation de produits agricoles - «1977» III. Italie	Décembre 1973	F D en prép.
N° 118	Nouvelles formes de collaboration dans le domaine de la production agricole V. France	Décembre 1973	F D en prép.
N° 119	Intégration verticale et contrats en agriculture II. Italie	Décembre 1973	F E I
N° 120	Projections de la production et de la consommation de produits agricoles - «1977» IV. R.F. d'Allemagne	Janvier 1974	F en prép. D
N° 121	Production laitière dans les exploitations ne disposant pas de ressources fourragères propres suffisantes	Janvier 1974	F D en prép. N
N° 122	Le rôle des ports de la Communauté pour le trafic de céréales et de farines I. Synthèse pour les principaux ports français et italiens	Février 1974	F
N° 123	Le rôle des ports de la Communauté pour le trafic de céréales et de farines II. Monographies pour les principaux ports français de la Manche	Février 1974	F
N° 124	Le rôle des ports de la Communauté pour le trafic de céréales et de farines III. Monographies pour les principaux ports français de l'Atlantique	Février 1974	F

		Date	Langues
N° 125	Le rôle des ports de la Communauté pour le trafic de céréales et de farines IV. Monographies pour les principaux ports français de la Méditerranée	Février 1974	F
N° 126	Le rôle des ports de la Communauté pour le trafic de céréales et de farines V. Monographies pour les principaux ports italiens de la côte Ouest	Février 1974	F
N° 127	Le rôle des ports de la Communauté pour le trafic de céréales et de farines VI. Monographies pour les principaux ports italiens de la côte Est	Février 1974	F
N° 128	Projections de la production et de la consommation de produits agricoles - « 1977 » V. Pays-Bas	Mars 1974	F en prép. D
N° 129	Projections de la production et de la consommation de produits agricoles - « 1977 » V. Résultats pour la Communauté européenne	Avril 1974	F D
N° 130	Utilisation de produits de remplacement dans l'alimentation animale	Mai 1974	F E en prép.
N° 131	Recherche sur les additifs pouvant être utilisés comme révélateurs pour la matière grasse butyrique	Juin 1974	F

