

Détermination de l'origine géographique et de l'authenticité des PAMs par les Spectroscopies FT-IR et Raman

Professeur Moschos Polissiou



Université Agronomique d'Athènes
Laboratoire de Chimie Générale



Aix en Provence 3-2-2015

A1. Détermination de l'origine géographique et de l'authenticité des PAMs par les Spectroscopies FT-IR et Raman

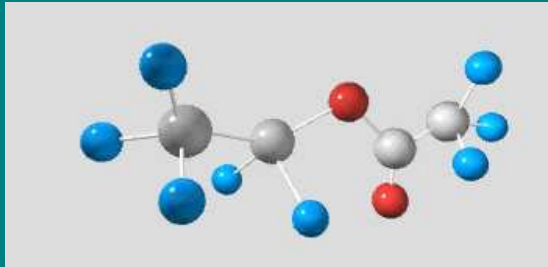
Application des spectroscopies vibrationnelles (A) FT-IR et (B) Raman sur l'analyse des métabolites secondaires des Plantes Aromatiques et Médicinales (PAMs) suivantes:

- *Crocus sativus* L (safran)
- *Pistacia lentiscus* var. Chia (Mastic gomme de Chios)
- *Allium sativum* (Ail)
- *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* (Origan grec)
- *Mentha pulegium* (Menthe pouliot)
- *Thymus vulgaris* (Thym)
- *Origanum dictamnus* (Origan de Crete)
- *Origanum majorana* (Marjolaine)
- *Salvia officinalis* (Sauge)
- *Lavandula angustifolia* (Lavande)

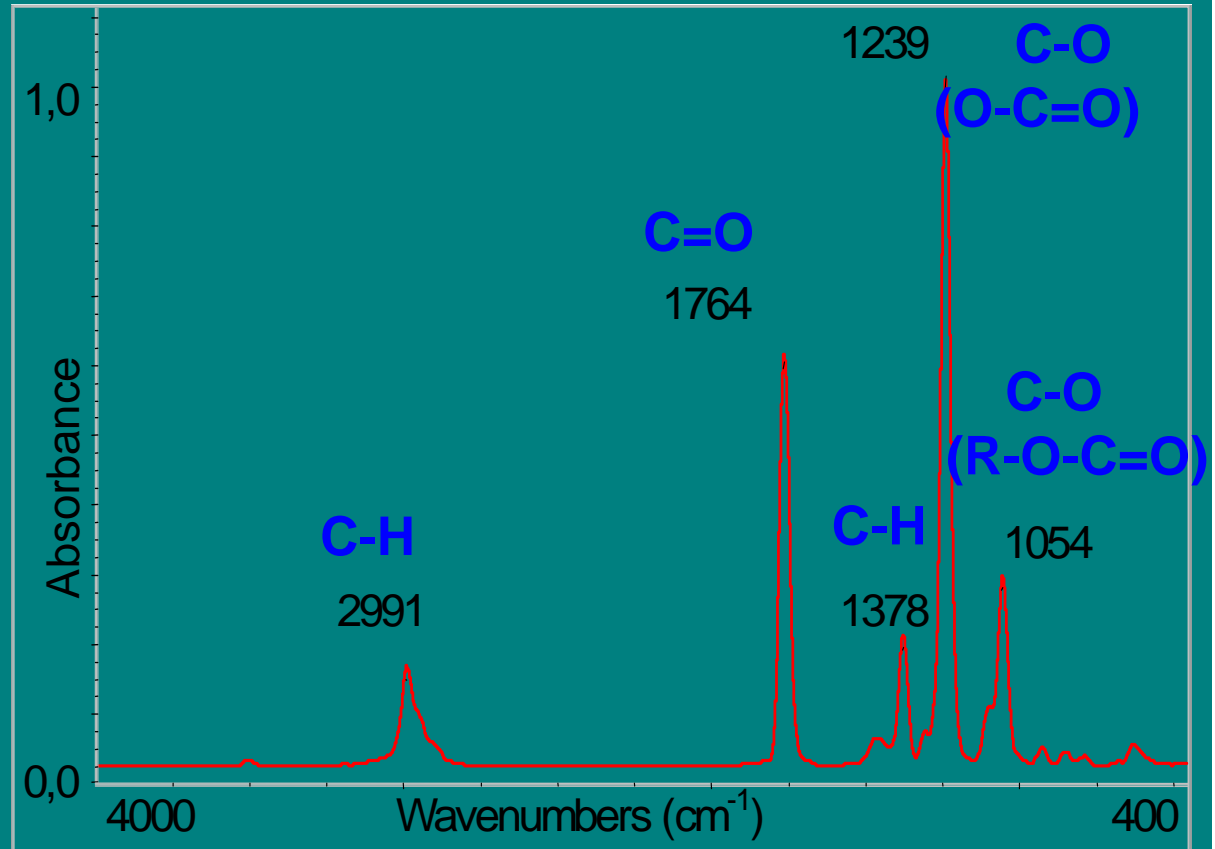


Vibrations Moleculaire

Acetate d'ethyle



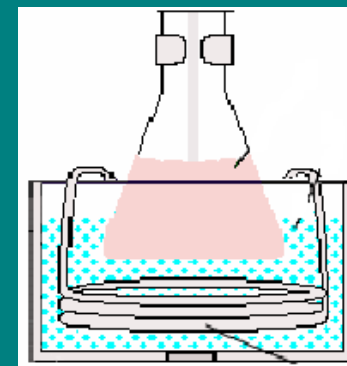
Spectre IR →
Vibrations moleculaire
→ **Groupes**
caracteristiques



A1. Détermination de l'origine géographique et de l'authenticité des PAMs par FT-IR

Procédure d'extraction du matériel des PAMs

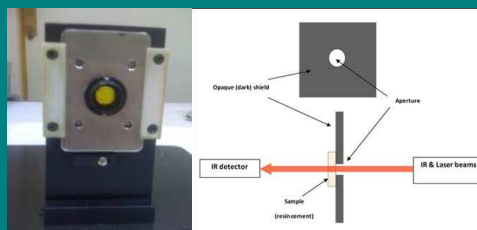
- Bain marie a Ultrasons , fréquence fixer) à 35 KHz.
- T = 25 °C
- 5 g du matériel des PAMs
- 100 mL de diethyl ether
- 1 x 15 min
- Filtration de l'extrait du solvant organique non-polaire
- Concentration jusqu' à 5 mL
- Etude spectroscopique par FT-IR : Les Spectres sont enregistrés en utilisant la technique des fenêtres ZnSe w



Ultrasound Assisted Extraction (USE)



Nicolet 6700 FT-IR Spectrometer



A1. Détermination de l'origine géographique et de l'authenticité des PAMs par FT-IR

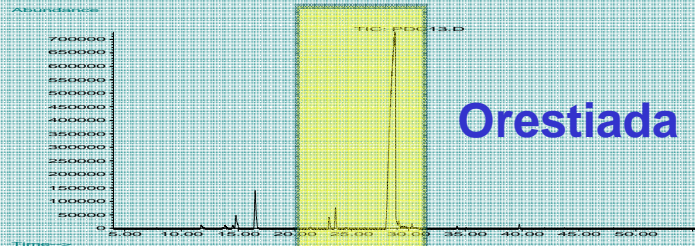
Mentha pulegium (Menthe pouliot)



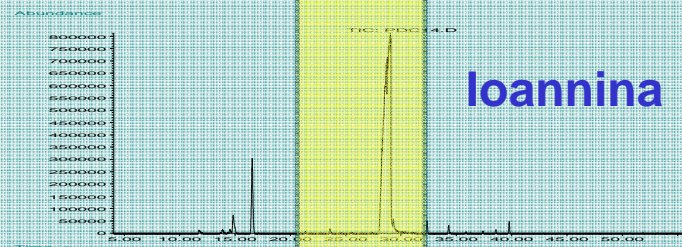
Mentha pulegium
(Pennyroyal)



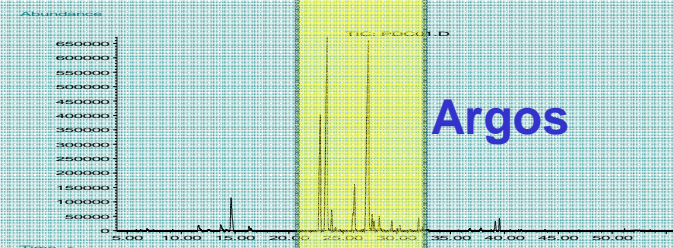
A1. Détermination de l'origine géographique et de l'authenticité des PAMs par FT-IR



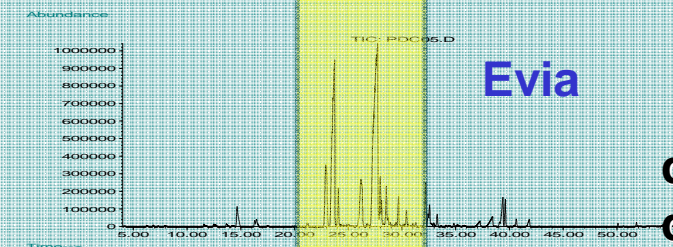
Orestiada



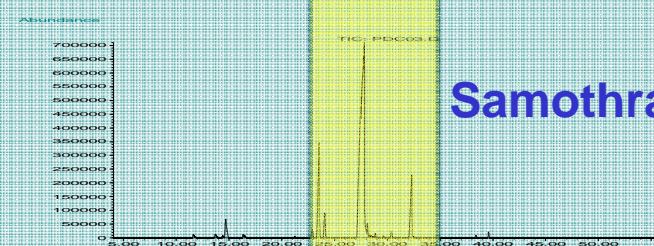
Ioannina



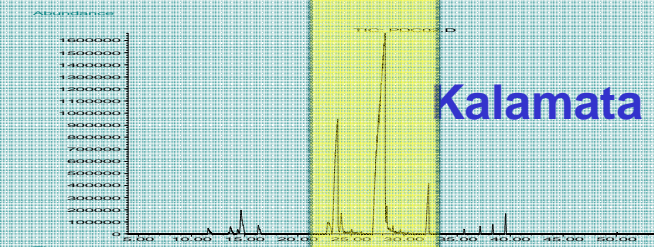
Argos



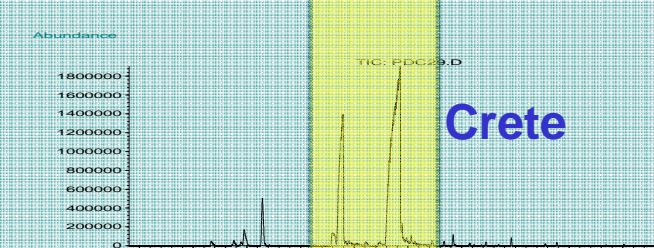
Evia



Samothrace



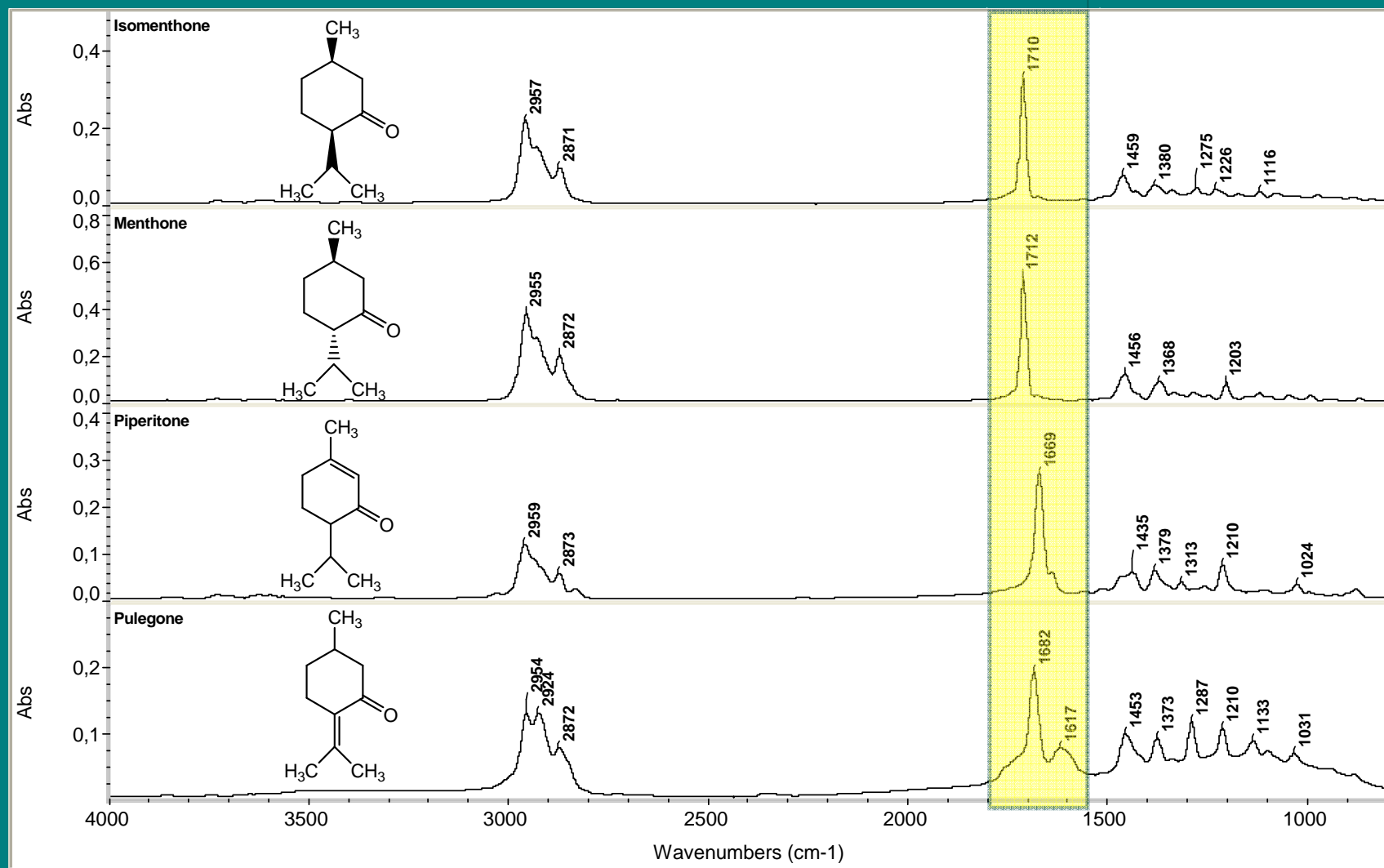
Kalamata



Crete

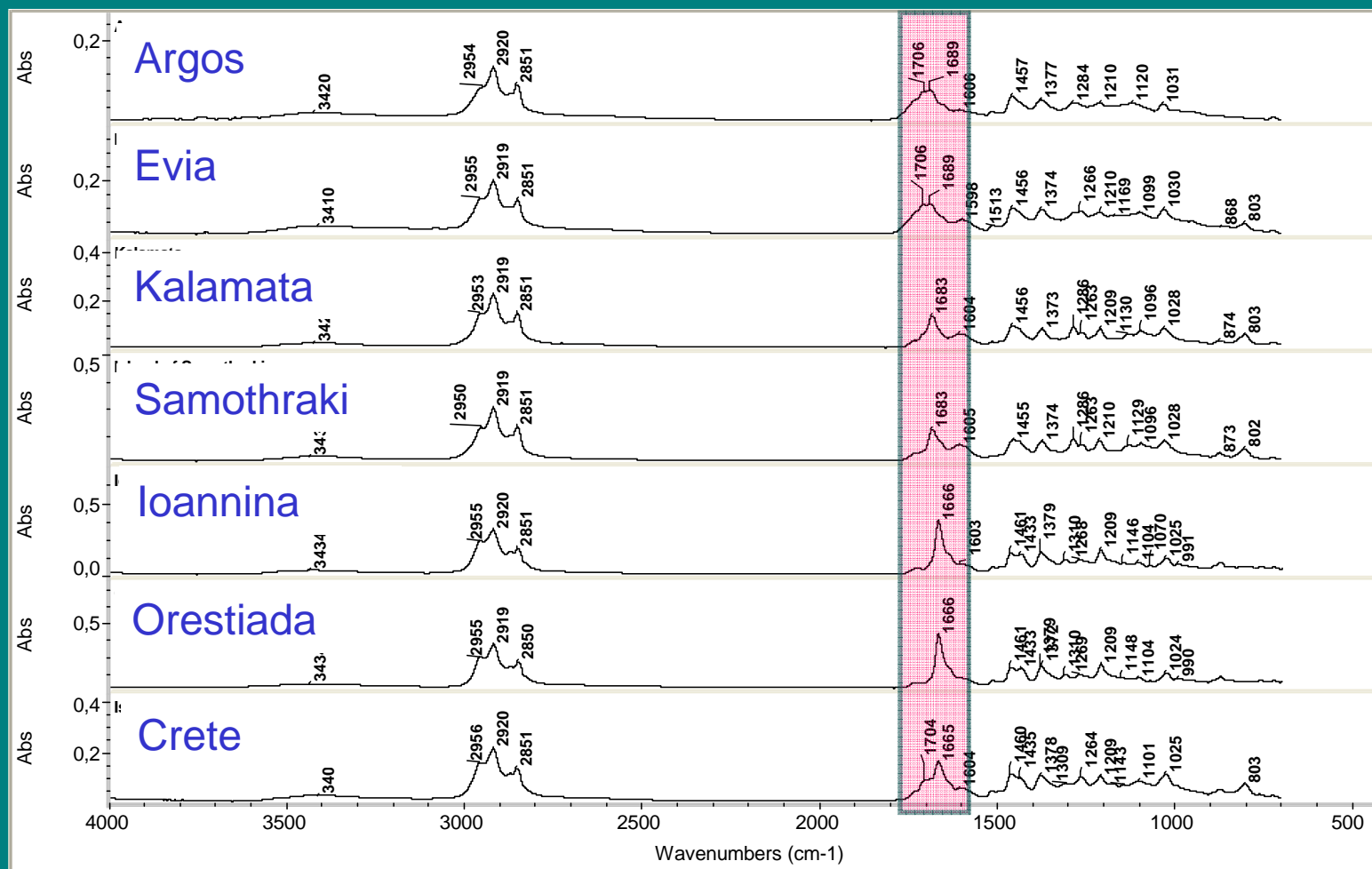
Chromatogrammes caractéristiques des extraits avec un solvant organique de la Menthe pouliot

A1. Spectres FT-IR des composés p-menthane



Prof. Moschos Polissiou, Laboratory of General Chemistry, Agricultural University of Athens, 75 Iera Odos Str., 118 55 Athens, mopol@aua.gr, Tel.: +30-210-529 4241, Fax.: +30-210-529 4265

A1. FT-IR Spectres FT-IR des extraits organiques des échantillons de la Menthe pouliot



A1. Analyse des données FT-IR

Classification

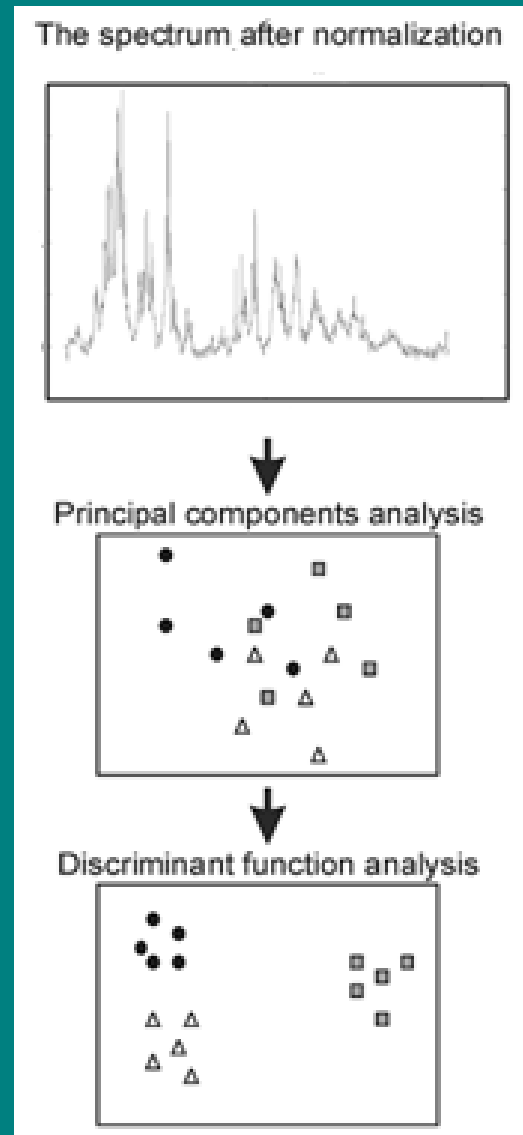
Spectroscopie: Habituellement après extraction ou directement à partir du phytomatériel sans aucun traitement chromatographique on enregistre les spectres

↓

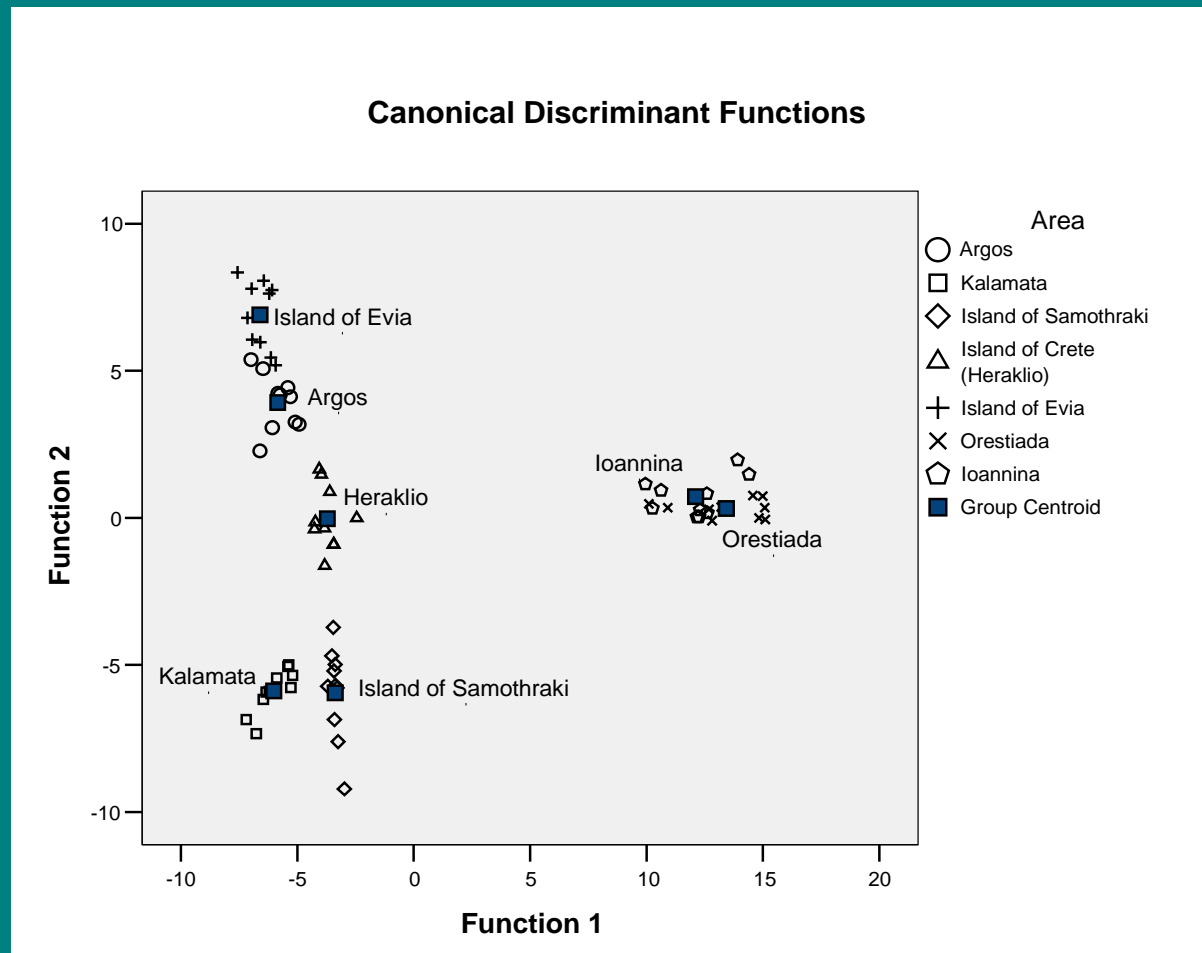
PCA: Principle Components analysis (Analyse des constituants principaux)

↓

DFA: Discriminant Function Analysis (Analyse des fonctions discriminantes)



A1. Extraits de la Menthe pouliot avec un solvant organique volatile-Etude par FT-IR et chimiométrie



Discrimination: 94.3%

Validation: 90.0%

A plot showing the first two discriminant functions obtained from the canonical discriminant analysis in the spectral region $1720-1650\text{ cm}^{-1}$

A1. Détermination de l'origine géographique et de l'authenticité des PAMs par FT-IR

Extraits de *la Menthe pouliot* avec le solvant organique volatile

- Chaque région peut être séparée des autres en utilisant les spectres des extraits par le solvant organique
- Les bandes à 1720, 1701, 1689, 1666 et 1622 cm^{-1} , lesquelles sont attribuées essentiellement au groupe C=O, des composés du *p*-menthane, font la séparation des échantillons entre eux possible.
- Les pourcentages de la classification et de la validation étaient 94.3% et 90.0%, respectivement.

Classification of Greek *Mentha pulegium* L. (Pennyroyal) samples, according to geographical location by Fourier Transform Infrared Spectroscopy.

C.D. Kanakis, E.A. Petrakis, A.C. Kimbaris, C.S. Pappas, P.A. Tarantilis, M.G. Polissiou. *Phytochemical Analysis*, 23, (2012) 34-43.



Prof. Moschos Polissiou, Laboratory of General Chemistry, Agricultural University of Athens, 75 Iera Odos Str., 118 55 Athens, mopol@aua.gr, Tel.: +30-210-529 4241, Fax.: +30-210-529 4265

A2. Détermination quantitative de la pulégone dans l'huile essentielle de la Menthe pouliot (mentha pulegium)

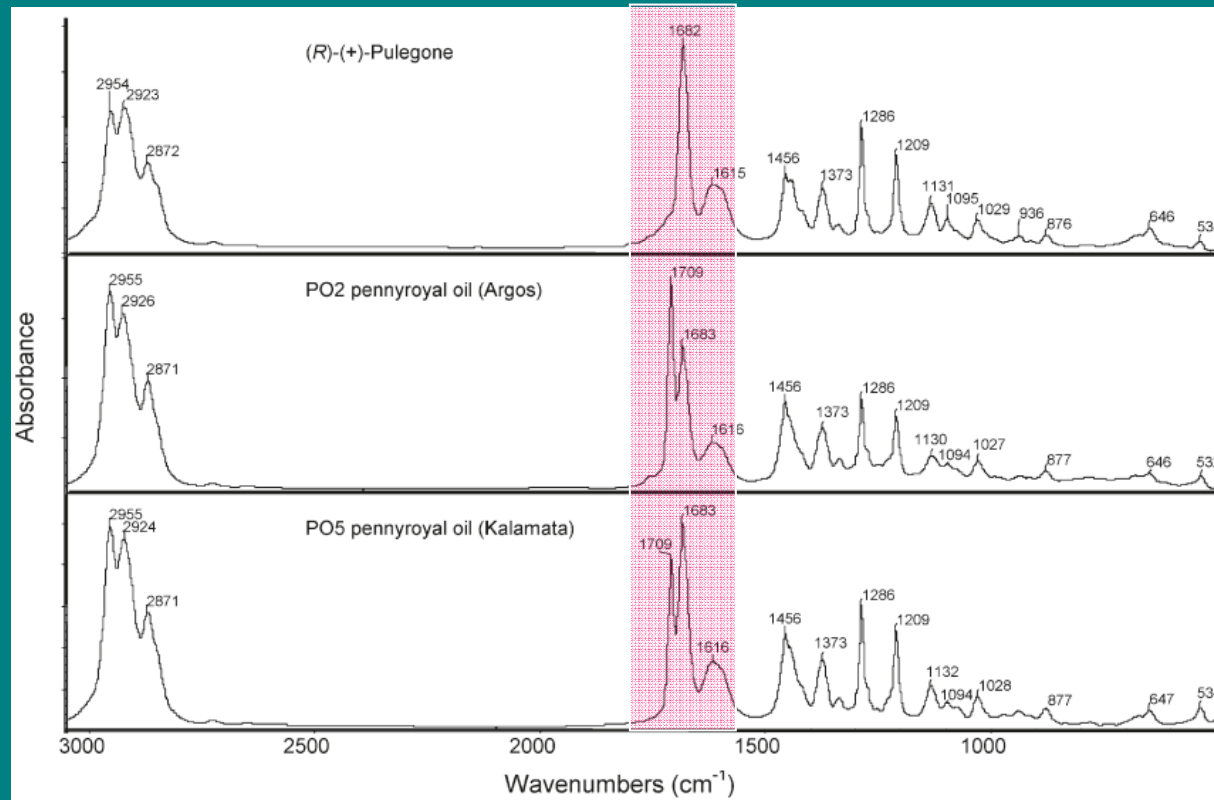
L **objective** de cette étude était de développer une méthode rapide et directe pour quantifier pulégone, ce composé qui caractérise l'huile essentielle de la **mentha pulegium**, en utilisant les spectres FT-IR suivies par un traitement statistique multivariable de chimométrie.

Ces résultats étaient comparés avec ceux obtenus en utilisant la chromatographie gazeuse comme une méthode de référence .

- **Méthode d'analyse de référence, GC-FID**
- **Spectroscopie FT-IR**
- **Chimométrie (PLS, TurboQuant)**



A2. Détermination quantitative de la pulégone dans l'huile essentielle de la *mentha pulegium*



Spectres FT-IR de la pulégone et des huiles essentielles riches en pulégone dans la région spectrale 3050-500 cm⁻¹.



Prof. Moschos Polissiou, Laboratory of General Chemistry, Agricultural University of Athens, 75 Iera Odos Str., 118 55 Athens, mopol@aua.gr, Tel.: +30-210-529 4241, Fax.: +30-210-529 4265

A2. Détermination quantitative de la pulégone dans huile essentielle de la mentha pulegium

Contenu de pulégone (\pm DS) dans les huiles de *mentha pulegium* déterminé par la spectroscopie FT-IR et la méthode de référence GC-FID

sample ^c	pulegone (mg/mL)		F-test ^b	t-test ^b
	GC-FID	FT-IR		
SPO1	157 \pm 4	153 \pm 32	64.0	0.2
SPO2	281 \pm 8	297 \pm 16	4.0	1.3
SPO3	379 \pm 31	381 \pm 42	1.8	0.1
PO1	482 \pm 33	515 \pm 53	2.6	0.7
PO2	516 \pm 28	514 \pm 81	8.4	0.0
PO3	621 \pm 18	613 \pm 9	4.0	0.6
SPO4	686 \pm 22	682 \pm 25	1.3	0.2
PO4	723 \pm 51	708 \pm 37	1.9	0.3
PO5	728 \pm 57	729 \pm 14	16.6	0.0
SPO5	860 \pm 24	823 \pm 22	1.2	1.6

^aThe respective statistical F-test and t-test values are provided.

^bConfidence level: 99%. ^cPO1-PO5: isolated pennyroyal oil samples. SPO1-SPO5: spiked pennyroyal oil samples.



Prof. Moschos Polissiou, Laboratory of General Chemistry, Agricultural University of Athens,
75 Iera Odos Str., 118 55 Athens, mopol@aua.gr, Tel.: +30-210-529 4241, Fax.: +30-210-529 4265

A2. Détermination quantitative de la pulégone dans l'huile essentielle de la mentha pulegium

La technique FT-IR utilisée a prouvé d'être un outil analytique très adéquat pour la détermination rapide et précise de la pulégone dans l'huile de la mentha pulegium.

A la place des méthodes chromatographiques courantes, lesquelles sont plus coûteuses et plus lentes, l'analyse par FT-IR est bien plus prometteuse, avec un entraînement minimal du personnel, une acquisition simple des données et des résultats immédiats.

Quantitative determination of pulegone in pennyroyal oil by FT-IR spectroscopy.

E.A. Petrakis, A.C. Kimbaris, C.S. Pappas, P.A. Tarantilis, M.G. Polissiou.

Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57 (21), (2009) 10044-10048.



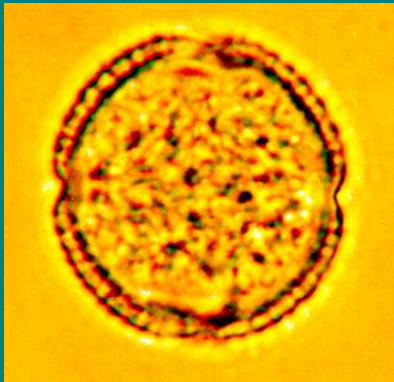
A3. Identification de pollen par spectroscopie FT-IR

Echantillons de pollen : Trois échantillons (triplicata) de pollen étaient collectés pour chaque plante (source de miel) des vingt cas suivants :

1. citron (*Citrus limon*),
2. orange soure (*Citrus aurantium*),
3. mandarine (*Citrus deliciosa*),
4. orange (*Citrus sinensis*),
5. safran (*Crocus sativus*),
6. pin (*Pinus halepensis*),
7. camomille (*Chamomilla recutita*),
8. pavot (*Papaver rhoeas*),
9. Sauge-congé (*Cistus salvifolius*),
10. Pyracantha (*Pyracantha coccinea*),
11. bruyère (*Erica manipuliora*),
12. eucalyptus (*Eucalyptus sp.*),
13. thym (*Corydothymus capitatus*),
14. cist rose (*Cistus incanus*),
15. Melilot jaune (*Melilotus officinalis*),
16. crépis (*Crepis foetida*),
17. chestnut (*Castanea sativa*),
18. cotton (*Gossypium hirsutum*),
19. blé (*Zea mays*), et
20. tournesol (*Helianthus annuus*).

Les échantillons de pollen étaient collectés des différentes régions de Grèce. De chaque triplicata un échantillon des ces plantes était utilisée comme standard et les deux autres comme inconnus .

A3. Identification de pollen par spectroscopie FT-IR



Orange aigre
(*Citrus aurantium*)



b) Mandarine
(*Citrus deliciosa*)



c) Lemon
(*Citrus limon*)



d) Orange
(*Citrus sinensis*)

Ces photographies ont été prises avec un microscope de lumière à 3330.

Comme remarque générale , en regardant les images de l' analyse microscopique ci-dessus , nous pouvons dire qu'il est très difficile de discriminer le pollen des quatre espèces d' agrumes avec le microscope à lumière.

Ainsi, un autre outil est nécessaire pour effectuer sans ambiguïté, l' identification des ces pollens.



A3. Identification de pollen par spectroscopie FT-IR

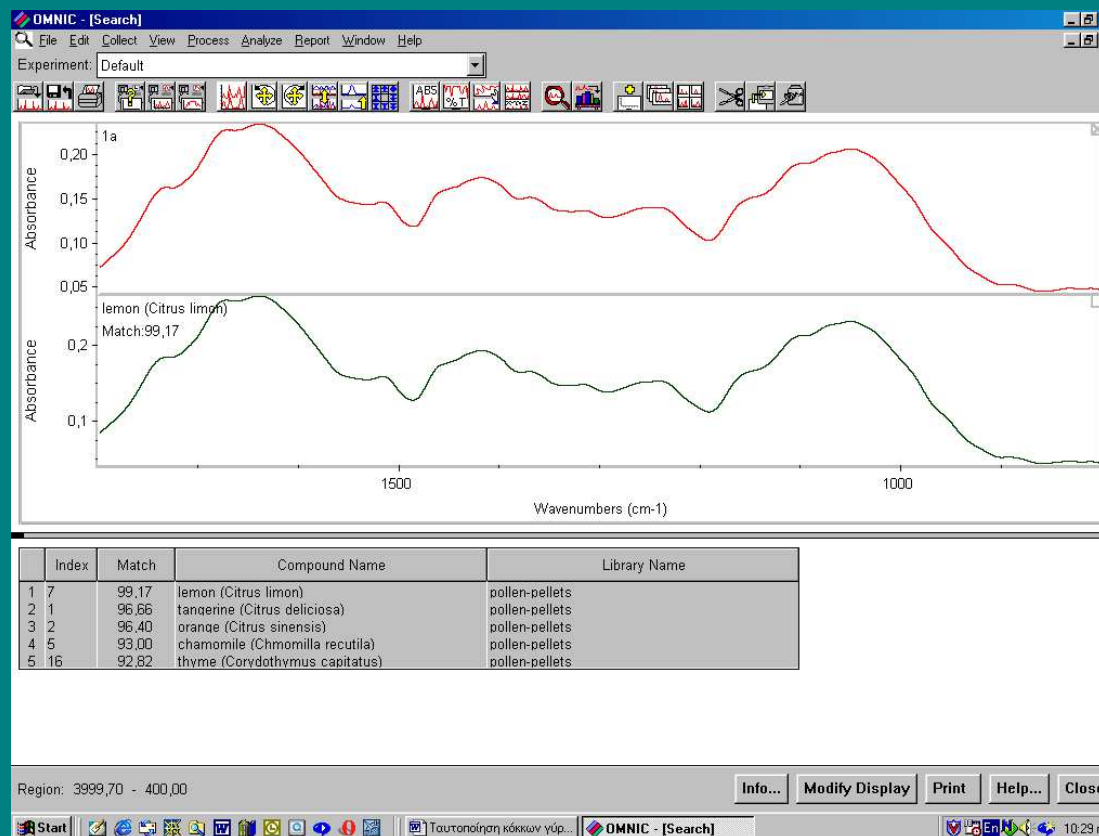
Les spectres FT-IR étaient enregistrés en utilisant les techniques suivantes:

1. **Diffuse reflectance infrared Fourier transform (DRIFT)** and
2. **KBr pellet technique.**

Deux banques des données ont été créées, en utilisant des spectres des échantillons standards.

1. **pollen-DRIFT** and
2. **pollen-pellets,**

En utilisant la fonction “search” sur la région spectroscopique de $1800-800\text{cm}^{-1}$, chaque spectre des échantillons inconnus peut-être comparé avec les spectres des banques des données “**pollen-DRIFT** et **pollen-pellets**”.



Prof. Moschos Polissiou, Laboratory of General Chemistry, Agricultural University of Athens,
75 Iera Odos Str., 118 55 Athens, mopol@aua.gr, Tel.: +30-210-529 4241, Fax.: +30-210-529 4265

A3. Identification de pollen par spectroscopie FT-IR

Dans cette étude , les spectres FT-IR de pollen ont permis de discriminer des espèces très proches appartenant au même genre (agrumes). Cette discrimination ne peut pas être accomplie par l'analyse microscopique.

L' avantage de la technique **DRIFT** est sa rapidite, mais la technique **KBr pellets** enregistre des spectes FT-IR avec un profil plus fin et avec un niveau de coincidence (identification) plus haut .

**New method for pollen identification by FT-IR spectroscopy.
C.S. Pappas, P.A. Tarantilis, P.C. Harizanis, M.G. Polissiou.
Applied Spectroscopy, 57, (1), (2003), 23-27.**



Prof. Moschos Polissiou, Laboratory of General Chemistry, Agricultural University of Athens,
75 Iera Odos Str., 118 55 Athens, mopol@aua.gr, Tel.: +30-210-529 4241, Fax.: +30-210-529 4265

A4. Différenciation du safran des quatre pays producteurs

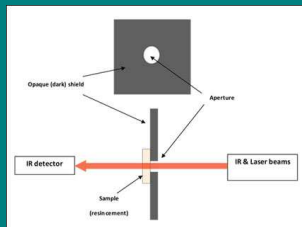
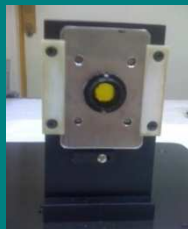
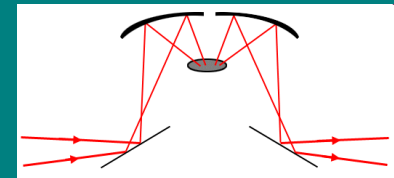
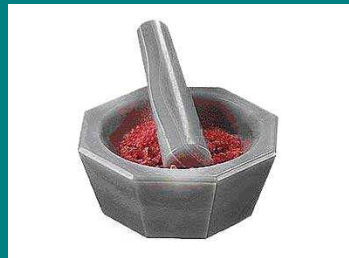
L'objectif de cette étude était d'examiner la possibilité de discriminer le safran qui provient des quatre pays producteurs les plus importants, donc d'Iran, de Grèce, d'Espagne et d'Italie.

Echantillons de safran: 250 échantillons avec leur extraits de solvant organique ont été analysés en utilisant la spectroscopie IR.

Etude spectroscopique FT-IR: les spectres étaient enregistrés en utilisant les techniques

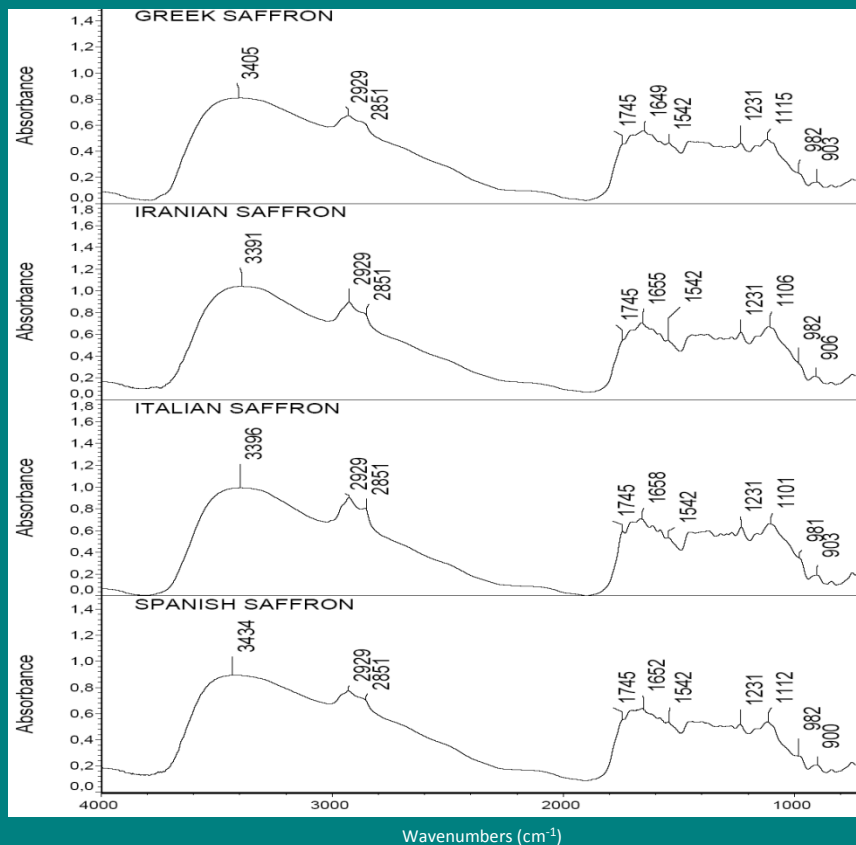
1. DRIFTS et

2. ZnSe



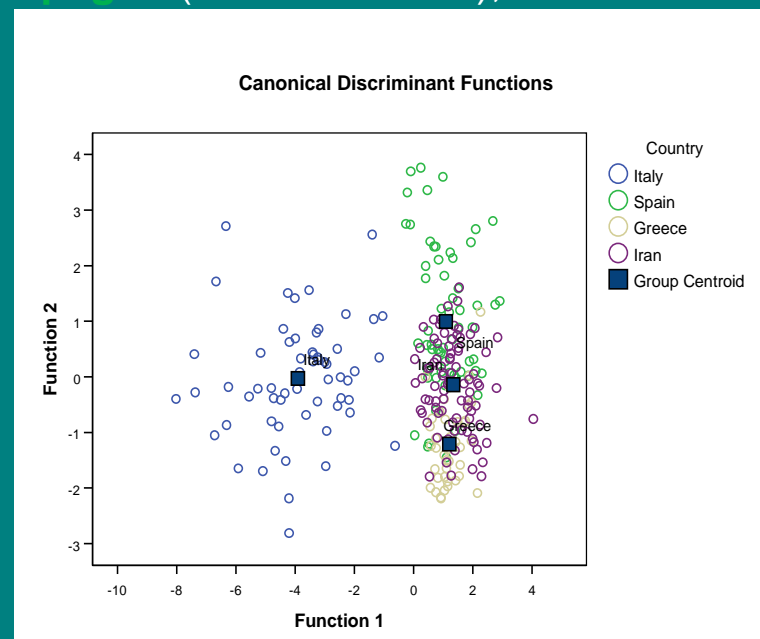
Nicolet 6700 FT-IR Spectrometer

A4. Différenciation du safran des quatre pays producteurs



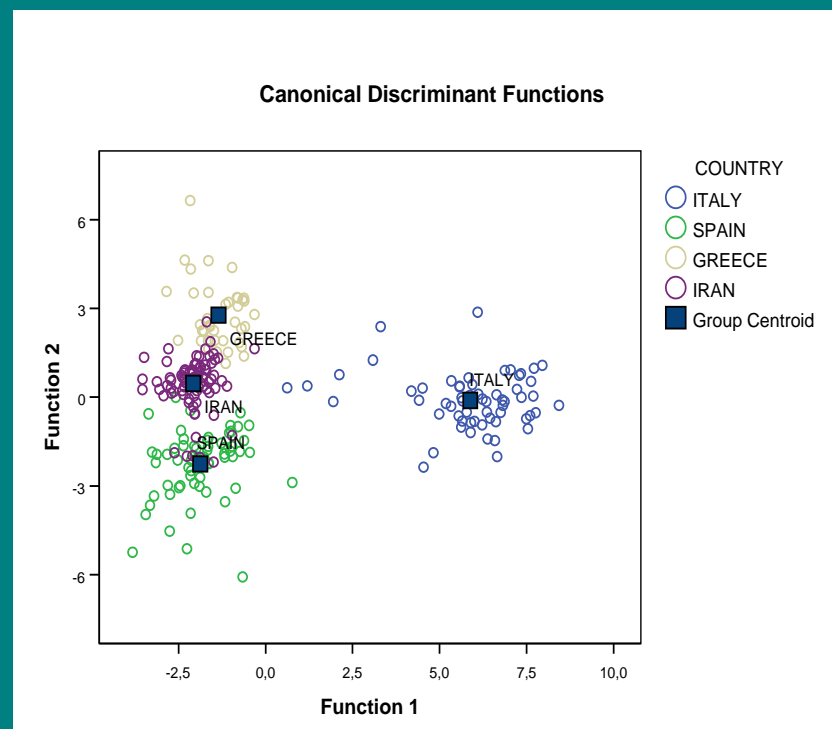
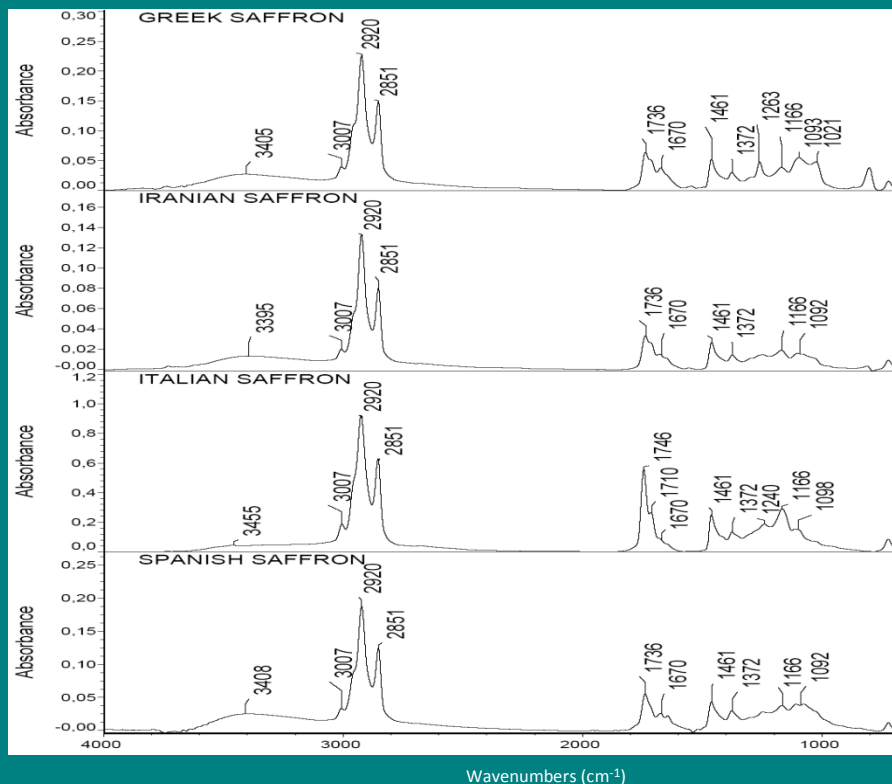
Spectres FT-IR des échantillons (du safran) originaires de : Grèce, Iran, Italie et Espagne

La spectroscopie FT-IR, en combinaison avec une analyse à multivariable de chimiométrie, permet la classification géographique de 250 échantillons de safran : Grèce (40 échantillons), Iran (87 échantillons), Italie (60 échantillons) et Espagne (63 échantillons),



La différence principale entre les échantillons Italiens et ceux des autres trois pays est essentiellement réperée dans la région autour de 1700 cm⁻¹.

A4. Différenciation du safran des quatre pays producteurs



Les spectes FT-IR des extraits avec l'éther des échantillons du safran qui proviennent des pays : Grèce, Iran, Italie et Espagne

La région spectrale autour de 1700 cm⁻¹ et la bande à 1670 cm⁻¹s sont responsable pour la différenciation des échantillons des quatres pays producteurs .

A4. Différenciation du safran des quatre pays producteurs

La spectroscopie infrarouge combinée avec une analyse à multivariable présente un grand potentiel pour vérifier l'origine du pays des échantillons du safran. Les échantillons de chaque pays peuvent facilement être séparés des autres.

La FT-IR peut être utilisée comme une méthode alternative, rapide et à bas prix, pour identifier l'origine du safran.

Cette approche peut être développée pour le contrôle de la qualité, de la falsification possible et de la traçabilité du safran dans le marché mondial.

Differentiation of saffron from four countries by mid-infrared spectroscopy and multivariate analysis

E. Anastasaki, C. Kanakis, C. Pappas, L. Maggi, C. P. del Campo, M. Carmona, G. L. Alonso, M. G. Polissiou
Eur Food Res Technol (2010) 230:571–577



Prof. Moschos Polissiou, Laboratory of General Chemistry, Agricultural University of Athens,
75 Iera Odos Str., 118 55 Athens, mopol@aua.gr, Tel.: +30-210-529 4241, Fax.: +30-210-529 4265

Détermination des PAMs par la Spectroscopie Raman

B: Applications de la spectroscopie FT-Raman et Raman

- 1.** Analyse quantitative du α -pinene et du β -myrcene dans l'huile du mastic gomme par FT-Raman .
- 2.** Caractérisation des huiles essentielles des PAMs “espèces Lamiaceae” par FT-Raman
- 3.** Analyse quantitative des esters de la crocetine (crocines) dans les stigmates (épistyles) du *Crocus sativus* (safran) par Raman.



Détermination des PAMs par la Spectroscopie Raman

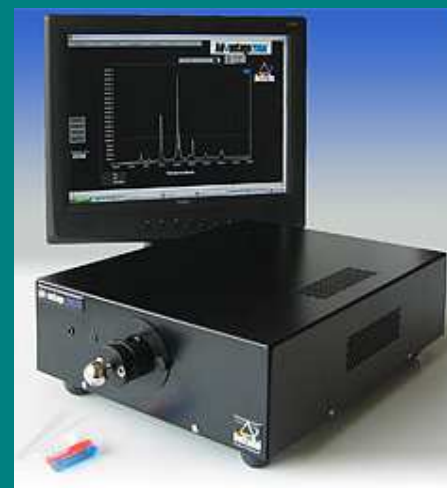
INSTRUMENTATION

Spectromètre FT-Raman



Laser Raman: Source d' Excitation a **1064**
nm

Spectromètre Raman



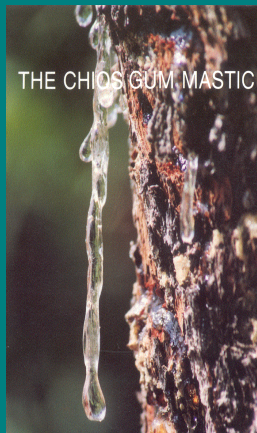
Laser Raman: Source d' Excitation a **785** **nm**



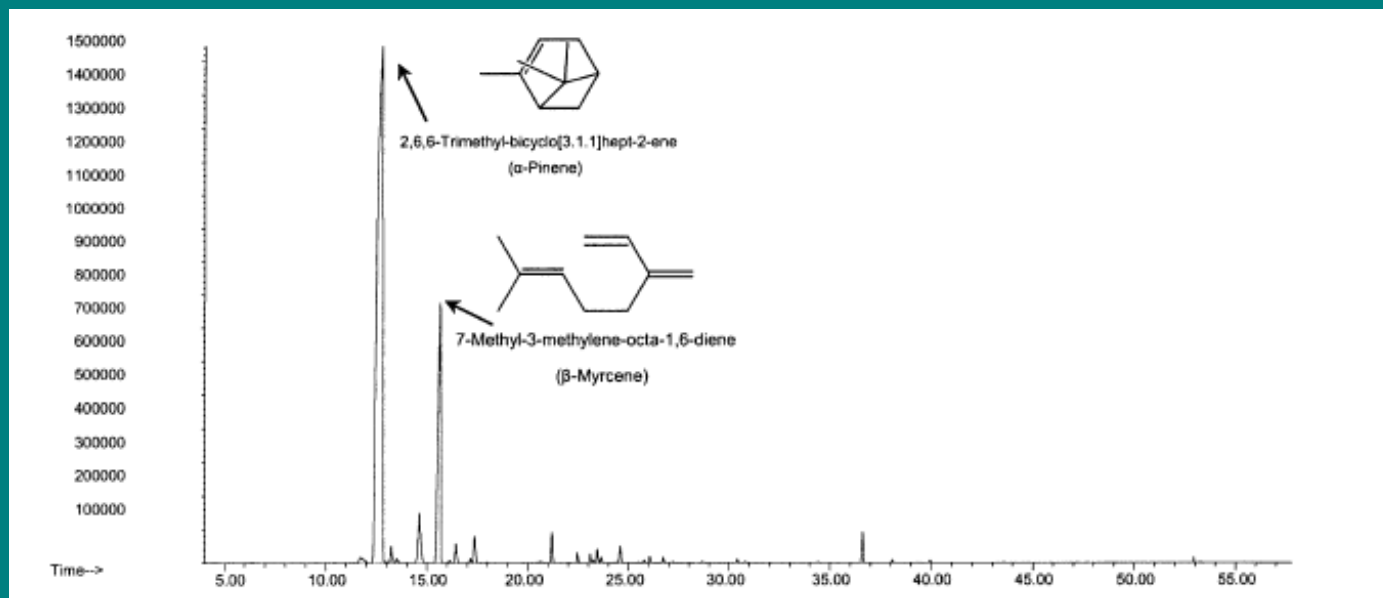
Prof. Moschos Polissiou, Laboratory of General Chemistry, Agricultural University of Athens,
75 Iera Odos Str., 118 55 Athens, mopol@aua.gr, Tel.: +30-210-529 4241, Fax.: +30-210-529 4265

Détermination des PAMs par la Spectroscopie Raman

Processus de la production du mastic gomme de Chios à partir de l'arbre gommier (*Pistacia lentiscus L.*)



Détermination des PAMs par la Spectroscopie Raman



α -pinène 72.1%

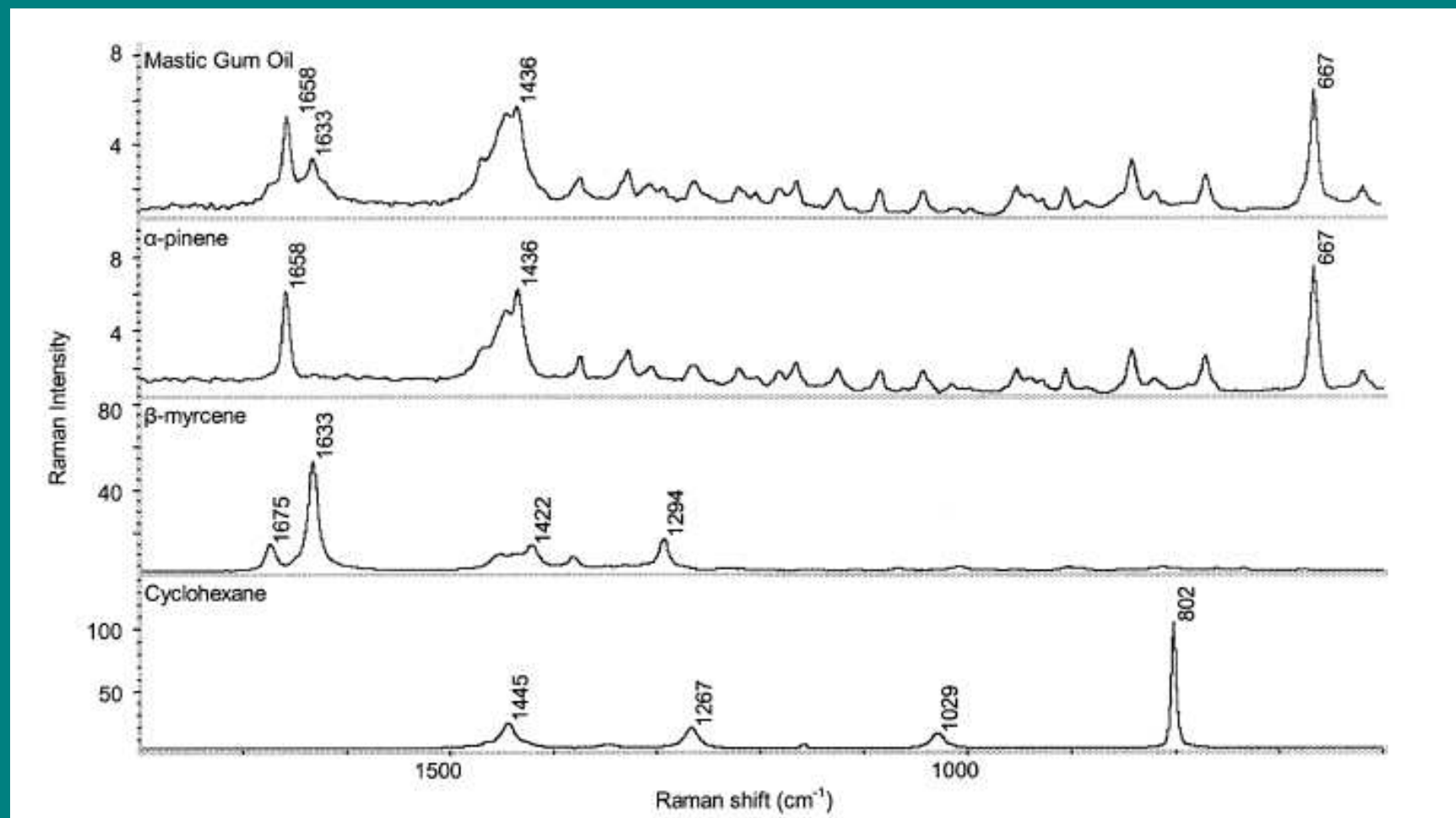
β -myrcène 16.5%

Aeriochromatogramme représentative de l'huile de mastic gomme obtenue par la méthode de microdistillation en présence de l'éther (Likens-Nickerson) .



Prof. Moschos Polissiou, Laboratory of General Chemistry, Agricultural University of Athens,
75 Iera Odos Str., 118 55 Athens, mopol@aua.gr, Tel.: +30-210-529 4241, Fax.: +30-210-529 4265

Détermination des PAMs par la Spectroscopie Raman

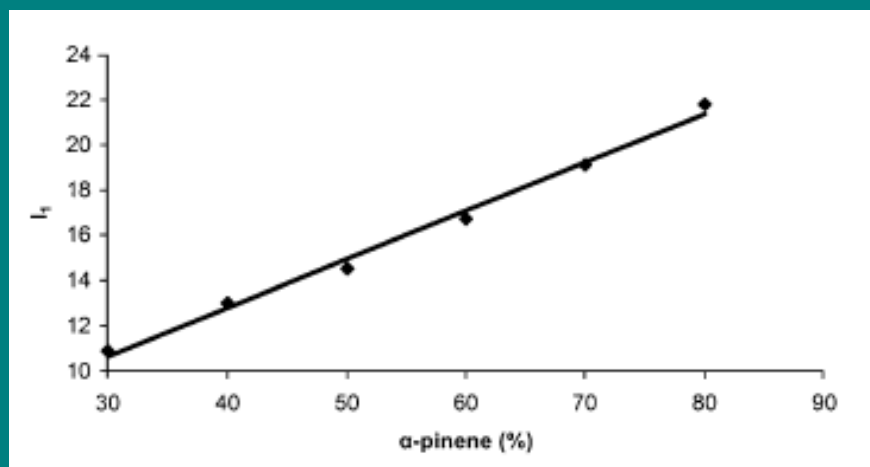


Spectres FT-Raman (1800–600 cm^{-1}) de l'huile de mastic , α -pinène, β -myrcène et cyclohexane.

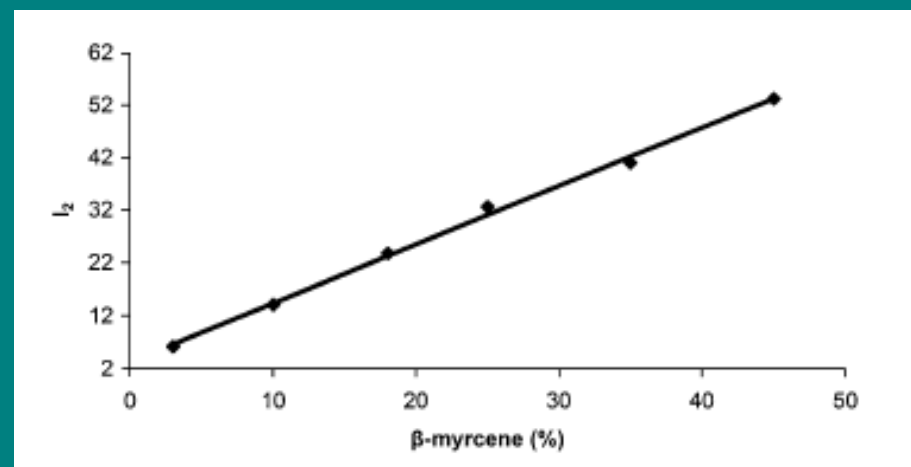


Prof. Moschos Polissiou, Laboratory of General Chemistry, Agricultural University of Athens,
75 Iera Odos Str., 118 55 Athens, mopol@aua.gr, Tel.: +30-210-529 4241, Fax.: +30-210-529 4265

Détermination de l'authenticité des PAMs par la Spectroscopie Raman



Courbe de calibration de α -pinène construite à partir des spectres FT- Raman



Courbe de calibration de β -myrcène construite à partir des spectres FT- Raman



Détermination des PAMs par la Spectroscopie Raman

Mastic gum oil	α -pinene (%)	β -myrcene (%)
Oil 1	70.4	22.9
Oil 2	72.8	6.0
Oil 3	65.6	26.9
Oil 4	59.1	33.5
Oil 5	63.2	28.6
Oil 6	54.0	3.8
Oil 7	68.4	25.4
Oil 8	64.9	28.3
Oil 9	71.5	19.4
Oil 10	33.7	63.5

Mastic gum oil	Normalized intensity at 1658 cm ⁻¹	Normalized intensity at 1633 cm ⁻¹	α -Pinene content (%)	β -Myrcene content (%)
Oil 1	17.5	23.8	63.3±1.4	18.5±0.2
Oil 2	18.8	11.3	69.5±1.9	7.2±0.8
Oil 3	17.8	34.3	64.8±1.1	27.9±0.7
Oil 4	17.7	39.0	64.3±3.4	32.2±1.0
Oil 5	16.4	32.5	58.1±1.2	26.3±0.5
Oil 6	14.5	8.3	49.0±0.8	4.5±0.1
Oil 7	18.1	31.7	66.2±1.0	25.6±0.6
Oil 8	17.8	33.5	64.8±1.6	27.2±0.5
Oil 9	16.4	22.4	58.1±1.7	17.2±0.2
Oil 10	12.2	67.6	38.1±1.2	57.9±1.7

Les pourcentages de α -pinène et β -myrcène dans différents échantillons du mastic gomme de Chios comme ils ont été déterminés par l'analyse GC-MS

Les pourcentages de α -pinène et β -myrcène de l'huile de mastic gomme mesurés par la méthode spectroscopique FT-Raman

Quantitative analysis of α -pinene and β -myrcene in mastic gum oil using FT-Raman spectroscopy. D.Daferera, C. Pappas, P.A.Tarantilis, M.Polissiou. *Food Chemistry* 77 (2002) 511–515.



Prof. Moschos Polissiou, Laboratory of General Chemistry, Agricultural University of Athens, 75 Iera Odos Str., 118 55 Athens, mopol@aua.gr, Tel.: +30-210-529 4241, Fax.: +30-210-529 4265

Détermination des PAMs par la Spectroscopie Raman

B2. Caractérisation des Huiles Essentielles des Espèces Lamiaceae

Plantes:

Origan (*Origanum vulgare*),
Thym (*Thymus capitatus*),
Dictamnus (*Origanum dictamnus*),
Marjolaine (*Origanum majorana*),
Sauge (*Salvia fruticosa*),
Menthe pouliot (*Mentha pulegium*)
Lavande (*Lavandula angustifolia*)

Terpènes:

α -pinène	β -myrcène
cinéole	α -terpinène
γ -terpinène	<i>p</i> -cymène
limonène	terpinéol
linalool	<i>d</i> -camphor
bornéol	thujone
menthone	pulégone
thymol	carvacrol
<i>trans</i> -caryophyllène	

Isolation des huiles Essentielles :

La méthode classique d'hydrodistillation par l'appareil Clevenger



B2. Caractérisation des Huiles Essentielles des Espèces Lamiaceae

GC-MS

Main components of the essential oils of oregano (O1, O2), thyme (T), dictamnus (D1, D2) and marjoram (M1, M2).

Component	O1	O2	T	D1	D2	M1	M2
% composition							
Thujene ^a	0.5	0.4	0.5	0.2	0.2	0.9	3.3
α -Pinene ^b	0.4	0.5	0.8	0.4	0.5	0.7	2.5
Camphene ^a	0.1	-	0.1	-	-	<i>tr</i>	1.3
Sabinene ^b	-	-	-	-	-	0.4	1.5
β -Myrcene ^b	0.9	1.0	1.1	0.5	0.5	1.3	3.6
α -Terpinene ^b	0.3	1.4	0.8	1.1	1.1	5.4	9.8
<i>p</i> -Cymene ^b	5.2	13.0	5.4	15.1	20.3	5.8	9.8
β -Phellandrene ^a	0.3	-	<i>tr</i>	0.3	-	1.8	3.8
γ -Terpinene ^b	5.8	7.5	2.6	5.4	3.9	9.3	18.3
<i>cis</i> -Sabinene hydrate ^a	-	-	-	-	-	1.3	1.4
Terpinolene ^a	<i>tr</i>	0.1	0.2	-	-	1.5	2.0
Linalool ^b	0.2	-	0.4	0.6	1.3	5.6	2.3
Borneol ^b	-	-	0.2	0.1	0.1	0.5	1.6
Terpinen-4-ol ^a	-	0.3	0.5	0.6	0.9	9.4	9.3
α -Terpineol ^b	<i>tr</i>	-	<i>tr</i>	-	-	2.4	2.6
Linalyl propanoate ^a	-	-	-	-	-	1.4	-
Linalyl acetate ^a	-	-	-	-	-	0.8	1.2
Thymol ^b	1.8	63.7	0.2	0.3	2.6	0.8	0.1
Carvacrol ^b	80.8	8.6	81.5	72.1	64.1	45.1	16.8
Caryophyllene ^b	1	1.0	2.7	0.9	1.0	1.0	0.3
Total	97.4	97.5	97.5	97.6	96.5	97.2	91.5

^a Tentatively identified by the library of the GC-MS system

Oregano

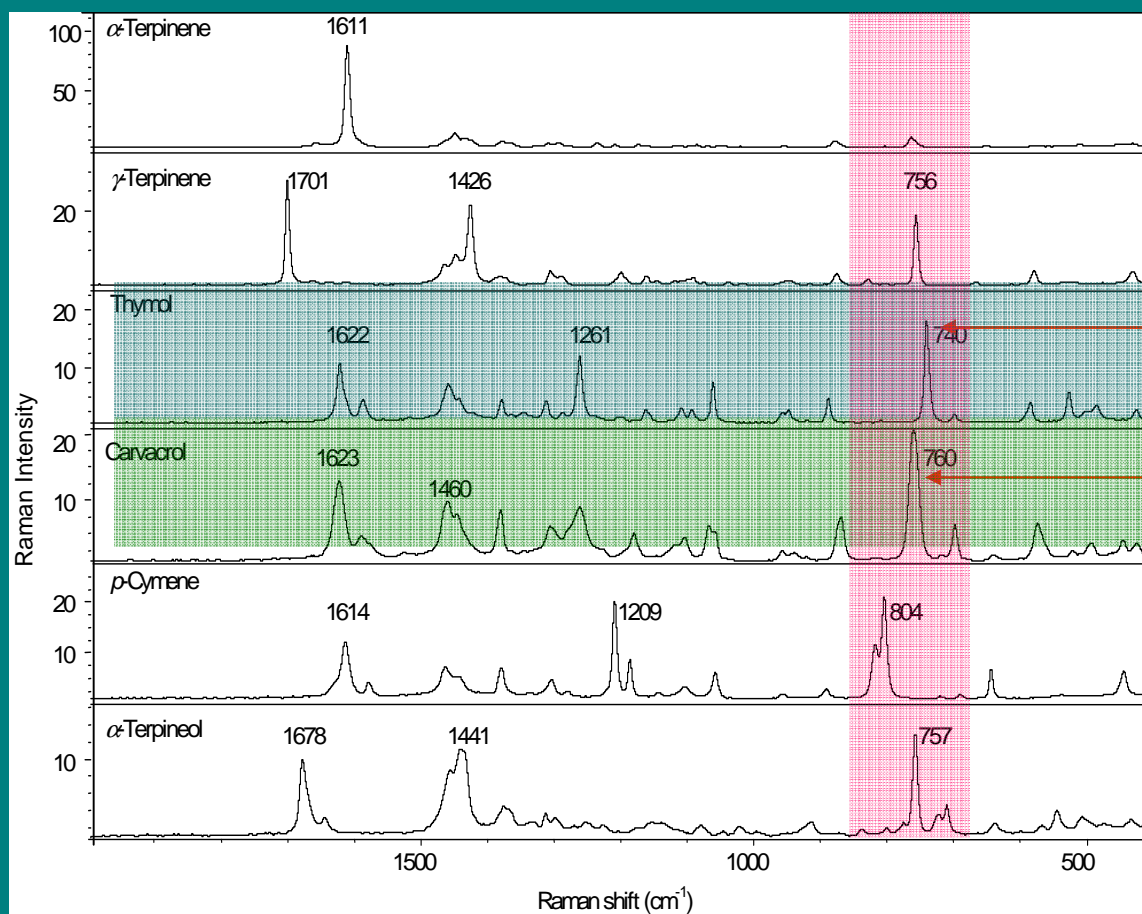
Oregano

Thyme

B2. Caractérisation des Huiles Essentielles des Espèces Lamiaceae

Spectres FT-Raman des Terpènes:

Spectres FT-Raman des terpènes: α -terpinène, γ -terpinène, thymol, carvacrol, p -cymène, et α -terpinéol.



α -terpinène

γ -terpinène

thymol

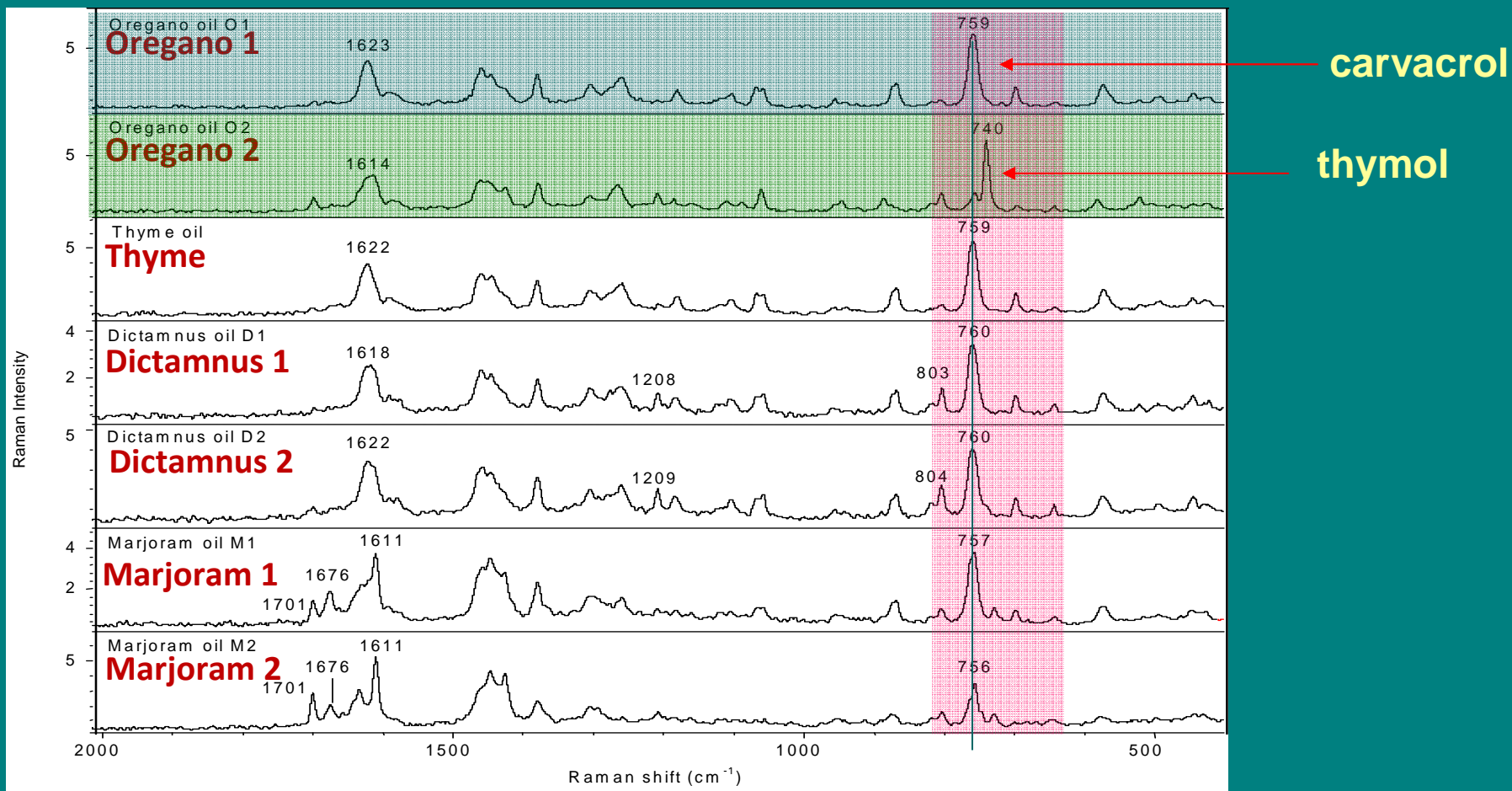
carvacrol

p -cymène

α -terpinéol

B2. Caracterisation des Huiles Essentielles des Especies Lamiaceae

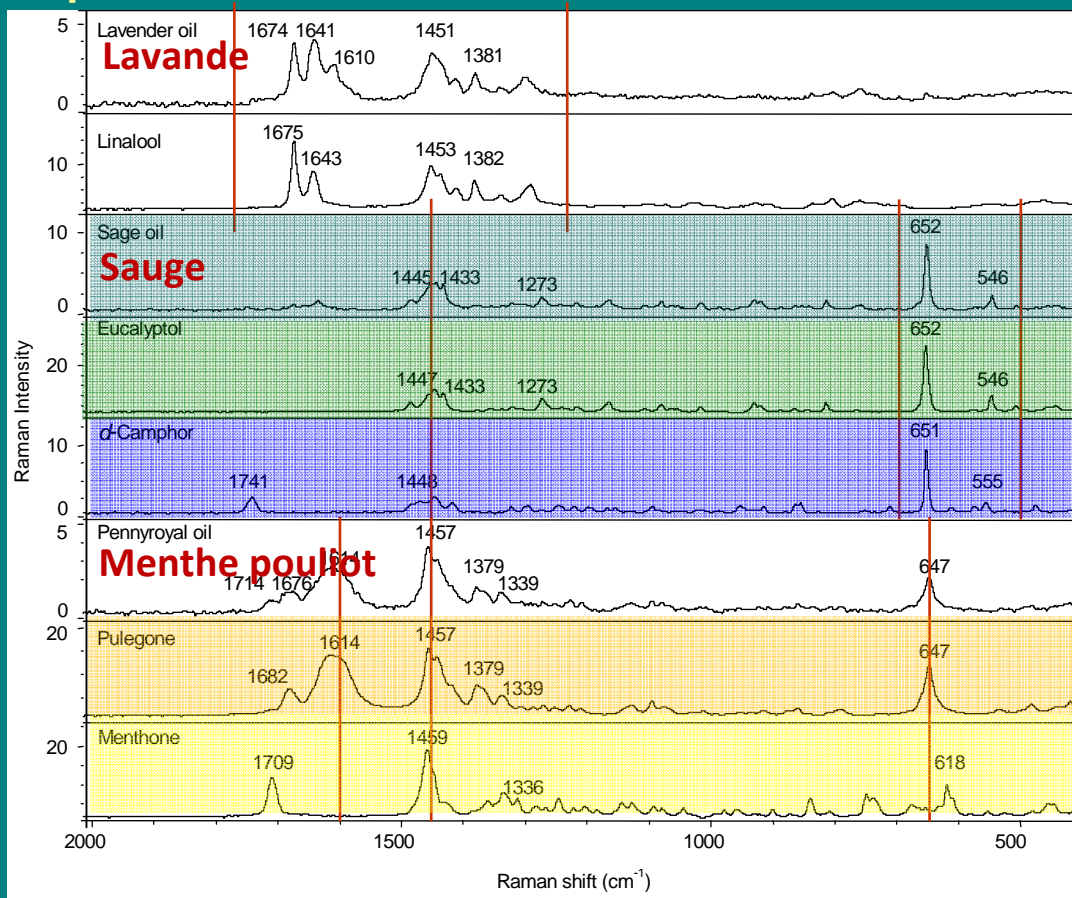
Spectres FT-Raman des huiles Essentielles



Spectres FT-Raman des huiles essentielles des echantillons : origan O1 et O2, thym, dictamnus D1 et D2, marjolaine M1 et M2 .

B2. Caractérisation des Huiles Essentielles des Espèces Lamiaceae

Spectres des huiles essentielles



Spectres FT-Raman : de l'huile essentielle de **lavande** et de **linalol**,huile essentielle de **sauge** et **eucalyptol** et **α -camphre**, huile essentielle de **menthe pouliot** **pulégone** et **menthone**.



Prof. Moschos Polissiou, Laboratory of General Chemistry, Agricultural University of Athens, 75 Iera Odos Str., 118 55 Athens, mopol@aua.gr, Tel.: +30-210-529 4241, Fax.: +30-210-529 4265

B2. Caracterisation des Huiles Essentielles des Especes Lamiaceae

Le spectre FT-Raman d'une huile essentielle représente ses empreintes (**fingerprints**), montrant son profil caractéristique de ses constituants principaux. Les composés qui participent à la composition d'une huile essentielle, avec des pourcentages relativement bas, ne semblent pas influencer le spectre FT-Raman.

Donc, il est possible de discriminer les huiles essentielles entre eux surtout si leurs composés principaux appartiennent à des catégories de substances très différentes.

• La spectroscopie FT-Raman, comme une méthode facile, très rapide et non destructive, peut être appliquée au contrôle de la qualité et de l'authenticité des huiles essentielles.

Characterization of essential oils from lamiaceae species by fourier transform raman spectroscopy.

D.J. Daferera, P.A. Tarantilis, and M. G. Polissiou.

***Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, (2002), 5503-5507.**



B3. Détermination quantitative des Esters de la Crocétine dans le Safran



Prof. Moschos Polissiou, Laboratory of General Chemistry, Agricultural University of Athens,
75 Iera Odos Str., 118 55 Athens, mopol@aua.gr, Tel.: +30-210-529 4241, Fax.: +30-210-529 4265

B3. Détermination quantitative des Esters de la Crocetine dans le Safran

Le but de cette étude était de développer une méthode rapide pour déterminer les esters de la crocetine par la spectroscopie Raman suivie d'une analyse de régression partielle de moindres carrés, "partial least-squares (PLS) regression".

Analyses de reference

1. La méthode spectroscopique UV-Vis selon ISO/TS 3632-2:2003.
2. La méthode HPLC .

Echantillonnage

Un nombre de N=114 échantillons de safran (*Crocus sativus* L.) récoltés durant la période 2005-2006, en Grèce (N=28), Iran (N=37), Italie (N=24) et Espagne (N=25), étaient obtenus directement des producteurs pour éviter toute falsification possible et garantir leur origine.



**Source
d'excitation Laser:
785 nm, Puissance
71.6 mW**



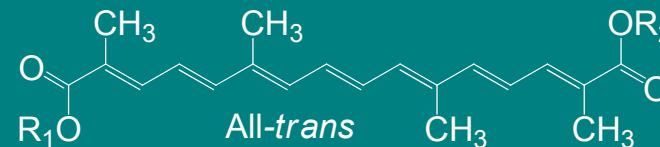
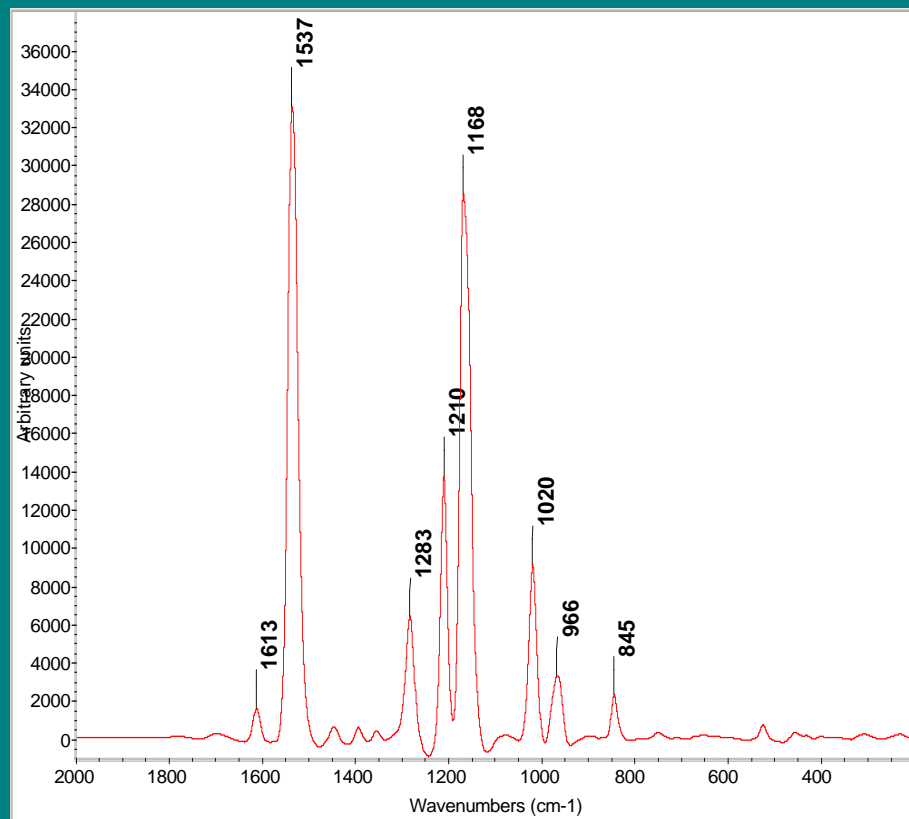
Prof. Moschos Polissiou, Laboratory of General Chemistry, Agricultural University of Athens,
75 Iera Odos Str., 118 55 Athens, mopol@aua.gr, Tel.: +30-210-529 4241, Fax.: +30-210-529 4265

$E_{1cm}^{1\%}$ **KROKOS KOZANIS EXTRA CROP 2012 (Sample number: 3 Comments: Organic Extra)**
Chemical requirements for Saffron in filaments and results (STANDARDS ISO 3632-1:2011)

Characteristic	Saffron in filaments	Test method	GREEK RED SAFFRON
Moisture and volatile matter at 103°C, %(m/m), max.	12	ISO 3632-2:2010, Clause 7	12
Total ash, % (m/m), on dry basis, max.	8	ISO 928 and ISO 3632-2:2010, Clause 12	6.1
Acid-insoluble ash, % (m/m), on dry basis, max.	1.0	ISO 930 and ISO 3632-2:2010, Clause 13	1.0
Soluble extract in cold water, % (m/m), on dry basis, max.	65	ISO 941 and ISO 3632-2:2010, Clause 11	62
Flavour strength, 257 nm, on dry basis, min. Category I Category II Category III (absorbance of picrocrocin)	70 55 40	ISO 3632-2:2010, Clause 14	99
Aroma strength, 330 nm, on dry basis All categories min. - max. (absorbance of safranal)	20 - 50	ISO 3632-2:2010, Clause 14	44
Colouring strength, 440 nm, on dry basis, min. Category I Category II Category III (absorbance of crocin)	200 170 120	ISO 3632-2:2010, Clause 14	279

B3. Détermination quantitative des Esters de la Crocetine dans le Safran

Spectre Raman typique *Crocus sativus* L.

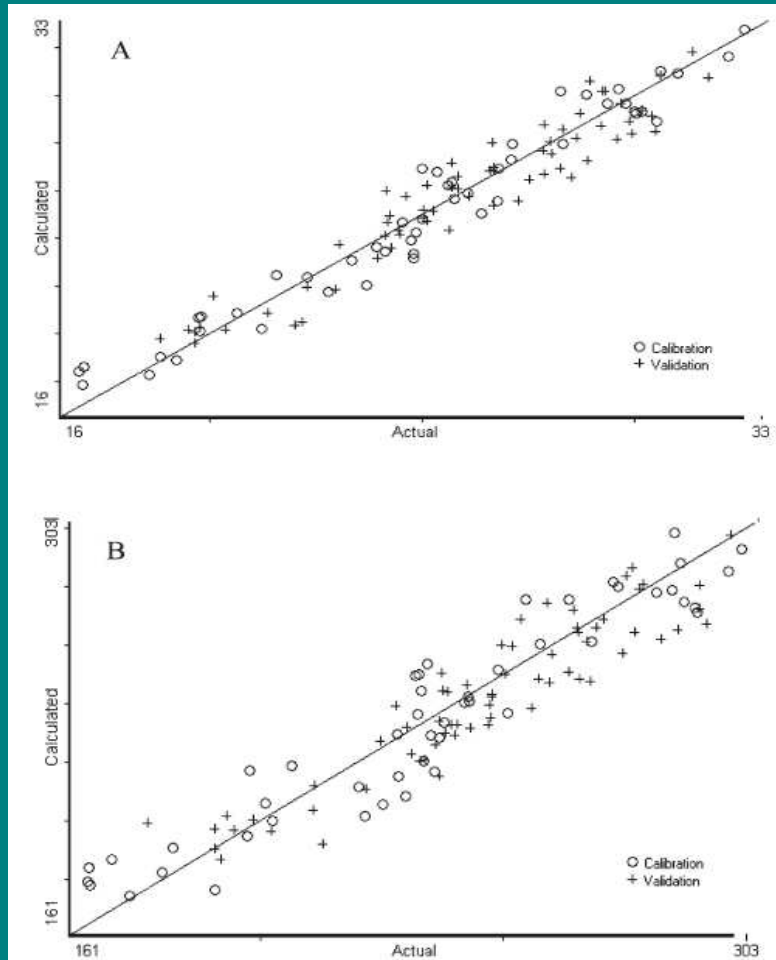


Wavenumbers (cm ⁻¹)	Assignments
1537	-(C=C)n-C=C- C=C-(C=C)n- stretching
1283	CH deformation
1210	C-C stretching, C-H in-plane bending
1169	=C-C= stretching
1019	-CH ₃ in-plane rocking
966	C-C ring vibration



Prof. Moschos Polissiou, Laboratory of General Chemistry, Agricultural University of Athens,
75 Iera Odos Str., 118 55 Athens, mopol@aua.gr, Tel.: +30-210-529 4241, Fax.: +30-210-529 4265

B3. Détermination quantitative des Esters de la Crocetine dans le Safran



Model de calibration PLS pour les esters de la crocetine (A) et leur pouvoir colorant (B).

A: Contenu en crocines (HPLC):

18.8-31.7 mg/100mg de safran

Contenu en crocines (Raman-PLS):

19.2-32.0 mg/100mg de safran

B: Pouvoir colorant (ISO/UV-Vis):

177.0-296.7 unites

Pouvoir colorant (ISO/Raman-PLS):

186.8-297.6 unites

Cette nouvelle approche méthodologique est présentée pour déterminer quantitativement la somme des esters de la crocetine ou le pouvoir colorant des échantillons du safran sur la base de la spectroscopie Raman.

Cette approche spectroscopique peut-être utilisée comme une méthode alternative et plus directe pour contrôler la qualité de cette épice très chère, à la place d'autres méthodes qui sont plus longues et plus complexes.

Quantification of crocetin esters in saffron (*Crocus sativus* L.) using Raman spectroscopy and chemometrics.

E.G. Anastasaki, C.D. Kanakis, C. Pappas, L. Maggi, A. Zalacain, M. Carmona, G.L. Alonso, and M.G. Polissiou.

Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58, (2010), 6011-601.

Détermination de l'origine géographique et de l'authenticité des PAMs par les Spectroscopies FT-IR et Raman

CONCLUSIONS GENERALES

- Les méthodes spectroscopiques FT-IR et Raman remplissent plusieurs exigences analytiques ,modernes comme: **rapidité, facilité, pas coûteuses et non destructives pour l'échantillon** .
- La combinaison des spectroscopies Infrarouge et Raman avec l'analyse à multivariable présente un outil très puissant pour **la vérification de l'origine géographique et de l'authenticité** des collections des MAPs.

Les spectroscopies FT-IR et Raman peuvent être utilisées comme un outil analytique, très bien adapté, pour **la détermination quantitative des métabolites secondaires des plantes aromatiques**, grâce à sa rapidité et sa précision.



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
UNIVERSITE AGRONOMIQUE D' ATHENES



Merci pour votre attention