

Partie expérimentale

1. *Isolement et techniques analytiques.* Le matériel végétal a été récolté près de la Tour de Fameilon (canton de Vaud). 60 g de poudré de feuilles et de tiges séchées sont extraites à chaud, successivement par la ligroïne, l'éther, le chloroforme, l'acétate d'éthyle et le méthanol. L'extrait méthanolique est chromatographié sur une colonne de polyamide *Macherey-Nagel* SC₆ avec le méthanol à 50% comme éluant. Les fractions riches en substance VIII sont encore purifiées par filtration sur gel de Sephadex LH 20.

L'hydrolyse acide et la recherche des sucres ont été effectuées comme décrites précédemment [2].

L'acétylation a été effectuée par l'anhydride acétique en présence de pyridine, et la méthylation par un excès de solution étherée de diazométhane [2].

Les spectres UV. ont été enregistrés sur un appareil *Unicam* SP 800 en solution dans le méthanol et en présence des réactifs habituels [9].

2. *Données analytiques. Substances VIII:* quantité isolée 320 mg., F. 204° (déc.) recristallisé dans le méthanol à 70%, Rf = 0,72 (Polyamide *Merck* DC₁₁ UV₂₅₄, MeOH/H₂O 9:1), Rf = 0,44 (cellulose F₅₀ *Merck*, AcOH 15%)

$C_{27}H_{30}O_{16} \cdot 2 H_2O$ (628,36) Calc. C 50,10 H 5,26% Trouvé C 50,33 H 5,48%

Dérivé acétylé de VIII: F. 147° (déc.) recristallisé dans l'éthanol.

$C_{49}H_{52}O_{27}$ (1072,74) Calc. C 54,85 H 4,89% Trouvé C 54,51 H 4,95%

BIBLIOGRAPHIE

- [1] *K. Hosteltmann & A. Jacot-Guillarmod*, *Phytochemistry*, sous presse.
- [2] *K. Hosteltmann, G. Bellmann, R. Tabacchi & A. Jacot-Guillarmod*, *Helv.* 56, 3050 (1973).
- [3] *R. Scharfetter*, *Biographien von Pflanzensippen*, p. 315–331, Springer, Wien, 1950.
- [4] *R. E. Alston*, *Recent Advances in Phytochemistry* (éd. T. J. Mabry), Vol. 1, p. 305–327, Century Crofts, New York, 1968.
- [5] *E. A. Julian, G. Johnson, D. K. Johnson & B. J. Donnelly*, *Phytochemistry* 10, 3185 (1971).
- [6] *R. T. Sherwood, M. Shamma, J. L. Moniot & J. R. Kroschewsky*, *Phytochemistry* 12, 2275 (1973).
- [7] *J. W. McClure & K. G. Wilson*, *Phytochemistry* 9, 763 (1970).
- [8] *M. Adamska & J. Lutomski*, *Planta Med.* 20, 224 (1971).
- [9] *T. J. Mabry, K. R. Markham & M. B. Thomas*, *The Systematic Identification of Flavonoids*, Springer, New York, 1970.
- [10] *B. Gentili & R. M. Horowitz*, *J. org. Chemistry* 33, 1571 (1968).
- [11] *B. Gentili & R. M. Horowitz*, *Chemistry & Ind.*, 1964, 498.

24. Sur la composition de l'arôme de Thé noir IV

par **Paul Cazenave, Ian Horman, Françoise Mueggler-Chavan**
et **Rinantonio Viani**

Société d'assistance technique pour produits Nestlé SA, Vevey

(23 XI 73)

Summary. 17 substances were shown to be present in the aroma of black tea. This brings the total number of substances now identified to 187. Many of these new aromatic constituents are present only in traces. Nevertheless they possess an appreciable olfactive intensity whose flowery and/or fruity characteristics are found in many perfumed black teas such as: Kenya, Darjeeling, Ceylan, China and Oolong.

The components were identified by GC/MS. and their presence in the aroma verified by GC.

1. Introduction. – L'arôme de thé noir a fait, jusqu'ici, l'objet d'un bon nombre d'études. De nombreuses publications issues du travail de divers groupes de chercheurs [1–3] ont concrétisé ce type de recherche. Néanmoins malgré l'accomplissement de cet important travail, quelques constituants aromatiques, dont certains à l'état de traces, sont encore inconnus.

La nécessité d'avoir une bonne connaissance de l'équilibre aromatique existant au-dessus de la tasse de l'infusion de thé noir nous a conduits à identifier quelques-uns de ces constituants inconnus. Cet équilibre est, en effet, parfois régi par des substances aromatiques à l'état de traces mais possédant une intensité olfactive relativement importante.]

2. Conditions expérimentales. – 1. *Préparation des échantillons.* On mélange 100 g de thé noir et 1 l d'eau distillée. L'entraînement par la vapeur d'eau à pression atmosphérique permet de recueillir 330 ml d'arôme aqueux. L'extraction par le dichlorométhane purifié permet, après séchage et concentration, d'obtenir un faible volume d'arôme de couleur jaune et d'odeur thé noir très plaisante et caractéristique. Divers thés noirs ont été analysés: Assam, Darjeeling, Kenya, Ceylan, Java, Chine et Oolong.

2. *Analyse de l'arôme par chromatographie en phase gazeuse.* Les analyses sont effectuées à l'aide de chromatographes en phase gazeuse *Perkin-Elmer*, modèles F20 et 900, équipés de détecteurs à ionisation de flamme. Les séparations chromatographiques sont réalisées avec des colonnes capillaires (longueur 50 m, diamètre intérieur 0,25 mm) renfermant des phases stationnaires de polarité différente: carbowax 20 M et apiezon L. L'emploi successif de ces deux matériaux permet de mieux caractériser la concentration des substances aromatiques présentes car elles sont de la sorte éluées différemment à la sortie des colonnes chromatographiques.

3. *Identification des substances par couplage GC.-MS.* Le système comprend un chromatographe en phase gazeuse *Pye Unicam*, modèle 104, et un spectromètre de masse à basse résolution *AEI*, modèle MS20. Le chromatographe est équipé d'une colonne S.C.O.T. renfermant du carbowax 20M (longueur 15 m, diamètre intérieur 0,5 mm) et le spectromètre d'un séparateur à membrane.

Dans les deux cas (2 et 3) la programmation de température jusqu'à 200° est utilisée afin d'obtenir une élution régulière des constituants aromatiques de l'arôme.

L'identification des substances est effectuée à l'aide du calcul des indices de rétention appliqué à la programmation de température et en prenant les alcools normaux (présents dans l'arôme) comme composés de références.

Les substances pures nous sont fournies par *Fluka AG.* et *Covalon* (Suisse) et par *K. & K.* et par *Aldrich* (USA).

3. Identification des nouvelles substances. – 17 nouvelles substances ont été mises en évidence par couplage chromatographe gaz-liquide – spectromètre de masse et vérifiées par chromatographie en phase gazeuse. Dans le tableau ci-après, nous mentionnons le nom de ces nouveaux composés avec les masses des principaux pics moléculaires; deux d'entre-eux ont été récemment trouvés par *Yamanishi et al* (4). Ces deux substances récemment identifiées sont caractérisées par un astérisque.

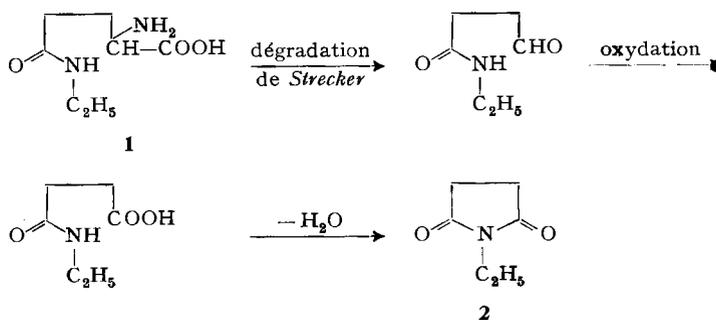
Tableau. *Substances de l'arôme de thé noir nouvellement identifiées par GC./MS.*

Substances	identifiées par GC./MS.	vérification par GC.	m/e
thiophène	84 (100), 83 (6), 69 (7), 58 (63), 57 (14), 45 (54), 39 (28), 38 (8), 37 (7), 26 (6)
pentène-2-al	84 (41), 83 (30), 56 (15), 55 (100), 53 (27), 51 (16), 42 (13), 41 (63), 40 (29), 39 (68)

Substances	identifiées par GC./MS.	vérification par GC.	<i>m/e</i>
succinate acide de méthyle	132 (0,3), 114 (14), 107 (100), 73 (20), 59 (19), 55 (37), 45 (23), 30 (12), 29 (20), 27 (14)
toluene	92 (65), 97 (100), 89 (4), 65 (11), 63 (6), 62 (3), 51 (5), 50 (3), 45 (4), 39 (9)
<i>trans-trans</i> -heptadiène- 3,5-one-2	140 (0,25), 110 (40), 95 (100), 67 (68), 65 (15), 51 (20), 43 (61), 41 (64), 40 (10), 39 (50)
δ -heptalactone	128 (3), 85 (100), 57 (14), 56 (21), 55 (10), 43 (11), 42 (8), 41 (13), 29 (29), 27 (11)
<i>p</i> -éthylbenzaldéhyde	135 (10), 134 (96), 133 (100), 119 (13), 105 (51), 103 (11), 91 (37), 79 (16), 77 (21), 51 (13)
éthylbenzène	107 (3), 106 (30), 92 (8), 97 (100), 78 (8), 65 (9), 51 (13), 39 (10)
<i>trans-trans</i> -méthyl-6- heptadiène-3,5-one-2	124 (17); 110 (9), 109 (100), 81 (31), 79 (17), 55 (8), 53 (24), 43 (45), 41 (33), 39 (27)
<i>trans-cis</i> ou <i>cis-trans</i> octadiène-3,5-one-2	124 (15), 109 (16), 95 (86), 81 (40), 79 (12), 55 (11), 53 (26), 43 (100), 41 (39), 39 (39)
isopropylbenzène	121 (25), 120 (27), 106 (9), 105 (100), 103 (8), 91 (5), 79 (10), 77 (12), 51 (10), 39 (5)
<i>p</i> -éthylanisole	136 (83), 122 (16), 121 (100), 91 (52), 78 (20), 77 (30), 65 (19), 51 (18), 44 (36), 39 (23)
isoamylfuranne	138 (14), 82 (60), 87 (100), 57 (13), 53 (15), 43 (7), 41 (19), 39 (13), 29 (26), 27 (22)
décatriénel-2,4,6	150 (69), 121 (62), 91 (60), 81 (50), 79 (100), 77 (90), 55 (49), 43 (49), 41 (60), 39 (79)
décanone-2	156 (10), 98 (7), 96 (7), 71 (29), 59 (33), 58 (100), 57 (15), 55 (9), 43 (60), 41 (10)
γ -tétradécalactone	226 (1), 208 (2), 114 (15), 99 (100), 83 (20), 71 (45), 70 (42), 57 (44), 55 (66), 43 (87)
N-éthylsuccinimide	127 (70), 112 (14), 99 (13), 98 (6), 84 (37), 71 (9), 70 (12), 57 (14), 56 (100), 55 (37)

Nous pensons que le N-éthylsuccinimide (2) provient selon le schéma d'une dégradation de *Strecker* de la théanine (1), acide aminé du thé vert.

Schema



4. Conclusions. – Parmi ces 17 substances nouvellement identifiées dans l'arôme de thé noir, il en existe un certain nombre présentes à l'état de traces. Néanmoins, leur intensité olfactive assez importante joue un rôle non négligeable dans l'équilibre aromatique de l'infusion de thé noir correspondante. La majeure partie de ces constituants sont des composés possédant un caractère intrinsèque fleuri et fruité que l'on rencontre plus particulièrement dans les thés parfumés tels que Darjeeling, Kenya, Ceylan, Chine et Oolong.

Ce travail de recherche nous permet d'affirmer de manière sûre qu'au moins 187 constituants aromatiques sont présents dans l'arôme de thé noir.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] F. Müggler-Chavan, R. Viani, J. Bricout, D. Reymond & R. Egli, *Helv.* 49, 1763 (1966); J. Bricout, R. Viani, F. Müggler-Chavan, J. P. Marion, D. Reymond & R. Egli, *Helv.* 50, 1517 (1967); F. Müggler-Chavan, R. Viani, J. Bricout, J. P. Marion, H. Mechtler, D. Reymond & R. Egli, *Helv.* 61, 549 (1969).
- [2] H. A. Bondarovich, A. S. Giammarino, J. A. Renner, F. W. Shephard, A. J. Shingler & M. A. Gianturco, *J. agric. Food chemistry* 15, 36 (1967).
- [3] T. Yamanishi, *J. Jap. Soc. Food. Nustr.* 21, 4 (1968); S. Sato, S. Sasakura, A. Kobayashi, Y. Nakatani & T. Yamanishi, *Agr. biol. chemistry* 34, 1355 (1970); K. Ina & H. Eto, *Agr. biol. chemistry* 36, 1027 (1972).
- [4] T. Yamanishi, Y. Kita, K. Watanabe & Y. Nakatani, *Agr. biol. chemistry* 36, 1153 (1972).

25. Sur la composition de l'arôme de thé noir V

par **Paul Cazenave** et **Ian Horman**

Société d'assistance technique pour produits Nestlé S. A. Vevey

(20. XII. 73)

Summary. Methyl anthranilate, geranylacetone and five lactones: γ -valerolactone, γ -heptalactone, γ -décalactone, δ -décalactone, 5-hydroxy dec-7-enoic acid-lactone have recently been identified in black tea aroma by means of GC./MS. and by sniffing the effluent from a gas chromatograph. Their intrinsic character, rather fruity and flowery, gives a certain freshness and an agreeable note to the aroma.