

# Note préliminaire sur l'utilisation de l'électrophorèse à haute tension comme technique complémentaire d'identification des colorants hydrosolubles

Autor(en): **Tonet, N.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **60 (1969)**

Heft 3

PDF erstellt am: **12.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-982486>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

3. *Waldron-Edward D. und Paul T. M. & Skoryna S. C.*: Nature **205**, 1117 (1965).
4. *Joseph G. H.*: Medicine (Mex) **39**, 221—3 (1959).
5. *Anon.*: Citrus in Medicine **2**, August 1963.
6. *Russel G. und Hart P. J.* (1958): im Handbuch der Lebensmittelchemie II/2, 107 (1967).
7. *Hadorn H. und Zürcher K.*: Mitt. Lebensm. Unters. und Hygiene **57**, 27 und 189 (1966).
8. Nederlands Normalisatie Instituut, Normblad NEN 1046.

## Note préliminaire sur l'utilisation de l'électrophorèse à haute tension comme technique complémentaire d'identification des colorants hydrosolubles

*N. Tonet*

Institut d'Hygiène et d'Epidémiologie, Bruxelles 5

Nous exposons ici les résultats d'une étude effectuée dans le cadre d'une Bourse Médicale du Conseil de l'Europe.

Nous remercions cette Organisation et les personnes qui ont permis la réalisation de ce travail en octobre 1968 au Laboratoire Cantonal de Genève dirigé par Monsieur *Ch. Berner*.

L'expérience du contrôle des colorants utilisés en alimentation indique que lorsqu'il s'agit d'une substance colorante extraite d'un aliment, aucune technique d'identification prise isolément ne peut aboutir à une certitude absolue.

C'est, dans ces conditions, la conjonction de plusieurs techniques qui seule permet avec sécurité l'identification du colorant.

Parmi les raisons motivant ce point de vue, il faut citer tant la grande multiplicité des colorants actuellement sur le marché que leur similitude chimique. Enfin, il est à remarquer que l'analyste est souvent amené à identifier des colorants dont la purification parfaite n'a pu être obtenue (par pénurie de substance notamment); les impuretés résiduelles rendent alors imprécises des techniques qui, elles-mêmes, sont réputées précises. Les importantes modifications du comportement chromatographique d'un colorant, par la présence dans l'échantillon de traces seulement de gélatine, constituent un exemple étayant cette affirmation.

Souvent aussi la courbe d'identification spectrophotométrique d'un colorant est perturbée sous l'influence d'arômes dont l'échantillon n'a pu être totalement débarrassé.

En bref, les techniques couramment appliquées à l'identification d'un colorant sont les suivantes:

1. L'observation de la nuance dans différentes conditions de milieu, de pH et d'éclairage (lumière blanche ou UV).
2. Certaines réactions chimiques comme l'action des oxydants et réducteurs.
3. L'aptitude de fixation sur différentes fibres.
4. Le comportement chromatographique sur papier et sur colonne ou sur couche mince à base de substrats divers.  
Dans certains cas, c'est sur les produits de réduction du colorant que s'effectue cette étude chromatographique.
5. La spectrophotométrie à différents pH en UV et en lumière visible. La spectrophotométrie en infra-rouge n'est que très exceptionnellement utilisée dans la routine du contrôle des colorants pour denrées alimentaires.

Cependant, pour avoir été parfois confrontés à des problèmes pour lesquels, la conjonction même de ces différentes techniques n'a pu apporter de solution, nous avons jugé intéressant d'étudier en électrophorèse le comportement des substances colorantes.

Des essais antérieurs d'électrophorèse à bas voltage n'ayant pas abouti aux résultats escomptés quant à la séparation des colorants, nous avons étudié quel pourrait être, dans le domaine qui nous occupe, l'apport de l'électrophorèse à haute tension.

Dans ce but, la mobilité électrophorétique sur papier a été examinée pour 75 colorants synthétiques et quelques colorants naturels.

Les essais furent pratiqués au moyen de l'appareil CAMAG sous une tension de 4500 V avec comme électrolytes, d'une part une solution d'acide acétique à 20 % (1), et d'autre part une solution tampon 0,01 M d'ammoniaque et 0,0033 M d'acide acétique, tampon à pH ajusté à 10,3 (2).

La reproductibilité des migrations fut assimilable à celle des techniques chromatographiques.

De ce point de vue, il est à remarquer qu'une identification chromatographique s'effectue toujours par parallélisme ou même superposition avec la substance témoin. C'est là une précaution qui reste évidemment d'application lors d'une identification par électrophorèse.

L'analyse des résultats met en lumière certains principes de base concernant les migrations électrophorétiques.

C'est ainsi qu'on constate en milieu acide, l'action déterminante des groupements  $\text{SO}_3\text{H}$  sur la mobilité anodique, dans le sens notamment d'une augmentation de cette mobilité avec le nombre de groupements sulfoniques.

D'autres colorants comportant par exemple, outre ces groupements sulfoniques, un noyau quinonique se conforment aussi à cette règle.

Suivant leur mode de fabrication, certains colorants synthétiques sont susceptibles de renfermer une proportion de colorants secondaires résultant de divers degrés de sulfonation.

On voit dès lors, l'importance dans l'appréciation du degré de pureté d'un colorant, d'une technique permettant des séparations fondamentalement liées au nombre de groupements sulfoniques.

L'étude des potentialités de mobilisation de ces groupements par rapport à la structure moléculaire fera l'objet de notre part, d'un travail ultérieur.

L'incidence de la position relative de ces groupements mobilisants par rapport à l'azoïque, tout autant que celle de la position d'accrochage de celui-ci constitueront également pour nous une recherche intéressante.

L'influence d'autres groupements comme par exemple les groupements OH, COOH, NO<sub>2</sub> retient notre attention d'autre part.

La plupart des colorants étudiés se sont révélés électronégatifs. Quelques-uns cependant effectuent une migration cathodique en milieu acide. Ce sont, outre quelques colorants naturels, des colorants qui tous sont exempts de radicaux sulfoniques.

Dans la série des colorants synthétiques choisis, à l'exception de la fluorescéine et de ses dérivés, les colorants électropositifs en milieu acide présentent en outre, comme caractère commun, d'être, soit des dérivés à groupements aminés, soit des composés renfermant un ion métallique.

En milieu alcalin par contre, les colorants électropositifs en milieu acide présentent une migration le plus souvent bidirectionnelle, parfois même anodique.

Seule l'Auramine O (C. I. 41 000) conserve en milieu alcalin une migration cathodique. C'est aussi, dans la série considérée, le seul colorant à radical aminé aliphatique. La liaison entre ces deux ordres de faits réclamerait cependant confirmation.

Pour ce qui est de la fluorescéine et de ses dérivés, on peut constater que seuls sont électropositifs en milieu acide et électronégatifs en milieu alcalin, des dérivés non halogénés.

Dans les deux électrolytes choisis, les dérivés halogénés de la fluorescéine présentent quant à eux une légère mobilité anodique.

Le comportement des colorants naturels a ensuite spécialement retenu notre attention: une détermination rapide de l'adjonction ou non d'un colorant synthétique à un aliment peut en effet revêtir une extrême importance.

Or le critère de discrimination «naturels — synthétiques» reste encore à trouver.

Nous n'ignorons pas que certains auteurs voient ce critère dans l'aptitude d'un colorant à se refixer ou non sur laine après élution. La pratique amène à considérer ce critère avec nette méfiance.

En vue d'apprécier les possibilités de l'électrophorèse dans ce domaine, nous avons choisi les colorants suivants:

Caramel  
Carmin solubilisé (C. I. 75 470)  
Orseille (Orcéine sulfonée)  
Oenocyanine



Curcuma (C. I. 75 300)  
Chlorophylle soluble à l'eau (C. I. 75 810)  
Bixine soluble à l'alcool (C. I. 75 120)

Les trois premiers présentent une migration anodique. Cette migration s'explique pour l'Orseille par la sulfonation. Pour le Carmin, les nombreux groupements OH et COOH motivent vraisemblablement aussi le sens de la migration.

Quant au Caramel, en tant que produit de dégradation des sucres, il renferme normalement aussi de nombreux groupements le rendant électronégatif. L'oencyanine présente en milieu acide une fraction électropositive. Quant aux trois derniers colorants, ils ne migrent pas en milieu acide.

Il est aussi à remarquer que la migration d'un colorant naturel présente le plus souvent une longue traînée coupée de nombreuses bandes colorées. Cet aspect est d'ailleurs assez semblable en chromatographie sur papier.

Bref, pour départager les synthétiques des naturels, l'électrophorèse ne semble pas être d'un apport déterminant.

A la réflexion d'ailleurs, si on considère que beaucoup de colorants naturels sont actuellement chimiquement modifiés, soit à l'extraction, soit en vue d'une purification ou d'une solubilisation, l'établissement d'un critère qui départagerait les colorants naturels des synthétiques semble utopique.

Pour revenir aux colorants synthétiques, il faut signaler quelques essais d'électrophorèse sur les produits de réduction d'une vingtaine de colorants azoïques.

Les séparations électrophorétiques se sont révélées aussi nettes que les séparations chromatographiques habituellement pratiquées.

Il est à remarquer à ce sujet que certains colorants azoïques donnent par réduction, d'une part une fraction amine sulfonée et d'autre part une fraction amine aromatique non sulfonée.

La fraction amine aromatique non sulfonée migre ici vers le négatif et la fraction amine sulfonique vers le positif; on est donc ainsi en présence d'une supériorité évidente de l'électrophorèse sur la chromatographie.

Après l'étude des produits de réduction nous avons réalisé un électrophorégramme sur des colorants extraits de boissons par la technique de la teinture sur laine.

Quoique impurs encore, les colorants synthétiques ont migré de façon assez parallèle aux colorants témoins et ils se sont séparés des impuretés résiduelles.

Dans ce domaine de l'extraction, il est à signaler qu'un auteur (3) utilise l'électrophorèse à 600 V comme technique d'isolement des colorants dans les aliments. Cet isolement est réalisé à partir d'un extrait au butanol saturé d'acide chlorhydrique.

Nous n'avons pas encore eu l'occasion d'appliquer cette technique à l'électrophorèse à haute tension. Ce pourrait être là une recherche ouvrant des perspectives intéressantes.

Les observations ici relatées permettent d'entrevoir l'intérêt de l'électrophorèse à haute tension comme méthode complémentaire d'identification des sub-

stances colorantes: les séparations obtenues atteignent en effet l'efficacité de la chromatographie sur papier. En outre, la rapidité d'une opération électrophorétique l'assimile à une chromatographie sur couche mince.

Ceci constitue un avantage appréciable par rapport à la chromatographie sur papier.

Certains colorants, comme la plupart des colorants utilisés en cosmétologie, répondent assez mal à tout entraînement chromatographique tout en présentant une migration électrophorétique appréciable.

Au moment où une législation sur les colorants des cosmétiques est en préparation, l'apport de l'électrophorèse à la caractérisation de ces colorants ne serait donc pas à perdre de vue.

Enfin, outre notamment les forces d'adsorption, l'analyse électrophorétique met évidemment en jeu la charge électrique de la molécule; c'est là, pour l'identification d'un colorant, un critère qui pourrait avantageusement être exploité en sus des techniques couramment utilisées.

### *Résumé*

La mobilité électrophorétique de 75 colorants synthétiques hydrosolubles et de quelques colorants naturels a été examinée.

De ces essais, il résulte que l'électrophorèse à haute tension pourrait constituer, en conjonction avec d'autres, une technique acceptable pour l'identification des substances colorantes.

### *Zusammenfassung*

Die elektrophoretische Wanderung von 75 synthetischen, wasserlöslichen und von einigen natürlichen Farbstoffen wurde untersucht.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Hochspannungs-Elektrophorese, in Verbindung mit andern Methoden, eine brauchbare Technik sein könnte, Farbstoffe zu identifizieren.

### *Summary*

The electrophoretic mobilities of 75 synthetic water-soluble dye-stuffs and of some natural dye-stuffs have been examined.

The results of these tests show that high-voltage electrophoresis, in conjunction with other methods, might constitute a useful technique for the identification of dye-stuffs.

### *Références Bibliographiques*

1. *J. Vogel, Mme Floriani, Ch Berner*: Identification des amines contenues dans les teintures pour cheveux. Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène, 1968, vol. 59, Fasc. 1/2 p. 107 à 111.
2. *S. Katz and A. Lewis*: High Voltage Thinlayer electrophoretic Mobilities of Amino-Acids. Anal. Biochem. 17, 1966 (306).
3. *John F. Williams*: The Electrophoretic Isolation of Dye-Stuffs in Foods The Analyst, vol 82, no 972, March 1957, p. 211.