

Séparation et dosage spectrofluorimétrique de l'antranilate de méthyle et du N-méthyl-antranilate de méthyle dans diverses boissons et arômes

Autor(en): **Mérat, E. / Vogel, J.**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **66 (1975)**

Heft 4

PDF erstellt am: **10.08.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-982687>

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.

Kurze Mitteilungen — Communications brèves

**Séparation et dosage spectrofluorimétrique de
l'anthranilate de méthyle et du N-méthyl-anthranilate de
méthyle dans diverses boissons et arômes**

E. Mérat et J. Vogel

Laboratoire cantonal de chimie, Genève

Introduction

Les esters méthyliques de l'acide anthranilique et de l'acide N-méthyl-anthranilique sont présents dans de nombreux végétaux, principalement les agrumes (55—65% de N-méthyl-anthranilate de méthyle [NMAM] dans l'huile essentielle de mandarine petitgrain). L'anthranilate de méthyle (AM) est en outre un constituant aromatique caractéristique de certains types de raisins (*Vitis Lambrusca*, ou raisin Concorde, surtout cultivé aux Etats-Unis) (1, 2, 3).

Nous disposons de relativement peu de données sur la toxicité de ces esters. Le comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires estime la dose journalière acceptable d'anthranilate de méthyle pour l'homme à 0—1,5 mg/kg de poids corporel (4). Le groupe de travail du Conseil de l'Europe sur les substances aromatisantes propose des concentrations maximales admissibles de 60 et 5 ppm respectivement pour l'anthranilate et le N-méthyl-anthranilate de méthyle.

La méthode de dosage généralement préconisée (2, 5) prévoit un entraînement à la vapeur d'eau, suivi d'une diazotation-copulation. L'extinction du colorant formé est mesurée spectrophotométriquement. Il convient de noter que cette technique n'est pas destinée au dosage du N-méthyl-anthranilate de méthyle.

La spectrofluorimétrie nous a paru être une méthode de dosage plus simple, plus rapide et plus sensible que la colorimétrie (6). Elle s'applique également au N-méthyl anthranilate de méthyle.

Principe

Les esters sont séparés des denrées par extraction liquide-liquide à contre-courant (7). Ils sont ensuite séparés des éventuels interférents par chromatographie sur couche mince ou extraction liquide-liquide en profitant des propriétés acide-base de l'anthranilate. Le dosage spectrofluorimétrique est effectué en solution alcoolique.

Appareillage

- appareil d'extraction liquide-liquide à contre-courant selon *Hulstkamp* et *Miserez* (7)
- évaporateur rotatif
- matériel pour chromatographie sur couche mince, avec lampe UV (366 nm), cuves de type «sandwich»
- dispositif de récupération-élution des spots (avec pompe à vide)
- spectrofluorimètre Hitachi-Perkin Elmer, modèle 204, avec enregistreur graphique

Reactifs

- solvants (rectifiés par distillation):
 - éthanol
 - pentane-fraction (® Fluka; Eb 34—37°C; d_4^{20} 0,627)
 - chlorure de méthylène
 - chloroforme
 - benzène
- réactifs minéraux (Merck p. a.):
 - acide chlorhydrique 4 M
 - ammoniaque à 10%
 - silicagel GF 254 pour chromatographie sur couche mince

Mode opératoire

Extraction des esters contenus dans des solutions aqueuses

On utilise l'appareil d'extraction à contre-courant (solvant: pentane-fraction). Masse d'échantillon (jus, sirop, liqueur, etc): 50 g environ.

Après épuisement, le solvant est éliminé (évaporateur rotatif, 40°C) et l'extrait concentré à 0,5 ml.

Séparation des esters par chromatographie sur couche mince (5)

Support de silicagel, séché à l'air, puis activé 60 minutes à 130°C.

Solvant de saturation et migration: benzène + chloroforme (1 + 1). Révélation: fluorescence (bleu-violet) sous excitation à 366 nm.

Rf anthranilate de méthyle	environ 0,2
Rf N-méthyl-anthranilate de méthyle	environ 0,4
Rf sulfate de quinine	0,0

Purification par extraction liquide-liquide

Dans le cas des huiles essentielles d'agrumes, les furocoumarines éventuellement présentes peuvent interférer lors de la séparation par chromatographie sur couche mince, puis du dosage. Il convient alors d'en séparer les esters.

Pour ce faire, on extrait les anthranilates du solvant au moyen d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 4 M (4 à 5 extractions sont nécessaires pour une récupération quantitative du N-méthyl-anthranilate). Les extraits acides sont lavés une fois avec un peu de chlorure de méthylène. Après alcalinisation (ammoniaque à 10%) de la phase aqueuse, les anthranilates sont réextraits au chlorure de méthylène. On évapore le solvant et concentre à 0,5 ml.

Dosage par spectrofluorimétrie

En vue d'une détermination quantitative, il convient de déposer sur la plaque de chromatographie des quantités précises des solutions à analyser (extraits de boissons: 5 μ l; arômes ou huiles essentielles: 1 μ l). L'usage d'étalons internes est recommandé.

Après migration, on recueille les spots des esters (R_f préalablement relevés sous lampe UV à 366 nm) au moyen d'un dispositif approprié: nous utilisons un système de récupération-élution inspiré de celui décrit par Köhler et Eichhoff (8) (voir fig. 1).

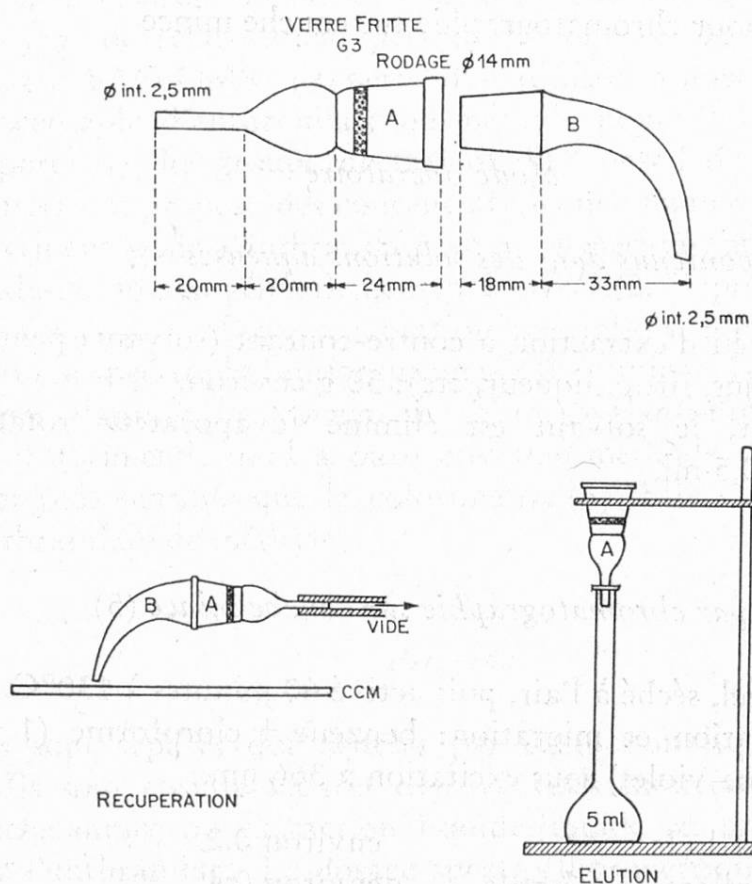


Fig. 1. Dispositif de récupération et élution des spots de chromatographie sur couche mince.

Les esters sont ensuite élués au moyen d'éthanol dans des ballons jaugés de 5 ml (pH neutre ou alcalin). Après avoir établi les spectres d'absorption et d'émission (voir fig. 2), on procède au dosage spectrofluorimétrique.

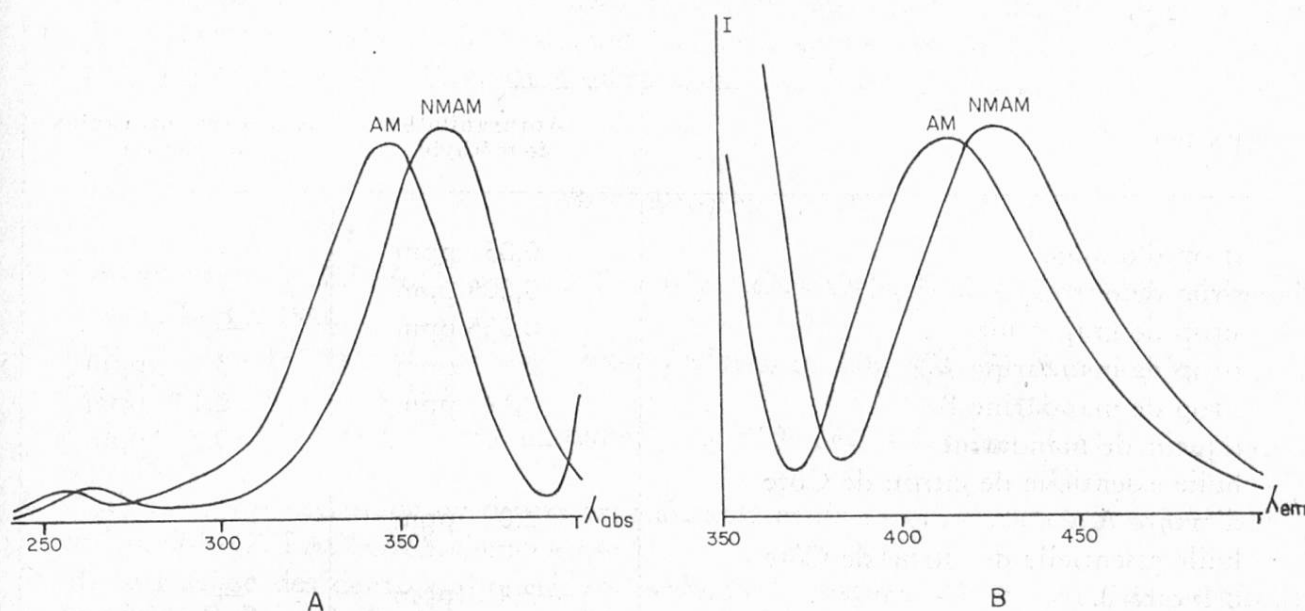


Fig. 2. Spectrofluorimétrie des esters. AM: anthranilate de méthyle; NMAM: N-méthyl-anthranilate de méthyle.

A) spectres d'absorption

B) spectres d'émission

Spectres mesurés dans l'éthanol 90%_v, NH₃ N/10.

Conditions opératoires:

Longueurs d'onde (voir aussi fig. 2)

	Anthranilate de méthyle	N-méthyl-anthranilate de méthyle
Absorption max. (excitation)	345 nm	360 nm
Fluorescence max. (analyse)	410 nm	425 nm

En travaillant au milieu de l'échelle de sensibilité de l'appareil (sensivity 6×1), on obtient des résultats très satisfaisants:

- bonne reproductivité
- mesure à blanc négligeable
- réponse linéaire entre 1 et 40 ng/ml

Résultats

Nous avons dosé par cette méthode l'antranilate de méthyle et le N-méthyl-antranilate de méthyle dans divers produits à usage alimentaire. Les résultats obtenus figurent dans le tableau suivant:

Produit	Antranilate de méthyle	N-méthyl-antranilate de méthyle
sirop d'orange	0,05 ppm	—
sirop de citron	0,008 ppm	—
sirop de grapefruit	0,055 ppm	—
sirop de mandarine A	2 ppm	3 ppm
sirop de mandarine B	0,14 ppm	0,17 ppm
liqueur de mandarine	—	0,2 ppm
huile essentielle de citron de Côte d'Ivoire A	2,0 ppm	—
huile essentielle de citron de Côte d'Ivoire B	2,4 ppm	—
huile essentielle de mandarine	180 ppm	5500 ppm
alcoolat de mandarine	17,5 ppm	185 ppm
arôme de raisin A	35 ppm	15 ppm
arôme de raisin B	3,5 ⁰ / ₀	200 ppm

Résumé

On présente une méthode simple et sensible de séparation et de dosage de l'antranilate de méthyle et du N-méthyl-antranilate de méthyle. Ces esters sont extraits des denrées en phase liquide à contre-courant. Ils sont ensuite séparés des éventuels interférents par chromatographie sur couche mince ou extraction liquide-liquide. Le dosage est effectué par spectrofluorimétrie en solution alcoolique. La méthode a été appliquée au dosage des esters dans divers arômes et boissons.

Zusammenfassung

Eine einfache, empfindliche Trennungs- und Bestimmungsmethode der Methylester der Anthranil- und N-Methylantranilsäuren wird beschrieben. Diese Ester werden aus den Lebensmitteln in flüssiger Phase im Gegenstrom extrahiert. Sie können von störenden Stoffen durch Dünnschichtchromatographie oder flüssig-flüssig Extraktion getrennt werden. Die Bestimmung wird spektrofluorimetrisch in einer alkoholischen Lösung durchgeführt. Diese Methode wurde zur Bestimmung der Ester in verschiedenen Aromen und Getränken angewendet.

Summary

A simple sensitive method is described for the separation and determination of the anthranilic and N-méthyl-anthranilic methyl esters. Extraction of these esters from foodstuffs is carried out using a liquid phase counter-current apparatus, whilst separation from interfering substances when necessary is made by thin layer chromatography or liquid-liquid extraction. The spectrofluorimetric quantitative determination is performed in alcoholic solution. The method has been applied to the determination of the esters in various drinks and flavouring substances.

Bibliographie

1. *Gildemeister, E. und Hoffmann, F.*: Die ätherischen Oele, III d, p. 795, 803. Akademie Verlag, Berlin 1966.
2. *Hart, F. and Fischer, H.*: Modern food analysis, p. 236, 405. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, New York 1971.
3. Fenaroli's handbook of flavor ingredients, p. 502, 660. Chemical Rubber Co, Cleveland 1971.
4. Evaluation toxicologique de divers aromatisants et de certains édulcorants non nutritifs, p. 66—67. FAO/OMS, Genève 1967.
5. Manuel suisse des denrées alimentaires, volume 2, chapitre 43 (en voie de parution).
6. *Sanders, P.P. and Parks, L.W.*: Fluorescence analysis of anthranilic acid. *Anal. Biochem.* **3**, 354—356 (1962).
7. *Hulstkamp, J. et Miserez, A.*: Différenciation des arômes naturels et artificiels par chromatographie gaz-liquide, sans identification des composants. *Trav. chim aliment. hyg.* **57**, 461—484 (1966).
8. *Köhler, M. und Eichhoff, H.-J.*: Eine Schnellmethode zur Bestimmung von mehrkernigen aromatischen Kohlenwasserstoffen in Luftstaub. *Z. anal. Chem.* **232**, 401—409 (1967).

Dr E. Mérat
Dr J. Vogel
Laboratoire cantonal de chimie
Institut d'hygiène
22, quai Ernest Ansermet
CH-1211 Genève 4