

Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène
Band: 67 (1976)
Heft: 4

Artikel: Extraction et dosage par chromatographie en phase gazeuse de -asarone et de a- et -thuyone dans les apéritifs
Autor: Mérat, E. / Martin, E. / Duret, M.
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-982973>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 15.10.2024

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Extraction et dosage par chromatographie en phase gazeuse de β -asarone et de α - et β -thuyone dans les apéritifs

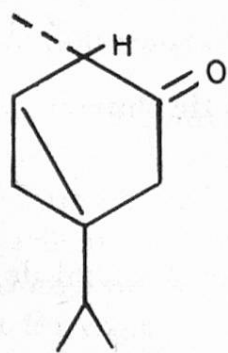
E. Mérat, E. Martin, M. Duret et J. Vogel

Laboratoire cantonal, Genève

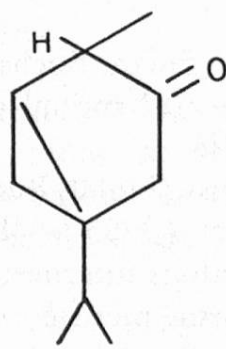
Introduction

La β -asarone (1-2-4,-triméthoxy,5-cis-propenyl-benzène) est le constituant principal de l'huile essentielle d'*Acorus calamus* variété tétraploïde poussant dans certaines régions à climat tropical de l'Inde. Elle n'apparaît pas en quantité notable dans les essences des variétés diploïde et hexaploïde poussant dans les régions tempérées d'Europe et d'Asie. L'usage du rhizome, de l'extrait et de l'essence dans les produits alimentaires est interdit aux Etats-Unis, car la β -asarone provoque des cancers chez le rat (1). Le projet de chapitre 43 du Manuel suisse des denrées alimentaires (2), s'alignant sur les normes proposées par le Conseil de l'Europe (3), propose la limitation de la β -asarone à 1 ppm dans le produit fini. Le rhizome d'*Acorus calamus* peut être présent dans les mélanges de plantes servant à aromatiser les vermouths.

La thuyone existe dans la nature sous deux formes stéréoisomériques: α et β .



α -thuyone
ou
L-thuyone



β -thuyone
ou
d-iso-thuyone

On en trouve dans de nombreuses plantes pouvant entrer dans la fabrication des vermouths: sauge, absinthe, thuya, etc. (4). Sa toxicité est discutée. Aux Etats-Unis, sa présence n'est pas admise dans les denrées alimentaires (5). En Suisse,

la concentration maximale dans les denrées va être fixée à 10 ppm (2). C'est aussi la limite adoptée par le Conseil de l'Europe (3). Les méthodes de détermination de la β -asarone proposées dans le projet de chapitre 43 du Manuel suisse des denrées alimentaires (2) sont celles décrites par *Vashist* et *Handa* (6). *Larry* (1) propose une méthode d'extraction et de dosage dans les vermouths. Elle est fondée sur un entraînement à la vapeur d'eau, suivi d'une extraction liquide-liquide et d'un dosage gaz-chromatographique.

La thuyone peut également être dosée par chromatographie en phase gazeuse. Le Manuel suisse des denrées alimentaires décrit une méthode par distillation du spiritueux à analyser, suivie de la chromatographie du distillat (7). Cette méthode est satisfaisante pour des concentrations en thuyone relativement élevées, mais sa sensibilité est insuffisante pour déterminer des teneurs de l'ordre de 10 ppm.

Notre but a été d'expérimenter ces méthodes pour les adapter au matériel dont nous disposons et aux normes proposées pour la Suisse.

Principe

Les apéritifs sont soumis à une distillation. Les constituants aromatiques sont séparés du distillat par extraction liquide-liquide. Après concentration de l'extrait, le dosage de la thuyone et de l'asarone est fait en une seule chromatographie en phase gazeuse. L'identité des constituants dosés peut être confirmée par chromatographie sur couche mince.

Réactifs et solutions

α -asarone (Sigma Chem. Co, St-Louis, Missouri)

β -asarone: composé principal (90%) d'une huile de calamus (Firmenich & Cie, Genève)

Thuyone α et β (Fluka, Buchs)

Solution-témoin: 0,1 mg/ml de β -asarone et 1 mg/ml de thuyone dans du chloroforme rectifié

n-tridecane puriss (Fluka, Buchs)

n-tricosane pract. ($\geq 95\%$) (Fluka, Buchs)

Solution des étalons internes: 0,1 mg/ml de tricosane et 1 mg/ml de tridecane dans du chloroforme rectifié

Ether diéthylique rectifié par distillation sur sulfate ferreux

Pentane-fraction, ®Fluka, rectifié par distillation

Mélange éther-pentane: 2 volumes d'éther diéthylique + 1 volume pentane fraction

Chloroforme rectifié par distillation

Acétate d'éthyle rectifié par distillation

Ether de pétrole

Benzène Merck p. a.

Méthanol Merck p. a.
Tetrachlorure de carbone Merck p. a.
Acide sulfurique Merck p. a.
Pentachlorure d'antimoine Merck
Silicagel GF 254 Merck
Chlorure de sodium, cristallisé, exempt d'iode
2,4-dinitrophénylhydrazine puriss p. a. Fluka
Solution de 2,4-dinitrophénylhydrazine: 2 g de 2,4-dinitrophénylhydrazine dans
100 ml de méthanol + 4 ml d'acide sulfurique concentré.

Appareillage

Matériel complet pour chromatographie sur couche mince
Lampe U. V., 254 et 366 nm, Camag, type 29300
Appareil de distillation, du type utilisé pour la détermination de l'alcool dans les
vins (8)
Évaporateur rotatif
Ampoules à décanner, 1 L, clés de «teflon»
Chromatographe en phase gazeuse, avec programmation de la température du
four, détecteur à ionisation de flamme et enregistreur graphique: Perkin-
Elmer 900
Colonne de verre ayant les caractéristiques suivantes:
longueur 2 m
diamètre intérieur 2 mm, extérieur 6 mm
remplissage: Carbowax 20 M à 7% sur chromosorb W AW-DMCS 80—100 mesh
gaz vecteur: azote.

Mode opératoire

Extraction de la β -asarone et de la thuyone des apéritifs

Dans un ballon à fond plat de 250 ml, on introduit 100,0 ml de vermouth (densité ~ 1 g/ml), 50 ml d'eau distillée, quelques billes de verre. On distille doucement, la flamme du bunsen directement sous le ballon. Le distillat est récupéré dans un erlenmeyer de 250 ml contenant environ 50 ml d'eau distillée et plongeant dans un bain de glace.

Le distillat est ensuite transféré quantitativement dans une ampoule à robinet de 1000 ml. L'erlenmeyer est rincé plusieurs fois à l'eau distillée et finalement avec 80 ml de solvant (le mélange éther-pentane permet une meilleure extraction que le pentane seul) également transféré dans l'ampoule à robinet. On en dilue le contenu avec de l'eau distillée de façon à obtenir un volume d'au moins 500 ml et on sature la phase aqueuse avec du chlorure de sodium.

On effectue ensuite trois extractions, avec chaque fois 80 ml de solvant (éther-pentane). Les phases organiques sont réunies et lavées une fois avec 50 ml d'eau distillée. On leur ajoute 0,5 ml de la solution contenant les étalons internes.

La solution est évaporée à 40°C, *sans aller à sec*, et concentrée à 0,5 ml.
Rendement des extractions:

β -asarone	$\geq 90\%$ à 0,5 ppm
thuyone	$\geq 80\%$ à 5 ppm

Chromatographie en phase gazeuse

Conditions de température:

manifold et injecteur: 300°C

colonne: 90°C pendant 10 minutes puis augmentation de 8° par minute jusqu'à 190°C

Le four est entrouvert durant 12 minutes, puis fermé.

Gaz-vecteur: azote à 30 ml par minute

Etalons internes:

n-tridecane (alcane C-13) pour thuyone

n-tricosane (alcane C-23) pour β -asarone.

Temps de rétention: (minutes)

tridecane	9,3
α -thuyone	14,6
β -thuyone	15,1
tricosane	34,6
β -asarone	35,8
α -asarone	43,2

Volume injecté: $\leq 2 \mu\text{l}$

Limite de dosage: thuyone, β -asarone: 0,01 ppm

Chromatographie sur couche mince

β -asarone

Support: Silicagel GF254, activé à 130°C

Solvant de migration et de saturation (en cuve «sandwich»): benzène + acétate d'éthyle (95 + 5)

Révélation:

I absorption sous UV à 254 nm

II vaporisation de pentachlorure d'antimoine à 20% (volume) dans le tétrachlorure de carbone. La β -asarone donne une tache jaunâtre.

Rf: 0,5 environ

Limite de détection: révélation I: 0,5 μg ; révélation II: 5 μg

Remarquons ici que la méthode de *Vashist et Handa* (6) ne nous a pas permis de séparer les isomères α et β .

Thuyone

On chromatographie les 2,4-dinitrophenylhydrazones préparées de la manière suivante:

à 0,5 ml d'extrait à analyser, on ajoute 0,1 ml d'une solution de dinitrophenylhydrazine.

Support: Silicagel GF254, activité à 110°C

Solvant de migration et de saturation (en cuve «sandwich»): benzène + éther de pétrole (7 + 3)

Rf: 0,55 et 0,58

Limite de détection: 0,5 µg

Résultats

La méthode a été appliquée à 12 vermouths: 7 rouges et 5 blancs, avec les résultats figurant dans le tableau suivant:

		β -asarone	Thuyone $\alpha + \beta$
Vermouths rouges	A	non décelé	0,6 ppm
	B	non décelé	0,7 ppm
	C	non décelé	0,2 ppm
	D	0,06 ppm	0,6 ppm
	E	non décelé	0,65 ppm
	F	0,20 ppm	0,26 ppm
	G	non décelé	0,10 ppm
Vermouths blancs	A	0,35 ppm	2,2 ppm
	B	non décelé	0,9 ppm
	C	non décelé	1,0 ppm
	D	0,03 ppm	0,6 ppm
	E	non décelé	0,8 ppm

Remerciements

Nous sommes très reconnaissants à M. F. Gautschi de la maison Firmenich & Cie de nous avoir gracieusement fourni la β -asarone.

Résumé

On étudie une méthode d'extraction par distillation et de dosage par chromatographie en phase gazeuse de β -asarone et de thuyone dans les vermouths. L'identification de ces composés est confirmée par chromatographie sur couche mince. Sensibilités: 0,01 ppm pour la chromatographie en phase gazeuse, 0,5 µg pour la chromatographie sur couche mince. Rendement d'extraction: 80—90%.

Zusammenfassung

Es wird eine Extraktionsmethode mittels Destillation und die gaschromatographische Bestimmung von β -Asaron und Thujon im Wermutwein beschrieben. Die Identifizierung der Komponenten wird durch Dünnschichtchromatographie bestätigt.

Empfindlichkeit: 0,01 ppm für GC, 0,5 μ g für DC.

Ausbeute: 80—90%.

Summary

A method is described for extraction by distillation and gas chromatographic quantitative determination of β -asarone and thuyone in vermouths. The identification of these compounds is confirmed by thin layer chromatography. Sensivity: 0,01 ppm for CG, 0,5 μ g for TLC. Recovery: 80—90%.

Bibliographie

1. *Larry, D.*: Gaz-liquid chromatographic determination of β -asarone, a component of oil of calamus in flavors and beverages. *J. Assoc. Offic. Analyt. Chemists* **56**, 1281—1283 (1973).
2. Manuel suisse des denrées alimentaires, projet de chapitre 43 (non publié).
3. Matières aromatisantes naturelles, leurs sources et matières aromatisantes artificielles ajoutées. Conseil de l'Europe, accord partiel dans le domaine social et de la santé publique. Strasbourg, 1973.
4. *Gildemeister, E. und Hoffmann, F.*: Die ätherischen Oele, Vol. IIIc, S. 270—284. Akademie Verlag, Berlin 1968.
5. *Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients*, p. 75—76.
6. *Vashist, V. N. and Handa, K. L.*: A chromatographic investigation of indian calamus oils. *Soap Perfumery Cosmetics* **73**, 135—139 (1964).
7. Manuel suisse des denrées alimentaires, volume 2, chapitre 33, méthode 03. Office central fédéral des imprimés et du matériel, Berne 1967.
8. Manuel suisse des denrées alimentaires, volume 2, chapitre 30, méthode 04. Office central fédéral des imprimés et du matériel, Berne 1967.

Laboratoire cantonal de chimie
Institut d'hygiène
Case postale 109
CH-1211 Genève 4