

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

Band: 77 (1986)

Heft: 3

Artikel: Recherche de colorants alimentaires de type carotène - caroténoïde dans les boissons à base de jus de fruits = Analysis of carotene - carotenoid colours in beverages on fruit juice basis

Autor: Etournaud, A. / Aubort, J.-D.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-983393>

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: 19.11.2024

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

Recherche de colorants alimentaires de type carotène — caroténoïde dans les boissons à base de jus de fruits

Analysis of Carotene — Carotenoid Colours in Beverages
on Fruit Juice Basis

A. Etournaud et J.-D. Aubort
Laboratoire cantonal, Epalinges-Lausanne

Introduction

Pour certaines denrées alimentaires, un renforcement de la coloration peut être obtenu par l'adjonction de colorants dits *naturels* ou *alimentaires*, dont quelques-uns sont produits par synthèse. C'est notamment le cas des boissons à base de jus de fruits, principalement les agrumes, dans lesquelles ce sont généralement du β -carotène de synthèse (E 160a, C. I. 40 800) (1) et/ou des caroténoïdes de synthèse tels que le β -apo-8' caroténal (E 160e, C. I. 40 820), l'ester éthylique de l'acide β -apo-8' caroténique (E 160f, C. I. 40 825) et la canthaxanthine (E 160g, C. I. 40 850), qui sont ajoutés sous forme de préparations dispersables dans l'eau (2).

Jusqu'à présent, ces matières colorantes étaient recherchées dans les jus d'orange et les boissons à base de jus d'orange par photométrie, après séparation par chromatographie sur colonne (1, 3–5), ou par chromatographie sur couche mince (6, 7).

La chromatographie liquide haute performance (HPLC) s'est révélée être une technique beaucoup plus efficace pour la séparation et le dosage de ces substances hautement sensibles à l'oxydation et à la photolyse. Il a été ainsi possible de doser le β -carotène naturel ou ajouté dans les jus d'oranges, en tant que provitamine A, en le séparant des autres carotènes et caroténoïdes présents (8–10).

Le présent travail propose une méthode simple et rapide pour détecter et doser le β -carotène et les caroténoïdes de synthèse additionnés aux boissons à base de jus de fruits, en utilisant la chromatographie HPLC en phase inversée avec élution en régime isocratique. L'utilisation d'un gradient d'élution binaire permet de déceler la présence d'éventuels autres caroténoïdes ajoutés, qu'ils soient naturels ou de synthèse.

Partie expérimentale

Réactifs

Chloroforme p. a. (Merck no 2445).

Acétone pour la chromatographie liquide (Merck no 20).

Sulfate de sodium anhydre p. a. (Merck no 6649).

Solution d'hydroxyde de potassium dans l'éthanol 96% 0,5 mol/l, fraîchement préparée.

Colorants de référence: β -carotène, canthaxanthine, β -apo-8' caroténal, ester éthylique de l'acide β -apo-8' caroténique et bixine (Hoffmann-La Roche, Bâle), zéaxanthine, lutéine et lycopène (Roth), capsantéine (extrait saponifié de paprika).

Solution de standards de référence pour la chromatographie HPLC en régime isocratique: solution dans l'acétone de β -carotène (0,1 mg/ml), canthaxanthine (0,01 mg/ml), β -apo-8' caroténal (0,01 mg/ml) et ester éthylique de l'acide β -apo-8' caroténique (0,01 mg/ml), fraîchement préparée.

Equipement

Tubes à centrifuger de 15 ml et centrifugeuse de table.

Agitateur type «vortex».

Chromatographe HPLC: pompe Spectra-Physics, modèle 8700, injecteur Rheodyne, modèle 7125, avec «loop» de 20 μ l, détecteur spectrophotométrique Perkin-Elmer, modèle LC-75, enregistreur Metrohm, modèle E 478.

Colonnes de HPLC: voir sous «Conditions chromatographiques».

Mode opératoire

Prélever 5 ml d'échantillon à analyser dans un tube à centrifuger, ajouter 1 ml de chloroforme, agiter soigneusement.

Centrifuger, séparer la phase chloroformique au moyen d'une pipette de type «Pasteur» et la faire passer sur une micro-colonne de sulfate de sodium préparée de la manière suivante: placer un très petit tampon d'ouate au début de la partie effilée d'une pipette «Pasteur», ajouter au-dessus 0,5 g de sulfate de sodium, tasser légèrement.

Répéter l'extraction deux ou trois fois, si nécessaire, réunir les extraits dans un ballon «cœur» de 10 ml.

Evaporer à sec sous vide, à une température inférieure à 30 °C, ou au moyen d'un courant d'azote, reprendre le résidu avec 500 μ l d'acétone.

Injecter 20 μl de cet extrait dans le chromatographe HPLC, dans les conditions décrites ci-après. Comparer les temps ou volumes de rétention avec ceux obtenus avec la solution de standards de référence. Quantifier par comparaison des surfaces des pics chromatographiques en utilisant, le cas échéant des standards de référence de différentes concentrations.

Saponification de l'extrait (libération des caroténoïdes naturellement présents sous forme d'esters):

Extraire les colorants au moyen de chloroforme, comme décrit ci-dessus, sans sécher les extraits sur micro-colonne de sulfate de sodium.

Evaporer le chloroforme sous vide, à une température inférieure à 30 °C, ou au moyen d'un courant d'azote, ajouter environ 0,5 ml de solution d'hydroxyde de potassium dans l'éthanol 0,5 mol/l.

Chauffer au bain-marie à 50–60 °C pendant une heure au moins, en agitant de temps en temps.

Ajouter 1,5 ml d'eau et extraire au moyen de chloroforme, comme décrit ci-dessus.

Conditions chromatographiques

Colonne: Supelcosil LC-18 5 μm , longueur 250 mm, diamètre intérieur 4,6 mm (Supelco).

Longueur d'onde de détection: 450 nm.

Elution en régime *isocratique*: éluant acétone-eau 90 : 10 (v/v), débit 2 ml/min.

Gradient d'élution binaire: éluant acétone-eau 70 : 30 (v/v) à 95 : 5 (v/v) en 15 min., linéairement, maintien du mélange 95 : 5 (v/v) pendant 15 min., débit 1 ml/min.

Résultats et discussion

Pour extraire le β -carotène et les caroténoïdes de synthèse des boissons à base de jus de fruits, il n'est pas nécessaire de recourir aux techniques proposées antérieurement pour l'extraction des caroténoïdes totaux (extraction liquide-liquide avec des mélanges éther de pétrole-méthanol (3) ou éther de pétrole-éther-éthanol (4), ou encore co-précipitation avec les réactifs de Carrez et réextraction à l'acétone (11)). Le chloroforme permet une extraction rapide et pratiquement quantitative des colorants recherchés, sans formation d'émulsions. Les extraits obtenus sont suffisamment propres pour éviter une opération de «clean-up», mais le remplacement du chloroforme par l'acétone est indispensable pour réaliser l'analyse chromatographique.

Comme le montre la figure 1, la séparation du β -carotène et des trois caroténoïdes de synthèse les plus couramment utilisés par chromatographie HPLC peut être réalisée en moins de 12 minutes en régime *isocratique*, avec l'éluant proposé

par Lange (12). Dans ces conditions, les colorants naturels tels que la lutéine (et ses esters), la zéaxanthine (et ses esters), le lycopène et la bixine n'interfèrent pas avec les colorants de synthèse recherchés. La figure 2 illustre le chromatogramme obtenu avec l'extrait d'une boisson de table gazéifiée et sucrée contenant 10% de jus d'orange.

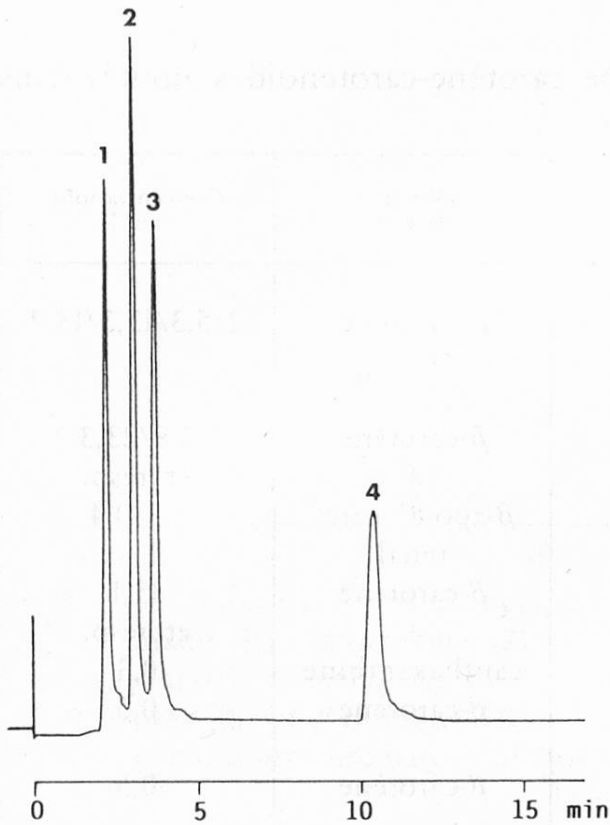


Fig. 1. Séparation par chromatographie HPLC en phase inversée et régime isocratique d'un mélange de canthaxanthine (1), β -apo-8' caroténal (2), ester éthylique de l'acide β -apo-8' caroténique (3) et β -carotène (4).
Conditions chromatographiques: voir partie expérimentale

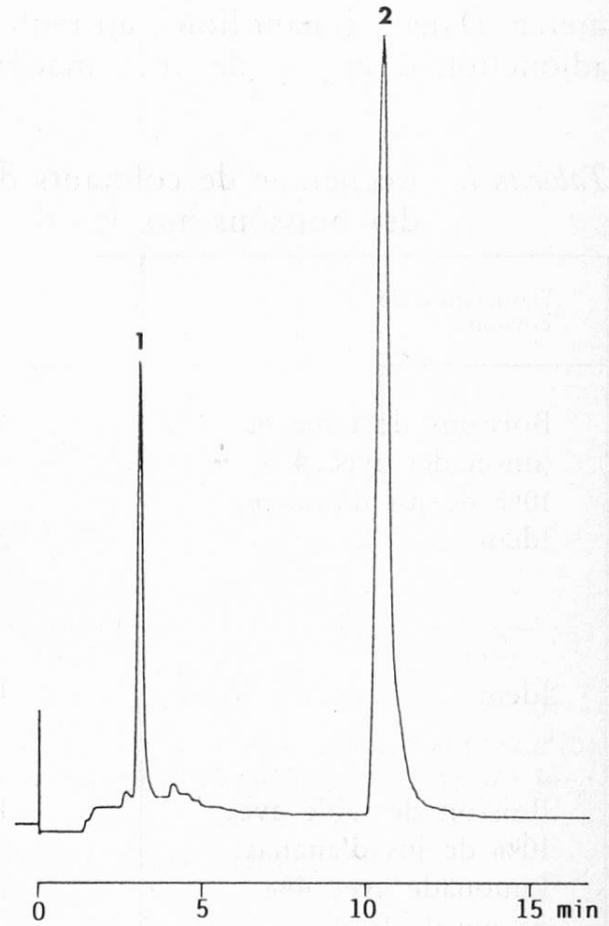


Fig. 2. Chromatographie HPLC de l'extrait d'une boisson de table contenant 10% de jus d'orange, colorée avec du β -apo-8' caroténal (1, 0,4 mg/l) et du β -carotène (2, 23,5 mg/l).
Conditions chromatographiques identiques à celles de la figure 1

L'adjonction de colorant ne fait pas de doute lorsque la canthaxanthine ou l'ester éthylique de l'acide β -apo-8' caroténique sont détectés, ces colorants étant absents à l'état naturel dans les jus de fruits. Le β -apo-8' caroténal, par contre, est naturellement présent en faibles quantités dans l'écorce de certains agrumes (13, 14). L'adjonction de β -carotène n'est certaine que lorsque la teneur déterminée dépasse significativement la teneur naturelle du jus de fruit (corrigée par la

teneur en jus de fruit de la boisson examinée). Ce mode d'appréciation est tout aussi satisfaisant que celui basé sur la mesure du rapport β -carotène/caroténoïdes totaux (3–5), limité aux jus d'agrumes, et vraisemblablement difficile à appliquer à des boissons ne contenant que 4 à 10% de jus.

La technique décrite a été appliquée à l'examen de 22 échantillons de jus de fruits dilués, nectars, boissons de table et limonades aux jus de fruits du commerce. Dans 9 échantillons, un renforcement de la coloration a été décelé, par adjonction d'une ou de deux matières colorantes (tableau 1).

Tableau 1. Recherche de colorants de type carotène-caroténoïdes ajoutés dans des boissons aux jus de fruits.

Désignation de la boisson	Nombre d'échantillons	Colorants décelés	Concentrations (mg/l)
Boissons de table et limonades avec 4 à 10% de jus d'orange	4	β -carotène	2/5,3/13,3/13,9
Idem	2	β -carotène + β -apo-8' caroténal	5,9/23,3 et resp. 1,2/0,4
Idem	1	β -carotène + canthaxanthine	13,1 et resp. 0,3
Boisson de table avec 10% de jus d'ananas	1	β -carotène	0,5
Limonade avec 4% de jus de fruit de la passion	1	β -carotène	0,5

Très logiquement, le renforcement de la coloration concerne avant tout des boissons ne contenant qu'une faible proportion (4 à 10%) de jus de fruits, principalement l'orange, mais également l'ananas et le fruit de la passion.

Le renforcement de la coloration des jus de fruits et boissons dérivées pourrait être aussi obtenu par adjonction d'autres colorants naturels ou d'extraits végétaux colorants. Pour les jus d'orange, *Benk* (7) mentionne, entre autres, le lycopène, la bixine et la capsantéine, *Rother* (15) celle de l'extrait de paprika et *Wild* (16) celle de l'extrait de tagètes (*Tagetes erecta*).

Si la présence de telles matières colorantes est suspectée, l'emploi de la chromatographie HPLC avec gradient d'élution binaire acétone-eau (12) permet la séparation de 9 carotènes et caroténoïdes (fig. 3). La lutéine est cependant mal séparée de la zéaxanthine. Lors de l'adjonction d'extraits de tagètes ou de paprika,

il est nécessaire, avant l'analyse chromatographique, de libérer les caroténoïdes lutéine et capsantéine de leurs esters par saponification au moyen d'hydroxyde de potassium 0,5 mol/l dans l'éthanol, à chaud.

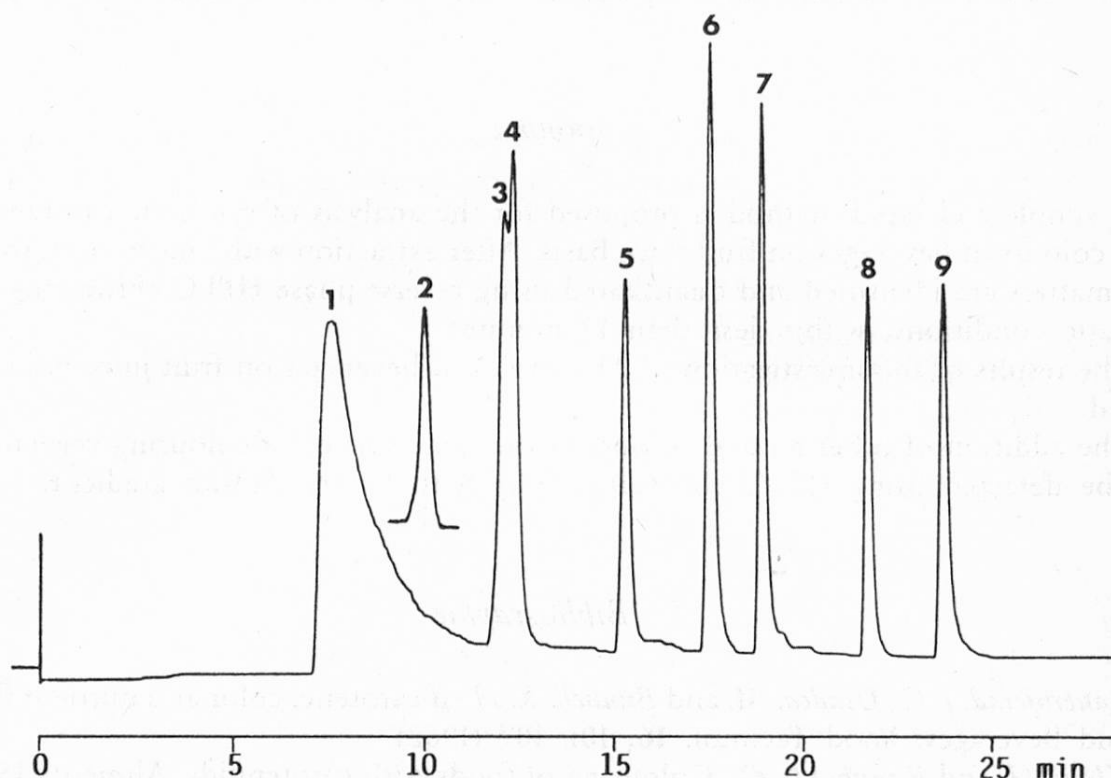


Fig. 3. Séparation par chromatographie HPLC, avec gradient d'élution binaire, de la bixine (1), capsantéine (2), zéaxanthine (3), lutéine (4), canthaxanthine (5), β -apo-8' caroténal (6), ester éthylique de l'acide β -apo-8' caroténique (7), lycopène (8) et β -carotène (9).

Conditions chromatographiques: voir partie expérimentale

Résumé

Une méthode simple et rapide est décrite pour la recherche des colorants de type carotène-caroténoïde synthétiques dans les boissons à base de jus de fruits. Après extraction au moyen de chloroforme, les colorants sont identifiés et dosés par chromatographie HPLC en phase inversée, avec régime d'élution isocratique, en moins de 12 minutes.

Les résultats de l'examen de 22 échantillons de boissons de table et limonades aux jus de fruits du commerce sont présentés.

L'adjonction d'autres colorants naturels ou d'extraits végétaux colorants peut être décelée par chromatographie HPLC avec un gradient d'élution binaire.

Zusammenfassung

Eine einfache und schnelle Methode für den Nachweis synthetischer Carotin- und Carotinoidfarbstoffe in Fruchtsaftgetränken wird beschrieben. Nach einer Chloroformextraktion werden die Farbstoffe chromatographisch, durch reversed-phase HPLC, unter isokratischen Bedingungen identifiziert und bestimmt.

Die Untersuchungsergebnisse von 22 Proben von Tafelgetränken und Fruchtsaftlimonaden aus dem Handel werden angegeben.

Die Zugabe anderer natürlicher Farbstoffe oder färbender pflanzlicher Extrakte kann durch HPLC mit binärem Elutionsgradienten nachgewiesen werden.

Summary

A simple and rapid method is proposed for the analysis of synthetic carotene-carotenoid colours in beverages on fruit juice basis. After extraction with chloroform, the colouring matters are identified and quantitated using reverse-phase HPLC chromatography in isocratic conditions, within less than 12 minutes.

The results of the investigation of 22 samples of beverages on fruit juice basis are presented.

The addition of other natural colours of the same sort or of colouring vegetal extracts can be detected using HPLC chromatography with binary elution gradient.

Bibliographie

1. Bauernfeind, J. C., Osadca, M. and Bunnell, R. H.: β -carotene, color and nutrient for juices and beverages. *Food Technol.* **16**, 101–107 (1962).
2. Kläui, H. and Raunhardt, O.: Colouring of foods with carotenoids. *Alimenta* **15**, 37–45 (1976).
3. Benk, E.: Über den Nachweis des Zusatzes von β -Carotin in Orangensäften und deren Zubereitungen. *Dtsch. Lebensm.-Rdsch.* **57**, 324–329 (1961).
4. Rother, H.: Über die Bestimmung von Carotin und Carotinoiden in Orangensäften. *Mineralwasser-Ztg.* **14**, 771–782 (1961) et Weitere Untersuchungen über das Verhältnis von Carotin zu den Carotinoiden und neue Möglichkeiten zur Färbung von Säften und Getränken. *Mineralwasser-Ztg.* **15**, 65–73 (1962).
5. Higby, W. K.: Analysis of orange juice for total carotenoids, carotenes and added β -carotene. *Food Technol.* **17**, 95–99 (1963).
6. Benk E.: Über den Nachweis fremder Carotinoide in Orangensäften und daraus hergestellten Getränken mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie. *Mineralwasser-Ztg.* **16**, 200 (1963).
7. Benk, E., Wolff, I. und Treiber, H.: Nachweis fremder Carotinoide in Orangensäften mittels Dünnschichtchromatographie. *Dtsch. Lebensm.-Rdsch.* **59**, 39–42 (1963).
8. Reeder, S. K. and Park, G. L.: A specific method for the determination of provitamin A carotenoids in orange juice. *J. Assoc. Off. Anal. Chemists* **58**, 595–598 (1975).
9. Stewart, I.: Provitamin A and carotenoid content of citrus juices. *J. Agric. Food Chem.* **25**, 1132–1137 (1977).
10. Stewart, I.: High performance liquid chromatographic determination of provitamin A in orange juice. *J. Assoc. Off. Anal. Chemists* **60**, 132–136 (1977).
11. Waltrauch, S.: Verfahren zur Isolierung der Carotinoide aus Säften und Getränken. *Flüssiges Obst* **52**, 64–66 (1984).
12. Lange, K.: Trennung von Carotinoiden mit Hilfe der HPLC. Dissertation an der Friedrich-Alexander-Universität, Erlangen-Nürnberg 1976.

13. Koch, J. und Sajak, E.: Über Naturfarbstoffe in Citrusfrüchten. Z. Lebensm.-Unters. Forsch. **126**, 260–271 (1964–1965).
14. Stewart, I. and Leuenberger, U. B.: Citrus color. Alimenta **15**, 33–36 (1976).
15. Rother, H.: Nachweis eines Zusatzes von Paprika-Extrakt zu orangensafthaltigen Erfrischungsgetränken. Naturbrunnen **12**, 298 (1962).
16. Wild, R. und Dobrovoly, H.: Über den Nachweis von Tagetes-Extrakten in Orangenprodukten mittels Hochdruckflüssigkeits-Säulenchromatographie (HPLC). Brauwissenschaft **29**, 93–100 (1976) et Der Nachweis von Xanthophyll-Diestern in mit Tagetes-Extrakten versetzten Orangenölen. Dtsch. Lebensm.-Rdsch. **77**, 245–248 (1981).

Dr A. Etournaud
Prof. Dr J.-D. Aubort
Laboratoire cantonal
Les Croisettes
CH-1066 Epalinges