HPLC-Bestimmung organischer Verunreinigungen in synthetischen Lebensmittelfarbstoffen = HPLC determination of organic impurities in synthetic food colours

Autor(en): **Ramseier, C. / Schüpbach, M. / Séquin, U.**

Objekttyp: **Article**

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

Band (Jahr): **78 (1987)**

Heft 3-4

PDF erstellt am: **05.06.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-982993

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.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **78**, 401–406 (1987)
Eingegangen 3. September 1987. Angenommen 17. September 1987

HPLC-Bestimmung organischer Verunreinigungen in synthetischen Lebensmittelfarbstoffen*

HPLC Determination of Organic Impurities in Synthetic Food Colours

C. Ramseier, M. Schüpbach und *U. Séquin*
Kantonales Laboratorium Basel-Stadt/
Organisch-chemisches Institut der Universität Basel

Einleitung

Bestimmungsmethoden für primäre aromatische Amine (2, 3) sowie für andere fettlösliche Verunreinigungen (4) in synthetischen Lebensmittelfarbstoffen sind schon publiziert worden. Die einen sind erwiesene Karzinogene (5) und die anderen haben meist ebenfalls eine hohe Toxizität (4).

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die Entwicklung einer Methode, die die gleichzeitige Bestimmung von primären aromatischen Aminen, von Chinolinderivaten in Chinolingelb und von tertiären Aminen in Triphenylmethanfarbstoffen (Patentblau V & Brillantsäuregrün BS) erlauben sollte.

Dies kann erreicht werden, indem im Gegensatz zu früheren Arbeiten eine C-18-Umkehrphasensäule benutzt wird. Durch einen Eluentgradienten (Phosphatpuffer-Acetonitril) werden zuerst die primären aromatischen Amine und die Chinolinderivate, dann die tertiären Amine und andere etherlösliche Synthese-Zwischenprodukte eluiert. An der Extraktion (2, 4) wurde nichts geändert, ausser dass die mit Farbstoff beladene Extrelutsäule mit Ether und mit Methylenchlorid eluiert wird.

Es wurden im Anschluss an die Methodenentwicklung 21 Handelsproben von in der Schweiz erlaubten vollsynthetischen Lebensmittelfarbstoffen analysiert (Tabelle 1 und 2).

Resultate und Diskussion

Das erhaltene Chromatogramm (siehe Abb. 1) zeigt bei einer Laufzeit von ca. 30 Minuten gut aufgetrennte Peaks. Die Wiederfindungsrate (3 parallele Bestimmungen) ergab 85–107%.

* Diese Arbeit ist ein Teil der Inaugural-Dissertation von C. Ramseier (1).

Tabelle 1. Gehalt an primären aromatischen Aminen in 21 Farbstoffhandelsproben

Gefundene Menge an primären aromatischen Aminen	Anzahl Farbstoffproben mit					
	primären aromat. Aminen	Anilin	Benzidin	p-Toluidin	Naphthylamin	4-Aminobiphenyl
< 1 ppm	13	17	18	21	20	19
1– 4 ppm	4	2	2	–	1	1
4–10 ppm	1	–	1	–	–	1
10–20 ppm	3	2	–	–	–	–
>20 ppm	–	–	–	–	–	–

Tabelle 2. Gehalt an farbstoffspezifischen Verunreinigungen in Chinolingelb-, Patentblau V- & Brillantsäuregrün BS-Handelsproben (nn = nicht nachweisbar, -- = keine Probe vorhanden)

Verunreinigungen	Gehalt in Probe (ppm) A	B	Nachweisgrenze (ppm)
– *in Chinolingelb*			
2,6-Dimethylchinolin	nn	nn	0,9
2-Methylchinolin	1	58	0,4
– *in Patentblau V*			
N,N-Diethylanilin	4,7	nn	0,4
– *zu Brillantsäuregrün BS*			
Arnold'sche Base	78	--	0,8
Michler's Hydrol (Carbinol)	8	--	1,6
Michler's Keton	183	--	0,5
N,N-Dimethylanilin	nn	--	0,4

Die Linearität im Bereich von 1–500 ng erwies sich als brauchbar (Korrelationskoeffizient: 0,994–0,9998). Die Nachweisgrenze betrug 0,07–0,9 ppm, bezogen auf den Farbstoff, bei einem Signal/-Rausch-Verhältnis von > 5:1.

Bei den primären aromatischen Aminen enthielt keine Farbstoffprobe Mengen, die höher als die in der Europäischen Gemeinschaft (EG) gültigen Grenzwerte waren (100 ppm), welche allerdings problematisch hoch angesetzt zu sein scheinen: immerhin handelt es sich bei dieser Substanzklasse um humankarzinogene Verbindungen (5).

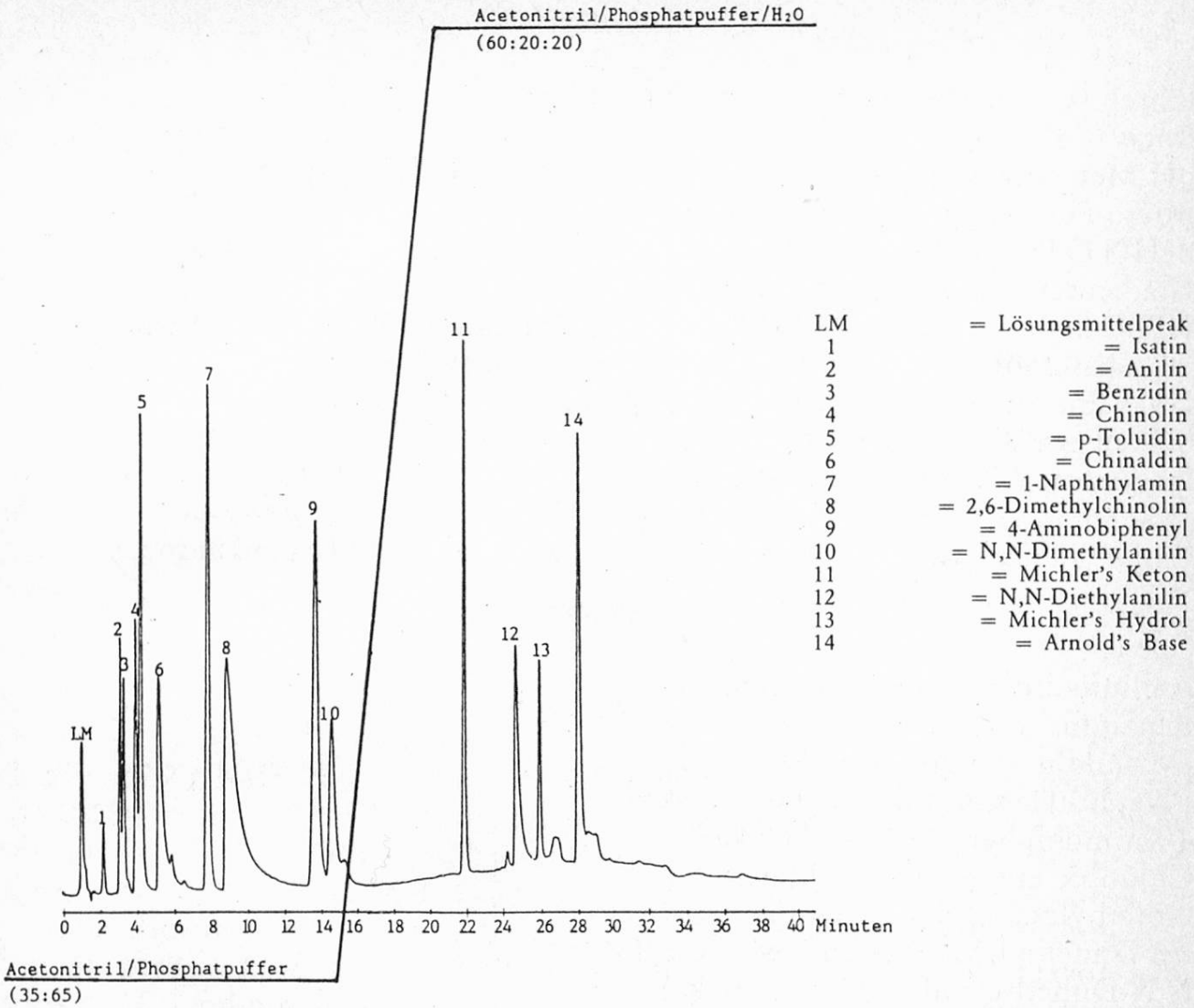

Abb. 1. HPLC-Chromatogramm von organischen Verunreinigungen in synthetischen Lebensmittelfarbstoffen

Experimenteller Teil

Reagenzien

Diethylether Ph. H. VI frisch über Eisen(II)sulfat destilliert
Methylenchlorid zur Analyse (Merck)
Natronlauge 2 n (aus Titrisol, Merck)
Natronlauge 20% (m/v aus NaOH zur Analyse, Merck)
Salzsäure 0,1 n (Titrisol, Merck)
Acetonitril zur Analyse (Merck)
Natriumdihydrogenphosphat zur Analyse (Merck)
Methanol zur Analyse (Merck)

Geräte

Extrelutsäulen (Merck)
Rotavap-R (Büchi)
pH-Meter (605, Metrohm) inkl. pH-Glaselektrode (Orion)
Micro-Filtrierapparatur inkl. FALP-Filter 1 μm (Millipore)
2 HPLC-Pumpen (T-414, Kontron)
Gradientensystem (400 + 420, Altex)
HPLC-Stahltrennsäule 250 × 4,6 mm, gefüllt mit ODS-Hypersil, 5 μm (Shandon)
UV-VIS-Detektor (Lambda 1, Perkin-Elmer)
Schreiber (W + W 600, Tarkan)
Integrator (SP-4000, Spectra-Physics)

Standards

Anilinhydrochlorid puriss. (Fluka)
Benzidin zur Analyse (Merck)
p-Toluidin zur Analyse (Merck)
1-Naphthylamin zur Analyse (Merck)
4-Aminobiphenyl puriss. (Fluka)
Chinolin zur Synthese (Merck)
2-Methylchinolin zur Synthese (Merck)
2,6-Dimethylchinolin zur Synthese (Merck)
N,N-Dimethylanilin puriss. (Fluka)
N,N-Diethylanilin puriss. (Fluka)
N,N,N',N'-Tetramethyl-4,4'-diamino-diphenylmethan (Arnolds Base) puriss. (Fluka)
4,4'-Bis-(dimethylamino)-diphenylcarbinol (Michler's Hydrol) puriss. (Fluka)
Michler's Keton (4,4'-Bis(dimethylamino)benzophenon) puriss. (Fluka)

Farbstoffhandelsproben

Je 1 Handelsprobe von folgenden Farbstoffen von 2 verschiedenen Produzenten A & B:

- Tartrazin (C.I. 19140, E 102)
- Chinolingelb (C.I. 47005, E 104)
- Gelborange S (C.I. 15985, E 110)
- Azorubin (C.I. 14720, E 122)
- Amaranth (C.I. 16185, E 123)
- Ponceau 4R (C.I. 16255, E 124)
- Erythrosin (C.I. 45430, E 127)

– Patentblau V (C.I. 42051, E 131)
– Indigotin (C.I. 73015, E 132)
– Brillantsäuregrün BS (C.I. 44090, E 142): nur 1 Probe
– Brillantschwarz BN (C.I. 28440, E 151)

Extraktion (nach (1))

1 g Farbstoff, genau abgewogen, wird in 15 ml entionisiertem Wasser aufgeschlämmt. Dazu wird 1 ml 20% NaOH gegeben. Die Suspension wird mit Hilfe von wenig NaOH 2 n auf die Extrelutsäule gebracht. Nach ca. 15 Minuten wird die Säule mit 100 ml Ether und danach mit 50 ml Methylenchlorid eluiert; im Auffangkolben werden 5 ml 0,1 n HCl vorgelegt. Die Elutionsmittel werden am Rotavap abgedampft und die übrigbleibende Lösung mit 0,1 n HCl auf 5,0 ml gestellt.

Chromatographie

Puffer: 27,2 g NaH_2PO_4 werden mit ca. 800 ml entionisiertem Wasser gelöst, mit 20% NaOH auf pH = 6,0 eingestellt und mit Wasser auf 1000 ml gebracht.
Eluent A : 650 ml Puffer + 350 ml Acetonitril
Eluent B : 200 ml Puffer + 200 ml Wasser + 600 ml Acetonitril

Die Eluenten werden filtriert und mit Ultraschall oder Helium entgast.

Die Standards werden in Methanol gelöst (100–500 mg/100 ml). Davon wird eine 1:100-Verdünnung in Eluent A gemacht. Es werden 10 μl eingespritzt.

HPLC-Bedingungen:
– Einspritzvolumen: 2–10 μl
– Fluss: 2 ml/min
– Eluentenprogramm: 15 min bei 100% Eluent A
5 min von 0 auf 100% B
15 min bei 100% Eluent B
– Messwellenlänge: 254 nm
– Schreiber: 20 mV, 0,5 cm/min

Zusammenfassung

Für die gleichzeitige Bestimmung von primären aromatischen Aminen, Chinolinderivaten und tertiären aromatischen Aminen (und Derivate) in vollsynthetischen Lebensmittelfarbstoffen wurde eine HPLC-Methode entwickelt, wobei eine C-18-Umkehrphasensäule mit UV-Detektion verwendet wurde.

21 Farbstoffhandelsproben wurden auf diese Verunreinigungen untersucht. Die Resultate sind in den Tabellen 1 und 2 angegeben.

Résumé

Une méthode HPLC permettant la détermination simultanée d'amines primaires aromatiques, des dérivés de quinoléine et d'amines tertiaires aromatiques (et dérivés) dans les colorants alimentaires entièrement synthétiques a été développée. Une colonne à phase inversée C-18 avec détection UV a été utilisée. 21 échantillons de colorants du commerce ont été analysés. Les résultats sont indiqués dans les tables 1 et 2.

Summary

A HPLC method has been developed to allow the simultaneous determination of primary aromatic amines, quinoline derivatives and tertiary aromatic amines (and derivatives) in fully synthetic food colours. A C-18 reversed-phase column with UV detection was used. 21 commercial samples of food colours were analyzed. The results are summarized in tables 1 and 2.

Literatur

1. *Ramseier, C.:* Zur Analytik der vollsynthetischen, in der Schweiz erlaubten Lebensmittelfarbstoffe. Inaugural-Dissertation, Universität Basel 1986.
2. *Hunziker, H. R.* und *Miserez, A.:* HPLC-Bestimmung primärer aromatischer Amine in synthetischen Farbstoffen für Lebensmittel. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **72**, 216–223 (1981).
3. *Stavric, B., Klassen, R.* and *Miles, W.:* Gas-liquid chromatographic mass spectrometric determination of α- and β-naphthylamines in FD & C Red No. 2 (Amaranth). J. Assoc. Offic. Analyt. Chemists **62**, 1020–1026 (1979).
4. *Hunziker, H. R.* und *Zimmerli, B.:* Bestimmung organischer Verunreinigungen in synthetischen Lebensmittelfarbstoffen. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **74**, 121–131 (1983).
5. *Forth, W., Henschler, D.* und *Rummel, W.:* Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, 4. Auflage, S. 619–633. B.I.-Wissenschaftsverlag, Mannheim/Wien/Zürich 1983.

Dr. C. Ramseier
Kantonales Laboratorium Basel-Stadt
Kannenfeldstrasse 2
CH-4012 Basel