

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

**Herausgeber:** Bundesamt für Gesundheit

**Band:** 78 (1987)

**Heft:** 3-4

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

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

**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-982993>

### **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:** 17.02.2025

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

## 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) würde nichts geändert, ausser dass die mit Farbstoff beladene Extraktionsäule 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)		Nachweisgrenze (ppm)
	A	B	
– in <i>Chinolingelb</i>			
2,6-Dimethylchinolin	nn	nn	0,9
2-Methylchinolin	1	58	0,4
– in <i>Patentblau V</i>			
N,N-Diethylanilin	4,7	nn	0,4
– zu <i>Brillantsäuregrün BS</i>			
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).

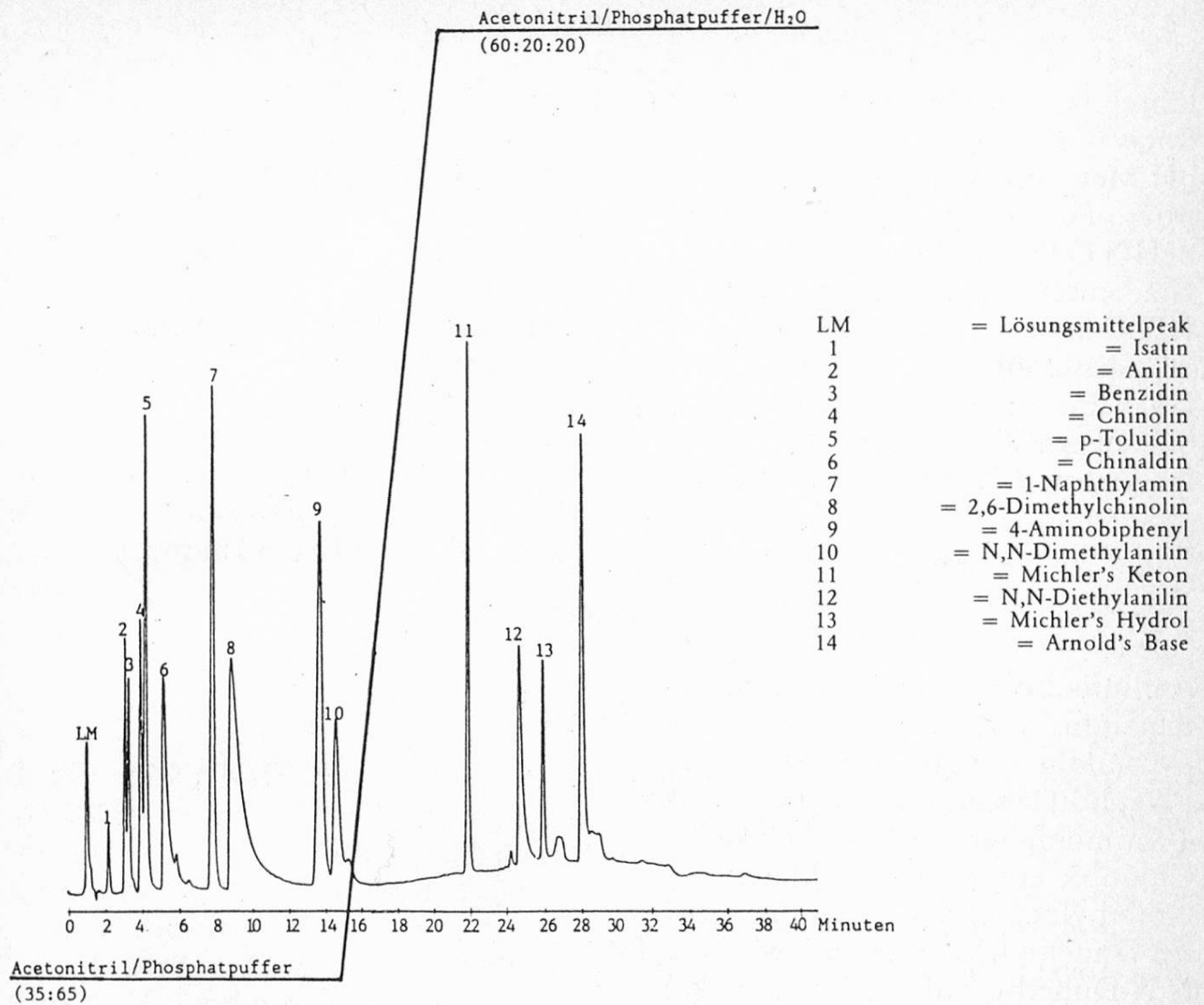


Abb. 1. HPLC-Chromatogramm von organischen Verunreinigungen in synthetischen Lebensmittelfarbstoffen

## 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  $1\ \mu\text{m}$  (Millipore)  
2 HPLC-Pumpen (T-414, Kontron)  
Gradientensystem (400 + 420, Altex)  
HPLC-Stahltrennsäule  $250 \times 4,6\ \text{mm}$ , gefüllt mit ODS-Hypersil,  $5\ \mu\text{m}$   
(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  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  werden mit ca. 800 ml entionisiertem Wasser gelöst, mit 20% NaOH auf  $\text{pH} = 6,0$  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  $\mu\text{l}$  eingespritzt.

HPLC-Bedingungen:

- Einspritzvolumen: 2–10  $\mu\text{l}$
- 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  $\alpha$ - and  $\beta$ -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