

Druckfarben für Verpackungen

Qualitätssicherung: Strukturaufklärung von unbekanntem Substanzen in Pigmentformulierungen

Immanuel Yüce und Gertrud Morlock

Die Sicherung der Qualität von Druckfarben für Lebensmittelverpackungen ist für die Lebensmittelsicherheit und für die Gesundheit der Konsumenten zunehmend von Bedeutung. Die Aufklärung von vorhandenen Kontaminanten und Verunreinigungen erfordert robuste Trennverfahren und die Kombination verschiedenartiger Detektoren, um zügig Lösungen auf molekularer Ebene zu finden.



Immanuel Yüce

» Zur Person

Chemiker (MSc), Doktorand am Lehrstuhl für Lebensmittelwissenschaften an der Justus-Liebig-Universität Gießen seit 2016 «

Eine schnelle und zuverlässige Qualitätskontrolle von chemischen Formulierungen, wie Pigmentformulierungen, ist wichtig für eine gleichbleibende Qualität der resultierenden Produkte. Darin unbekannte Stoffe erhalten eine besondere Aufmerksamkeit, da von ihnen eine potenzielle Gefahr ausgeht. Jedoch macht die Schwerlöslichkeit von Pigmenten die Strukturaufklärung mit säulenchromatographischen Trenntechniken zu einer anspruchsvollen Aufgabe. Hingegen kann die Planar-Chromatographie mit schwerlöslichen Suspensionen sehr gut umgehen [1]. Auch ist die große Auswahl und Flexibilität der einsetzbaren Detektionsmöglichkeiten von sehr großem Nutzen für die Sicherheit der Produkte.

Strukturaufklärung mittels Planar-Chromatographie

Der erforderliche Arbeitsaufwand für die Strukturaufklärung mittels Planar-Chromatographie wurde überdacht und konzeptionell sowie zeitlich optimiert. Somit waren zur Strukturaufklärung einer unbe-

kannten Verbindung aus einer Pigmentformulierung (Pigment Red 57:1) nur zwei Chromatographieläufe bzw. Platten erforderlich. Für die Untersuchungen mit Kernspinresonanz(NMR)- und Fourier-Transform-Infrarot(FTIR)-Spektroskopie reichte die Trennung auf einer präparativen Kieselgelplatte (Schichtdicke 0,5 mm) aus. Für die hochauflösende Massenspektrometrie (HRMS), Tandem-Massenspektrometrie (MS²) sowie UV/Vis-Spektroskopie wurde eine analytische Kieselgelplatte verwendet. Die Pigmentformulierung wurde dank einer Gradiententwicklung (automatisierte Mehrfachentwicklung im AMD-2-System) in scharfe Banden aufgetrennt, was vor allem für die präparative Trennung von Vorteil war. Eine höchstmögliche Beladung mit Probe ist Voraussetzung, um eine maximale Menge des Zielmoleküls für aussagekräftige NMR-Spektren von Minorkomponenten oder Verunreinigungen im Spurenbereich zu erhalten. Eine 9-fache Steigerung der Ausbeute war durch die Kombination aus selektiver Lösungsmittelextraktion, höchstmög-

licher Beladung der präparativen Schicht und Gradiententwicklung für die Strukturaufklärung von 3-Hydroxy-2-naphthol-säure zielführend. Diese Herangehensweise trägt zu einer zügigen und damit effektiven Strukturaufklärung bei.

Hintergrund

Pigmentformulierungen sind anspruchsvolle und matrixreiche Mischungen, denen meist Lösungsmittel, Harze, Farbstoffe, Fettsäuren, UV-Absorber und Weichmacher zugesetzt wurden. Druckfarben-Hersteller müssen mit regelmäßigen Kontrollen den gesetzlichen Bestimmungen entsprechen, um eine Migrationsgefahr von potenziell gefährlichen Substanzen durch das Verpackungsmaterial zu erkennen [2]. Folglich steht die strukturelle Aufklärung von unbekanntem Verbindungen, wie Kontaminanten oder Verunreinigungen, im Fokus. Zuverlässige und robuste Analyseverfahren sind dazu unerlässlich. Die Kombination von HPTLC mit wirkungs-

bezogener Detektion ermöglicht eine Einschätzung der Gefährlichkeit unbekannter Verbindungen.

Zur Pigmentanalytik wurden bisher (Hochleistungs-)Dünnschichtchromatographie (TLC/HPTLC) [3], Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC) [4] und Pyrolyse-Gaschromatographie [5] angewandt. Obwohl Pigmente schwerlöslich sind, kann die HPTLC diese Herausforderung gut bewältigen, hingegen setzen sich HPLC-Säulen zu und die Analytik ist zeitaufwendiger [6]. Für die Struk-

Dieses Projekt entstand in Zusammenarbeit mit der Firma Siegwerk (www.siegwerk.com), einem internationalen, marktführenden Hersteller von Druckfarben für Verpackungen aller Art und Publikationen (Zeitungen, Zeitschriften und Kataloge). Seit seiner Gründung im Jahr 1830 befindet sich das Unternehmen in Familienbesitz und hat seinen Hauptsitz in Siegburg bei Köln. Mit 4 800 Mitarbeitern weltweit erwirtschaftete Siegwerk 2014 einen Umsatz von rund einer Milliarde Euro.

Das Standardwerk der Lebensmitteltechnologie!

Neu

Grundzüge der Lebensmitteltechnik

H.-D. Tscheuschner
4. Auflage 2017, 170 x 240mm,
HC, 848 Seiten
ISBN: 978-3-95468-412-0
€ 149,50 zzgl. MwSt.



Es erläutert Ihnen alle stofflichen und prozesstechnischen Aspekte, die für die Lebensmittelherstellung von Bedeutung sind. Darüber hinaus verknüpft es diese und zeigt Ihnen, welchen Einfluss dies auf die Eigenschaften eines Produktes hat. Alle wichtigen Rohstoffe sowie ihre Verarbeitungsprozesse werden ausführlich dargestellt. Dieses Buch sollte jeder besitzen, der sich mit der Lebensmittelherstellung befasst!

BEHR'S...VERLAG

Averhoffstraße 10 · 22085 Hamburg
Telefon: 040 - 227 00 80 · Fax: 040 - 220 10 91
E-Mail: info@behrs.de · www.behrs.de

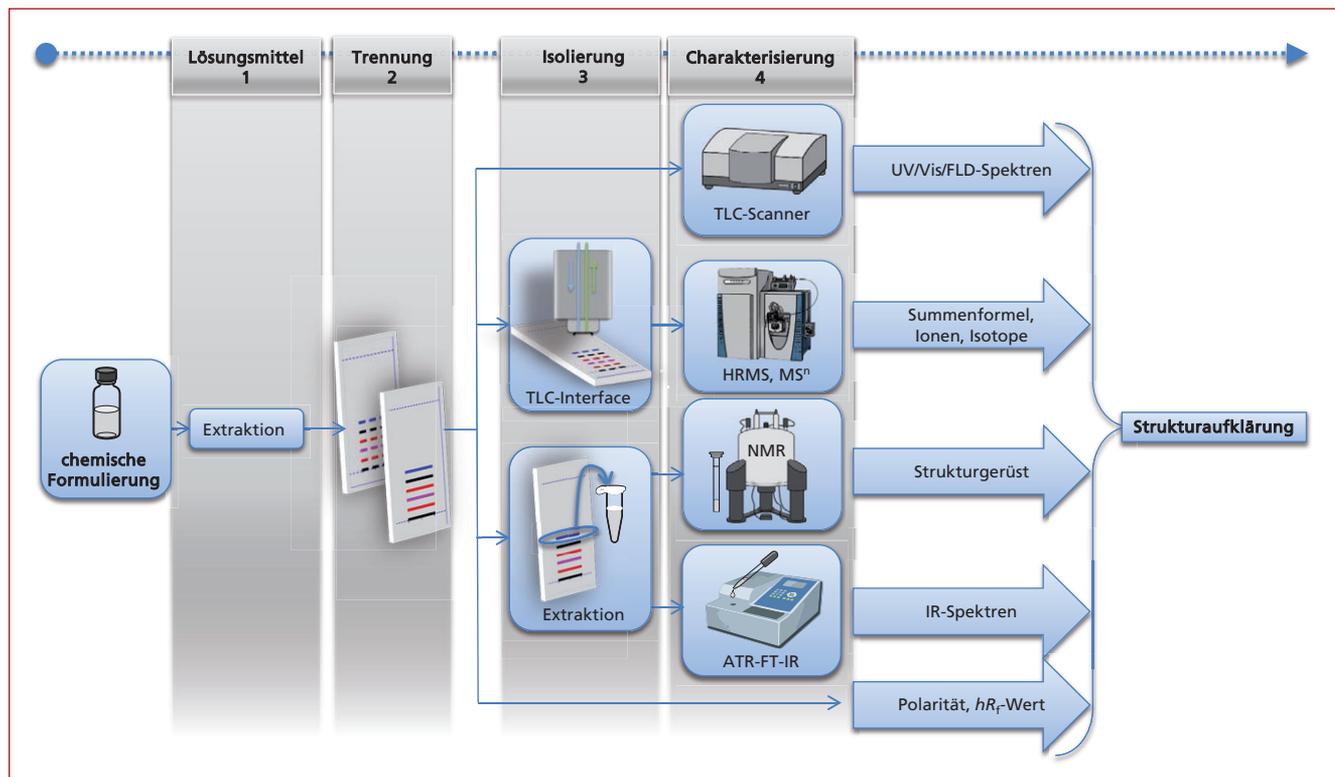


Abb. 1

Optimierter Arbeitsablauf zur Strukturaufklärung mittels Planar-Chromatographie (Nachdruck aus [14] mit freundlicher Genehmigung von Elsevier)



Gertrud Morlock
Professorin für Lebensmittelwissenschaften an der Justus-Liebig-Universität Gießen seit 2012

Strukturaufklärung von Farbstoffen wurde HPLC-HRMS verwendet [7] und ebenso HPLC-NMR [8]. Jedoch die Kombination von HPTLC mit spektrometrischen/spektroskopischen Detektoren erfuhr bislang geringe Aufmerksamkeit in der analytischen Chemie. Das erste TLC-MS-Interface war 2009 erhältlich, wodurch die Substanzisolierung erleichtert und ein Online-Transfer der Substanzzone in das Massenspektrometer ermöglicht wurde [9]. Mittels HPTLC-MS² können den Molekulationen Fragmente zugeordnet werden. Folglich stellt HPTLC eine robuste Trenntechnik dar, welche kombiniert mit HRMS/MS² eine schnelle, quantitative, reproduzierbare und durchsatzstarke Analyse zulässt [10]. Jedoch sind für die vollständige Strukturaufklärung eines Moleküls NMR-Spektren *Conditio sine qua non*. Zudem steht die Probelösung nach der zerstörungsfreien NMR-Untersuchung für weitere Experimente mit FTIR, UV/Vis und HRMS zur Verfügung.

Aktuelle Veröffentlichungen [11,12] verdeutlichen den Bedarf für optimierte Arbeitsabläufe auf dem Forschungsgebiet der Kopplung von HPTLC und PLC

mit NMR-Spektroskopie. In diesen Publikationen wird vorab die Säulenchromatographie zur Substanzsteigerung [12] oder die Isolierung hunderter Zonen mittels TLC-MS-Interface [11] angewandt. Daher wurde ein neuer, auf Effizienz und Schnelligkeit abgestimmter Arbeitsablauf zur Strukturaufklärung von Unbekannten entwickelt.

Arbeitsschritte – mit zwei Platten zum Ziel

Bei einer zuvor entwickelten Trennmethode für die Qualitätskontrolle von Pigmentformulierungen [13] wurde der optimierte Arbeitsablauf eingesetzt (Abb. 1).

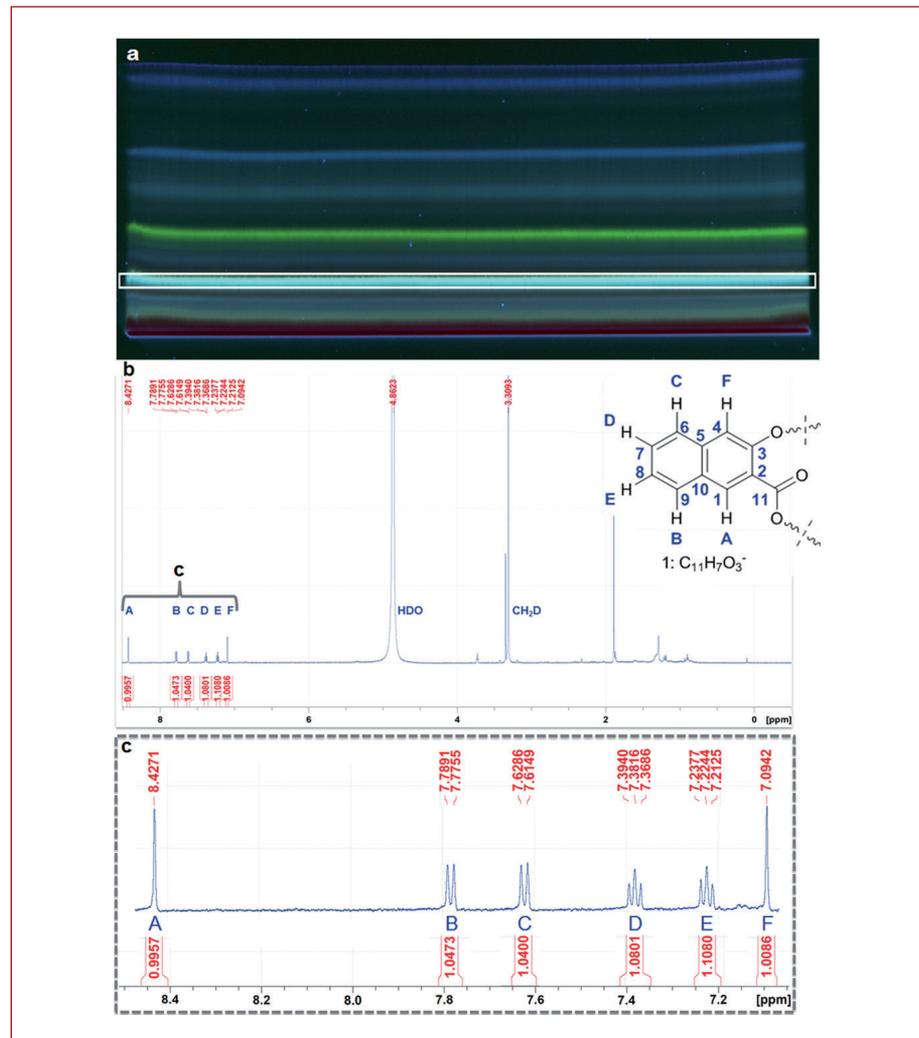
Im Vergleich zur analytischen Platte ist die Trennleistung einer präparativen Platte geringer. Die Zonenschärfe wurde jedoch durch eine neunstufige Gradientenentwicklung im AMD-2-System verbessert, die vom analytischen auf den präparativen Plattentyp ohne Änderung übertragen werden konnte. Die selektive Extraktion der unbekanntes Verbindung in der Pigmentformulierung PR 57:1 mit einem Gemisch aus Methanol und Tetrahydrofuran (1:1) und Diskriminierung der

polaren Matrix erlaubte eine hohe Beladung der präparativen Schicht und somit eine verbesserte Ausbeute der Unbekannten (Abb. 2a, markiert).

Für erste planar-chromatographische, spektrometrische und spektroskopische Daten wurde die unbekannte Zone auf einer Bahn der analytischen Platte genutzt. Mittels TLC-Scanner 4 wurden von dieser Zone ein UV/Vis-Absorptionsspektrum und anschließend HRMS/MS²-Spektren aufgenommen [14]. Die selektive Extraktion der Pigmentformulierung, die hohe Probenbeladung der präparativen Schicht und die durch Gradiententwicklung erreichte Bandenschärfe waren eine sehr gute Voraussetzung für 1D- und 2D-NMR-Untersuchungen. In einem NMR-Probenglas (3 mm) wurde die Substanz aus der Zielzone (180 mm x 3 mm) extrahiert. Eindeutige Tieffeld-Protonensignale zeigen aromatische Protonen (Abb. 2b, c). Die sechs Signale mit den entsprechenden Aufspaltungen wurden zwei anellierten Benzolen zugeordnet. Zusätzlich wurden die Verknüpfungen der Protonen- und Kohlenstoffsignale mittels 2D-heteronuklearen und -homonuklearen NMR-Aufnahmen bestätigt [14].

Fazit

Für die Qualitätskontrolle von Pigmentformulierungen und Strukturaufklärung der unbekanntesten Verbindungen ist die Planar-Chromatographie die Trennmethode der Wahl. Am Beispiel der roten Pigmentformulierung PR 57:1 wurde eine unbekannteste Substanz als 3-Hydroxy-2-naphtholsäure in verschiedenen Chargen identifiziert. Im Vergleich zur Literatur [11,12] ist der gezeigte, optimierte Arbeitsablauf äußerst effizient. Mit einer analytischen Platte wurden HPTLC-UV/Vis/FLD-HRMS/MS²-Untersuchungen durchgeführt und eine Summenformel



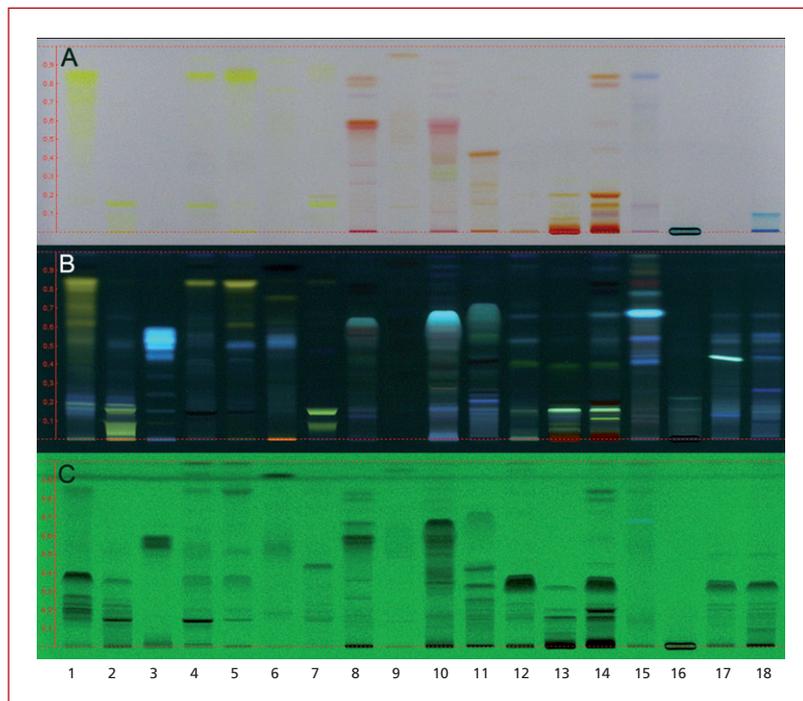


Abb. 3
AMD-2-Chromatogramm von 18 verschiedenen organischen Pigmenten unter Weißlicht, UV 366 nm und UV 254 nm (Nachdruck aus [13] mit freundlicher Genehmigung von Elsevier)

fehlenswert zur effektiven Strukturaufklärung von unbekanntem Verunreinigungen, Abbauprodukten, Kontaminanten, Nebenprodukten und Edukten etc.

Literatur

- [1] *Chen H-S, Meng H-H, Cheng K-C*: A survey of methods used for the identification and characterization of inks. *Forensic Sci J* **1**, 1–14 (2002).
- [2] *Arvanitoyannis IS, Bosnea L*: Migration of substances from food packaging materials to foods. *Crit Rev Food Sci Nutr* **44**, 63–76 (2004).
- [3] *Milovanović GA, Ristić-Šolajić M, Janjić TJ*: Separation and identification of synthetic organic pigments in artists' paints by thin-layer chromatography. *J Chromatogr A* **249**, 149–154 (1982).
- [4] *Wegener JW et al.*: Determination of organic colorants in cosmetic products by high-performance liquid chromatography. *Chromatographia* **24**, 865–875 (1987).
- [5] *Sonoda N*: Characterization of organic azo-pigments by pyrolysis-gas chromatography. *Stud Conserv* **44**, 195–208 (1999).
- [6] *Lomax SQ, Learner T*: A review of the classes, structures, and methods of analysis of synthetic organic pigments. *J Am Inst Conserv* **45**, 107–125 (2006).
- [7] *Müller T, Vergeiner S, Kräutler B*: Structure elucidation of chlorophyll catabolites (phylobilins) by ESI-mass spectrometry – pseudo-molecular ions and fragmentation analysis of a nonfluorescent chlorophyll catabolite (NCC). *Int J Mass Spectrom* **365–366**, 48–55 (2014).
- [8] *Albert K*: Liquid chromatography-nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J Chromatogr A* **856**, 199–211 (1999).
- [9] *Luftmann H, Aranda M, Morlock GE*: Automated interface for hyphenation of planar chromatography with mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* **21**, 3772–3776 (2007).
- [10] *Morlock G, Schwack W*: Hyphenations in planar chromatography. *J Chromatogr A* **1217**, 6600–6609 (2010).
- [11] *Adhami H-R et al.*: Combination of bioautography with HPTLC–MS/NMR: a fast identification of Acetylcholinesterase inhibitors from Galbanum. *Phytochem Anal* **24**, 395–400 (2013).
- [12] *Grzelak EM et al.*: Bioautography with TLC-MS/NMR for rapid discovery of anti-tuberculosis lead compounds from natural sources. *ACS Infect Dis* **2**, 294–301 (2016).
- [13] *Stiefel C et al.*: Separation of pigment formulations by high-performance thin-layer chromatography with automated multiple development. *J Chromatogr A* **1462**, 134–145 (2016).
- [14] *Yüce I, Morlock GE*: Streamlined structure elucidation of an unknown compound in a pigment formulation. *J Chromatogr A* **1469**, 120–127 (2016). ■

» Entwicklung einer leistungsstarken Methodik zur Qualitätskontrolle von Pigmentformulierungen, eingesetzt bei Druckfarben für Verpackungen «

Anschrift der Autoren

Immanuel Yüce
Prof. Dr. Gertrud Morlock
Justus-Liebig-Universität Gießen
Institut für Ernährungswissenschaften
Professur für Lebensmittelwissenschaften
Heinrich-Buff-Ring 26–32
35392 Gießen
Tel. 0641/99-39141
Gertrud.Morlock@uni-giessen.de
www.uni-giessen.de/food