

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

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 51 (1960)

Heft: 1

Artikel: Ueber die Papierchromatographie wasserlöslicher Farbstoffe

Autor: Riemersma, J.C. / Heslinga, F.J.M.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-982910>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. 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. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

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. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

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. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 27.01.2026

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

Ueber die Papierchromatographie wasserlöslicher Farbstoffe

Von *J. C. Riemersma* und *F. J. M. Heslinga*

(Aus dem Laboratorium für medizinische Chemie, Universität Leiden, Niederlande)

Während der Untersuchung verschiedener chromatographischer Methoden, die dazu dienen sollten, die Reinheit histologischer und technischer Farbstoffe zu prüfen, stellte es sich heraus, dass einige der untersuchten Fliessmittel besonders geeignet waren für die Trennung derjenigen Farbstoffe, die – neben der histologischen Anwendung – auch zur Lebensmittelfärbung Anwendung finden. Es bestand daher Anlass, etwas tiefer auf die Papierchromatographie der Lebensmittelfarbstoffe im allgemeinen einzugehen, in der Hoffnung, eine allgemein verwendbare mobile Phase mit guten Trenneigenschaften zu finden *).

Für die Trennung wasserlöslicher Farbstoffe wird man in erster Linie versuchen, mobile Phasen zu verwenden, die Wasser als Hauptbestandteil enthalten. Wie aus der einschlägigen Literatur hervorgeht, wurden derartige Fliessmittel tatsächlich mehrmals empfohlen. Von *Thaler* und *Sommer* (1935) wurden zum Beispiel ausgezeichnete Resultate erhalten mit einer wässrigen Lösung von 2 % Natriumzitrat und 5 % Ammoniak. Unsere Versuche betrafen Reihen organischer Fliessmittel, insbesondere die, welche einen Alkohol, eine organische Säure und Wasser enthalten. Es gelang, ein optimales Fliessmittel zu finden, welches gute Fleckenschärfe und gute Differenzierung der R_f -Werte für das ganze Gebiet der wasserlöslichen Lebensmittelfarbstoffe gibt.

A. Die Gründe der Auswahl bestimmter Fliessmittelkomponenten

Es gibt einige Farbstoffpaare, z.B. Azorubin S und Echtsäurefuchsin B, die sich nach der klassischen Methode *Thalers* und *Sommers* (1953) nicht oder sehr schwierig trennen lassen. In dem Fall derartiger «kritischer Paare» sollte man deshalb ein zweites Fliessmittelsystem zur Verfügung haben, das für die beiden Farbstoffe verschiedene R_f -Werte liefert. Allgemein gilt, dass für die einwandfreie Identifizierung eines unbekannten Farbstoffes Chromatographie mit mindestens zwei Laufmitteln, mit möglichst verschiedenen Eigenschaften, erwünscht ist. Neben dem schon von uns verwendeten Laufmittel *Thalers* und *Sommers* (1953) versuchten wir ein ergänzendes Fliessmittelsystem zu finden, das eine andere Reihe von R_f -Werten liefern sollte und das die Eigenschaften einer guten Trennschärfe und Reproduzierbarkeit vereinigen sollte mit einem möglichst wei-

*) Die Untersuchung geschah in Zusammenarbeit mit einer Arbeitsgruppe der Universität Leiden zur Untersuchung des theoretischen Hintergrundes histologischer Methoden, die unterstützt wird von der Organisation *Zuiver Wetenschappelijk Onderzoek* (Z.W.O.).

ten Anwendungsgebiet. Auch für die Auf trennung sehr komplizierter Farbstoffgemische durch zweidimensionale Chromatographie kann ein derartiges Fliessmittelsystem wertvolle Dienste leisten.

Wie aus Literaturangaben hervorgeht, sind nebst wässrigen Fliessmitteln schon früh Alkohol enthaltende Fliessmittel auf ihre Brauchbarkeit geprüft worden. Ein Gemisch von n-Butanol, Aethanol und Wasser (2 : 1 : 1) wurde von *Lhoest* (1953) entwickelt und seitdem auch von andern Autoren benützt (*Saenz-Lascano-Ruiz* [1956]). *Tilden* (1952) beschrieb mehrere alkoholhaltige Laufmittel. Der Nachteil aller dieser Laufmittel war die beschränkte Verwendbarkeit, weshalb für die Untersuchung komplizierter Gemische immer mehrere Laufmittel notwendig waren. Ausserdem war die Fleckenschärfe nicht ideal. Zusatz einer Säure, z.B. Essigsäure, gab eine Verbesserung der Fleckenschärfe. Die Zusammensetzung einer derartigen Alkoholsäuremischung ändert sich aber durch Veresterung. Die mit einer derartigen mobilen Phase erreichten Resultate sind deshalb wenig reproduzierbar, wie in *Ullmann* (1950) hervorgehoben wird.

Ausgangspunkt unserer Untersuchung war die bekannte Tatsache, dass tert. Butylalkohol (Trimethylkarbinol) sich mit organischen Säuren nur sehr langsam verestert. Deshalb fand dieser Alkohol erfolgreiche Verwendung als Komponente eines Fliessmittelsystems für die Trennung von Phosphorsäureestern (*Hanes* und *Isherwood* [1949]). Ueberdies hat dieser Alkohol, in Gegensatz zu n-Butanol, die wichtige Eigenschaft, in allen Verhältnissen mit Wasser mischbar zu sein. Auf dem Papier kann deshalb keine Entmischung auftreten. Unsere orientierenden Versuche zeigten, dass mit Fliessmittelsystemen, die tert. Butylalkohol als Hauptbestandteil enthalten, bessere Chromatogramme erhalten werden (hinsichtlich Fleckenschärfe und Differenzierung der R_f -Werte) als mit Systemen, die Methanol, Aethanol, n-Propanol oder n-Butanol enthalten. Systematische Versuche wurden weiterhin angestellt mit tert. Butylalkohol enthaltenden Gemischen, mit dem Zweck, eine optimale Zusammensetzung zu finden. Zu allen untersuchten Mischungen wurden 0,4 % KCl zugesetzt, weil dies nach unsrern Erfahrungen eine kleine Verbesserung der Fleckenschärfe gab. Die Versuchsbedingungen werden erwähnt unter C. *Arbeitsvorschrift*. Nachstehend wird der Hauptteil dieser Untersuchung kurz zusammengefasst.

Nach der Untersuchung verschiedener Alkoholkomponenten folgte der Vergleich verschiedener Säuren auf ihre Verwendbarkeit bei der Chromatographie mit tert. Butylalkohol enthaltenden mobilen Phasen. Ameisensäure enthaltende mobile Phasen zeigten die Eigenschaft, für die Mehrzahl der Farbstoffe sehr hohe R_f -Werte zu geben, weshalb die Trennungsmöglichkeiten beschränkt waren. Es wurden sechs mobile Phasen untersucht, die nebst 52 % tert. Butylalkohol ansteigende Mengen Ameisensäure enthielten, und zwar von 8 bis 20 %. Obwohl die R_f -Werte bei höheren Säurekonzentrationen erniedrigt wurden, blieb das Gesamtbild der Chromatogramme unbefriedigend.

Der Zusatz von Essigsäure zu Mischungen mit tert. Butylalkohol (50 bzw. 44 %) verursachte ebenfalls eine Erniedrigung der R_f -Werte; die Säurekonzen-

tration wurde variiert von 20 bis 40 %. Insgesamt wurden sieben mobile Phasen untersucht. Befriedigende Chromatogramme wurden erhalten mit Fliessmitteln, die 32 % oder mehr Essigsäure enthielten. Bei einer derartig hohen Säurekonzentration sind aber die Trennungsmöglichkeiten weniger gut, weil die meisten R_f -Werte zu niedrig geworden sind.

Propionsäurezusatz hat den wichtigen Vorteil, dass schon bei 12 % Säure eine gute Fleckenschärfe erhalten wird. Bei diesem Säuregehalt sind die R_f -Werte der meisten Farbstoffe noch hoch genug, um eine gute Differenzierung auf dem Chromatogramm zu gewährleisten. Der Effekt des Propionsäuregehalts der mobilen Phase auf die R_f -Werte einiger Farbstoffe, chromatographiert mit 50 % tert. Butylalkohol enthaltenden Fliessmitteln, ist in Abbildung 1 dargestellt. Wie aus dieser Figur ersichtlich, wird die Trennung bei hoher Propionsäurekonzentration erschwert durch Konvergenz der R_f -Werte zu einem niedrigen Wert. Erfahrungen mit einem Gemisch von tert. Butylalkohol-Propionsäure-Wasser (50 : 12 : 38), wozu 0,4 % KCl zugesetzt war, fielen dagegen so günstig aus, dass wir dieses Gemisch als optimal bezeichnen können (BPW-System).

Das BPW-System ist eine saure Mischung von organischen Flüssigkeiten mit relativ wenig Wasser, im Gegensatz zum ANZ-System (Ammoniak-Natrium-

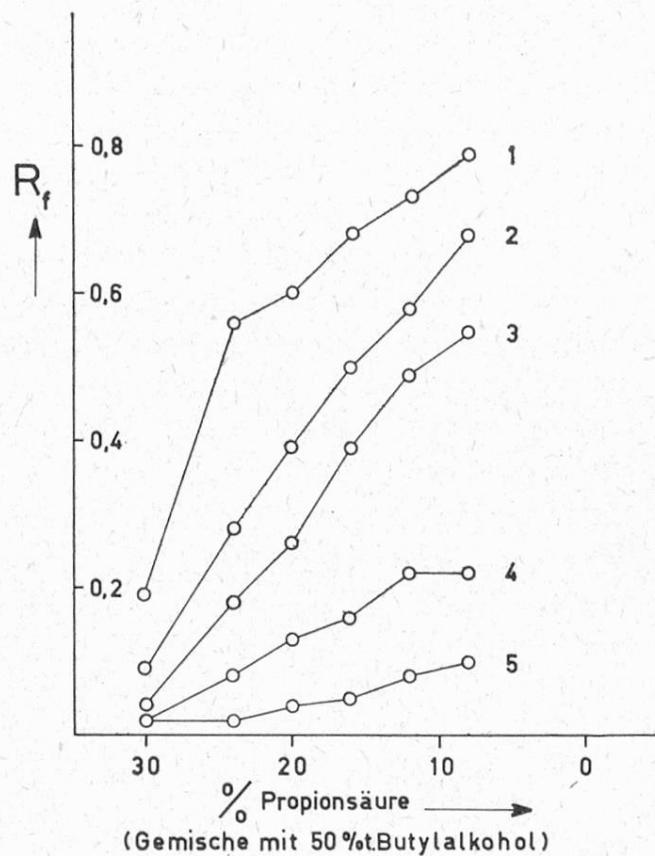


Abb. 1

R_f -Werte von tert. Butylalkohol-Propionsäure-Wassergemischen (0,4 % KCl) in Abhängigkeit der Propionsäurekonzentration für (1) Acilanviolett, (2) Patenblau AE, (3) Echtrot E, (4) Echtsäurefuchsin B, (5) Naphtolrot S

zitrat) von *Thaler* und *Sommer* (1953), welches eine alkalische wässrige Lösung ist. Die Eigenschaften der beiden Systeme sind, wie man erwarten durfte, gründlich verschieden. Diese Erwartung wird bestätigt, wenn man von demselben Farbstoff, Echtrot E, eine Reihe verschiedener Substanzmengen auf das Papier bringt und chromatographiert. Jeder Fleck wird aufgebracht als 2 μ l einer Lösung mit 0,0625 - 0,125 - 0,25 - 0,5 - 1,0 - 2,0 % Farbstoff. Wird chromatographiert mit dem BPW-System, so liegen nach Elution die Intensitätsschwerpunkte der Flecken annähernd auf derselben horizontalen Linie. Wie man es bei einem Verteilungschromatogramm erwartet, sind die R_f -Werte weitgehend unabhängig von der Substanzmenge. Wird chromatographiert mit dem ANZ-System, dann biegt die Linie durch die Schwerpunkte der Flecken in der Frontrichtung ab, wie es bei einem Absorptionschromatogramm zu erwarten ist (Abbildung 2).

Ein Unterschied besteht weiterhin in dem Effekt des Salzzusatzes in den beiden Systemen. Wie von *Thaler* und *Sommer* (1953) hervorgehoben wird, beruht die Wirkung des ANZ-Systems auf dem Mechanismus der «Aussalz-Absorption». Zusatz von Salz bewirkt dementsprechend eine wesentliche Erniedrigung der R_f -Werte. Der Zusatz von KCl im BPW-System hat aber auf die R_f -Werte einen fast zu vernachlässigenden Einfluss und bewirkt nur eine Verschärfung der Flecken, wahrscheinlich durch eine Unterdrückung der Adsorption der Farbstoffe am Papier.

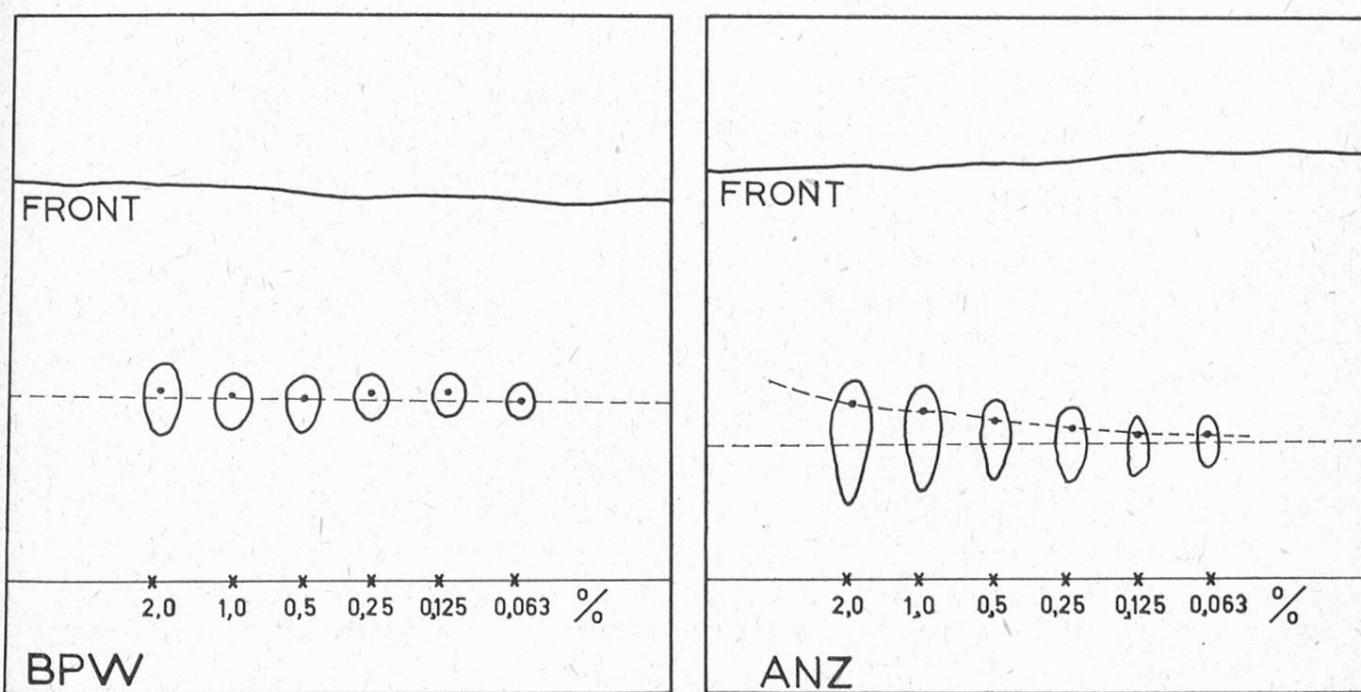


Abb. 2

Gestalt der Flecken von Echtrot E chromatographiert mit (a) tert. Butylalkohol-Propionsäure-Wasser (50 : 12 : 38) mit 0,4 % KCl (BPW); (b) Ammoniak (5 %) - tert. Natriumzitrat (2 %) - Wasser (ANZ)

Weil die Chromatographie mit dem BPW-System auf einem andern Mechanismus beruht wie die Chromatographie mit dem ANZ-System, gelingen mehrere Trennungen, die mit dem ANZ-System sehr schwierig oder unmöglich sind. Als Beispiele seien angeführt die Paare Azorubin S-Echtsäurefuchsin B; Indigotin I-Brillantschwarz BN und Acilanviolett-Naphtolrot S. Es stellt das BPW-System also tatsächlich eine Ergänzung des ANZ-Systems dar. Im folgenden werden die Eigenschaften des BPW-Systems näher besprochen.

B. Eigenschaften des BPW-Systems; Versuchsbedingungen

Für praktische Zwecke ist es von Bedeutung, dass die Reproduzierbarkeit der R_f -Werte mit dem BPW-System sehr gut ist. Es traten durch Aufbewahren der Mischung, auch nach mehreren Wochen, keine Veränderungen auf.

Um den Einfluss der Temperatur festzustellen, wurden vergleichende Versuche bei 2, 19 und 25°C angestellt; die meisten R_f -Werte änderten sich nur wenig (Tab. 1).

Tabelle 1

*Abhängigkeit der R_f -Werte von der Temperatur beim BPW-System
Erreichte Fronthöhe 12 cm*

(Laufzeit 7 Stunden; Papier S & S 2043b Mgl; Mittelwerte aus 2 Bestimmungen)

| Farbstoff- nummer (Hecht [1951]) | Name | Rf-Werte bei Temperatur | | |
|--|------------------|-------------------------|-------|-------|
| | | 2° C | 19° C | 25° C |
| 9 | Orange GG | 0,43 | 0,51 | 0,50 |
| 26 | Chrysoin S | 0,69 | 0,70 | 0,72 |
| 73 | Patentblau AE | 0,57 | 0,56 | 0,57 |
| 27 | Orange II | 0,43 | 0,50 | 0,50 |
| 81 | Säurefuchsin | 0,43 | 0,47 | 0,46 |
| 131 | Sulphorhodamin B | 0,68 | 0,71 | 0,70 |
| — | Pikrinsäure | 0,73 | 0,74 | 0,79 |
| 22 | Metanilgelb | 0,74 | 0,76 | 0,78 |
| 3 | Chrysoidin | 0,77 | 0,83 | 0,86 |
| 14 | Ponceau R | 0,22 | 0,42 | 0,45 |

Allgemein wurde bei 19 bis 20°C chromatographiert, in einem fensterlosen Kellergeschoss, wo die Temperatur gut konstant zu halten war. Bei dieser Temperatur dauert es 7 Stunden, bis die Laufmittelfront sich etwa 12 cm über der Startlinie befindet. Längere Laufzeiten sind im allgemeinen nicht vorteilhaft. Die Steiggeschwindigkeit der Front wird erhöht und die Flecken werden etwas

schärfer, wenn bei 25° chromatographiert wird, in einem Raum, der durch Heizung und Thermostat auf konstanter Temperatur gehalten wird. Auch bei 2° , im Kühllraum, werden gute Chromatogramme erhalten, aber die Laufzeit wird unbedeutend verlängert.

Als chromatographische Tröge dienten rechteckige Glasgefässe mit flach geschliffenem Oberrand, mit einer Glasplatte bedeckt. Wie bekannt, muss bei vielen chromatographischen Trennungen die Atmosphäre des Troges vorher mit den Dämpfen des Fliessmittels gesättigt werden. Beim BPW-System kann diese Equilibrierung unterlassen werden, wie vergleichende Versuche mit verschiedenen Equilibrierungszeiten zeigten. Nach 13 Stunden Equilibrierung waren die R_f -Werte der untersuchten Farbstoffe im Mittel etwa 6 % niedriger als nach 0 Stunden. Weil durch Equilibrierung keine Vorteile zu erzielen waren, wurde zur Zeitsparung immer ohne Equilibrierung gearbeitet.

Weil die Resultate mit absteigender Chromatographie weniger gut ausfielen, wurde immer aufsteigend gearbeitet. Wird immer unter den gleichen Umständen chromatographiert, so beträgt die Differenz zweier R_f -Bestimmungen desselben Farbstoffs im allgemeinen nicht mehr als 0,04. Die Bewegungsrichtung der mobilen Phase wurde immer in der Vorzugsrichtung des Papiers gewählt. Für die Reproduzierbarkeit der R_f -Werte ist es eine wichtige Voraussetzung, dass die Front dieselbe Distanz von der Startlinie zurückgelegt hat (12 – 14 cm). Alle R_f -Werte werden bei grösseren Abständen von der Front bis zur Startlinie, also bei höheren Laufzeiten als 7 bis 8 Stunden, wesentlich erhöht.

Bei einem Fliessmittelsystem vom BPW-Typus muss mit der Möglichkeit einer Gradientelution (*Hais und Macek [1958]*) gerechnet werden. Während der Flüssigkeitsbewegung nach oben tritt im Papier eine partielle Trennung der Fliessmittelkomponenten auf. Dicht hinter der Front findet sich relativ viel Propionsäure, weiter unten relativ mehr tert. Butylalkohol. Wie aus Abbildung 1 ersichtlich, ist die Säure die R_f -erniedrigende Komponente. Die sehr kompakten Flecke beim BPW-System werden wahrscheinlich ihre Ursache in der Tatsache haben, dass die sich hinter der Front anhäufende Komponente (Propionsäure) einen R_f -erniedrigenden, die langsamer laufende Komponente (tert. Butylalkohol) dagegen einen R_f -erhöhenden Einfluss hat. Kombination der beiden Effekte wird kompakte Flecke liefern. Die Anhäufung einer R_f -erniedrigenden Komponente hinter der Laufmittelfront erklärt auch, warum bei längeren Laufzeiten alle R_f -Werte sich erhöhen. Der R_f -erniedrigende Effekt der Frontnähe muss dann relativ geringer sein.

Die Qualität der erhaltenen Chromatogramme ist nicht sehr abhängig von der gebrauchten Papiersorte, obwohl die R_f -Werte sich etwas ändern. Statt des stets von uns verwendeten Papiers *Schleicher & Schüll 2043 b Mgl*, lässt sich zum Beispiel ebenso gut *Whatman 1* verwenden. Die Startlinie befand sich immer 3 cm vom Unterrand des Papiers, das etwa 3 mm in die Flüssigkeit eingetaucht

Tabelle 2

R_f-Werte der Farbstoffe mit tert. Butylalkohol-Propionsäure-Wasser (50 : 12 : 38, mit 0,4 % KCl)

Versuchsbedingungen: Temperatur 19° C, Laufzeit 7 Stunden, Papier *Schleicher & Schüll* 2043b Mgl

Farbstoffmengen: etwa 3 µl 0,1 % Farbstofflösung

| Farbstoffnummer | | | | Name | R _f | Nebenflecken |
|-----------------|-----|-----|-------|--------------------|----------------|--------------|
| H | S | CI | C II | | | |
| — | 9 | 7 | 10305 | Pikrinsäure | 0,74 | — |
| — | — | — | 15985 | Food Yellow 3 | 0,40 | — |
| 1 | 5 | 5 | 10020 | Naphtolgrün B | 0,14 | — |
| 3 | 27 | 20 | 11270 | Chrysoidin | 0,83 | 1 |
| 8 | 38 | 30 | 17200 | Echtsäurefuchsin B | 0,18 | — |
| 9 | 39 | 27 | 16230 | Orange GG | 0,51 | — |
| 10 | 40 | 31 | 18050 | Amidonaphtolrot | 0,28 | — |
| 14 | 95 | 79 | 16150 | Ponceau R | 0,42 | 1 |
| 22 | 169 | 138 | 13065 | Metanilgelb | 0,76 | — |
| 23 | 172 | 16 | 13015 | Echtgelb | 0,34 | — |
| 26 | 186 | 148 | 14270 | Chrysoine S | 0,70 | 1 |
| 27 | 189 | 151 | 15510 | Orange II | 0,50 | 1 |
| 30 | — | — | 13445 | Gelb 27175 N | 0,14 | 1 |
| 32 | — | — | 15980 | Orange GGN | 0,42 | — |
| 34 | — | — | 14815 | Scharlach GN | 0,52 | 1 |
| 38 | 208 | 179 | 14720 | Azorubin S | 0,47 | — |
| 39 | 210 | 182 | 16045 | Echtrot E | 0,42 | — |
| 40 | 212 | 184 | 16185 | Naphtolrot S | 0,07 | 1 |
| 41 | 213 | 185 | 16255 | Cochenillerot A | 0,20 | — |
| 42 | 215 | 186 | 16290 | Ponceaurot 6R | 0,04 | 1 |

| | | | | | | | |
|-----|------|------|-------|--------------------|-----------------|------|---|
| 43 | 250 | 211 | 13020 | Methylrot | Acid Red 2 | 0,97 | — |
| | 277 | 225 | 14780 | Thizianrot | Food Red 13 | 0,14 | 2 |
| 45 | 282 | 133 | 11045 | Janusgrün | | 0,89 | — |
| 50 | 471 | 477 | 23850 | Trypanblau | Direct Blue 14 | 0,02 | 2 |
| 51 | — | — | 23860 | Evans Blue | Direct Blue 53 | 0,01 | 1 |
| 52 | 510 | 518 | 24410 | Chicagoblau 6B | Direct Blue 1 | 0,02 | — |
| 56 | 552 | 289 | 26400 | Sulphocyanin G | Acid Blue 120 | 0,70 | — |
| 58 | — | — | 28440 | Brillantschwarz BN | Food Black 1 | 0,02 | — |
| 64 | 737 | 640 | 19140 | Tartrazin | Food Yellow 4 | 0,09 | — |
| 66 | 754 | 657 | 42000 | Malachitgrün | Basic Green 4 | 1 | — |
| 68 | 760 | 662 | 42040 | Brillantgrün extra | Basic Green 1 | 1 | — |
| 69 | 764 | 666 | 42085 | Guineagrün | Food Green 1 | 0,69 | — |
| 70 | 765 | 670 | 42095 | Lichtgrün | Food Green 2 | 0,50 | — |
| 72 | 769 | 672 | 42045 | Azurblau VX | Food Blue 3 | 0,71 | 1 |
| 73 | 770 | 671 | 42090 | Patentblau AE | Food Blue 2 | 0,56 | — |
| 75 | 780 | 677 | 42510 | Fuchsin | Basic Violet 14 | 1 | 1 |
| 76 | 783 | 680 | 42535 | Methylviolett B | Basic Violet 1 | 1 | — |
| 77 | 785 | 681 | 42555 | Kristallviolett | Basic Violet 3 | 1 | — |
| 81 | 800 | 692 | 42685 | Säurefuchsin S | Acid Violet 19 | 0,47 | 2 |
| 82 | 805 | 697 | 42640 | Acilanviolett | Food Violet 2 | 0,70 | 1 |
| 131 | 863 | 748 | 45100 | Sulphorhodamin B | Acid Red 52 | 0,71 | — |
| 99 | 864 | 749 | 45170 | Rhodamin B | Food Red 15 | 1 | — |
| 91 | 883 | 770 | 45386 | Eosin spritlöslich | Solvent Red 15 | 0,91 | — |
| 93 | 887 | 773 | 45430 | Erythrosin Extra | Food Red 14 | 0,88 | — |
| 95 | 889 | 777 | 45435 | Rose bengale | Acid Red 93 | 1 | — |
| 97 | 918 | 801 | 47005 | Chinolingelb | Food Yellow 13 | 0,57 | — |
| 101 | 1038 | 922 | 52015 | Methylenblau | Basic Blue 9 | 0,64 | — |
| 104 | 1228 | 1106 | 69800 | Indanthrenblau RS | Vat Blue 4 | 0,02 | 2 |
| 105 | 1309 | 1180 | 73015 | Indigotin I | Food Blue 1 | 0,44 | 3 |

wurde. Nach dem Chromatographieren konnte das Chromatogramm leicht im Abzug mit Warmluft (Föhn) getrocknet werden. Nachher wurde es einige Stunden an der Luft aufgehängt zum Nachtrocknen. Grosse Nachteile der phenolhaltigen Fliessmittelsysteme, wie sie z.B. von *Tilden* (1952) verwendet wurden, waren nach unserer Erfahrung die sehr viel schwierigere Trocknung und die aggressiven Dämpfe, die bei der Trocknung frei werden. Ausserdem sind diese Fliessmittelsysteme nur für eine beschränkte Gruppe von Farbstoffen verwendbar.

C. Arbeitsvorschrift

Mobile Phase: tert. Butylalkohl-Propiosäure-Wasser (50:12:38) mit 0,4 % KCl.
Technik: aufsteigend, in Trögen 25×30×9 cm, ohne Equilibrierung.
Papier: *Schleicher & Schüll 2043 b Mgl.*
Startflecken: Etwa 3 µl 0,1 % Farbstofflösung in Wasser oder in 50 % Aethanol werden auf die Startlinie, 3 cm vom Unterrand des Papiers, gebracht; es wird 1/2 Stunde an der Luft getrocknet. Zur Erfassung von Nebenbestandteilen, deren Menge sehr gering sein kann, wird eine konzentrierte Farbstofflösung (etwa 1 %) aufgebracht.
Temperatur: 19 – 20°.
Laufzeit: ungefähr 7 Stunden.
Trocknung: Vortrocknen mit Föhn und 2 Stunden nachtrocknen an der Luft.

D. Farbstoffchromatographie mit dem BPW-System

Die Reihe der 49 Farbstoffe, die mit dem BPW-System chromatographiert wurden, enthält Vertreter der wichtigsten Farbstoffgruppen, die bei der Untersuchung von Lebensmittelfarbstoffen in Betracht kommen, und zwar Azo-, Triphenylmethan- (basische und saure), Xanthen-, Chinolin-, Thiazin-, Nitroso- und Nitrofarbstoffe. R_f -Werte wurden bestimmt als Mittelwert aus zwei Chromatogrammen, wobei immer der Hauptfleck genommen wurde. Ein R_f -Unterschied von etwa 0,05 erlaubte im allgemeinen die Trennung zweier Farbstoffe. Verschiedene Farbstoffe zeigten neben dem Hauptfleck noch einen oder mehr Nebenflecken im sichtbaren Licht. Betrachtung der getrockneten Chromatogramme unter der Quarzlampe, Wellenlänge 2537 Å (Hanovia Chromatolite), wie von *Eisenbrand* und *Koether* (1959) empfohlen, zeigte noch andere Flecken, die bei Tageslicht nicht sichtbar waren.

Zur Charakterisierung der Farbstoffe werden die folgenden Nummern verwendet: H (Mitteilung 6 der Farbstoffkommission der deutschen Forschungsgemeinschaft, bearbeitet von *G. Hecht* (2. Aufl. 1957); S (Farbstoff-Tabellen Schultz, 1931–39); C I (*Colour-Index*, 1. Aufl. 1924) und C II (*Colour-Index*, 2. Aufl. 1955). Der Hauptname ist der voranstehende Name in Mitteilung 6. Die

Firmen: Badische Anilin- und Soda-fabrik (Ludwigshafen), Höchst (Frankfurt a/M), Bayer (Leverkusen) und Imperial Chemical Industries (London) stellten uns Farbstoffe zur Verfügung, wofür an dieser Stelle unser Dank ausgesprochen sei.

E. Schlussbetrachtung

Wegen ihrer besonderen Einfachheit ist die Papierchromatographie in der Praxis noch immer das wichtigste Hilfsmittel zur Trennung von Farbstoffgemischen. Die einzige vergleichbare Methode ist die Papierelektrophorese, die in letzter Zeit von verschiedenen Autoren als Untersuchungsmethode herangezogen wird (*Legrand [1959]*). Die Trennschärfe ist oft sehr gut, die Deutung der Versuchsergebnisse aber weniger einfach als bei der Chromatographie. Es gibt also Gründe, die papierchromatographischen Methoden vorläufig so weit als möglich zu verfeinern und die einfachere Art der Trennung zu bevorzugen.

Chromatographie mit dem BPW-System kann als eine Ergänzung der Chromatographie mit dem ANZ-System betrachtet werden und ist im gleichen Farbstoffgebiet verwendbar. Weil die Flecken mit BPW-System besonders scharf ausgebildet werden, besteht wenig Gefahr, dass schwache Nebenflecken durch einen Hauptfleck verdeckt werden. Dies ist von Wichtigkeit, wenn die Reinheit eines Präparates geprüft werden soll. Eine zweite Eigenschaft des BPW-Systems, die Reproduzierbarkeit der R_f -Werte, ist speziell wichtig, wenn es gilt, die Farbstoffe eines unbekannten Gemisches zu identifizieren, wie es bei der amtlichen Lebensmittelkontrolle vielfach vorkommt.

Zusammenfassung

1. Um eine allgemein brauchbare mobile Phase für die papierchromatographische Trennung wasserlöslicher Lebensmittelfarbstoffe zu finden, wurden mehrere Fliessmittelsysteme, bestehend aus einem Alkohol, einer organischen Säure und Wasser, miteinander verglichen.
2. Ausgezeichnete Resultate hinsichtlich Fleckenschärfe, Reproduzierbarkeit der R_f -Werte und Trennungsmöglichkeiten wurden mit einem Fliessmittelsystem, bestehend aus tert. Butylalkohol, Propionsäure und Wasser (50 : 12 : 38 v/v) und 0,4 % KCl, erhalten.
3. Die Eigenschaften dieser neuen mobilen Phase unterscheiden sich deutlich von denjenigen der wässrigen mobilen Phase nach *Thaler und Sommer (1953)*, die allgemeine Verwendung gefunden hat; es muss angenommen werden, dass in diesen zwei Fällen der Mechanismus der Papierchromatographie verschieden ist.

Résumé

1. En cherchant une phase mobile utilisable généralement pour la chromatographie sur papier des colorants alimentaires hydrosolubles, on a comparé plusieurs mélanges d'un alcool, d'un acide organique et d'eau.

2. La définition des taches sur les chromatogrammes, la constance des valeurs R_f , et les possibilités de séparation sont excellentes pour un mélange d'alcool butylique tertiaire, d'acide propionique et d'eau (50 : 12 : 38 v/v) contenant 0,4 % KCl.
3. Du fait que les propriétés de cette nouvelle phase mobile diffèrent nettement de celles de la phase mobile aqueuse de *Thaler* et *Sommer* (1953), employée généralement, il s'ensuit que le mécanisme de la chromatographie sur papier doit probablement être différent dans ces deux cas.

Summary

1. In order to find a generally applicable mobile phase for the paper chromatographic separation of water-soluble food dyes, several mixtures of an alcohol, an organic acid, and water were compared.
2. Considering the sharpness of spots, the reproducibility of R_f -values, and the possibilities of separation, the best results were obtained with a mixture of tertiary butyl alcohol, propionic acid, and water (50 : 12 : 38 v/v), which contains 0,4 % KCl.
3. Since the properties of this mobile phase proved to differ essentially from those of the aqueous mobile phase according to *Thaler* and *Sommer* (1953), now widely used, the mechanism of paper chromatography in the two cases is most probably different.

Literatur

- Colour Index*, 1. Auflage, 1924; 2. Auflage, 1955.
Eisenbrand J. und Koether B., Z. Lebensmittel-Untersuch. und Forsch. **109**, 218 (1959).
Hais I. M. und Macek K., Handbuch der Papierchromatographie, I, 47–48 (1958).
Hanes C. S. und Isherwood F. A., Nature, **164**, 1107 (1949).
Hecht G., Mitteilung 6, Farbstoff-Kommission der deutschen Forschungsgemeinschaft (2. Auflage, 1957).
Legrand A. P., Ann. Fals. Fraudes, **59**, 5 (1959).
Lhoest W., J. de Pharm. de Belgique, **35**, 260 (1953).
Saenz-Lascano-Ruiz I., Ann. Fals. Fraudes, **49**, 315 (1956).
Schultz G., Farbstoff-Tabellen, 7. Auflage, 1931–39.
Thaler H. und Sommer G., Z. Lebensmittel-Untersuch. und Forsch. **97**, 345 (1953).
Tilden D. H., Journal Ass. Off. Agr. Chem. **35**, 423 (1952).
Ullmanns Enzyklopädie der technischen Chemie, 3. Auflage, 7. Band, 212–213 (1950).