

Entwicklung von Nachweisverfahren für bifunktionelle Reaktivfarbstoffe und weitere nichtzugelassene Pigmente in Lebensmitteln



Koordinierung:	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Bonn
Forschungseinrichtung(en):	Deutsches Institut für Lebensmitteltechnik e.V. (DIL), Quakenbrück Dr. Volker Heinz/Dr. Andreas Juadjur Technische Universität Braunschweig Institut für Lebensmittelchemie Prof. Dr. Peter Winterhalter/Dr. Gerold Jerz
Industriegruppe(n):	Bundesverband Deutscher Wurst- & Schinkenproduzenten e.V. (BVWS), Bonn Verband der deutschen Fruchtsaft-Industrie e.V. (VdF), Bonn Bundesverband der Deutschen Süßwarenindustrie e.V. (BDSI), Bonn
Projektkoordinatorin:	Dr. Elke Stich GNT Europa GmbH, Aachen
Laufzeit:	2022 – 2024
Zuwendungssumme:	€ 476.839,--

Ausgangssituation

Zum Ausgleich von Farbverlusten bei der Verarbeitung und Lagerung sowie zur Einfärbung von ansonsten farblosen oder andersfarbigen Lebensmitteln können Lebensmittel gefärbt werden. Die hierfür eingesetzten Lebensmittelfarbstoffe gelten allerdings als Zusatzstoffe und müssen nach EU-Norm mit einer E-Nummer kenntlich gemacht werden. Neben dem erlaubten Zusatz von Lebensmittelfarbstoffen hat es in der Vergangenheit aber immer wieder Verstöße gegeben, die eine Nichtkenntlichmachung des Zusatzes von Farbstoffen zu Lebensmitteln bzw. die Verwendung nichtzugelassener und toxischer Verbindungen (z. B. Bleimennige und Sudanrot in Paprikapulver) umfassten. Hierzu zählt auch der unerlaubte Einsatz von in der Textilindustrie genutzten Reaktivfarbstoffen (Azofarbstoffen) zur Rotfärbung von Lebensmitteln, die in Gewürzpräparaten und färbenden Lebensmitteln für die Verwendung in Fleischerzeugnissen gefunden wurden.

Reaktivfarbstoffe werden für die Textilfärbung eingesetzt und besitzen das Potential, über reaktive funktionelle Gruppen, den sog. Reaktivankern, kovalent an Lebensmittelbestandteile zu binden. Während die für Lebensmittel zugelassenen Azofarbstoffe durch Extraktion aus der Lebensmittelmatrix isoliert und nachgewiesen werden können, ist dies bei gebundenen Reaktivfarbstoffen nicht möglich.

Im Rahmen des IGF-Vorhabens 19637 N wurden bereits Methoden zum analytischen Nachweis von roten und violetten Reaktivfarbstoffen mit einem Reaktivanker in Lebensmitteln mit den Schwerpunkten Gewürzextrakte und Fruchtkonzentrate sowie Fleisch- und Wurstwaren entwickelt und 21 verdächtige Farbstoffpräparate un-

tersucht. In 11 dieser Proben konnten Reaktivfarbstoffe und in 6 weiteren Proben Monascus-Pigmente nachgewiesen werden. Diese Befunde verdeutlichen die aktuelle Präsenz von Reaktivfarbstoffen sowie weiteren nichtzugelassenen Pigmenten auf dem Weltmarkt.

Mit den entwickelten Methoden ist es allerdings noch nicht möglich, die gesamte Strukturvielfalt von potentiellen Farbstoffverfälschungen nachzuweisen. Ziel des Forschungsvorhabens war es daher, auf den Ergebnissen des IGF-Vorhabens 19637 N aufbauend, die entwickelten Analysenmethoden zum Nachweis von Reaktivfarbstoffen zu erweitern, um auch für die seinerzeit nicht eindeutig nachweisbaren Substanzen geeignete Nachweisverfahren zur Verfügung zu stellen. Neben roten und violetten Reaktivfarbstoffen der Azo-Klasse sollten auch bifunktionelle Reaktivfarbstoffe mit Ankergruppen auf beiden Seiten der Azobrücke sowie blaue Reaktivfarbstoffe aus weiteren Farbstoffklassen nachweisbar sein. Im Speziellen sollte zunächst die entwickelte photometrische Schnellmethode zur Prüfung von färbenden Rohstoffen für die Lebensmittelproduktion erweitert und die Datenbank der ^1H -NMR-spektroskopischen Fingerprintanalyse aufgestockt werden, um eine umfangreiche Datengrundlage für die Farbstoffidentifizierung zur Verfügung zu haben. Des Weiteren sollte eine Fortentwicklung der LC-ESI-MS/MS-Methodik stattfinden.

Forschungsergebnisse

Die photometrische Schnellmethode zur Authentizitätsprüfung von färbenden Lebensmittelrohstoffen wurde erfolgreich für die Anwendung auf weitere Farbtöne und Farbstoffklassen fortentwickelt. Hierzu wurden 345 Referenzproben gesammelt und ihre UV/Vis-Spektren unter verschiedenen Bedingungen aufgenommen. Auf dieser Grundlage können unbekannte Farbstoffe mit einer Genauigkeit von 99,4 % mittels Random Forest klassifiziert und das Vorhandensein deklarierter Inhaltsstoffe überprüft werden. Darüber hinaus wurde ein Fließschema entwickelt, das mit Hilfe eines visuellen Vergleichs der Farbstoffeigenschaften in verschiedenen Lösungsmitteln für eine schnelle Begutachtung von Farbstoffproben genutzt werden kann.

Die Datenbank für die ^1H -NMR-spektroskopische Fingerprintanalyse zur Identifizierung von Reaktivfarbstoffen wurde auf nun insgesamt 146 Referenzfarbstoffe erweitert und um J-resolved ^1H -NMR-Spektren ergänzt, die eine detailliertere Differenzierung überlappender Signale ermöglichen. Mit Hilfe von Matrixkorrelationsmethoden findet ein Abgleich eines Probenspektrums mit der Datenbank statt, sodass der abschließende Vergleich auf die Referenzen mit der größten Übereinstimmung zur Probe beschränkt werden kann. Zusätzlich wurde mit Hydroxyprolin eine geeignete Markersubstanz mit spezifischen NMR-Signalen und guten Bindungseigenschaften ermittelt, die den Nachweis aktiver Reaktivanker ermöglicht. Dadurch können auch Reaktivfarbstoffe, die nicht in der Datenbank enthalten sind, über ihre reaktiven Eigenschaften als solche identifiziert werden.

Für den Nachweis mittels LC-MS wurden charakteristische Spaltprodukte von Reaktivfarbstoffen verschiedener Farbstoffklassen ermittelt. Nach reduktiver Spaltung mit Zinn(II)-chlorid konnten mittels LC-ESI-MS/MS beispielsweise 1-Aminoanthrachinonsulfonsäure und 1,4-Diaminohydroanthrachinonsulfonsäure als Markerverbindungen für Anthrachinonfarbstoffe oder Sulfophthalimide als Marker für Phthalocyanine identifiziert werden. Dieser indirekte Nachweis von ungebundenen Reaktivfarbstoffen gelang auch nach Anwendung enzymatischer Methoden. Für gebundenen Farbstoff erwies sich jedoch die o.g. reduktive Spaltung am geeignetsten.

Für den Nachweis von bifunktionellen Reaktivfarbstoffen, die potentiell keine extrahierbaren und mittels LC-ESI-MS/MS nachweisbaren Spaltprodukte bilden, wurden zwei Lösungsansätze im Projekt erprobt. Als vielversprechendere Strategie erwies sich ein enzymatischer und nasschemischer Verdau von Protein- und Kohlenhydratmatrizes. Die so freigesetzten Reaktivfarbstoffe, die weiterhin an mono- und oligomeren Aminosäuren und Sacchariden gebunden sind, sind im Anschluss mittels LC-ESI-TOF-MS/MS detektierbar. Für proteinhaltige Matrizes wurden vor allem Lysin- und Histidin-Farbstoffkonjugate nachgewiesen, während für Kohlenhydratmatrizes Oligosaccharid-Konjugate mit unterschiedlichen Kettenlängen vorlagen.

Des Weiteren wurden innerhalb der Projektlaufzeit verschiedene verdächtige Farbstoffproben analysiert, die im außereuropäischen Raum vermarktet wurden, vorgeblich rein natürlichen Ursprungs waren, jedoch durch ihre ungewöhnlich hohe Farbstabilität auffielen. Mit Hilfe der entwickelten Methoden konnten Reactive Red 141 und Reactive Blue 21 in diesen Proben nachgewiesen werden, was zeigt, dass die Methoden für einen zuverlässigen Nachweis von Reaktivfarbstoffen weiterhin für die Aufrechterhaltung des Verbraucherschutzes erforderlich sind.

Wirtschaftliche Bedeutung

Lebensmittelfärbung spielt in fast allen Bereichen der Lebensmittelindustrie eine wichtige Rolle, wie z.B. bei den Herstellern von Süßwaren, Milchprodukten, bei Speiseeis, Fischerzeugnissen, wie Surimi, oder Fleischwaren. Während künstliche Farbstoffe von vielen Verbrauchern mit diversen gesundheitsschädlichen Eigenschaften in Verbindung gebracht werden, sind natürliche Farbstoffe und färbende Lebensmittel zunehmend nachgefragt. In technologischer und ökonomischer Hinsicht sind Letztere allerdings oft von Nachteil, da die künstlichen Farbstoffalternativen zumeist die günstigere, stabilere und effizientere Lösung darstellen. Lebensmittelhersteller stehen vor der Herausforderung, ein optisch ansprechendes, farbstabiles und kostengünstiges Produkt zu erzeugen, das darüber hinaus noch den Verbraucherwunsch der Natürlichkeit erfüllen soll.

Für Unternehmen kann die unwissentliche Verarbeitung unzulässiger Farbstoffe zu einem gravierenden Vertrauensverlust bis hin zu existenzbedrohenden Imageschäden führen. Illegale Reaktivfarbstoffe können beim Verzehr zu gesundheitlichen Schäden führen. Gleiches gilt für deren Begleitstoffe, wie z.B. kanzerogene aromatische Amine als Syntheserückstände oder technische Hilfsstoffe, wie Aufzugs- und Fixiermittel, die ggf. für den Einsatz im Textilfärbeprozess zugesetzt wurden. Die Erweiterung der bestehenden Analysemethoden dient gleichermaßen dem Schutz der Unternehmen vor finanziellen Schäden durch Rückrufaktionen wie dem gesundheitlichen Verbraucherschutz.

Publikationen (Auswahl)

1. FEI-Schlussbericht 2024
2. Küchner, L., Nguyen Thanh, B., Diers, L., Tautz, C., Jerz, G. & Winterhalter, P.: Identification of Marker Compounds for the Detection of Anthraquinone-Based Reactive Dyes in Foods. *Colorants 4* (1), 6 (2025).

Weiteres Informationsmaterial

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)
Godesberger Allee 125, 53175 Bonn
Tel.: +49 228 3079699-0
Fax: +49 228 3079699-9
E-Mail: fei@fei-bonn.de

Deutsches Institut für Lebensmitteltechnik e.V. (DIL)
Prof.-von-Klitzing-Straße 7, 49610 Quakenbrück
Tel.: +49 5431 183-224
Fax: +49 5431 183-114
E-Mail: v.heinz@dil-ev.de

Technische Universität Braunschweig
Institut für Lebensmittelchemie
Schleinitzstraße 20, 38106 Braunschweig
Tel.: +49 531 391-7202
Fax: +49 531 391-7230
E-Mail: p.winterhalter@tu-bs.de

Förderhinweis

... ein Projekt der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)

Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages



FORSCHUNGSKREIS
DER ERNÄHRUNGSINDUSTRIE E.V.



Das o. g. IGF-Vorhaben der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 125, 53175 Bonn, wird/wurde im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Klimaschutz aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Bildnachweis - Seite 1: @m_a - stock_#91869671.adobe.com

Stand: 6. Mai 2025