



# Ethylenoxid im Fokus der Lebensmittelkontrolle

In Sesamsamen aus Indien haben die Überwachungsbehörden der Länder Rückstände von Ethylenoxid gemessen. Die zur Begasung von Lebensmitteln zwecks Entkeimung eingesetzte Chemikalie ist in der EU für diesen Anwendungsfall verboten. Betroffene Produkte wurden zurückgerufen, die Öffentlichkeit wurde informiert. Um den Schutz der Verbraucherinnen und Verbraucher zu gewährleisten, braucht es eine schnelle, sichere und zuverlässige Analytik.

Von Tatiana Cucu, RIC Technologies

Ethylenoxid (EO) ist ein süßlich riechendes, farbloses, hochentzündliches Gas, das in einigen Staaten außerhalb der Europäischen Union (EU) als Biozid zur Bekämpfung von Insekten und Mikroorganismen wie Pilzen und Bakterien insbesondere bei trockenen Lebensmittelerzeugnissen wie Kräutern, Gewürzen, Nüssen oder öligen Samen verwendet wird. In der EU selbst ist der Einsatz von EO in Verbindung mit Lebensmitteln, und zwar seiner potenziell krebserregenden und erbgutschädigenden Wirkung wegen seit 1991 verboten. Dessen ungeachtet berichtet das Europäische Schnellwarnsystem für Lebens- und Futtermittel (RASFF) seit 2020 vermehrt über mit EO-Rückständen kontaminierte Lebensmittel, seinerzeit insbesondere Sesamsamen aus Indien. Die gemessenen EO-Mengen überstiegen demnach die laut Verordnung EU 2015/868 festgelegte Rückstandshöchstgrenze (MRL) von 0,05 mg/kg bei Weitem. Hieraus resultierten vermehrte Kontrollen, die in vielen EU-Mitgliedstaaten zur Rücknahme und zu Rückrufen einer beträchtlichen Anzahl sowohl konventioneller als auch von Bio-Produkten führten.

## Der Wirkstoff und sein Metabolit

Um sicherzustellen, dass Lebensmittel unbedenklich zu verzehren sind, benötigen Industrie und Überwachungsbehörden zuverlässige und sichere, hinreichend empfindliche Methoden zum Nachweis von Ethylenoxid (EO) und dessen wichtigsten Metaboliten 2-Chlorethanol (2-CE), und zwar in Konzentrationen unterhalb der festgelegten MRL (s.o.). In der Literatur sind verschiedene Verfahren zur Bestimmung von EO respektive der Summe von EO und 2-CE dokumentiert. Einige basieren auf der Umwandlung von 2-CE in EO unter alkalischen Bedingungen mit anschließender Umsetzung des EO zu 2-Iodethanol; hierauf fußt die offizielle deutsche Standardmethode (§ 64 LFGB, L53.00-1).

Andere Methoden basieren auf der Umwandlung des EO in 2-CE, und zwar unter sauren Bedingungen, gefolgt von der Extraktion des resultierenden 2-CE mit Ethylacetat und der GC/MS-Analyse. Des Weiteren wurde vom EU-Referenzlabor für Einzel-Pestizidrückstände im Dezember 2020 eine Kombination aus einer QuEChERS-Probenvorbereitungsmethode und einer GC-MS/MS-Analysemethode vorgeschlagen.

## Herausforderungen meistern

Bei der Analyse von EO und 2-CE in Lebensmittelprodukten sind Herausforderungen zu meistern. Die hohe Flüchtigkeit von EO etwa erfordert die Verwendung einer speziellen Säule, um Interferenzen mit co-eluierendem Acetaldehyd zu vermeiden, das häufig insbesondere in fetthaltigen Lebensmitteln vorkommt. Acetaldehyd und EO haben ähnliche Massenspektren und Retentionsindices. Zum anderen enthalten QuEChERS-Extrakte von Natur aus oft große Mengen nichtflüchtigen Materials, das sich im Liner des Probenaufgabesystems ansammeln und die Genauigkeit und Robustheit der Analyse beeinträchtigen kann. Zudem steht zu befürchten, dass sich die Trennleistung der analytischen Säule aufgrund der Injektion von Proben, die hochsiedende Verbindungen enthalten, verschlechtert und die Ionenquelle des Detektors verschmutzt wird. Diese Herausforderung vor Augen wurde von RIC Technologies das nachfolgend beschriebene automatisierte Analysensystem auf Basis einer im EU Community Reference Laboratory for Single Residue Methods, CVUA Stuttgart ([cr1@cvuas.bwl.de](mailto:cr1@cvuas.bwl.de))

2-CE, das auch als Ethylenchlorhydrin bezeichnet wird, zählt zu den giftigsten organischen Halogen-Verbindungen. Am Rande bemerkt, scheint 2-CE in mit EO behandelten Lebensmittelproben zu dominieren, allem Anschein nach aufgrund der extremen Reaktivität und Leichtflüchtigkeit des Ethylenoxids.



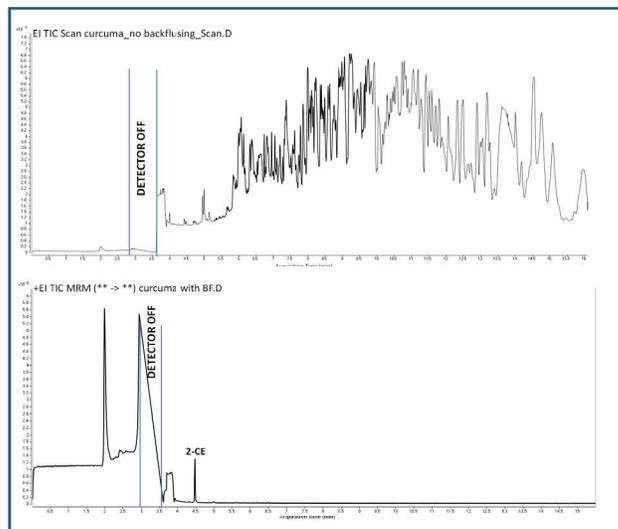


Chromatographisches Profil des im Scan-Modus ohne Rückspülung analysierten Kurkuma-Extrakts (obere Spur) und des mit Rückspülung analysierten Kurkuma-Extrakts (untere Spur). Quelle: Tatiana Cucu / RIC Technologies

entwickelten Methode zur Quantifizierung von EO und seines Hauptmetaboliten 2-CE in Lebensmitteln, namentlich in Sesam und Kurkuma, erstellt. Verwendet wurde ein spezieller Aufbau basierend auf einem Agilent 8890 GC, einem Agilent 7010 Triple Quadrupol MS und einem GERSTEL-MultiPurpose Sampler (MPS), dieser wiederum ausgestattet mit der Option „Automated Liner Exchange“ (GERSTEL-ALEX), um Ausfallzeiten durch matrixbedingte Verschmutzungen von Probenaufgabesystem, Trennsäule und Ionenquelle (MSD) gering zu halten. Zusätzlich wurde die analytische Säule durch die Integration einer Vorsäulen-Rückspüloption geschützt, was zu einer erhöhten Robustheit (längere Lebensdauer der Säule) und hohen Produktivität (Ausfall-/Wartungszeiten gering) führte.

### Blick auf analytische Details

Methodenentwicklung erfolgte mit Standardlösungen von EO und 2-CE, die Validierung unter Einsatz realer dotierter Proben, die mechanisch homogenisiert wurden. Zur Quanti-



fizierung wurden deuterierte Analoga (EO-D4 und 2-CE-D4) als interne Standards verwendet. Die QuEChERS-Extraktion wurde gemäß DIN EN 15662 manuell durchgeführt. Um die chromatographische Stabilität zu demonstrieren, wurden Extrakte aus Sesamsamen und Kurkuma in Konzentrationen von 10, 40 und 100 ng/mL mit EO und 2-CE versetzt und wiederholt nacheinander aus demselben Fläschchen auf denselben Liner injiziert. Zu beobachten war eine geringe Abnahme der absoluten Fläche von EO in Sesam- und ins-

## Das ganze Potenzial der Ethylenoxid-Analytik ausschöpfen

RIC Technologies hat eine Methode zur Bestimmung von Ethylenoxid (EO) in Sesamsamen vorgelegt, die sich an der EU-Referenzlabormethode [1] orientiert. Die Nachfrage nach einer entsprechenden Analytik hat in den zurückliegenden zwei Jahren offenbar zugenommen, nicht zuletzt deuten die zahlreichen Meldungen des Europäischen Schnellwarnsystems für Lebens- und Futtermittel (RASFF) in diese Richtung. Im Gespräch mit Dr. Oliver Lerch, Applikationsexperte und Head of Automated Sample Preparation bei GERSTEL, geht GERSTEL Aktuell der Frage nach dem Spektrum der Möglichkeiten nach, die Bestimmung von Ethylenoxid zu automatisieren.



**GERSTEL Aktuell:** Sehr geehrter Herr Dr. Lerch, Tatiana Cucu von RIC Technologies beschreibt in ihrer Arbeit zum Nachweis von Ethylenoxid in Sesamsamen und Kurkuma u. a. den Einsatz eines Automated Liner Exchange (GERSTEL-ALEX). Was aufgrund der in aller Regel matrixhaltigen QuEChERS-Extrakte vonnöten ist. Wie schätzen Sie die von Frau Cucu vorgestellte Methode ein?

**Dr. Oliver Lerch:** Sie ist sehr gut geeignet, das Analysenziel zu erreichen, sprich Ethylenoxid (EO) in Lebensmitteln sicher und zuverlässig zu bestimmen. Was sicher auch dem Sachverhalt geschuldet ist, dass sich Tatiana Cucu an der Methode des renommierten EU-Referenzlabors für Pestizidrückstände (Methoden für Einzelrückstände) am CVUA Stuttgart orientiert hat.

**GERSTEL Aktuell:** Welche technischen Einzelheiten sind hervorzuheben?

**Dr. Oliver Lerch:** Die Integration einer Säulenrückspülung ist ohne Frage wertvoll, um das GC/MS-System nicht mit stören-

den Hochsiedern zu überlasten. Das GERSTEL-ALEX-System wiederum verhindert einen Einbruch der Leistungsfähigkeit des Analysensystems aufgrund verschmutzter Liner. Das entlastet nicht zuletzt auch das Laborpersonal.

**GERSTEL Aktuell:** Was meinen Sie damit konkret?

**Dr. Oliver Lerch:** Kommt der MPS mit der ALEX-Option zum Einsatz, lassen sich Intervalle programmieren, nach denen der Liner automatisch gewechselt wird. Dafür braucht kein Labormitarbeiter, keine Labormitarbeiterin Sorge zu tragen oder überhaupt anwesend zu sein. Es kann sehr entlastend wirken bei den vielen Aufgaben im Labor, die tagtäglich anstehen, wenn ein Gerät 24/7 laufen kann und mögliche Leistungseinbußen vom System selbst kompensiert werden. Mehr noch: die „Sequence by Barcode“-Option kann dem Personal sogar die manuelle Erstellung der Analysensequenz abnehmen, die mithilfe von Barcodes und Daten aus dem LIMS automatisch erfolgt. Das ist aber eine andere Geschichte.



besondere Kurkuma-Extrakt, was sich durch das Verdunsten von EO aus dem Fläschchen erklären lässt, das mehrmals, bei Raumtemperatur gelagert, von der Injektionsnadel des MPS durchstochen wurde. Dessen ungeachtet betrug die Wiederholbarkeit der Wiederfindung 5 bis 6 %, was darauf hindeutet, dass der Verlust unter Verwendung des deutierten internen Standards korrigiert wird.

Anders als erwartet trat ein gewisser Verlust von 2-CE auf, das im Vergleich zu EO wenig flüchtig ist. Der Unterschied in den absoluten Flächen zwischen der ersten und fünften Injektion von etwa 40 % wird eindeutig durch aktive Stellen im Injektionsliner verursacht. Zusätzlich wurde eine gewisse Verzerrung der Peaks nach der Injektion von besonders matrixbeladenen Extrakten wie im Fall von Kurkuma beobachtet. Beleg dafür, dass die Injektion relativ schmutziger QuEChERS-Extrakte die Analyse von 2-CE beeinflusst. Die Implementierung der Option Automated Liner Exchange (ALEX) in die Analyse von EO und 2-CE ist daher ratsam. Unter Verwendung dieser Option wurden die

Liner spätestens nach 20 Injektionen (benutzerdefiniertes Zeitereignis) ausgetauscht, um sicherzustellen, dass die Akkumulation nichtflüchtigen Materials aus den Extrakten im Liner begrenzt und die Genauigkeit der Methode nicht beeinträchtigt ist. Die Integration der Vorsäulen-Rückspül-Option verhinderte nachweislich, dass große Mengen hochsiedender Verbindungen die analytische Säule erreichten. Die MS-Quelle wurde unter Einsatz der Rückspül-Option nur geringfügig kontaminiert. Es zeigte sich, wurde unmittelbar nach der Übertragung der Zielanalyten auf die analytische Säule mit der Rückspülung begonnen, hatte die Probe keinen oder nur geringen Einfluss auf die analytische Säule. Das heißt, die analytische Säule ist länger uneingeschränkt brauchbar und die MS-Quelle vor Verschmutzung geschützt.

## Erfolgreiche Ethylenoxid-Analytik

Die hier beschriebene Methode zur Bestimmung von Ethylenoxid und 2-Chlorethanol wurde validiert, indem

**GERSTEL Aktuell:** Sehen Sie weiteres Automatisierungspotenzial?

**Dr. Oliver Lerch:** Bei der QuEChERS-Extraktion ist das so eine Sache. Die QuEChERS-Rohextrakte wiederum lassen sich automatisiert aufreinigen. Diesen Probenvorbereitungsschritt haben wir in der Vergangenheit bereits in zahllosen Applikationsbeispielen für unsere Kundinnen und Kunden erfolgreich automatisiert beziehungsweise auf den MPS übertragen.

**GERSTEL Aktuell:** Sehen Sie andere Möglichkeiten der Orientierung bei der Wahl der Analysenmethode?

**Dr. Oliver Lerch:** Bei der Ausgestaltung einer Analysenlösung kommt es immer auch, wenn nicht sogar zuallererst, auf die Anforderungen des Auftraggebers, der Auftraggeberin an. Als Gerätehersteller liefern wir unseren Kundinnen und Kunden Hard- und Software und wir beraten sie kompetent. Bei der Umsetzung der applikativen Details aber richten wir uns insbesondere nach deren Wünschen und Vorstellungen.

**GERSTEL Aktuell:** Haben Sie ein konkretes Beispiel vor Augen, anhand dessen Sie mögliche Unterschiede oder Variationen hervorheben können?

**Dr. Oliver Lerch:** Durchaus. Ein namhaftes, führendes Auftragslabor für Lebensmittelanalytik etwa wollte Ethylenoxid und 2-Chlorethanol in Anlehnung an das Lebensmittel- und Futtermittelgesetz (§ 64 LFGB L53.00-1) analysieren.

**GERSTEL Aktuell:** Was macht den Unterschied zur EU-Referenzmethode aus?

**Dr. Oliver Lerch:** Der zentrale Unterschied liegt darin, dass hier keine QuEChERS-Extraktion durchgeführt wird.

**GERSTEL Aktuell:** Worauf fußt die Probenvorbereitung?

**Dr. Oliver Lerch:** Insbesondere Schritte der Flüssig-Flüssig-Probenvorbereitung, einschließlich der Derivatisierung des EO, die sich allerdings, das macht den Unterschied, allesamt einfach und vollständig automatisieren, sprich auf den GERSTEL-MPS übertragen lassen.

**GERSTEL Aktuell:** Wie steht es um die Qualität der Analyse? Sind die damit erzielten Resultate mit denen der EU-Referenzmethode vergleichbar?

**Dr. Oliver Lerch:** Beide Methoden haben sich in der Praxis bewährt.

**GERSTEL Aktuell:** Welche würden Sie empfehlen?

**Dr. Oliver Lerch:** Es liegt nicht an uns, Methoden oder Verfahren zu empfehlen, sondern auf die Anforderungen unserer Kundinnen und Kunden zu reagieren und ihnen eine Analysenlösung anzubieten, die ihnen den größten Mehrwert bietet. Dass wir dazu in der Lage sind, haben wir hinreichend oft belegt, und zwar in vielen unterschiedlichen Applikationsbeispielen. Auch in puncto Ethylenoxid-Bestimmung. Apropos: Für Anwenderinnen und Anwender, die vor dieser Aufgabe stehen – ein Gespräch mit uns ist in jedem Fall interessant und lohnenswert.

**GERSTEL Aktuell:**

Sehr geehrter Herr Dr. Lerch, vielen Dank für das Gespräch.

## REFERENZ

[1] EURL-SRM – Analytical Observations Report. Analysis of Ethylene Oxide and its Metabolite 2-Chloroethanol by the QuOil or the QuEChERS Method and GC-MS/MS, Version 1.1, Dezember 2020



Wiederfindungsexperimente in dreifacher Ausführung bei drei verschiedenen Konzentrationen (0,05, 0,2, 0,5 mg/kg) auf Probenbasis durchgeführt wurden. Die Wiederfindung lag zwischen 84,5 und 100,6 % für EO sowie 88,8 und 106,2 % für 2-CE in den Sesam- und Kurkuma-Proben. Um einen Beleg für die Praxistauglichkeit der Methode zu erbringen, wurden repräsentative Lebensmittelproben, die im örtlichen Supermarkt gekauft wurden, analysiert. Ergebnis: Keine der Proben wurde positiv auf EO getestet, wohl aber alle auf 2-CE, und zwar zum Teil oberhalb der MRL-Werte. Die Genauigkeit der entwickelten Methode wurde mit Sesam-Referenzmaterial (freundlicherweise von einem Forschungspartner zur Verfügung gestellt) getestet und der erhaltene Wert lag nahe am berichteten Durchschnittswert von 4660 µg/kg (27,3 % CV).

Die Wiederfindung lag zwischen 85 und 106 %, mit guter Wiederholbarkeit sowohl für EO als auch für 2-CE. In Bezug auf die Sensitivität zeigte die entwickelte Methode LOQs für Sesam und Kurkuma (repräsentativ für die Lebensmittelkategorie Gewürze) unterhalb der derzeit festgelegten MRLs. Die Ergebnisse erwiesen sich sowohl für Sesam- als auch für Kurkuma-Proben als stabil, die RSDs für dreifache Extraktionen und Analysen für die Wiederfindungsexperimente lagen weit unter 20 %. Die Probenvorbereitung und der optimierte GC-MS/MS-Methodenaufbau lieferten zuverlässige Ergebnisse und Leistungsmerkmale, die zeigen, dass diese Methode zur Quantifizierung von EO und 2-CE bis hinunter zu regulierten Konzentrationen für Sesam- und

Gewürzproben verwendet werden kann. Das Verfahren bietet eine hohe Empfindlichkeit, Selektivität, Genauigkeit und insbesondere einen hohen Probendurchsatz bei minimaler Ausfallzeit im Zusammenhang mit der Wartung des Probenaufgabesystems, dem Austausch der analytischen Säule oder der Quellenreinigung.

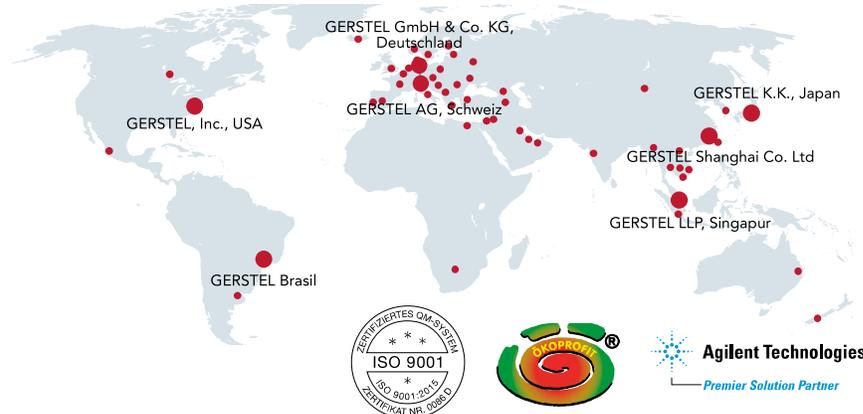
## REFERENZEN

- [1] Regulation (EU) 2015/868 of 26 May 2015 amending Annexes II, III and V to Regulation (EC) No 396/2005 of the European Parliament and of the Council as regards maximum residue levels for 2,4,5-T, barban, binapacryl, bromophos-ethyl, camphochlor (toxaphene), chlorbufam, chloroxuron, chlozolate, DNOC, di-allate, dinoseb, dinoterb, dioxathion, ethylene oxide, fentin acetate, fentin hydroxide, flucycloxuron, flucythrinate, formothion, mecarbam, methacrifos, monolinuron, phenothrin, propham, pyrazophos, quinalphos, resmethrin, tecnazene and vinclozolin in or on certain products. Off. J. Eur. Union L 145/1 – 71 (2015).
- [2] Bericht aus dem Europäischen Schnellwarnsystem für Lebensmittel und Futtermittel 2020, Ethylen häufigster Warngrund, Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL), 06.10.2021, [https://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Fokusmeldungen/01\\_lebensmittel/2021/2021\\_10\\_06\\_HI\\_RASFF.html?nn=12429764](https://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Fokusmeldungen/01_lebensmittel/2021/2021_10_06_HI_RASFF.html?nn=12429764)
- [3] Regulation (EC) No 149/2008 of 29 January 2008 amending Regulation (EC) No 396/2005 of the European Parliament and of the Council by establishing Annexes II, III and IV setting maximum residue levels for products covered by Annex I thereto. Off. J. Eur. Union L 58/1 – 398 (2008).
- [4] EURL-SRM-Analytical Observation Report: Analysis of Ethylene Oxide and its metabolite 2-Chloroethanol by the QuOil or the QuEChERS method and GC-MS/MS. Dezember 2020. Link: [https://www.eurl-pesticides.eu/library/docs/srm/EurlSrm\\_Observation\\_EO\\_V1.pdf](https://www.eurl-pesticides.eu/library/docs/srm/EurlSrm_Observation_EO_V1.pdf)

**GERSTEL**  
MAKING LABS WORK

GERSTEL GmbH & Co. KG  
Eberhard-Gerstel-Platz 1  
45473 Mülheim an der Ruhr

Folgen Sie uns:



[www.gerstel.de](http://www.gerstel.de)

GERSTEL®, GRAPHPACK®, TWISTER® und TWICESTER® sind eingetragene Marken der GERSTEL GmbH & Co. KG. · Änderungen vorbehalten. Agilent® is a registered Trademark of Agilent Technologies, Inc. · LinkedIn, the LinkedIn logo, the IN logo and InMail are registered trademarks or trademarks of LinkedIn Corporation and its affiliates in the United States and/or other countries · Copyright by GERSTEL GmbH & Co. KG