

## Hintergrund

Mineralölkohlenwasserstoffe (Mineral Oil Hydrocarbons, MOH) sind Destillationsprodukte von Erdöl oder Steinkohleteer. Sie enthalten gerade und verzweigte aliphatische und cycloaliphatische (Mineral Oil Saturated Hydrocarbons, **MOSH**) sowie alkylierte, teilhydrierte aromatische Kohlenwasserstoffe, (Mineral Oil Aromatic Hydrocarbons, **MOAH**). Daneben können auch Heterozyklen vorhanden sein. Die Palette der MOH reicht von leichtflüchtigen und gut abbaubaren Kohlenwasserstoffen bis zu schwerlöslichen, schwerflüchtigen und schwer abbaubaren hochmolekularen Verbindungen aus Schmierfetten und -ölen. MOH aus Druckfarben und Recyclingkartons können in hohen Mengen in verpackte Lebensmittel migrieren. Allerdings gelangen MOH in unterschiedlicher Zusammensetzung auch auf vielen anderen Wegen in Lebensmittel. Einige Beispiele sind: Verunreinigungen mit „Batching Oil“ aus Jutesäcken (z.B. Haselnüsse, Reis, Kakao- oder Kaffeebohnen), Trennöle bei Backwaren, Paraffinöl zur Schönung von Reis und als Staubbinder sowie Hydrauliköle von Dosieranlagen (z.B. in der Lebensmittelindustrie).

## Toxikologische Einstufung

Für eine gesundheitliche Bewertung fehlt derzeit eine ausreichende Charakterisierung der Zusammensetzung der Mineralölgemische. Es ist dem BfR deshalb bislang nicht möglich, eine vollständige Risikoabschätzung vorzunehmen. Unabhängig von der Risikobewertung sind diese Kontaminationen bei Lebensmitteln aber grundsätzlich unerwünscht.

Paraffine sind eine der quantitativ bedeutsamsten Kontaminationen im menschlichen Körper. Aktuelle Untersuchungen zeigen eine Akkumulation in verschiedenen Organen im Molekulargewichtsbereich von etwa n-C<sub>20</sub> bis n-C<sub>46</sub>. Gesättigte Kohlenwasserstoffe sind nicht kanzerogen, führen in hohen Dosen aber zu einem erhöhten Cholesterolspiegel und erhöhter Menge an Entzündungsmarkern (Stroes et al. *N Engl J Med* 2019; 380:89-90).

Aromatische Kohlenwasserstoffe sind potentiell genotoxisch und karzinogen (Gutachten zur lebensmittelbedingten Exposition des Menschen gegenüber ‚Mineralöl-Kohlenwasserstoffe‘, Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA), Juni 2012). Die östrogene Wirksamkeit der MOAH-Fraktion wurde vom BfR in *in-vitro* Studien nachgewiesen (Luch et al. 2016, *PLOS ONE* 11(1): e0147239). Jedoch ist eine Unterscheidung von mono- und diaromatischen Verbindungen von den triaromatischen und höherkondensierten MOAH notwendig (Grob, *J. Agric. Food Chem.* 2018, 66, 27, 6968-6974). Hinsichtlich der Mineralölgemische mit einem hohen Aromatenanteil (MOAH) sollte gemäß des BfR die Aufnahme gänzlich vermieden werden, da nicht ausgeschlossen werden kann, dass in der MOAH-Fraktion krebserzeugende aromatische Verbindungen enthalten sind.

Abschätzungen zufolge werden täglich über die Nahrung zwischen 0,03 und 0,3 mg gesättigte Kohlenwasserstoffe (MOSH) je Kilogramm Körpergewicht aufgenommen, bei Kindern kann die Aufnahme auch höher sein (EFSA, 2012). Die Aufnahmemenge an aromatischen Kohlenwasserstoffen (MOAH) liegt nach Schätzungen der EFSA zwischen 0,006 und 0,06 mg je Kilogramm Körpergewicht. Für ein 10 kg schweres Kind bedeutet dies eine tägliche Aufnahme von bis zu 3 mg MOSH und 0,6 mg MOAH.

## Rechtliche Einstufung

Der temporäre ADI für Mineralöle der Klassen II und III von 0,01 mg/kg Körpergewicht wurde im Juni 2012 beim JECFA Seventy-sixth meeting zurückgezogen (Fifty-ninth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, WHO Technical Report Series 913(2002)).

Seit April 2011 existiert ein vom BfR festgelegter befristeter Migrationsgrenzwert für aromatenfreie Mineralöle (also MOSH, Verwendung als Formulierungsmittel zur Papierherstellung) im Molekulargewichtsbereich von n-C<sub>10</sub> - n-C<sub>16</sub> von 12 mg/kg. Für die Fraktion von n-C<sub>17</sub> – n-C<sub>20</sub> wurde im November 2012, ebenfalls vom BfR, ein Migrationswert von 4 mg/kg Lebensmittel für gesättigte Kohlenwasserstoffe festgelegt (BfR Empfehlung XXXVI).

Der 4. Entwurf der 22. Verordnung zur Änderung der Bedarfsgegenständeverordnung (Mineralölverordnung) vom 07.03.2017 sieht Höchstmengen für den Übergang von MOAH aus Lebensmittelbedarfsgegenständen aus Papier, Pappe oder Karton vor, die unter Verwendung von Altpapier hergestellt worden sind. Danach dürfen Lebensmittelbedarfsgegenstände nur in Verkehr gebracht werden, wenn für den Übergang von MOAH (ggf. durch den Einsatz einer funktionalen Barriere) die Höchstmenge von 0,5 mg/kg Lebensmittel bzw. 0,15 mg/kg Lebensmittelsimulanz eingehalten wird. Bis zu diesem Gehalt gilt ein Übergang als nicht erfolgt und eine funktionelle Barriere als geeignet. Der Entwurf wurde August 2020 mit kleinen Änderungen für den Notifizierungsprozess an die EU Kommission übergeben.

Des Weiteren gilt durch die GMP-Verordnung (EG) Nr. 2023/2006, dass jeder Hersteller sicherstellen muss, dass „Materialien und Gegenstände die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen [...] die dem ihnen zugedachten Verwendungszweck angemessen sind, ohne die menschliche Gesundheit zu gefährden“.

Nicht zuletzt ist in der europäischen Kontaminantenverordnung (EG) Nr. 1881/2006 festgelegt, dass für „Kontaminanten, die als genotoxische Karzinogene einzustufen sind [...], die Höchstgehalte so niedrig festzulegen (sind), wie in vernünftiger Weise erreichbar („as low as reasonably achievable“, ALARA“. Das ALARA-Prinzip gilt somit auch für die MOAH.

Am 24. März 2019 wurden von Herrn Helling (sächsisches Staatsministerium für soziales und Verbraucherschutz) erstmalig die BLL Orientierungswerte vorgestellt. Sie gelten für pflanzliche Fette und Öle (außer tropische Öle), Backwaren/Cerealien, Schokolade bzw. Süßwaren und Nüsse (Details siehe Abb.1).

LAV und Lebensmittelverband: MOH-Orientierungswerte (Stand Juni 2020)				
Nr.	Produktgruppe Lebensmittelkategorie (Endverbraucherprodukte)	MOSH und Analoga [mg/kg] C <sub>10</sub> -C <sub>50</sub>	MOAH [mg/kg] C <sub>10</sub> -C <sub>50</sub>	Hinweise zu Anwendung (Hinweise zu den erfassten Lebensmittelgruppen / zu nichterfassten Produkte und Abgrenzungen/ ggf. zu Begründungen, Datenbasis oder sonstigen Besonderheiten) MOH-Orientierungswerte sind immer in Verbindung mit der beschriebenen Definition anzuwenden.
1	Pflanzliche Öle, (wie Rapsöl, Sonnenblumenöl, Leinöl, Olivenöl) (außer Öle/Fette tropischer Pflanzen und Sojaöl)	13	n.b. <sup>2</sup>	diese Orientierungswerte sind nicht zur Anwendung für Öle/Fette, die aus tropischen Pflanzen gewonnen wurden (z. B. Kokosöl), vorgesehen, aufgrund ungenügender statistischer Datenbasis (im Dez. 2018)
2	Brot und Kleingebäck, Feine Backwaren, Getreideerzeugnisse und getreidebasierte Produkte, Cerealien, Reis, Teigwaren	6	n.b. <sup>3</sup>	nicht für Rohwaren oder Rohteige
3	Süßwaren (Zuckerwaren außer Kaugummi), Schokolade und kakaobasierte Süßwaren	9	n.b. <sup>3</sup>	
4	Nüsse, Schalenfrüchte, Ölsaaten, Kokosnuss, Erdnüsse und Trockenfrüchte sowie Mischungen daraus	4	n.b. <sup>3</sup>	

n.b. - nicht bestimmbar, d.h. Gehalte < Bestimmungsgrenze (hier: LOQ<sub>max</sub> in mg/kg gemäß der JRC Guidance on sampling, analysis and data reporting for monitoring of mineral oil hydrocarbons in food and food contact materials, Stand 2019)

<sup>2</sup>LOQ<sub>max</sub> für jede Fraktion (vgl. JRC Technical Report<sup>1</sup>) für Fette / Öle entspricht 2 mg/kg

<sup>3</sup> LOQ<sub>max</sub> für jede Fraktion (vgl. JRC Technical Report<sup>1</sup>) für fettarme Lebensmittel < 4% Fett entspricht 0,5 mg/kg; > 4 % Fett entspricht 1 mg/kg

Abb.1: Übersicht der BLL Orientierungswerte; Quelle: Lebensmittelverband Deutschland, <https://www.lebensmittelverband.de/download/orientierungswerte-fuer-moh-in-lebensmitteln>

## Analytik

Die Untersuchung der MOH erfolgt in Anlehnung an die internationale DIN EN 16995:2017 „Bestimmung von gesättigten Mineralöl-Kohlenwasserstoffen (MOSH) und aromatischen Mineralöl-Kohlenwasserstoffen (MOAH) mit **online HPLC-GC-FID**“ sowie in Anlehnung an das Kompendium des Bundesinstitutes für Risikobewertung (BfR) und des Kantonalen Labor Zürich (KLZH) zur Messung von MKW in Lebensmitteln und Verpackungsmaterialien und der JRC „Guidance on sampling, analysis and data reporting“ (erschienen 2019).

Das JRC-Handbuch enthält gemäß dem Titel spezifische Anweisungen für die Probenahme und Analyse von gesättigten Mineralölen Kohlenwasserstoffe (MOSH) und aromatische Mineralölkohlenwasserstoffe (MOAH) in Lebensmitteln und Materialien mit Lebensmittelkontakt, wie in der EU-Verordnung (EU) 2017/84 über die Überwachung von Mineralölen empfohlen. Es werden Mindestanforderungen für die Durchführung geeigneter Analysemethoden im Rahmen der Überwachung von MOSH / MOAH gestellt. Diese Richtlinien sollen von allen an der Bestimmung von Mineralölkohlenwasserstoffen in Lebensmitteln und Materialien mit Lebensmittelkontakt Beteiligten verwendet werden, d.h. von Lebensmittelinspektoren, amtlichen Kontrolllaboren, Laboren in der Industrie und privaten Laboren. Dieser Leitfaden soll dazu beitragen, zuverlässige Daten für das Vorkommen beider Fraktionen, MOSH und MOAH, zu generieren und die Berichterstattung von Laboratorien zu ermöglichen, die bereits mit der Analytik vertraut sind.

Die DIN SPEC 5010:2018-05 ist die öffentlich verfügbare Spezifikation für die Untersuchung der Migration aus Papier, Karton und Pappe mit Tenax® als Adsorbens. Mit dieser Methode kann das Migrationspotential von Lebensmittelkontaktmaterialien abgeschätzt werden.

Die MOH werden aus der Probe mit einem organischen Lösemittel extrahiert. Komplexe Proben, z.B. Tee, fettreiche Lebensmittel wie z.B. Schokolade oder Fette/Öle, werden vor der Messung zusätzlich mit verschiedenen Hilfstechniken aufgereinigt (z.B. mit aktiviertem Aluminiumoxid oder einem Epoxidierungsschritt). Anschließend werden die MOH mittels online HPLC-GC/FID bestimmt. Die Normalphasen-HPLC hält dabei störende Lipide zurück und trennt die MOSH-Fraktion von der MOAH-Fraktion. Die jeweilige Fraktion (MOSH/MOAH) wird danach mittels FID detektiert. Die Quantifizierung erfolgt über die vor der Extraktion zugegebenen internen Standards.

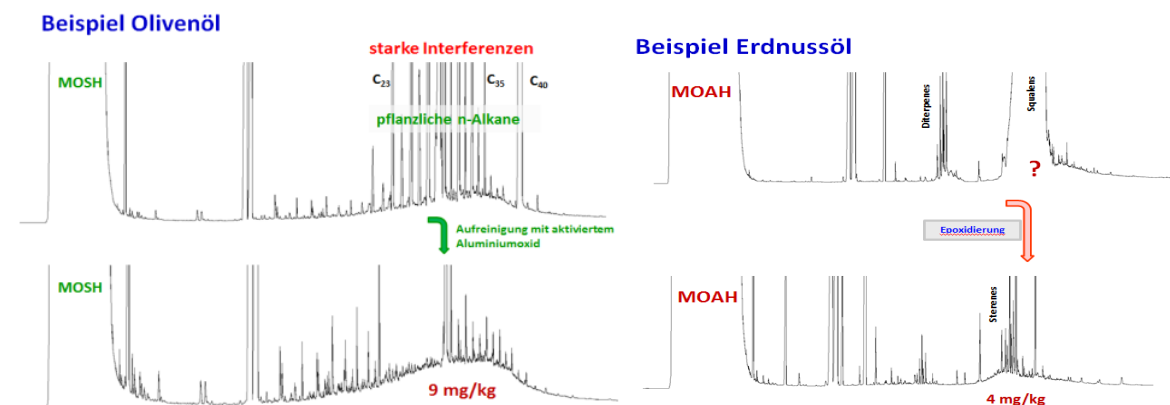


Abb.2: HPLC-GC-FID-Chromatogramme der MOSH und der MOAH in einem Olivenöl und einem Erdnussöl

Es ist wichtig die Probenvorbereitung an die vorliegende Matrix anzupassen. Wasserhaltige Matrices und Papier-Verpackungen müssen mit Ethanolzusatz extrahiert werden. Das Ethanol dient als Lösungsvermittler, welcher die apolaren Analyten in der Probe dem Extraktionsmittel n-Hexan überhaupt zugänglich macht.

Um die vom JCR geforderten Bestimmungsgrenzen für Fette/Öle und fettreiche Matrices zu erreichen ist in Abweichung zu DIN EN 16995 eine Verseifung der Proben zwingend nötig, um Fette von den MOH abzutrennen und die Kieselsäule nicht zu überladen. Nur so ist eine ausreichende Anreicherung der Probenextrakte möglich.

Die ungeradzahigen, biogenen n-Alkane ab n-C<sub>23</sub> werden mit aktiviertem Aluminiumoxid (bei 500 °C für 16 h geglüht) aus dem Probenextrakt entfernt. Das basische Aluminiumoxid hat keine signifikante Retention für n-Alkane bis C<sub>20</sub> und eine hohe ansteigende Retention für langkettige n-Alkane. n-Alkane aus der MOSH-Fraktion werden ebenfalls mit entfernt, so dass es durch die Aufreinigung in Abhängigkeit von der molekularen Verteilung der Kontamination zu Verlusten von bis zu 43 % (bei n-C<sub>43</sub>) kommen kann (Biedermann et al. *Anal Chim Acta*, 2009, 102-109).

Für die selektive Epoxidierung von Squalen oder Carotenoiden gibt es verschiedene Methoden in der einschlägigen Literatur (nach Biedermann; mit m-CPBA gelöst in DCM bzw. nach Nestola; m-CPBA gelöst in Ethanol). Nach unseren Laborvergleichsergebnissen liefern beide Ansätze das gleiche Ergebnis.

Wichtig ist es, die Epoxidierung nur dort einzusetzen wo Matrixbestandteile die Analytik der MOAH-Fraktion stören. Das gilt durch oben genannte Gründe auch für das Clean-up der MOSH-Fraktion mit Aluminiumoxid. Bei der Epoxidierung werden bis etwa 30 % der enthaltenen MOAH mit entfernt. Da m-CPBA die internen Standards 2-Methylnaphthalin und 1-Methylnaphthalin mit angreift, ist es wichtig die epoxidierten Proben über Triteritbutylbenzol (TBB) auszuwerten.

Eine weitere Charakterisierung der Proben wird im Bedarfsfall mittels **GCxGC-TOF-MS** durchgeführt. Durch die Kopplung von zweidimensionaler Gaschromatographie mit einem Massenspektrometer können, Subgruppen charakterisiert, falsch positive Ergebnisse vermieden und Markersubstanzen (siehe Abschnitt GCxGC) für den Ursprung der MOH identifiziert werden.

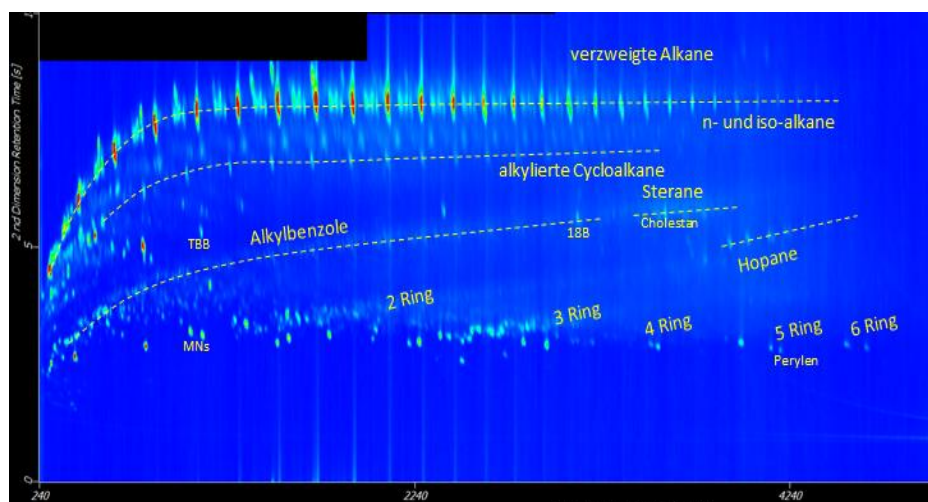
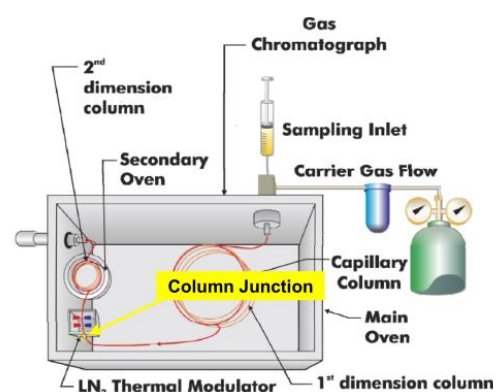


Abb.3: GCxGC-TOF-MS Konturplot eines MOH; neben den jeweiligen MOSH- und MOAH-Gruppen sind typische Marker für die fossile Herkunft (z.B. Hopane und Sterane) erkennbar

### GCxGC-Charakterisierung

Bei der GCxGC-TOF(MS) handelt es sich um eine zweidimensionale (2D) chromatographische Messmethode. Dies setzt voraus, dass zwei analytische Säulen mit orthogonalen Eigenschaften (z.B.: unpolar/polar) zum Einsatz kommen. Dadurch wird die Trennleistung und somit die Peakkapazität des analytischen Systems enorm gesteigert, was die Analyse von komplexen Mischungen wie z.B. MKW ermöglicht.

Das verbreitete Säulen-Setup für die Analytik von MKW ist die so genannte RP-Anordnung (engl.: *reversed phase*), bei der in der ersten Dimension eine



lange polare und in der zweiten eine kurze unpolare Säule verwendet werden. Auf diese Weise werden die zu analysierenden komplexen Mischungen von Kohlenwasserstoffen zuerst in Abhängigkeit von ihrer Polarität und anschließend nach Siedepunkten aufgetrennt. Bei dem umgekehrten und sogenannten NP-Setup (engl.: *normal phase*) wird in der ersten Dimension eine unpolare stationäre Phase und eine polare in der zweiten Dimension verwendet.

Die Analyse kann dabei als „umfassend“ (engl. *comprehensive*) bezeichnet werden, da die Analyten von der ersten Trennsäule direkt, ohne Verluste, auf die zweite Säule gelangen. Zwischen den Säulen befindet sich eine als Modulator bezeichnete Einheit, die das Eluat von der ersten Säule in fest eingestellten Abständen durch Kryofokussierung „schneidet“ und auf die zweite Säule weiterleitet.

Die Probenmoleküle werden dabei durch das „Ausfrieren“ refokussiert und anschließend durch Aufheizen in die zweite Säule transferiert. Die Fokussierung ergibt zum einen eine vorteilhafte Steigerung der Signalintensität, andererseits werden die resultierenden „Teilpeaks“ dadurch sehr schmal, was den Einsatz eines sehr schnellen Detektors notwendig macht, um eine ausreichende Anzahl an Datenpunkten pro Peak zu erzielen. Das TOF (engl.: *time of flight*) Massenspektrometer eignet sich hervorragend dafür, da es in der Lage ist bis zu 500 full-scan Spektren (im eingestellten Massenbereich) pro Sekunde aufzunehmen und damit auch Peaks abzubilden, deren Peakbreite nur im zweistelligen Millisekunden-Bereich liegt.

Als Ergebnis einer GCxGC-Analyse entsteht ein Konturplot, welches die Auftrennung der MKW-Gemische über die polare und die unpolare Säule abbildet, dabei entspricht die Abszisse der polaren und die Ordinate der unpolaren Dimension (vgl. Abbildung 4).

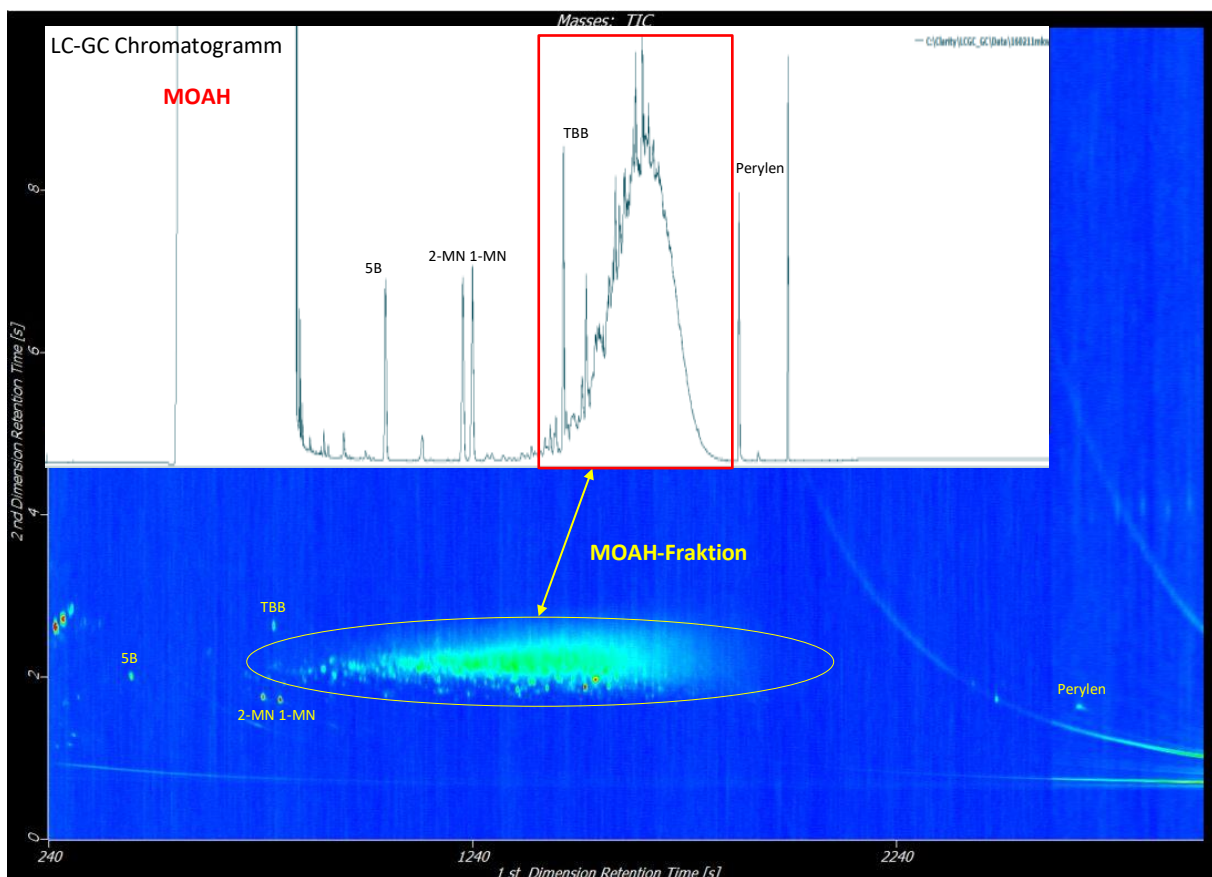


Abbildung 4: GCxGC-Konturplot der MOAH-Fraktion eines Schmieröls. Vergleich mit LC-GC-Chromatogramm.

(Legende interne Standards: 5B-Pentylbenzol, 2-MN: 2-Methylnaphthalin, 1-MN: 1-Methylnaphthalin, TBB: Triterterbutylbenzol)

Abbildung 4 zeigt die isolierte MOAH-Fraktion eines Schmieröls (MOAH-Gehalt etwa 26%) welches mittels online-HPLC-GC-FID und GCxGC-TOF(MS) chromatographiert wurde. Die komplexe Mischung der aromatischen Kohlenwasserstoffe und die internen Standards sind in beiden Chromatogrammen deutlich erkennbar.

Aufgrund der unterschiedlichen chemischen Eigenschaften der verschiedenen möglichen Substanzklassen werden strukturierte zweidimensionale Chromatogramme mit spezifischen Banden erhalten. Durch Filterung nach substanzklassen-spezifischen Massen ( $m/z$ ) und dem Abgleich mit der Spektren-Datenbank lassen sich diese Banden dann den verschiedenen Verbindungsklassen zuordnen (siehe Abb. 3). So kann auch nachvollzogen werden, ob eine Probe monoaromatische, diaromatische oder triaromatische Verbindungen enthält. Eine vollständige chromatographische Auflösung der Probe in einzelne Verbindungen ist aber auch mittels GCxGC-TOF-MS nicht möglich. Da das Ansprechverhalten im Massenspektrometer substanzabhängig ist, können die Humps nur charakterisiert aber nicht quantifiziert werden.

Eine Stärke der Technik ist die Erkennung von Oligomeren aus PP oder Kleberharzen. Durch die charakteristische Verteilung im Kontourplot können die Oligomere auch bei einer Überlagerung mit MOSH identifiziert aber nicht quantifiziert werden.

Eine Hilfe bei der Identifikation der Kontaminationsquelle sind Markersubstanzen. Mit Hilfe des GCxGC-TOF-MS können Marker in der MOSH- und der MOAH-Fraktion identifiziert werden. Marker in der MOSH-fraktion sind Cylcoalkane, Sterane und Hopane (Marker für die fossile Herkunft der MOH). In der MOAH-Fraktion können folgende Markersubstanzen genutzt werden: Diisopropylnaphthaline (DIPN; Marker für Recyclat, Dithiophene (Marker für Transport im Jutesack und für fossilen Ursprung der MOAH, aber leicht epoxidierbar) und Biphenyle.

Bei einigen Matrices (z.B. Rapsöl, Palmöl) können trotz Epoxidierung nicht epoxidierte Carotenoide oder Sterene in der MOAH-Fraktion zurückbleiben. Aufgrund dessen kann es zu einer falsch positiven Bewertung von Proben kommen. Durch eine zusätzliche Charakterisierung mittels GCxGC-TOF-MS sind Interferenzen eindeutig zu erkennen und falsch positive Ergebnisse werden ausgeschlossen. Schwere finanzielle Schäden werden so vermieden.

## **Ergebnisse**

Am Kirchhoff-Institut in Berlin werden Proben verschiedener Lebensmittelmatrices analysiert, darunter viele Verpackungsmaterialien. Für verschiedene Matrices wurden Stufenkontrollen und Projekte zur Minimierung von MOSH und MOAH mit unserer Expertise unterstützt. In verpackten Lebensmitteln wurden bis zu 60 mg/kg Mineralölkohlenwasserstoffe bestimmt und in vielen Lebensmitteln konnte eine Grundkontamination mit Mineralölkohlenwasserstoffen festgestellt werden. Im Allgemeinen ist jedoch der Trend für MOSH- und MOAH-Gehalte in Lebensmitteln rückläufig. Die Quellen der Kontamination mit Mineralölkohlenwasserstoffen sind oft multifaktoriell (z.B. Rohstoffe, Produktionsprozess, Transport und Verpackung).

Die erfolgreiche Teilnahme an Ringversuchen verschiedener Matrices (DRRR), die Mitarbeit bei Methoden-Ringversuchen (z.B. ISO 17780, CEN/TC 275 N 1069, Proof ACS), in §64-Arbeitsgruppen sowie die Durchführung von Laborvergleichsuntersuchungen sind Bausteine zur Qualitätssicherung der Ergebnisse in unserem Hause.