

Gaschromatographische Bestimmung von Urethan (Ethylcarbamat) in alkoholischen Getränken = Gaschromatographic determination of urethane (ethylcarbamate) in alcoholic beverages

Autor(en): **Baumann, U. / Zimmerli, B.**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **77 (1986)**

Heft 2

PDF erstellt am: **05.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983388>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Kurze Mitteilung – Communication brève

Gaschromatographische Bestimmung von Urethan (Ethylcarbamat) in alkoholischen Getränken

Gaschromatographic Determination of Urethane (Ethylcarbamate)
in Alcoholic Beverages

U. Baumann und *B. Zimmerli*

Bundesamt für Gesundheitswesen, Bern

Einleitung

Urethan erwies sich in verschiedenen Tierversuchen als genotoxisches Kanzerogen (1).

In den siebziger Jahren wurde festgestellt, dass Urethan in Getränken, die mit Diethylpyrocarbonat konserviert wurden, auftreten kann (2). In der Folge wurden für Diethylpyrocarbonat Verwendungseinschränkungen erlassen. 1976 berichtete *Ough* (3) von Urethanvorkommen (wenige ng/g) in verschiedenen Lebensmitteln, bei deren Herstellung Gärprozesse beteiligt waren. Als mögliche Bildungsweise dieses Urethans wurde die Reaktion zwischen Carbamylphosphat, einem energiereichen Zwischenprodukt des Stoffwechsels der Hefen, mit Ethanol formuliert.

Erst kürzlich in Kanada durchgeführte Untersuchungen zeigten, dass in bestimmten alkoholischen Getränken bis zu mehreren mg Urethan pro Liter vorkommen können. Die hohen Urethangehalte wurden mit dem Einsatz von Harnstoff als Stickstoffquelle bei der alkoholischen Gärung in Zusammenhang gebracht. Obwohl Harnstoff in der Schweiz als Stickstoffquelle bei der alkoholischen Gärung nicht zugelassen ist, schien es doch angezeigt, alkoholische Getränke des Schweizer Marktes auf die Anwesenheit des gesundheitlich bedenklichen Urethans zu untersuchen.

In der Literatur finden sich mehrere Urethanbestimmungsmethoden. *Walker* et al. (4) bestimmten Urethan in Wein durch Extraktion mit Chloroform, Reinigung über Florisil und Gaschromatographie mit einem Coulson Leitfähigkeitsdetektor. Die Bestätigung der positiven Befunde erfolgten durch GC/MS bzw. GC/NFID der mit Trifluoressigsäureanhydrid derivatisierten Proben. *Ough* (3) gelang es, den von *Walker* et al. veröffentlichten Analysengang noch bezüglich Empfindlichkeit zu optimieren. *Joe* et al. (5) beschrieben eine Urethanbestimmung in Wein, bei der sie sich eines GC/NFID bzw. GC/FID bedienten.

In der folgenden Arbeit wird eine Methode vorgestellt, die sich eines GC/NFID bedient und die einfach und rasch Urethan in flüssigen Lebensmitteln zu bestimmen gestattet.

Experimenteller Teil

Prinzip der Methode

Das zu untersuchende Getränk wird auf einer Säule, bestehend aus wasserfreiem Natriumsulfat und einer Mischung aus Extrelut/Natriumchlorid, aufgezogen. Durch Elution mit n-Pentan werden lipophile Komponenten entfernt. Das Urethan wird mit einer Mischung aus Dichlormethan/Ethylacetat eluiert, das Volumen des Eluates am Stickstoffstrom reduziert und die verbleibende Lösung gaschromatographisch analysiert. Die gaschromatographische Trennung wird auf einer polaren Kapillarsäule vorgenommen. Als Detektor wird ein NFID eingesetzt. Bei quantitativen Urethanbestimmungen wird neben der unverstärkten Probe eine mit einer definierten Urethanmenge verstärkte Probe parallel aufgearbeitet. Als innerer Standard wird Methylcarbamat eingesetzt.

Reagenzien

Urethanstandard 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ in Ethanol. Innerer Stand. urethanfreies Methylcarbamat 2 mg/ml in Ethylacetat.

Geräte und Materialien

Extrelut[®]20 Kunststoffsäulen (Merck)
Extrelut[®]Nachfüllpackungen (Merck)
Abblasvorrichtung (Stickstoff) mit thermostatisierbarem Wasserbad und Magnetrührer.
Gaschromatograph mit Kapillarsäule und NFID.

Ausführung der Bestimmung

Aufarbeitung

Extrelutkunststoffsäulen werden mit je 10 g wasserfreiem Natriumsulfat beschickt. Das Trockenmittel wird mit einer Mischung aus 1 Packung Extrelutträgermaterial und 10 g Natriumchlorid überschichtet. Nach dem Setzen des Materials durch leichtes Klopfen werden die Stempel aufgesetzt. 20,0 ml der zu untersuchenden Flüssigkeit bzw. 20,0 ml der mit 100 μl Urethanstandard verstärkten

Flüssigkeit werden auf die Säule gegeben und 15 Minuten einziehen gelassen. Mit 2mal je 40 ml n-Pentan wird eluiert und die Eluate verworfen. Durch Ausblasen der Säulen werden n-Pentanreste entfernt. Das Urethan wird mit 60 ml einer Mischung aus Dichlormethan/Ethylacetat (2 : 1) direkt in 50 ml Standzylinder eluiert. Nach dem Ausblasen der Säulen wird das Eluat unter Rühren mit einem Magnetrührer am schwachen Stickstoffstrom bei 40 °C auf 3 ml eingengt. Um zusätzliche Urethanverluste beim Abblasen zu vermeiden, darf keinesfalls zur Trockne eingengt werden. Sowohl der unverstärkten Probelösung als auch der verstärkten Probelösung werden vor der gaschromatographischen Analyse mit einer Mikroliterspritze je 10,0 µl der inneren Standardlösung zugegeben.

Gaschromatographie

Gaschromatograph	Carlo Erba, VEGA Modell 6180 mit Elektrometer Module EL-600
Injektor	Carlo Erba, On-Column-Injektor
Detektor	Carlo Erba, NPD 40
Kapillarsäule	Durabond-Wax 25 m, I. D. 0,32 mm, Filmdicke 0,25 µm (ICT)
Kolonntemperatur	lin. mit 2 °C/min von 80 °C auf 110 °C, lin. mit 40 °C/ min von 110 °C auf 190 °C, 5 min bei 190 °C
Trägergas	Helium
Injektionsvolumen	1 µl

Auswertung

Der Urethangehalt der Probe kann nach folgender Formel berechnet werden:

$$\text{mg Urethan pro Liter} = \frac{x}{\left(\frac{x' \cdot y}{y'} - x \right)}$$

x = Peakfläche des Urethanpeaks in der Originalprobe.

y = Peakfläche des Methylcarbamatepeaks in der Originalprobe.

x' = Peakfläche des Urethanpeaks in der verstärkten Probe.

y' = Peakfläche des Methylcarbamatepeaks in der verstärkten Probe.

Die obige Formel ist nur dann gültig, wenn die Verstärkung der Originalprobe 1 mg pro Liter beträgt und die nach dem Clean-up erhaltenen Konzentrate mit gleichen Mengen der inneren Standardlösung versetzt wurden.

Resultate und Diskussion

Analytik

Durch die Verwendung eines inneren Standards sind die Empfindlichkeitschwankungen des NFID ohne Belang.

Die absolute Wiederfindungsrate von Urethan, das einem urethanfreien Branntwein in einer Menge von 1 mg/l zugesetzt wurde, betrug im Mittel (\pm Standardabweichung) $56 \pm 3\%$ ($n = 4$), bei einem Zusatz von 0,1 mg/l $55 \pm 4\%$ ($n = 4$).

Mit der beschriebenen Methode kann eine Nachweisgrenze (3mal Rauschen) von 20 $\mu\text{g/l}$ erreicht werden.

Abbildung 1 zeigt ein typisches Gaschromatogramm eines Kirsches.

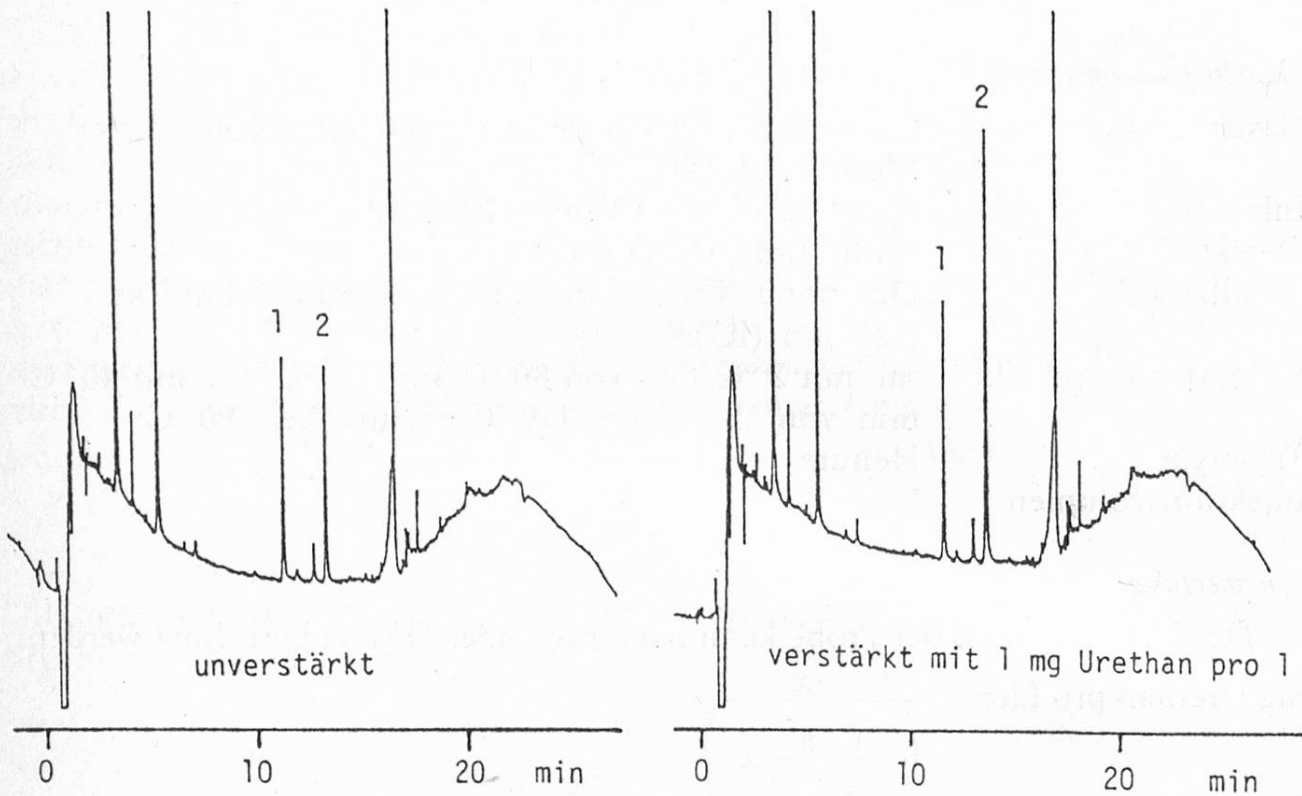


Abb. 1. Gaschromatogramm eines Kirschextraktes. 1 = Methylcarbammat 2 = Urethan

Urethanvorkommen in alkoholischen Getränken

Zu Beginn des Jahres 1986 wurden auf dem Platz Bern verschiedene Alkoholika eingekauft und auf das Vorhandensein von Urethan untersucht. In Tabelle 1 sind die erhaltenen Analysendaten zusammengestellt.

Der Tabelle 1 kann entnommen werden, dass mit Ausnahme von 2 Williams lediglich in Steinobstdestillaten Urethan gefunden wurde. Interessant ist ferner die Tatsache, dass sämtliche untersuchten Steinobstprodukte Urethan im mg/l-Bereich aufwiesen. Dieser Sachverhalt wäre unter der Annahme, dass ein für Steinobst typischer Inhaltsstoff die Urethanbildung provoziert, verständlich. Es wäre erwünscht, den Mechanismus der Urethanbildung zu verstehen, um z. B. durch eine allfällige Beeinflussung der Maischen der Urethanbildung zuvorzukommen. Diesbezügliche Abklärungen sind zur Zeit bei uns im Gange.

Tabelle 1. Urethanvorkommen in alkoholischen Getränken

Anzahl	Getränk	Urethangehalt in mg/l*
1	Apfelwein	nn
1	Arrak	nn
3	Aperitifgetränke	nn
3	Bier	nn
2	Birnenbranntwein	nn
1	Calvados	nn
1	Cassis	nn
2	Chrüter	nn
1	Cognac	nn
1	Enzian	nn
1	Gin	nn
1	Grappa	nn
1	Himbeer-Liqueur	nn
1	Kartoffelbrand	nn
5	Kirsch	1,0 / 1,1 / 1,4 / 1,7 / 1,8
2	Malaga	nn
1	Marc	nn
1	Obstbranntwein	nn
1	Obst Trester	nn
1	Orangen-Liqueur	nn
3	Pflümli	0,3 / 0,4 / 0,9
6	Rotweine	nn
2	Rum	nn
2	Sherry	nn
1	Slivowitz	0,6
1	Vermouth	nn
2	Wacholder	nn
5	Weissweine	nn
2	Whisky	nn
5	Williams	3mal nn / 0,12 / 0,16
1	Wodka	nn
2	Zwetschgenwasser	3,0 / 3,2

nn = kleiner als 20 µg/l

* Positive Befunde wurden mit G C-MS (EI) bestätigt: 74, 62, 44 (Molekülion 89).

Dank

Die praktischen Arbeiten wurden von Frau *J. Schmid* durchgeführt. Wir möchten uns an dieser Stelle für ihren Einsatz herzlich bedanken. Herrn Dr. *A. Kuchen*, Sektion Pestizide und Kunststoffe, verdanken wir die massenspektrometrischen Arbeiten.

Zusammenfassung

Es wird eine Methode für die rasche Bestimmung von Urethan in alkoholischen Getränken vorgestellt. Der einfache Clean-up erlaubt die Gewinnung eines Extraktes, der auf einer polaren Kapillarsäule chromatographiert und mit Hilfe eines NFID analysiert werden kann. Die Nachweisgrenze der Methode liegt bei ca. 20 µg/l. Die Anwendung der Methode auf verschiedenste alkoholische Getränke zeigte, dass Urethan fast ausschliesslich in vergorenen Steinobstprodukten nachgewiesen werden konnte, dort jedoch in allen darauf untersuchten Proben im mg/l-Bereich.

Résumé

Une méthode de dosage rapide de l'uréthane (carbamate d'éthyle) dans les boissons alcooliques par chromatographie en phase gazeuse est présentée. La méthode est basée sur un simple «clean-up» au moyen d'Extrelut® (Merck), qui permet d'obtenir un extrait pouvant être analysé par GC, sur une colonne capillaire polaire, avec détecteur NFID. La limite de détection pour l'uréthane est d'environ 20 µg/l. 61 échantillons de boissons alcooliques du commerce, en particulier d'eaux-de-vie, ont été analysés. L'uréthane n'a été détecté que dans des eaux-de-vie de fruits à noyau, les concentrations se situant toutefois dans le domaine des mg/l.

Summary

A method has been developed for the gaschromatographic «GC» determination of urethane (ethylcarbamate) in alcoholic beverages. The method is based on an extraction clean-up step with Extrelut® (Merck) followed by glasscapillary GC with NFID. The detection limit for urethane is about 20 µg/l. 61 samples of alcoholic beverages, especially brandies, from the market have been analyzed. Urethane has been detected only in stone-fruit brandies in mg/l concentrations.

Literatur

1. *Schmähl, D., Port, R. and Wahrendorf, J.*: A dose-response study on urethan carcinogenesis in rats and mice. *Int. J. Cancer* **19**, 77–80 (1977).
2. *Fischer, E.*: Über die Bildung von Carbaminsäureethylester «Urethan» in Getränken nach Behandlung mit Pyrokohlensäure-Diethylester. *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.* **148**, 221–222 (1972).
3. *Ough C. S.*: Ethylcarbamate in fermented beverages and Foods. *J. Agric. Food Chem.* **24**, 323–331 (1976).
4. *Walker, G., Winterlin, W., Fonda, H. and Seiber, J.*: Gaschromatographic analysis of urethan (ethylcarbamate) in wine. *J. Agric. Food Chem.* **22**, 944–947 (1974).
5. *Joe, F. L., Kline, D. A., Miletta, E. M., Roach, J. A., Roseboro, E. L. and Fazio, T.*: Determination of urethane in wines by gas-liquid chromatography and its confirmation by mass spectrometry. *J. Assoc. Offic. Anal. Chemists* **60**, 509–516 (1977).

Dr. U. Baumann
Dr. B. Zimmerli
Bundesamt für Gesundheitswesen
Abteilung Lebensmittelkontrolle
Sektion Lebensmittelchemie und Radioaktivität
Postfach 2644
CH-3001 Bern