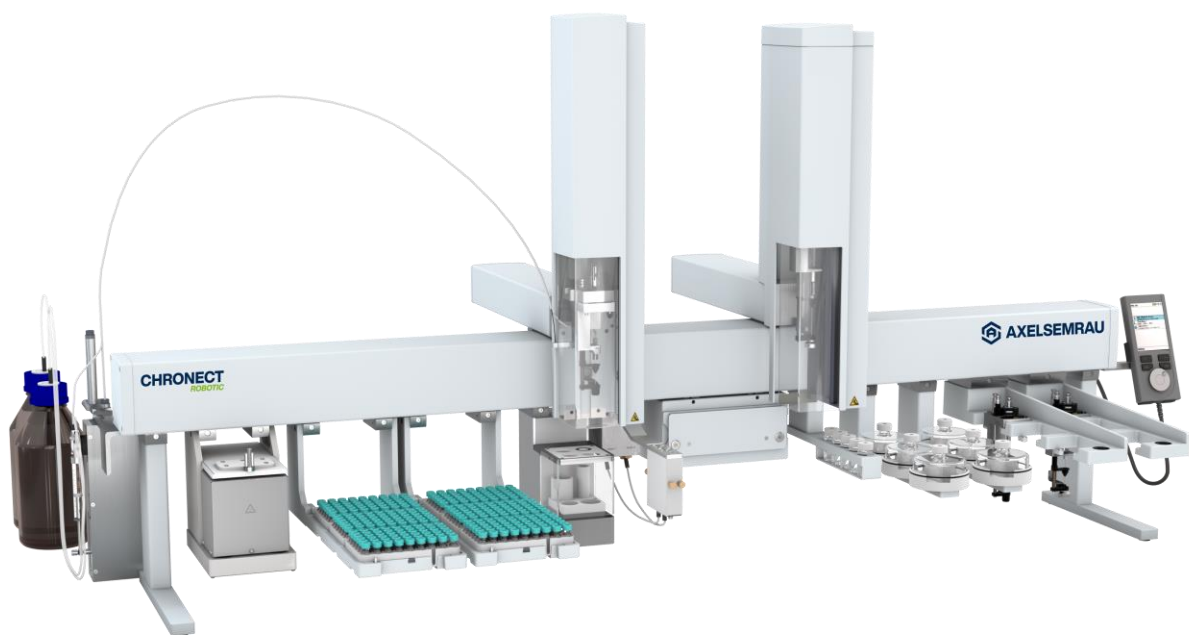


# Bestimmung von MCPD und Glycidyl Estern in Lebensmitteln

mit der CHRONECT Workstation MCPD und dem  
Modul ISO 18363-3



**Applikationsnote 2002**

## CHRONECT Workstation MCPD – Modul ISO 18363-3

### Applikationsnote 2002

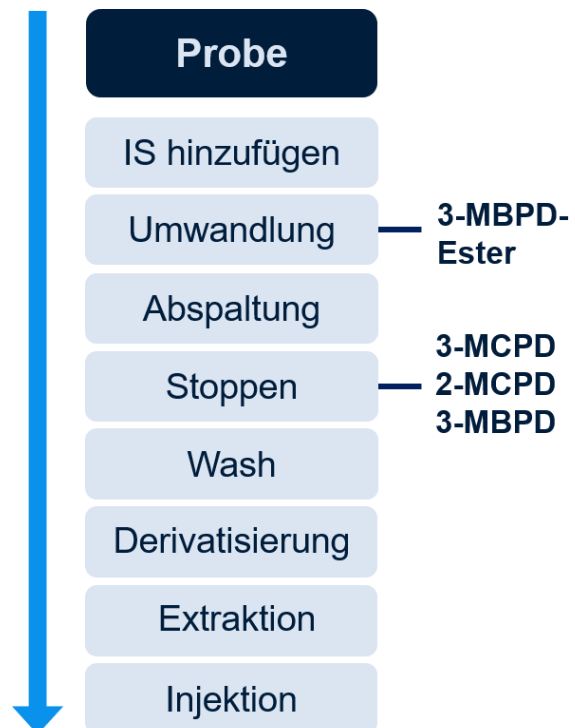
### Einführung

In dieser Applikationsnote wird die vollautomatisierte Bestimmung von 2- und 3-MCPD und Glycidol in Fetten und Ölen nach der offiziellen AOCS-Methode Cd29a-13 – Saure Umesterung mithilfe der CHRONECT Workstation MCPD beschrieben.

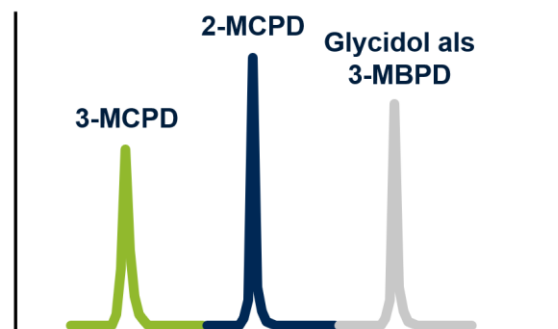
Die Glycidyl- (GE), 2-Monochlorpropan-1,3-diol (2-MCPD) und 3-Monochlorpropan-1,2-diol (3-MCPD) -Fettsäureester sind krebserregende und fruchtschädigende Lebensmittelkontaminanten in Speisefetten und -ölen, die mittlerweile zum festen Analyse-Repertoire der Handels- und Routinelabore gehören. Glycidyl und 2- und 3-MCPD-Ester bilden sich unter erhöhten Temperaturen in Gegenwart von Chlor, z.B. bei der Desodorierung während des Raffinationsprozesses. Zusätzlich können sich Glycidol und 2- und 3-MCPD schon während des Fruchtwachstums (z.B. bei der Palme) bilden, sofern die Pflanze auf chlorhaltigem Boden wächst. Viele Lebensmittelhersteller kontrollieren daher schon vor und nach dem Raffinationsprozess die Gehalte an Glycidol und 2-/3-MCPD.

Für die Analytik der drei Kontaminanten gibt es mehrere offizielle Methoden, unter anderem die Methode AOCS Cd29a-13 von der American Oil Chemist Society (AOCS). Diese wurde ursprünglich von Ermacora und Hrncirik von der Firma Unilever im Jahr 2013 publiziert. Daher auch der umgangssprachliche Name: „Unilever-Methode“, die auch der ISO 18363-3 entspricht.

In dieser Methode werden die Glycidylester zu Beginn in Gegenwart von Bromid zu 3-Monobrompropan-1,2-diol-ester (3-MBPD-E) umgewandelt (Abbildung 1). Anschließend werden alle drei estergebundenen Kontaminanten unter sauren Bedingungen und erhöhter Temperatur (40 °C) von den Fettsäuren abgespalten. Die freien Fettsäuren werden in einem folgenden Schritt extrahiert und die nun freien Glycidol, 2- und 3-MCPD mit Phenylboronsäure derivatisiert. Die Derivate werden extrahiert und in ein GC-MS-System injiziert. Die entsprechenden Ionenspuren für die drei Derivate liefern dann ein Chromatogramm wie in Abbildung 2 gezeigt. Zusätzlich wird zu jedem Analyten auch ein Signal für die deuterierte Variante erhalten, welche zu Beginn als interner Standard zugegeben wird.



**Abbildung 1:** Schematische Darstellung der Probenvorbereitung nach der offiziellen AOCS Cd29a-13-Methode mit der CHRONECT Workstation MCPD – Modul ISO 18363-3.



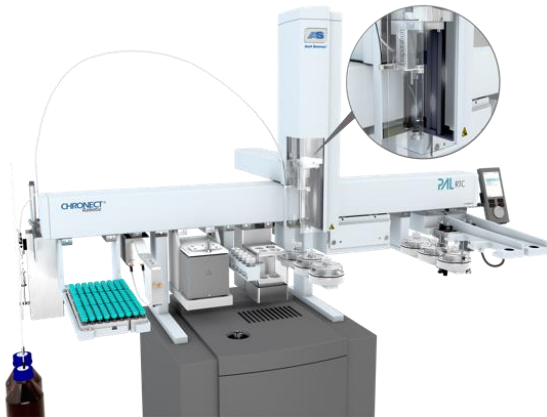
**Abbildung 2:** Schematisches Chromatogramm mit den Ionenspuren für 2-MCPD, 3-MCPD und Glycidol.

### Geräteaufbau

Die CHRONECT Workstation MCPD – Modul ISO 18363-3 beinhaltet alles, was für eine vollautomatische Probenvorbereitung benötigt wird. Ein wichtiger Schritt der Probenvorbereitung nach der AOCS Cd29a-13-Methode ist das Eindampfen, um das Lösemittel zu wechseln oder zum Aufkonzentrieren vor der Injektion in das GC-MS. Die CHRONECT Workstation MCPD – Modul ISO 18363-3 beinhaltet eine Evaporationseinheit

## CHRONECT Workstation MCPD – Modul ISO 18363-3 Applikationsnote 2002

(Abbildung 3), um diese Eindampfschritte vollautomatisiert durchzuführen. Dabei wird mithilfe einer zusätzlichen Gasregelung durch CHRONOS ein Druckprogramm angewendet, um ein effizientes Eindampfen zu gewährleisten.



**Abbildung 3:** CHRONECT Evaporationsmodul an einem 120 cm CHRONECT Robotic mit der Konfiguration für die Methode AOCS Cd29a-13.

Neben diesem Modul beinhaltet die Workstation Module wie einen Vortex-Mixer, Agitator, Schnellwaschstation und Halter für Proben und Lösemittel. Zusätzlich sind für die Nutzung verschiedener Spritzen während der Probenvorbereitung Parkstationen installiert.

Mit dem zusätzlich integrierten Dilutor-Modul stehen bis zu sechs verschiedene Lösemittel zur Verfügung. Die CHRONECT Workstation MCPD – Modul ISO 18363-3 kann entsprechend des

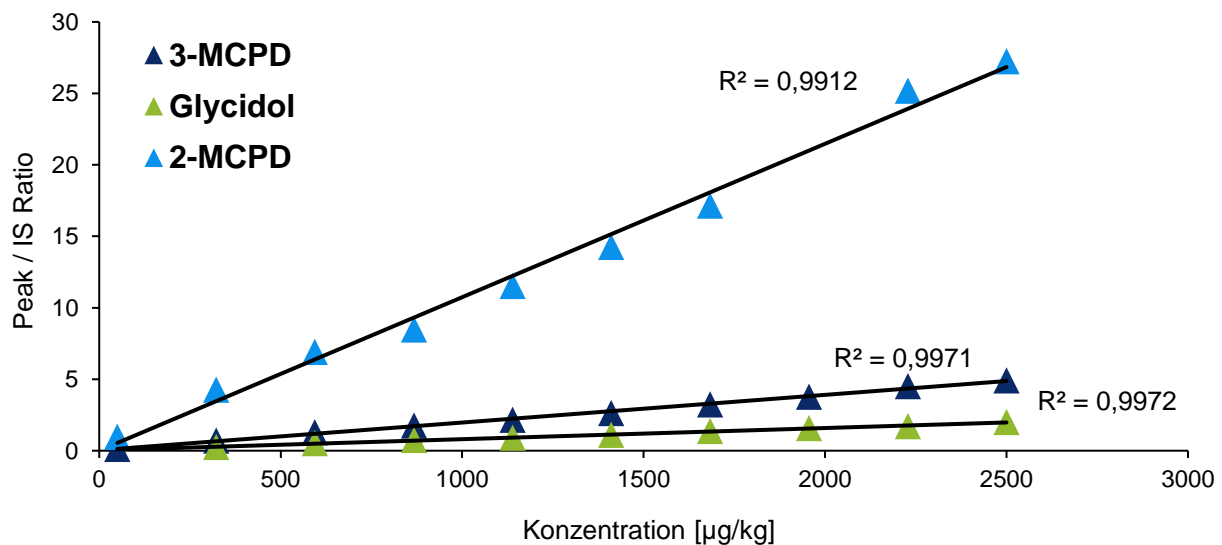
Probenaufkommens in verschiedenen Größen konfiguriert werden.

### Messparameter und Ergebnisse

Ein wichtiges Kriterium für die Automatisierung von manuellen Probenvorbereitungen ist die entsprechende Empfindlichkeit und Robustheit des Systems. Hierfür ist in einem ersten Schritt eine Kalibrierung von Glycidol sowie 2- und 3-MCPD in einem Bereich von 25 µg/kg bis 2500 µg/kg erstellt worden, wie in Abbildung 4 zu sehen. Die Linearität aller Komponenten ist deutlich zu erkennen mit einem Korrelationskoeffizienten von > 0,99 bei mindestens neun Datenpunkten in dem Messbereich.

Um eine Nachweisstärke mit Bestimmungsgrenzen von 25 µg/kg zu erreichen, ist ein entsprechend niedriger Blindwert notwendig. Der Abbildung 5 ist zu entnehmen, dass sich alle Blindwerte, gemessen an fünf aufeinander folgenden Tagen, unter 11 µg/kg befinden. Vor allem das 2-MCPD und Glycidol zeigen sehr niedrige Blindwerte (< 5 µg/kg).

Ein Kriterium für die Robustheit einer Probenvorbereitung ist die Analyse einer Probe an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen. In Abbildung 6 wird die Analyse einer solchen dotierten Olivenöl-Probe auf 500 µg/kg Glycidol, 2- und 3-MCPD an sechs aufeinanderfolgenden Tagen gezeigt. Die relative Standardabweichung aller Komponenten in dem Zeitraum lag jeweils unter 2,9 % mit einer Wiederfindungsrate zwischen 95 und 101 %.



**Abbildung 4:** Kalibrationsgeraden für die drei Komponenten 2-/3-MCPD und Glycidol über einen Konzentrationsbereich von 25 µg/kg bis 2500 µg/kg.

CHRONECT Workstation MCPD – Modul ISO 18363-3  
 Applikationsnote 2002

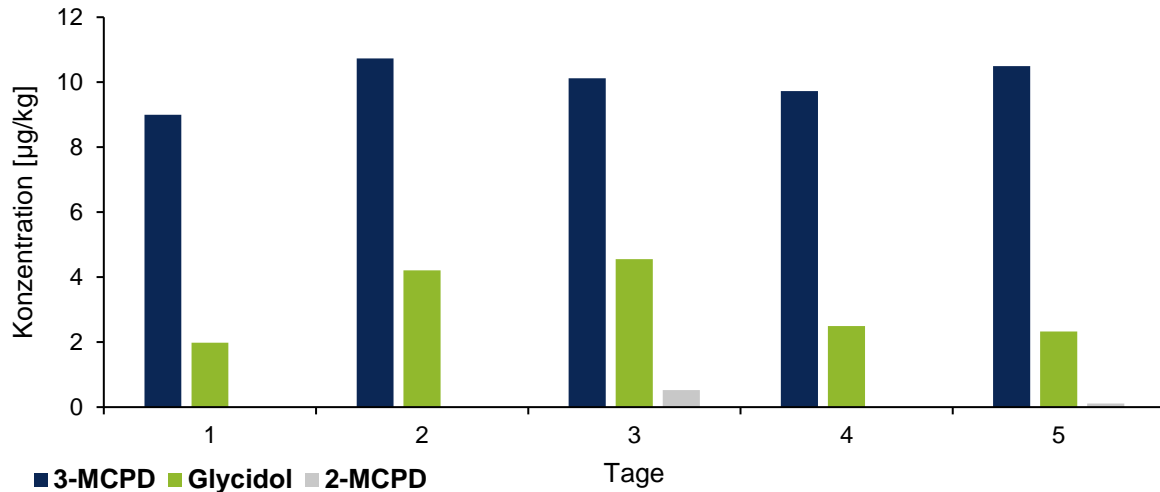


Abbildung 5: Blindwerte (n = 5) anhand eines Olivenöls an fünf aufeinanderfolgenden Tagen gemessen.

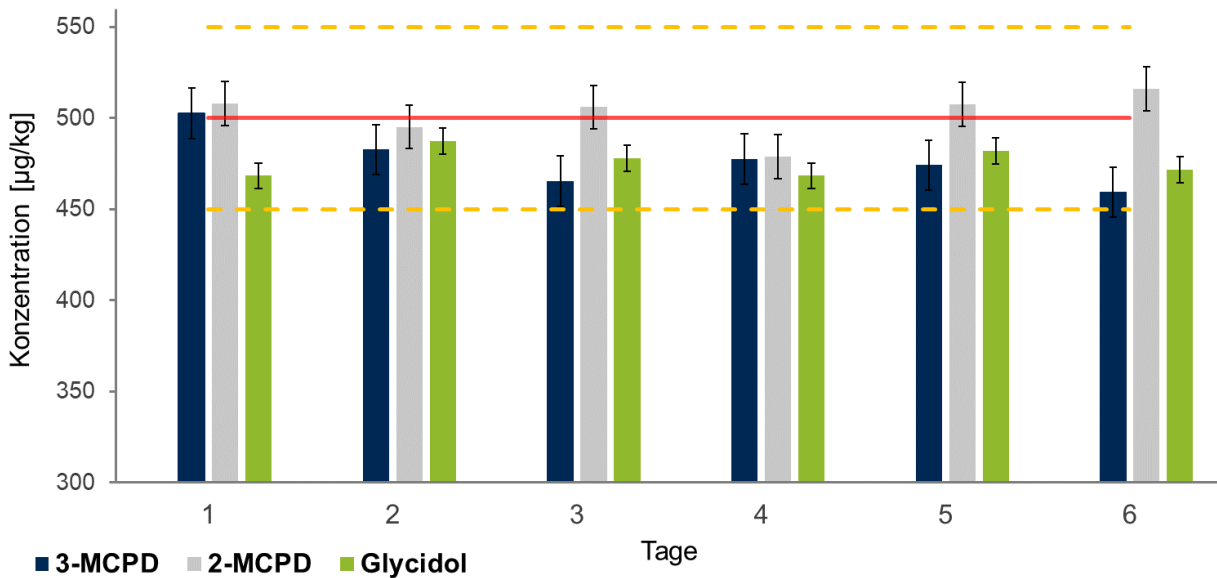
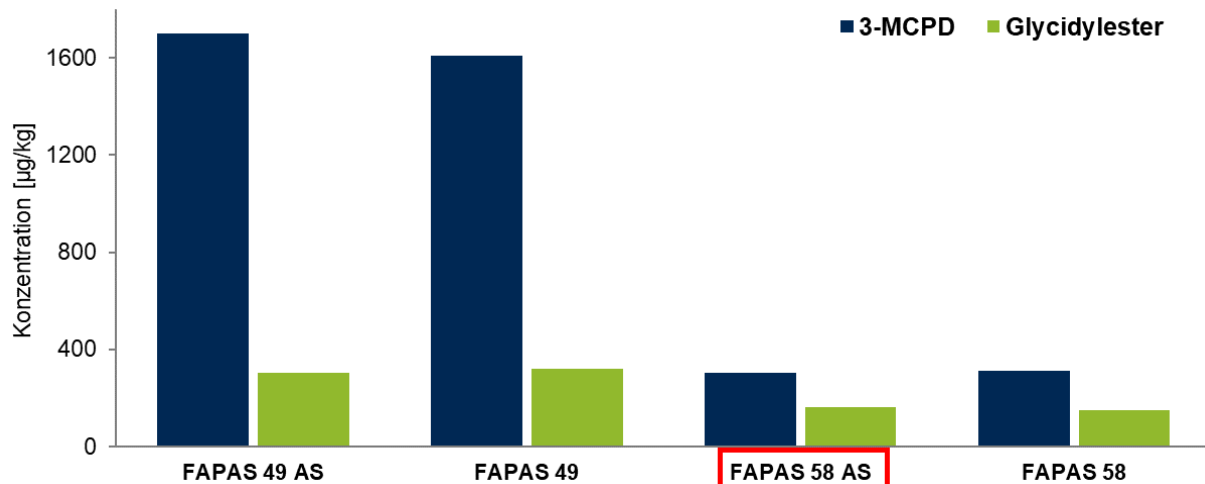


Abbildung 6: Wiederfindung und Reproduzierbarkeit an sechs aufeinander folgenden Tagen für 2-/3-MCPD und Glycidol mit dotiertem Olivenöl (500 µg/kg).

Zuletzt wird die Vergleichbarkeit der Ergebnisse aus der automatisierten Probenvorbereitung mit Ergebnissen von Proben zwei verschiedener Ringtests verglichen. Für diesen Vergleich wurden zwei Materialien aus FAPAS-Ringtestversuchen (T2649 und T2658) ausgewählt. Wie in Ab-

bildung 7 zu erkennen ist, stimmen die Ergebnisse sehr gut (RSD < 5 %) mit denen aus dem Ringversuch überein und sind innerhalb des z-Bereichs von 2 um die ermittelten Werte von FAPAS aus den Ringversuchen.

## CHRONECT Workstation MCPD – Modul ISO 18363-3 Applikationsnote 2002



**Abbildung 7:** Vergleich der automatisierten Ergebnisse der CHRONECT Workstation MCPD –Modul ISO 18363-3 (AS, rot) mit Ringtestergebnissen.

### Bewertung der Ergebnisse

Die sehr gute Linearität im gemessenen Konzentrationsbereich von 25 µg/kg bis 2500 µg/kg gepaart mit der hervorragenden Reproduzierbarkeit und Wiederfindung für Glycidol, 2-MCPD und 3-MCPD zeigen, dass einem Wechsel zu einer automatisierten Probenvorbereitung aus analytischer Sicht nichts im Wege steht. Der einzige manuelle Schritt bei der Probenvorbereitung ist das Einwiegen von Fett-/Öl-Proben. Die anschließende Vorbereitung läuft vollautomatisch, inklusive der Injektion in ein GC-MS-System, und kann auch mehrere Proben gleichzeitig vorbereiten. Da auch die erhaltenen Werte der automatisierten Probenvorbereitung sehr gut mit den Werten der manuellen Probenvorbereitung übereinstimmen, ist eine gleichbleibende Qualität der Daten im automatisierten Prozess sichergestellt.

Mit einer Umesterungszeit von mindestens 16 Stunden bei der offiziellen AOCS Cd29a-13-Methode ist es zusätzlich möglich, in der nicht genutzten Zeit des Autosamplers, andere Operationen wie Standard-Verdünnungen oder weitere Probenvorbereitungen durchzuführen.

Das CHRONECT Workstation MCPD – Modul ISO 18363-3 stellt eine hervorragende Ergänzung Ihres Labors in einer Routineumgebung mit zuverlässigen Daten dar. Die vorgestellte Methode hat den Vorteil, dass eine Probe in einem einzigen Durchgang auf 2- und 3-MCPD und Glycidol analysiert werden kann. Aufgrund des flexiblen Autosamplers CHRONECT Robotic ist es auch möglich, die Probenvorbereitung nach der „DGF Fast & Clean“-Methode durchzuführen. Zusätzlich kann durch eine geringe Modifikation die Workstation auch um die anderen offiziellen AOCS-Methoden Cd29b-13, AOCS Cd29c-13 und AOCS Cd29d-20 erweitert werden.

Die CHRONECT Workstation  
MCPD mit dem Modul ISO  
18363-3 ist eine Entwicklung von  
Axel Semrau.

### Technische Änderungen vorbehalten

Axel Semrau GmbH & Co. KG  
Stefansbecke 42  
45549 Sprockhövel  
Tel.: 02339 / 12090  
Fax: 02339 / 6030  
[www.axelsemrau.de](http://www.axelsemrau.de)  
[info@axelsemrau.de](mailto:info@axelsemrau.de)