

# Bestimmung von MCPD und Glycidyl Estern in Lebensmitteln

mit der CHRONECT Workstation MCPD und dem  
Modul ISO 18363-2



**Applikationsnote 2001**

## CHRONECT Workstation MCPD – Modul ISO 18363-2

### Applikationsnote 2001

#### Einführung

3-Monochloropropandiol (3-MCPD), 2-Monochloropropandiol (2-MCPD) und ihre Fettsäureester sowie Glycidyl (GE)-Fettsäureester sind prozessbedingte Verunreinigungen und können beim Erhitzen von fetthaltigen Lebensmitteln in Gegenwart von Salzen entstehen. Die fettsäuregebundenen Ester von 2-MCPD, 3-MCPD und Glycidol werden hauptsächlich bei der Raffination von Pflanzenölen und Speisefetten durch die starke Erwärmung von Triglyceriden in Gegenwart von chlorhaltigen Verbindungen gebildet. Sie entstehen vor allem während des letzten Raffinationsschrittes, der Entfernung von Geruchs- und Aromastoffen (Desodorierung). Alle Lebensmittel, die auf Basis von raffinierten pflanzlichen Ölen und Fetten hergestellt werden, einschließlich Margarine, Backwaren, Säuglingsanfangsnahrung, können ebenfalls kontaminiert sein. Auch bei der Verwendung einwandfreier Rohstoffe können sich die Kontaminanten bei der späteren Zubereitung der Lebensmittel, z.B. bei intensiver Erhitzung bilden.

3-MCPD und Glycidol zeigen in Tierversuchen beträchtliche toxische Wirkungen. 2-MCPD steht unter Verdacht, krebserregend zu sein und wird deshalb weiter beobachtet. In den aktuellen Einschätzungen des IARC („International Agency for Research on Cancer“) wird 3-MCPD als „potentiell krebserregend für den Menschen (Gruppe 2B)“ und Glycidol als „wahrscheinlich krebserregend für den Menschen (Gruppe 2A)“ eingestuft. Daher unterliegen beide Verbindungen (insbesondere aber Glycidol) in Lebensmitteln dem Minimierungsprinzip (ALARA-Prinzip – „As Low As Reasonably Achievable“). Die tolerierbare Tagesdosis (TDI) von 3-MCPD wurde von der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) auf 2 µg pro kg Körpergewicht festgelegt. Besonders bei Säuglingen mit ihrem geringen Körpergewicht, kann dieser Grenzwert bei der Verwendung von Säuglingsanfangsnahrung schnell erreicht werden. Es ist daher nicht überraschend, dass derzeit ein Gesundheitsrisiko vor allem für jüngere Bevölkerungsgruppen gesehen wird.

Normalerweise wird die Analyse von 2-/3-MCPD und Glycidol aus Fett- oder Ölproben durchgeführt. Wenn es sich um ein zusammengesetztes

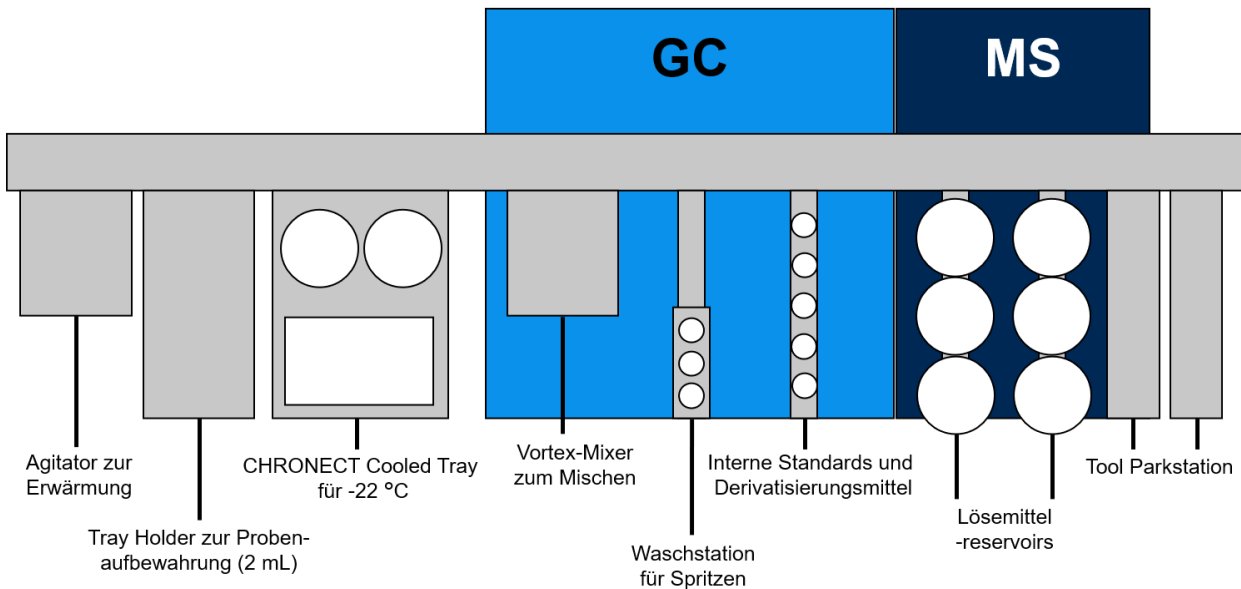
Lebensmittel handelt, besteht der erste Schritt darin, das Fett aus den Proben zu isolieren, was durch eine beschleunigte Lösungsmittelextraktion erfolgen kann. Um die Analyten freizusetzen, muss das Fett umgeestert werden. Nach der Umwandlung in die für die Messung erforderliche Form (Derivatisierung) werden die Analyten durch Gaschromatographie-Massenspektrometrie analysiert.

Diese Methode, auch als 3-in-1-Methode bezeichnet, beruht auf einer langsamen alkalischen Freisetzung von MCPD und Glycidol aus den Esterderivaten. Das Verfahren dauert 16 Stunden bei -22 °C, wobei die Spaltung mit saurer Natriumbromid-Lösung gestoppt wird und wie bei anderen Methoden 3-MCPD, 2-MCPD und 3-MBPD gebildet werden. Mittels GC-MS werden 2-MCPD, 3-MCPD und 3-MBPD nach Derivatisierung mit PBA ebenfalls gemeinsam in einem Schritt quantifiziert. In dieser Arbeit stellen wir eine vollautomatische Workstation vor, auf der die offizielle AOCS Cd29b-13 Methode mit geringerer Anwenderinteraktion ausgeführt werden kann.

#### Aufbau des Instruments

Die Verwendung eines Autosamplers, der mit einem Probenrack ausgestattet ist, welches in der Lage ist, -22 °C bis -25 °C über 16 Stunden zu halten, ist der Schlüssel zur vollständigen Automatisierung der offiziellen AOCS Cd29b-13-Methode. Der CHRONECT Robotic Autosampler ist mit einem solchen gekühlten Tray und auch mit Tray Holdern zur Lagerung der gewogenen Probe (Öl oder Fett), einem Agitator zur Erwärmung und einem Vortex-Mixer zum schnellen Mischen ausgestattet (Abbildung 1). Zusätzlich ist er mit einer Waschstation für Spritzen, Lösungsmittelreservoirs zur Bereitstellung aller notwendigen Reagenzien und einer Parkstation mit verschiedenen Tools und Spritzen ausgestattet. Die CHRONECT Workstation wird durch ein GC-MS vervollständigt, um nach der Probenvorbereitung eine direkte Probeninjektion zu ermöglichen. Mit zwei Roboterarmen, die gleichzeitig arbeiten können, wird eine effiziente Überlappung der Arbeitsschritte erreicht.

## CHRONECT Workstation MCPD – Modul ISO 18363-2 Applikationsnote 2001



**Abbildung 1:** Schematische Konfiguration der CHRONECT Workstation MCPD –Modul ISO 18363-2 montiert auf einem GC-MS-System.

### Experimentelle Ergebnisse

Mit Hilfe der hochentwickelten Software CHRONOS kann die CHRONECT Workstation bis zu 48 Proben gleichzeitig innerhalb eines einzigen Batches vorbereiten. Ein Batch von 30 Proben kann innerhalb von 24 Stunden mit dem gleichen Workflow analysiert werden. Mit Hilfe der Möglichkeiten des CHRONECT Robotic, Proben automatisch aufzukonzentrieren, wurde eine Kalibrierkurve für alle drei Verbindungen (2-/3-MCPD und Glycidol) mit 10 Kalibrierpunkten zwischen 50 µg/kg und 2500 µg/kg erstellt. Zusätzlich wurden zehn Vials mit 100 mg Öl als Blank mit allen drei Verbindungen dotiert, um die Reproduzierbarkeit und die Wiederfindung zu bestimmen.

Zur zusätzlichen Bewertung der Robustheit der CHRONECT-Workstation wurden drei verschiedene Probentypen jeweils zehnmal analysiert (Abbildung 2). Natives Olivenöl, ein Pflanzenöl aus dem FAPAS-Ringtest und ein alkalisch raffiniertes Palmöl. Die Ergebnisse für 2-/3-MCPD und Glycidol wurden zwischen allen Proben verglichen, um die Reproduzierbarkeit für verschiedene Probentypen zu demonstrieren.

### Diskussion

Das Dotieren von nativen Ölproben (kaltgepresstes Olivenöl) bei verschiedenen Konzentrationsniveaus führte zu sehr guten Kalibrierkurven, die die ausgezeichnete Linearität ( $R^2 > 0,99$ ) für alle kalibrierten Verbindungen zeigen. Selbst bei den niedrigen Konzentrationen waren keine signifikanten Abweichungen zu erkennen, was sogar auf eine Linearität unter 50 µg/kg hinweist. Die Hintergrundkontamination aus diesen Messungen lag für die drei Verbindungen im Durchschnitt ( $n = 6$ ) unter 5 ppb für 2-MCPD und Glycidol und unter 19 ppb für 3-MCPD.

Die aufeinanderfolgenden Probenvorbereitungen und Analysen von nativem Olivenöl, das auf 500 µg/kg 2-/3-MCPD und Glycidol angereichert wurde, ergaben insgesamt eine gute Wiederfindung zwischen 94 % und 103 % (Tabelle 1). Die automatisierte Probenvorbereitung stellt daher eine robuste Alternative zur manuellen Probenvorbereitung dar, mit nahezu keiner Interaktion des Anwenders.

CHRONECT Workstation MCPD – Modul ISO 18363-2  
 Applikationsnote 2001

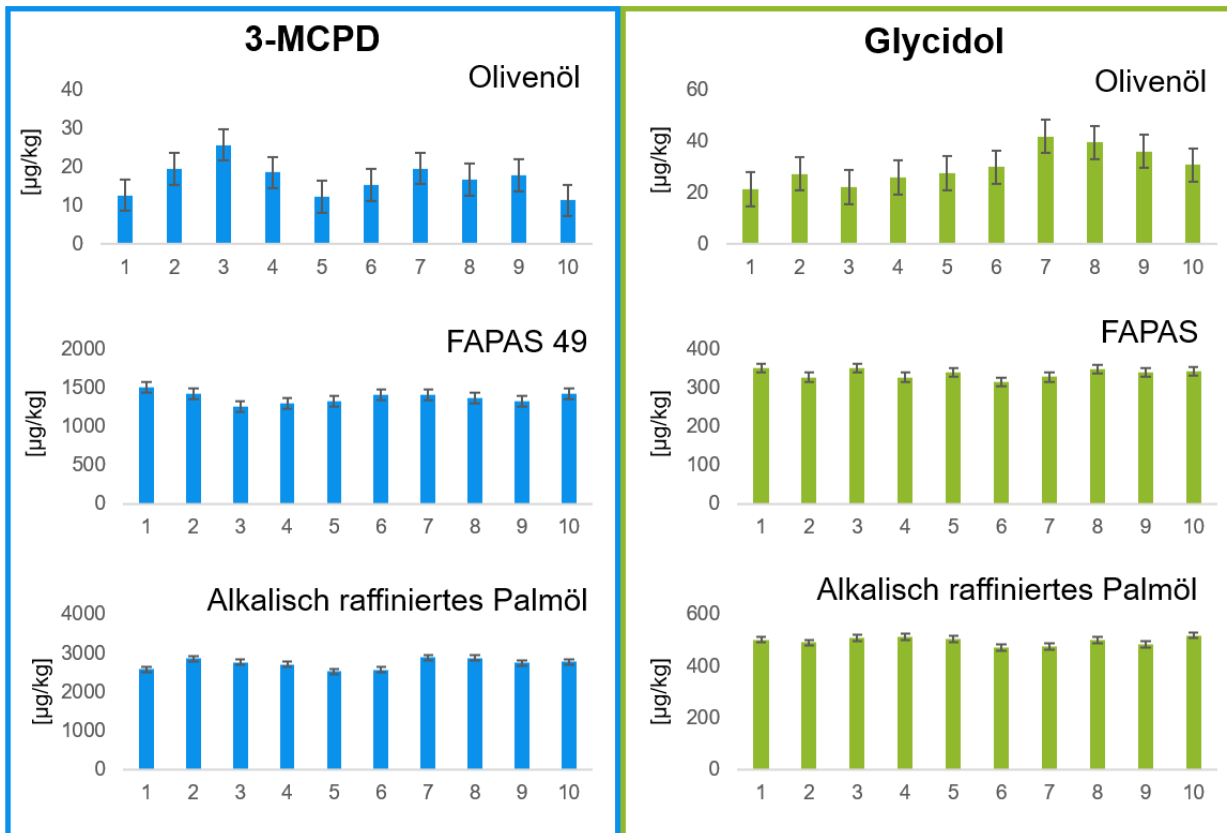


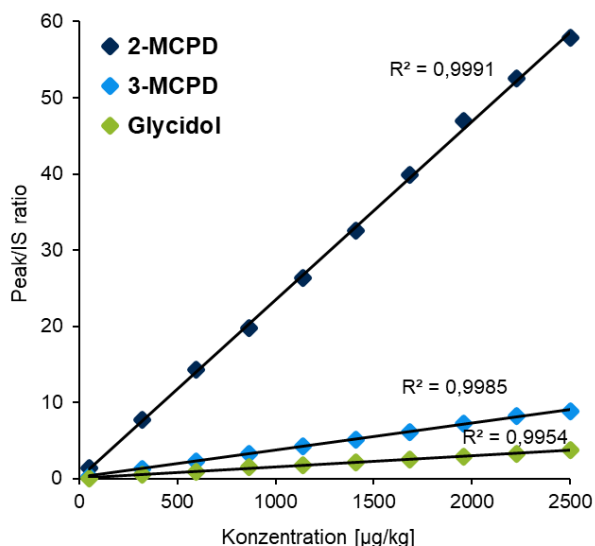
Abbildung 2: Reproduzierbarkeitsmessungen von verschiedenen Probenarten in verschiedenen Konzentrationsbereichen.

Tabelle 1: Ergebnisse des dotierten nativen Olivenöls mit 2-MCPD, 3-MCPD und Glycidol mit 500 µg/kg.

	Konzentration [µg/kg]			Wiederfindung [%]		
	3-MCPD	Glycidol	2-MCPD	3-MCPD	Glycidol	2-MCPD
Spiked-1	484	506	507	96,8	101,2	101,4
Spiked-2	478	511	485	95,7	102,2	97,0
Spiked-3	506	485	515	101,1	96,9	103,0
Spiked-4	503	514	497	100,5	102,7	99,3
Spiked-5	499	473	502	99,8	94,5	100,5
Spiked-6	473	486	489	94,6	97,1	97,8
<b>Mittelwert</b>	<b>490,4</b>	<b>495,5</b>	<b>499,3</b>	<b>98,1</b>	<b>99,1</b>	<b>99,9</b>
<b>SD</b>	<b>12,5</b>	<b>15,3</b>	<b>10,3</b>	<b>2,5</b>	<b>3,1</b>	<b>2,1</b>
<b>RSD [%]</b>	<b>2,5</b>	<b>3,1</b>	<b>2,1</b>	<b>2,5</b>	<b>3,1</b>	<b>2,1</b>

## CHRONECT Workstation MCPD – Modul ISO 18363-2

### Applikationsnote 2001



**Abbildung 3:** Kalibrierkurven für 2-MCPD, 3-MCPD und Glycidol zwischen 50 µg/kg und 2500 µg/kg.

Um die CHRONECT Workstation weiter zu evaluieren, wurden drei verschiedene Probenotypen jeweils 10 Mal analysiert, um zu sehen, wie sich verschiedene Matrixtypen auf die Robustheit auswirken. Ein natives Olivenöl als Blank, ein Pflanzenöl aus dem FAPAS-Ringversuch (FAPAS T2649QC) mit einer guten Datenbank als Referenz und ein alkalisch raffiniertes Palmöl aus einer Raffinerie wurden analysiert.

Für den Blindwert wurde eine relative Standardabweichung (RSD) über 20 % beobachtet, obwohl die Werte alle unter dem niedrigsten Kalibrierpunkt von 50 und unter dem LOQ des Systems lagen. Das Referenzmaterial wies eine sehr gute Übereinstimmung mit den aus den Ringversuchen gewonnenen Daten ( $z < 2$ ) auf, ebenso wie die RSD. Das Gleiche gilt für das physikalisch raffinierte Palmöl mit einer RSD für alle drei Verbindungen unter 6 %.

**Tabelle 2:** Reproduzierbarkeitsmessungen für drei verschiedene Arten von Ölen.

#	Blank Öl			FAPAS Öl 49			Physikalische Ref. Palmöl		
	3-MCPD [µg/kg]	Glycidol [µg/kg]	2-MCPD (µg/kg)	3-MCPD [µg/kg]	Glycidol [µg/kg]	2-MCPD [µg/kg]	3-MCPD [µg/kg]	Glycidol [µg/kg]	2-MCPD [µg/kg]
1	13	21	1	1507	350	795	2594	504	1466
2	20	27	3	1421	327	774	2877	493	1596
3	26	22	7	1261	351	703	2781	511	1547
4	19	26	3	1294	327	711	2715	516	1507
5	12	28	1	1322	340	708	2545	506	1432
6	15	30	1	1408	316	760	2588	473	1453
7	20	42	1	1406	328	763	2906	478	1668
8	17	39	1	1368	348	718	2884	502	1702
9	18	36	1	1329	340	709	2765	486	1591
10	11	31	1	1428	343	757	2788	520	1571
<b>Mittelwert</b>	<b>17,6</b>	<b>30,2</b>	<b>2,2</b>	<b>1368,3</b>	<b>336,4</b>	<b>737,9</b>	<b>2739,4</b>	<b>496,6</b>	<b>1551,4</b>
<b>SD</b>	<b>4,1</b>	<b>6,5</b>	<b>1,8</b>	<b>69,9</b>	<b>11,3</b>	<b>31,8</b>	<b>124,2</b>	<b>15,1</b>	<b>85,6</b>
<b>RSD</b>	<b>23,2</b>	<b>21,7</b>	<b>79,4</b>	<b>5,1</b>	<b>3,3</b>	<b>4,3</b>	<b>4,5</b>	<b>3,0</b>	<b>5,5</b>

## CHRONECT Workstation MCPD – Modul ISO 18363-2

### Applikationsnote 2001

Mit dieser guten Reproduzierbarkeit und Empfindlichkeit kann eine Bestimmungsgrenze (LOQ) von unter 25 µg/kg erreicht werden, wenn die Menge an 3-MCPD und Glycidyl im Blindwert reduziert wird, sodass Proben in Babynahrungsmittelqualität (LOQ < 6 µg/kg) analysiert werden können. Die CHRONECT Workstation kann mit einer zusätzlichen Verdampfungseinheit ausgestattet werden, die kürzlich für andere Methoden wie AOCS Cd29a-13 und AOCS Cd29c-13 verwendet wurde, um Messungen sogar auf einem Single Quadrupol-Massenspektrometer mit vergleichbaren LOQs zu ermöglichen.

Die CHRONECT Workstation MCPD – Modul ISO 18363-2 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 ihren Gehalt an 2-/3-MCPD und Glycidol analysiert werden kann.

Die CHRONECT Workstation  
MCPD mit dem Modul ISO  
18363-2 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)