

3-MCPD- und Glycidyl-Fettsäureester

Automatisierte Bestimmung der Fettsäureester

Kristin Wenzel, Susanne Kühn, Erik Becker, Klaus Vosmann und
Bertrand Matthäus

Vor zehn Jahren, im November 2007, kamen 3-Monochlorpropan-1,2-diol-Fettsäureester (3-MCPD-FE) in den Fokus des Interesses, nachdem das Chemische und Veterinär-Untersuchungsamt (CVUA) in Stuttgart sowie das Max Rubner-Institut Ergebnisse über den Fund von 3-MCPD-FE in verschiedenen Speisefetten und -ölen sowie daraus hergestellten Produkten gemeldet hatten.



Kristin Wenzel

» Zur Person

Staatl. gepr. Dipl.-Lebensmittelchemikerin, wissenschaftliche Mitarbeiterin, Institut Kirchhoff Berlin GmbH «

Bereits ein Jahr zuvor hatte eine tschechische Arbeitsgruppe Ergebnisse zu 3-MCPD-FE in raffinierten Speiseölen veröffentlicht [1]. Später wurden auch noch 2-MCPD-FE und Glycidylfettsäureester als Prozesskontaminanten in Speisefetten und -ölen identifiziert.

Hintergrund

Obwohl für die Ester keine toxikologische Bewertung vorlag, war dieser Fund bedeutsam, da das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) schon im Dezember 2007 eine erste toxikologische Bewertung für 3-MCPD-FE vorgelegt hatte. In dieser ersten Stellungnahme ging das BfR davon aus, dass die Ester im menschlichen Körper zu 100 % durch körpereigene Enzyme gespalten werden und somit die Bewertung für die freie Verbindung übernommen werden muss. Heute ist diese erste toxikologische Bewertung des BfR für die Ester durch verschiedene weitere Arbeiten bestätigt worden. So konnten Arbeiten von *Abraham et al.* [2] und *Appelt et al.* [3] zeigen, dass 3-MCPD- und Glycidylester im Gastrointestinaltrakt vollständig zu den freien Verbindungen gespal-

ten werden. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch *Buhrke et al.* [4] und *Barocelli et al.* [5]. Freies 3-MCPD ist in einer Bewertung der International Agency for Research on Cancer (IARC) als mögliches Humankarzinogen (Gruppe 2B) identifiziert worden [6], und der wissenschaftliche Lebensmittelausschuss der EU-Kommission (Scientific Committee on Food; SCF) bzw. das gemeinsame Komitee der FAO/WHO (JECFA) hatten 2007 eine tolerierbare tägliche Aufnahmemenge (TDI) von 2 µg/kg Körpergewicht pro Tag festgelegt. In Langzeitstudien mit Ratten hatte freies 3-MCPD zu Nierenschäden geführt und bei höheren Dosierungen auch gutartige Tumore verursacht [7–9]. Neuere Untersuchungen des BfR zeigen, dass freies 3-MCPD und 3-MCPD-FE mitverantwortlich sind für das Auftreten von oxidativem Stress im Körper, was als Auslöser für verschiedene Krankheiten wie Krebs oder Parkinson angenommen wird [10].

Für freies 2-MCPD liegt bislang keine toxikologische Bewertung vor, erste Untersuchungen deuten aber darauf hin, dass die toxikologischen Befunde im Vergleich zu 3-MCPD geringer sind.

Im Mai 2016 veröffentlichte die European Food Safety Authority (EFSA) einen neuen TDI von 0,8 µg/kg Körpergewicht pro Tag für freies 3-MCPD. Dies führt dazu, dass es in der Gruppe der Kleinkinder und Babys zu einer Überschreitung des TDI durch den Verzehr von Lebensmitteln kommen kann und somit Minimierungsmaßnahmen einen ganz anderen Stellenwert bekommen müssen. Später, im November 2016, wurde von der JECFA ein TDI von 4 µg/kg Körpergewicht pro Tag veröffentlicht. Dies würde insbesondere die Situation für Babynahrung deutlich entschärfen. Die unterschiedliche Bewertung des TDI führte für die Definition eines Grenzwertes für 3-MCPD-FE in pflanzlichen Fetten und Ölen und daraus hergestellten Lebensmitteln zu einiger Unsicherheit. Grund für die unterschiedliche Bewertung des TDI ist die Anwendung unterschiedlicher Rechenmodelle auf die gleiche Datenbasis. Zurzeit wird die Bewertung des TDI durch die EFSA überprüft, sodass Ende des Jahres das Ergebnis feststehen soll.

Für freies Glycidol wurden erbgutverändernde und krebserzeugende Eigenschaften festgestellt. Daher ist die Substanz von der IARC als „probably carcinogenic to humans“ (Gruppe 2A) eingestuft [11]. Ähnlich wie bei Acrylamid gilt für diese Verbindung das ALARA-Prinzip (As Low As Reasonably Achievable; so niedrig wie vernünftigerweise erreichbar).

Schon relativ schnell nach der ersten Mitteilung zu 3-MCPD-FE in Speisefetten und -ölen war klar, dass es sich um Prozesskontaminanten handelt, die während der hohen Temperaturen der Desodorierung im Raffinationsprozess gebildet werden. So setzten die ersten Minimierungsmaßnahmen dann auch beim Raffinationsprozess an, wobei nicht nur der Schritt der Desodorierung betrachtet wurde, sondern der gesamte Raffinationsprozess von der Entschleimung über die Bleichung bis zur Desodorierung. Es konnte gezeigt werden, dass unterschiedliche Pflanzenöle ein unterschiedliches Potenzial zur Bildung der Ester aufweisen. Vor allem für Palmöl und Palmölprodukte

Herausgegeben von
Prof. Dr. Jürgen Stein,
Prof. Dr. Martin Raithel,
und Prof. Dr. Manfred Kist.
2011. XVIII, 510 S. 122 Abb., 79 Tab.
Gebunden. € 78,- [D]
ISBN 978-3-8047-2565-2

E-Book PDF: € 78,- [D]
ISBN 978-3-8047-2969-8

E-Books sind erhältlich unter
www.wissenschaftliche-verlagsgesellschaft.de



Renommierte Ernährungswissenschaftler und -mediziner, Pharmazeuten, Gastroenterologen und Infektiologen stellen in diesem umfangreichen Werk alle Aspekte nahrungs- und genussmittelbedingter Erkrankungen systematisch dar.

Fundierte Informationen über Ursachen und Pathogenese, Klassifikation und Epidemiologie, Diagnostik und Therapie sowie Prävention so gut wie aller ernährungsbedingten Krankheiten ermöglichen dem Leser eine bedarfsgerechte, individuelle Behandlung auch außergewöhnlicher Fälle.

„Essen ist ein Bedürfnis, Genießen ist eine Kunst.“
(François de La Rochefoucauld)

WVG

Wissenschaftliche
Verlagsgesellschaft
Stuttgart

Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart
Birkenwaldstraße 44 | 70191 Stuttgart
Telefon 0711 2582 - 341 | Telefax 0711 2582 - 390
www.wissenschaftliche-verlagsgesellschaft.de

Alle Preise inklusive MwSt. (D), sofern nicht anders angegeben. Lieferung erfolgt versandkostenfrei innerhalb Deutschlands. Lieferung ins Ausland zuzüglich Versandkostenpauschale von € 7,95 pro Versandstück.

**Erik Becker**

Staatl. gepr. Lebensmittelchemiker, Leitung Prüflaboratorium/Prokurist, Institut Kirchhoff Berlin GmbH, Mitarbeit in verschiedenen Gremien, u. a. seit 2013 DIN-Ausschuss NA 057-01-14 AA „Prozesskontaminanten“ und BfR-Kommission „Bedarfsgegenstände“ AG-Ausschuss Analytik „Mineralöl“

» Durch die Minimierung der Vorstufen bei der Ölproduktion kann der Gehalt an MCPD- und Glycidyl-Estern reduziert werden. «

wurden hohe Gehalte an 3-MCPD und Glycidyl-FE gefunden, aber auch für einige Walnuss-, Haselnuss- und Traubenkernöle oder auch Fischöle.

Grund für das unterschiedliche Potenzial von Ölen und Fetten zur Bildung von 2- und 3-MCPD- sowie Glycidyl-FE sind unterschiedliche Konzentrationen an Vorstufen für die Bildung der Ester. So werden 2- und 3-MCPD-FE vornehmlich aus Triglyceriden gebildet, während Diglyceride die wichtigste Vorstufe für die Bildung von Glycidyl-FE sind. Palmöl kann höhere Gehalte an Diglyceriden (2–10 %) durch den enzymatischen Abbau der Triglyceride während der Lagerung der Palmfrüchte nach der Ernte bis zur Verarbeitung aufweisen. Untersuchungen haben gezeigt, dass Diglyceridgehalte > 4 % ein signifikant höheres Potenzial für die Bildung der Ester darstellen.

Es ist heute allgemein anerkannter Stand des Wissens, dass es sinnvoll ist, mit der Einführung von Minimierungsmaßnahmen schon vor der eigentlichen Verarbeitung der Ölfrüchte oder -saaten zu beginnen. So hat die Behandlung der Ölfrüchte von der Ernte bis zum Beginn der Verarbeitung einen starken Einfluss auf das Potenzial zur Bildung der Ester, da vor allem bei Ölfrüchten direkt nach der Ernte der enzymatische Abbau von Triglyceriden zu Diglyceriden durch Lipasen beginnt. So konnte gezeigt werden, dass die Verarbeitung von intakten Palmfrüchten aus Palmbündeln zu deutlich niedrigeren Gehalten an Estern führt als die Verarbeitung von einzelnen Palmfrüchten, in denen der enzymatische Abbau von Triglyceriden schon fortgeschritten ist. Des Weiteren ist eine schnelle Inaktivierung von Lipasen nach der Ernte der Palmfrüchte angeraten, um die enzymatische Bildung von höheren Gehalten an Diglyceriden als Vorstufe für 3-MCPD-FE zu unterbinden.

Eine weitere wichtige Voraussetzung für die Bildung von 3-MCPD-FE ist das Vorhandensein von reaktiven chloridhaltigen Verbindungen. Diese können über einen nukleophilen Angriff im Rah-

men einer SN_2 -Reaktion oder über die Bildung eines reaktiven Zwischenprodukts wie ein Acyloxoniumion mit der Lipidverbindung reagieren. Solche reaktiven Organochlorverbindungen werden in der Pflanze aus anorganischen Chlorverbindungen wie KCl oder $FeCl_2$ gebildet, die über die Düngung oder die Bewässerung aus dem Boden aufgenommen werden. Im weiteren Verlauf des Wachstumszyklus der Ölfrucht und der anschließenden Verarbeitung werden diese anorganischen Chlorverbindungen in einer Chlor-Kaskade [12] zu öllöslichen Organochlorverbindungen, die bei höheren Temperaturen in reaktive Verbindungen umgewandelt werden und mit Lipidverbindungen reagieren.

Mit Blick auf die Vorstufen sind auch Bestrebungen zu sehen, das Potenzial von Rohstoffen für die Bildung der Ester durch Messung von Markersubstanzen vorhersagen zu können. Verschiedene Forschungsgruppen haben es sich zum Ziel gesetzt, solche Markerverbindungen zu identifizieren. Sollten solche Markersubstanzen identifiziert sein, würde dies die Industrie in die Lage versetzen, den Raffinationsprozess individuell auf das reale Potenzial der Rohware anzupassen und so die Minimierung deutlich effektiver zu gestalten.

Es gibt heute eine ganze Reihe von Maßnahmen, die im Rahmen der Raffination angewandt werden können, um die Bildung der Ester zu reduzieren. Diese reichen von der Entfernung von Vorstufen während der Entschleimung oder auch Waschung des Rohöls über die Bleichung, durch den Einsatz von neutralen oder basischen Bleicherden, bis hin zur Modifizierung der Desodorierung, um die Temperaturbelastung des Öles zu reduzieren und so die Bildung der Ester zu minimieren. Insbesondere die Gehalte an Glycidyl-FE lassen sich durch die Reduzierung der Temperatur während der Desodorierung drastisch senken, da sie erst bei Temperaturen < 240 °C in größeren Mengen gebildet werden. Dahingegen beginnt die Bildung von 3-MCPD-FE schon bei deutlich niedrigerer Temperatur, sodass hier eine

Reduzierung von unerwünschten Stoffen bei gleichzeitiger Minimierung von 3-MCPD-FE schwieriger zu realisieren ist.

Analytik – direkte vs. indirekte Analysemethoden

Eine der größten Schwierigkeiten zu Beginn der Diskussionen um 3-MCPD-Fettsäureester und verwandte Verbindungen war, dass es zwar Methoden zur Bestimmung gab, diese aber weder standardisiert noch normiert waren. Heute existieren für die Bestimmung von 3-MCPD, Glycidol sowie deren Fettsäureester eine Vielzahl an methodischen Ansätzen, von denen einige inzwischen für Fette und Öle standardisiert und in Methodensammlungen aufgenommen sind. Für die Bestimmung dieser unerwünschten Substanzen in Lebensmitteln muss der Fettanteil mit einer geeigneten Methode vor der Bestimmung extrahiert werden.

Grundsätzlich lassen sich die methodischen Ansätze in direkte und indirekte Methoden unterteilen. Bei den direkten Analysemethoden werden die im Fett oder Öl vorhandenen Ester, bestehend aus verschiedenen Fettsäuren verestert mit 2-MCPD, 3-MCPD oder Glycidol, nach Anreicherung mittels LC-MS/MS direkt bestimmt. Für die genaue Quantifizierung der Einzelverbindungen sind die entsprechenden Stabilisotopen-markierten Standards erforderlich. Aufgrund der Vielzahl der möglichen Esterkongenere und der limitierten Verfügbarkeit der Referenzstandards findet dieses aufwendige Verfahren in der Praxis aber kaum Anwendung.

Die indirekten Methoden beruhen alle auf dem gleichen Prinzip. Zuerst erfolgt die Spaltung der Fettsäureester und anschließend werden die drei Leitsubstanzen, freies 2- und 3-MCPD sowie Glycidol, nach Derivatisierung mittels GC-MS detektiert. Die Quantifizierung wird durch den Einsatz der jeweiligen Stabilisotopen-Markierten Standards realisiert. Diese Ver-

fahren liefern Summenergebnisse der verschiedenen Esterkongenere. Eine Aussage zu einzelnen Fettsäureestern ist nicht möglich. Während die direkten Methoden heute nur selten angewandt werden, haben sich die indirekten Methoden in der Routine durchgesetzt. Ein Grund dafür ist sicherlich, dass es für die meisten Fragestellungen der Minimierung ausreichend ist, die Gehalte der Ester als Summe zu analysieren. Die Notwendigkeit, Gehalte einzelner Ester zu bestimmen, besteht nur dann, wenn gezeigt worden ist, dass einzelne Ester sich in ihrem toxikologischen Potenzial unterscheiden.

Bereits 2009 wurde die erste Methode für die indirekte Bestimmung von 3-MCPD- und Glycidylestern in Fetten und Ölen von der Deutschen Gesellschaft für Fettwissenschaft e. V. (DGF) in einem internationalen Ringversuch validiert. Aufgrund dieser Ringversuchsdaten veröffentlichte die DGF im März 2009 die DGF-Einheitsmethode C-III-18 (09). Später wurde diese Methode zurückgezogen und durch die Methode DGF C-VI 18 (10) ersetzt. In der Zwischenzeit sind die nachfolgenden praxisrelevanten Verfahren normiert worden:



Dr. Bertrand Matthäus
Lebensmittelchemiker,
stellvertretender
Leiter des Instituts
für Sicherheit und
Qualität bei Getreide
im Max Rubner-Institut,
Arbeitsschwerpunkt
Lipidforschung,
seit 10 Jahren mit
3-MCPD und Glycidyl-
estern beschäftigt,
u. a. in zwei FEI-
Forschungsprojekten

indirekte Methoden	A: Σ 3-MCPD + Glycidol	B: 3-MCPD	C: 2-MCPD	D: Glycidol
ISO 18636-1 AOCS Cd 29c-13 DGF C-VI 18 (10)	– alkalische Hydrolyse (RT, 3–5,5 min) – Derivatisierung mit PBS, chloridhaltig	– alkalische Hydrolyse (RT, 3–5,5 min) – Derivatisierung mit PBS, chloridfrei	nicht validiert, aber möglich	$D = (A - B) \times t$: experimentell ermittelter Transformationsfaktor
ISO 18636-2 AOCS Cd 29b-13	$A = B + D$	– alkalische Hydrolyse (–22 °C, 16 h) – Derivatisierung mit PBS, bromidhaltig	– alkalische Hydrolyse (–22 °C, 16 h) – Derivatisierung mit PBS, bromidhaltig	– selektive Umwandlung in 3-MCPD – alkalische Hydrolyse (–22 °C, 16 h) – Derivatisierung mit PBS, bromidhaltig
ISO 18636-3 AOCS Cd 29a-13	$A = B + D$	– saure Hydrolyse (40 °C, 16 h) – Derivatisierung mit PBS, bromidhaltig	– saure Hydrolyse (40 °C, 16 h) – Derivatisierung mit PBS, bromidhaltig	– selektive Umwandlung in 3-MCPD – saure Hydrolyse (40 °C, 16 h) – Derivatisierung mit PBS, bromidhaltig

Abb. 1 Überblick über die normierten indirekten Verfahren zur Bestimmung der 3-MCPD-, 2-MCPD- und Glycidylester in Fetten und Ölen

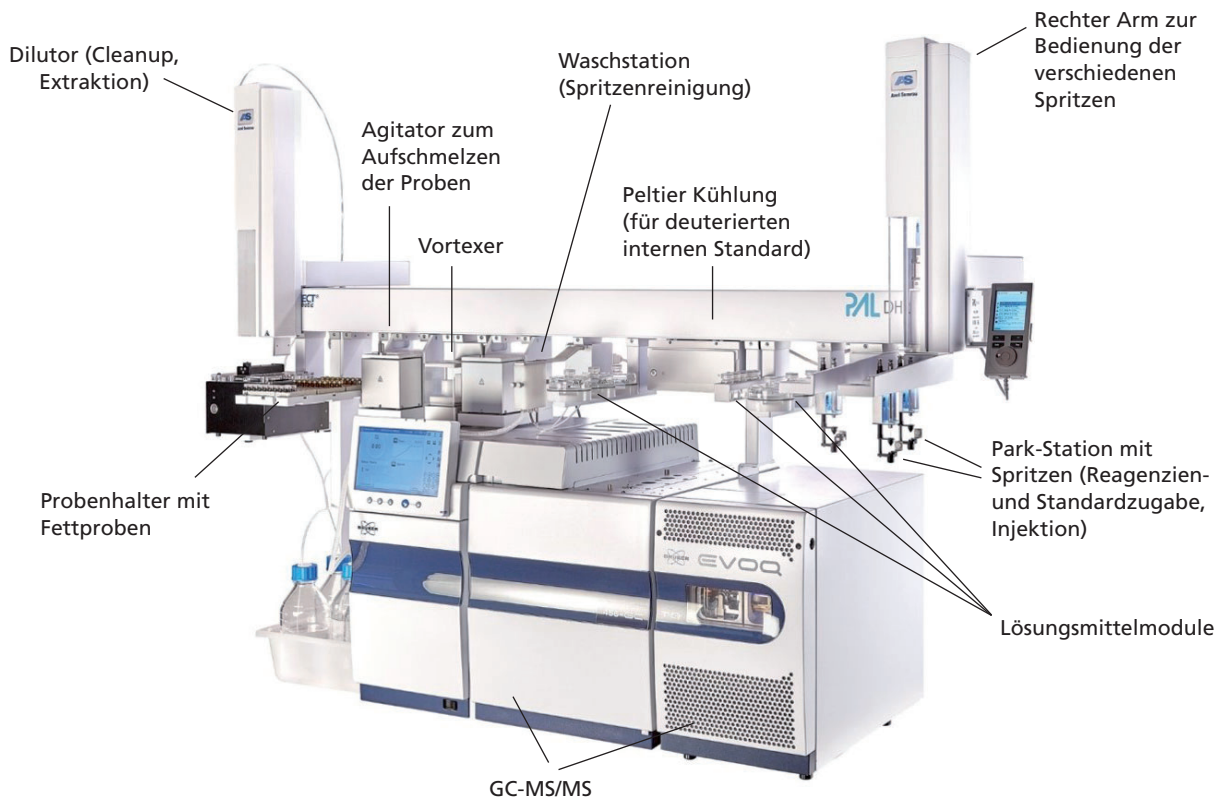


Abb. 2 Online-GC-MS/MS-System für die automatisierte Bestimmung der 3-MCPD-, 2-MCPD- und Glycidylester

- ISO 18363-1:2015-08 – Tierische und pflanzliche Fette und Öle – Bestimmung von fettsäuregebundenen Chlorpropandiol (MCPD) und Glycidol mittels GC/MS – Teil 1: Verfahren mittels schneller alkalischer Umesterung und Messung für 3-MCPD und Differenzmessung für Glycidol (entspricht der DGF C-VI 18 (10) und AOCS Cd 29c-13)
- ISO 18363-2: 2017-12 – Tierische und pflanzliche Fette und Öle – Bestimmung von fettsäuregebundenen Chlorpropandiol (MCPD) und Glycidol mittels GC/MS – Teil 2: Verfahren mittels langsamer alkalischer Umesterung und Messung für 2-MCPD, 3-MCPD und Glycidol (sog. „3 in 1-Methode“, entspricht AOCS Cd 29b-13)
- ISO 18363-3:2017-05 – Tierische und pflanzliche Fette und Öle – Bestimmung von fettsäuregebundenen Chlorpropandiol (MCPD) und Glycidol mittels GC/MS – Teil 3: Verfahren mittels Säureumesterung und Messung für 2-MCPD, 3-MCPD und Glycidol (sog.

„Unilever-Methode“, entspricht AOCS Cd 29a-13).

Der wesentliche Unterschied dieser Verfahren beruht in den jeweiligen Reaktionsbedingungen bei der Spaltung der Fettsäureester. Die Esterhydrolyse erfolgt im sauren oder alkalischen Medium bei unterschiedlichen Reaktionszeiten und Temperaturen. Ein Überblick dieser drei Methoden ist in Abbildung 1 dargestellt.

Automatisierung – MCPD-Arbeitsstation

Die Probenaufarbeitung für die Bestimmung der 3-MCPD- und Glycidyl-Fettsäureester ist komplex, fehleranfällig und zeitaufwendig. Um den Erfordernissen einer immer schnelleren Freigabe von Ergebnissen gerecht zu werden, wurde am Institut Kirchhoff eine Automatisierung der Probenaufarbeitung mit anschließender Online GC-MS/MS etabliert. Aufgrund der kurzen Esterspaltungszeit

» Für die MCPD- und Glycidol-Bestimmung haben sich drei indirekte ISO-Methoden etabliert. «

wurde die Methode ISO 18363-1:2015-08 als methodische Basis für die Methodenoptimierung ausgewählt. Es ist die schnellste der drei genannten Methoden, so dass sie sehr gut in der Produktionskontrolle eingesetzt werden kann, auch wenn die Ergebnisse für Glycidylfettsäureester etwas ungenauer sind, da der Gehalt als Differenz berechnet wird. Hinzu kommt, dass jeweils zwei Ansätze für den Gesamtgehalt 3-MCPD und Glycidyl-FE bearbeitet werden müssen.

Das Normverfahren (ISO 18363-1:2015-08) beschreibt die Bestimmung von 3-MCPD-Fettsäureestern (gebundenes 3-MCPD), die zusammen mit eventuell auftretendem freien 3-MCPD nach einer alkalisch katalysierten Esterspaltung und nachfolgender Derivatisierung als Phenylboronsäurederivate detektiert werden. Gleichzeitig dient die Methode der indirekten Bestimmung von Glycidylestern (gebundenes Glycidol) über ein Differenzverfahren, wobei vorausgesetzt wird, dass neben diesen Verbindungen keine weiteren Substanzen vorliegen, die ebenso in der Lage sind, bei Raumtemperatur mit anorganischem Chlorid zu 3-MCPD zu reagieren.

In einem ersten Ansatz (Teil A) wird der Gesamtgehalt an estergebundenem 3-MCPD und Glycidol, berechnet als 3-MCPD, analysiert. In einem zweiten Ansatz (Teil B) wird das in der Probe vorliegende Glycidol durch den Ersatz von NaCl durch NaBr in 3-MBPD umgewandelt, so dass nur das estergebundene 3-MCPD erfasst wird. Aus der Differenz dieser beiden Analysenansätze wird, unter Berücksichtigung eines experimentell ermittelten Transformationsfaktor der Gehalt an estergebundenem Glycidol berechnet. Diese Methode ist anwendbar auf feste Fette und flüssige Öle, die entweder als solche vorliegen oder durch schonende Extraktion aus fetthaltigen Lebensmitteln gewonnen werden.

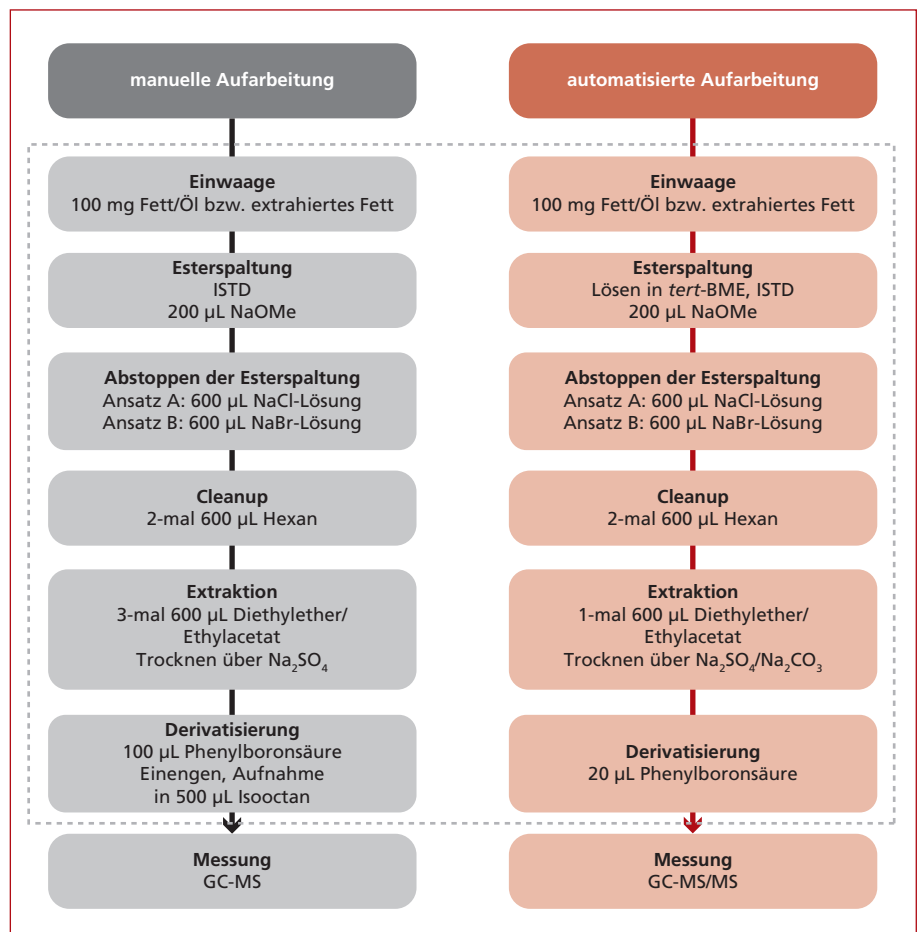


Abb. 3 Fließschema für die manuelle und automatisierte Aufarbeitung nach ISO 18363-1

Bei der Automatisierung der Methode ist der Schlüssel für die Optimierung der Analysenzeit der Einsatz eines XYZ-Roboters. Wird dieser auf ein GC-MS/MS-System montiert, können die Einzelschritte der Probenaufarbeitung für Fette und Öle von der Esterspaltung über das Cleanup bis zur Derivatisierung völlig automatisiert, durch eine Software gesteuert, erfolgen. So werden die langwierigen manuellen Abläufe automatisiert, was auch zu einer besseren Reproduzierbarkeit der Ergebnisse führt. Lediglich die Fettextraktion bei fetthaltigen Lebensmitteln und das Einwiegen der Probe müssen noch manuell vorgenommen werden. In der Abbildung 2 ist die MCPD-Arbeitsstation der Fa. Axel Semrau GmbH & Co. KG mit den einzelnen Modulen dargestellt.

Unmittelbar nach der automatisierten Probenaufarbeitung erfolgt über eine On-

» **Die automatische Probenvorbereitung ermöglicht ein präzises, robustes und effizientes Arbeiten.** «

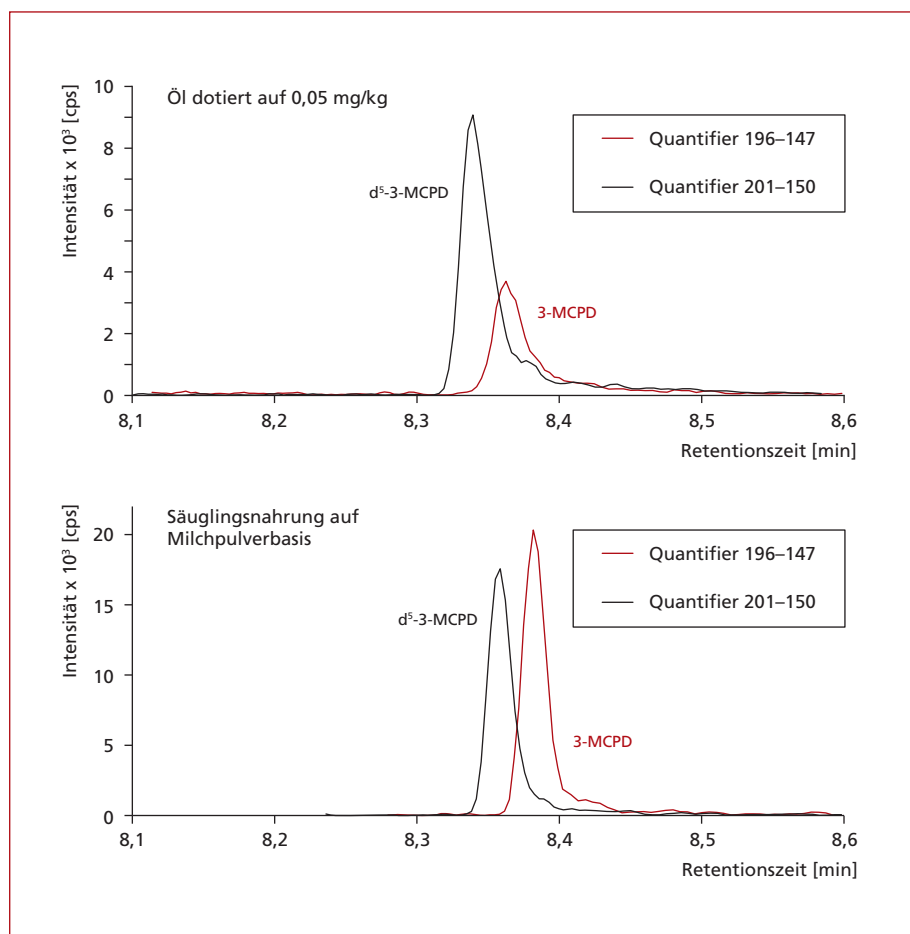


Abb. 4 Chromatogramme einer Probe natives Olivenöl extra (0,05 mg/kg) und von einer Probe Säuglingsnahrung (0,22 mg/kg). Beide Proben wurden mit jeweils 0,21 mg/kg deuteriertem internen Standard dotiert.

line Kopplung mit einem GC-MS/MS-Gerät die gaschromatografische Trennung und Detektion. Das System ermöglicht die Verschachtelung von Arbeitsabläufen, so dass bereits die Aufarbeitung einer neuen Probe beginnen kann, während die vor-

herige Probe mittels GC-MS/MS noch analysiert wird. So werden die zeitaufwendigen Schritte der Probenvorbereitung effizient abgearbeitet. Die Analysendauer einer Probe für beide Reaktionsansätze beträgt dadurch lediglich 45 Minuten. Demnach können in 24 Stunden 36 Proben analysiert werden. Auch die Dotierung und Vermessung von Kontrollproben zur Ermittlung der Bestimmungsgrenze sowie Sequenzkontrollen werden automatisch durchgeführt. Um die ISO 18363-1:2015-08 automatisiert durchzuführen, waren lediglich geringfügige methodische Anpassungen notwendig. In Abbildung 3 sind die einzelnen Arbeitsschritte der manuellen Aufarbeitung im Rahmen der ISO 18363-1:2015-08 der automatisierten Aufarbeitung gegenübergestellt.

Die ISO 18363-1:2015-08 beschreibt die Analyse von festen Fetten und flüssigen Ölen. Die Extraktion von Fett aus anderen Lebensmitteln wird von diesem Normverfahren nicht erfasst. So muss z. B. bei Säuglingsnahrung auf Basis von Milchpulver (Abb. 4) die Probe vor der eigentlichen Fettextraktion mindestens 30 min mit Wasser bei 80 °C quellen. Für stark verkapselte und emulgatorhaltige Matrices ist zusätzlich ein enzymatischer Verdau ratsam, um Störungen zu vermeiden.

Tab. 1 Validierungskennndaten verschiedener Matrices

Matrix	Linearität		Wiederfindung		Wiederholbarkeit		erweiterte Messunsicherheit	
	A	B	A	B	A	B	A	B
	[%]							
Ölivenöl	4,2	3,9	95	88	3,9	2,8	20	25
Gebäck mit Schokoladenfüllung	4,3	2,9	102	98	4,3	3,6	20	20
Säuglingsnahrung auf Basis von Milchpulver	3,4	5,0	101	98	4,2	5,7	25	30

A: Ansatz A; B: Ansatz B

Validierung

Das automatisierte Verfahren wurde durch eine Validierung auf seine Eignung geprüft. Die Ermittlung der Bestimmungsgrenze erfolgte anhand einer 6-fach-Dotierung auf die zu validierende analytfreie Matrix. Mit diesem Verfahren werden Bestimmungsgrenzen von 0,05 mg/kg Fett erreicht. Zur Bestimmung der Linearität, Richtigkeit und Präzision wurde eine 3-fach-Dotierung auf die jeweilige Matrix mit drei verschiedenen Konzentrationsstufen durchgeführt. Die Richtigkeit wurde zusätzlich durch einen Methodenvergleich mit der manuellen Aufarbeitung bestätigt. Eine Auswahl der validierten Lebensmittel ist in Tabelle 1 aufgelistet.

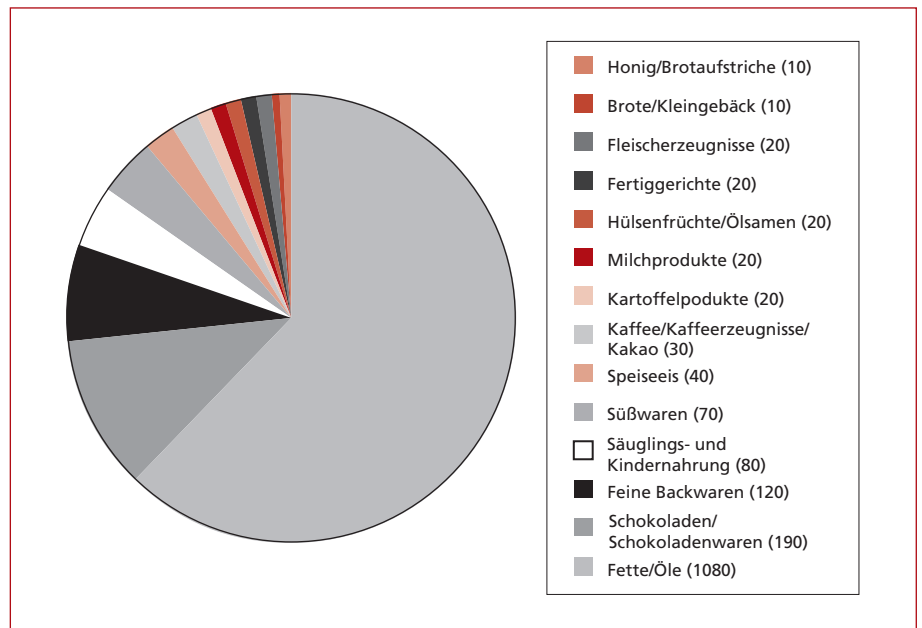


Abb. 5 Darstellung der mittels Automatisierung analysierten Proben, aufgeschlüsselt nach Matrix

Fazit

Mit der hier vorgestellten MCPD-Arbeitsstation erfolgt die vollständig automatisierte Bestimmung von 3-MCPD-FE und Glycidyl-FE in Fetten und Ölen sowie fetthaltigen Lebensmitteln nach vorheriger Fettextraktion. Es wurde eine routinefähige Methode erarbeitet, die die Präzision, die Reproduzierbarkeit, die Produktivität und die Prozesssicherheit erheblich erhöht. Zudem zeichnet sich die automatisierte Bestimmung durch eine Minimierung der Kontaminationsgefahr aus. Durch die Verwendung eines Triple-Quadrupol-Detektors wird eine deutlich verbesserte Empfindlichkeit erreicht. Bislang wurden mit diesem System 1080 verschiedene Fette und Öle direkt sowie 780 weitere Lebensmittel nach Fettextraktion auf die oben genannten Prozesskontaminanten untersucht (Abb. 5).

In Verbindung mit einer geeigneten Extraktionsmethode lässt sich mit der hier vorgestellten automatisierten Methode zur Bestimmung von 3-MCPD- und Glycidyl-FE in Fetten und Ölen eine Vielfalt von unterschiedlichen Lebensmitteln schnell und einfach analysieren, was die Leistungsfähigkeit der Methode unter-

streicht. Sie ist robust genug, um neben Fetten und Ölen auch problematische Matrices wie z. B. Säuglings- und Kindernahrung sicher zu bewerten.

Kontakt

Kristin Wenzel

Susanne Kühn

Erik Becker

Institut Kirchhoff Berlin GmbH

Oudenarder Str. 16

13347 Berlin

kw@institut-kirchhoff.de

eb@institut-kirchhoff.de

www.institut-kirchhoff.de

Klaus Vosmann

Dr. Bertrand Matthäus

Max Rubner-Institut

Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel

Arbeitsgruppe Lipidforschung

Schützenberg 12

32756 Detmold

bertrand.matthaeus@mri.bund.de

www.mri.bund.de

Literatur

- [1] *Zelinkova Z et al.*: Fatty acid esters of 3-chloropropane-1,2-diol in edible oil. *Food Addit Contam* **23**, 1290–1298 (2006).
- [2] *Abraham K et al.*: Relative oral bioavailability of 3-MCPD from 3-MCPD fatty acid esters in rats. *Arch Toxicol* **87**, 649–659 (2013).
- [3] *Appel KE et al.*: Relative oral bioavailability of glycidol from glycidyl fatty acid esters in rats. *Arch Toxicol* **87**, 1649–1659 (2013).
- [4] *Buhrke T, Weisshaar R, Lampen A*: Absorption and metabolism of the food contaminant 3-chloro-1,2-propanediol (3-MCPD) and its fatty acid esters by human intestinal Caco-2 cells. *Arch Toxicol* **85**, 1201–1208 (2011).
- [5] *Barocelli E et al.*: Comparison between 3-MCPD and its palmitic esters in a 90-day toxicological study. *EFSA Support Publ* **8**, 131 (2011).
- [6] IARC: Some chemicals present in industrial and consumer products, some food contaminants and flavourings, and water chlorination by-products. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans No 101. International Agency for Research on Cancer, Lyon (2012).
- [7] *Sunahara G, Perrin I, Marchesini M*: Carcinogenicity study on 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) administered in drinking water to Fischer 344 rats. Unpublished report No RE-SR93003 submitted to WHO by Nestec Ltd, Research & Development, Switzerland (1993).
- [8] *Cho WS et al.*: Subchronic toxicity study of 3-monochloropropane-1,2-diol administered by drinking water to B6C3F1 mice. *Food Chem Toxicol* **46**, 1666–1673 (2008).
- [9] *Jeong J et al.*: Carcinogenicity study of 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) administered by drinking water to B6C3F1 mice showed no carcinogenic potential. *Arch Toxicol* **84**, 719–729 (2010).
- [10] *Lampen A*: Current Aspects of Toxicology and Risk assessment of 2-MCPD Esters, 3-MCPD Esters and Glycidyl Esters. Symposium on MCPD Esters and Glycidyl Esters Analytics, Toxicology, Risk Assessment, Mitigation – Where we are today? 20–21 June 2017, Rocket Tower Conference Center, Berlin (2017).
- [11] NTP: Toxicology and carcinogenesis studies of glycidol (CAS No. 556-52-5) in F344/N rats and B6C3F1 mice (Gavage studies), Technical Report Series No 374, NIH Research Triangle Park, NC: National Toxicology Program Publication No. 90-2829 (1990).
- [12] *Craft BD et al.*: Glycidyl esters in refined palm (*Elaeis guineensis*) oil and related fractions. Part II: Practical recommendations for effective mitigation. *Food Chem* **132**, 73–79 (2012).