



Lebensmittelanalytik

Raffiniertes Risiko

Bei der Raffination von Speiseölen können gesundheitlich bedenkliche Stoffe, hier namentlich 2-MCPD, 3-MCPD und Glycidyl-Fettsäureester, entstehen und das Produkt belasten. Ein automatisiertes GC/MS-Verfahren erlaubt eine hohe Effizienz bei der Bestimmung der Kontaminanten gemäß DGF C-VI 18 (10).

Von Guido Deußing

Nun hat auch die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) das Gesundheitsrisiko von 3-Monochlorpropandiol (3-MCPD), 2-Monochlorpropandiol (2-MCPD), deren Fettsäureestern sowie von Glycidyl-Fettsäureestern bewertet [1]. Das Resultat basiert auf den Daten von 23 Mitgliedsstaaten [2, 3]:

„Prozesskontaminanten auf Basis von Glycerin (gemeint sind 3-MCPD, 2-MCPD, deren Fettsäureester sowie Glycidyl-Fettsäureester), die in Palmöl, aber auch anderen Pflanzenölen, Margarinen und einigen verarbeiteten Lebensmitteln enthalten sind, geben Anlass zu möglichen Gesundheitsbedenken in jüngeren Altersgruppen, die durchschnittliche Mengen Lebensmittel

verzehren, sowie für sämtliche Altersgruppen bei großen Verzehrsmengen.“ [4] Bereits im Jahr 2007 gelangte das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) in Berlin zu einer ähnlichen Einschätzung [5].

Glycerin als Grundgerüst

In allen Fetten und Ölen ist Glycerin in Form von Fettsäureestern (Triglyceriden) enthalten. Weil nicht alle Öle nativ, also naturbelassen verzehrfähig und haltbar sind, werden sie raffiniert und von unliebsamen Begleitstoffen befreit. Im Kontext dieses Reinigungs- und Veredelungsprozesses wird das Öl im Schritt der Desodorierung mit

rund 200 bis 230 °C heißem Wasserdampf unter Vakuum behandelt, wobei unerwünschte geruchs- und geschmacksintensive sowie problematische flüchtige Verbindungen und Pestizidrückstände entfernt werden.

Gleichzeitig forciert die Wärmebehandlung (insbesondere in Anwesenheit von Chlorid) die Substitution eines Triglycerid-Fettsäurerests durch ein Chloratom unter Bildung von 2-MCPD-Fettsäureestern respektive 3-MCPD-Fettsäureestern. Aus 1,3-Diglyceriden entstehen unter diesen Bedingungen Glycidyl-Fettsäureester.

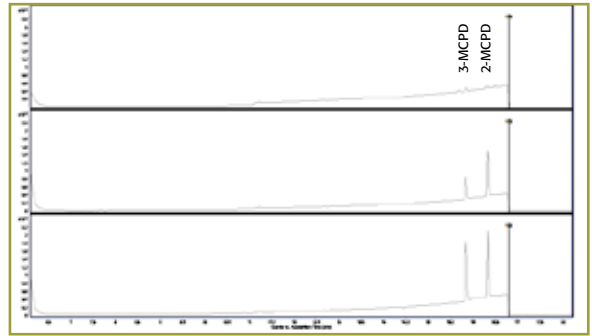
Gefahrenlage abgeschätzt

Die Einschätzung des Gefahrenpotenzials der in dieser Arbeit beschriebenen Glycerin-Derivate durch die EFSA basiert auf in Tierversuchen gewonnenen Erkenntnissen: Bei Ratten etwa, denen 3-MCPD verabreicht wurde, zeigten sich Zellveränderungen vor allem im Bereich der Nieren. Höhere Dosierungen hätten zur Ausprägung gutartiger Wucherungen (Tumoren) geführt, berichtet das BfR. Laut EFSA liegt die tolerierbare tägliche Aufnahmemenge (TDI-Wert) für 3-MCPD bei 0,8 Mikrogramm pro Kilogramm Körpergewicht. In Ermangelung hinreichender toxikologischer Informationen lasse sich für 2-MCPD kein gesicherter Wert angeben. Bei der Risikobewertung von Glycidyl-Fettsäureestern sei man davon ausgegangen, dass Glycidyl-Fettsäureester im Organismus vollständig in freies Glycidol umgewandelt werden. Da Glycidol bekanntermaßen genotoxisch und kanzerogen wirke, sei das Sachverständigen-gremium für Kontaminanten in der Lebensmittelkette (CONTAN) der EFSA nicht in der Lage gewesen, einen sicheren Wert für Glycidyl-Fettsäureester zu benennen [4].

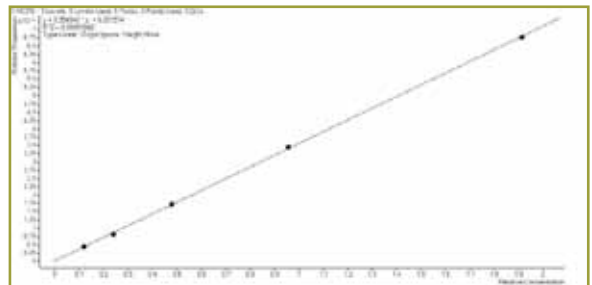
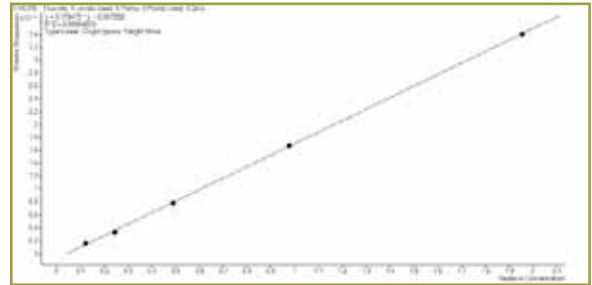
Folgerichtig besteht Handlungsbedarf, sind die Gehalte der Kontaminanten in Lebensmitteln zu minimieren, um einer Gesundheitsbeeinträchtigung der Verbraucher, insbesondere der von Säuglingen, die nicht gestillt, sondern mit industriell gefertigter Säuglingsmilchnahrung gefüttert werden, entgegenzuwirken. Dafür braucht es die Mittel der instrumentellen Analytik.

Eine Herausforderung für die Analytik

Für die Bestimmung von 2-MCPD, 3-MCPD, deren Fettsäuren sowie Glycidyl-Fettsäuren respektive Glycidol empfiehlt die Deutsche Gesellschaft für Fettwissenschaften (DGF) zwei



SIM-Chromatogramm (m/z 198): natives Olivenöl als Blindprobe (o.), (M.) Speiseöl [Assay B: 3-MCPD] und Speiseöl (u.) [Assay A: 3-MCPD und Glycidol]. (Quelle: GERSTEL)



Linearitätsstudie für 3-MCPD-Assay B (o.) und Glycidyl-Assay A (u.), jeweils 0,12-1,9 mg/kg. (Quelle: GERSTEL)

Einheitsmethoden, namentlich die DGF C-VI 17 (10), auch „Weißhaar-Methode“ genannt, und die „Kuhlmann-Methode“ DGF C-VI 18 (10); beide basieren auf der Gaschromatographie mit Massenspektrometrie (GC/MS) als Trenn- beziehungsweise Detektionsverfahren.

Die evaluierte DGF-Einheitsmethode C-VI 17 (10) beschreibt ein Verfahren zur Summenbestimmung von ester gebundenem 3-Chlorpropan-1,2-diol (3-MCPD-Ester) und Glycidol (Glycidylester) in Fetten und Ölen mittels Gaschromatographie/Massenspektrometrie (GC/MS) nach Spaltung der Ester mit methanolischer Natriumhydroxidlösung, Zugabe saurer Natriumchlorid-Lösung und Derivatisierung mit Phenylboronsäure. Unter den gegebenen Verfahrensbedingungen wird Glycidol nahezu vollständig in 3-MCPD umgewandelt und als solches bestimmt. Dieses Verfahren erlaubt es jedoch nicht zu ermitteln, welchen Anteil das aus Glycidol generierte 3-MCPD am Gesamtergebnis hat [6, 7].

Die DGF-Einheitsmethode C-VI 18 (10) bietet eine Lösung für dieses Problem. Sie beschreibt ein Verfahren zur Bestimmung von 3-MCPD-Fettsäureestern (gebundenes 3-MCPD), die zusammen mit eventuell ebenfalls auftretendem freiem 3-MCPD nach einer alkalisch katalysierten Esterspaltung und Derivatisierung als



GERSTEL-MPS für die automatisierte Probenvorbereitung von Speiseölen vor der GC/MS-Bestimmung von 2- und 3-MCPD sowie Glycidol.

Phenylboronsäurederivate des freien 3-MCPDs detektiert werden. Gleichzeitig dient die Methode der indirekten Bestimmung von Glycidylestern (gebundenem Glycidol) über ein Differenzverfahren [6, 7].

Bereits diese kurze Umschreibung offenbart den Mehrwert der DGF-Einheitsmethode C-VI 18 (10): Sie ermöglicht es, einen Rückschluss auf den tatsächlichen Glycidol-Anteil in der Probe zu ziehen. Sie vermittelt zudem eine Idee von dem Aufwand, der allein für die Überführung der Verbindungen in eine analysierbare Form betrieben werden muss, geht man von einer manuellen Vorgehensweise aus – einschließlich der Überführung der Fettsäureester in ihre freie Form sowie deren Extraktion und Derivatisierung. Ganz zu schweigen von der Analyse zweier erforderlicher Probenansätze zwecks Unterscheidung von 2-MCPD, 3-MCPD und Glycidol.

Mehr Effizienz und Sensitivität durch Automatisierung

Dem setzt GERSTEL als Experte für die automatisierte Probenvorbereitung und Probenaufgabe in der LC/MS und GC/MS nun eine integrierte vollautomatisierte und praxiserprobte Systemlösung entgegen. Die DGF C-VI 18 (10) wurde quasi eins zu eins auf einen Roboter übertragen.

„Ausgeführt wird die automatisierte Probenvorbereitung auf einem MultiPurposeSampler (GERSTEL-MPS) in der DualHead-Variante, sprich mit zwei unabhängig voneinander arbeitenden Armen, versehen mit unterschiedlich dimensionierten Spritzen, um ohne Spritzenwechsel einerseits große Flüssigkeitsmengen dosieren und schließlich eine kleine Probenmenge in das Analysensystem injizieren zu können“, beschreibt Dominik Lucas, ehemals Mitglied im GERSTEL-Applikationsteam und inzwischen Vertriebsbeauftragter des Unternehmens. Obendrein lassen sich für die Methode wichtige Schritte wie das Liquid-Handling, einschließlich Flüssig-Flüssigextraktion, Einengen der Extrakte und Wiederaufnahme der Rückstände mit GC-kompatiblen Lösemitteln, und die Derivatisierung der Analyten vollständig automatisieren und effizient in die Methode integrieren (siehe rechts oben).

Abschließend injiziert der MPS-Autosampler die Probe in das GC/MS-System, das hernach überaus erfreuliche Resultate liefert, berichtet Dominik Lucas: „Die mit der beschriebenen Methode erzielten Analyseergebnisse zeigen eine gute Übereinstimmung mit Referenzanalysen unabhängiger Laboratorien. Die relativen Standardabweichungen für Wiederholungsanalysen lagen bei fünf Prozent für 3-MCPD und 6,4 Prozent für Glycidol über das komplette Verfahren.“

Was den Einsatz der beschriebenen Systemlösung für die Bestimmung von 2-MCPD, 3-MCPD, deren Fettsäureestern und Glycidyl-Fettsäureestern beziehungsweise Glycidol betrifft: „Da die Methode einen Anreicherungs-schritt durch Eindampfen beinhaltet, lässt sich je nach Art des Öls bereits mit konventionellen Sin-

MANUELL

- 100 mg Probe in ein Vial einwiegen
- zweites Vial mit Natriumsulfat als Trockenmittel befüllen (Trockenvial)

GERSTEL-MPS

- Zugabe von MTBE zur Probe
- Zugabe von ISTD-Lösung und Mischen
- Zugabe von MeOH/NaOH-Lösung
- Schütteln und Inkubieren
- Zugabe von NaCl-Lösung (Ansatz A) bzw. NaBr-Lösung (Ansatz B)
- Zugabe von n-Hexan
- Schütteln und Inkubieren
- Hexanphase verwerfen
- Extraktion der Matrix mit n-Hexan zweimal wiederholen
- mehrmalige Extraktion der Analyten mit MTBE/Ethylacetat 3:2 (v/v) und Transfer der organischen Phasen in das Trockenvial
- Zugabe von Phenylboronsäure-Lösung
- Eindampfen und Derivatisierung im ^mVAP (40 °C, 400 mBar)
- Aufnahme des Derivates in Isooctan

Darstellung der manuell erforderlichen und der vom GERSTEL-MultiPurposeSampler (MPS) automatisiert umgesetzten Schritte der DGF-Einheitsmethode C-VI 18 (10) zur Bestimmung von unter anderem 2-MCPD und 3-MCPD. Am Ende der oben beschriebenen Prozedur erfolgt – je nach Gerätekonfiguration – die Aufgabe der Probe in das GC/MS-System.

gle-Quadrupol-Massenspektrometern eine ausreichende Sensitivität und Stabilität erzielen“, hebt Dominik Lucas hervor, da im Zuge des Eindampfens auch das Derivatisierungsreagenz entfernt wird.

Quellen

- [1] www.efsa.europa.eu/de/efsajournal/pub/4426 (16. 12. 2017)
- [2] www.bfr.bund.de/cm/343/3-mcpd-fettsaeureester-in-lebensmitteln.pdf (16. 12. 2017)
- [3] www.bfr.bund.de/de/fragen_und_antworten_zur_kontamination_von_lebensmitteln_mit_3_mcpd__2_mcpd__und_glycidyl_fettsaeureestern-10538.html (16. 12. 2017)
- [4] www.efsa.europa.eu/de/press/news/160503a (16. 12. 2017)
- [5] www.bfr.bund.de/cm/343/saeuglingsanfangs_und_folgenahrung_kann_gesundheitlich_bedenkliche_3_mcpd_fettsaeureester_enthalten.pdf (17. 12. 2017)
- [6] www.dgfett.de/methods/hinweise.pdf (17. 12. 2017)
- [7] Jan Kuhlmann, Determination of bound 2,3-epoxy-1-propanol (glycidol) and bound monochloropropanediol (MCPD) in refined oils, European Journal of Lipid Science and Technology 113 (2011) 335-344, <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ejlt.201000313/full>