

Bestimmung von MCPD-/Glycidylestern und freiem MCPD/Glycidol in Säuglings- und Kleinkindernahrung: Analytische Grenzen und Empfehlungen

Hintergrund

Am 4. April 2024 hat die EU-Kommission die Verordnung (EU) 2024/1003 zur Änderung der Verordnung (EU) 2023/915 hinsichtlich der Höchstgehalte für die Summe aus 3-Monochlorpropandiol (3-MCPD) und 3-MCPD-Fettsäureestern in Säuglingsanfangsnahrung, Folgenahrung und Lebensmitteln für besondere medizinische Zwecke für Säuglinge und Kleinkinder sowie in Kleinkindnahrung¹ im Amtsblatt der Europäischen Union veröffentlicht. Mit dieser Verordnung werden die Grenzwerte der Summe aus 3-Monochlorpropandiol (3-MCPD) und 3-MCPD-Fettsäureestern in Säuglingsanfangsnahrung, Folgenahrung und Lebensmitteln für besondere medizinische Zwecke für Säuglinge und Kleinkinder sowie in Kleinkindnahrung gesenkt.

Die Lebensmittelsicherheit hat für die Mitglieder des DIÄTVERBANDES oberste Priorität. Die im DIÄTVERBAND zusammengeschlossenen Hersteller von Säuglings- und Kleinkindernahrungen begrüßen die Veröffentlichung strengerer Höchstgehalte für MCPD-Ester und freies MCPD in Säuglings- und Kleinkindernahrung mit Wirkung zum 1. Januar 2025. Der DIÄTVERBAND und seine Mitglieder sehen jedoch besondere Herausforderungen, die mit der Analyse der speziellen Matrix ‚Säuglingsnahrung‘ einhergehen. Diese sind auf die Vielfalt der verfügbaren Analyseprotokolle zurückzuführen, die zu widersprüchlichen Ergebnissen führen können, wenn eine für Öle und Fette entwickelte und validierte Methode auf diese spezielle Matrix angewendet wird. Das Ziel dieses Dokuments ist es, die kritischen Faktoren und Herausforderungen der Analytik aufzuzeigen.

Standards für MCPD- & Glycidyl-Ester in Ölen/Fetten und Säuglings-/Kleinkindernahrung

- Im Jahr 2017 verabschiedete die *International Organization for Standardization* (ISO) den Standard **18363-3:2017**. Dieser wurde von der *American Oil Chemists' Society* (AOCS) speziell für Fette und Öle entwickelt und im Juni 2024 durch den Standard **18363-3:2024**² ersetzt.
- Im Jahr 2019 veröffentlichte die Gemeinsame Forschungsstelle (*European Joint Research Center*, JRC) ihren Bericht **EUR 29109 EN**³, um bestehende Protokolle zu vergleichen und zu ermitteln, welche Protokolle für Endprodukte empfohlen werden können. In diesem Bericht wurde Säuglingsnahrung bewusst ausgenommen, da erkannt wurde, dass für diese komplexe Matrix ein spezifisches Protokoll erforderlich ist. Dementsprechend verweist der JRC-Bericht auf den Aufruf zur Einreichung von Methoden, der von der *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) veröffentlicht wurde, um auf diesen Bedarf hinzuweisen.
- Basierend auf den Standard Method Performance Requirements (SMPR), die von der AOAC speziell für Säuglings- und Kleinkindernahrung definiert wurden, wurden zwei Protokolle ausgewählt und erhielten den *First Action Status*: **AOAC 2018.03**⁴ und **AOAC 2018.12**⁵. Beide sind für diese komplexe Lebensmittelmatrix geeignet und liefern gleichwertige Ergebnisse.

¹ Verordnung (EU) 2024/1003 der Kommission vom 4. April 2024 zur Änderung der Verordnung (EU) 2023/915 hinsichtlich der Höchstgehalte für die Summe von 3-Monochlorpropandiol (3-MCPD) und 3-MCPD-Fettsäureestern in Säuglingsanfangsnahrung, Folgenahrung und Lebensmitteln für besondere medizinische Zwecke, die für Säuglinge und Kleinkinder bestimmt sind, sowie in Kleinkindernahrung.

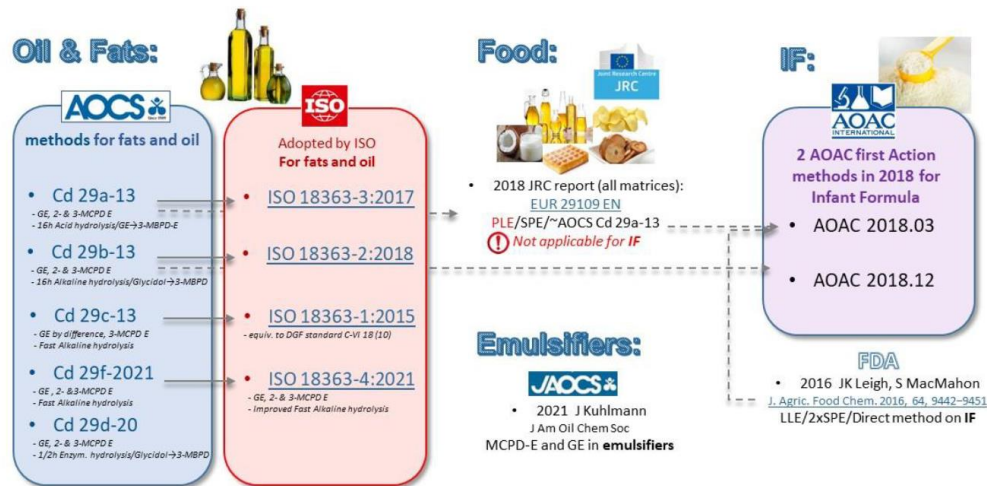
² ISO (2024): ISO 18363-3:2024: Animal and vegetable fats and oils — Determination of fatty-acid-bound chloropropanediols (MCPDs) and glycidol by GC/MS Part 3: Method using acid transesterification and measurement for 2-MCPD, 3-MCPD and glycidol; <https://www.iso.org/standard/88577.html>.

³ JRC (2019): Determination of the MCPD fatty acid esters and glycidyl fatty acid esters in food: Report on the collaborative trial organised by the EURL-PAH and Process Contaminants; <https://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/JRC110610>.

⁴ AOAC (2018): Determination of 2- and 3-MCPD as well as 2- and 3-MCPD Esters and Glycidyl Esters (GE) in Infant and Adult/Pediatric Nutritional Formula by Gas Chromatography Coupled to Mass Spectrometry Method, First Action 2018.03; <https://academic.oup.com/jaoac/article/102/3/903/5658235>.

⁵ AOAC (2018): 2-Monochloropropanediol (2-MCPD), 3-Monochloropropanediol (3-MCPD), and Glycidol in Infant and Adult/Pediatric Nutritional Formula: Single-Laboratory Validation, First Action 2018.12; <https://academic.oup.com/jaoac/article/102/4/1205/5658335>.

MCPD-E and GE methods: principles and equivalences



Kritische Elemente: Methoden für Öle/Fette und mögliche Verzerrungen bei der Anwendung auf Säuglingsnahrung

- **Extraktion:** Säuglingsnahrung hat eine spezifische Matrixstruktur. Zur Abtrennung von MCPD- und Glycidylestern aus der Lebensmittelmatrix ist eine umfangreiche Lösungsmittelextraktion erforderlich. Die AOCS- und ISO-Methoden decken diesen kritischen Schritt nicht ab (Laboratorien, die diese Methoden anwenden, führen zunächst eine Extraktion der Fettphase durch und wenden dann das in diesen Methoden beschriebene Protokoll an; dieser vorbereitende Schritt erhöht die Unsicherheit und kann zu einer Überschätzung führen). Nur die AOAC-Methoden sind geeignet, die Analysen direkt an der Säuglingsnahrung durchzuführen, was zu einer geringeren Unsicherheit führt.
- **Hydrolyse**, auch "Zwischenveresterung" genannt: Die AOCS- und ISO-Verfahren können in langsame (alkalische und saure Bedingungen) und schnelle (alkalische) Umesterungsmethoden unterteilt werden. Nur die langsamen Umesterungsmethoden (Cd 29a-13, Cd 29b-13, integriert in AOAC 2018.03 und 2018.12) sind validiert und liefern zuverlässige Daten für Säuglingsnahrung.
- Die **Quantifizierung** kann direkt oder durch Differenzberechnung erfolgen. Schnelle Methoden (Cd 29c-13; ISO 18363-1:2015 und DGF C-VI 18 (10)) analysieren GE indirekt durch differentielle Messung der 3-MCPDE unter Verwendung von zwei unterschiedlichen Reaktionsbedingungen. Gemäß den ergänzenden Hinweisen der Deutschen Gesellschaft für Fettwissenschaft (DGF)⁶ liegt die erweiterte Messunsicherheit für 3-MCPD-Ergebnisse voraussichtlich im Bereich von 10 bis 30 %. Für die Differenzialmethode C-VI 18 (10) ist zu beachten, dass die Messunsicherheiten beider Methoden (Teil A und Teil B) für die Glycidolergebnisse ansteigen, wobei die Messunsicherheit für diese Analyten auch mit dem Verhältnis 3-MCPD: Glycidol ansteigt.

AOAC 2018.03 und AOAC 2018.12 kombinieren die Extraktion, die Hydrolyse und den Modus der Quantifizierung entsprechend der Matrix für Säuglings- und Kleinkindernahrung.

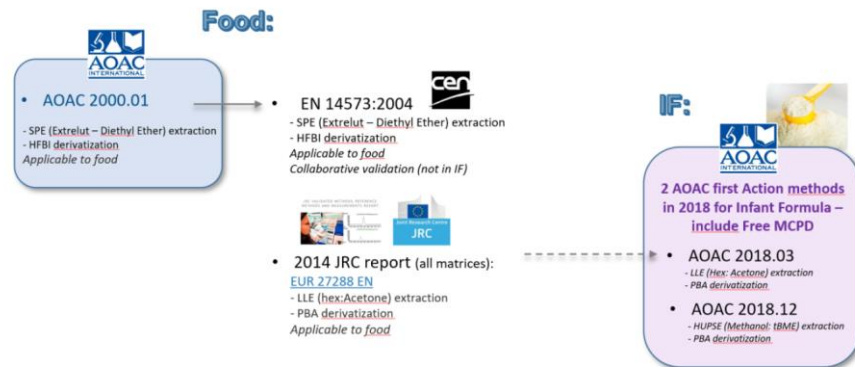
Wichtige Hinweise:

- DGF C-VI 18:2010 wurde für die Untersuchung von Pflanzenöl in einer Umgebung mit kurzer Durchlaufzeit entwickelt und optimiert, wie sie bei der Ölherstellung erforderlich ist. Diese Methode ist nicht für Säuglings- und Kleinkindernahrung geeignet. Die Methode ist „indirekt“, was zu einer hohen Messunsicherheit (MU) aufgrund von kumulativen Fehlern führt.
- Die Geschwindigkeit der Analyse wurde der Genauigkeit vorgezogen. Dies wird in den von der AOCS veröffentlichten Validierungsdateien deutlich, in denen die Reproduzierbarkeit der drei offiziellen Methoden verglichen werden kann (AOCS Cd 29a-13, AOCS Cd 29b-13 und AOCS Cd 29c-13 = DGF C-VI 18:2010). Die kumulierten Fehler sind bei DGF C-VI 18:2010 größer und damit auch die Unsicherheit.

⁶ DGF (2022): Supplementary notes on the DGF standard methods C- VI 17 (10) and C- VI 18 (10) on the determination of 3-MCPD fatty acid esters and glycidyl fatty acid esters; http://www.dgfett.de/methods/hints_C_VI_17_C_VI_18.pdf.

- Es ist besonders darauf hinzuweisen, dass beide Methoden – C-VI 17 (10) und C-VI 18 (10) – nur für die Analyse von Speiseölen und -fetten entwickelt und validiert wurden und nicht für die Analyse anderer Öl- und Fettprodukte, wie z. B. Emulgatoren, Glycerin, Phytosterine, Sphingolipide etc. Die Eignung der DGF-Methoden für diese Matrices wurde nicht untersucht. Daher sollten Ergebnisse aus der Anwendung der DGF-Methoden C-VI 17 (10) und C[1]VI 18 (10) für andere Matrices als Speiseöle und -fette erst dann als gültig angesehen werden, wenn ihre Eignung in entsprechenden Ringversuchen nachgewiesen wurde.

Free MCPD methods: principles and equivalences



Die ersten Berichte über Chlorpropanole in Lebensmitteln stammen aus dem Jahr 1978. Seitdem wurden verschiedene Ansätze entwickelt und veröffentlicht. In der Literatur zu den offiziellen Methoden der letzten zwei Jahrzehnte ist Folgendes zu finden:

- Im Jahr 2000 veröffentlichte die AOAC die offizielle Methode 2000.01 für die Bestimmung von 3-Chlor-1,2-propandiol in Lebensmitteln und Lebensmittelzutaten. Die Methode wurde gemeinsam in hydrolysiertem Pflanzenprotein, Malzextrakt, Suppenpulver, Semmelbrösel, Salami und Käsealternativen validiert. Für Säuglingsnahrung wurden keine Validierungsdaten in der offiziellen Methode veröffentlicht.
- Die Methode beruht auf der Extraktion von freiem MCPD durch ein großes Volumen (1/4 l) Diethylether nach Mischen der Probe mit einem festen Trägermaterial. Die konzentrierten Analyten werden mit Heptafluorbutyrylimidazol (HFBI) derivatisiert und mittels GC-MS bestimmt.
- Im Jahr 2004 hat das Europäische Komitee für Normung (CEN) die Methode AOAC 2000.01 ohne Änderungen als Norm EN 14573:2004 anerkannt und übernommen.
- Im Jahr 2014 stellte das JRC fest, dass die in EN 14573:2004 beschriebene Probenvorbereitung aufgrund des hohen Lösungsmittelverbrauchs aufwändig und nicht umweltfreundlich ist. Daher wurde beschlossen, eine Analysemethode zu entwickeln, die einen hohen Probendurchsatz ermöglicht und ressourcenschonender ist.
- Im Jahr 2018 wurden AOAC 2018.03 und AOAC 2018.12 von der AOAC ausgewählt anerkannt (*granted first action status*), da sie die Anforderungen an die Leistungsfähigkeit der Methode zur Bestimmung von freiem MCPD (zusätzlich zur Esterform von MCPD und Glycidol) in Säuglings- und Kleinkindernahrung erfüllen. AOAC 2018.03 integriert die 2014 vom JRC entwickelte Standardarbeitsanweisung, während AOAC 2018.12 ein eigenes Verfahren entwickelt hat. Beide Verfahren haben bei einer Reihe von Proben während des AOAC-Expertenprüfverfahrens Gleichwertigkeit der Ergebnisse gezeigt.

Kritische Elemente: Methoden für Öle und Fette und mögliche Verzerrungen bei der Anwendung auf Säuglingsnahrung

- **Derivatisierung:** Die am häufigsten verwendeten Derivatisierungsreagenzien für MCPD(E) und GE sind HFBI und Phenylboronsäure (PBA). Ersteres wird im Europäischen Standard EN 14573:2004 verwendet, während letzteres für die Analyse von MCPD-Estern bevorzugt wird. Im Zusammenhang mit der Analyse von gebundenen und freien Formen von MCPD in Lebensmitteln, wird die Verwendung von PBA für die Derivatisierung der Analyten in den JRC- und AOAC-Methoden (die neuesten Methoden) bevorzugt. HFBI ist feuchtigkeitsempfindlich und weniger spezifisch für MCPD als PBA (spezifisch für -Diolgruppen). Zu beachten: Das Derivatisierungsreagenz PBA wird auch vom JRC empfohlen.
- **Extraktion:** Es gelten die gleichen Überlegungen wie für MCPD-Ester und Glycidylester: Säuglingsnahrung hat eine spezifische Matrixstruktur, die während der Entwicklung optimiert und sorgfältig validiert werden muss. Weder AOAC 2000.01 noch EN 14573:2004 erwähnen

Säuglingsnahrung in ihrem Anwendungsbereich, im Gegensatz zu AOAC 2018.03 und 2018.12, die speziell für Säuglingsnahrung entwickelt wurden.

Allgemeine Empfehlung:

Die für Säuglingsnahrung optimierten und validierten Referenzmethoden AOAC 2018.03 und AOAC 2018.12 wurden von der AOAC entwickelt und werden zur Verwendung für diese komplexe Matrix empfohlen.

Für Laboratorien, die diese Methoden anwenden, wird außerdem empfohlen, an einem P-Test speziell für die Säuglings- und Kleinkindmatrix teilzunehmen, um alle wichtigen Aspekte der Analyse, d. h. Extraktion, Analyse und Quantifizierung abzudecken.

Kernaussagen

- Die offiziellen Methoden zur Bestimmung von MCPD- & Glycidylestern (GE) / freiem MCPD & Glycidol, die für die Analyse von Ölen und Fetten validiert wurden, sind als solche nicht auf Säuglings- und Kleinkindernahrung anwendbar und können zu einer Überschätzung der Ergebnisse führen.
- Die optimierten und validierten Referenzmethoden für Säuglingsnahrung – AOAC 2018.03 und AOAC 2018.12 – wurden von der AOAC entwickelt und werden für diese komplexe Matrix empfohlen.

Bonn, Juli 2024