

Analytik von 3-MCPD- und Glycidyl- Fettsäureestern



Eine komplizierte Geschichte?

Reinhard Matissek

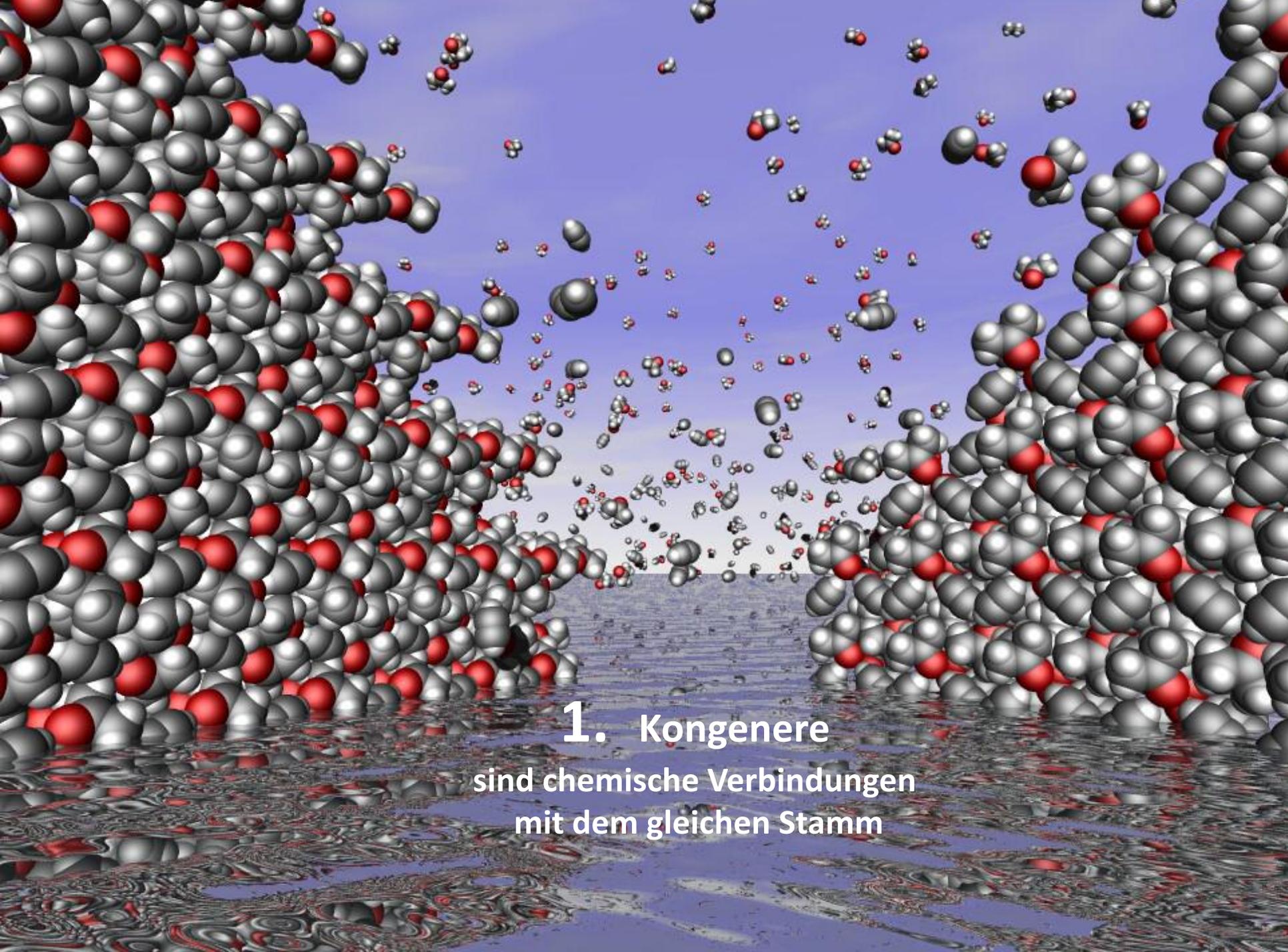
LEBENSMITTELCHEMISCHES INSTITUT

des Bundesverbandes der Deutschen Süßwarenindustrie



Topics

1. **Kongenere**
Wer bin ich – und wenn ja, wie viele?
2. **Analysenstrategien**
Einer oder alle?
3. **Differenzierung**
3-MCPD-Ester ↔ Glycidyl-Ester
4. **Quick Look**
Praxisrelevanz

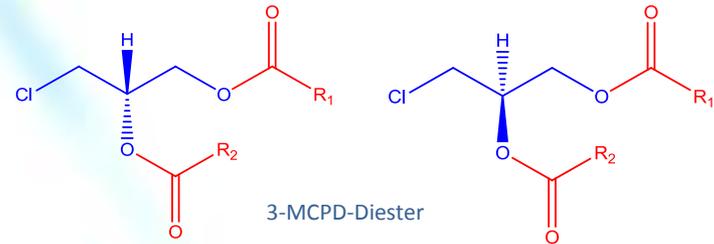
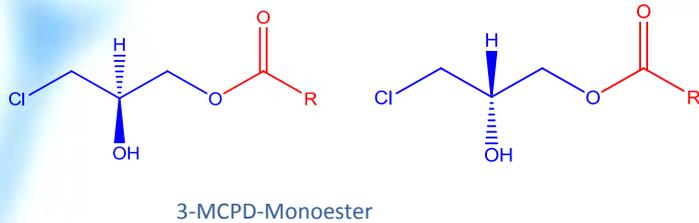


1. Kongenere
sind chemische Verbindungen
mit dem gleichen Stamm

Wie viele 3-MCPD-Fettsäureester gibt es?

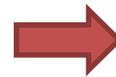
Vielzahl von Fettsäuren, die mit 3-MCPD verestert sein können

- sowohl **Monoester** als auch **Diester**
- **zwei stereoisomere** Formen



Rechenmodell:

$$x = 6 \cdot n + 4 \cdot \sum_{i=1}^n (i - 1)$$



Beispiel:

$$n = 6 \rightarrow x = 96$$

x = Anzahl möglicher 3-MCPD-Ester

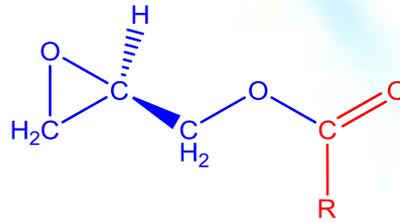
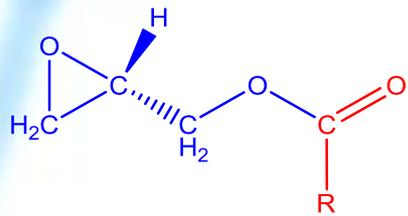
n = Anzahl der in Betracht kommenden Fettsäuren

- Ester z.B. mit: Myristin-, Palmitin-, Stearin-, Öl-, Linol- und Linolensäure

Und wie viele Glycidyl-Fettsäureester kommen dazu?

Wesentlich geringere Anzahl an möglichen Estern, die vorliegen können:

- nur **Monoester**
- zwei stereoisomere Formen möglich



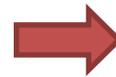
Glycidyl-Ester

Rechenmodell:

$$x = n \cdot 2$$

x = Anzahl möglicher 3-MCPD-Ester

n = Anzahl der in Betracht kommenden Fettsäuren



Beispiel:

$$n = 6 \rightarrow x = 12$$

2. Analysenstrategien

☞ Fokussieren auf den Grundkörper der Moleküle

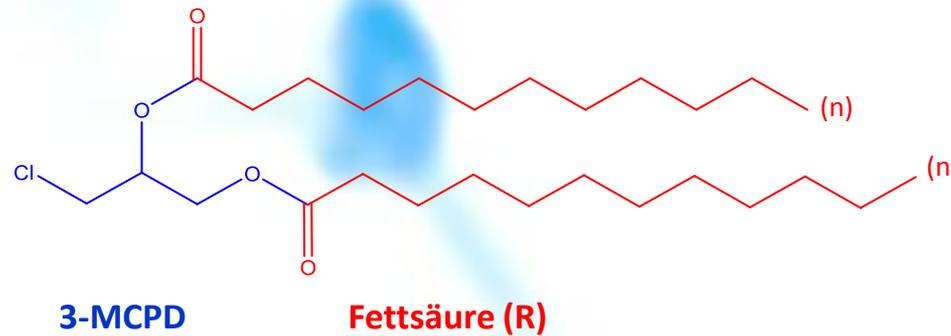
→ „indirekte Methoden“

☞ Bestimmung definierter (aller definierten?) Einzelsubstanzen (Kongenerere)

→ „direkte Methoden“

Direkte Analysenmethode

Bestimmung von 3-MCPD-Estern als solche (Kongenere)



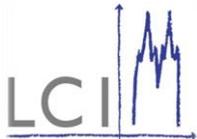
3-MCPD

Fettsäure (R)

3-MCPD-Fettsäureester



Direkte Analytik per LC-MS/MS



Direkte Analytik von 3-MCPD-Estern

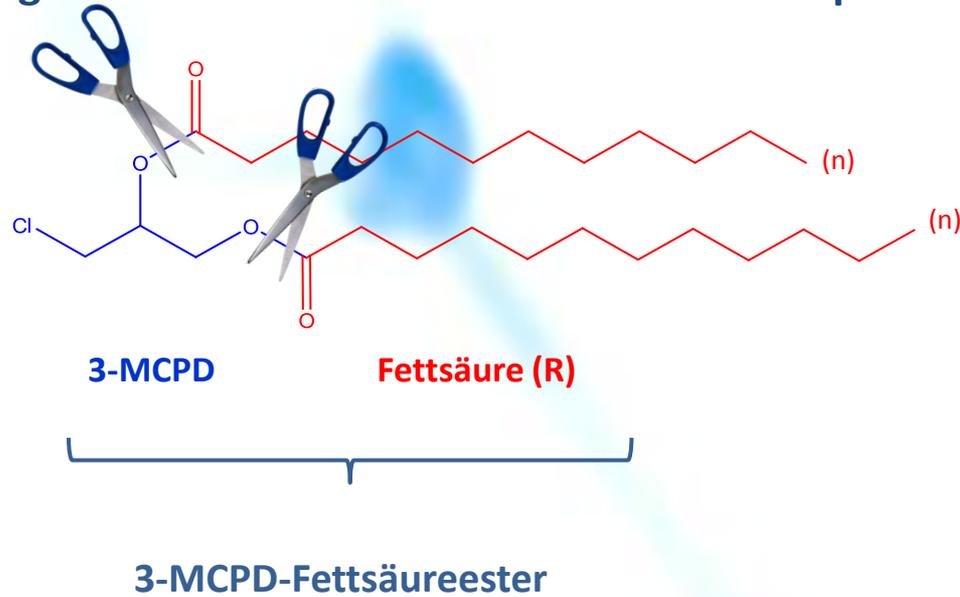
Analyse der einzelnen 3-MCPD-Ester Kongenere mittels

- LC-MS/MS
- GC-ToF-MS

Es müssen viele Einzelsubstanzen quantifiziert werden, dazu müssen die vielfältigen Standards zur Verfügung stehen.

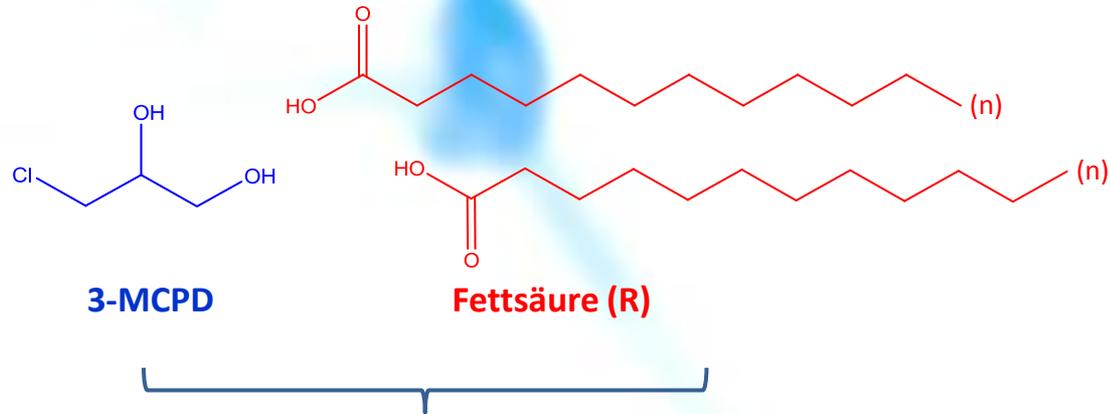
Indirekte Analysenmethode

Bestimmung von 3-MCPD-Estern über den Grundkörper



Indirekte Analysenmethode

Bestimmung von 3-MCPD-Estern über den Grundkörper



3-MCPD-Fettsäureester

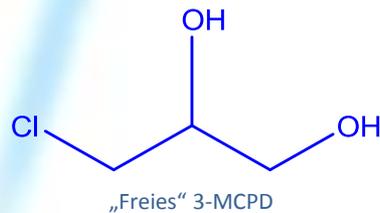


Indirekte Analytik per GC-MS

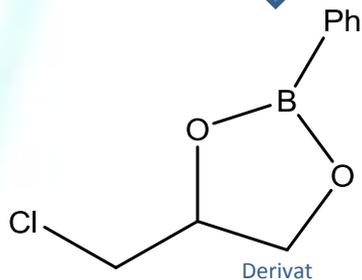
Grundschema indirekter Analytik



Hydrolyse



Derivatisierung



Möglichkeiten zur Esterspaltung

- Sauer (1,8 % H_2SO_4 in Methanol; 40 °C 16h)
- Alkalisch (NaOCH_3 Raumtemperatur 10 min)
- Enzymatisch (Lipasen, Esterasen)

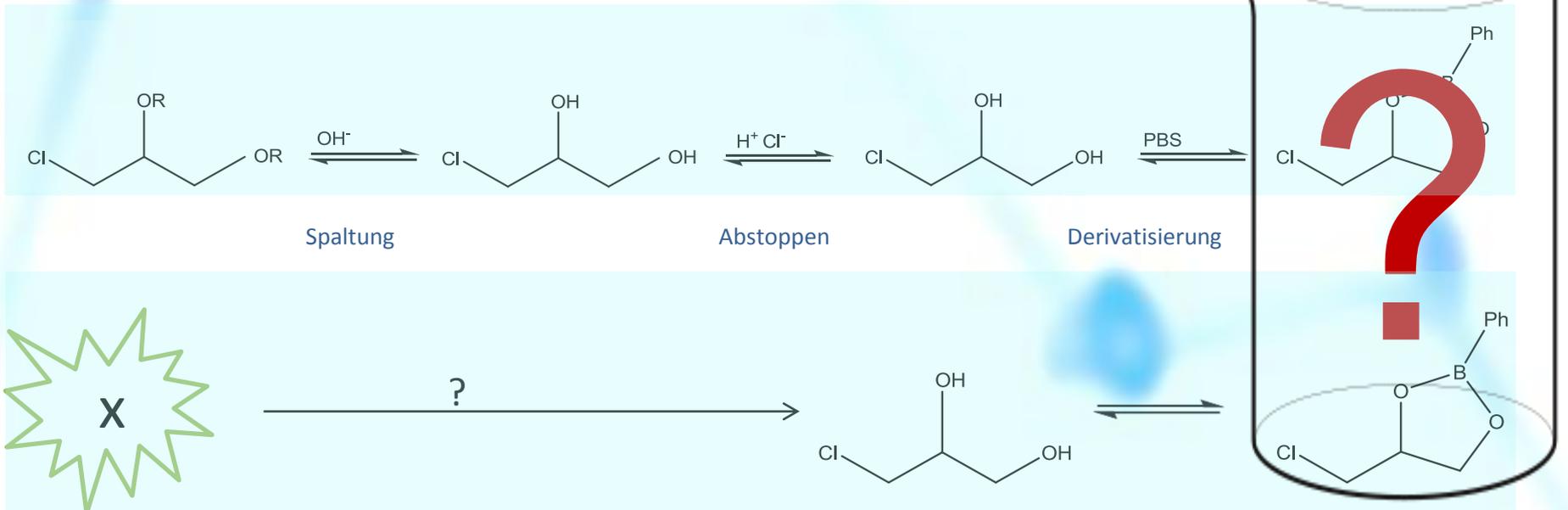
Umsetzung zu flüchtigen Derivaten - Beispiele

- Heptafluorbutyrylimidazol (HFBI)
- Aceton
- Phenylboronsäure (PBS)



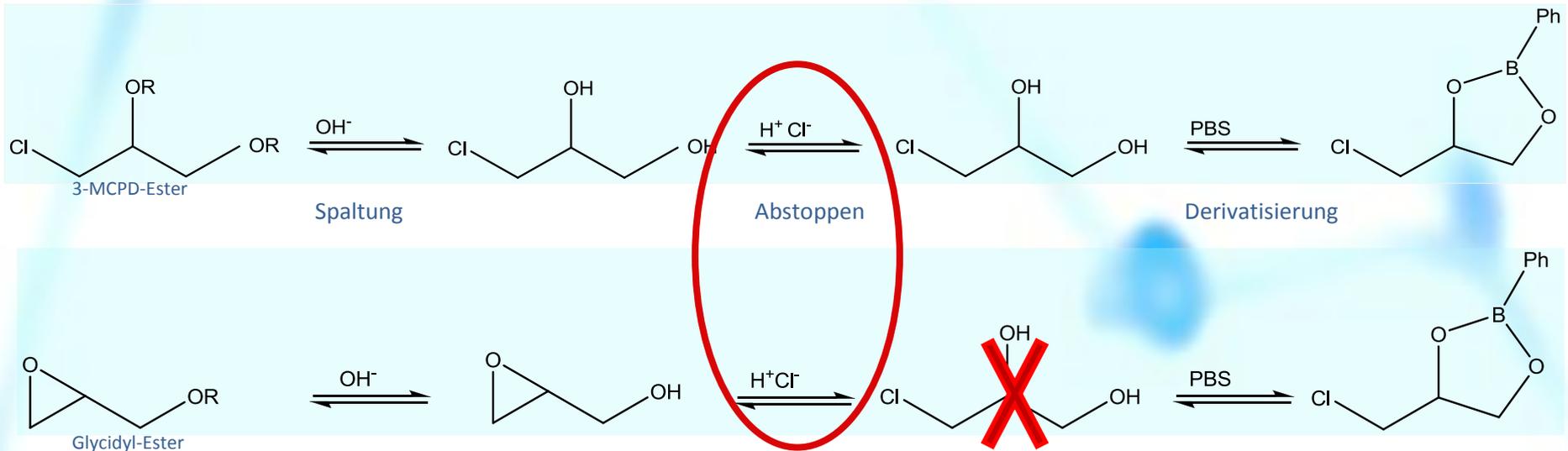
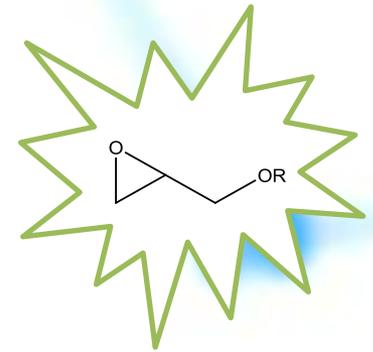
„Ur-Weißhaar“-Methode

- Entwickelt von **R. Weißhaar** im CVUA-Stuttgart (2007)*
- Alkalische Hydrolyse mit Methanol / NaOCH₃ für 10 min bei RT
- Derivatisierung mit Phenylboronsäure (PBS) in NaCl-Lösg.
- 3-MCPD-d₅ als interner Standard



3-MCPD-bildene Substanzen? Glycidyl-Ester!

- **Überbefunde** identifiziert als **Glycidyl-Fettsäureester**
- Freisetzung von **Glycidol** durch alkalische Hydrolyse
- **Umsetzung zu 3-MCPD** in Anwesenheit von **Chlorid-Ionen**
- Gemeinsame Derivatisierung – keine Unterscheidung möglich



Chlorid-freies Arbeiten

(„SGS classic“)

3. Differenzierung zwischen 3-MCPD-Estern und Glycidyl-Estern

☞ Differenzrechnung

☞ Selektive Derivatisierung

Differenzrechnung zur Ermittlung von Glycidyl-FE

- Methoden mit Chlorid-haltigen Reagenzien ergeben:

A
Σ 3-MCPD & Glycidol

A

- Chlorid-freie Analytik ergibt:

B
3-MCPD

B

- Bestimmung der Glycidyl-FE durch **Differenzrechnung** oder **selektive Derivatisierung**

C
Glycidol

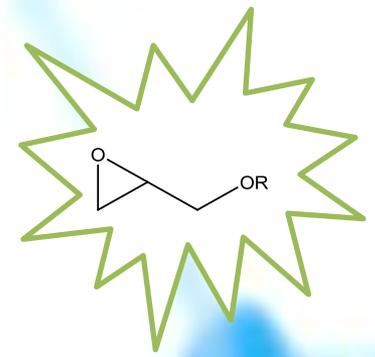
$C = (A - B) \cdot t$

Transformationsfaktor

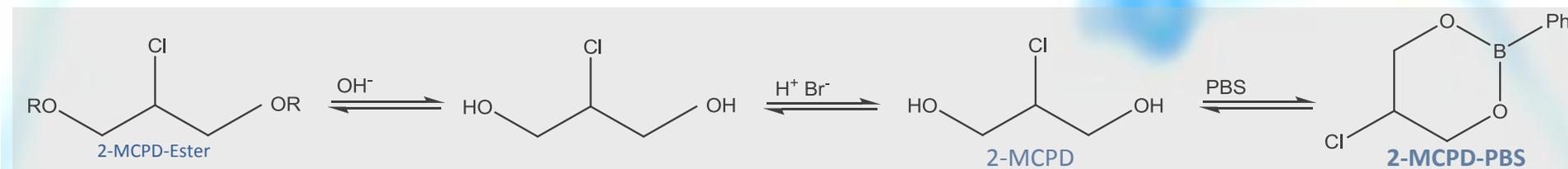
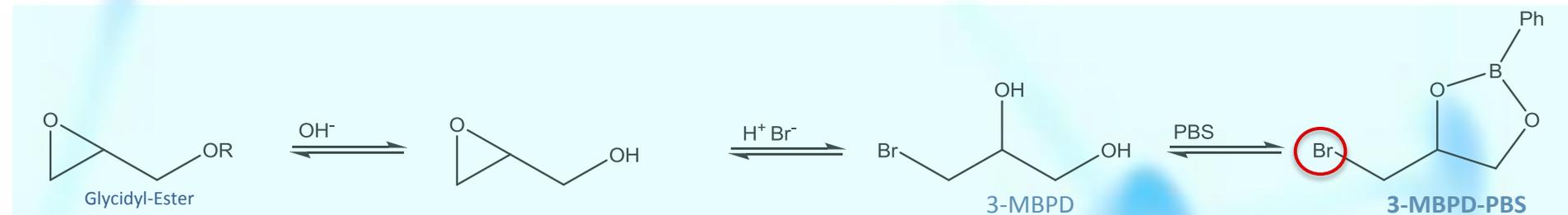
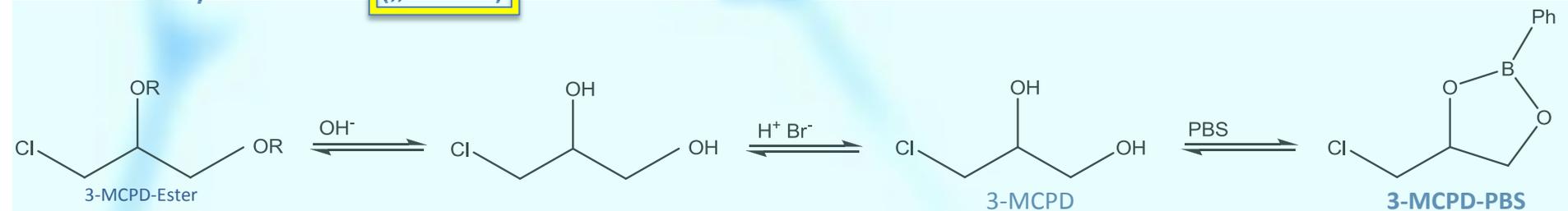
t = 0,67 ODER
t = experimentell

$$0,67 = \frac{M(\text{Glycidol})}{M(3\text{-MCPD})} = \frac{74 \frac{\text{g}}{\text{mol}}}{110 \frac{\text{g}}{\text{mol}}}$$

Selektive Bestimmung von Glycidyl-FE



- entwickelt von **J. Kuhlmann** (SGS Germany)*
- sanfte alkalische Hydrolyse in Kälte
- Abstoppen in Anwesenheit von **Bromid**-Ionen überführt **Glycidol** in **3-MBPD**
- Durch milde Bedingungen Detektion von **3-MCPD**-, **2-MCPD**- und **Glycidyl-FE** in einem Analysenansatz („3in1“)





Analytik von 3-MCPD- & Glycidyl- Fettsäureestern

Keine komplizierte
Geschichte!

4. Quick Look — Praxisrelevante indirekte Methoden

A: Σ 3-MCPD & Glycidol

B: 3-MCPD

C: Glycidol

zurückgezogen

DGF C-III 18 (2009) Teil A
(„Ur-Weißhaar“)
• Alkalische Hydrolyse
• Derivatisierung mit PBS in NaCl

DGF C-III 18 (2009) Teil B
(„Ur-Weißhaar“)
• Spaltung der Glycidyl - FE
• Alkalische Hydrolyse
• Derivatisierung mit PBS in NaCl

$C = (A - B) \cdot 0,67$
mit stöchiometrischem
Transformationsfaktor

1

DGF C-VI 18 (2010) Ansatz A
(J. Kuhlmann, „SGS classic“)
• Alkalische Hydrolyse
• Derivatisierung mit PBS in NaCl

DGF C-VI 18 (2010) Ansatz B
(J. Kuhlmann, „SGS classic“)
• Alkalische Hydrolyse
• Derivatisierung mit PBS, chloridfrei

$C = (A - B) \cdot t$
mit experimentellem
Transformationsfaktor

2

DGF C-VI 17 (2010)
(nach R. Weißhaar) ersetzt DGF C-III 18 (2009)
• Alkalische Hydrolyse
• Derivatisierung mit PBS in NaCl

+

BfR-Methoden (08-10)
• Alkalische o. saure Hydrolyse
• Derivatisierung mit PBS, chloridfrei

$C = (A - B) \cdot 0,67$
mit stöchiometrischem
Transformationsfaktor

3

innovativ

„3in1“
(J. Kuhlmann, SGS)
• Alkalische Hydrolyse
• Derivatisierung mit PBS, mit Bromid

„3in1“
(J. Kuhlmann, SGS)
Selektive Umwandlung in 3-MBPD

Bonus: 2-MCPD



**„Man braucht nichts im Leben zu fürchten,
man muss nur alles verstehen.“**

Marie Curie

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!

LEBENSMITTELCHEMISCHES INSTITUT des
Bundesverbandes der Deutschen Süßwarenindustrie e.V.

Prof. Dr. Reinhard Matissek

Adamsstr. 52-54 • 51063 Köln

Telefon: 0221/623061

Telefax: 0221/610477

Email: lci-koeln@lci-koeln.de

