

DEUTSCHE EINHEITSMETHODEN ZUR UNTERSUCHUNG VON FETTEN, FETTPRODUKTEN, TENSIDEN
UND VERWANDTEN STOFFEN

GEMEINSCHAFTSAUSSCHUSS FÜR DIE ANALYTIK VON FETTEN, ÖLEN, FETTPRODUKTEN,
VERWANDTEN STOFFEN UND ROHSTOFFEN (GA FETT)

03/2022

**Ergänzende Hinweise zu den DGF-Einheitmethoden C-VI 17 (10) und C-VI 18 (10) zur Bestimmung
von 3-MCPD-Fettsäureestern und Glycidyl-Fettsäureestern**

Analytik

Die Deutsche Gesellschaft für Fettwissenschaft e.V. hat zwei Einheitmethoden zur Bestimmung der Gehalte an fettsäuregebundenem 3-Chlorpropan-1,2-diol (synonym: 3-Monochlorpropan-1,2-diol / **3-MCPD**) und fettsäuregebundenem **Glycidol** in Speise-ölen und -fetten veröffentlicht:

Die evaluierte **DGF-Einheitmethode C-VI 17 (10)** beschreibt ein Verfahren zur Summenbestimmung von estergebundenem 3-MCPD und estergebundenem Glycidol in Speise-fetten und -ölen mittels Gaschromatographie/Massenspektrometrie (GC/MS) nach Spaltung der Ester mit methanolischem Natriummethylat und Derivatisierung der unveresterten Analyten mit Phenylboronsäure. Unter den gegebenen Verfahrensbedingungen wird das freigesetzte Glycidol nahezu quantitativ in 3-MCPD (sog. induziertes 3-MCPD) umgewandelt. Dieses induzierte 3-MCPD vermischt sich untrennbar mit dem originär in der Probe enthaltenen 3-MCPD. Damit entsprechen die 3-MCPD-Ergebnisse dieses Verfahrens der Summe an gebundenem 3-MCPD und gebundenem Glycidol. Das ist gleichbedeutend mit der Summe von 3-MCPD-Estern und Glycidylestern ausgedrückt als 3-MCPD. Durch dieses Verfahren kann nicht ermittelt werden, welchen Anteil das aus Glycidol generierte 3-MCPD an dem Gesamtergebnis hat.

Die neue Methode C-VI 17 (10) entspricht dem Teil A der ursprünglichen Methode C-III 18 (09) und enthält die entsprechenden Daten eines internationalen Ringversuchs, den der GA Fett in 2010 organisiert hat. Die Verfahrenskenndaten dieser Methode erfüllen hinsichtlich der Bestimmung der Summe von 3-MCPD-Estern und Glycidylestern, ausgedrückt als 3-MCPD, die einschlägigen Standards für Wiederholbarkeit und Vergleichbarkeit [**Fiebig 2010**].

Die DGF-Einheitmethode C-III 18 (09) wurde zurückgezogen und soll nicht mehr verwendet bzw. zitiert werden, weil Untersuchungen im Rahmen eines internationalen Ringversuchs, den der GA Fett in 2010 organisiert hat, zeigten, dass bei Teil B der Methode zur Bestimmung des originären fettsäuregebundenen 3-MCPDs ohne Glycidolanteile Überbefunde resultieren können. In Folge kann es bei der Berechnung der Gehalte an gebundenem Glycidol aus der Differenz beider Methodenteile zu Unterbefunden kommen.

Die evaluierte **DGF-Einheitmethode C-VI 18 (10)** beschreibt ein Verfahren zur Bestimmung der Summe von estergebundenem 3-MCPD und estergebundenem Glycidol (Teil A) oder ausschließlich des estergebundenen 3-MCPDs (Teil B) in Speise-fetten und -ölen mittels Gaschromatographie/Massenspektrometrie (GC/MS) nach einer alkalisch katalysierten Esterspaltung und Derivatisierung der Kernanalyten mit Phenylboronsäure. In Teil A wird das freigesetzte Glycidol mit Chlorid überwiegend zu induziertem 3-MCPD umgesetzt, welches sich untrennbar mit dem originär in der Probe enthaltenen 3-MCPD vermischt. In Teil B reagiert das freigesetzte Glycidol durch den Ausschluss von Chlorid zu anderen Folgeprodukten ab, die nicht detektiert werden. Damit entsprechen die 3-MCPD-Ergebnisse dieses Verfahrens in Teil A der Summe an gebundenem 3-MCPD und gebundenem Glycidol bestimmt als 3-MCPD. Das ist gleichbedeutend mit der Summe von 3-MCPD-Estern und Glycidylestern ausgedrückt als 3-MCPD. In Teil B dieses Verfahrens entsprechen die 3-MCPD-Ergebnisse dem Gehalt

an gebundenem 3-MCPD. Das ist gleichbedeutend mit dem Gehalt an 3-MCPD-Estern ausgedrückt als 3-MCPD. In Proben möglicherweise vorkommendes freies 3-MCPD würde bei diesem Verfahren mit zu den Ergebnissen beitragen. Gleichzeitig dient die Methode der indirekten Bestimmung von estergebundenem Glycidol über ein Differenzverfahren, wobei vorausgesetzt wird, dass neben Glycidol keine weiteren Substanzen vorliegen, die ebenso in der Lage sind, bei Raumtemperatur mit anorganischem Chlorid zu 3-MCPD zu reagieren. Für dieses Differenzverfahren muss ein Transformationsfaktor experimentell bestimmt werden, der die Umwandlung des Glycidols in 3-MCPD quantitativ beschreibt. Die Ergebnisse der berechneten Gehalte an gebundenem Glycidol entsprechen den Gehalten an Glycidylestern ausgedrückt als Glycidol.

Die Methode C-VI 18 (10) enthält die entsprechenden Ringversuchsdaten eines internationalen Ringversuchs, den der GA Fett in 2010 organisiert hat. Die Verfahrenskenndaten dieser Methode erfüllen hinsichtlich der Bestimmung der Summe von 3-MCPD-Estern und Glycidylestern, ausgedrückt als 3-MCPD, und hinsichtlich der Bestimmung von 3-MCPD-Estern, ausgedrückt als 3-MCPD, die einschlägigen Standards für Wiederholbarkeit und Vergleichbarkeit [Fiebig 2010].

Zur Erläuterung wird noch darauf hingewiesen, dass es sich bei der DGF-Methode

- DGF C-VI 17 (10) um die sog. "**Weißhaar-Methode**"
- DGF C-VI 18 (10) um die sog. "**Kuhlmann-Methode**"

handelt.

Die erweiterte Messunsicherheit ist für die 3-MCPD-Ergebnisse in einem Bereich von 10 % bis 30 % zu erwarten. Bei der Differenzmethode C-VI 18 (10) ist anzumerken, dass sich für die Glycidolergebnisse die Messunsicherheiten beider Verfahren (Teil A und Teil B) verstärken, wobei die Messunsicherheit für diesen Analyten außerdem mit dem Verhältnis 3-MCPD : Glycidol zunimmt. Studien und eine Vielzahl von Laborvergleichsuntersuchungen haben gezeigt, dass mit dem Teil B der DGF-Methode C-VI 18 (10) auch 2-MCPD-Fettsäureester ausgedrückt als 2-MCPD bestimmt werden können [Sato 2013]. Allerdings wurde dieser Analyt nicht in die der Methode zugrunde liegenden Validierungsstudie einbezogen.

Es wird insbesondere darauf hingewiesen, dass beide Methoden, C-VI 17 (10) und C-VI 18 (10), nur für die Analytik von Speiseölen und Speisefetten, nicht aber für die Untersuchung anderer Öl- und Fettprodukte, wie etwa Emulgatoren, Glycerin, Phytosterine, Sphingolipide usw. entwickelt und validiert wurden. Eine Eignung der DGF-Verfahren für diese Matrices wurde nicht untersucht. Daher sind Resultate aus der Anwendung der DGF-Verfahren C-VI 17 (10) und C-VI 18 (10) auf andere Matrices als Speiseöle und Speisefette als nicht valide anzusehen solange ihre Eignung nicht durch entsprechende Ringversuche erwiesen ist.

Alternative Analysenstrategie Grundlegendes Problem bei einer möglichen direkten Bestimmung von 3-MCPD- und Glycidyl-Estern ist die Quantifizierung von vielen isomeren und kongeneren Einzelsubstanzen, von denen nicht alle als Standardsubstanz kommerziell erhältlich sind. Bei der massenspektrometrischen Bestimmung werden folglich nur die Verbindungen detektiert, die anhand von Referenzsubstanzen methodisch etabliert wurden.

Wegen der großen Anzahl an möglichen 3-MCPD-Estern und der unter den üblichen HPLC-Konditionen auftretenden Koelution von isomeren 2- und 3-MCPD-Fettsäureestern findet dieser methodische Ansatz vor allem Anwendung für wissenschaftliche Arbeiten, wird aber in der Routine kaum eingesetzt. Auch sind diese Verfahren bislang nicht offiziell validiert. Im Hinblick auf die verfolgte Minimierungsstrategie dieser Prozesskontaminanten (Absenkung des Gesamtgehaltes) ist zu

bewerten, ob ein Monitoring der Einzelverbindungen bei Anwendung der Direktbestimmung einen entscheidenden beurteilungsrelevanten Informationsgehalt liefert, der den entsprechenden methodischen Mehraufwand rechtfertigt.

3-MCPD- und Glycidyl-Ester in Fetten und Ölen

In der Vergangenheit enthielten alle untersuchten raffinierten Pflanzenöle MCPD-Ester und Glycidylester, in sehr unterschiedlichen, teilweise hohen Gehalten, die bis in den zweistelligen mg/kg – Bereich reichten [Crews 2013, BLE 2017]. Nach bisherigen Erkenntnissen sind bei raffinierten Fruchtölen im Vergleich zu raffinierten Saatölen durchschnittlich höhere Gehalte an 3-MCPD-Estern zu erwarten. In allen bisher untersuchten nativen Pflanzenölen wurden i.d.R. keine 3-MCPD- bzw. Glycidyl-Ester nachgewiesen. Freies 3-MCPD und freies Glycidol treten in Fetten und Ölen in der Regel nicht als Prozesskontaminanten auf. Allerdings könnte freies 3-MCPD, das häufig als technische Verunreinigung auftritt, in begrenztem Umfang aus Lebensmittelkontaktmaterialien oder durch Brat- und Frittierprozesse auch in Öle und Fette hinein migrieren.

Grundsätzlich ist die Bildung von 3-MCPD-Fettsäureestern bei der Deodorisierung von Ölen und Fetten durch die Menge an für die Reaktion verfügbarem Chlorid limitiert, wobei sowohl anorganisches Chlorid als auch organisch gebundenes Chlor eine Rolle spielen können [Nagy 2011, Destailats 2012a]. Daher kann die thermisch induzierte Bildung von 3-MCPD-Estern unter Umständen bereits bei relativ niedrigen Temperaturen stattfinden, die deutlich unter den bei Desodorierungen üblichen Maximalwerten liegen. Dementsprechend hat nicht nur die Prozessführung bei der Raffination, sondern auch die Herkunft der Öle und Fette sowie die Qualität der Rohwaren einen Einfluss auf die Gehalte der 3-MCPD-Ester in den raffinierten Produkten. Als grobe Richtlinie kann angenommen werden, dass Rohöle, die natürlicherweise oder durch ungünstige Ernte- und Lagerbedingungen mehr Verunreinigungen enthalten und daher in der Regel intensiver desodoriert werden müssen, proportional höhere 3-MCPD-Gehalte aufweisen als solche Öle und Fette, bei denen weniger unerwünschte Begleitstoffe vorkommen. Es liegen Hinweise vor, dass eine Minimierung von Chloridgehalten von Rohölen durch Auswaschen ebenso wie eine Vermeidung von Chlorideinträgen bei allen der Deodorisierung vorgeschalteten Raffinationsschritten die Bildung von 3-MCPD-Estern reduzieren kann.

Nachfolgend sind verschiedene Fette und Öle aufgelistet, klassifiziert nach ihrem Potential thermisch induzierte 3-MCPD-Ester zu enthalten:

3-MCPD

Niedriges Kontaminationspotential	Raffiniertes Rapsöl, Sojaöl, Sonnenblumenöl, Erdnussöl, Kokosfett, Palmkernöl
Mittleres Kontaminationspotential	Raffiniertes Distelöl, Sesamöl, Maiskeimöl, Olivenöl, Baumwollsaatöl
Hohes Kontaminationspotential	Raffiniertes Walnussöl, Traubenkernöl, Haselnussöl, Oliventresteröl, Palmöl und Palmölfractionen, Fischöl

Die Bildung von Glycidylestern bei der Desodorisierung erfolgt überwiegend aus natürlich in Ölen und Fetten vorkommenden Mono- und Diacylglyceriden und ist daher nicht in gleicher Weise durch eine Minor Komponente limitiert, wie es bei den 3-MCPD-Fettsäureestern der Fall ist. Andererseits erfolgt die Entstehung von Glycidylestern bei höheren Temperaturen und beginnt in nennenswerten Umfang erst bei ca. 200 °C [Destailats 2012b]. Gleichzeitig weisen Glycidylester, die nur als Mono-Fettsäureester vorkommen, eine Flüchtigkeit auf, die eine teilweise Abtrennung durch Anlegen eines

Vakuums in entsprechend konstruierten Desodorierungsanlagen möglich macht. Je nach Prozessbedingungen kann sich so ein Gleichgewicht zwischen Entstehung und Entfernung einstellen. Weiterhin sind Glycidyl-derivate durch die chemisch reaktive Epoxidgruppe instabiler als MCPD-Ester, was den Einsatz weiterer technischer Verfahren zur Minimierung nahelegt. Daher gilt die frühere Faustregel, dass Öle, die in roher Form üblicherweise einen vergleichsweise hohen Mono- und Diacylglyceridanteil enthalten (wie etwa Palmöl), nach der Raffination auch sehr hohe Gehalte an Glycidylestern aufweisen, nur noch eingeschränkt. Überdurchschnittlich hohe Gehalte an Glycidylestern in raffinierten Ölen und Fetten sind heute vermutlich eher durch die Verwendung veralteter Raffinationsverfahren bedingt.

Toxikologie/Expositionsabschätzung

Die International Agency for Research on Cancer (IARC) hat 3-MCPD als mögliches Humankarzinogen der Klasse 2B klassifiziert [IARC 2012]. In der Vergangenheit gab es durch verschiedene Institutionen, wie etwa die European Food Safety Authority (EFSA) und das Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), Ansätze zur Ableitung einer (provisorischen) tolerierbaren täglichen Aufnahmemenge ((P)TDI), die zu Maximalwerten von 0,8 bis 4 µg 3-MCPD/kg Körpergewicht und Tag führten [EFSA 2016, JECFA 2016]. Eine Re-Evaluierung des zuständigen Expertengremiums der EFSA, dem EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM-Panel) führte 2017 zu einer Festlegung einer maximalen täglichen Aufnahmemenge von 2 µg 3-MCPD/kg Körpergewicht [EFSA 2018]. Da Tierstudien gezeigt haben, dass 3-MCPD-Fettsäureestern bei der Verdauung unter Freisetzung von 3-MCPD weitgehend hydrolysiert werden [Abraham 2013], gilt der TDI als Gruppenwert für die Summe an freiem 3-MCPD und dem 3-MCPD-Anteil der 3-MCPD-Fettsäureester (gebundenes 3-MCPD). Zu 2-MCPD-Fettsäureestern liegen nicht genug toxikologische Daten vor, um eine Klassifizierung oder einen TDI-Wert abzuleiten.

Die IARC klassifiziert Glycidol als wahrscheinliches Humankarzinogen der Klasse 2A [IARC 2000]. Da es genotoxische Eigenschaften hat, kann kein TDI festgelegt werden, sondern die Risikobewertung findet über den Margin of Exposure (MoE) statt. Für genotoxische Verbindungen gilt generell das ALARA-Prinzip, dass die Aufnahme so gering sein soll, wie es vernünftigerweise erreichbar ist („as low as reasonably achievable“). Für Glycidylester wurde in Tierversuchen eine praktisch vollständige Freisetzung von Glycidol aus der estergebundenen Form während der Verdauung nachgewiesen [Appel 2013]. Daher wird die Risikobewertung für Glycidylester analog zu der des Glycidols vorgenommen. Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) hat, basierend auf den verfügbaren toxikologischen Daten, für Glycidol eine maximale tägliche Aufnahme von 0,406 µg/kg Körpergewicht abgeleitet.

Recht / Amtliche Regulierungen in der EU

Lebensmittel betreffend, gilt in der EU mit Wirkung vom 1. Januar 2021 die Verordnung **EU 2020/1322**, die die Verordnung EG Nr. 1881/2006 ändert. Festgelegt sind hierin Höchstgehalte für freies 3-MCPD in hydrolysiertem Pflanzenprotein und Sojasauce sowie Höchstgehalte für *Glycidylfettsäureester, ausgedrückt als Glycidol*, in pflanzlichen Ölen und Fetten, Fischölen und anderen marinen Ölen die für den Endverbraucher oder zur Verwendung als Zutat zu Lebensmitteln in Verkehr gebracht werden (Höchstgehalt 1000 µg/kg). Weiterhin erstreckt sich diese Regulierung der Gehalte von Glycidylfettsäureestern auf pflanzliche Öle und Fette sowie Fischöle und andere marine Öle die für die Herstellung von Beikost und Getreidebeikost für Säuglinge und Kleinkinder bestimmt sind (Höchstgehalt 500 µg/kg) und auf Säuglingsanfangsnahrung, Folgenahrung und Lebensmittel für besondere medizinische Zwecke für Säuglinge und Kleinkinder sowie Kleinkindnahrung als Pulver (Höchstgehalt 50 µg/kg) und als Flüssigkeit (Höchstgehalt 6,0 µg/kg). In der gleichen Regulierung sind

auch Höchstgehalte für die Summe aus freiem und fettsäuregebundenem 3-MCPD (Analytgruppe) festgelegt. Wegen des niedrigeren 3-MCPD Bildungspotentials gilt ein strikterer Höchstgehalt (1250 µg/kg) für die *Summe aus 3-MCPD und 3-MCPD Fettsäureester, ausgedrückt als 3-MCPD*, für Kokosnuss-, Mais-, Raps-, Sonnenblumen-, Soja-, Palmkern- und Oliven-öle und -fette sowie Mischungen aus Ölen und Fetten mit ausschließlich dieser Kategorie angehörenden Ölen und Fetten. Ein höherer Maximalgehalt von 2500 µg/kg gilt für andere pflanzliche Öle (einschließlich Oliventresteröle), Fischöle und andere marine Öle sowie Mischungen aus Ölen und Fetten mit ausschließlich dieser Kategorie angehörenden Ölen und Fetten. Für Mischungen aus Ölen und Fetten der beiden Kategorien mit quantitativ bekannter Zusammensetzung gilt der kategoriebezogene Höchstgehalt für alle individuellen Inhaltsstoffe. Im Falle unbekannter Öl- und Fettmischungen gilt der Höchstgehalt von 2500 µg/kg. Für pflanzliche Öle und Fette sowie Fischöle und andere marine Öle, die für die Herstellung von Beikost und Getreidebeikost für Säuglinge und Kleinkinder bestimmt sind, ist für die *Summe aus 3-MCPD und 3-MCPD Fettsäureester, ausgedrückt als 3-MCPD*, ein Höchstgehalt von 750 µg/kg gesetzt. Für Säuglingsanfangsnahrung, Folgenahrung und Lebensmittel für besondere medizinische Zwecke für Säuglinge und Kleinkinder sowie Kleinkindnahrung schließlich gelten Höchstgehalte von 125 µg/kg für Pulver und von 15 µg/kg für Flüssigkeiten.

Für die amtliche Kontrolle des Gehalts an bestimmten Kontaminanten in Lebensmitteln gilt die Durchführungsverordnung **EU 2019/2093** zur Änderung der Verordnung EG Nr. 333/2007, die Probenahme- und Analysemethoden festlegt. Dabei regelt die Verordnung EU 2019/2093 analytische Leistungskriterien für Methoden zur Analyse von freiem 3-MCPD, 3-MCPD-Fettsäureestern, ausgedrückt als 3-MCPD, und Glycidylfettsäureestern, ausgedrückt als Glycidol, in Lebensmitteln.

[**Abraham 2013**]: K. Abraham et al.: Relative oral bioavailability of 3-MCPD from 3-MCPD fatty acid esters in rats; *Arch Toxicol* 87, 649–659 (2013).

[**Appel 2013**]: C. Crews et al.: Relative oral bioavailability of glycidol from glycidyl fatty acid esters in rats; *Arch Toxicol* 87, 1649–1659 (2013).

[**BLE 2017**]: J. Kuhlmann: Final scientific report on the decision support project “Investigation into the presence of 3-MCPD esters and related compounds in foods.” (2017) Ref.: 314-06.01-2815HS002; https://service.ble.de/ptdb/index2.php?detail_id=56944&site_key=141&stichw=2815HS002&zeilenzahl_zaehler=1#newContent

[**Crews 2013**]: C. Crews et al.: Analytical approaches for MCPD esters and glycidyl esters in food and biological samples: A review and future perspectives; *Food Addit Contam A* 30(1), 11–45 (2013).

[**Destailats 2012a**]: F. Destailats et al.: Formation mechanisms of Monochloropropanediol (MCPD) fatty acid diesters in refined palm (*Elaeis guineensis*) oil and related fractions; *Food Addit Contam A* 29(1), 29-37 (2012).

[**Destailats 2012b**]: F. Destailats et al.: Glycidyl esters in refined palm (*Elaeis guineensis*) oil and related fractions. Part I: Formation mechanism; *Food Chem* 131(4) 1391–1398 (2012).

[**EFSA 2016**]: EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM): Risks for human health related to the presence of 3- and 2-monochloropropanediol (MCPD), and their fatty acid esters, and glycidyl fatty acid esters in food; *EFSA Journal* 14(5) 4426, 159 pp. (2016).

[**EFSA 2018**] EFSA CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain), H. K. Knutsen et al.: Scientific Opinion on the update of the risk assessment on 3-monochloropropane diol and its fatty acid ester; *EFSA Journal* 16(1) 5083, 48 pp (2018).

[EU 2019/2093]:

[EUR-Lex - 32019R2093 - EN - EUR-Lex \(europa.eu\)](#)

[EU 2020/1322]:

[EUR-Lex - 32020R1322 - EN - EUR-Lex \(europa.eu\)](#)

[Fiebig 2010]: H.J. Fiebig: Determination of ester-bound 3-chloro-1,2-propanediol and glycidol in fats and oils – a collaborative study, *Eur J Lipid Sci Technol* 113 (3) 393-399 (2011).

[IARC 2012]: IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans; 110 349-374 (2012).

[IARC 2000]: IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans; 77 469-486 (2000).

[JECFA 2016]: Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA); 3-CHLORO-1,2-PROPANEDIOL ESTERS, Summary report of the eighty-third meeting of JECFA: JECFA/83/SC. Rome, Italy, p. 5-7 (2016). <http://www.fao.org/3/a-bq821e.pdf>; Report: TRS 1002- JECFA 83/104, Tox monograph: <https://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/chemical.aspx?chemID=6456>

[Nagy 2011]: K. Nagy et al.: Mass-defect filtering of isotope signatures to reveal the source of chlorinated palm oil contaminants; *Food Addit Contam A* 28(11), 1492-1500 (2010).

[Sato 2013]: H. Sato et al.: 2-Monochloro-1,3-propanediol (2-MCPD) Dynamics in DGF Standard Methods and Quantification of 2-MCPD; *J Am Oil Chem Soc* 90 1121–1130 (2013)

