

**Wissenschaftlicher Abschlussbericht zu dem EH-Projekt**  
**„Untersuchung auf das Vorkommen von 3-MCPD-Estern und verwandten**  
**Verbindungen in Lebensmitteln“**

**AZ: 314-06.01-2815HS002**

**Auftragnehmer:** SGS Germany GmbH

**Auftraggeber:** Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung für das Bundesministerium  
für Ernährung und Landwirtschaft

**Projektnummer:** 314-06.01-2815HS002

**Thema:** Untersuchung auf das Vorkommen von 3-MCPD-Estern und verwandten  
Verbindungen in Lebensmitteln.

**Laufzeit:** 28.12.2015 bis 14.10.2016

**Zusammenarbeit mit anderen Stellen:** keine

## Abschlussbericht zu dem EH-Projekt

### „Untersuchung auf das Vorkommen von 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen in Lebensmitteln“

AZ: 314-06.01-2815HS002

Autor: Dr. Jan Kuhlmann

#### Inhalt

|  |    |
|--|----|
| <b>1.) Ziele und Aufgabenstellung des Projekts</b>   | 1  |
| <b>2.) Planung und Ablauf des Projekts</b>   | 3  |
| <b>3.) Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde</b>   | 5  |
| <u>3.1) Toxizität</u>  | 5  |
| <u>3.2) Vorkommen in Lebensmitteln</u>   | 6  |
| <u>3.3) Analytik</u>   | 8  |
| <b>4.) Material und Methoden</b>   | 20 |
| <u>4.1) Reagenzien und Chemikalien</u>   | 20 |
| <u>4.2) Lösungen von Chemikalien und Reagenzien</u>  | 21 |
| <u>4.3) Stamm- und Arbeitslösungen</u>   | 21 |
| <u>4.4) Geräte und Verbrauchsmaterialien</u>   | 22 |
| <u>4.5) Probenahme</u>   | 23 |
| <u>4.6) Probenaufarbeitung Öle, Fette, Margarine</u>   | 27 |
| <i>4.6.1) Probenaufarbeitung Öle, Fette, Margarine für die Bestimmung von freiem 2- &amp; 3-MCPD</i>   | 27 |
| <i>4.6.2) Probenaufarbeitung Öle, Fette, Margarine für die Bestimmung von gebundenem und freiem 2- &amp; 3-MCPD sowie gebundenem Glycidol</i>  | 28 |
| <i>4.6.3) Probenaufarbeitung „5-in-2“-Methode für zusammengesetzte Lebensmittel für die parallele Bestimmung von freiem 2- &amp; 3-MCPD sowie gebundenem 2- &amp; 3-MCPD und gebundenem Glycidol</i> | 29 |
| <i>4.6.3.1) Probenaufarbeitung der polaren Fraktion aus zusammengesetzten Lebensmitteln für die Bestimmung von freiem 2- &amp; 3-MCPD</i>  | 30 |
| <i>4.6.3.2) Probenaufarbeitung der Lipidfraktion aus zusammengesetzten Lebensmitteln für die Bestimmung von gebundenem 2- &amp; 3-MCPD und gebundenem Glycidol</i>                                   | 31 |

|   |    |
|---|----|
| <u>4.7) GC-MS Analyse</u>   | 32 |
| <u>4.8) Methodenvalidierung</u>   | 34 |
| <u>4.9) Adaptionen für die Praxis</u>   | 35 |
| <b>5.) Ausführliche Darstellung der Ergebnisse</b>  | 36 |
| <u>5.1) Ergebnisübersicht Säuglingsmilchnahrung</u>   | 37 |
| <u>5.2) Ergebnisübersicht raffinierte Pflanzenöle (Speiseöle)</u>   | 41 |
| <i>5.2.1 Rapsöle</i>  | 45 |
| <i>5.2.2 Sonnenblumenöle</i>  | 46 |
| <i>5.2.3 Olivenöle</i>  | 48 |
| <i>5.2.4 Maiskeimöle</i>  | 50 |
| <i>5.2.5 Sonstige Öle</i>   | 51 |
| <u>5.3) Ergebnisübersicht Margarine</u>   | 52 |
| <u>5.4) Ergebnisübersicht Bratfette</u>   | 55 |
| <u>5.5) Ergebnisübersicht Pommes frites</u>   | 56 |
| <u>5.6) Ergebnisübersicht Croissants</u>  | 61 |
| <u>5.7) Ergebnisübersicht Donuts</u>  | 64 |
| <u>5.8) Ergebnisübersicht Brotaufstriche</u>  | 65 |
| <u>5.9) Ergebnisübersicht Asia-Gerichte mit Trockennudeln</u>   | 69 |
| <u>5.10) Weitere Referenz- und Blankmessungen zur Qualitätssicherung</u>  | 71 |
| <b>6.) Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse</b>   | 74 |
| <b>7.) Zusammenfassung</b>  | 76 |
| <b>8.) Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen; Hinweise auf weiterführende Fragestellungen</b> | 83 |
| <b>9.) Literaturverzeichnis</b>   | 85 |

## 1.) Ziele und Aufgabenstellung des Projekts

Chlorierte Propandiole wie 3-Chlorpropan-1,2-diol (3-Monochlorpropan-1,2-diol, 3-MCPD) und die isomere Verbindung 2-Chlorpropan-1,3-diol (2-Monochlorpropan-1,3-diol, 2-MCPD) sind thermisch induzierte Prozesskontaminanten, die sowohl in freier Form, als auch mit Fettsäuren verestert als „gebundenes MCPD“ in einer Vielzahl von Lebensmitteln vorkommen können. Während die toxikologische Relevanz von freiem oder gebundenem 2-MCPD mangels wissenschaftlicher Daten nicht belegt ist, hat das freie 3-MCPD in in-vivo-Studien mit Ratten eine karzinogene Wirkung gezeigt. Die dem fettsäuregebundenen MCPD strukturell ähnliche und vergesellschaftet auftretende Substanzgruppe der Glycidylester („gebundenes Glycidol“) gilt als wahrscheinlich krebserregend beim Menschen. Mittlerweile hinreichend belegt ist die weitgehende oder vollständige Freisetzung der Grundkörper 2-MCPD, 3-MCPD und Glycidol aus ihren Fettsäureestern bei der Verdauung im Intestinaltrakt [Barocelli et al.: 2011, Buhrke et al.: 2011, Abraham et al.: 2012, Appel et al.: 2013, Buhrke et al.: 2015].

Die Ergebnisse einer Reihe von Veröffentlichungen lassen den Schluss zu, dass in der Hauptsache die bei der Desodorierung von Ölen und Fetten üblicherweise angewendeten Temperaturen von über 200°C die Bildung von gebundenem MCPD aus natürlichen Fettbestandteilen und verschiedenen Chloridquellen verursachen. Parallel kann unter den gleichen Bedingungen fettsäuregebundenes Glycidol entstehen [Weißhaar: 2008a, Weißhaar et al.: 2010, Hrcirik et al.: 2011, Ermacora et al.: 2014]. Weiterhin gibt es Belege und Indizien, dass MCPD- und Glycidyl-derivate unter bestimmten Bedingungen auch bei der Zubereitung von Lebensmitteln (Räuchern, Rösten, Braten, Frittieren etc.) gebildet werden können [Hamlet et al.: 2002, Weißhaar: 2011]. Nicht auszuschließen ist ebenfalls eine Migration von freiem 3-MCPD aus Verpackungsmaterialien in Lebensmitteln [Becalski et al.: 2015] oder die Freisetzung von MCPD aus der gebundenen Form durch physikalisch-chemische oder enzymatische Vorgänge während der weiteren Prozessierung oder Lagerung von Lebensmitteln [Hamlet et al.: 2004a,b]. Demzufolge kann vermutet werden, dass raffinierte Öle und Fette sowie Lebensmittel, die raffinierte Öle und Fette enthalten, in großen Anteilen zur Exposition von Konsumenten mit MCPD und Glycidol beitragen. Die Europäische Kommission hat daher allen Mitgliedstaaten empfohlen, das Vorkommen von freiem 2- & 3-MCPD sowie gebundenem 2- & 3-MCPD und gebundenem Glycidol in Lebensmitteln zu monitorieren [EU: 2014].

Aktuelle Expositionsdaten sind allerdings nur eingeschränkt verfügbar, da die Verbreitung der MCPD- und Glycidyl-derivate in repräsentativen Lebensmittelgruppen nicht ausreichend untersucht ist. Gründe dafür sind, dass die dafür benötigte aufwändige und komplexe Spurenanalytik, die alle 5 aufgeführten Kontaminanten erfasst, nur in wenigen Laboratorien etabliert ist. Zudem lag der Fokus der Untersuchungen bislang mehr auf raffinierten Speiseölen und -fetten, während zusammengesetzte öl- und fetthaltige Lebensmittel, auch mangels des Vorhandenseins offiziell validierter analytischer Methoden, weniger untersucht wurden. Die European Food Safety Authority (EFSA) hat 2013 eine vorläufige Expositionsabschätzung aufgrund des Vorkommens von 3-MCPD in Lebensmitteln veröffentlicht [EFSA: 2013]. In 2016 folgte durch das EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM) eine wissenschaftliche Stellungnahme zu den Risiken des Auftretens von freiem und gebundenem 2- und 3-MCPD sowie Glycidylestern auf Basis einer größeren Datenmenge, die auf Untersuchungen aus mehreren Jahren resultierte. Allerdings stammten diese Daten aus einer Vielzahl verschiedener analytischer Methoden, deren Anwendbarkeit und Vergleichbarkeit nur begrenzt geprüft wurde. Die größten Datenmengen bezogen sich auf Öle, Fette & Margarinen und wurden von wirtschaftsabhängigen Organisationen bereitgestellt. Die Zahl der untersuchten zusammengesetzten Lebensmittel war entsprechend geringer und kann nur als Basis für eine erste grobe Einschätzung angesehen werden. [EFSA: 2016]. Aus diesen Defiziten resultierte die Zielsetzung dieses Projektes, für eine Reihe von relevanten Lebensmittelgruppen in einer jeweils aussagekräftigen Probenzahl die Gehalte an freiem 2- und 3-MCPD sowie separat die Gehalte an gebundenem 2-MCPD, 3-MCPD und Glycidol in einer Weise zu bestimmen, dass vergleichbare und chargenübergreifend repräsentative Ergebnisse gewonnen werden, die eine aktuelle Expositionsabschätzung signifikant unterstützen können. Dabei sollten im Einzelnen Säuglingsmilchnahrung, Speiseöle, Margarine, Bratfette, Pommes frites, Croissants, Donuts, Brotaufstriche sowie Asia-Gerichte mit Trockennudeln, in der Summe 1050 Einzelproben aus dem deutschen Lebensmittelhandel, gekauft und quantitativ auf die genannten Kontaminanten untersucht werden.

## 2.) Planung und Ablauf des Projekts

Die Projektplanung basierte auf einem kontinuierlichem Einkauf aller Proben seitens der SGS Germany GmbH ohne Differenzierung nach Lebensmittelgruppen. Der Einkauf sollte nach der Abstimmung mit dem Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) über den genauen Probenahmeplan über on-line Portale oder Probennehmer vor Ort realisiert werden. Grundsätzlich war geplant, das Angebot von Supermärkten, SB-Warenhäusern, Discountern, und Drogeriemärkten in die Probenahme einzubeziehen sowie Proben für den Außer-Haus-Verzehr in Backshops, Kiosken und Imbissständen zu beschaffen. Der Bezug der Lebensmittel sollte stichprobenartig aber repräsentativ erfolgen, also in der Form, dass die Produktauswahl innerhalb der festgelegten Lebensmittelerzeugnisse zufällig, aber für die ausgewählten Produkte dann zahlenmäßig proportional zu den Marktanteilen der Lebensmittelhandelsunternehmen, angelegt war. Alle Proben sollten nach dem dokumentierten Einkauf unverzüglich an den Laborstandort in Hamburg-Bergedorf versandt und dort vor der analytischen Untersuchung, den Vorgaben des BLE gemäß, hinsichtlich aller relevanten Produktinformationen (Produktname, Charge, Kaufdatum, Kaufort, Auffälligkeiten) dokumentiert werden. Um die enge zeitliche Abgabe der Analysenergebnisse in sechs Monaten nach Zuschlagserteilung realisieren zu können, war geplant, die Proben ebenfalls kontinuierlich und ohne größeres Pooling nach Lebensmittelgruppen auf die Kontaminanten zu analysieren.

Zur Untersuchung aller im Projektumfang enthaltener Lebensmittel war beabsichtigt, analytische Verfahren anzuwenden, die auf der offiziell validierten AOCS-Methode Cd 29b-13 (SGS „3-in-1“) zur Bestimmung von gebundenem 2-MCPD, 3-MCPD und Glycidol für Speise-öle und -fette basierten. Dafür mussten naturgemäß Anpassungen der Analytik erfolgen, um die freien Analyten separat zu erfassen sowie die im Rahmen des Projektes geforderten niedrigen Bestimmungsgrenzen für die gebundenen Analyten zu realisieren. Für zusammengesetzte Lebensmittel, für die zu dem Zeitpunkt der Projektdurchführung keine offiziell validierten Methoden zur Bestimmung aller drei gebundenen Analyten verfügbar waren, war beabsichtigt, die sogenannte SGS „5-in-2“-Methode einzusetzen. Dies ist ein auf der AOCS Cd 29b-13 Methode basierendes in-house validiertes Verfahren, mit dem praktisch alle festen zusammengesetzten Lebensmittel auf die freien und gebundenen Analyten untersucht werden können. Um möglichst aussagekräftige Daten zu dem Vorkommen der genannten Kontaminanten in verschiedenen Lebensmitteln zu erhalten, war geplant, möglichst niedrige Bestimmungsgrenzen zu erzielen; in diesem Fall wenigstens je 5 µg/kg Produkt für

die freien Analyten und wenigstens je 25 µg/kg Produkt für die gebundenen Analyten. Für die Datenübermittlung schließlich sollte die Einrichtung einer Schnittstelle zu dem Datenmeldeportal des BVL dienen.

Der Einkauf der Proben sowie sämtliche Laborarbeiten sollten unter akkreditierten Bedingungen stattfinden und hinsichtlich des technischen Standards, der Qualitätssicherung, Datenrückverfolgbarkeit sowie der fachlichen Betreuung möglichst hohen Standards entsprechen. Dazu stand aus technischer Sicht für den Laborpart ein moderner Gaschromatograph mit massenselektivem Detektor (GC-MSD) der Fa. Agilent Technologies zur Verfügung. Es war beabsichtigt, während der Projektphase außer für qualitätssichernde Maßnahmen keinerlei andere Routineproben auf dem System zu messen, um mögliche Störeffekte durch unbekannte Matrizes zu vermeiden und möglichst wenig Wartungsarbeiten durchführen zu müssen. Für die praktischen Arbeiten, also Einkauf und Probenvorbereitung, sollte auf eingearbeitetes Laborpersonal ohne Festlegung auf spezielle Personen zurückgegriffen werden, während der Projektleiter für die Bewertung der qualitätssichernden Maßnahmen, die Rohdatenanalyse, Prüfung der Plausibilität der Messergebnisse und den Abschlussbericht verantwortlich war.

Der Ablauf des Projektes konnte in großem Umfang planungsgemäß realisiert werden. Nach der Zuschlagserteilung am 28. Dezember 2015 fand ein Auftaktgespräch am 29. Januar 2016 in Bonn statt. Die Klärung und Festlegung auf einen detaillierten Probenahmeplan durch das BfR erfolgte sukzessive, so dass mit dem Einkauf bereits klar definierter Produktgruppen im Februar 2016 begonnen wurde, während für andere Lebensmittel noch offene Fragestellungen geklärt werden konnten und die Probenahme zu einem späteren Zeitpunkt startete. Während der Projektdurchführung erfolgten in diesem Zusammenhang für mehrere Lebensmittelgruppen Anpassungen bei der Produktauswahl sowie bei dem Umfang der Probenahme. Gründe hierfür waren beispielsweise eine begrenzte Verfügbarkeit bestimmter Lebensmittel oder die Auswertung von analytischen Zwischenergebnissen, die regelmäßig als vorläufige Vorabinformationen dem BfR zur Verfügung gestellt und erläutert wurden. Aufgrund der relativ späten Verfügbarkeit des kompletten Probenahmeplanes und der sinnvollen Anpassungen der Lebensmitteleinkäufe zu einem fortgeschrittenen Zeitpunkt der Projektlaufzeit wurde der ursprünglich avisierte Zeitrahmen, der eine Abgabe aller Messergebnisse 6 Monate nach Vertragsunterzeichnung vorsah, auf den 14. 10. 2016 verlängert. Der analytische Part und die Datenübermittlung verliefen störungsfrei und

entsprachen hinsichtlich der Methodik, der erzielten Bestimmungsgrenzen und des analytischen Aussagegehaltes den in der Planung festgesetzten Vorgaben.

### **3.) Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde.**

#### 3.1) Toxizität & Metabolismus

Für 2-MCPD gibt es nicht ausreichend Untersuchungen um seine Toxizität sicher zu bewerten. Aus unveröffentlichten Studien wurden toxische Effekte auf Muskeln, Herz, Leber und Nieren bei Ratten nach oraler Verabreichung in hohen Dosen bis zu 30 mg 2-MCPD/kg Körpergewicht (bw) für 28 Tage abgeleitet [Andres et al.: 2013]. In toxikologischer Hinsicht ist 3-MCPD hingegen relativ gut untersucht. Daten aus einer Reihe von in-vitro und in-vivo Studien liegen vor, die u.a. eine nicht-genotoxische Karzinogenität belegen [Barocelli et al.: 2011, Bakhiya et al.: 2011]. Nach Einschätzung der International Agency for Research on Cancer (IARC) gilt 3-MCPD als möglicherweise krebserregend für den Menschen (Kategorie 2B) [IARC: 2013]. Glycidol, das auch als technische Chemikalie eingesetzt wird, wurde bereits früh von der IARC als genotoxisches Karzinogen eingestuft, das wahrscheinlich krebserregend für den Menschen ist (Kategorie 2A) [IARC: 2000]. In den letzten Jahren wurden Ergebnisse aus Tierstudien veröffentlicht, in denen für 3-MCPD-Ester und Glycidylester mit großer Wahrscheinlichkeit eine weitgehende oder vollständige Freisetzung der Kontaminanten aus der veresterten Form aufgezeigt wurde. Zu diesen Studien gehörten neben der bereits zitierten Arbeit der Universität Parma „Comparison between 3-MCPD and its palmitic esters in a 90-day toxicological study“ [Barocelli et al.: 2012] auch die Vorgängerprojekte „EH-Forschungsvorhaben 2808HS013: Tierstudie zur Untersuchung der Bioverfügbarkeit und Metabolisierung von 3-MCPD-Estern“ [Abraham et al.: 2013] sowie „EH-Forschungsvorhaben 2809HS013: Tierstudie zur Untersuchung der Bioverfügbarkeit und Metabolisierung von Glycidyl-Fettsäureestern“ [Appel et al.: 2013].

Dem Wissensstand bezüglich des Vorkommens und der Toxikologie folgend wurde für freies 3-MCPD von Expertengremien der EU (SCF) bereits in 2001 eine tolerierbare tägliche Aufnahme (TDI) von 2 µg/kg bw festgelegt und in den nachfolgenden Jahren von verschiedenen Institutionen (WHO, EFSA, BfR) bestätigt [SCF: 2001, BfR: 2012]. Es folgten EU-Höchstmengenregelungen von 20 µg/kg in Sojasaucen und hydrolysiertem Pflanzenprotein (bezogen auf eine Trockenmasse von 40%) [EU: 2001] sowie 100 µg/kg in Glycerin, wenn dieses als Lebensmittelzusatz verwendet wird [EU: 2012]. Wegen der zunächst unklaren Datenlage, inwieweit eine Freisetzung von 3-MCPD aus der veresterten



Form während der Verdauung eintritt, haben die EFSA und das BfR eine Risikobewertung vertreten, die auf dem „worst-case“ Szenario der vollständigen Freisetzung basierte und somit den TDI-Wert von 2 µg/kg auch für das gebundene 3-MCPD veranschlagt [BfR: 2012]. In der im Mai 2016 von der EFSA veröffentlichten wissenschaftlichen Stellungnahme zu Exposition und Risiken durch freies und gebundenes 2- & 3-MCPD und gebundenes Glycidol in Lebensmitteln wurde aufgrund einer neuen Kalkulationsgrundlage zur Toxizität ein Gruppen-TDI-Wert für freies und gebundenes 3-MCPD von 0,8 µg/kg bw abgeleitet. Diese Ableitung basiert auch auf der Einschätzung, dass die Toxizität von 3-MCPD Fettsäureestern im Moläquivalent gleichzusetzen ist mit der der freien Verbindung [EFSA: 2016]. Im Falle mutmaßlich genotoxischer Substanzen wie dem Glycidol sollten dessen Gehalte in Lebensmitteln gemäß des ALARA Prinzips (*As Low As Reasonably Achievable*) so niedrig wie möglich gehalten werden. Hier ist die Ableitung eines Schwellenwertes oder TDI-Wertes nicht anwendbar, sondern eine Bewertung über den *Margin of Exposure* (MoE) möglich. Dazu hat das BfR bereits in 2009 eine Einschätzung für Glycidylester veröffentlicht, in der eine Unterschreitung des MoE von 10000 gegeben sein kann, wenn die tägliche Aufnahmemenge an Glycidoläquivalenten einen Wert von 0,406 µg/kg Körpergewicht überschreitet. Diese Betrachtungsweise ergibt für nichtgestillte Säuglinge, die gemessen an ihrem Körpergewicht proportional große Fettmengen mit kommerzieller Säuglingsmilchnahrung zu sich nehmen, dass der MoE bereits bei Gehalten von 67 µg/kg Fett in der Nahrung unterschritten werden kann [BfR: 2009]. Geht man davon aus, dass Säuglingsmilchnahrung im Durchschnitt einen Fettanteil von etwa 25 % enthält, sollten diese Produkte also rechnerisch nicht mehr als ca. 17 µg/kg an gebundenem Glycidol enthalten.

### 3.2) Vorkommen in Lebensmitteln

Die Entstehung mono- und dichlorierter Propanole als Prozesskontaminanten bei der Produktion von Lebensmitteln, insbesondere der Herstellung von Proteinhydrolysaten mittels Salzsäureaufschluss, wurde bereits ab den späten 1970-er Jahren beschrieben [Velisek et al.: 1979, Velisek et al.: 1980, Davidek et al.: 1982]. Später wurde gefunden, dass freies 3-MCPD und in geringerem Umfang auch freies 2-MCPD nicht nur in pflanzlichen Proteinhydrolysaten wie Soja- und Würzsaucen auftreten können, sondern ihre Entstehung auch bei vielen Erhitzungsprozessen wie dem Rösten, Räuchern oder Grillen von Lebensmitteln möglich ist [Crews et al.: 2001, Hamlet et al.: 2002, Kuntzer et al.: 2006, Weißhaar: 2011]. Bereits in den 1980-er Jahren wurde vereinzelt das Vorkommen von 2- & 3-MCPD-Fettsäureestern in Lebensmitteln erwähnt, ohne dass sich aus diesen Befunden ein generelles

Vorkommen in relevanten Lebensmittelgruppen ableiten ließ [Velisek et al.: 1980, Gardner et al. : 1983, Cerbulis et al. 1984]. Erst in der Jahren 2004 bis 2006 setzte sich allmählich die Erkenntnis durch, dass 3-MCPD-Fettsäureester bis in den mg/kg Bereich in raffinierten pflanzlichen Ölen und Fetten und in proportionalen Anteilen in Lebensmitteln, die diese enthalten, vorkommen [Divinova et al. 2004, Svejkovska et al.: 2004, Zelinkova et al.: 2006]. In den nachfolgenden Jahren stellte sich ein rasanter Wissenszuwachs ein. Es wurden neben dem gebundenen 3-MCPD auch die Glycidylfettsäureester als weitere Prozesskontaminanten in raffinierten Ölen und Fetten identifiziert und gefunden, dass die Deodorisierung bei der Fett- und Ölraffination die wesentlichste Quelle für die Bildung der gebundenen Analyten darstellt [Weißhaar: 2008a, Weißhaar et al.: 2010, Hrcirik et al.: 2011, Ermacora et al.: 2014]. Das Vorkommen relevanter Mengen von fettsäuregebundenem 2-MCPD und das vergesellschaftete Auftreten von gebundenem 2- & 3-MCPD mit gebundenem Glycidol in einer Reihe raffinierter pflanzlicher und tierischer Öle und Fette wurde 2011 berichtet [Kuhlmann: 2011]. Die Bildungsmechanismen, die zur Entstehung der MCPD- und Glycidylfettsäureester führen, sind bislang nicht vollständig bewiesen, sondern stellen eher Arbeitshypothesen dar [Hamlet et al.: 2010, Destailats et al.: 2012a, 2012b]. Modelle, die eine temperaturinduzierte Bildung der MCPD-Ester aus cyclischen Acyloxoniumionen zugrunde legen [Rahn et al.: 2011a, 2011b], stehen beispielsweise im Widerspruch zu der Hypothese einer radikalischen Entstehung [Zhang et al.: 2013]. Festzustehen scheint, dass bei der Raffination von Palmöl 3-MCPD Fettsäureester überwiegend aus Di- und Triacylglyceriden gebildet werden, wobei eine Vielzahl anorganischer oder thermolabiler organischer Verbindungen als Chloridquelle auftreten können. Glycidylester hingegen scheinen sich bei etwas höheren Temperaturen als 3-MCPD-Ester durch Eliminierungsreaktionen aus Mono- und Diacylglyceriden zu bilden [Destailats et al.: 2012a, 2012b]. Die Bildung des fettsäuregebundenen 2-MCPD wurde bisher weniger intensiv untersucht. Denkbar ist hier, dass der Bildungsweg vorwiegend über 3-MCPD-Fettsäureester läuft, die dann bei den desodorisierungsüblichen Temperaturen isomerisieren und in ein mehr oder minder konstantes Verhältnis von etwa zwei Teilen 3-MCPD zu einem Teil 2-MCPD münden, wie man es bei den meisten raffinierten Ölen und Fetten findet [Hamlet et al.: 2010, Kuhlmann: 2016]. Zu dieser Theorie passt, dass die Bildung von 2-MCPD bei niedrigeren Temperaturen, wie sie etwa bei der sauren Hydrolyse von Pflanzenproteinen [van Bergen et al.: 1992] oder beim Rösten, Braten oder Frittieren, sowie bei der schonenden Deodorisierung

von hitzelabilen Fischölen angewendet werden, relativ zum gebildeten 3-MCPD deutlich schwächer ausfällt.

### 3.3) Analytik

Im Laufe der vergangenen Jahrzehnte wurde eine mittlerweile schwierig zu überblickende Vielzahl von analytischen Methoden zur Bestimmung von MCPD, seinen Derivaten und verwandten Verbindungen, zu denen Glycidylester gezählt werden, entwickelt. Während die Bestimmung des freien 3-MCPD in Soja- und Würzsaucen sowie in einer Reihe zusammengesetzter Lebensmittel seit Jahren etabliert und zumindest für 3-MCPD auch validiert ist [AOCS Official Method 2000.1, Methode L 52.02-1 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG], gibt es nach unserem Kenntnisstand kein validiertes Verfahren zur Bestimmung von freiem 2-MCPD in Lebensmitteln, ebenso wie die Anwendbarkeit klassischer Methoden zur Bestimmung von freiem MCPD, die klassischerweise nicht chloridfrei durchgeführt werden, nicht auf die mögliche Artefaktbildung in den zu untersuchenden Lebensmittelmatrizes geprüft wurden. Aus analytischer Sicht sehr komplex ist die quantitative Bestimmung der gebundenen Analyten, weil es sich originär nicht um drei Einzelsubstanzen handelt, sondern jeweils um eine Gruppe von fettsäuregebundenen homologen oder isomeren Verbindungen. Zudem können sich 3-MCPD- und Glycidyl-derivate pH-abhängig ineinander umwandeln. Im alkalischen Milieu ist 3-MCPD instabil und kann innerhalb kurzer Zeit in Glycidol umgewandelt werden, während es im sauren Milieu üblicherweise zu einer Ringöffnung des Epoxides bei Glycidol kommt. Sind gleichzeitig starke Nucleophile, wie etwa Halogenidionen, anwesend, entstehen vorwiegend halogenierte Propandiole wie beispielsweise MCPD oder das homologe Monobrompropandiol (MBPD). MCPD-Fettsäureester können als Mono- oder Diester auftreten und es ist wahrscheinlich, dass sämtliche in einem raffinierten Öl oder Fett vorkommenden Fettsäuren auch in den MCPD-Derivaten vertreten sind. Damit wären rechnerisch inklusive aller Stereoisomere bei dem Vorhandensein von beispielsweise 6 relevanten Fettsäuren in einem Öl allein 96 3-MCPD-Derivate zu berücksichtigen [Dingel: 2013]. Wegen seines symmetrischen Aufbaus lieferte 2-MCPD mit der gleichen Zahl an Fettsäuren eine geringere Zahl an möglichen Derivaten, während Glycidol nur in Form von Fettsäuremonoestern auftreten kann und somit die Zahl der Glycidyl-derivate identisch mit der Zahl der Fettsäuren ist. Grundsätzlich ist zu berücksichtigen, dass bei Diestern aus zwei unterschiedlichen Fettsäuren jeweils 3 isomere Verbindungen mit gleicher Molmasse existieren. So gibt es neben dem 2-MCPD-Derivat zwei 3-MCPD-Ester bei dem die Fettsäuren alternierend an den Positionen 1 und 2 stehen. Die

Verbindungen sind gerade im Falle der Diester relativ große Moleküle, die aufgrund ihrer geringen Flüchtigkeit und im Falle der Glycidylester auch Instabilität nicht ideal für eine gaschromatographische Analyse geeignet sind. Aus diesem Grunde hat sich die sogenannte **direkte Analytik** der intakten MCPD- und Glycidylfettsäureester hauptsächlich unter Anwendung von flüssigchromatographisch-massenspektrometrischen (LC-MS) Techniken entwickelt [Crews et al.: 2013]. Es gibt allerdings keine Methode, die einerseits alle drei Analytgruppen umfasst, gleichzeitig aber in der Lage ist, sämtliche isomere MCPD-Ester zu separieren [MacMahon et al: 2013a, 2013b]. Zu den prinzipiellen Einschränkungen der flüssigchromatographischen Analytik von MCPD- und Glycidylestern gehört vor allem, dass die im Vergleich zur Gaschromatographie (GC) geringe chromatographische Trennschärfe bei Multianalytmethoden an ihre Grenzen stößt wenn viele isomere Verbindungen mit ähnlichem Fragmentierungsmuster aber unterschiedlicher Signalsintensität (Response) detektiert werden sollen. Weiterhin ist die LC-MS-Methodik ausgesprochen matrixanfällig und zeigt häufig den Effekt der stoffmengenabhängigen Signalunterdrückung (quenching). Um dies zu kompensieren, werden in der Regel Quantifizierungen über stabilisotopenmarkierte interne Standards durchgeführt. Im Falle der direkten Analytik von MCPD- und Glycidylestern steht derzeit nur eine begrenzte Auswahl von Referenzsubstanzen käuflich zur Verfügung und die Anzahl der verfügbaren isotopenmarkierten Standards ist noch geringer, so dass nach derzeitiger Einschätzung Öle und Fette mit kurzkettigen Fettsäuren (z.B. Kokosfett, Milchfett), vielfach ungesättigten Fettsäuren (z.B. Fischöle) oder seltenen Fettsäuren (Spezialitätenöle) nicht mittels direkter LC-MS Methoden auf MCPD oder Glycidolgehalte untersucht werden können. Ein genereller Nachteil der direkten Analytik von gebundenem MCPD und Glycidol besteht darin, dass die Analyten lipophil und damit der Öl- und Fettmatrix sehr ähnlich sind. Damit ist die in der chromatographischen Spurenanalytik unerlässliche Matrixabtrennung schwierig und entsprechend aufwändig. Beispielsweise beinhaltet die derzeit leistungsfähigste direkte LC-MS Methode pro Probe eine vierfache Festphasenextraktion und zwei getrennte Analysenläufe [MacMahon, 2013a, 2013b]. Die Vorteile der direkten Analytik liegen vor allem in dem großen Informationsgehalt bei der Bestimmung der Analyten in ihrer originären Form. Dies kann ggf. Rückschlüsse über die Bildungswege der Analyten zulassen und würde von Bedeutung sein, wenn die Toxikologie der einzelnen Ester oder Estergruppen unterschiedlich bewertet werden müsste. Dass mit dieser Technologie Artefaktbildungen auszuschließen sind, hat sich nicht vollkommen bestätigt. So wurden bei bestimmten Ionisierungstechniken Umwandlungen von 3-MCPD-

monoestern in Glycidylester in dem Analysesystem beobachtet [MacMahon, 2013a]. Durch die Vielzahl von Limitationen konnte bisher keine direkte Methode zur parallelen Bestimmung von 2- & 3-MCPD Fettsäureestern und Glycidylestern offiziell validiert werden. Bereits zu einem sehr frühen Zeitpunkt während der Entdeckung des Vorkommens von 3-MCPD-Fettsäureestern wurde die sogenannte **indirekte Analytik** zur 3-MCPD-Bestimmung eingesetzt. Dabei werden Öle oder Fette mittels altbekannter und bewährter Verfahren umgeestert, um die Analyten aus ihrer gebundenen Form freizusetzen. Im Gegensatz zu den Fettsäureestern sind die freien Verbindungen aufgrund ihrer Hydroxylgruppen relativ polar und damit gut wasserlöslich, wodurch die unerlässliche Abtrennung lipophiler Matrixbestandteile mittels flüssig/flüssig Extraktion einfach zu realisieren ist. Da die freien Chlorpropandiole relativ leichtflüchtig sind, lassen sie sich sehr gut gaschromatographisch bestimmen, wobei üblicherweise Derivatisierungsverfahren eingesetzt werden, um die Hydroxylfunktionen zu maskieren und damit die gaschromatographischen Eigenschaften der Analyten zu verbessern und hohe Messempfindlichkeiten zu realisieren. Unter einer Vielzahl von bisher eingesetzten Derivatisierungsreagenzien hat sich vor allem die Verwendung von Phenylboronsäure (PBA) etabliert, weil dieses Reagenz im Gegensatz zu vielen anderen nicht hydrolyse- oder matrixempfindlich ist. Ein besonderer Vorteil liegt auch darin, dass Phenylboronsäure nur mit Diolen, wie 2-MCPD und 3-MCPD es sind, zu stabilen Derivaten reagiert, während Monohydroxiverbindungen oder solche mit anderen aktiven Gruppen wie etwa Amine, Carbonsäuren, Thiole etc. nicht stabil reagieren. Da solche Verbindungen in Lebensmitteln häufig vorkommen und oft chromatographische Störungen verursachen, ist über die Derivatisierungsreaktion mit PBA eine weitere Aufreinigung möglich, die die indirekte Analytik relativ robust und unanfällig gegenüber Matrixeffekten macht. Die ersten Bestimmungen von gebundenem 3-MCPD in den lipophilen Extrakten von Lebensmitteln sowie etwas später in raffinierten pflanzlichen Ölen und Fetten wurden mittels einer sauer katalysierten Umesterung durchgeführt, die allerdings relativ lange Reaktionszeiten von 16 Stunden benötigte. Die Derivatisierung mit PBA erfolgte in angesäuerter wässriger Natriumchloridlösung in der Wärme. Im Anschluss wurden die derivatisierten Analyten aus der Lösung extrahiert und nachfolgend mittels GC-MS gemessen [Divinova et al.: 2004; Zelinkova et al.: 2006]. Wenig später wurde eine Methode zur Bestimmung von 3-MCPD Fettsäureestern in Ölen und Fetten vorgestellt, die auf einer basisch katalysierten Umesterung basierte, womit die Reaktionszeit auf 10 Minuten beschränkt werden konnte. Wiederum wurde angesäuerte Natriumchloridlösung bei der Matrixentfernung und der Derivatisierung

mit PBA bei 80°C in saurer wässriger Lösung eingesetzt, bei der nachfolgend der derivatisierte Analyt extrahiert und mittels GC-MS gemessen wurde [Weißhaar: 2008b]. Diese Methodik wurde von der Deutschen Gesellschaft für Fettwissenschaft (DGF) 2009 als DGF Einheitsmethode validiert [DGF C-III 18(09)]. Sie kann als „*alte Weißhaar-Methode*“ bezeichnet werden. Zu diesem Zeitpunkt war allerdings das mit 3-MCPD vergesellschaftete Auftreten von Glycidylestern unbekannt. Diese Verbindungen aber wurden natürlich ebenfalls gespalten, so dass das freigesetzte Glycidol im sauren Milieu mit den ebenfalls vorhandenen Chloridionen praktisch quantitativ zu induziertem MCPD reagieren konnte und damit Über- oder Falschpositivbefunde für 3-MCPD resultierten [Weißhaar: 2010]. Bei der säurekatalysierten Umesterung war diese Problematik nicht relevant, weil die Glycidolfunktion bereits bei Säurebehandlung zerstört wird. Als Konsequenz wurde die DGF Methode C-III 18 (10) in einer Weise modifiziert, dass zwei Probenaliquote parallel analysiert wurden, wobei bei einem Aliquot vor der Esterspaltung die Behandlung mit methanolischer Schwefelsäure erfolgte um die Glycidylfunktion vor dem weiteren Gang der Analyse zu zerstören. Damit sollte das Ergebnis nur die 3-MCPD-Ester repräsentieren, während das zweite Probenaliquot ohne Säurebehandlung aufgearbeitet wurde und somit die Summe von gebundenem Glycidol und 3-MCPD repräsentieren sollte. Das 3-MCPD-Ergebnis setzte sich in diesem Fall also ununterscheidbar zusammen aus dem originär in der Probe enthaltenen und dem durch die Glycidol-freisetzung und –umwandlung induzierten 3-MCPD. Mit dieser Doppelbestimmung, die als „*Weißhaar-Differenzmethode*“ bezeichnet werden kann, war eine rechnerische Glycidolbestimmung möglich, bei der allerdings die Umwandlung des Glycidols in 3-MCPD als quantitativ angesehen und durch einen stöchiometrischen Faktor von 0,67, der die unterschiedlichen Molekulargewichte der beiden Verbindungen in Beziehung setzte, berücksichtigt wurde. Die Quantifizierung wurde zunächst über die Verwendung von isotopenmarkiertem freiem d5-3-MCPD als internem Standard und externe Kalibrierung nach Messung mittels GC-MS realisiert. Später wurde ein d5-3-MCPD-difettsäureester als interner Standard eingeführt. Unglücklicherweise führten die erheblichen methodischen Änderungen zunächst weder zu einer neuen Methodenkennzeichnung, noch gab es eine klare Vorgabe zur Kennzeichnung aus welcher Methodenvariante berichtete 3-MCPD-Ergebnisse stammten. Dies führte dazu, dass aus heutiger Sicht Ergebnisse der damaligen Methodik schwierig zu bewerten sind und eventuell nicht für Expositionsabschätzungen herangezogen werden sollten. Bei dem Versuch die „*Weißhaar-Differenzmethode*“ zu validieren, zeigte sich, dass die saure Vorbehandlung zum Zwecke der Zerstörung der Glycidylester entweder nicht

vollständig verlief oder zu Artefaktbildung führte, so dass in diesem Methodenpart erneut Überbefunde von 3-MCPD festgestellt wurden. Damit war eine Berechnung der Glycidolgehalte nicht mehr sicher gewährleistet und konnte für diesen Analyten zu Unterbefunden führen. Als Konsequenz wurde dieser Methodenpart von dem Gemeinschaftsausschuss für die Analytik von Fetten, Ölen, Fettprodukten, verwandten Stoffen und Rohstoffen (GA Fett) zurückgezogen und nur die Summenbestimmung als Einheitsmethode C-VI 17 (10) validiert. Diese Methode wird als „*Weißhaar-Methode*“ benannt [GA Fett: 2012].

Parallel wurde eine weitere indirekte GC-MS basierte Differenzmethode mit alkalisch katalysierter Esterspaltung und PBA-Derivatisierung für die Analytik von 3-MCPD-Fettsäureestern in Ölen und Fetten entwickelt. Hierbei dient der Methodenpart A wieder der Bestimmung der Summe von 3-MCPD und Glycidol (ausgedrückt als 3-MCPD) durch Behandlung der Umesterungsprodukte mit schwefelsaurer Natriumchloridlösung. Der zweite Methodenpart B basiert auf einer chloridfreien Aufarbeitung, in der das durch die mögliche Anwesenheit von Glycidylestern freigesetzte Glycidol nicht zu induziertem 3-MCPD umgewandelt werden kann, sondern anderweitig abreagiert. Damit werden nur die originären 3-MCPD-Gehalte bestimmt und eine Glycidolberechnung kann durch Differenzbildung aus beiden Ergebnissen vorgenommen werden, wenn die Umwandlung von Glycidol zu 3-MCPD in Methodenpart A empirisch ermittelt wird. Diese empirische Bestimmung der Glycidoltransformation soll berücksichtigen, dass Glycidol in saurem wässrigem Milieu nicht nur zu 3-MCPD, sondern auch zu 2-MCPD oder Glycerin abreagieren kann, oder die Umwandlung pH-abhängig nicht vollständig verläuft. Neben der chloridfreien Aufarbeitung in Part B und der Bestimmung der realen Glycidoltransformation unterscheidet sich diese Analytik von der „*Weißhaar-Methode*“ auch in einer kürzeren Zeit für die Umesterung zwecks Vermeidung zu starker Verluste an 3-MCPD in der chloridfreien Aufarbeitung B. Um die Risiken einer möglichen Artefaktbildung zu verringern und zu starke Reagenzüberschüsse zu vermeiden, wird die Durchführung der Derivatisierungsreaktion mit PBS nicht in saurer Natriumchloridlösung in der Wärme, sondern stattdessen in organischen Lösungsmitteln bei Raumtemperatur durchgeführt. Schließlich wird auch auf die Messung externer Kalibrierreihen verzichtet und stattdessen über eine interne Ein-Punkt-Kalibrierung quantifiziert. Die Messungen erfolgen als Selected Ion Monitoring (SIM), wobei die Analyten auf den Tochterionenspuren mit einem Masse/Ladungs-Verhältnis  $m/z = 147$  (3-MCPD-derivat) bzw.  $m/z = 150$  ( $d_5$ -3-MCPD-derivat) detektiert werden. Weitere Tochterfragmente und die

Molekülonen dienen der Absicherung. Diese Methode wurde 2010 von der DGF validiert und ist als Einheitsmethode C-VI 18 (10) beschrieben. Der GA Fett weist diese Methode auch als „*Kuhlmann-Methode*“ aus [GA Fett: 2012]. In 2013 wurde diese Methode zusammen und vergleichend mit zwei anderen Verfahren von der American Oil Chemists Society (AOCS) für Öle und Fette validiert und als AOCS Official Method Cd 29c-13 veröffentlicht [AOCS: 2013c]. Die Vorteile der Cd 29c-13 liegen wegen der kurzen Umesterungsdauer in einer schnellen Durchführbarkeit, so dass Ergebnisse, z. B. für eine Prozesskontrolle, zeitnah, also innerhalb weniger Stunden, vorliegen können. Die Methodvalidierung durch die DGF hat gezeigt, dass freies 3-MCPD mit zu den Ergebnissen beiträgt, allerdings kann an den Werten nicht abgelesen werden, ob und in welchem Anteil freier Analyt in den Proben vorgelegen hat. Nachteile können darin gesehen werden, dass diese Methode nicht für die Bestimmung von gebundenem 2-MCPD validiert wurde, weil zu dem Zeitpunkt ihrer Entwicklung und Erstvalidierung die entsprechenden isotope-markierten internen Standards nicht zur Verfügung standen. Weiterhin führt die Bestimmung der Glycidylestergehalte über zwei Messungen zu einer erhöhten Messunsicherheit. Da in beide Bestimmungen immer der 3-MCPD-Messwert mit seiner Fehlerbreite eingeht, nimmt die Präzision der Glycidolbestimmung ab, je kleiner der Glycidolgehalt proportional zum 3-MCPD-Gehalt einer jeweiligen Probe ist. Schließlich treten bei dem chloridfrei aufgearbeiteten Methodenpart B Analytverlust dadurch auf, dass 3-MCPD irreversibel in Glycidol umgewandelt wird. Somit ist diese Bestimmung weniger empfindlich als der Teil A, in dem nachfolgend durch die Anwesenheit von Chlorid eine Rückreaktion von Glycidol zu 3-MCPD stattfindet.

Das zweite von der AOCS validierte Verfahren zur Bestimmung von gebundenem 2- & 3-MCPD sowie gebundenem Glycidol, die AOCS Official Method Cd 29b-13, ist auch unter der Bezeichnung „*SGS 3-in-1*“-Methode bekannt. Sie stellt eine Weiterentwicklung der „*Kuhlmann-Methode*“ dar, in der die alkalische Umesterung unter so milden Bedingungen durchgeführt wird, dass die unerwünschte Umsetzung von 3-MCPD zu Glycidol auf ein Minimum unterdrückt ist. Um die Nachteile der Differenzbildung bei der Glycidolbestimmung zu umgehen, wird das freigesetzte Glycidol nachfolgend in saurer Lösung mit Bromid weitgehend zu 3-MBPD umgesetzt. 3-MBPD ist im Gegensatz zu Glycidol stabil und kann aufgrund seiner chemischen Homologie zusammen mit 2- & 3-MCPD in einer Eintopfreaktion mittels Phenylboronsäure derivatisiert werden. In seiner ursprünglichen Form wird das „*SGS 3-in-1*“ Verfahren so durchgeführt, dass Proben unter Verwendung verschiedener interner Standards jeweils doppelt aufgearbeitet werden. In einem Assay A



werden d<sub>5</sub>-2-MCPD, d<sub>5</sub>-3-MCPD und ein d<sub>5</sub>-Glycidylester eingesetzt, in einem Assay B nur ein d<sub>5</sub>-2-MCPD-Difettsäureester sowie ein d<sub>5</sub>-3-MCPD-Difettsäureester. Damit liefert die Messung aus A einen Glycidylesterrohwert sowie Ergebnisse für 2- und 3-MCPD bei theoretisch 100%-iger Umesterung. Aus Messung B resultieren die als wahr angesehenen Ergebnisse für 2- und 3-MCPD, die Differenz der MCPD-Ergebnisse zwischen A und B können für die quantitative Bestimmung der Umesterungsrate herangezogen werden. Gleichzeitig kann in Messung B das Signal an d<sub>5</sub>-3-MBPD bestimmt werden, das aus dem d<sub>5</sub>-3-MCPD-Difettsäureester entstanden ist. Da dessen Menge immer bekannt ist, ermöglicht dieser Ansatz für jede Probe individuell die Bestimmung der Menge an unerwünscht entstandenem induziertem Glycidol und damit die Korrektur des Glycidolrohwertes aus Messung A. Verfahrens- und messtechnisch wird die AOCS 29b-13 („SGS 3-in-1“-Methode weitgehend identisch zur AOCS Cd 29c-13 („DGF-Kuhlmann“-Methode durchgeführt. Sowohl die 2-MCPD-Derivate als auch die das Glycidol repräsentierenden 3-MBPD- und d<sub>5</sub>-3-MBPD-Derivate werden im SIM-Modus auf den Molekülionenspuren detektiert. Die Bestimmungsgrenzen liegen für alle Analyten bei 100 µg/kg. [Kuhlmann: 2011; AOCS: 2013-b]. Die Nachteile der „SGS 3-in-1“-Methode bestehen in einer langen Umesterungszeit (16 h) und dem Aufwand, der durch die doppelte Proben-aufarbeitung und -auswertung anfällt. Weiterhin tritt hier ebenfalls, wenn auch in geringerem Umfang als bei dem vorangegangenen DGF-Verfahren, die Einschränkung ein, dass die relative Ergebnisunschärfe bei der Glycidolbestimmung zunimmt, wenn gleichzeitig sehr große 3-MCPD Konzentrationen und sehr niedrige Mengen an Glycidol vorliegen. Freies 2- und 3-MCPD tragen mit zu den Ergebnissen bei, weil vor der Esterspaltung keine Abtrennung dieser Verbindungen erfolgt. Es kann aber an den Ergebnissen nicht unterschieden werden, ob und wieviel des MCPD in den Proben frei vorgelegen hat. Eine extraktive Abtrennung der freien Analyten nach der Zugabe der internen Standards ist nicht möglich, weil diese als d<sub>5</sub>-2-MCPD und d<sub>5</sub>-3-MCPD in Assay A ebenfalls als freie Verbindungen eingesetzt werden und nach der Extraktion nicht mehr zur Bestimmung der Hydrolyserate zur Verfügung stünden. Die Vorteile der Methodik können darin gesehen werden, dass neben der validierten Erfassung des gebundenen 2-MCPDs die Glycidolbestimmung nicht über ein fehleranfälliges Differenzverfahren sondern über die direkte Messung des Analyten erfolgt. Weiterhin ist die Detektionsempfindlichkeit für 3-MCPD hoch, weil die Verluste des Analyten bei der alkalisch katalysierten Umesterung vernachlässigbar gering sind. Die Anwendung dieser Methode in der Praxis hat gezeigt, dass bei routinierter Durchführung der Analytik die

Robustheit des Verfahrens groß genug ist, dass auf die doppelte Aufarbeitung jeder Probe verzichtet werden kann, wenn pro Analysensequenz nur eine Probe stellvertretend auf die Bildung des induzierten Glycidols untersucht und der daraus resultierende Korrekturfaktor auf die anderen Messungen der Sequenz angewendet wird. Die Verdoppelung der Probeneinwaage und eine angepasste Probenaufarbeitung erlaubt zugleich signifikant niedrigere Bestimmungsgrenzen von je 10 µg/kg für alle Analyten [Kuhlmann: 2016]. Dieses Verfahren, das hinsichtlich seiner Robustheit und der sehr niedrigen Bestimmungsgrenzen als die gegenwärtig leistungsfähigste Methode angesehen werden kann, wurde im Rahmen der Projektdurchführung der „Untersuchung auf das Vorkommen von 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen in Lebensmitteln“ für die Untersuchung aller Öle, Fette und Margarinen eingesetzt.

Das dritte von der AOCS validierte indirekte Verfahren zur Bestimmung von MCPD- und Glycidylestern in Ölen und Fetten, die AOCS Official Method Cd 29a-13 („Unilever“-Methode) wurde entwickelt, um die Nachteile der alkalisch katalysierten Umesterung zu umgehen und eine säurekatalysierte Variante zu etablieren, wie sie zu Anfang der Entwicklung der Analytik für gebundenes 3-MCPD eingesetzt wurde. Da aber unter diesen Reaktionsbedingungen Glycidylester instabil sind, müssen sie hierzu in einem vorgeschalteten Reaktionsschritt stabilisiert werden. Dazu dient bei der „Unilever“-Methode eine sauer katalysierte Umsetzung mit Bromid zu den korrespondierenden 3-MBPD-Fettsäuremonoestern. Nach einer Extraktion zum Zwecke der Isolierung der MCPD- und MBPD-Fettsäureester enthaltenden Lipidphase wird diese dann für 16 h sauer katalysiert umgeestert. Die Reaktion wird durch Verwendung eines alkalischen Stoppreagenzes beendet, die Lipidmatrix mittels 1/1-Extraktion entfernt und eine Derivatisierung durch Phenylboronsäure in saurer wässriger Lösung unter Ultraschallbehandlung mit nachfolgender Re-Extraktion der Analyten durchgeführt. Die Quantifizierung verläuft über die Verwendung isotoopenmarkierter veresteter Analyten in den Proben sowie eine externe Kalibrierung [Ermacora, 2013; AOCS Cd 29a-13]. Die AOCS Cd 29a-13 („Unilever“-Methode) ist mit nur einer Aufarbeitung pro Probe weniger aufwändig in der Durchführung und Auswertung als die beiden alternativen AOCS-Verfahren, wenn auch im Vergleich zusätzlicher Aufwand für die Kalibriermessungen anfällt. Der für die Umesterung nötige Zeitaufwand ist relativ lang und vergleichbar mit dem „SGS 3-in-1“ Verfahren. Theoretisch sollte auch die Ergebnisunschärfe für Glycidol bei hohen 3-MCPD-Gehalten aufgehoben sein, weil keine Transformation während der sauer katalysierten Umesterung zu erwarten ist. Die Nachteile der AOCS Cd 29a-13 („Unilever“-

Methode) liegen aber insbesondere in der Gefahr von Artefaktbildungen, die zu Überbefunden führen könnten. Hierfür kommen zwei Ursachen in Betracht. Einerseits wird die Gesamtheit der Proben mit allen bekannten und unbekannt Haupt- und Nebenverbindungen und natürlich auch mit allen Spurenkomponenten in einem organischem Medium (Tetrahydrofuran) mit Schwefelsäure und Bromidionen in Kontakt gebracht. In dieser Kombination ist eine besonders starke Nucleophilie der Bromidionen zu erwarten und es könnten nicht nur Glycidylester, sondern auch andere aktive Verbindungen zu Derivaten oder Vorstufen des MBPDs reagieren. Ein analoger Effekt hatte ja bereits bei der „*Weißhaar-Differenzmethode*“ zu Überbefunden an 3-MCPD geführt und damit bedingt, dass die Analytik von der DGF als nicht valide eingestuft wurde. Diese Gefahr besteht bei den Methoden mit alkalischer Umesterung weniger, weil durch die vorgeschaltete Umesterung eine Vielzahl von reaktiven Verbindungen bereits zerstört worden sein sollte. Danach findet bei den alkalischen Verfahren die 1/1-Extraktion statt, bei der praktisch die gesamte Lipidmatrix sowie alle nicht gut wasserlöslichen Komponenten entfernt werden und nur die wasserlöslichen Analyten verbleiben. Schließlich wird bei der AOCS Cd 29b-13 („SGS 3-in-1“-Methode) die Glycidolumwandlung in MBPD konsequenterweise in wässrigem Medium durchgeführt, wodurch die Bromidionen durch starke Solvatisierung stabilisiert und weniger nucleophil sein sollten. Der zweite Grund, warum die AOCS Cd 29a-13 („*Unilever*“-Methode) als anfälliger für Artefaktbildung eingeschätzt werden kann, ist, dass bei der sauer katalysierten Umwandlung der Glycidylester mit 90 µg Natriumbromid pro Ansatz nur sehr geringe Bromidmengen eingesetzt werden. Das bedeutet aber auch, dass in Proben natürlicherweise auftretendes Chlorid in Konkurrenz zu dem Bromid steht und zu einer Umwandlung der Glycidylester oder anderer reaktiver Komponenten in 3-MCPD-derivate führen könnte. Damit würden entsprechende Überbefunde an 3-MCPD resultieren. Aus diesen Gründen kann vermutet werden, dass die AOCS Cd 29a-13 („*Unilever*“-Methode) höhere Bestimmungsgrenzen als die parallel validierten Verfahren aufweist und weniger robust gegenüber der Matrixzusammensetzung ist als die Verfahren die auf einer alkalischen Esterspaltung basieren. Tatsächlich weisen die statistischen Daten der AOCS Methodenvalidierung darauf hin, dass bei sehr niedrigen Konzentrationen an Glycidylestern mit der „*Unilever-Methode*“ höhere Ergebnisse erzielt werden als mit der „*DGF-Methode*“ und der „*3-in-1-Methode*“, wobei letztere bei den niedrigsten erfassten Glycidolkonzentrationen erwartungsgemäß die besseren Präzisionswerte lieferte [AOCS: 2013a-c]. Weiterhin ist weder bei der Methodenentwicklung noch in der Validierung untersucht worden, in welchem

Umfang freies MCPD mit zu den Ergebnissen beiträgt. Die freien Analyten mögen in frisch raffinierten Ölen und Fetten nur eine marginale Rolle spielen, können aber in gebrauchten Frittierfetten und in Fettextrakten von zusammengesetzten Lebensmitteln in relevanten Mengen vorkommen.

Während die Analytik von gebundenem MCPD & Glycidol in pflanzlichen Ölen und Fetten zum Zeitpunkt der Projektdurchführung als etabliert und validiert anzusehen war, gilt dies nicht für die gleiche Analytik in zusammengesetzten Lebensmitteln. In 2013 validierte das BfR eine Methode zur Bestimmung von 2- und 3-MCPD-Estern in zusammengesetzten Lebensmitteln wie Schokoladen- und Erdbeercreme, Milchpulver, Mayonnaise und pflanzlichem Zwiebelschmalz. Dieses Verfahren basierte auf einer Fettextraktion vorzugsweise mittels druckunterstützter Lösungsmittlextraktion (Accelerated Solvent Extraction = ASE) mit *tert*-Butylmethylether (tBME) und nachfolgender alkalischer Umesterung bei Raumtemperatur sowie chloridfreier Extraktion und Derivatisierung der Analyten in Analogie zu Part B der DGF-Methode C-VI 18 (10). Obwohl in diesem Verfahren die Bestimmung der Glycidylester nicht berücksichtigt wurde und relevante Matrices wie etwa Teigwaren nicht enthalten waren, wurde schon die Differenzierung zwischen freien und gebundenen Analyten bei der Extraktion berücksichtigt. Dabei zeigte sich, dass die ASE mit tBME die gebundenen Analyten praktisch vollständig extrahierte, während die Wiederfindungen beim freien 3-MCPD bei unter 40 % lagen [Fry et al.: 2013].

2015 stellte das Joint Research Center der EU (JRC) eine in-house validierte Methode zur getrennten Bestimmung von freiem 2- & 3-MCPD und gebundenem 2- & 3-MCPD sowie gebundenem Glycidol in einer Vielzahl von Lebensmitteln, unter anderen Teigwaren, Fisch- und Fleischprodukte und Kartoffelchips vor. Die Methodik umfasste in einer separaten Aufarbeitung die Analyse der freien MCPD-Isomere nach Extraktion, Derivatisierung mittels PBA und GC-MS Messung. Für die gebundenen Analyten wurde ein als „*pressurised liquid extraktion*“ (PLE) vorgestelltes Verfahren gewählt, in dem die Proben in einem ASE-Automaten druckunterstützt mit tBME extrahiert wurden. Allerdings wurde dabei die Temperatur mit 40°C deutlich unter dem Siedepunkt des Lösungsmittels gehalten, so dass keine klassischen ASE-Bedingungen vorlagen. Dieses Verfahren hat sich bei der Methodenvalidierung mit Wiederfindungen von ca. 20% als nicht geeignet für Säuglingsnahrung gezeigt. Davon abgesehen basierte der weitere Verlauf der Analyse im Wesentlichen auf der Anwendung der AOCS Cd 29a-13 („*Unilever*“-Methode) auf das isolierte Fett. Modifikationen bestanden darin, dass die isopenmarkierten internen Standards bei einem

Probenfettanteil > 5 % erst nach der Extraktion zugegeben wurden. Auch wurde die Derivatisierung mittels PBA nicht in wässriger Lösung, sondern analog zur bei der „SGS 3-in-1“-Analytik in organischen Lösungsmitteln durchgeführt [Wenzl et al.; 2015]. Die Vorteile dieses Verfahrens liegen darin, dass erstmals eine Methodik entwickelt wurde, die formal den Anforderungen der EFSA-Empfehlung zum Monitoring aller genannten freien und gebundenen Analyten entspricht. Auch lagen die Bestimmungsgrenzen mit einem Bereich von 13 µg/kg (3-MCPD-Ester) bis 31 µg/kg (Glycidylester), jeweils auf die Fettphase bezogen, außergewöhnlich niedrig. Einschränkend muss dazu angemerkt werden, dass die Ermittlung der Bestimmungsgrenzen rechnerisch aus Dotierungsexperimenten mit reinen Blankölen erfolgte und nicht über die Bestimmung der Signal-Rausch-Verhältnisse in komplex zusammengesetzten Lebensmitteln. Gewisse Einschränkungen des Verfahrens können darin gesehen werden, dass die Methodik in bestimmten Punkten für eine Routineanalytik relativ aufwändig ist. Das Einengen wässriger Lösungen zur Trockne bei der Bestimmung des freien MCPDs gehören ebenso dazu, wie die Zugabe der internen Standards vor oder nach der Extraktion in Abhängigkeit vom Fettgehalt der Proben. Insbesondere die Durchführung der Extraktion von Proben mit einem Fettgehalt > 5% könnte kritisch sein, weil dabei Extraktionsverluste nicht kompensiert werden. Kritisch ist zu bewerten, dass aus der Methodvalidierung nicht hervorgeht, ob eine komplette Abtrennung der freien von den gebundenen Analyten gewährleistet ist. Während eine Verschleppung der gebundenen Analyten in die Analyse der freien Verbindungen unproblematisch erscheint, da die intakten Ester aufgrund ihrer grundsätzlich anderen chromatographisch-massenspektrometrisch unterschiedlichen Eigenschaften nicht mit der Bestimmung der freien Verbindungen interferieren, würde eine Verschleppung der freien Analyten in die Fraktion der gebundenen Analyten zu Überbefunden beitragen können. Dass aber freies MCPD mit tBME anteilig extrahiert wird, wurde durch die Untersuchungen des BfR belegt [Fry et al.: 2013]. Ebenso kritisch ist zu sehen, dass die Methodik nicht für Säuglingsnahrung (Milchpulver) einzusetzen ist, und dass die gegenüber Matrixeffekten mutmaßlich anfällige AOCS Cd 29a-13 („Unilever“-Methode) Bestandteil des Verfahrens ist. Gerade bei der Extraktion zusammengesetzter Lebensmittel ist davon auszugehen, dass neben den Lipiden eine Vielzahl weiterer Stoffe isoliert werden und damit die Zahl möglicherweise bei der Transformation der Glycidylester interferierender Substanzen stark zunimmt.

Während der Projektdurchführung lief parallel eine Methodvalidierung der AOCS zur Bestimmung von gebundenem MCPD & Glycidol in ölbasierten Emulsionen wie etwa

Margarine oder Mayonnaise. Allerdings lag zum Abschluss dieses Projektes noch keine offizielle Methode vor. Da dieses Verfahren nur für eine sehr spezielle Produktgruppe entwickelt wurde und mögliche Interferenzen von freiem MCPD nicht zum Validierungsumfang gehörten, wurde es für die hier vorgestellte Projektdurchführung nicht weiter berücksichtigt.

Um alle aufgezeigten Einschränkungen der vorangehend vorgestellten Methoden zur Bestimmung von freiem 2- & 3-MCPD parallel zu den MCPD-Estern und Glycidylestern in zusammengesetzten Lebensmittel weitestmöglich zu umgehen, wurde im Rahmen dieses Projektes eine Methode entwickelt und in-house validiert, mittels der alle relevanten zusammengesetzten Lebensmittelgruppen auf gleiche Weise analysiert werden können. Sie besteht aus einer durch Hitze, Ultraschall und Druck unterstützten dreistufigen Extraktion (HUPsSE = Heat-Ultrasonic-Pressure-supported-Solvent-Extraction) in der polare und unpolare Lösungsmittel eingesetzt und die dabei gewonnenen Extrakte vereinigt werden. Nach Abtrennung aller eingesetzten Lösungsmittel erfolgt durch eine konventionelle 1/1-Extraktion die Trennung der polaren von den unpolaren Anteilen des Extraktes. Dabei wird die unpolare Fraktion in einer Mischung aus Isohexan/tBME angereichert. Hierin sind die gebundenen Analyten hervorragend löslich, während die freien Analyten unter den Bedingungen der Aufarbeitung praktisch nicht in die unpolare Phase verschleppt werden. Die polare Fraktion wird chloridfrei auf freies 2- und 3-MCPD untersucht. Hierzu dient eine Vereinfachung der „3-in-1“-Analytik, in der auf die Esterspaltung sowie die Glycidolbestimmung verzichtet wird. Dieses Verfahren wurde über Jahre durch erfolgreiche Teilnahme an FAPAS-Laborvergleichsuntersuchungen auf seine Eignung zur Analyse von Sojasaucen und Proteinhydrolysaten, die in diesem Zeitraum einzigen verfügbaren Laborvergleichsmatrizes, geprüft. Zur Bestimmung der 3-MCPD-Ester und verwandter Verbindungen wird die unpolare Fraktion mittels einer modifizierten „3-in-1“-Analytik auf fettsäuregebundenes 2- & 3-MCPD sowie Glycidylester untersucht. Die Modifikationen bestehen, wie bei der im Rahmen dieses Projektes eingesetzten Methode für Öle und Fette, in einer Anpassung der eingesetzten Fettmenge sowie dem Verzicht auf eine doppelte Aufarbeitung bei repräsentativer Bestimmung der Bildung von induziertem Glycidol. Auf diese Weise ist es möglich, einerseits die Proben mit allen isopenmarkierten freien und gebundenen internen Standardverbindungen vor der HUPsSE zu dotieren und somit etwaige Verluste und Matrixeinflüsse über alle Schritte der Probenaufarbeitung zu kompensieren, andererseits können die gebundenen Analyten auch nach Abtrennung der freien Analyten bei

Anwendung der aufgezeigten Modifikationen unter Anwendung der als besonders robust und empfindlich eingeschätzten Methodik des AOCS 29b-13 (SGS „3-in-1“) – Verfahrens bestimmt werden. Auf diese Weise werden, bezogen auf die gesamten Proben, Bestimmungsgrenzen von je 5 µg/kg für die freien Analyten erreicht und je 10 µg/kg für die gebundenen Analyten. Im Vergleich zu allen derzeit parallel vorliegenden Methoden werden mit diesem Konzept die Anforderungen an eine aktuelle Analytik am weitesten erfüllt, nämlich ein möglichst einheitliches, gut vergleichbares Verfahren, das anwendbar auf möglichst viele zusammengesetzte Lebensmittel ist, und die freien und gebundenen Analyten separat und empfindlich erfasst. Darüber hinaus ist die „3-in-1“-Analytik sowohl bei Ölen und Fetten als auch bei zusammengesetzten Lebensmitteln so konzipiert, dass im Vergleich zu dem Verfahren des JRC oder der AOCS Cd 29a-13 „Unilever“-Methode deutlich geringere Mengen an Lösungsmitteln und Chemikalien eingesetzt werden, so dass das Konzept auch hinsichtlich einer Nachhaltigkeitsbewertung positiv und zeitgemäß auftritt.

#### **4.) Material und Methoden**

##### 4.1) Reagenzien und Chemikalien

3-MCPD: 99 %, Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Deutschland).

d<sub>5</sub>-3-MCPD: 98 %, Sigma-Aldrich (Steinheim, Deutschland).

2-MCPD: 98 %, Toronto Research Chemicals Inc. (Toronto, ON, Kanada).

d<sub>5</sub>-2-MCPD: ≥ 98 %, Toronto Research Chemicals Inc. (Toronto, ON, Kanada).

3-MCPD-1,2-dioleylester: 98 %, Toronto Research Chemicals Inc. (Toronto, ON, Kanada).

d<sub>5</sub>-3-MCPD-1,2-dioleylester: 98 %, Toronto Research Chemicals Inc. (Toronto, ON, Kanada).

2-MCPD-1,3-dipalmitoylester: 98 %, Toronto Research Chemicals Inc. (Toronto, ON, Kanada).

d<sub>5</sub>-2-MCPD-1,3-dipalmitoylester: 98 %, Toronto Research Chemicals Inc. (Toronto, ON, Kanada).

Glycidylester: 98 %, Toronto Research Chemicals Inc. (Toronto, ON, Kanada).

d<sub>5</sub>-Glycidylester: 98 %, Toronto Research Chemicals Inc. (Toronto, ON, Kanada).

Methanol: p.a. oder besser, Merck (Darmstadt, Deutschland).

*tert*-Butylmethylether: p.a. oder besser, Merck (Darmstadt, Deutschland).

Diethylether: p.a., Merck (Darmstadt, Deutschland).

Toluol: p.a., Merck (Darmstadt, Deutschland).

Isohexan (2-Methylpentan): p.a., Merck (Darmstadt, Deutschland).

Isooctan (2,2,4-Trimethylpentan): für die Pestizidrückstandsanalytik, Fluka - Sigma-Aldrich

(Steinheim, Deutschland).

Essigsäureethylester (Essigesster, Ethylethanoat, EE): p.a., Merck (Darmstadt, Deutschland).

Wasser: Millipore-Qualität, < 20 µS/cm, < 5 ppb TOC

Phenylboronsäure: ≥ 97%, Sigma-Aldrich (Steinheim, Deutschland).

Natriumsulfat: granuliert, für die organische Spurenanalyse, Merck (Darmstadt, Deutschland).

Natriumsulfat wurde vor Verwendung über Nacht im Muffelofen bei ca. 500 °C ausgeheizt.

Natriumbromid: Ph Eur, Merck (Darmstadt, Deutschland).

Natriumhydroxid: 97 %, 20-40 mesh, Sigma-Aldrich (Steinheim, Deutschland).

*ortho*-Phosphorsäure: 85 %, Merck (Darmstadt, Deutschland).

Stickstoff: 4.0 oder besser, Linge AG (Pullach, Deutschland)

Helium: 4.0 oder besser, Linge AG (Pullach, Deutschland)

#### 4.2) Lösungen von Chemikalien und Reagenzien

Lösung 1: 6 g Natriumhydroxid in 100 mL Methanol.

Lösung 2: 2,5 g Natriumhydroxid in 100 mL Methanol.

Lösung 3: wässrige Natriumbromidlösung (600 g/L) mit 6,5 mL/L *ortho*-Phosphorsäure angesäuert. 1,2 mL dieser Lösung müssen 700 µL der Lösung 1 gerade über den Neutralpunkt heraus leicht ansäuern. Wenn dies nach dem frischen Ansetzen der Lösungen nicht der Fall war, wurde die Säurelösung durch Verdünnen oder weitere Zugabe von *ortho*-Phosphorsäure auf die Lösung 1 eingestellt.

Lösung 4: wässrige Natriumbromidlösung (600 g/L) mit 2,7 mL/L *ortho*-Phosphorsäure angesäuert. 1,2 mL dieser Lösung müssen 700 µL der Lösung 2 gerade über den Neutralpunkt heraus leicht ansäuern. Wenn dies nach dem frischen Ansetzen der Lösungen nicht der Fall war, wurde die Säurelösung durch Verdünnen oder weitere Zugabe von *ortho*-Phosphorsäure auf die Lösung 2 eingestellt.

Lösung 5: gesättigte wässrige Natriumsulfatlösung (Überstand über Bodensatz).

Lösung 6: wässrige Natriumbromidlösung (ca. 600 g/L).

Lösung 7: Phenylboronsäure in Diethylether: ca. 5 mg/mL

#### 4.3) Stamm- und Arbeitslösungen

Generell wurden Referenzsubstanzen und isopenmarkierte Standards in fester Form eingewogen und für die Herstellung von Stammlösungen mit Methanol (freie Analyten) oder



Toluol (gebundene Analyten) auf eine Konzentration von 1 mg/mL oder 100 µg/mL verdünnt. Diese Konzentrationen beziehen sich immer auf die Kernanalyten 2-MCPD, 3-MCPD und Glycidol. Das heißt, Erhöhungen des Molekulargewichtes durch Isotopenmarkierung oder Veresterung wurden durch proportional höhere Einwaagen berücksichtigt. Aus diesen Stammlösungen wurden unter gravimetrischer Kontrolle gemischte Arbeitslösungen angesetzt, die entweder die freien Analyten in Methanol gelöst enthielten, oder die gebundenen Analyten gelöst in Toluol.

Arbeitslösung 1: 2-MCPD und 3-MCPD, je 10 µg/mL in Methanol.

Arbeitslösung 1d: d<sub>5</sub>-2-MCPD und d<sub>5</sub>-3-MCPD, je 10 µg/mL MCPD-Äquivalent in Methanol.

Arbeitslösung 2: 2-MCPD und 3-MCPD, je 1,0 µg/mL in Methanol.

Arbeitslösung 2d: d<sub>5</sub>-2-MCPD und d<sub>5</sub>-3-MCPD, je 1,0 µg/mL MCPD-Äquivalent in Methanol.

Arbeitslösung 3: 2-MCPD-1,3-dipalmitoylester, 3-MCPD-1,2-dioleoyl-oleat mit 5 µg/mL 2-MCPD-Äquivalent, 10 µg/mL 3-MCPD-Äquivalent und 5 µg/mL Glycidoläquivalent in Toluol.

Arbeitslösung 3d: d<sub>5</sub>-2-MCPD-1,3-dipalmitoylester, d<sub>5</sub>-3-MCPD-1,2-dioleoyl-oleat mit 5 µg/mL d<sub>5</sub>-2-MCPD-Äquivalent, 10 µg/mL d<sub>5</sub>-3-MCPD Äquivalent und 5 µg/mL d<sub>5</sub>-Glycidoläquivalent in Toluol.

Arbeitslösung 4: 2-MCPD-1,3-dipalmitoylester, 3-MCPD-1,2-dioleoyl-oleat mit 0,5 µg/mL 2-MCPD-Äquivalent, 1,0 µg/mL 3-MCPD-Äquivalent und 0,5 µg/mL Glycidoläquivalent in Toluol.

Arbeitslösung 4d: d<sub>5</sub>-2-MCPD-1,3-dipalmitoylester, d<sub>5</sub>-3-MCPD-1,2-dioleoyl-oleat mit 0,5 µg/mL d<sub>5</sub>-2-MCPD-Äquivalent, 1,0 µg/mL d<sub>5</sub>-3-MCPD Äquivalent und 0,5 µg/mL d<sub>5</sub>-Glycidoläquivalent in Toluol.

Arbeitslösung 5d: d<sub>5</sub>-3-MCPD-1,2-dioleoyl-oleat, 10 µg/mL d<sub>5</sub>-3-MCPD-Äquivalent in Toluol.

Arbeitslösung 6: Glycidyl-oleat, 1 µg/mL in Toluol.

#### 4.4) Geräte und Verbrauchsmaterialien

2 mL Crimpdeckelgläser & Crimpdeckel mit Teflondichtung: Wicom Germany GmbH  
(Heppenheim, Deutschland)

Inserts für 2 mL Crimpdeckelgläser, ca. 200 µL Innenvolumen:

VWR International GmbH (Darmstadt, Deutschland).

Diese Inserts wurden über Nacht im Muffelofen bei ca. 500 °C ausgeheizt.

4 mL Schraubdeckelgläser & Schraubdeckel mit Teflondichtung: Wicom Germany GmbH  
(Heppenheim, Deutschland)

8 mL Schraubdeckelgläser & Schraubdeckel mit Teflondichtung: Wicom Germany GmbH  
(Heppenheim, Deutschland)

12 mL Schraubdeckelgläser & Schraubdeckel mit Teflondichtung: Wicom Germany GmbH  
(Heppenheim, Deutschland)

Pasteurpipetten: VWR International GmbH (Darmstadt, Deutschland).

Saugbälle für Pasteurpipetten, 2 mL Innenvolumen: VWR International GmbH (Darmstadt,  
Deutschland).

Eppendorf-Pipetten, variable Größen: Eppendorf AG (Hamburg, Deutschland)

Abblsvorrichtungen, druckregulierte Stickstoffverteiler mit austauschbaren Auslässen  
(Pasteurpipetten) und temperaturregulierter Heizplatte: Eigenkonstruktion der SGS  
Germany GmbH (Hamburg, Deutschland)

Ultraschallbad, temperatur- & zeitprogrammierbar: USC-THD/HF, VWR International GmbH  
(Darmstadt, Deutschland).

Vortexmischer: z.B. lab dancer S40, VWR International GmbH (Darmstadt, Deutschland).

Zentrifuge, max. 4000 RPM: Rotofix 32 A: Andreas Hettich GmbH & Co KG  
(Tuttlingen, Deutschland)

Messermühle: Grindomix GM 200, Retsch GmbH (Haan, Deutschland)

Dispergiergerät: Ultra Turrax T25 mit Dispergierwerkzeug S25N-8g (8 mm Stator-  
Außendurchmesser), Janke & Kunkel GmbH & Co KG (Staufen, Deutschland)

Gaschromatograph: 7890A: Agilent Technologies (Santa Clara, Californien, USA)

Massenspektrometer: 5975C inert XL: Agilent Technologies (Santa Clara, Californien, USA)

#### 4.5) Probenahme

Der Einkauf aller Lebensmittelproben erfolgte in dem Zeitraum von Februar bis September 2016. Soweit möglich und sinnvoll wurden die Produkte zahlenmäßig proportional zu den Marktanteilen der Lebensmittelhändler gekauft. Der Schlüssel für die Marktanteile wurde der aktuellsten verfügbaren statistischen Erhebung entnommen [LMZ: 2015]. Säuglingsanfangs- und Folgenahrung wurde von diesem Verfahren ausgenommen, weil hier beabsichtigt war, von allen auf dem deutschen Markt verfügbaren Marken bis zu 10 Chargenmuster zu beziehen. In Tabelle 1 sind nachfolgend die markenbezogenen Chargenzahlen aufgeführt.

| <b>Marke Säuglingsmilchnahrung 1</b>   | <b>Chargenzahl</b> |
|--|--------------------|
| A-1                                    | 10                 |
| B-1                                    | 10                 |
| C-1                                    | 10                 |
| D-1, Bio                               | 10                 |
| E-1, Bio                               | 10                 |
| G-1, Bio                               | 10                 |
| H-1                                    | 10                 |
| I-1                                    | 10                 |
| J-1, Bio                               | 10                 |
| K-1                                    | 6                  |
| L-1                                    | 10                 |
| M-1                                    | 10                 |
| N-1                                    | 3                  |
| <b>Marke Säuglingsmilchnahrung PRE</b> | <b>Chargenzahl</b> |
| A-PRE                                  | 10                 |
| B-PRE                                  | 10                 |
| C- PRE                                 | 10                 |
| D-PRE, Bio                             | 10                 |
| E-PRE, Bio                             | 10                 |
| G-PRE, Bio                             | 10                 |
| I-PRE                                  | 10                 |
| K-PRE                                  | 10                 |
| L-PRE                                  | 10                 |
| M-PRE, Bio                             | 10                 |
| N-PRE                                  | 2                  |
| <b>Probengesamtzahl</b>                | <b>221</b>         |

Tabelle 1: Übersicht Probenahme Säuglingsmilchnahrung.

In den nachfolgenden Tabellen 2 und 3 werden die Einkaufsschlüssel der weiteren Produktgruppen dargestellt:

| <b>Einkaufsschlüssel Speiseöle</b> |                   |                     |                   |                   |
|------------------------------------|-------------------|---------------------|-------------------|-------------------|
| <b>Ölsorte</b>                     | <b>Probenzahl</b> | <b>Art</b>          | <b>Probenzahl</b> |                   |
| Rapsöl                             | 50                | konventionell       | 40                |                   |
|                                    |                   | bio                 | 10                |                   |
| Sonnenblumenöl                     | 58                | konventionell       | 40                |                   |
|                                    |                   | bio                 | 18                |                   |
| Maiskeimöl                         | 10                | konventionell       | 10                |                   |
| Olivenöl                           | 20                | konventionell       | 10                |                   |
|                                    |                   | bio                 | 10                |                   |
| Sesamöl                            | 10                |                     |                   |                   |
| Erdnussöl                          | 10                |                     |                   |                   |
| Distelöl                           | 3                 |                     |                   |                   |
| Haselnussöl                        | 3                 |                     |                   |                   |
| Walnussöl                          | 3                 |                     |                   |                   |
| Leinöl                             | 3                 |                     |                   |                   |
| Traubenkernöl                      | 4                 |                     |                   |                   |
| Kürbiskernöl                       | 1                 |                     |                   |                   |
| Sojaöl                             | 2                 |                     |                   |                   |
| Rotes Palmöl                       | 2                 |                     |                   |                   |
| Weizenkeimöl                       | 1                 |                     |                   |                   |
| <b>Gesamtprobenzahl</b>            | <b>180</b>        |                     |                   |                   |
| <b>Einkaufsschlüssel Margarine</b> |                   |                     |                   |                   |
| <b>Margarine</b>                   | <b>Probenzahl</b> |                     | <b>Art</b>        | <b>Probenzahl</b> |
| fest                               | 180               | Vollfett und 66 %   | 112               |                   |
|                                    |                   | 1/3-Fett bzw 41-65% | 5                 |                   |
|                                    |                   | 1/2-Fett            | 54                |                   |
|                                    |                   | low fat             | 9                 |                   |
| flüssig (Pflanzencreme)            | 20                |                     |                   |                   |
| <b>Gesamtprobenzahl</b>            | <b>200</b>        |                     |                   |                   |
| <b>Einkaufsschlüssel Bratfette</b> |                   |                     |                   |                   |
| <b>Bratfett</b>                    | <b>Probenzahl</b> |                     |                   |                   |
| Kokosfett                          | 5                 |                     |                   |                   |
| Sonstige                           | 45                |                     |                   |                   |
| <b>Gesamtprobenzahl</b>            | <b>50</b>         |                     |                   |                   |

Tabelle 2: Übersicht Probenahme Speiseöle, Margarine, Bratfette.

| <b>Einkaufsschlüssel Pommes frites</b>                    |                   |                       |                   |
|---|-------------------|-----------------------|-------------------|
| <b>Pommes frites</b>                                      | <b>Probenzahl</b> |                       |                   |
| Tiefkühlware  | 34                |                       |                   |
| Außer-Haus Einkauf  | 66                |                       |                   |
| <b>Gesamtprobenzahl</b>                                   | <b>100</b>        |                       |                   |
| <b>Einkaufsschlüssel Croissants &amp; Donuts</b>          |                   |                       |                   |
| <b>Croissants &amp; Donuts</b>                            | <b>Probenzahl</b> | <b>Art</b>            | <b>Probenzahl</b> |
| Croissants  | 100               | Einzelhandel          | 59                |
|   |                   | Außer-Haus            | 41                |
| Donuts  | 50                | Einzelhandel          | 25                |
|   |                   | Außer-Haus            | 25                |
| <b>Gesamtprobenzahl</b>                                   | <b>150</b>        |                       |                   |
| <b>Einkaufsschlüssel Brotaufstriche</b>                   |                   |                       |                   |
| <b>Brotaufstriche</b>                                     | <b>Probenzahl</b> | <b>Art</b>            | <b>Probenzahl</b> |
| Süße Brotaufstriche                                       | 50                | Nuss-Nougat-Cremes    | 43                |
|   |                   | Sonstige              | 7                 |
| Herzhafte Brotaufstriche                                  | 50                | pflanzl. ohne Schmalz | 15                |
|   |                   | Schmalz               | 4                 |
|   |                   | Streichrahm           | 23                |
|   |                   | Sonstige              | 8                 |
| <b>Gesamtprobenzahl</b>                                   | <b>100</b>        |                       |                   |
| <b>Einkaufsschlüssel Asia-Gerichte mit Instant-Nudeln</b> |                   |                       |                   |
| <b>Asia-Gerichte</b>                                      | <b>Probenzahl</b> |                       |                   |
| mit Instant-Nudeln  | 50                |                       |                   |
| <b>Gesamtprobenzahl</b>                                   | <b>50</b>         |                       |                   |

Tabelle 3: Übersicht Probenahme zusammengesetzte Lebensmittel.

#### 4.6) Probenaufarbeitung Öle, Fette, Margarine

Die Probenaufarbeitung wurde für verschiedene Matrizes modulhaft gestaltet, so dass viele Arbeitsschritte auch bei unterschiedlichen Analysen identisch verliefen. Für die Abschnitte 4.6 und 4.7 heißt daher „extrahiert“, „geschüttelt“, oder „gewaschen“, dass eine flüssige Mischung für einige Sekunden manuell durch heftiges Schlagen gegen den Handballen oder mittels Vortexmischer durchgemischt wurde. Beim Zentrifugieren wurde jeweils 1 min auf 3000 bis 4000 Umdrehungen pro Minute (RPM) beschleunigt. Schraubdeckelgläser und Pasteurpipetten wurden immer neu eingesetzt. Bei der Verwendung von Pasteurpipetten konnte eine Ausnahme davon gemacht werden, wenn identische Arbeitsschritte nacheinander durchgeführt wurden.

##### *4.6.1) Probenaufarbeitung Öle, Fette, Margarine für die Bestimmung von freiem 2- & 3-MCPD*

1,99 g bis 2,01 g Probe wurde jeweils in ein 12 mL Schraubdeckelglas (SDG) eingewogen. Feste Öle und Fette wurden dafür zuvor aufgeschmolzen, Margarine hingegen fest eingewogen um eine Entmischung zu vermeiden. Es folgte die Zugabe von 100 µL der Standard-Arbeitslösung 2d (d<sub>5</sub>-2-MCPD und d<sub>5</sub>-3-MCPD, je 1,0 µg/mL MCPD-Äquivalent in Methanol) sowie 4 mL einer Mischung von Isohexan/t-BME 4:1 (v,v) u jeder Probe. Die Mischung wurde im verschlossenen Gefäß bis zum vollständigen Lösen der Lipidphase geschüttelt und nachfolgend zweifach mit je 2,5 mL einer wässrigen 60 %-igen Natriumbromidlösung (Lösung 6) extrahiert. Nach einer Zentrifugation wurden die wässrigen Phasen mittels Pasteurpipette abgetrennt, in einem 8 mL SDG vereinigt und mindestens ein- oder zweifach mit 2,5 mL einer Mischung von Isohexan/t-BME 4:1 (v,v) gewaschen, wobei die organische Phase unter Verwendung einer Pasteurpipette abzutrennen und zu verwerfen war. Es folgte die dreifache Extraktion der wässrigen Phase mit je 2 mL Diethylether oder einer Mischung aus Diethylether/Essigsäureethylester 9:1 (v,v). Die organischen Phasen wurden jeweils nach einer Zentrifugation mittels einer Pasteurpipette abgetrennt, in einem 8 mL SDG über einer Spatelspitze Natriumsulfat vereinigt, mit 100 µL einer Phenylboronsäurelösung (Lösung 7) versetzt und im Stickstoffstrom gerade bis zur Trockne eingengt. Für die nachfolgende Messung mittels GC-MS wurde der lösliche Rückstand in 300 µL Isooktan aufgenommen und ein 200 µL Aliquot davon in ein GC-Insert überführt. Innerhalb jeder Analysensequenz wurde sowohl eine Blankprobe als auch eine Referenzprobe mit bekanntem Analytgehalt aufgearbeitet.

#### 4.6.2) Probenaufarbeitung Öle, Fette, Margarine für die Bestimmung von gebundenem und freiem 2- & 3-MCPD sowie gebundenem Glycidol

Die Probenaufarbeitung für die Bestimmung von gebundenem und freiem 2- & 3-MCPD sowie gebundenem Glycidol in Ölen und Fetten wurde bereits an anderer Stelle beschrieben [Kuhlmann, 2016]. Zusammengefaßt besteht sie in der Einwaage von 200 mg +/- 1 mg Probe in ein 4 mL SDG, der Zugabe von 200 µL der Standard-Arbeitslösung 4d (mit 0,5 µg/mL *d*<sub>5</sub>-2-MCPD-Äquivalent, 1,0 µg/mL *d*<sub>5</sub>-3-MCPD Äquivalent und 0,5 µg/mL *d*<sub>5</sub>-Glycidoläquivalent in Toluol) und dem Lösen des Ansatzes in 1,5 mL tBME. Die alkalisch katalysierte Umesterung wurde durch die Zugabe von 700 µL einer methanolischen Natriumhydroxidlösung (Lösung 1) bei minus 26 °C initiiert und nach einer Dauer von 15 h bis 18 h durch die Zugabe von 1,2 mL eines sauren Stoppreagenzes (Lösung 2) beendet. Wenn die Umesterung über das Wochenende durchgeführt wurde, kamen entsprechend verdünnte Reagenzienlösungen (Lösung 2 und 4) zum Einsatz; die Reaktionsdauer entsprach dann 62 h bis 66 h. Zur Isolierung der Analyten wurden die Reaktionsansätze im Anschluss nach dem Entfernen der flüchtigen Lösungsmittel im Stickstoffstrom mehrfach mit je 1 mL Isohexan oder der gleichen Menge einer Mischung von Isohexan/tBME 4:1 (v,v) gewaschen. Pasteurpipetten dienten dem Abtrennen und Verwerfen der organischen Phasen. Es folgte eine dreifache Extraktion der weitgehend matrixfreien wässrigen Phase mit je 2 mL Diethylether oder einer Mischung aus Diethylether/Essigsäureethylester 9:1 (v,v). Die daraus gewonnenen organischen Phasen wurden jeweils nach einer Zentrifugation mittels einer Pasteurpipette abgetrennt, in einem 8 mL SDG über einer Spatelspitze Natriumsulfat vereinigt, mit 30 µL einer Phenylboronsäurelösung (Lösung 7) versetzt und schließlich im Stickstoffstrom gerade bis zur Trockne eingengt. Für die nachfolgende Messung mittels GC-MS wurde der lösliche Rückstand in 300 µL Isooktan aufgenommen und ein 200 µL Aliquot davon in ein GC-Insert überführt. Innerhalb jeder Analysensequenz wurde sowohl eine Blankprobe (Olivenöl extra vergine) als auch eine Referenzprobe mit bekanntem Analytgehalt aufgearbeitet. Zur Bestimmung der unerwünschten Transformation von 3-MCPD zu Glycidol wurde mit jeder Analysensequenz eine sogenannte Transformationsprobe aufgearbeitet, bei der zu Beginn der Aufarbeitung nicht die Standard-Arbeitslösung 4d verwendet wurde, sondern die Zugabe von je 100 µL der Standard-Arbeitslösungen 5d und 6 (*d*<sub>5</sub>-3-MCPD-1,2-dioleylester, 10 µg/mL *d*<sub>5</sub>-3-MCPD-Äquivalent in Toluol und Glycidyloleat, 1 µg/mL Glycidol-Äquivalent in Toluol) erfolgte.

#### *4.6.3) Probenaufarbeitung „5-in-2“-Methode für zusammengesetzte Lebensmittel für die parallele Bestimmung von freiem 2- & 3-MCPD sowie gebundenem 2- & 3-MCPD und gebundenem Glycidol*

1,99 g bis 2,01 g zusammengesetzte Probe (Säuglingsmilchnahrung, Croissants, Donuts, Pommes frites, Asia-Fertiggerichte mit Trockennudeln, Brotaufstriche) wurden in ein 12 mL Schraubdeckelglas (SDG) eingewogen. Homogen vorliegende Lebensmittel wie Säuglingsmilchnahrung und Brotaufstriche wurden direkt eingewogen, heterogene Lebensmittel wie Croissants, Donuts, Pommes Frites wurden zuvor mittels Messermühle homogen vermahlen. Im Falle von Asia-Fertiggerichten mit Trockennudeln wurden zusätzliche Packungsbeilagen wie Würz und Öl-mischungen mit in die Homogenisierung einbezogen. Zu jeder Probe wurden 100 µL der Standard-Arbeitslösung 2d (mit je 1,0 µg/mL MCPD-Äquivalent in Methanol) sowie 200 µL der Standard-Arbeitslösung 3d (mit 5 µg/mL d<sub>5</sub>-2-MCPD-Äquivalent, 10 µg/mL d<sub>5</sub>-3-MCPD-Äquivalent und 5 µg/mL d<sub>5</sub>-Glycidol-Äquivalent in Toluol) und nachfolgend 6 mL +/- 1 mL Methanol zugegeben. Bei Säuglingsmilchnahrung wurde jede Proben einzeln und sofort nach der Methanol-Zugabe gründlich aufgeschlämmt, um ein späteres Verklumpen zu minimieren. Alle Gefäße einer Analysensequenz wurden dann fest verschlossen und liegend in einem Plastikgestell für 15 min im Ultraschallbad bei einer Starttemperatur von 65 °C extrahiert. Nach Zentrifugation wurde der flüssige Überstand jeder Probe mittels Pasteurpipette in ein neues 12 mL SDG überführt und zur Entfernung des Lösungsmittels auf einer auf 70 °C temperierten Bodenplatte in einen Stickstoffstrom gebracht. Während sich die organische Phase einer Probe im Stickstoffstrom befand, wurde der korrespondierende feste Rückstand aus dem ersten Extraktionsschritt mit 6 mL einer Mischung Methanol/tBME 1:1 (v,v) versetzt und aufgeschlämmt. Wenn ein Milchpulversediment nach der ersten HUPsSE-Behandlung verklumpt vorlag, wurde versucht, den Bodensatz nach Zugabe des nächstanstehenden Extraktionslösungsmittels manuell, z. B. mit einem Spatel, aufzubrechen und durch Schütteln fein zu verteilen. Wenn damit keine feinkörnige Aufschlammung erzielt werden konnte, wurde dies durch die Verwendung eines Dispergierwerkzeugs mit besonders kleinem, in die Reaktionsgefäße passendem Stator, bei 24000 RPM realisiert. Die zweite Extraktion wurde analog zur ersten für 15 min im Ultraschallbad bei einer Starttemperatur von 65 °C bis 70 °C durchgeführt. Im Anschluss erfolgte in gleicher Weise wie nach dem ersten Extraktionsschritt eine Zentrifugation und die Abtrennung des Überstandes, der mit den Resten des ersten, noch im Stickstoffstrom befindlichen, Überstandes vereinigt wurde. Abschließend wurde eine analoge Extraktion mit



6 mL tBME durchgeführt, wobei die Starttemperatur des Ultraschallbades zwischen 65 °C und 73 °C liegen konnte. Der hiernach anfallende Überstand wurde zu den Resten der zuvor vereinigten und im Stickstoffstrom befindlichen korrespondierenden Extrakten hinzugegeben und die Lösung ungefähr zur Trockne eingengt. Die Trennung der polaren von der unpolaren Fraktion erfolgte im Anschluss durch die Zugabe von 4 mL gesättigter Natriumsulfatlösung (Lösung 5) und zweifacher Extraktion dieser Mischung mit je 2,5 mL einer Mischung von Isohexan/tBME 4:1 (v,v). Die weitere Aufarbeitung der jeweils nach Zentrifugation sauber ohne wässrige Anteile abgetrennten organischen Isohexan/tBME-Fraktion zur Bestimmung von gebundenem 2- & 3-MCPD sowie gebundenem Glycidol wird später unter 4.6.3.2) beschrieben, während die Aufarbeitung der wässrigen Natriumsulfatlösung, die die freien Analyten enthielt, im nachfolgenden Absatz 4.6.3.2) dargestellt wird.

#### 4.6.3.1) Probenaufarbeitung der polaren Fraktion aus zusammengesetzten Lebensmitteln für die Bestimmung von freiem 2- & 3-MCPD

Die aus der vorangehend unter Abschnitt 4.6.3) erläuterten Fraktionstrennung resultierende wässrige Phase wurde mit 2,5 mL einer Mischung von Isohexan/t-BME 4:1 (v,v) gewaschen und die organische Phase nachfolgend verworfen. Es folgte die dreifache Extraktion der wässrigen Phase mit je 2 mL Diethylether oder einer Mischung aus Diethylether/Essigsäureethylester 9:1 (v,v). Die organischen Phasen wurden jeweils nach einer Zentrifugation mittels einer Pasteurpipette abgetrennt, in einem 8 mL SDG über einer Spatelspitze Natriumsulfat vereinigt, mit 100 µL einer Phenylboronsäurelösung (Lösung 7) versetzt und im Stickstoffstrom gerade bis zur Trockne eingengt. Für die nachfolgende Messung mittels GC-MS wurde der lösliche Rückstand in 300 µL Isooktan aufgenommen und ein 200 µL Aliquot davon in ein GC-Insert überführt. Da bei der Analyse von heterogen zusammengesetzten Lebensmitteln häufig Partikel in den Extrakten auftreten können, wurden die zur Messung anstehenden Aliquote zentrifugiert und im Falle des Auftretens von Sedimenten der klare Überstand in ein frisches Insert umgefüllt. Innerhalb jeder Analysensequenz wurde sowohl eine zur jeweiligen Matrix korrespondierende Blankprobe als auch eine Referenzprobe mit bekanntem Analytgehalt aufgearbeitet.

#### 4.6.3.2) Probenaufarbeitung der Lipidfraktion aus zusammengesetzten Lebensmitteln für die Bestimmung von gebundenem 2- & 3-MCPD und gebundenem Glycidol

Die aus der vorangehend unter Abschnitt 4.6.3) erläuterten Fraktionstrennung resultierenden Isohexan/tBME-Extrakte wurden in einem ausgewogenen 8 mL SDG vereinigt und die Lösungsmittel im Stickstoffstrom abgeblasen. Dieser Vorgang konnte bei Bedarf durch Erhitzen der Bodenplatte auf 40 °C bis 50 °C beschleunigt werden. Die resultierende Fettphase wurde ausgewogen und durch wahlweises Abtrennen überschüssigen Materials oder durch Zugabe von Blankmatrix (Olivenöl extra vergine) auf 450 mg bis 550 mg eingestellt und durch die Zugabe von 3 mL tBME vollständig gelöst. Die alkalisch katalysierte Umesterung erfolgte dann durch die Zugabe von 1,4 mL einer methanolischen Natriumhydroxidlösung (Lösung 1) bei minus 26 °C. Die Reaktion wurde nach einer Dauer von 15 h bis 18 h durch die Zugabe von 2,4 mL eines sauren Stoppreagenzes (Lösung 2) beendet. Wenn die Umesterung über das Wochenende durchgeführt wurde, kamen entsprechend verdünnte Reagenzienlösungen (Lösung 2 und 4) zum Einsatz; die Reaktionsdauer entsprach dann 62 h bis 66 h. Zur Isolierung der Analyten wurden die Reaktionsansätze im Anschluss nach dem Entfernen der flüchtigen Lösungsmittel im Stickstoffstrom mehrfach unter Verwendung von je 2 mL bis 3 mL Isohexan oder der gleichen Menge einer Mischung von Isohexan/tBME 4:1 (v,v) gewaschen. Pasteurpipetten dienten dem Abtrennen und Verwerfen der organischen Phasen. Es folgte eine dreifache Extraktion der weitgehend matrixfreien wässrigen Phasen mit je 2 mL Diethylether oder einer Mischung aus Diethylether/Essigsäureethylester 9:1 (v,v). Die organischen Phasen wurden jeweils nach einer Zentrifugation mittels einer Pasteurpipette abgetrennt, in einem 8 mL SDG über einer Spatelspitze Natriumsulfat vereinigt, mit 100 µL einer Phenylboronsäurelösung (Lösung 7) versetzt und im Stickstoffstrom gerade bis zur Trockne eingeeengt. Für die nachfolgende Messung mittels GC-MS wurde der lösliche Rückstand jeweils in 300 µL Isooktan aufgenommen und ein 200 µL Aliquot davon in ein GC-Insert überführt. Da bei der Analyse von heterogen zusammengesetzten Lebensmitteln häufig Partikel in den Extrakten auftreten können, wurden die zur Messung anstehenden Aliquote zentrifugiert und im Falle des Auftretens von Sedimenten der klare Überstand in ein frisches Insert umgefüllt. Innerhalb jeder Analysensequenz wurde sowohl eine die Matrix repräsentierende Blankprobe als auch eine korrespondierende Referenzprobe mit bekanntem Analytgehalt aufgearbeitet. Zur Bestimmung der unerwünschten Transformation von 3-MCPD zu Glycidol wurde mit jeder Analysensequenz eine analytfreie Blankprobe (die sogenannte Transformationsprobe)

aufgearbeitet, bei der zu Beginn der Aufarbeitung nicht die Standard-Arbeitslösung 3d verwendet wurde, sondern die Zugabe von je 100 µL der Standard-Arbeitslösungen 5d und 6 (*d<sub>5</sub>-3-MCPD-1,2-dioleoylester, 10 µg/mL d<sub>5</sub>-3-MCPD-Äquivalent in Toluol und Glycidylester, 1 µg/mL Glycidol-Äquivalent in Toluol*).

#### 4.7) GC-MS Analyse

Grundsätzlich verlief die GC-MS Analyse der freien und gebundenen Analyten hinsichtlich des verwendeten Messsystems, des Messprogramms und der Datenauswertung identisch, da auch die gebundenen MCPD- und Glycidyl-derivate für die Messung in die freien Formen überführt wurden. Die Messbedingungen sind in detaillierter Form veröffentlicht [Kuhlmann, 2011; AOCS Cd 29b-13]. Unterschiede zu den beschriebenen Verfahren liegen allein darin, dass bei der Auswertung der Messung auf freies 2- & 3-MCPD die Erfassung von Signalen für Glycidyl-derivate nicht beinhaltet war, obwohl dies messtechnisch möglich gewesen wäre. An dieser Stelle erschien ein solches Vorgehen aber nicht als sinnvoll, weil das Vorkommen von freiem Glycidol in Lebensmitteln als ausgesprochen unwahrscheinlich anzusehen ist und eine entsprechende Analytik nicht Bestandteil des hier berichteten Projektes war.

Die Datenauswertung unterscheidet sich von der klassischen AOCS Cd 29b-13 (SGS „3-in-1“-Methode) nur in der Vereinfachung, dass die Korrektur der Glycidolrohwerte nicht für jede Probe durch eine individuelle Messung, sondern über die Bestimmung repräsentativer Transformationsfaktoren pro Analysensequenz erfolgte [Kuhlmann, 2015]. Grundsätzlich wurden also alle freien oder gebundenen Analyten über eine interne 1-Punkt-Kalibrierung quantifiziert. Hierfür wurde die Data Analysis Software, die Bestandteil des Messsystems war, verwendet. Die in der Software hinterlegte Berechnung entsprach der allgemein üblichen Form der Quantifizierung von chromatographischen Analytsignalen bei dem Vorliegen von Signalen isopenmarkierter interner Standards mit gleichen Responseeigenschaften:

$$\omega_{\text{Analyt A}} = \frac{\text{Signalfläche}_{\text{Analyt A}} \cdot \omega_{\text{interner Standard d5-A}}}{\text{Signalfläche}_{\text{interner Standard d5-A}}}$$

Hierin bedeutet:

$\omega$ : Stoffmenge (in mg/kg für die gebundenen Analyten und in µg/kg für die freien Analyten).

Analyt A: 2-MCPD oder 3-MCPD oder Glycidol.

Bei der Glycidolbestimmung resultierte aus dieser Berechnung ein Rohwert, der nachfolgend unter Verwendung eines Transformationsfaktors um den Betrag reduziert wurde, der sich aus der anteiligen Umwandlung von gegebenenfalls parallel in der Probe auftretendem 3-MCPD in induziertes Glycidol ergab.

Die Bestimmung des Transformationsfaktors als Maß für den Anteil induzierten Glycidols, dass bei der Probenaufarbeitung aus 3-MCPD entstanden ist, erfolgte für jede Analysensequenz aus den Messungen der **Transformationsproben** über folgende Gleichungen:

$$W_{\text{induziertes Glycidol-d5}} = \frac{SA_{\text{induziertes Glycidol-d5}} \times W_{\text{Glycidol-Tf}}}{SA_{\text{Glycidol-Tf}}}$$

|                  |                                       |  |
|------------------|---------------------------------------|--|
| Hierin bedeutet: | $W_{\text{induziertes Glycidol-d5}}$  | Stoffmenge induziertes Glycidol-d <sub>5</sub> , in mg/kg                                  |
|                  | $W_{\text{Glycidol-Tf}}$              | Stoffmenge Glycidol in Tf-Probe, in mg/kg  |
|                  | $SA_{\text{induziertes Glycidol-d5}}$ | Signalfläche induziertes Glycidol-d <sub>5</sub> (via 3-MBPD-d <sub>5</sub> - PBA-Derivat) |
|                  | $SA_{\text{Glycidol}}$                | Signalfläche Glycidol in Tf-Probe (via 3-MBPD - PBA-Derivat)                               |

$$Tf = \frac{W_{\text{induziertes Glycidol-d5}}}{W_{\text{3-MCPD-d5}}}$$

|                  |                                      |   |
|------------------|--------------------------------------|---|
| Hierin bedeutet: | Tf                                   | Transformationsfaktor                                     |
|                  | $W_{\text{induziertes Glycidol-d5}}$ | Stoffmenge induziertes Glycidol-d <sub>5</sub> , in mg/kg |
|                  | $W_{\text{3-MCPD-d5}}$               | Stoffmenge 3-MCPD-d <sub>5</sub> , in mg/kg               |

Die Korrektur der Glycidolrohwerte aus den Analysen der Lebensmittelproben wurde über folgende Rechnung realisiert:

$$\omega_{\text{Glycidol}} = \omega_{\text{Glycidol-Rohwert}} - (\omega_{\text{3-MCPD}} \cdot TF)$$

Hierin bedeutet:       $\omega$ : Stoffmenge in mg/kg      Tf: Transformationsfaktor

#### 4.8) Methodenvalidierung

Für die in den vorangehenden Absätzen beschriebene Methodik erfolgte eine in-house Validierung für verschiedene Matrizes. Besondere Aufmerksamkeit wurde dabei auf Säuglingsmilchnahrung gerichtet, weil hier die Ergebnisse als besonders relevant angesehen wurden. Zudem besteht bei dieser Matrix die Schwierigkeit, dass ein Großteil des enthaltenen Fettes und damit auch die gebundenen Analyten in einer Form gebunden sind, die sich der normalen Extraktion entziehen. Damit wäre es zwecklos ein Blankmaterial für Validierungszwecke mit den gebundenen Analyten zu dotieren, weil diese im Gegensatz zu den tatsächlich in den Proben vorkommenden Verbindungen einfach zu extrahieren wären. Aus diesem Grund erfolgte die Bestimmung der Linearität der Analysenmethode, indem eine belastete Handelsware in definierten Anteilen mit einem unbelasteten Milchpulver, das auch als Blankmaterial diente, vermischt wurde. Aus diesem Grunde wurden für Milchpulver auch keine Wiederfindungsraten bestimmt, weil die tatsächlichen Gehalte nicht bekannt waren. Durch die homogene Verteilung der internen Standards bei der HUPsS-Extraktion und dem Ansatz der internen 1-Punkt-Kalibrierung können unter Berücksichtigung der in der Vergangenheit erzielten Ergebnisse bei anderen Matrizes nahezu quantitative Wiederfindungen erwartet werden. Dies wurde durch die vielfache Messung eines Referenzmaterials aus einer Methodenvalidierungsstudie bestätigt (siehe Abschnitt 5.1). Da freies 2- und 3-MCPD üblicherweise nicht in Milchpulvern vorkommt und aufgrund seiner molekularen Struktur im Gegensatz zu den gebundenen Analyten leicht extrahierbar sein sollte, erfolgte die Validierung hier durch Aufdotieren, wobei stellvertretend auch für andere Matrizes bewußt ein worst-case Szenario herbeigeführt wurde, indem die Proben mit abnehmenden Gehalt an gebundenen Analyten zunehmend höhere Gehalte an freien Analyten zudotiert bekamen. Auf diese Weise konnte sichergestellt werden, dass kein relevanter carry-over der freien Analyten in die Fraktion der gebundenen Analyten erfolgte.

Die Methodenvalidierung für die gebundenen Analyten in Ölen und Fetten wurde bereits detailliert veröffentlicht [Kuhlmann, 2016]. Die Validierung für die freien Analyten in der gleichen Matrix wurde separat durch Aufdotieren von analytfreiem Glycerin mit den Referenzsubstanzen realisiert. Diese Matrix ist nicht identisch mit reinen Ölen und Fetten, wurde aber identisch aufgearbeitet und reflektierte besser emulgatorhaltige Proben, wie Margarinen es sein können. Diese Validierung spielte für die Praxis eine untergeordnete Rolle, weil die freien Analyten bei der Raffination von Ölen und Fetten entfernt werden und daher nicht darin zu erwarten waren. Tatsächlich wurde in den im Rahmen dieses Projektes

untersuchten raffinierten Ölen und vergleichbaren Matrices keine relevanten Mengen an freiem MCPD detektiert.

Für die Validierung der zusammengesetzten Lebensmittel mit leicht extrahierbarem Öl- und Fettanteilen diente schließlich eine Butterkeks-Blankmatrix die in verschiedenen Konzentrationen mit den freien und gebundenen Analyten dotiert wurde.

Die Bestimmungsgrenzen wurden definiert als die Konzentrationen, bei denen ein Signal/Rausch-Verhältnis  $\geq 9$  vorlag. Um die Rohdatenanalyse und vor allem die Ergebnisübermittlung als auch die statistische Auswertung zu erleichtern, wurde bei den gebundenen Analyten und den freien Verbindungen jeweils die matrixbedingt höchsten Bestimmungsgrenzen auch für alle anderen Matrices auf den gleichen Wert festgelegt (je 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  für alle gebundenen Analyten, je 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  für alle freien Analyten). Die Detektionsgrenzen, bei denen ein Signal/Rausch-Verhältnis  $\geq 3$  zugrunde gelegt wurde, lagen überwiegend bei je 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  für alle gebundenen Analyten und je 3  $\mu\text{g}/\text{kg}$  für alle freien Analyten. Da eine Berücksichtigung der Detektionsgrenzen inklusive aller Ausreißer den Rahmen dieses Projektes gesprengt hätte, gleichzeitig aber die tatsächlich erreichten Bestimmungsgrenzen bei den gebundenen Analyten um den Faktor 2,5 niedriger als die ursprünglichen Vorgaben realisiert werden konnten, wurden die Detektionsgrenzen in der Auswertung nicht weiter berücksichtigt. Die im Kapitel 5 vorgestellten Ergebnisse zeigen zudem, dass ihre Berücksichtigung keinen signifikanten Einfluß auf die Gesamtergebnisse gehabt hätten.

Die aus den Methodvalidierungen hervorgegangenen Kenndaten werden in tabellarischer Form zusammen mit der Übersicht der Ergebnisse in Kapitel 5 aufgeführt um den direkten Bezug zwischen den bestimmten Analytkonzentrationen und den Methodenkenndaten zu ermöglichen. Die dabei ebenfalls aufgeführten Präzisionsdaten wurden nicht aus der Methodvalidierung abgeleitet, sondern, um den zeitlichen Bezug zu den Messungen für dieses Projekt zu gewährleisten, aus den parallel erfolgten qualitätssichernden Bestimmungen.

#### 4.9) Adaptionen für die Praxis

Das in den vorangehenden Abschnitten beschriebene Vorgehen wurde in bestimmten Fällen modifiziert. Dies war beispielsweise nötig, wenn Analytkonzentrationen auftraten, die außerhalb des kalibrierten Bereiches lagen. In diesen Fällen wurden Wiederholanalysen durchgeführt, in denen die Konzentrationen der internen Standardsubstanzen erhöht wurden

(beispielsweise Verwendung der Arbeitslösung 3d anstelle von 4d). Alternativ wurden Proben mit extrem hohen Analytgehalten mit Blankmatrix verdünnt, um in einen linearen Messbereich zu kommen. Ein typisches Verfahren war beispielsweise 100 mg eines hochbelasteten Öls mit analytfreiem nichtraffiniertem Olivenöl auf 1 g aufzufüllen, die Mischung durch Schütteln gründlich zu homogenisieren und davon ein Aliquot als 10-fache Verdünnung der ursprünglichen Probe entsprechend der Arbeitsvorschrift zu analysieren.

Grundsätzlich wurden auffällige Befunde, wie beispielsweise das unerwartete Auftreten von Analyten, durch Wiederholmessungen abgesichert. Dies konnte beispielsweise die Detektion von freiem MCPD in Ölen, Fetten oder Margarineproben sein oder das Auftreten von gebundenen Analyten in nichtraffinierten Matrices.

## **5.) Ausführliche Darstellung der Ergebnisse**

Im Kern sollte das hier vorgestellte Projekt Daten zum Vorkommen von 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen in ausgewählten relevanten Lebensmittelgruppen zum Zwecke einer verbesserten Expositionsabschätzung liefern. Planungsgemäß wurden mindestens 1050 Lebensmittelproben auf 5 unterschiedliche Analyten, also freies 2- & 3-MCPD sowie gebundenes 2- & 3-MCPD und gebundenes Glycidol untersucht. Die daraus resultierenden 5250 Datenpunkte wurden nach statistischen Gesichtspunkten für alle untersuchten Lebensmittelgruppen ausgewertet. Die Ergebnisse hieraus werden in den nachfolgenden Abschnitten dargestellt und erläutert. Um die analytischen Befunde hinsichtlich der jeweils eingesetzten analytischen Methodik ebenfalls bewerten zu können, werden die im Rahmen der laufenden Qualitätssicherung gewonnenen Daten ebenso wie die der Validierung direkt in den einzelnen Abschnitten mit aufgeführt. Für alle Lebensmittelgruppen sind neben der Zahl der Gesamtdatensätze sowie für jeden Analyten einzeln die Zahl der Positivbefunde > LOQ, die Minimal- und Maximalwerte, das 90-te und das 95-te Perzentil (P90 und P95) sowie die Mittel- und Medianwerte aufgeführt. Auf Wunsch des BfR wurden letztere dabei sowohl nach dem lower-bound Ansatz berechnet, in dem alle Messwerte unter der Bestimmungsgrenze auf 0 gesetzt werden, als auch nach dem upper-bound Ansatz, in dem alle Messwerte unter der Bestimmungsgrenze auf den Wert der Bestimmungsgrenze gesetzt werden. Bei Datensätzen in denen keine oder eine verschwindend geringe Zahl von Werten unter der Bestimmungsgrenze vorlagen, bestanden praktisch keine Unterschiede zwischen den Ergebnissen aus dem upper bound oder lower bound Ansatz. Hier wurde aus Gründen der verbesserten Übersichtlichkeit nur ein Wert berichtet. Alle tabellarisch berichteten Analytgehalte beziehen

sich immer auf die Lebensmittel als solche, also nicht auf den Öl- oder Fettanteil bei zusammengesetzten Lebensmitteln. Nur bei der Bewertung der Daten wurde in Einzelfällen von den Analytgehalten in zusammengesetzten Produkten die Gehalte in den zugrunde liegenden Öl- oder Fettanteilen abgeschätzt, dies allerdings in jedem Fall ausdrücklich gekennzeichnet. Dieses Vorgehen diente dazu, hoch belastete Öle und Fette zu identifizieren, die bei der Lebensmittelproduktion oder -zubereitung eingesetzt worden sein könnten. Als hoch belastet definieren wir Öle und Fette mit Glycidolgehalten über 1 mg/kg und 3-MCPD-Gehalten über 2 mg/kg.

### 5.1) Ergebnisübersicht Säuglingsmilchnahrung

Insgesamt werden die analytischen Ergebnisse zu 221 Proben Säuglingsmilchnahrung berichtet. Darunter waren 119 Proben Säuglingsmilchnahrung 1 und 102 Proben Säuglingsmilchnahrung PRE. Bei den Produkten K-1, N-1, N-PRE erfolgten während der Projektlaufzeit so wenig Chargenwechsel, dass nur 2 bis 6 anstelle von 10 Chargen beprobt werden konnten. Zu dem Produkt H-1 war die korrespondierende PRE Nahrung gar nicht verfügbar. Die in dieser Produktgruppe bestimmten Analytgehalte sind nachfolgend in Tabelle 4 dargestellt:

| <b>Vorkommen von 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen in Säuglingsmilchnahrung</b> |                            |                          |                          |                      |                      |
|---|----------------------------|--------------------------|--------------------------|----------------------|----------------------|
| <b>221 Datensätze</b>   | <b>gebundenes Glycidol</b> | <b>gebundenes 3-MCPD</b> | <b>gebundenes 2-MCPD</b> | <b>freies 3-MCPD</b> | <b>freies 2-MCPD</b> |
| <b>Messwerte &lt; LOQ, abs.</b>   | <b>122</b>                 | <b>0</b>                 | <b>4</b>                 | <b>221</b>           | <b>221</b>           |
| <b>Messwerte &gt; LOQ, abs.</b>   | <b>99</b>                  | <b>221</b>               | <b>217</b>               | <b>0</b>             | <b>0</b>             |
| <b>Messwerte &gt; LOQ, rel.</b>   | <b>45%</b>                 | <b>100%</b>              | <b>98%</b>               | <b>0%</b>            | <b>0%</b>            |
| <b>LOQ [µg/kg]</b>  | <b>10</b>                  | <b>10</b>                | <b>10</b>                | <b>5</b>             | <b>5</b>             |
| <b>Minimum [µg/kg]</b>  | <b>&lt; 10</b>             | <b>20</b>                | <b>&lt; 10</b>           | <b>&lt; 5</b>        | <b>&lt; 5</b>        |
| <b>Median lb [µg/kg]</b>  | <b>0</b>                   | <b>103</b>               | <b>38</b>                | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| <b>Median ub [µg/kg]</b>  | <b>10</b>                  | <b>103</b>               | <b>38</b>                | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| <b>Mittel lb [µg/kg]</b>  | <b>27</b>                  | <b>137</b>               | <b>53</b>                | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| <b>Mittel ub [µg/kg]</b>  | <b>32</b>                  | <b>137</b>               | <b>54</b>                | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |



|   |            |             |            |             |             |
|---|------------|-------------|------------|-------------|-------------|
| <b>P90 [µg/kg]</b>  | <b>74</b>  | <b>227</b>  | <b>97</b>  | <b>k.A.</b> | <b>k.A.</b> |
| <b>P95 [µg/kg]</b>  | <b>154</b> | <b>270</b>  | <b>108</b> | <b>k.A.</b> | <b>k.A.</b> |
| <b>Max [µg/kg]</b>  | <b>536</b> | <b>1197</b> | <b>606</b> | <b>k.A.</b> | <b>k.A.</b> |
| Daten zur Qualitätssicherung  |            |             |            |             |             |
| Referenz A [µg/kg]  | 10         | 332         | 145        | < 5         | < 5         |
| RSD, n = 19   | 12%        | 3%          | 3%         | k.A.        | k.A.        |
| Referenz B [µg/kg]  | 25         | 331         | 146        | < 5         | < 5         |
| RSD, n = 11   | 13%        | 6%          | 3%         | k.A.        | k.A.        |
| Blank A, n = 24   | < LOQ      | < LOQ       | < LOQ      | < LOQ       | < LOQ       |
| Validierungsdaten für die Matrix Kindersäuglingsnahrung (Milchpulver)   |            |             |            |             |             |
| r <sup>2</sup>  | 0,9978     | 0,9989      | 0,9984     | 0,9983      | 0,9983      |
| c <sub>v</sub> [µg/kg], n <sub>v</sub> = 5-10   | 45-450     | 120-1200    | 60-600     | 2,5-45      | 2,5-45      |
| r <sup>2</sup>  | 0,9993     | 0,9994      | 0,9995     | 0,9981      | 0,9982      |
| c <sub>v</sub> [µg/kg], n <sub>v</sub> = 10   | 5,5-55     | 9-90        | 2,8-28     | 50-275      | 50-275      |
| rel.: relativ; abs.: absolut; lb: lower bound; up: upper bound; k.A.: keine Auswertung  |            |             |            |             |             |
| RSD: Relative Standardabweichung, r <sup>2</sup> : Korrelationskoeffizient,<br>c <sub>v</sub> : Konzentrationsbereich der Validierung; n <sub>v</sub> : Zahl Konzentrationsstufen |            |             |            |             |             |

Tabelle 4: Ergebnisübersicht Säuglingsmilchnahrung

Grundsätzlich verlief die Analyse aller untersuchten Säuglingsmilchnahrungsprodukte störungsfrei. Es traten in keinem Fall Interferenzen oder auffällige Messergebnisse auf, und es war in keinem Fall die Anhebung der Quantifizierungsgrenzen nötig. Als Referenzproben dienten 2 Abfüllungen Säuglingsmilchnahrung, die der BfR-Methodenvalidierung zur Bestimmung von MCPD-Fettsäureestern in fetthaltigen Lebensmitteln entstammten [Fry et al.: 2013]. Diese Abfüllungen unterschieden sich nur hinsichtlich ihrer Gehalte an gebundenem Glycidol. Das Vorliegen dieses Referenzmaterials kann als einzigartig angesehen werden, da bisher keine weiteren offiziellen Methodenvalidierungen mit dieser Matrix oder anderen zusammengesetzten Lebensmitteln veröffentlicht wurden. Die vom BfR für das Referenzmaterial P1 festgestellten Werte betragen seinerzeit 1,30 mg/kg gebundenes 3-MCPD und 0,64 mg/kg gebundenes 2-MCPD, jeweils bezogen auf die Fettphase und bei einem Fettanteil von 24,5 %; die Glycidolgehalte wurden nicht ermittelt [Fry et al.: 2013]. Daraus ergeben sich rechnerisch Erwartungswerte von 319 µg/kg 3-MCPD und 157 µg/kg 2-

MCPD, bezogen auf die Gesamtprobe. Gemessen an der methodischen Unsicherheit der damaligen Zeit und der mehrjährigen Lagerdauer der Probe können diese Werte natürlich nur als grobe Orientierung dienen. Die im Rahmen dieser Studie erzielte Übereinstimmung der Messwerte mit den Erwartungswerten kann jedoch als sehr zufriedenstellend gesehen werden und belegt eine gute Vergleichbarkeit der Ergebnisse, die ja mit grundsätzlich verschiedenen Methoden erzielt wurden. Das Fehlen von freiem 3-MCPD im Referenzmaterial spielte keine Rolle, da dies ebenso für alle untersuchten Milchpulverproben galt. Die aus den tagesaktuell wiederholten Aufarbeitungen der Referenzproben abgeleiteten relativen Standardabweichungen lagen für gebundenes 2- und 3-MCPD jeweils sehr niedrig im einstelligen Bereich (3 % - 6 %), obwohl ein mehrmonatiger Messzeitraum vorlag und verschiedene Aufarbeiter die Analytik durchführten. Die Bestimmung der Referenz-Glycidolgehalte knapp über oder an der Bestimmungsgrenze zeigte eine größere Schwankungsbreite (RSD = 12 % - 13 %), was mutmaßlich nicht nur durch die zunehmende Messunsicherheit bei geringen Konzentrationen verursacht worden sein sollte, sondern auch durch den Effekt, dass wie in der Einleitung ausgeführt, bei alkalischer Umesterung die Ergebnisunschärfe niedriger Glycidolgehalte bei gleichzeitig hohen 3-MCPD-Werten zunimmt. Bei Blank A handelte es sich um ein weitgehend analytfreies Milchpulver ausländischer Herkunft. Die genaue Quelle und Handelsbezeichnung blieb unbekannt.

Die untersuchten Säuglingsmilchnahrungsprodukte zeigten teilweise eine erhebliche Streubreite hinsichtlich der Analytverteilung. In keiner Probe konnte freies MCPD über der Bestimmungsgrenze nachgewiesen werden. Dies entsprach den Erwartungen, da weder durch die üblichen Inhaltsstoffe noch durch die Produktionsbedingungen bei der Herstellung von Milchpulver das Vorkommen der freien Verbindungen wahrscheinlich war. Demgegenüber war gebundenes 2- und 3-MCPD in Säuglingsmilchnahrung praktisch ubiquitär vertreten, nur in 4 von 221 Proben fand sich 2-MCPD knapp unter der Bestimmungsgrenze. Allerdings zeigen die Werte für das 90-te und 95-te Perzentil im Bezug auf die Mittel- und Medianwerte, dass die Schwankungsbreite der Gehalte an gebundenem MCPD in Säuglingsmilchnahrung geringer ist als in anderen Lebensmitteln, was auf eine intensivere Kontrolle der Produktionsbedingungen bzw. strengere Auswahl der Rohprodukte schließen lässt. Anders stellt sich die Situation hinsichtlich des Auftretens von gebundenem Glycidol in Säuglingsmilchnahrung dar. Hier lagen in der Mehrzahl der Proben die Gehalte unter 10 µg/kg, der Bestimmungsgrenze der Methode. Zumeist lagen die gemessenen Glycidolkonzentrationen um mehrere Faktoren oder sogar um Größenordnungen niedriger als die des parallel

auftretenden 3-MCPDs. Bei dem vorliegenden großen Anteil an Befunden  $< \text{LOQ}$  für Glycidol ist die Fragestellung relevant, ob insbesondere die Medianwerte nach einem lower bound Ansatz oder einem upper bound Ansatz ermittelt werden. In der Auswertung wurden beide Ansätze vergleichend berücksichtigt. Um die Frage zu beantworten, welches Szenario realistischer ist, wurden abgeschätzt, welche Größenordnung die Signale unter der Bestimmungsgrenze aufwiesen. Tatsächlich konnte eine relativ symmetrische Verteilung von Werten ganz knapp unter der Bestimmungsgrenze bis hin zu dem völligen Fehlen von Signalen ermittelt werden. Aus diesem Blickwinkel heraus wäre hier eine middle-bound Berechnung gerechtfertigt. Berücksichtigt man, dass im Falle des gebundenen Glycidols bei Gehalten  $> 17 \mu\text{g/kg}$  der MoE von 10000 unterschritten würde, wie in der Einleitung vorgestellt [BfR: 2009], gilt also für den Zeitraum der Datenerhebung, dass dies für die Mehrzahl der auf dem Markt befindlichen Produkte Säuglingsmilchnahrung nicht der Fall war. Bei der Betrachtung inwieweit die Gehalte der gebundenen Analyten korrelierten, zeigte sich, dass das Verhältnis zwischen den beiden MCPD-Isomeren über alle Proben betrachtet sehr stabil war. 2-MCPD machte im Durchschnitt etwa 27 % des Gesamt-MCPD-Gehaltes einer Probe aus (RSD 20 %). Dies ist ein typisches Verhältnis, wie es in raffinierten Ölen und Fetten, die keinen extremen Deodorisierungstemperaturen ausgesetzt wurden, angetroffen werden kann [Kuhlmann: 2016]. Hingegen korrelierten die Glycidolgehalte wenig mit den MCPD-Werten. Allenfalls ließ sich die grobe Tendenz feststellen, dass Produkte mit besonders hohen Konzentrationen an gebundenem Glycidol auch durchschnittlich erhöhte MCPD-Gehalte aufwiesen. Aus diesem Grunde muss eine Auswertung, ob die höchsten Analytgehalte ( $> \text{P90}$ ) bestimmten Herstellern oder Produktionszeiträumen zuzuordnen sind, nach Analyten differenziert werden. Für die hohen Glycidolgehalte ließ sich eine klare Abhängigkeit zu 2 Herstellern feststellen, wobei in einem Fall sämtliche Chargen ein Mindesthaltbarkeitsdatum (MHD) für das Jahr 2016 auswiesen, während jüngere Chargen mit einem MHD für 2017 deutlich niedrigere Glycidolmengen enthielten. Die Zuordnung bestimmter Hersteller oder Produktionszeiträume zu den höchsten gefundenen MCPD-gehalten war weniger eindeutig. Wieder war der Hersteller, in dessen Produkten die höchsten Glycidolgehalte gefunden wurden, zu über 50 % bei den Proben vertreten, die beim gebundenen MCPD das 90-te Perzentil überschritten.

## 5.2) Ergebnisübersicht raffinierte Pflanzenöle (Speiseöle)

Entsprechend dem Probenahmeplan wurden 180 pflanzliche Speiseöle untersucht. Es traten aus analytischer Sicht keinerlei Störungen auf. Die Hauptmenge mit 50 Proben bzw. 58 Proben entfiel auf raffinierte Raps- und Sonnenblumenöle, die in Deutschland einen hohen Marktanteil haben. Weiterhin wurden 20 Olivenöle und 10 Maiskeimöle als häufige Ölsorten getestet. 42 Proben bestanden vorwiegend aus verschiedenen Saat- und Fruchtölen (in abnehmender Reihenfolge: Sesam, Erdnuss, Traubenkern, Distel, Haselnuss, Walnuss, Lein, Soja, Palm-rot, Weizenkeim, Kürbiskern). Es wurden – je nach Marktverfügbarkeit – nicht nur konventionelle Waren, sondern auch Bio-Produkte in die Untersuchung einbezogen. Der genaue Probenschlüssel ist in Tabelle 2 aufgeführt. Lein- und Kürbiskernöle konnten nur in nicht-raffinierter Form im Handel bezogen werden. Nach unserem Kenntnisstand kommen diese Öle in reiner Form grundsätzlich nicht raffiniert in den Handel, weil ansonsten ihr Geschmack und die wertvollen Inhaltsstoffe fehlen würden. Damit beziehen sich die in Tabelle 5 dargestellten Ergebnisse nicht ausschließlich auf raffinierte pflanzliche Öle, sondern in 5 Fällen auch auf nichtraffinierte Produkte.

| <b>Vorkommen von 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen in Pflanzenölen<br/>(Speiseöle)</b> |                                |                              |                              |                          |                          |
|--|--------------------------------|------------------------------|------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <b>180 Datensätze</b>  | <b>gebundenes<br/>Glycidol</b> | <b>gebundenes<br/>3-MCPD</b> | <b>gebundenes<br/>2-MCPD</b> | <b>freies<br/>3-MCPD</b> | <b>freies<br/>2-MCPD</b> |
| Messwerte < LOQ, abs.  | <b>5</b>                       | <b>4</b>                     | <b>9</b>                     | <b>178</b>               | <b>180</b>               |
| Messwerte > LOQ, abs.  | <b>175</b>                     | <b>176</b>                   | <b>171</b>                   | <b>2</b>                 | <b>0</b>                 |
| Messwerte > LOQ, rel.  | <b>97%</b>                     | <b>98%</b>                   | <b>95%</b>                   | <b>1%</b>                | <b>0%</b>                |
| LOQ [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>10</b>                      | <b>10</b>                    | <b>10</b>                    | <b>5</b>                 | <b>5</b>                 |
| Minimum [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>&lt; 10</b>                 | <b>&lt; 10</b>               | <b>&lt; 10</b>               | <b>&lt; 5</b>            | <b>&lt; 5</b>            |
| Median lb = ub [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>291</b>                     | <b>297</b>                   | <b>125</b>                   | <b>&lt; 5</b>            | <b>k.A.</b>              |
| Mittel lb = ub [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>396</b>                     | <b>609</b>                   | <b>274</b>                   | <b>&lt; 5</b>            | <b>k.A.</b>              |
| P90 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>862</b>                     | <b>1213</b>                  | <b>552</b>                   | <b>&lt; 5</b>            | <b>k.A.</b>              |
| P95 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>1340</b>                    | <b>1556</b>                  | <b>680</b>                   | <b>&lt; 5</b>            | <b>k.A.</b>              |
| Max [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>1798</b>                    | <b>20935</b>                 | <b>9770</b>                  | <b>11</b>                | <b>k.A.</b>              |
| <b>Daten zur Qualitätssicherung</b>  |                                |                              |                              |                          |                          |
| Referenz C [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | 637                            | 522                          | 226                          | < 5                      | < 5                      |
| <b>RSD, n = 42</b>   | <b>2%</b>                      | <b>2%</b>                    | <b>3%</b>                    | <b>k.A.</b>              | <b>k.A.</b>              |
| Referenz D [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | < 10                           | < 10                         | < 10                         | 9,4                      | 9,1                      |
| <b>RSD, n = 24</b>   | <b>k.A.</b>                    | <b>k.A.</b>                  | <b>k.A.</b>                  | <b>6%</b>                | <b>5%</b>                |
| Referenz E [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | < 10                           | < 10                         | < 10                         | 5,2                      | 5,4                      |
| <b>RSD, n = 10</b>   | <b>k.A.</b>                    | <b>k.A.</b>                  | <b>k.A.</b>                  | <b>6%</b>                | <b>7%</b>                |
| Blank C, n = 42  | < LOQ                          | < LOQ                        | < LOQ                        | < LOQ                    | < LOQ                    |
| rel.: relativ; abs.: absolut; lb: lower bound; up: upper bound; k.A.: keine Auswertung         |                                |                              |                              |                          |                          |

| Validierungsdaten für die Matrix Öle, Fette, Margarine  |            |            |            |          |          |
|---|------------|------------|------------|----------|----------|
| r <sup>2</sup>  | 0,9999     | 0,9999     | 0,9998     |          |          |
| c <sub>v</sub> [µg/kg], n <sub>v</sub> = 8  | 10 - 100   | 10 - 100   | 10 - 100   |          |          |
| Wiederfindung rel. [%]  | 99 +/- 2   | 98 +/- 4   | 100 +/- 2  |          |          |
| r <sup>2</sup>  | 0,9984     | 0,9997     | 0,9999     | 0,9991   | 0,9988   |
| c <sub>v</sub> [µg/kg], n <sub>v</sub> = 7/9  | 100 - 2000 | 100 - 2000 | 100 - 2000 | 50       | 1000     |
| Wiederfindung rel. [%]  | 99 +/- 3   | 99 +/- 2   | 99 +/- 2   | 96 +/- 7 | 98 +/- 3 |
| rel.: relativ; abs.: absolut; lb: lower bound; up: upper bound; k.A.: keine Auswertung  |            |            |            |          |          |
| RSD: Relative Standardabweichung, r <sup>2</sup> : Korrelationskoeffizient,<br>c <sub>v</sub> : Konzentrationsbereich der Validierung; n <sub>v</sub> : Zahl Konzentrationsstufen |            |            |            |          |          |

Tabelle 5: Ergebnisübersicht Pflanzenöle (Speiseöle)

Die tabellarische Übersicht zeigt, dass gebundenen Analyten in allen raffinierten Ölen über der Bestimmungsgrenze gefunden wurden. Gebundenes 3-MCPD trat mit Werten > 10 µg/kg in allen Produkten, die ganz oder in Teilen raffiniert waren, auf, sowie in einem nichtraffinierten Kürbiskernöl. In einigen Rapsölen wurde gebundenes Glycidol und gebundenes 2-MCPD jeweils knapp unter der Quantifizierungsgrenze gefunden. *Vice versa* fehlten die gebundenen Kontaminanten erwartungsgemäß in den nichtraffinierten Ölen. Eine Ausnahme machte hier das geröstete Kürbiskernöl bei dem 11 µg/kg gebundenes 3-MCPD detektiert wurden. Als sehr naheliegende Ursache für diesen Befund ist der Röstprozess anzusehen.

Die Speiseöle stellten eine Produktgruppe mit sehr unterschiedlichen Belastungen, insbesondere hinsichtlich des gebundenen 3-MCPDs dar. Einerseits haben bestimmte Öle, wie z.B. Rapsöle, im Durchschnitt eine relativ niedrige Belastung, während andere Sorten im Einzelfall deutlich größere Analytmengen zeigen. Dies drückt sich in einer großen Differenz zwischen den Median- und den Mittelwerten aus. In der hier untersuchten Produktgruppe zeigten sich die Werte für gebundenes Glycidol erwartungsgemäß relativ niedrig – z. B. im Vergleich zu raffiniertem Palmöl oder Palmfett. Mehr als 80 % der Befunde lagen unter einem Wert von 1 mg/kg an gebundenem Glycidol.

Die freien Analyten spielten erwartungsgemäß keine signifikante Rolle in Speiseölen. Es ist davon auszugehen, dass diese Verbindungen aufgrund ihrer Flüchtigkeit bei der Raffination vollständig entfernt werden. Zudem ist auch eine Migration aus dem Verpackungsmaterial,

zumeist Glas, nicht wahrscheinlich. So traten die zwei Positivbefunde für freies 3-MCPD in dieser Produktgruppe, einerseits in dem höchstbelasteten Haselnussöl sowie in einem gerösteten Sesamöl auf. Im ersten Fall kann vermutet werden, dass bei einem Gehalt von über 20 mg/kg gebundenem 3-MCPD bereits minimale natürliche Abbaureaktionen kleine Mengen des Kernanalyten freisetzen. Gefunden wurden 11 µg/kg freies 3-MCPD. Bei dem Vorkommen von ca. 7 µg/kg freiem 3-MCPD in einem gerösteten Sesamöl kann wiederum der Röstprozess als mutmaßliche Quelle für das Auftreten des freien Analyten angesehen werden. Auch bei anderen gerösteten Ölen traten regelmäßig Signale für freies 3-MCPD unterhalb der Bestimmungsgrenze auf. Das Argument, dass bei gerösteten Ölen die freien Analyten durch die Raffination vollständig entfernt sein müssten, greift nur bedingt, weil viele Öle aus raffinierten und unraffinierten Anteilen bestehen. Letztere sollen den typischen Geruch und Geschmack des Produktes vermitteln.

Das Referenzmaterial C bestand aus einer Mischung von raffiniertem Rapsöl und raffiniertem Palmöl mit repräsentativen Konzentrationen an gebundenen Analyten. Die für die Matrixgruppe Öle, Fette, Margarine angewendete modifizierte „3-in-1“-Analytik zeigte sich sehr robust, was sich in den bemerkenswert niedrigen Standardabweichungen der Referenzmessungen ausdrückt. Da praktisch keine Öle vorkommen, die beide freien Analyten über der Bestimmungsgrenze enthalten, wurde als Referenzmaterial D und E analytfreies Olivenöl (extra vergine) mit freiem 2-MCPD und freiem 3-MCPD dotiert, wobei bewußt sehr niedrige Konzentrationen bei dem Doppelten der Bestimmungsgrenze sowie bei der Bestimmungsgrenze gewählt wurden, um die real zu erwartenden Konzentrationen abzubilden. Als Blankmaterial C diente das gleiche Olivenöl (extra vergine) undotiert. Innerhalb der 42 Blankmessungen kam es in zwei Fällen zu der Detektion je eines gebundenen Analyten knapp über der Bestimmungsgrenze. Als Ursache können minimale Verschleppungen bei der Aufarbeitung hochbelasteter Proben angenommen werden. Dies kann nicht immer gänzlich vermieden werden, wenn die Konzentrationsunterschiede zwischen der Bestimmungsgrenze und den Maximalgehalten extrem groß sind (bei gebundenem 3-MCPD lag beispielsweise die gemessene Höchstmenge mehr als 2000-fach über dem LOQ). Wie die Konstanz der Ergebnisse der Referenzprobe zeigt, spielten diese Effekte in der Praxis allerdings keine Rolle, da die Analytgehalte in allen raffinierten Ölen und Fetten um Größenordnungen über der Bestimmungsgrenze lagen. Bei der Analyse nicht oder niedrig belasteter, nichtraffiniertes Proben hingegen treten keine signifikanten Verschleppungen auf, so dass auch für diese

Messungen keine Einschränkungen hinsichtlich der Präzision und Richtigkeit der Ergebnisse gesehen werden.

### 5.2.1 Rapsöle

Um klarer bewerten zu können, ob die verschiedenen Ölsorten im Durchschnitt unterschiedlich zu einer Belastung mit 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen beitragen, wurde die oben vorgestellte Auswertung in identischer Weise auf die einzelnen Ölsorten heruntergebrochen. In den Tabellen 6 bis 10 sind die Ergebnisse in Übersicht dargestellt. Die Daten zur analytischen Qualitätssicherung werden nicht wieder aufgeführt, weil sie identisch mit denen aus Tabelle 5 sind.

| <b>Vorkommen von 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen in raffinierten Rapsölen</b> |                            |                          |                          |                      |                      |
|---|----------------------------|--------------------------|--------------------------|----------------------|----------------------|
| <b>50 Datensätze</b>  | <b>gebundenes Glycidol</b> | <b>gebundenes 3-MCPD</b> | <b>gebundenes 2-MCPD</b> | <b>freies 3-MCPD</b> | <b>freies 2-MCPD</b> |
| Messwerte < LOQ, abs.   | <b>0</b>                   | <b>0</b>                 | <b>0</b>                 | <b>50</b>            | <b>50</b>            |
| Messwerte > LOQ, abs.   | <b>50</b>                  | <b>50</b>                | <b>46</b>                | <b>0</b>             | <b>0</b>             |
| Messwerte > LOQ, rel.   | <b>100%</b>                | <b>100%</b>              | <b>92%</b>               | <b>0%</b>            | <b>0%</b>            |
| LOQ [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>10</b>                  | <b>10</b>                | <b>10</b>                | <b>5</b>             | <b>5</b>             |
| Minimum [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>32</b>                  | <b>16</b>                | <b>&lt; 10</b>           | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| Median lb = ub [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>157</b>                 | <b>70</b>                | <b>25</b>                | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| Mittel lb = ub [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>176</b>                 | <b>172</b>               | <b>69</b>                | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| P90 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>306</b>                 | <b>403</b>               | <b>181</b>               | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| P95 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>342</b>                 | <b>507</b>               | <b>246</b>               | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| Max [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>350</b>                 | <b>1684</b>              | <b>672</b>               | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| rel.: relativ; abs.: absolut; lb: lower bound; up: upper bound; k.A.: keine Auswertung  |                            |                          |                          |                      |                      |
| Daten zur Qualitätssicherung: identisch zu Tabelle 5                                    |                            |                          |                          |                      |                      |

Tabelle 6: Ergebnisübersicht raffinierte Rapsöle



Die Ergebnisse zu dem Vorkommen von 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen in raffinierten Rapsölen zeigen hinsichtlich des Vorkommens der gebundenen Analyten, dass der Hauptanteil der untersuchten Proben insbesondere mit gebundenem 2- & 3-MCPD vergleichsweise niedrig belastet ist und sich damit in einem gewissen Rahmen von den anderen untersuchten Ölen und Fetten, auch denen aus anderen Produktgruppen, unterscheidet. In einer erheblichen Zahl von Proben wurde hier gebundenes MCPD im unteren µg/kg-Bereich und beim 2-Isomer sogar knapp unter der Bestimmungsgrenze gefunden. Auch die Gehalte an gebundenem Glycidol liegen durchschnittlich niedriger als bei den anderen untersuchten Ölsorten. Unterschiede zwischen konventioneller und Bio-Ware konnten nicht eindeutig festgestellt werden. Einerseits gehörten mehrere Bio-Rapsöle zu den am schwächsten belasteten Produkten, andererseits waren auch die gefundenen Höchstgehalte an 2- und 3-MCPD einem Bioprodukt zuzuordnen. Keine der untersuchten Proben wies Gehalte von über 2 mg/kg 3-MCPD oder 1 mg/kg Glycidol auf.

#### *5.2.2 Sonnenblumenöle*

Die Belastungssituation bei den untersuchten raffinierten Sonnenblumenölen zeigte im Vergleich zu den Rapsölen durchschnittlich höhere Gehalte an gebundenen Analyten. Auch war bei den gebundenen MCPD-Isomeren die Werteverteilung zwischen den Minimal- und den Maximalwerten homogener, so dass hier die relative Differenz zwischen Median- und Mittelwerten kleiner ausfiel. Es gibt also offenbar eine Reihe relativ niedrig belasteter Sonnenblumenöle, gleichzeitig aber auch proportional viele mittel- und höherbelastete Produkte. Im Fall des MCPD überstieg keine der 58 Proben einen Gehalt von 2 mg/kg, allerdings beinhaltete die Serie 3 Proben, bei denen Werte größer als 1 mg/kg an gebundenem Glycidol auftraten. Eine Ergebnisübersicht ist in Tabelle 7a dargestellt.

| <b>Vorkommen von 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen in raffinierten Sonnenblumenölen (konventionelle und Bio-Ware)</b> |                            |                          |                          |                      |                      |
|---|----------------------------|--------------------------|--------------------------|----------------------|----------------------|
| <b>58 Datensätze</b>  | <b>gebundenes Glycidol</b> | <b>gebundenes 3-MCPD</b> | <b>gebundenes 2-MCPD</b> | <b>freies 3-MCPD</b> | <b>freies 2-MCPD</b> |
| Messwerte < LOQ, abs.   | <b>0</b>                   | <b>0</b>                 | <b>0</b>                 | <b>58</b>            | <b>58</b>            |
| Messwerte > LOQ, abs.   | <b>58</b>                  | <b>58</b>                | <b>58</b>                | <b>0</b>             | <b>0</b>             |
| Messwerte > LOQ, rel.   | <b>100%</b>                | <b>100%</b>              | <b>100%</b>              | <b>0%</b>            | <b>0%</b>            |
| LOQ [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>10</b>                  | <b>10</b>                | <b>10</b>                | <b>5</b>             | <b>5</b>             |
| Minimum [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>93</b>                  | <b>36</b>                | <b>13</b>                | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| Median lb = ub [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>299</b>                 | <b>324</b>               | <b>129</b>               | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| Mittel lb = ub [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>412</b>                 | <b>376</b>               | <b>176</b>               | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| P90 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>769</b>                 | <b>726</b>               | <b>351</b>               | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| P95 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>955</b>                 | <b>820</b>               | <b>395</b>               | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| Max [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>1798</b>                | <b>1197</b>              | <b>577</b>               | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| rel.: relativ; abs.: absolut; lb: lower bound; up: upper bound; k.A.: keine Auswertung  |                            |                          |                          |                      |                      |
| Daten zur Qualitätssicherung: identisch zu Tabelle 5  |                            |                          |                          |                      |                      |

Tabelle 7a: Ergebnisübersicht Raffinierte Sonnenblumenöle (konventionelle und Bio-Ware)

Im Falle der Sonnenblumenöle war durchaus ein signifikanter Unterschied zwischen den durchschnittlichen Ergebnissen von konventionellen und Bio-Produkten festzustellen. Zwar resultierten, wie in Tabelle 7b aufgeführt, auch die niedrigsten Befunde aus einem Bio-Sonnenblumenöl, aber insbesondere für die Gehalte an gebundenem Glycidol lagen alle anderen Kenndaten höher als in der Gesamtheit aller Proben.

| <b>Vorkommen von 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen in raffinierten Sonnenblumenölen (Bio-Ware)</b> |                            |                          |                          |                      |                      |
|--|----------------------------|--------------------------|--------------------------|----------------------|----------------------|
| <b>18 Datensätze</b>   | <b>gebundenes Glycidol</b> | <b>gebundenes 3-MCPD</b> | <b>gebundenes 2-MCPD</b> | <b>freies 3-MCPD</b> | <b>freies 2-MCPD</b> |
| Messwerte < LOQ, abs.  | <b>0</b>                   | <b>0</b>                 | <b>0</b>                 | <b>18</b>            | <b>18</b>            |
| Messwerte > LOQ, abs.  | <b>18</b>                  | <b>18</b>                | <b>18</b>                | <b>0</b>             | <b>0</b>             |
| Messwerte > LOQ, rel.  | <b>100%</b>                | <b>100%</b>              | <b>100%</b>              | <b>0%</b>            | <b>0%</b>            |
| LOQ [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>10</b>                  | <b>10</b>                | <b>10</b>                | <b>5</b>             | <b>5</b>             |
| Minimum [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>93</b>                  | <b>36</b>                | <b>13</b>                | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| Median lb = ub [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>370</b>                 | <b>302</b>               | <b>119</b>               | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| Mittel lb = ub [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>480</b>                 | <b>316</b>               | <b>133</b>               | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| P90 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>966</b>                 | <b>489</b>               | <b>220</b>               | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| P95 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>1297</b>                | <b>505</b>               | <b>238</b>               | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| Max [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>1798</b>                | <b>594</b>               | <b>270</b>               | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| rel.: relativ; abs.: absolut; lb: lower bound; up: upper bound; k.A.: keine Auswertung                     |                            |                          |                          |                      |                      |
| Daten zur Qualitätssicherung: identisch zu Tabelle 5   |                            |                          |                          |                      |                      |

Tabelle 7b: Ergebnisübersicht Raffinierte Sonnenblumenöle (Bio-Ware)

### 5.2.3 Olivenöle

Die nachfolgend vorgestellte Ergebnissübersicht für die Belastungssituation in Olivenölen ist bei einer relativ kleinen Analysenzahl von einer Probe geprägt, in der die Analyten nicht nachweisbar waren. Die Ware war nicht als nativ oder raffiniert gekennzeichnet, so dass davon ausgegangen werden kann, dass es sich bei dieser Probe um ein nichtraffiniertes Produkt gehandelt hat. Aus diesem Grund ist in Tabelle 8 zusätzlich der P05-Wert angeführt, der den niedrigsten gefundenen Wertebereich für raffinierte Olivenöle anzeigt.

| <b>Vorkommen von 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen in Olivenölen</b>           |                                |                              |                              |                          |                          |
|--|--------------------------------|------------------------------|------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <b>20 Datensätze</b>   | <b>gebundenes<br/>Glycidol</b> | <b>gebundenes<br/>3-MCPD</b> | <b>gebundenes<br/>2-MCPD</b> | <b>freies<br/>3-MCPD</b> | <b>freies<br/>2-MCPD</b> |
| Messwerte < LOQ, abs.  | <b>1</b>                       | <b>1</b>                     | <b>1</b>                     | <b>20</b>                | <b>20</b>                |
| Messwerte > LOQ, abs.  | <b>19</b>                      | <b>19</b>                    | <b>19</b>                    | <b>0</b>                 | <b>0</b>                 |
| Messwerte > LOQ, rel.  | <b>95%</b>                     | <b>95%</b>                   | <b>95%</b>                   | <b>0%</b>                | <b>0%</b>                |
| LOQ [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>10</b>                      | <b>10</b>                    | <b>10</b>                    | <b>5</b>                 | <b>5</b>                 |
| Minimum [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>&lt; 10</b>                 | <b>&lt; 10</b>               | <b>&lt; 10</b>               | <b>k.A.</b>              | <b>k.A.</b>              |
| P05 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>90</b>                      | <b>168</b>                   | <b>58</b>                    | <b>k.A.</b>              | <b>k.A.</b>              |
| Median lb = ub [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>307</b>                     | <b>385</b>                   | <b>167</b>                   | <b>k.A.</b>              | <b>k.A.</b>              |
| Mittel lb = ub [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>428</b>                     | <b>395</b>                   | <b>171</b>                   | <b>k.A.</b>              | <b>k.A.</b>              |
| P90 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>811</b>                     | <b>648</b>                   | <b>249</b>                   | <b>k.A.</b>              | <b>k.A.</b>              |
| P95 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>1344</b>                    | <b>659</b>                   | <b>309</b>                   | <b>k.A.</b>              | <b>k.A.</b>              |
| Max [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>1420</b>                    | <b>713</b>                   | <b>333</b>                   | <b>k.A.</b>              | <b>k.A.</b>              |
| rel.: relativ; abs.: absolut; lb: lower bound; up: upper bound; k.A.: keine Auswertung |                                |                              |                              |                          |                          |
| Daten zur Qualitätssicherung: identisch zu Tabelle 5                                   |                                |                              |                              |                          |                          |

Tabelle 8: Ergebnisübersicht Olivenöle

Anhand der Daten konnte eine Belastung mit MCPD- und Glycidylestern festgestellt werden, die in etwa vergleichbar mit der von raffinierten Sonnenblumenölen war. Eigentlich neigen Fruchtöle in stärkerem Ausmaß zur thermisch induzierten Bildung von 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen, so dass die gefundenen Gehalte in Bezug zur Erwartung relativ niedrig erscheinen. Allerdings muss hierbei berücksichtigt werden, dass im deutschen Einzelhandel vermutlich keine vollraffinierten Olivenöle angeboten werden, sondern solche, die aus sensorischen Gründen anteilig natives Olivenöl enthalten. Diese Anteile müssen aber mengenmäßig nicht deklariert werden, so dass die tatsächlichen Analytgehalte bezogen auf das raffinierte Öl unbekannt bleiben.

#### 5.2.4 Maiskeimöle

Mit nur 10 Proben stellten Maiskeimöle die kleinste separat ausgewertete Sorte von Speiseölen dar. In Tabelle 9 sind die Ergebnisse zusammengeführt.

| <b>Vorkommen von 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen in raffinierten Maiskeimölen</b> |                            |                          |                          |                      |                      |
|---|----------------------------|--------------------------|--------------------------|----------------------|----------------------|
| <b>10 Datensätze</b>  | <b>gebundenes Glycidol</b> | <b>gebundenes 3-MCPD</b> | <b>gebundenes 2-MCPD</b> | <b>freies 3-MCPD</b> | <b>freies 2-MCPD</b> |
| Messwerte < LOQ, abs.   | <b>0</b>                   | <b>0</b>                 | <b>0</b>                 | <b>10</b>            | <b>10</b>            |
| Messwerte > LOQ, abs.   | <b>10</b>                  | <b>10</b>                | <b>10</b>                | <b>0</b>             | <b>0</b>             |
| Messwerte > LOQ, rel.   | <b>100%</b>                | <b>100%</b>              | <b>100%</b>              | <b>0%</b>            | <b>0%</b>            |
| LOQ [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>10</b>                  | <b>10</b>                | <b>10</b>                | <b>5</b>             | <b>5</b>             |
| Minimum [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>560</b>                 | <b>452</b>               | <b>207</b>               | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| Median lb = ub [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>726</b>                 | <b>1081</b>              | <b>518</b>               | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| Mittel lb = ub [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>871</b>                 | <b>1052</b>              | <b>505</b>               | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| P90 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>1418</b>                | <b>1440</b>              | <b>669</b>               | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| P95 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>1445</b>                | <b>1495</b>              | <b>750</b>               | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| Max [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>1473</b>                | <b>1549</b>              | <b>830</b>               | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| rel.: relativ; abs.: absolut; lb: lower bound; up: upper bound; k.A.: keine Auswertung      |                            |                          |                          |                      |                      |
| Daten zur Qualitätssicherung: identisch zu Tabelle 5  |                            |                          |                          |                      |                      |

Tabelle 9: Ergebnisübersicht raffinierte Maiskeimöle

Zusammengefasst präsentiert sich Maiskeimöl in Relation zu den vorangehend vorgestellten raffinierten Speiseölen als höher belastet. Insbesondere ist auffällig, dass keine Probe mit niedrigen Gehalten auftrat. Allerdings können diese Ergebnisse zwar repräsentativ für die Exposition durch Maiskeimöl aber weniger stellvertretend für unterschiedliche Produkte angesehen werden, weil durch den Einkauf proportional zu den Marktanteilen 9 von 10 Proben von einem Hersteller stammten.

### 5.2.5 Sonstige Öle

Zu den sonstigen Ölen zählten im Rahmen dieses Projektes verschiedene, teilweise als Spezialitäten gerechnete, Speiseöle. Dazu gehören auch Sorten wie Leinöl oder Kürbiskernöl, die nicht in raffinierter Form im Einzelhandel erhältlich sind. Die hieraus resultierenden Ergebnisse wurden dennoch mit in die Auswertung einbezogen, weil sie klar belegen, dass die Bildung von 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen thermisch induziert ist. Die in Tabelle 10 zusammengefassten Ergebnisse zeigen erwartungsgemäß ein sehr heterogenes Bild bezüglich des Vorkommens und der Verteilung der Analyten:

| <b>Vorkommen von 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen in sonstigen Ölen</b>       |                                |                              |                              |                          |                          |
|--|--------------------------------|------------------------------|------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <b>42 Datensätze</b>   | <b>gebundenes<br/>Glycidol</b> | <b>gebundenes<br/>3-MCPD</b> | <b>gebundenes<br/>2-MCPD</b> | <b>freies<br/>3-MCPD</b> | <b>freies<br/>2-MCPD</b> |
| Messwerte < LOQ, abs.  | <b>4</b>                       | <b>3</b>                     | <b>4</b>                     | <b>40</b>                | <b>42</b>                |
| Messwerte > LOQ, abs.  | <b>38</b>                      | <b>39</b>                    | <b>38</b>                    | <b>2</b>                 | <b>0</b>                 |
| Messwerte > LOQ, rel.  | <b>90%</b>                     | <b>93%</b>                   | <b>90%</b>                   | <b>5%</b>                | <b>0%</b>                |
| LOQ [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>10</b>                      | <b>10</b>                    | <b>10</b>                    | <b>5</b>                 | <b>5</b>                 |
| Minimum [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>&lt; 10</b>                 | <b>&lt; 10</b>               | <b>&lt; 10</b>               | <b>k.A.</b>              | <b>k.A.</b>              |
| Median lb = ub [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>425</b>                     | <b>573</b>                   | <b>189</b>                   | <b>k.A.</b>              | <b>k.A.</b>              |
| Mittel lb = ub [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>509</b>                     | <b>1447</b>                  | <b>646</b>                   | <b>k.A.</b>              | <b>k.A.</b>              |
| P90 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>1218</b>                    | <b>2915</b>                  | <b>1418</b>                  | <b>k.A.</b>              | <b>k.A.</b>              |
| P95 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>1355</b>                    | <b>3516</b>                  | <b>1617</b>                  | <b>k.A.</b>              | <b>k.A.</b>              |
| Max [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>1597</b>                    | <b>20935</b>                 | <b>9770</b>                  | <b>11</b>                | <b>k.A.</b>              |
| rel.: relativ; abs.: absolut; lb: lower bound; up: upper bound; k.A.: keine Auswertung |                                |                              |                              |                          |                          |
| Daten zur Qualitätssicherung: identisch zu Tabelle 5                                   |                                |                              |                              |                          |                          |

Tabelle 10: Ergebnisübersicht sonstige Öle

Es kann vermutet werden, dass seitens der Hersteller von weniger häufig verwendeten Speiseölen das Bewusstsein für die Bildung von MCPD und Glycidol bei der Raffination schwächer ausgeprägt ist als bei den in großen Mengen produzierten Ölen. Möglicherweise werden etliche der untersuchten Produkte von kleineren Betrieben oder in kleineren Raffinerien produziert, die technisch nicht dem neuesten Stand entsprechen. Dies könnte begründen, warum in dieser Produktgruppe der „Spezialitätenöle“ einzelne Proben sehr hohe Analytgehalte aufwiesen, ohne dass dies für die anderen getesteten Öle gleicher Sorte der Fall gewesen wäre.

In dieser Gruppe der „Spezialitätenöle“ finden sich also mehrere Öle, bei denen 3-MCPD-Gehalte  $> 2$  mg/kg und Glycidolgehalte  $> 1$  mg/kg festgestellt wurden, was einer relativ hohen Belastung entspricht. Auffällig ist, dass der in einem Haselnussöl gefundene Maximalwert für gebundenes 3-MCPD mit über 20 mg/kg um 3 Größenordnungen höher lag als bei schwach kontaminierten raffinierten Ölen. Dieser Wert kann sicher als Ausreißer bewertet werden, wie es die erheblich niedriger liegenden anderen Kenndaten aufzeigen. Auch waren die beiden weiteren getesteten Haselnussöle mit ca. 0,4 mg/kg und 1,0 mg/kg signifikant schwächer belastet. Auf der anderen Seite wurden auch in der Vergangenheit Nussöle teilweise mit sehr hohen Gehalten an gebundenem 3-MCPD berichtet [Kuhlmann, 2011]. Um abzusichern, ob die gefundene Höchstbelastung auch bezüglich der Produktlinie ein Ausreißer war, wurde eine zweite Charge des gleichen Produktes vom selben Hersteller beprobt. Hier lagen die gefundenen Gehalte von gebundenem 3-MCPD bei über 50 mg/kg und bei gebundenem 2-MCPD bei über 25 mg/kg noch höher. Diese Werte wurden nicht in der statistischen Auswertung berücksichtigt, zeigen aber, dass es offensichtlich bei Nussölen immer noch sehr große Unterschiede in der Belastung mit 3-MCPD und verwandten Verbindungen gibt.

### 5.3) Ergebnisübersicht Margarine

Margarine gehört sicherlich zu den in sehr großen Mengen produzierten Lebensmitteln die erhebliche Mengen an raffinierten Ölen und Fetten enthalten. Insofern war die Untersuchung einer möglichst großen Probenzahl auf das Vorkommen von 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen eine Voraussetzung, um eine möglichst realistische Expositionsabschätzung für dieses Lebensmittel vornehmen zu können. Die in Tabelle 11 aufgeführten Werte belegen, dass die drei gebundenen Analyten parallel und ubiquitär in dieser Lebensmittelgruppe auftreten:

| <b>Vorkommen von 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen in Margarine</b>            |                                |                              |                              |                          |                          |
|--|--------------------------------|------------------------------|------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <b>200 Datensätze</b>  | <b>gebundenes<br/>Glycidol</b> | <b>gebundenes<br/>3-MCPD</b> | <b>gebundenes<br/>2-MCPD</b> | <b>freies<br/>3-MCPD</b> | <b>freies<br/>2-MCPD</b> |
| Messwerte < LOQ, abs.  | <b>0</b>                       | <b>0</b>                     | <b>0</b>                     | <b>194</b>               | <b>200</b>               |
| Messwerte > LOQ, abs.  | <b>200</b>                     | <b>200</b>                   | <b>200</b>                   | <b>6</b>                 | <b>0</b>                 |
| Messwerte > LOQ, rel.  | <b>100%</b>                    | <b>100%</b>                  | <b>100%</b>                  | <b>3%</b>                | <b>0%</b>                |
| LOQ [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>10</b>                      | <b>10</b>                    | <b>10</b>                    | <b>5</b>                 | <b>5</b>                 |
| Minimum [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>14</b>                      | <b>23</b>                    | <b>12</b>                    | <b>&lt; 5</b>            | <b>k.A.</b>              |
| Median lb = ub [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>204</b>                     | <b>384</b>                   | <b>180</b>                   | <b>&lt; 5</b>            | <b>k.A.</b>              |
| Mittel lb = ub [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>224</b>                     | <b>398</b>                   | <b>188</b>                   | <b>&lt; 5</b>            | <b>k.A.</b>              |
| P90 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>357</b>                     | <b>675</b>                   | <b>324</b>                   | <b>k.A.</b>              | <b>k.A.</b>              |
| P95 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>381</b>                     | <b>697</b>                   | <b>340</b>                   | <b>k.A.</b>              | <b>k.A.</b>              |
| Max [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>1100</b>                    | <b>1043</b>                  | <b>497</b>                   | <b>44</b>                | <b>k.A.</b>              |
| rel.: relativ; abs.: absolut; lb: lower bound; up: upper bound; k.A.: keine Auswertung |                                |                              |                              |                          |                          |
| Daten zur Qualitätssicherung: identisch zu Tabelle 5                                   |                                |                              |                              |                          |                          |

Tabelle 11: Ergebnisübersicht Margarine

Tatsächlich war in keiner der 200 Proben eine der estergebundenen Kontaminanten nicht nachweisbar. Die gefundenen Analytgehalte verteilten sich relativ symmetrisch, so dass Median- und Mittelwerte relativ nahe beieinander lagen; bei Glycidol und 2-MCPD etwas über bzw. unter  $200 \mu\text{g}/\text{kg}$ , bei 3-MCPD knapp unter  $400 \mu\text{g}/\text{kg}$ . Die Ergebnisse zeigten sich also in einem Bereich wie er größenordnungsmäßig auch in vielen Speiseölen vorkommt und angesichts der relativ großen Probenzahl auch weitgehend frei von Ausreißern nach oben. Dies könnte man darin begründen, dass Margarine zumeist von großen Herstellern produziert wird, die das Thema 3-MCPD und Glycidol in dieser Matrix vermutlich berücksichtigen und ggf. eine gute Prozesskontrolle etabliert haben, bzw. Öle und Fette einsetzen, die nicht hoch belastet sind. Dieser Punkt sollte zukünftig differenzierter betrachtet werden, denn der



Fettanteil in der gesamten Produktgruppe variierte stark zwischen 25% und 75%, so dass sich die Analytgehalte bezogen auf den Fettanteil proportional erhöhen.

Das gelegentliche Vorkommen von freiem 3-MCPD in dieser Lebensmittelgruppe war eigentlich nicht erwartet worden. Seine Herkunft bleibt unklar, wobei sowohl ein Eintrag durch Hilfs- oder Zusatzstoffe bei der Herstellung denkbar ist, wie auch eine Migration aus dem Verpackungsmaterial, das praktisch durchweg aus Kunststoff bestand. Die festgestellten Gehalte an freiem 3-MCPD trugen allerdings nur marginal zur Gesamt-3-MCPD-Belastung von Margarine bei, wenngleich der höchste festgestellte Wert für freies 3-MCPD den niedrigsten Wert für gebundenes 3-MCPD überstieg.

#### 5.4) Ergebnisübersicht Bratfette

Auch in den Bratfetten war erwartungsgemäß keine Probe frei von den gebundenen Analyten, wie es in Tabelle 12 dargestellt ist:

| <b>Vorkommen von 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen in Bratfetten</b>           |                                |                              |                              |                          |                          |
|--|--------------------------------|------------------------------|------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <b>50 Datensätze</b>   | <b>gebundenes<br/>Glycidol</b> | <b>gebundenes<br/>3-MCPD</b> | <b>gebundenes<br/>2-MCPD</b> | <b>freies<br/>3-MCPD</b> | <b>freies<br/>2-MCPD</b> |
| Messwerte < LOQ, abs.  | <b>0</b>                       | <b>0</b>                     | <b>0</b>                     | <b>50</b>                | <b>50</b>                |
| Messwerte > LOQ, abs.  | <b>50</b>                      | <b>50</b>                    | <b>50</b>                    | <b>0</b>                 | <b>0</b>                 |
| Messwerte > LOQ, rel.  | <b>100%</b>                    | <b>100%</b>                  | <b>100%</b>                  | <b>0%</b>                | <b>0%</b>                |
| LOQ [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>10</b>                      | <b>10</b>                    | <b>10</b>                    | <b>5</b>                 | <b>5</b>                 |
| Minimum [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>17</b>                      | <b>147</b>                   | <b>69</b>                    | <b>k.A.</b>              | <b>k.A.</b>              |
| Median lb = ub [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>1006</b>                    | <b>1570</b>                  | <b>706</b>                   | <b>k.A.</b>              | <b>k.A.</b>              |
| Mittel lb = ub [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>1481</b>                    | <b>1927</b>                  | <b>756</b>                   | <b>k.A.</b>              | <b>k.A.</b>              |
| P90 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>3925</b>                    | <b>2320</b>                  | <b>1154</b>                  | <b>k.A.</b>              | <b>k.A.</b>              |
| P95 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>4443</b>                    | <b>2861</b>                  | <b>1385</b>                  | <b>k.A.</b>              | <b>k.A.</b>              |
| Max [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>8698</b>                    | <b>3408</b>                  | <b>1538</b>                  | <b>k.A.</b>              | <b>k.A.</b>              |
| rel.: relativ; abs.: absolut; lb: lower bound; up: upper bound; k.A.: keine Auswertung |                                |                              |                              |                          |                          |
| Daten zur Qualitätssicherung: identisch zu Tabelle 5                                   |                                |                              |                              |                          |                          |

Tabelle 12: Ergebnisübersicht Bratfette

Bratfette stellten innerhalb des hier vorgestellten Projektes die am höchsten mit Glycidyl- und MCPD-Fettsäureestern belastete Lebensmittelgruppe dar, so dass die gefundenen Minimalwerte eher als Ausreißer einzustufen sind als die Maximalbefunde. Die durchschnittlich sehr hohen Gehalte an gebundenen Analyten erklären sich mit großer Wahrscheinlichkeit aus dem erheblichen Anteil an Produkten, die aus klassisch raffiniertem Palmfett bestanden. Es ist bemerkenswert, dass hier mehr als die Hälfte aller Proben Gehalte an gebundenem Glycidol von mehr als 1 mg/kg aufwiesen und mehr als ein Viertel aller Proben 3-MCPD-Gehalte von mehr als 2 mg/kg. Freies MCPD spielte in dieser Produktgruppe keine Rolle.

### 5.5) Ergebnisübersicht Pommes frites

Pommes frites sind Lebensmittel, die durchaus in Verdacht stehen können, relevante Mengen an Prozesskontaminanten zu enthalten, weil sie unter Verwendung von raffinierten Ölen und Fetten hergestellt und zubereitet werden. Allerdings ist hier die Erwartungshaltung, dass die vorfrittierten Tiefkühlprodukte nur sehr schwach mit 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen belastet sein sollten. Als Begründung kann herangezogen werden, dass das industrielle Vorfrittieren einerseits in überwiegend gering belasteten Ölen, wie etwa Rapsöl, stattfindet und andererseits der Fettgehalt der Produkte durch dieses Verfahren nur auf etwa 10 % ansteigt. Bei den in Tabelle 6 vorgestellten Analytgehalten in Rapsölen würden für TK-Pommes frites also MCPD- und Glycidolgehalte um die Nachweisgrenze herum erwartet werden. Im Gegensatz zu Fisch- und Fleischprodukten wird durch das Vorfrittieren von pflanzlichen Lebensmitteln üblicherweise keine zusätzlich Bildung von MCPD- und Glycidylestern erwartet. Aus diesen Erwägungen heraus wurde während der Projektphase der Anteil der zu prüfenden TK-Pommes frites reduziert und durch zusätzlich zu beziehende und zu analysierende verzehrfertige Pommes frites ersetzt. Konsequenterweise werden die Ergebnisse daher getrennt in den Tabellen 13a für TK-Produkte und 13b für verzehrfertige Pommes frites aus dem Außer-Haus-Einkauf angegeben:

| <b>Vorkommen von 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen in vorfrittierten TK-Pommes frites</b> |                            |                          |                          |                      |                      |
|---|----------------------------|--------------------------|--------------------------|----------------------|----------------------|
| <b>33 Datensätze</b>  | <b>gebundenes Glycidol</b> | <b>gebundenes 3-MCPD</b> | <b>gebundenes 2-MCPD</b> | <b>freies 3-MCPD</b> | <b>freies 2-MCPD</b> |
| Messwerte < LOQ, abs.   | <b>11</b>                  | <b>4</b>                 | <b>17</b>                | <b>33</b>            | <b>33</b>            |
| Messwerte > LOQ, abs.   | <b>22</b>                  | <b>29</b>                | <b>16</b>                | <b>0</b>             | <b>0</b>             |
| Messwerte > LOQ, rel.   | <b>67%</b>                 | <b>88%</b>               | <b>48%</b>               | <b>0%</b>            | <b>0%</b>            |
| LOQ [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>10</b>                  | <b>10</b>                | <b>10</b>                | <b>5</b>             | <b>5</b>             |
| Minimum [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>&lt; 10</b>             | <b>&lt; 10</b>           | <b>&lt; 10</b>           | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| Median lb [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>12</b>                  | <b>16</b>                | <b>0</b>                 | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| Median ub [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>12</b>                  | <b>16</b>                | <b>10</b>                | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| Mittel lb [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>10</b>                  | <b>16</b>                | <b>6</b>                 | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| Mittel ub [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>13</b>                  | <b>17</b>                | <b>11</b>                | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| P90 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>19</b>                  | <b>22</b>                | <b>13</b>                | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| P95 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>21</b>                  | <b>26</b>                | <b>13</b>                | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| Max [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>22</b>                  | <b>35</b>                | <b>13</b>                | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| rel.: relativ; abs.: absolut; lb: lower bound; up: upper bound; k.A.: keine Auswertung            |                            |                          |                          |                      |                      |
| Daten zur Qualitätssicherung: Abschnitt 5.10)   |                            |                          |                          |                      |                      |

Tabelle 13a: Ergebnisübersicht vorfrittierte Tiefkühl-(TK) Pommes frites

In der Tat entsprachen die ermittelten Gehalte an 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen nahezu überraschend gut den Erwartungswerten. In einigen Proben lagen die Analytgehalte unter der Bestimmungsgrenze, die Maximalwerte fanden sich im unteren zweistelligen  $\mu\text{g}/\text{kg}$ -Bereich. Freies MCPD spielte keine Rolle. Aus analytischer Sicht traten keine Störungen auf, es mussten keine Bestimmungsgrenzen angehoben werden.

Bei verzehrfertigen Pommes frites war davon ausgegangen worden, dass ein erheblicher Eintrag von MCPD- und Glycidylestern durch das Frittieren erfolgen kann. In ganz grober

Näherung kann angenommen werden, dass zwar der Fettanteil in den Pommes frites durch das Frittieren nicht signifikant zunimmt und zumeist nicht wesentlich über ca 15 % erwartet wird, aber dass das zum Vorfrittieren verwendete Öl durch das eigentliche Frittierfett ersetzt wird. Unter Berücksichtigung der in Tabelle 12 aufgeführten Werte für Bratfette, die üblicherweise auch zum Frittieren eingesetzt werden, waren deutlich höhere Analytkonzentrationen im Vergleich zur TK-Ware zu erwarten:

| <b>Vorkommen von 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen in verzehrfertigen Pommes frites (Außer Haus)</b> |                            |                          |                          |                      |                      |
|--|----------------------------|--------------------------|--------------------------|----------------------|----------------------|
| <b>67 Datensätze</b>   | <b>gebundenes Glycidol</b> | <b>gebundenes 3-MCPD</b> | <b>gebundenes 2-MCPD</b> | <b>freies 3-MCPD</b> | <b>freies 2-MCPD</b> |
| Messwerte < LOQ, abs.  | <b>3</b>                   | <b>1</b>                 | <b>1</b>                 | <b>32</b>            | <b>51</b>            |
| Messwerte > LOQ, abs.  | <b>64</b>                  | <b>66</b>                | <b>66</b>                | <b>35</b>            | <b>16</b>            |
| Messwerte > LOQ, rel.  | <b>96%</b>                 | <b>99%</b>               | <b>99%</b>               | <b>52%</b>           | <b>24%</b>           |
| LOQ [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>10</b>                  | <b>10</b>                | <b>10</b>                | <b>5</b>             | <b>5</b>             |
| Minimum [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>&lt; 10</b>             | <b>&lt; 10</b>           | <b>&lt; 10</b>           | <b>&lt; 5</b>        | <b>&lt; 5</b>        |
| Median lb = ub [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>82</b>                  | <b>90</b>                | <b>51</b>                | <b>6</b>             | <b>5</b>             |
| Mittel lb = ub [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>118</b>                 | <b>111</b>               | <b>68</b>                | <b>26</b>            | <b>9</b>             |
| P90 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>250</b>                 | <b>231</b>               | <b>142</b>               | <b>42</b>            | <b>17</b>            |
| P95 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>347</b>                 | <b>400</b>               | <b>206</b>               | <b>110</b>           | <b>51</b>            |
| Max [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>588</b>                 | <b>562</b>               | <b>288</b>               | <b>617</b>           | <b>272</b>           |
| rel.: relativ; abs.: absolut; lb: lower bound; up: upper bound; k.A.: keine Auswertung                       |                            |                          |                          |                      |                      |
| Daten zur Qualitätssicherung: Abschnitt 5.10)  |                            |                          |                          |                      |                      |

Tabelle 13b: Ergebnisübersicht verzehrfertige Pommes Frites (Außer Haus)

Die in der vorangestellten Tabelle 13b aufgeschlüsselten Werte zu dem Vorkommen von 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen in verzehrfertigen Pommes frites zeigen eine sehr unterschiedliche Analytverteilung. In sehr wenigen Proben war der eine oder andere

gebundene Analyt knapp unter der Nachweisgrenze gefunden worden. In der Regel traten also alle MCPD-Ester und die Glycidylester vergesellschaftet auf. Die Mittel- und Medianwerte liegen ca. um den Faktor 5 bis 7 höher als bei den vorfrittierten Produkten und es wurde im Gegensatz zu den TK-Pommes Frites durchaus eine Reihe von Proben gefunden, deren Analytgehalte den Mittelwert um ein Mehrfaches überstiegen. Schätzt man den Fettgehalt dieser Proben auf etwa 15 %, so würde sich rechnerisch eine Belastung der Frittierfette mit gebundenem Glycidol und gebundenem 3-MCPD von jeweils über 3 mg/kg ergeben, was in der typischen Größenordnung für die Reihe der höher kontaminierten Brat- und Frittierfette liegt.

Besonders auffällig bei den verzehrfertigen Pommes frites ist im Vergleich zu allen anderen bis hier vorgestellten Lebensmittelgruppen das Vorkommen von freiem 2- und 3-MCPD. Es konnte festgestellt werden, dass mehr als die Hälfte aller Proben freies 3-MCPD enthielt, während immerhin noch etwa ein Viertel aller Proben freies 2-MCPD, das ja bisher nicht relevant in Erscheinung getreten war, über der Bestimmungsgrenze aufwies. Darüber hinaus – und das war so nicht erwartet worden – waren die gemessenen Gehalte an freiem MCPD durchaus in relevanten Größenordnungen und übertrafen in einigen Fällen die Mengen des parallel in den Proben auftretenden gebundenen 3-MCPDs, so dass sich für einige Proben der Gesamt-MCPD-Gehalt durch die Anwesenheit des freien Analyten erheblich erhöhte. Unklar ist, was die Quelle der freien Analyten beim Frittieren sein könnte. Denkbar ist einerseits eine eigenständige Bildung aus Chlorid und C3-Grundkörpern in den Frittierbädern. Andererseits ist auch eine Freisetzung aus den gebundenen Analyten denkbar, wenn man berücksichtigt, dass über einen längeren Zeitraum des Frittierens eine große Zahl verschiedener Lebensmittelbestandteile in die Bäder eingetragen werden kann und eine sehr komplexe Zahl an chemischen Reaktionen möglich ist. Die Vermutung, dass im Falle des Frittierens vermutlich kein Eintrag des freien MCPDs von außen durch Zugabe uns unbekannter Hilfsstoffe stattfindet, sondern die de-novo-Bildung oder die Freisetzung aus der gebundenen Form durch nicht näher bekannte chemische Reaktionen im Frittierbad stattfindet, wird durch die Betrachtung der Verhältnisse von 3-MCPD zu 2-MCPD gestützt. Während bei praktisch allen bis hier vorgestellten Ergebnissen gebundenes 2-MCPD einen Anteil von ca. 25 % bis 35 % am gesamten Gehalt an MCPD-Estern hatte, war im Falle der freien Isomere der Anteil des freien 2-MCPD am Gesamtgehalt an freiem MCPD signifikant geringer. Diese gut reproduzierbaren Verhältnisse waren im Falle der verzehrfertigen Pommes frites nicht mehr konstant. Sowohl bei den gebundenen als auch den freien MCPD-Isomeren wurden teilweise

viel höhere Anteile von 2-MCPD gefunden. Bei einer Reihe von Proben waren die 2-MCPD-Gehalte sogar höher als die des 3-MCPD.

Für die Bewertung der Gesamtbelastung aus jeweils freiem und gebundenem 2-MCPD und 3-MCPD wurde eine separate Auswertung durchgeführt, für die die Befunde an freiem und gebundenem 2- und 3-MCPD für jede Probe aufsummiert wurden. Die Ergebnisse sind nachfolgend in Tabelle 13c dargestellt. Einer vereinfachten Auswertung zugunsten wurden hier die Bestimmungsgrenzen für freies MCPD auf 10 µg/kg angehoben.

| <b>Ergebnisse zum Gesamt-MCPD-Gehalt in verzehrfertigen Pommes frites (Außer Haus)</b> |                      |                      |
|--|----------------------|----------------------|
| <b>67 Datensätze</b>   | <b>Gesamt-3-MCPD</b> | <b>Gesamt-2-MCPD</b> |
| Messwerte < LOQ, abs.  | <b>1</b>             | <b>1</b>             |
| Messwerte > LOQ, abs.  | <b>66</b>            | <b>66</b>            |
| Messwerte > LOQ, rel.  | <b>99%</b>           | <b>99%</b>           |
| LOQ [µg/kg]  | <b>10</b>            | <b>10</b>            |
| Minimum [µg/kg]  | <b>&lt; 10</b>       | <b>&lt; 10</b>       |
| Median lb [µg/kg]  | <b>91</b>            | <b>54</b>            |
| Median ub [µg/kg]  | <b>91</b>            | <b>54</b>            |
| Mittel lb [µg/kg]  | <b>138</b>           | <b>78</b>            |
| Mittel ub [µg/kg]  | <b>138</b>           | <b>78</b>            |
| P90 [µg/kg]  | <b>488</b>           | <b>237</b>           |
| P95 [µg/kg]  | <b>620</b>           | <b>285</b>           |
| Max [µg/kg]  | <b>1102</b>          | <b>484</b>           |
| rel.: relativ; abs.: absolut; lb: lower bound; up: upper bound; k.A.: keine Auswertung |                      |                      |
| Daten zur Qualitätssicherung: Abschnitt 5.10)  |                      |                      |

Tabelle 13c: Ergebnisübersicht zu dem Gesamt-MCPD-Gehalt in verzehrfertigen Pommes frites (Außer Haus)

## 5.6) Ergebnisübersicht Croissants

Croissants gehören zu den häufig verzehrten Lebensmitteln mit relevantem Fettgehalt, weshalb die Untersuchung auf MCPD- und Glycidyl-derivate hinsichtlich einer Expositionsabschätzung wichtig erschien. Die Ergebnisse zu dieser Lebensmittelgruppe finden sich nachfolgend in der Tabelle 14a:

| <b>Vorkommen von 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen in Croissants</b>           |                                |                              |                              |                          |                          |
|--|--------------------------------|------------------------------|------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <b>100 Datensätze</b>  | <b>gebundenes<br/>Glycidol</b> | <b>gebundenes<br/>3-MCPD</b> | <b>gebundenes<br/>2-MCPD</b> | <b>freies<br/>3-MCPD</b> | <b>freies<br/>2-MCPD</b> |
| Messwerte < LOQ, abs.  | <b>59</b>                      | <b>47</b>                    | <b>66</b>                    | <b>10</b>                | <b>89</b>                |
| Messwerte > LOQ, abs.  | <b>41</b>                      | <b>53</b>                    | <b>34</b>                    | <b>90</b>                | <b>11</b>                |
| Messwerte > LOQ, rel.  | <b>41%</b>                     | <b>53%</b>                   | <b>34%</b>                   | <b>90%</b>               | <b>11%</b>               |
| LOQ [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>10</b>                      | <b>10</b>                    | <b>10</b>                    | <b>5</b>                 | <b>5</b>                 |
| Minimum [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>&lt; 10</b>                 | <b>&lt; 10</b>               | <b>&lt; 10</b>               | <b>&lt; 5</b>            | <b>&lt; 5</b>            |
| Median lb [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>&lt; 10</b>                 | <b>14</b>                    | <b>&lt; 10</b>               | <b>10</b>                | <b>&lt; 5</b>            |
| Median ub [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>10</b>                      | <b>14</b>                    | <b>10</b>                    | <b>10</b>                | <b>5</b>                 |
| Mittel lb [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>107</b>                     | <b>136</b>                   | <b>49</b>                    | <b>21</b>                | <b>&lt; 5</b>            |
| Mittel ub [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>113</b>                     | <b>141</b>                   | <b>56</b>                    | <b>21</b>                | <b>7</b>                 |
| P90 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>406</b>                     | <b>606</b>                   | <b>213</b>                   | <b>29</b>                | <b>6</b>                 |
| P95 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>677</b>                     | <b>725</b>                   | <b>287</b>                   | <b>42</b>                | <b>7</b>                 |
| Max [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>1166</b>                    | <b>976</b>                   | <b>330</b>                   | <b>400</b>               | <b>103</b>               |
| rel.: relativ; abs.: absolut; lb: lower bound; up: upper bound; k.A.: keine Auswertung |                                |                              |                              |                          |                          |
| Daten zur Qualitätssicherung: Abschnitt 5.10)  |                                |                              |                              |                          |                          |

Tabelle 14a: Ergebnisübersicht Croissants

In der Produktgruppe der Croissants fanden sich in etwa der Mehrzahl der Proben keine gebundenen Analyten oberhalb der Bestimmungsgrenze. Bei all diesen Proben wurden in den gaschromatographisch-massenspektrometrischen Untersuchungen Markersignale für Butterfett



identifiziert, so dass das Fehlen der gebundenen Analyten zweifellos durch die Abwesenheit raffinierte Öle und Fette zu erklären ist. Trotzdem fallen in der Ergebnistabelle relativ hohe Werte für die belasteten Proben auf, in denen Butter offensichtlich durch andere Fette ersetzt wurde. Insofern teilen sich die Messwerte in zwei Gruppen auf. Etwas über die Hälfte aller Croissantproben waren nicht oder nur sehr schwach belastet. Im letzteren Fall besteht die Vermutung, dass hier neben Butter anteilig auch raffinierte Fette oder andere mögliche MCPD-Träger wie Emulgatoren in den Produkten enthalten waren. Die zweite Gruppe zeichnete sich durch das Fehlen der chromatographischen Markersignale für Butterfett aus und war durchschnittlich wesentlich höher belastet. In den 10 % der am höchsten belasteten Croissants fanden sich Gehalte an gebundenem Glycidol und 3-MCPD, die bei einem mutmaßlichen Fettgehalt von etwa 20 % in dem Gebäck Analytkonzentrationen von über 1 mg/kg Glycidol und über 2 mg/kg 3-MCPD in der Fettfraktion rückrechnen lassen. Wie bei den verzehrfertigen Pommes frites wurde auch hier überraschend häufig freies MCPD in den Proben detektiert – und dies auch in vielen Buttercroissants, die gar kein gebundenes MCPD über der Bestimmungsgrenze enthielten. Im Gegensatz zu den Pommes frites entsprach aber das Verhältnis der Isomere zueinander dem erwarteten Verhältnis, in dem 3-MCPD die dominante Verbindung ist und 2-MCPD in deutlich geringeren Anteilen auftritt. Es kann vermutet werden, dass die Bildung des freien MCPD in Croissants beim Backen eintritt. Dafür spricht, dass bei den nicht oder nur moderat vorgebackenen Tiefkühlcroissants kaum oder nur geringe Positivbefunde an freiem MCPD beobachtet wurden, während die höchsten Gehalte zumeist bei den völlig durchgebackenen, häufig deutlich gebräunten Produkten auftraten. Trotzdem kann ein, gegebenenfalls auch nur anteiliger, Eintrag durch Zusatzstoffe bei der Produktion nicht gänzlich ausgeschlossen werden. Zusammengefasst belegen die Ergebnisse, dass in der Produktgruppe der Croissants das freie MCPD im Durchschnitt einen geringen aber nicht vernachlässigbaren Anteil zur Gesamtbelastung mit diesem Analyten beitrug. In Einzelfällen lagen die Gehalte an freiem 3-MCPD in der gleichen Größenordnung wie die der 3-MCPD-Ester. Für die Bewertung der Gesamtbelastung aus jeweils freiem und gebundenem 2-MCPD und 3-MCPD wurde, wie bei den verzehrfertigen Pommes frites, eine separate Auswertung durchgeführt, für die die Befunde an freiem und gebundenem 2- und 3-MCPD für jede Probe aufsummiert wurden. Die Ergebnisse sind nachfolgend in Tabelle 14b dargestellt. Einer vereinfachten Auswertung zugunsten wurden hier die Bestimmungsgrenzen für freies MCPD auf 10 µg/kg angehoben.

| <b>Ergebnisse zum Gesamt-MCPD-Gehalt in Croissants</b>                                 |                      |                      |
|--|----------------------|----------------------|
| <b>100 Datensätze</b>  | <b>Gesamt-3-MCPD</b> | <b>Gesamt-2-MCPD</b> |
| Messwerte < LOQ, abs.  | <b>14</b>            | <b>64</b>            |
| Messwerte > LOQ, abs.  | <b>86</b>            | <b>36</b>            |
| Messwerte > LOQ, rel.  | <b>86%</b>           | <b>36%</b>           |
| LOQ [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>10</b>            | <b>10</b>            |
| Minimum [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>&lt; 10</b>       | <b>&lt; 10</b>       |
| Median lb [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>31</b>            | <b>0</b>             |
| Median ub [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>31</b>            | <b>10</b>            |
| Mittel lb [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>158</b>           | <b>52</b>            |
| Mittel ub [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>159</b>           | <b>58</b>            |
| P90 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>685</b>           | <b>230</b>           |
| P95 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>755</b>           | <b>293</b>           |
| Max [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>989</b>           | <b>330</b>           |
| rel.: relativ; abs.: absolut; lb: lower bound; up: upper bound; k.A.: keine Auswertung |                      |                      |
| Daten zur Qualitätssicherung: Abschnitt 5.10)  |                      |                      |

Tabelle 14b: Ergebnisübersicht zu dem Gesamt-MCPD-Gehalt in Croissants

### 5.7) Ergebnisübersicht Donuts

Auch bei Donuts und analog in Fett frittiertem Gebäck wie Berlinern mit einem Fettgehalt von ca. 10 % bis 25 % konnte von einer Belastung dieser Lebensmittel mit 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen ausgegangen werden. Die Untersuchung erstreckte sich innerhalb des hier vorgestellten Projektes auf 50 Proben.

Tabelle 15 stellt die Ergebnisübersicht dar:

| <b>Vorkommen von 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen in Donuts</b>               |                                |                              |                              |                          |                          |
|--|--------------------------------|------------------------------|------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <b>50 Datensätze</b>   | <b>gebundenes<br/>Glycidol</b> | <b>gebundenes<br/>3-MCPD</b> | <b>gebundenes<br/>2-MCPD</b> | <b>freies<br/>3-MCPD</b> | <b>freies<br/>2-MCPD</b> |
| Messwerte < LOQ, abs.  | <b>1</b>                       | <b>0</b>                     | <b>1</b>                     | <b>29</b>                | <b>49</b>                |
| Messwerte > LOQ, abs.  | <b>49</b>                      | <b>50</b>                    | <b>49</b>                    | <b>21</b>                | <b>1</b>                 |
| Messwerte > LOQ, rel.  | <b>98%</b>                     | <b>100%</b>                  | <b>98%</b>                   | <b>42%</b>               | <b>2%</b>                |
| LOQ [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>10</b>                      | <b>10</b>                    | <b>10</b>                    | <b>5</b>                 | <b>5</b>                 |
| Minimum [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>&lt; 10</b>                 | <b>18</b>                    | <b>&lt; 10</b>               | <b>&lt; 5</b>            | <b>k.A.</b>              |
| Median lb = ub [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>359</b>                     | <b>302</b>                   | <b>167</b>                   | <b>5</b>                 | <b>k.A.</b>              |
| Mittel lb = ub [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>435</b>                     | <b>507</b>                   | <b>268</b>                   | <b>6</b>                 | <b>k.A.</b>              |
| P90 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>882</b>                     | <b>546</b>                   | <b>321</b>                   | <b>12</b>                | <b>k.A.</b>              |
| P95 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>985</b>                     | <b>647</b>                   | <b>364</b>                   | <b>17</b>                | <b>k.A.</b>              |
| Max [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>1554</b>                    | <b>10100</b>                 | <b>5210</b>                  | <b>35</b>                | <b>20</b>                |
| rel.: relativ; abs.: absolut; lb: lower bound; up: upper bound; k.A.: keine Auswertung |                                |                              |                              |                          |                          |
| Daten zur Qualitätssicherung: Abschnitt 5.10)  |                                |                              |                              |                          |                          |

Tabelle 15: Ergebnisübersicht Donuts

Erwartungsgemäß traten in Donuts und Berlinern gebundenes Glycidol und MCPD sehr weit verbreitet und im Vergleich zu anderen zusammengesetzten Lebensmitteln mit relativ hohen durchschnittlichen Gehalten auf. Die für das gebundene MCPD festgestellten Maximalgehalte stellen sicherlich Ausreißerwerte dar, zeigen aber an, dass in Einzelfällen Frittierfette, die als wahrscheinlichste Kontaminationsquelle eingeschätzt werden, exorbitant hoch belastet sein

Seite 64

können. Selbst bei einem geschätzten maximalen Fettgehalt von 25 % hätten die Fettanteile der hier untersuchten Proben in der Mehrzahl der Proben Glycidylesterwerte von über 1 mg/kg und auch ein erheblicher Anteil der Produkte würde, bezogen auf das Fett, 3-MCPD Gehalte > 2 mg/kg aufgewiesen haben. Für die Probe mit dem höchsten 3-MCPD-Befund ergäbe sich bei einem Fettgehalt von 25 % rechnerisch ein Gehalt von über 40 mg/kg an gebundenem 3-MCPD im Fett. Freies MCPD wurde ebenfalls in einer Reihe von Proben gefunden, allerdings trugen die festgestellten relativ geringen Gehalte wegen der proportional hohen Anteile an gebundenem MCPD nicht signifikant zur Gesamtbelastung bei.

### 5.8) Ergebnisübersicht Brotaufstriche

Zu den Brotaufstrichen, die raffinierte Fette enthalten, gehören sowohl süße Produkte wie etwa Nuss-Nougat-Cremes als auch herzhaft-sauerrahmbasierte Lebensmittel, die häufig Gewürz- oder Gemüseanteile enthalten. Dem Probenahmeplan dieses Projektes entsprechend wurden bei den süßen Aufstrichen auch 5 Proben Erdnussbutter und bei den herzhaften Aufstrichen 4 Proben Zwiebelschmalz mit in die Untersuchungen einbezogen. Allerdings besteht Schmalz üblicherweise aus tierischem Fett und wird nicht raffiniert, so dass in diesen Proben keine signifikanten Mengen an Glycidyl- und MCPD-Estern zu erwarten waren. Auch die auf dem Markt relevanten Marken an Erdnussbutter enthielten kein raffiniertes Öl. Wegen der Verschiedenheit in der Zusammensetzung erfolgte die Auswertung der Messdaten getrennt und ist in den folgenden Tabellen 16a und 16b dargestellt:

| <b>Vorkommen von 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen in süßen Brotaufstrichen</b> |                            |                          |                          |                      |                      |
|---|----------------------------|--------------------------|--------------------------|----------------------|----------------------|
| <b>50 Datensätze</b>  | <b>gebundenes Glycidol</b> | <b>gebundenes 3-MCPD</b> | <b>gebundenes 2-MCPD</b> | <b>freies 3-MCPD</b> | <b>freies 2-MCPD</b> |
| Messwerte < LOQ, abs.   | <b>5</b>                   | <b>5</b>                 | <b>5</b>                 | <b>49</b>            | <b>50</b>            |
| Messwerte > LOQ, abs.   | <b>45</b>                  | <b>45</b>                | <b>45</b>                | <b>1</b>             | <b>0</b>             |
| Messwerte > LOQ, rel.   | <b>90%</b>                 | <b>90%</b>               | <b>90%</b>               | <b>2%</b>            | <b>0%</b>            |
| LOQ [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>10</b>                  | <b>10</b>                | <b>10</b>                | <b>5</b>             | <b>5</b>             |
| Minimum [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>&lt; 10</b>             | <b>&lt; 10</b>           | <b>&lt; 10</b>           | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| Median lb [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>87</b>                  | <b>182</b>               | <b>87</b>                | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| Median ub [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>87</b>                  | <b>182</b>               | <b>87</b>                | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| Mittel lb [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>94</b>                  | <b>196</b>               | <b>92</b>                | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| Mittel ub [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>99</b>                  | <b>197</b>               | <b>93</b>                | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| P90 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>132</b>                 | <b>387</b>               | <b>181</b>               | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| P95 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>220</b>                 | <b>475</b>               | <b>227</b>               | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| Max [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>339</b>                 | <b>490</b>               | <b>239</b>               | <b>6</b>             | <b>k.A.</b>          |
| rel.: relativ; abs.: absolut; lb: lower bound; up: upper bound; k.A.: keine Auswertung  |                            |                          |                          |                      |                      |
| Daten zur Qualitätssicherung: Abschnitt 5.10)   |                            |                          |                          |                      |                      |

Tabelle 16a: Ergebnisübersicht süße Brotaufstriche

Prinzipiell verlief die Analyse der süßen Brotaufstriche ohne erkennbare Störungen. Allerdings wurde in allen 5 Erdnussbutterproben gebundenes Glycidol mit 35  $\mu\text{g}/\text{kg}$  bis 70  $\mu\text{g}/\text{kg}$  detektiert, während gebundenes MCPD erwartungsgemäß nicht gefunden wurde. Zwar konnten bei mehreren Wiederholmessungen die Positivbefunde für Glycidylester gut reproduziert werden, es war aber kein sinnvoller Grund für ihr Auftreten erkennbar, so dass bei allen Erdnussbutterproben die Bestimmungsgrenze für gebundenes Glycidol auf mindestens den detektierten Gehalt angehoben und die gefundenen Werte nicht als

Positivbefunde ausgewiesen wurden. In allen übrigen süßen Brotaufstrichen waren sämtliche gebundenen Analyten enthalten, wenngleich die Konzentrationen im Vergleich zu anderen zusammengesetzten Lebensmitteln relativ gering waren. An dieser Stelle ist anzumerken, dass einerseits eine Nuss-Nougat-Creme eine so starke Marktdominanz aufweist, dass mehr als die Hälfte der süßen Brotaufstriche durch ein Produkt eines Herstellers gestellt wurden und andererseits waren Nuss-Nougat-Cremes wegen ihrer Gehalte an 3-MCPD-Estern mehrfach in das öffentliche Interesse geraten. Dies hat herstellerseitig sicherlich zu erheblichen qualitätssichernden Maßnahmen geführt, so dass davon auszugehen ist, dass bei diesen gut kontrollierten Lebensmitteln auf dem deutschen Markt eine Reduktion der Gehalte gegenüber früher stattgefunden hat. Die höchsten Belastungen fanden sich in den Vanille-Brottaufstrichen, die weniger im Focus der öffentlichen Wahrnehmung stehen. Das Vorkommen von freiem MCPD spielte bei den süßen Brotaufstrichen praktisch keine Rolle. Zusammengefasst weisen die Ergebnisse nicht darauf hin, dass die den Produkten zugrunde liegenden Öle und Fetteanteile in nennenswerter Zahl Gehalte von Glycidyl- oder 3-MCPD-Estern über 1 mg/kg für Glycidol und 2 mg/kg für 3-MCPD aufwiesen.

Bei den herzhaften Brotaufstrichen war die Häufigkeit des Vorkommens von 3-MCPD-Fettsäureestern und verwandten Verbindungen sehr ähnlich wie bei den analogen süßen Produkten. Eine Ergebnisübersicht ist in Tabelle 16b nachfolgend abgebildet:

| <b>Vorkommen von 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen in herzhafte Brotaufstrichen</b> |                            |                          |                          |                      |                      |
|---|----------------------------|--------------------------|--------------------------|----------------------|----------------------|
| <b>50 Datensätze</b>  | <b>gebundenes Glycidol</b> | <b>gebundenes 3-MCPD</b> | <b>gebundenes 2-MCPD</b> | <b>freies 3-MCPD</b> | <b>freies 2-MCPD</b> |
| Messwerte < LOQ, abs.   | <b>3</b>                   | <b>0</b>                 | <b>2</b>                 | <b>49</b>            | <b>50</b>            |
| Messwerte > LOQ, abs.   | <b>47</b>                  | <b>50</b>                | <b>48</b>                | <b>1</b>             | <b>0</b>             |
| Messwerte > LOQ, rel.   | <b>94%</b>                 | <b>100%</b>              | <b>96%</b>               | <b>2%</b>            | <b>0%</b>            |
| LOQ [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>10</b>                  | <b>10</b>                | <b>10</b>                | <b>5</b>             | <b>5</b>             |
| Minimum [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>&lt; 10</b>             | <b>11</b>                | <b>&lt; 10</b>           | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| Median lb = ub [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>68</b>                  | <b>263</b>               | <b>124</b>               | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| Mittel lb = ub [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]  | <b>71</b>                  | <b>229</b>               | <b>103</b>               | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| P90 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>97</b>                  | <b>368</b>               | <b>170</b>               | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| P95 [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>132</b>                 | <b>398</b>               | <b>185</b>               | <b>k.A.</b>          | <b>k.A.</b>          |
| Max [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | <b>435</b>                 | <b>596</b>               | <b>247</b>               | <b>7</b>             | <b>k.A.</b>          |
| rel.: relativ; abs.: absolut; lb: lower bound; up: upper bound; k.A.: keine Auswertung      |                            |                          |                          |                      |                      |
| Daten zur Qualitätssicherung: Abschnitt 5.10)   |                            |                          |                          |                      |                      |

Tabelle 16b: Ergebnisübersicht herzhafte Brotaufstriche

Bei den herzhafte Brotaufstrichen gehörten die Schmalzproben zu den am schwächsten belasteten Lebensmitteln. Dass sie entgegen der Erwartung doch geringe Anteile an gebundenem 3-MCPD enthielten ist sehr wahrscheinlich auf ihren Anteil an Röstzwiebeln zurückzuführen, die teilweise sehr hohe Gehalte an 3-MCPD aufweisen können. Die relativ geringe Streuung der Messwerte innerhalb der Produktgruppe der herzhafte Lebensmittel könnte dadurch bedingt sein, dass auch hier ein Hersteller mit einer Produktlinie dominant vertreten war und mehr als 50 % der Proben gestellt hat. Ähnlich wie bei den süßen Brotaufstrichen enthielt die überwiegende Zahl an Proben die gebundenen Analyten in Mengen, die nicht auf Gehalte von mehr als 1 mg/kg gebundenes Glycidol oder 2 mg/kg gebundenes 3-MCPD in der Fettphase schießen ließen. Trotzdem war der Anteil der

Lebensmittel, die diesen Bereich überschreiten können, bei den herzhaften Aufstrichen etwas höher, weil bei einer Reihe von Produkten der Fettanteil mit beispielsweise 16 % deutlich niedriger, als beispielsweise bei den Nuss-Nougat-Cremes ausfiel. Es waren nur relativ wenige Bio-Produkte in diesem Segment untersucht worden, so dass sich keine generelle Tendenz hinsichtlich der Belastungssituation ableiten ließ. Aber ähnlich wie zuvor bei den untersuchten Speiseölen war die Streubreite der Ergebnisse höher als bei der konventionellen Ware. Die Bio-Aufstriche stellten die Mehrzahl der am schwächsten mit den gebundenen Analyten belasteten Proben, aber gleichzeitig auch das Produkt mit den Maximalwerten an 3-MCPD.

#### 5.9) Ergebnisübersicht Asia-Gerichte mit Trockennudeln

Asia-Gerichte mit Trockennudeln zählen wohl zu den Lebensmitteln bei denen das Vorkommen von gebundenem MCPD oder Glycidol am wenigsten bekannt ist. Dennoch können insbesondere die Trockennudeln raffinierte Fette enthalten, so dass hier eine messbare Kontamination anzunehmen ist. Auch die bei manchen Produkten zusätzlich enthaltenen Würz- und Ölmischungen können Quellen für die freien oder gebundenen Analyten darstellen. Für diese letzte Produktgruppe sind die Ergebnisse in Tabelle 17 aufgeführt:



| <b>Vorkommen von 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen in Asia-Gerichten mit Trockennudeln</b> |                            |                          |                          |                      |                      |
|--|----------------------------|--------------------------|--------------------------|----------------------|----------------------|
| <b>60 Datensätze</b>   | <b>gebundenes Glycidol</b> | <b>gebundenes 3-MCPD</b> | <b>gebundenes 2-MCPD</b> | <b>freies 3-MCPD</b> | <b>freies 2-MCPD</b> |
| Messwerte < LOQ, abs.  | <b>10</b>                  | <b>9</b>                 | <b>10</b>                | <b>22</b>            | <b>49</b>            |
| Messwerte > LOQ, abs.  | <b>40</b>                  | <b>41</b>                | <b>40</b>                | <b>28</b>            | <b>1</b>             |
| Messwerte > LOQ, rel.  | <b>80%</b>                 | <b>82%</b>               | <b>80%</b>               | <b>56%</b>           | <b>2%</b>            |
| LOQ [ $\mu\text{g/kg}$ ]   | <b>10</b>                  | <b>10</b>                | <b>10</b>                | <b>5</b>             | <b>5</b>             |
| Minimum [ $\mu\text{g/kg}$ ]   | <b>&lt; 10</b>             | <b>&lt; 10</b>           | <b>&lt; 10</b>           | <b>&lt; 5</b>        | <b>&lt; 5</b>        |
| Median lb [ $\mu\text{g/kg}$ ]   | <b>273</b>                 | <b>247</b>               | <b>214</b>               | <b>0</b>             | <b>0</b>             |
| Median ub [ $\mu\text{g/kg}$ ]   | <b>273</b>                 | <b>247</b>               | <b>214</b>               | <b>6</b>             | <b>5</b>             |
| Mittel lb [ $\mu\text{g/kg}$ ]   | <b>373</b>                 | <b>289</b>               | <b>218</b>               | <b>5</b>             | <b>0</b>             |
| Mittel ub [ $\mu\text{g/kg}$ ]   | <b>375</b>                 | <b>291</b>               | <b>220</b>               | <b>10</b>            | <b>5</b>             |
| P90 [ $\mu\text{g/kg}$ ]   | <b>955</b>                 | <b>625</b>               | <b>461</b>               | <b>22</b>            | <b>k.A.</b>          |
| P95 [ $\mu\text{g/kg}$ ]   | <b>1158</b>                | <b>686</b>               | <b>557</b>               | <b>24</b>            | <b>k.A.</b>          |
| Max [ $\mu\text{g/kg}$ ]   | <b>1504</b>                | <b>1043</b>              | <b>777</b>               | <b>30</b>            | <b>5</b>             |
| rel.: relativ; abs.: absolut; lb: lower bound; up: upper bound; k.A.: keine Auswertung             |                            |                          |                          |                      |                      |
| Daten zur Qualitätssicherung: Abschnitt 5.10)  |                            |                          |                          |                      |                      |

Tabelle 17: Ergebnisübersicht Asia-Gerichte mit Trockennudeln

Die Befunde für Asia-Trockennudelgerichte weisen ein relativ heterogenes Bild aus. Bei einem kleinen Teil der Proben waren die Analyten nicht über der Bestimmungsgrenze nachweisbar, aber bei der Mehrzahl der getesteten Produkte konnten im Vergleich zu anderen Lebensmitteln relativ hohe Gehalte an Glycidyl- und MCPD-Estern gefunden werden. Fast 10 % der Werte für Glycidylester überschritten in dieser Gruppe Werte von mehr als 1 mg/kg bereits für das fertige Produkt. Wenn man berücksichtigt, dass der Fettgehalt in Trockennudeln als relativ gering eingeschätzt werden kann, ergeben sich bei einer erheblichen Anzahl dieser Produkte signifikante Gehalte an MCPD- und Glycidylestern in den Fettanteilen. In

einer Reihe von Asia-Gerichten mit Trockennudeln wurde auch freies MCPD detektiert, allerdings spielten die gemessenen Konzentrationen im Verhältnis zu den Werten für gebundenes 3-MCPD keine erhebliche Rolle. Hier kommen als Quellen vor allem die Würzmischungen in Betracht, die hydrolysiertes Pflanzenprotein als Geschmacksträger enthalten können.

Besonders auffällig in dieser Produktgruppe ist, dass die durchschnittlichen Anteile von gebundenem 2-MCPD am Gesamt-MCPD-Gehalt deutlich erhöht sind und zwischen 40 % und 50 % liegen. Für dieses Phänomen liegen bislang keine Erklärungen vor. Es kann nur spekuliert werden, dass möglicherweise bei der Produktion der Trockennudeln 3-MCPD-Ester, die vor allem im alkalischen Milieu instabiler als die 2-MCPD-Ester sind, abgebaut werden. Dafür spricht, dass im Mittel die 2-MCPD-Anteile am Gesamt-MCPD-Gehalt umso größer sind, je geringer die absoluten Konzentrationen sind.

#### 5.10) Weitere Referenz- und Blankmessungen zur Qualitätssicherung

Wie bereits im methodischen Teil beschrieben, wurden arbeitstäglich mit jeder Analysesequenz auch Referenz- und Blankproben analysiert. Da für zusammengesetzte Lebensmittel wie Pommes frites, Croissants, Donuts, Brotaufstriche oder Asia-Gerichte mit Trockennudeln keine zertifizierten oder in anderer Weise validierten Referenzmaterialien verfügbar waren, wurden für die genannten Lebensmittelgruppen repräsentative Handelswaren als Referenz- und Blankproben eingesetzt. Um die engen Zeitvorgaben innerhalb des Projektes zu realisieren, fand kein stringentes Poolen der Lebensmittel bei der Aufarbeitung statt, d.h. es wurden gleichzeitig Lebensmittel aus verschiedenen Gruppen aufgearbeitet und analysiert. Aus diesen Gründen konnten den verschiedenen Lebensmittelgruppen keine spezifischen Referenz- oder Blankmaterialien zugeordnet werden. Dieser Ansatz hat den Nachteil, dass es rechnerisch schwieriger ist, den Messwerten bestimmte Messunsicherheiten zuzuordnen, andererseits ergibt sich durch die Verwendung verschiedener Referenzproben mit unterschiedlichen Analytgehalten ein realistischeres Bild, denn auch die Lebensmittel einer Gruppe sind ja üblicherweise verschieden zusammengesetzt und enthalten sehr unterschiedliche Analytkonzentrationen.

Als Referenz- und Blankmaterialien dienten verschiedene Sorten von Gebäck, Schokocremes oder Mischungen davon. Die Ansprüche an diese Proben bestanden darin, dass sie alle relevanten Analyten in repräsentativen Konzentrationen enthalten sollten – bzw. im Falle der Blankmuster frei davon sein mussten. Weiterhin sollten die Materialien bei Raumtemperatur

lagerstabil sein, was einen höheren Wasseranteil wegen der dadurch begünstigten Schimmelbildung ausschloss. Eine Lagerung unter Kühlung wurde bewusst vermieden, weil dies erfahrungsgemäß den Abbau von Glycidylestern verursachen kann. Zur den Ansprüchen an die Lagerstabilität gehörte auch, dass sich die Proben nicht entmischten, wie es typischerweise bei Nuss-Nougat-Cremes auftreten kann.

In der nachfolgend dargestellten Tabelle 18 sind die qualitätssichernden Daten für die Referenz- und Blindwertmessungen sowie die Validierungsdaten zu den Lebensmittelgruppen Pommes frites, Croissants, Donuts, Brotaufstriche oder Asia-Gerichte mit Trockennudeln aufgeführt:

| <b>QS- und Validierungsdaten für die Analytik zusammengesetzter Lebensmittel</b>   |                                |                              |                              |                          |                          |
|--|--------------------------------|------------------------------|------------------------------|--------------------------|--------------------------|
|  | <b>gebundenes<br/>Glycidol</b> | <b>gebundenes<br/>3-MCPD</b> | <b>gebundenes<br/>2-MCPD</b> | <b>freies<br/>3-MCPD</b> | <b>freies<br/>2-MCPD</b> |
| Referenz F [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | 163                            | 445                          | 219                          | < 5                      | < 5                      |
| RSD, n = 15  | 2%                             | 3%                           | 5%                           | k.A.                     | k.A.                     |
| Referenz G [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | 83                             | 253                          | 123                          | 112                      | 26                       |
| RSD, n = 11  | 4%                             | 8%                           | 7%                           | 3%                       | 2%                       |
| Referenz H [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | 61                             | 241                          | 117                          | 116                      | 27                       |
| RSD, n = 8   | 4%                             | 7%                           | 9%                           | 3%                       | 3%                       |
| Referenz I [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]   | 218                            | 695                          | 133                          | 59                       | 5                        |
| RSD, n = 19  | 4%                             | 1%                           | 7%                           | 8%                       | 5%                       |
| Blank C, n = 20  | < LOQ                          | < LOQ                        | < LOQ                        | < LOQ                    | < LOQ                    |
| Blank D, n = 27  | < LOQ                          | < LOQ                        | < LOQ                        | < LOQ                    | < LOQ                    |
| <b>Referenz-F:</b> Schokocreme, <b>-G:</b> Mischung Kuchen-Schokocreme 1, <b>-H:</b> Mischung Kuchen-Schokocreme 2, <b>-I:</b> Kuchen, <b>Blank C:</b> Butterkeks, <b>Blank D:</b> Butter-Spritzgebäck |                                |                              |                              |                          |                          |

| Validierungsdaten für die Matrix leicht extrahierbare öl- und fetthaltige Lebensmittel   |                                |                              |                              |                          |                          |
|--|--------------------------------|------------------------------|------------------------------|--------------------------|--------------------------|
|  | <b>gebundenes<br/>Glycidol</b> | <b>gebundenes<br/>3-MCPD</b> | <b>gebundenes<br/>2-MCPD</b> | <b>freies<br/>3-MCPD</b> | <b>freies<br/>2-MCPD</b> |
| $r^2$  | 0,9998                         | 0,9999                       | 0,9999                       | 0,9980                   | 0,9970                   |
| $c_v$ [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ], $n_v = 8$   | 5 - 100                        | 5 - 100                      | 5 - 100                      | 2,5 - 20                 | 2,5 - 20                 |
| Wiederfindung rel. [%]   | 98 +/-2                        | 101 +/- 1                    | 102 +/- 2                    | 96 +/- 10                | 98 +/- 10                |
| $r^2$  | 0,9998                         | 0,9998                       | 0,9995                       | 0,9990                   | 0,9991                   |
| $c_v$ [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ], $n_v = 9$   | 200 - 1800                     | 200 - 1800                   | 200 - 1800                   | 40 - 360                 | 40 - 360                 |
| Wiederfindung rel. [%]   | 97 +/- 2                       | 100 +/- 1                    | 101 +/- 1                    | 100 +/- 3                | 101 +/- 3                |
| rel.: relativ  |                                |                              |                              |                          |                          |
| RSD: Relative Standardabweichung, $r^2$ : Korrelationskoeffizient, $c_v$ : Konzentrationsbereich<br>der Validierung; $n_v$ : Zahl Konzentrationsstufen |                                |                              |                              |                          |                          |

Tabelle 18: Methodenkenndaten für die Analytik zusammengesetzter Lebensmittel

Bei komplex zusammengesetzten Lebensmitteln wirken sich üblicherweise Matrixeffekte stärker auf die Präzision der Ergebnisse aus als es bei homogen zusammengesetzten Produkten wie den Ölen und Fetten oder auch der Säuglingsmilchnahrung der Fall ist. Dennoch können die in Tabelle 18 aufgeführten relativen Standardabweichungen als Beleg für eine robuste, empfindliche und hinsichtlich der einbezogenen Konzentrationen präzise Analytik gelten. Allerdings sollte bei einer detaillierten Betrachtung berücksichtigt werden, dass die vorgestellten niedrigen RSD-Werte aus den Referenzmessungen nicht direkt auf alle Probenergebnisse übertragbar sind, sondern konzentrationsabhängigen Schwankungen unterliegen.

## **6.) Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse**

Aus analytischer Sicht können alle im Rahmen dieses Projektes gewonnenen Ergebnisse für eine verbesserte und differenzierte Expositionsabschätzung verwendet werden. Die verwendete Methodik erwies sich ohne relevante Einschränkungen auf alle Matrizes anwendbar und die qualitätssichernden Maßnahmen, ebenso wie diverse Wiederholanalysen zeigten eine zufriedenstellende Konstanz der Ergebnisse auf. Darüber hinaus erscheinen die Ergebnisse aus allen Matrixgruppen sinnvoll und belastbar. Thermisch nicht belastete Lebensmittel waren also praktisch frei von den Prozesskontaminanten getestet worden, in zusammengesetzten Lebensmitteln mit geringem Fettanteil fanden sich die gebundenen Analyten nur in geringen Mengen während die höchsten Befunde erwartungsgemäß vor allem in Palmfetten bzw. Lebensmitteln mit einem hohen Anteil raffinierter Fette auftrugen. Auch das Auftreten signifikanter Mengen an freien Analyten war allgemein gekoppelt an Produkte, die durch das Backen oder Frittieren thermisch behandelt waren. Zu dem hohen Nutzen und der guten Verwendbarkeit der Ergebnisse gehört auch, dass die angewendete Analytik außerordentlich niedrige Bestimmungsgrenzen (10 µg/kg für alle Matrizes) ermöglichte, die im Falle der gebundenen Kontaminanten sogar deutlich unter den Vorgaben der Projektausbeschreibung (25 µg/kg) lagen. Damit konnte nicht nur das ubiquitäre Vorkommen der 3-MCPD- und Glycidylester in allen Lebensmitteln, die raffinierte Öle oder Fetten enthielten, aufgezeigt werden, sondern die Resultate erlauben auch eine differenzierte Bewertung der Säuglingsmilchnahrung, für die aus toxikologischer Sicht wesentlich kleinere Analytenkonzentrationen für eine Expositionsabschätzung berücksichtigt werden müssen, als es bei normalen Nahrungsmitteln der Fall ist. Darüber hinaus trugen die niedrigen Bestimmungsgrenzen dazu bei, bei den besonders relevanten gebundenen Analyten die Anzahl der Befunde unter der Bestimmungsgrenze gering zu halten, was sich positiv auf die Schwankungsbreite der Median- und Mittelwertbildung auswirkt. Tatsächlich war die Zahl der Negativbefunde an gebundenen Analyten in vielen Produktgruppen so niedrig, dass lower- und upper-bound basierte Auswertungen identische Resultate erbrachten.

Ebenfalls nützlich und verwertbar erscheint die generierte Datensammlung hinsichtlich ihrer Zuordnung zu verschiedenen Produktgruppen, denen unterschiedliche Durchschnittsverzehrmengen zugrunde gelegt werden können. Der Wert der Ergebnisse liegt hier darin, dass für teilweise stark aufgeschlüsselte Untergruppen, wie beispielsweise die verschiedenen Speiseöle, stichhaltige Aussagen zu den durchschnittlichen Belastungen mit 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen getroffen werden können und auch dazu, welchen Streubereich die

gefundenen Konzentrationen haben. Durch die gut dokumentierte Probenahme und ausführliche Sammlung aller relevanten Produktinformationen können die Messergebnisse individuell für jede Einzelprobe nachvollzogen werden. Diese Datenverknüpfung erlaubt auch noch im Nachhinein die Ergebnisse hinsichtlich anderer möglicher Fragestellungen neu und differenziert auszuwerten.

## 7.) Zusammenfassung

Für das Projekt „Untersuchung auf das Vorkommen von 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen in Lebensmitteln - AZ 314-06.01-2815HS002“ wurden in dem Zeitraum von Februar bis September 2016 zum Zwecke der Verbesserung der Datenlage zur Expositionsabschätzung 1051 Lebensmittel aus dem Handel in Deutschland eingekauft, dokumentiert und hinsichtlich des Auftretens von freiem 2- und 3-MCPD sowie gebundenem 2-MCPD, 3-MCPD und Glycidol analysiert. Der Fokus lag dabei auf Lebensmitteln, die aus raffinierten Ölen und Fetten bestehen oder diese in relevanten Mengen enthielten. Die Ergebnisse wurden nach Produktgruppen separat ausgewertet, so dass statistische Kenndaten in Form von Minimal-, Maximal-, Median- und Mittelwerten sowie 90-te und 95-te Perzentile jeweils für Säuglingsmilchnahrung, Speiseöle, Margarine, Bratfette, Tiefkühl-Pommes frites, verzehrfertige Pommes frites, Croissants, Donuts, süße Brotaufstriche, herzhafte Brotaufstriche und Asia-Gerichte mit Trockennudeln vorliegen. In mehreren Fällen wurden die Auswertungen auch für Untergruppen wie beispielsweise einzelne Sorten von Speiseölen durchgeführt.

Den Ergebnissen zum Vorkommen von 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen ist zu entnehmen, dass die gebundenen Analyten praktisch immer vergesellschaftet auftraten und in allen raffinierten Ölen, Fetten und Produkten, die diese in nennenswerten Anteilen enthielten, nachgewiesen werden konnten. Demgegenüber beschränkte sich das Vorkommen von freiem MCPD zumeist auf zusammengesetzte Lebensmittel, die für eine verzehrfertige Zubereitung erhitzt wurden. Hier lagen regelmäßig Gehalte vor, die mengenmäßig relevant erschienen und in die Expositionsabschätzung einbezogen werden sollten.

Die festgestellten Konzentrationen der gebundenen und freien Kontaminanten variierten unterschiedlich in Abhängigkeit von der jeweiligen Lebensmittelgruppe, der Heterogenität und dem Fettgehalt der Proben sowie den zugrunde liegenden Öl- und Fettsorten. Dabei traten im Extremfall innerhalb einer Lebensmittelgruppe Konzentrationsunterschiede von bis zu 3 Größenordnungen (Faktor 1000) auf. Praktisch in jeder Gruppe wurden in einzelnen Proben Gehalte von gebundenen Analyten festgestellt, die bezogen auf die Öl- oder Fettphase als hoch eingeschätzt werden können.

Generell kann aus den Daten näherungsweise abgeleitet werden, dass Produkte, die wie beispielsweise Säuglingsmilchnahrung oder Margarine durch Medien, Verbraucherschutzorganisationen oder staatliche Stellen in der Vergangenheit bereits hinsichtlich möglicher Gehalte an 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen bewertet wurden, niedrigere

durchschnittliche Analytgehalte und eine geringere Schwankungsbreite in den Ergebnissen zeigten, als Lebensmittel, die in diesem Zusammenhang weniger Beachtung fanden wie beispielsweise Asia-Gerichte mit Trockennudeln oder Donuts.

Die wesentlichsten Kennzahlen sind nachfolgend in tabellarischer Übersicht zusammengefasst (Tabellen 19-21). Dabei wurden für eine komprimierte Darstellung, wenn nötig, die Mittelwerte aus lower-bound und upper-bound Ansätzen gebildet. Die Werte sind dann mit \* gekennzeichnet. Nur bei zwei Produktgruppen, den verzehrfertigen (Außer Haus) Pommes frites und den Croissants, wurden die Werte für freies und gebundenes aufsummiert und die resultierenden Datensätze neu berechnet. In diesen Fällen wurden der Einfachheit halber die Bestimmungsgrenzen für freies MCPD auf 10 µg/kg gesetzt. In allen anderen Produktgruppen wurden aus Gründen der Vereinfachung die vereinzelt Positivbefunde für die nachfolgend vorgestellten allgemeinen Übersichten nicht berücksichtigt, weil sie keinen nennenswerten Einfluss auf die Werte hatten.

| <b>Übersicht der Ergebnisse für Säuglingsmilchnahrung</b> |                   |               |               |                |
|---|-------------------|---------------|---------------|----------------|
|   | <b>Probenzahl</b> | <b>Median</b> | <b>Mittel</b> | <b>Bereich</b> |
|   |                   | <b>µg/kg</b>  | <b>µg/kg</b>  | <b>µg/kg</b>   |
| <b>Säuglingsmilchnahrung: Glycidol</b>                    | 221               | 5*            | 30*           | < 10 - 536     |
| <b>Säuglingsmilchnahrung: 3-MCPD</b>                      | 221               | 103           | 137           | 20 - 1197      |
| <b>Säuglingsmilchnahrung: 2-MCPD</b>                      | 221               | 38            | 54*           | < 10 - 606     |

Tabelle 19: Zusammenfassung der statistischen Kennzahlen für Säuglingsmilchnahrung

In Säuglingsmilchnahrung wurden in der Mehrheit der 221 Proben Gehalte an gebundenem Glycidol von unter 10 µg/kg und ein 3-MCPD-Medianwert von 103 µg/kg ermittelt. Diese Werte können hinsichtlich des Glycidols als relativ gering eingeschätzt werden und liegen für diesen Analyten deutlich niedriger als in vergangenen Untersuchungen [Wöhrlin et al.: 2015]. Die durchschnittlich gefundenen Gehalte an gebundenem 3-MCPD sind zwar geringer als die Werte aus einer frühen Studie [Zelinkova et al. 2009], haben sich aber bezüglich jüngerer Untersuchungen praktisch nicht verändert [Wöhrlin et al.: 2015]. Gleichzeitig konnten die Milchnahrungsprodukte mit signifikant höheren Befunden überwiegend herstellerabhängig zugeordnet werden.



| <b>Übersicht der Ergebnisse für Speiseöle, Margarine und Bratfette</b> |                   |               |               |                |
|--|-------------------|---------------|---------------|----------------|
|  | <b>Probenzahl</b> | <b>Median</b> | <b>Mittel</b> | <b>Bereich</b> |
|  |                   | <b>µg/kg</b>  | <b>µg/kg</b>  | <b>µg/kg</b>   |
| <b>Alle Speiseöle: Glycidol</b>  | 180               | 291           | 396           | < 10 - 1798    |
| <b>Alle Speiseöle: 3-MCPD</b>  | 180               | 297           | 609           | < 10 - 20935   |
| <b>Alle Speiseöle: 2-MCPD</b>  | 180               | 125           | 274           | < 10 - 9779    |
| <b>Rapsöle: Glycidol</b>   | 50                | 157           | 176           | 32 - 350       |
| <b>Rapsöle: 3-MCPD</b>   | 50                | 70            | 172           | 16 - 1684      |
| <b>Rapsöle: 2-MCPD</b>   | 50                | 25            | 69            | < 10 - 672     |
| <b>Sonnenblumenöle: Glycidol</b>                                       | 58                | 299           | 412           | 93 - 1798      |
| <b>Sonnenblumenöle: 3-MCPD</b>   | 58                | 324           | 376           | 36 - 1197      |
| <b>Sonnenblumenöle: 2-MCPD</b>   | 58                | 129           | 176           | 13 - 577       |
| <b>Olivenöle: Glycidol</b>   | 20                | 307           | 428           | < 10 - 1420    |
| <b>Olivenöle: 3-MCPD</b>   | 20                | 385           | 395           | < 10 - 713     |
| <b>Olivenöle: 2-MCPD</b>   | 20                | 167           | 171           | < 10 - 333     |
| <b>Maiskeimöle: Glycidol</b>   | 10                | 726           | 871           | 560 - 1473     |
| <b>Maiskeimöle: 3-MCPD</b>   | 10                | 1081          | 1052          | 452 - 1549     |
| <b>Maiskeimöle: 2-MCPD</b>   | 10                | 518           | 505           | 207 - 830      |
| <b>Sonstige Öle: Glycidol</b>  | 42                | 425           | 509           | < 10 - 1597    |
| <b>Sonstige Öle: 3-MCPD</b>  | 42                | 573           | 1447          | < 10 - 20935   |
| <b>Sonstige Öle: 2-MCPD</b>  | 42                | 189           | 646           | < 10 - 9770    |
| <b>Margarine: Glycidol</b>   | 200               | 204           | 224           | 14 - 1100      |
| <b>Margarine: 3-MCPD</b>   | 200               | 384           | 398           | 23 - 1043      |
| <b>Margarine: 2-MCPD</b>   | 200               | 180           | 188           | 12 - 497       |
| <b>Bratfette: Glycidol</b>   | 50                | 1006          | 1481          | 17 - 8698      |
| <b>Bratfette: 3-MCPD</b>   | 50                | 1570          | 1927          | 147 - 3408     |
| <b>Bratfette: 2-MCPD</b>   | 50                | 706           | 756           | 69 - 1538      |

Tabelle 20: Zusammenfassung der statistischen Kennzahlen für Speiseöle, Margarine, Bratfette

In der Gruppe der 180 untersuchten Speiseöle zeigten die Ergebnisse die höchsten Schwankungsbreiten. Bezogen auf die Medianwerte waren die 50 untersuchten Rapsöle mit 157 µg/kg Glycidol und 70 µg/kg 3-MCPD niedriger belastet als die 58 getesteten Sonnenblumenöle (Median 299 µg/kg Glycidol und 324 µg/kg 3-MCPD), 20 Olivenöle (Median 307 µg/kg Glycidol und 385 µg/kg 3-MCPD) und 10 Maiskeimöle (Median 726 µg/kg Glycidol und 1081 µg/kg 3-MCPD). Die statistische Auswertung bei der kleinen Zahl von Maiskeimölen ermöglichte nur begrenzte Aussagen zu den Durchschnittsbelastungen für diese Ölsorte, da hier aufgrund der Marktanteile überwiegend verschiedene Chargen des Produktes eines Herstellers untersucht werden konnten. Bei den 42 sonstigen Ölen lagen die Medianwerte bei 425 µg/kg Glycidol und 537 µg/kg 3-MCPD. In dieser Gruppe trat auch die am stärksten mit gebundenem 3-MCPD belastete Probe in Form eines Haselnussöls auf, das über 20 mg/kg des Analyten enthielt.

Innerhalb der 200 untersuchten Margarineproben wurden Medianwerte von 204 µg/kg an gebundenem Glycidol ermittelt, beziehungsweise 384 µg/kg für gebundenes 3-MCPD. Im Vergleich dazu stellten die Bratfette, bei denen viele Produkte aus Palmfett bestanden, mit im Median 1006 µg/kg Glycidol sowie 1570 µg/kg 3-MCPD eine relativ hoch belastete Lebensmittelgruppe dar.

| <b>Übersicht der Ergebnisse für Pommes frites, Croissants, Donuts, Brotaufstriche und Asia-Gerichte mit Trockennudeln</b> |                |               |               |                |
|---|----------------|---------------|---------------|----------------|
|   | <b>Proben-</b> | <b>Median</b> | <b>Mittel</b> | <b>Bereich</b> |
|   | <b>zahl</b>    | <b>µg/kg</b>  | <b>µg/kg</b>  | <b>µg/kg</b>   |
| <b>TK-Pommes frites: Glycidol</b>   | 33             | 12            | 12*           | < 10 - 22      |
| <b>TK-Pommes frites: 3-MCPD</b>   | 33             | 16            | 17*           | < 10 - 35      |
| <b>TK-Pommes frites: 2-MCPD</b>   | 33             | 5*            | 12*           | < 10 - 13      |
| <b>AH-Pommes frites: Glycidol</b>   | 67             | 82            | 118           | < 10 - 588     |
| <b>AH-Pommes frites: 3-MCPD</b>   | 67             | 91            | 138           | < 10 - 1102    |
| <b>AH-Pommes frites: 2-MCPD</b>   | 67             | 54            | 78            | < 10 - 484     |
| <b>Croissants: Glycidol</b>   | 100            | 5*            | 110*          | < 10 - 1166    |
| <b>Croissants: 3-MCPD</b>   | 100            | 31            | 158*          | < 10 - 989     |
| <b>Croissants: 2-MCPD</b>   | 100            | 5*            | 55*           | < 10 - 329     |
| <b>Donuts: Glycidol</b>   | 50             | 359           | 435           | < 10 - 1554    |
| <b>Donuts: 3-MCPD</b>   | 50             | 302           | 507           | 18 - 10100     |
| <b>Donuts: 2-MCPD</b>   | 50             | 167           | 268           | < 10 - 5210    |
| <b>süße Brotaufstriche: Glycidol</b>  | 50             | 87            | 97*           | < 10 - 339     |
| <b>süße Brotaufstriche: 3-MCPD</b>  | 50             | 182           | 197           | < 10 - 490     |
| <b>süße Brotaufstriche: 2-MCPD</b>  | 50             | 87            | 93            | < 10 - 239     |
| <b>herzhafte Brotaufstriche: Glycidol</b>   | 50             | 68            | 71            | < 10 - 435     |
| <b>herzhafte Brotaufstriche: 3-MCPD</b>   | 50             | 263           | 229           | 11 - 596       |
| <b>herzhafte Brotaufstriche: 2-MCPD</b>   | 50             | 124           | 103           | < 10 - 247     |
| <b>Asia-Gerichte mit Trockennudeln: Glycidol</b>  | 60             | 273           | 374*          | < 10 - 1504    |
| <b>Asia-Gerichte mit Trockennudeln: 3-MCPD</b>  | 60             | 247           | 290*          | < 10 - 1043    |
| <b>Asia-Gerichte mit Trockennudeln: 2-MCPD</b>  | 60             | 214           | 220*          | < 10 - 777     |

Tabelle 21: Zusammenfassung der statistischen Kennzahlen für Pommes frites, Croissants, Donuts, Brotaufstriche und Asia-Gerichte mit Trockennudeln

Bei den zusammengesetzten Lebensmitteln würden TK-Pommes frites im Vergleich zu anderen Lebensmittelgruppen wenig zur Exposition mit 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen beitragen, wenn sie ohne die Verwendung weiterer Frittieröle verzehrfertig zubereitet werden. Hier traten in der Mehrzahl der Proben Glycidolgehalte von 12 µg/kg und

16 µg/kg 3-MCPD auf. In verzehrfertig frittierten Pommes frites aus dem Außer-Haus-Einkauf allerdings vervielfachten sich diese Medianwerte mit 82 µg/kg Glycidol und 90 µg/kg gebundenes 3-MCPD. In dieser Lebensmittelgruppe waren über die Hälfte der Proben auch mit freiem 3-MCPD, teilweise in relevanten Mengen, belastet. Damit erhöhte sich der Medianwert für den Gesamt-3-MCPD-Gehalt um 6,7 % auf 96 µg/kg, der für diese Gruppe festgestellte Mittelwert von 111 µg/kg an gebundenem 3-MCPD stieg allerdings durch eine Reihe hoher Befunde für freies 3-MCPD um 23 % auf 137 µg/kg Gesamt-3-MCPD an.

Hinsichtlich der Analytbefunde in Croissants ergab sich eine breite Spannweite an Ergebnissen, bedingt dadurch, dass in vielen Fällen Buttercroissants, die aufgrund des Fehlens raffinierter pflanzlicher Öle und Fette keine oder nur minimale Anteile von gebundenem Glycidol oder MCPD enthielten. Dadurch wurde in der Mehrzahl dieser Lebensmittelproben Glycidol nicht über der Bestimmungsgrenze von 10 µg/kg gefunden und gebundenes 3-MCPD nur knapp darüber mit 14 µg/kg. Die Mittelwerte lagen bei 107 µg/kg (Glycidol) und 136 µg/kg gebundenem 3-MCPD. Bei den Maximalwerten wurden sogar Gehalte um 1 mg/kg für beide Kontaminanten gemessen, was darauf schließen lässt, dass in den Fällen, wo Butter durch raffinierte pflanzliche Fette ersetzt wurde, diese teilweise hoch belastet waren. Freies 3-MCPD wurde in 90 % aller Croissants über der Bestimmungsgrenze von 5 µg/kg detektiert und erreichte mit 10 µg/kg im Median die gleiche Größenordnung wie das gebundene 3-MCPD. Hinsichtlich der Mittelwerte lag der Gesamt-3-MCPD-Gehalt mit 157 µg/kg um etwa 15 % über dem Mittel für das gebundene 3-MCPD. Für die Expositionsabschätzung sollte bei dieser Lebensmittelgruppe also berücksichtigt werden, ob die untersuchten Anteile von Buttercroissants und Nicht-Buttercroissants den Verzehrdschnitt repräsentieren bzw. ob es sinnvoll ist, hier eine sortentreue Verzehrsgewohnheit mit einzubeziehen.

50 Donuts und Berliner, als Vertreter der Siedegebäcke, zeigten im Vergleich zu den anderen untersuchten zusammengesetzten Lebensmitteln eine relativ hohe Belastung mit 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen. Der Medianwert für gebundenes Glycidol wurde mit 359 µg/kg festgestellt, bei gebundenem 3-MCPD lag der Wert bei 302 µg/kg. Bezogen auf Fettgehalte, die in dieser Lebensmittelgruppe zwischen 10 % und etwas über 20 % angesetzt werden können, würden die Mediangehalte der verwendeten Frittierfette, die als Quelle der Analyten angesehen werden, über den Werten liegen, die in der Gruppe der Bratfette für den privaten Gebrauch gefunden wurden. Eine Spitzenbelastung von über 10 mg/kg an gebundenem 3-MCPD kann als Indiz gesehen werden, dass, wenn keine anderen Quellen vorliegen, einzelne Frittierfette immer noch außergewöhnlich hohe Gehalte an 3-MCPD-

Estern enthalten. In etwa 40 % der Donuts und Berliner wurde freies 3-MCPD detektiert, es hatte angesichts der hohen Gehalte des gebundenen 3-MCPDs allerdings im Mittel keinen relevanten Einfluss auf die Gesamt-3-MCPD-Menge.

Für Brotaufstriche, die in 50 süße *versus* 50 herzhaftere Proben aufgeteilt wurden, lagen die ermittelten Mediangehalte für Glycidol bei 87 µg/kg *vs.* 68 µg/kg und bei gebundenem 3-MCPD bei 182 µg/kg *vs.* 263 µg/kg.

In der letzten untersuchten Lebensmittelgruppe, den Asia-Gerichten mit Trockennudeln, trat eine relativ große Spannbreite in den Ergebnissen auf. Die Medianwerte von 273 µg/kg Glycidol und 247 µg/kg gebundenes 3-MCPD belegen eine hohe Zahl von deutlich belasteten Proben. Auch in dieser Produktgruppe wurde in der Mehrzahl der Untersuchungen freies 3-MCPD über der Bestimmungsgrenze detektiert, wenngleich in Mengen, die den Gesamt-MCPD-Gehalt nicht signifikant beeinflussten. Auffallend bei den Asia-Gerichten mit Trockennudeln waren höhere 2-MCPD-Anteile am Gesamt-MCPD-Gehalt im Vergleich zu den andern untersuchten Produkten.

Die ermittelten Gehalte an gebundenem 2-MCPD lagen im Durchschnitt etwa in der Größenordnung von 50 % des korrespondierenden Wertes an gebundenem 3-MCPD und streuten im Mittel also um 30 % Anteil am Gesamtgehalt an gebundenem MCPD. Dieses Verhältnis war bei allen nichtfrittierten Lebensmitteln relativ konstant, zeigte aber deutliche Schwankungen bei vielen der frittierten Proben, insbesondere den verzehrfertig frittierten Pommes frites. Hier konnten die 2-MCPD-Gehalte sogar größer sein als die des gebundenen 3-MCPD. Freies 2-MCPD wurde nur in einem sehr kleinen Prozentsatz der Proben detektiert und beschränkte sich fast ausschließlich auf ein Vorkommen in den frittierten Lebensmitteln.

Die separate Betrachtung der Kontaminantengehalte in Bioprodukten, die in Einzelfällen und wegen relativ kleiner Probenzahlen nur eingeschränkt möglich war, zeigte eine besonders große Streubreite der Werte. Relativ übereinstimmend war jeweils eine Reihe von Produkten niedriger belastet als der Durchschnitt – praktisch immer waren aber auch die Maximalwerte Bioprodukten zuzuordnen.

Es kann der Schluss gezogen werden, dass die in diesem Projekt erfasste hohe Probenzahl in Zusammenhang mit einem hohen Prozentsatz an Positivbefunden die Datenlage zur Expositionsabschätzung für 3-MCPD-Ester und verwandte Verbindungen deutlich verbessert. Hinsichtlich der Quellen der Analyten und der Möglichkeiten der Hersteller, die Gehalte der Kontaminanten in den Produkten zu ändern, oder der Notwendigkeit dies zu tun, lassen sich weitere Fragestellungen aus den Ergebnissen ableiten.

## **8.) Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen;**

### **Hinweise auf weiterführende Fragestellungen**

Die Projektziele konnten in großem Umfang realisiert werden. Einschränkungen ergaben sich allein dadurch, dass Änderungen in der Zahl der pro Produktgruppe zu erfassenden Lebensmittel sowie eine nicht immer ausreichend gegebene Chargenverfügbarkeit dazu führten, die Projektdauer um 2 ½ Monate zu verlängern. Dieser Nachteil konnte allerdings teilweise dadurch aufgehoben werden, dass dem BfR noch während der Projektlaufzeit Datenpakete mit vorläufigen Messergebnissen zur Verfügung gestellt wurden, die ebenso vorläufige Einschätzungen ermöglichen sollten. Die gegenüber der ursprünglich geplanten Zahl von 220 auf 240 erhöhte Zahl an Proben Säuglingsmilchnahrung ließ sich mangels Erhältlichkeit einiger Sorten trotzdem nicht erreichen. Diese genannten Punkte können als einzige Einschränkungen in der Zielerreichung gesehen werden. Demgegenüber ermöglichten die bei der Bestimmung der gebundenen niedrigen Quantifizierungsgrenzen, die mit je 10 µg/kg 2,5-fach unter den als Projektziel gesetzten 25 µg/kg lagen, eine deutlich bessere Datenlage zu erzielen und somit die statistische Varianz zu erniedrigen.

Weitergehende Fragestellungen lassen sich erwartungsgemäß in einiger Vielfalt ableiten. Die teilweise hohen Analytgehalte in Lebensmittelgruppen, die bezüglich des Vorkommens von 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen bisher kaum Aufmerksamkeit erhielten, zugleich aber einen möglicherweise relevanten Verzehranteil bei bestimmten Bevölkerungsgruppen haben, sollte die Diskussion über weitere Datenerhebungen auslösen. Wie die in diesem Projekt gefundenen Kontaminantengehalte zeigen, können vermutlich hoch belastete Öle und Fette, die in der Produktion von Lebensmitteln eingesetzt werden, selbst bei einem relativ geringen Fettanteil von unter 20 % in den Produkten noch zu Gehalten führen, die für eine Expositionsabschätzung relevant sein könnten. Zu diesen wenig untersuchten Lebensmitteln ließen sich neben weiterem Süßgebäck auch „Knabbergebäck“ wie Chips, Flips etc. sowie weitere Fertiggerichte oder Instant-Produkte wie beispielsweise Instant-Saucen zählen. Süßwaren wie Pralinen könnten hier ebenfalls in Frage kommen, wenngleich die Verzehrsmengen im Durchschnitt eher gering sein sollten. Auf der anderen Seite gibt es in Einzelfällen offenbar Spitzenbelastungen, bei denen bereits sehr geringe Verzehrsmengen zu einer punktuellen Überschreitung des TDI führen würden. Für eine Frau mit 60 kg Körpergewicht würde beispielsweise durch den Konsum von mehr als 2,3 g des Haselnussöls, das mit 20,9 mg/kg gebundenem 3-MCPD getestet wurde, der TDI von 0,8 mg/kg Körpergewicht überschritten sein. Analoge Betrachtungen gelten für den 3-MCPD-

Spitzenwert bei den Donuts mit einem Gehalt von mehr als 10 mg/kg gebundenem 3-MCPD, wo anzunehmen ist, dass egal ob Mann, Frau oder Kind allein der Verzehr eines einzigen Donuts zu einer TDI-Überschreitung führen würde.

Eine weitere Fragestellung ergibt sich aus dem weit verbreiteten Auftreten des gebundenen 2-MCPD. Hier liegen die durchschnittlichen Gehalte zwar immer niedriger als beim gebundenen 3-Isomer, trotzdem erreichen auch sie vereinzelt den unteren mg/kg-Bereich. Hieraus wäre die Notwendigkeit für Untersuchungen zur Toxikologie dieser Verbindungen naheliegend um festzustellen, ob diese Kontaminante zukünftig weiterhin analytisch berücksichtigt und in die Expositionsabschätzungen einbezogen werden müsste.

Schließlich legt die Analytverteilung in einigen zum Verzehr erhitzten Lebensmitteln wie den Pommes frites und den Croissants nahe, dass hier möglicherweise beim Erhitzen Reaktionen stattfinden, die nicht gebundenes MCPD freisetzen oder generieren und das Verhältnis der gebundenen Analyten zueinander durch Neubildung oder Abbau verändern. Dies unterstreicht die Notwendigkeit, dass analytische Verfahren zur Bestimmung dieser Kontaminanten insbesondere in zusammengesetzten Lebensmitteln daraufhin geprüft sein sollten, beide Formen richtig zu erfassen. Weiterhin könnte die Untersuchung der Vorgänge beim Frittieren pflanzlicher Produkte, wie sie in der Praxis, also in Imbissständen und Restaurants stattfindet, helfen, möglicherweise Maßnahmen für eine verbesserte Frittiertechnik zwecks Minimierung der MCPD-Gehalte abzuleiten. Offen ist auch die für eine realitätsnahe Expositionsabschätzung möglicherweise relevante Fragestellung, ob und in welchem Umfang sich das private Erhitzen von Lebensmitteln auf die die Gehalte an 3-MCPD-Estern und verwandten Verbindungen auswirkt, insbesondere wenn es sich um Fleisch- oder Fischprodukte handelt.

## 9.) Literaturverzeichnis.

- [Abraham et al.: 2013]: Abraham K., Appel K. E., Berger-Preiss E., Apel E.: Relative oral bioavailability of 3-MCPD from 3-MCPD fatty acid esters in rats. *Arch. Toxicol.*, **2013**, 87, 649–659.
- [Andres et al.: 2013]: Andres S., Appel K.E., Lampen A.: Toxicology, occurrence and risk characterisation of the chloropropanols in food: 2-Monochloro-1,3-propanediol, 1,3-dichloro-2-propanol and 2,3-dichloro-1-propanol. *Food Chem. Toxicol.*, **2013**, 58, 467-478.
- [AOCS: 2013a]: AOCS: Official Method Cd 29a-13 Approved 2013. 2- and 3-MCPD Fatty Acid Esters and Glycidol Fatty Acid Esters in Edible Oils and Fats by Acid Transesterification, in: Official Methods and Recommended Practices of the AOCS, 2013a.
- [AOCS: 2013b]: AOCS: Official Method Cd 29b-13 Approved 2013. Determination of Bound Monochloropropanediol (MCPD) and Bound 2,3-epoxy-1-propanol (glycidol-) by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS), in: Official Methods and Recommended Practices of the AOCS, 2013b.
- [AOCS: 2013c]: AOCS: Official Method Cd 29c-13 Approved 2013. Fattyacid-bound 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) and 2,3-epoxi-propane-1-ol (glycidol). Determination in Oils and Fats by GC/MS (Differential Measurement), in: Official Methods and Recommended Practices of the AOCS, 2013c.
- [Appel et al.: 2013]: Appel K.E., Abraham K., Berger-Preiss E., Hansen T., Apel E., Schuchard S., Vogt C., Gakhiya N., Creutzenberg O., Lampen A.: Relative oral bioavailability of glycidol from glycidyl fatty acid esters in rats. *Arch. Toxicol.*, **2013**, 87, 1649–1659.
- [Bakhiya et al.: 2011]: Bakhiya N., Abraham K., Guertler R., Appel K.E., Lampen A.: Toxicological assessment of 3-chloropropane- 1,2-diol and glycidol fatty acid esters in food. *Molecular Nutrition and Food Research*, **2011**, 55, 509–521.



- [Barocelli et al.: 2011]: Barocelli E., Corradi A., Mutti A., Petronini P.G.: Comparison between 3-MCPD and its palmitic esters in a 90-day toxicological study. Scientific report CFP/EFSA/CONTAM/2009/01, *EFSA Supporting Publications*, **2011**, 8 (9).
- [Becalski et al.: 2015]: Becalski A., Zhao T., Breton F., Kuhlmann J.: 2- and 3 monochloropropanediols in paper products and their transfer to foods. *Food Addit. Contam.*, **2016**, 33, 1499–1508.
- [BfR: 2009]: BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung): Initial evaluation of the assessment of levels of glycidol fatty acid esters detected in refined vegetable fats. **2009**, Opinion No 007/2009.
- [BfR: 2012]: BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung): 3-MCPD-Fettsäureester in Lebensmitteln. **2012**, Stellungnahme Nr. 006/2013 des BfR vom 3. April 2012.
- [Buhrke et al.: 2011]: 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.*, **2011**, 85, 1201–1208.
- [Buhrke et al.: 2015]: Buhrke, T., Frenzel, F., Kuhlmann, J., Lampen, A., 2-Chloro-1,3-propanediol (2-MCPD) and its fatty acid esters: Cytotoxicity, metabolism, and transport by human intestinal Caco-2 cells, *Arch. Toxicol.*, **2015**, 89, 2243-51.
- [Cerbulis et al.: 1984]: Cerbulis J., Parks O.W., Liu R.H., Piotrowski E.G., Farrell H.M.: Occurrence of Diesters of 3-Chloro-1,2-propanediol in the Neutral Lipid Fraction of Goats' Milk. *J. Agric. Food Chem.*, **1984**, 32, 474-476.
- [Crews et al.: 2001]: Crews C., Brereton P., Davies A.: The effects of domestic cooking in the levels of 3-monochloropropanediols in foods. *Food Addit. Contam.*, **2001**, 18 , 271-280.

- [Crews et al.: 2013]: Crews C, Chiodini A, Granvogl M, Hamlet C, Hrnčirik K, Kuhlmann J, Lampen A, Scholz G., Weisshaar R, Wenzl T, Jasti PR, Seefelder W: Analytical approaches for MCPDesters and glycidyl esters in food and biological samples: A review and future perspectives. *Food Addit. Contam.*, **2013**, 14, 11–45.
- [Davidek et al.: 1982]: Davidek J., Velisek J., Kubelka V., Janicek G., Simicova Z.: New Chlorine-Containing Organic Compounds in Protein Hydrolysates. In: *Baltes W, Czedik-Eysenberg PB, Pfannhauser W (eds): Recent Developments in Food Analysis*. Proc. EuroFood ChemI, Vienna, Austria: 17-20 Febr., 1981. Weinheim, Deerfield Beach, Florida: 322-325.
- [Destailats et al.: 2012a]: Destailats F, Craft B D, Sandoz L, Nagy K: Formation mechanisms of Monochloropropanediol (MCPD) fatty acid diesters in refined palm (*Elaeisguineensis*) oil and related fractions *Food Addit. Contam. A*, **2012**, 29, 29-37.
- [Destailats et al.: 2012b]: Destailats F., Craft B.D., Dubois M. and Nagy K.: Glycidyl esters in refined palm (*Elaeis guineensis*) oil and related fractions. Part I: Formation mechanism. *Food Chemistry*, **2012**, 131, 1391–1398.
- [Dingel et al.: 2013]: Dingel A, Matissek R: 3-MCPD- und Glycidyl-Fettsäureester Die indirekten Methoden im Überblick. *DLR*, **2013**, 109, 118-122.
- [Divinova et al.: 2014]: Divinova V., Svejkovska B., Reblova Z., Dolezal M., Velisek J.: Determination of Free and Bound 3-Chloropropane-1,2-diol by Gas Chromatography with Mass Spectrometric Detection using Deuterated 3-Chloropropane-1,2-diol as Internal Standard; *Czech J. Food Sci.*, **2004**, 22, **2004**, 182-189.
- [EFSA 2013]: European Food Safety Authority: Analysis of occurrence of 3-Monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) in food in Europe in the years 2009-2011 and preliminary exposure assessment. *EFSA Journal*, **2013**, 11, 3381.

- [EFSA 2016]: 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*, **2016**, 14, 4426 [159pp.].
- [Ermacora et al.: 2013]: Ermacora A., Hrcirik K.: A Novel Method for Simultaneous Monitoring of 2-MCPD,3-MCPD and Glycidyl Esters in Oils and Fats. *J. Am .Oil Chem. Soc.*, **2013**, 90, 1–8.
- [Ermacora et al.: 2014]: Ermacora A., Hrcirik K.: Influence of oil composition on the formation of fatty acid esters of 2-chloropropane-1,3-diol (2-MCPD) and 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) under conditions simulating oil refining. *Food Chem.*, **2014**, 161,383-389.
- [EU: 2006]: VERORDNUNG (EG) Nr. 1881/2006 DER KOMMISSION vom 19. Dezember 2006 zur Festsetzung der Höchstgehalte für bestimmte Kontaminanten in Lebensmitteln. *Amtsblatt der Europäischen Union*, 20.12.2006, L 364/5.
- [EU: 2012]: VERORDNUNG (EU) Nr. 231/2012 DER KOMMISSION vom 9. März 2012 mit Spezifikationen für die in den Anhängen II und III der Verordnung (EG) Nr. 1333/2008 des Europäischen Parlaments und des Rates aufgeführten Lebensmittelzusatzstoffe. *Amtsblatt der Europäischen Union*, 22.03.2012, L 38/1.
- [EU: 2014]: 2014/661/EU: EMPFEHLUNG DER KOMMISSION vom 10. September 2014 zum Monitoring des Vorkommens von 2- und 3-Monochlorpropan-1,2-diol (2- und 3-MCPD), von 2- und 3-MCPD-Fettsäureestern und Glycidyl-Fettsäureestern in Lebensmitteln, *Amtsblatt der Europäischen Union*, 12.09.2014, L271/39.
- [Fry et al.: 2013]: Fry H, Schödel C, These A, Preiss-Weigert A: Collaborative Study for the Determination of 3-MCPD- and 2-MCPD- Fatty Acid Esters in Fat Containing Foods First Collaborative Study Part II Method Validation and Proficiency Test. *Federal Institute for Risk Assessment Press and Public Relations*, **Berlin 2013** (BfR-Wissenschaft 04/2013).

[GA Fett: 2012]: Ergänzende Hinweise zu den DGF-Einheitmethoden C-VI 17 (10) und C-VI 18 (10) zur Bestimmung der 3-MCPD- und Glycidyl-Ester, *European chemical Substances Information System (ESIS)*, **2012**, On-line-Zugriff via: <http://www.dgfett.de/methods/hinweise.pdf>

[Gardner et al. : 1983]: Gardner A.M., Yurawecz M.P., Cunningham W.C., Diachenko G.W., Mazzola E.P., Brumley W.C.: Isolation and Identification of C16 and C18 Fatty Acid Esters of Chloropropanediol in Adulterated Spanish Cooking Oils. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **1983**, 31, 625-630.

[Hamlet et al.: 2002]: Hamlet C.G., Sadd P. A., Crews C., Velisek J., Baxter D. E.: Occurrence of 3- monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) and related compounds in foods: A review. *Food Addit Contam.*, **2002**, 19, 619–631.

[Hamlet et al.: 2004a]: Hamlet C.G., Sadd P. A., Gray D.A.: Generation of Monochloropropanediols (MCPDs) in Model Dough Systems. 1. Leavened Doughs. *J. Agric. Food Chem.*, **2004**, 52, 2059-2066.

[Hamlet et al.: 2004b]: Hamlet C.G., Sadd P. A., Gray D.A.: Generation of Monochloropropanediols (MCPDs) in Model Dough Systems. 2. Unleavened Doughs. *J. Agric. Food Chem.*, **2004**, 52, 2067-2072.

[Hamlet et al.: 2010]: Hamlet CG, Asuncion L, Velisek J, Dolezal M, Zelinkova Z, Crews C: The occurrence of fatty acid esters of chloropropanediols in foods: a review prepared for the UK Food Standards Agency. Report No. C028, Date: 8th October 2010. On-line-Zugriff via: [https://www.food.gov.uk/sites/default/files/C04072\\_Literature%20Review\\_Final\\_081010.pdf](https://www.food.gov.uk/sites/default/files/C04072_Literature%20Review_Final_081010.pdf)

[Hrncirik et al.: 2011]: Hrncirik K., van Duijn G: An initial study on the formation of 3-MCPD esters during oil refining. *Eur. J. Lipid. Sci. Technol.*, **2011**, 113, 374–379.

[IARC: 2000]: IARC (International Agency for Research on Cancer). *Glycidol*. In: *Some Industrial Chemicals. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans*. **2000**, Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. pp. 469–486.

On-line-Zugriff via:

<http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol77/mono77-19.pdf>

[IARC: 2013]: IARC (International Agency for Research on Cancer). 3-Monochloro-1,2-propanediol. In: *IARC Monographs Volume 101 Some Chemicals Present in Industrial and Consumer Products, Food and Drinking-water*. **2013** Lyon, France, 349–374.

On-line-Zugriff auf die aktualisierte Version via:

<http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol101/mono101-010.pdf>

[Kuhlmann: 2011]: Kuhlmann J.: Determination of bound 2,3-epoxy-1-propanol (glycidol) and bound monochloropropanediol (MCPD) in refined oils. *Eur. J. Lipid. Sci. Technol.*, **2011**, 113, 335–344.

[Kuhlmann: 2016]: Kuhlmann J.: Analysis and occurrence of dichloropropanol fatty acid esters and related process-induced contaminants in edible oils and fats. *Eur. J. Lipid. Sci. Technol.*, **2016**, 118(3), 82-395.

[Kuntzer et al.: 2006]: Kuntzer J., Weißhaar R., The smoking process—A potent source of 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) in meat products. *DLR*, **2006**, 102, 397–400.

[MacMahon et al: 2013a]: MacMahon S, Mazzola E, Begley TH, Diachenko DG: Analysis of Processing Contaminants in Edible Oils. Part 1. A Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry Method for the Direct Detection of 3-Monochloropropanediol (3-MCPD) Mono-esters and Glycidyl Esters. *J. Agric. Food Chem.*, **2013**, 61 , 4737–4747.

- [MacMahon et al: 2013b]: MacMahon S, Begley TH, Diachenko DG: Analysis of Processing Contaminants in Edible Oils. Part 2. Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Method for the Direct Detection of 3-Monochloropropanediol and 2-Monochloropropanediol Diesters. *J. Agric. Food Chem.*, **2013**, *61* , 4748–4757.
- [LMZ: 2015]: Top 30 Lebensmittelhandel Deutschland 2015, Dfv Mediengruppe, Lebensmittel Zeitung, 13. März 2015.
- [Rahn et al.: 2011]: Rahn A K K, Yayaylan V A: Monitoring cyclic acyloxonium ion formation in palmitin systems using infrared spectroscopy and isotope labelling technique. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, **2011**, *113*, 330–334.
- [SCF: 2001]: SCF, Scientific Committee on Food (2001): Opinion on 3-Monochloro-Propane-1, 2-Diol (3-MCPD), updating the SCF opinion of 1994 adopted on 30 May 2001. On-line-Zugriff via:  
[http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out91\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out91_en.pdf)
- [van Bergen et al.: 1992]: van Bergen C.A., Collier P.D., Cromie D.D.O., Lucas R.A., Preston H.D., Sissons D.J. Determination of chloropropanols in protein hydrolysates. *J. Chromatogr.*, **1992**, *589*, 109-119.
- [Svejkovska et al.: 2004]: Svejkovska B., Novotny O., Divinova V., Reblova Z., Dolezal M., Velisek J.: Esters of 3-Chloropropane-1,2-diol in Foodstuffs; *Czech J. Food Sci.*, **2004**, *22* , 190-196.
- [Velisek et al.: 1979]: Velisek J., Davidek J., Kubelka V., Bartosova J. Tuckova A, Hajslova J, Janicek G: Formation of volatile chlorohydrins from glycerol (triacetin, tributyrin) and hydrochloric acid. *Lebensm. - Wiss. Technol.*, **1979**, *12*, 234.
- [ Velisek et al.: 1980]: Velisek J., Davidek J., Kubelka V., Janicek G., Simicova Z.: New chlorine-containing organic compounds in protein hydrolysates. *J. Agric. Food Chem.*, **1980**, *28*, 1142–1144.

[Weißhaar: 2008]: Weißhaar R.: 3-MCPD-Esters in edible fats and oils – a new and worldwide problem. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, **2008**, 110, 671–672.

[Weißhaar: 2008]: Weisshaar R.: Determination of total 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) inedible oils by cleavage of MCPD esters with sodium methoxide. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, **2008**, 110, 183–186.

[Weißhaar et al.: 2010]: Weißhaar R., Pertz R.: Fatty acid esters of glycidol in refined fats and oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2010**, 112, 158-165.

[Weißhaar: 2011]: Weißhaar R.: Wenn beim Grillen das Fett auf die Holzkohle tropft ....  
Homepage des Chemischen und Veterinäruntersuchungsamtes Stuttgart, On-line Veröffentlichung am 1.08.2011.  
On-line-Zugriff via:  
[http://www.cvuas.de/pub/beitrag.asp?subid=1&Thema\\_ID=2&ID=1457](http://www.cvuas.de/pub/beitrag.asp?subid=1&Thema_ID=2&ID=1457)

[Wenzl et al.: 2015]: Wenzl T, Samaras V, Giri A, Buttinger G, Karasek L, Zelinkova Z:  
Development and validation of analytical methods for the analysis of 3-MCPD (both in free and ester form) and glycidyl esters in various food Matrices and performance of an ad-hoc survey on specific food groups in support to a scientific opinion on comprehensive risk assessment on the presence of 3-MCPD and glycidyl esters in food1. EFSA supporting publication 2015: EN-779, **2015**, 12 (3).

[Wöhrlin et al.: 2015]: Wöhrlin F, Fry H, Lahrssen-Wiederholt, Preiss-Weigert A: Occurrence of fatty acid esters of 3-MCPD, 2-MCPD and glycidol in infant formula. *Food Addit. Contam.*, **2015**, 32, , 1810-1822.

[Zelinkova et al.: 2006]: Zelinkova Z., Svejtkovska B., Velisek J., Dolezal M.: Fatty esters of 3-chloropropane-1,2-diol in edible oils. *Food Addit. Contam.*, **2006**, 23, 1290-1298.

[Zelinkova et al.: 2009]: Zelinkova Z., Dolezal M., Velisek J.: Occurrence of 3-chloro-propane-1,2-diol fatty acid esters in infant and baby food. *Eur Food Res Technol.*, **2009**, 228, 571-578

[Zhang et al.: 2013]: Zhang X., Gao B., Qin F., Shi H., Jiang H., Xu X., Yu L.L.: Free radical mediated formation of 3-monochloropropanediol (3-MCPD) fatty acid diesters. *J. Agric. Food. Chem.*, **2013**, 13;61, 2548-5.