

Analyse des MCPD et glycidol dans les produits alimentaires avec la station de travail CHRONECT MCPD et le module ISO 18363-2



Note d'application 148

Introduction

Les 3-monochloro-1,2-propanediol (3-MCPD), 2-monochloro-1,3-propanediol (2-MCPD) et glycidol sont des impuretés liées au procédé de fabrication et peuvent apparaître lorsque les aliments gras sont chauffés en présence de sels. Les esters des 2-MCPD, 3-MCPD et glycidol liés aux acides gras sont formés lors du raffinage des huiles végétales et des graisses alimentaires par chauffage intense des triglycérides en présence de composés chlorés, plus particulièrement lors de l'étape finale de raffinage : la suppression des odeurs et arômes (désodorisation). Tous les produits alimentaires fabriqués à partir d'huile et graisse végétale raffinée, comme la margarine, les pâtisseries, le lait infantile, peuvent aussi être contaminés. Même dans le cas où des matières premières d'excellente qualité sont utilisées, la contamination peut apparaître lors de la préparation des aliments, pendant une étape de chauffage par exemple.

Les 3-MCPD et glycidol ont montré des effets toxiques importants lors d'études réalisées sur les animaux. Le 2-MCPD est suspecté d'être cancérigène et fait l'objet d'une surveillance accrue. Dans les évaluations actuelles du Centre international de Recherche sur le Cancer (CIRC), le 3-MCPD est classé en tant que « potentiellement cancérigène pour les humains » (groupe 2B) et le glycidol en tant que « probablement cancérigène pour les humains » (groupe 2A). Ces deux composés (mais principalement le glycidol) sont sujet au principe de minimisation ALARA (As Low As Reasonable Achievable). La dose maximale journalière du 3-MCPD a été fixée par l'Autorité européenne de sécurité des aliments à 2 µg/kg de poids de l'individu. Dans les cas des nourrissons qui ont un poids faible, cette limite peut être rapidement atteinte avec le lait infantile. C'est donc un risque de santé pour les individus les plus jeunes.

De manière générale, l'analyse des 2-MCPD, 3-MCPD et glycidol est réalisée sur des échantillons de graisse et huile. S'il s'agit de produits alimentaires composés, la première étape consiste à isoler la graisse de l'échantillon, par extraction au solvant accélérée. Afin de libérer les analytes, la graisse doit être transestérifiée. Après dérivatisation, les molécules d'intérêt sont analysées par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse.

Cette méthode est aussi connue sous le nom de méthode 3 en 1. Elle est basée sur un relargage lent des MCPDs et glycidol de leurs esters en milieu basique. Cette procédure dure 16 heures à -22 °C. Le clivage est ensuite arrêté à l'aide d'une solution de bromure de sodium et les 2-MCPD, 3-MCPD et 3-MBPD sont formés. Ces trois composés sont quantifiés ensemble en une seule étape après dérivatisation avec du PBA. Une station de travail entièrement automatisée permettant de suivre la méthode officielle AOCS Cd29b-13 est présentée ici.

Configuration de l'appareil

La clé pour l'automatisation de la méthode officielle AOCS Cd29b-13 est l'utilisation d'un passeur d'échantillon équipé d'un stockage capable de maintenir une température entre -22 °C et -25°C pendant 16 heures. Le passeur d'échantillon CHRONECT Robotic est équipé d'un tiroir à échantillon ayant cette fonction mais également de support pour stoker les échantillons pesés et d'un mélangeur vortex (figure 1). Une station de lavage pour la seringue, des réservoirs pour les solvants et réactifs et les outils adaptés complètent le dispositif. La

station de travail CHRONECT est complétée par un GC MS et permet ainsi d'effectuer une injection en ligne de l'échantillon directement après préparation. Les deux têtes robotisées travaillant en parallèle permettent d'optimiser efficacement les étapes de la procédure.

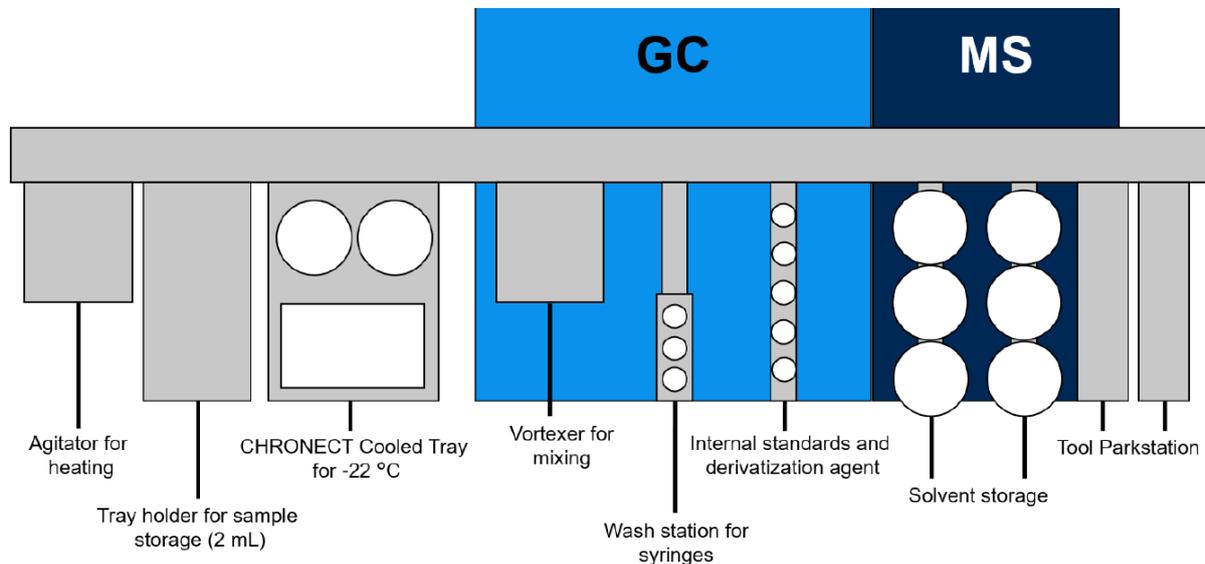


Figure 1 : configuration de la station de travail CHRONECT MCPD – Module ISO 18363-2 montée sur un système GC-MS.

Résultats

Combinée au logiciel CHRONOS, la station de travail CHRONECT peut préparer jusqu'à 48 échantillons en une seule fois. Un lot de 30 échantillons peut être analysé en 24 heures. Une courbe de calibration comportant 10 points de 50 µg/kg à 2500 µg/kg pour les trois composés a été générée avec la fonction de concentration automatique des échantillons du passeur CHRONECT Robotic. Dix flacons contenant chacun 100 mg d'huile ont été dopés aux trois composés afin de déterminer la reproductibilité et le rendement.

Afin d'évaluer la robustesse de la station de travail CHRONECT, trois échantillons (huile d'olive vierge, une huile végétale FAPAS et une huile de palme raffinée basique) ont été analysés dix fois chacun (figure 2). Les résultats pour les 2-MCPD, 3-MCPD et glycidol ont été comparés pour démontrer la reproductibilité du système avec différents types d'échantillon.

Discussion

Des courbes de calibration montrant une excellente linéarité ($R^2 > 0.99$) ont pu être obtenues avec les échantillons d'huile d'olive dopés à différentes concentrations. Même aux concentrations les plus basses, aucune déviation significative n'a pu être observée, la linéarité étant constante même sous les 50 µg/kg.

La contamination du bruit de fond pour ces analyses est inférieure à 5 ppb pour les 2-MCPD et glycidol, et inférieure à 19 ppb pour le 3-MCPD. Des rendements globaux compris entre 94 et 103 % (tableau 1) ont été obtenus pour la préparation et l'analyse successive des échantillons d'huile d'olive vierge dopés à 500 µg/kg de 2-MCPD, 3-MCPD et glycidol. La

préparation d'échantillon automatisée est donc une alternative robuste à la préparation manuelle.

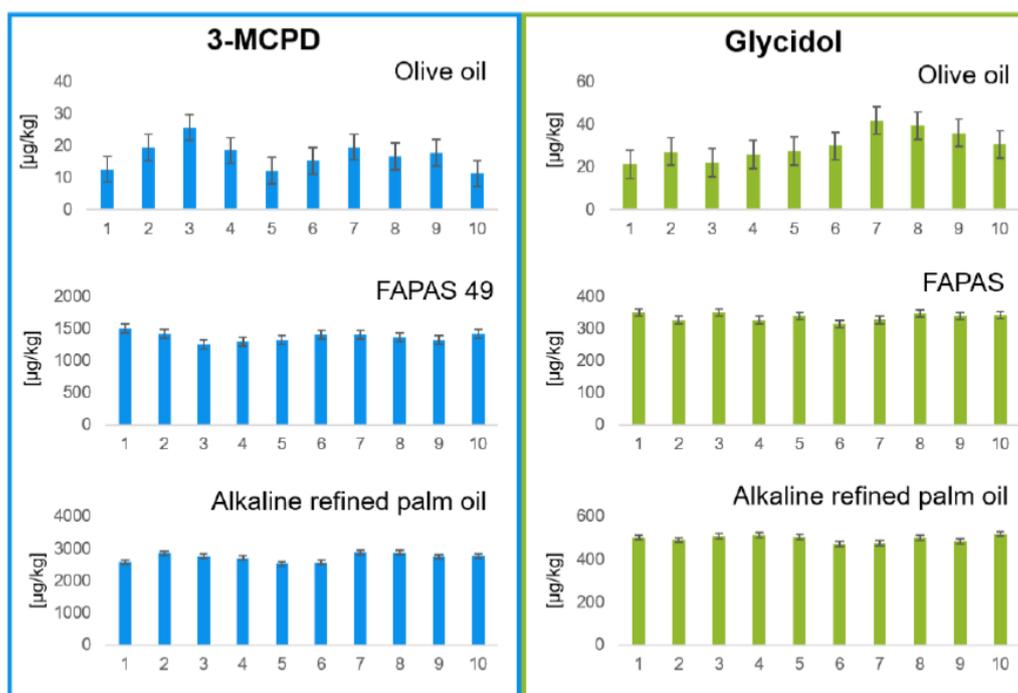


Figure 2 : évaluation de la reproductibilité pour différents types d'échantillons et différentes concentrations.

Tableau 1 : Résultats pour l'huile d'olive vierge dopée avec 2-MCPD, 3-MCPD et glycidol a 500 µg/kg.

	Concentration [µg/kg]			Recovery [%]		
	3-MCPD	Glycidol	2-MCPD	3-MCPD	Glycidol	2-MCPD
Spiked-1	484	506	507	96.8	101.2	101.4
Spiked-2	478	511	485	95.7	102.2	97.0
Spiked-3	506	485	515	101.1	96.9	103.0
Spiked-4	503	514	497	100.5	102.7	99.3
Spiked-5	499	473	502	99.8	94.5	100.5
Spiked-6	473	486	489	94.6	97.1	97.8
Average	490.4	495.5	499.3	98.1	99.1	99.9
SD	12.5	15.3	10.3	2.5	3.1	2.1
RSD [%]	2.5	3.1	2.1	2.5	3.1	2.1

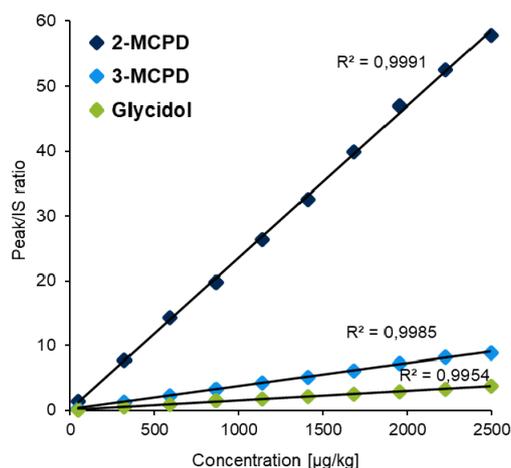


Figure 3 : courbes de calibration pour les 2-MCPD, 3-MCPD et glycidol entre 50 et 2500 µg/kg.

Dans la suite de l'évaluation de la station de travail CHRONECT, les 3 types d'échantillons ont été analysés 10 fois chacun pour évaluer l'impact des matrices sur la robustesse. Un échantillon blanc d'huile d'olive vierge, une référence d'huile végétale des tests inter laboratoire FAPAS (FAPAS T2649QC) et une huile de palme raffinée basique ont été analysés.

Pour les blancs, un écart type relatif au-dessus de 20% a été observé, mais les valeurs sont en dessous du point le plus bas de la courbe de calibration et de la limite de quantification du système. L'échantillon de référence a montré une bonne corrélation avec les données issues des tests inter laboratoire ($z < 2$) ainsi que l'écart type relatif. Les résultats sont similaires pour l'huile de palme raffinée avec un écart type relatif inférieur à 6%.

Tableau 2 : évaluation de la reproductibilité pour trois types d'huile.

#	Blank oil			FAPAS oil 49			Physically ref. palm oil		
	3-MCPD [µg/kg]	Glycidol [µg/kg]	2-MCPD (µg/kg)	3-MCPD [µg/kg]	Glycidol [µg/kg]	2-MCPD [µg/kg]	3-MCPD [µg/kg]	Glycidol [µg/kg]	2-MCPD [µg/kg]
1	13	21	1	1507	350	795	2594	504	1466
2	20	27	3	1421	327	774	2877	493	1596
3	26	22	7	1261	351	703	2781	511	1547
4	19	26	3	1294	327	711	2715	516	1507
5	12	28	1	1322	340	708	2545	506	1432
6	15	30	1	1408	316	760	2588	473	1453
7	20	42	1	1406	328	763	2906	478	1668
8	17	39	1	1368	348	718	2884	502	1702
9	18	36	1	1329	340	709	2765	486	1591
10	11	31	1	1428	343	757	2788	520	1571
Average	17.6	30.2	2.2	1368.3	336.4	737.9	2739.4	496.6	1551.4
SD	4.1	6.5	1.8	69.9	11.3	31.8	124.2	15.1	85.6
RSD	23.2	21.7	79.4	5.1	3.3	4.3	4.5	3.0	5.5

Une limite de quantification inférieure à 25 µg/kg peut être atteinte grâce aux valeurs de reproductibilité et de sensibilité obtenues lorsque les concentrations de 3-MCPD et glycidol dans le blanc sont réduites. Ainsi des échantillons de nourriture pour bébé peuvent être analysés avec une limite de quantification inférieure à 6 µg/kg. La station de travail CHRONECT

peut être équipée avec une unité d'évaporation additionnelle utilisée pour les méthodes AOCS Cd29a-13 et AOCS Cd29c-13, ce qui permet des analyses avec un spectromètre de masse simple quadripôle et d'obtenir des limites de quantification comparables.

La station de travail CHRONECT MCPD – module ISO 18363-2 est une solution pertinente pour votre laboratoire et les analyses de routine. La méthode présentée possède l'avantage de pouvoir déterminer les concentrations d'un échantillon en 2-MCPD, 3-MCPD et glycidol en une seule analyse.