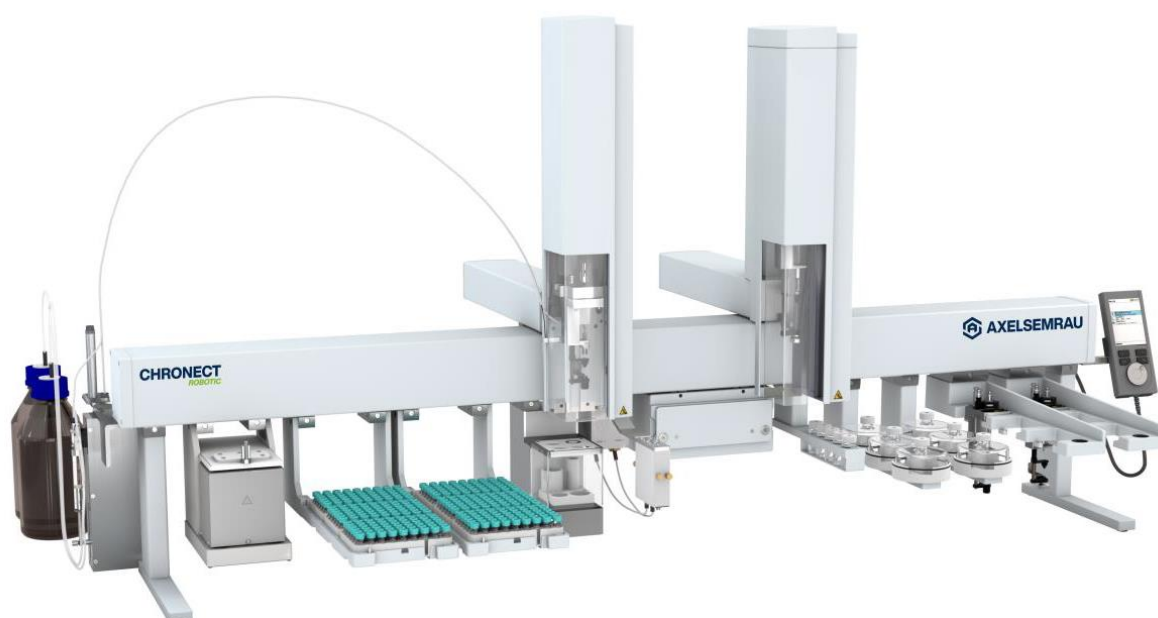


Analyse des MCPD et glycidol dans les produits alimentaires avec la station de travail CHRONECT MCPD et le module ISO 18363-4



Note d'application 150

Introduction

L'analyse des 2-MCPD, 3-MCPD et glycidol dans les huiles, les graisses et les aliments gras est devenue récemment un sujet d'importance. Le glycidol est classé comme cancérigène et le 3-MCPD comme cancérigène possible. Ces deux composés sont formés lors du traitement des huiles et graisses à haute température. La concentration de ces composés dans les aliments riches en graisse ou pour bébés est particulièrement surveillée car le risque de dépassement de la dose maximale journalière est élevé. L'analyse des MCPD et du glycidol est de plus en plus implémentée en routine dans les laboratoires sous contrat ou dans les laboratoires de libération des huiles et graisses alimentaires. Plusieurs méthodes existent et diffèrent principalement par les conditions et le temps des réactions chimiques. Dans tous les cas, les MCPD et glycidol liés aux acides gras en sont séparés puis dérivatisés et injectés sur le chromatographe en phase gazeuse. La transestérification est réalisée en condition acide ou basique à température ambiante ou à 40 °C (selon la méthode ISO 18363-3 également appelée méthode Unilever ou AOCS Cd29a-13), ou à -22°C (selon la méthode ISO 18363-2, également appelée méthode 3 en 1 ou AOCS Cd29b-13). Dans le cas d'une transestérification en milieu basique à température ambiante, le 3-MCPD libre est rapidement converti en glycidol, ce qui peut mener à des résultats erronés si cette conversion n'est pas compensée.

Selon les méthodes, cette transformation en glycidol est compensée de différente manière : à -25°C elle est contrôlée cinétiquement, ou mesurée par l'ajout d'un d'autre halogène (bromure de sodium). Cette approche est décrite dans la méthode ISO 18363-1 (également appelée méthode DGF ou AOCS Cd29c-13) et comporte une incertitude provenant de deux préparations d'échantillon. Une alternative consiste en l'ajout d'un standard interne $^{13}\text{C}_3$ 3-MCPD qui permet de compenser la conversion du 3-MCPD. Dans ce cas, chaque échantillon requiert seulement une préparation par analyse.

Cette modification de la méthode a été publiée en 2015 par Zwagerman et al. et représente une alternative robuste pour le contrôle de procédé. Elle fait actuellement l'objet d'une standardisation en tant que Draft ISO 18363-4. Comme pour les méthodes officielles en milieu basique, le standard interne est d'abord ajouté à l'échantillon. La réaction est ensuite démarrée à 10 °C. A la fin de la réaction, celle-ci est arrêtée à l'aide d'une solution acide de bromure de sodium. La matrice est éliminée dans l'étape suivante à l'aide un solvant apolaire comme l'hexane ou l'heptane. Les 2-MCPD, 3-MCPD et glycidol (sous la forme 3-MBPD) sont ensuite dérivatisés à l'aide de l'acide phénylboronique (figure 1). Les dérivés obtenus sont extraits avec l'iso-octane et transférés dans un autre flacon contenant du sulfate de sodium. La solution est alors prête pour l'injection sur le système GC-MS. Le standard interne est utilisé lors de l'analyse pour mesurer la conversion du glycidol en 3-MCPD.

Méthode et configuration de l'appareil

La station de travail CHRONECT MCPD est équipée de l'extension Draft ISO 18363-4 pour réaliser l'intégralité de la préparation d'échantillon et de l'analyse automatiquement. L'utilisateur doit seulement peser une quantité donnée de graisse ou d'huile (environ 100 mg) dans un flacon GC de 2 mL, et le placer sur le passeur d'échantillon. La transestérification, l'élimination de la matrice, la dérivatisation et l'injection (figure 1) sont effectuées par le passeur d'échantillon robotisé CHRONECT Robotic, lui-même contrôlé par le logiciel

CHRONOS. L'étape clé de cette variante de l'analyse des MCPD est l'ajout du standard interne ester de $^{13}\text{C}_3$ 3-MCPD, qui est dosé automatiquement par le passeur d'échantillon lors de la première étape. Ce standard compense les différences éventuelles de matrice ou de matériel.

En plus des modules de chauffage et de mélangeage, le passeur d'échantillon est équipé d'un tiroir tempéré à 10 °C qui permet d'effectuer la transestérification dans un environnement contrôlé. Tous les solvants et réactifs nécessaires pour plusieurs jours d'analyse sont stockés en quantité suffisante directement sur le passeur d'échantillon. Grâce à une combinaison efficace des étapes de la procédure, les résultats de l'analyse sont disponibles en 48 minutes (préparation d'échantillon comprise).

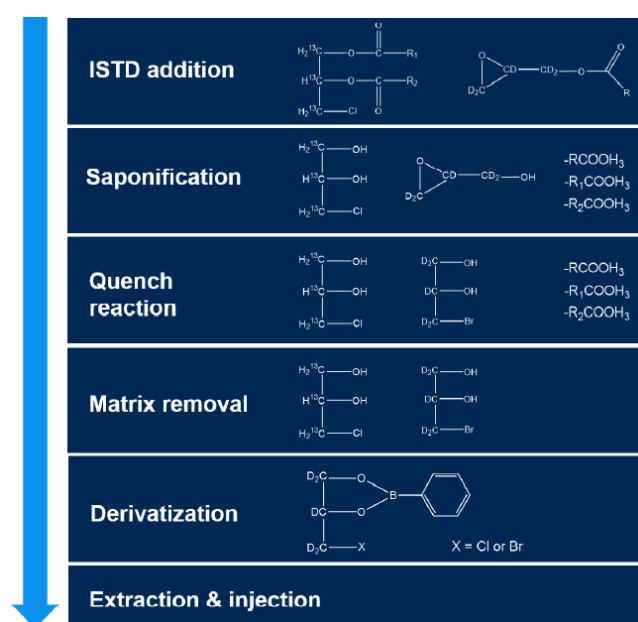


Figure 1 : enchainement des réactions mises en œuvre lors de la préparation d'échantillon avec l'utilisation de deux standards internes.

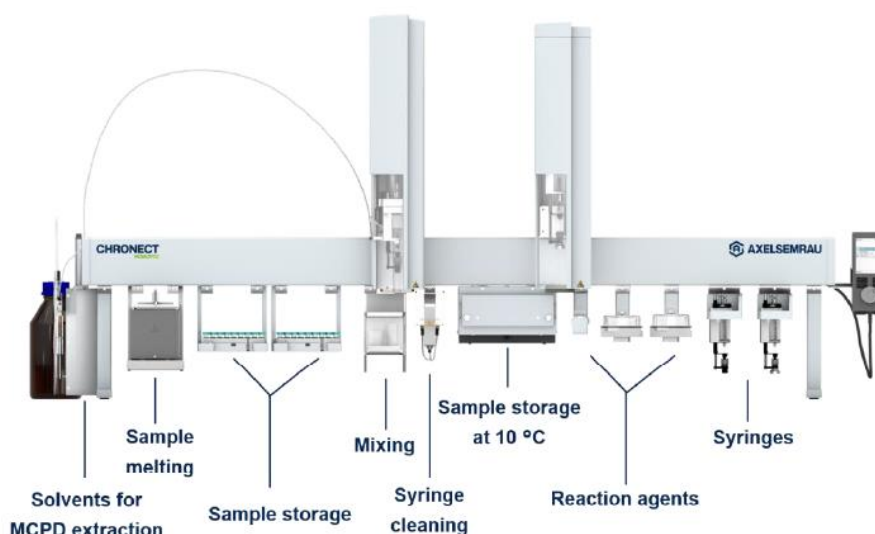


Figure 2 : configuration du passeur d'échantillon robotisé avec les modules pour l'analyse des MCPD selon la norme Draft ISO 18363-4.

Tableau 1 : paramètres de mesure du triple quadrupôle pour la détection des 3-MCPD et 2-MCPD.

Injector			
SSL, 1 µL Injection volume, Splitless (Split 1:20 after 1 minute)			
Temperature [°C]	Heat rate [°C/min]	Hold time [min]	Total [min]
250,0	isotherm	15,00	15,00
Gas control	1,5 mL/min Constant Flow, Backflush after 8 min		
Capillary Column	2x Rxi-5 MS 15 meter, 0,25 mm ID, 0,25 µm film		
Oven program			
Temperature [°C]	Heat rate [°C/min]	Hold time [min]	Total [min]
70,0		2,00	2,00
200,0	20,0	0,00	8,50
300,0	40,0	4,00	15,00
Detector	Transfer line 280 °C, CID-Gas Argon, MRM-Mode		
Name	Precursor-Ion	Product-Ion	Mode
2-MCPD	198,00	104,00	Quantifier
	196,00	104,00	Qualifier
2-MCPD-d5	203,00	107,00	Quantifier
	201,00	93,00	Qualifier
3-MCPD	196,00	147,00	Quantifier
	196,00	91,00	Qualifier
3-MCPD-d5	201,00	150,00	Quantifier
	201,00	93,00	Qualifier
3-MBPD	245	150	Quantifier
	242	147	Qualifier
3-MBPD-d5	245	150	Quantifier
	247	150	Qualifier
3-MBPD-13C3	243	149	Quantifier
	**	**	Qualifier

** Not possible due to interference with Glycidol-d5 internal standard.

Tableau 2 : paramètres de validation des analyses de l'huile dopée et des échantillons de référence.

Parameter	Target	Is
Recovery (%)	75 – 100	104
Reproducibility (RSD %)	< 10	2,6
LOQ* (µg/kg)	< 50	32
LOD** (µg/kg)	≤ 10	10

* Limit of quantification; ** Limit of detection.

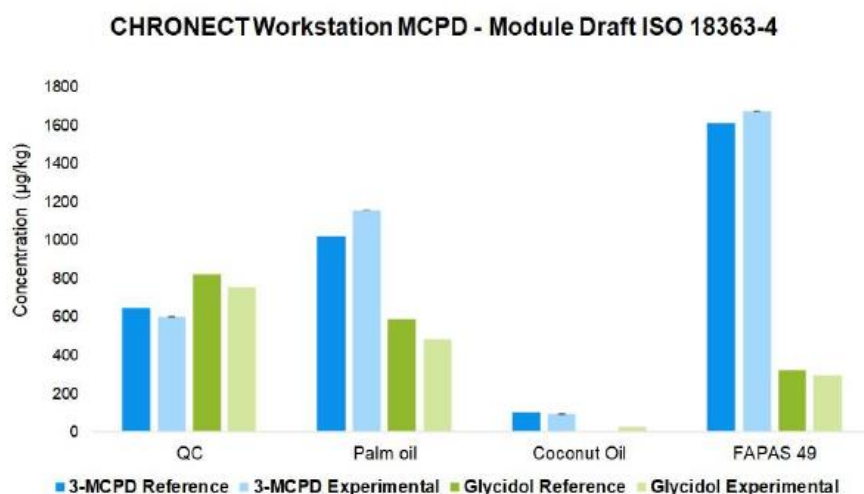


Figure 3 : comparaison des résultats obtenus pour l'analyse d'échantillons de référence avec la méthode automatisée Draft ISO 18262-4.

Evaluation des résultats

La méthode a été validée avec des huiles végétales dopées et des substances de référence afin de déterminer le rendement et la reproductibilité pour l'ensemble de la procédure (tableau 2). Un rendement de 104% a été mesuré avec l'huile d'olive dopée et la méthode Draft ISO 18363-4 (tableau 2). Pour le 3-MCPD libre, une reproductibilité de 97.4 % a été établie. Avec une valeur de blanc inférieure à 10 µg/kg, la limite de quantification est de 32 µg/kg. Une valeur de blanc réduite étant possible, des limites de quantification inférieures à 25 µg/kg peuvent être atteintes. Dans ce cas, les quantités de standard interne et la pureté des réactifs et solvants utilisés ont une influence importante sur l'analyse. L'analyse des substances de référence (figure 3) montre un rendement similaire aux valeurs théoriques (3-MCPD expérimental et glycidol expérimental) déterminées avec la méthode 3 en 1, à la fois aux concentrations élevées (mg/kg) et plus faibles (µg/kg). Les méthodes Zwagerman et 3 en 1 font appel à la transestérification en milieu basique, pour la méthode 3 en 1 celle-ci est réalisée à -22 °C pendant 16 heures.

Grace aux standards internes ester de $^{13}\text{C}_3$ -3-MCPD et ester de d5-glycidol utilisés pour la compensation et la quantification, une seule analyse est requise pour déterminer la teneur en 2-MCPD, 3-MCPD et glycidol.

L'utilisateur dispose du résultat en 48 minutes et l'échantillon suivant est préparé par le passeur lors de l'analyse GC, grâce au logiciel CHRONOS. Ceci garantit une utilisation optimale du système GC-MS. Le fait d'avoir une seule analyse pour les trois composés permet de réduire l'incertitude de manière significative.

Les autres méthodes comprenant une transestérification en milieu basique pour l'analyse des MCPD nécessitent deux préparations d'échantillon distinctes et deux analyses par GC-MS par échantillon. Ceci induit un temps d'analyse et une charge de travail supérieurs comparés à la méthode publiée par Zwagerman. L'approche automatisée permet en revanche de réduire ces inconvénients.

Conclusion

L'analyse automatisée des 2-MCPD, 3-MCPD et glycidol dans les huiles et graisses alimentaires selon la méthode Zwagerman et al. est une alternative efficace aux méthodes officielles actuelles ISO 18363-1, ISO 18363-2 et ISO 18363-3. Les résultats obtenus sont comparables à ceux obtenus avec la méthode officielle AOCS Cd29b-13, et les déviations observées sont minimales à la fois pour les hautes et basses concentrations. Les limites de détection et de quantification sont similaires à celles de la méthode officielle 3 en 1, et sont largement influencées par les valeurs des blancs issues des solvants et réactifs.