

Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR)

Analytik von Acrylamid in Lebensmitteln

Protokoll der Arbeitsgruppensitzung vom 16. Dezember 2002

Auf der ersten Sitzung der Arbeitsgruppe „Analytik von Acrylamid in Lebensmitteln“, am 19. Juni 2002, hatte sich gezeigt, dass von verschiedenen Laboren eigene Methoden zur Bestimmung von Acrylamid in Lebensmitteln erarbeitet worden sind. Es wurde vorgeschlagen, die Vergleichbarkeit der Methoden durch eine Laborvergleichsuntersuchung (Proficiency Testing) zu ermitteln. Weiterhin wurde vereinbart, zur Vorbereitung des Proficiency Testings sowie zur Überprüfung der eigenen Analytik eine Probe Knäckebrot mit bekanntem Acrylamid-Gehalt (Sunshine Testing) ab der zweiten Juli-Hälfte 2002 an die interessierten Labore zu verschicken. Die Abgabe der Untersuchungsergebnisse an das BfR sollte freiwillig erfolgen.

Nach der Probe für das Sunshine Testing wurden in der zweiten September-Hälfte 2002 sechs Lebensmittel-Proben für das Proficiency Testing versandt. Als Abgabetermin für die Ergebnisse wurde der 28. Oktober 2002 festgesetzt. Dieser Termin wurde auf den 15. November verschoben, um möglichst viele Labore in die Auswertung einbeziehen zu können.

Es wurde vereinbart, die Ergebnisse in anonymisierter Form auszuwerten und nach gemeinsamer Beratung in der Arbeitsgruppe „Analytik von Acrylamid in Lebensmitteln“ zu publizieren (Die ausführliche Auswertung des Proficiency Testings finden Sie unter dem Titel „Acrylamide – Interlaboratory Study 2002“ auf der Homepage des BfR).

Sunshine Testing

Bei der „Sunshine“-Probe handelte es sich um eine Übungsprobe (homogenisiertes Knäckebrot mit einem angegebenen Gehaltsbereich an 400-500 µg Acrylamid/kg), die den Teilnehmern vor dem Proficiency Testing ermöglichte, ihre eigenen Methoden zu testen. Vier verschiedene Laboratorien prüften zuvor auf Homogenität und Gehalt. Die Proben wurden ab Juli 2002 an 47 Empfänger versandt, die jeweils eine Probenmenge von ca. 75 g erhielten. Die Labore wurden gebeten, ihre Ergebnisse mitzuteilen, um eine Auswertung durchzuführen. 34 Ergebnismitteilungen wurden dem BfR schließlich vorgelegt.

Nach Eliminierung der Ausreißer mittels Pearson Test konnten die folgenden Daten für das Sunshine Testing ermittelt werden:

Abgegebene Ergebnisse	Ausreißer	Anzahl zur Berechnung verwendeter Daten	Mittelwert µg/kg	Standardabweichung in µg/kg	Relative Standardabweichung in %
34	7	27	472	32,4	6,9

Die Ergebnisse zeigen, dass sich am Sunshine Testing überwiegend bereits erfahrene Laboratorien beteiligten. Fast alle diese Laboratorien nahmen auch am folgenden Proficiency Testing teil.

Proficiency Testing

Jeweils 6 Proben Untersuchungsmaterial (Kartoffelpüree A, Kakao B, Knäckebrot C, Butterkeks D, Kartoffelpüree E (Blank) und Knäckebrot F) wurden zusammen mit einer Empfangs-

bestätigung, einem Berichtsbogen und einem Protokoll (mit ausführlichen Anweisungen zur Durchführung) 47 Laboren zur Verfügung gestellt.

Probe A ist durch Erhitzen der Probe E (Blank) im Labor des BfR (auf nicht küchentechnische Weise) hergestellt worden, um einen besonders hohen Gehalt an Acrylamid zu erzeugen. Proben C und F sind identisch.

Die Homogenität des Untersuchungsmaterials wurde geprüft und als hinreichend beurteilt.

Um die Vergleichbarkeit der eingehenden Ergebnisse zu gewährleisten, wurde die Stabilität der einzelnen Proben über den Zeitraum des Proficiency Testing durch mehrfache Bestimmungen bestätigt.

Der angenommene Gehalt (Sollwert) der Proben A - F wurde durch die Q-Huber-Schätzung bestimmt. Als Zielstandardabweichung wurde die tatsächliche, robust ermittelte Standardabweichung eingesetzt. Daraus wurden die minimalen und maximalen Toleranzgrenzen für einen Z-score von 2 bzw. -2 errechnet.

34 Labore teilten dem BfR ihre Untersuchungs-Ergebnisse mit. Zwei Labore wurden wegen offensichtlich vorliegender analytischer Unzulänglichkeiten nicht berücksichtigt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Probe	Sollwert	CV _R	Anzahl Labore z >2
	µg/kg	%	
A	7286	25,6	6 von 31 *)
B	215	57,7	3 von 25 *)
C	184	28,0	1 von 30 *)
D	102	19,3	2 von 31 *)
E	überwiegend < LOD		
F	182	27,2	2 von 31 *)

*) weil einige Labore einzelne Proben nicht untersucht oder Konzentrationen unterhalb der Bestimmungsgrenzen gefunden haben, beträgt die Gesamtzahl der Labore nicht 32.

Für Kartoffelpüree (A, E), Knäckebrot (C, F) und Butterkeks (D) wurden Streuungen ermittelt, die gut mit denen eines etablierten Schätzungsmodells („Horwitz-Standardabweichung“) übereinstimmen und auf eine einheitlich hohe Analysenqualität schließen lassen. Als problematisch ist dagegen die Analyse von Kakao (B) anzusehen.

Weitergehende Auswertungen zeigten, dass die Ergebnisse in Abhängigkeit der Bestimmungsmethode (GC-MS und LC-MS) als statistisch vergleichbar anzusehen sind. Der Einsatz unterschiedlicher Extraktionsmittel (wässrig, nicht-wässrig) führt bei Kartoffelpüree (A, E), Knäckebrot (C, F) und Butterkeks (D) zu statistisch vergleichbaren Resultaten, während bei Kakao mit der nicht-wässrigen gegenüber der wässrigen Extraktion im Mittel um 80 % höhere Konzentrationen erhalten werden. Dies ist eine der Ursachen für die nicht zufriedenstellende Analysenqualität für Kakao innerhalb des Proficiency Testings. Die Gründe für die großen Abweichungen sollten daher unbedingt ermittelt werden.

Entsprechend den Angaben zu diesem Proficiency Testing sind die meisten Laboratorien in der Lage, Acrylamid bis zu Konzentrationen von 10-30 µg/kg nachzuweisen und bis zu einem Gehalt von 30-100 µg/kg zu quantifizieren.

Diskussion

Es wird gefragt, ob Erkenntnisse über die Bildung von Acrylamid während der Lagerung der Proben vorliegen. Auch bei niedrigen Temperaturen (ab 45 °C) wird dies für möglich gehalten.

ten, wobei auch eine Abhängigkeit vom pH-Wert wahrscheinlich ist. Zumindest im Zusammenhang mit dem Proficiency Testing können für die Zeit von 3 Monaten keine signifikanten Änderungen der Gehalte an Acrylamid in den untersuchten Proben festgestellt werden. Andere Teilnehmer wiesen auf die Möglichkeit eines Abbaus von Acrylamid in Lebensmitteln hin.

Bedingt durch sehr kurze Retentionszeiten für das Acrylamid auf HPLC-Säulen wurde trotz der hohen Spezifität der MS/MS-Technik die Gefahr von verfälschten Ergebnissen (durch co-eluierende Begleitstoffe) diskutiert. Dies gilt insbesondere für Kakao und andere Lebensmittel mit komplexer Matrix. Für einige Proben werden deshalb zur Bestimmung zwei Säulen empfohlen. Ein Teilnehmer ermittelte mit der LUNA-Säule höhere Gehalte als mit der Hypercarb-Säule. Auch bei Bestimmungen mit GC-MS bei Kakao-Proben sind Störungen durch Co-Elutionen aufgefallen. Dies schließt Bestimmungen des Brom-Derivats ein. Die hochauflösende MS ist bei derart schwierigen Matrices daher vorzuziehen. Auffällig ist in diesem Zusammenhang das beim Proficiency Testing gute Abschneiden des Labors 17, das zwar eine unspezifische Detektion (DAD) verwendet, jedoch durch Säulenschaltungen störungsfreie Signale bei der LC erhält. Sauberere Extrakte sind auch durch Fällungen mit Bleiacetat (statt Carrez) möglich. Insgesamt ist Kakao aber bei den angewandten Aufreinigungsverfahren sowohl hinsichtlich der Bestimmung als auch der Probenvorbereitung (Extraktion, siehe TOP 1) als eine schwierige Probenart anzusehen.

Dagegen bereiten Untersuchungen von Knäckebrot, Butterkeksen und Kartoffelpulver - wie die Auswertung des Proficiency Testings zeigt - offensichtlich kaum analytische Schwierigkeiten. Ein Teilnehmer hielt jedoch in einzelnen Fällen auch derartige Proben für schwierig, insbesondere in Verbindung mit bestimmten Technologien in der Produktion.

Entsprechend der Angaben zu diesem Proficiency Testing sind die meisten Laboratorien - mit den genannten Einschränkungen - in der Lage, Acrylamid bis zu Konzentrationen von 10-30 µg/kg nachzuweisen und bis zu einem Gehalt von 30-100 µg/kg zu quantifizieren. Niedrigere Konzentrationen lassen sich derzeit nur mit erheblichem Mehraufwand bestimmen (Derivatisierung, zusätzliche Säulenaufreinigung, gereinigte Quelle [siehe hierzu auch: Homepage des NAFU-Labors]) und nur für kurze Zeit aufrecht erhalten. Auch wenn primär die Acrylamidgehalte in höher belasteten Lebensmitteln gesenkt werden müssen, sind weitere Anstrengungen nötig, um die Nachweismethoden so zu verfeinern, dass der Acrylamidgehalt auch in niedriger belasteten Lebensmitteln (z. B. Baby-, Kindernahrung) sicher bestimmt werden kann. Derzeit ist es jedoch nicht möglich, für diese Lebensmittel referenziertes Probenmaterial für Vergleichsstudien herzustellen.

Die Sitzungs-Teilnehmer brachten deutlich zum Ausdruck, dass sie eine Fortführung des Proficiency Testings für erforderlich halten. Schwerpunkt sollten in der nächsten Runde "schwierige" Proben sein: Kaffee (gemahlener und löslicher), Kakao, Malzkaffee und eine Probe im niedrigen Konzentrationsbereich. Das BfR hat sich dazu grundsätzlich bereit erklärt, ist dabei aber - wie bisher - auf Unterstützung bei der Probenbeschaffung und Probenauswahl angewiesen.

Innerhalb der EU (SANCO) wird z.Z. ein Proficiency Testing mit Proben, deren Matrix unproblematisch ist, vorbereitet. Es ist geplant, nach Beendigung dieses Proficiency Testings ein weiteres mit Proben mit höherem Schwierigkeitsgrad (s. o.) von EU und BfR gemeinsam durchzuführen, um die Aktivitäten international zu bündeln. Als Termin dafür ist vorerst der Sommer 2003 vorgesehen.