MOSH/MOAH-Analytik

online-LC/GC-System mit Chronect®-LC/GC

Axel Semrau®

in Kooperation mit
Axel Semrau GmbH

SIM
Scientific Instruments Manufacturer GmbH

Im Erlengrund 21-23 • D-46149 Oberhausen
Tel. +49(0)208-941078-0 • Fax +49(0)208-941078-88
www.sim-gmbh.de

Pressemeldungen zu MOSH/MOAH

Foto: dapd

November 2012:
Stiftung Warentest findet Mineralöl in Adventskalender-Schokolade

Foto: Aleksandra Polski (pixabay.com)

Mai 2015 :
Stiftung Warentest warnt vor Mineralölen in Kosmetika, insbesondere in Lippenstiften

Foto: Efes Kitab (pixabay.com)

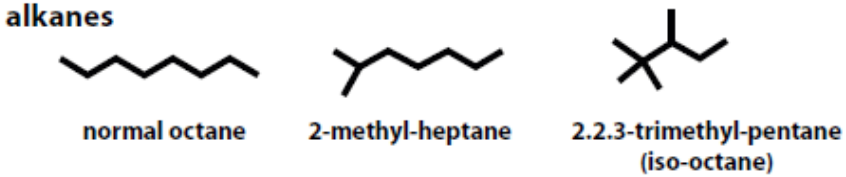
März 2016 :
foodwatch findet Mineralöle in Osterhasen

Was sind MOSH und MOAH?

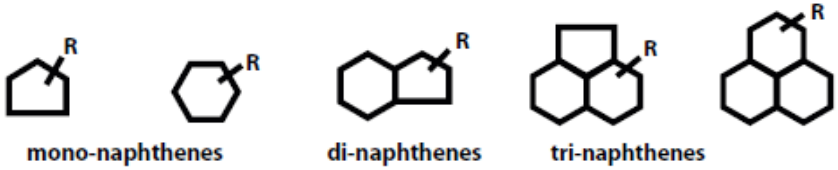
Mineralöle in der Umwelt

75 – 85 % MOSH (gesättigt)
(**M**ineral **O**il **S**aturated **H**ydrocarbons)

- offenkettig, meist verzweigt



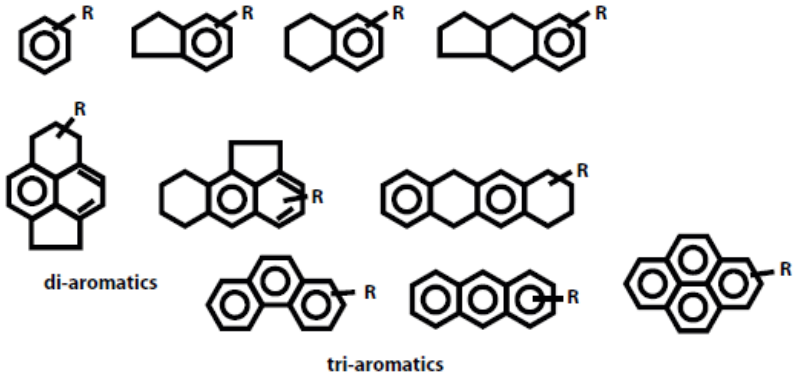
- naphtenartig (zyklisch)



15 – 25 % MOAH (aromatisch)
(**M**ineral **O**il **A**romatic **H**ydrocarbons)

- bis zu 97 % alkyliert

- verschiedene aromatische KW mit 1 - 4 Ringsystemen



Quelle: Matissek, R. (2014) FOOD-LAB international 1/14, 6-12

SIM

Eintragspfade in Lebensmittel

- Mineralöle sind in der Umwelt weit verbreitet und können auf vielfältigen Wegen in Lebensmittel gelangen:

Rohstoffe

- Verbrennungsprozesse
- Pestizide
- Schmier-/Hydrauliköle aus Erntemaschinen
- mineralölhalt. Mittel zur Behandlung des Ernteguts (Antischaum-/ Trennmittel, bei Reis: Staubbinder u. Glanzmittel)

Produktion

- ölende Maschinenteile
- Fette für Wartungs- und Reinigungszwecke

Transport / Lagerung

- imprägnierte Jute-/Sisalsäcke
- mineralölhaltige Druckfarben für Kartonverpackungen
- Recyclingkarton
- Umverpackungen zu Transportzwecken

Toxikologische Bewertung Gesundheitsrisiken

MOSH: kürzerkettige, gesättigte Kohlenwasserstoffe
können vom Körper leicht aufgenommen und in einigen Organen gespeichert werden;
Tierexperimente: Ablagerungen und Schäden in der Leber und in den Lymphknoten

MOAH: sehr komplexe Mischungen von alkylierten aromatischen Kohlenwasserstoffen
toxikologisch unterschiedlich bewertet
können erbgutverändernde und krebserregende Komponenten enthalten, z. B. PAK

→ solche Kontaminationen von Lebensmitteln sind grundsätzlich nicht erwünscht

→ Übergänge auf Lebensmittel sollten minimiert werden

Quelle: Bundesinstiut für Risikobewertung (BfR) (26.11.2015), http://www.bfr.bund.de/de/fragen_und_antworten_zu_mineraloelbestandteilen_in_schokolade_aus_adventskalendern_und_anderen_lebensmitteln-132213.html

Historische Entwicklung: Mineralöl in Speiseölen

Chronologie der Ereignisse:

- *„Über das Schnellwarnsystem für Lebensmittel und Futtermittel (RASFF) wurde am 23. April 2008 gemeldet, dass in Sonnenblumenöl aus der Ukraine starke Verunreinigungen durch Mineralöl festgestellt wurden. …“*
- EFSA Stellungnahme zum Gesundheitsrisiko:
  öffentliche Gesundheit nicht in Gefahr, in der menschlichen Ernährung trotzdem unerwünscht
- Gehalte im Rohöl bis zu 7000mg/kg
- in Raffinaten bis zu 1200mg/kg
- Einführung eines Grenzwertes von 50mg/kg für Mineralöle in ukrainischem Sonnenblumenöl

Rechtliche Aspekte

- noch keine (national/international) standardisierten u. validierten Referenzverfahren
- ISO-Norm für online-LC-GC-Methode für Mineralöl in Speiseölen wird z. Zt. erarbeitet
- bei MOAH-Fraktion ist auch mit der online-Methode keine Unterscheidung zwischen den einzelnen Verbindungen (risikoreich – risikolos) möglich
  → erschwert das Festlegen von Höchstwerten

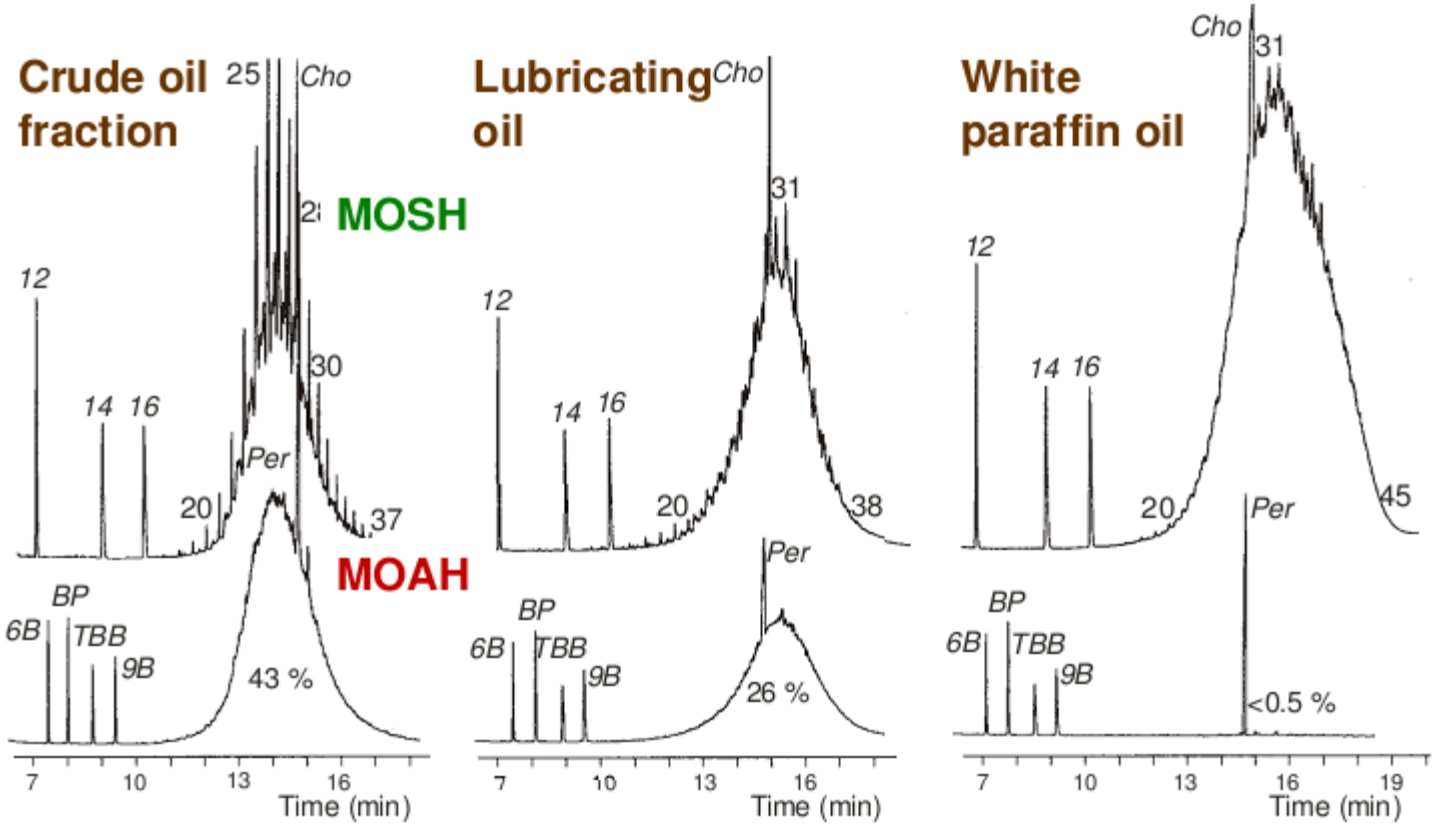
→ weder in der EU noch in den europ. Nationalstaaten existieren zur Zeit Grenzwerte

→ Vorschlag aus dem Entwurf zur Änderung der Bedarfsgegenstände-Verordnung (24.07.2014):

Grenzwerte	MOSH →	2 mg/kg Lebensmittel
	MOAH →	0,5 mg/kg Lebensmittel

Warum ist LC-GC notwendig?

- keine GC-Trennung zwischen MOSH/MOAH auf apolaren GC-Säulen möglich:



online-LC-GC-FID Methode

- anspruchsvolle Analytik, da komplexes Gemisch

- Einzelkomponentenanalyse wegen der sehr hohen Zahl von Verbindungen nicht möglich

- ursprünglich entwickelt von K. Grob (Kantonales Labor Zürich) mit separater MOAH-Analyse:

1. LC-Vortrennung zur Isolierung der MOSH- und MOAH-Fraktionen
2. GC-FID-Analytik für beide Fraktionen

- Optimierung von Axel Semrau GmbH mit der Bestimmung der MOSH- und MOAH-Fraktionen in einem chromatographischen Lauf

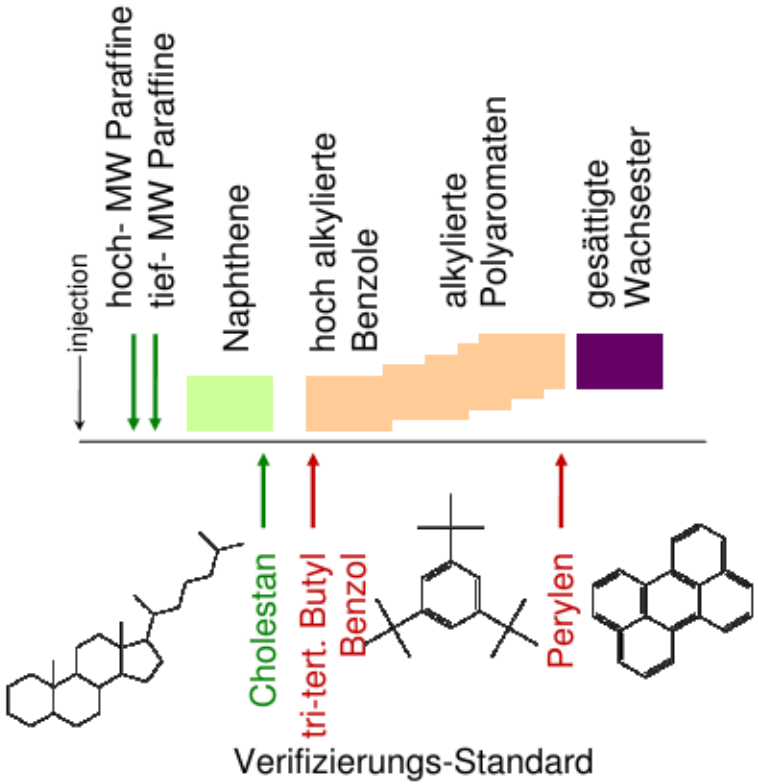
LC-GC Kopplung

- Heartcut-Technik

- LC als Probenvorbereitung für die GC, vorher lediglich Extraktion mit Hexan oder Hexan/Ethanol
  - LC: hohe Probenkapazität → Clean-Up, Abtrennung der Matrix
  - GC: hohe Trennleistung, selektive Detektoren

- meistens Normalphasen-HPLC wegen GC-kompatibler Lösungsmittel

Probenvorbereitung: Interner Standard



- Extraktion mit Hexan/Ethanol und Zugabe von Internem Standard zur <u>Fraktionierung und Quantifizierung:</u>
  - Cholestan → Ende von MOSH
  - TBB → Anfang von MOAH
  - Perylen → Ende von MOAH

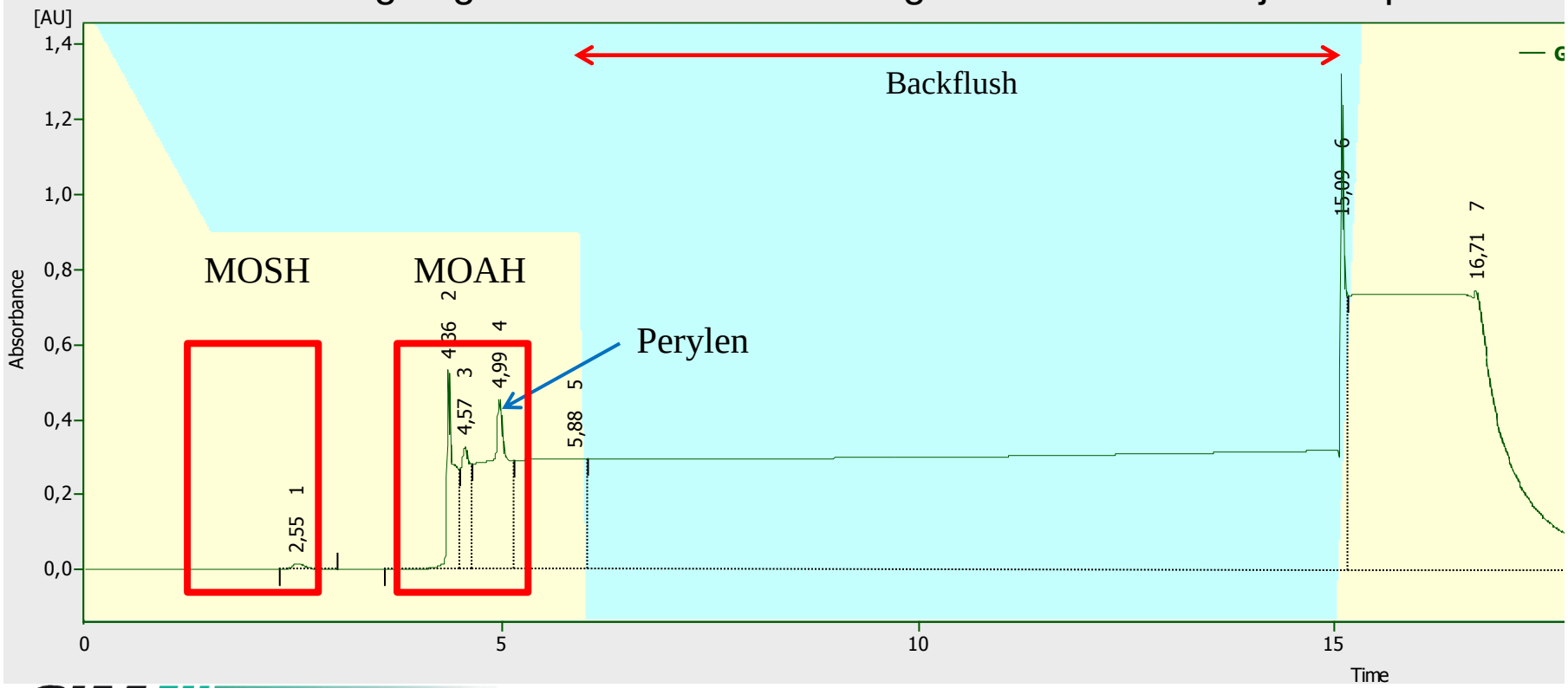
  - C_{11} (leichtflüchtigste Substanz MOSH)
  - Pentylbenzol (leichtflüchtigste Substanz MOAH)
    → Kontrolle der diskriminierungs-freien Überführung der MKW-Fraktionen in den GC

1. Phase: HPLC

- **Agilent 1260 Infinity LC** mit Degasser, binärer Pumpe und VWD
- LC-Vortrennung mit hoher Trennleistung
- MOSH- und MOAH-Fraktionen können selektiv isoliert werden; störende Matrixbestandteile (z. B. Lipide) werden abgetrennt
- hohe Empfindlichkeit, da die kompletten Fraktionen (je ca. 450 µl) in das GC-System überführt werden
- mögl. Kontaminationen der Probe (wie bei der manuellen Methode) sind ausgeschlossen

LC-Gradient

- Säule: 2-mm NP-Säule
- Trennung von MOSH und MOAH durch Hexan/CH_2Cl_2 Gradienten
- UV-Detektion (230 nm)
- Gradientenverfolgung
- zeit- oder signalgesteuerte Fraktionierung: 2 Fraktionen mit je 450 µL



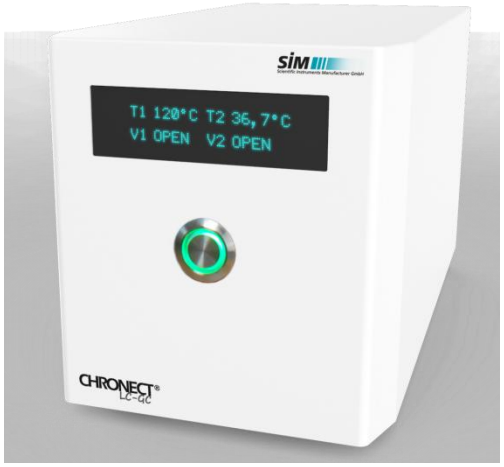
SIM

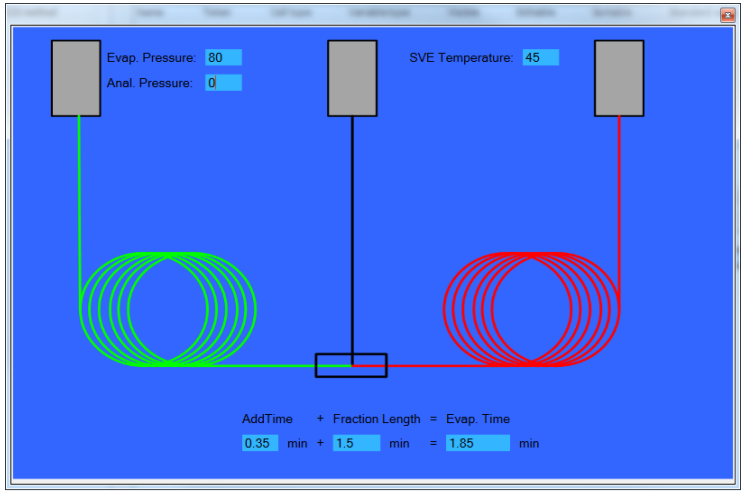
(NP)LC-Bedingungen

- 2 mm-NP-Säulen
- ausreichend hohe Kapazität für Probe und Matrix
- Fraktionsgrößen handhabbar
- Flussrate: 200 - 500 µL/min → optimale GC-Transfergeschwindigkeit
- zwischengeschalteter Detektor (Agilent 1260 Infinity VWD) zur Kontrolle
- zeit- oder signalgesteuerte Fraktionierung

- nach erfolgtem Transfer oft Backflush mit polarem Lösungsmittel
  Beispiel: Direktinjektion von Öl → Entfernen der Triglyceride

Das Interface – CHRONECT®LC-GC





- Überführung der MOSH- und MOAH-Fraktion (je ca. 450 µl) in den GC
- Teilverdampfung des LC-Eluenten
- 1- oder 2- Kanal-Betrieb
- voll integriert in CHRONOS (PAL-Software)
- benutzerfreundliche Eingabe der Parameter

2. Phase: GC

- **Agient 7890B GC** mit 2 FIDs
- nur der **FID** zeigt für alle KW annähernd <u>gleichen Response</u>
- über FID ist (eingeschränkt) auch Charakterisierung über die <u>Molekularmassenverteilung</u> möglich
- 2 parallele Kanäle mit „Retention-Gap“ zur zeitgleichen Bestimmung der MOSH- und MOAH-Fraktion

GC-Bedingungen

verwendete Chromatographie-Säulen:

- 10 m x 0.53 mm Retention Gap
  - unbelegte, desaktivierte Vorsäule,
  - Solvent Vapor Exit (SVE)

- 15 m x 0.25 mm x 0.25 µm Trennsäule,
  keine Trennung aller KW-Isomere möglich
  - Quantifizierung über Signal“hügel“
  - kurze Säule, hoher Trägergasfluss (H_2)
  - maximales S/N-Verhältnis

→ Ventilschaltungen und Temperaturprogramm werden im Applikationslabor eingestellt, Auslieferung **„ready-to-analyze“**

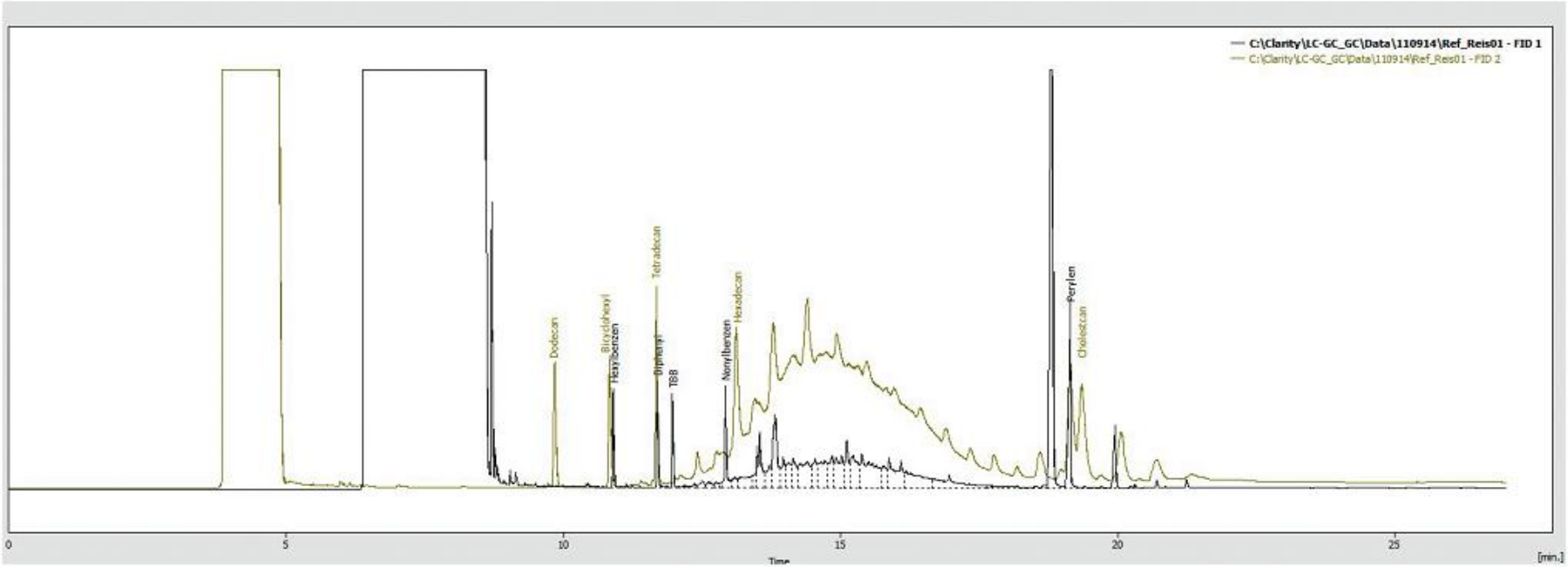
parallele Bestimmung von MOSH und MOAH

- normalerweise zwei Injektionen einer Probe notwendig
- mit CHRONECT®LC-GC: MOSH + MOAH im gleichen GC-Lauf (grün: MOSH, schwarz: MOAH)

→ angepasste Temperatur, spezielles Transferventil, separate Gasregelungen, zwei Säulen, SVE, FID

→ kein Verlust der leichtflüchtigen Komponenten

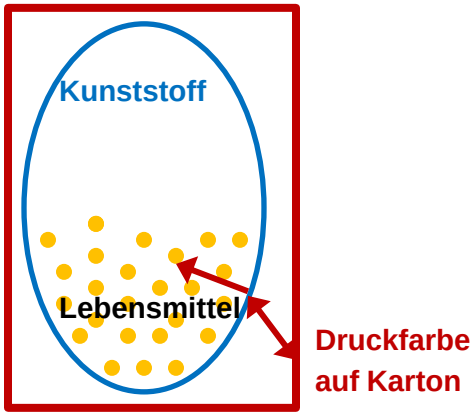
→ Verdoppelung des Probendurchsatzes



Mineralöl-Übergang aus Verpackung in Lebensmittel

Foto: Marie Beaucaire (pixabay.com)

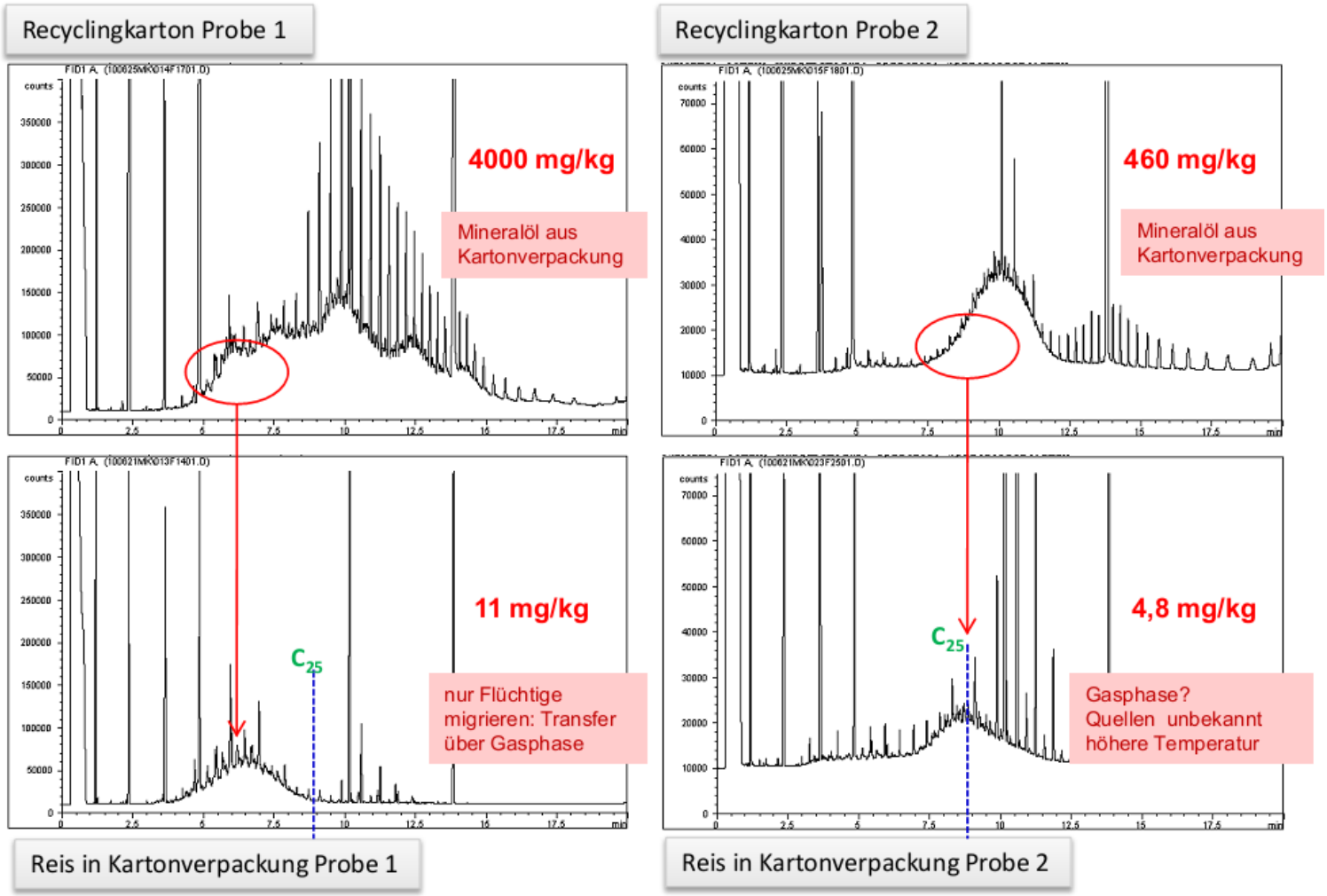
- Eintrag aus Druckfarben bzw. Karton aus Recyclingmaterial: mittlerweile werden z. T. auch schon alternative Druckfarben verwendet
- Risiko v. a. bei trockenen Lebensmitteln mit großer Oberfläche, wie Reis, Grieß, Cerealien



- Migration der Druckfarbe durch Karton
- Karton → Innensack via Gasphase
- Migration durch Innensack
- Innensack → Lebensmittel via Gasphase

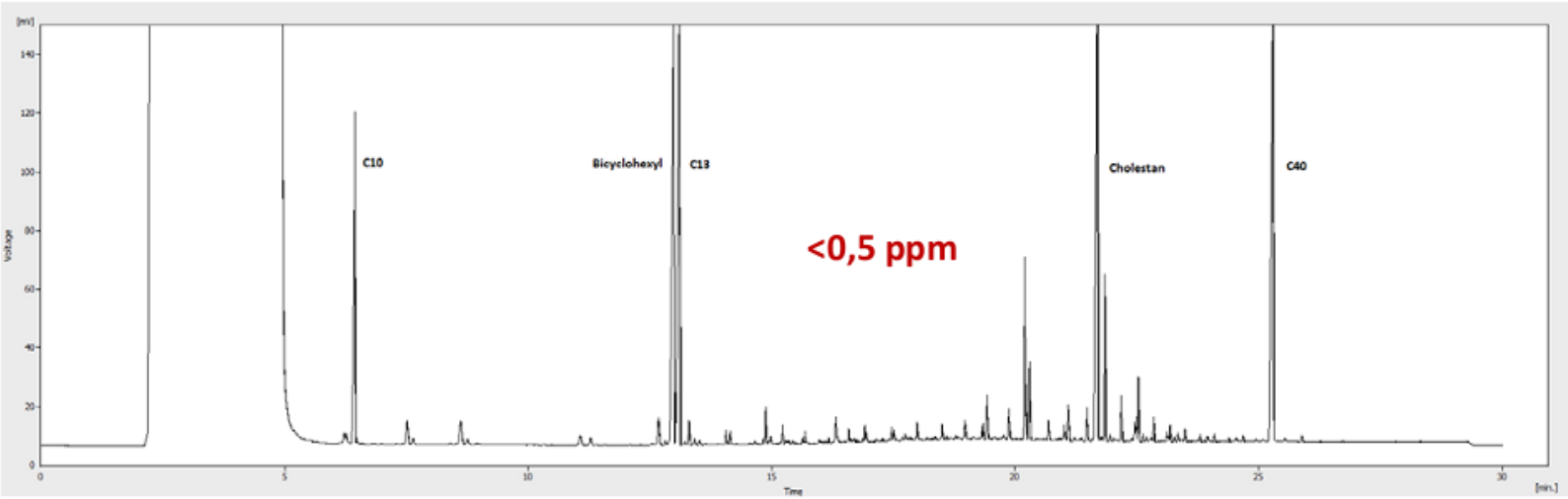
Quelle (Abbildung): http://www.institut-kirchhoff.de/fileadmin/user_upload/de/download/mineraloel.pdf

Migrationsbeispiel: in Karton verpackter Reis

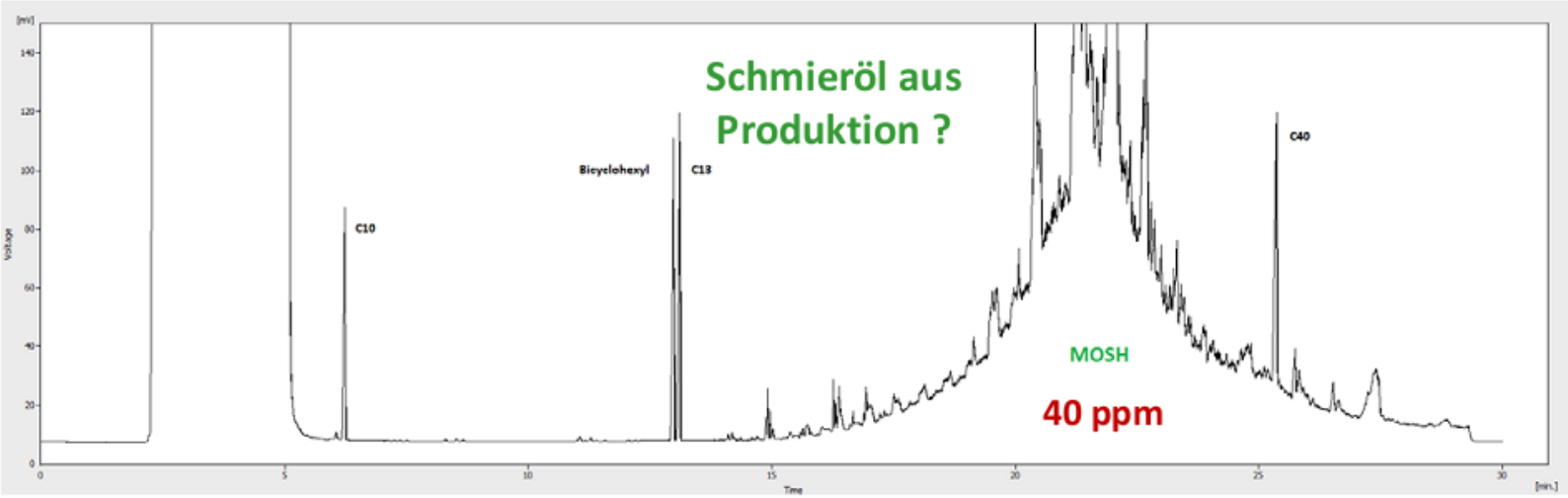


Kontamination in der Produktion: Nussnougatcreme

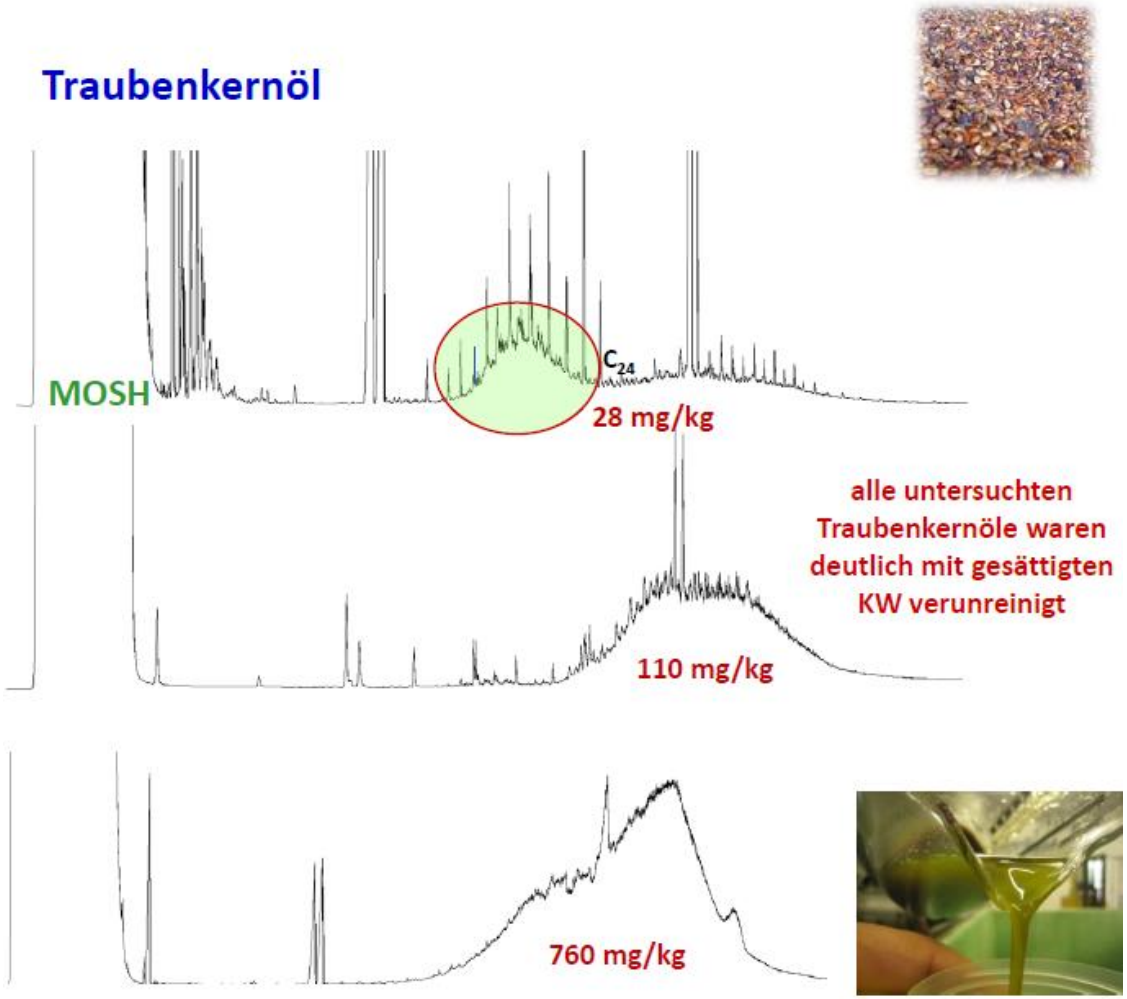
unbelastete Probe:



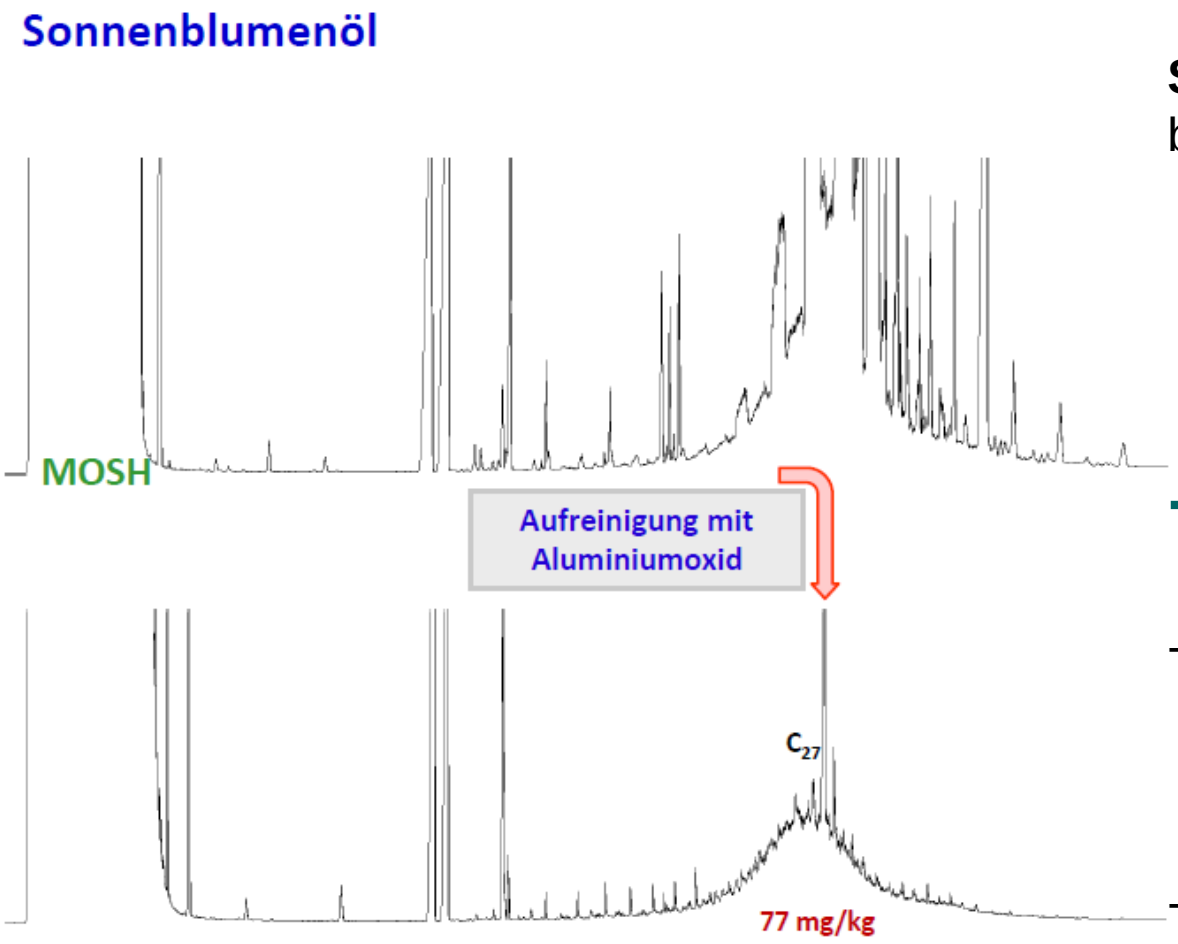
belastete Probe:



Traubenkernöl



MOSH-Fraktion: Störsubstanzen



Störung:
biogene Kohlenwasserstoffe

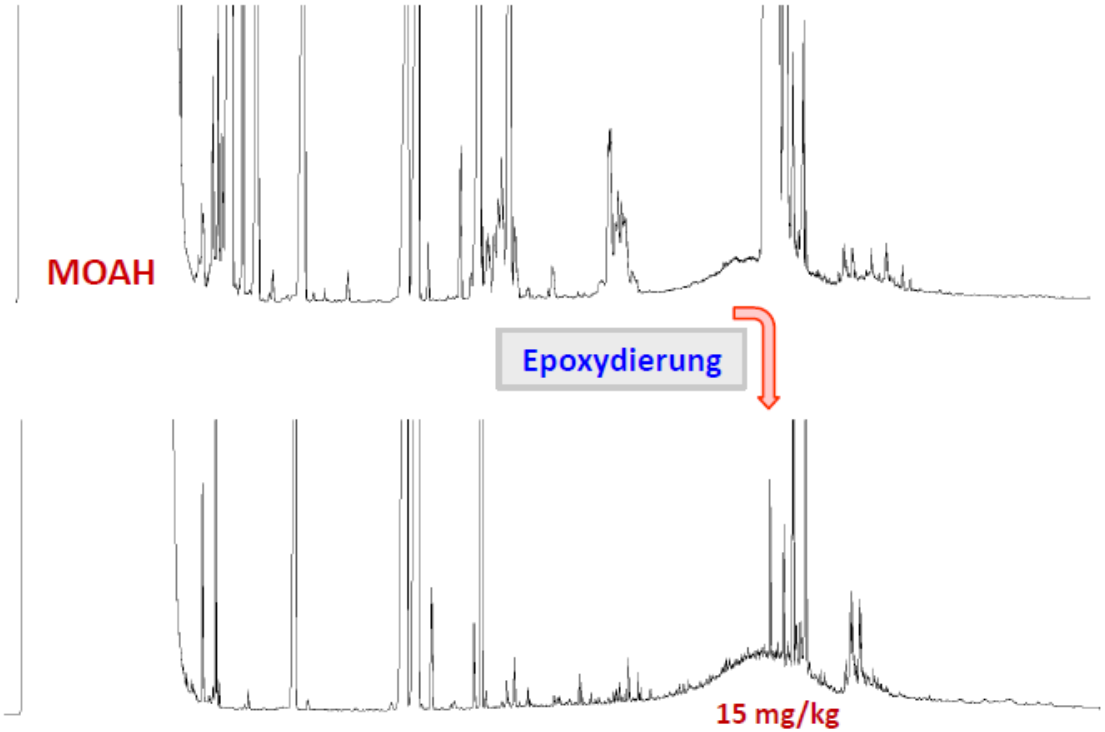
➔ Säulenchromatographie über <u>aktiviertes Aluminiumoxid:</u>

- längerkettige, ungerad-zahlige n-Alkane pflanzl. Ursprungs (C_{23} – C_{35}) werden entfernt
- iso-Alkane (verzweigt) bleiben erhalten

Quelle: Nestola, M., Becker, E., Ernährung aktuell, November/Dezember 2012, 25-27

MOAH-Fraktion: Störsubstanzen

Sonnenblumenöl



Störung:
Olefine (Squalen und Isomere, Sterene u. a.)

➔ polare Modifizierung durch <u>Epoxidierung</u>

- Abtrennung in LC
- sichere Identifizierung

➔ je nach Lebensmittelmatrix unterschiedliche Art der Aufreinigung: für größtmögliche Nachweisempfindlichkeit und Eliminierung von Interferenzen mit Störkomponenten

Quelle: Nestola, M., Becker, E., Ernährung aktuell, November/Dezember 2012, 25-27

MOSH/MOAH-Analyzer

- Agilent 1260 Infinity LC mit Degasser, bin. Pumpe, VWD
- Agilent 7890B GC mit 2x FID
- AS Chronect® LC-GC
- CTC PAL mit Chronos-Software
- OpenLAB CDS ChemStation

MOSH/MOAH-Analyzer: Zusammenfassung

- hoher Probendurchsatz, durch simultane Bestimmung von MOSH u. MOAH in einem Analysenlauf
- keine Kontaminationsgefahr durch direkte LC-GC-Kopplung
- hoher Automatisierungsgrad
- exzellente Reproduzierbarkeit
- bestmögliche Empfindlichkeit
- ausbaufähig auf weitere Applikationen (Sterine, PAK)

→ MOSH/MOAH-Analyzer wird im Applikationslabor vorinstalliert und getestet:

→ **ready-to-analyze**

Bestellung über: SIM GmbH, Ansprechpartner: Rolf Eichelberg
info@sim-gmbh.de

SIM