

Bestimmung von Mineralölkontaminationen in Lebensmitteln, Kosmetika und Verpackungsmaterialien mit der CHRONECT Workstation MOSH/MOAH



Applikationsnote 1801

Bestimmung von MOSH/MOAH Applikationsnote 1801

Einführung

In zahlreichen Produkten werden unerwünschte Mineralölrückstände gefunden. Diese Substanzen können in zwei Klassen eingeteilt werden: Gesättigte (MOSH – mineral oil saturated hydrocarbons) und aromatische Kohlenwasserstoffe (MOAH – mineral oil aromatic hydrocarbons). Während die erste Substanzklasse im menschlichen Körper akkumuliert, steht die zweite Verbindungsklasse im Verdacht, karzinogene Substanzen zu enthalten. Substanzklassen, wie POSH (Polyolefin oligomeric saturated hydrocarbons) oder PAO (Polyalphaolefine), sind chemisch ähnlich, weisen jedoch andere (synthetische) Ursprünge auf.

Es existieren zahlreiche Kontaminationswege, auf welchen diese Substanzen in beispielsweise Lebensmittel gelangen können:

- Recycelte Verpackungsmaterialien, die aus Zeitungen oder Zeitschriften erzeugt wurden: Die Verwendung mineralölbasierender Druckfarben ist verantwortlich für eine Gasphasenmigration in die Lebensmittel.
- Havarien während des Transports oder der Produktion eines Lebensmittels
- Schmierstoffe auf Mineralölbasis innerhalb der Produktionskette
- u.v.m.

Wird eine Kontamination auf Basis von Migration angenommen, so werden besonders Kohlenwasserstoffe aus dem Siedebereich zwischen C₁₆ und C₂₅ beobachtet, da diese in einem geeigneten Volatilitätsbereich liegen.

Die gesundheitliche Bedenklichkeit dieser Kontamination von Lebensmitteln wurde bereits im Dezember 2009 vom Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) deutlich formuliert. Das BfR kam in seiner Wertung zu dem Schluss, dass der Übergang von Mineralölen auf Lebensmittel dringend minimiert werden sollte. Messungen werden empfohlen. Der Nachweis dieser Mineralölkontaminationen in Lebensmitteln erfährt deshalb seither besondere Aufmerksamkeit.

Ein weiteres Produktfeld, in welchem mineralölbaltige Rohstoffe eingesetzt werden, ist der Kosmetikbereich. Hochraffinierte Mineralöle, die in der Kosmetikindustrie eingesetzt werden, können auch MOAH enthalten.

Geräteaufbau

Zur Bestimmung von MOSH/MOAH-Kontaminationen aus Verpackungen, Kosmetika oder Lebensmitteln hat sich eine Probenaufreinigung und Vortrennung durch Normalphasen-HPLC als das Mittel der Wahl etabliert [1]. Die Proben werden vorher je nach Herkunft und Art in verschiedenen Verfahren mit Hexan extrahiert, ggf. epoxidiert und über Aluminiumoxid vorgeeignet [2].

Aufgabe des HPLC-Schrittes ist es, die MOSH- und MOAH-Fractionen von störenden Matrixbestandteilen zu befreien. Durch die Verwendung einer unmodifizierten Kieselgelsäule können hohe Fettmengen und polare Substanzen zurückgehalten und effektiv von MOSH und MOAH abgetrennt werden. Diese Art der Aufreinigung ist auch Basis der DIN EN 16995:2017-08 sowie der DGF-Einheitmethode C-VI 22 (20), welche das hier beschriebene System vollständig erfüllt [3, 4]. Gleiches gilt für die von der Europäischen Kommission vorgeschlagene Methode zur Bestimmung des Gehalts in Säuglingsnahrung [5].

Nach der Vortrennung werden beide Fraktionen großvolumig ohne Verluste in die GC-Dimension überführt, nach Siedepunkt aufgetrennt und mittels FID detektiert. Die Quantifizierung erfolgt als Summenparameter. Ein chromatographischer Lauf, d.h. die zeitgleiche Bestimmung von MOSH und MOAH aus einer Probe, dauert dabei etwa 30 Minuten.

Die Software Chrolibri wurde speziell für die MOSH/MOAH-Analytik entwickelt und ermöglicht somit eine einfache Auswertung.

Die Software Hump Inspector erstellt spezielle Mineralöl-Referenzdatenbanken, um die Herkunft der Kontamination zu ermitteln.

Basis-Systemkomponenten:

- CHRONECT LC-GC Interface
- Agilent Infinity II 1260 HPLC-System
- Agilent 8890 GC mit zwei FID
- CHRONECT Robotic RTC
- Verwendete Software
 - CHRONOS zur Steuerung des Systems
 - Clarity zur Datenaufnahme und Auswertung

Bestimmung von MOSH/MOAH Applikationsnote 1801

- Chrolibri zur Auswertung der unaufgelösten Peakhaufen
- Hump Inspector zur Ermittlung der Kontaminationsquelle

Optionale Erweiterung für die Epoxidierung:

- FastWash-Station
- Agitator
- Zentrifuge
- Epoxidierungsvorschrift nach Nestola [6]

Optionale Erweiterung für die Aluminiumoxid-Aufreinigung:

- zusätzliche Agilent Infinity II 1260 HPLC-Pumpe
- HPLC-Ventil
- Aluminiumoxid-HPLC-Säule

Optionale Erweiterung zur MOSH-Abreicherung in Kosmetika:

- HPLC-Ventil
- Abreicherungs-HPLC-Säule

Optionale Erweiterung zur Fraktionssammlung:

- Fract & Collect Sammel-Tool

Alternativ können die Nexera LC-40B XR und der Nexis GC-2030 von Shimadzu verwendet werden. Wir behalten uns Änderungen in der Gerätekonfiguration vor.

Probenvorbereitung

Alle Proben müssen vor der eigentlichen Messung aufbereitet werden. Je nach Probenmatrix ist dies einfacher oder komplexer gestaltet. Kosmetika oder Speiseöle können beispielsweise nach Verdünnung mit *n*-Hexan und Zugabe eines ISTD direkt injiziert werden. Zusammengesetzte Lebensmittel oder Verpackungen hingegen werden meist mit *n*-Hexan und Ethanol extrahiert.

Bei Lebensmitteln mit hohem Emulgatoranteil oder aber zur generellen Absenkung von Bestimmungsgrenzen ist eine manuelle Verseifung mit anschließender Hexan-Extraktion und Aufkonzentration möglich.

Die erhaltenen Extrakte können in Abhängigkeit der Probenmatrix vom Messsystem automatisch epoxidiert und mittels Aluminiumoxid-Chromatographie aufgereinigt werden, bevor sie der Normalphasen-HPLC übergeben werden.

Ergebnisse

HPLC-Trennung

Abbildung 1 zeigt ein HPLC-UV-Chromatogramm einer Injektion eines Standardgemisches. Dieses besteht aus den Substanzen C₁₁, C₁₃, Cyclohexylcyclohexan (Cycy), Cholestan (Cho) sowie Pentylbenzol (5B), 1- und 2-Methylnaphthalin (MN), Tri-*tert*-butylbenzol (TBB) und Perylen (Per).

Die HPLC-Trennung erfolgt durch einen *n*-Hexan-Dichlormethan-Gradienten. Die aufgezählten Einzelstandards dienen hierbei der Quantifizierung sowie Kontrolle für eine erfolgreiche MOSH/MOAH-Trennung. Perylen ist hierbei besonders gut im UV-Signal sichtbar.

Nach 6 Minuten wird die LC-Säule mit Dichlormethan rückgespült. Dieses Vorgehen, genannt Backflush, gewährleistet eine schnelle und effektive Entfernung von zurückgehaltenen Matrixbestandteilen. Nach 9 Minuten wird die Säule in Vorwärtsrichtung mit *n*-Hexan konditioniert, bis sie zur nächsten Injektion bereit ist.

Abbildung 2 zeigt die aus der HPLC-Messung erhaltenen GC-seitigen MOSH- und MOAH-Chromatogramme. Das vollständige Fehlen der aromatischen Kohlenwasserstoffe in der MOSH-Fraktion sowie der gesättigten Kohlenwasserstoffe in der MOAH-Fraktion kann als Indikator für eine erfolgreiche MOSH/MOAH-Trennung gewertet werden.

Nach aktuellem Stand der Analytik werden MOSH und MOAH zwischen C₁₀ und C₅₀ quantifiziert. Dies entspricht grob einem Siedebereich von 170-570 °C und gibt damit auch ein Indiz auf die Natur der möglichen MOSH/MOAH-haltigen Mineralöle. Eine entsprechend notwendige Diskriminierungsfreiheit des Analysensystems wird regelmäßig mit einem Standard sichergestellt, der beide Komponenten enthält. Abbildung 3 zeigt diesen Standard.

Bestimmung von MOSH/MOAH

Applikationsnote 1801

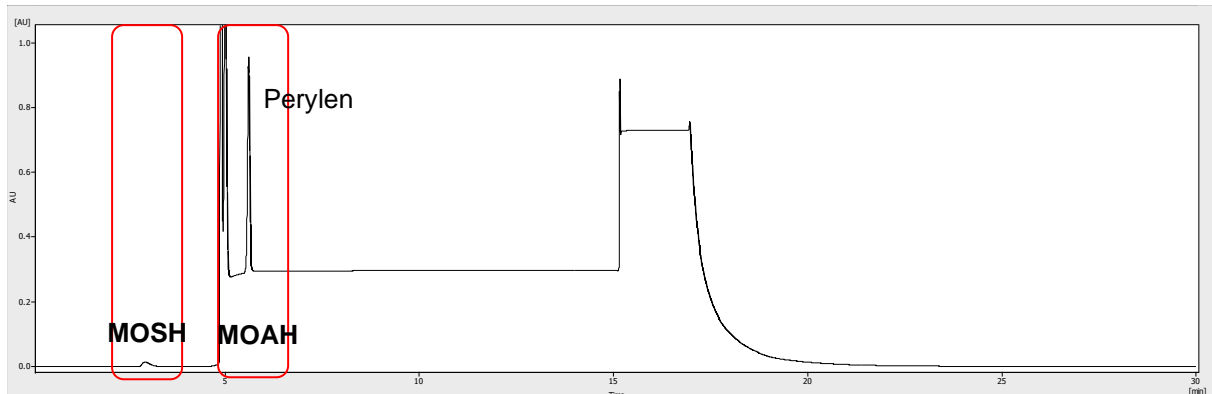


Abbildung 1: HPLC-UV-Chromatogramm einer Standardinjektion (Wellenlänge: 230 nm). Die markierten Fraktionen (je 450 µL) werden großvolumig verlustfrei in den Gaschromatographen überführt.

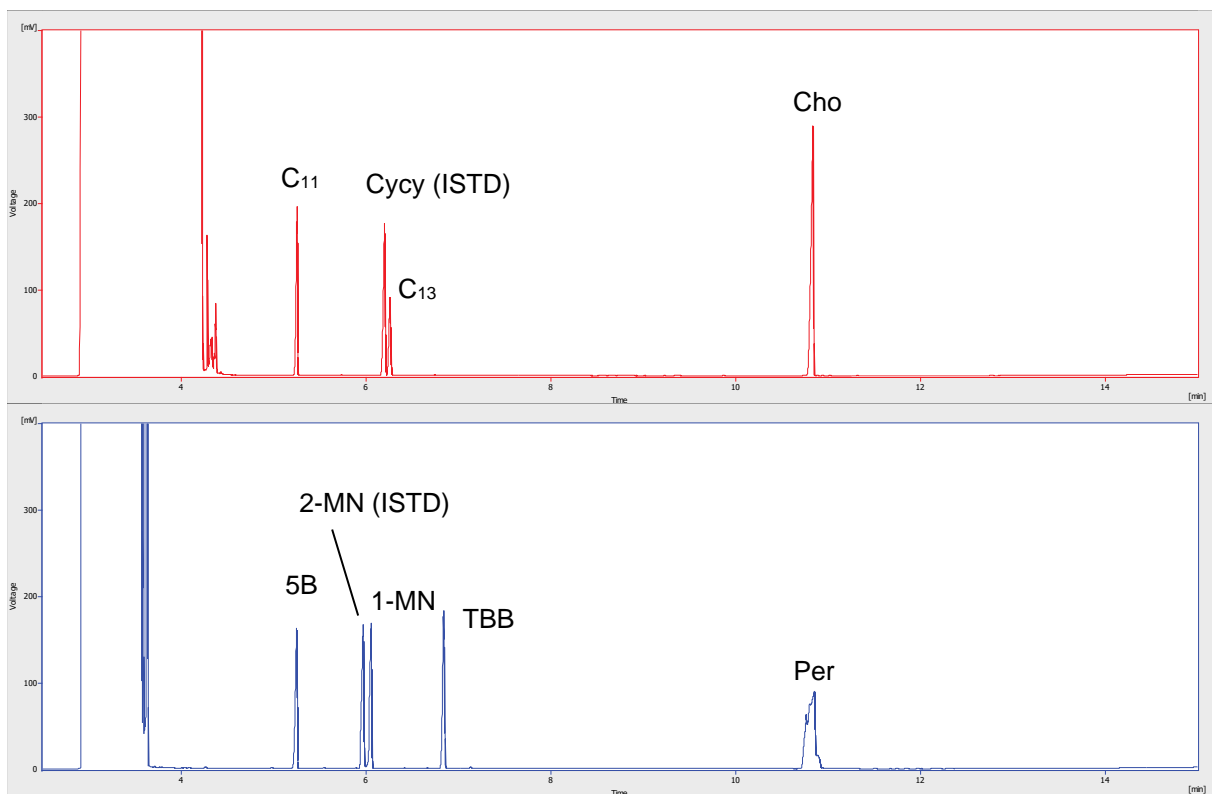


Abbildung 2: MOSH- und MOAH-GC-FID-Chromatogramme der Injektion aus Abbildung 1. Beide Fraktionen wurden zeitgleich gemessen. C₁₁ sowie 5B werden quantitativ wiedergefunden.

In Anlehnung an DIN EN 16995:2017-08 wurde dotiertes Sonnenblumenöl in *n*-Hexan verdünnt und direkt vermessen. Abbildung 3 zeigt ein typisches MOSH/MOAH-Chromatogramm. Durch die hohe Isomerenanzahl bilden MOSH und

MOAH keine einzelnen Peaks, sondern Signalhügel. Die in Abbildung 4 markierten Signalhügel werden dabei als Summe direkt gegen den internen Standard quantifiziert. Aufsitzende Peaks werden normalerweise abgezogen und nicht miterfasst.

Bestimmung von MOSH/MOAH

Applikationsnote 1801

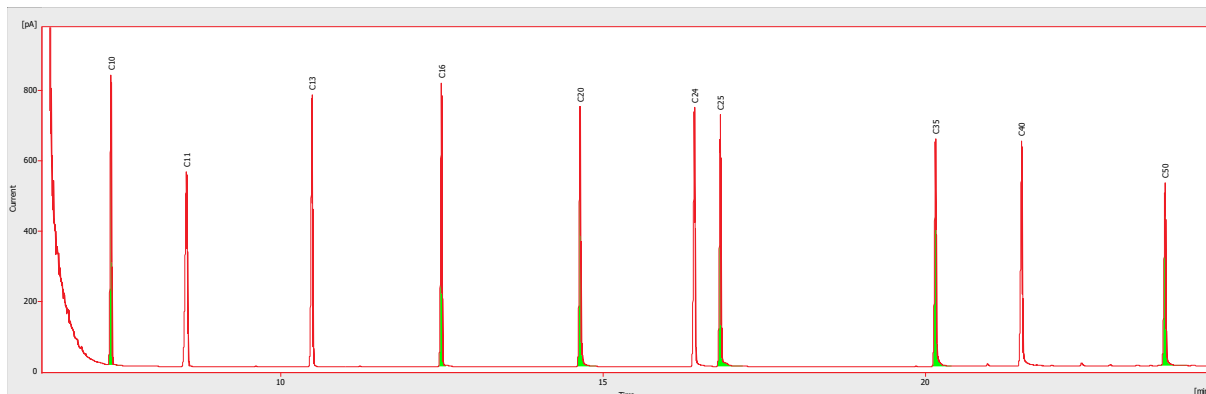


Abbildung 3: MOSH LC-GC-FID-Chromatogramm der Injektion eines Standards mit den Komponenten C₁₀, C₁₁, C₁₃, C₁₆, C₂₀, C₂₄, C₂₅, C₃₅, C₄₀ und C₅₀. Alle Alkane weisen vergleichbare Peakhöhen und -flächen auf.

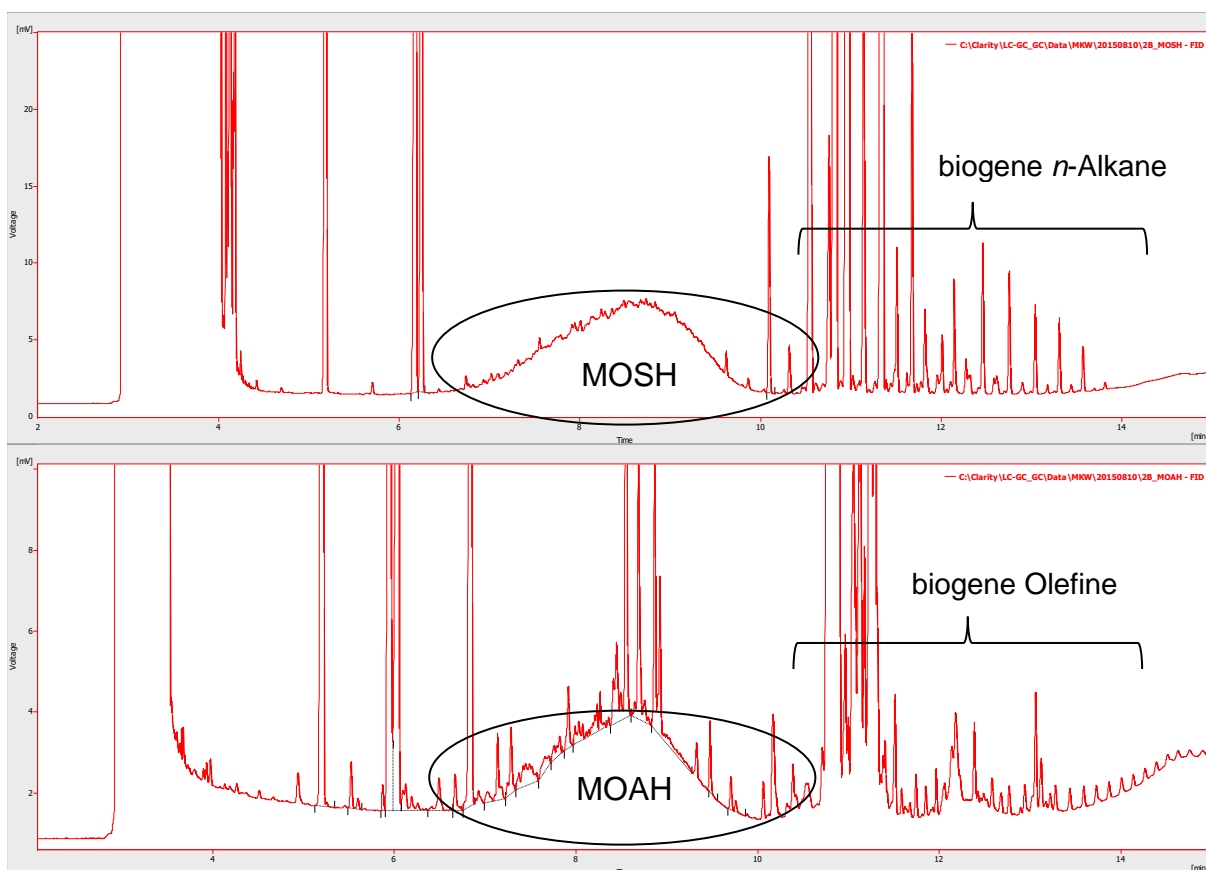


Abbildung 4: MOSH- (oben) und MOAH- (unten) LC-GC-FID-Chromatogramme eines dotieren Sonnenblumenöls. Die Kontaminationen (Integral der markierten Flächen) betragen 40 bzw. 14 mg/kg.

Wie in Abbildung 4 ebenfalls ersichtlich ist, sind neben den offensichtlichen MOSH/MOAH „Bergen“ auch zahlreiche Einzelpeaks bzw. Peakhaufen zu sehen. Diese sind natürlichen Ursprungs und müssen unbedingt von MOSH/MOAH unterschieden werden.

Aus diesem Grund existieren die bereits erwähnten zusätzlichen Aufreinigungstechniken, die diese biogenen Bestandteile der Probe entfernen. Zum einen gibt es in der MOSH-Fraktion natürliche *n*-Alkane mit zumeist ungeradzahligem Kohlenstoffanzahl, die eine Überlagerung zu MOSH darstellen.

Bestimmung von MOSH/MOAH Applikationsnote 1801

Zum anderen existieren olefinische Kohlenwasserstoffe, wie bspw. β -Carotene, Squalen, Terpene oder Raffinationsprodukte des Sitosterins, die hauptsächlich die Quantifizierung von MOAH beeinträchtigen.

Abbildung 5 zeigt ein Sonnenblumenöl, welches vor der eigentlichen Messung durch Aluminiumoxid und eine Epoxidierung automatisiert aufgereinigt wurde.

Die MOSH-Fraktion ist vollständig befreit von biogenen *n*-Alkanen. So können auch geringere MOSH-Belastungen quantifiziert werden. Gleiches gilt für die MOAH-Fraktion, welche zu großen Teilen frei von Olefinen ist. Hier muss darauf geachtet werden, dass je nach Probenmatrix keine quantitative Epoxidierung möglich sein kann. Beide Aufreinigungstechniken sind Pflicht für eine erfolgreiche und sichere Detektion von MOSH und MOAH.

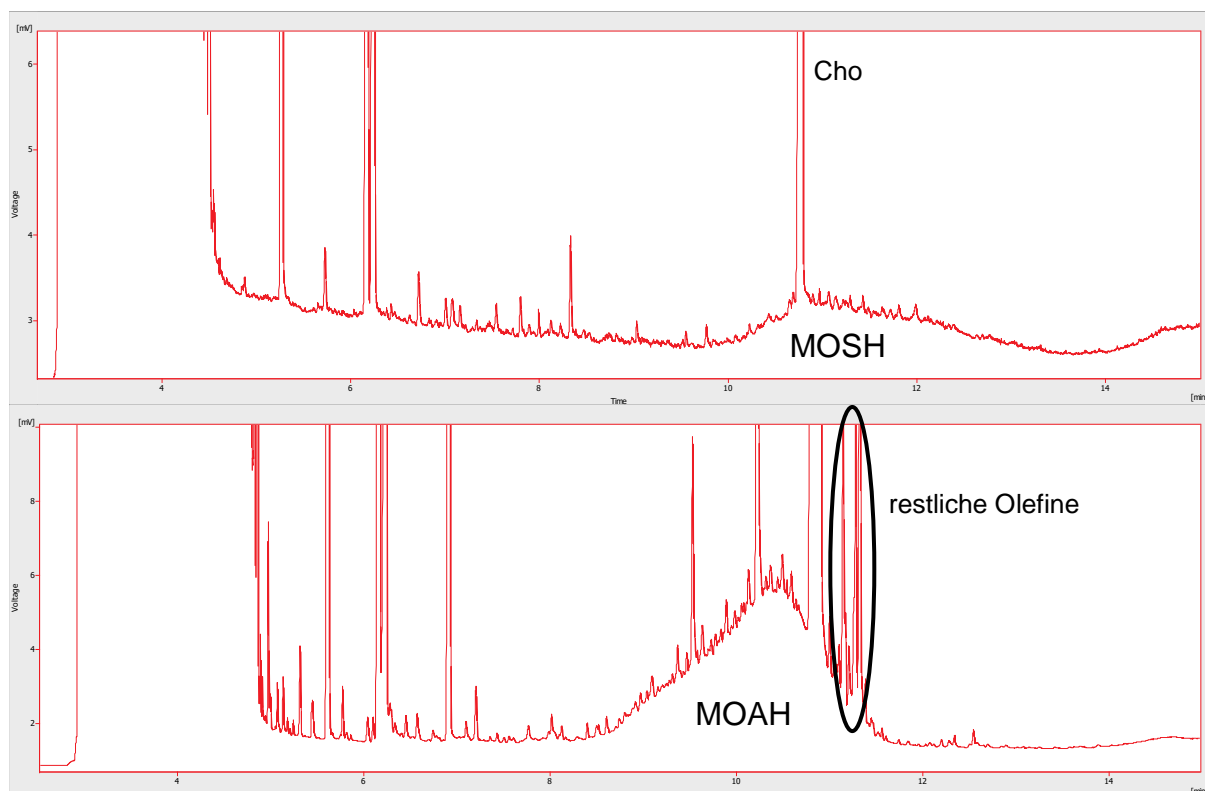


Abbildung 5: MOSH- und MOAH-LC-GC-FID-Chromatogramme eines dotierten Sonnenblumenöls nach Aluminiumoxid- und Epoxidierungsaufreinigung. Die Kontaminationen betragen 3 bzw. 25 mg/kg (MOAH wurde zur besseren Visualisierung gezielt dotiert). Je nach Matrix müssen die Bedingungen zur Epoxidierung angepasst werden, um bestmögliche Resultate zu erhalten.

Absicherungstechniken

Lebensmittel

In Fällen, in denen keine 100%ige Aussage bzgl. des Vorhandenseins von MOSH oder MOAH getroffen werden kann, sind zusätzliche Absicherungstechniken notwendig. Die gängigste Technik ist die zweidimensionale Gaschromatographie mit massenspektrometrischer Detektion (GCxGC-MS) [7]. Durch die Fract & Collect-Option bietet das Messsystem die Option, gereinigte MOSH und MOAH-Fractionen

zu sammeln und anderen Analysetechniken zu übergeben – wenn gewünscht, sogar online wie im Fall der LC-GCxGC-MS-Kopplung.

Abbildung 6 zeigt die MOAH-Fraktion einer LC-GC-FID Fraktion und der gleichen Probe mittels LC-GCxGC-MS. In diesem Fall wurde die Probe mittels Fract & Collect an die nachhängende Analytik übergeben.

Bestimmung von MOSH/MOAH

Applikationsnote 1801

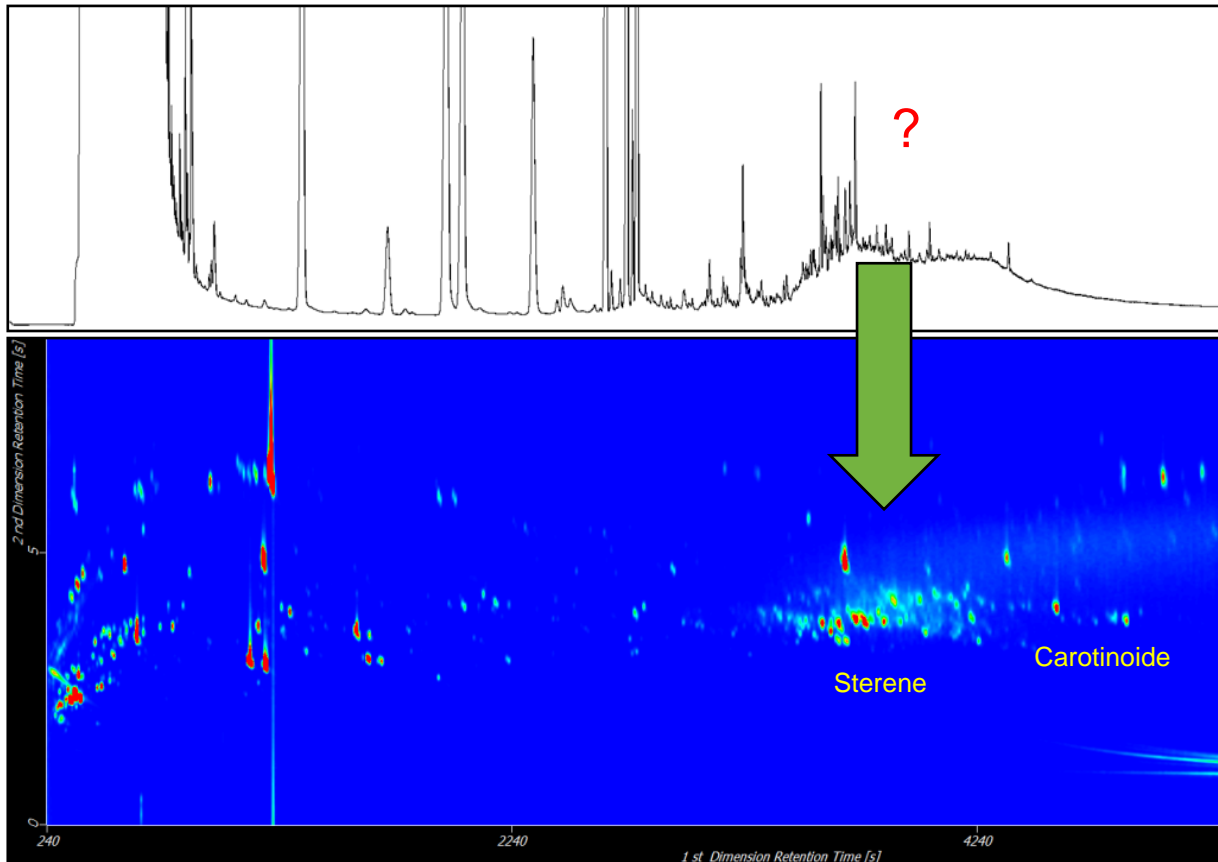


Abbildung 6: MOAH-Fraktion: LC-GC-FID (oben) und LC-GCxGC-MS Chromatogramme (unten) eines Palmöls nach Epoxidierungsaufreinigung. Die Massenspektren zeigen eindeutig die Präsenz von biogenen Substanzen. Der beobachtete Peak-Haufen im FID-Chromatogramm ist somit zumindest nicht gänzlich dem Vorhandensein von MOAH zuzuschreiben.

Kosmetik

Im Fall von kosmetischen Proben auf Mineralölbasis, in denen oft nur Spuren von MOAH enthalten sind, zeigt sich eine weitere Herausforderung in der MOSH/MOAH-Analytik. Durch die naturgemäße Präsenz von MOSH kann nicht sicher ausgeschlossen werden, dass fälschlicherweise MOSH als MOAH detektiert wird. Dies kann weder mittels FID noch MS-Detektor sichergestellt werden. Ursächlich für dieses Problem ist eine Massenüberladung der verwendeten Normalphasen-HPLC, die dazu führt, dass die beiden Substanzklassen co-eluieren können.

Ein Lösungsansatz ist die gezielte Entfernung (Abreicherung) von MOSH aus solchen Proben. Die Idee dahinter ist, die hohe Menge an MOSH zu reduzieren, ohne dabei MOAH zu verlieren, sodass MOAH wieder quantifizierbar wird.

Umgesetzt wird dies entweder durch die Fract & Collect-Option mit nachfolgender Reinjektion der Probe, oder aber durch eine weitere HPLC-Normalphasen-Trenndimension, die vor die Haupt-Trennsäule geschaltet wird und so große Teile an MOSH entfernen kann.

Zusammenfassung

Die Kopplung von Normalphasen-HPLC und GC-FID erlaubt eine sichere Quantifizierung von Mineralölrückständen in Lebensmitteln, Kosmetika und Verpackungen. Die Verwendung hochporöser Kieselgelsäulen ermöglicht die direkte Injektion fetthaltiger Proben, wodurch eine manuelle Fettabtrennung vermieden werden kann. Additive Aufreinigungstechniken, wie Aluminiumoxid-Chromatographie und Epoxidierung, senken die Bestimmungsgrenzen zusätzlich und erhöhen die Quantifizierungssicherheit.

Bestimmung von MOSH/MOAH Applikationsnote 1801

Die direkte Kopplung zu anderen Analysetechniken, wie GCxGC oder NMR, erhöht die Quantifizierungssicherheit abermals.

Die in der DIN EN 16995:2017-08 benannten Bestimmungsgrenzen von 10 mg/kg können mit diesem System sicher erreicht werden. Mit zusätzlichen Anreicherungstechniken, wie in der DGF-Einheitmethode C-VI 22 (20), vom BfR und anderen Autoren benannt, sind auch geringere Grenzen unterhalb von 1 mg/kg erreichbar [2, 4, 8-10].

Literatur

- [1] European Food Safety Authority, Scientific opinion on mineral oil hydrocarbons in food, EFSA J. 10(6) (2012) 2704.
- [2] Messung von Mineralöl-Kohlenwasserstoffen in Lebensmitteln und Verpackungsmaterialien, BfR und Kantonales Labor Zürich, <http://www.bfr.bund.de/cm/343/messung-von-mineraloelkohlenwasserstoffen-in-lebensmitteln-und-verpackungsmaterialien.pdf>.
- [3] DIN EN 16995:2017-08: Lebensmittel - Pflanzliche Öle und Lebensmittel auf Basis pflanzlicher Öle - Bestimmung von gesättigten Mineralöl-Kohlenwasserstoffen (MOSH) und aromatischen Mineralöl-Kohlenwasserstoffen (MOAH) mit on-line HPLC-GC-FID.
- [4] European Commission, Joint Research Centre, Summary of the Roundtable Workshop on the Determination of MOAH in Infant Formula, Ref. Ares (2019) 7564336.
- [5] Mineralölbestandteile, gesättigte Kohlenwasserstoffe (MOSH) und aromatische Kohlenwasserstoffe (MOAH) mit online gekoppelter LC-GC-FID – Methode für niedrige Bestimmungsgrenzen, DGF-Einheitmethoden (26. Akt.-Lfg.) (2020).
- [6] M. Nestola, T. C. Schmidt, J. Chromatogr. A. 1505 (2017) 69-76.
- [7] M. Biedermann, C. Munoz, K. Grob, J. Chromatogr. A 1624 (2020) 461236.
- [8] M. Biedermann, K. Grob, J. Chromatogr. A. 1216 (2009) 8652–8658.
- [9] M. Zurfluh, M. Biedermann, K. Grob, J. Verbrauch. Lebensm. 9(1) (2014) 61-69.
- [10] S. Moret, M. Scolaro, L. Barp, G. Purcaro, L. S. Conte, Food Chemistry, 196 (2016) 50-57.

Die CHRONECT Workstation
MOSH/MOAH ist eine
Entwicklung von Axel Semrau.

Technische Änderungen vorbehalten

Axel Semrau GmbH & Co. KG
Stefansbecke 42
45549 Sprockhövel
Tel.: 02339 / 12090
www.axelsemrau.de
info@axelsemrau.de