Simultane Bestimmung von MOSH- und MOAH-Fraktionen mit online 2-Kanal HPLC-LV-GC-FID

Claudia Schulz, Annette Meyer, Holger Fritz, Eurofins WEJ Contaminants,
Marco Nestola, Ruhr-Universität Bochum,
Peter Tablack, Axel Semrau GmbH & Co. KG

eurofins | WEJ Contaminants

Einführung

Untersuchungen des Kantonalen Labors Zürichs zeigten, dass die in Recyclingkartons enthaltenen Mineralöle in signifikanten Mengen bei einer Verwendung als Lebensmittelverpackung ins Lebensmittel migrieren können. Diese Mineralöle bestehen aus einer Fraktion mit gesättigten Kohlenwasserstoffen (MOSH: Mineral Oil Saturated Hydrocarbons) und einer Fraktion aus überwiegend alkylierten polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (MOAH: Mineral Oil Aromatic Hydrocarbons). Die Toxikologie ist noch nicht abschließend untersucht, grundsätzlich aber ist eine Kontamination mit Mineralölen in Lebensmitteln unerwünscht.

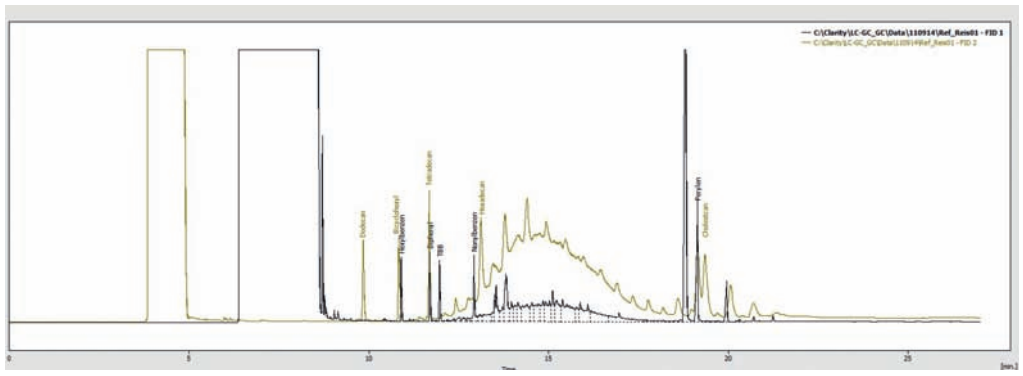

Abb. 1: Beispielchromatogramm von kontaminiertem Reis (schwarz: MOAH, braun: MOSH).

Zur Bestimmung der Mineralölkontaminationen (MOSH/MOAH) aus Lebensmitteln und Verpackungsmaterialien wurde eine optimierte Methode entwickelt und erprobt. Sie ist an die Originalmethode von M. Biedermann und K. Grob [1] angelehnt, wurde jedoch in Bezug auf Probendurchsatz weiter optimiert, um die Bestimmung von MOSH und MOAH in nur einem HPLC- und GC-Lauf zu ermöglichen. Prinzipiell werden zunächst mit einer Normalphasen-HPLC störende Fett- und Matrixbestandteile abgetrennt. Durch Kombination der Retention-Gap-Technik mit frühem Dampfausgang können die Fraktionen dann direkt im Anschluss auf den GC aufgegeben und mittels FID detektiert werden. Die Originalmethode [1] benötigt zwei getrennte Injektionen derselben Probe, um MOSH und MOAH bestimmen zu können. Dies ist notwendig, da sich die GC-Retentionszeiten beider Fraktionen zu sehr ähneln, um auf einer Trennsäule in einem GC-Lauf differenziert werden zu können. Die hier vorgestellte Methodik verwendet zwei voneinander getrennte Kanäle, die die simultane Bestimmung von MOSH und MOAH in einem HPLC- und GC-Lauf erlaubt unter Verwendung einer zweiten Retention-Gap/Trennsäulen-FID-Kombination. Die gesamte Analysendauer beträgt inkl. GC-Detektion, Rückspülung und nachfolgender Rekonditionierung 30 Minuten. Da beide Fraktionen nicht in der gleichen mobilen Phase eluieren, ist eine Anpassung der Aufkonzentrationsparameter im Retention-Gap notwendig. Die Optimierung des GC-Ofenprogramms und der Trägergasdrücke ist dabei von entscheidender Bedeutung, um MOSH- und MOAH-Anteile innerhalb des Zeitfensters von 30 Minuten analysieren zu können. Durch Verwendung dieser Technik kann der Probendurchsatz verdoppelt und der Konsum von Lösungsmitteln reduziert werden.

Probenvorbereitung

Die Probenvorbereitung findet wie in der gängigen Literatur beschrieben statt. Der wesentliche erste Schritt ist eine Extraktion der Probe mit Hexan. Je nach Herkunft der Probe, Fettgehalt und gewünschter Empfindlichkeit muss der Extrakt eingeengt werden.

Geräteaufbau

Im Anschluss an die Extraktion wird der Extrakt durch eine Normalphasen HPLC aufgereinigt und die MOSH- und MOAH-Fraktionen voneinander sowie von Störkomponenten abgetrennt. Dies sind bei der MOSH-Fraktion hauptsächlich Paraffine, während bei der MOAH-Fraktion eine Abgrenzung zu Wachsestern stattfindet. Nach der Vortrennung in der HPLC werden beide Fraktionen zeitversetzt in den GC transferiert. Durch eine intelligente Software- und Ventilsteuerung sowie passende Wahl der Analysenparameter ist es möglich, die Fraktion, die als erste von der HPLC eluiert (MOSH), so lange verlustfrei zurückzuhalten, bis auch die zweite Fraktion (MOAH) in den GC gelangt. Die Injektion in den GC erfolgt über zwei voneinander unabhängige Large Volume Injektionssysteme, wobei jedes für sich ein Injektionsvolumen von 450 µL verarbeiten kann. Das Gesamtvolumen der in den GC injizierten Fraktionen beträgt 900 µL. Die Detektion erfolgt durch eine Paralleldetektion in zwei FIDs, zur Auswertung wird ein Summenparameter gebildet, wie in der Literatur beschrieben.

Gerätekonfiguration:

- Binäre HPLC-Pumpe
- DANI Master GC ausgestattet mit 2 FIDs
- CTC CombiPAL Autosampler
- Mastersoftware Chronos Version 3.1
- DataApex Clarity Version 3.0

Abb. 2: Instrumentelle Anordnung

Ergebnisse

HPLC-Trennung

Abbildung 3 zeigt ein Chromatogramm einer 50 µL-Injektion des Axel Semrau-Applikationsstandards in der Verdünnung 1:250. Die Zusammensetzung des Standards entspricht dem in der Literatur [1] beschriebenen Standard und besteht aus den Substanzen C12, C14, C16 (je 200 ppm), Tri-tert-butylbenzol, Biphenyl, Hexylbenzol, Nonylbenzol 100 ppm) sowie Cholestan und Perylen (je 500 ppm).

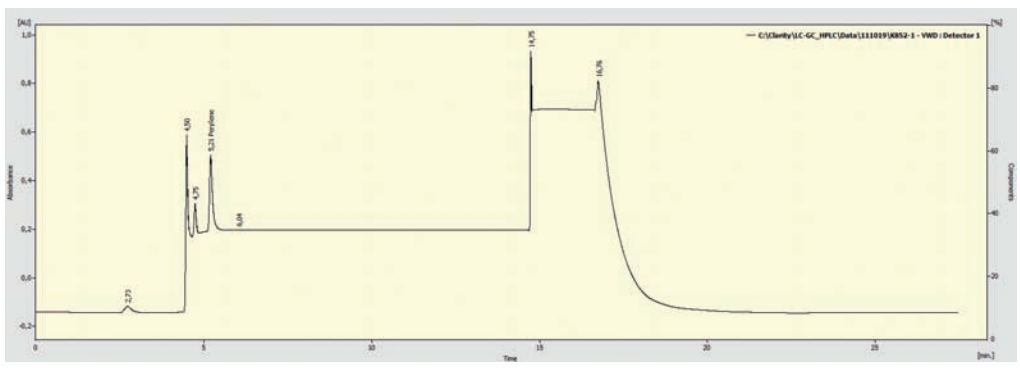

Abb. 3: Beispielchromatogramm einer Injektion des AS-Applikationsstandards (UV-Detektion bei 230 nm)

Mithilfe dieses Standards ist es möglich, den korrekten Fraktionstransfer zum GC zu verifizieren. Tri-tert-butylbenzol, Cholestan und Perylen zeigen wichtige Eckpunkte der MOSH- und MOAH-Fraktionen an, während C14, C16, Biphenyl und Nonylbenzol als interne Standards verwendet werden können. C12 und Hexylbenzol können zur Diskriminierungsfreiheit stark flüchtiger Substanzen beim Transfer zum GC eingesetzt werden. Die Detektion der LC-Chromatogramme bei 230 nm im UV erlaubt neben der Verfolgung der Gradientenkomposition auch die Überprüfung des Perylen-Peaks. Dieser ist im Chromatogramm bei 5.35 Minuten zu erkennen (s. Abb. 3). Zur Rekonditionierung der Säule wird diese nach 6 Minuten rückgespült (s. Abb.3).

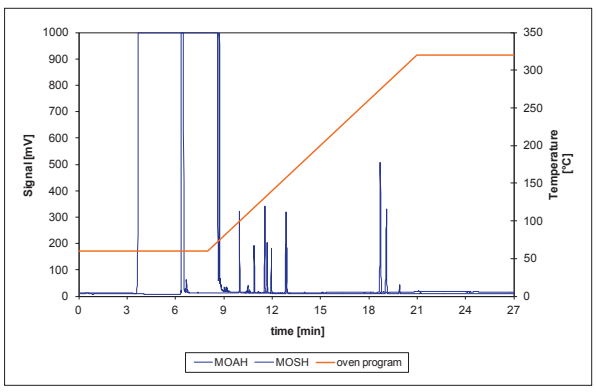

Abb. 4: Beispielchromatogramm einer parallelen Datenaufnahme eines Standardgemisches

Kalibrierung

Unter MOSH-Bedingungen wurde mithilfe eines BAM-Schmierölstandards eine Kalibrierfunktion in einem Konzentrationsbereich zwischen 100–5.000 ng aufgestellt. Die Kalibrierstufen betrugen 100, 500, 1000 und 5000 ng, das Injektionsvolumen jeweils 50 µL. Jedem Standard wurde der AS-Applikationsstandard in einer Verdünnung von 1:250 zugesetzt. Er enthält im MOSH-Fraktionsbereich die Substanzen C12, C14, C16 und Cholestan.

Abbildung 5 zeigt die mit diesen vier Standards erzeugten Kalibriergrade. Die Kalibrierung kann extern oder durch den AS-Applikationsstandard intern erfolgen. Da der FID ein substanzunabhängiges proportionales Massensignal liefert, wird diese Kalibration auch für die MOAH-Fraktion verwendet, da hierfür noch keine passenden Standards kommerziell verfügbar sind.

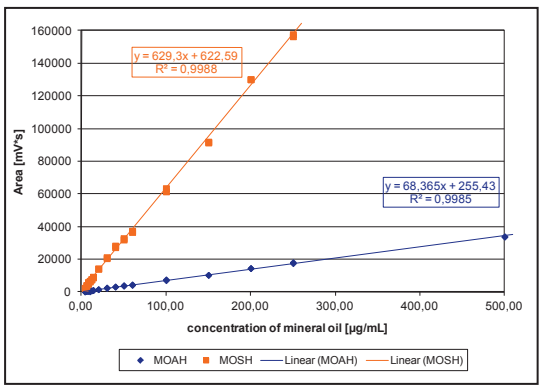

Abb. 5: Kalibrierfunktion für MOSH und MOAH

Abbildung 6 zeigt ein Overlay der MOSH Fraktionen aus 6 Chromatogrammen von kontaminierten Reisproben. Genauigkeit und Reproduzierbarkeit sind sehr gut, es wurden Variationskoeffizienten von 5,8% bei einer Konzentration von 4,3 mg/kg gemessen.

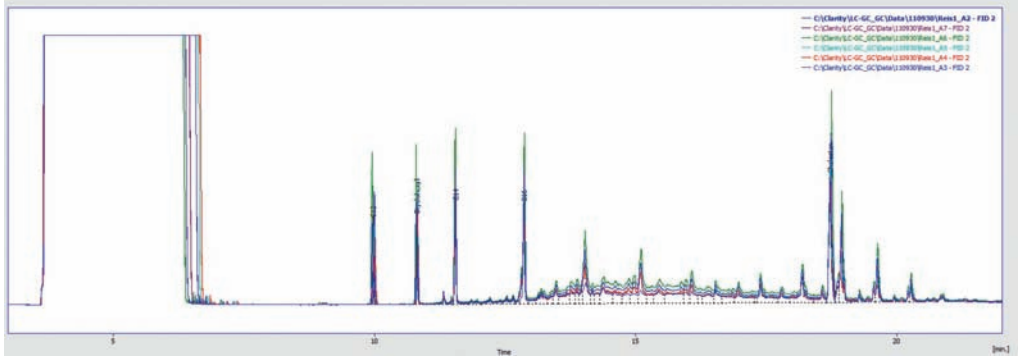

Abb. 6: Reproduzierbarkeit einer Reis-Probe (MOSH Fraktion, Overlay von 6 Proben)

Zusammenfassung

Die vorgestellte Lösung erlaubt die simultane Bestimmung von MOSH und MOAH in einem Lauf. Durch diese Lösung wird der Automatisierungsgrad dieser immer wichtiger werdenden Analytik noch einmal deutlich erhöht, Lösemittelverbrauch und Belastung des Gesamtsystems sinken deutlich. Dabei müssen keinerlei Kompromisse im Hinblick auf die analytische Leistungsfähigkeit eingegangen werden.

Literatur

[1] Biedermann M, Fiselier K, Grob K; Aromatic hydrocarbons of mineral oil origin in food: Method of determining the total concentration and first results; J. Agric. Food Chem. 2009, 57, 8711-8721

Contact

AnnetteMeyer@eurofins.de, tablack@axel-semrau.de

Axel Semrau®