

Foto: GERSTEL GmbH & Co. KG



Epoxidierereinheit

LEBENSMITTELSICHERHEIT

MOSH/MOAH-ANALYSE EFFIZIENT AUTOMATISIERT

GERSTEL-MPS-robotic-HPLC/GC-FID-Komplettlösung für die MOSH/MOAH-Analytik. Das dargestellte System beinhaltet die für die automatisierte Epoxidierung erforderliche Einheit.

Verbraucherschutz subsummiert alle Bestrebungen, Konsumenten von Gütern und Dienstleistungen vor Schaden zu bewahren. Dazu zählt die vorsorgliche Analyse auf mögliche Kontaminationen, die durch Verzehr oder im Hautkontakt Gesundheitsrisiken bergen. Obgleich ein Muss, erfordern die zu ergreifenden Maßnahmen der Qualitätssicherung die Investition von Arbeit, Zeit und Geld. Um Kosten und Nutzen in Einklang zu bringen und auch der erforderlichen hohen Produktivität und Messqualität Rechnung zu tragen, setzen Auftragslaboratorien zunehmend auf Automatisierung.

Aus Recyclingkarton hergestellte Verpackungsmaterialien sowie auch industrielle Herstellungs- und Verarbeitungsprozesse sind nicht selten die Quelle jener mineralölbasierten Kohlenwasserstoffe (Mineral Oil Hydrocarbons, MOH), die Lebensmittel und Konsumgüter kontaminieren und die Gesundheit des Verbrauchers beeinträchtigen können. Diese Art der Verunreinigung wird unterteilt in zwei Fraktionen: in MOSH (Mineral Oil Saturated Hydrocarbons) und MOAH (Mineral Oil Aromatic Hydrocarbons). Laut Europäischer Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) besitzen MOAH ein kanzerogenes Potenzial. MOSH wiederum reichern sich in menschlichen Gewebe an und können auch ein Gesundheitsrisiko darstellen. Aus toxikologischer Sicht und im Interesse des Verbrauchers sind daher Nahrungs- und Genussmittel sowie Lebensmittelkontaktmaterialien auf MOSH und MOAH zu untersuchen. [1] Wie effizient, produktiv und zuverlässig das Vorhaben vorstattgeht, hängt nicht zuletzt von der Art und Weise der Analytik ab. Applikationsexperten haben nun eine Methode vorgestellt, die nicht allein für eine wirksame Automatisierung des komplexen Analysenprozesses sorgt, sondern gleichfalls einen Fokus auf eine effiziente, gleichsam anwenderfreundliche und sichere Auswertung der Messergebnisse legt [2].

Zur MOSH/MOAH-Analytik

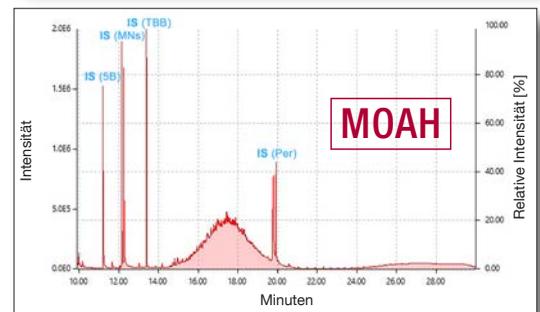
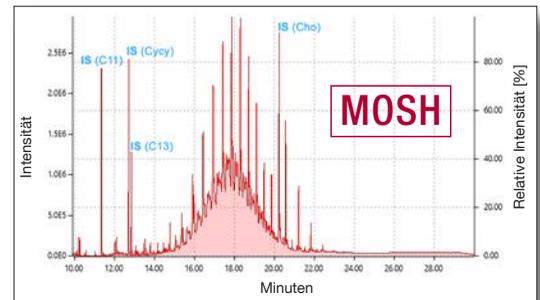
Im Wesentlichen, beschreibt es Karsten Schwarz, GERSTEL-Applikationsexperte, gehe es bei der MOSH/MOAH-Analytik darum, die Mineralölkohlenwasserstoffe aus der Probe zu extrahieren und mit einem geeigneten Verfahren zu analysieren [s. 3-6]. Die Bestimmung sei zudem durch eine Vielzahl an Prozessschritten gekennzeichnet, darunter zahlreiche Aufreinigungs- und Trennschritte, die erforderlich seien, um MOSH und MOAH aus der Matrix, sprich den natürlichen Bestandteilen der Probe, herauszulösen, in eine analysierbare Form zu überführen und anzureichern, so dass eine empfindliche Messung möglich wird. Dazu werden zunächst störende Matrixbestandteile wie Triglyceride entfernt.

Die Quantifizierung von MOSH/MOAH erfolgt mittels Gaschromatographie mit Flammenionisationsdetektion (GC-FID). MOSH und MOAH werden in der Regel getrennt voneinander, wohl aber zeitgleich analysiert, und zwar in einem Zwei-Kanal-GC-System. In Abhängigkeit von der Matrix sind

Prozessschritte zu ergänzen, um die resultierenden Chromatogramme zu bereinigen. Einige Proben sind vor der LC-Trennung zu epoxidieren. Damit wird das Ziel verfolgt, beschreibt Schwarz, die Polarität ungesättigter Polyene zu erhöhen, um ihre Affinität zum Säulenmaterial zu erhöhen und sie aus der Zielfraktion herauszuhalten. Abhängig vom Matrixgehalt ist die MOSH-Fraktion einer weiteren Aufreinigung zu unterziehen. Dazu wird diese Fraktion über aktiviertes Aluminiumoxid (ALOX) geleitet, dass mit n-Alkanen pflanzlichen Ursprungs wechselwirkt und sie zurückhält. Auf den Punkt gebracht: Die Bestimmung von MOSH/MOAH erweist sich, so man sie manuell ausführt, als überaus arbeits- und zeitintensiv. Für Auftragslaboratorien, die nicht die Qualität ihrer Messergebnisse allein, sondern auch die Produktivität im Blick haben müssen, führe die Automatisierung der Analytik zu einer signifikanten Steigerung ihrer Wertschöpfungskette, sagt der Applikationsexperte.

Nutzenorientierter Entwicklungsansatz

Anders formuliert: Die manuelle Vorgehensweise bei der MOSH/MOAH-Bestimmung, wie sie im BfR-Kompendium [5] beschrieben ist, erweise sich in der täglichen Laborroutine als umständlich und ungünstig. Der Arbeits- und Zeitaufwand sei enorm, der Lösungsmittelsatz groß, ebenso die Wahrscheinlichkeit, dass Kontaminationen verschleppt werden, was sich im Routinebetrieb als nachteilig erweist. „Mit dem Ziel, Effizienz, Produktivität und Reproduzierbarkeit der MOSH/MOAH-Analytik zu verbessern, haben wir ein Komplettsystem für die vollständig automatisierte Analyse beider Fraktionen entwickelt, das alle Anforderungen erfüllt“, sagt Schwarz. Die Hardware bestehe demnach aus einem Agilent



Beispiel einer mit der online-gekoppelten MPS-robotic-HPLC-GC-FID-Komplettlösung vollautomatisiert durchgeführte MOSH/MOAH-Analyse: Reis-Probe Ringversuch 2019 (oben MOSH, unten MOAH). Quelle: Labor Lommatzsch & Säger GmbH



Die Steuerung der Gerstel-MPS-robotic-HPLC/GC-FID-Kompletzlösung für die MOSH/MOAH-Analytik erfolgt aus einer Software heraus, und die Auswertung der Messergebnisse ist erheblich vereinfacht. (2 Darstellungen). Quelle: GERSTEL GmbH & Co. KG

1260 Infinity II LC-System und einem Agilent 8890 GC-System mit Flammenionisationsdetektor (FID); beide Chromatographie-Systeme sind über ein LC-GC-Interface (GERSTEL) mit einem Multi-Purpose-Autosampler (MPS) verbunden. Dessen modularer Aufbau erlaube die Anpassung je nach Aufgabenstellung: Das Basismodell (MPS-liquid), ausgestattet mit einem Arm, erfülle alle

Grundanforderungen der MOSH/MOAH-Analytik, für die häufig notwendigen Aufreinigungs- und Probenvorbereitungsschritte biete wiederum der MPS-robotic in der DualHead-Variante alle Möglichkeiten. Diese Autosampler-Variante umfasse alle Module, die für eine vollumfängliche automatisierte Probenvorbereitung unter anderem einschließlich der Epoxidierung nach Biedermann et al. [6] und Probenaufgabe erforderlich sei, etwa Zentrifuge, Vakuumeindampfstation, Vortexer, Kühler für Reagenzien und Proben sowie eine Waschstation für die Reinigung der Spritzen. Die in alle Raumrichtungen beweglichen Arme des MPS-robotic erlaubten die maximal effiziente und reibungslose Durchführung aller Schritte der Probenvorbereitung und Probenaufgabe. Optional lasse sich das System laut Schwarz auch um eine Ventilschaltung ergänzen, um die MOSH-Fraktion automatisch über ALOX aufzureinigen.

Blickpunkt LC-GC-Kopplung

„Bei der Entwicklung der LC-GC Kopplung haben wir ein Augenmerk auf die Robustheit und die einfache Wartung des Gesamtsystems gelegt, um Standzeiten zu minimieren sowie die Effizienz der Analytik und die Produktivität des Labors zu erhöhen“, berichtet Karsten Schwarz. „Unsere Konzeption sieht

zum Beispiel einen raschen und einfachen Wechsel der eingesetzten (2x2) Säulen vor. Eine spezielle Metall dichttechnik sorgt für Langlebigkeit und Dichtigkeit des Systems auch nach mehrmaligem Trennen und wiederverbinden derselben Verschraubung/Dichtung.“ Der Anwender habe die volle Kontrolle über jeden Systemparameter; die Vorsäulen ließen sich effizient spülen und reinigen und ebenso einfach austauschen. Beim Dampfaustrag (GERSTEL-Early-Vapor-Exit, EVE) habe man zudem einen neuen Ansatz verfolgt: Ihr Konzept sieht vor, Ventile zu verwenden, die nicht aktiv beheizt sind. Das erlaubt u. a. einen einfachen und schnellen Austausch aller Kapillarsäulen, etwa zum Zweck der Lösungsmittelausblendung über den EVE. Heiße Oberflächen werden vermieden, an denen sich Lösungsmitteldämpfe entzünden könnten. Eine integrierte Ventilspülung entferne Kondensate und stelle eine dauerhaft zuverlässige Funktion des EVEs sicher.

Zu Details der Analyse

Applikationsexperte Schwarz beleuchtet den analytischen Hintergrund, und zwar nicht allein, um den Aufwand der Analyse zu skizzieren: „Aufreinigung und Auftrennung der Proben erfolgen mittels Flüssigchromatographie (LC) über Normalphase, also auf Basis von Polaritätsunterschieden. Die MOSH-Fraktion eluiert vor der MOAH-Fraktion mit einem Lösungsmittelgradienten bestehend aus n-Hexan und Dichlormethan (CH₂Cl₂). Verbleibende Matrixbestandteile werden mit 100-prozentigem Dichlormethan in umgekehrter Richtung von der Säule gespült. Rekonditioniert und für die nachfolgende Analyse vorbereitet wird die Säule daraufhin mit n-Hexan. Nach der LC erfolgt eine UV-Detektion bei 230 nm. Dieser Schritt dient dem Zweck, die saubere Auftrennung der Fraktionen in der LC zu überprüfen und den vollständigen Transfer zur GC-Analyse sicherzustellen. Die UV-Messung lässt sich allerdings nicht zur Quantifizierung der Analyten nutzen, da die meisten Bestandteile der Fraktionen und auch die internen Standards [3] nicht ausreichend UV-aktiv sind.“

Nach der HPLC erfolge der Transfer der großvolumigen Fraktionen direkt in den Gaschromatographen (GC). Die Auslegung des GC als sogenanntes Dual Channel System (zwei Trennsäulen in einem GC-Ofen) ermögliche eine simultane MOSH/MOAH-Analytik. Zunächst diene das Säulensystem des Gaschromatographen der Aufkonzentrierung;

das Lösungsmittel werde verdampft und über einen speziellen Dampfausgang entfernt. Nach der GC-Trennung erfolge dann die Detektion der Analyten mittels FID, da dieser Detektortyp annähernd die gleiche massenabhängige Response für alle Kohlenwasserstoffe (MOSH und MOAH) liefert. Über einen Summenparameter (Total: C₁₀-C₅₀) mit einzelnen zusätzlichen Sektionen nach JRC Guidance [3] wird dann die Quantifizierung vorgenommen.

Vorzüge der Automatisierung

Diese kurze Beschreibung lasse erahnen, fügt GERSTEL-Applikationsexperte Carlos Gil hinzu, welcher Einsatz an Arbeit und Zeit die MOSH/MOAH-Analytik binde, und sie lasse ebenfalls erahnen, wie groß das Risiko potenzieller Fehlerquellen ist: „Allein aus Gründen der Effizienz, Verlässlichkeit und Reproduzierbarkeit ist eine automatisierte Vorgehensweise vorzuziehen, und zwar nicht allein bei der MOSH/MOAH-Analytik“, sagt Gil. Obendrein spiele auch der Aspekt der Bedienerfreundlichkeit und Nachhaltigkeit in die Überlegung hinein, Analysenprozesse zu automatisieren [2].

Es helfe dabei, sagt Gil, Lösungsmittel einzusparen und auch dem Anwender Raum zu verschaffen, zum Beispiel für Methodenentwicklungen oder die Auswertung und Interpretation der Messwerte. Apropos: Die Steuerung aller Systemkomponenten, sprich Sampler, LC und GC, erfolge mit nur einer Software (GERSTEL-MAESTRO-Software), die vollständig in die weitverbreitete Openlab-CDS-Software (Agilent) integriert ist. Sie sei bedienerfreundlich und lasse sich intuitiv handhaben, sagt der Applikationsexperte.

Man habe auch die Datenauswertung vereinfacht, fügt Kasten Schwarz hinzu. Ein dezidiertes Workflow nehme den Anwender bei der Hand, vereinfache und standardisiere die sonst in der Routine oft mühsame und fehlerbehaftete Vorgehensweise. Schwarz berichtet, dass etwa bei der Analyse der Einzelsubstanzen scharfe Signalpeaks störend seien. Von Interesse sei vielmehr der „Buckel“ auf der Basislinie unterhalb der Peaks. Um diesen MOSH/MOAH-Hump quantifizieren zu können, seien die Peaks aus dem Chromatogramm zu entfernen. „Analytisch ist das nicht möglich, und die übliche manuelle Berechnung ist aufwendig“, schildert der Applikationsexperte. „Wir haben einen intelligenten Weg gefunden, die Peakberechnung zu umgehen und ausschließlich die Fläche des Buckels darunter zu integrieren. Zusätz-

liche manuelle oder gesonderte Kalkulationen sind nicht erforderlich. Einfacher und verlässlicher geht's nicht“, sind Schwarz und Kollegen überzeugt und gehen abschließend auf wichtige Fakten ein: „Unser automatisiertes MOSH/MOAH-Komplettsystem erfüllt alle an die Anwendung gestellten Vorgaben und Normparameter. Die Fraktionierung verläuft einwandfrei, die Wiederfindung der n-Alkane bis C₅₀ ist mit 98 Prozent relativ zu n-C₂₀ sehr gut. Es gibt keinen signifikanten Carry-Over (< 0,2 % relativ zu einer Injektion von 100 ng n-C₅₀), und die Nachweisgrenze liegt in Lebensmitteln allgemein bei 0,5 mg/kg und unter 2,0 mg/kg bei Fetten und Pflanzenölen – ohne Aufreinigung.“

Darüber hinaus habe sich ihr System in der Praxis als routinetauglich erwiesen, und zwar in allen Belangen wie Arbeitssicherheit, Datenintegrität, intuitive Bedienung, Wartungsfreundlichkeit sowie in puncto signifikante Ergebnisse, auch wenn Anwender wenig vertraut seien mit der Anwendung und dem System. Schwarz: „Die von uns ermittelten Analysenergebnisse zeigen eine gute Übereinstimmung mit Referenzanalysen unabhängiger Laboratorien, die erfolgreich an Ringversuchen teilgenommen haben.“

Nicht zuletzt dürfe auch dieser Punkt nicht unerwähnt bleiben: „Erfolgreich getestet und in den Dienst gestellt wurde unsere onlinegekoppelte HPLC-GC-FID-Komplettlösung zum Nachweis von MOSH/MOAH unter anderem bei der Labor Lommatzsch und Säger GmbH. Das in Köln ansässige Forschungs- und Auftragslabor besitzt eine mehr als zehnjährige Erfahrung in der MOSH/MOAH-Analytik und unterstützt uns diesbezüglich als Schulungs- und Kompetenzpartner.“

REFERENZEN

- [1] European Food Safety Authority (EFSA), Scientific Opinion on Mineral Oil Hydrocarbons in Food, EFSA Journal 2012;10(6):2704, <http://bit.ly/2TnvTWb>
- [2] Oliver Lerch, State of the Art Automated Sample Preparation for 3-MCPD, MOSH/MOAH, Glyphosate, PEth, and more, Webinar, 02. April 2020, sowie Interview mit Dr. Oliver Lerch, Karsten Schwarz und Carlos Gil.
- [3] DIN EN 16995 (Lebensmittel – Pflanzliche Öle und Lebensmittel auf Basis pflanzlicher Öle – Bestimmung von MOSH und MOAH mit on-line HPLC-GC-FID)
- [4] JRC Technical Reports: Guidance on sampling, analysis and data reporting for the monitoring of mineral oil hydrocarbons in food and food contact materials (in the frame of Commission Recommendation EU 2017/84), <http://dx.doi.org/10.2760/208879>
- [5] BfR Kompendium – Messung von Mineralöl-Kohlenwasserstoffen in Lebensmitteln und Verpackungsmaterialien, <https://www.bfr.bund.de/cm/343/messung-von-mineraloel-kohlenwasserstoffen-in-lebensmitteln-und-verpackungsmaterialien.pdf>
- [6] M. Biedermann, K. Fiselier und K. Grob, Aromatic hydrocarbons of mineral oil origin in foods: Method for determining the total concentration and first results, J. Agric. Food Chem. 57, p. 8711, 2009, DOI:10.1021/jf901375e, <https://doi.org/10.1021/jf901375e>