

Application Note

Instrument: Pegasus® BT 4D

Determining MOSH/MOAH with GCxGC-TOFMS



Key Words: MOSH, MOAH, Mineral Oil Hydrocarbons, Mineral Oil Saturated Hydrocarbons, Mineral Oil Aromatic Hydrocarbons, GCxGC, TOFMS

Introducción

La preocupación en torno a la contaminación de alimentos por hidrocarburos procedentes de aceites minerales (MOH) ha crecido desde 2012, cuando la Autoridad Europea en Seguridad Alimentaria (EFSA) los señaló como una potencial amenaza para la salud. Los MOH son clasificados en dos subclases principales: MOSH (Hidrocarburos Saturados de Aceites Minerales) incluyendo lineales, ramificado, y cicloalcanos alquilsustituídos y, MOAH (Hidrocarburos Aromáticos de Aceites Minerales) fundamentalmente hidrocarburos (poli) aromáticos alquilsustituídos como alquilbencenos, alquilnaftalenos etc.

En relación con los métodos de análisis, dos opciones han sido propuestas para la cuantificación de estas sustancias: 1) un método "off-line" consistente en una extracción en fase sólida (SFE) seguido por un análisis GC-FID, y 2) el más popular un método on-line LC-GC-FID. Sin embargo, dependiendo en la matriz, ambos presentan desviaciones y suponen un gran reto desde un punto de vista cualitativo/cuantitativo debido a la falta de un método de confirmación asociado (p.ej.: GC-MS, GCxGC-MS).

En este sentido el sistema Pegasus BT 4D GCxGC-TOFMS de LECO puede ayudar a esclarecer la complejidad de las muestras alimentarias contaminadas, proporcionando capacidades superiores en cuanto a resolución cromatográfica e identificación. De hecho, como ha sugerido la opinión de la EFSA, la tecnología GCxGC-MS debe ser usada como herramienta de confirmación de aquellos resultados inciertos.

Como ejemplo del extraordinario poder de resolución, es posible diferenciar los MOSH de los POSH (Hidrocarburos Saturados de Poliolefinas Oligoméricas) y/o los MOAH de sustancias biogénicas como los terpenoides. Ambos los POSH y terpenoides son, de hecho, interferentes y son a menudo cuantificados como MOSH o MOAH por error cuando se emplean las metodologías convencionales (p.ej.: LC-GC-FID), conduciendo, por tanto, a resultados erróneos.

Además del mejorado poder de separación y la confianza de identificación, la herramienta "Clasificaciones" del

software ChromaTOF de LECO puede ser aplicada de forma rutinaria para reunir rápidamente información de las muestras sobre la presencia de una clase química específica como hopanos, esteranos o los recientemente enfatizados MOAH de 3 a 7 anillos

Esta nota describe un el trabajo realizado mediante GCxGC-TOFMS para separar e identificar las fracciones MOSH y MOAH de sustancias biogénicas presentes normalmente en una muestra de comino.

Experimental

Se obtuvo un extracto del comino y las fracciones MOSH y MOAH individuales fueron separadas, concentradas (a ~100 µL) e inyectadas en un sistema Pegasus BT 4D GCxGC -TOFMS usando la aproximación de fraccionamiento por acoplamiento directo LC-GC. Previamente al análisis de la especia, usando el mismo procedimiento también se inyectó como referencia una muestra patrón llamada VGO-IS, constituida por una fracción de petróleo fortificada con el patrón interno de MOSH/MOAH (Restek Corporation,#31070)

Los parámetros experimentales GCxGC-TOFMS están recogidos en la Tabla 1

Resultados y Discusión

El análisis de la muestra de referencia VGO-IS (obtenida mediante mezclado a vacío de Gas Oil VGO-rango de carbono >C50 con el patrón interno de MOSH/MOAH), permitió la creación de un gráfico de contorno de referencia que incluía todas las clases de compuestos más relevantes a investigar en el campo de los MOSH /MOAH. La figura 1 muestra el gráfico de contorno de la inyección de esta muestra.

Como evidencia la Figura 1, el extraordinario poder de la tecnología GCxGC permite la separación de muchas clases de compuestos resultando un gráfico de contorno muy estructurado. Se eligió una configuración de columnas "reversa" debido a su específica capacidad para resolver clases problemáticas de separar mediante la configuración "normal" (p.ej. n-i parafinas de los POSH).

Tabla 1

GCxGC	LECO GCxGC QuadJet™ Thermal Modulator
Injection	2 μ L, Splitless mode (330 °C)
Columns	¹ D: Rxi-17 SilMS, 12 m x 0.25 mm i.d. x 0.25 μ m coating (Restek) ² D: Rxi-1-HT, 1.05 m x 0.25 mm i.d. x 0.25 μ m coating (Restek)
Carrier Gas	He; 1 ml/min constant flow
Oven Program	40 °C (hold 1 min), ramp 5 °C/min to 360 °C, hold 10 min
Secondary Oven	+7 °C
Modulation (P _M)	5 s
Transfer Line	340 °C
MS	LECO Pegasus BT 4D
Ion Source Temp	280 °C
Mass Range	40-700
Acquisition Rate	200 spectra/s

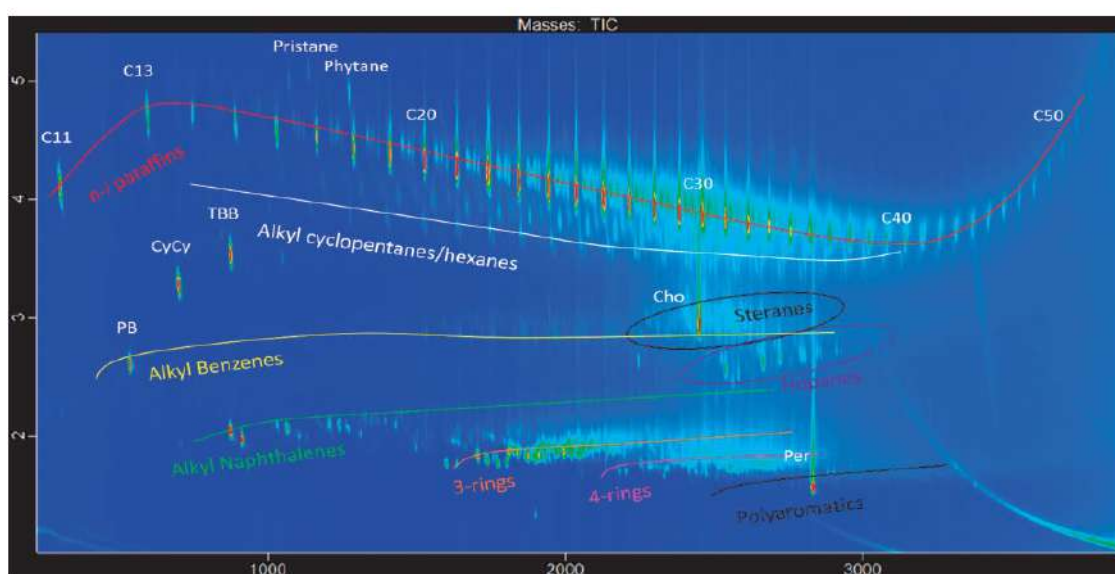


Figura 1. Gráfico de contorno GCxGC-TOFMS de la muestra VGO + el patrón interno MOSH/MOAH (VGO-IS)

La configuración de fase reversa también permitió una clara separación de los hopanos (m/z 191), considerados como prueba de contaminación por aceite mineral. Estos marcadores están a menudo presentes a nivel de trazas y son muy difíciles de separar y /o detectar con la metodología LC-GC-FID. Así mismo gracias a la combinación de las tecnologías GCxGC y TOFMS, éstos son claramente resueltos y muestran un característico patrón de elución. Lo mismo puede observarse para los esteranos, que eluyen ligeramente encima de los hopanos y pueden ser fácilmente rastreados empleando la m/z 217.

Finalmente se realizó una precisa evaluación de las capacidades de separación en el seno de la fracción MOAH, para asegurar una adecuada separación de estructuras aromáticas. Esto fue necesario de acuerdo con la más reciente recomendación de la UE de 2019 que resalta la importancia de los compuestos aromáticos policíclicos de 3 a 7 anillos (3-7 PAC) desde un punto de vista toxicológico.

A continuación, se analizaron también las fracciones de MOSH y MOAH de los extractos de comino empleando el mismo sistema **Pegasus BT 4D GCxGC-TOFMS**, misma configuración y aproximación para el tratamiento de datos. El alcance principal del análisis fue detectar la presencia de MOSH y MOAH y la presencia de interferentes que pudieran haber afectado los resultados de cuantificación mediante LC-GC-FID.

La Figura 2 muestra la presencia de hopanos en la fracción MOSH del comino, confirmando la presencia de contaminación por aceite mineral, mientras que la figura 3 muestra la presencia de marcadores específicos MOAH como los Diisopropilnaftalenos (DIPN) y los Dibenzotiofenos (DBT) procedentes probablemente de la tinta para el embalaje y los sacos de yute empleados en el transporte de la especie después de su cosecha respectivamente.

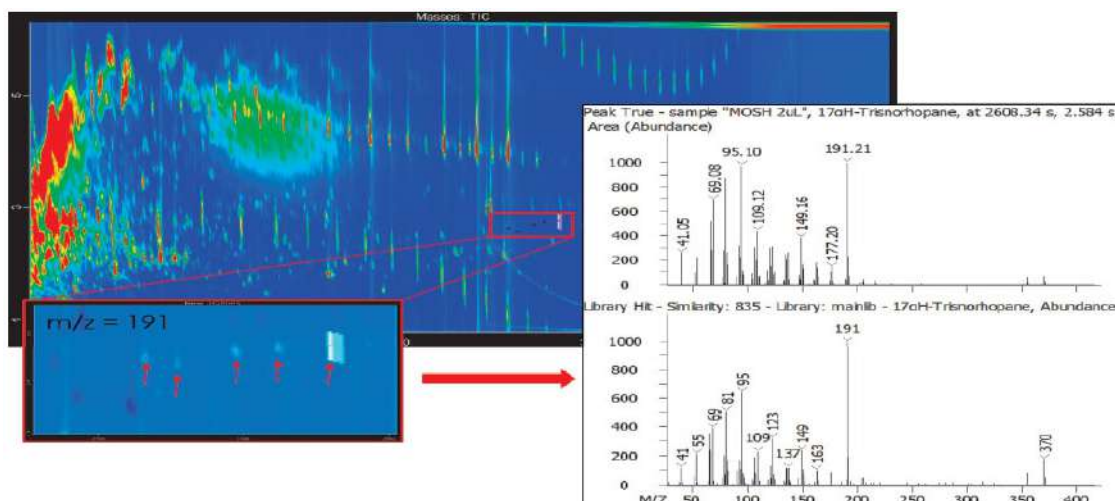


Figure 2. Detección de hopanos en la fracción MOSH del comino. (m/z 191.21)

Junto a estos marcadores de contaminación, la presencia de otros compuestos aromáticos fue también confirmada. Como ejemplo la Figura 4, muestra la clasificación de hidrocarburos mono-, di-, y triaromáticos en la fracción MOAH. Todas estas familias

químicas han sido automáticamente detectadas aplicando la herramienta "Clasificaciones" del software **ChromaTOF** de LECO, una vez establecida como referencia la muestra VGO-IS.

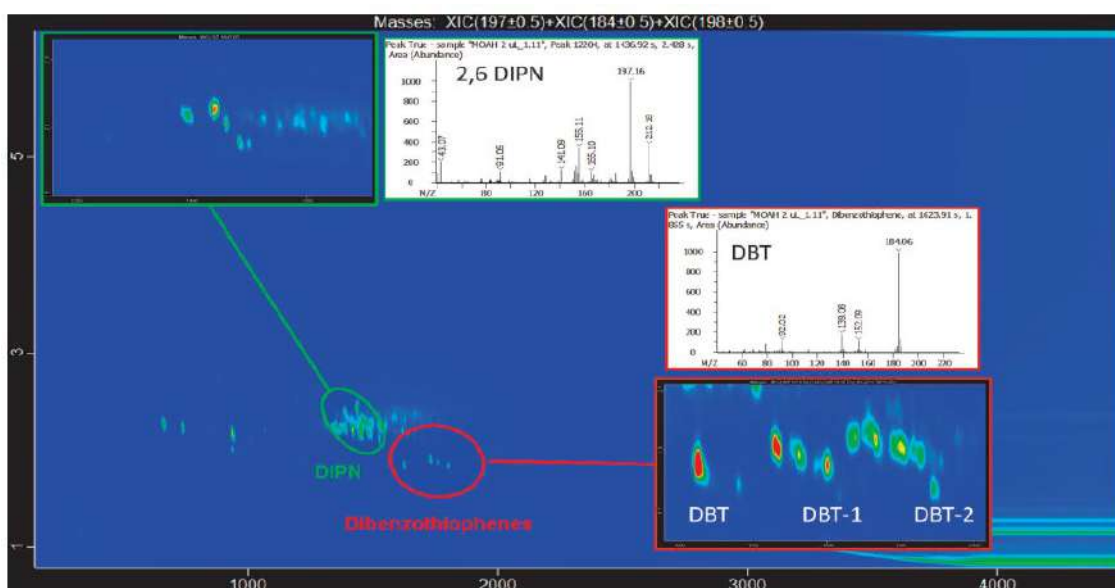


Figura 3. Detección y clasificación de los DIPN y los Benzotiofenos en la fracción MOAH del comino.

Más allá, un grupo de sustancias adicional fue detectado, algunos sesquiterpenos biogénicos presentes habitualmente en el comino. La Figura 5 muestra la posición de este grupo de sustancias en el gráfico de contorno parcialmente solapada con la fracción monoaromática y la identificación de uno de los compuestos encontrados como ejemplo (amorphene,

850/1000). Dicha información es sólo un ejemplo de cómo la tecnología GCxGC en combinación con el poder de la Espectrometría de Masas de Tiempo de Vuelo (TOFMS) de LECO pueden mejorar la confianza del usuario cuando cuantifica y evalúa muestras MOSH/MOAH.

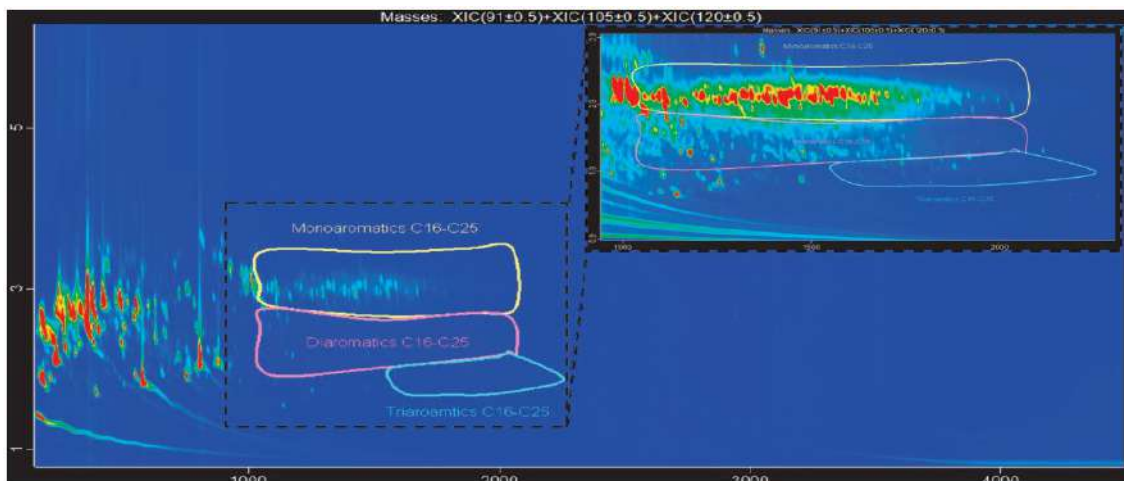


Figura 4. Detección y clasificación de hidrocarburos mono-, di-, tri-aromáticos en la fracción Moah del comino.

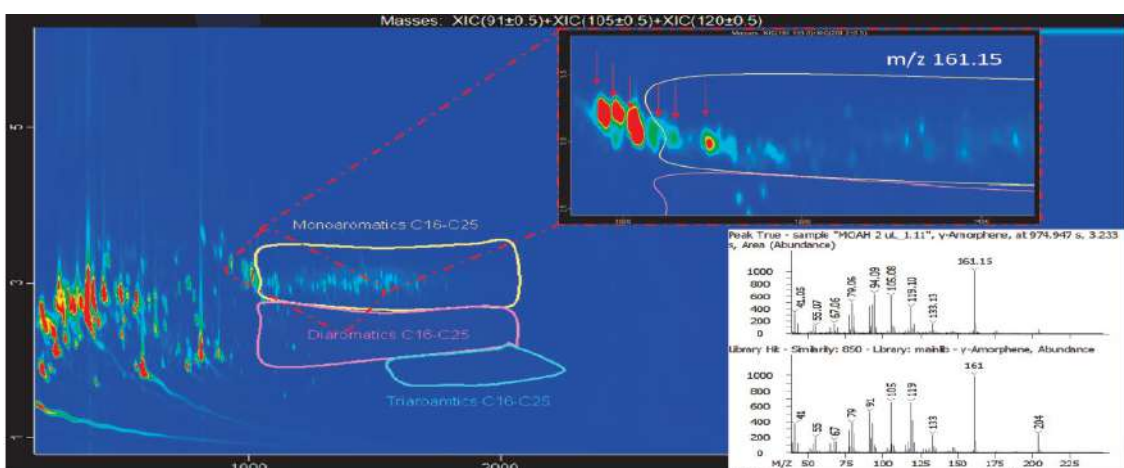


Figura 5. Sesquiterpenos positivamente identificados debido a su presencia natural en el producto.

Conclusiones

Se ha demostrado que la tecnología GCxGC-TOFMS de LECO es una opción sin fisuras para confirmar la presencia de contaminantes MOSH/MOAH en muestras de alimentos. De hecho, tal y como recomienda la opinión de la EFSA, un análisis confirmatorio GCxGC-TOFMS ha sido realizado al extracto de comino. Éste determinó la presencia de una contaminación MOSH / MOAH pero también la presencia de biogénicas naturales, no pertenecientes a estas fracciones y desviando posiblemente los resultados cuantitativos obtenidos con los métodos convencionales. Las actividades en curso basadas en el enfoque descrito aquí, que incluyen el uso de una amplia gama de matrices desafiantes y el uso de detección FID para la cuantificación, se están llevando a cabo y validando en

conjunción con el desarrollo y la finalización de una herramienta de software adecuada para el propósito de un flujo de trabajo de análisis MOSH /MOAH óptimo y completo.

Referencias

- 1 Scientific Opinion on Mineral Oil Hydrocarbons in Food (EFSA). EFSA Journal 2012;10(6):2704. 10.2903/j.efsa.2012.2704
- 2 EFSA Technical Report. Rapid risk assessment on the possible risk for public health due to the contamination of infant formula and follow on formula by mineral oil aromatic hydrocarbons (MOAH). <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2019.EN-1741>