

Détermination de la contamination par les huiles minérales dans les denrées alimentaires, les produits cosmétiques et les matériaux d'emballage avec la station de travail MOSH/MOAH CHRONECT



Note d'application 145

Introduction

Des résidus indésirables d'huile minérale se retrouvent dans de nombreux produits. Ces substances peuvent être divisées en deux classes : les hydrocarbures saturés (MOSH - mineral oil saturated hydrocarbons) et les hydrocarbures aromatiques (MOAH - mineral oil aromatic hydrocarbons). Alors que la première classe de substances s'accumule dans le corps humain, la deuxième classe de composés est soupçonnée de contenir des substances cancérigènes. Les classes de substances telles que les POSH (polyoléfines oligomériques d'hydrocarbures saturés) ou les PAO (poly-alpha-oléfines) sont chimiquement similaires, mais ont des origines différentes (synthétiques). Il existe de nombreuses voies de contamination par lesquelles ces substances peuvent se retrouver dans les aliments, par exemple :

- Matériaux d'emballage recyclés produits à partir de journaux ou de magazines : l'utilisation d'encre d'imprimerie contenant des huiles minérales est responsable d'une migration en phase gazeuse dans les aliments.
- Accidents au cours du transport ou de la production d'un produit alimentaire
- Lubrifiants à base d'huile minérale dans la chaîne de production
- Et bien d'autres encore

Dans le cas d'une contamination par migration, on observe surtout des hydrocarbures de la gamme d'ébullition comprise entre C16 et C25, car ils se situent dans une gamme de volatilité appropriée. Le danger pour la santé de cette contamination a été établi en décembre 2009 par l'Institut fédéral de coévaluation des risques (BfR). Dans son évaluation, le BfR est arrivé à la conclusion que le transfert des huiles minérales vers les denrées alimentaires doit être minimisé de toute urgence. Des mesures sont recommandées. La détection de ces contaminations d'huiles minérales dans les aliments a donc été particulièrement étudiée et optimisée depuis lors.

Un autre domaine de produits dans lequel les matières premières contenant des huiles minérales sont utilisées est le secteur des cosmétiques. Les huiles minérales hautement raffinées utilisées dans l'industrie cosmétique peuvent également contenir des MOAH.

Configuration du dispositif

Pour la détermination des contaminations MOSH/MOAH des emballages, des cosmétiques ou des denrées alimentaires, la purification de l'échantillon et sa séparation préalable par HPLC en phase normale est devenue la méthode de choix [1]. Les échantillons sont extraits à l'hexane, époxydés si nécessaire et pré-purifiés à l'oxyde d'aluminium selon leur origine et leur type [2].

La tâche de l'étape HPLC est de séparer les fractions MOSH et MOAH entre elles et des composés interférents de la matrice. L'utilisation d'une colonne de gel de silice non modifiée permet de retenir de grandes quantités de graisses et de substances polaires et de les séparer efficacement des MOSH et des MOAH. Ce type de purification est également la base de la norme DIN EN 16995:2017-08 et de la méthode standard C-VI 22 (20) de la DGF, qui est entièrement conforme au système décrit ici [3, 4]. Il en va de même pour la méthode proposée par la Commission européenne pour la détermination de la teneur dans les aliments pour nourrissons [5].

Après la pré-séparation, les deux fractions sont transférées vers la GC en grande quantité et sans perte, puis séparées par le point d'ébullition et détectées par FID. La quantification est faite sous la

forme d'une somme de composés. La durée d'analyse pour la détermination simultanée de MOSH et de MOAH est d'environ 30 minutes.

Le logiciel Chrolibri a été développé spécialement pour l'analyse MOSH/MOAH et permet donc une évaluation simple des résultats. Le logiciel Hump Inspector crée et utilise des bases de données de référence spécifiques pour les huiles minérales afin de déterminer l'origine de la contamination.

Composants de base du système :

- Interface LC-GC CHRONECT
- Système HPLC Infinity II 1260 Agilent
- GC 8890 Agilent avec deux FID
- Bras robotisé CHRONECT
- Logiciels utilisés
 - CHRONOS pour commander le système
 - Clarity pour l'acquisition et l'évaluation des données
 - Chrolibri pour l'évaluation des « bosses » de pic non résolues
 - Hump Inspector pour déterminer la source de la contamination

Extension optionnelle pour l'époxydation automatisée :

- Station de lavage rapide
- Agitateur
- Centrifugeuse

Extension optionnelle pour la purification à l'oxyde d'aluminium :

- Pompe supplémentaire HPLC Infinity II 1260 Agilent
- Vanne HPLC
- Colonne HPLC oxyde d'aluminium

Extension optionnelle pour la déplétion des MOSH dans les cosmétiques :

- Vanne HPLC
- Colonne HPLC de déplétion

Extension optionnelle pour la collecte des fractions :

- Outil de collecte Fract & Collect

Préparation des échantillons

Tous les échantillons doivent être préparés avant la mesure proprement dite. Selon la matrice de l'échantillon, cela peut être plus ou moins simple. Les huiles cosmétiques ou alimentaires peuvent être injectées directement après dilution avec du n-hexane et ajout d'un ISTD. Les aliments composés ou les emballages, quant à eux, sont généralement extraits avec du n-hexane et de l'éthanol.

Pour les aliments à forte teneur en émulsifiants ou pour une diminution des limites de détection, il est possible de procéder à une saponification manuelle suivie d'une extraction à l'hexane et d'une concentration.

Selon la matrice de l'échantillon, les extraits obtenus peuvent être automatiquement époxydés par le système de mesure et purifiés par chromatographie à l'oxyde d'aluminium avant d'être transférés à l'HPLC en phase normale.

Résultats

La figure 1 montre un chromatogramme HPLC-UV d'une injection d'un mélange étalon. Celui-ci est composé des substances C11, C13, cyclohexylcyclohexane (Cycy), cholestane (Cho) ainsi que pentylbenzène (5B), 1- et 2-méthylnaphtalène (MN), tri-tert-butylbenzène (TBB) et pérylène (Per).

La séparation HPLC est effectuée par un gradient n-hexane/dichlorométhane. Les étalons listés précédemment sont utilisés pour la quantification et le contrôle de la séparation MOSH/MOAH. Le pérylène est particulièrement bien visible sur le signal UV.

Après 6 minutes, la colonne LC est lavée à contre-courant avec du dichlorométhane. Cette procédure, appelée backflush, assure une élimination rapide et efficace des composés de la matrice retenus. Après 9 minutes, la colonne est conditionnée avec du n-hexane jusqu'à ce qu'elle soit prête pour l'injection suivante.

La figure 2 montre les chromatogrammes GC des MOSH et des MOAH. L'absence totale d'hydrocarbures aromatiques dans la fraction MOSH et d'hydrocarbures saturés dans la fraction MOAH peut être considérée comme un indicateur de la réussite de la séparation MOSH/MOAH.

Les MOSH et les MOAH sont quantifiés entre C10 et C50. Cela correspond approximativement à un intervalle de température d'ébullition de 170-570 °C et donne donc également une indication de la nature des huiles minérales pouvant contenir des MOSH/MOAH. Un échantillon de contrôle contenant les deux familles de composés garantit que le système d'analyse est performant sur l'ensemble de la gamme. La figure 3 montre ce contrôle.

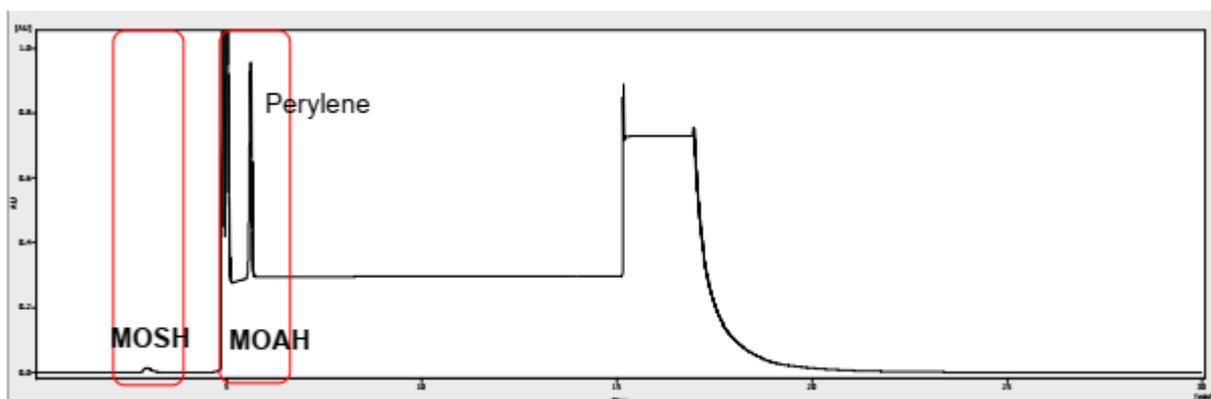


Figure 1 - Chromatogramme HPLC-UV d'une injection étalon (longueur d'onde : 230 nm). Les fractions marquées (450 µL chacune) sont transférées au chromatographe en phase gazeuse sans perte.

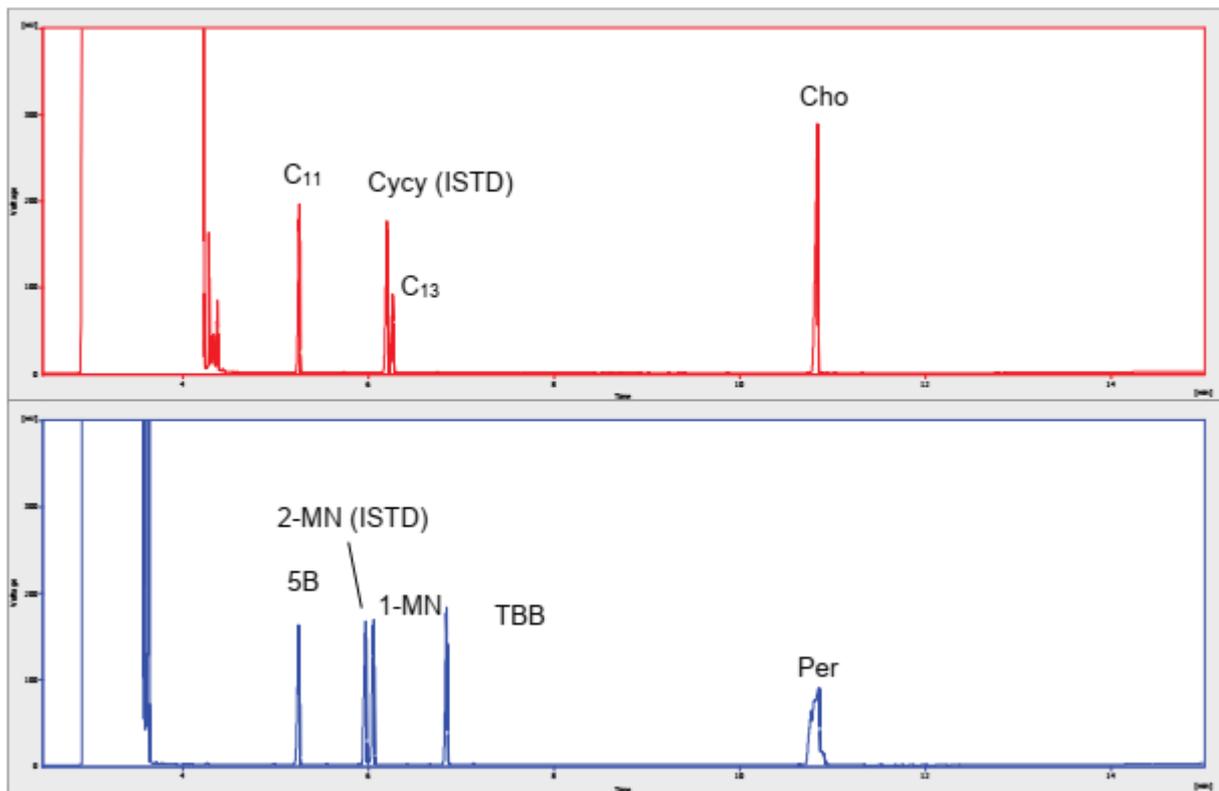


Figure 2 - Chromatogrammes GC-FID de MOSH (en haut) et MOAH (en bas) de l'injection de la Figure 1. Les deux fractions ont été mesurées simultanément. C11 et 5B sont récupérés quantitativement.

Conformément à la norme DIN EN 16995:2017-08, de l'huile de tournesol dopée a été diluée dans du n-hexane et mesurée directement. La figure 3 montre un chromatogramme typique de MOSH/MOAH. En raison du nombre élevé d'isomères, les MOSH et les MOAH ne forment pas de pics individuels mais des bosses de signal. Les bosses de signal marquées dans la figure 4 sont quantifiées comme une somme directement avec l'étalon interne. Les pics au-dessus sont normalement soustraits et ne sont pas inclus dans la mesure.

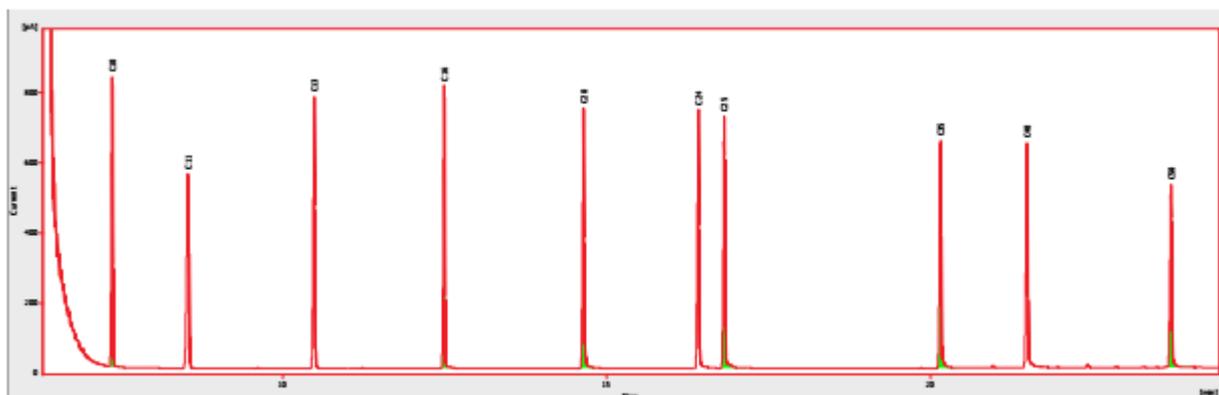


Figure 3 - Chromatogramme LC-GC-FID de MOSH de l'injection d'un étalon avec les composés C10, C11, C13, C16, C20, C24, C25, C35, C40 et C50. Tous les alcanes présentent des hauteurs et des surfaces de pic comparables.

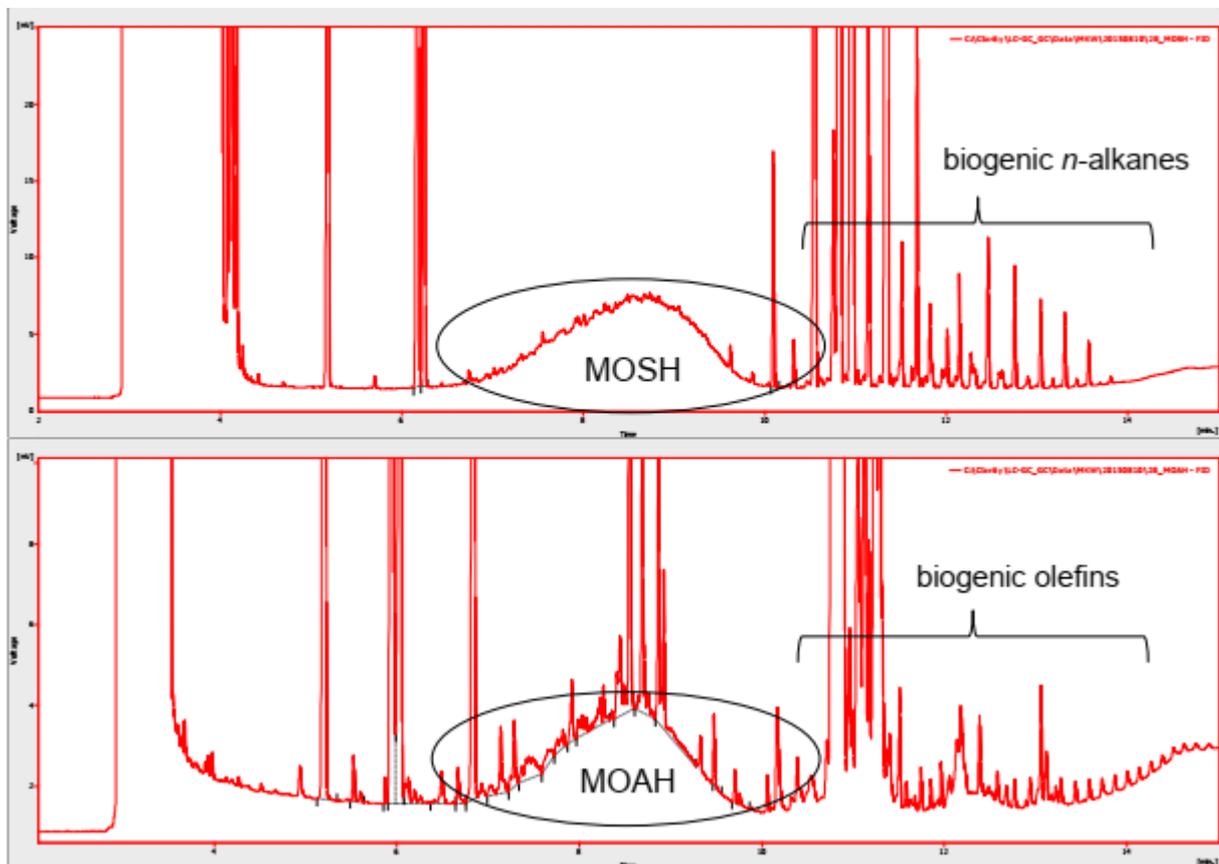


Figure 4 - Chromatogrammes GC-FID de MOSH (en haut) et de MOAH (en bas) d'huile de tournesol dopée. Les niveaux de contamination (intégrale des zones marquées) sont de 40 et 14 mg/kg, respectivement.

Comme on peut également le voir sur la figure 4, outre les bosses MOSH/MOAH évidentes, de nombreux pics uniques ou groupes de pics peuvent être observés. Ceux-ci sont d'origine naturelle et doivent être distingués des MOSH/MOAH. C'est pourquoi les techniques de purification supplémentaires mentionnées ci-dessus existent afin d'éliminer ces composés de l'échantillon.

D'une part, la fraction MOSH contient des n-alcane naturels avec un nombre d'atomes de carbone le plus souvent impair, qui se superposent aux MOSH. D'autre part, on note la présence des hydrocarbures oléfiniques, comme les β -carotènes, le squalène ou les produits de raffinage du sitostérol, qui affectent principalement la quantification des MOAH.

La figure 5 montre de l'huile de tournesol, qui a été automatiquement purifiée par oxyde d'aluminium et époxydation avant la mesure proprement dite. La fraction MOSH est totalement exempte de n-alcane biogènes. Ainsi, même des quantités plus faibles de MOSH peuvent être quantifiées. Il en va de même pour la fraction MOAH, qui est en grande partie exempte d'oléfines. Ici, il faut tenir compte du fait que, selon la matrice de l'échantillon, aucune époxydation quantitative n'est possible. Les deux techniques de purification sont obligatoires pour une détection réussie et fiable des MOSH et des MOAH.

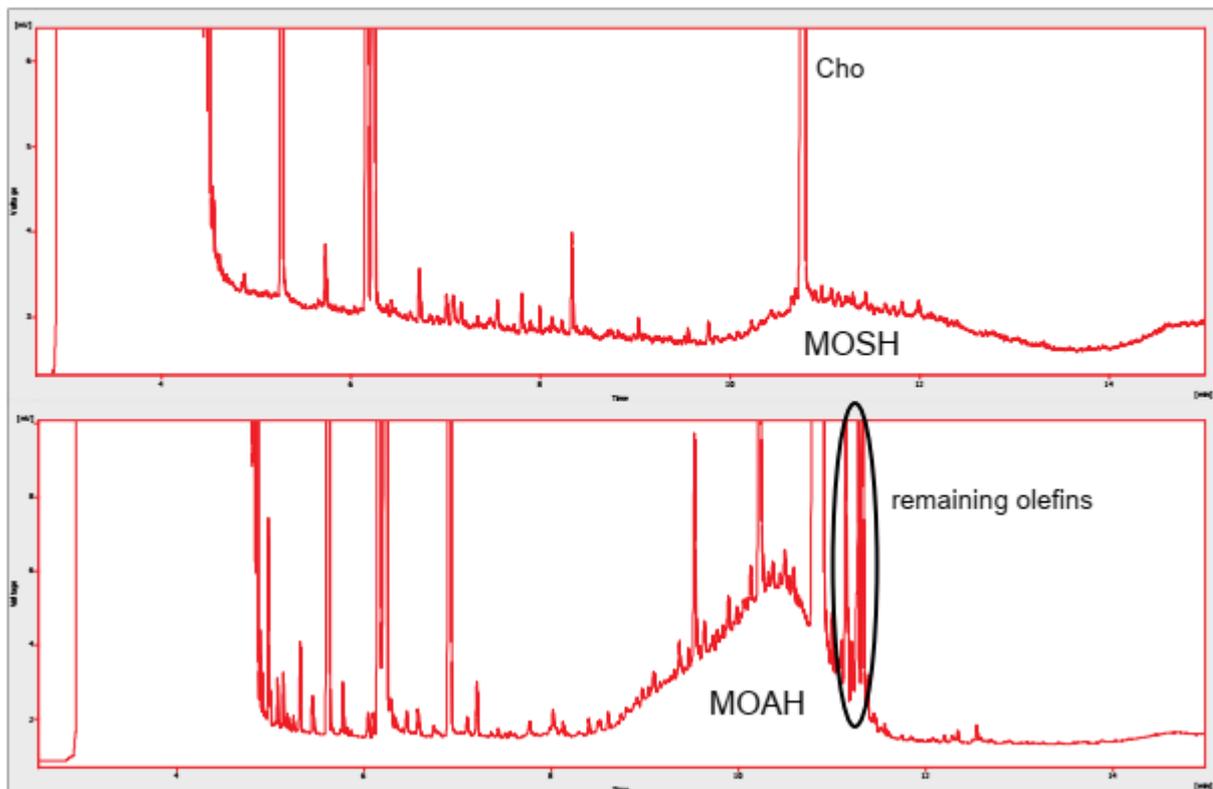


Figure 5 - Chromatogrammes GC-FID de MOSH et de MOAH d'huile de tournesol dopée après purification par aluminium et époxydation. Les contaminations sont respectivement de 3 et 25 mg/kg (le MOAH a été enrichi pour une meilleure visualisation). En fonction de la matrice, les conditions d'époxydation doivent être ajustées pour obtenir les meilleurs résultats possibles.

Techniques de validation

Produits alimentaires

Dans les cas où il est impossible de confirmer à 100 % la présence ou l'absence de MOSH ou de MOAH, des techniques d'analyse complémentaires sont nécessaires. La technique la plus courante est la chromatographie en phase gazeuse bidimensionnelle avec détection par spectrométrie de masse (GCxGC-MS) [7].

Avec l'option Fract & Collect, le système offre la possibilité de collecter des fractions purifiées de MOSH et de MOAH et de les transférer vers d'autres techniques analytiques. Un couplage en ligne est également possible. La figure 6 montre la fraction MOAH d'une analyse LCGC-FID et le même échantillon mesuré par LC-GCxGC-MS. Dans ce cas, l'échantillon a été collecté pour l'analyse ultérieure au moyen de Fract & Collect.

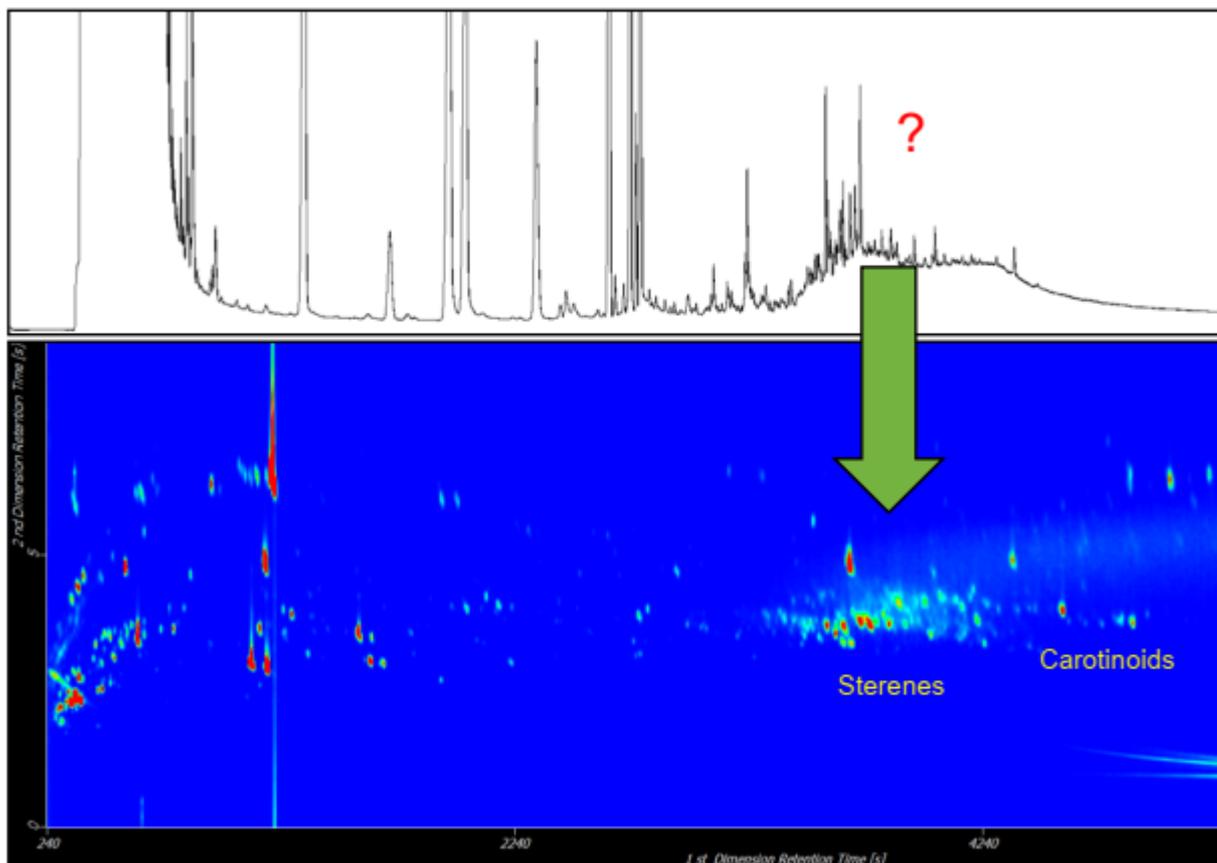


Figure 6 - Fraction MOAH : Chromatogrammes LC-GC-FID (en haut) et LC-GCxGC-MS (en bas) d'huile de palme après époxydation. Les spectres de masse montrent clairement la présence de substances biogènes. Ainsi, la « bosse » observée dans le chromatogramme FID n'est pas entièrement attribuable à la présence de MOAH

Cosmétiques

Dans le cas des échantillons cosmétiques à base d'huile minérale, qui ne contiennent souvent que des traces de MOAH et des quantités importantes de MOSH d'origine naturelle la détection des MOAH peut s'avérer complexe. Il ne peut pas être exclu que le MOSH soit faussement détecté comme MOAH en raison d'une surcharge de la phase normale HPLC, les deux fractions MOSH et MOAH peuvent coéluer. De plus les détecteurs FID ou MS ne peuvent pas les distinguer.

Une solution consiste à éliminer de manière ciblée le MOSH de ces échantillons afin de réduire la quantité élevée de MOSH sans perdre de MOAH, de sorte que le MOAH devienne quantifiable. Ceci est réalisé soit par l'option Fract & Collect avec réinjection ultérieure de l'échantillon, soit par une dimension supplémentaire de séparation en phase normale HPLC qui est connectée en amont de la colonne de séparation principale et qui peut ainsi éliminer de grandes quantités de MOSH.

Résumé

Le couplage de la HPLC en phase normale et du GCFID permet une quantification fiable des résidus d'huiles minérales dans les aliments, les cosmétiques et les emballages. L'utilisation de colonnes de gel de silice très poreuses permet l'injection directe d'échantillons contenant des graisses, ce qui évite la séparation manuelle de celles-ci. Des techniques de purification supplémentaires, telles que la chromatographie à l'oxyde d'aluminium et l'époxydation, réduisent les limites de quantification et augmentent la fiabilité de la quantification.

Le couplage direct à d'autres techniques analytiques, telles que la GCxGC ou la RMN permet d'obtenir des informations sur la nature des composés et les sources potentielles de contamination. Les limites de détermination de 10 mg/kg spécifiées dans la norme DIN EN 16995:2017-08 peuvent être atteintes en toute sécurité avec ce système. Avec des techniques d'enrichissement supplémentaires, comme celles décrites dans la méthode standard C-VI 22 (20) de la DGF, nommée entre autre par le BfR, des limites encore plus basses, inférieures à 1 mg/kg peuvent être atteintes [2, 4, 8-10].

Littérature

- [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-Einheitsmethoden (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.