



Piattaforma integralmente automatizzata per la determinazione di 3-MCPD, 2-MCPD e glicidolo in oli e grassi vegetali in accordo con le metodiche ufficiali AOCS Cd 29a-13, AOCS Cd 29b-13, AOCS Cd 29c-13 [ISO 18363-1, DGF C-VI 18 (10)]

Glicidolo, 2-MCPD, 3-MCPD e relativi esteri e diesteri sono contaminanti di processo ben noti in ambito oleario, la cui presenza è dovuta prevalentemente a processi di raffinazione, con particolare riferimento alla fase di deodorizzazione. Vista la potenziale tossicità delle molecole in questione¹ sono stati determinati valori di TDI che ne hanno consentito l'inserimento in un apposito quadro normativo². I metodi ufficiali comunemente utilizzati prevedono una determinazione indiretta basata su saponificazione e successiva derivatizzazione delle specie libere. La AOCS prevede diverse metodologie di saponificazione e conversione dei glicidil esteri; in Tabella 1 sono riportate le caratteristiche principali dei tre metodi proposti.

1- 3-MCPD e glicidolo sono classificati rispettivamente come IARC 2B (possibly carcinogen to humans), e IARC 2A (probably carcinogen to humans).

2- Regolamento(CE) N. 1881/2006 della Commissione del 19 dicembre 2006 e successive modifiche

Il sistema proposto nella presente application note è in grado di automatizzare integralmente l'intera procedura preparativa prevista dalle versioni "a" e "c".

È inoltre implementabile la versione "b" con l'esclusione della fase di termostatazione a -25°C.

Automazione del metodo

Molte sono le criticità relative alle diverse sample-prep, in particolare per quanto riguarda l'evaporazione a secchezza e l'efficienza di miscelazione con solvente. Entrambe sono rese possibili e condotte con la massima efficacia da dispositivi dedicati montati sul preparatore.

quickMIX - La frequenza di oscillazione selezionabile via software fino ad un massimo di 4 KHz assicura un completo e intimo contatto tra le fasi, con conseguente massimizzazione dell'efficienza estrattiva.

mVAP - In tutte e tre le versioni è prescritta una fase di evaporazione a secchezza post-derivatizzazione dell'estratto finale. Lo scopo è duplice:

- ridissolvere l'estratto con un solvente in cui l'agente derivatizzante, per sua natura aggressivo, sia poco solubile; in tal modo se ne limita l'introduzione in colonna minimizzandone il deterioramento;
- diminuire il volume finale incrementando la sensibilità analitica.

L'evaporatore è dotato di opportuno modulo di ricondensazione del solvente; il livello di vuoto applicato e la temperatura di evaporazione sono gestiti via software.



Gerstel quickMIX per MPS Robotic^{pro}



Gerstel mVAP per MPS Robotic^{pro}

Versione AOCS Cd 29..._13	Tipo di saponificazione	Saggi previsti per campione	Condizioni di saponificazione	Determinazione del glicidolo
a	acida	1	16 hr @ 40°C	diretta, previa conversione in 3-MBPD
b	basica	2	16 hr @ -25°C	diretta, previa conversione in 3-MBPD e correzione isotopica addizionale
c	basica	2	~ 5 min @ room temp	per differenza, previa conversione in 3-MCPD

Tabella 1

Ottimizzazione delle tempistiche

Stante la lunghezza e la complessità della preparativa, è indispensabile poter implementare in automatico un overlapping delle tempistiche. Una delle caratteristiche del software di gestione Maestro, integrato all'interno di tutte le piattaforme Agilent Technologies, è quella di calcolare in autonomia il tempo necessario ad ogni singola fase e massimizzare in automatico la velocità del processo. In Figura 1 è visualizzato il tempo di analisi per 6 campioni secondo il metodo c (due saggi ciascuno), ottimizzato in automatico in poco più di 6 ore.

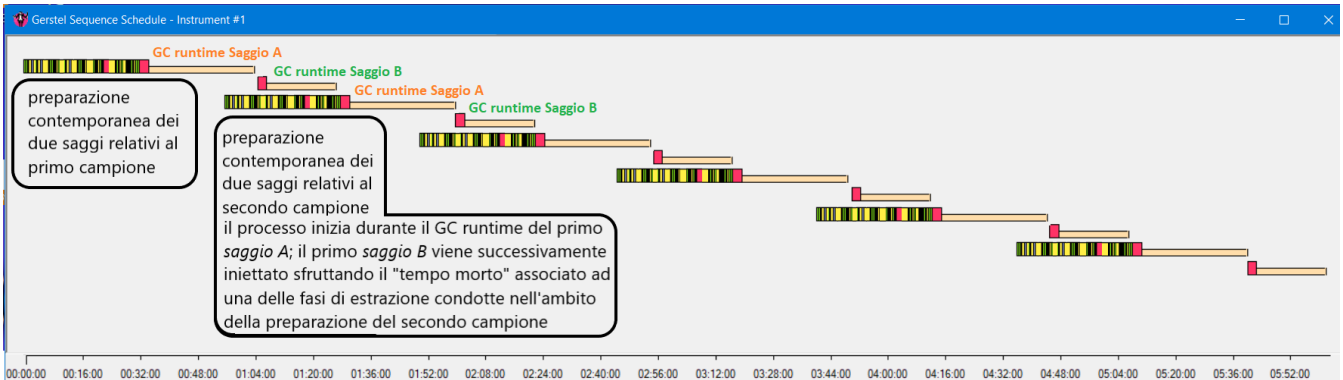


Figura 1

L'ottimizzazione automatica fa sì che, nel momento in cui si voglia operare secondo i metodi "a" o "b", la forte limitazione dovuta all'attesa di 16 ore di incubazione venga controbilanciata dalla possibilità di condurre in "overlapping" qualunque altra operazione. A titolo di esempio, è possibile processare diversi campioni con tutte tre le metodiche, in maniera da poterne confrontare le performance.

In figura 2 è schematizzata la gestione di un batch di 6 campioni; il tempo di analisi complessivo, comprendente 30 preparative ed altrettante iniezioni, è inferiore alle 32 ore.

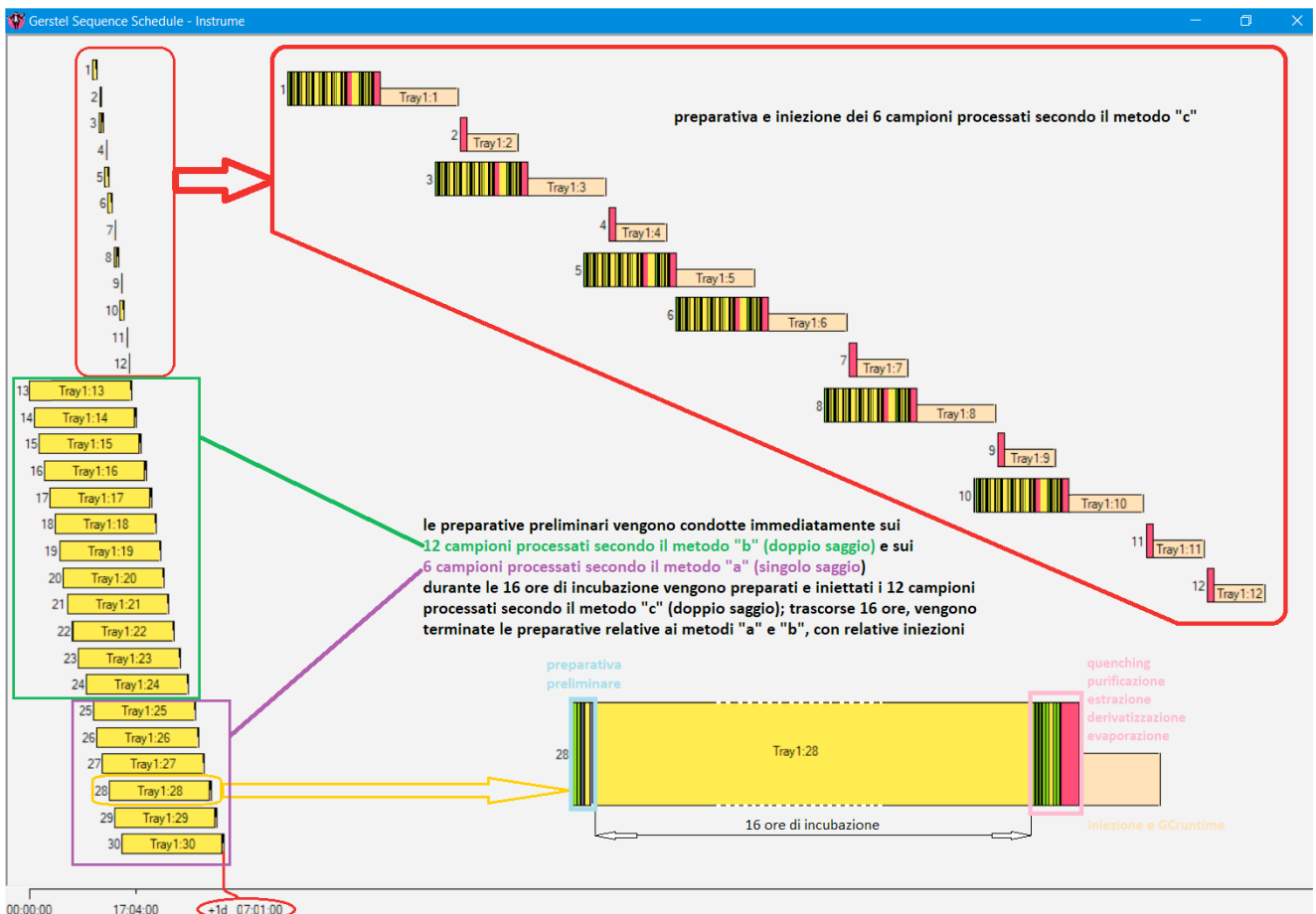


Figura 2

Performance analitiche

Poiché la piattaforma proposta ricalca esattamente quanto previsto dai tre metodi, le performance analitiche sono da considerarsi, in termini generali di ripetibilità, precisione e accuratezza, del tutto analoghe a quelle riportate nei metodi stessi. Tuttavia, l'utilizzo di un sistema automatizzato consente di ridurre al minimo l'occorrenza di errori casuali. In tabella 2 sono riportati i risultati relativi ad un campione di olio EVO

verificato esente da contaminazione (3-MCPD&2-MCPD&Gly < 0.05 ppm), fortificato con i tre analiti in oggetto e processato in 6 replicati con tutte e tre le metodiche, in accordo con quanto descritto nella sezione precedente.

Tutti i valori di concentrazione sono espressi in ppm, le analisi sono state condotte su piattaforma Agilent Technologies GC 7890B - MSD 5977B.

Metodo utilizzato	analita	test 1	test 2	test 3	test 4	test 5	test 6	media (ppm)	CVr%	BIAS%
AOCS Cd 29a_13	3-MCPD	1.14	0.98	1.11	1.02	1.15	1.22	1.10	8.04%	16.1%
	2-MCPD	1.11	1.19	1.04	1.11	1.09	1.18	1.12	5.05%	17.9%
	GLY	1.23	1.21	1.05	1.30	0.98	1.14	1.15	10.4%	9.68%
AOCS Cd 29b_13	3-MCPD	0.99	1.31	1.05	1.01	0.93	1.05	1.06	12.5%	11.2%
	2-MCPD	1.09	1.11	1.06	0.92	0.96	1.14	1.05	8.37%	10.2%
	GLY	0.98	1.00	1.00	0.79	0.85	0.90	0.92	9.55%	12.4%
AOCS Cd 29c_13	3-MCPD	0.82	0.95	1.11	1.19	1.08	1.02	1.03	12.7%	8.25%
	2-MCPD	1.00	0.99	1.09	0.94	0.83	0.99	0.97	8.78%	2.46%
	GLY	0.86	0.80	0.89	1.00	0.78	0.96	0.88	9.85%	16.0%
Valori attesi		3-MCPD: 0,95		2-MCPD: 0,95		Gly: 1,05				

Tabella 2

Linearità e Ripetibilità

Una verifica ulteriore, relativamente all'affidabilità del dato nel range operativo di interesse compreso tra 0,1 e 2,0 ppm, è visualizzato in figura 3, in cui sono evidenziati i risultati di una serie di determinazioni su campioni di olio EVO opportunamente fortificati.

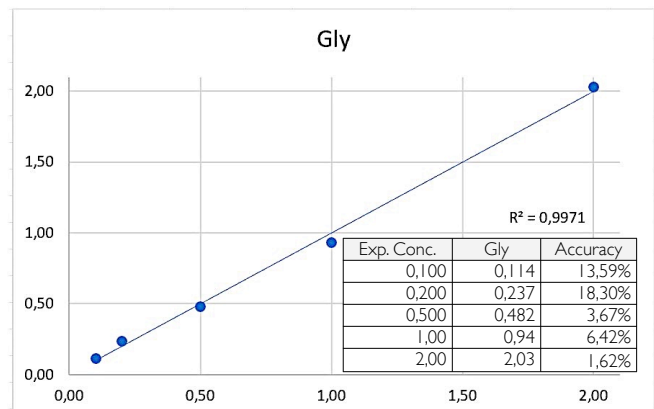
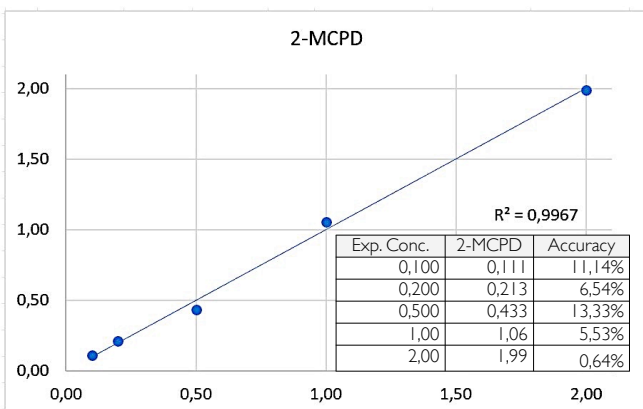
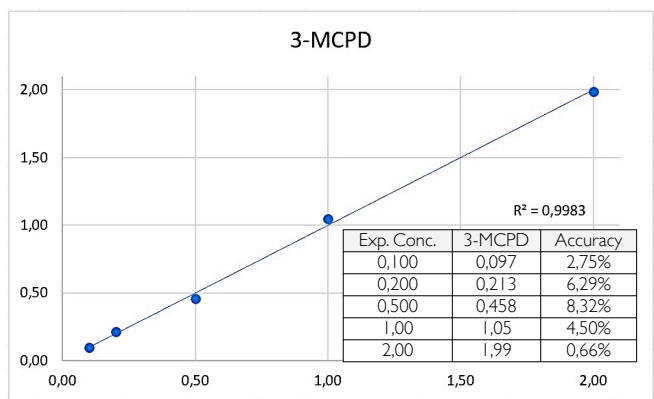


Figura 3

Anche la linearità della risposta sul range considerato, con riferimento al metodo "c", risulta essere ottimale; in figura 4 sono visualizzate le curve di calibrazione ottenute su matrice olio EVO fortificato con 3-MCPD, considerando separatamente i 2 saggi previsti dal metodo "c".

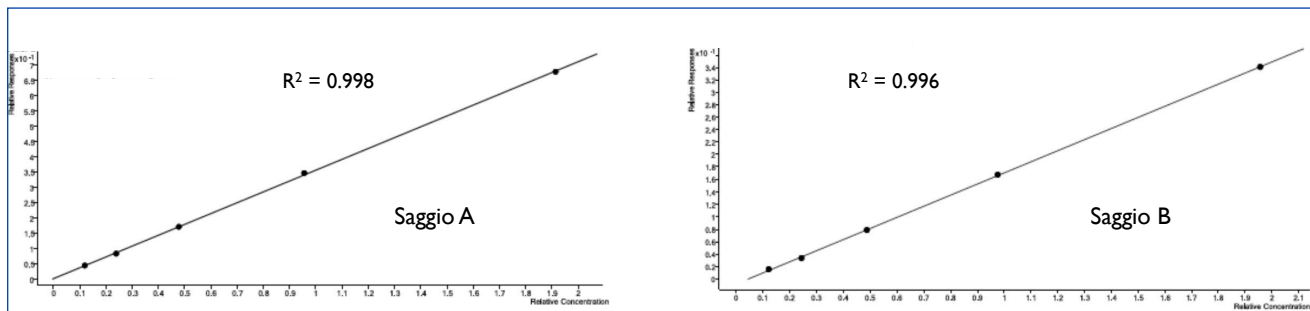


Figura 4

Versatilità

La configurazione strumentale in oggetto prevede numerosi dispositivi necessari a condurre le preparative descritte; tali dispositivi consentono di rispondere ad una vasta gamma di esigenze specifiche relative ad altre metodiche preparative.

Un ulteriore vantaggio è costituito dalla totale compatibilità con l'intero parco-soluzioni Gerstel: sistemi quali SPE, SPME, filtrazione, centrifugazione, nonché tutte le tecniche relative al termodesorbimento, sono immediatamente implementabili. Un esempio specifico è la possibilità di quantificare, senza necessità di alcuna modifica hardware, gli idrocarburi policiclici aromatici secondo il Regolamento (CE) N. 1881/2006 e successive modifiche. La quantificazione al livello di sensibilità richiesta, con speciazione dei tre benzofluoranteni (b,j,k), è stata ottimizzata su cartucce SPE dedicate. In figura 5 sono riportate le evidenze analitiche relative ad una curva di calibrazione operante nel range 0,5 - 10 ppb.

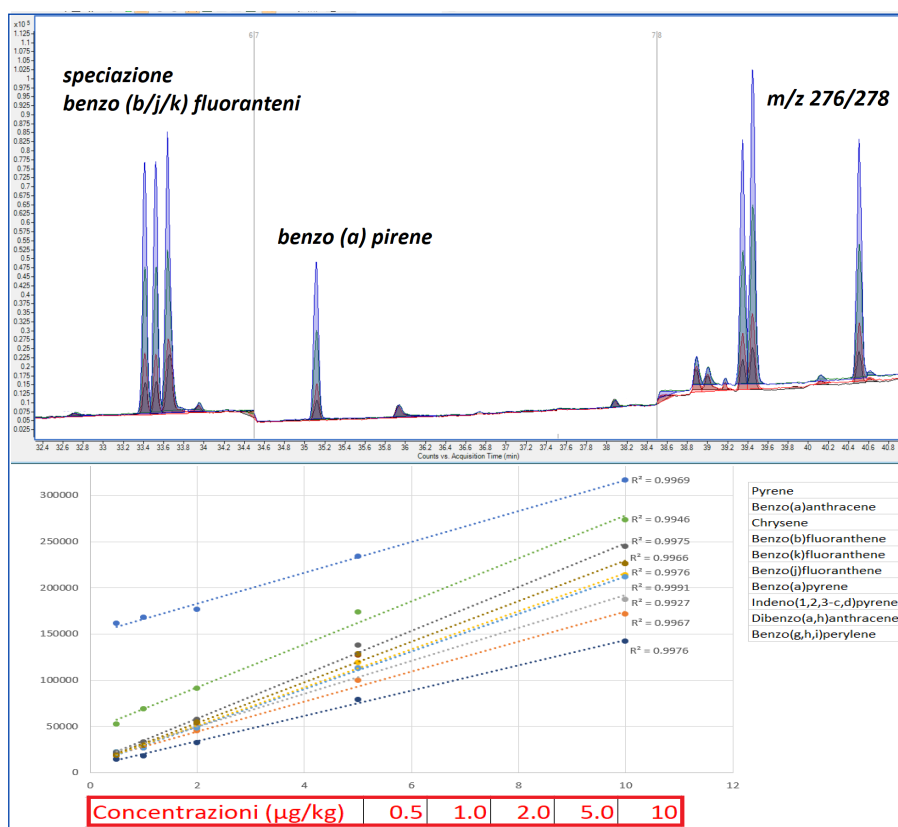


Figura 5

Conclusioni

La piattaforma proposta è in grado di soddisfare tutti i requisiti previsti dalle tre diverse sample-prep, con la sola eccezione delle fasi che prevedono il trattamento a -25°C per la versione "b".

La possibilità di installare il preparatore sul gascromatografo consente, inoltre, di effettuare l'iniezione dell'estratto finale immediatamente al termine della preparativa, il che permette di massimizzare la produttività sfruttando l'overlapping automatico delle tempistiche.

La dotazione e l'espandibilità del sistema garantiscono una estrema versatilità di utilizzo, con conseguente implementazione di ulteriori metodiche specifiche.