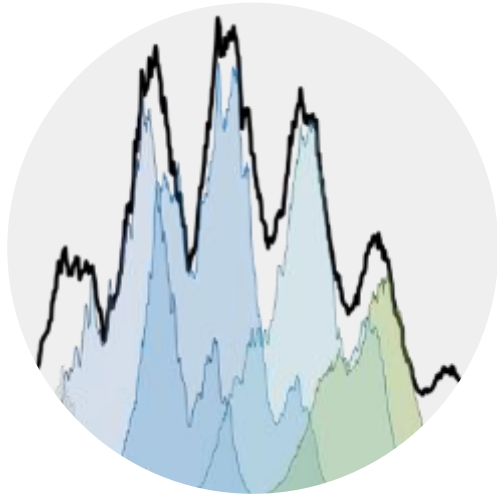


Análisis de parafinas cloradas en alimentos

Kerstin Krätschmer

Wageningen Food Safety Research



Presentación de la ponente

Dra. rer. nat. Kerstin Krätschmer

- Química alimentaria certificada por el Estado, PhD
- Doctorado 2017–2021 en EURL POPs, Friburgo, Alemania – CPs
- Jefa del NRL POPs (Países Bajos) desde 2021 – CPs, (e)BFRs, dioxinas/PCBs, PFAS
- Presidenta del EURL CWG CPs



¡Conéctate en LinkedIn!

Wageningen Food Safety Research

Laboratorio oficial de control para NL

Laboratorio Nacional de Referencia

Todos los compuestos (bio)químicos y virus

Laboratorio de Referencia de la UE

- Promotores del crecimiento
- Micotoxinas y toxinas vegetales

Instituto de Investigación

2 profesores, 15–20 estudiantes de doctorado
Financiación significativa de la UE y NWO

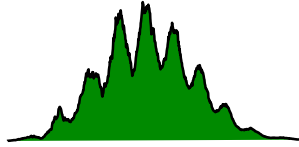
Capacitación y fortalecimiento de capacidades

> 50 países

Servicio **24/7** para incidentes en alimentos/ piensos, medio ambiente y ataques terroristas

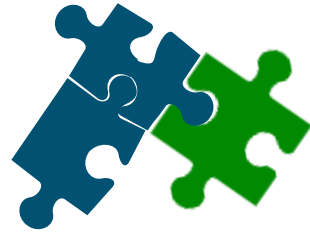


Agenda



Introducción

¿Por qué deberíamos analizar las CPs en los alimentos?



Hallazgos en alimentos

Matrices objetivo relevantes



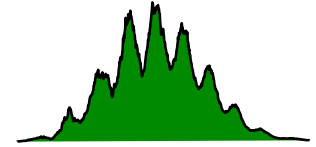
Desafíos

...y consejos para afrontarlos



Un enfoque común

Análisis simplificado de CP para el control alimentario de la UE



Introducción

Parafinas cloradas (CPs) – el nuevo contaminante de preocupación en los alimentos?

¿Por qué monitorear las CPs en alimentos?



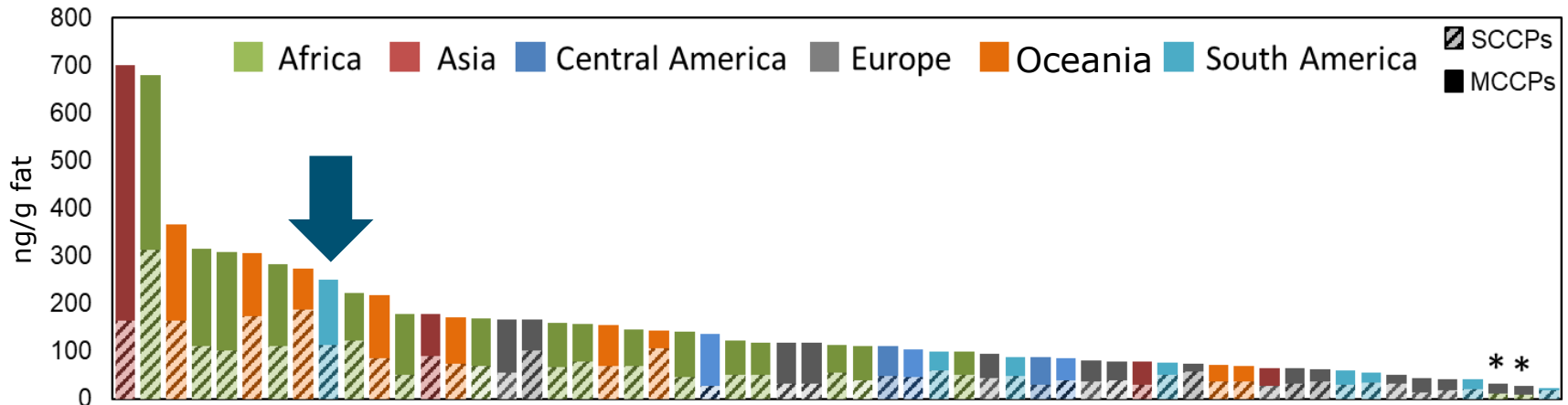
¿Por qué monitorear las CPs en alimentos?

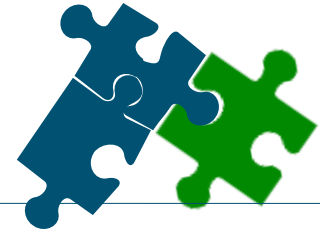
- ¡Ruta principal de exposición humana!
- Según el punto de muestreo, brinda información sobre la contaminación ambiental o los procesos de producción de alimentos



¿Por qué monitorear las CPs en alimentos?

- **Leche materna:** forma sencilla de mostrar la exposición acumulada a CPs
- Estudio PNUMA 2016–2019: una muestra compuesta representativa por país
- Niveles más altos en Asia, África y Oceanía
- Perú entre los 10 primeros países

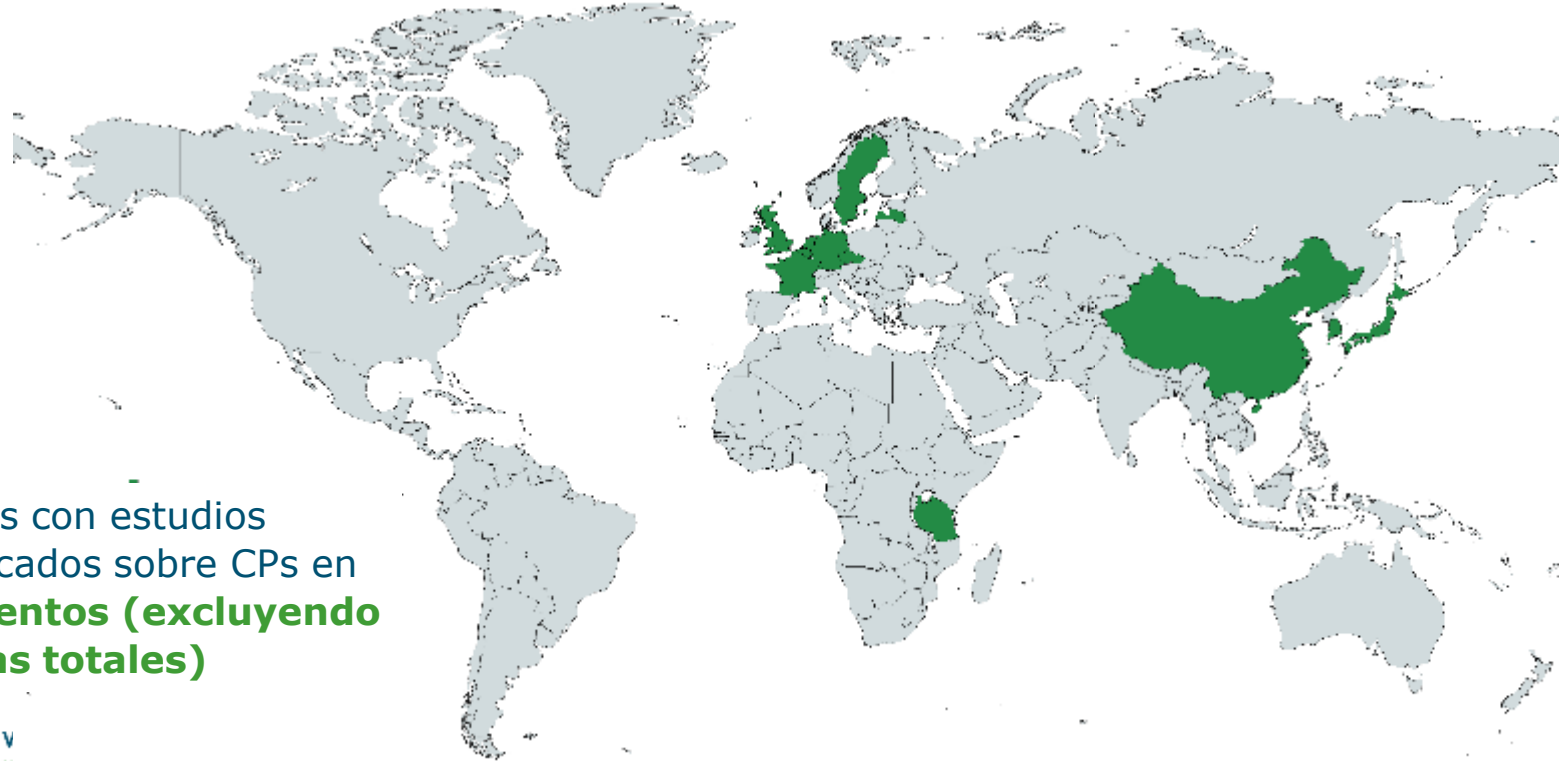




Hallazgos en alimentos

Lo que sabemos – y lo que aún no sabemos

Datos de alimentos de todo el mundo – ¡aún hay muchos vacíos!

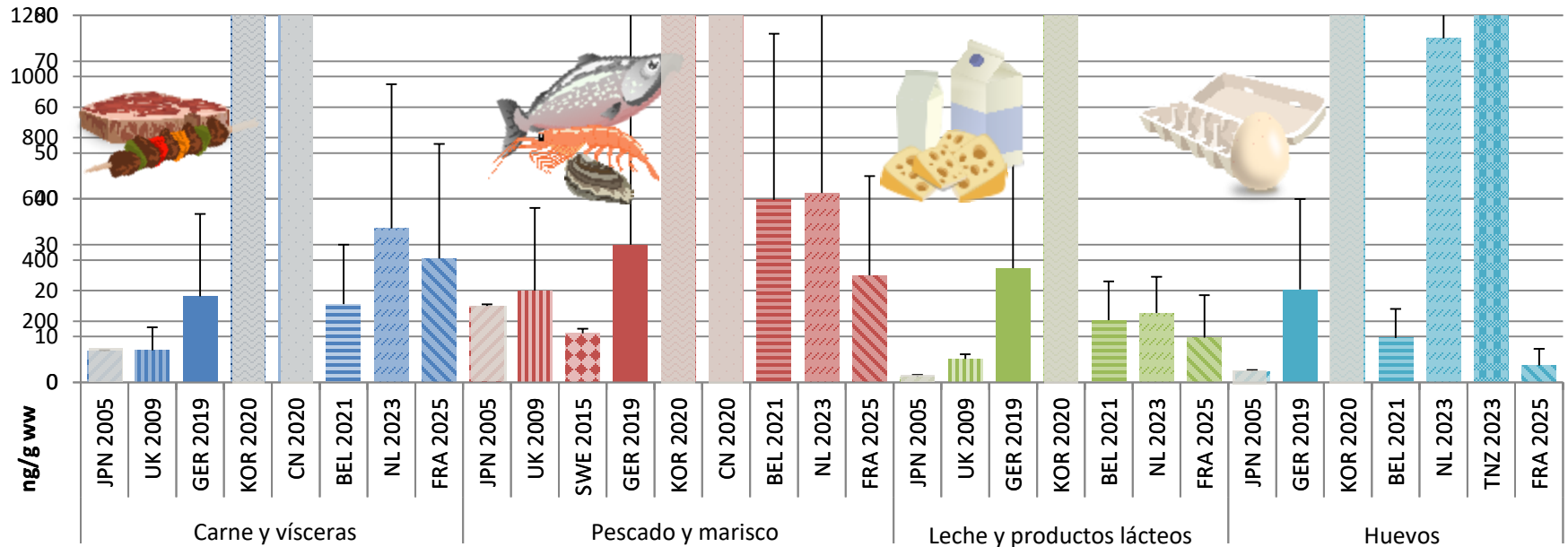


Países con estudios
publicados sobre CPs en
**alimentos (excluyendo
dietas totales)**



Hallazgos promedio en alimentos de origen animal

- Suma de SCCPs + MCCPs (en peso húmedo)
- Dominan China y Corea; Tanzania (cerca de vertedero)



¿Huevos como indicadores de puntos críticos locales?

- M- y LCCPs permanecen más tiempo en los huevos
- Se ha comprobado su ingestión a través del pienso
- **Agbogbloshie** (Ghana): gallinas cerca de basureros producen huevos más contaminados que en la ciudad cercana
- **Dar-es-Salaam** (Tanzania): poca diferencia entre sitios activos e históricos



Haarr et al. (2023), *Chemosphere* 329, 138646.

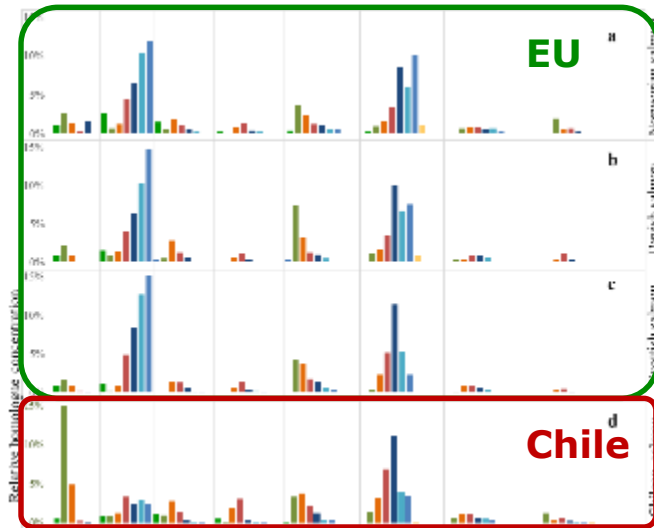
Mézière et al. (2021), *Food Chem.* 343, 128491.

Petrlik et al. (2019), *POPs in eggs: Report from Africa.*

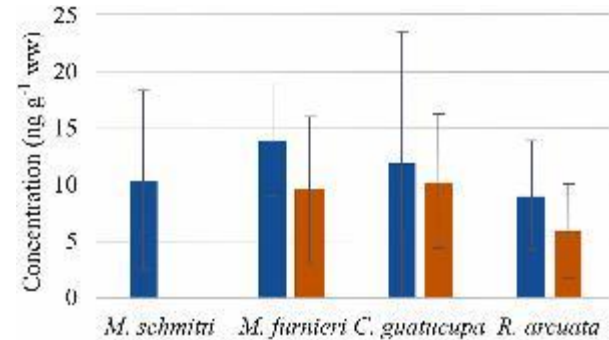
https://www.ipen.org/sites/default/files/documents/a4_eggs_afrika_2019_april_web-2.pdf 12

¿No hay nada disponible para Sudamérica?

- **Salmón chileno de cría comprado en la UE**



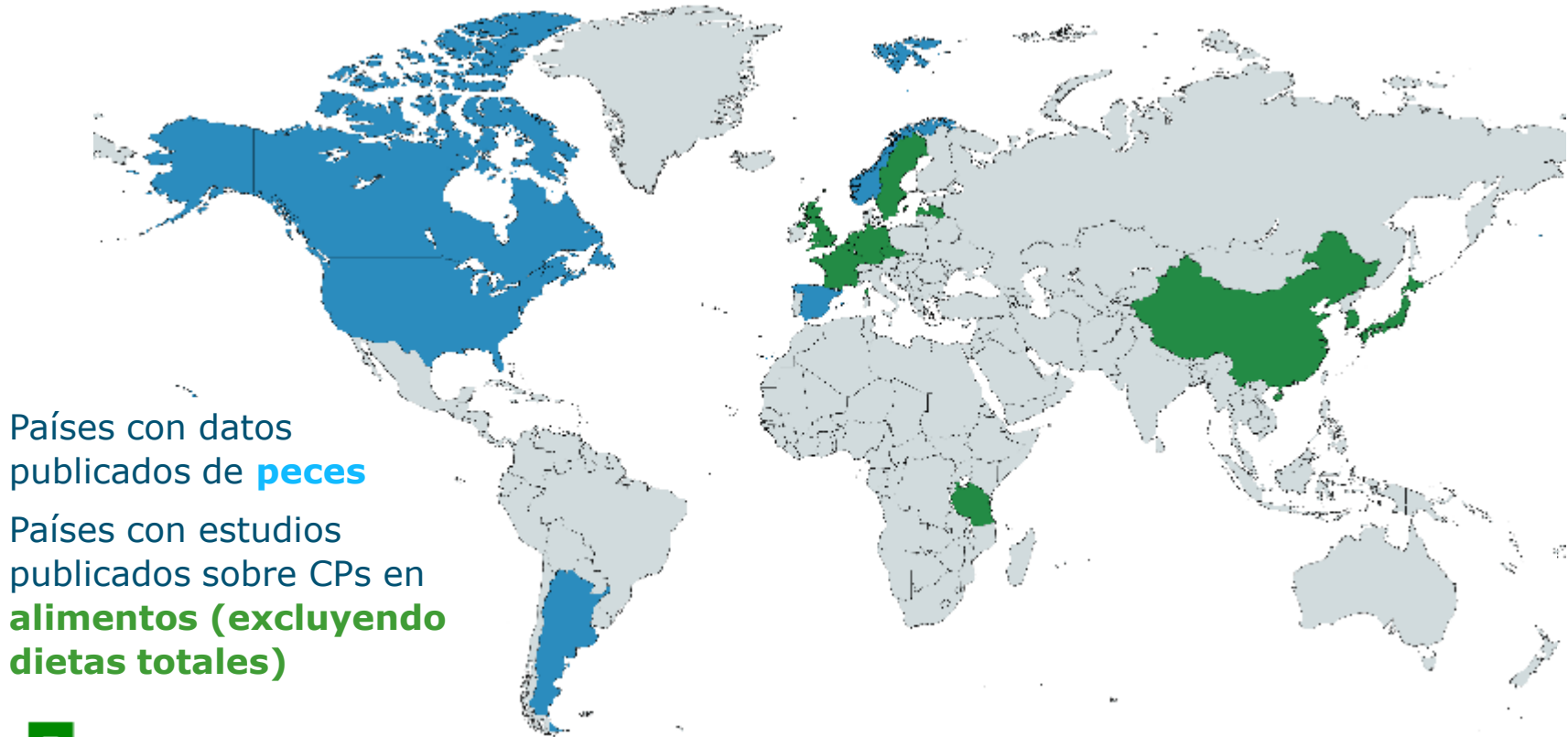
- **Peces del estuario argentino (Bahía Blanca)**



- **Otros datos en polvo y productos de consumo no alimentarios**

Krätschmer et al.(2019), Chemosphere 227, 630-637.
Girones et al. (2023), Chemosphere 328, 138575.

Peces: matriz ambiental y alimentaria



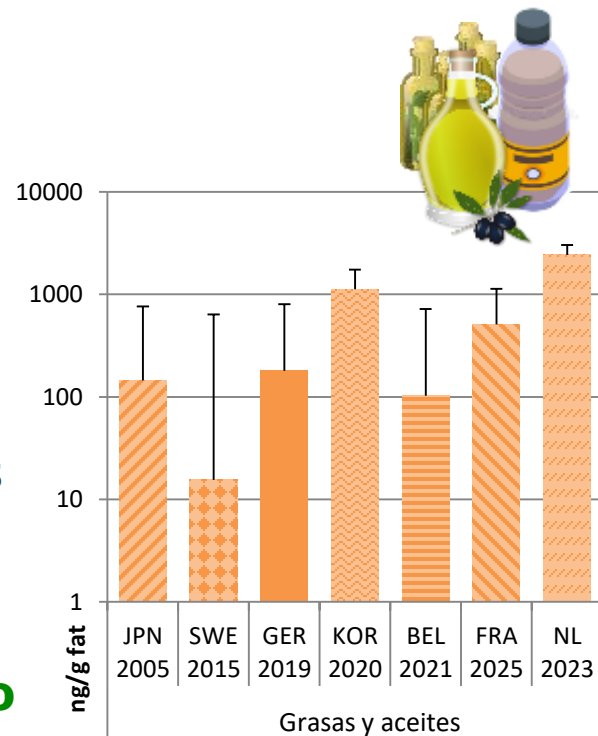
Países con datos
publicados de **peces**

Países con estudios
publicados sobre CPs en
**alimentos (excluyendo
dietas totales)**



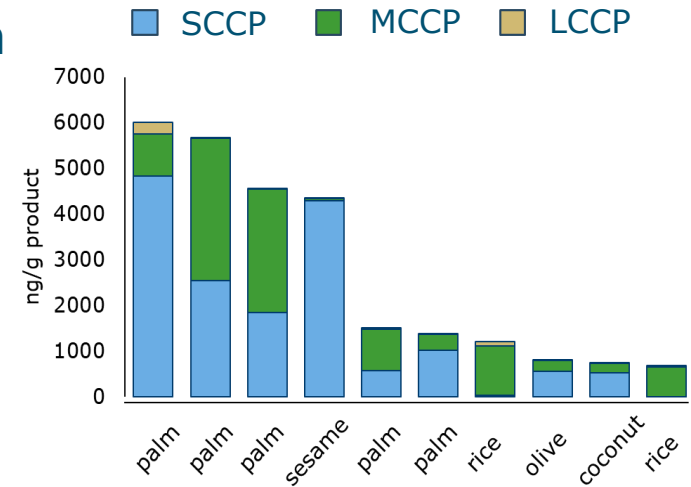
Matrices objetivo relevantes: grasas y aceites

- Mucho más altos que en otros grupos de alimentos
- Amplio rango de concentraciones: aceites crudos >>> vírgenes >> refinados
- En el mercado único europeo, los resultados de productos similares son comparables entre estudios
- **Mayores niveles en aceite de palma rojo**



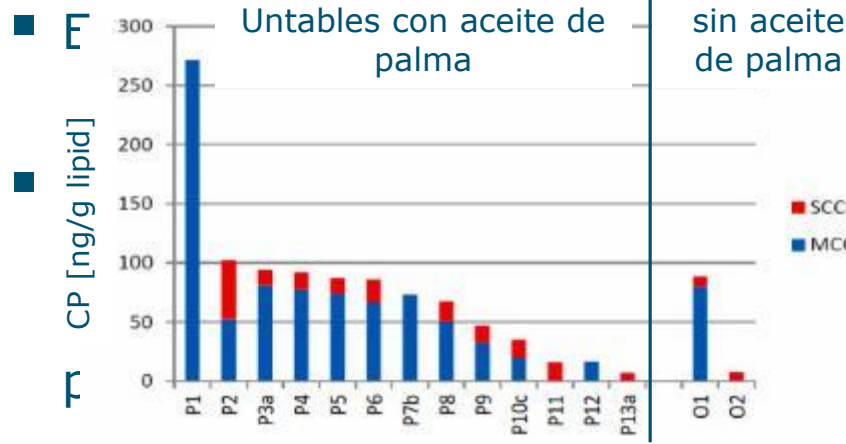
¿Aceite de palma, un nuevo problema de CPs?

- No hay estudios publicados sobre CPs en aceites de palma
- Patrón / distribución de grupos inusuales: **aún muchos SCCPs**
- Ordenadas por contenido de SCCP, 7 de las 10 muestras principales (por Países Bajos) son aceite de palma
- Top 3 de Ghana; pero también hay orígenes en Ecuador y Malasia



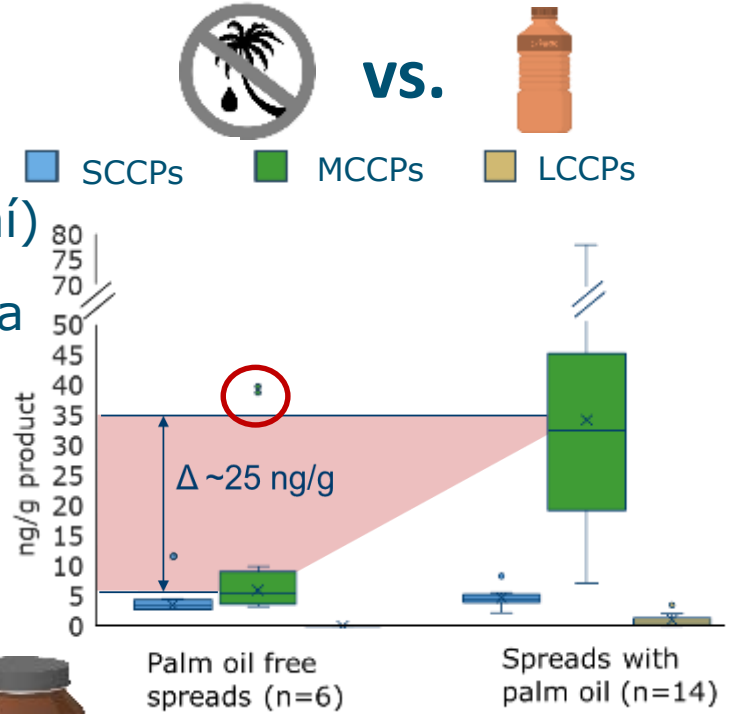
Krätschmer et al. 2023, datos no publicados

Proceso: efecto por goteo — sigue el aceite de palma...



- Hallazgos similares en crema de chocolate de Alemania

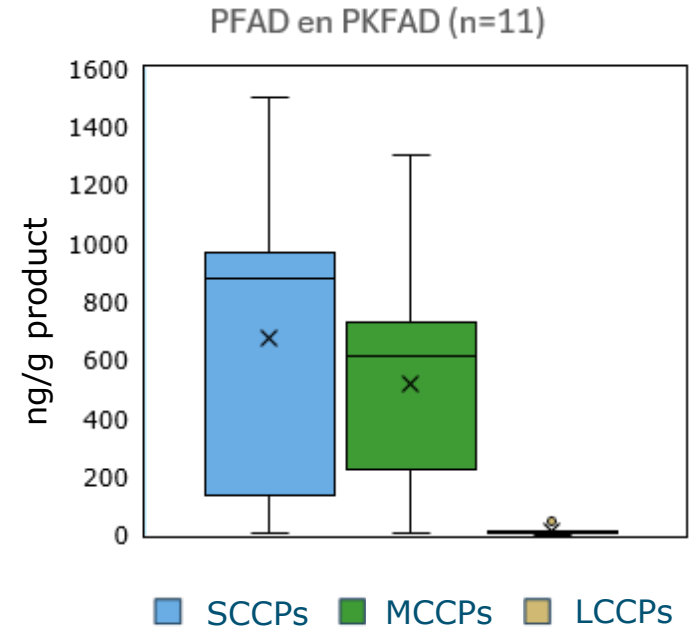
0,
maní)
palma
nás
de



Krätschmer et al. 2023, datos no publicados
Sprengel et al (2023), *Food Cont.* 145, 109385

...no solo en productos alimentarios!

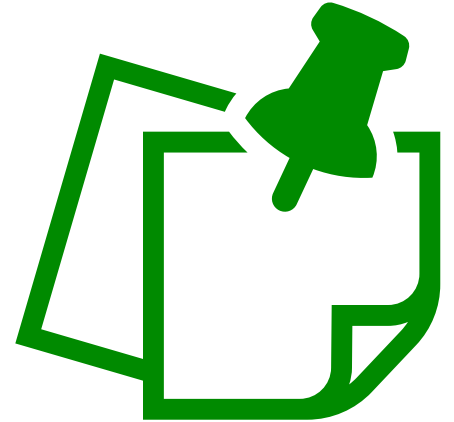
- Encuesta de 8 PKFADs y 3 PFADs (2024)
- Hallazgos de CPs 15–2800 ng/g por producto
- No hay material crudo/refinado emparejado disponible: **balance de masa poco claro**
- Fuente de CPs en piensos; podrían terminar en alimentos de origen animal

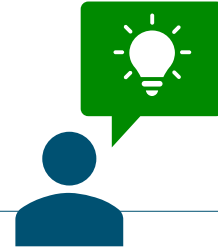


Krätschmer et al. 2024, datos no publicados

Matrices relevantes – mensajes clave

- Los **huevos** pueden indicar puntos críticos locales
 - Si las gallinas son de libre pastoreo; también monitorear de propietarios privados / granjas pequeñas
- El **pescado** es una matriz ambiental y alimentaria
 - Aporta información ambiental (captura silvestre)
 - Puede indicar alimento contaminado (acuicultura)
- Las **grasas y aceites** están entre los alimentos más contaminados
 - ¡Revisar especialmente la producción de aceite de palma!
 - Se usan con frecuencia para elaborar otros alimentos





Desafíos analíticos

Algunos puntos de atención y posibles soluciones

Parte 1: Manejo de blancos



Una mirada dentro de un laboratorio de CPs



- Vidriería calentada y sellada



- Abrazaderas de corcho cubiertas



- Almacenamiento de viales y pipetas de vidrio libre de plástico y polvo
- Almacenamiento de muestras en botellas de vidrio

Una mirada dentro de un laboratorio de CPs



¿Sin
almacenamiento
sellado de
materiales?



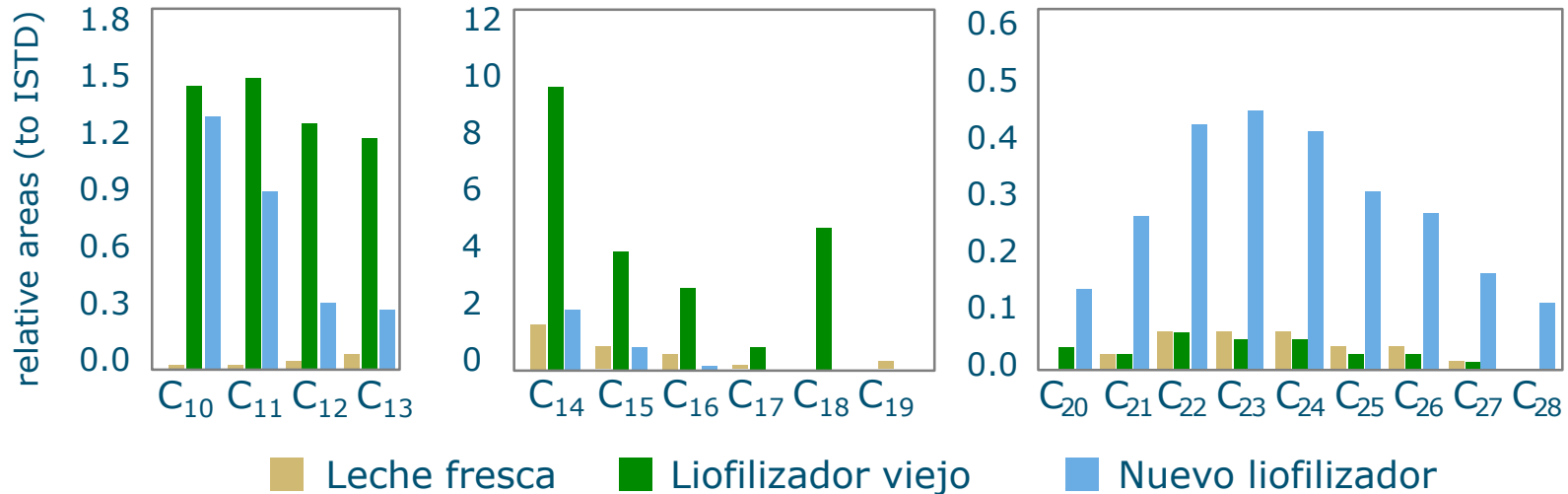
- Campana de flujo laminar con inserto para columnas



- Vidriería almacenada abiertamente (lab BS-II)

¡Tenga cuidado con el liofilizador!

- El patrón de contaminación puede cambiar, pero todos los liofilizadores contribuyen al blanco



Licadoras (manuales), molinos de muestra

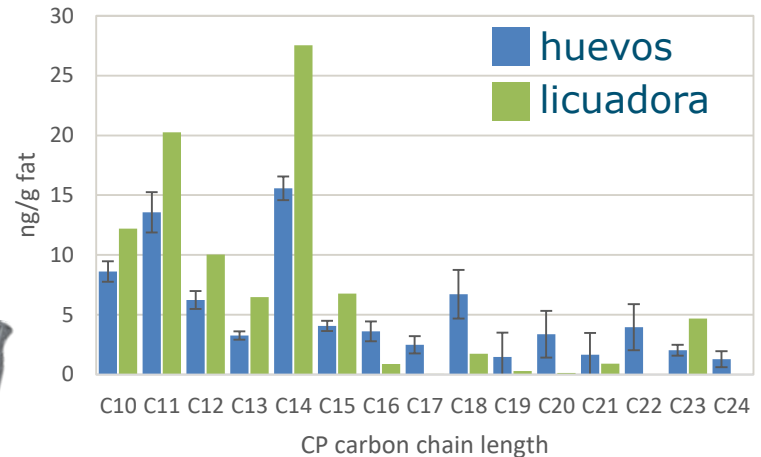
- Monitoreo de huevos 2024 (n=20)
- Resultados SCCP + MCCP muy similares
- Investigación: se encontró el mismo patrón en la licuadora utilizada para la homogeneización inicial de la muestra

Contaminación (“bleeding”) de CPs por licuadoras manuales también reportada en la literatura



ng/g grasa			
SCCP	MCCP	LCCP	vLCCP
32±6.5	26±5.2	13±14	7.3±5.8

Patrón de concentración des CPs



Krätschmer et al. (2024), datos no publicados.

Yuan, Strid et al. (2017), *Environ. Int.* 109:73-80. 26

Precauciones generales

Enjuagar previamente la vidriería con n-heptano

Cubrir todas las partes abiertas de la vidriería

Hornear Na_2SO_4 /sílica/Florisil (24 h – 600 °C)

Calentar pipetas Pasteur/viales (6h – 400°C)

Extraer el filtro y la lana de vidrio con DCM (3×8h)

Enjuagar previamente el rotavapor con DCM



Manejo de blancos – mensajes clave

- ¡Mantén tu espacio de trabajo limpio!
- Enjuaga, hornea y almacena por separado lo que utilices
 - Usa n-hexano o n-heptano para enjuagar
- Usa vidrio o metal y trabaja manualmente cuando sea posible, p. ej.:
 - Jeringas de vidrio en lugar de micropipetas
 - Pipetas Pasteur de vidrio en lugar de puntas plásticas
- Revisa todos los equipos en busca de blancos; máquinas antiguas pueden estar menos contaminadas (“lavado” por uso repetido)



Parte 2: Elección del método



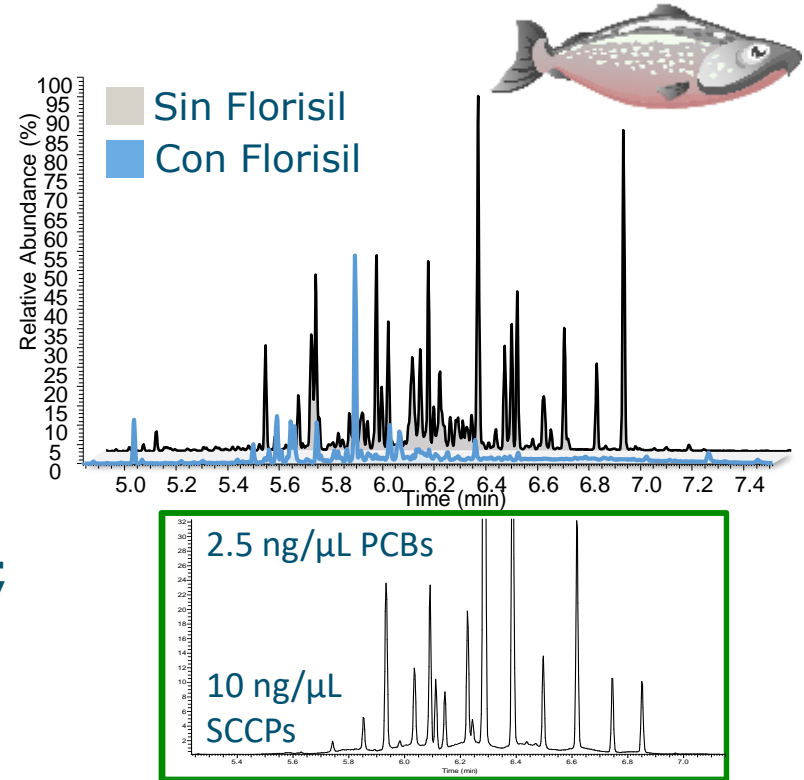
Enfoque apto para el propósito

- ¿Qué matrices te interesan?
- ¿Qué tipo de resultado deseas obtener (cribado de parámetro suma/ cuantificación por grupos / caracterización)?
- ¿Qué otros métodos e instrumentos (POPs) ya están disponibles en tu laboratorio?

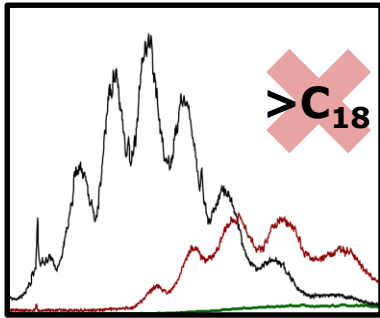
Encuentra qué método, instrumento y enfoque tienen más sentido para tu situación específica!

¿Cuánta limpieza se necesita?

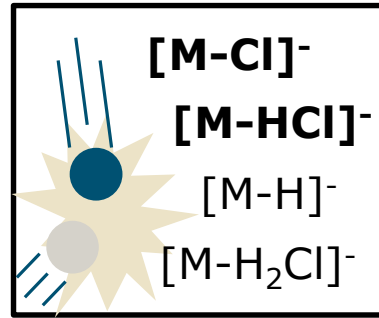
- Muestras en el límite alimento/medio ambiente contienen una gran variedad de POPs co-eluentes
- Los alimentos procesados como aceites comestibles son más limpios
- Métodos MS/MS y LRMS requieren muestras muy limpias (¡usa Florisil!); HRMS puede manejar algo de co-elución



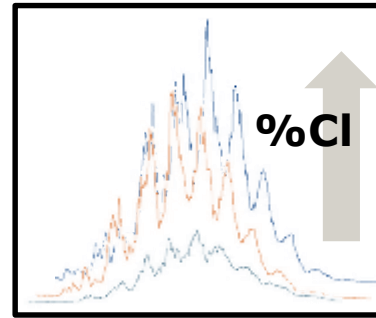
Limitaciones de los métodos: GC-NCI-MS



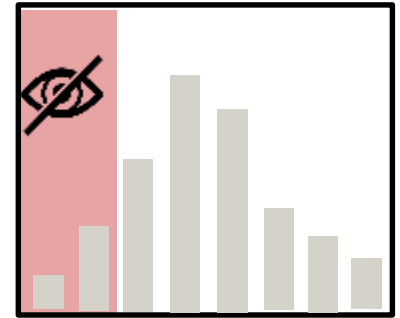
LCCPs no pueden analizarse mediante GC-MS



Se pueden formar muchos iones diferentes durante la ionización

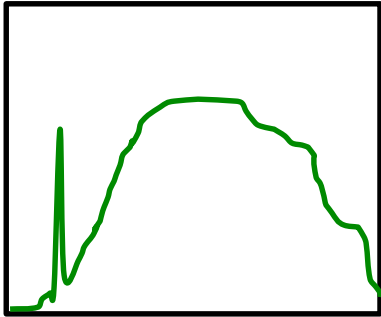


Las respuestas dependen del grado total de cloración

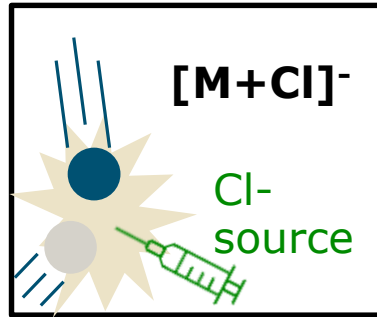


NCI no detecta compuestos con baja cloración ($n_{Cl} \leq 5$)

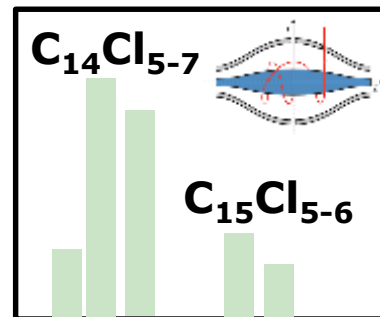
Limitaciones de los métodos: LC-ESI-MS



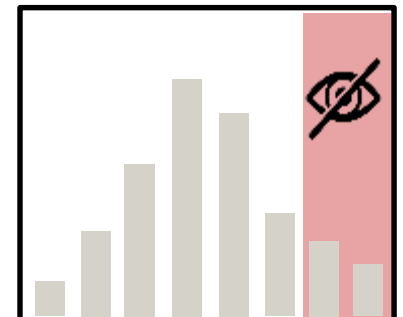
Menor separación que los sistemas GC (no hay “características” en el hump)



Requiere dopante de cloro para una ionización más focalizada



¡Los LC-Orbitrap (Exploris, QExactive) contienen CPs en la parte del MS!

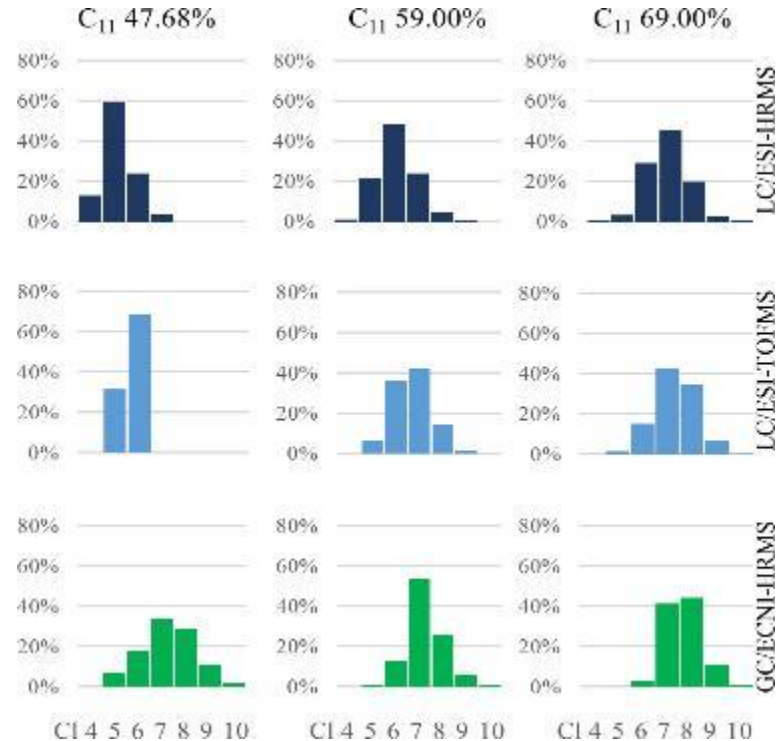


ESI es menos sensible hacia compuestos con alta cloración ($n_{Cl} \geq 10$)

Diferencias en la ionización: NCI vs ESI, GC vs LC

- Los resultados detallados o patrones de grupos homólogos pueden diferir mucho
- Incluso instrumentos con la misma ionización y cromatografía pueden diferir entre sí

Parámetros suma suelen ser más comparables; la corrección ocurre durante la cuantificación



Elección del método – mensajes clave

- Todos los instrumentos tienen limitaciones
- La mayoría de las diferencias grandes en la respuesta se compensan durante la cuantificación, dando concentraciones comparables
- **Límite estricto:** GC no puede volatilizar moléculas grandes (PCAs de cadena más larga)
- LRMS y MS/MS requieren muestras más limpias porque no separan interferentes tan bien





Un enfoque común

El método de cribado semicuantitativo para el monitoreo de alimentos en la UE

¿CPs en el control oficial de alimentos?

- 2020: La Opinión Científica de EFSA no concluyó sobre un riesgo definitivo para los consumidores debido a **la falta de datos**
- Llamado a más datos y estudios toxicológicos
- A partir de 2026: **Recomendación de Monitoreo de la UE** en alimentos para aumentar el conjunto de datos



Se necesita un método sencillo para los laboratorios oficiales de control

La idea detrás del método

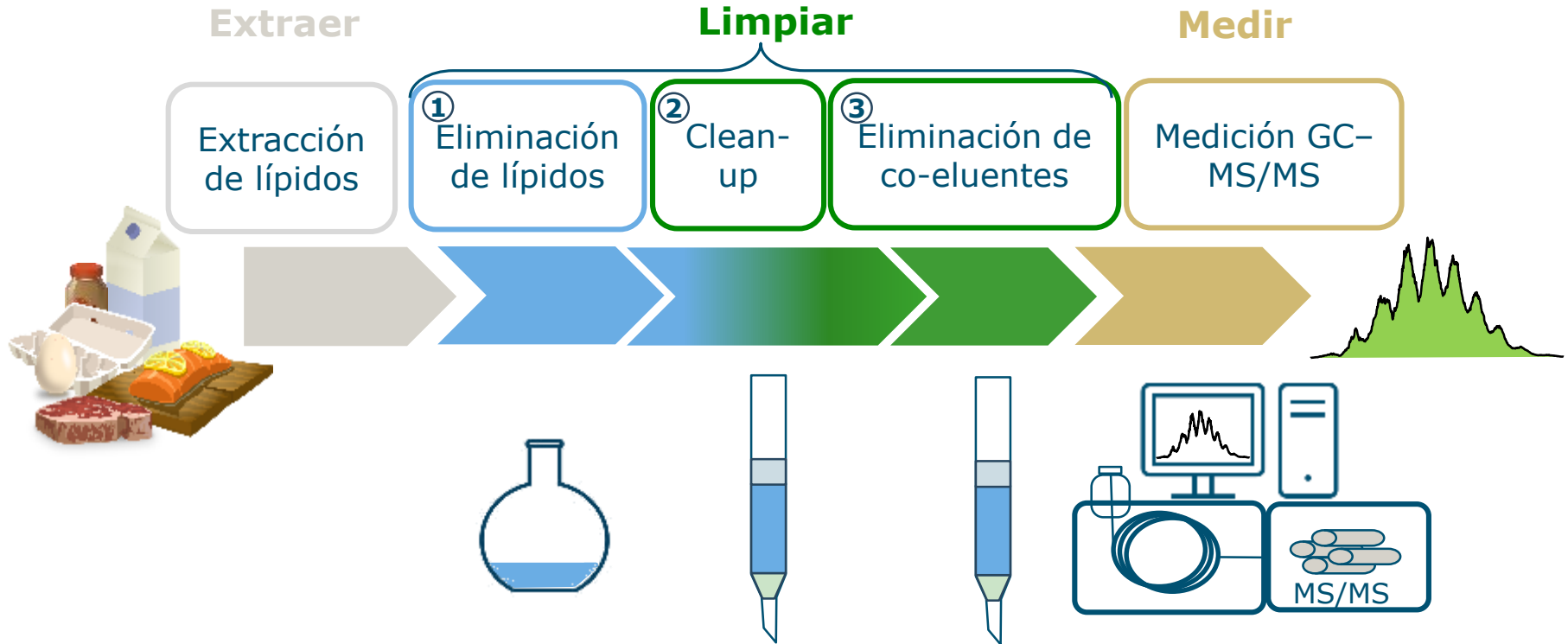
Problema:

- Pocos datos: análisis complejo, poco presupuesto y sin HRMS
- Solo 4 laboratorios expertos en la red oficial de alimentos de la UE
- Pocos laboratorios comerciales desarrollan métodos

Solución:

- Separación difícil: pedir solo un parámetro suma
- Instrumentos caros: el método funciona en GC MS/MS o sin MS
- Recomendación de la UE como incentivo para implementarlo

Principio del método



Documento guía del EURL POPs



- Disponible en línea, última actualización 2021
- Descripción de protocolos básicos, opciones de preparación de muestras, medición y (semi)cuantificación
- Actualización en curso para reflejar nueva nomenclatura e incluir el método recomendado de monitoreo

Importante: Las recomendaciones cubrirán varios métodos/instrumentos, utilizando un enfoque basado en parámetros para asegurar comparabilidad

 **EURL** POPs
Guidance Document
CP Analysis

Ejemplo: opciones para seguir la guía

Extraer

■ Extracción en frío con n-hexano/DCM



1. Secar muestra con NaSO_4
2. Agitar con n-hexano/DCM, decantar a través de papel filtro con un poco más de NaSO_4
3. Repetir dos veces más

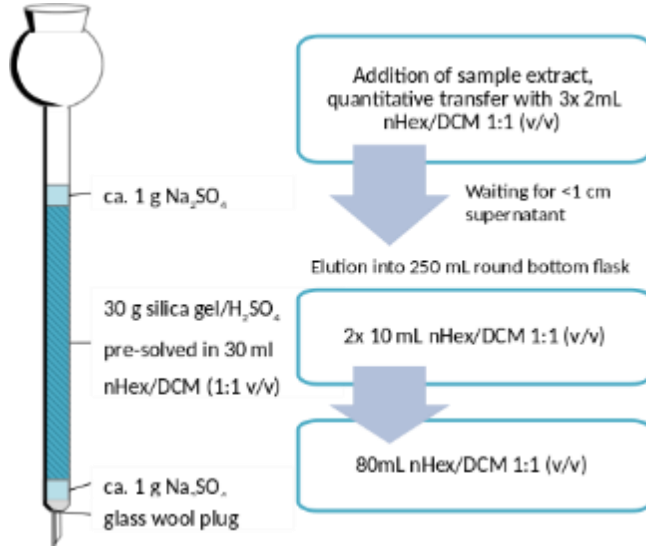
■ Alternativa: extracción con líquido presurizado / ASE

¡Revisa los niveles de blanco!

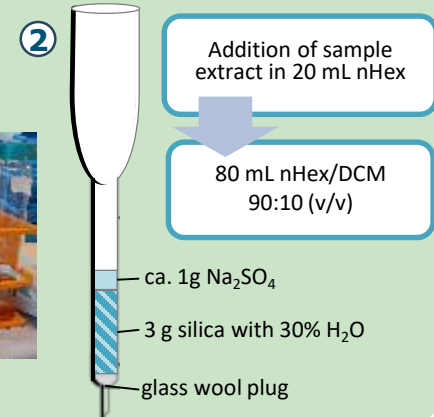
Ejemplo: opciones para seguir la guía

Limpiar

- Eliminación de lípidos y purificación en columna de sílica acidificada



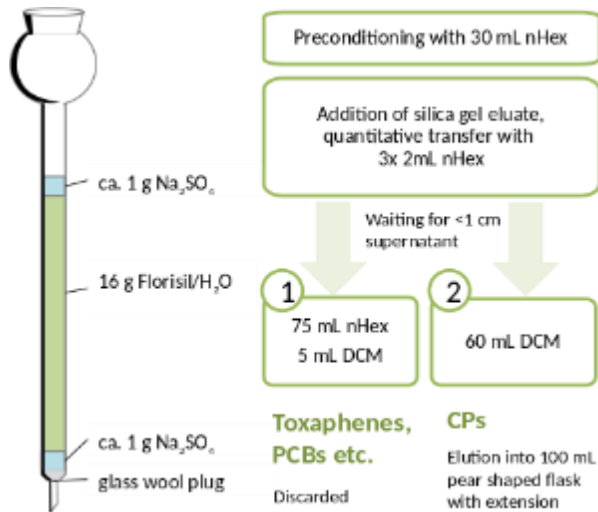
- Alternativa: tratar extractos con H_2SO_4 concentrado durante la noche para destruir los lípidos
- Luego columna de sílica para purificación



Ejemplo: opciones para seguir la guía

Limpiar

- Eliminación de co-eluentes en columna Florisil



- Puede reducirse dependiendo de los pasos de purificación previos
- ¡Asegúrate de eluir lo suficiente para obtener buenas recuperaciones!

Ejemplo: opciones para seguir la guía



Parámetros GC–EI–MS/MS

Columna DB5 de 12,5m o 15m
PTV o SSL (220°C) posible
Fuente de iones: 250-280°C, 70eV Línea de transferencia: 340°C Modo MRM
<i>m/z 102→67, m/z 102→65, m/z 91→53</i>

Calibration

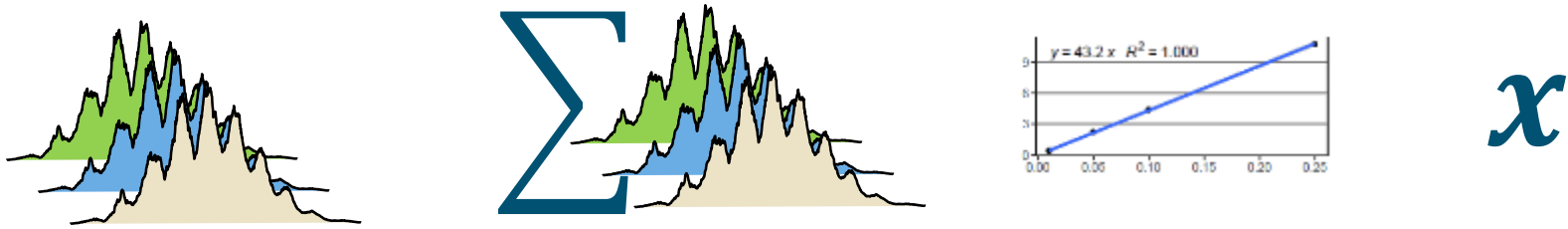
- Calibración: mezcla 1:1 de estándares SCCP 55.5%Cl y MCCP 57%Cl (LGC)
- Epsilon-HCH como estándar de inyección
- $^{13}\text{C}_{10}$ -hexaclorodecano como ISTD (Cambridge Isotope Labs)

Rojo: requisitos fijos para comparabilidad

Ejemplo: opciones para seguir la guía



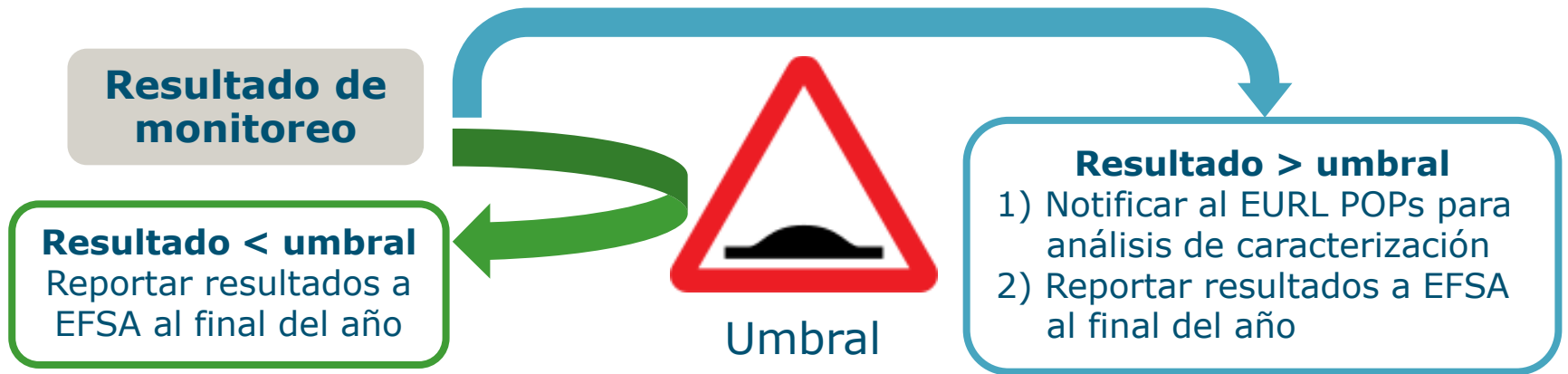
Cuantificación



¡Uso de este enfoque requerido para garantizar comparabilidad!

El principio del umbral

- Solo las muestras altamente contaminadas deben caracterizarse más a fondo
- Probar los resultados del monitoreo contra los umbrales



Umbrales provisionales

Commodity	Threshold
Pescado	100 ng/g ww
Leche y productos lácteos	20 ng/g ww
Grasas y aceites	1000 ng/g lw
Otros productos de origen animal (p.ej. huevos, carne)	300 ng/g lw
Alimentos procesados (comidas completas)	50 ng/g ww
Alimentos para bebés y niños pequeños	20 ng/g ww

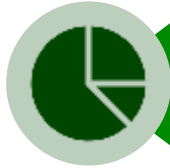
Basados en P95 de los datos disponibles de los 4 laboratorios expertos

Enfoque común – mensajes clave

- **Los parámetros y la guía del método serán publicados por el EURL POPs a finales de 2025**
 - No es un método fijo único: es una guía modular
 - Proporciona solo un parámetro suma
- Más fácil de implementar en laboratorios de control de alimentos
- Enfoque en S+MCCPs; LCCPs aún no relevantes
- Mayor caracterización solo de las muestras más altas por los laboratorios expertos



Resumen



La alimentación es un factor importante en la exposición a CP



Las grasas/aceites, los huevos y el pescado son matrices importantes



Manejo de blancos es vital!



El enfoque de monitoreo común proporciona información general y fácil de obtener, pero no ofrece caracterización.

Gracias por su atención!

No duden en hacer preguntas 😊

