

## Borsa di Studio finanziata da fondi PNRR ex D.M. 117 del 02/03/2023 e da Leco

**Missione 4,  
componente 1,  
linea di  
investimento 3.3**

**Dottorati innovativi che rispondono ai fabbisogni di innovazione delle imprese**

### Tematica di Ricerca

Sviluppo di una procedura complementare integrativa e validata per l'analisi dei contaminanti alimentari mediante gascromatografia bidimensionale accoppiata alla spettrometria di massa

#### English version

Development of a complementary, integrative, and validated procedure for the analysis of food contaminants by two-dimensional gas chromatography coupled with mass spectrometry

### Dottorato di Ricerca

**ITALIANO: Scienze per l'ambiente e la salute**

**ENGLISH: Environment health sciences**

Tipologia di Impresa e mesi frequenza obbligatoria (se previsto)

LECO Europe B.V. è un'azienda con sede legale in Geelen (Olanda) che fa capo alla LECO Corporation, azienda madre con sede in Saint Joseph (Michigan) negli Stati Uniti. La LECO Corporation vanta un fatturato di ~204 milioni di dollari/anno, di cui il 10% è realizzato in Europa (LECO Europe B.V.) e conta circa 1000 dipendenti in tutto il mondo, di cui il 5-10% impegnato in progetti di ricerca e sviluppo.

Inoltre, LECO Europe B.V. può contare su un laboratorio con sede in Berlino, Germania (LECO European Application and Technology Centre, EATC) fornito di strumentazione di ultima generazione, nonché di personale altamente qualificato.

L'azienda si occupa dello sviluppo e produzione di strumentazione scientifica altamente tecnologica nel campo dell'analisi elementare, analisi termica, metallografia e spettrometria di massa. In particolare, LECO è riconosciuta a livello globale per la commercializzazione di strumentazione all'avanguardia nel campo della cromatografia bi-dimensionale accoppiata alla spettrometria di massa a tempo di volo (GC×GC-TOFMS). Questa tecnica permette di ottenere risultati analitici superiori rispetto alle tecniche comunemente utilizzate nei laboratori al giorno d'oggi (es. cromatografia accoppiata alla spettrometria di massa - GC-MS).

Correntemente, LECO Europe B.V. si occupa di diversi progetti di ricerca finalizzati alla messa a punto di sistemi e metodi completamente automatizzati per l'analisi di contaminanti ambientali presenti negli alimenti (es. Oli Minerali o MOSH/MOAH) e plastiche riciclate che vengono in contatto con gli alimenti. A tale scopo, LECO B.V. collabora già da tempo con alcuni dei principali attori in ambito Europeo e globale per la messa appunto di metodi robusti ed in grado di fornire risultati accurati. A tal fine, di seguito si riportano due esempi di pubblicazioni scientifiche su riviste scientifiche peer-to-peer di rilevanza internazionale:

1. A. Hochegger, S. Panto, N. Jones, E. Leitner, Analytical and Bioanalytical Chemistry  
<https://doi.org/10.1007/s00216-023-04599-6>

2. G. Bauwens, S. Panto, G. Purcaro, Journal of Chromatography A 1643 (2021) 462044  
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462044>

Mesi: 6

Mesi frequenza obbligatoria all'estero

Mesi: 18

Obiettivi generali della ricerca

La contaminazione da olio minerale (MO) negli alimenti, sia riguardo la frazione satura (MOSH) che aromatica (MOAH), è un argomento in costante sviluppo, ma che non ha ancora raggiunto una conclusione definitiva in quanto sta diventando sempre più complesso. La gas cromatografia bi-dimensionale (GC×GC) è stata accettata come metodo di conferma e recentemente sta guadagnando attenzione anche come metodo

quantitativo a livello istituzionale. Ciononostante, sono ancora presenti resistenze, in quanto si sostiene che solo una percentuale ridotta di campioni necessita di una conferma GCxGC e che occhi esperti possano discutere di campioni critici sulla base del profilo ottenuto tramite l'accoppiamento cromatografia liquida/gassosa (LC-GC). La bozza del nuovo parere dell'Agenzia Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA), oltre a richiedere ulteriori indagini tossicologiche sia per il MOSH che per il MOAH, ha richiesto i seguenti miglioramenti analitici:

I) miglioramento del metodo analitico per il MOSH per una migliore caratterizzazione, ad esempio la differenziazione tra MOSH dai suoi omologhi derivanti principalmente da plastiche e materiali simili;

II) maggiori dati sulla composizione dei MOAH in base agli anelli aromatici, con particolare attenzione a 3 e più di 3 anelli; sono necessarie specifiche tecniche per gli additivi alimentari e i fornitori di imballaggi

III) ricerca della fonte di contaminazione, che richiede metodi più selettivi e sensibili.

Tutti questi argomenti evidenziano la necessità dell'utilizzo della GCxGC accoppiato simultaneamente ad un rivelatore a ionizzazione di fiamma per scopi quantitativi e ad uno spettrometro di massa per scopi qualitativi (FID/MS), come tecniche analitiche robuste e validate per rispondere ai requisiti analitici.

Contemporaneamente, strettamente correlata è l'analisi dei migranti per i materiali a contatto con gli alimenti.

Il/la candidato/a passerà un periodo di dodici mesi all'estero presso un altro ente accademico (Università) e da un minimo di 6 ad un massimo di 18 mesi presso l'azienda LECO.

Dal suo canto l'impresa LECO supporterà il candidato/a sia con dei training dedicati che con il supporto di software specifici.

Sia l'Università di Ferrara che l'Azienda LECO possiedono strumentazioni analitiche all'avanguardia che saranno messe a disposizione per raggiungere gli obiettivi del progetto.

**Obiettivi pr**

**Obiettivo 1-Valorizzazione del ruolo della GCxGC nella determinazione di MOSH e MOAH:**

1.1-Validare la quantificazione 2D con campioni critici quando la LC-GC fallisce.

1.2-Validazione del ruolo della GCxGC, combinata con la corretta separazione LC, come alternativa più robusta alla purificazione per epossidazione.

1.3-Sfruttamento della separazione GCxGC per caratterizzare completamente e quantificare separatamente POSH, PAO e ROH.

1.4- Migliori pratiche e ottimizzazione della metodologia GCxGC-FID off-line

1.5- Studio in vitro dell'accumulo di MOSH nei tessuti umani e studio del profilo differenziale di MOSH mediante GCxGC.

**Risultati per l'azienda:**

- Convalida completa e supporto sugli aggiornamenti del software MOSH/MOAH.

- Dati di supporto sulla robustezza e sulla superiorità dell'uso della GCxGC come metodo di routine anche per campioni meno critici

- Creare il collegamento per l'uso nell'analisi della plastica di riciclo post-consumo

- Validazione del metodo GCxGC-FID off-line

**Obiettivo 2: Ottimizzazione e validazione dell'uso della GCxGC per la caratterizzazione delle plastiche riciclate post-consumo.**

2.1. Ottimizzazione di un metodo multiresiduo accoppiato online o offline con LC, per la caratterizzazione di diversi potenziali contaminanti nella plastica riciclata (e.s. ftalati, diossine).

2.2. Studio della presenza dei contaminanti nella plastica riciclata stessa e in diversi simulanti alimentari per valutarne la potenziale migrazione.

2.3. Sviluppo e validazione di metodi per la caratterizzazione dei PFAS mediante GCxGC-ToFMS, finora effettuati principalmente in LC-MS.

2.4. Caratterizzazione non mirata della rPlastic durante il processo di riciclaggio per supportare la produzione e la pulizia del materiale di partenza (prevista una possibile collaborazione con TotalEnergies).

**Risultati per l'azienda:**

- Sostegno all'uso di GCxGC nel settore delle rPlastiche

- Introduzione delle potenzialità del GCxGC nel settore dei PFAS

### English version

Mineral oil-saturated and -aromatic hydrocarbon (MOSH and MOAH) contamination in food is a constantly developing topic but has not yet reached a definitive conclusion as it is becoming increasingly complex. Two-dimensional gas chromatography (GCxGC) has been accepted as a confirmatory method and is also recently gaining attention as a quantitative method at the institutional level. Nevertheless, there is still resistance, as it is argued that only a small percentage of samples need GCxGC confirmation and that expert eyes can discuss critical samples based on the profile obtained by liquid/gas chromatography (LC-GC) coupling. The draft of the new European Food Safety Agency (EFSA) opinion, in addition to calling for additional toxicological investigations for both MOSH and MOAH, called for the following analytical improvements:

I) improvement of the analytical method for MOSH for better characterization, e.g., differentiation between MOSH from its homologs derived mainly from plastics and similar materials.

II) More data on the composition of MOAH based on aromatic rings, with emphasis on 3 and more than 3 rings; technical specifications are needed for food additives and packaging suppliers

III) search for the source of contamination, which requires more selective and sensitive methods.

All these topics highlight the need for the use of GCxGC coupled simultaneously with a flame ionization detector for quantitative purposes and a mass spectrometer for qualitative purposes (FID/MS) as robust and validated analytical techniques to meet the analytical requirements.

Simultaneously, closely related is the migrant analysis for food contact materials.

The candidate will spend a 12-month period abroad at another academic institution (University) and a minimum of 6 to a maximum of 18 months at the LECO company.

For its part, the LECO company will support the candidate with both dedicated training and specific software support.

Both the University of Ferrara and the LECO company have state-of-the-art analytical instrumentation that will be made available to achieve the objectives of the project.

Objectives pr

Objective 1-Validating the role of GCxGC in the determination of MOSH and MOAH:

1.1-Validate 2D quantification with critical samples when LC-GC fails.

1.2-Validation of the role of GCxGC, combined with proper LC separation, as a more robust alternative to epoxidation purification.

1.3-Use of GCxGC separation to fully characterize and quantify POSH, PAO, and ROH separately.

1.4-Best practices and optimization of off-line GCxGC-FID methodology.

1.5- In vitro study of MOSH accumulation in human tissues and differential profile study of MOSH by GCxGC.

Results for the company:

- Comprehensive validation and support for MOSH/MOAH software updates.

- Supporting data on the robustness and superiority of using GCxGC as a routine method even for less critical samples

- Creating the link for use in post-consumer recycled plastic analysis

- Validation of the off-line GCxGC-FID method

Objective 2: Optimization and validation of the use of GCxGC for the characterization of post-consumer recycled plastics.

2.1. Optimization of a multi-residue method coupled online or offline with LC, for characterization of several potential contaminants in recycled plastics (e.g. phthalates, dioxins).

2.2. To study the presence of the contaminants in the recycled plastic itself and in different food simulants to assess their potential migration.

2.3. Development and validation of methods for PFAS characterization by GCxGC-ToFMS, so far carried out mainly in LC-MS.

2.4. Untargeted characterization of rPlastic during the recycling process to support the production and cleaning of the source material (possible collaboration with TotalEnergies planned).

Outcomes for the company:

- Supporting the use of GCxGC in the rPlastics industry.
- Introducing the potential of GCxGC in the PFAS sector.

Impatto in relazione a uno o più dei seguenti fattori: (i) miglioramento della sostenibilità ambientale; (ii) accelerazione di processi di trasformazione digitale; (iii) promozione dell'inclusione sociale

Secondo la definizione riportata dall'Unione Europea, "i contaminanti sono sostanze che non sono state aggiunte intenzionalmente agli alimenti". Queste sostanze possono essere presenti negli alimenti come risultato delle varie fasi di produzione, imballaggio, trasporto o conservazione. Possono anche derivare da una contaminazione ambientale. Poiché la contaminazione ha generalmente un impatto negativo sulla qualità degli alimenti e può comportare un rischio per la salute umana, l'UE ha adottato misure per ridurre al minimo i contaminanti negli alimenti". Oltre ai contaminanti regolamentati, molti altri contaminanti sono costantemente oggetto di studio e richiedono una valutazione completa del rischio per definire i limiti legali. Tra questi contaminanti non regolamentati, il progetto si concentrerà su due argomenti principali, paralleli ma allo stesso tempo strettamente collegati, ovvero l'olio minerale (MO), includendo sia gli idrocarburi saturi (MOSH) che aromatici (MOAH) e la plastica riciclata. Quindi uno degli obiettivi principali del progetto è il miglioramento della sostenibilità ambientale.

#### **English version**

According to the definition reported by the European Union, "contaminants are substances that have not been intentionally added to food." These substances may be present in food because of the various stages of production, packaging, transportation, or storage. They can also result from environmental contamination. Because contamination generally has a negative impact on food quality and can pose a risk to human health, the EU has taken measures to minimize contaminants in food."

In addition to regulated contaminants, many other contaminants are constantly being studied and require a comprehensive risk assessment to set legal limits. Thus, one of the main goals of the project is to improve environmental sustainability.

Among these unregulated contaminants, the project will focus on two main, parallel but at the same time closely related topics, namely mineral oil (MO), including both saturated hydrocarbons (MOSH) and aromatic hydrocarbons (MOAH), and recycled plastics.