

Este artículo “New Concerns about PFAS in Food” (Nuevas preocupaciones sobre PFAS en los alimentos) ha sido reimpresso con el amable permiso de International Labmate Ltd (impreso por primera vez en International Labmate, febrero de 2021, volumen 46, edición 1): www.intlabmate.com.

Autor: David C. Kennedy, PhD

Las **sustancias per- y polifluoroalquiladas (PFAS)** son contaminantes ambientales bien conocidos que tienen un potencial recientemente identificado para contaminar ciertos productos alimenticios a través del consumo agrícola mediante el transporte ambiental desde sitios industriales contaminados [1]. El análisis de PFAS en productos alimenticios requiere técnicas de preparación analítica más extensas en comparación con las pruebas de PFAS de matrices simples como el agua potable, para reducir el impacto de las interferencias de la matriz de la muestra en el análisis instrumental posterior. Se proporciona un ejemplo de un método de PFAS aplicable a la leche, la mantequilla, el queso y el pescado.

Precuela de las PFAS en alimentos

Las sustancias per- y polifluoroalquiladas (PFAS) son una extensa familia de fluoroquímicos sintéticos con un conjunto único de propiedades físicas y químicas. Estas propiedades dieron como resultado su uso comercial generalizado durante los últimos 50 años en

diversas aplicaciones que van desde espumas para combatir incendios, hasta alfombras resistentes a las manchas y cajas de pizza a prueba de grasa. Sin embargo, se ha descubierto que estas mismas propiedades físicas y químicas únicas también tienen graves consecuencias para el medio ambiente: capacidad de dispersión generalizada, persistencia ambiental extrema y un alto grado de bioacumulación [2]. Si bien los PFAS no presentan propiedades tóxicas agudas, los investigadores descubrieron que los PFAS pueden demostrar una gran cantidad de efectos sutiles y crónicos sobre la salud, que afectan principalmente a los sistemas endocrino y reproductivo. Por lo tanto, a los expertos en salud les preocupa desde hace tiempo que la exposición acumulativa de bajo nivel a los PFAS durante un periodo prolongado de tiempo pueda tener graves consecuencias para la salud [3]. Por lo tanto, las vías de exposición crónica a los PFAS a lo largo de la vida, como a través de los alimentos o el agua potable, son motivo de especial preocupación para los organismos reguladores y reciben un mayor escrutinio.

Preocupaciones iniciales con respecto a las PFAS en los alimentos

En los EE. UU., la preocupación inicial de la Dirección de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) sobre las PFAS se centró en la contaminación de productos alimenticios a través del contacto con envases de alimentos que contienen PFAS (y en menor medida con equipos de procesamiento de alimentos). Algunos ejemplos clásicos son esas cajas de pizza recubiertas de PFAS, los envoltorios de hamburguesas de comida rápida y las bolsas de palomitas de maíz para microondas que han realizado un trabajo maravilloso para mantener la grasa fuera de nuestra ropa. Ese problema se resolvió de inmediato a fines

de 2016 cuando la FDA eliminó la aprobación para el uso de PFAS en los paquetes de alimentos [4].

Del mismo modo, el enfoque principal de la Agencia de Protección Ambiental (EPA) de Estados Unidos fue en el agua potable como fuente principal de exposición a PFAS a lo largo de la vida. La EPA continúa realizando extensas pruebas a nivel nacional para detectar PFAS en el agua potable bajo el programa de la Regla de monitoreo de contaminantes no regulados (UCMR) [5]. Muy probablemente, estos esfuerzos llevarán a establecer límites reglamentarios específicos para la concentración permitida de determinados PFAS en el agua potable. Paralelamente, otros organismos gubernamentales, como el Departamento de defensa de los Estados Unidos (DOD), estudian de forma exhaustiva la contaminación ambiental generalizada de las instalaciones militares debido al amplio uso histórico de las espumas contra incendios con PFAS, principalmente en las bases aéreas [6].

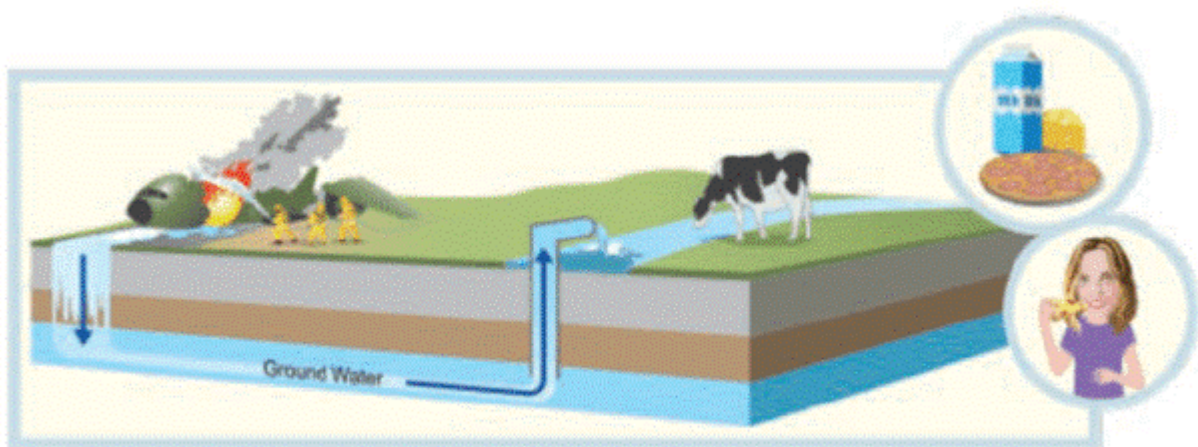


Figure 1. Pathway Model for Environmental Transmission of PFAS to Food and Consumer

Figura 2. Muestras después de una limpieza con QuEChERS: de izquierda a derecha: muestra en blanco, mantequilla, qFigura 1. Modelo de ruta para la transmisión ambiental de PFAS a los alimentos y al consumidor

Este concepto ampliado del problema de las PFAS es claramente un gran paso al frente, pero ha presentado algunos desafíos analíticos. Gran parte de la metodología oficial de las PFAS desarrollada durante la última década se ha centrado en el análisis del agua potable y se ha dirigido a una lista muy limitada de analitos. Con escasos problemas de interferencia de la matriz, problemas de cromatografía fácilmente superables y una espectrometría de masas sencilla, estos métodos oficiales para el agua potable demostraron ser inadecuados al ser aplicados al análisis de PFAS en suelos, sedimentos, lodos y aguas residuales. Al aplicarse al análisis de alimentos con una gran cantidad de matrices complejas, resultan bastante ineficaces, lo que da lugar a un aumento del desarrollo de métodos analíticos para PFAS centrados en matrices complejas, en los que los ensayos de alimentos ocupan un lugar destacado. En la siguiente sección se presenta una de estas aplicaciones como ilustración de los enfoques que se aplican en la actualidad para hacer frente al desafío de los PFAS.

Análisis de PFAS por LC-MS/MS en alimentos como productos lácteos, huevos y pescado

Introducción al método: el siguiente trabajo se realizó a través de una colaboración entre Weck Laboratories, Inc., City of Industry, CA, EE. UU. y Phenomenex, Inc., Torrance, CA,

Análisis de PFAS por LC-MS/MS en alimentos como productos lácteos, huevos y pescado

EE. UU., para el desarrollo de nuevos procedimientos de preparación y análisis de muestras para determinar niveles bajos de PFAS en productos alimenticios. Esta aplicación en particular estaba orientada a lograr una sensibilidad por debajo de los 23 analitos de PFAS en productos lácteos (leche, mantequilla y queso), huevos y pescado como representantes de matrices grasas difíciles de analizar. La siguiente discusión es una sinopsis del trabajo completo [8].

Preparación de la muestra: se añadió un gramo de muestra homogeneizada con estándares internos y sustitutos y una mezcla de analitos de 23 compuestos de PFAS (Tabla 1) al nivel de 1 ng/g, seguido de la adición de 10 ml de acetonitrilo y 10 ml de agua. Se prepararon cuatro réplicas de cada matriz (leche, huevos, mantequilla, queso y pescado). Las muestras se procesaron mediante un procedimiento con QuEChERS modificado utilizando un kit comercial (**kit de extracción Phenomenex roQ**). Se transfirió una alícuota (500 uL) de la fase de acetonitrilo limpia a un vial de LC para su análisis. La Figura 2 muestra un blanco de extracción y los cinco tipos de muestra después de la preparación de la muestra.

Table 1. PFAS Analyte List .

Analytes:	1. PFBA	9. PFHpS	17. Et-FOSE
	2. PFPeA	10. PFOS	18. Et-FOSA
	3. PFBS	11. PFNA	19. PFDS
	4. PFHxA	12. FOSA	20. PFUdA
	5. PFHpA	13. Me-FOSE	21. PFDoA
	6. PFHxS	14. 8:2 FTS	22. PFTTrDA
	7. 6:2 FTS	15. Me-FOSA	23. PFTeDA
	8. PFOA	16. PFDA	

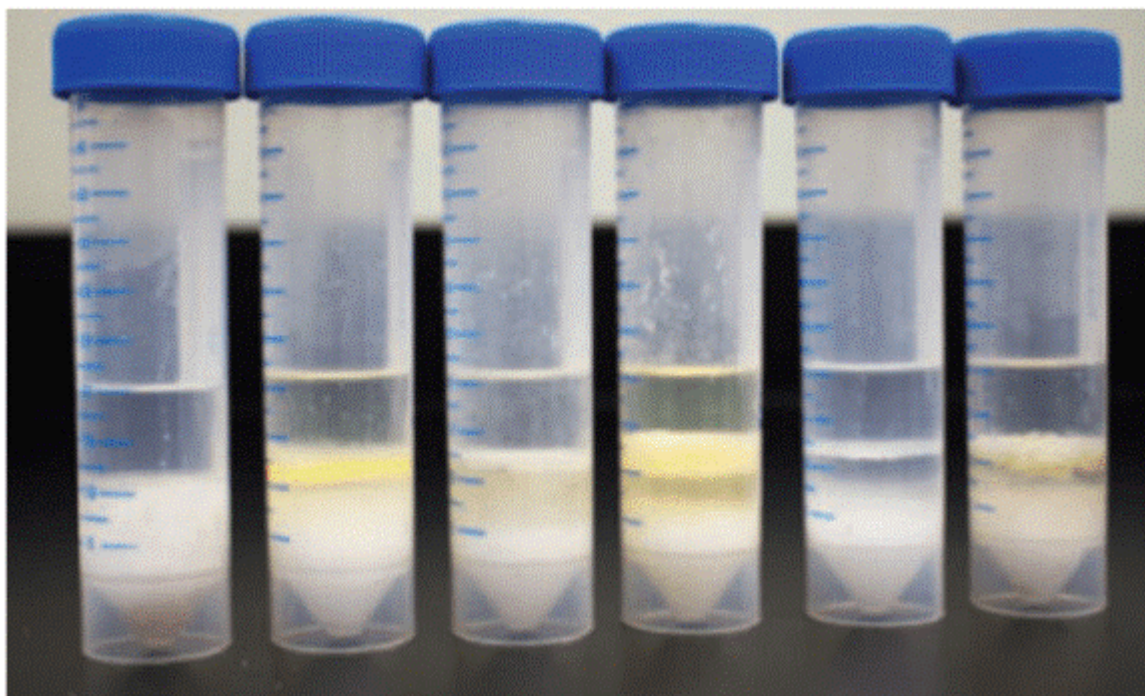


Figura 2. Muestras después de una limpieza con QuEChERS: de izquierda a derecha:

muestra en blanco, mantequilla, queso, huevo, leche y pescado.

Extracción en fase sólida (SPE) opcional: se utilizó una limpieza de extracción en fase sólida dispersiva para lograr un nivel de cuantificación 10 veces menor. Se enriquecieron cuatro muestras idénticas de la matriz de huevo con la mezcla de analitos PFAS al nivel de 0,1 ng/g y se procesaron mediante el procedimiento QuEChERS. Después de la extracción, se diluyeron 500 uL de la fase de acetonitrilo con 15 ml de agua y se cargaron en un tubo de extracción en fase sólida de intercambio iónico débil preacondicionado (**Phenomenex Strata-X-AW de 200 mg**). A continuación, los analitos de interés se eluyeron con 4 ml de acetonitrilo (NH₄OH) al 0,3 %. El eluido se evaporó hasta la sequedad, se reconstituyó con 500 uL de acetonitrilo y se transfirió a un vial de LC de procesador de muestras automático para su análisis por LC-MS/MS. La cromatografía se realizó en un sistema UHPLC Agilent 1290. La columna LC empleada fue una Phenomenex Luna Omega PS C18 de 1,6 µm operando a 40 °C con un flujo de 0,55 ml/min y un volumen de inyección de 20 uL. El espectrómetro de masas utilizado fue un Agilent 6460 QQQ. Se exploraron varias condiciones de LC-MS/MS y se demostró que un gradiente de acetato de amonio/acetonitrilo (Tabla 2) era óptimo, lo que dio como resultado un tiempo de análisis de aproximadamente 4 minutos.

Resultados y discusión

La calibración del sistema mostró una respuesta dinámica lineal de 0,05 ppb a 1000 ppb con un límite inferior de cuantificación de 0,05 ppb como se muestra en la Figura 3 y se muestra

Análisis de PFAS por LC-MS/MS en alimentos como productos lácteos, huevos y pescado

un cromatograma de calibración al nivel de 0,05 ppb en la Figura 4. Los datos de recuperación para los cinco tipos de matrices se resumen en las Figuras 5 a 9. Se enriquecieron cuatro réplicas de cada matriz al nivel de 1 ng/g y se prepararon para el análisis como se describe anteriormente (pero no se sometieron al proceso de extracción en fase sólida). La Figura 10 presenta los datos de recuperación para cuatro réplicas de la matriz de huevo enriquecida al 0,1 ng/g y preparada como se describe anteriormente, pero con la adición del paso de extracción en fase sólida para aumentar la sensibilidad del método.

Análisis de PFAS por LC-MS/MS en alimentos como productos lácteos, huevos y pescado

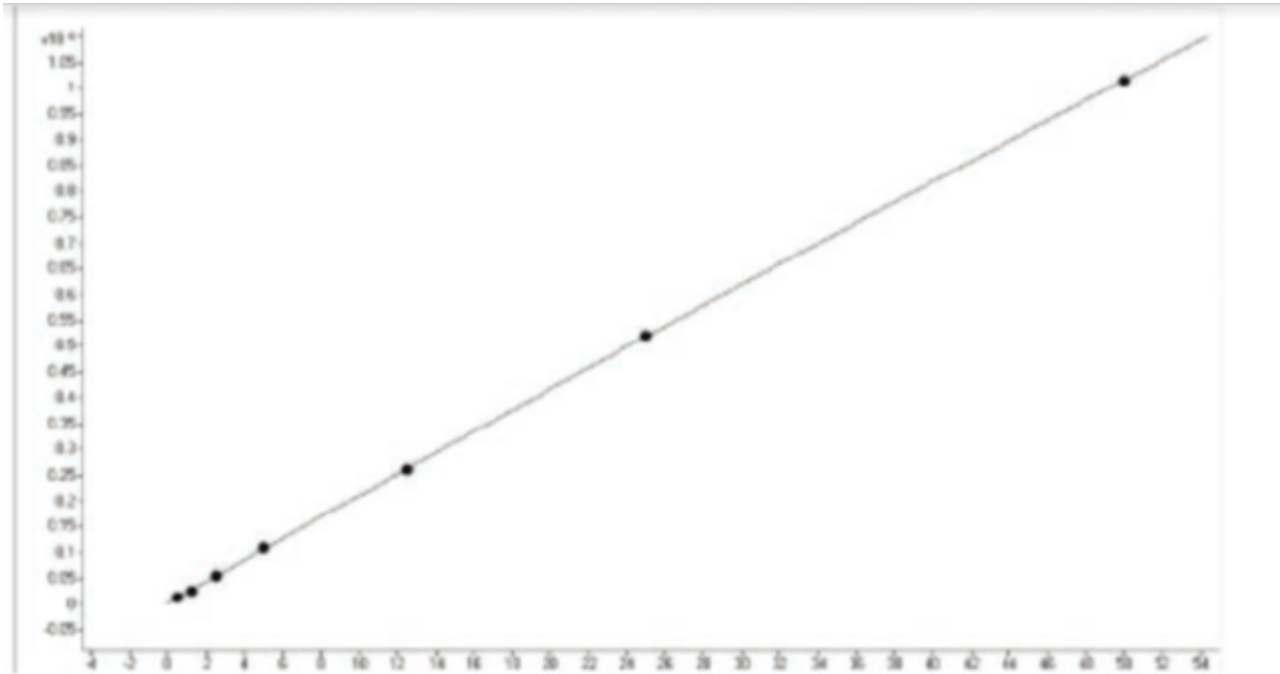


Figura 3. Rango dinámico de calibración del sistema (0,05 a 1000 ppb).

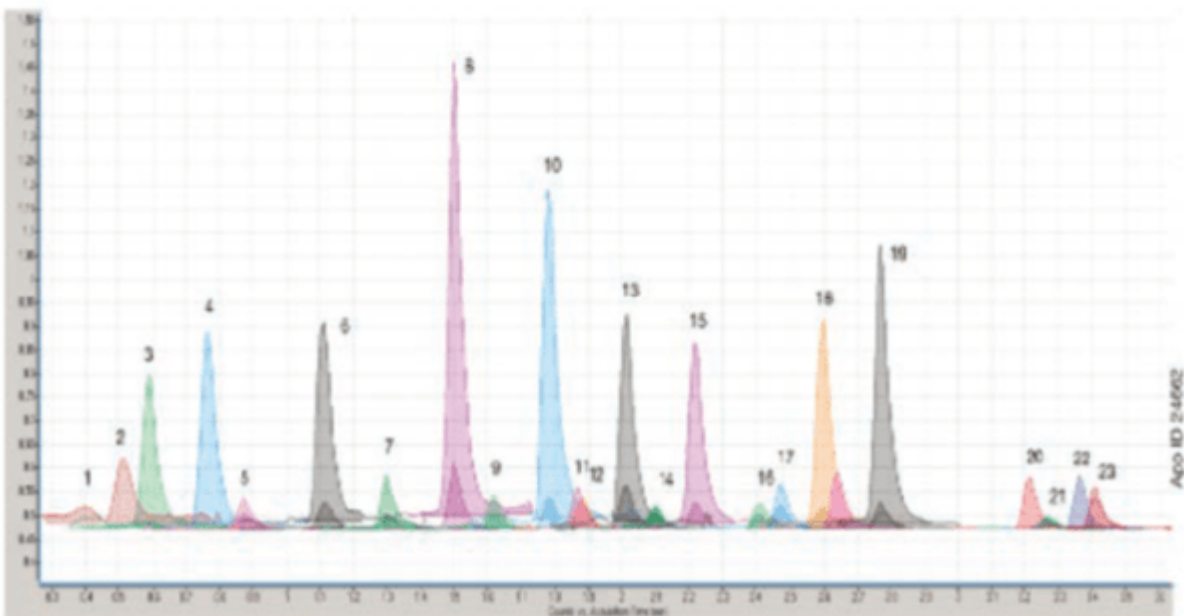


Figura 4. Cromatograma de 0,05 ppb, límite inferior del estándar de

Análisis de PFAS por LC-MS/MS en alimentos como productos lácteos, huevos y pescado

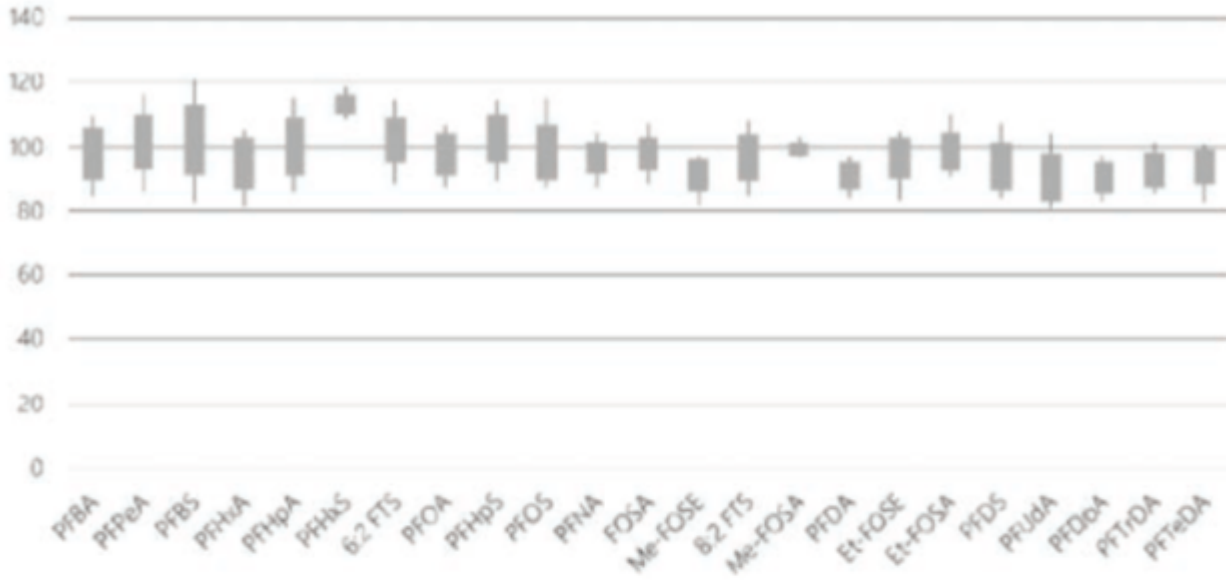


Figura 10. (Recuperaciones de la leche (QuEChERS: 1 ng/g, n = 4).

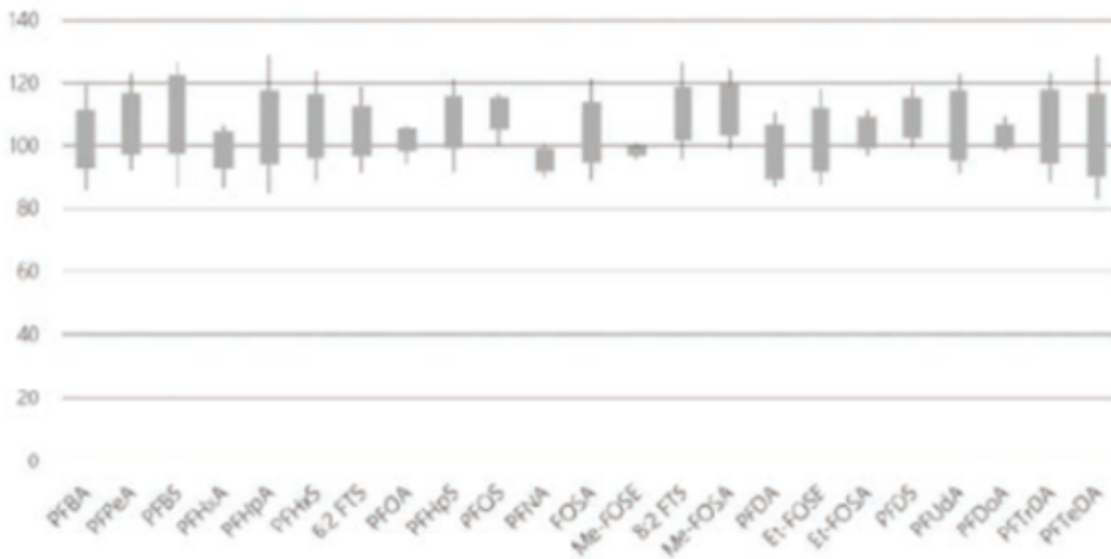


Figura 6. (Recuperaciones de la mantequilla (QuEChERS: 1 ng/g, n = 4).

Análisis de PFAS por LC-MS/MS en alimentos como productos lácteos, huevos y pescado

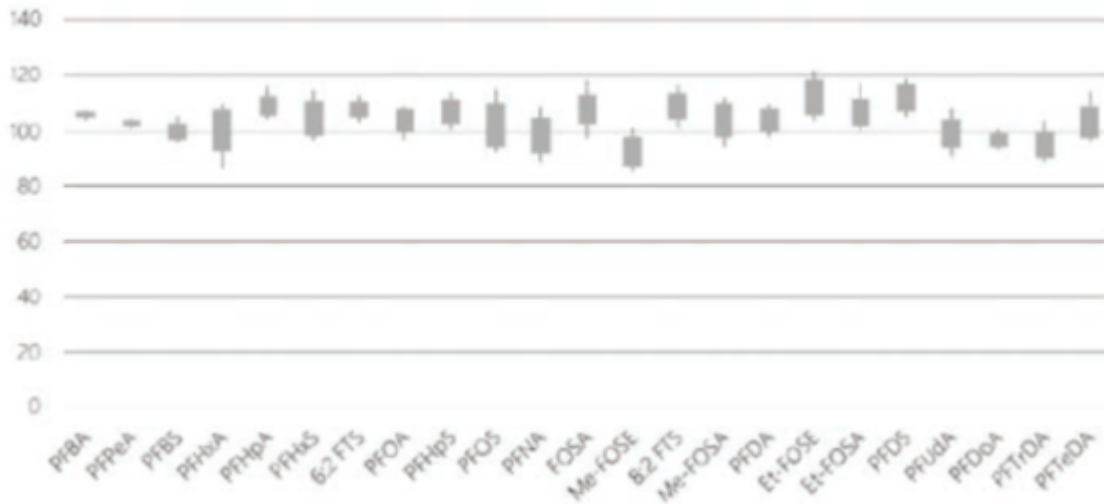


Figura 7. (Recuperaciones del atún (QuEChERS: 1 ng/g, n = 4).

Los datos de recuperación muestran una buena recuperación para las cinco matrices enriquecidas al nivel de 1 ng/g, con la mayoría de los analitos dentro del rango de recuperación del 80 % al 120 %. La precisión es por lo general algo más pobre para los productos lácteos con mayor contenido de grasa que para las matrices con menor contenido de grasa. Las recuperaciones del atún son particularmente buenas, considerando la complejidad de la matriz. Al comparar las recuperaciones de analitos de los huevos a los niveles de 1 ng/g y 0,1 ng/g (Figura 9 y Figura 10), ambos muestran recuperaciones comparables, aunque, como se esperaba, el nivel de pico más alto muestra una mayor precisión. En general, los datos sugieren que el método tiene suficiente exactitud y precisión para ser potencialmente utilizado para evaluar la contaminación ambiental con PFAS de productos alimenticios.

Análisis de PFAS por LC-MS/MS en alimentos como productos lácteos, huevos y pescado

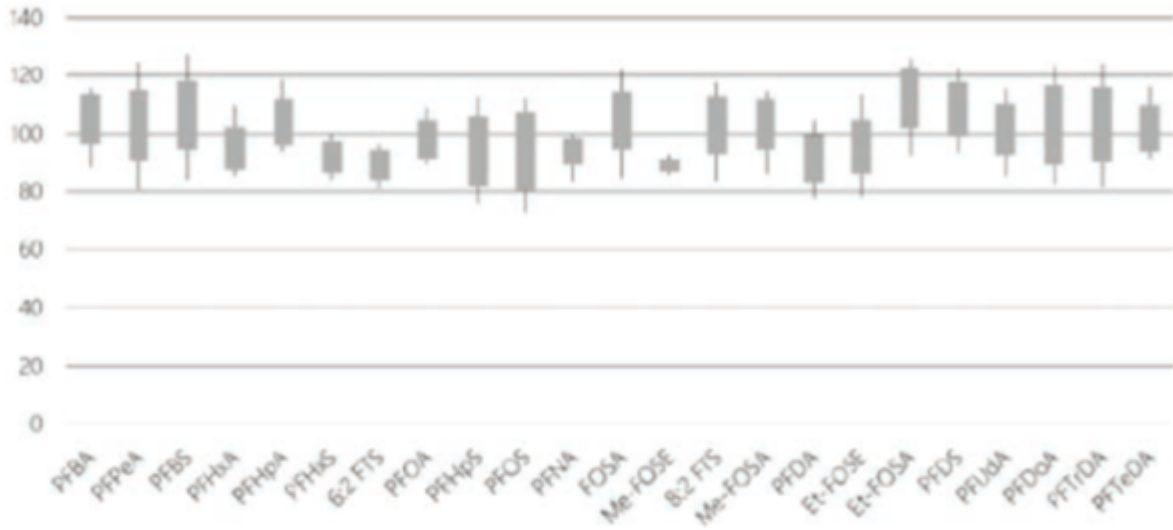


Figura 8. (Recuperaciones del queso (QuEChERs: 1 ng/g, n = 4).

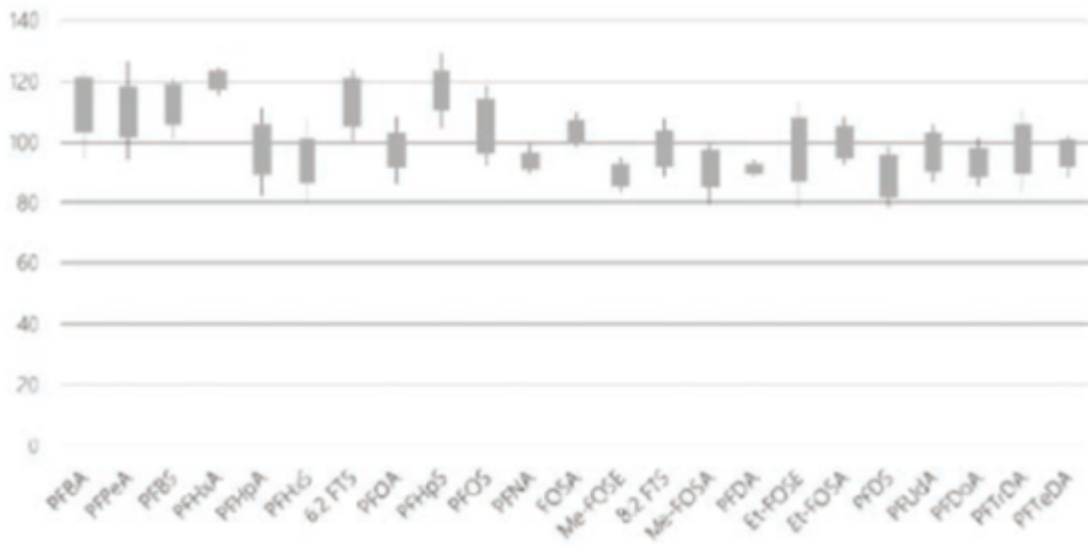


Figura 9. (Recuperaciones del huevo (QuEChERs: 1 ng/g, n = 4).

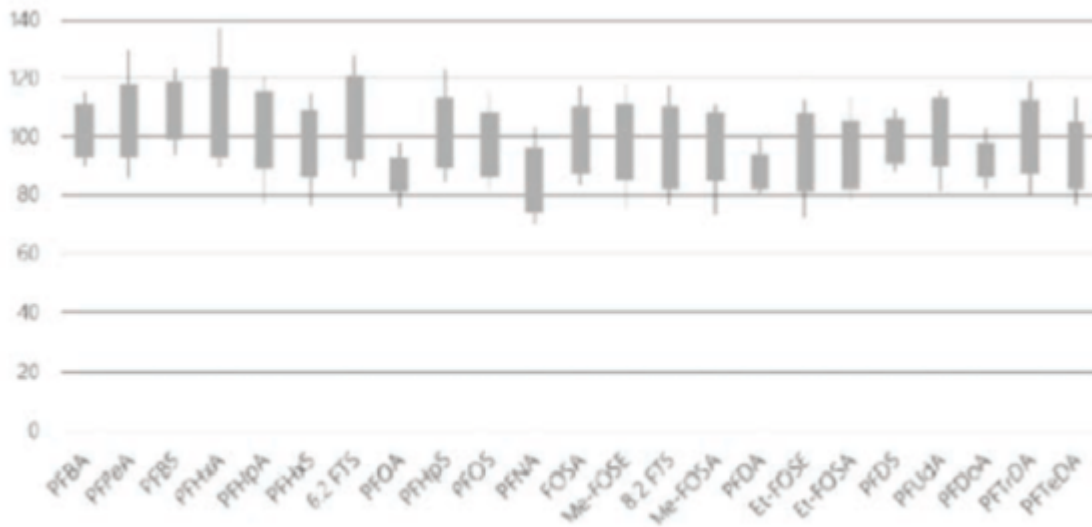


Figura 10. (Recuperaciones del huevo (QuEChERS + SPE: 0,1 ng/g, n = 4).

Evidentemente, se trata de datos preliminares y sería necesario un mayor desarrollo y validación en varios laboratorios para demostrar tal propósito. Sin embargo, los datos muestran claramente que las técnicas actuales de preparación de muestras, combinadas con la potencia de la cromatografía avanzada y la espectrometría de masas de triple cuadrado representan un flujo de trabajo adecuado.

La secuela

El análisis anterior mostró el uso de la tecnología analítica actual para abordar el desafío de la contaminación ambiental por PFAS en el suministro de alimentos. No obstante, hay que tener cuidado, ya que la experiencia con la química analítica nos enseña que

inevitablemente nos enfrentaremos a nuevos retos analíticos procedentes del ámbito de lo “desconocido”.

En el **análisis de PFAS**, ¿actualmente analizamos una lista de analitos objetivo de 20, 30 o 40 compuestos? Ahora bien, la cantidad de compuestos en el universo de los PFAS se estimó en 5000 e incluso en 8000, sin incluir los posibles productos de degradación. La toxicidad es en gran medida una función del estado químico y configuracional único de una molécula que controla la interacción bioquímica con el organismo. De modo que hay mucho más trabajo analítico para identificar los compuestos de PFAS más importantes desde el punto de vista de la toxicidad.

Se está realizando un excelente trabajo con masas precisas y análisis de datos avanzados para darnos una comprensión más amplia de la complejidad química del universo de los PFAS. Pero dada la complejidad y el alcance del problema de la contaminación ambiental por PFAS, está claro que aún queda mucho trabajo por hacer.

Agradecimientos

Se agradece la contribución del Dr. Agustín Pierri y su equipo de Laboratorios Weck, City of Industry, California, Estados Unidos.

Referencias

1. *Analytical Results of Testing Food for PFAS from Environmental Contamination.* (<https://www.fda.gov/food//chemicals/analytical-results-testing-pfas-environmentalcontamination>), Dirección de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos, 20 de octubre de 2020.
2. *Basic Information about PFAS* (<https://www.epa.gov/pfas/basic-information-pfas>), Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos, 6 de diciembre de 2018.
3. *Toxicological Profile for Perfluoroalkyls* (<https://www.atsdr.cdc.gov/toxicprofiles/tp.asp?id=1117&tid=237>), Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Communicable Disease Center, 30 de septiembre de 2020.
4. *FDA Removes Approval for the Use of PFCs in Food Packaging Based on the Abandonment.* (<https://www.fda.gov/food/cfsan-constituent-updates/fda-removesapproval-use-pfcs-food-packaging-based-abandonment>), Dirección de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos, 21 de noviembre de 2016.
5. *Development of the Proposed Unregulated Contaminant Monitoring Rule for the Fifth Monitoring Cycle (UCMR 5): Public Meeting and Webinar* (<https://www.epa.gov/sites/production/files/2019-10/documents/ucmr5-stakeholdermeeting-190830.pdf>), Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos, 16 de julio de 2019
6. *Installations Conducting Assessments for PFAS use or Potential Release.* (https://media.defense.gov/2020/Mar/17/2002265608/-1/-1/1/MAP_OF_INSTALLATIONS_CONDUCTING_ASSESSMENTS_FOR_PFAS_USE_OR_POTENTIAL_RELEASE.PDF), Departamento de defensa de los Estados Unidos, 30 de

septiembre de 2019.

7. *Per and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) (<https://www.fda.gov/food/chemicals-and-polyfluoroalkyl-substances-pfas>), Dirección de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos, 20 de diciembre de 2019.*
8. *Per- and Polyfluorinated Alkyl Substances (PFAS) from Milk, Eggs, Butter, Cheese and Fish using QuEChERS, SPE and LC-MS/MS. Agustin Pierri Weck (Laboratories) and Scott Krepich (Phenomenex, Inc.). Phenomenex Technical Note TN-0124 (<https://phenomenex.blob.core.windows.net/documents/a9406d77-c88e-49cb-9347-81efd828fc25.pdf>), Phenomenex, Inc., 2018.*

Comparta con amigos y compañeros:

Share with friends and coworkers:

- Click to email this to a friend (Opens in new window)
- Click to share on Twitter (Opens in new window)
- Click to share on Facebook (Opens in new window)
- Click to share on Pinterest (Opens in new window)
- Click to share on LinkedIn (Opens in new window)
- Click to share on Tumblr (Opens in new window)
- Click to share on Reddit (Opens in new window)