

Migration aus Verbundfolien: Screening mittels verschiedener chromatographischer und spektroskopischer Methoden

Nadine Paul, Stefanie Krönert, Angela Berner, Thomas J. Simat

*Prof. T.J. Simat, TU Dresden, Professur für Lebensmittelkunde und Bedarfsgegenstände, Bergstraße 66
D-01069 Dresden*

www.chm.tu-dresden.de/lc/simat.shtml

Zusammenfassung

Die Kombination verschiedener spektroskopischer und chromatographischer Methoden ermöglicht die Ermittlung eines Höchstmaßes an qualitativen und quantitativen Informationen über migrierfähige Substanzen aus Verbundfolien. Dafür werden die Gesamtmigrate einer ausgewählten Folie in den Ersatzsimulanzen nach RL 82/711/EWG, 95 % Ethanol und Iso-Octan, untersucht. Die $^1\text{H-NMR}$ bietet die Möglichkeit zum Screening der Migrate auf bestimmte Strukturmerkmale, die Additiven oder Monomeren zugeordnet werden können. Die qualitative Absicherung sowie quantitative Ermittlung der spezifischen Migranten wird anhand von RP-HPLC mit verschiedenen Detektoren (UVD, FLD, ELSD, CLND) sowie GC-MS/FID durchgeführt. Niedermolekulare Oligomere aus PE-Siegelschichten werden in Summe mittels $^1\text{H-NMR}$ quantifiziert. Mit Hilfe dieser unterschiedlichen Methoden können für die untersuchte Verbundfolie die nicht-flüchtigen organischen Substanzen im Gesamtmigrat aufgeklärt werden.

Einleitung

Verbundfolien finden bei der Verpackung von Lebensmitteln eine sehr breite Anwendung. Sie sollen das verpackte Lebensmittel unter anderem vor Sauerstoff, Licht und mikrobiellem Befall schützen. Kunststoffe sind jedoch keine inerten Materialien, so dass Stoffe aus der Verpackung in das Füllgut übergehen, d.h. migrieren können (Piringer, 2008). Es wird zwischen Gesamtmigration und spezifischer Migration unterschieden. Für beide Angaben sind auf europäischer Ebene in der RL 2002/72/EG Grenzwerte festgelegt (EG, 2002). Bei den Substanzen, für die eine spezifische Migrationsgrenze festgelegt ist, handelt es sich vor allem um Kunststoffadditive und -monomere. Monomere sind die Ausgangsstoffe zur Herstellung der Kunststoffpolymere, von denen Reste im Endprodukt verbleiben können. Additive werden eingesetzt, um die Kunststoffe selbst beständiger gegen äußere Einflüsse zu machen und um bestimmte Effekte im Endprodukt zu erreichen. Dabei handelt es sich unter anderem um Antioxidantien, Gleitmittel, Antistatika und Anti-Beschlagmittel. Für die Hersteller und Anwender von Verpackungsfolien ist es demnach wichtig, sowohl das Verhalten einer Folie hinsichtlich ihrer Gesamtmigration zu kennen, aber auch zu wissen, welche migrierfähigen Einzelsubstanzen in welchen Mengen enthalten sind. In der vorgestellten Arbeit werden diese Aspekte aufgegriffen und versucht, diese mit verschiedenen Methoden aufzuklären. Dabei wurde die Migration für einen möglichst strengen Fall („worst case“) simuliert. Da Polyolefine

insbesondere von fetthaltigen Lebensmitteln angegriffen werden, wurden die beiden flüchtigen Ersatzsimulanzien für Olivenöl (Simulanz D nach RL 82/711/EWG), Iso-Octan und 95% Ethanol für die Extraktion verwendet.

Aufklärung der migrierenden Substanzen in den Ersatzsimulanzien

Zur Aufklärung der migrierenden Substanzen wurde ein Verbundfoliensystem bestehend aus einer Polyethylen-(PE)-Siegelschicht kaschiert mit einer Polyamid-(PA)-Folie verwendet. Zunächst wurde das Gesamtmigrat der Verbundfolie für beide Ersatzsimulanzien nach DIN EN 1186-14 (2002) bestimmt. Dabei wurden Bedingungen gewählt, die nach RL 82/711/EWG (1997) einer Migration in Olivenöl bei 121 °C für 1 h entsprechen. Die Migration in Iso-Octan wurde folglich bei 60 °C für 2 h durchgeführt. Das Gesamtmigrat wurde mit $5,6 \pm 0,1 \text{ mg/dm}^2$ bestimmt. Die Migration in 95 % Ethanol erfolgte für 4 h bei 60 °C und es wurde eine Gesamtmigration von $1,2 \pm 0,1 \text{ mg/dm}^2$ ermittelt.

Zur Aufklärung der in diesen beiden Migraten enthaltenen spezifischen Substanzen wurden verschiedene chromatographische und spektroskopische Methoden verwendet. Dabei dient die $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie zunächst als Screening-Methode für die migrierenden Substanzen in den Extrakten. Zur qualitativen Absicherung sowie Quantifizierung wurde die RP-HPLC mit den Detektoren UVD, FLD, ELSD, CLND und massenselektiver Detektion verwendet.

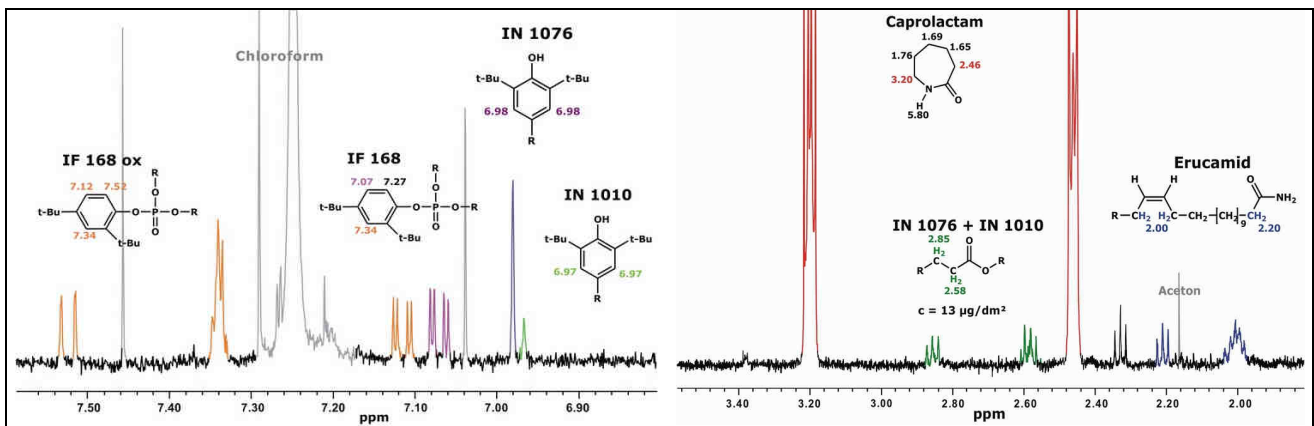


Abbildung 1: Ausschnitte aus dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des 95 % Ethanol-Migrats (4 h, 60 °C) in d-Chloroform, NMR Bedingungen: Frequenz 500,13 MHz, 128 scans, Rotationsfrequenz 20 Hz, T 295 K

$^1\text{H-NMR}$ -Screening

Einen schnellen Überblick über migrierende Substanzen erhält man mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie. Jede Substanz bzw. -klasse hat eine spezifische chemische Verschiebung im NMR-Spektrum (z.B. aromatische Protonen 6,9–8,5 ppm, Säureamide (Protonen am C-2): 2,0-2,3, etc.) (Abbildung 1). Diese Methode wurde bereits von Ehret-Henry et al. (1992) zur schnellen Identifizierung einzelner Additivklassen vorgeschlagen. In der hier vorgestellten Arbeit wurde dieses Prinzip ebenfalls aufgegriffen und es gelang zum Teil sogar eine spezifische

Unterscheidung von Einzelsubstanzen aufgrund des Einsatzes eines hoch-auflösenden NMR-Gerätes. In Abbildung 1 ist das ¹H-NMR-Spektrum des 95 % Ethanol-Migrats dargestellt. Die Zuordnung der chemischen Verschiebungen erfolgte anhand von Literaturdaten (Ehret-Henry et al., 1992) bzw. über Standards.

Tabelle 1: Nachweisgrenzen der Additive im Migrat mittels ¹H-NMR

Substanz	Nachweisgrenze [µg/dm ²]*
Erucamid	59
Caprolactam	27
IN 1010	18
IN 1076	27
IN 168 (ox)	102

* 70 mL Simulanz auf 2 dm² Oberfläche (14-fach konz.)

Es konnten das Gleitmittel Erucamid, das Polyamidmonomer Caprolactam und die Antioxidantien Irganox (IN) 1076 und Irganox 1010 identifiziert werden. Beiden Antioxidantien ist eine di-tert.-butyl-phenol-Gruppe gemeinsam. Jedoch ist über die Verschiebung der aromatischen meta-ständigen Protonen eine Unterscheidung möglich (Abbildung 1, IN 1010 6,97 ppm und IN 1076 6,98 ppm). Eine Unterscheidung der verschiedenen als Gleitmittel eingesetzten Amide ist jedoch nicht möglich, da diese sich strukturell nur um die Länge der Kohlenwasserstoffkette unterscheiden. Die Verschiebung dieser Protonen liegt im Bereich unter 2 ppm und ist somit auch nicht von weiteren migrierenden Kohlenwasserstoffen zu unterscheiden (nicht in Abbildung 1 dargestellt).

Durch Einsatz von Decamethylpentasiloxan als internen Standard ist auch eine absolute Quantifizierung der Substanzen mittels ¹H-NMR möglich. Die Nachweisgrenzen der einzelnen Additive im Migrat sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Es wird deutlich, dass durch das Konzentrieren der Migrats eine sehr empfindliche Detektion durch die ¹H-NMR-Spektroskopie erreicht werden kann.

RP-HPLC-Screening

Die Absicherung der Ergebnisse aus dem ¹H-NMR-Screening erfolgte mittels RP-HPLC. Zur eindeutigen Identifizierung der Substanzen wurde eine Vielzahl von universellen und spezifischen Detektionssystemen eingesetzt (UVD, FLD, ELSD, CLND, ESI-TOF-MS). Abbildung 2 stellt die RP-HPLC-Chromatogramme des 95 % Ethanol-Migrats dar. Das FLD-Chromatogramm ist nicht dargestellt, da keine weiteren Erkenntnisse daraus gewonnen wurden. Aufgrund der verschiedenen Detektoren konnten die Substanzen spezifisch identifiziert werden. Durch die universelle Verdampfungslichtstretedetektion konnte weitgehend ausgeschlossen werden, dass nicht-flüchtige Substanzen unentdeckt bleiben. Im Chromatogramm des Chemolumineszenz Stickstoff Detektors (CLND) wird allein das stickstoffhaltige Erucamid detektiert.

Tabelle 2: Quantifizierung der migrierenden Additive

	Gehalt [$\mu\text{g}/\text{dm}^2$]	
	95 % Ethanol	Iso-Octan
Irgafos 168ox	309 \pm 20	316 \pm 14
Irgafox 1076	178 \pm 6	168 \pm 5
Irgafox 1010	28 \pm 5	67 \pm 10
Eurucamid	114 \pm 5	98 \pm 5

Damit kann ausgeschlossen werden, dass weitere stickstoffhaltige Substanzen in detektierbaren Mengen migrieren (Nachweisgrenze = 0,3 mg N/L). Im ELSD-Chromatogramm (Abbildung 2 grün) sind die Peaks von IF 168ox, IN 1010 (Coelution) sowie Irganox 1076 zugeordnet. Bei Retentionzeiten von 62,5-67,5 min ist ein sehr breiter Peak zu erkennen. Dieser Peak ist auf niedermolekulare Ethylenoligomere zurückzuführen. Die Absicherung der Identität der Additive erfolgte durch den Vergleich der relativen Responses in den jeweiligen Detektoren sowie über massenselektive Detektion. Allerdings ließen sich die PE-Oligomeren unter den gewählten Bedingungen (AP-ESI, pos.) nicht ionisieren.

Über die beschriebenen Detektoren konnten die Substanzen auch quantifiziert werden. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 2 zusammengefasst. Die Quantifizierung des Erucamids erfolgte am CLND mit Coffein als stickstoffhaltiger Standardsubstanz. Die Gehalte der Antioxidantien wurden im UV bei 220 nm ermittelt. Für die Trennung von IF 168ox und IN 1010 wurde eine isokratische Methode angewandt, die hier nicht dargestellt ist. Irgafos 168 und seine oxidierte Form wurden als Summe angegeben.

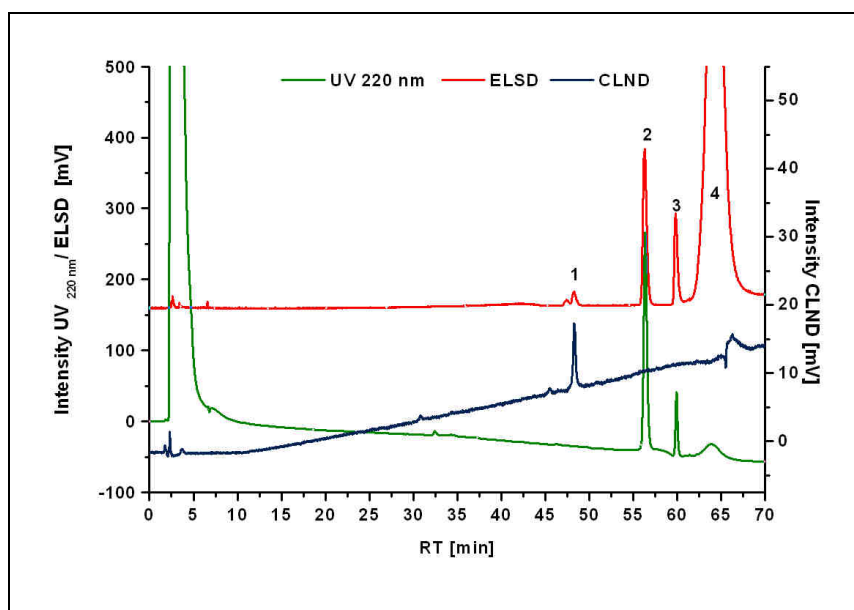


Abbildung 2: RP-HPLC-Chromatogramme des 95 % Ethanol Migrats (4h, 60°C): **1** Erucamid, **2** IF 168ox + IN 1010, **3** IN 1076, **4** niedermolekulare PE-Oligomere; chromatographische Bedingungen: Multospher 100 RP18-5 μ (250 \times 3 mm), 0.4 mL/min, 60 °C, 0.1 % TFA, Isopropanol (IPA), Gradient: 0-49 min 10-80 % IPA, 49-54 min 80 % IPA, 55-68 min 100 % IPA, 69-85 min 10 % IPA, Detektion: UVD: 220 nm, ELSD: 3.5 bar, Vernebler 30 °C, Verdampfer 35 °C, CLND: O₂ 150 mL/min, Ar 50 mL/min, Ozon 25 mL/min, PMT 750 mV

Das in Abbildung 1 ausschließlich im 95 % Ethanolmigrat identifizierte Caprolactam ist eine mittelflüchtige Substanz. Da die Quantifizierung der Additive aus den Gesamtmigraten bestimmt wurde, welche bei 105 °C getrocknet wurden, taucht es sowohl in den in Abbildung 2 dargestellten Chromatogrammen nicht auf und wird auch bei der Bestimmung des Gesamtmigrats nicht mit erfasst. Die Menge an migrierendem Caprolactam wurde über ¹H-NMR mit 0,8 mg/dm² abgeschätzt.

GC-MS/FID und Hochtemperatur-GC-FID

Zur weiteren Absicherung wurden die Migrats mittels GC-MS/FID untersucht. Die Chromatogramme des 95 % Ethanol-Migrats und des Iso-Octan-Migrats sind in Abbildung 3 dargestellt. Im Retentionsbereich von 15-30 min sind in beiden Chromatogrammen eine Vielzahl von Einzelpeaks detektiert. Die Massenspektren dieser Substanzen konnten mit Hilfe der NIST-Datenbank einigen unverzweigten, gesättigten niedermolekularen Kohlenwasserstoffen von C18-C32 zugeordnet werden. Neben diesen gesättigten Kohlenwasserstoffen eluierten jedoch auch eine Vielzahl verzweigter und ungesättigter Aliphaten.

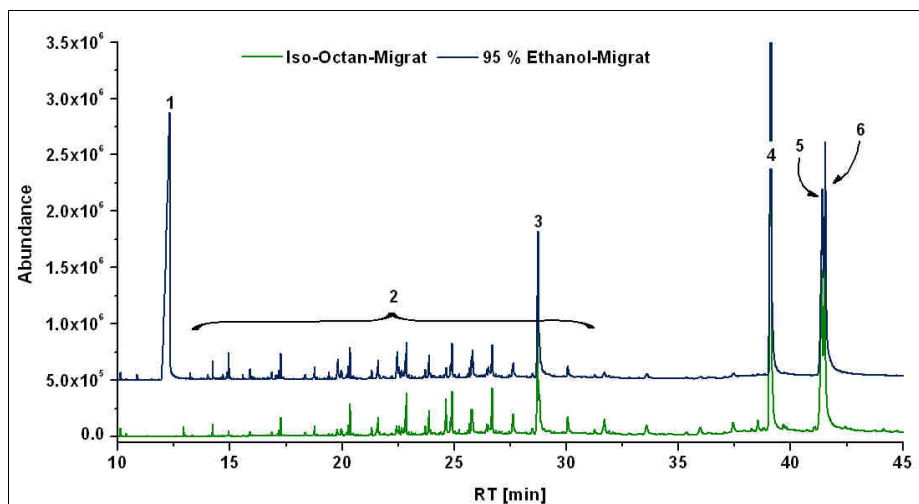


Abbildung 3: GC-TIC-MS-Chromatogramme des 95 % Ethanol-Migrats (blau) und Iso-Octan-Migrats (grün): **1** Caprolactam, **2** Alkane und Alkene, **3** Erucamid **4** IF 168, **5** IN 1076, **6** IF 168ox; chromatographische Bedingungen: Agilent HP-5 MS (30 m × 250 µm ID × 0,25 µm), splitless-Injektion bei 300 °C, Trägergas: He 5,0, 1 ml/min, Temperaturprogramm: 50 °C für 4 min, 15 °C/min auf 200 °C, 4 min isotherm, 10 °C/min auf 280 °C, 10 min isotherm, 30 °C/min auf 320 °C, 10 min isotherm, MS: ESI 70 eV

Eine Hochtemperatur-Gaschromatographie mit Flammenionisationsdetektion brachte weiteren Aufschluss über diese Substanzen (Abbildung 4). In rot dargestellt ist ein Standard-Kohlenwasserstoffmix von C12-C60 (gesättigt, unverzweigt). Im hier verwendeten System wurde bereits ab C32 eine verminderte Response im Standard festgestellt. Substanzen mit einer Anzahl von C-Atomen größer 50 konnten nicht mehr detektiert werden. Im Chromatogramm des Migrats (blau) können über einen Retentionszeitvergleich die im Standard enthalten unverzweigten Kohlenwasserstoffe

erkannt werden. Zwischen diesen unverzweigten Alkanen eluieren noch eine Vielzahl weiterer Peaks, die verzweigten Alkanen sowie ungesättigten Verbindungen zugeordnet werden (Bigger et al., 1996). Zur quantitativen Bestimmung der Kohlenwasserstoffe, die aus der Polyethylenschicht der Verbundfolie migrieren, ist diese Methode jedoch nicht geeignet, da einerseits aufgrund der Vielzahl von Einzelsubstanzen der Fehler sehr groß wäre und andererseits mit dieser Methode nicht alle höhermolekularen Kohlenwasserstoffe erfasst werden können.

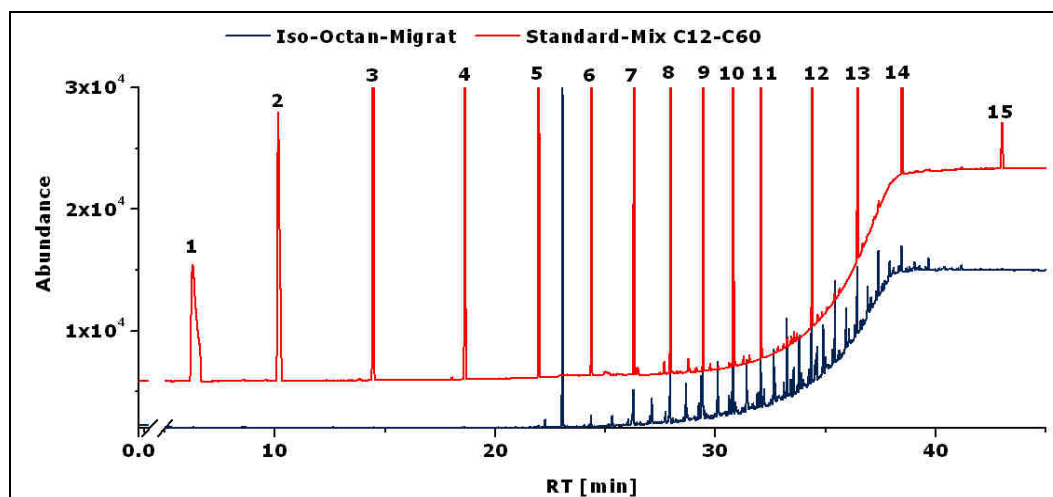


Abbildung 4: Ausschnitt aus dem HT-GC-FID-Chromatogramm des Iso-Octan-Migrats (2 h, 60 °C) und des C12-C60-Standard-Mix: 1 C12, 2 C14, 3 C16, 4 C18, 5 C20, 6 C22, 7 C24, 8 C26, 9 C28, 10 C30, 11 C32, 12 C36, 13 C40, 14 C44, 15 C50; chromatographische Bedingungen: Phenomenex ZB-5HT INFERNO (30m×250 µm ID × 0.25 µm) splitless-Injektion bei 300 °C, Trägergas: He 5.0, 1 ml/min, Temperaturprogramm: 110 °C, 5 °C/min auf 200 °C, 10 °C/min auf 380 °C, 10 min isotherm, FID: 300 °C

Quantifizierung von PE mittels ¹H-NMR

Zur Quantifizierung der identifizierten Kohlenwasserstoffe, welche durch Migration aus der PE-Siegelschicht in das Migrat gelangen, kann die ¹H-NMR eingesetzt werden. Das aus CH-, CH₂ und CH₃-Gruppen aufgebaute Polyethylen zeigt chemische Verschiebungen im ¹H-NMR-Spektrum im Bereich von 0,8-0,9 ppm (CH₃-Gruppen) und 1,1-1,3 ppm (CH- und CH₂-Gruppen). Abbildung 5 zeigt Verschiebungen der Protonen in einem Modell-PE.

Da jedoch auch die aliphatischen Protonen der Additive Verschiebungen im Bereich 0,8-1,4 ppm aufweisen, muss zunächst der PE Oligomer-Anteil isoliert werden. Dazu wurde eine Verseifungs-/Extraktionsmethode verwendet. Das trockene Migrat wurde mit methanolischer KOH für 1 h 100 °C erhitzt und anschließend der Überstand dekantiert. An der Glaswand blieb ein Großteil des PE haften, welches nach Waschen mit Methanol in d-Chloroform und internem Standard gelöst wurde. Der methanolische Rückstand wurde mit Iso-Octan extrahiert, da ein Teil der Ethylenoligomere noch in Methanol löslich ist. Die vereinigten Iso-Octan-Extrakte wurden ebenfalls zur Trockne gebracht und in d-Chloroform aufgenommen. Abbildung 6 zeigt ein ¹H-NMR-Spektrum eines extrahierten Migrats. Als interner Standard wurde Decamethylpentasiloxan (D5) verwendet. Die

Quantifizierung erfolgte über die Verhältnisse der Integrale der spezifischen Protonensignale. Dabei wurde vernachlässigt, dass sich unter der Methylenverschiebung auch noch Methingruppen befinden. Aufgrund des geringen Vorkommens dieser Gruppen ist der Fehler jedoch vernachlässigbar. Die Summe der Massen, die für Methyl- und Methylengruppen errechnet wurden, ergibt den Gehalt an niedermolekularem Polyethylen. Für das 95 % Ethanol Migrat wurde der PE-Gehalt mit $410 \pm 50 \mu\text{g}/\text{dm}^2$ ermittelt, für das Iso-Octan Migrat mit $4640 \pm 170 \mu\text{g}/\text{dm}^2$.

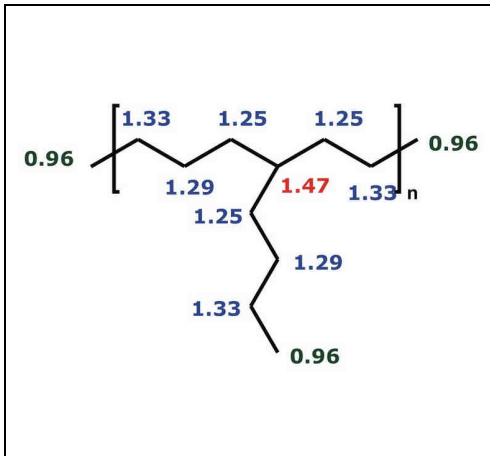


Abbildung 5: berechnete ^1H -NMR-Verschiebungen für ein "Modell"-PE, ermittelt aus den 2D-NMR-Daten

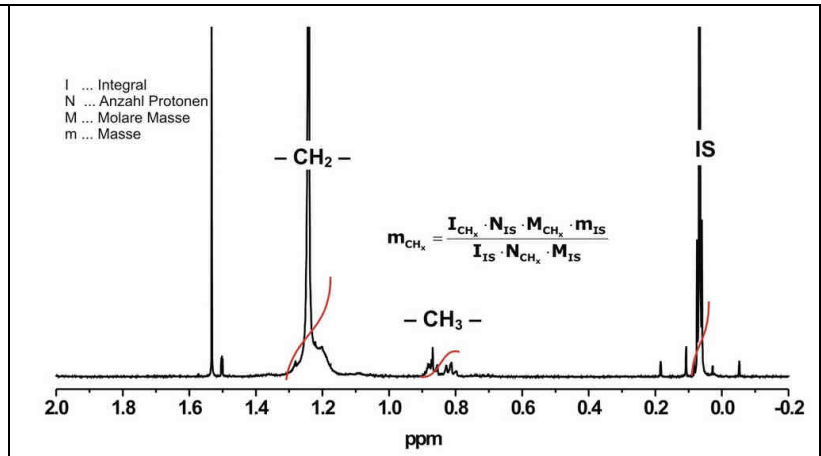


Abbildung 6: ^1H -NMR Spektrum eines Migrats nach Verseifung/Extraktion mit Berechnungsformel für die Quantifizierung der jeweiligen Struktureinheit; spektroskopische Bedingungen: siehe Abbildung 1

Bilanzierung

Ziel der Untersuchungen war die vollständige Aufklärung der migrierenden Substanzen in den Ersatzsimulanzien 95 % Ethanol und Iso-Octan. In Abbildung 7 und 8 sind die erhaltenen Ergebnisse in einem Kreisdiagramm jeweils für das entsprechende Simulanz dargestellt.

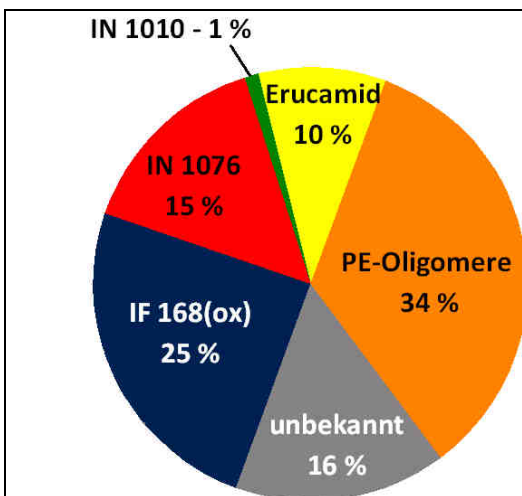


Abbildung 7: Bilanzierung des Gesamtmigrats (GM) in 95% Ethanol (4 h, 60 °C), GM = $1,2 \text{ mg}/\text{dm}^2$

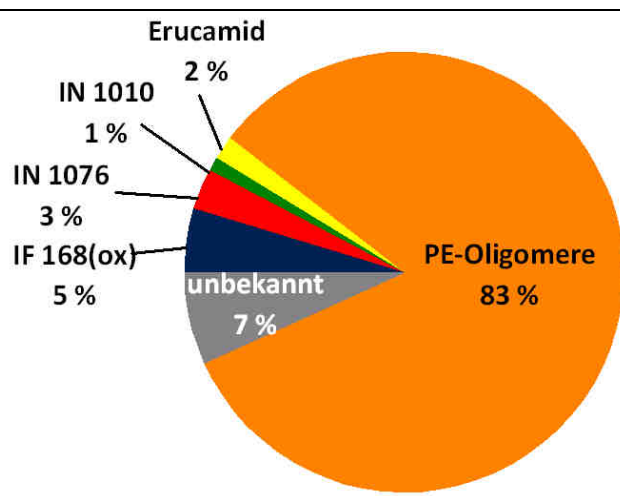


Abbildung 8: Bilanzierung des Gesamtmigrats in Iso-Octan (2 h, 60 °C), GM = $5,6 \text{ mg}/\text{dm}^2$

Das Gesamtmigrat einer Verbundfolie in die Ersatzsimulanzen 95 % Ethanol (4 h, 60 °C) und Iso-Octan (2 h, 60 °C) konnte mit Hilfe von ¹H-NMR, RP-HPLC mit UVD, ELSD, CLND und ESI-TOF-MS sowie GC-MS/FID annähernd vollständig identifiziert und quantifiziert werden. Die den Hauptanteil der Migrante ausmachenden Ethylenoligomere wurden nach Verseifung der Extrakte mittels ¹H-NMR quantifiziert.

Die im Diagramm dargestellten verbleibenden Unbekannten ergeben sich aus Messunsicherheiten bei der Bestimmung der Additive, sowie des niedermolekularen Polyethylens. Weiterhin wurde für die PE-Oligomerbestimmung die Wiederfindungsrate nicht miteinbezogen, da diese stark vom Polyethylentyp abhängt und für die gezeigten Untersuchungen kein nicht-additiviertes Polyethylen desselben Ausgangsmaterials vorlag. Weiterhin ist auch die Bestimmung des Gesamtmigrats selbst analytischen Schwankungen unterlegen. Mit Hilfe der angewandten analytischen Methoden waren keine weiteren organischen Substanzen im Migrat detektierbar. Auf anorganische Bestandteile wie beispielsweise aus Katalysatorresten wurde nicht geprüft.

Betrachtet man weiterhin die Anteile der Additive und der Ethylenoligomere in den Migraten im Vergleich (Abbildung 9) wird deutlich, dass die Gehalte der migrierenden Additive in den beiden Ersatzsimulanzen annähernd gleich sind. Zieht man jedoch den Gehalt an PE-Oligomeren im Iso-Octan im Vergleich zum Ethanol heran, so kann der Unterschied in der Gesamtmigration beider Ersatzsimulanzen (95% EtOH: 1,2 mg/dm², Iso-Octan: 5,6 mg/dm²) durch die verschiedenen Gehalte an PE-Oligomeren erklärt werden.

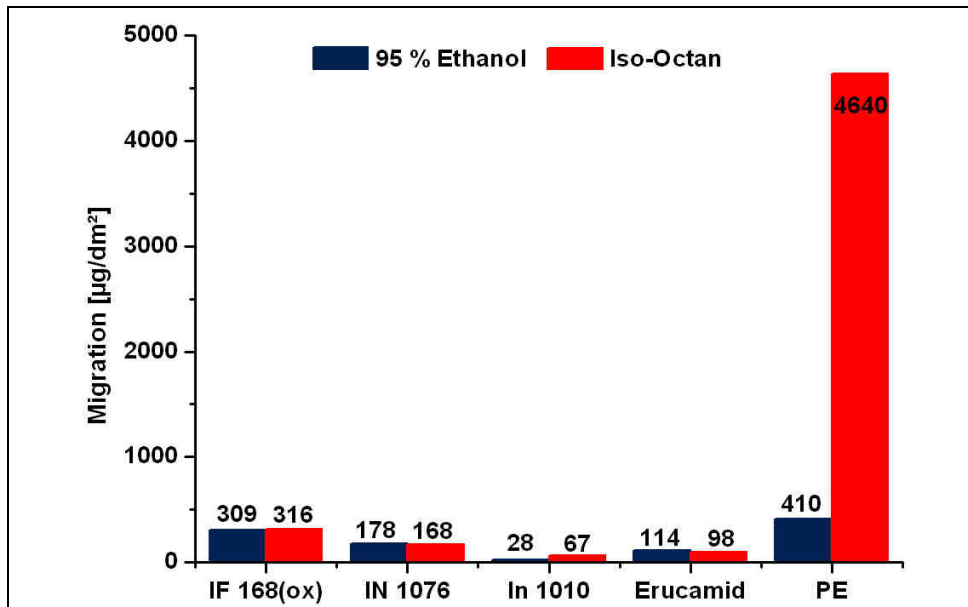


Abbildung 9: Quantitativer Vergleich des 95 % Ethanol- und Iso-Octan-Migrats, Gehalte in µg/dm²

Danksagung

Wir danken der Firma Wipak Walsrode GmbH & Co. KG für die Bereitstellung des Probenmaterials.

Literatur

1. Bigger, S. W., Watkins, P. J., Raymond, M. A., Verenich, S. S., and Scheirs, J. (1996). Characterization of oligomeric by-products produced during the high-pressure polymerization of ethylene. *Eur Polym J*, 32(4):487–492.
2. DIN EN 1186-14 (2002). DIN Deutsches Institut für Normung e.V. - Werkstoffe und Gegenstände in Kontakt mit Lebensmitteln – Kunststoffe - Teil: 14: Prüfverfahren für Ersatzprüfungen für die Gesamtmigration aus Kunststoffen, die für den Kontakt mit fettigen Lebensmitteln bestimmt sind, unter Verwendung der Prüfmedien Iso-Octan und 95 %igem Ethanol.
3. EG (2002). RL/2002/72EG Richtlinie 2002/72/EG der Kommission vom 6. August 2002 über Materialien und Gegenstände aus Kunststoff, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen. ABl. L 220 vom 15.8.2002 S. 18.
4. Ehret-Henry, J., Bouquant, J., Scholler, D., Klinck, R., and Feigenbaum, A. (1992). ¹H-NMR for the safety control of food packaging materials: Analysis of extracts from polyolefin samples. *Food Addit Contam*, 9(4):303–314.
5. EWG (1982). RL 82/711/EWG Richtlinie des Rates vom 18. Oktober 1982 über die Grundregeln für die Ermittlung der Migration aus Materialien und Gegenständen aus Kunststoff, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen. ABl. L 297 vom 23.10.1982, S. 26.
6. EWG (1985). RL 85/572/EWG Richtlinie des Rates vom 19. Dezember 1985 über die Liste der Simulanzlösemittel für die Migrationsuntersuchungen von Materialien und Gegenständen aus Kunststoff, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen. ABl. L 372 S. 14.
7. Malz, F. and Jancke, H. (2005). Validation of quantitative NMR. *J Pharm Biomed Anal*, 38:813–823.
8. Piringer, O. G. (2008). *Plastic Packaging: Interactions with Food and Pharmaceuticals*. Wiley-VCH; 2., vollständig überarbeitete Auflage.