

Methoden zur Untersuchung von Papier, Karton und Pappe für Lebensmittelverpackungen und sonstige Bedarfsgegenstände

7. Multimethoden-Methoden für einzelne Stoffgruppen, die in mehreren Laboratorien erprobt wurden

5.2 Bestimmung von Kontaminanten aus Papier

1. Allgemeine Angaben

Die vorliegende Methode dient zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung von Kontaminanten in Papier und Kartonage, wie z.B. Benzophenon, Diisopropyl-naphthalin, Diisobutylphthalat und Dibutylphthalat sowie 2-Phenylphenol. Auch diverser Photoinitiatoren und z.B. Anthrachinon werden erfasst.

Begriff

Unter dem Gehalt an Kontaminanten wird der mit dem hier beschriebenen Verfahren bestimmte Gehalt an den einzelnen Verbindungen verstanden. Er wird in mg/kg Papier angegeben

2. Grundlagen des Verfahrens

Die o.g. Verbindungen werden mit dem Verfahren der Accelerated Solvent Extraktion (ASE) unter Zusatz eines Inneren Standards aus dem Papier extrahiert und mittels GC-MS nachgewiesen und bestimmt. Es sind besondere Maßnahmen zu ergreifen, um Lösungsmittel und Geräte von Phthalaten zu reinigen.

3. Chemikalien und Lösungen

Falls nicht anders angegeben, müssen die verwendeten Chemikalien analysenrein sein.

| Chemikalie | Konzentration | Sonstige Angaben |
|----------------------|---------------|--|
| Aceton | k. A. | picograde |
| Hexan | k. A. | picograde |
| Gereinigtes Hexan | k. A. | Hexan (picograde) wird mit 3,5 Gew. % Aluminiumoxid versetzt, gut geschüttelt und mindestens 5 Stunden - am besten über Nacht - stehen gelassen. |
| Aluminiumoxid (ALOX) | k. A. | z.B. Alumina-B Super, Firma ICN Aktivitätsstufe I |
| Referenzsubstanzen | k. A. | Di-isobutylphthalat (DiBP), Dibutylphthalat (DBP), Diisopropyl-naphthalin (DIPN), z.B. KMC Nr. 124010, Rütgers Kureha |

Solvents GmbH,
2-Phenylphenol (OPP),
Benzophenon,
Di-n-propylphthalat
(DnPP), Innerer Standard
(ISTD).

| Lösungen | | |
|------------------------|-----------|--|
| ISTD-Stammlösung | 200 µg/ml | 10 mg DnPP werden in einem 50 ml Messkolben genau eingewogen und mit gereinigtem Hexan aufgefüllt. |
| Verdünnte ISTD-Lösung | 10 µg/ml | 2,5 ml der ISTD-Stammlösung werden in einen 50 ml Messkolben pipettiert und mit gereinigtem Hexan aufgefüllt (1:20). |
| Kalibrier-Stammlösung | 400µg/ml | 30 mg DIPN und jeweils 10 mg der übrigen Substanzen werden in einem 25 ml Messkolben genau eingewogen und mit gereinigtem Hexan aufgefüllt. |
| Standardlösung I | 40 µg/ml | 2 ml der Kalibrier-Stammlösung werden in einem Messkolben mit gereinigtem Hexan auf 20 ml aufgefüllt. |
| Standardlösung II | 4 µg/ml | 2 ml der Standardlösung I werden in einem Messkolben mit gereinigtem Hexan auf 20 ml aufgefüllt. |
| Standardlösung III | 0,4 µg/ml | 2 ml der Standardlösung II werden in einem Messkolben mit gereinigtem Hexan auf 20 ml aufgefüllt. |
| Kalibrierlösung Papier | | Jeweils 1, 2, 5, 8, 10 und 15 ml Standardlösung II sowie je 2,0 ml verdünnte ISTD-Lösung werden in einen 20 ml Messkolben pipettiert und mit gereinigtem Hexan aufgefüllt. |

Tabelle 1 Chemikalien und Lösungen

4. Geräte

- 4.1 Extraktionseinheit, hier: Accelerated Solvent Extraktion, ASE
- 4.2 GC-MS: GCQ (Ion Trap) oder Quadrupol
- 4.3 Säulen: 1.) RXI 5ms 30m *0,25 mm I.D. 0,25 µm Filmdicke
alternativ

- 2.) DB-35ms 30 m * 0,25 mm I.D. 0,25 µm Filmdicke
- 4.4 0,45 µm Cellulose Filter, hier: Macherey Nagel Chromafil RC45/15 MS
Nr.: 729 037 (Filter mit geringster DiBP-Abgabe)
 - 4.5 Aluminium-Folie
 - 4.6 Vollpipetten 0,5 ml; 1 ml; 2 ml; 3 ml; 4 ml
 - 4.7 Messkolben 10 ml; 20 ml; 25 ml; 50 ml
 - 4.8 Glasspritze 10 ml mit LUER Konus
 - 4.9 Glasfaserfilter für ASE Extraktionskammer 13 mm Durchmesser; z. B. Macherey
Nagel MN 85/90 BF
 - 4.10 Ottawa Sand für die ASE, z. B. Fa. Fisher Scientific
 - 4.11 Muffelofen bzw. Hochtemperatur Trockenschrank

5. Durchführung

- 5.1 Reinigungsprozeduren (Wichtig: !!)

Phthalate, hier insbesondere DiBP, sind ubiquitär vorkommende Umweltkontaminanten. Vor Beginn der Analysen muss daher der komplette Aufarbeitungsvorgang auf Blindwertfreiheit überprüft werden!!

Um die Glasgeräte von Phthalaten reinigen zu können, ist es notwendig, neuwertige Glasgeräte zu verwenden, welche möglichst wenige Kratzer aufweisen.

Folgende Maßnahmen sollten in jedem Fall vor der Aufarbeitung durchgeführt werden, um phthalatfreie Blindwerte zu erhalten:

- 5.1.1 Die ASE Kammern werden zunächst mit Aceton (picograde) gespült und dann je zweimal 10 min mit Hexan (picograde) im Ultraschallbad gereinigt. Anschließend werden sie mit Hilfe der ASE (Methode Nr. 3) gespült. Dieser Schritt ist notwendig, um die Fritten ausreichend zu reinigen.
 - 5.1.2 Messkolben, Pipetten und Glasspritze werden zweimal mit gereinigtem Hexan gespült, anschließend – sofern nötig – im Trockenschrank bei 100°C getrocknet.
 - 5.1.3 Alle Glasgeräte (mit Ausnahme der geeichten Volumenmessgeräte), Glasfaserfilter, Pasteurpipetten, GC-Autosampler-Vials sowie der Ottawa-Sand für die ASE werden bei 400 °C für mindestens 4 Stunden oder besser über Nacht im Muffelofen ausgeglüht.
 - 5.1.4 Die Kappen und Septen für die GC-Autosampler-Vials werden je dreimal mit gereinigtem Hexan gespült und anschließend kurz im Trockenschrank bei 100°C getrocknet.
 - 5.1.5 Der GC wird mit Hilfe eines Blank-Laufes (z.B. ohne Spritze) auf mögliche Verunreinigungen überprüft. Septum, Liner und Graphitdichtungen liefern bekanntermaßen Probleme im Hinblick auf die Phthalatkontamination. Die Spügläschen des Autosamplers werden mit gereinigtem Hexan gespült, befüllt und mit Alufolie anstelle des Dichtungsringes verschlossen.
- 5.2 Papier/Kartonage: Probenvorbereitung und Extraktion

Hinweis: Die Proben werden bis zum Beginn der Aufarbeitung in Alufolie verpackt gelagert. Die Papierproben sollten nicht direkt mit den Fingern berührt werden, d.h. zur Probenvorbereitung werden Handschuhe getragen.

Ein repräsentativer Teil der Papierprobe (z.B. ¼ der Probe oder ein Streifen über die gesamte Länge, mindestens 10 g) wird zunächst in schmale Streifen von ca. 5 x 0,5 cm Kantenlänge geschnitten, die Streifen gut gemischt und ein Teil davon (ca. 3-5 g) in kleine Stücke von ca. 5 x 5 mm Kantenlänge zerschnitten.

Das Ende einer 5-ml-ASE-Extraktionskammer wird verschraubt und ein Glasfaserfilter mit Hilfe eines Kunststoffstempels am Ende der Kammer fixiert. 1 g der zerkleinerten Probe werden genau in der Kammer eingewogen. Die Kammer wird mit Ottawa-Sand befüllt, um die Zwischenräume auszufüllen und als Abschluss ein Glasfaserfilter auf das Probengut gegeben.

0,25 ml der ISTD-Stammlösung (siehe Tabelle 1) werden als Vorlage in ein ASE-Vial pipetiert. Für die Extraktion von Papier/Kartonage hat sich die ASE-Extraktionsmethode Nr. 1 bewährt. Nach erfolgter Extraktion wird das Vial entnommen, der Extrakt quantitativ in einen 50 ml Messkolben überführt und mit gereinigtem Hexan aufgefüllt.

Anschließend wird die Lösung über ein 0,45 µm Filter filtriert. Dazu wird eine 10 ml Glasspritze mit der Probenlösung gefüllt und das Volumen über das Filter gegeben. Die ersten 7-8 ml werden verworfen, um das Filter zu waschen. Die letzten 2 ml werden in ein GC-Vial filtriert.

Die Einwaagen und Verdünnungsschritte sind sorgfältig in den Rohdaten zu dokumentieren. Falls von den hier bezeichneten Bedingungen abgewichen wird, ist die Abweichung zu dokumentieren.

5.3 ASE Bedingungen

ASE Methode 1: Extraktion aus Papier

| | |
|--------------|-------------------|
| Preheat: | 5 min. |
| Heat: | 5 min. |
| Static: | 10 min. |
| Flush: | 100 % |
| Purge: | 60 sec. |
| Cycles: | 5 |
| Pressure: | 100 bar |
| Temperature: | 100 °C |
| Solvent: | gereinigtes Hexan |

ASE Methode 3: zum Reinigen der Kammern

Bemerkungen:

Bei der Extraktion der Papierproben wird diese Methode jeweils zwischen 2 Proben mit einer leeren Extraktionskammer zur Reinigung der ASE insbesondere der Kapillaren verwendet !

Zudem dient diese Methode zur Reinigung der Extraktionskammern, da insbesondere die Fritten durch das Reinigen im Ultraschallbad nicht ausreichend von Phthalaten befreit werden (s. 5.1.1).

| | |
|----------|---------|
| Preheat: | 10 min. |
| Heat: | 5 min. |
| Static: | 10 min. |
| Flush: | 100 % |

Purge: 60 sec.
Cycles: 3
Pressure: 100 bar
Temperature: 80 °C
Solvent: gereinigtes Hexan

5.4 GC-MS Bedingungen

Die quantitative Bestimmung mittels GC-MS Detektion wird im EI-Modus durchgeführt. Die quantitativen Bestimmungen in beiden Matrices sind sowohl mit dem GCQ (Ion Trap) als auch mit dem GC/MS Quadrupol durchführbar. Die folgenden, auf den GC-MS-Geräten installierten Methoden haben sich bewährt:

5.4.1 GC-MS-Bedingungen – Ion Trap

Methode: DIBPDIPNPapier
Trennsäule: Quarz-Kapillare RXI-5ms (Restek 30 m,
0,25 mm Innendurchmesser, 0,25 µm Filmdicke)
Trärgas: Helium
Constant velocity: 40,0 cm/sec

Einspritzmenge: 1 µl Splitless
Split open time: 1,50 min
Injektor: 280°C
Ofentemperatur: 80°C (1 min)-225°C (6°C/min)-280°C (30°C/min), 280°C (10 min)
Transferline: 250°C
Ionenquelle: 175°C
Scan Mode: Full Scan
Micro Scans : 2
Max Ion Time: 25 ms

5.4.2 GC-MS-Bedingungen – Quadrupol

Methode: RueckPapierScanD45SSL.M
Trennsäule: Quarz-Kapillare DB-35ms (J&W) 30 m,
0,25 mm Innendurchmesser, 0,25 µm Filmdicke
Trärgas: Helium
Vordruck: 1,020 bar
Einspritzmenge: 1 µl Pulsed Splitless
Pulse pressure: 2 bar
Purge time: 3 min
Injektor: 270°C
Ofentemperatur: 80°C (1 min)-225°C (6°C/min)-300°C (30°C/min), 300°C (10 min)
Transferline: 230°C
Ionenquelle: 150°C

6. Auswertung

6.1 Nachweis und quantitative Bestimmung

Bei der Bestimmung der Substanzen mit Hilfe der Ion-Trap erfolgt die Datenaufnahme im Full Scan Modus. In der Processing Methode erfolgt die Festlegung der für die Quantifizierung benötigten Massen. Als Absicherung dient das jeweilige Massenspektrum der Substanz.

| Substanz | Massen (m/z) |
|-----------------------------|--------------|
| DNPP (ISTD) | 149 |
| 2-Phenylphenol | 170 |
| Benzophenon | 182 |
| DIPN Diisopropyl-naphthalin | 212 |
| DIBP Diisobutylphthalat | 149 |
| DBP Dibutylphthalat | 149 |

Tabelle 2 Massen zur Quantifizierung

Die Datenaufnahme bei den Quadrupol-Geräten erfolgt im SIM-Modus unter Anwendung folgender Target- und Qualifiziermassen:

| Substanz | Massen [m/z] | Dwell time [msec] |
|------------------------|--------------|-------------------|
| DNPP (ISTD) | 149 T | 50 |
| | 104 Q | 50 |
| | 170 T | 50 |
| 2-Phenylphenol | 141 Q | 50 |
| | 115 Q | 50 |
| | 182 T | 50 |
| Benzophenon | 105 Q | 50 |
| | 77 Q | 50 |
| DIPN | 212 T | 50 |
| | 197 Q | 50 |
| Diisopropyl-naphthalin | 155 Q | 50 |
| | 149 T | 50 |
| DIBP | 223 Q | 50 |
| | 104 Q | 50 |
| Diisobutylphthalat | 149 T | 50 |
| | 223 Q | 50 |
| DBP | 149 T | 50 |
| | 223 Q | 50 |
| Dibutylphthalat | 104 Q | 50 |
| | 104 Q | 50 |

Tabelle 3 Massenfragmente

T = Targetion, Q= Qualifiziermassen

Die Absicherung erfolgt über die Verhältniswerte von Target zu Qualifizierungen. Als Kriterium der Übereinstimmung dürfen die Verhältniswerte (Ratio) von Target/Qualifizierungen nicht mehr als 20 % vom ermittelten und kalibrierten Verhältnis einer Standardlösung abweichen.

Der Gehalt der Substanzen in der Messlösung wird mit Hilfe der jeweiligen Kalibrierkurve nach der Methode des internen Standards bestimmt. Der Gehalt wird in µg/ml Lösung angegeben.

Die Berechnung des Gehaltes im Papier erfolgt nach folgender Formel:

$$\text{Gehalt im Papier (mg/kg)} = \frac{\text{Gehalt}_{\text{Messlg.}} (\mu\text{g/ml}) * 50 \text{ ml}}{\text{EW (g)}}$$

EW: Einwaage der Probe in g

Der hier genannte Faktor bezieht sich auf das oben angeführte Endvolumen von 50 ml.

7. Analytische Qualitätssicherung

Die Daten zur internen und externen Validierung des Verfahrens sind in einem gesonderten Ordner dokumentiert.

8. Literatur

B. Brauer, T. Funke: Bestimmung von Kontaminanten in Papier aus recycelten Fasern und verpackten Lebensmitteln, Dtsch. Lebensm.-Rundsch. 104 (2008) 330-335.