

Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR), Berlin  
und Kantonales Labor Zürich

# Messung von Mineralöl - Kohlenwasser- stoffen in Lebensmitteln und Verpackungsmaterialien

*Hinweis:*

*Dieses Kompendium wurde ausschließlich zusammengestellt für die Entwicklung und Etablierung von Analysemethoden zur Bestimmung von Mineralöl Kohlenwasserstoffen im Bereich der Lebensmittelkontaktmaterialien. Die in diesem Dokument angeführten Chromatogramme und Daten wurden in Zusammenarbeit zwischen dem Kantonalen Labor Zürich (KLZH) und dem Nationalen Referenzlabor „für Stoffe, die dazu bestimmt sind mit Lebensmittel in Berührung kommen“ im Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) erstellt.*

*Die in diesem Dokument dargestellte Integration der Chromatogramme bis C24 bzw. C25 stellt keinen Vorgriff auf geplante gesetzliche Regelungen zu Mineralölübergängen aus Recyclingpapier und –karton auf Lebensmittel dar und hat keinen Einfluss auf die Methodenentwicklung.*

# Messung von Mineralöl - Kohlenwasserstoffen in Lebensmitteln und Verpackungsmaterialien

1	Ziele .....	5
1.1	Matrices .....	6
1.2	Richtwerte und Grenzwerte .....	6
1.3	Charakterisierung des Mineralöls .....	7
1.3.1	Molekularmassenverteilung .....	7
1.4	Relevanter Molekularmassenbereich für den Übergang in trockene Lebensmittel .....	8
2	Methodische Hintergründe .....	9
2.1	Frühere Methoden .....	9
2.2	Heute: Gaschromatographie mit Flammenionisationsdetektion .....	9
2.3	Vortrennung .....	10
2.4	Probenahme .....	11
2.4.1	Trockene Lebensmittel in Kartonschachteln .....	11
2.4.2	Karton .....	13
2.5	Extraktion .....	13
2.5.1	Trockene Lebensmittel .....	13
2.5.2	Nasse Lebensmittel .....	14
2.5.3	Karton .....	14
2.5.4	Kunststoffe .....	14
2.6	Vortrennung .....	15
2.6.1	Anforderung .....	15
2.6.2	Test und Verifizierungsstandards .....	15
2.6.3	Optimierung der Vortrennung .....	16
2.6.4	Kapazität für Fett .....	17
2.7	Anreicherung .....	18
2.7.1	Für die GC erforderlicher Probenaliquot .....	18
2.7.2	Keeper-Wirkung .....	18
2.7.3	Anreicherung vor oder nach der Vortrennung? .....	19
2.7.4	Toluol als Bremser und Keeper .....	20
2.8	Gaschromatographische Analyse .....	20
2.8.1	Solvent trapping .....	21
2.8.2	Rekonzentration durch den Retention gap Effekt .....	22
2.8.3	Dampfausgang .....	23
2.8.4	Splitlose Einspritzung mit Concurrent Solvent Recondensation (CSR) .....	23
2.8.5	On-column Einspritzung .....	27
2.8.6	Lösungsmittelabdampfung .....	27
2.8.7	Trennsäule .....	28
2.8.8	Chromatographische Bedingungen .....	33
2.9	Quantifizierung .....	34

2.9.1	Interne Standards.....	35
2.9.2	Auswertung der Chromatogramme.....	36
3	Manuelle Methode zur MOSH/MOAH-Bestimmung.....	36
3.1	Materialien .....	36
3.1.1	Reagenzien .....	36
3.1.2	Kieselgel.....	37
3.1.3	Glaswaren .....	38
3.1.4	Lösungen .....	38
3.1.5	Geräte .....	39
3.1.6	Gaschromatographie.....	39
3.2	Probenahme und Lagerung.....	40
3.2.1	Lebensmittel in Kartonverpackungen.....	40
3.2.2	Papier/Karton-Proben.....	41
3.3	Probenvorbereitung/Extraktion .....	41
3.3.1	Trockene Lebensmittel .....	41
3.3.2	Nasse Lebensmittel.....	41
3.3.3	Speiseöle und Fette .....	42
3.3.4	Fettgewebe .....	42
3.3.5	Aufschluss für Milch und Milchprodukte.....	43
3.3.6	Zuckerwaren/Bonbons.....	43
3.3.7	Schokolade .....	43
3.3.8	Säuglingsmilchnahrung in Pulverform .....	43
3.3.9	Papier/Karton-Proben.....	44
3.3.10	Pulpen.....	45
3.3.11	Kunststoffe .....	45
3.3.12	Mineralöle.....	45
3.3.13	Druckfarben.....	46
3.4	Vortrennung mittels konventioneller Flüssigkeitschromatographie.....	46
3.5	Anreicherung der aufgefangenen Fraktionen.....	46
3.6	GC-Analyse.....	46
3.6.1	Vorbereitung des Geräts .....	46
3.6.2	Trennbedingungen .....	47
3.6.3	Bedingungen für CSR-splitlose Einspritzung .....	47
3.6.4	Kontrolle von Blindwerten.....	48
3.7	Integration der Mineralölanteile .....	49
3.7.1	MOSH in Recyclingkarton .....	49
3.7.2	MOAH in Recyclingkarton .....	51
3.7.3	MOSH in Lebensmitteln.....	54
3.7.4	MOAH in Lebensmitteln.....	56
3.8	Potentielle Interferenzen mit Lebensmittelbestandteilen .....	57
3.8.1	Interferenzen in der MOSH-Fraktion.....	57
3.8.2	Potentielle Interferenzen von Lebensmittelbestandteilen mit MOAH....	59

3.9	Verifizierung .....	60
3.9.1	Kontrollprobe .....	61
3.9.2	Unvollständige Extraktion .....	61
3.9.3	Verluste beim Eindampfen .....	62
3.9.4	Falsche Schnitte in der Vortrennung.....	62
3.9.5	Gaschromatographie .....	63
3.9.6	Coelution mit dem internen Standard .....	64
4	Beispiele zur Unterstützung der Interpretation.....	65
4.1	Chromatogramme relevanter Komponenten.....	65
4.1.1	Recyclingkarton.....	65
4.1.2	Druckfarbenöle .....	67
4.1.3	Frischfaserkarton und -papier.....	69
4.1.4	Klebstoffe .....	72
4.1.5	POSH aus Polyethylen und Polypropylen.....	73
4.2	Fallbeispiele .....	78
4.2.1	In Faltschachteln verpackter Reis.....	78
4.2.2	Couscous .....	81
4.2.3	Teigwaren .....	83
4.2.4	Durchgang durch einen Kunststoffinnenbeutel .....	87
5	Betrachtungen zur Messung in niedrigen Konzentrationsbereichen .....	89
5.1	Messunsicherheit .....	89
5.2	Nachweisgrenze.....	89
5.2.1	Lebensmittel geringen Fettgehalts.....	89
5.2.2	Lebensmittel mittleren Fettgehalts .....	90
5.2.3	Fette und Öle .....	91
5.2.4	Weitere Anreicherung.....	91
6	Ergänzende Methoden .....	92
6.1	Eliminierung der langkettigen n-Alkane .....	92
6.2	Anreicherung für MOSH .....	94
6.3	Epoxydierung .....	95
6.4	Anreicherung der MOAH .....	96
6.5	Charakterisierung der MOAH .....	97
6.6	Hopane zur Bestätigung der mineralischen Herkunft.....	99
7	Literaturverzeichnis .....	101

# 1 Ziele

Die Analytik von Kohlenwasserstoffen aus Mineralölen und Kunststoffen in Verpackungsmaterialien, insbesondere in Lebensmitteln, ist anspruchsvoll bezüglich Methodik wie auch der Interpretation der Chromatogramme. Die methodischen Schritte der Extraktion, Anreicherung, Isolierung der MOSH/POSH und MOAH sowie deren gaschromatographische Messung werden beschrieben und die Auswertung der Chromatogramme an Beispielen aufgezeigt.

Die meisten Daten zur Kontamination von Lebensmitteln mit Kohlenwasserstoffen und Gehalten in damit in Bezug stehenden Materialien wurden mittels automatisierter on-line gekoppelter HPLC-GC-FID erzeugt. Diese Methode ist in vielen Publikationen beschrieben, in denen sich viele Chromatogramme befinden. Hier soll auf allgemeine Anforderungen an diese Analytik eingegangen werden, sowie im Speziellen auf eine off-line (oder manuelle) Methode, welche die gleichen analytischen Ziele mit gängigen GC-FID Instrumenten erreicht. Allerdings ist zu vermerken, dass hinter dieser off-line Methode bei weitem nicht die breite Erfahrung steht, wie sie für die on-line HPLC-GC vorhanden ist.

Die meisten der gezeigten Chromatogramme stammen aus der on-line-HPLC-GC-FID (normalerweise nicht speziell vermerkt), weil hier ein großer Fundus von Chromatogrammen zur Verfügung steht, woraus die Beispiele ausgewählt werden konnten. Die Chromatogramme entstanden über einen Zeitraum von etwa zwei Jahren. In dieser Zeit wurden die Vorsäule und die Trennsäule mehrmals gewechselt, die internen Standards ausgewechselt und auch andere Bedingungen leicht angepasst.

Folgende Typen von Kohlenwasserstoffen sind hier Thema:

- **Mineral oil saturated hydrocarbons (MOSH):** gesättigte Kohlenwasserstoffe aus Mineralöl. Sie bestehen aus Paraffinen (offenkettigen Kohlenwasserstoffen) sowie Naphthenen (cyclischen Kohlenwasserstoffen), die meistens hoch alkyliert sind und entweder direkt aus Erdöl stammen oder durch Hydrierung von Aromaten sowie weiteren Umwandlungsprozessen bei der Raffination gebildet wurden.
- **Mineral oil aromatic hydrocarbons (MOAH),** Kohlenwasserstoffe aus Mineralöl, die einen oder mehrere aromatische Ringe enthalten. Im Gegensatz zu den bei hohen Temperaturen gebildeten und seit Jahrzehnten häufig analysierten sogenannten polyaromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) sind die MOAH hoch alkyliert. Aus der Perspektive der PAK gesehen enthalten die MOAH geringe Anteile von PAK bzw. bestehen vor allem aus alkylierten PAK. In teilhydrierten Mineralölen kommen auch gesättigte und aromatische Ringe nebeneinander in der gleichen Verbindung vor. Kohlenwasserstoffe mit mindestens einem aromatischen Ring werden den MOAH zugerechnet, auch wenn sie zum weit überwiegenden Teil aus gesättigten Anteilen bestehen.
- **Polyolefin oligomeric saturated hydrocarbons (POSH),** gesättigte Kohlenwasserstoffe, welche als Oligomere aus Polyolefin-Kunststoffen und verwandten Produkten (z.B. Weichmachern auf Basis von oligomeren Olefinen) in die Lebensmittel übergehen können.
- **Poly-Alpha-Olefine (PAO),** hergestellt entweder aus kurzkettigen Polyethylenen (z.B. Hexen oder Octen) oder olefinischen Fraktionen, die aus dem Steam-Cracking-Verfahren gewonnen und destillativ in relativ enge Flüchtigkeitsbereiche getrennt werden. Niedrig molekulare PAOs sind beispielsweise Hauptbestandteil synthetischer Motorenschmieröle oder von im Lebensmittelbereich eingesetzten Schmierölen; höher molekulare

PAOs (Harze) werden für Kleber eingesetzt (Hotmelts bestehen weitgehend aus PAOs).

Olefine werden hier nicht angesprochen. Sie kommen in Mineralölen kaum vor, können allerdings in Crackprozessen entstehen und in Form von Syntheseprodukten in Mineralölen enthalten sein. Olefine können wichtige Bestandteile von Oligomeren aus Polyolefinen oder PAOs sein. Für Recyclingkarton wurden bisher keine Anhaltspunkte gefunden, die auf namhafte Anteile an Olefinen bis  $n\text{-C}_{24}$  hingewiesen hätten. Die beschriebene Methode ist nicht auf eine Messung der Olefine ausgelegt. Die Olefine können in der MOSH- oder der MOAH-Fraktion (in der HPLC-GC auch in der Zwischenfraktion) enthalten sein. Beim Verdacht auf Vorliegen von Olefinen kann der Probenextrakt epoxidiert werden (Kapitel 6.3), was dazu führt, dass die Elution der Olefine hinter die MOAH verschoben wird, und damit die Olefine faktisch eliminiert sind.

Auch flüchtige Mineralölprodukte, wie Benzine oder flüchtige Lösungsmittel/Reinigungsmittel, sind hier kein Thema: Die hier vorgestellten analytischen Methoden setzen erst bei Kohlenwasserstoffen um  $C_{10}\text{-}C_{12}$  ein (für flüchtigere Kohlenwasserstoffe sind Headspacetechniken besser geeignet).

Der Begriff „Mineralöl“ lässt sich nicht scharf fassen. Unter „Mineralöl“ (Öle und Wachse) fallen auch Kohlenwasserstoffe, welche in der Raffinerie durch chemische Umsetzungen, wie Cracking, Ringbildung, Kondensation, Hydrierung oder Dehydrierung, synthetisch hergestellt werden. Produkte werden selbst dann noch als „Mineralöl“ bezeichnet, wenn sie analog strukturierte Anteile an z.B. aus Kohle, Erdgas oder Biogas hergestellten Fischer-Tropsch Kohlenwasserstoffen enthalten oder sogar nur daraus bestehen.

### 1.1 Matrices

- Lebensmittel aller Art, trocken (Übergang ausschliesslich über die Gasphase) sowie benetzend (Migration durch „direkten Kontakt“)
- Karton und, Papier
- Kunststoffe

### 1.2 Richtwerte und Grenzwerte

Im Moment sind weder in der EU noch in europäischen Nationalstaaten Grenzwerte gesetzlich festgeschrieben.

Folgende Bewertungen zu Mineralölbestandteilen liegen vor:

- Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) von 2002 (Expert Committee on Food Additives, 59th report, p. 11-20; WHO Technical Report Series 913, [http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO\\_TRS\\_913.pdf](http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_913.pdf)). Die Bewertung bezieht sich auf „highly refined paraffinic and naphthenic liquid hydrocarbons“, d.h. aromatenfreie Wachse und Öle.
  - o Wachse: Acceptable Daily Intake (ADI) von 20 mg/kg Körpergewicht (KG) für Gemische mit einem mittleren Molekulargewicht von mindestens 500 Da (ca.  $C_{35}$ ) und einem 5 % Destillationspunkt bei mindestens  $C_{25}$  (d.h. maximal 5 % Kohlenwasserstoffe unter  $C_{25}$ ). Wachse geringerer Molmassen werden nicht bewertet.
  - o Öle „medium to low viscosity, class I“: ADI von 10 mg/kg KG für Gemische mit einer mittleren Molekularmasse von  $\geq 480$  Da (ca.  $C_{34}$ ) und einem 5 % Destillationspunkt  $\geq C_{25}$ .

- Öle „medium to low viscosity, class II and III“: ADI von 0,01 mg/kg KG für Gemische mit mittleren Molekularmassen von 300-480 Da (ca. C<sub>21</sub>-C<sub>34</sub>) und einem 5 % Destillationspunkt bei C<sub>17</sub>-C<sub>25</sub>. Wachse im gleichen Molekularmassenbereich fallen nicht darunter. Aus den normalen Annahmen zur Berechnung gesetzlicher Grenzwerte für die Migration aus Lebensmittelkontaktmaterialien (60 kg Körpergewicht; 1 kg damit verunreinigtes, pro Tag konsumiertes Lebensmittel) leitet sich daraus ein Grenzwert von 0,6 mg/kg Lebensmittel ab.
- Stellungnahme Nr. 008/2010 des BfR vom 09. Dezember 2009: Übergänge von Mineralöl aus Verpackungsmaterialien auf Lebensmittel ([http://www.bfr.bund.de/cm/343/uebergaenge\\_von\\_mineraloel\\_aus\\_verpackungsmaterialien\\_auf\\_lebensmittel.pdf](http://www.bfr.bund.de/cm/343/uebergaenge_von_mineraloel_aus_verpackungsmaterialien_auf_lebensmittel.pdf))
- BfR April 2011: Befristeter Grenzwert für aromatenfreie Mineralöle (also MOSH) C<sub>10</sub>-C<sub>16</sub> von 12 mg/kg (Protokoll der 7. Sitzung der BfR-Kommission für Bedarfsgegenstände, 14. April 2011; [http://www.bfr.bund.de/cm/343/7\\_sitzung\\_der\\_bfr\\_kommission\\_fuer\\_bedarfsgegenstaende.pdf](http://www.bfr.bund.de/cm/343/7_sitzung_der_bfr_kommission_fuer_bedarfsgegenstaende.pdf)).
- Nach der Entdeckung von hohen Konzentrationen an Mineralöl in ukrainischem Sonnenblumenöl im Frühjahr 2008 nahm die EFSA Stellung zu Gesundheitsrisiko [1], ohne Kenntnis, dass das Mineralöl große Anteile Aromaten einschloss. Die Kommission führte darauf einen Grenzwert von 50 mg/kg für entsprechende (hochmolekulare) Mineralöle in ukrainischem Sonnenblumenöl ein [2], der sich im Wesentlichen auf analytische Machbarkeit abstützte.

### **1.3 Charakterisierung des Mineralöls**

#### **1.3.1 Molekularmassenverteilung**

Die Charakterisierung über die Molekularmassenverteilung erlaubt Rückschlüsse zu möglichen Mineralölprodukten und Quellen der Verunreinigung, sowie zur Art des Übergangs (benetzend oder über Gasphase). Es treten oft auch mehrere Mineralölprodukte nebeneinander auf.

Der Molekularmassenbereich und die Zentrierung (Maximum des Peakhaufens) werden auf die Zahl der Kohlenstoffatome in n-Alkanen bezogen. Dafür wird die gaschromatographische Elution über einer apolaren stationären Phase verwendet, da die Verdampfung aus einem Dimethylpolysiloxan jener einer destillativen Verdampfung aus einem Mineralölgemisch gleicht. Diese Technik wird auch simulierte Destillation (SimDist) genannt.

Da die gaschromatographische Methode eigentlich Flüchtigkeit und nicht Molekularmasse misst, weichen die bestimmten Massen von den realen Massen etwas ab:

- Für Isoparaffine tendiert die Kalibrierung bezüglich n-Alkanen zu etwas unterschätzten Molekularmassen, da Isoalkane um bis zu zwei C-Atome früher eluiert werden als die n-Alkane.
- Cyclische Alkane können auch etwas nach den n-Alkanen gleicher Kohlenstoffzahl eluiert werden, d.h. deren Masse kann leicht überschätzt werden.
- Die Molekularmassenverteilung der MOAH wird ebenfalls über die Retentionszeiten der n-Alkane aus den MOSH-Chromatogrammen charakterisiert. Da die MOAH Chromatogramme keine n-Alkane enthalten, werden die absoluten Retentionszeiten übernommen. Dabei ist zu beachten, dass

die C-Zahl der Aromaten erheblich von jener der bei gleicher Retentionszeit eluierten n-Alkane abweichen kann. Beispielsweise enthält Methylnanthracen 15 Kohlenstoffatome, wird aber bei n-C<sub>21</sub> eluiert, Chrysen (C<sub>18</sub>) bei n-C<sub>27</sub> und Pyren (C<sub>16</sub>) bei n-C<sub>24</sub>.

#### **1.4 Relevanter Molekularmassenbereich für den Übergang in trockene Lebensmittel**

Bei trockenen Lebensmitteln wird davon ausgegangen, dass der Abstand zwischen der Verpackungswand und dem Lebensmittel fast über die ganze Oberfläche mindestens einige Atomdurchmesser ausmacht, d.h. ein Molekül sich zuerst von der Wand lösen und verdampfen muss, um das Lebensmittel zu erreichen. Was bei Raumtemperatur nicht mindestens einen geringen Dampfdruck aufweist, kann also nicht übergehen. Direkter Kontakt, also Moleküle des Lebensmittels mit Wechselwirkung mit den Molekülen der Packungswand, ist für trockene Lebensmittel normalerweise vernachlässigbar.

Im Gegensatz dazu erfolgt Migration über direkten (benetzenden) Kontakt über die Bildung neuer zwischenmolekularer Kräfte ohne zuvor jene zum Packungsmaterial gänzlich lösen zu müssen. Der Dampfdruck spielt deswegen keine Rolle.

Für den Übergang in trockene, bei Raumtemperatur gelagerte Lebensmittel, d.h. für Übergang über die Gasphase, zeigte sich, dass sie für Kohlenwasserstoffe bis ca. n-C<sub>24</sub> relevant und über C<sub>28</sub> kaum mehr messbar ist [3,4]. Deswegen wird als Konvention vorgeschlagen, in Papier/Karton oder Jute den MOSH- und MOAH-Gehalt bis n-C<sub>24</sub> separat zu berechnen. Als Faustregel gehen von den Kohlenwasserstoffen ≤ n-C<sub>24</sub> bei längerem Kontakt (mindestens mehrere Wochen) ca. 70 % ins Lebensmittel über, sofern die Packung keine innere Barriere enthält und die Verdampfung nach außen weitgehend unterbleibt (z.B. die Packungen dicht aneinander in Umkartons gelagert werden).

Für trockene Lebensmittel gilt als Regel, dass Kohlenwasserstoffe nur zu einem unwesentlichen Anteil über n-C<sub>24</sub> hinaus übergehen. Für Gemische mit namhaft höheren Anteilen gilt der Verdacht, dass sie aus anderen Quellen stammen oder deren Übergang bei höherer Temperatur stattfand. Für diese Regel wurden Ausnahmen gefunden, bei denen benetzender Kontakt einen relevanten Anteil ausmachte: feinteilige Produkte, insbesondere bei erhöhtem Fettgehalt. Beispielsweise wurde für eine Säuglingsmilchnahrung in Pulverform gefunden, dass rund 80 % der POSH <C<sub>24</sub> migrierten, aber auch Mineralöl zentriert auf n-C<sub>36</sub> mit einem Anteil von 11 %. Ähnliches wurde für Kakaopulver festgestellt.

## 2 Methodische Hintergründe

### 2.1 Frühere Methoden

Über Jahrzehnte wurden MOSH und MOAH mittels Infrarotspektroskopie (IR) in Tetrachlorkohlenstoff-Extrakten bestimmt, welche vorgängig an Adsorbentien gereinigt worden waren [5]. Diese vor allem in der Umweltanalytik eingesetzte Methode ist zur Unterscheidung zwischen MOSH und MOAH und natürlich in Lebensmitteln vorkommenden Kohlenwasserstoffen nicht geeignet.

Levy beschrieb 1976 eine Methode mittels Dünnschichtchromatografie, welche 0,2 µg Mineralöl nachweisen konnte, bzw. 20 µg/kg in fettarmen Produkten [6]. Dabei wurden die natürlich vorkommenden Kohlenwasserstoffe wiederum miterfasst.

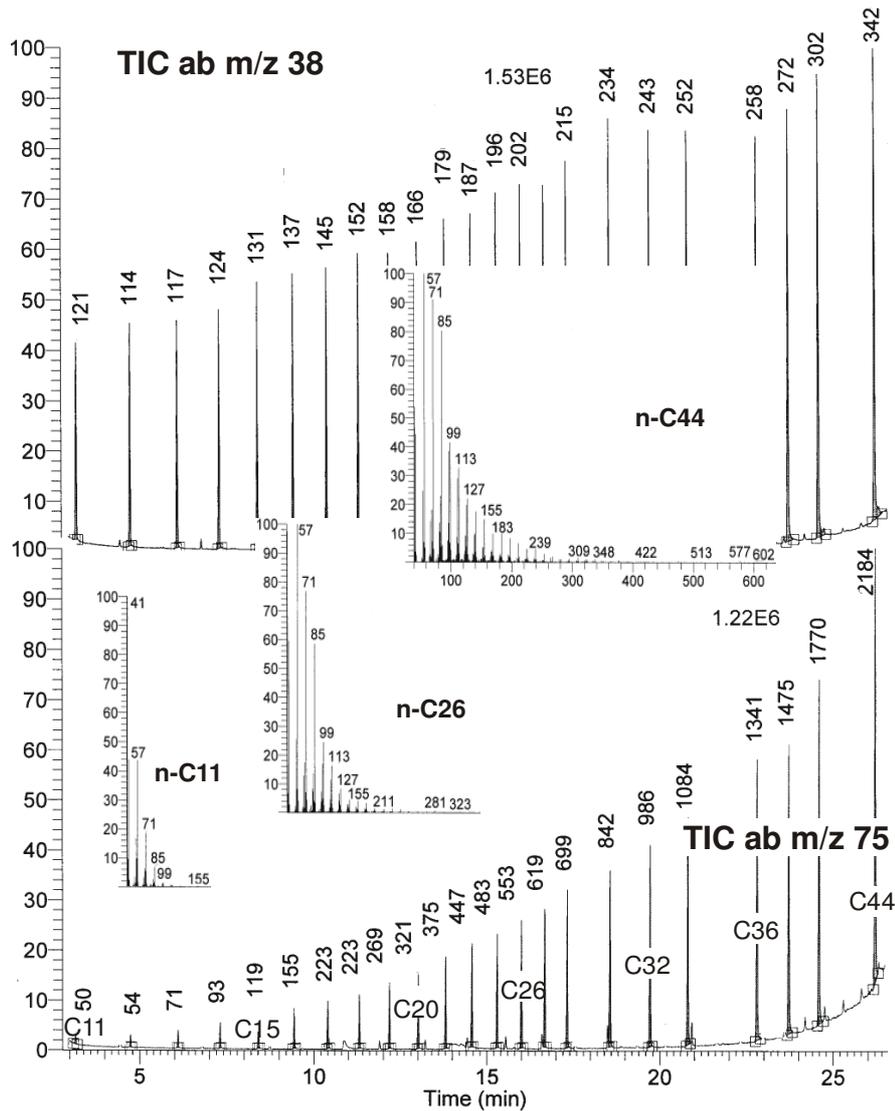
Ab den Neunzehnhundertachtzigerjahren wurden vermehrt gaschromatographische Methoden eingesetzt, mit unterschiedlichen Aufreinigungen der Lebensmittel-extrakte, beispielsweise [7,8].

### 2.2 Heute: Gaschromatographie mit Flammenionisationsdetektion

Die hier beschriebenen Methoden verwenden Flammenionisationsdetektion (FID), weil nur FID für alle Kohlenwasserstoffe annähernd gleiche Response zeigt. Da die in der Probe vorhandene Mischungen von Kohlenwasserstoffen in der Regel nicht als Standard zur Verfügung stehen, muss unter der Annahme gleicher Response mit einem anderen Kohlenwasserstoff oder einer anderen Mischung kalibriert werden.

Massenspektrometrie (MS) im Total Ion Current (TIC)-Modus ist empfindlicher als FID, aber hinsichtlich der Schwierigkeiten in Verbindung mit der Kalibrierung als weniger geeignet zu bewerten, wie Abbildung 1 illustriert. n-Alkane in gleicher Konzentration wurden on-column eingespritzt und mittels Gaschromatographie (GC)-MS mit Ionenfalle (Polaris Q, Thermo) im EI/TIC-Modus analysiert. Im oberen Chromatogramm wurde der Massenbereich von m/z 38 bis 1000 abgefahren. Die integrierten Peakflächen stiegen von 121 für n-C<sub>11</sub> auf 342 für n-C<sub>44</sub>, also um einen Faktor über 2,8. Bei einem auf m/z 75-1000 eingeschränkten Massenbereich steigerte sich der Unterschied in der Response auf einen Faktor 44. Dies erstaunt wenig, da mit steigender Molekularmasse eine größere Ausbeute an großen Fragmenten entsteht (siehe eingeblendete Spektren). Allerdings ist die Abhängigkeit der MS-Response noch von weiteren Faktoren abhängig und auch von Gerät zu Gerät verschieden. Weiterhin kommt hinzu, dass auch verzweigte Kohlenwasserstoffe eine andere Response zeigen, ebenso solche mit gesättigten oder aromatischen Ringen.

GC ist nicht nur wegen der Kompatibilität mit FID geeignet, sondern auch weil sie es erlaubt, die natürlich in Lebensmitteln vorkommenden Kohlenwasserstoffe abzutrennen sowie die MOSH und MOAH vor allem über die Molekularmassenverteilung und das Vorliegen von n-Alkanen zu charakterisieren. In eingeschränktem Rahmen lässt sich auch erkennen, ob die gesättigten Kohlenwasserstoffe eher aus MOSH oder POSH bestehen.



**Abbildung 1.** GC-MS einer Mischung von n-Alkanen gleicher Konzentration im EI-TIC Modus, mit den Peakflächen über den Peakspitzen. Oben: TIC mit Massenbereich  $m/z$  38-1000, unten mit  $m/z$  75-1000. Eingefügt: EI-Spektren der n-Alkane  $C_{11}$ ,  $C_{26}$  und  $C_{44}$ . Die Resultate zeigen, dass MS selbst für die Klasse der n-Alkane kein gleiches Detektorsignal liefert.

### 2.3 Vortrennung

Die wichtigsten Probleme von GC-FID sind die geringe Empfindlichkeit (die Nachweisgrenze für die unaufgelösten Peakhaufen liegt im Bereich von 50-100 ng, also annähernd 1000 Mal höher als für ein sauberes, einzelnes Signal) und der fehlenden Selektivität. Deswegen kommt der Vortrennung eine wichtige Rolle zu. Diese muss ein großes Aliquot in die GC überführen, sowie die MOSH und MOAH möglichst selektiv isolieren.

Wie eingangs erwähnt, stammen die meisten bisherigen Analysen aus der online gekoppelten HPLC-GC-FID, welche die Vorteile von hoher Trennleistung in der Vortrennung mit hoher Empfindlichkeit (kompletter Transfer in das GC-System), weitgehendem Ausschluss von Kontamination durch manuelle Aufarbeitung und einem hohen Probendurchsatz vereinigt. Die Version mit separater

MOAH-Analyse wurden 2009 beschrieben [9]. Ein Review ist in Vorbereitung [10].

Einige Laboratorien verwenden eine ähnliche HPLC für die Vortrennung, aber im off-line Modus. Dafür werden HPLC-Trennsäulen mit größerem Innendurchmesser (4,6 statt 2 mm) bevorzugt, womit ca. 5 Mal mehr Probe eingespritzt werden kann als in der on-line Kopplung. Die Fraktionen werden manuell oder mittels automatisiertem Fraktionssammler aufgefangen. Um gleiche Nachweisgrenzen wie in der on-line-Kopplung zu erreichen muss darauf ein Fünftel der Fraktion in die GC eingespritzt werden, was Injektion großer Volumen voraussetzt, selbst wenn die Fraktion bedeutend angereichert wird (hier liegt die größte Herausforderung dieses Ansatzes, vielleicht neben Problemen der Verunreinigung der aufgefangenen Fraktion).

Aus der Fettanalytik stammt die Verseifung, welche dazu geeignet ist, größere Mengen an Triglyceriden als Seifen zu entfernen [11-,12,13]. Damit lässt sich die beschränkte Kapazität der Säulenchromatographie für stark fetthaltige Lebensmittel umgehen. Der Aufwand und die Gefahr einer Probenkontamination sind allerdings beträchtlich. Eine gute Ausnützung der Kapazität der Flüssigchromatographie lässt diesen Schritt vermeiden.

GC-FID-Methoden mit manueller Probenaufarbeitung wurden schon früher beschrieben [14,15]. Sie bezogen sich zwar auf „Mineralöl“ oder „Mineralölparaffine“, trennten aber die MOAH nicht zuverlässig ab und schlossen damit einen nicht bestimmten (wohl kleinen) Anteil der MOAH in die Resultate mit ein. Mindestens für MOAH-haltige Proben lagen die Messwerte für „Mineralöl“ systematisch zu tief. Zudem lagen die Nachweisgrenzen um 1-2 Größenordnungen höher als bei der hier beschriebenen Methode: sie waren beispielsweise auf die 50 mg/kg-Grenze der EU für Mineralöl in ukrainischem Sonnenblumenöl bezogen.

## **2.4 Probenahme**

### **2.4.1 Trockene Lebensmittel in Kartonschachteln**

#### **2.4.1.1 Abhängigkeit von der Lagersituation**

Bei den Probennahmen für Untersuchungen bezüglich des Übergangs aus Verpackungen in trockene Lebensmittel muss beachtet werden, dass der Übergang über Verdampfung und Rekondensation verläuft und dabei in allen Richtungen erfolgen kann.

In einem Umkarton verpackte Proben können kaum Mineralöl nach außen abgeben. Also tendiert der Übergang weitgehend nach innen, d.h. ins Lebensmittel. Die Verdampfung nach außen ist normalerweise höher bei Schachteln in der Auslage und besonders hoch bei den Rückstellmustern, die oft exponiert auf einem Gestell gelagert werden. Der Übergang in die Rückstellmuster kann deswegen typischerweise wesentlich geringer sein als jene in die normal ausgelieferten Produkte.

Bei gewissen Kartonpackungen könnte die Außenlackierung über der Bedruckung wie eine Migrationsbarriere wirken, d.h. Mineralöle aus dem Karton und ggf. aus der Bedruckung nur nach innen migrieren lassen. Firnisse bestehen normalerweise aus Acrylaten, die ziemlich wirksame Barrieren sein können.

Um- oder Transportkartons (oft aus Wellpappe) können Mineralöl sowohl an die darin gelagerten Packungen abgeben als auch von diesen aufnehmen. Deswegen sind Packungen am Rand oder in den Ecken solcher Umkartons anders belastet als jene im Zentrum.

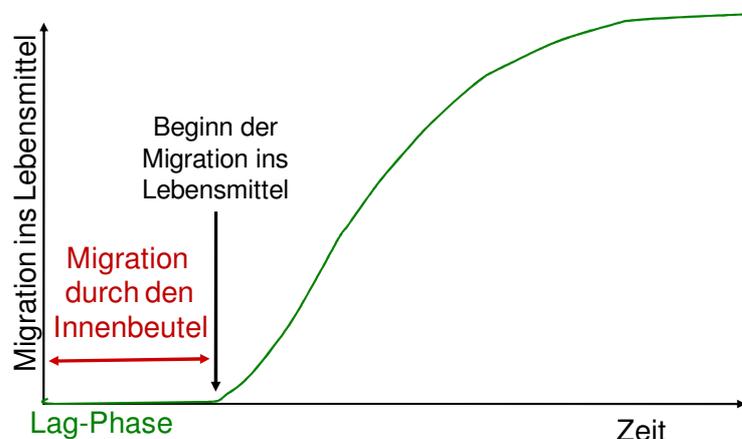
### 2.4.1.2 Abhängigkeit von der Lagerdauer

Die verkauften Produkte sind in der Regel nur wenige Monate alt, während ihre Haltbarkeit (einschließlich der Einhaltung von Migrationsgrenzen) meistens über Jahre garantiert wird. Proben aus dem Einzelhandel können deswegen noch relativ gering belastet sein, also ein Bild über die Situation beim Einkaufen darstellen, aber weder die Lagerung im Küchenschrank noch die Garantie bis zum MHD überprüfen.

Bei Innensäcken aus bestimmten Kunststoffen wie Polyolefinen ergibt sich anfänglich eine Lag-Phase ohne Migration ins Lebensmittel (Abbildung 2). In der ersten Zeit migriert Mineralöl von der Schachtel in den Kunststoff und sättigt diesen auf das Gleichgewicht mit dem Karton. Der Übergang ins Lebensmittel setzt erst dann ein, wenn das Mineralöl durch den Kunststoff hindurch diffundiert ist. Diese Lag-Phase kann nur Stunden (dünnes Polyethylen), oder aber mehr als ein Jahr dauern. Der Übergang ins Lebensmittel kann anschließend steil ansteigen. Wenn eine wirksame Barrierschicht in den Beutel eingebaut ist, dauert die Lag-Phase über das MHD hinaus, d.h. der Übergang setzt gar nicht ein. Junge Proben in der Lag-Phase ergeben deswegen wenig aussagekräftige Resultate, da der weitere Verlauf schwer voraussagbar ist.

Das Analysenresultat muss also im Kontext der Lagerung und des Alters der Probe interpretiert werden. Es ist deswegen auch nicht erstaunlich, wenn verschiedene Proben des gleichen Produkts stark abweichende Resultate ergeben.

Wenn der Übergang auf einen bestimmten Moment bezogen gemessen werden soll und die Messung zu diesem Moment nicht möglich ist, muss die Packung zerlegt und das Lebensmittel, ev. auch der Karton und ein Innenbeutel, in einem mineralölfreien, verschliessbaren Gefäss oder in Aluminiumfolie eingeschlagen gelagert werden.



**Abbildung 2. Schematische Darstellung des Übergangs aus einer Kartonschachtel durch einen Kunststoffinnenbeutel ins Lebensmittel.**

### 2.4.1.3 Abschätzung des Übergangs an dem Mindesthaltbarkeitsdatum (MHD)

Für die amtliche Lebensmittelüberwachung ist der Übergang am MHD ausschlaggebend, wobei davon auszugehen ist, dass die Packung über den größten Teil dieser Zeit im Lager stand, beispielsweise in Umkartons verpackt auf einer Palette.

Zur Simulation der weiteren Lagerung unter Ausschluss der Verdampfung nach außen wie auch der Aufnahme von außen kann die Probe in Aluminiumfolie eingeschlagen werden. Diese braucht nicht verklebt zu werden, da kaum eine Konvektion auftritt, welche namhafte Mengen relativ hochsiedender Kohlenwasser-

stoffe ein- oder auswärts trägt. Allerdings lässt sich in der Praxis die Lagerung oft nicht bis zum MHD ausdehnen.

Zur Abschätzung des langfristigen Übergangs können die MOSH- und MOAH-Gehalte in der Kartonverpackung und ggf. im Innenbeutel gemessen und unter Anwendung der Faustregel auf das Lebensmittel umgerechnet werden, dass ca. 70 % der MOSH und MOAH unter n-C<sub>24</sub> im Lebensmittel enden [5]. Dazu werden die im Karton und Innenbeutel gemessenen Konzentrationen über die Gewichte dieser Packungsbestandteile in absolute Mengen umgerechnet, diese mit 0,7 multipliziert und durch das Gewicht des verpackten Lebensmittels geteilt. Diese Konzentrationen werden zur bereits im Lebensmittel gemessenen Konzentration hinzugezählt. Derartige Extrapolation setzt allerdings voraus, dass keine Barriere in die Packung eingebaut ist. Das Vorliegen einer Barriere ist unwahrscheinlich, wenn zwei Messungen über einige Monate einen namhaften Anstieg des Übergangs anzeigen. Auch die Identifikation des Schichtaufbaus des Innenbeutels kann dazu eine Antwort liefern.

#### **2.4.2 Karton**

Kartonproben oder noch nicht verwendete Verpackungsmaterialien sollten aus dem Inneren eines Stapels bzw. einer Rolle gezogen werden, da aufliegende Proben flüchtige Kohlenwasserstoffe abgeben oder aufgenommen haben können. Beispielsweise geschieht die Aufnahme von Kohlenwasserstoffen aus der Luft in einer Druckerei relativ schnell.

Wenn mehr als einige wenige Stunden bis zur Analyse verstreichen, sollten diese Proben in Aluminiumfolie eingeschlagen werden, damit sie Mineralöl weder aufnehmen noch abgeben können.

### **2.5 Extraktion**

Für die Extraktion wurden mehrere Methoden entwickelt. Im folgenden werden die Kriterien und Hintergründe dargestellt. Eine detailliertere Beschreibung befindet sich in Kapitel 3.3.

#### **2.5.1 Trockene Lebensmittel**

MOSH und MOAH sind in Hexan problemlos löslich. Bei trockenen Lebensmitteln ist jedoch Vorsicht geboten, weil Anteile so eingeschlossen sein können, dass sie ohne Quellung sehr schwer zu extrahieren sind. Die Extraktionsausbeute ist damit nicht von der Löslichkeit, sondern weitgehend durch die Permeabilität des Lebensmittels, d.h. die Zugänglichkeit für das Lösungsmittel, gegeben.

Extraktionsausbeuten sind nicht durch Zusatzversuche bestimmbar und haben keine allgemeine Gültigkeit, weil die Unterschiede zwischen den Lebensmitteln groß sein können. Sie müssen durch Nachextraktionen unter wesentlich härteren Bedingungen (erhöhte Temperatur, auf ein Mehrfaches verlängerte Dauer) überprüft werden (bei einer Nachextraktion unter gleichen Bedingungen sind noch vorhandene MOSH und MOAH weiterhin unzugänglich).

Aus der Verpackung ins Lebensmittel migriertes Mineralöl kann leichter extrahierbar sein als in dieses eingearbeitetes. So wurde beobachtet, dass migriertes Mineralöl über Nacht bei Raumtemperatur vollständig aus Teigwaren extrahierbar war, nicht aber Mineralöl, das bei der Herstellung in diese gelangte (aus den Rohstoffen oder bei der Produktion eingesetzt). Säuglingsmilchnahrungen in Pulverform waren nur durch Aufquellen mit Wasser vollständig extrahierbar, aber das Migrat wurde durch Extraktion unter forcierteren Bedingungen erschöpfend erhalten.

Die meisten fein zermahlene Lebensmittel sind bei Raumtemperatur in weniger als einer Stunde vollständig extrahiert. Aus Vorsicht wird während einer Nacht

extrahiert und die Ausbeute immer wieder durch härtere Nachextraktion überprüft.

Grobteilige Inhalte von Packungen sollten zunächst soweit zermahlen werden, dass eine repräsentative Probe gezogen werden kann, die anschließend für die Extraktion feiner zermahlen wird.

### **2.5.2 Nasse Lebensmittel**

Wasser ist eine wirksame Barriere gegen die Extraktion von Mineralöl. Wegen der faktischen Unlöslichkeit vermag Mineralöl nicht durch eine Wasserphase ins Hexan zu diffundieren. Beispielsweise geben gekochte Teigwaren praktisch kein Mineralöl ab, auch wenn sie fein in Hexan dispergiert werden [16].

Nasse Lebensmittel müssen zuerst entwässert werden. Da eine Verdampfung des Wassers zeitraubend ist und leicht flüchtige Komponenten verloren gehen können, wird das Wasser mit Ethanol extrahiert. Die Probe wird in Ethanol homogenisiert und mindestens eine Stunde darin belassen, damit das Wasser in der Lebensmittelmatrix in allen Kanälen und Poren weitgehend durch Ethanol ersetzt wird. Anschliessend wird mit Hexan extrahiert. Da der Ethanolextrakt bereits Mineralöl enthalten kann, wird er mit dem Hexanextrakt vereinigt. Dann wird Wasser zugegeben, um das Ethanol/Hexan-Gemisch zu spalten und den Ethanol zu entfernen (Ethanol würde die Vortrennung stören).

Wiederholte Versuche zeigten, dass ein 5-facher Ethanolüberschuss genügt (5 ml Ethanol/1 g Lebensmittel). Die Ethanolphase enthält auf diese Weise weniger als 20 % Wasser, was offenbar eine Diffusion ins Hexan nicht mehr behindert (Hexan/Ethanol mit mehr als ca. 10 % Wasser im Ethanol ist nicht mischbar).

### **2.5.3 Karton**

Karton, insbesondere Recyclingkarton, enthält oft hochmolekulare, gesättigte Kohlenwasserstoffe, vor allem aus Hotmelt-Klebstoffen (Polyolefine) und Druckfarbenbindern, die bei der Vortrennung in die MOSH Fraktion gelangen. Diese stören die GC, weil sie auch bei hohen Temperaturen nicht ausgeheizt werden können. Da diese im Zusammenhang mit der Gasphasenmigration nicht von Interesse sind (kein Übergang in trockene Lebensmittel; keine Aufnahme in den menschlichen Metabolismus), wurden die Extraktionsbedingungen für Verpackungsmaterialien für trockene Lebensmittel derart ausgelegt, dass langkettige Paraffine ab ca. C<sub>25</sub> diskriminiert werden. Dazu wurde die Löslichkeit im Hexan durch den Zusatz von Ethanol herabgesetzt und die Extraktion auf 2 Stunden limitiert. Nachextraktionen (z.B. mit Hexan; 60 °C/über Nacht) zeigten schnell abnehmende Ausbeuten für die n-Alkane ab ca. C<sub>30</sub>, aber noch immer weitgehende Extraktion der iso- und cyclo-Alkane bis über C<sub>35</sub> hinaus.

Ethanol wirkt als Quellmittel, das die Extraktion der niedermolekularen Anteile aus Karton verbessert.

Gegen hochmolekulare Kohlenwasserstoffe diskriminierende Extraktion ist nicht angezeigt, wenn Übergänge über benetzenden Kontakt möglich sind.

Diisopropylnaphthaline (DIPN) werden auf diese Weise nur unvollständig extrahiert, wohl weil diese teilweise in verkapselter Form vorliegen.

### **2.5.4 Kunststoffe**

Die Extraktion aus Kunststoffen hängt nicht nur von der Schichtdicke einer Folie ab, sondern vor allem von der Permeabilität des Materials. Deswegen sind Mineralölbestandteile aus Kunststoffen mit guter Barrierenwirkung schwerer zu extrahieren im Vergleich zu solchen mit hoher Durchlässigkeit. Weiter scheint von außen eingedrungenes Mineralöl leichter extrahierbar zu sein als die während der Herstellung eingebetteten Oligomere.

Durch aggressive Bedingungen können große Mengen hochmolekularer Oligomere extrahiert werden. Diese gelangen in die MOSH-Fraktion und können in der GC stören. Deswegen sollten die Bedingungen derart optimiert werden, dass zwar die Zielkomponenten vollständig extrahiert werden, aber möglichst wenig darüber hinaus gehendes Material. Angesichts der stark variablen Permeabilität verschiedener Polymere können allerdings kaum für Kunststoffe generell gültige Regeln aufgestellt werden. Zudem ist der Schichtaufbau der üblicherweise eingesetzten Verbundfolien meistens unbekannt.

Für die Permeation von MOSH und MOAH aus Kartonschachteln durch Kunststoffinnenbeutel in verpackte Lebensmittel beschränkte sich das Interesse auf die Kohlenwasserstoffe bis  $n\text{-C}_{24}$ . Nach der Extraktion von Polyolefinen mit Hexan/Ethanol 1:1 bei Raumtemperatur über Nacht (ohne Erwärmung) zeigten Nachextraktionen (z.B. bei 60 °C/Wochenende) nur noch vernachlässigbare Mengen an MOSH, MOAH und POSH  $<C_{24}$ . Deswegen wurden standardmäßig diese Extraktionsbedingungen gewählt.

Die Extrahierbarkeit von POSH bis  $C_{35}$  (von Interesse für die Migration aus Kunststoffbeuteln in benetzende Lebensmittel) wurde nicht genügend untersucht. Verzweigte Kohlenwasserstoffe dürften gut extrahiert werden, die  $n$ -Alkane aber wegen des Ethanol mit abnehmender Ausbeute.

## **2.6 Vortrennung**

### **2.6.1 Anforderung**

Die hier beschriebenen Methoden (LC-GC-FID und manuelle Methode) wurde darauf ausgelegt, MOSH vollständig von MOAH zu trennen. Die POSH befinden sich in der MOSH-Fraktion. Weiter wurde die Vortrennung so optimiert, dass gesättigte Wachsester (langkettige Fettsäuren verestert mit langkettigen Alkoholen, z.B. aus der Wachsschicht von Blättern und Früchten) erst nach den MOAH eluiert werden. Solche Wachsester können z.B. in Speiseölen in großen Mengen vorliegen und die GC überladen.

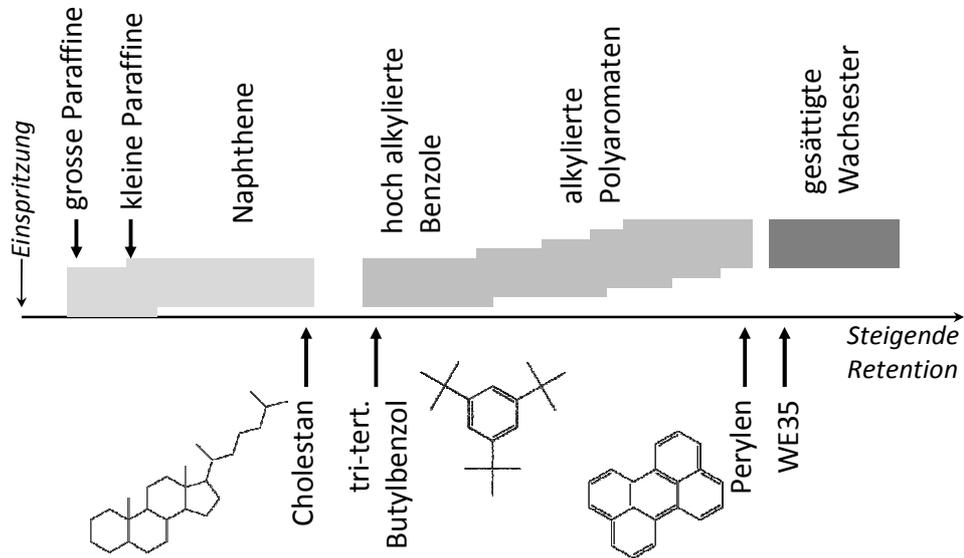
### **2.6.2 Test und Verifizierungsstandards**

Da keine reinen MOAH-Mischungen als Standards zur Verfügung stehen, wurde die MOSH-MOAH-Vortrennung an kritischen Einzelsubstanzen optimiert, die auch als Verifizierungsstandards in den Analysen mitlaufen. Die Reihenfolge der Elution aus Kieselgel ist in der Abbildung 3 schematisch dargestellt.

- Die offenkettigen Alkane (Paraffine) werden etwas nach Molekulargröße vorgetrennt (Ausschlusschromatographie; Size Exclusion Chromatography), d.h. die großen Moleküle werden vor den kleinen eluiert. Der Anfang der MOSH-Fraktion muss also mit langkettigen Alkanen bestimmt werden.
- Die Naphthene (cyclische MOSH) erfahren stärkere Retention als die Paraffine. Daher wird Cholestan mit vier Ringen als Marker für das am stärksten zurückgehaltene Naphthen verwendet.
- Die MOAH werden in der Reihenfolge der Anzahl aromatischer Ringe eluiert. Dagegen sinkt die Retention mit steigender Alkylierung (Anzahl Alkylketten, C-Zahl, ringnahe Verzweigung). Hoch alkylierte Benzole sind also die zuerst eluierten MOAH. Tri-tert. Butylbenzol wies wegen der guten Abschirmung eine ähnliche Retention auf wie viel höher alkylierte getestete Benzole und wurde deswegen als Marker für den Anfang der MOAH-Fraktion gewählt.
- Das Ende der MOAH-Fraktion wurde durch Perylen (5 aromatische Ringe) begrenzt. Da praktisch alle MOAH alkyliert sind, werden damit auch

größere Ringsysteme erfasst. Die starke Fluoreszenz ermöglicht die Beobachtung der Elution mit bloßem Auge und empfindlicher mit einer UV-Lampe.

- Die zuerst eluierten Wachsester enthalten gesättigte Fettsäuren.



**Abbildung 3. Schematische Darstellung der Elution der MOSH und MOAH, wie sie in der beschriebenen manuellen Methode erreicht wird. Unten die Standards, die zur Kontrolle der Trennung verwendet werden.**

### 2.6.3 Optimierung der Vortrennung

Wegen der relativ geringen Trennleistung konventioneller Flüssigchromatographiesäulen gelang keine robuste und vollständige MOSH/MOAH-Trennung auf Kieselgel, auch nicht mit hoch aktiviertem Material (in der HPLC gelingt die Trennung ohne Aktivierung und mit Abstand zwischen den MOSH und MOAH). Die Trennung verbessert sich aber schnell mit dem Zusatz von Silbernitrat. Mit kommerziell erhältlichem 10 % Silbernitrat/Kieselgel erfolgt die Trennung mit großem Abstand. Damit erhöht sich allerdings die Retention der MOAH derart, dass die meisten Mehr-ringverbindungen erst nach den Wachsestern eluiert werden, was speziell für stärker fetthaltige Lebensmittel als inakzeptabel betrachtet wurde.

Die Trennung wurde so optimiert, dass die MOSH/MOAH-Trennung noch robust ist, die Wachsester aber erst nach Perylen eluiert werden:

1. Die Beladung mit Silbernitrat wurde auf 0,3 % reduziert.
2. Da Silbernitrat-beladenes Kieselgel nicht bei hohen Temperaturen aktiviert werden kann (maximal bei ca. 160 °C), wurde die Packung aus einem größeren Teil bei 400 °C aktiviertem Kieselgel und einem kleineren aus Kieselgel mit Silbernitrat gemischt. Das hoch aktivierte Kieselgel trägt eine hohe Retentionskraft für die Wachsester und eine hohe Kapazität für die Retention der Lipide bei.
3. Die Elution der MOAH erfolgt mit Toluol, welches die Retentionskraft des Silbernitrats ziemlich selektiv deaktiviert.

#### 2.6.4 Kapazität für Fett

Die Packung der Trennsäule dient nicht nur der Vortrennung in MOSH und MOAH, sondern auch der Retention (Abtrennung) der Fettbestandteile, wovon die Triglyceride die Hauptmenge ausmachen.

Das aufgetragene Fett oder Öl flutet den oberen Teil der Packung. Es beschichtet dieses Kieselgel und deaktiviert es damit. Mit Lipiden belegte Kieselgeloberflächen halten weder weitere Lipide noch MOAH zurück, d.h. die nachfolgenden Lipide werden weiter nach unten getragen. Je mehr Lipide auf die Trennsäule gegeben werden, desto tiefer dringen sie ein – bis hin zum Durchbruch, d.h. Elution beim Auftragen. Dieser Durchbruch muss vermieden werden, da fetthaltige Fraktionen die GC derart belasten, dass sie nicht mehr ausgeheizt werden können (in diesem Fall muss das GC-System sofort mit Lösungsmittel, z.B. Methylchlorid, gespült werden, damit die Lipide nicht verlacken). Mit Lipiden beschichtetes Kieselgel trägt auch nicht mehr zur MOSH/MOAH-Trennung bei.

Also darf nur so viel Fett oder Öl auf die Trennsäule aufgetragen werden, dass dieses im oberen Teil der Packung zurückgehalten werden kann und einen genügenden Anteil für die MOSH/MOAH-Trennung frei lässt. Umgekehrt soll die Packung nicht größer sein als nötig, um eine Verdünnung der Fraktionen zu vermeiden. Somit wird die am stärksten angereicherte Fraktion aus einer Trennsäule erhalten, die eben bis zur Grenze belastet wurde.

Für eine ausreichende Nachweisgrenze in fetthaltigen Lebensmitteln muss viel Fett auf die Trennsäule aufgetragen werden, was eine genügende Kapazität erfordert. In diesem Punkt wurde ein Kompromiss gewählt: Die vorgeschlagene Packung von 3 g genügt nicht, um in stark fetthaltigen Lebensmitteln oder reinen Fetten/Ölen niedrige Nachweisgrenzen für MOSH zu erzielen. Die Mehrzahl der zu untersuchenden Lebensmittel enthält überwiegend weniger als 4 % Fett und für diese ist eine große Packung und ein damit verbundener großer Lösungsmittelverbrauch nicht zu rechtfertigen. Zudem enthalten die meisten Speiseöle über 5 mg/kg MOSH, die mit der beschriebenen Methode nachweisbar sind. Schließlich bedingt der Nachweis von geringen MOSH Konzentrationen in Speiseölen fast immer auch eine Entfernung der natürlicherweise vorhandenen n-Alkane mittels aktivierten Aluminiumoxids, wofür eine weitere Vortrennung entwickelt wurde (Kapitel 6.1).

Aus diesen Gründen wurde eine Packung gewählt, die in den meisten Fällen ausreicht. Für gewisse Fälle ist aber eine Anreicherung nötig. Diese ist in Kapitel 6 beschrieben.

Die beschriebene 3 g Packung hat die Kapazität 350-400 mg Fett oder Öl zurückzuhalten. Wenn ungefähr die Hälfte der Packung der Trennung von MOSH und MOAH vorbehalten bleiben soll, können 200 mg Fett aufgetragen werden. Daraus ergeben sich Einschränkungen, die beachtet werden müssen:

- Wenn 1 ml Extrakt aufgetragen wird, darf sein dessen Fettgehalt 20 % nicht überschreiten.
  - o Wenn 10 g Lebensmittel mit 20 ml Hexan extrahiert wird, darf der Fettgehalt 40 % erreichen (z.B. Schokolade).
  - o Von Proben mit bis zu 20 % Fett (z.B. manche Müesli, Cereals) darf 20 g mit 20 ml Hexan extrahiert werden.
  - o Von Fetten und Ölen kann 200 mg in wenig Hexan aufgetragen werden. Bei stark fetthaltigen Proben kann der Extrakt bis auf den Fettanteil eingedampft und für die Analyse als Fett eingewogen werden.

- Wenn Extrakte vor der Vortrennung angereichert werden (z.B. 10 ml eines 20 ml Extrakts aus 20 g Lebensmittelprobe auf <1 ml), darf der Fettgehalt des Lebensmittels 2 % nicht überschreiten (Reis, Grieß, Nudeln ohne Eier, Couscous etc).

Die Umsetzung in die Methode ist im Kapitel 3.3 zu finden.

## **2.7 Anreicherung**

### **2.7.1 Für die GC erforderlicher Probenaliquot**

Die Nachweis- und Quantifizierungsgrenze der GC-FID-Analyse hängt stark von der Form der Peakhaufen und deren Position im Chromatogramm ab, doch als Faustregel müssen für eine saubere Quantifizierung ca. 50-100 ng MOSH/POSH oder MOAH auf die GC-Trennsäule gebracht werden. Zur Erreichung einer niedrigen Nachweisgrenze im Lebensmittel bedeutet dies die Einspritzung eines Aliquots von 100-200 mg Lebensmittel, woraus sich hohe Anforderungen ableiten.

Würde 1 µl Extrakt in einem splitlosen Verfahren eingespritzt, müsste die MOSH- oder MOAH-Fraktion aus der Vortrennung eines nicht angereicherten Lebensmittelextrakts (20 g/20 ml Hexan) zur Erreichung der Quantifizierungsgrenze auf 5-10 µl eingeeengt werden, was für eine Routinemethode unrealistisch ist. Zudem gehen bei derart starkem Abdampfen hohe Anteile von Kohlenwasserstoffen bis mindestens C<sub>18</sub> verloren, darunter die unten beschriebenen internen Standards und ein großer Teil der in trockene Lebensmittel migrierenden Kohlenwasserstoffe. Solche Verluste waren eine der Hauptursachen für die immer wieder beobachteten großen Messfehler in der Mineralölanalytik, wenn Komponenten geringerer Molekularmasse beteiligt waren.

Deswegen muss das Einspritzvolumen in die GC erhöht werden. Wenn 50 µl eingespritzt wird, muss die Probe nur noch auf 250-500 µl eingeeengt werden, was immer noch einer massiven Anreicherung entspricht, aber in einer Routinemethode machbar ist.

Eine Anreicherung auf 250-500 µl ist ziemlich problemlos, wenn die Lösung nur MOSH und MOAH über C<sub>20</sub> enthält. Für die hier interessierenden Mineralöle mit flüchtigeren Anteilen und Standards ist aber Vorsicht angezeigt.

### **2.7.2 Keeper-Wirkung**

Extrakte aus Lebensmitteln mit einem substantiellen Fettgehalt können praktisch ohne Verlust flüchtiger Komponenten bis zum trockenen Rückstand eingeeengt werden, weil das Fett als „Keeper“ wirkt. Die Fettschicht auf der Glaswand eines Spitzkolbens verhindert die Verdampfung von Kohlenwasserstoffen über etwa C<sub>10</sub> in ähnlicher Weise wie eine stationäre Phase in der GC-Trennsäule Retention aufbaut.

Für weitgehend fettfreie Proben funktioniert dies nicht, und nach der Vortrennung ist dieser Keeper auch bei fetthaltigen Proben entfernt. Nur noch das Lösungsmittel hält die flüchtigen Verbindungen zurück, aber genau dieses Lösungsmittel wird abgedampft. Wenn die Probenkomponenten durch das abgedampfte Lösungsmittel auf die trockene Glaswand deponiert werden, sind diese flüchtig, d.h. sie weisen einen hohen Dampfdruck auf. Nun läuft ein Prozess ab, welcher der Gaschromatographie ähnlich ist. Ein Teil des Probenmaterials verdampft, dieser wird durch abfließende Lösungsmitteldämpfe weggeführt, worauf weiteres Probenmaterial verdampft.

Abblasen in einem Gasstrom führt erfahrungsgemäß zu hohen Verlusten (siehe auch [16,17]). Besonders Glas benetzende Lösungsmittel (wie Hexan oder Ethanol) werden etwas die Gefäßwand hochgezogen. Wenn dort das Lösungsmittel verdampft, hinterlässt es die Probenkomponenten auf einer Oberfläche geringer

Retentionskraft (unbeschichtetes Glas), d.h. ein Teil der flüchtigen Komponenten verdampft. Darunter gebildete Lösungsmitteldämpfe und der Gasstrom führen diese Dämpfe weg. Der Gasstrom wirkt dabei wie ein Trägergas in der GC.

Aufgrund der Drehbewegung ist das Einengen mittels Vakuum-Rotationsverdampfer vorteilhafter. Die deponierten Komponenten werden laufend wieder von der Wand des Rund- oder Spitzkolbens in die Lösung zurückgespült. Erfahrungsgemäß lassen sich Lösungen annähernd verlustfrei um einen namhaften Faktor eindampfen, bis zu einem Punkt, bei dem die Spülung der Glaswand nicht mehr wirksam ist: Sobald die Probe auf der trockenen Glaswand liegen bleibt, steigen die Verluste der flüchtigen Kohlenwasserstoffe schlagartig an. Als Faustregel sollten deswegen fettfreie Lösungen um nicht mehr als einen Faktor 10 eingengt werden. Dieser Faktor darf höher liegen, wenn dem Lösungsmittel ein höher siedender Keeper zugesetzt wird, wie Toluol (siehe unten).

### **2.7.3 Anreicherung vor oder nach der Vortrennung?**

#### **2.7.3.1 Anreicherung vor der Vortrennung**

Die Anreicherung kann im Prinzip am rohen Extrakt oder an den isolierten MOSH und MOAH Fraktionen erfolgen. Jene vor der Vortrennung ist nicht nur wegen der Keeperwirkung der Probenmatrix vorteilhaft, sondern auch wegen möglicher Blindwertprobleme. Da mehr Probe in die Vortrennung eingebracht wird, ist eine Verunreinigung bezüglich der gemessenen Menge an MOSH und MOAH kleiner.

Dabei ist allerdings zu gewährleisten, dass die Kapazitätsgrenze der Vortrennung für Lipide nicht überschritten wird. Es dürfen nicht mehr als ca. 200 mg Lipide auf die hier beschriebene Packung aufgetragen werden (Kapitel 2.6.4). Wenn 20 g Lebensmittel mit 20 ml Lösungsmittel extrahiert werden, können daraus 10 ml Extrakt abgezogen werden. Dieser kann auf unter 1 ml eingengt und damit als Aliquot von 5 g Lebensmittel vollständig auf die Flüssigchromatographiesäule aufgetragen werden. Wenn allerdings nur 200 mg Lipide aufgetragen werden können, darf die Probe nicht mehr als 2 % Fett enthalten. Von fettreicheren Extrakten darf nur ein entsprechend kleinerer Teil in die Vortrennung gebracht werden, von einer Probe mit 20 % Fett beispielsweise nur ein Viertel.

Bezüglich der anzustrebenden niedrigen Nachweisgrenzen bedeutet dies, dass die MOSH oder MOAH Fraktion eines auf unter 1 ml eingengten Extrakts ein Probenaliquot von 10 g in rund 10 ml Volumen enthält. Bei einer angestrebten Nachweisgrenze von z.B. 0,5 mg/kg im Lebensmittel enthält diese Fraktion 5000 ng MOSH oder MOAH. Davon muss 1/50 eingespritzt werden, um die nötigen 100 ng auf die GC-Trennsäule zu bringen. Bei einem Einspritzvolumen von 1 µl bedingt dies noch immer eine Anreicherung auf 50 µl, was aufgrund zu hoher Verluste flüchtiger Anteile als nicht routinetauglich einzustufen ist. Für eine 50 µl Einspritzung genügt jedoch eine Anreicherung auf 2,5 ml.

Für ein reines Fett oder Öl sieht die Rechnung ungünstiger aus. Davon können lediglich 200 mg auf die Flüssigchromatographiesäule aufgetragen werden. Bei einer Nachweisgrenze von z.B. 0,5 mg/kg enthält die Fraktion dementsprechend 100 ng MOSH oder MOAH, welche ganz eingespritzt werden müssten. Wird die Fraktion auf 250 µl eingengt, erreicht eine 50 µl Einspritzung bei den oben angewandten Annahmen noch eine Nachweisgrenze von 2 mg/kg.

#### **2.7.3.2 Anreicherung nach der Vortrennung**

Wenn ausschließlich nach der Vortrennung angereichert wird, führen die analogen Abschätzungen dazu, dass die Quantifizierungsgrenze von 0,5 mg/kg knapp erreichbar ist.

Wenn 1 ml aus einem 20 ml Extrakt von 20 g Probe für die Vortrennung eingesetzt wird, enthält dieser ein Aliquot von 1 g Lebensmittel. Bei der Nachweisgrenze von 0,5 mg/kg sind darin 500 ng MOSH oder MOAH enthalten, was bedeutet, dass 1/5 bis 1/10 der gewonnenen MOSH- oder MOAH-Fraktion in die GC eingespritzt werden muss. Bei der günstigeren Annahme für die Quantifizierungsgrenze (50 ng) werden die 0,5 mg/kg erreicht, wenn die beiden Fraktionen auf 500 µl eingeeengt werden, bei der ungünstigeren mit Anreicherung auf 250 µl (wie sie in der Methode vorgesehen ist).

#### 2.7.3.3 Ausgewählte Anreicherungs- Verfahren

Wie oben beschrieben, gibt es gute Gründe für die Anreicherung vor der Vortrennung. In der hier beschriebenen Methode wird aber grundsätzlich nach der Vortrennung angereichert, weil damit praktisch alle Lebensmittel auf die gleiche Weise analysiert werden können.

Normalerweise werden 20 g Lebensmittel mit 20 ml Hexan extrahiert. Wenn 1 ml dieses Extrakts in die Vortrennung gelangt, darf dieser bis zu 20 % Fett enthalten, um die Kapazitätsgrenze von 200 mg Fett einzuhalten, d.h. nur wenige hoch fetthaltige Proben (z.B. Schokolade) sowie reine Fette und Öle erfordern eine Sonderbehandlung. Von Schokolade darf nur 0,5 ml auf die Trennsäule gegeben werden. Fette und Öle müssen ohnehin nicht extrahiert werden. 200 mg Fett oder Öl werden in ca. 0,3 ml Hexan gelöst und auf die Trennsäule gegeben.

Wenn dieses Verfahren als Standard festgelegt wird, schließt dies nicht aus, dass Proben mit geringem Fettgehalt (die Mehrzahl der in Karton verpackten Lebensmittel) trotzdem etwas angereichert werden können, um die Nachweisgrenze leichter zu erreichen.

#### 2.7.4 Toluol als Bremser und Keeper

Ein weiterer Grund, der Anreicherung nach der Vortrennung den Vorzug zu geben, ist die Verwendung von Toluol. Gemäß der beschriebenen Methode befindet sich in der MOAH-Fraktion ca. 3 % Toluol (der Eluent für die MOAH-Fraktion enthält 5 % Toluol, aber die Fraktion schließt auch noch schwächere Eluenten mit ein). Dieses Toluol bringt für die Anreicherung zwei Vorteile:

1. Es erleichtert die Anreicherung dahingehend, dass die Lösungsmittelabdampfung bei ca. 250 µl stark abgebremst wird. Die Restlösung besteht zu rund der Hälfte aus Toluol. Damit wird der Abbruch der Anreicherung robuster. Auch bei einer deutlich zu langen Abdampfung am Rotationsverdampfer trocknet die Probe nicht vollständig ein.
2. Toluol wirkt als Keeper. Da das Lösungsmittel auf der Glaswand nicht ganz eindampft, werden die flüchtigen Anteile zurückgehalten und wieder in die restliche Lösung zurück gespült.

Die MOSH/POSH-Fraktion enthält von sich aus kein Toluol. Wegen der genannten Vorteile, aber auch um für die MOSH- und die MOAH-Fraktion die gleichen Einspritzbedingungen verwenden zu können, wird der MOSH-Fraktion vor dem Einengen etwa so viel Toluol zugesetzt, wie die MOAH-Fraktion enthält (270 µl).

### 2.8 Gaschromatographische Analyse

Die Gaschromatographie (GC) wurde vor allem auf niedrige Nachweisgrenze ausgerichtet. Daraus ergibt sich eine großvolumige Einspritzung sowie eine Optimierung der chromatographischen Bedingungen auf hohe Signale, die auf möglichst horizontaler Basislinie stehen.

Für die Einspritzung großer Volumina sind grundlegende Kenntnisse zu zwei Mechanismen im Zusammenhang mit der Lösungsmittelabdampfung nötig: Solvent trapping und Retention gap Effekt.

### 2.8.1 Solvent trapping

Als Solvent trapping wird der Verdampfungsprozess des Lösungsmittels und der flüchtigen Probenkomponenten bezeichnet, wie er sich z.B. im Eingang der Trennsäule oder einer unbelegten Vorsäule abspielt [18,19]. Wie der Name zum Ausdruck bringt (trapping = festhalten), ist der wichtigste Aspekt die Retention der flüchtigen Probenkomponenten im kondensierten Lösungsmittel.

Solvent trapping ist charakterisiert durch:

- Selektivere Lösungsmittelabdampfung als mit den Methoden außerhalb der GC erreichbar ist (z.B. Abblasen, Rotationsverdampfer), d.h. die Verluste flüchtiger Anteile können sehr gering gehalten werden;
- Bildung scharfer Anfangsbanden für den Start der chromatographischen Trennung.

Die on-line gekoppelte HPLC-GC-FID erübrigt die Anreicherung der MOSH- und MOAH-Fractionen (von je 450 µl Volumen) durch eine vollständige Übertragung in die GC, d.h. die Anreicherung wird in die GC verlegt. Mit Hexan als Lösungsmittel ermöglicht Solvent trapping eine Komponente so flüchtig wie Oktan verlustfrei zu analysieren. Die Einspritzung von 50 µl nutzt im Wesentlichen die gleichen Mechanismen.

Einspritzung oder Transfer von Flüssigkeit in eine Kapillare bewirkt vorerst die Bildung von Pfropfs, die vom Trägergas mit relativ hoher Geschwindigkeit weiter geschoben werden. Auf der Rückseite der Pfropfs bleibt Flüssigkeit liegen. Wenn die Flüssigkeit die Kapillarwand benetzt, bildet sich ein kontinuierlicher, rund 10-40 µm dicker Film. Schließlich verschwinden die Pfropfs und die ganze Probe ist als Schicht auf der Kapillarwand ausgebreitet. In diesem Moment fließt das Trägergas wieder und der Abdampfprozess setzt ein.

Das Lösungsmittel verdampft von der Rückseite (Injektor-orientierten Ende) des Flüssigkeitsfilms (Abbildung 4). Das Trägergas wird dort mit Lösungsmittel gesättigt und kann weiter vorn keinen weiteren Lösungsmitteldampf aufnehmen. Auf die trockene Kapillarwand abgesetzte flüchtige Komponenten können nun verdampfen, werden aber sofort wieder durch die weiter vorn liegende, verbleibende Flüssigkeit zurückgehalten, welche als temporäre stationäre Phase wirkt. Deren Retentionskraft ist hoch, weil die Schicht rund 100 Mal dicker ist als der Film einer regulären stationären Phase. Die flüchtigen Analyten sammeln sich also im Lösungsmittel am hinteren Ende des flüssigen Films. Wenn der letzte Rest Lösungsmittel verdampft (also am Ende der Lösungsmittelverdampfung) werden diese freigesetzt und in die gaschromatographische Trennung entlassen. Da dies schlagartig geschieht, sind die Anfangsbanden scharf.

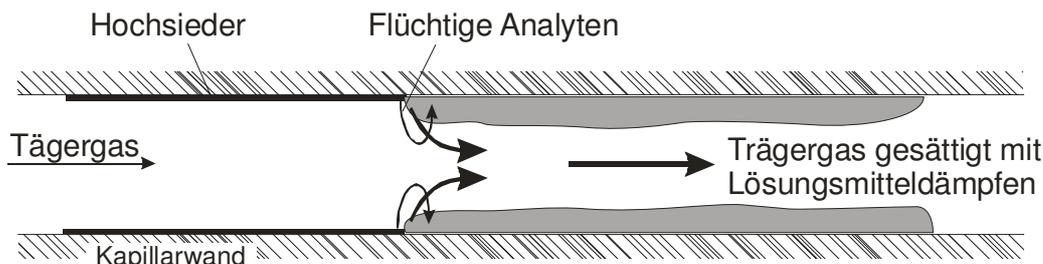


Abbildung 4. Schematische Darstellung des Solvent trapping Prozesses.

Der Start der Chromatographie erfolgt also nicht mit der Einspritzung, sondern am Ende der Lösungsmittelabdampfung, und nicht am Eingang des Säulensystems, sondern von der Stelle, wo das letzte Lösungsmittel abdampft, d.h. am vorderen Ende der „gefluteten Zone“. Bei der Ofentemperatur während der Einspritzung addiert sich deswegen ungefähr die Lösungsmittelabdampfzeit zur chromatographischen Retentionszeit.

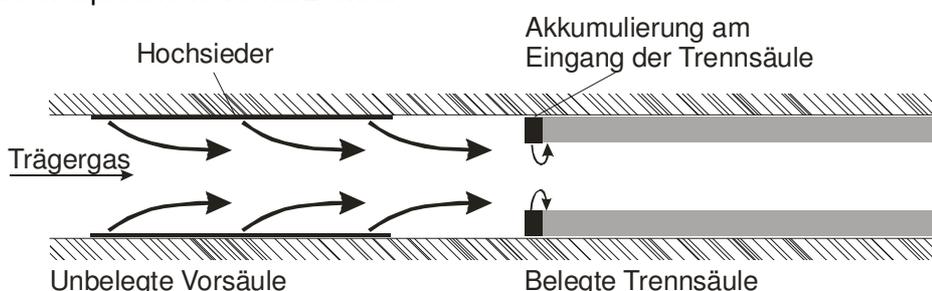
Es gibt mehrere Möglichkeiten, 50 µl in die GC einzuspritzen. Da Solvent trapping in einer Kapillare besonders wirksam und leicht zu beherrschen ist, werden hier on-column oder Concurrent Solvent Recondensation (CSR)-splitlose Einspritzung empfohlen. Beim Solvent splitting in der Programmed Temperature Vaporizing (PTV)-Einspritzung kann analoges Solvent trapping im Injektorröhrchen ausgenutzt werden, ist aber schwieriger zu beherrschen. Die Resultate für die im Folgenden beschriebene Methode wurden mit on-column Einspritzung erhalten.

### 2.8.2 Rekonzentration durch den Retention gap Effekt

Bei Einspritzvolumen von über 1 µl beschichtet ("flutet") die Probenflüssigkeit rasch ein längeres Teilstück des Säuleneingangs als für den Trennprozess toleriert werden kann. 1 µl Flüssigkeit belegt die Innenwand einer Kapillare von 10-25 cm Länge, abhängig von vielerlei Faktoren. Für eine kurze Trennsäule, wie sie hier vorgesehen ist, bewirkt jedoch bereits eine Anfangsbande von über ca. 10 cm Länge signifikante Peakverbreiterung.

Die Anfangsbanden der bei der Ofenanfangstemperatur flüchtigen Probenkomponenten werden durch Solvent trapping am vorderen Ende der gefluteten Zone angereichert. Jene der bei dieser Temperatur nicht flüchtigen Probenkomponenten sind jedoch so lang wie der geflutete Säuleneingang, also bei großvolumigen Einspritzungen leicht mehrere Meter, was zu völlig unakzeptabler Peakverbreiterung führt. Die Verbreiterung wird für Signale sichtbar, die mindestens ca. 50 °C über der Ofentemperatur während der Lösungsmittelabdampfung eluiert werden und betrifft von diesem Punkt an alle Signale in gleicher Weise.

Die Banden müssen also angereichert werden, was mit dem Retention gap Effekt erzielt wird [20,20]. Die geflutete Zone wird in eine unbelegte Vorsäule verlegt. Da deren Retentionskraft viel geringer ist als jene der Trennsäule, migrieren die Komponenten bei relativ tiefen Ofentemperaturen durch die Vorsäule und werden am Eingang der belegten Trennsäule angehalten (angereichert). Diese stranden an der stationären Phase. Erst bei weiter gestiegenen Ofentemperaturen beginnt deren Chromatographie durch die Trennsäule. In der Darstellung der Abbildung 5 werden die Analyten sehr viel schneller in der unbelegten Vorsäule transferiert als in der mit stationärer Phase beschichteten Trennsäule, wodurch die Anfangsbande entsprechend verkürzt wird.



**Abbildung 5. Verkürzung der Anfangsbanden hochsiedender Analyten mittels Retention gap Effekt: schneller Transfer durch die unbelegte Vorsäule und Abbremsen am Eingang der mit stationärer Phase beschichteten Trennsäule rekonzentriert das Probenmaterial.**

Die Verkürzung der Anfangsbanden entspricht der Differenz zwischen den Retentionskräften der Vor- und der Trennsäule, d.h. der Retention gap Effekt ist wirksamer, je geringer die Retentionskraft der Vorsäule und je dicker der Film der stationären Phase in der Trennsäule. Die Retentionskraft einer desaktivierten Fused silica Kapillare entspricht ca. 2-4 nm stationärer Phase [21], d.h. ist ca. 50 Mal tiefer als in einer dünn beschichteten Trennsäule und kann die Anfangsbanden um ungefähr diesen Faktor verkürzen.

Die unbelegte Vorsäule muss folgende Anforderungen erfüllen:

- Die Größe (Innenoberfläche) muss ausreichen, um die ganze Probenflüssigkeit als Beschichtung festzuhalten, d.h. das Einspritzvolumen bestimmt die nötige Größe (Länge und Durchmesser);
- Die Innenwand muss durch das Lösungsmittel benetzbar sein (sonst bilden sich hier und da einige Tröpfchen an der Kapillarwand, aber die Flüssigkeit schießt weitgehend durch die Vorsäule).
- Unbelegte Vorsäulen sind meistens desaktiviert, wobei die Desaktivierung keine namhafte Retentionskraft aufbauen darf. Für die Analyse von MOSH ist eine Desaktivierung allerdings nicht wirklich nötig.

### **2.8.3 Dampfausgang**

Das Einspritzvolumen wird hier auf ca. 50 µl beschränkt, weil bei größeren Lösungsmittelmengen die Abdampfung zu zeitraubend würde. Diese Einschränkung liesse sich durch den Einbau eines Dampfausgangs zwischen der unbelegten Vorsäule und der Trennsäule vermeiden: Zwischen die Vorsäule und die Trennsäule wird eine Verzweigung eingebaut (z.B. Press-fit Y-Stück), die an ein Ventil anschliesst, welches während der Lösungsmittelabdampfung offen steht und für die Analyse auf einen hohen Widerstand schaltet. Wenn eine 0,53 mm ID Vorsäule verwendet wird, steigt bei konstantem Eingangsdruck der Abfluss durch die Vorsäule um einen Faktor 10-50, was die Lösungsmittelverdampfung entsprechend beschleunigt. Die on-line HPLC-GC verwendet einen solchen Dampfausgang.

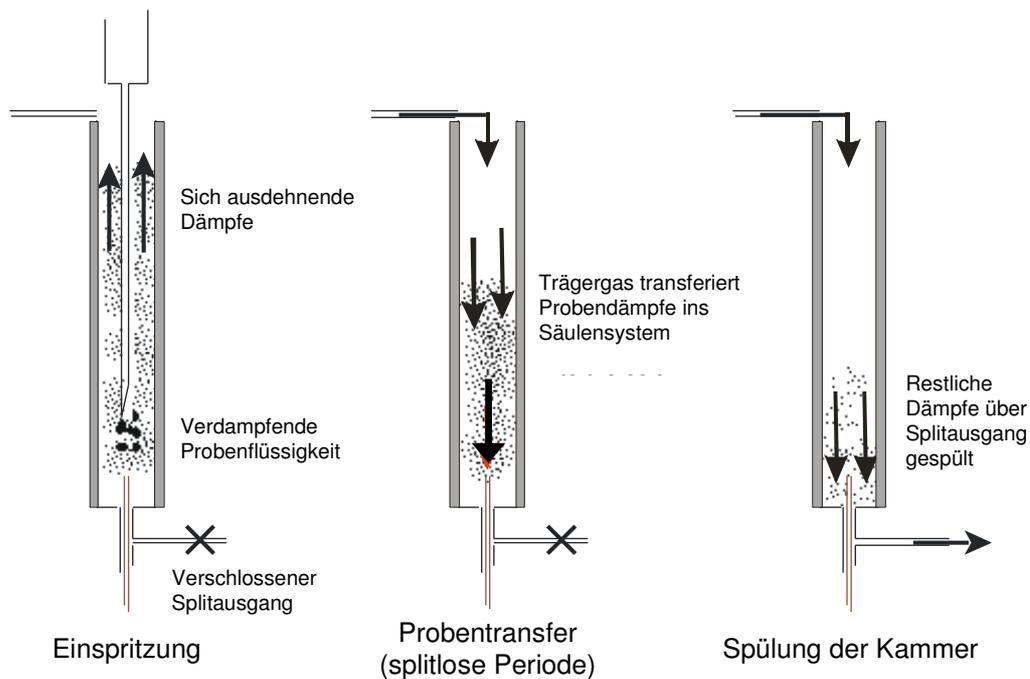
Hier wird auf einen Dampfausgang verzichtet, weil dafür eine entsprechende Modifikation des Geräts nötig wird und der Verschluss des Ausgangs zum richtigen Zeitpunkt (kurz vor Ende der Lösungsmittelverdampfung) die Methode kompliziert.

### **2.8.4 Splitlose Einspritzung mit Concurrent Solvent Recondensation (CSR)**

#### **2.8.4.1 Weiterentwicklung der klassischen splitlosen Einspritzung**

Klassische splitlose Einspritzung in einen permanent heißen Injektor ist auf 1-2 µl Flüssigkeit beschränkt, weil dabei ein Dampfvolmen erzeugt wird, das eben die Injektorkammer (das Glasröhrchen) füllt [22]. Die Dämpfe müssen in dieser Kammer zwischengespeichert werden, weil diese sehr viel schneller entstehen als in die Trennsäule abgeführt werden können. Dämpfe in der Größenordnung von 0,5-1 ml bilden sich in einem Bruchteil einer Sekunde, während der Gasabfluss durch die Säule in der Größenordnung von 1 ml pro Minute liegt.

Die wichtigsten drei Schritte der klassischen splitlosen Einspritzung sind in Abbildung 6 schematisch dargestellt.



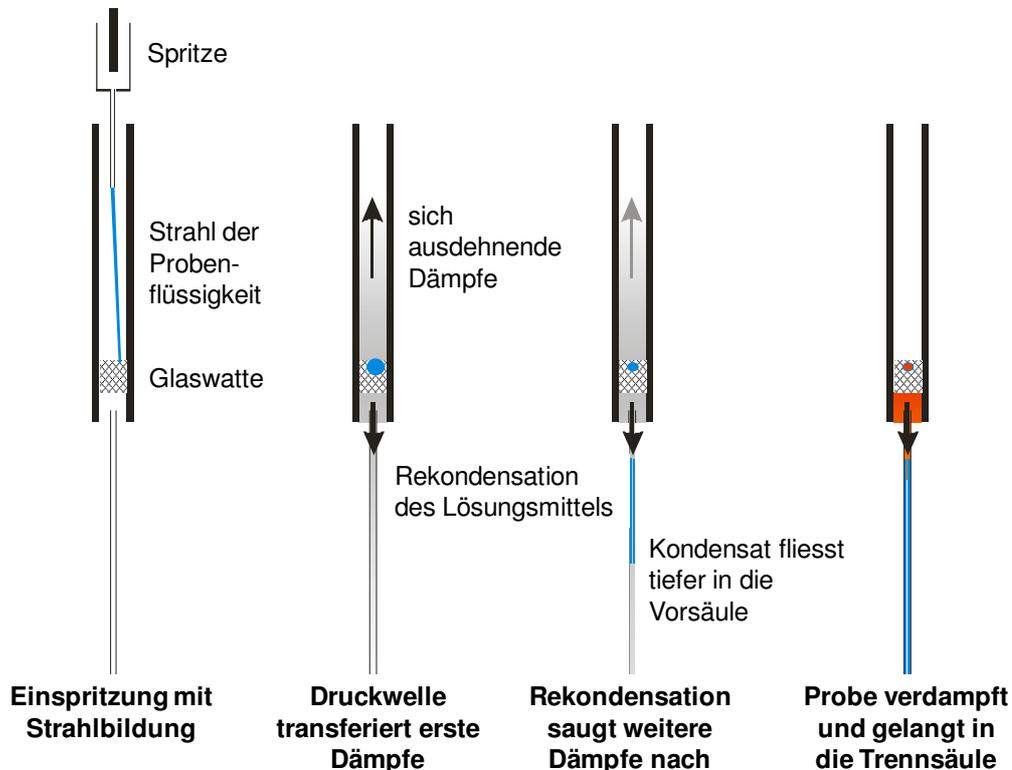
**Abbildung 6. Die drei Stufen der klassischen splitlosen Einspritzung: Schnelle Ausbildung einer großen Dampfvolke; langsamer Transfer der Dämpfe in die Trennsäule; Spülung der Injektorkammer.**

CSR splitlose Einspritzung [23,24] umgeht diese Beschränkung im Einspritzvolumen durch eine drastische Beschleunigung des Transfers in die Trennsäule kombiniert mit einer relativ langsamen Probenverdampfung im Injektor.

Wenn die Ofentemperatur unter dem (druckkorrigierten) Lösungsmittelsiedepunkt gehalten wird, lässt Lösungsmittelrekondensation im kühlen Eingang des Trennsystems das große Dampfvolmen wieder auf Mikroliter schrumpfen, d.h. das große Dampfvolmen muss nicht sofort über die ganze Trennsäule abgeführt werden, sondern nur über das kurze Stück zwischen der Injektorkammer und dem Ofen-thermostatisierten Eingang. Über diese wenigen Zentimeter kann leicht ein Abfluss von mehreren 100 ml/min erzeugt werden.

#### 2.8.4.2 Stufen der CSR-splitlosen Einspritzung

Die CSR-splitlose Einspritzung erfolgt über die in Abbildung 7 dargestellten Stufen.



**Abbildung 7. Die wichtigsten Stufen der CSR-splitlosen Einspritzung: Transfer der Probenflüssigkeit auf einen Glaswattepfropf; Druckstoss durch Dampf Bildung setzt Transferprozess in Gang; Lösungsmittelrekondensation im kühlen Säuleneingang und Expansion der rekondensierten Probe entlang der Wand der unbelegten Vorsäule; Verdampfung und Transfer der höher siedenden Probenkomponenten. Nicht gezeigt: Solvent trapping in der Vorsäule und Rekonzentration durch den Retention gap Effekt.**

1. Die eingespritzte Flüssigkeit soll einen Strahl bilden und von der Nadelspitze in einen kleinen (ca. 5 mm hohen) Pfropf von Glaswatte knapp über dem Säuleneingang transferiert werden. Vernebelung durch Verdampfung in einer heißen Spritzenadel muss vermieden werden. Deswegen wird die Nadel nur wenig tief in die Injektorkammer eingeführt und die Einspritzung erfolgt schnell, ohne vorausgehende Erwärmung der Nadel. Die Probenflüssigkeit steuert sich von selbst in die Glaswatte, weil das tiefsiedende Lösungsmittel einen Kontakt mit der heißen Wand des Injektorröhrchens verhindert (Dämpfe weisen die Flüssigkeit zurück [25]).
2. Die Glasfasern werden wegen ihrer geringen thermischen Masse schnell auf den Lösungsmittelsiedepunkt abgekühlt, was die Abstoßung der Flüssigkeit verhindert. Die Flüssigkeit bildet einen Tropfen in der Glaswatte und verdampft dort relativ langsam (gesteuert durch den Zufluss von Verdampfungswärme). Dämpfe dehnen sich aus. Weil die Injektorkammer geschlossen ist, erhöhen sie den Innendruck und bewirken so einen erhöhten Abfluss ins Trennsystem.
3. In den ersten Zentimetern des kühlen Säuleneingangs rekondensiert das Lösungsmittel an der Kapillarwand, d.h. die Dämpfe schrumpfen, was einen Unterdruck erzeugt, der weitere Dämpfe aus dem Injektor nach sich

zieht. So entsteht ein hoher Fluss über den kurzen, in der Injektorbasis montierten Säulenhals. Die Ofentemperatur muss also unter dem druckkorrigierten Lösungsmittelsiedepunkt gehalten werden. Als Faustregel für die maximale Ofentemperatur kann pro 10 kPa Trägergaseingangsdruck 1 °C zum Standardsiedepunkt addiert werden.

4. In der Abdampfzone im Injektor herrscht eine Temperatur entsprechend dem druckkorrigierten Siedepunkt des Lösungsmittels, bis dieses vollständig verdampft ist. Erst dann steigt die Temperatur wieder an und erlaubt die Verdampfung der Probenkomponenten. Dieser Temperaturanstieg auf das regulierte Niveau ist relativ langsam, weshalb lange splitlose Perioden nötig sind (3-4 min).
5. Das Rekondensat im Trennsystem bildet eine Schicht auf der Kapillarwand, die schnell instabil wird. Die Flüssigkeit bildet darauf Pfropfs oder Linsen, welche durch das Trägergas tiefer in die Kapillare geschoben werden und mehrere Meter Kapillarrohr „fluten“. Wenn die Kapillarwand durch das Lösungsmittel benetzbar ist (für Hexan problemlos), bildet sich ein durchgehender Film.
6. Das Lösungsmittel verdampft von hinten (Injektorseite) gegen vorn, was zum Solvent trapping der flüchtigen Probenkomponenten führt. Die Chromatographie der flüchtigen Substanzen startet am Ende der Lösungsmittelabdampfung von der Stelle, wo das letzte Lösungsmittel abdampfte.
7. Die Anfangsbanden der bei der Ofenanfangstemperatur nicht flüchtigen Probenkomponenten müssen durch den Retention gap Effekt angereichert werden, d.h. die geflutete Zone wird in eine unbelegte Vorsäule verlegt. Die CSR-splitlose Einspritzung benötigt also eine unbelegte Vorsäule mit einer Kapazität, welche die rekondensierte Probe von der Trennsäule fern zu halten vermag.
8. Die Ofentemperatur darf erst nach dem Ende der Lösungsmittelabdampfung über den druckkorrigierten Siedepunkt des Lösungsmittels erhöht werden, da sonst die Dämpfe einen Überdruck aufbauen und in den Injektor zurückfließen würden.

#### 2.8.4.3 Unbelegte Vorsäule

Die CSR-splitlose Einspritzung benötigt eine unbelegte Vorsäule mit einer für das Einspritzvolumen ausreichenden Kapazität: Die innere Oberfläche der Vorsäule muss genügen, die ganze Probenflüssigkeit als Film festzuhalten. Regeln dazu wurden in [20,21,26] beschrieben. Für 50 µl benetzende Flüssigkeit sind Vorsäulen von ca. 7 m x 0,53 mm ID oder 10 m x 0,32 mm ID nötig. Der weiten Vorsäule wird der Vorzug gegeben, da der Druckabfall geringer ist und deswegen der Dampfabfluss stärker erhöht werden kann (siehe 2.8.6).

Im Normalfall muss die unbelegte Vorsäule deaktiviert sein, was meistens durch Silylierung erreicht wird. Diese Silylierung muss auch die Benetzbarkeit der Kapillarwand mit dem Lösungsmittel gewährleisten, damit die Probenflüssigkeit einen durchgehenden Film ausbilden kann. Für Lösungsmittel hoher Oberflächenspannung (wie Toluol) ist deswegen die Deaktivierung mit Trimethylsilylierung ungeeignet. Normalerweise wird eine Variante der Phenyldimethyl-Silylierung verwendet, um die kritische Oberflächenenergie zu erhöhen. Eine dünne Beschichtung, z.B. mit OV-1701, kann robuster sein [27], muss aber derart dünn sein, dass der Retention gap Effekt genügend wirksam bleibt (sonst werden verbreiterte, oft gesplittete Peak beobachtet).

Für die Analytik der wenig adsorptiven MOSH und MOAH kann auch rohes Fused silica eingesetzt werden: Mindestens nach einigen wenigen Einspritzungen ist deren innere Oberfläche genügend inert.

### 2.8.5 On-column Einspritzung

On-column Einspritzung bringt die Probe direkt als Flüssigkeit in die unbelegte Vorsäule ein. Dort breitet sie sich aus wie bei der CSR-splitlosen Einspritzung. Die Mechanismen von Solvent trapping und Rekonzentrierung über den Retention gap Effekt sind die gleichen.

On-column Einspritzung ist diskriminierungsfrei für die Hochsieder und kann einen schmalen Lösungsmittelpeak erzeugen als die CSR splitlose Methode. Andererseits gelangen auch unverdampfbare Anteile ungehindert in den Säuleneingang und bauen dort Retentionskraft auf. Damit kann der Retention gap Effekt verloren gehen und Peaks werden verbreitert und deformiert.

Da Kohlenwasserstoffe vor allem von Hotmelt-Klebern immer wieder die Vorsäule belasten und der diskriminierungsfreien Erfassung von Kohlenwasserstoffen über etwa C<sub>35</sub> wenig Bedeutung beigemessen wird, wird eigentlich der CSR-splitlosen Einspritzung der Vorzug gegeben. Die unverdampfbaren Anteile bleiben auf der Glaswatte im Injektorröhrchen, haben dort wegen der hohen Temperatur weniger störenden Einfluss und können leicht entfernt werden.

### 2.8.6 Lösungsmittelabdampfung

Die Einspritzung großer Volumen in die Kapillartrennsäule bedingt den Abfluss eines großen Volumens von Lösungsmitteldampf. Dieser Abfluss kann leicht zeitaufwändig werden und einen entsprechend breiten Lösungsmittelpeak verursachen.

Die Abflussgeschwindigkeit ist eine Funktion des Trägergasflusses und der Konzentration der Lösungsmitteldämpfe im abfließenden Dampf-/Gasgemisch. Beide lassen sich optimieren, doch wegen des Toluols müssen für diese Anwendung besondere Mittel ergriffen werden.

#### 2.8.6.1 Ofentemperatur

Die optimale Ofentemperatur ergibt sich aus folgenden zwei Anforderungen:

- Um die Dampfkonzentration zu maximieren gilt als allgemeine Empfehlung, die Ofentemperatur nur knapp unter dem Eingangsdruck-korrigierten (also erhöhten) Lösungsmittelsiedepunkt zu halten. Beim Siedepunkt würden die Lösungsmitteldämpfe 100 % des Abflusses erreichen, also das Trägergas vollständig ersetzen.
- Die Ofentemperatur darf den druckkorrigierten Siedepunkt der Probenflüssigkeit nicht überschreiten, weil sonst in der CSR-splitlosen Einspritzung der Saugeffekt der Rekondensation ausbliebe und bei der on-column Einspritzung ein Dampfdruck über dem Eingangsdruck entstehen würde, welcher zum Fluss rückwärts aus der Säule führt.

Die aufgearbeiteten Extrakte enthalten 40-55 % Toluol in Hexan (abhängig von den Bedingungen der Lösungsmittelabdampfung; das Methylenchlorid in der MOAH-Fraktion wird bei der Anreicherung als erstes entfernt). Der Siedepunkt ist also anfänglich durch das Hexan gegeben (bei Normaldruck: 69 °C). Dann steigt er auf jenen von Toluol (bei Normaldruck: 110 °C).

Beim gewählten hohen Eingangsdruck während der Lösungsmittelabdampfung (250 kPa; siehe unten) wäre eine Ofenanfangstemperatur von etwa 95 °C optimal (69 °C für Hexan + 25 °C als Korrektur für den Eingangsdruck). Aus chromatographischen Gründen muss diese allerdings tiefer angesetzt werden. Die Absi-

cherungsstandards n-C<sub>11</sub> und 5B sollen verlässlich vom Lösungsmittelpeak abgetrennt und mit einigermaßen konstanter Retentionszeit eluiert werden. Da aus den unten genannten Gründen eine kurze, dünnfilmige Trennsäule verwendet wird, muss die Ofentemperatur bei ca. 80 °C liegen. Bei solchen Bedingungen wäre nun vor allem die Verdampfung von Toluol übermäßig langsam.

#### 2.8.6.2 Eingangsdruck

Das Problem des allzu zeitraubenden Abflusses vor allem der Toluoldämpfe wurde durch eine starke Erhöhung des Eingangsdrucks während der Abdampfung gelöst. Solange sich im Säuleneingang kondensiertes Lösungsmittel befindet, hält das Solvent trapping die Probenkomponenten fest, d.h. es findet keine Chromatographie statt. Auch ein viel zu hoher Gasfluss bewirkt also keine Peakverbreiterung. Der erhöhte Druck muss aber wieder abgesenkt werden, bevor der letzte Rest des Lösungsmittels verdampft ist. Dieser Moment muss experimentell bestimmt werden, wobei zu berücksichtigen ist, dass der Toluol-Anteil in der eingespritzten Lösung je nach Eindampfbedingung etwas variiert.

#### 2.8.6.3 Rußentwicklung im FID

Toluol neigt dazu, im FID unter Rußentwicklung zu verbrennen. Dies kontaminiert den FID, was sich allerdings außer gelegentlichen Spikes (schnellen Signalaus-schlägen) wenig auswirkt. Diese Rußbildung kann jedoch durch erhöhte (etwa verdoppelte) Luftzufuhr eingeschränkt oder unterdrückt werden (diese führt zu keiner signifikanten Veränderung der FID-Empfindlichkeit).

### 2.8.7 Trennsäule

#### 2.8.7.1 Kurz und enge Trennsäule

Da die MOSH und MOAH vor allem breite Peakhaufen erzeugen, welche oft fast das ganze Chromatogramm ausfüllen, ist eine flache Basislinie entscheidend. Als erste Anforderung bedeutet dieses ein minimales Säulenbluten.

Säulenbluten hängt zuerst von der Konditionierung und etwas von der stationären Phase, d.h. vom Fabrikat ab. Auf längere Sicht ist jedoch vor allem die Menge der stationären Phase entscheidend, d.h. die Trennsäule sollte kurz, eng und dünnfilmig sein. Diese Trennsäulen weisen schon an sich geringes Bluten auf. Da damit aber auch der thermische Stress zur Elution der Hochsieder minimiert wird, sinkt der Basisliniendrift nochmals.

Kurze Trennsäulen ermöglichen auch einen hohen Trägergasfluss, was für den Abfluss der Lösungsmitteldämpfe wichtig ist (siehe oben).

Ein kleiner Durchmesser der Trennsäule ermöglicht hohe Trennleistungen auch bei hohen Trägergasgeschwindigkeiten. Allerdings sollte er nicht unter 0,25 mm fallen, weil ansonsten der volumetrische Gasfluss für den Retention gap Effekt zu gering und der nötige Trägergaseingangsdruck zu hoch wird (siehe unten).

Die minimale Säulendimension muss noch eine genügende Trennung gewährleisten. Diese Ansprüche sind allerdings bescheiden. Die auf die MOSH und MOAH aufgesetzten Komponenten (z.B. pflanzliche Paraffine) müssen bis auf die MOSH oder MOAH hinunter getrennt sein. Trennsäulen von 7-12 m x 0,25 mm ID haben sich am besten bewährt.

#### 2.8.7.2 Geringe Filmdicke

Die optimale Filmdicke der stationären Phase ergibt sich aus folgenden Faktoren:

- Wie oben erwähnt: je dünner die Beschichtung, desto geringer das Säulenbluten und desto besser die Basislinie.

- Als Faustregel reduziert eine halbierte Filmdicke bei gleichen chromatographischen Bedingungen die Elutionstemperatur um 15 °. Bei dünnen Filmen (ca. 0,15 µm) sollte es gelingen, bis zur Elution von n-C<sub>35</sub> (bei ca. 300 °C) eine horizontale Basislinie zu erhalten. Dies vereinfacht die Integration der Peakhaufen.
- Kapazität: Der Trennmechanismus wird schnell durch dominierende Probenbestandteile überladen, was zu allgemeiner Peakverbreiterung führt. Diese Peakdeformation wirkt sich meistens nicht auf die quantitative Bestimmung aus. Ausnahmen sind vor allem Speiseöle mit MOSH im Bereich der natürlich vorhandenen n-Alkane, weil so die Paraffine des Öls nicht bis auf die MOSH hinunter getrennt werden. Allerdings führt Überladung zu unansehnlichen Chromatogrammen. Mit dickeren Filmen ist der Spielraum zwischen minimaler Probenmenge zur Erreichung der Nachweisgrenze und der Grenze der Säulenkapazität größer. Mit der empfohlenen Trennsäule wird hingenommen, dass das Perylen meistens etwas überladen wird.
- Der Retention gap Effekt beim Übergang aus der großen (0,53 mm ID) unbelegten Vorsäule in die Trennsäule muss für die Anreicherung der Anfangsbanden ausreichen. Allzu spitze Minimierung der Filmdicke in der Trennsäule bewirkt, dass gewisse kommerziellen Vorsäulen kaum mehr funktionieren (zu hohe Retentionskraft aufweisen) und bereits eine geringe Belastung der unbelegten Vorsäule mit nicht verdampfbarem Material zu Peakdeformationen (oft Peaksplitting) führt.

Die Abwägung dieser Aspekte führte zur Empfehlung, eine Filmdicke von 0,15 bis 0,2 µm zu verwenden. Kommerzielle Standardtrennsäulen mit einer 0,25 µm Beschichtung sind etwas ungünstiger, aber brauchbar, wenn sie kurz sind (6-10 m).

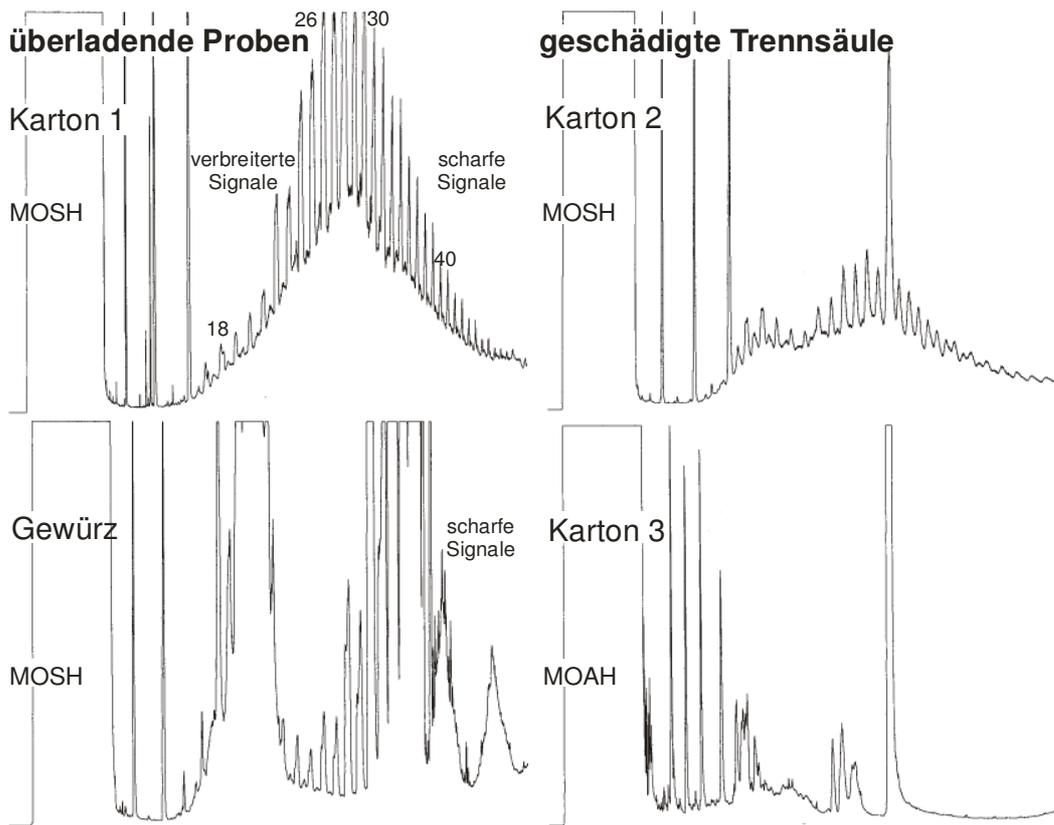
### 2.8.7.3 Überladung des Trennsystems oder belastete Vorsäule?

Abbildung 8 zeigt das Überladungsphänomen und grenzt es gegen ein gestörtes Trennsystem ab, weil beide Phänomene häufig auftreten können. Die beiden linken Chromatogramme zeigen Überladung der Trennsäule. Typisch ist die Peakverbreiterung der vor dem überladenden Material eluierten Komponenten, sowie normal scharfe Signale nachher (verbunden mit einer weniger auffälligen Erhöhung der Retentionszeiten). Im Karton 1 und im Gewürz beweisen die wenigen scharfen Signale, dass die Trennsäule keinen Schaden genommen hat. Tatsächlich waren die nachfolgenden Chromatogramme normal.

Die beiden rechten Chromatogramme stammen von einem deutlich geschädigten Trennsystem. Charakteristisch ist die Verbreiterung auch der spät eluierten Peaks. Zudem hätte die auf die Trennsäule gebrachte Probenmenge für eine Überladung nicht ausgereicht. Vermutlich wurden aus Karton- oder Kunststoffanalysen nicht verdampfbare Anteile im Säuleneingang akkumuliert, welche sich nicht mehr ausheizen ließen (on-line HPLC-GC-Chromatogramme, also mit on-column Transfer ohne Verdampferkammer welche unflüchtiges Material von der Vorsäule fernhält).

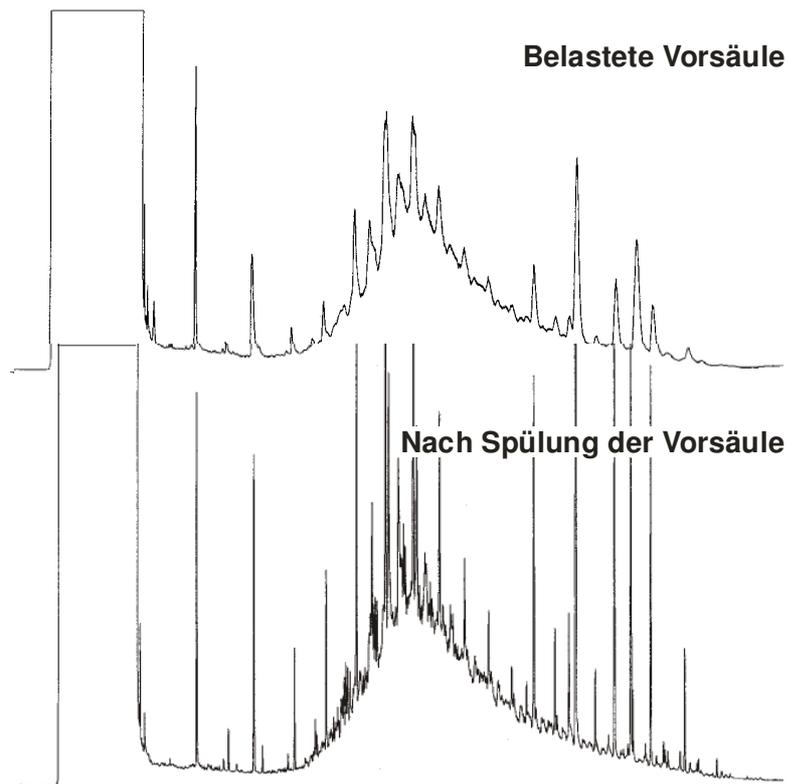
Solange durch die Belastung der Vorsäule keine kritischen Trennungen leidet, wirkt sich Peakverbreiterung nicht auf quantitative Resultate aus. Auch in diesem Text sind Chromatogramme mit reduzierter Trennleistung abgebildet.

Ein Auswechseln der unbelegten Vorsäule und eine Verkürzung der Trennsäule um ca. 10 cm löst dieses Problem.



**Abbildung 8. Überladene Chromatogramme (links) gegenüber geschädigter Trennsäule (rechts).**

Die Vorsäule kann mit einem Lösungsmittel wie Methylenchlorid gespült und wiederverwendet werden. Die abgelagerten Kohlenwasserstoffe verlacken nicht und bleiben deswegen löslich (dies ist bei Lipiden häufig nicht der Fall). Abbildung 9 zeigt als Beispiel mittels on-line HPLC-GC erzeugte Chromatogramme einer Reisprobe (ohne Standards) vor und nach Spülung der unbelegten Vorsäule.



**Abbildung 9. Wirkung der Spülung der unbelegten Vorsäule nach einer langen Serie von Karton- und Kunststoffproben.**

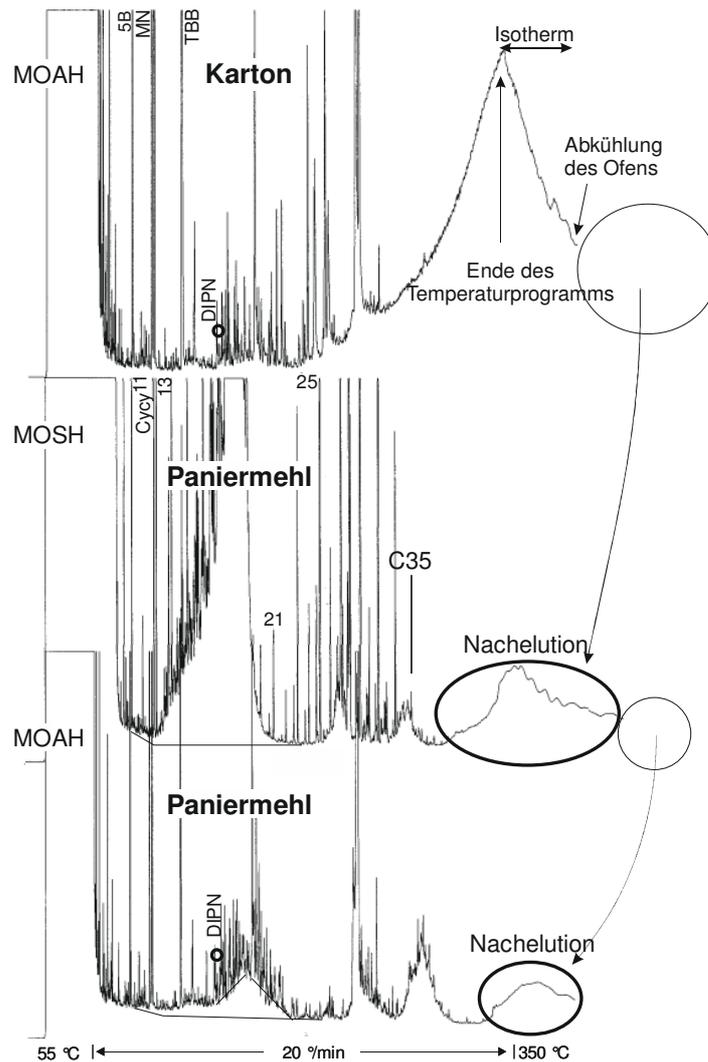
#### 2.8.7.4 Nachelution in der GC

Manche Proben enthalten Kohlenwasserstoffe bis in einen Molekularmassenbereich, der auch bei 350 °C nicht eluiert werden kann (z.B. Kunststoffextrakte oder Klebstoffe). Sehr hoch molekulare Anteile bleiben in der Vorsäule liegen, bis diese gespült wird. Verbindungen eines Zwischenbereichs werden aber (oft häppchenweise) in den nächsten Chromatogrammen eluiert und werden hier als „Nachelution“ bezeichnet.

Ab ca. 50 °C unter dem Ende des Temperaturprogramms werden breite Hügel eluiert. Solches Material kann im Falle der MOSH und MOAH aussehen wie ein erhöhtes Säulenbluten und einen erhöhten Gehalt an hochsiedenden Kohlenwasserstoffen vortäuschen. Da Nachelutionen unregelmäßig auftreten (nach Proben mit hohem Gehalt an nicht im eigentlichen Chromatogramm eluiertem Material), müssen sie ständig im Auge gehalten werden.

Abbildung 10 zeigt als Beispiel Chromatogramme aus der Analyse eines Paniermehls, das in Frischfaserkarton mit Innenbeutel aus Papier verpackt war. Das oberste Chromatogramm stammt von der MOAH-Fraktion des Kartonextrakts. Im zuletzt eluierten Abschnitt ist ein Peakhaufen zu beobachten, der wohl von einem Harz stammt (eher ungewöhnlich für Frischfaserkarton). Die Elution verlangsamt sich bei isothermer Elution am oberen Ende des Temperaturprogramms (350 °C), was zum Absinken des Signals führt, obwohl der Haufen wahrscheinlich sein Maximum noch gar nicht erreicht hat. Nach 5 min wurde die Säule abgekühlt (am Ende des hier gezeigten Chromatogramms). Im nachfolgenden Chromatogramm (Mitte Abbildung 10; hier die MOSH-Fraktion des Lebensmittels) sind Nachelutionen sichtbar, erkennbar an der breiten Form, die auf sehr langsame Elution zurückgeht (im Zweifelsfall durch Nachanalyse nach einem Blank zu bestätigen). Auch im dritten Chromatogramm (hier die MOAH-Fraktion des Paniermehls) sind

noch Nachelutionen sichtbar, allerdings kleiner und erst bei höheren Temperaturen einsetzend.



**Abbildung 10. Problem der Nachelution: Übertragung nicht eluierten Probenmaterials auf die nächsten Chromatogramme. Proben im Zusammenhang mit einem Paniermehl in Frischfaserkarton mit Papierinnenbeutel; MOSH und MOAH Fraktionen, wie links angegeben.**

Besonders bei on-column Transfer (on-line HPLC-GC, wie in diesem Fall, oder on-column Einspritzung), sind Nachelutionen häufig und die Analytik muss damit zurechtkommen. Dazu folgende Punkte:

- Nachelutionen sind selten ein Problem für die Analytik bei einem Übergang über die Gasphase, weil sie nicht in den Bereich unter n-C<sub>30</sub> reichen.
- Auf Chromatogramme mit großen Mengen an nicht eluiertem Material folgende Analysenergebnisse müssen auf mögliche Einwirkungen von Nachelutionen überprüft werden. Gegebenenfalls muss die Analyse nach einem Blindwertlauf wiederholt werden.
- Da eine häufige Kontrolle auf Nachelution in der Routine wenig praktikabel ist, sollte das Problem systematisch gelöst werden. Die Temperaturprogrammierung wird so hoch geführt, dass Nachelutionen erst nach dem Ende des interessierenden Molekularmassenbereichs (hier n-C<sub>35</sub>; im mitt-

leren Chromatogramm markiert) eluiert werden. Dazu muss die Programmierung allerdings etwa 50 °C über die Elution von n-C<sub>35</sub> hinausgehen. Da die obere Temperatur auf ca. 350 °C begrenzt ist, muss dafür gesorgt werden, dass n-C<sub>35</sub> nicht über 300 °C eluiert wird, was hier der Fall war (295 °C). Tatsächlich stören hier die Nachelution die Analyse nicht wirklich.

Nebenbei: Die hohe Belastung des Lebensmittels mit MOSH (mittleres Chromatogramm; 45 mg/kg für den Bereich C<sub>16</sub>-C<sub>20</sub>) stammt ausschließlich von der Bedruckung der Schachtel. Die Molekularmassenverteilung der MOSH im Lebensmittel, insbesondere der steile Abstieg bei C<sub>18</sub>/C<sub>19</sub>, ist typisch für Mineralöle, die in off-set Druckfarben verwendet werden (siehe Produkt 3 in Abbildung 18). Die gleiche Verteilung war in der MOSH-Fraktion des Kartonextrakts zu sehen (nicht gezeigt). In der MOAH-Fraktion des Kartonextrakts sind vor allem Signale von Holzinhaltsstoffen zu sehen. Wie zu erwarten, fehlen die Diisopropyl-naphthaline (DIPN), die als Marker für Recyclingkarton stehen.

## 2.8.8 Chromatographische Bedingungen

### 2.8.8.1 Maximierte Empfindlichkeit: schnelle Chromatographie

Die zu messenden Peakhaufen weisen eine maximale Höhe auf, wenn die Chromatographie schnell vorangetrieben wird, was in erster Linie ein schnelles Temperaturprogramm (z.B. 25 %/min) erfordert. Auch der Trägergasfluss muss hoch sein, um zu hohe Elutionstemperaturen zu vermeiden.

Bei der schnellen Chromatographie kann die Anreicherung durch den Retention gap Effekt ungenügend werden. Das Probenmaterial muss bei genügend tiefer Temperatur aus der unbelegten Vorsäule an den Anfang der Trennsäule transportiert werden, damit es dort aufgehalten werden kann. Da die Vorsäule viel weiter ist als die Trennsäule (0,53 gegenüber 0,25 mm ID), ist die Trägergasgeschwindigkeit tief. Zudem ist der Gasdruck hoch (der Druckabfall erfolgt weitgehend über die Trennsäule), was die Gasgeschwindigkeit nochmals erniedrigt. Besonders ungünstig ist die Kombination von Helium als Trägergas mit einer relativ langen (z.B. 20 m x 0,25 mm ID) Trennsäule. Bei dem dafür nötigen hohen Eingangsdruck ist die Gasgeschwindigkeit in der Vorsäule kritisch tief. Peakverbreiterung ab mindestens ca. 50 °C über der Ofentemperatur bei der Lösungsmittelverdampfung ist die mögliche Folge. Sie kann durch ein verlangsamtes Temperaturprogramm vermieden werden.

Der niedrig viskose Wasserstoff ist dem Helium als Trägergas vorzuziehen, weil höhere Gasflüsse möglich sind (schnelleres Abführen der Lösungsmitteldämpfe) und der geringere Druckabfall eine höhere Gasgeschwindigkeit in der unbelegten Vorsäule bewirkt. Mit einem Wasserstoffsensoren zur Kontrolle der Wasserstoffkonzentration im Ofen oder einer anderen Leckkontrolle kann ein mögliches Risiko ausgeschlossen werden.

### 2.8.8.2 Ende des Temperaturprogramms

Die Darstellung der Molekularmassenverteilung eines Peakhaufens im Gaschromatogramm hängt von der Temperaturprogrammierung ab. Ein langsames Temperaturprogramm bewirkt eine verlangsamte Elution, d.h. weniger Kohlenwasserstoffe werden pro Zeiteinheit eluiert und die Signalhöhe sinkt. Deswegen sollte mit einem konstanten Programm gearbeitet werden.

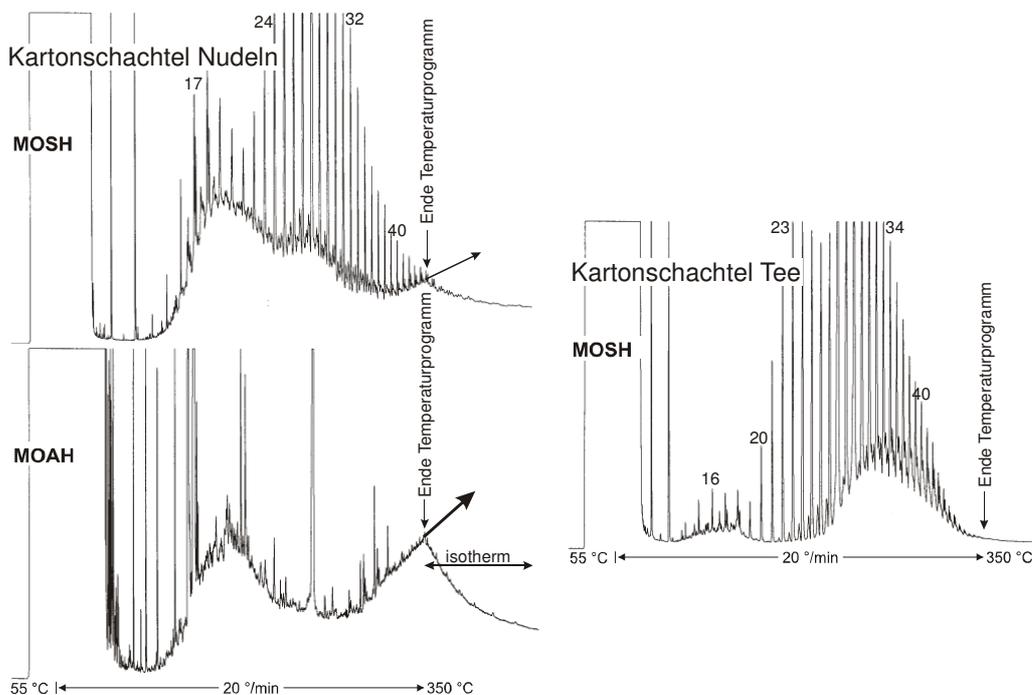
Besonders deutlich wird diese Abhängigkeit am Ende des Temperaturprogramms (wie schon oben angedeutet). Im isothermen Abschnitt verlangsamt sich die Elution mit steigender Molekularmasse, was bewirkt, dass bei konstanter Molekularmassenverteilung die Signalhöhe sinkt. Das wird links in Abbildung 11 an den

MOSH und MOAH Chromatogrammen eines Recyclingkartons gezeigt. Gegen das Ende des Temperaturprogramms steigt die Höhe des Peakhaufens an. Da das Säulenbluten vernachlässigbar war, zeigt dies eine ansteigende Menge MOSH und MOAH an, und es ist anzunehmen, dass sich dieser Anstieg fortgesetzt hätte, wenn das Programm weitergeführt worden wäre (siehe Pfeile). Im isothermen Bereich kehrte sich dieser Trend aber um und die Signalhöhe sank.

Damit soll vor einer Fehlinterpretation gewarnt werden. Eine absinkende Höhe des Peakhaufens am Ende des Temperaturprogramms bedeutet nicht, dass die vorhandene Mischung hier geendet oder nur schon ihr Maximum erreicht hätte. Im gewählten Beispiel ist das Gegenteil der Fall. Die Elution befand sich erst am Anfang eines Peakhaufens (wohl von Petroleumharz stammend).

Das Chromatogramm rechts (Faltschachtel aus Frischfasern für Teebeutel) zeigt das reale Ende eines Peakhaufens: Das Ende des Temperaturprogramms erfolgte erst nach der vollständigen Elution. Der Karton wurde offenbar eingewacht. Im früh eluierten Teil ist ein auf n-C<sub>16/17</sub> zentrierter Haufen zu sehen, der von der Bedruckung der Taschen für die Teebeutel stammte.

Wie schon im Kapitel Nachelution dargestellt, soll als Konsequenz die Temperaturprogrammierung klar über den interessierenden Bereich hinausgehen, damit eine Aussage möglich ist, wie das vorliegende Material zusammengesetzt ist.



**Abbildung 11.** Der Übergang zu isothermer Chromatographie bewirkt eine Abnahme der Signalhöhe, die nicht als Abnahme der Konzentration gedeutet werden sollte: Recyclingkarton einer Faltschachtel für Nudeln (links) und Frischfaserschachtel für Teebeutel.

## 2.9 Quantifizierung

Die zu quantifizierenden MOSH- und MOAH-Gemische stehen normalerweise nicht zur Verfügung. Deshalb wird für die quantitative Erfassung von MOSH, POSH und MOAH mit FID gearbeitet, die für alle Kohlenwasserstoffe bezüglich Masse annähernd die gleiche FID-Response aufweist. Die Quantifizierung kann über externe oder interne Standards erfolgen:

1. Eine bekannte Menge eines Mineralöls wird eingespritzt und als Ganzes integriert. Diese Peakfläche dient als externer Standard (Vergleich) für die

Analyse der Proben, was die Probleme bei der Suche nach geeigneten internen Standards umgeht, aber eine volumengetreue Probenaufarbeitung voraussetzt.

2. Der Probe werden vor der Aufarbeitung interne Standards zugesetzt, die in den jeweiligen Fraktionen eluiert werden.

### 2.9.1 Interne Standards

Die beschriebene Methode setzt auf interne Standards. Die Suche nach geeigneten Substanzen gestaltet sich allerdings als schwierig. Da die Mineralöle die Chromatogramme ab ca.  $n\text{-C}_{13}$  bis über  $n\text{-C}_{40}$  hinaus ausfüllen können, müssen die Randregionen besetzt werden. Beide sind aber mit Problemen verbunden. Als interne Standards verwendbare Kohlenwasserstoffe im Bereich über  $C_{40}$  sind schlecht löslich und unterliegen bei splitloser Einspritzung Diskriminierungseffekten. Vor  $n\text{-C}_{13}$  eluierte Substanzen sind flüchtig und können ggf. bei der Anreicherung leicht verloren.

Die Wahl fiel auf die flüchtigen Standards. Diese müssen derart ausgewählt werden, dass diese in den Proben nicht in namhaften Mengen vorkommen.

Wie im Kapitel 2.6.2 beschrieben, haben die Standards zwei Funktionen. Die einen dienen der quantitativen Bestimmung der Kohlenwasserstoffe, die anderen der Absicherung der Methode.

#### 2.9.1.1 Standards für die MOSH und POSH Fraktion

Den Proben werden vor der Extraktion folgende Standards zugesetzt:

- Cyclohexylcyclohexan (Cycy) kommt in Mineralölen und Verpackungen nicht in relevanten Mengen vor. Von apolaren Trennsäulen (beschichtet mit Dimethylpolysiloxanen) wird Cycy knapp vor  $n\text{-C}_{13}$  eluiert. Diese Trennung ist normalerweise unvollständig auf Dimethylpolysiloxanen mit 5 % Phenylsubstitution.
- $n\text{-Tridekan}$  ( $n\text{-C}_{13}$ ) wird aus zwei Gründen zugesetzt: Erstens soll die Trennung zwischen  $n\text{-C}_{13}$  und Cycy abgesichert sein. Andernfalls kann  $n\text{-C}_{13}$  aus der Probe zu überhöhten Cycy-Peakflächen und damit zu falschen (zu tiefen) Ergebnissen führen. Zweitens hilft  $n\text{-C}_{13}$  der Erkennung von Cycy als internem Standard. Diese werden als Paar mit von Auge schnell überprüfbarem Abstand eluiert.  $n\text{-C}_{13}$  wird nur in halber Konzentration zugefügt, damit immer klar ist, welches Signal des Paares Cycy entspricht.
- Zur Absicherung wird zusätzlich das noch flüchtigere  $n\text{-C}_{11}$  als "Wächter" mit zwei Funktionen zugesetzt. Wenn Abdampfverluste auftreten, ist anzunehmen, dass dieser "Wächter" in höherem Masse verloren geht als Cycy. Bei der Auswertung wird also überprüft, ob die Peakfläche von  $n\text{-C}_{11}$  gegenüber Cycy nicht namhaft reduziert ist. Wenn die Fläche von Cycy größer ist als jene von  $n\text{-C}_{11}$ , kann dies aber auch auf eine Coelution von Cycy mit einer probeneigenen Substanz zurückgehen.
- In Proben mit geringer Belastung im Bereich von  $n\text{-C}_{28}$  steht auch Cholestan (Cho) als Vergleich zur Verfügung. Cho dient aber vor allem der Absicherung der MOSH/MOAH-Trennung (siehe Kapitel 2.6.2).

#### 2.9.1.2 Standards für die MOAH-Fraktion

- 1- und 2-Methylnaphthalin (MN) als interne Standards in gleicher Konzentration. Die beiden werden wiederum als Paar eluiert, was zwei Vorteile bietet. Die Signale sind leicht zu erkennen, auch wenn die Retentionszeiten wegen variablen Toluolanteilen in der eingespritzten Lösung etwas schwanken. Zudem sollen beide Peaks die gleiche Fläche aufweisen. An-

dernfalls zeigt das größere Signal Coelution mit einer Probenkomponente an (Früher verwendeter interner Standard: Biphenyl (BP)).

- Pentylbenzen (5B) (früher Hexylbenzen, 6B) als Wächter für Verluste flüchtiger Komponenten (analog n-C<sub>11</sub>).
- Tri-tert. Butylbenzen (TBB) zur Absicherung der MOSH/MOAH-Trennung (Anfang der MOAH-Fraktion).
- Perylen zur Absicherung des Abschlusses der MOAH-Fraktion bzw. Kontrolle der Retentionskraft der Flüssigchromatographie.

### 2.9.2 Auswertung der Chromatogramme

Die Methode wird mit Integration der Peakflächen der Standards und der Kohlenwasserstoffe beschrieben (siehe Kapitel 3.7).

Da ein größerer Teil davon manuell vorgenommen werden muss (Festlegung der Basislinie; Integration aufsitzender Signale, die abgezogen werden müssen), ist dieses Vorgehen aufwändig.

Als Alternative könnten die MOSH oder MOAH-Flächen auch graphisch ausgewertet werden. In den entsprechenden Chromatogrammen kann die Mineralölfläche durch einfache geometrische Abbildungen, meistens Dreiecks angenähert werden. Diese in mm<sup>2</sup> vermessenen Peakflächen (Höhe h x Basisbreite b/2) werden mit der Fläche eines externen Standards verglichen, die auf gleiche Art bestimmt wurde.

Die graphische Flächenbestimmung ist schnell, setzt aber voraus, dass die Chromatogramme stets mit gleicher Abschwächung und Zeitskala aufgezeichnet werden und die Aufarbeitung der Probe strikt volumengetreu erfolgt (externen Standard). Die Aufarbeitung ist freier, wenn ein interner Standard zugesetzt und integriert wird. Die ausgemessenen Peakflächen werden durch den internen Standard abgeglichen. damit steigt wieder der Aufwand für die Auswertung. Die Resultate der Integration sind genauer, doch auch die graphische Bestimmung erreicht eine Präzision, welche meistens weniger durch die eingezeichnete geometrische Abbildung als durch die Unsicherheit in der Lage der Basislinie und der oberen Kontur bestimmt ist.

## 3 Manuelle Methode zur MOSH/MOAH-Bestimmung

### 3.1 Materialien

#### 3.1.1 Reagenzien

Aluminiumfolie zum Verpacken von Proben (sollte sicherheitshalber auf Verunreinigung mit Mineralöl geprüft werden)

Hexan für Extraktion und Vortrennung; zwei Alternativen:

- Gemisch mit ca. 60 % n-Hexan, redestilliert. Für die HPLC-Vortrennungen muss das Hexan vor der Destillation mittels Filtration durch bei ca. 400 °C aktiviertes Kieselgel von polaren Bestandteilen (Oxidationsprodukten) befreit werden: 300 g Kieselgel/10 l Hexan). Für die manuelle Methode kann die Filtration unnötig sein.
- Entsprechendes n-Hexan sauberer Qualität

1,1,2-Trichlorethan

Toluol.

- Um mögliche Störpeaks in den MOSH-Chromatogrammen durch unsauberes Toluol zu vermeiden, kann Toluol (ca. 10 ml) über eine Trennsäule

gereinigt werden, die so gepackt ist wie sie für die MOSH/MOAH-Trennung verwendet wird.

Methylenchlorid

Ethanol

Silbernitrat: zur Analyse

Silbernitrat auf Kieselgel 10 %

Perylen (Per)

Pentylbenzene (5B)

5-alpha-Cholestan (Cho)

1,3,5-Tri-tert. Butylbenzene (TBB)

Cyclohexylcyclohexan (Cycy) oder Bicyclohexyl

n-Undecan (n-C<sub>11</sub>)

n-Tridecane (n-C<sub>13</sub>)

1-Methylnaphthalin

2-Methylnaphthalin

### 3.1.2 Kieselgel

Für die Packung der Kieselgelsäule wird eine Mischung von hoch aktiviertem Kieselgel mit etwas Silbernitrat-belegtem Kieselgel verwendet. Dieses kann auf zwei Wegen hergestellt werden:

- Mischung von 97 g aktiviertem Kieselgel mit 3 g Kieselgel/10 % AgNO<sub>3</sub>, am Rotationsverdampfer durch langsames Drehen während 30 min homogenisieren.
- Mischung von 66 g aktiviertem Kieselgel mit 33 g Kieselgel/1 % AgNO<sub>3</sub>, am Rotationsverdampfer 30 min mischen.

Kieselgel 60; 0,063 - 0,200 mm, Merck: ca. 300 g in 20 cm Kristallisierschale im Muffelofen während 24 h bei 400 °C ausheizen.

Belegung von Kieselgel mit 1 % Silbernitrat:

- 0,5 g Silbernitrat in 50 ml Wasser lösen
- Dieser Silbernitratlösung 49,5 g Kieselgel 60 zugeben (in Rundkolben, wegen der Lichtempfindlichkeit von Silbernitrat mit Aluminiumfolie eingehüllt oder aus Braunglas)
- Am Rotationsverdampfer bei 70 °C und ca. 120 mbar vortrocknen (dauert ca. 3 h)
- Im GC Ofen von 70 °C mit 6 %/min auf 125 °C aufheizen und ca. 15 h bei 125 °C nachtrocknen.

Kommerzielles mit Silbernitrat belegtes Kieselgel kann mit größeren Mengen an Kohlenwasserstoffen, wahrscheinlich aus dem Deckel, verunreinigt sein (Blindwerte überprüfen!). Es handelt sich wohl um olefinische Oligomere von Polyethylen. Diese Olefine lassen sich bei der Spülung der gepackten Trennsäule nicht mit Hexan ausspülen.

Variante 1: Das kontaminierte Silbernitrat in einer Chromatographiesäule mit Toluol, dann mit Methylenchlorid und Hexan spülen. Material in einen Rundkolben umfüllen und am Rotationsverdampfer bei 70 °C trocknen.

Variante 2: Gepackte Trennsäule nicht nur mit Hexan (wie unten beschrieben), sondern mit Toluol, dann mit Methylenchlorid und schliesslich mit ca. 20 ml Hexan spülen.

### 3.1.3 Glaswaren

Glassäulen für die Vortrennung: 12 mm Innendurchmesser, 25 cm hoch (minimal 17 ml Innenvolumen), Hahn überflüssig:

- Glassäule mit Glasfritte 11 x 300 mm
- Spitzkölbchen 10 ml

10 ml Fläschchen mit Schraubverschluss mit PTFE-Innenoberfläche

20 ml Fläschchen mit Schraubverschluss mit PTFE-Innenoberfläche

Zentrifugenröhrchen 50 ml mit Schraubdeckel

10 ml Messpipetten

10 ml Messkolben

25 ml Messkolben

Autosamplervials 1,5 ml

300 µl Einsätze für Autosamplervials

#### 3.1.3.1 Vorsicht vor Blindwert Problemen!

Mineralöle befinden sich in allgegenwärtigen Produkten.

- Kein Schliiffett verwenden
- Keine Handcremen
- Mehrmals verwendete Glaswaren immer wieder überprüfen, wobei damit zu rechnen ist, dass nur wenige kontaminiert sind (z.B. durch Anfassen mit eingeschmierten Fingern). Eine Serie von Glaswaren lässt sich z.B. durch Ausspülen mit Hexan und Übertragen dieses Hexans in ca. 10 weitere Glaswaren der gleichen Art überprüfen: Damit erhöht sich die Empfindlichkeit und zufällige Verunreinigungen werden besser erfasst.
- Die Deckel von Autosamplерfläschchen mit Gummisepten (auch mit PTFE-Membran) können Alkane vor allem im Bereich von C<sub>25</sub>-C<sub>35</sub> oder Silikone (in die MOAH-Fraktion) abgeben, sobald sie einmal durchstoßen sind. Deswegen Deckel nur mit PTFE-Membran verwenden. Nach Anstechen sind sie allerdings undicht (ggf. neue Deckel).
- Manchmal traten Geisterpeaks (Silikone?) auch bei nicht angestochenen Gummisepten auf, wahrscheinlich wegen zu starkem Antrimpen der Deckel. Im Zweifelsfall wurde das Fläschchen zuerst mit Alufolie abgedeckt.

In machen Laboratorien wird eine regelmässige Spülung der Glasware mit Hexan vor der Verwendung oder ein Ausheizen bei hohen Temperaturen nicht zu umgehen sein (auch wenn nur einzelne Exemplare kontaminiert sind).

### 3.1.4 Lösungen

#### 3.1.4.1 Eluenten:

- Eluent 1: Hexan
- Eluent 2: 20 ml Methylenchlorid + 5 ml Toluol (Vollpipette) in 100 ml Messzylinder, mit Hexan auf 100 ml auffüllen, in Erlenmeyer umgießen und schütteln

#### 3.1.4.2 Standardlösungen

Die Standardlösungen sind in Trichlorethan oder Toluol, hochsiedenden Lösungsmitteln, damit sie nicht zu schnell angereichert werden. Haltbarkeit: über ein Jahr.

### Standardlösung 1

- Stammlösungen: C11, C13, Cycy, Cho, 5B, 1-MN, 2MN, TBB: ca. 100 mg in ca. 10 ml Trichlorethan oder Toluol lösen (Lösungsmittel auf 100 mg/10 ml Konzentration anpassen)
- je 12 mg Per und Cho in einen 20 ml Messkolben einwiegen, je 600 µl der Stammlösungen zugeben, mit Ausnahme von C13 (nur 300 µl) und mit Trichlorethan oder Toluol auf 20 ml auffüllen (→ 0,3 mg/ml Standardlösung 1; 0,15 für C13 und 0,6 mg/kg für Cho und Per)
- Lösung zur Aufbewahrung in mehrere Fläschchen umfüllen und gekühlt aufbewahren.

### Standardlösung 2

- Standardlösung 1 mit Hexan auf 10 µg/ml (1:30) verdünnen.

#### 3.1.5 Geräte

- Zentrifuge (5000 rpm)
- Mühle (mit Metallgefäß und -deckel)
- Vakuumrotationsverdampfer mit thermostatisiertem Wasserbad und geregelterm Vakuum
  - o Belüftungsrohr aus Glas oder -PTFE-Schlauch bis ins Steigrohr ungefähr auf die Höhe des Kölbchenansatzes. Beim Abbruch der Lösungsmittelabdampfung dürfen die Dämpfe nicht im Steigrohr rekondensieren und in die Probe zurückfließen
  - o Belüftung relativ langsam, damit der Luftstrom nicht das restliche Lösungsmittel aus der Probe abbläst, z.B. mittels 30 cm x 1 mm ID Widerstand in der Ansaugleitung.
  - o Vorweg zur Reinigung 10 ml Hexan eindampfen, dann 6 ml Hexan mit 270 µl Toluol auf ca. 250 µl einengen → Kontrolle der Blindwerte.

#### 3.1.6 Gaschromatographie

##### Kantonales Labor Zürich (KLZH):

- Gaschromatograph
  - o klassischer Verdampferinjektor oder on-column Injektor
  - o Verdampferinjektor mit Merlin-Septum mit Montageaufsatz
  - o FID
  - o Wasserstoff als Trägergas
- Autosampler mit 100 µl Spritze
  - o Verdampferinjektor: Nadel für das Merlin-Septum
  - o on-column Injektor: 80 mm x 0.47 mm o.d. Nadel
- Verdampferinjektor: Injektorröhrchen 5 mm ID mit Verengung unten
  - o Glaswatte (silyliert)
- 7 m x 0,53 mm ID unbelegte Vorsäule, rohes Fused silica
- Trennsäule: 7-12 m x 0,25 mm ID, 0,15 µm Dimethylpolysiloxan
- Press-fit-Verbinder zur Kopplung Vorsäule-Trennsäule

##### Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR):

- Gaschromatograph
- Injektor:
  - Cool on-column
  - Injektionsvolumen = 40  $\mu$ L
  - Injektionsgeschwindigkeit = slow
- Einstellungen am Detektor – FID:
  - Temperatur: 375  $^{\circ}$ C
  - Wasserstoff: 40 mL/min
  - Luft-Durchfluss: 450 mL/min
  - Durchfluss- Modus: konstant Makeup
  - Makeup- Durchfluss: 45 mL/min
  - Makeup Gas: Stickstoff
- Wasserstoff als Trägergas
- Gesamt Durchfluss: 45 mL/min
- Vorsäule
  - Stationäre Phase: keine – rohes oder deaktiviertes Fused silica
  - Länge: 7 m
  - Innendurchmesser: 0,53 mm
- Trennsäule
  - Stationäre Phase: unpolar; z.B. immobilisiertes 100-%-Dimethylsiloxan
  - Länge : 15 m
  - Innendurchmesser: 320  $\mu$ m
  - Filmdicke; 0,1  $\mu$ m
  - Eingangs Durchfluss: 2,8 mL/min
  - Average velocity: 66 cm/sec

## **3.2 Probenahme und Lagerung**

### **3.2.1 Lebensmittel in Kartonverpackungen**

Bei der Probenahme in Karton verpackter Lebensmittel ist das Alter in Betracht zu ziehen. Eine frisch verpackte Probe gibt wenig Auskunft über den Übergang wenn das MHD noch in weiter Zukunft liegt.

Es mag von Interesse sein, ob die ausgewählte Probe am Rand, in der Ecke oder im Zentrum einer Transportschachtel stand. Sie kann von der Umschachtel Mineralöl aufgenommen oder an sie abgegeben haben.

Wenn möglich, sollte auch eine Probe des noch unverpackten Lebensmittels erhoben werden, damit eine Mineralölbelastung vor der Verpackung erkannt werden kann.

Durch Einschlagen in Aluminiumfolie wird eine weitere Kontamination von außen verhindert und der Übergang aus den eingeschlossenen Verpackungsmaterialien setzt sich in einer Art fort, wie sie in einer verschlossenen Transportkiste wahrscheinlich erfolgt wäre. Damit kann eine längere Lagerung auf einem Palet oder in einer größeren Packung ohne wesentliche Verdampfung nach außen simuliert werden (z.B. wenn das MHD noch nicht erreicht ist).

Wenn ein weiterer Übergang verhindert werden soll (z.B. die Probe beim MHD angelangt ist), muss das Lebensmittel in eine inerte Verpackung umgefüllt werden, z.B. in ein Glas mit Schraubdeckel, dessen Innenseite mit Aluminiumfolie geschützt wird.

### **3.2.2 Papier/Karton-Proben**

Papier- und Kartonproben sollten aus dem Innern eines Stapels entnommen werden (von den oben aufliegenden Mustern kann viel Mineralöl abgedampft sein oder sie können Öl aus der Luft aufgenommen haben).

Proben müssen in Aluminiumfolie eingepackt werden, um eine Abgabe flüchtiger Mineralölbestandteile oder eine Aufnahme von außen zu unterbinden. Auch zugeschnittene Proben sollten so verpackt werden, weil die Aufnahme, z.B. aus Umschlägen mit Kartonverstärkung, in wenigen Tagen einige mg/kg erreichen kann.

## **3.3 Probenvorbereitung/Extraktion**

### **3.3.1 Trockene Lebensmittel**

- Der gesamte Packungsinhalt muß in einem inerten Gefäß durchmischt werden, da migrierte Mineralölbestandteile in der Packung ungleich verteilt sein können.
  - o Abhängig von der Art des Lebensmittels (z.B. Teigwaren, Gebäck, Cerealien bzw. Schokolade) müssen diese Lebensmittel zuerst schonend zermahlt werden.
- ca. 20 g Lebensmittel genau in ein Zentrifugenglas mit Schraubdeckel einwiegen
- 20 µl Standardlösung 1 zugeben (entspricht 0,3 mg/kg im Lebensmittel)
- 20 ml Hexan zugeben, intensiv schütteln
  - o Das Lebensmittel muss vollständig überdeckt sein. Für gewisse Lebensmittel sind deswegen mehr als 20 ml Hexan nötig (wirkt sich bei Quantifizierung mit internem Standard nur auf die Quantifizierungsgrenze aus).
- mindestens über Nacht stehen lassen
- abermals intensiv schütteln
- sich setzen lassen oder zentrifugieren
- wenn tiefe Quantifizierungsgrenzen gefordert sind, 10 ml Extrakt durch Lösungsmittelabdampfung anreichern. Fettgehalt darf aber 200 mg/ml nicht übersteigen.

### **3.3.2 Nasse Lebensmittel**

- Die gesamte Probe zunächst schonend homogenisieren
- 5 g genau in ein Zentrifugenglas mit Schraubdeckel einwiegen

- 25 ml Ethanol und 20 µl Standardlösung 1 zufügen (entspricht 1,2 mg/kg)
- fein mixen, 1 Stunde lang stehen lassen, ev. zentrifugieren
- Ethanol in ein verschliessbares 100 ml Gefäß abdekantieren
- 20 ml Hexan zu dem Lebensmittelextrakt hinzufügen, schütteln und über Nacht stehen lassen
- Abermals intensiv schütteln, sich setzen lassen oder zentrifugieren
- Den Hexan-Extrakt auf den zuvor abdekantierten Ethanol geben
- Es werden 40 ml Wasser hinzugeben und anschließend geschüttelt.
- Die Hexanphase wird analysiert.
- wenn tiefe Quantifizierungsgrenzen gefordert sind, Extrakt durch Lösungsmittelabdampfung aufkonzentrieren. Fettgehalt darf aber 200 mg/ml nicht übersteigen.

Der extrahierte Rückstand kann getrocknet werden (warmes Wasserbad in Kapelle über Nacht, dann GC-Ofen bei 105 °C für 1 h), um den Gehalt auf die Trockenmasse berechnen zu können.

### 3.3.3 Speiseöle und Fette

Die Verteilung von Mineralöl in Speiseölen kann als homogen betrachtet werden.

Bei der Kristallisation von Fetten werden Verunreinigungen vorerst ausgeschlossen und in der Mutterlauge angereichert. Die Proben können deswegen inhomogen sein und müssen vor deren Einwaage bei ca. 60 °C aufgeschmolzen und homogenisiert werden.

- 200 mg Fett/Öl in kleines Fläschchen einwiegen
- ca. 0,3 ml Hexan zugeben
- 20 µl Standardlösung 2 zugeben (entspricht 1 mg/kg)
- Mischen mittels wiederholtem Aufziehen in Pasteurpipette
- auf die Trennsäule auftragen
- Fläschchen und Pasteurpipette mit weiteren ca. 0,5 ml Hexan spülen und auf die Trennsäule übertragen

Rinderfett und hydrierte Fette sind in kaltem Hexan schlecht löslich. Diese Proben müssen erwärmt und anschließend sofort auf die Trennsäule aufgetragen werden.

Für diese Proben ist aber auch eine Anreicherung des Mineralöls durch Auskristallisierung des Fetts möglich. Die Probe wird bei erhöhter Temperatur in Hexan gelöst. Dann wird bei Raumtemperatur und ev. zusätzlich im Kühlschrank das Fett auskristallisiert, worauf ein erhöhtes Aliquot auf die Säule gebracht werden kann.

### 3.3.4 Fettgewebe

Aufschmelzen (geeignet, wenn viel Probenmaterial vorhanden und die Verteilung im Fett homogen ist):

- Fettgewebe auf ein Gitternetz über einem Becherglas legen oder direkt in ein Becherglas geben
- ca. 15 min in einem GC-Ofen auf 70-100 °C erwärmen
- 200 mg abgetropfte Fettphase einwiegen und aufarbeiten wie im Kapitel 3.3.3 beschrieben

Aufschluss (geeignet, wenn wenig Probenmaterial vorliegt):

- ca. 1 g Fettgewebe in ein 10 ml Fläschchen geben, 10 ml HCl konz. zugeben, mit Schraubdeckel mit Teflon-Einsatz verschließen
- 30-60 min in 80 °C Wasserbad halten (bis homogen)
- aufschwimmendes Fett abziehen
- 200 mg Fettphase einwiegen und wie in 3.3.5 aufarbeiten

### 3.3.5 Aufschluss für Milch und Milchprodukte

Verfahren mit Bestimmung des Fettgehalts:

- 5-10 g Milch in 20 ml Fläschchen einwiegen
- 5 ml Salzsäure konz. dazu pipettieren
- 30-60 min ins Wasserbad bei 80 °C stellen (zuerst Flockenbildung; Flocken müssen sich lösen)
- zweimal mit je 10 ml Pentan oder Hexan extrahieren
- Spitzkolben tariieren und mit Pentan oder Hexan spülen
- Pentan- oder Hexanphasen vereinigen und bei 700 mbar am Rotationsverdampfer einengen; Bad 40 °C
- Auswiegen (→ Fettanteil)
- 200 mg abgetropfte Fettphase einwiegen und wie in 3.3.5 aufarbeiten.

### 3.3.6 Zuckerwaren/Bonbons

Wenn Zuckerwaren von aussen kontaminiert sind (z.B. Wachspapier, Kartonverpackung, Trennöle), sind die Mineralöle auch von aussen extrahierbar. Wenn die Produkte ohne Zerkleinerung in Hexan eingelegt werden, ergibt die Analyse den Gehalt an Kohlenwasserstoffen auf der Oberfläche.

Damit werden bei der Produktion eingeschlossene Mineralöle kaum erfasst. Um diese zu extrahieren, müssen die Zuckerwaren zuerst in warmem Wasser aufgelöst werden.

Für Zuckerwaren ist es oft nicht praktikabel, auf ein bestimmtes Gewicht einzuwiegen.

- 5-10 (x = Ablesung) g Produkt einwiegen
- x µl Standardlösung 1 zugeben (entspricht 0,3 mg/kg)

entweder

- 1 Stunde in x ml Hexan einlegen

oder

- in 50-100 (10x) ml warmem Leitungswasser lösen und mit x ml Hexan extrahieren
- Hexanphase analysieren

### 3.3.7 Schokolade

- 10 g Schokolade in Stücken in 20 ml Hexan einlegen
- 10 µl Standardlösung 1 zugeben (entspricht 0,3 mg/kg)
- Fett löst sich, Zucker, Kakaopulver und ev. weitere Zutaten sedimentieren
- Überstand analysieren

### 3.3.8 Säuglingsmilchnahrung in Pulverform

Wie Nachextraktionen zeigten, erfasste die Extraktion pulverförmiger Säuglingsmilchnahrung mit Hexan über Nacht bei Raumtemperatur das Mineralölmigrat nur

unvollständig. Im Extrakt eines Produkts auf der Basis pflanzlicher Rohstoffe wurde auch nur knapp 10 % des deklarierten Fettgehalts ausgewogen [28].

Eine vollständige Extraktion erforderte einen Aufschluss mit HCl konz, wie für Fettgewebe beschrieben. Auf diese Weise wurden auch das ganze Fett (etwa 20 %) sowie die Kohlenwasserstoffe natürlichen Ursprungs und das Mineralöl in den Ausgangsprodukten erfasst. Dieser Extrakt kann zur Trockenheit eingeengt (Fett wirkt als Keeper) und wie Fett analysiert werden. Die Nachweisgrenze ist relativ hoch (1-5 mg/kg), weil die natürlichen Paraffine stören und das Fett nur die Analyse eines relativ geringen Aliquots erlaubt.

Extraktion bei 60 °C über Nacht ergab einen interessanten Kompromiss: Etwa ein Viertel des Fettes wurde extrahiert sowie ein ähnlicher Anteil anderer, gleichermaßen eingeschlossener Komponenten (pflanzliche Paraffine und Mineralöl im Bereich von n-C<sub>30</sub>, das aus den Ausgangsstoffen zu stammen scheint), während das Migrat aus der Verpackung praktisch vollständig extrahiert wurde. Von außen auf die Partikel gelangtes Material war leichter zu extrahieren als darin eingeschlossenes.

Extraktion bei 60 °C über Nacht bietet zwei Vorteile: Die Nachweisgrenze für das Migrat liegt tiefer und schon vor der Verpackung vorhandenes Mineralöl (Molekularmassenbereich weitgehend über n-C<sub>24</sub>) stört weniger. An der Extrahierbarkeit im Vergleich mit den pflanzlichen Paraffinen kann auch zwischen migrierten und schon vorher vorhandenen MOSH und MOAH unterschieden werden. Diese Extraktionsbedingungen sind aber ungeeignet für die Messung des gesamten MOSH- und MOAH-Gehalts.

Es wurde nicht abgeklärt, ob sich Produkte auf der Basis von Milch und Milchpulver gleich verhalten.

Vorgehen für migriertes Mineralöl:

- 20 g pulverförmige Säuglingsmilchnahrung einwiegen
- 40 ml Hexan zugeben
- 20 µl interne Standardlösung 1 zugeben (entspricht 0,3 mg/kg im Lebensmittel)
- Über Nacht im Wasserbad bei 60 °C halten
- Extrakt vor der Analyse ca. 5-fach anreichern

### 3.3.9 Papier/Karton-Proben

Frisch hergestellter oder im Stapel gelagerter unbedruckter Karton kann als homogen angesehen werden. Nach Verwendung zur Lebensmittelverpackung ist ein Teil des Mineralöls nach aussen abgedampft oder ins Lebensmittel übergegangen, wobei die Abnahme über eine Faltschachtel normalerweise ungleichmäßig erfolgt. Beispielsweise migriert aus dem Deckel und dem Boden tendenziell weniger als aus der Seitenwand.

Bedruckter Karton kann Mineralöl aus den Druckfarben enthalten, dessen Konzentration je nach Farbe und Bedruckungsintensität, d.h. je nach Stelle der Probenahme variiert. Nach ziemlich frischer Bedruckung lässt sich aus dem Vergleich unbedruckter oder wenig bedruckter mit stark bedruckten Stellen halbquantitativ auf den Anteil aus der Bedruckung schließen. Nach einiger Zeit (Monaten, die Lagerung vor der Lebensmittelverpackung eingeschlossen) scheinen sich diese Unterschiede allerdings auszugleichen. Dadurch lässt sich aus der Verteilung des Mineralöls kein sicherer Rückschluss ableiten, ob mit mineralöhlhaltigen Druckfarben gearbeitet worden ist.

Bedruckter Karton wird entweder homogenisiert oder als Annäherung wird ein repräsentativer Anteil herausgeschnitten. Papier und dünner Karton können zur besseren Homogenisierung im Dokumentenschredder zerkleinert werden.

Aus Schachteln sollten Proben herausgeschnitten werden, welche keine Hotmelt-Kleber enthalten. Da diese Kleber weitgehend aus Kohlenwasserstoffen hoher Molekularmasse bestehen, enthalten sie meistens keine interessierenden Anteile, können aber die GC System empfindlich belasten (Verdampferföhrchen, Vorsäule).

- ca. 1 g Karton genau in ein 20 ml Fläschchen mit Schraubdeckel einwiegen
- 20 µl Standardlösung 1 zugeben (entspricht 6 mg/kg im Karton)
- 10 ml Ethanol/Hexan 1:1 (v/v) zugeben und schütteln
- 2 h bei Raumtemperatur stehen lassen
- schütteln
- ca. 5 ml (3 Pasteurpipetten) Extrakt abziehen
- mit ca. 10 ml Leitungswasser ausschütteln (Abtrennung des Ethanols)
- Hexanphase analysieren (ev. zentrifugieren oder über Nacht stehen lassen)

### **3.3.10 Pulpen**

Pulpen enthalten ca. 1 % in Wasser aufgeschlämmte Fasern. Sie werden zuerst abgenutscht und enthalten dann rund 20 % Festanteil. Die Löslichkeit des Mineralöls im Wasser ist vernachlässigbar, womit Abfiltrieren zu keinen signifikanten Verlusten führt. Dann wird analog zu den nassen Lebensmitteln aufgearbeitet. Da der Wassergehalt unbekannt und möglicherweise innerhalb einer Probe ungleichmässig verteilt ist, wird die aufgearbeitete Probe nach der Extraktion ausgewogen.

- 2 g Pulpe in ein 30 ml Zentrifugenglas mit Schraubdeckel einwiegen
- 10 ml Ethanol und 10 µl Standardlösung 1 zugeben
- gut mischen und 2 h stehen lassen
- zentrifugieren, Ethanol in ein verschliessbares 50 ml Gefäss abdekantieren
- 10 ml Hexan zugeben, schütteln, über Nacht bei RT stehen lassen
- zentrifugieren, Hexan in den Ethanol abdekantieren
- 20 ml Leitungswasser zugeben (Abtrennung des Ethanols), schütteln
- Hexanphase analysieren
- Festanteil in eine Kristallisierschale übertragen (ev. mit etwas Ethanol nachspülen) und über Nacht im Abzug trocknen lassen
- in einem Ofen 1 h bei 105 °C nachtrocknen und auswägen

### **3.3.11 Kunststoffe**

- 200-300 mg Folie einwiegen
- 20 µl Standardlösung 1 und 10 ml Hexan zugeben
- Über Nacht bei Raumtemperatur stehen lassen

### **3.3.12 Mineralöle**

- 100 mg Mineralöl in 10 ml Hexan lösen
- 10 µl Mineralöllösung in 10 ml Hexan verdünnen (10 mg/l)

- 50 µl Standardlösung 2 zumischen (entspricht 5 mg/g)

### **3.3.13 Druckfarben**

- 500 mg Druckfarbe in 10 ml Tetrahydrofuran (THF) lösen
- 10 µl in 10 ml Hexan verdünnen
- 50 µl Standardlösung 2 zumischen (entspricht 1 mg/g)

### **3.4 Vortrennung mittels konventioneller Flüssigkeitschromatographie**

Chromatographie an einer konventionellen Flüssigchromatographie soll das mit extrahierte Fett zurück halten sowie die MOSH und MOAH isolieren.

- Falls Chromatographiesäule ohne Fritte: Pfropf von Glaswatte einbringen
- hohes Becherglas auf die Waage stellen, Chromatographiesäule hinein- stellen
- 3 g Kieselgel/0,3 % Silbernitrat in die Chromatographiesäule einwiegen und festklopfen
- mit 10 ml Hexan spülen
- knapp trocken laufen lassen
- ca. 1 ml Probenextrakt/Lösung auftragen
  - o Recyclingkarton: nur 0,3 ml, dafür aber zusätzlich 0,7 ml Hexan
- knapp trocken laufen lassen
- 2 ml Eluent 1 (Hexan) auftragen und Eluat verwerfen
- zwei 10 ml Spitzkölbchen mit Hexan spülen
- 4 ml Eluent 1 auftragen und Eluat im ersten Spitzkölbchen auffangen
- 2 ml Eluent 2 (siehe Kapitel 3.1.4) auftragen und in das vorherige Eluat auffangen → MOSH-Fraktion
- 10 ml Eluent 2 auftragen und im zweiten Spitzkölbchen auffangen → MOAH-Fraktion

### **3.5 Anreicherung der aufgefangenen Fraktionen**

- Der MOSH-Fraktion 270 µl Toluol zusetzen
- Beide Fraktionen am Vakuum-Rotationsverdampfer einengen; Wasserbad bei 55 °C
- 90 s bei 520-530 mbar Vakuum
- 3-4 min bei 350-360 mbar Vakuum, visuelle Kontrolle. Die Anreicherung sollte ein Endvolumen von 200-300 µl ergeben
- schonende Belüftung durch ein Innenrohr bis auf die Höhe des Kölbchen- halses (kein Rückfluss rekondensierten Lösungsmittels).

### **3.6 GC-Analyse**

#### **3.6.1 Vorbereitung des Geräts**

##### **3.6.1.1 On-column-Injektion**

- 7 m x 0,53 mm ID unbelegte Vorsäule in den on-column Injektor einbau- en, roh oder deaktiviert
- Variante: PTV mit on-column Injektorröhrchen

- Injektortemperatur bei der Einspritzung: 80 °C
- Injektor auf 350 °C aufheizen ca. 1 min nach Einspritzung

### 3.6.1.2 CSR-splitlose Einspritzung

- Injektorröhrchen gepackt mit einem ca. 5 mm hohen Pfropf aus deaktivierter Glaswatte über der Verengung oder ca. 5-10 mm über dem unteren Ende
- 7 m x 0,53 mm ID unbelegte Vorsäule einbauen, roh oder deaktiviert, mit Säuleneingang knapp unter der Glaswatte

### 3.6.1.3 Trennsäule und Detektor

- 7-12 m x 0,25 mm ID Trennsäule belegt mit 0,15-0,2 µm einer Dimethylpolysiloxan-Phase in den FID einbauen
- Verbindung der Vorsäule mit der Trennsäule mittels Press-fit aus Glas; etwas Speichel oder Lösungsmittel am Kapillarende erleichtert die Erstellung einer dichten Verbindung
- Detektorblock 370 °C
- FID mit 35 ml/min H<sub>2</sub> und 550 ml/min Luft (bessere Verbrennung von Toluol)
- Mit hohem Trägergaseingangsdruck testen, ob die Press-fit-Kopplung dicht ist (z.B. mittels Leckdetektor oder Eintauchen in ein Lösungsmittel).
- Trennsäulensystem mit hohem Trägergasfluss ca. 30 min bei 350 °C ausheizen

## 3.6.2 Trennbedingungen

### Kantonales Labor Zürich (KLZH)

- Trägergaseingangsdruck bei der Injektion: 250 kPa
- Trägergaseingangsdruck für die Analyse: 60 kPa für Wasserstoff, 80 kPa für Helium; Zeitpunkt für Druckabsenkung: siehe unten
- Ofentemperaturprogramm: 20 °/min von 80 bis 350 °C (5 min); Zeitpunkt für Start: siehe unten.

### Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR):

- Start Temperatur: 75 °C
- Isotherme Zeit: 9,0 Minuten
- Heizrampe:

Rate	Temperatur	Isotherme Zeit
22°C/min	240°C	0,0
30°C/min	380°C	12,0

- Eingangsdruck: 60 kPa für 4 Minuten; anschließend 35 kPa konstant.
- Modus: Ramp Pressure

## 3.6.3 Bedingungen für CSR-splitlose Einspritzung

### 3.6.3.1 On-column Einspritzung

- Nadel einführen und 10 s warten

- Einspritzgeschwindigkeit 5  $\mu\text{l/s}$
- Nadel nach 10 s zurückziehen

### 3.6.3.2 CSR-Einspritzung

- Split- und Septumspülung (wenn möglich) verschliessen
- Injektionsvolumen 50  $\mu\text{l}$
- Nach der Probe 5-10  $\mu\text{l}$  Luft aufziehen (Nadel soll mit Luft gefüllt sein)
- Minimale Einspritztiefe in den Injektor (Nadelspitze mindestens bis knapp in das Injektorröhrchen reichend)
- Maximale Einspritzgeschwindigkeit (100  $\mu\text{l/s}$ ) ohne Wartezeit im heißen Injektor
- Splitlose Periode: 4 min
- Splitfluss nach der Einspritzung: ca. 20 ml/min

### 3.6.3.3 Bestimmung des Zeitpunkts für die Druckabsenkung

Druckabsenkung kurz vor Ende der Abdampfung für eine Mischung mit Toluol im unteren vorkommenden Bereich (gilt für on-column und CSR-splitlose Einspritzung gleichermaßen).

- Ofentemperatur: 80  $^{\circ}\text{C}$ ; Trägereingangsdruk: 250 kPa, 50  $\mu\text{l}$  einer Mischung von 40 % Toluol/Hexan (v/v) einspritzen
- Druck und Ofentemperatur unverändert belassen bis zur vollständigen Elution des Lösungsmittelpeaks
- Breite des Lösungsmittelpeaks am oberen Anschlag (Peakspitze) bei maximaler Abschwächung messen. Entspricht der Lösungsmittelabdampfzeit und einem kleinen Beitrag durch Phase soaking (Retention) in der Trennsäule.
- Gemessene Peakbreite minus 10 s als Zeitpunkt für Druckabsenkung festlegen.

### 3.6.3.4 Bestimmung des Zeitpunkts für den Start des Temperaturprogramms

Start der Programmierung der Ofentemperatur nach der Elution von n-C<sub>11</sub> für eine Lösungsmittelmischung mit Toluol im oberen vorkommenden Bereich (breiter Lösungsmittelpeak).

- Ofentemperatur: 80  $^{\circ}\text{C}$ ; Trägereingangsdruk: 250 kPa
- 50  $\mu\text{l}$  einer Mischung von 55 % Toluol/Hexan (v/v) mit Standards 2 (30  $\mu\text{l/ml}$ ) einspritzen
- Druckabsenkung zum oben bestimmten Zeitpunkt
- isotherm n-C<sub>11</sub> eluieren lassen
- Retentionszeit von n-C<sub>11</sub> als Start des Temperaturprogramms wählen.

## 3.6.4 Kontrolle von Blindwerten

Regelmäßige Tests müssen sicherstellen, dass bei der Handhabung und Aufarbeitung der Proben keine Kontamination auftritt. Die Tests müssen den Proben angepasst werden und die ganze Verarbeitung einbeziehen.

Als besonders kritisch sind Handcremen und Schliffette zu betrachten, aber auch kontaminierte Rotationsverdampfer und Spritzen. Die Kontamination tritt oft nicht regelmäßig auf, z.B. weil die Proben nicht immer von den gleichen Personen und auf gleiche Weise angefasst werden und nicht alle Glaswaren mit Schliffette in Kontakt gelangt sind (Spülmaschinen eliminieren Schliffette nicht zuverlässig!).

Der Analytiker muss also alle Schritte der Handhabung auf mögliche Kontaminationen überdenken und daraus einen worst case Test zusammenstellen. Besonders geeignet sind Proben, von denen bekannt ist, dass kein oder nur wenig Mineralöl enthalten.

Mehrfachbestimmungen sollten nicht gleich hintereinander aufgearbeitet werden, sondern besser in zwei verschiedenen Serien. Kontamination der Probe während der Aufarbeitung ist eine wichtige Fehlerursache, und eine Überprüfung sollte möglichst ausschließen, dass beide Male die gleiche Kontamination eintritt.

Die Kontrolle von Blindwerten zeigt auch Nachelution an. Verspätet eluiertes Material aus früheren Analysen (siehe Kapitel 2.8.7.4).

### **3.7 Integration der Mineralölanteile**

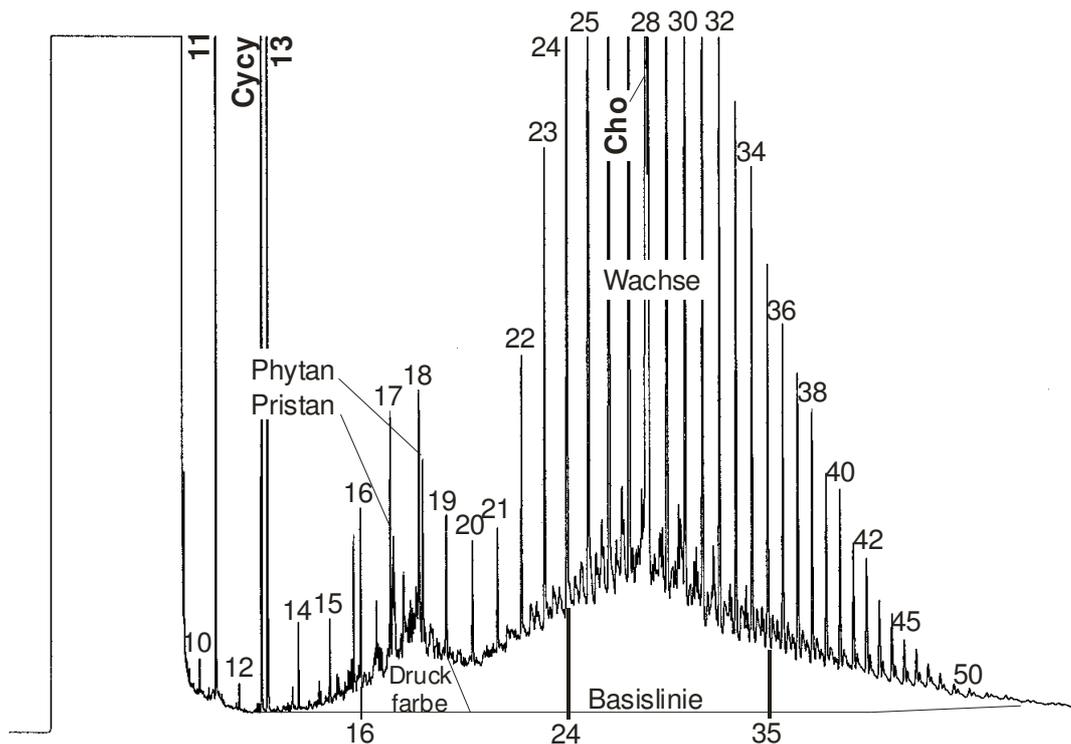
Grundsätzlich werden Chromatogramme durch Integration ausgewertet (eine mögliche alternative graphische Ausmessung wurde im Kapitel 2.9.2 beschrieben). Dies erfolgt über folgende Schritte:

1. Basislinie aus einem Chromatogramm eines Blindwertes ins aktuelle Chromatogramm legen (idealer Weise eine Horizontale ausgehend vom tiefsten Punkt, entweder nach dem Lösungsmittel oder nach der Elution von MOSH und MOAH).
2. Schnitte für die Molekularmassenbereiche festlegen.
3. Gesamtfläche der Peakhaufen dieser Molekularmassenbereiche integrieren.
4. Natürlich in Lebensmitteln vorkommende Anteile oder die nicht den MOAH zuzurechnenden Komponenten in der MOAH-Fraktion als Aufsetzer auf den MOSH- bzw. MOAH-Haufen integrieren und von der integrierten Gesamtfläche abzählen.
5. Zugefügte Standards identifizieren, integrieren und von der integrierten Gesamtfläche abzählen. Verifizierung durchführen.
6. Flächen über den internen Standard quantifizieren. Es wird kein Responsefaktor angewendet und eine lineare FID Response angenommen (keine Kalibrierkurve).

Konkreter wird dies an vier Beispielen gezeigt. Diese sind bis in einige Details beschrieben, wobei einige der Grundlagen und Vergleichschromatogramme dafür erst in den nachfolgenden Kapiteln gezeigt sind. Die Beispiele illustrieren auch, dass auf die meisten Proben individuell eingegangen werden muss und damit auch eine Automatisierung mindestens schwierig ist.

#### **3.7.1 MOSH in Recyclingkarton**

Abbildung 12 zeigt ein typisches on-line HPLC-GC-FID Chromatogramm der MOSH aus einem Recyclingkarton. Die MOSH bilden eine Serie scharfer Signale, aber die Hauptmenge bildet den chromatographisch nicht aufgelösten Peakhaufen darunter (englisch „hump“ oder im Umweltbereich „unresolved complex mixture“, UCM). Für eine quantitative Bestimmung muss also die ganze unaufgelöste Fläche über der Basislinie mit einbezogen werden.



**Abbildung 12. Integration von Chromatogrammen: MOSH-Fraktion aus Recyclingkarton**

### 3.7.1.1 Festlegung der Basislinie

Die Festlegung der Basislinie hat einen großen Einfluss auf die Größe der integrierten Fläche. Deshalb ist es erforderlich, innerhalb einer Analysensequenz häufig durch Einspritzung von Lösungsmittel die Basislinie ständig zu kontrollieren. Im (hier nicht gezeigten) Blindwert-Chromatogramm gleicher Abschwächung war die Basislinie bis ca.  $n\text{-C}_{42}$  praktisch horizontal, dann mit geringem Drift. Die Basislinie wurde auf den tiefsten Punkt im Chromatogramm gelegt, was in diesem Falle ohne große Unsicherheit möglich ist. In der on-line HPLC-GC kann die Basislinie nicht von der Lage vor dem Lösungsmittelpeak abgeleitet werden.

### 3.7.1.2 Schnitte für die Integration der Segmente

Im nächsten Schritt müssen die Schnitte für die Integration festgelegt werden. Im Beispielchromatogramm sind die  $n$ -Alkane über den ganzen Bereich von  $C_{11}$  bis über  $C_{50}$  deutlich zu erkennen. Sie haben regelmäßige Abstände in ihrer Retentionszeit (mit steigender Elutionstemperatur leicht abnehmend) und können deswegen leicht abgezählt werden. Deren Identifikation kann von folgenden Stellen ausgehen und mit den anderen bestätigt werden:

- Kurz nach dem internen Standard Cyclohexylcyclohexan (Cycy) folgt das  $n\text{-C}_{13}$  (ebenfalls als Standard zugegeben).
- Typisch für Mineralöle sind die Doppelpeaks bei  $n\text{-C}_{17}$  und  $n\text{-C}_{18}$  ( $n$ -Alkane gefolgt von Pristan bzw. Phytan).
- Der letzte Standard, Cholestan (Cho), wird von einer Dimethylpolysiloxan-Phase kurz vor dem  $n\text{-C}_{28}$  eluiert.

Für Recyclingkarton sind die Molekularmassenbereiche zu bestimmen, die für den Übergang ins Lebensmittel und die Abschätzung des maximal möglichen Übergangs von Interesse sind.

- Die Fraktion bis n-C<sub>16</sub> erfasst die nicht akkumulierten flüchtigen Komponenten (Richtwert gemäß BfR 2011: 12 mg/kg). Der Schnitt wird knapp nach dem n-Alkan-Signal gelegt, weil die iso-C<sub>16</sub> vorher eluiert werden und somit alle C<sub>16</sub>-MOSH der <C<sub>16</sub>-Fraktion zugewiesen sind. Dass ein kleinerer Anteil der iso-C<sub>17</sub> vor n-C<sub>16</sub> eluiert wird und damit in den falschen Bereich gelangt, muss hingenommen werden.
- Der Schnitt bei n-C<sub>25</sub> (wiederum direkt hinter dem entsprechenden Signal) dient der Abschätzung des maximalen Übergangs auf der Basis, dass der Übergang über die Gasphase bis dahin relevant ist (und als Faustregel 70 % erreicht). Relevante Migration von MOSH höherer Molekularmasse setzt in der Regel benetzenden Kontakt (z.B. Pappteller) oder höhere Temperaturen voraus. Fetthaltige, feinteilige Pulver können Ausnahmen dieser Regel sein.
- Kohlenwasserstoffe über n-C<sub>35</sub> werden als nicht mehr relevant betrachtet.

#### 3.7.1.3 MOSH-fremde Anteile?

Für die MOSH-Fraktion aus Recyclingkarton wird normalerweise angenommen, dass alles beobachtete Material den MOSH zuzuschreiben ist. Diese Annahme geht davon aus, dass die Anteile der POSH aus Polyolefin-Beschichtungen (z.B. aus recycelten Materialien) oder Kohlenwasserstoffe von Klebern (z.B. Hotmelts) klein sind. Die Kohlenwasserstoffe zwischen n-C<sub>12</sub> und n-C<sub>21</sub> stammen vor allem aus Druckfarbenölen (zusammen mit Pristan und Phytan). Die aufgesetzten Signale im später eluierten Bereich stammen von Wachsen, die entweder bei der Herstellung des vorliegenden Kartons verwendet wurden oder aus recycelten Karton stammen. Die darunter liegenden unaufgelösten Peakhaufen stammen aus einer Vielzahl von Produkten, die hier nicht unterschieden werden können.

#### 3.7.1.4 Integration

Nun wird die gesamte Fläche über der (manuell ins Integrationssystem eingebrachten) Basislinie vom Anfang des Chromatogramms bis n-C<sub>16</sub>, von n-C<sub>16</sub> bis n-C<sub>25</sub> und von n-C<sub>25</sub> bis n-C<sub>35</sub> nach den Segmenten integriert.

#### 3.7.1.5 Standards, Verifikation, Berechnung

Dann werden die zugefügten Standards identifiziert, integriert und überprüft. Diese sind in der Abbildung 12 vertikal in fetter Schrift angegeben. Cycy ist der interne Standard für die Quantifizierung der MOSH. Das n-C<sub>11</sub> überwacht Verluste flüchtiger Komponenten und Coelution von Cycy mit einer probeneigenen Substanz. Deren Peakflächen sollten gleich groß sein. n-C<sub>13</sub> bestätigt die Identifikation des Cycy-Signals und seine Abtrennung von Cycy (eine Coelution mit dem n-C<sub>13</sub> aus der Probe würde einen zu großen Standard ergeben und damit zu tiefe Resultate erzeugen). Die zugesetzte Menge n-C<sub>13</sub> entspricht der Hälfte von Cycy, aber die Signalfäche entspricht häufig über der Hälfte jener von Cycy, weil viele Proben diese Komponente enthalten. Cho ist oft schlecht abgetrennt. Die Peakfläche sollte dem Doppelten der Fläche von Cycy entsprechen.

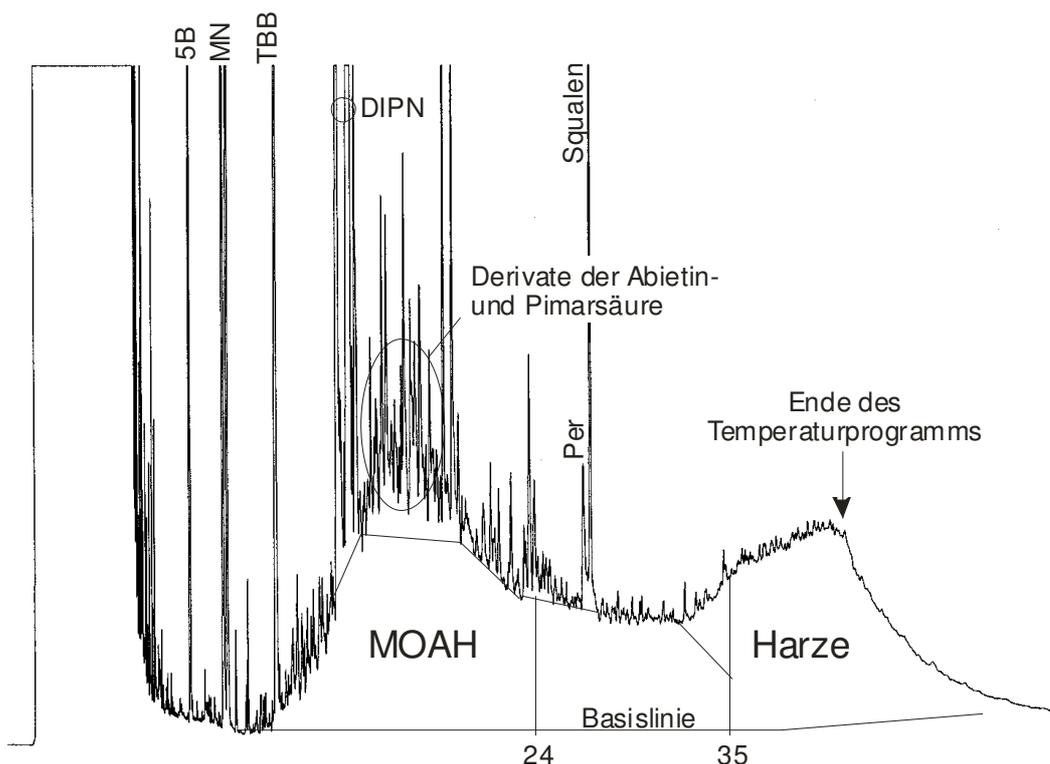
Schliesslich werden die Flächen der zugefügten Standards von den Segmenten abgezählt und daraus die Konzentrationen der Segmente berechnet. In der gezeigten Probe wurde 32 mg/kg MOSH <n-C<sub>16</sub>, 165 mg/kg MOSH zwischen n-C<sub>16</sub> und n-C<sub>24</sub>, sowie 270 mg/kg MOSH zwischen n-C<sub>24</sub> und n-C<sub>35</sub> gemessen. Diese Werte liegen etwas unter dem Durchschnitt der analysierten Recyclingkartons.

### 3.7.2 MOAH in Recyclingkarton

Abbildung 13 zeigt ein typisches Chromatogramm der MOAH-Fraktion eines Recyclingkartons. Die Basislinie ließ sich als Horizontale auf eine Höhe hineinlegen,

die durch eine vermutlich leere Stelle im früh eluierten Bereich gegeben ist. Das Paar der internen Standards (Methylnaphthaline, MN) ist leicht zu erkennen; die beiden Signale sollten gleiche Flächen aufweisen. Andernfalls ist eine Coelution zu vermuten und für die Berechnung das kleinere Signal zu verwenden.

Da für die MOAH keine toxikologisch begründete Veranlassung besteht, nach Kohlenwasserstoffen über und unter der Molekularmasse von  $C_{16}$  zu trennen, wird bis  $n-C_{24}$  aufsummiert wenn der Transfer über die Gasphase erfolgt, sonst direkt bis  $n-C_{35}$ . Auch die Begrenzung bei  $n-C_{35}$  ist nicht toxikologisch begründet, sondern ergab sich aus der Notwendigkeit eines definierten Abbruchs und der Analogie zu dem MOSH. Da das Chromatogramm keine n-Alkane enthält, muss einmal eine MOAH-Fraktion mit n-Alkanen aufgestockt werden oder es werden die Retentionszeiten aus dem MOSH-Chromatogramm übertragen.



**Abbildung 13. Integration von Chromatogrammen: MOAH-Fraktion aus Recyclingkarton**

3.7.2.1 Aus Abietin- und Pimarsäure abgeleitete Kohlenwasserstoffe, Squalen  
Als Faustregel kann davon ausgegangen werden, dass die scharfen Signale in der MOAH-Fraktion nicht den MOAH zugehören (die MOAH also ausschließlich den unaufgelösten Haufen bilden).

Holz und aus der Holzverarbeitung gewonnene Produkte enthalten ungesättigte Kohlenwasserstoffe, vor allem Diterpene mit der Grundstruktur der Abietin- und Pimarsäure (tricyclische Verbindungen, oft mit einem aromatischen Ring). Sie werden in der MOAH-Fraktion eluiert und bilden einen Cluster von Peaks (eingekreist), der nicht ganz basisliniengetreunt ist. Squalen bildet ein scharfes Signal in der Nähe von Perylen.

Alle diese Signale werden separat integriert und von der Gesamtfläche abgezogen. Dazu werden für die Integration günstige Schnittlinien eingezeichnet (siehe eingezeichnete Linien). Die Lage der Schnittlinie lässt sich aus analogen Chromatogrammen von Frischfaserkarton abschätzen. Diese Festlegung kann zur Messunsicherheit beitragen. Die im Chromatogramm beobachtete Menge an

Holzkomponenten ist viel zu groß, um direkt aus den Fasern stammen zu können. Der wichtigere Teil stammt aus Materialien, die zur Oberflächenbehandlung von Papier und Karton (Strich, Verleimung) oder für Druckfarben (Binder) eingesetzt werden. Sie werden aus Nebenprodukten der Zelluloseherstellung gewonnen, stammen also über Umwegen aus Holz.

#### 3.7.2.2 Harze und andere Syntheseprodukte

Die MOAH-Fraktion aus Papier und Karton enthält häufig breite Peakhaufen ohne überstehende Signale im Bereich von  $n\text{-C}_{30}$  bis über  $n\text{-C}_{50}$  hinaus (zuletzt und unvollständig eluierter Peakhaufen in Abbildung 13). Diese Haufen sind typischerweise nicht mit einer entsprechenden MOSH-Fraktion vergesellschaftet, was zeigt, dass es sich nicht um eine Mineralölfraction handelt (sie also nicht den MOAH zuzuordnen sind). Wahrscheinlich sind es Petroleumharze, die als Binder in Druckfarben, möglicherweise aber auch für andere Zwecke eingesetzt werden.

Im Bereich von  $n\text{-C}_{30}$  bis über  $n\text{-C}_{35}$  ist eine Trennlinie zwischen MOAH und Harzen nicht klar zu definieren.

#### 3.7.2.3 Diisopropylnaphthaline

In Recyclingpapier und -karton sowie deren Migraten in die Lebensmittel findet sich typischerweise eine Peakgruppe aus Diisopropylnaphthalinen (DIPN). DIPN wird in großen Mengen für die Herstellung von Selbstdurchschreibepapier (carbonless copy paper) verwendet. Obwohl es sich um Verbindungen handelt, die auch in Mineralöl vorkommen könnten, werden sie nicht in die MOAH eingeschlossen, da sie synthetisch gewonnen werden.

DIPN ist ein spezifischer Indikator für Recyclingpapiere, weil kaum andere Verwendungen bekannt sind. Wenn beispielsweise ein Frischfaserpapier/-Karton DIPN enthält, weist dies auf eine Kontamination durch Recyclingkarton hin, möglicherweise aus einem Umkarton oder aus der Verpackung, womit die Probe zugeschickt wurde. Es gibt auch Frischfaserkarton mit geringen Zusätzen von Recyclingfasern.

Da DIPN kaum allein vorkommt, ist zu erwarten, dass eine DIPN-haltige Probe auch durch MOSH und MOAH verunreinigt ist (eine denkbare Ausnahme sind Formulare, wie Lieferscheine, die einer Lieferung beigegeben wurden). Die DIPN-Konzentration in Recyclingfasern variiert stark. Damit ist auch das Verhältnis der Konzentrationen von DIPN und MOAH stark variabel, was die Ableitung der Konzentration begleitender MOSH und MOAH aus jener der DIPN schwierig macht.

DIPN liegt im Selbstdurchschreibepapier verkapselt vor. Deswegen ist die Extraktion mit der vorgeschlagenen Methode für Recyclingpapier/-karton unvollständig (60-80 %), was hingenommen werden kann, wenn DIPN ohnehin nicht in die MOAH eingeschlossen wird. Die Extraktion von DIPN aus Lebensmitteln ist dagegen vollständig.

#### 3.7.2.4 Standards, Verifikation, Berechnung

Im gezeigten Chromatogramm (von einer Faltschachtel für Zucker) waren die Flächen der beiden internen Standards (MN) praktisch gleich groß. Die Fläche von 5B (Wächter für Verluste flüchtiger Kohlenwasserstoffe) war 4 % kleiner, was nicht als alarmierend eingestuft wurde (die Probe war auch nicht angereichert worden). Die Fläche von TBB (Verifizierung des Anfangs der MOAH-Fraktion bzw. der Retentionskraft der HPLC-Trennsäule) war um 4 % kleiner als jene der beiden MN, was ebenso wenig als alarmierend betrachtet wurde. Per bildete ein schwänzendes, schlecht integrierbares Signal, was nicht störte, da dessen Einschluss in die MOAH-Fraktion im UV-Chromatogramm verifiziert war.

In der vorliegenden Probe (Abbildung 13) wurden 61 mg/kg MOAH bis n-C<sub>24</sub> und 37 mg/kg MOAH n-C<sub>24</sub> bis n-C<sub>35</sub> sowie 8,6 mg/kg DIPN gemessen.

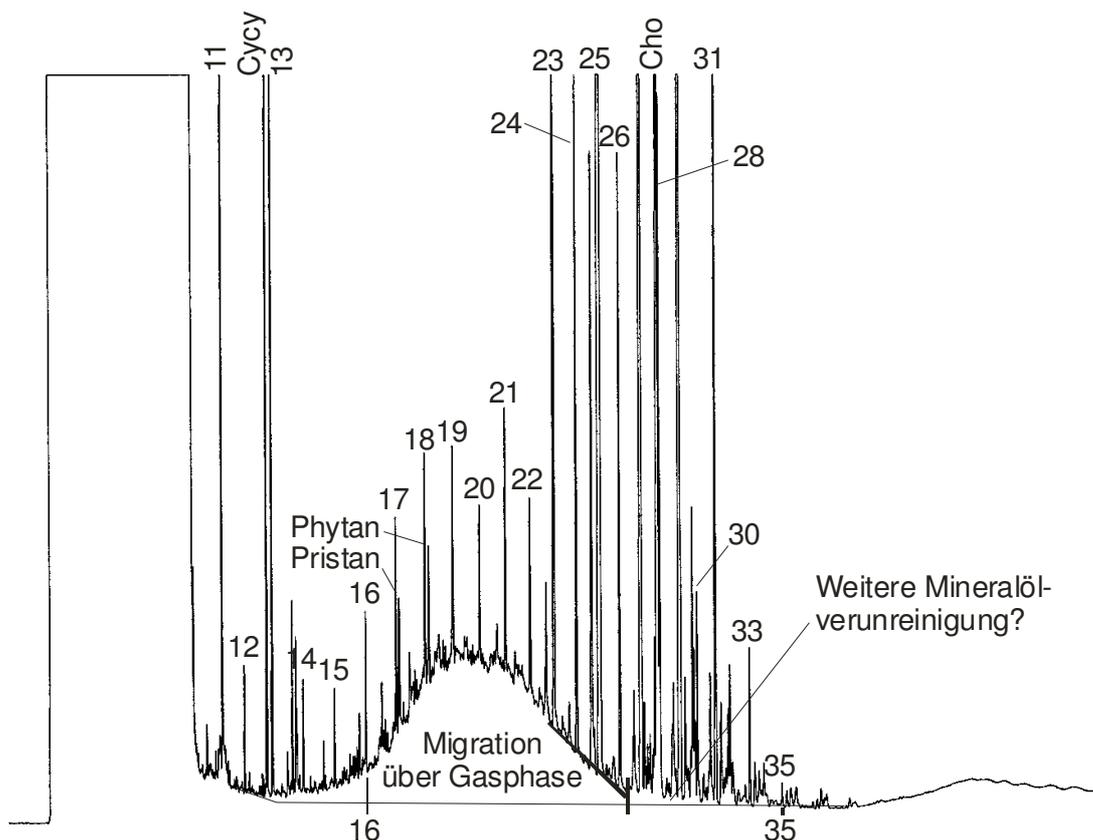
### 3.7.3 MOSH in Lebensmitteln

Abbildung 14 zeigt ein typisches Chromatogramm für den MOSH-Übergang aus einem bedruckten Recyclingkarton ohne Innenbeutel in ein trockenes Lebensmittel (Couscous, feine Kügelchen aus Getreidegrieß oder Hirse).

#### 3.7.3.1 Festlegung der Basislinie

Die Festlegung der Basislinie war etwas unsicher. Der tiefste Punkt des Chromatogramms liegt im obersten Teil des Temperaturprogramms. Das Chromatogramm des zugehörigen Blindwerts zeigte eine horizontale Basislinie und keinen sichtbaren Drift bis zu diesem Punkt. Deswegen wurde er als Referenzpunkt gewählt, was bedeutet, dass im früh eluierten Bereich (C<sub>12</sub>-C<sub>15</sub>) bereits unauflösbare Material vorliegt. Wie die n-Alkane zeigen, ist dies durchaus plausibel.

Die Festlegung der Basislinie kann auch in dieser Analyse ein wichtigen Beitrag zur Messunsicherheit (wiederholte on-line HPLC-GC-FID Analyse erzeugt Chromatogramme mit kleinerer Schwankung) leisten. Würde die Basislinie auf den tiefsten Punkt zwischen n-C<sub>12</sub> und n-C<sub>13</sub> gelegt, wäre der berechnete MOSH-Gehalt ca. 7 % tiefer.



**Abbildung 14. Beispiel eines Chromatogramms für MOSH aus einem Recyclingkarton in einem trockenen Lebensmittel (Couscous).**

#### 3.7.3.2 Schnitte für die Integration der Segmente

Der erste Schnitt (n-C<sub>16</sub>) ergibt sich aus der toxikologischen Bewertung. n-C<sub>16</sub> bildet ein gut sichtbares Signal. Wenn der Übergang über die Gasphase in ein trockenes Lebensmittel gemessen werden soll, ist die Übertragung auf Kohlenwasserstoffe bis ca. n-C<sub>28</sub> beschränkt (und im Bereich n-C<sub>24</sub> bis n-C<sub>28</sub> gering).

### 3.7.3.3 MOSH-fremde Anteile?

Es war kein Couscous ohne Mineralölverunreinigung zum Vergleich verfügbar, um Signale aus dem Lebensmittel von jenen der Verunreinigung zu unterscheiden. Trotzdem ist es nicht schwierig, diese auseinander zu halten. Im früh eluierten Teil des Chromatogramms (bis n-C<sub>21</sub>) sind kaum Peaks sichtbar, welche nicht dem Mineralöl zuzuordnen sind: n-Alkane, n-C<sub>17</sub> und n-C<sub>18</sub> begleitet von Pristan und Phytan. Vor dem n-C<sub>14</sub> sind drei Signale sichtbar, die nicht ins Chromatogramm von Mineralöl passen.

Das Signal n-C<sub>21</sub> ist höher als die beiden Nachbarn, was zur Erfahrung passt, dass die ungeradzahligen n-Alkane in Getreide etwa bei dieser Kohlenstoffzahl beginnen. Tatsächlich ist das Signal von n-C<sub>23</sub> noch viel größer.

Die Peaks von n-C<sub>24</sub> und n-C<sub>26</sub> sind auffällig groß. Pflanzenmaterial enthält etwas geradzahlige n-Alkane, aber sie sind (schwankend) um ein Mehrfaches kleiner als die ungeradzahligen. Die Größe von n-C<sub>28</sub> ist schwer zu beurteilen, weil es praktisch auf den Cho-Standard fiel, aber n-C<sub>30</sub> weist eine Größe im typischen Verhältnis zu n-C<sub>29</sub> und n-C<sub>31</sub> auf. Ein Blick auf das Chromatogramm der MOSH-Fraktion aus dem Karton zeigte tatsächlich einen hohen Wachsgehalt, beginnend bei n-C<sub>20</sub>, was die Vermutung nahe legt, dass n-C<sub>24</sub> und n-C<sub>26</sub> zum größeren Teil vom Karton stammen.

Der Übergang in diese Probe reichte bis zu relativ hohen Molekularmassen klar über n-C<sub>24</sub> hinaus, mit einem signifikanten Anteil an n-C<sub>26</sub>. Dies lässt ein Produkt vermuten, das schon lange Zeit (mehr als ein halbes Jahr) und möglicherweise bei eher hoher Temperatur in der Schachtel gelagert war. Die Verteilung ist aber immer noch so, dass sie mit einem Übergang über die Gasphase vereinbar ist.

Für den Abschnitt zwischen n-C<sub>26</sub> und n-C<sub>35</sub> ist die Beurteilung schwierig, ob hier wirklich unaufgelöste MOSH vorliegen. Auf der einen Seite enthalten eigentlich alle Getreide in diesem Bereich Mineralölrückstände (auch aus der Umwelt). Auf der anderen würden möglicherweise eine bessere chromatographische Auflösung und auch eine nur wenig höher gelegte Basislinie den hypothetischen Peakhaufen zum Verschwinden bringen. Eine Beurteilung ist so kaum zu verantworten. Sie würde eine Entfernung der n-Alkane mittels Vortrennung durch Aluminiumoxid bedingen (Kapitel 6.1).

### 3.7.3.4 Integration, Verifikation, Berechnung

Die Flächen der drei zugefügten Standards n-C<sub>11</sub>, Cycy und n-C<sub>13</sub> lagen weniger als 4 % auseinander. Cho ist schlecht von n-C<sub>28</sub> abgetrennt.

Die vorgeschlagene Integration ist ins Chromatogramm eingezeichnet. Bis n-C<sub>22</sub> wird das ganze eluierte Material ohne die internen Standards integriert. Die Integration wird etwas nach n-C<sub>26</sub> abgeschlossen. Die aufsitzenden Signale zwischen n-C<sub>23</sub> und n-C<sub>26</sub> werden separat integriert und abgezogen. Damit werden die vor n-C<sub>14</sub> eluierten Signale sowie der natürliche Anteil von n-C<sub>21</sub> eingeschlossen, dagegen die mineralischen Anteile von n-C<sub>24</sub> und n-C<sub>26</sub> vernachlässigt.

Die Bedeutung der aufsitzenden Signale wird leicht überschätzt. Meistens macht der unaufgelöste Peakhaufen den weitaus größten Teil der integrierten Fläche aus.

### 3.7.3.5 Resultat

Die Auswertung des gezeigten Chromatogramms (Abbildung 14) ergab 0,8 mg/kg MOSH bis n-C<sub>16</sub>, 5,8 mg/kg MOSH bis ca. n-C<sub>26</sub> und ≤ 0,4 mg/kg MOSH zwischen n-C<sub>26</sub> und n-C<sub>35</sub>.

Der Extrakt aus dem Karton zeigte keine Hinweise, dass die Druckfarbe mineralölhaltig war. Die Kontur des unaufgelösten Peakhaufens ist typisch für den

Übergang aus Recyclingkarton. Mineralöle aus Druckfarben enden normalerweise ziemlich abrupt bei n-C<sub>19</sub>/n-C<sub>20</sub> (siehe Kapitel 4.1.2), wofür im Chromatogramm keine Anzeichen zu sehen sind.

### 3.7.4 MOAH in Lebensmitteln

Für die MOAH-Bestimmung im Lebensmittel wurde ein direkt in Recyclingkarton verpacktes Couscous gewählt. Der Karton enthielt unüblich wenig MOSH, 65 mg/kg im Bereich von C<sub>16</sub>-C<sub>24</sub>, und könnte auch aus einer Mischung mit Frischfasern bestanden haben. Er war ohne Mineralöl bedruckt. Der MOSH-Gehalt im Lebensmittel war mit 4,8 mg/kg entsprechend verhältnismäßig tief.

#### 3.7.4.1 Festlegung der Basislinie

Für die Basislinie bietet sich zunächst an, eine schräge Lage von der Zone kurz vor der Elution von TBB bis etwa n-C<sub>24</sub> (Retentionszeit markiert) anzunehmen (gestrichelt eingezeichnet in Abbildung 15). Die Basislinie im Chromatogramm des Blindwerts zeigt einen anderen Verlauf. Sie war ab einer Retentionszeit knapp vor TBB praktisch horizontal, ausgehend von einem breit auslaufenden Lösungsmittelpeak. Die Höhe dieser Basislinie muss aus der Zone um n-C<sub>35</sub> positioniert werden und liegt im interessierenden Bereich klar tiefer als die schräge Grundlinie. Die zu integrierende Fläche ist entsprechend grösser. Gegen die hohen Retentionszeiten wurde ein Schnitt etwas nach n-C<sub>24</sub> eingefügt (siehe Marke).

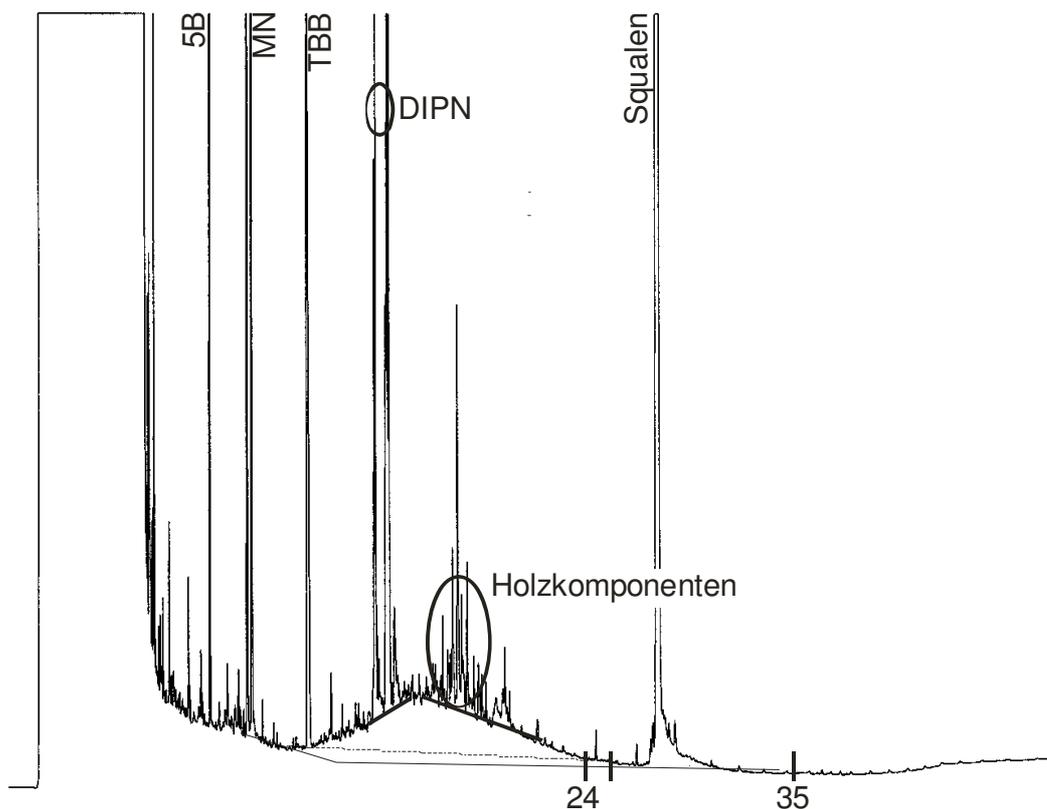


Abbildung 15. Beispiel für die MOAH-Analyse in Lebensmitteln: Couscous direkt im Recyclingkarton; kein Beitrag der Druckfarbe.

#### 3.7.4.2 MOAH-fremde Anteile?

Das Chromatogramm ist (wie meistens für fettarme Lebensmittel) einfach strukturiert mit wenig Störsignalen. Wie üblich für eine Verunreinigung aus Recycling-

karton rührten die dominierenden aufsitzenden Signale von DIPN (0,6 mg/kg). Anschließend wurde ein komplexes Gemisch eluiert, das mit den Abietic- und Pimarsäurederivaten übereinstimmt und wohl im Strich des Kartons oder der Druckfarbe eingesetzt wurde. Beide wurden separat integriert (siehe Trennlinie) und abgezogen. Bei höherer Retentionszeit wird ein grosses Signal beobachtet, dessen Retentionszeit auf jene von Squalen trifft.

#### 3.7.4.3 Auswertung

Die Verteilung der MOAH entsprach jener der MOSH und der breiten Form, die für Recyclingkarton typisch ist. Ob im Bereich von Squalen eine weitere Verunreinigung vorlag (maximal 0,1 mg/kg) liess sich herauslesen.

Nach Abzug der aufsitzenden Signale ergab die Integration über der ausgezogenen Basislinie bis zur Marke 0,8 mg/kg MOAH.

Der Probenextrakt war vor der HPLC-GC-FID-Analyse nicht angereichert worden und die Abschwächung war eher niedrig (120 mV). Eine Anreicherung wäre wegen des tiefen Fettgehalts problemlos möglich gewesen und hätte die Unsicherheit bezüglich der Basislinie weitgehend eliminiert.

### 3.8 *Potentielle Interferenzen mit Lebensmittelbestandteilen*

#### 3.8.1 Interferenzen in der MOSH-Fraktion

##### 3.8.1.1 Natürlich vorkommende gesättigte Kohlenwasserstoffe

Die meisten Lebensmittel enthalten natürlicherweise auftretende, gesättigte Kohlenwasserstoffe, die weitgehend aus n-Alkanen ungeradzahligter Kettenlänge bestehen (Decarboxylierungsprodukte langkettiger Fettsäuren). Meistens reichen sie von ca. C<sub>21</sub> bis C<sub>35</sub>, mit Maxima bei C<sub>29</sub> und C<sub>31</sub>. In der Kakaobutter ist das dominierende n-Alkan jedoch C<sub>23</sub>. Daneben treten in gleichen Abständen regelmäßig viel kleinere Peaks auf, wahrscheinlich weitgehend lineare, aber an einer spezifischen Stelle verzweigte Alkane.

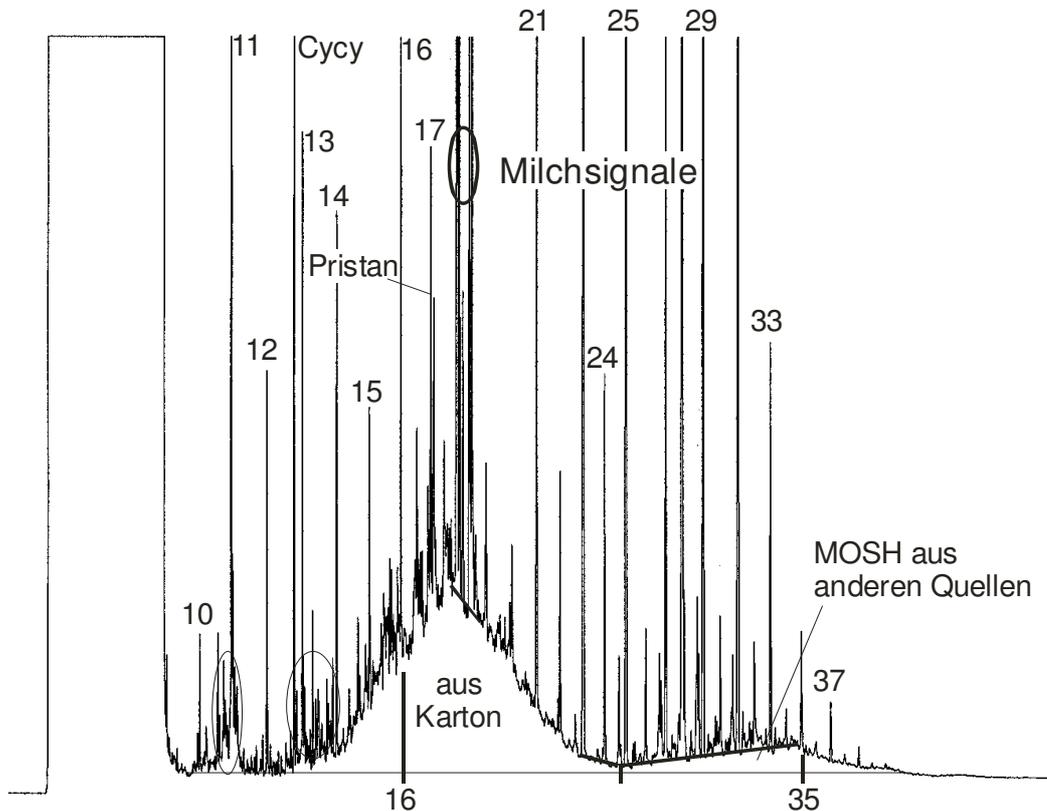
In Speiseölen können die natürlicherweise auftretenden n-Alkane Konzentrationen von mehreren 100 mg/kg erreichen, müssen also unbedingt von den MOSH unterschieden werden.

Vor allem im früh eluierten Teil der Chromatogramme (vor n-C<sub>20</sub>) sind meistens Signale sichtbar, die in keine Reihe passen und aus dem Lebensmittel stammen. Typisch sind Signalgruppen im Bereich von n-C<sub>18</sub> aus Milchfett, bei n-C<sub>17</sub>/C<sub>18</sub> aus Gewürzen oder bei n-C<sub>17</sub> aus Fischen. Kleinere Signale sind oft auch in der Gegend von n-C<sub>14</sub> (Sesquiterpene) und n-C<sub>9</sub> (Monoterpene) zu sehen. Es handelt sich aber nicht um unaufgelöste Peakhaufen, welche mit MOSH verwechselt werden könnten.

Abbildung 16 zeigt die MOSH-Fraktion aus einem Buttergebäck, das in einen Tray aus Polypropylen gelegt war. Der Tray war umwickelt von einer Polyethylenfolie und in einer Schachtel aus Recyclingkarton verpackt. Wiederum war das Produkt nicht unverpackt verfügbar, aber die Interpretation mit guter Wahrscheinlichkeit machbar. Im früh eluierten Bereich sind als Signalgruppen POSH aus dem Polypropylen-Tray sichtbar (Kreise), zudem die geradzahlig n-Alkane C<sub>12</sub>, C<sub>14</sub> und C<sub>16</sub>, welche das ungeradzahlige C<sub>15</sub> überragen (C<sub>11</sub> und C<sub>13</sub> sind nicht interpretierbar, da zugesetzt) und damit auf Polyethylen-POSH aus der Folie hinweisen. Dann folgt ein unaufgelöster Peakhaufen, der wahrscheinlich aus MOSH und POSH zusammengesetzt ist. Die n-Alkane C<sub>15</sub> und C<sub>17</sub> sowie das Pristan sind Komponenten von MOSH. Der Haufen endet eher früh (n-C<sub>23</sub>), weil ein mehrstufiger Übergang von Kohlenwasserstoffen (via Folie und Tray) langsamer ist.

An der Stelle von n-C<sub>18</sub> ist ein Signalbündel mit zwei überragenden Peaks zu sehen, das vom Milchfett stammt und deswegen bei der Integration abzuzählen ist (Aufsetzer gemäss eingezeichnetem Schnitt).

Wie häufig zu beobachten, befand sich auch im später eluierten Bereich ein Peakhaufen von MOSH, mit einem Maximum um n-C<sub>32</sub> herum. Dieses Mineralöl kann nicht über die Gasphase migriert sein und befand sich vermutlich schon vor der Verpackung im Produkt. Aus der Molekularmassenverteilung ist zu vermuten, dass die Verunreinigung umweltbedingt war.



**Abbildung 16. Signale aus Milchfett in der MOSH-Fraktion eines Buttergebäcks. Umkreis: Polypropylen-POSH aus dem Tray.**

Zur Bestimmung des MOSH-Gehalts wurde eine Basislinie eingezeichnet, die vom tiefsten Punkt vorn auf jenen hinten passte, also mit dem Chromatogramm des Blindwerts gut übereinstimmte. Bei ca. n-C<sub>25</sub> wurde eine Trennung zwischen den migrierten und den schon vorher im Lebensmittel vorhandenen MOSH angenommen. Bis n-C<sub>25</sub> wurden die internen Standards, die Milchpeaks sowie die Signale n-C<sub>21</sub>, n-C<sub>23</sub> und n-C<sub>24</sub> abgezogen, für die bereits im Lebensmittel vorhandenen MOSH sämtliche Signale (siehe eingezeichnete Linien).

Die quantitative Auswertung lässt keine Trennung von MOSH und POSH zu. Das grosse Signal für Pristan und das Signal von n-C<sub>15</sub> lassen vermuten, dass der quantitative wichtige Peakhaufen mehrheitlich aus MOSH besteht. Die MOSH+POSH bis n-C<sub>16</sub> entsprachen 1,6 mg/kg; n-C<sub>16</sub> bis n-C<sub>25</sub>: 4,6 mg/kg; n-C<sub>25</sub> bis n-C<sub>35</sub>: 0,7 mg/kg.

### 3.8.1.2 Oligomere aus Kunststoffen (POSH)

Polyolefine (Polyethylene, Polypropylene) enthalten gesättigte Kohlenwasserstoffe von C<sub>10</sub> bis über C<sub>30</sub> hinaus. In Abbildung 16 waren solche Komponenten sichtbar. Auf sie wird im Kapitel 4.1.5 näher eingegangen

### 3.8.1.3 Poly-AlphaOlefine

Poly-Alpha-Olefine (PAO) werden aus Olefinen kurzer Ketten (oft  $C_6$ - $C_8$ ) synthetisiert, sind also Oligomere aus einigen Monomereinheiten und bilden typischerweise 2-4 relativ enge Peakhaufen mit regelmäßigen Abständen. Die als Ausgangsstoffe eingesetzten Olefine stammen aus der Polyethylensynthese oder aus katalytischen Crackprozessen in der Erdölraffination. PAO werden als synthetische Schmieröle sowie als Komponenten von Lebensmittelkontaktmaterialien, z.B. Klebstoffen, eingesetzt.

Auf PAOs wird im Kapitel 4.1.4 mit einem Chromatogrammbeispiel eingegangen.

### 3.8.2 Potentielle Interferenzen von Lebensmittelbestandteilen mit MOAH

Als erste Regel gilt, dass MOAH in der Gaschromatographie unaufgelöste Peakhaufen ohne namhafte aufsitzende Signale bilden. Aufsetzer stammen also normalerweise von Lebensmittelkomponenten oder anderen Substanzen aus der Verpackung.

Die Analytik der MOAH wird vor allem durch Olefine gestört. Olefine geraten bei der Vortrennung zum größten Teil in die MOAH-Fraktion (Ausnahmen sind sterisch abgeschirmte Monoene, die in die MOSH-Fraktion gelangen können). Die meisten bilden unregelmäßig auftretende, isolierte Signale, die im Chromatogramm leicht als nicht den MOAH zugehörig erkannt und bei der Integration abgezählt werden können. Da immer wieder mineralölfreie Produkte analysiert werden, ist dies in der Regel leicht verifizierbar.

Bei hohen Konzentrationen können Olefine allerdings die Chromatogramme derart überladen, dass sie die Analyse der MOAH massiv stören. Andere bilden Peakhaufen von Isomeren, die schwerer von den MOAH zu unterscheiden sind. In diesen Fällen müssen sie möglichst selektiv entfernt werden, wozu die Epoxydierung vorgeschlagen wird (siehe Kapitel 6.3).

#### 3.8.2.1 Terpene, Squalen und seine Isomerisierungsprodukte, Carotinoide

Pflanzenmaterial kann große Mengen an ungesättigten Kohlenwasserstoffen vor allem terpenischer Struktur enthalten. Die wichtigste Komponente ist das Squalen (verzweigtes  $C_{30}$  mit 6 Doppelbindungen), das im Bereich von  $n$ - $C_{28}$  eluiert wird und in fast allen Lebensmitteln vorkommt. Squalen ist auch die dominierende Komponente in der menschlichen Haut und deswegen in den meisten Chromatogrammen vorhanden (anfassen eines Schliiffstopfens genügt).

Viele Speiseöle und -fette enthalten viel Squalen. Olivenöl enthält davon rund 5000 mg/kg. Zwar wird dieses Signal klar nach dem Bereich der Migrate in trockene Lebensmittel eluiert, aber die Trennsäule wird damit derart überladen, dass die erforderliche Nachweisgrenze um Größenordnungen verfehlt wird.

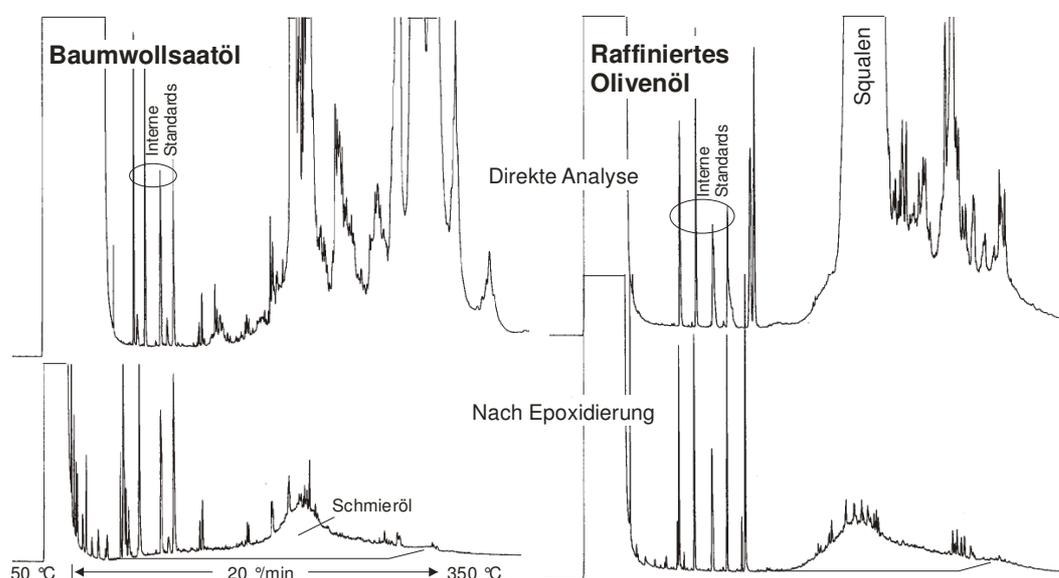
Durch die Raffination von Speiseölen (Bleichung und Desodorierung) entstehen Isomerisierungsprodukte, die im Falle von Squalen einen unaufgelösten Peakhaufen einer Breite entsprechend 2-4 Kohlenstoffatomen bilden [29]. Dieser Peakhaufen fällt auf das Maximum der MOAH aus Schmierölen und ähnlichen Mineralölprodukten ( $n$ - $C_{26}$  bis  $n$ - $C_{29}$ ), was leicht zu Fehlinterpretationen (zu hohe MOAH-Gehalte) führen kann. Der Haufen ist meistens an der geringen Breite erkennbar (enger als die üblichen Schmieröle), was aber im Zweifelsfalle durch Epoxydierung verifiziert werden sollte.

Gewisse Speiseöle und -fette enthalten auch größere Mengen an carotinoiden Kohlenwasserstoffen (z.B. Palmöle und die Fette in Bäckereiprodukten). In Meeresprodukten wird normalerweise eine komplexe Peakgruppe im Bereich von  $n$ - $C_{17}$ / $n$ - $C_{18}$  gefunden. Damit ist allerdings die Liste interferierender Olefine bei weitem nicht vollständig.

Abbildung 17 zeigt die MOAH zweier Problemfälle aus der Analytik von Speiseölen ohne einen Zusammenhang mit Übergängen aus Karton. Ein Baumwollsaatöl sowie ein Olivenöl, beide raffiniert. Obwohl die Verunreinigung mit Mineralöl vom Typ der Schmieröle (zentriert auf  $n\text{-C}_{27}$  bis  $n\text{-C}_{29}$ ) relativ hoch lag (10 bzw. 30 mg/kg), war die MOAH-Analyse ohne Epoxydierung unmöglich. Für die unteren Chromatogramme wurden die Olefine durch Epoxydierung polarer (Kapitel 6.3) und damit aus der MOAH-Fraktion entfernt. Zudem ist die Abschwächung reduziert.

### 3.8.2.2 Sterene

Bei der Raffination von Speiseölen (Bleichung mit sauren Erden und Ausdampfung bei über ca.  $180\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) wird einem Teil der Sterine oder Cholesterin die Hydroxylgruppe abgespalten, wodurch Sterene (vor allem cyclische Diene, aber auch Triene) entstehen [30]. Für jedes Sterin oder Cholesterin entstehen mehrere Isomere. In der HPLC fallen sie in die MOAH Fraktion. In der GC werden sie kurz nach dem Squalen, also im Bereich von  $n\text{-C}_{29}$ , eluiert und bilden dort Peakbündel, die nicht mit MOAH-Peakhaufen zu verwechselt werden können.



**Abbildung 17. Zwei extreme Beispiele der Störung der MOAH-Analyse durch Olefine aus Pflanzenölen sowie Reaktionsprodukten aus der Raffination. Durch Epoxydierung lassen sich die Olefine ziemlich selektiv entfernen (Kapitel 6.3). Die internen Standards entsprechen einer früheren Methode.**

### 3.8.2.3 Silikone

Silikone (Dimethylpolysiloxane) gelangen in die MOAH-Fraktion. Sie bilden eine Reihe scharfer Signale, die sich nicht in die Reihe der  $n$ -Alkane eingliedern lassen. Silikone können vom Septum des Injektors, aus Septen von Crimpdeckeln von Autosamplерfläschchen, oder anderen Laborartikeln stammen.

## 3.9 Verifizierung

Die Messung von Mineralöl ist ein typisches Beispiel für eine Analytik, die durch zusätzliche Validierungsschritte abgesichert werden muss. Vieles im Trennprozess kann sich häufig verändern und die Vielfalt der Proben lässt sich in einem Validierungsverfahren nicht abdecken. Deswegen muss jedes Resultat auf seine Richtigkeit überprüft werden (Verifizierung).

Eine derartige Überprüfung sollte eine oder mehrere Kontrollproben einschließen. Systematischer ist aber eine Auflistung der möglichen Fehlerquellen, sowie Strategien, diese Fehler zu erkennen möglichst für jede aktuell vorliegende Analyse nachzuweisen, dass sie nicht aufgetreten sind. Einige potentielle Probleme sind in den obigen Kapiteln diskutiert.

### 3.9.1 Kontrollprobe

Eine Kontrollprobe mit bekanntem MOSH- und MOAH-Gehalt wird periodisch nachanalysiert. Sie enthält ein für die Anwendung typisches Mineralöl. Die Kontrollprobe kann an zweierlei Ansprüche angepasst werden. Die Konzentration kann nur wenig über der erforderlichen Nachweisgrenze liegen, also im kritischen Bereich, in dem einige potentielle Probleme besonders gravierend sind. Andererseits lässt eine wesentlich höhere Konzentration eine genauere Messung und damit die Feststellung kleiner Abweichung zu.

Die Kontrollprobe sollte selber hergestellt werden können und über längere Zeit stabil bleiben, insbesondere durch Verdampfung keine flüchtigen Anteile verlieren. Deswegen bietet sich ein mit Druckfarbenöl aufgestocktes Speiseöl an. Wenn eine 10 mg/kg Konzentration hergestellt wird und für die Analyse dieser Probe nur ein Fünftel des normalen Einsatzes (40 mg statt 200 mg) eingesetzt wird, entspricht sie einer 2 mg/kg Konzentration in einem Lebensmittel mit 20 % Fett, also z.B. einem Müsli.

- Raffiniertes Speiseöl ohne relevante Menge Mineralöl im Bereich von n-C<sub>10</sub> bis n-C<sub>25</sub> (<1 mg/kg) und mit geringem Squalengehalt suchen. Rapsöle sind oft geeignet.
- 10 mg/kg Druckfarbenöl zugeben, z.B. Gravex 913 (Shell).
  - o ca. 20 mg Gravex einwiegen und gleiche viele Gramm (also ca. 20 g) Öl zufügen.
  - o Mit Magnetrührer über Nacht mischen (Homogenisierung einer Lösung in Öl dauert lange!)
  - o 1 g dieser Lösung mit 99 g Öl verdünnen und wiederum intensiv über Nacht mischen.
- Analyse gemäß oben beschriebener Methode (Kapitel 3.3.3):
  - o 40 mg des Öls einwiegen
  - o 20 µl Standardlösung 2 zugeben (wie für eine Normaleinwaage von 200 mg Öl)
  - o ca. 0,3 ml Hexan zugeben und auf die Trennsäule spülen
  - o vortrennen und auf MOSH und MOAH analysieren.
- Das erwartete Resultat am Beispiel Gravex 913: Da das Gravex 913 24 % MOAH enthält, sollten 1,52 mg/kg MOSH und 0,48 mg/kg MOAH gefunden werden.

Diese Kontrollprobe überprüft die Konzentration der verwendeten Standardlösung sowie möglicherweise andere, in den nachfolgenden Tests nicht erfasste Aspekte, erübrigt aber die weiteren Überprüfungen nicht.

### 3.9.2 Unvollständige Extraktion

Bei der Extraktion fester Lebensmittel und Verpackungsmaterialien können Einschlüsse die Extraktion stark verlangsamen oder praktisch unmöglich machen. Die Extraktion kann nicht über eine aufgestockte Probe überprüft werden, da damit die Einschlüsse nicht simuliert werden.

Besonders kritisch sind

- Lebensmittel mit kristallinen Anteilen, wie stark zuckerhaltige Produkte (z.B. Getränpulver, Säuglingsmilchnahrung), aber auch Teigwaren.
- Karton: Ethanol verbessert die Extraktion der kleinstmolekularen Anteile durch Quellung.
- Kunststoffe: gut permeable Kunststoffe (z.B. Polyolefine) sind um Größenordnungen schneller extrahiert als gute Barrierematerialien.

Eine Überprüfung kann derart erfolgen, dass normal extrahierte Probe gespült (Entfernung des verbliebenen Extrakts) und unter wesentlich drastischeren Bedingungen nachextrahiert (mehrfach längere Dauer, höhere Temperatur) werden.

### 3.9.3 Verluste beim Eindampfen

Stärker fetthaltige Extrakte (Lebensmittel mit mindestens ca. 5 % Fett) können unter üblichen Bedingungen bis auf das Fett eingedampft werden, ohne Verluste von Kohlenwasserstoffen ab n-C<sub>11</sub> zu riskieren. Extrakte fettarmer Proben und vor allem aufgearbeitete Proben (die fettfrei sind) sind jedoch heikel. Bei der Verdampfung von Hexan gehen leicht Kohlenwasserstoffe bis mindestens n-C<sub>16</sub> mit.

Eine Kontrolle ist in jede Analyse eingebaut. Für die MOSH-Fraktion muss das der Standardlösung beigefügte n-C<sub>11</sub> die gleiche Fläche erreichen wie Cycy, die doppelte Fläche von n-C<sub>13</sub> und die halbe Fläche von Cho (sofern letztere auswertbar ist). Analog dazu muss die Fläche von 5B jener der MN entsprechen.

### 3.9.4 Falsche Schnitte in der Vortrennung

Länger aufbewahrtes Kieselgel kann seine Retentionskraft verlieren oder Hexan kann durch Oxydation (mit Licht) polarere Bestandteile enthalten, welche die Elutionskraft erhöhen. Statt häufigen Austauschs gegen frisches Kieselgel und Lösungsmittel kann die Trennung regelmäßig überprüft werden.

Kontrolle der 4 Schnitte:

- MOSH-Fraktion Anfang: Vorsicht vor dem Size-Exclusion-Effekt. Die großmolekularen Kohlenwasserstoffe werden merklich vor den kleineren eluiert (vor allem bei HPLC gut sichtbar). → Immer wieder einmal die Fraktion vor der MOSH-Fraktion auffangen und analysieren.
- MOSH-Fraktion Ende: Cho muss vollständig erfasst sein. Leider ist Cho in vielen Proben wegen Coelutionen nicht quantitativ erfassbar. → Blankprobe mit internem Standard darauf überprüfen, ob Cho die doppelte Fläche von Cycy aufweist und in der nachfolgenden (klein gewählten) Fraktion fehlt.
- MOAH-Fraktion Anfang: TBB muss vollständig in der MOAH-Fraktion liegen. In der MOSH-Fraktion darf kein TBB zu finden sein (leichter in den Blank-Test zu sehen als in den Proben). In der MOAH-Fraktion muss TBB die gleiche Fläche erreichen wie die internen Standards MN.
- MOAH-Fraktion Ende: Perylen sollte quantitativ erfasst werden (wobei die MOAH aus dem Übergang über die Gasphase klar weniger weit reichen). Bei HPLC: Elution von Per im UV-Detektor überprüfen. Andernfalls: Per muss die doppelte Fläche von MN aufweisen.

Also bietet sich folgendes Vorgehen an. 200 mg Speiseöl wird 20 µl Standardlösung 2, 50 µl Lösung der n-Alkane des Mineralöl Methodenentwicklungs Kit (kann auch selbst erstellt werden) und 0,25 ml Hexan zugesetzt und wie in Kapitel 3.3.5 beschrieben auf eine Trennsäule aufgetragen.

- Von den ersten 2 ml Eluent 1 (Hexan) wird der erste verworfen und den zweiten analysieren (langkettige n-Alkane).

- 4 ml Eluent 1 auftragen und Eluat im ersten Spitzkölbchen auffangen. (Sollte die meisten MOSH enthalten)
- 2 ml Eluent 2 auftragen und separat auffangen → Ende der MOSH-Fraktion (Cho zu 100 %, TBB abwesend?)
- 10 ml Eluent 2 auftragen und im zweiten Spitzkölbchen auffangen → MOAH-Fraktion (100 % TBB und Per)
- Weitere 5 ml Eluent 2 auftragen und auffangen (oder mit UV-Lampe Säule auf Fluoreszenz überprüfen).

### 3.9.5 Gaschromatographie

Die Einspritzung in die GC ist fehleranfällig. Die nachfolgenden Parameter sollten mit einer breiten Mischung von n-Alkanen gleicher Konzentration durch direkte Einspritzung regelmäßig überprüft werden.

#### 3.9.5.1 Quantitative Ergebnisse

Die n-Alkane integrieren: Alle sollten die gleiche Fläche aufweisen.

- Diskriminierung der kleinmolekularen Anteile
- Diskriminierung der Hochsieder

#### 3.9.5.2 Basislinie

Die Basislinie, welche zur Auswertung in die Chromatogramme gelegt wird, muss verlässlich unter Kontrolle sein. Relativ kleine Unregelmäßigkeiten können Mineralöl vortäuschen, wo gar keines vorliegt oder die quantitativen Resultate stark verfälschen. Auch bei mäßiger Abschwächung (z.B. 100 mV Vollausschlag) sollte die Basislinie möglichst horizontal sein, damit die Übertragung einfach wird. Die potentiellen Probleme sind:

- **Säulenbluten:** Dieses sollte erst nach der Elution von n-C<sub>35</sub> einsetzen (Kapitel 2.8.7). Auch die Dichtung zur Montage des Säulenausgangs kann einen Basisliniendrift erzeugen, da ihre Temperatur mit der Ofentemperatur ansteigt.
- **Interferierende Nachelution** (bisher nicht eluiertes, hochsiedendes Material aus früheren Analysen). Da Nachelutionen kaum verlässlich zu verhindern sind, sollte dafür gesorgt werden, dass sie erst nach n-C<sub>35</sub> eluiert werden (Kapitel 2.8.7.4). Trotzdem ist nach jedem Chromatogramm mit größerer Menge nicht eluiertem Material Vorsicht angebracht oder gar eine Wiederholung nach einem Blindwert.
- Im Laufe der Chromatographie **sinkende Basislinie** rührt meistens von mit Kohlenwasserstoffen verunreinigtem Trägergas her.
- **Auslaufende Lösungsmittelpeaks**, welche die Quantifizierung der früh eluierten Anteile erschwert. Mögliche Ursachen sind belastete (verschmutzte) Vorsäule; ungenügende Septumspülung; Probleme mit der Dichtung des Injektorröhrchens gegen den Injektorkörper (stärker anziehen?); schlecht gespülter früher Dampfausgang zwischen der Vor- und der Trennsäule (sofern vorhanden).
- **Reinheit der Lösungsmittel:** Die verwendeten Lösungsmittel dürfen keine Verunreinigung enthalten, welche einen Peakhaufen von Mineralöl vortäuschen könnte und keine scharfen Signale, welche mit einem Standard coeluiert werden.

### 3.9.5.3 Trennleistung

Eine einfache visuelle Kontrolle von n-Alkanen in Testmischungen gibt einen ungefähren Eindruck der Trennleistung. Diesbezüglich ist das System ziemlich robust. Auch eine beträchtliche Reduktion wirkt sich normalerweise kaum auf die quantitativen Daten aus, verunstaltet aber die Chromatogramme. Problematisch kann die Abtrennung der internen Standards von Probenkomponenten sein und die vollständige Trennung der pflanzlichen Alkane über einem MOSH-Haufen im Bereich von n-C<sub>30</sub>.

- Häufigste Ursache einer Peakverbreiterung über das ganze Chromatogramm sind mit unverdampfbarem Material belastete Vorsäule (→ austauschen und spülen), manchmal auch Eingang der Trennsäule (→ 15-30 cm entfernen).
- Wenn die Verbreiterung nur im zuletzt eluierten Teil auftritt: zu kühle Detektorbasis oder verschmutzter Säulenausgang im Detektorblock (bzw. Kombination der beiden: hochsiedende Anteile werden im Verlaufe vieler Chromatogramme einem ungenügend geheizten Ausgang akkumuliert und bewirken nach einiger Zeit Peakverbreiterung). → Ausgang entfernen, Detektorbasis höher heizen.
- Fluten: Die Probenflüssigkeit fließt über die unbelegte Vorsäule hinaus bis in die Trennsäule. Beobachtung: Erste Peaks (Elution bis ca. 50-80 °C über Injektion) sind normal; alle nachfolgenden Peaks sind verbreitert, meist auch deformiert, wobei alle das gleiche Deformationsmuster zeigen. → Test über leicht verringertes Injektionsvolumen.

### 3.9.6 Coelution mit dem internen Standard

Eine falsche Peakfläche für den internen Standard ist wohl die häufigste Ursache für abweichende Resultate. Vorausgesetzt, die Konzentration in der zugesetzte Lösung ist richtig (z.B. nicht eingedampft), sind folgende zwei Fehlerursachen wichtig:

- Verlust durch Abdampfung bei der Anreicherung der Probe → Vergleich mit dem Wächter (n-C<sub>11</sub> für Cycy und 5B für MN)
- Der Standard wird mit einer Probenkomponente coeluiert, wodurch seine Fläche zu groß und das ermittelte Resultat zu tief ausfallen. Zur Überprüfung können die Flächen der andern zugefügten Standards herbeigezogen werden.
  - Cycy sollte ähnlich groß sein wie n-C<sub>11</sub> und im Vergleich mit n-C<sub>13</sub> eine doppelte Fläche aufweisen. Ist seine Fläche größer, wird vermutlich eine andere Substanz mit Cycy coeluiert. Ist seine Fläche kleiner, so weist dies auf eine Coelution von n-C<sub>11</sub> und n-C<sub>13</sub> mit n-Alkanen aus dem vorliegenden Mineralöl hin.
  - Cycy muss von n-C<sub>13</sub> abgetrennt sein.
  - Für die beiden isomeren MN gilt, dass sie gleiche Fläche aufweisen sollten. Falls dies nicht zutrifft, ist das Isomere mit der kleineren Fläche zu wählen. Auch die Vergleiche mit 5B und TBB können nützlich sein.
  - Für Cycy wie auch MN können die absoluten Flächen mit anderen Proben verglichen werden.

## 4 Beispiele zur Unterstützung der Interpretation

In der hinten zitierten wissenschaftlichen Literatur sind viele Chromatogramme von Lebensmittelverunreinigungen mit verschiedenen Arten von Mineralöl abgebildet. Eine Sammlung von Chromatogrammen über verschiedene Mineralöle und verunreinigte Lebensmittel (vor allem aus anderen Quellen als dem Übergang aus Kartonschachteln) befindet sich in den Unterlagen zum Workshop des BfR und KLZH vom Juni 2010 in Zürich [31].

Hier sollen vor allem Chromatogramme im Zusammenhang mit dem Übergang aus Kartonverpackungen gezeigt werden. Sie wurden mit on-line HPLC-GC-FID erzeugt, unterscheiden sich aber nicht grundsätzlich von jenen der hier beschriebenen Alternativmethode.

### 4.1 Chromatogramme relevanter Komponenten

#### 4.1.1 Recyclingkarton

Recyclingkarton enthält eine Mischung aus vielen Mineralölprodukten, welche über die recycelten Papiere und Kartons zusammenkommen. Abbildung 18 zeigt MOSH Chromatogramme von drei als typisch eingestuft, bedruckten Faltschachteln, wie sie 2011 für verpackte Lebensmittel auf dem Markt vorgefunden wurden.

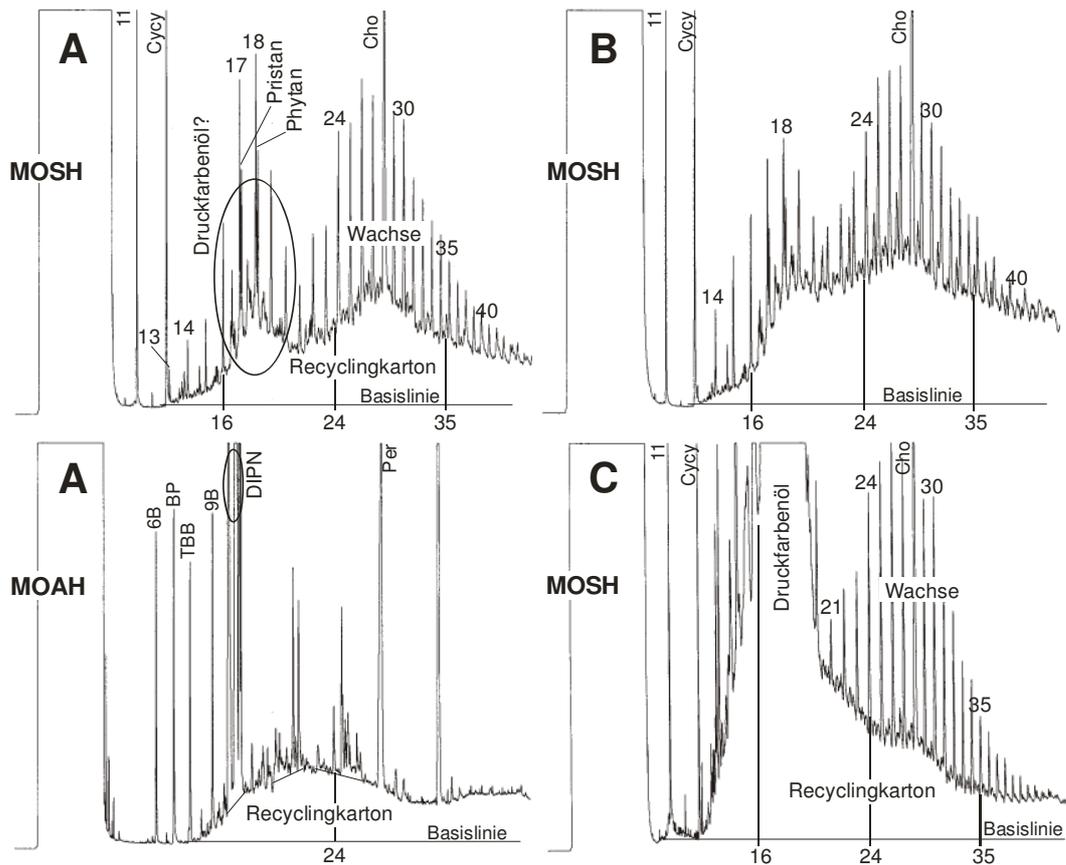
##### 4.1.1.1 Typische Chromatogramme

Das MOSH-Chromatogramm der Probe A (links oben) zeigt einen Peakhaufen, der von  $n\text{-C}_{12}$  bis über  $n\text{-C}_{45}$  hinaus reicht sowie bei  $n\text{-C}_{18}$  und  $n\text{-C}_{27}$  zwei Maxima bildet. Der erste Peakhaufen ist typisch für Druckfarbenöle und kann von der Bedruckung der Faltschachtel mit einer Mineralöl-basierten off-set Farbe stammen oder auch aus mit gleichen Farben bedruckten recycelten Materialien.

Die meisten Druckfarbenöle reichen bis etwa  $n\text{-C}_{20}$ . Die immer noch in trockene Lebensmittel migrierenden Kohlenwasserstoffe bis  $n\text{-C}_{24}$  stammen also vorwiegend aus anderen, weitgehend unbekanntem Quellen.

Für die Zusammensetzung der Kohlenwasserstoffe im Recyclingkarton muss berücksichtigt werden, dass die flüchtigen Komponenten bei jedem Recycling und Gebrauch reduziert werden, die höher Siedenden sich jedoch anreichern. Die Druckfarbenöle stellen den größten Eintrag von Mineralölen in den Recyclingprozess dar. Allerdings werden sie ständig durch Abdampfung reduziert. Die nach  $n\text{-C}_{24}$  eluierten Kohlenwasserstoffe werden dagegen über jeden Zyklus akkumuliert und können deswegen zum dominierenden Bestandteil werden. Sie stammen aus einer Vielzahl von Mineralölen, die für die Herstellung von Papier und Karton verwendet werden, aber auch Klebstoffen und Kunststoffbeschichtungen.

Die aufsitzenden Signale der  $n$ -Alkane im Bereich  $n\text{-C}_{14}$  bis ca.  $n\text{-C}_{22}$  und der kleineren Isoalkane (einschliesslich Pristan und Phytan) sind Bestandteil der Druckfarbenöle. Die Mineralöle höherer Molekularmasse enthalten meistens wenig oder gar kein  $n$ -Alkane. Deswegen kann davon ausgegangen werden, dass die im später eluierten Bereich beobachteten  $n$ -Alkane von Wachsen stammen, welche zur Erhöhung der Wasserbeständigkeit von Papier und Karton eingesetzt werden.



**Abbildung 18. MOSH und MOAH Chromatogramme von bedruckten Faltschachteln aus Recyclingkarton; Quelle: verpackte Lebensmittel vom Markt. (Überholte Versionen von zugefügten Standards.)**

Die MOAH-Fraktion der Probe A (links unten) zeigt eine Molekularmassenverteilung, die nicht mit jener der MOSH übereinstimmt und darauf schließen lässt, dass die verschiedenen Mineralöle unterschiedliche MOAH-Gehalte aufwiesen. Beispielsweise enthalten Wachse kaum MOAH. Umgekehrt steigt der Peakhaufen im zuletzt eluierten Teil wieder an, was auf Petroleumharze zurückzuführen ist, die keine MOSH enthalten und wohl auch nicht den MOAH zugehören. Die als MOAH interpretierte Fläche schließt keine aufsitzenden Peaks ein. Eine Abtrennung der Petroleumharze ist nicht möglich, aber auch von geringer Bedeutung, wenn es um den Übergang in trockene Lebensmittel geht.

Neben den internen Standards wird das Chromatogramm vom Peakbündel der DIPN (55 mg/kg bezüglich Karton) dominiert. Die weiteren aufsitzenden Peaks stammen aus dem Holz oder in Druckfarben und Strich verwendeten Produkten auf der Basis von Holzölen. Sie wurden gemäss eingezeichneten Schnitten integriert und von der Gesamtfläche abgezogen.

#### 4.1.1.2 Berechnung der Ausgangskonzentration im Karton

Die Schachteln waren im Gebrauch, d.h. die Chromatogramme bilden nicht den ursprünglichen Zustand des eingesetzten Kartons ab. Flüchtige Komponenten können bereits zu einem großen Teil ins Lebensmittel migriert oder in die Umgebungsluft abgegeben worden sein. Für den Bereich hinter  $n\text{-C}_{24}$  sind solche Verluste aber nicht zu erwarten. Deswegen könnte vor allem der erste (auf  $n\text{-C}_{17/18}$  zentrierte) Peakhaufen ursprünglich viel größer gewesen sein als hier beobachtet.

Die ursprüngliche MOSH Konzentration im Karton lässt sich meistens durch die Gehalte im Lebensmittel und ggf. in einem Innenbeutel zurückrechnen. Die Konzentrationen im Lebensmittel und Innenbeutel werden über die Gewichte in Mengen umgewandelt und diese durch Division durch das Kartongewicht in Konzentration im Karton umgerechnet. Diese Konzentrationen werden auf die im Karton gemessene aufaddiert. Dabei bleibt das in die Luft abgedampfte Material unberücksichtigt.

Für den gezeigten Karton A ergab diese Art der Rückrechnung, dass rund 60 % des Druckfarbenöls bereits auf das Lebensmittel übergegangen war, bzw. dass dieser Peakhaufen im Karton ursprünglich mehr als doppelt so hoch war.

#### 4.1.1.3 Recycling oder Druckfarbe?

Aus regulatorischen Gründen wäre eine Unterscheidung von Mineralölen aus dem Recyclingkarton und von der Bedruckung der Faltschachteln wünschenswert. Da die MOSH der innerhalb und außerhalb des Lebensmittelbereichs eingesetzten off-set Druckfarben weitgehend die gleiche Molekularmassenverteilung aufweisen, lassen sich aus der Zusammensetzung keine Rückschlüsse auf die Quelle ziehen.

Vermutungen lassen sich allerdings aus den Mengen ableiten:

- Die Probe B (Abbildung 18) zeigt eine MOSH-Verteilung, die für unbedruckten oder mineralölfrei bedruckten Recyclingkarton typisch ist. Der Druckfarbenbereich ragt nicht heraus. Der auf den ursprünglichen Karton zurückgerechnete Gehalt an  $<C_{24}$  MOSH lag mit 320 mg/kg im für Recyclingkarton typischen Bereich.
- Die Probe C (Abbildung 18) ist ebenso eindeutig durch auf die Kartonschachtel aufgebrauchte Druckfarbenöle belastet. Der MOSH  $<C_{24}$  Gehalt (1500 mg/kg) lag weit über den normalerweise in Karton gefundenen Werten. Charakteristisch ist auch der steile Abfall bei  $n-C_{19/20}$ .
- Die Probe A (Abbildung 18) liegt nahe beim Punkt, wo erfahrungsgemäß keine klare Aussage möglich ist. Die Rückrechnung des Übergangs in das Lebensmittel auf den Karton zeigt, dass in der frischen Faltschachtel der Peakhaufen des Druckfarbenöls die später eluierten Anteile stark überlagte. Die berechneten 460 mg/kg MOSH  $<C_{24}$  liegen hoch, aber noch innerhalb des in Abbildung 19 festgestellten Bereichs.

Der MOAH-Gehalt im Mineralöl des Druckfarbenbereichs ( $n-C_{14}$  bis  $n-C_{20}$ ) kann ebenfalls einen Hinweis liefern. Die für Lebensmittelverpackungen verwendeten mineralöhlhaltigen off-set Farben enthalten oft weniger MOAH als jene für Zeitungen und Inzidenzdruck. Für Recyclingkarton sind 15-20 % MOAH typisch, für die Bedruckung von Faltschachteln für Lebensmittel wurden auch weniger als 5 % MOAH beobachtet.

#### 4.1.2 Druckfarbenöle

Die für die Herstellung von off-set Druckfarben verwendeten Mineralölprodukte variieren in der Molekularmassenverteilung und dem Aromatengehalt. Druckfarben sind aus mehreren Komponenten zusammengesetzt, welche Mineralöle enthalten können; die beobachtete Zusammensetzung entspricht also der Kombination dieser Öle. Der Aromatengehalt ist entscheidend für die Suspendierung der Pigmente.

Abbildung 19 zeigt die MOSH-Fractionen von fünf Mineralölprodukten zur Herstellung von Druckfarben. Das Produkt 1 ist auf  $n-C_{14}$  zentriert und weist eine Breite von kaum mehr als zwei Kohlenstoffatomen auf. Es wird wahrscheinlich für das heat-set Druckverfahren eingesetzt, welches das Lösungsmittel nach der

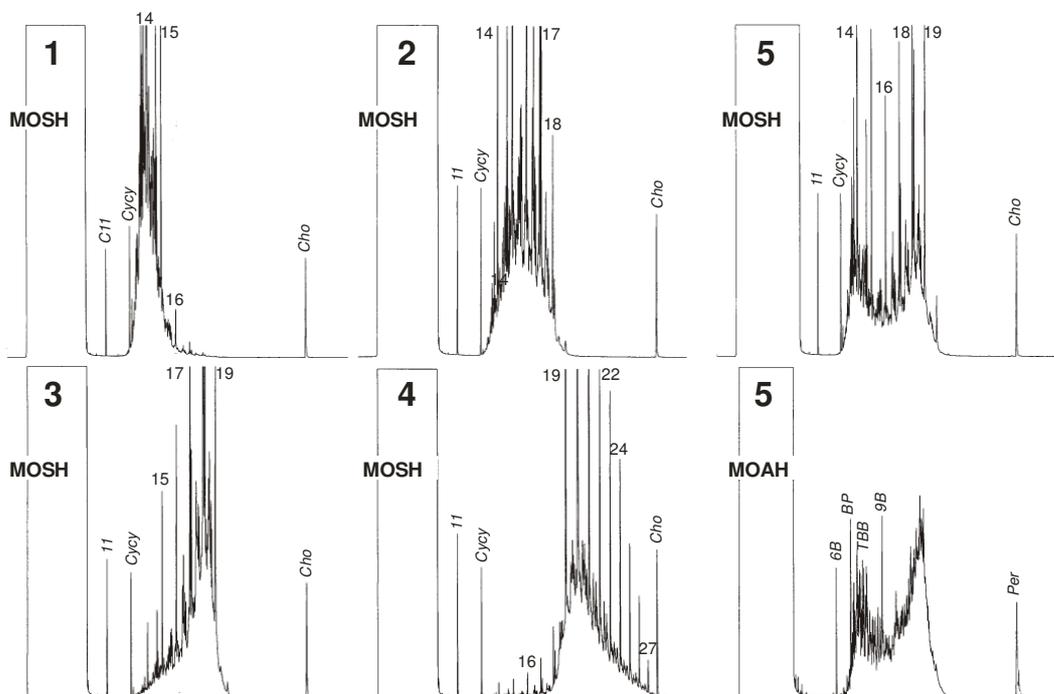
Bedruckung abdampft – ein hier weniger interessierendes Verfahren, weil diese Öle entfernt werden und das Druckverfahren für Lebensmittelverpackungen keine große Bedeutung zu haben scheint.

Im Bereich der Bedruckung von Zeitungen und Kartonschachteln ist das cold-set Verfahren üblich. Das Lösungsmittel (Mineralöl) wird „weggeschlagen“, d.h. in die Fasern aufgesaugt und verbleibt dort. Diese Öle sollen wenig an hoch flüchtigen Anteilen enthalten, damit die Luft in der Druckerei nicht zu stark belastet wird (als „flüchtig“ gelten hier Anteile unter n-C<sub>16</sub>). Andererseits soll das Öl eine minimale Viskosität aufweisen, um schnell weggeschlagen zu werden, was geringe Molekularmassen voraussetzt. Das Produkt 1 mit einer für europäischen Zeitungsdruck typischen Molekularmassenverteilung, ist auf n-C<sub>15/16</sub> zentriert und reicht von n-C<sub>13</sub> bis n-C<sub>18</sub>.

Das Produkt 3 ist das in Faltschachteln am häufigsten beobachtete Druckfarbenöl. Es ist auf n-C<sub>18</sub> zentriert und reicht von etwa n-C<sub>14</sub> bis zu n-C<sub>19</sub>. Die Verteilung ist asymmetrisch, mit langsamem Anstieg von n-C<sub>14</sub> bis n-C<sub>18</sub> und steilem Abstieg bei n-C<sub>19</sub>.

Das (selten beobachtete) Produkt 4 ist auf n-C<sub>20</sub> zentriert, beginnt erst bei n-C<sub>18</sub> und reicht bis etwa n-C<sub>27</sub>. Es könnte aber im Recyclingkarton eine größere Rolle spielen, weil sich die höher siedenden Anteile über das Recycling anreichern.

Das Öl 5 besteht aus einer Mischung aus zwei Fraktionen, zentriert auf n-C<sub>14</sub> und n-C<sub>18</sub>. Darunter ist das entsprechende MOAH-Chromatogramm abgebildet und soll zeigen, dass die MOAH-Chromatogramme den gleichen Bereich abdecken wie die MOSH (gilt auch für die anderen Produkte, deren MOAH-Chromatogramme nicht reproduziert sind). Diese Übereinstimmung ist nicht selbstverständlich, da die Kohlenstoffanzahl der Aromaten teilweise erheblich von jener der coeluierten n-Alkane abweicht.



**Abbildung 19. MOSH und MOAH Chromatogramme von Mineralölprodukten zur Herstellung von off-set Druckfarben.**

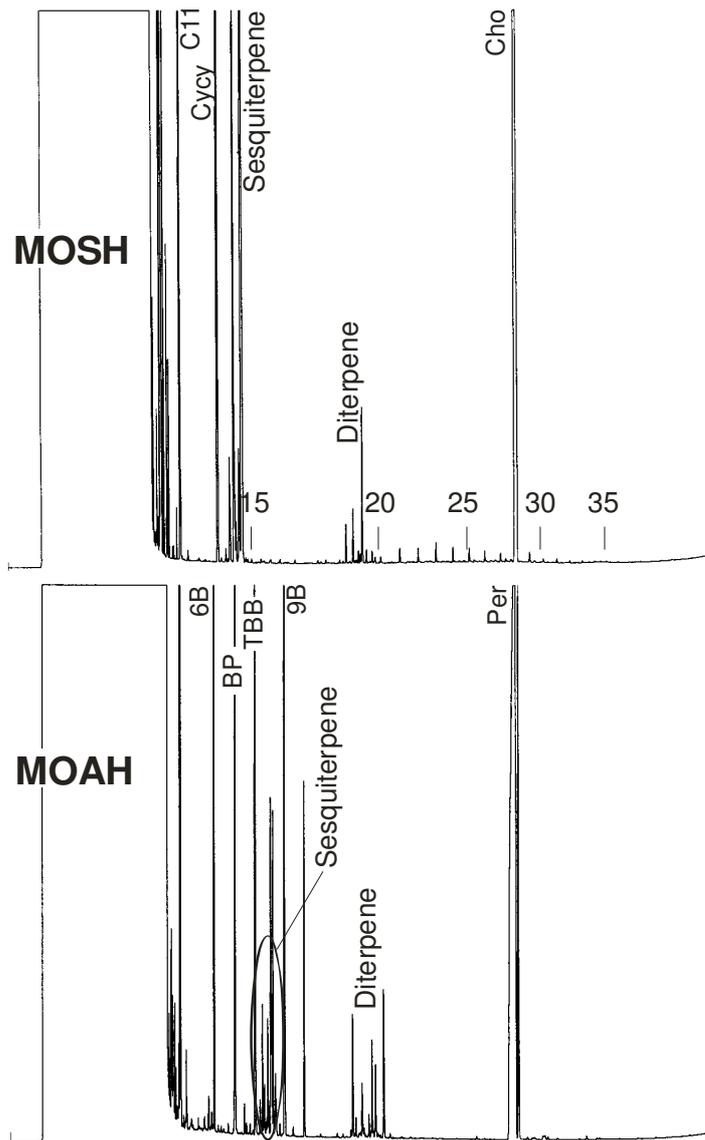
Die MOAH-Gehalte der für die Herstellung von Druckfarben vermarkteten Mineralöle sind entweder im Bereich von 1 %, bei ca. 20 % oder bei 40-50 %, wobei

die Öle mit hohem MOAH-Gehalt wahrscheinlich vor allem zum Anreiben von Pigmenten eingesetzt werden und deswegen in der fertigen Druckfarbe nur einen kleinen Anteil erreichen. Die MOAH-Gehalte in der Druckfarbe hängen von der Mischung der verwendeten Mineralöle ab.

#### **4.1.3 Frischfaserkarton und -papier**

Die Chromatogramme der Abbildung 20 stammen von rohem Fichtenholz und bestätigen, dass dieses kein Mineralöl und kein damit verwechselbares Material in den Karton einträgt (nachgewiesen auch für andere Hölzer; Nachweisgrenze: 0,2 mg/kg). Bei den beobachteten Signalen sowohl in der MOSH- als auch in der MOAH-Fraktion handelt es sich um Einzelsignale wohl terpenischer Substanzen. Im MOSH-Chromatogramm sind die Retentionszeiten einiger n-Alkane angegeben. Sie weisen darauf hin, dass die kurz nach dem Lösungsmittel eluierte erste Peakgruppe Monoterpene darstellt, die kurz vor n-C<sub>15</sub> eluierte Gruppe Sesquiterpene und die kleinen Signale vor n-C<sub>20</sub> Diterpene.

Die in rohem Holz gefundenen Mengen an Kohlenwasserstoffen sind oft geringer und ihre Zusammensetzung ist anders als jene in bedrucktem Papier (z.B. Zeitschriften). Das rührt daher, dass bei der Zelluloseherstellung Holzöle abgetrennt, verarbeitet (z.T. modifiziert) und Druckfarben sowie Strichprodukten für Kartonoberflächen wieder zugesetzt werden.



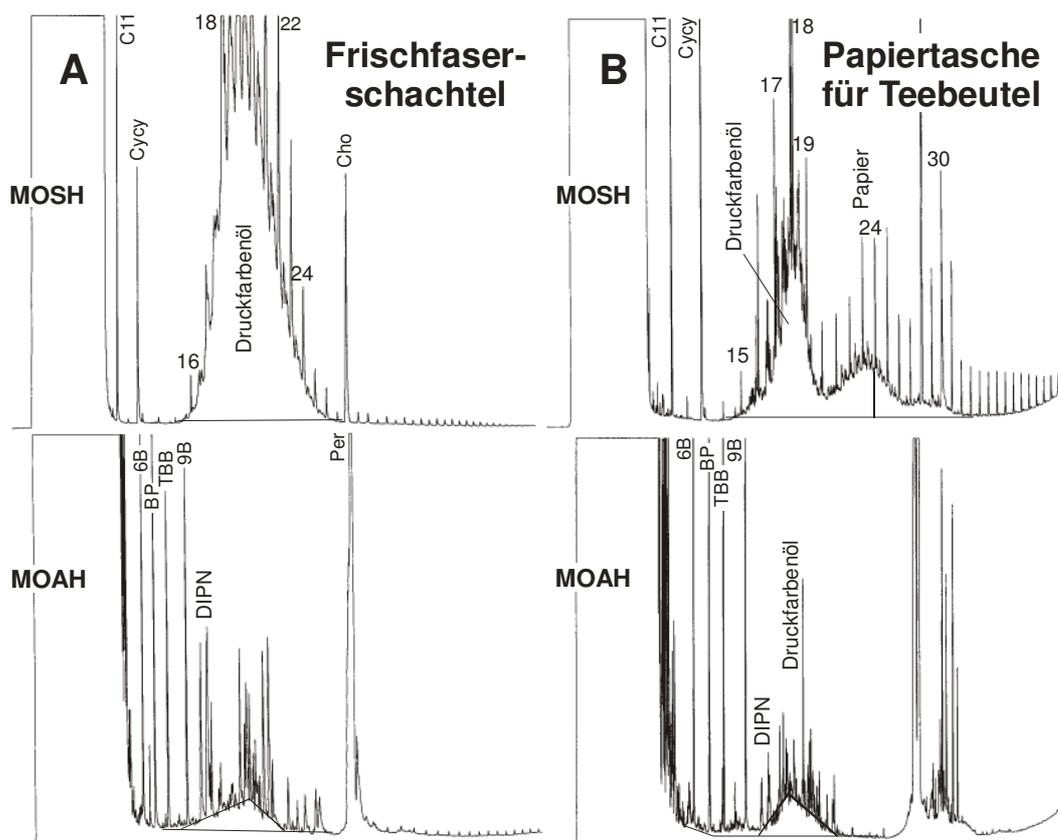
**Abbildung 20. MOSH und MOAH aus rohem Fichtenholz.**

Frischfaserkartons sind allerdings nicht immer mineralölfrei. Die linken Chromatogramme der Abbildung 21 stammen von einer bedruckten Faltschachtel aus gebleichten Frischfasern für Gebäck. Das MOSH-Chromatogramm zeigt einen großen Peakhaufen, wahrscheinlich eines Druckfarbenöls (wenn auch eher untypischer Zusammensetzung) mit einem Molekularmassenbereich von  $n\text{-C}_{14}$  bis  $n\text{-C}_{25}$ . Es sind keine MOSH mit höherer Molekularmasse aus Recyclingkarton zu beobachten, was bestätigt, dass der Karton aus Frischfasern hergestellt worden war.

Das MOAH-Chromatogramm der gleichen Probe zeigt (bei 2.5 Mal höherer Empfindlichkeit) nur eine verhältnismäßig geringe Konzentration an MOAH (4 % bezüglich der Summe von MOSH und MOAH), was eine für Lebensmittelanwendungen ausgewählte Farbe vermuten lässt. Als MOAH wird nur der unaufgelöste Hügel angesehen; die aufsitzenden scharfen Signale stammen aus dem Holz, der Verleimung oder der Druckfarbe.

Die ziemlich großen Signale für DIPN passen zuerst einmal nicht ins Bild. Weder Druckfarbenöle noch Frischfaserkarton enthalten DIPN. Das DIPN könnte aus einem Umkarton (Transportkiste) aus Recyclingkarton (Wellpappe) in die Faltschachtel übergegangen sein. Das schließt die Möglichkeit ein, dass auch die

MOAH aus diesem Umkarton stammten und das Druckfarbenöl noch weniger MOAH enthielt.



**Abbildung 21. MOSH und MOAH Chromatogramme einer mit mineralöhlhaltiger Farbe bedruckten Faltschachtel aus Frischfasern und einer Papiertasche für Teebeutel.**

Die rechten Chromatogramme der Abbildung 21 bilden die MOSH und MOAH einer Papiertasche eines Teebeutels ab, der in einer Faltschachtel aus Recyclingkarton verpackt war. Vor allem die Abwesenheit von MOAH im Bereich von  $n\text{-C}_{23}$  bis  $n\text{-C}_{28}$  bestätigt, dass das Papier aus Frischfasern hergestellt worden war.

Die MOSH-Fraktion zeigt einen Peakhaufen, der für Druckfarben typisch ist ( $n\text{-C}_{15}$  bis  $n\text{-C}_{19}$ , zentriert auf  $n\text{-C}_{18}$ , mit steilem Abstieg bei  $n\text{-C}_{19}$ ). Er wurde von einem MOAH-Haufen gleicher Molekularmassenverteilung begleitet, der zum Druckfarbenöl gehören könnte (18 % MOAH bezüglich Summe von MOSH und MOAH). Daraus ist nicht mit Sicherheit zu schließen, dass der Beutel mit mineralöhlhaltiger Farbe bedruckt war. Diese MOSH und MOAH können auch aus dem Recyclingkarton der Faltschachtel migriert sein. Das in namhafter Menge beobachtete DIPN könnte dafür sprechen. Möglicherweise treffen auch beide Erklärungen zu.

Anschließend an den auf  $n\text{-C}_{18}$  zentrierten Peakhaufen der MOSH ist ein symmetrischer Peakhaufen sichtbar, der nicht von entsprechenden MOAH begleitet ist. Er stammt also nicht aus Recyclingfasern. Solche aromatenfreie Öle, hier zentriert auf  $n\text{-C}_{23}$  (öfters auf  $n\text{-C}_{25}$  bis  $n\text{-C}_{26}$ ), wurden wiederholt in Frischfaserkarton (oft aus braunem, ungebleichtem Holzschliff) beobachtet. Typische Konzentrationen lagen im Bereich von 50 bis 100 mg/kg. Diese Öle sind möglicherweise Bestandteil von Oberflächenbehandlungsmitteln für den Karton oder werden als Entschäumer eingesetzt.

Schließlich ist ein Mineralöl im Bereich von n-C<sub>27</sub> bis n-C<sub>31</sub> sichtbar, wahrscheinlich mit entsprechenden MOAH. Dessen Ursprung ist unklar. Die Molekularmassenverteilung entspricht jener von Schmierölen.

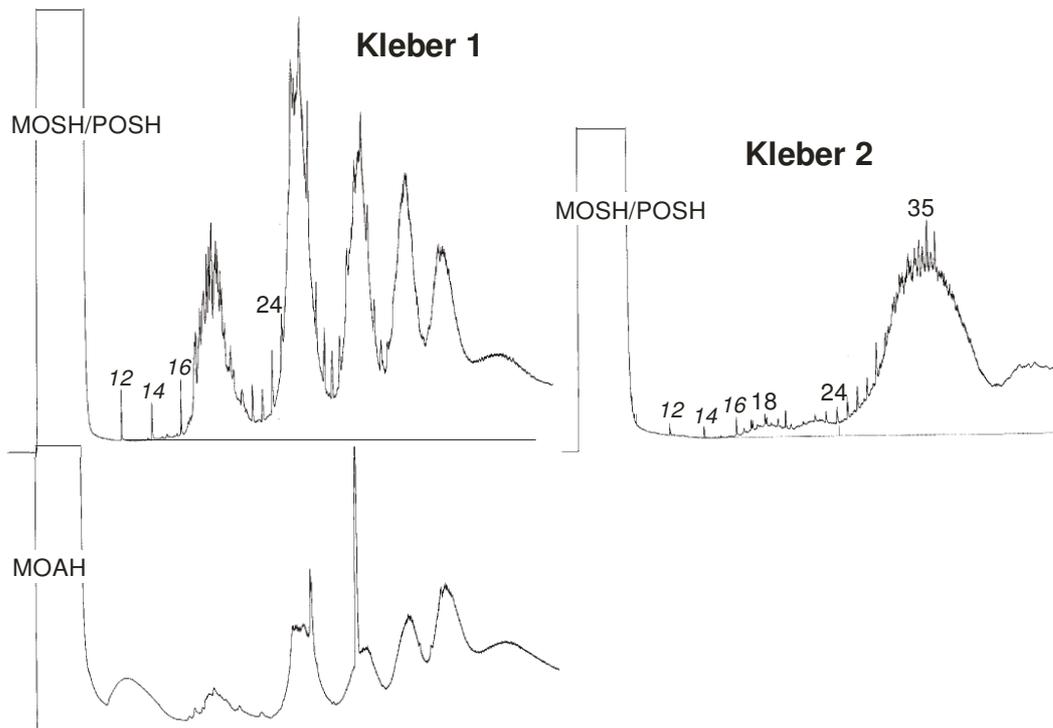
Hier nicht zu sehen, aber offenbar verbreitet verwendet, sind niedrigmolekulare Öle (n-C<sub>10</sub> bis n-C<sub>14</sub>, meistens aromatenfrei) für Flockungsmittel zur Aufarbeitung des Wassers in der Papier- oder Kartonfabrik. Diese Öle werden in der Kläranlage als Bestandteile von Polyacrylamid-Emulsionen eingesetzt. Sie haften an den suspendierten Anteilen und gelangen so wieder zurück in die Pulpe. Ein größerer Teil dieser Öle dürfte beim Trocknen des Papiers oder Kartons verdampft werden. Für aromatenfreie Öle dieser Art (n-C<sub>10</sub> bis n-C<sub>16</sub>) wurde vom BfR eine Begrenzung von 12 mg/kg im Lebensmittel festgelegt. Derartige Konzentration sind aber bisher nie beobachtet worden.

#### **4.1.4 Klebstoffe**

Von Hotmelts, die vor allem als Klebstoffe zum Verschließen von Schachteln und Beuteln oder zur Befestigung des Innenbeutels (aus Papier) an der Faltschachtel verwendet werden, ist in den Gaschromatogrammen oft kaum etwas zu sehen, weil die Molekularmassen zu groß sind. Sie sind aber ein Problem für die GC-Trennsäulen: Sie gelangen in die MOSH oder MOAH Fraktion (Olefine) und werden nach on-column Einspritzung oder on-line HPLC-GC Transfer mit entsprechender Technik in der unbelegten Vorsäule abgelagert. Sie bauen dort Retentionskraft auf und führen zu verbreiterten und/oder deformierten Signalen.

Die Basis von Hotmeltklebstoffen kann aus Wachsen auf Mineralölbasis bestehen (also MOSH). Häufiger sind es aber Poly-Alpha-Olefine (PAO), also Oligomere aus Olefinen. Diese können gesättigt sein (POSH) oder noch Doppelbindungen aus ihren Ausgangsstoffen enthalten und damit in die MOAH-Fraktion geraten.

Manchmal sind im Gaschromatogramm wenigstens die relativ kleinmolekularen Anteile sichtbar. Links in der Abbildung 22 scheint ein oligomeres Produkt aus Monomereinheiten von 6-8 Kohlenstoffatomen vorzuliegen (PAO), mit ungesättigten Anteilen (MOAH-Fraktion). Dieser Klebstoff diente der Befestigung eines Papierinnenbeutels an die Kartonschachtel.



**Abbildung 22. Chromatogramme von MOSH/POSH und MOAH zweier Hotmelt-Klebstoffe, wobei nach der Analyse des Klebers 1 die GC-Vorsäule ausgewechselt werden musste. MOSH-Analyse mit den n-Alkanen 12, 14 und 16 als interne Standards; MOAH ohne interne Standards.**

Das mit vierfacher Abschwächung gezeigte MOAH-Chromatogramm aus der nachfolgenden Analyse ist nicht nur drastisch überladen. Da auch die nächsten Chromatogramme stark verbreiterte Peaks zeigten, wurde auf eine mit unverdampfbarem Klebermaterial belastete unbelegte Vorsäule geschlossen. Erst deren Austausch brachte die normale Trennleistung zurück.

Das Chromatogramm der MOSH-Fraktion des Klebers 2 ist möglicherweise ähnlich strukturiert, aber mit größeren Monomereinheiten, wovon nur die erste gut sichtbar ist (eluiert über 300 °C).

#### 4.1.5 POSH aus Polyethylen und Polypropylen

Oligomere aus Polyolefinen (Polyethylen, Polypropylen, Polybutylene, Mischpolymere etc.) bestehen vorwiegend aus gesättigten Kohlenwasserstoffen, meist mit verzweigten Ketten und als Gemisch einer großen Zahl von Isomeren. Sie bilden deswegen typischerweise Peakhaufen, die von ca. C<sub>10</sub> bis über C<sub>45</sub> hinaus reichen. Sie werden hier als Polyolefin Oligomeric Saturated Hydrocarbons (POSH) bezeichnet und etwas eingehender dargestellt, weil die Peakhaufen leicht mit den MOSH zu verwechseln sind.

##### 4.1.5.1 POSH aus Polyethylenen

Polyethylen wird in unterschiedlichen Verfahren hergestellt und deren Oligomere sind entsprechend variabel. Katalytisch mit Metallocenen hergestellte Polyethylene haben eine hohe Dichte (high density polyethylene, HDPE). Deren Oligomere bestehen vorwiegend aus n-Alkanen gerader Anzahl Kohlenstoffatome, wie im Chromatogramm links oben der Abbildung 23 zu sehen ist. Das Beispiel stammt von einem Kunststoffbeutel für Reis (ohne Kartonschachtel). Erst im hinteren Teil (ab etwa n-C<sub>22</sub>) wird ein niedriger Haufen un aufgelöster verzweigt-kettiger Kohlenwasserstoffe beobachtet.

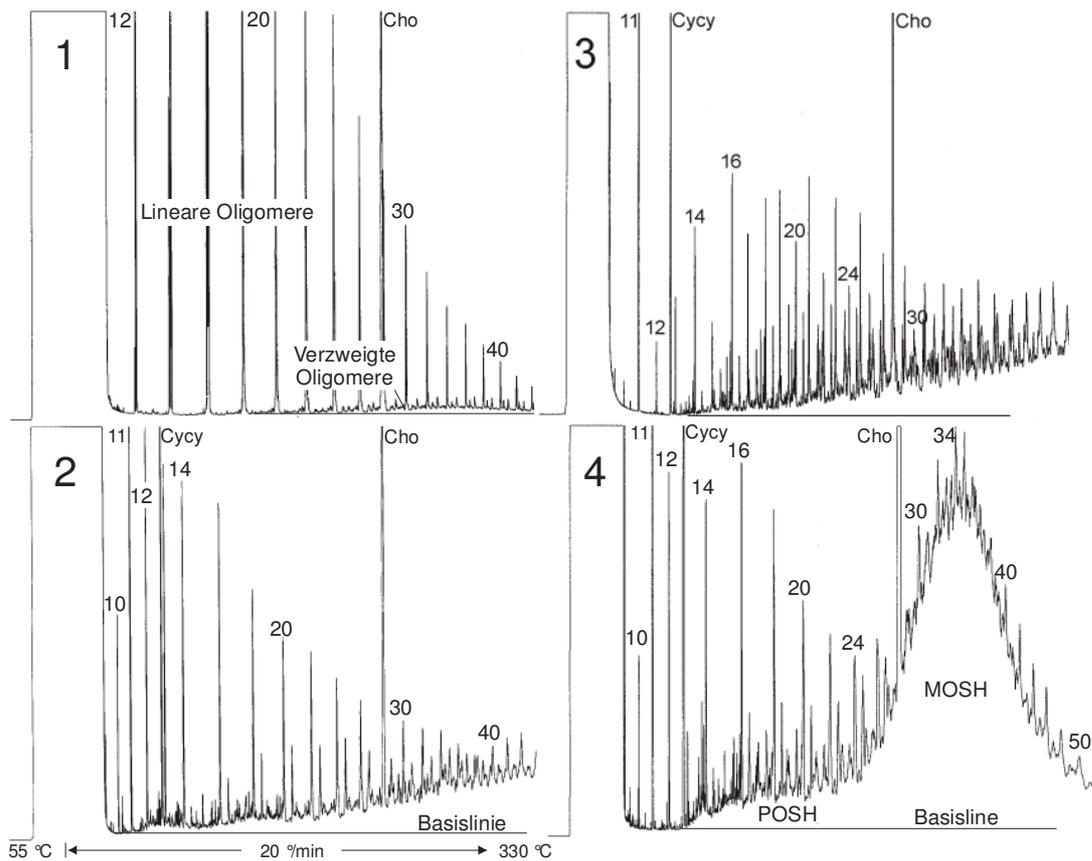
Polymerisiertes Polyethylen (Ziegler-Natta) ist vorwiegend verzweigt, was sich auch in den Oligomeren zeigt, die vor allem einen unaufgelösten Sockel bilden (siehe Basislinie; Muster 2 in der Abbildung 23), worauf größere oder kleinere n-Alkane und weitere Signale stehen. Diese Polyethylene niedrigerer Dichte werden auch LDPE genannt. LDPE wird für Beutel verwendet, aber auch für Siegel-schichten auf der Innenseite von Beuteln aus Kunststoff oder Aluminium, die zum Verschluss der Beutel mittels Erhitzung dienen. Sowohl Beutel, als auch Siegel-schichten sind meistens mehrlagig und aus verschiedenen Kunststoffen zusam-mengesetzt.

Schließlich werden Polyethylene mit geringeren Anteilen größerer Olefine (z.B. 1-Buten oder 1-Hexen) copolymerisiert, was zu den „linear low density“ Polyethylenen (LLDPE) führt. Beispiel 3 zeigt den Extrakt eines LLDPE, das als Tiefkühl-beutel für den Haushalt verkauft wurde. LLDPEs bilden komplexere Chroma-togramme, mit Oligomeren aus Ethylen und dem Comonomer, das immer eine Verzweigung erzeugt.

Das Beispiel 4 stammt aus einer Abdeckfolie eines Trays und zeigt ein Polyethylen, das auch ein Mineralöl enthält. Dieses Mineralöl war aromatenfrei und ent-spricht den Anforderungen der Kunststoffverordnung. Das mittlere Molekularge-wicht muss mindestens 480 Da erreichen (ca. C<sub>34</sub>) und der 5 % Destillationspunkt muss über C<sub>25</sub> liegen (Class I gemäss JECFA).

Oligomere aus Polyolefinen können auch Anteile an Olefinen aufweisen, die je nach Selektivität der Vortrennung in die MOSH- die MOAH- oder die Zwischen-fraktion fallen. Sie wurden bisher wenig untersucht.

POSH enthalten keine Aromaten. Die Analyse der MOAH-Fraktion kann aber zur Unterscheidung von MOSH und POSH von Interesse sein: MOAH sind immer mit MOSH vergesellschaftet, weisen also ggf. auf ein MOSH/POSH-Gemisch hin (allerdings enthalten nicht alle Mineralöle MOAH).



**Abbildung 23. Polyolefin Oligomeric Saturated Hydrocarbons (POSH) aus unterschiedlichen Typen von Polyethylen: MOSH/POSH-Fraktion.**

#### 4.1.5.2 POSH aus Polypropylen

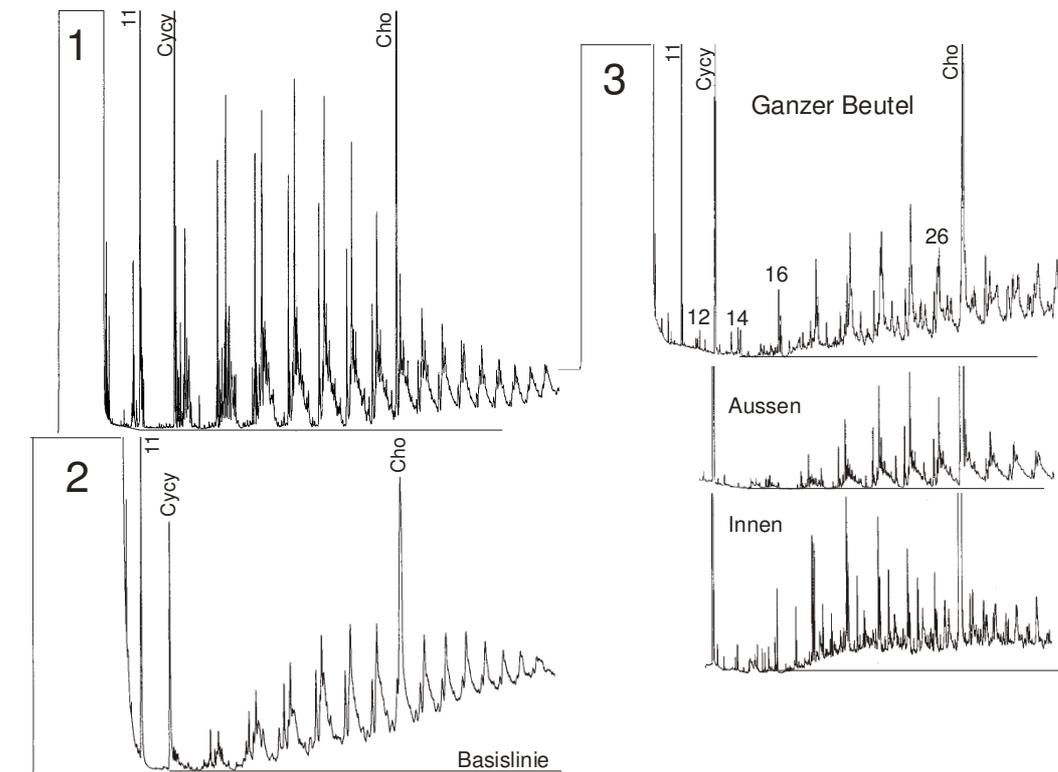
Die POSH der Polypropylene bilden charakteristische Peakgruppen oder -haufen mit Abständen, die auf drei Kohlenstoffatome zurückgehen, aber bei der Kalibrierung mit n-Alkanen nur ungefähr zwei Kohlenstoffatomen zu entsprechen scheinen. Die ersten Gruppen sind weitgehend aufgelöst, die späteren bilden unaufgelöste Haufen sich wiederholender Form. Die Komplexität ist wohl in der Stereoisomerie begründet. Allerdings sind die meisten Polypropylene isotaktisch, d.h. alle C-Atome haben gleiche Chiralität. Somit müssten sich die Isomere in anderen Belangen unterscheiden.

Die Peakhaufen der POSH aus Polypropylen können weitgehend basisliniengetreunt sein, wie im Beispiel 1 der Abbildung 24, oder auf einem unaufgelösten Sockel sitzen, wie im Beispiel 2. Allerdings wird Polypropylen häufig mit Polyethylen kombiniert, worauf die unaufgelösten Sockel auch aus dem Polyethylen stammen können.

Das Beispiel 3 stammt von einem Kunststoffbeutel, wie er für Reis, Polenta und ähnliche Lebensmittel gängig ist. Der Beutel stand in Verwendung und hat deswegen schon einen namhaften Teil der flüchtigen Anteile an das Lebensmittel abgegeben. Die Außenschicht bestand aus Polypropylen, die Innenschicht aus Polyethylen. Der erschöpfende Extrakt des Beutels („Ganzer Beutel“) zeigt also eine Mischen von POSH aus beiden Kunststoffen.

Darunter sind schnelle Extrakte der beiden Seiten gezeigt. Der Beutel wurde in einer Migrationszelle während 30 min entweder auf der Innen- oder Außenseite extrahiert (schnelle Extraktion, um nur die jeweilige Oberfläche zu extrahieren). Außen zeigen sich ziemlich typische Polypropylen-POSH, innen vor allem Polyethylen-POSH. Natürlich sind die Oligomeren vermischt, da sie auch in den je-

weils anderen Teil diffundierten. Im Lebensmittel (Polenta) wurden vor allem Polypropylen-POSH gefunden, die durch die Polyethylen-Innenschicht diffundiert sein müssen.



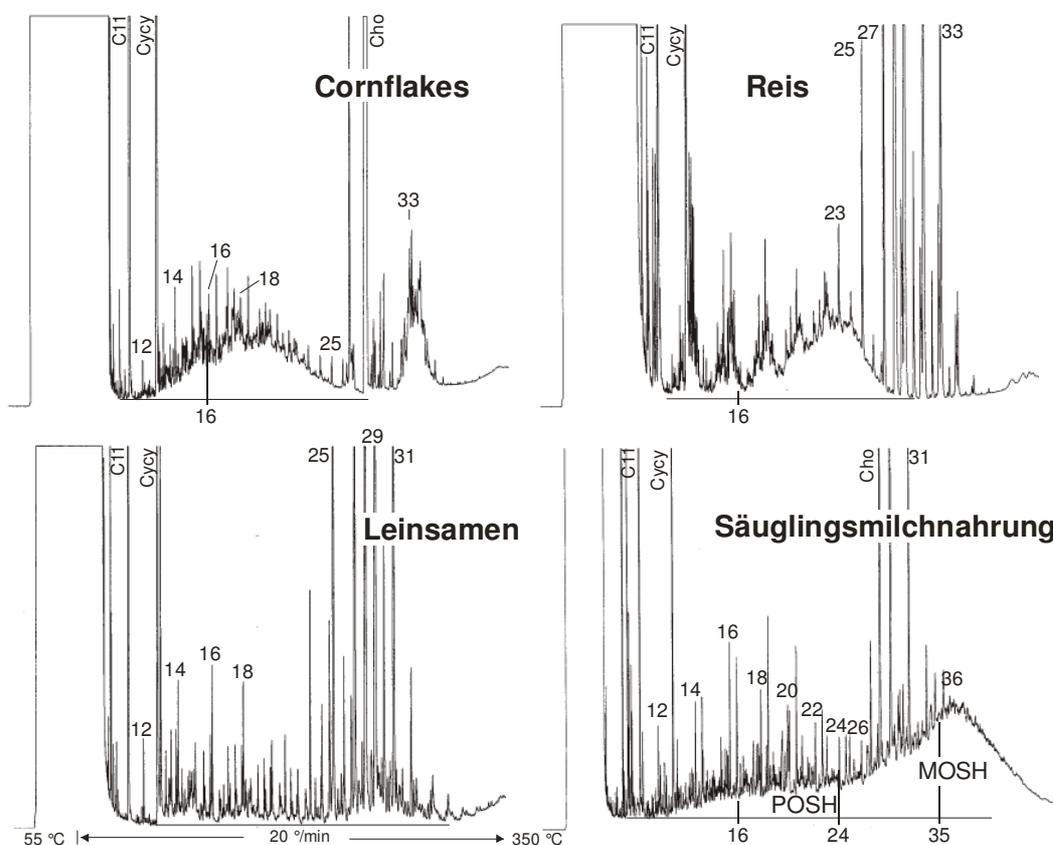
**Abbildung 24. POSH aus Polypropylen (Beispiele 1 und 2); POSH aus einem Beutel mit Polypropylen außen und Polyethylen innen: erschöpfender Extrakt der Folie ("Ganzer Beutel"), sowie oberflächliche Extrakte der Außen- und Innenseite.**

Besonders in Lebensmitteln können POSH leicht mit MOSH verwechselt werden. Abbildung 25 zeigt typische Beispiele. Die Cornflakes waren ohne Kartonschachtel in einen Kunststoffbeutel verpackt, der aus Polypropylen (außen) und Polyethylen (innen) bestand. Die migrierten POSH bildeten einen Peakhaufen, der von  $n\text{-C}_{12}$  bis  $n\text{-C}_{25}$  reichte, mit zahlreichen aufsitzenden Signalen, von denen die meisten aus dem Kunststoff stammten (POSH  $<n\text{-C}_{16}$ : 0,6 mg/kg; POSH  $>n\text{-C}_{16}$ : 1,7 mg/kg). Die später eluierten Signale und der relativ schmale Peakhaufen (zentriert auf ungefähr  $n\text{-C}_{33}$ ) stammen von Lebensmittelinhaltsstoffen. Das MOAH-Chromatogramm (nicht abgebildet) zeigte keinen den POSH entsprechenden Signalhaufen, was bestätigt, dass die Verunreinigung nur aus POSH bestand (es enthielt allerdings eine kleinere Menge DIPN, was auf einen geringen Übergang aus Recyclingkarton hinweist).

Im früh eluierten Bereich zeigt der ebenfalls in einem Kunststoffbeutel verpackte Reis Signalhaufen, die für Polypropylen-POSH typisch sind. Daran fügt sich ein auf  $n\text{-C}_{23}$  zentrierter breiter Peakhaufen, der eher auf POSH aus Polyethylen passt. Seine obere Begrenzung bei  $n\text{-C}_{27}$  liegt relativ hoch, was eine lange Lagerung oder Lagerung bei relativ hohen Temperaturen vermuten lässt. Die Konzentration der POSH  $<n\text{-C}_{16}$  im Reis betrug 1,8 mg/kg, jene der POSH zwischen  $n\text{-C}_{16}$  und  $n\text{-C}_{27}$  4,4 mg/kg.

Bereits im noch unverpackten Reis werden immer wieder einmal MOSH im Bereich der Übergänge über die Gasphase gefunden (beispielsweise aus Jutesäcken). Für in Beuteln verpackten Reis ergibt sich meistens eine einfache Kontrollmöglichkeit. Die Packung ist normalerweise so dicht, dass sich der Reis auch durch Schütteln kaum vermischt. Somit kann eine Teilprobe aus dem Zentrum

entnommen werden, indem der Übergang wesentlich tiefer und auf flüchtigere Kohlenwasserstoffe beschränkt ist [29]. Für schon vor der Verpackung verunreinigten Reis sind keine solche Unterschiede zu beobachten. Bei Kartonschachteln ist diese Kontrolle weniger zuverlässig, weil sich der Inhalt leichter vermischt.



**Abbildung 25. Übergang von POSH in Lebensmittel: vier Beispiele (alles MOSH/POSH-Fractionen).**

Die von einem Kunststoffbeutel in die Leinsamen migrierten POSH (Abbildung 25 unten links) sind charakteristisch für Polyethylen, eventuell LLDPE oder eine Mehrschichtfolie. Es ist unklar, ob sich unter  $n\text{-C}_{29}$  eine weitere Verunreinigung befindet – oder sind nur die natürlichen Kohlenwasserstoffe nicht Basisliniengetrennt?

Die pulverförmige Säuglingsmilchnahrung befand sich in einem Beutel aus Aluminiumfolie, die innen und außen mit Kunststoff beschichtet war – im Innern auch als Siegelschicht eingesetzt. Der Extrakt der Siegelschicht enthielt dominierende  $n$ -Alkane mit gerader Anzahl Kohlenstoffatomen, charakteristisch für Polyethylen. Sie enthielt aber auch eine noch viel größere Menge Mineralöl zentriert auf  $n\text{-C}_{36}$ . Der Übergang umfasste erwartungsgemäß die flüchtigeren POSH. Allerdings war sie nicht auf etwa  $n\text{-C}_{24}$  beschränkt, wie dies für trockene Lebensmittel zu erwarten gewesen wäre, sondern umfasste auch die MOSH über  $n\text{-C}_{30}$  in einer Zusammensetzung, die jener im Kunststoff entsprach. Der Anteil des Übergangs war zwar wesentlich geringer als für die flüchtigen Kohlenwasserstoffe, aber immer noch namhaft (POSH  $n\text{-C}_{16}$ : 1,4 mg/kg; POSH  $n\text{-C}_{16}$  bis  $n\text{-C}_{24}$ : 3,5 mg/kg; POSH+MOSH  $n\text{-C}_{24}$  bis  $n\text{-C}_{35}$ : 5,1 mg/kg). Das feine Pulver mit einem deklarierten Fettanteil von 25 % muss also einen benetzenden Kontakt zum Kunststoff gebildet haben, aber auch unter sich, um die Kohlenwasserstoffe von den Partikeln mit Wandkontakt an jene im Inneren des Beutels weiter zu geben.

## 4.2 Fallbeispiele

### 4.2.1 In Faltschachteln verpackter Reis

#### 4.2.1.1 Reis in Recyclingkarton

Das in Abbildung 26 gezeigte Beispiel ist typisch für den Übergang aus Karton in trockene Lebensmittel. Reis war direkt in einer Faltschachtel aus Recyclingkarton verpackt (1 kg in einer Schachtel von 45 g Gewicht). Der MOSH-Gehalt im Bereich von n-C<sub>10</sub> bis n-C<sub>16</sub> betrug 0,5 mg/kg, jener von n-C<sub>16</sub> bis ca. n-C<sub>26</sub> 3,1 mg/kg. Da der Probenextrakt vor der Messung nicht angereichert worden war, musste mit geringer Abschwächung analysiert werden, was zu einer unsicheren Basislinie führte. Der Lösungsmittelpeak läuft in die integrierte Zone aus.

Das MOSH-Chromatogramm enthält im Bereich bis n-C<sub>24</sub> praktisch nur Mineralölkohlenwasserstoffe; erst ab n-C<sub>25</sub> sind die ungeradzahligen Kohlenwasserstoffe vom Reiskorn sichtbar. Die n-Alkane n-C<sub>12</sub> bis n-C<sub>20</sub> sind in ihrer Größe homogen verteilt, was für MOSH typisch ist. Phytan und Pristan sind erwartungsgemäß sichtbar. Die migrierten MOSH reichen leicht über n-C<sub>24</sub> hinaus, was auf einen fortgeschrittenen Übergang hindeutet (bei direkter Verpackung im Karton aber in einigen Monaten erreicht wird). Sie schließen auch die niedrigmolekularen n-Alkane von ca. C<sub>22</sub> bis C<sub>24</sub> aus dem Wachs ein.

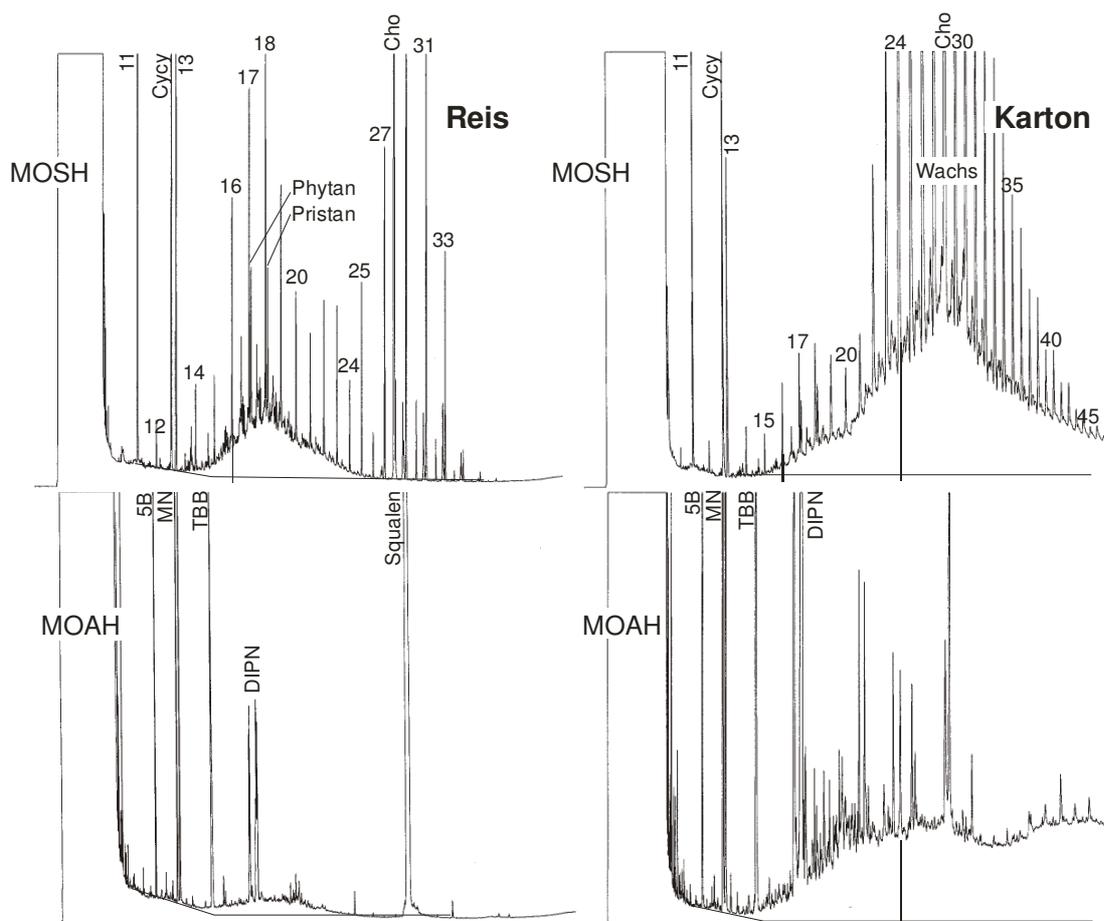


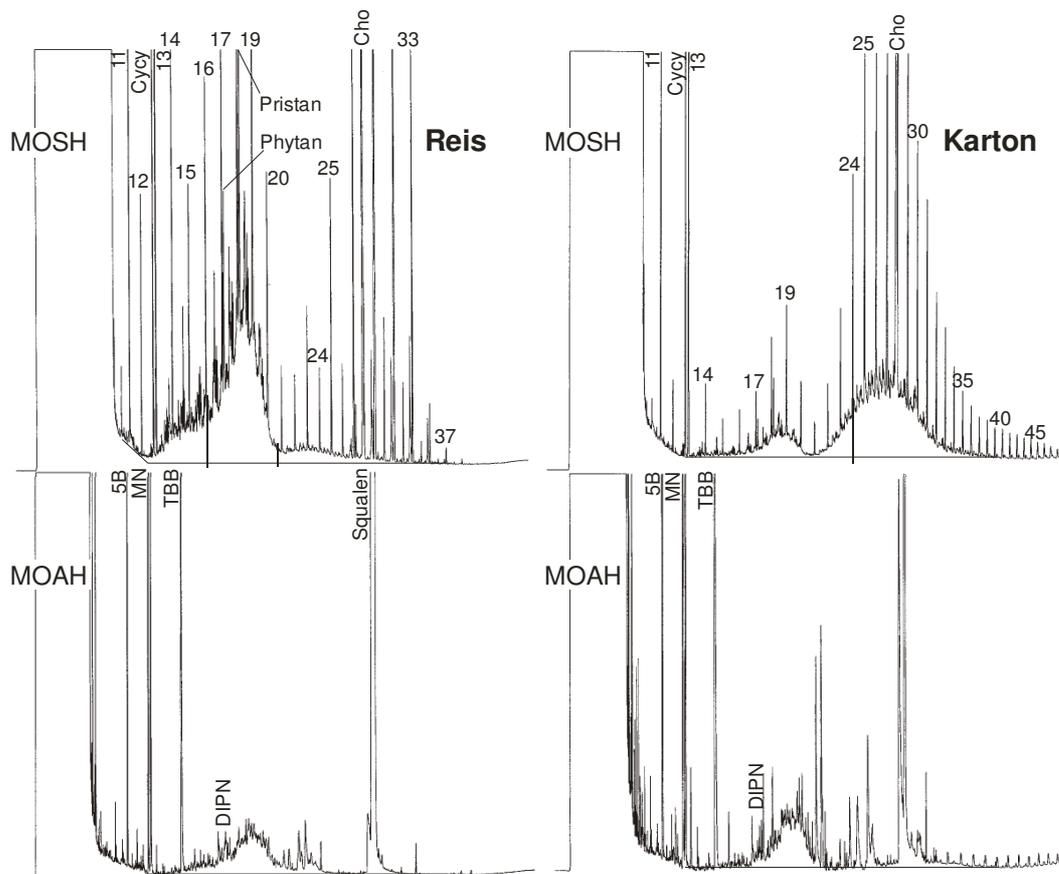
Abbildung 26. Reis und seine Verpackung in Recyclingkarton: MOSH-Fraktion (oben) und MOAH-Fraktion (unten).

Das MOSH-Chromatogramm des Kartonextrakts zeigt einen relativ tiefen Gehalt an flüchtigen Kohlenwasserstoffen: 105 mg/kg bis  $n\text{-C}_{24}$ , wobei rund die Hälfte über  $n\text{-C}_{20}$  liegt. Zum einen erklärt sich dieser geringe Gehalt durch den fortgeschrittenen Übergang in den Reis, zum anderen durch einen tiefen Gehalt im Karton selber, der auch für die MOSH  $>n\text{-C}_{24}$  zu beobachten ist (280 mg/kg). Anhaltspunkte für mineralöhlhaltige Druckfarbe gibt es keine. Gemäß der Faustregel, dass längerfristig ca. 70 % der MOSH  $<n\text{-C}_{24}$  ins Lebensmittel migrieren, würde die Konzentration im Reis noch auf 6,4 mg/kg ansteigen können.

Das MOAH-Migrat in den Reis war nur unsicher integrierbar. So wie die Basislinie eingezeichnet ist, hätte es 0,8 mg/kg erreicht. Eine genauere Bestimmung hätte eine vorausgehende Anreicherung erfordert. Wie in den meisten Fällen zu beobachten, dominieren die DIPN (0,4 mg/kg). Der  $<n\text{-C}_{24}$  MOAH-Gehalt im Karton betrug 26 mg/kg, was in vergleichbarem Verhältnis zu den MOSH steht wie im Reis. Das im Reis gemessene Mineralöl enthielt 18 % MOAH, jenes im Karton bis  $n\text{-C}_{24}$  knapp 20 %, was den üblichen Werten entspricht und den gemessenen MOAH-Gehalt im Reis stützt.

#### 4.2.1.2 Reis in Frischfaserkarton

Abbildung 27 stammt von Reis, der ohne Innenbeutel in dunkelbraunem Frischfaserkarton (Holzschliff) verpackt war. Das MOSH-Chromatogramm zeigt einen Peakhaufen, der dem Druckfarbenöl 3 in Abbildung 19 ähnlich ist. Der Haufen endet abrupt bei  $n\text{-C}_{20}$ , also mit diesem Druckfarbenöl. Damit darf angenommen werden, dass dieses Mineralöl aus der Bedruckung der Faltschachtel stammt. Der Übergang entsprach 1,4 mg/kg für die MOSH  $<n\text{-C}_{16}$  und 6,1 mg/kg für jene zwischen  $n\text{-C}_{16}$  und  $n\text{-C}_{21}$ .



**Abbildung 27. Reis aus einer mit mineralölbasierter Farbe bedruckten Faltschachtel aus Frischfasern: links der Reis, rechts der Kartonextrakt.**

Im Kartonextrakt ist nur noch wenig Druckfarbenöl sichtbar (14 mg/kg), d.h. der Übergang erreichte bereits etwa 90 % des ursprünglich vorhandenen Druckfarbenöls. Der MOSH Gehalt n-C<sub>16-22</sub> im Reis hätte sich bei längerer Lagerung noch auf etwa 6,5 mg/kg erhöhen können.

Die MOAH-Fraktion im Reis zeigt einen Peakhaufen einer Verteilung entsprechend jener der MOSH (1,2 mg/kg). DIPN ist kaum vorhanden – und war auch nicht zu erwarten.

Das MOSH-Chromatogramm vom Reis zeigt zudem einen nach dem Druckfarbenöl eluierten, flachen zweiten Peakhaufen. Dieser erklärt sich durch den im Karton sichtbaren Peakhaufen, der auf n-C<sub>26/27</sub> zentriert ist und 74 mg/kg entspricht. Davon ist nur der flüchtigste Anteil auf den Reis übergegangen (0,8 mg/kg). Dieses Öl enthielt wenig oder gar keine Aromaten und ist wiederholt in Frischfaserkartons beobachtet worden (siehe auch Abbildung 21).

#### 4.2.1.3 Hoch belasteter Reis

Abbildung 28 zeigt Chromatogramme von höher belastetem Reis. Reis 1 war ohne Innenbeutel in einer Faltschachtel aus Recyclingkarton verpackt. Die Druckfarben trugen wesentlich Mineralöl bei. Dies war schon im Extrakt aus der Schachtel gut sichtbar: Stark herausragendes Druckfarbenöl im Bereich von n-C<sub>14</sub> bis n-C<sub>19</sub> und 950 mg/kg MOSH <C<sub>24</sub> (ohne Rückrechnung aus dem Reis). Das Druckfarbenöl ist auch im gezeigten Migrat in den Reis erkennbar. Die Molekularmassenverteilung bricht bei n-C<sub>19</sub> scharf ab, wie dies für das Druckfarbenöle typisch ist, nicht aber für Recyclingkarton (siehe auch Abbildungen 26 und 28). Dieses Druckfarbenöl sitzt auf einem breiteren Sockel aus MOSH vom Recyclingkarton. Der MOSH-Gehalt im Reis betrug 28 mg/kg.

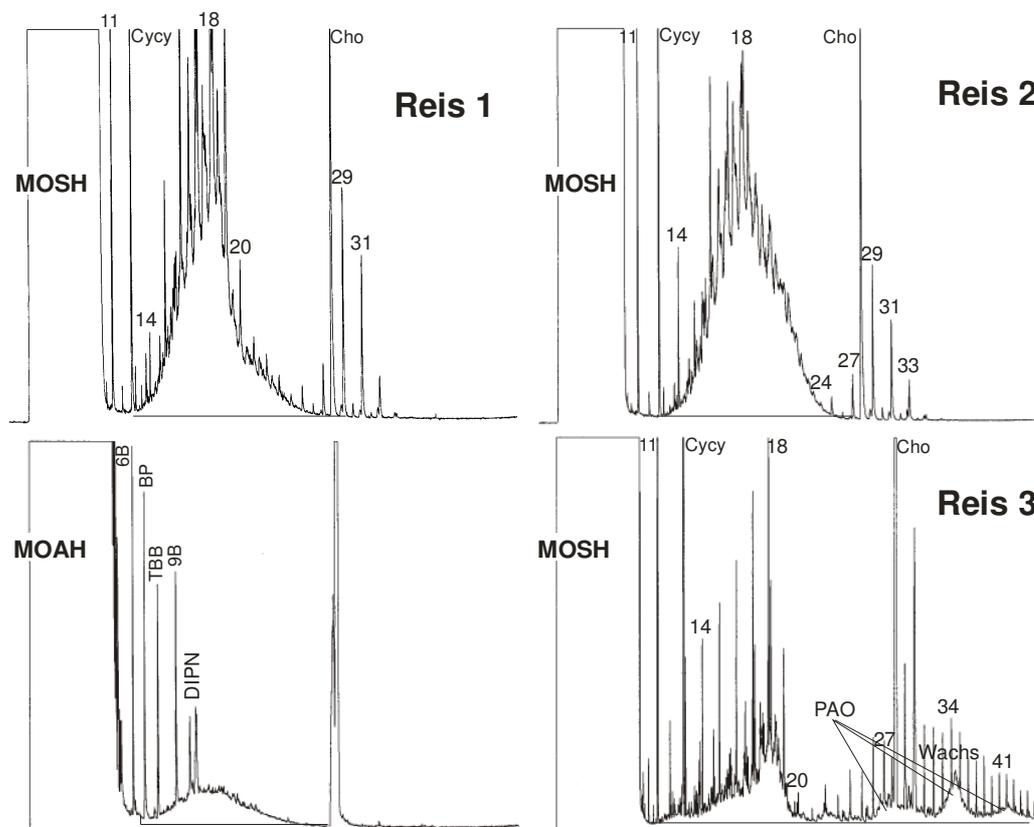


Abbildung 28. MOSH und MOAH (nur für Reis 1) in drei direkt in Schachteln verpackten Reisproben.

In der darunter abgebildeten MOAH-Fraktion aus Reis 1 zeigt sich ein breiter Hügel praktisch ohne aufsitzende Signale: Neben den internen Standards sind nur noch die DIPN zu sehen. Der MOAH Gehalt entsprach 4,1 mg/kg Reis. Die MOAH stammten wohl überwiegend aus dem Recyclingkarton, denn ihre Molekularmassenverteilung entspricht eher dem Sockel der MOSH als jener des Druckfarbenöls. Zudem liegt der MOAH-Gehalt im beobachteten Mineralöl mit 12,7 % unter den für Recyclingkarton typischen 17-20 %, was auf ein aromatenarmes Druckfarbenöl hinweist.

Im Reis 2 (500 g Packung in Recyclingkarton) ist eine breite MOSH-Verteilung zu beobachten, die auf eine entsprechende Verteilung im Karton hinweist. Tatsächlich ergab die Analyse des Kartons eine typische Verteilung für Recyclingkarton ohne namhaften Beitrag aus der Druckfarbe. Dieser Reis enthielt 34 mg/kg MOSH und 5,8 mg/kg MOAH, was für einen Übergang aus Recyclingkarton einen hohen Wert darstellt.

Reis 3 stammte aus einer Frischfaserschachtel mit mineralöhlhaltiger Druckfarbe (ähnlich Abbildung 27). Darüber hinaus war die Probe durch Poly-alpha-Olefine (PAO) verunreinigt, die nicht in der Schachtel enthalten waren. Da sie auch nicht über die Gasphase auf den Reis übergegangen sein können, müssen sie sich schon vor der Verpackung im Reis befunden haben. Dasselbe gilt für die n-Alkane von C<sub>26</sub> bis über C<sub>45</sub> hinaus, die wahrscheinlich einem Wachs zuzuordnen sind. Auch die MOSH im Bereich von n-C<sub>11</sub> bis n-C<sub>14</sub> passen nicht zum Druckfarbenöl und könnten den Reis schon zuvor verunreinigt haben. Dieses Beispiel soll darauf hinweisen, dass nicht alles Mineralöl aus der Verpackung stammen muss, aber auch zeigen, dass die Molekularmassenverteilung oft charakteristisch genug ist, um die Kohlenwasserstoffe mit guter Sicherheit des Übergangs von Druckfarbenöl aus der Schachtel zuzuweisen.

#### 4.2.1.4 Schlussbemerkungen zu Reis

Reis ist einfach zu analysieren. Die Extraktion erfolgt in wenigen Stunden auch ohne die Körner zu zermahlen. Im Reis sind kaum störende Interferenzen zu beobachten, und die Proben können um einen Faktor 10 angereichert werden, ohne dass begleitende Lipide die Flüssigchromatographie überladen. Die Nachweisgrenze liegt entsprechend tief.

Andererseits ist für einige Typen von Reis der Rückschluss auf den Übergang aus Karton unsicher. Reis kann beispielsweise Mineralöl ähnlicher Zusammensetzung aus Jutesäcken enthalten. Dies betrifft vor allem asiatischen Reis, allen voran Basmati. Da auch das Batching oil der Jutesäcke über die Gasphase übergeht, ist die Zusammensetzung oft ähnlich [32]. Auch das Batching oil enthält MOAH (oft 25-30 %) und ist chromatographisch bestenfalls durch die Analyse der MOAH-Zusammensetzung mittels zweidimensionaler GC (GCxGC) vom Migrat aus Karton zu unterscheiden. Das Batching oil ist wenig raffiniert, während die Druckfarbenöle extrahiert und teilhydriert sind [4,33]. Die Unsicherheit über die Herkunft migrierten Mineralöls sollte durch Rückfrage beim Hersteller geklärt werden.

#### 4.2.2 Couscous

Das Couscous der Abbildung 29 war direkt in Recyclingkarton verpackt (1 kg in einer 45 g Schachtel). Die MOSH aus dem Karton zeigen einen deutlichen Beitrag von der Bedruckung, der bei n-C<sub>19/20</sub> abbricht. Die Messung im Lebensmittel ist wiederum weitgehend ungestört durch lebensmitteleigene Kohlenwasserstoffe und erreichte 10,5 mg/kg für den Bereich n-C<sub>16</sub> bis n-C<sub>24</sub>. Wie im Reis 1 der vorausgegangenen Abbildung 28 fügt sich an das übergegangene Druckfarbenöl ein flach absinkender Sockel von MOSH aus dem Recyclingkarton.

Die MOAH entsprechen 3,8 mg/kg (ohne Trennung bei n-C<sub>16</sub>). Die DIPN sind erwartungsgemäss gut erkennbar. Vom Couscous sind neben Squalen keine namhaften Interferenzen zu beobachten.

Das Couscous der Abbildung 29 ist dem Reis der Abbildung 28 ähnlich. Frischfaserkarton bedruckt mit mineralöhlhaltiger Farbe. Der MOSH-Gehalt <n-C<sub>16</sub> betrug 3,6 mg/kg, jener >n-C<sub>16</sub> 4,1 mg/kg, die MOAH-Konzentration 0,5 mg/kg. Der viel kleinere Peakhaufen zentriert auf n-C<sub>29</sub> könnte von einem Schmieröl stammen.

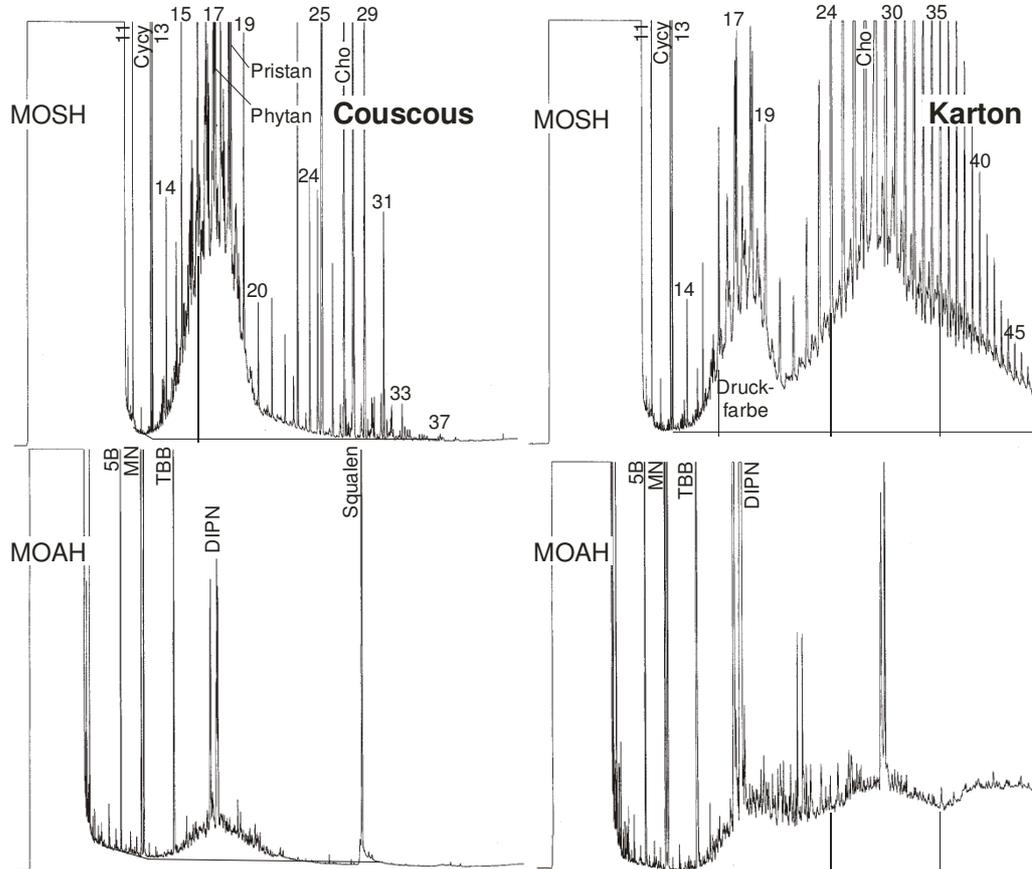


Abbildung 29. Couscous in Recyclingkarton bedruckt mit mineralöhlhaltiger Farbe.

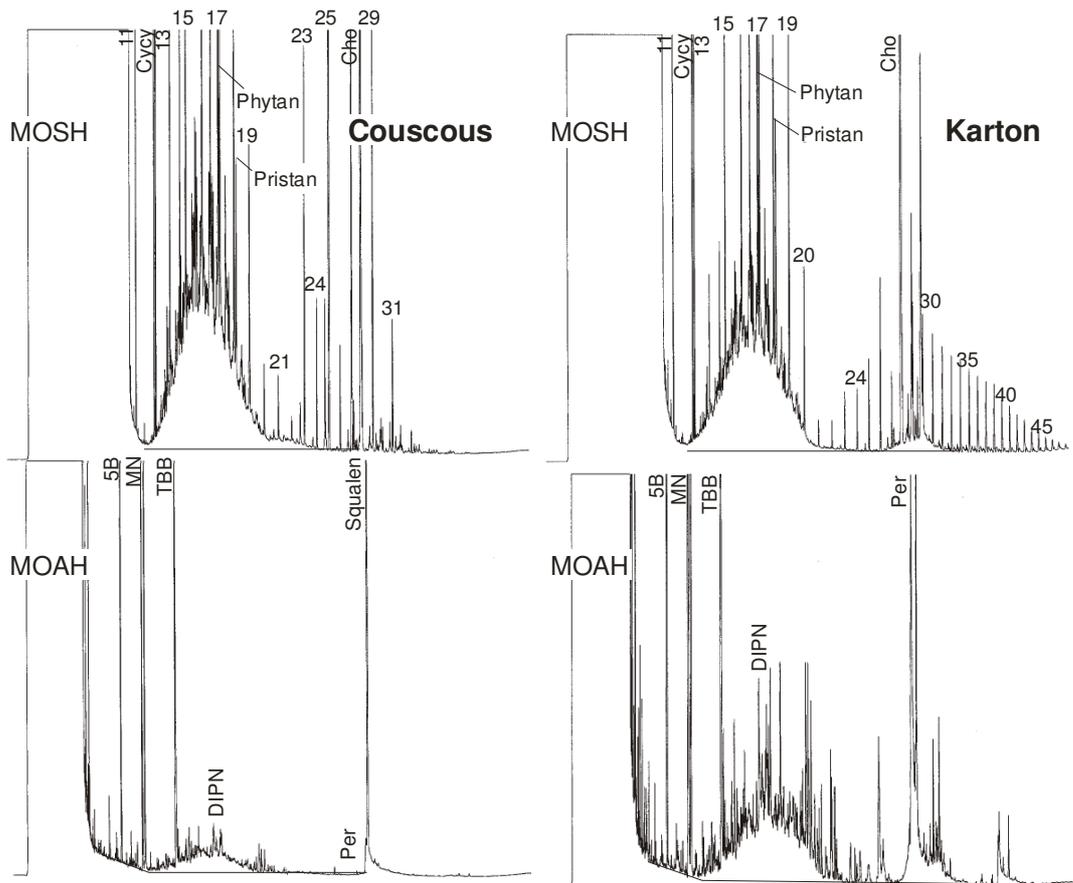


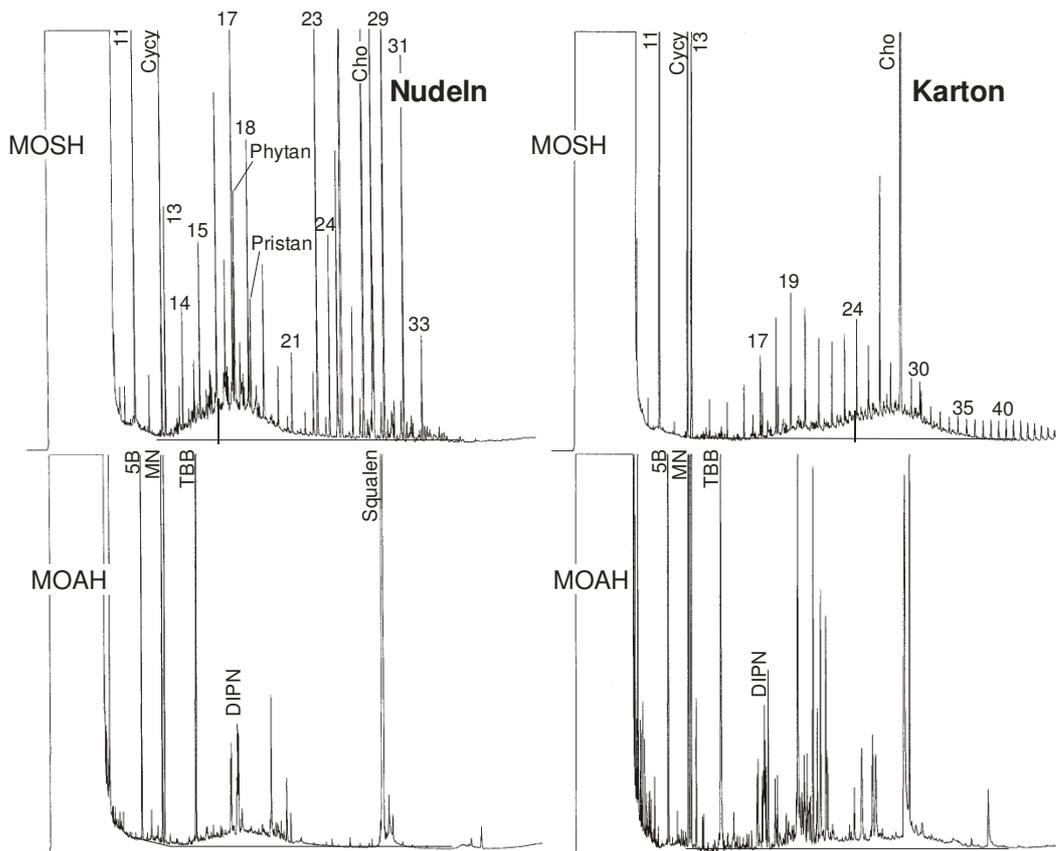
Abbildung 30. Couscous in mineralöhlaltig bedrucktem Frischfaserkarton.

#### 4.2.3 Teigwaren

Die meisten Kartonverpackungen für Teigwaren bestehen aus Recyclingmaterial, selten mit Innenbeutel. Die Chromatogramme unterscheiden sich meistens wenig von jenen, die oben für Reis oder Couscous gezeigt wurden. Auch Teigwaren enthalten selten relevante Mengen an lebensmitteleigenen Kohlenwasserstoffen, welche die Analyse stören könnten. Deswegen werden hier nur etwas speziellere Fälle gezeigt.

##### 4.2.3.1 Nudeln in Mischfaserkarton

Abbildung 31 stammt von Eiernudeln in einem Frischfaserkarton. Im Karton sind allerdings MOSH einer Zusammensetzung zu sehen, die für Recyclingkarton typisch ist, aber die Konzentration im Bereich zwischen  $n\text{-C}_{16}$  und  $n\text{-C}_{35}$  betrug nur gerade 45 mg/kg, also rund ein Zehntel des Gehalts in durchschnittlichem Recyclingkarton. Dies könnte durch eine Zumischung eines entsprechenden Anteils Recyclingmaterial zu den Frischfasern zu erklären sein, was offenbar einer gängigen Praxis entspricht und von bloßem Auge im Karton kaum festzustellen ist.



**Abbildung 31. Eiernudeln in Frischfaserkarton mit vermutetem geringem Recyclinganteil.**

In den Nudeln ist ein Peakhaufen zu sehen, wie er für den Übergang über die Gasphase typisch ist (1,6 mg/kg  $<n\text{-C}_{16}$ ; 4,2 mg/kg  $>n\text{-C}_{16}$ ). Zurückgerechnet vom Lebensmittel auf den Karton (500 g Nudeln in 65 g Karton) müsste der Karton ursprünglich zusätzliche 32 mg/kg MOSH im Bereich  $n\text{-C}_{16}$  bis  $n\text{-C}_{24}$  enthalten haben (zu den noch vorhandenen 26 mg/kg; er müsste also gut doppelt so groß gewesen sein).

Es ist schwierig, darüber eine Aussage zu machen, ob die Bedruckung einen Anteil zum Mineralöl beigesteuert haben könnte. Der Beitrag wäre niedrig, aber es werden auch Druckfarben mit nur 1-5 % Mineralöl verwendet (manchmal als "mineralölfrei" deklariert). Die Molekularmassenverteilung ist nicht typisch für Druckfarbenöle, könnte aber dadurch erklärt werden, dass das Mineralöl nur über Komponenten in die Druckfarben gelangte und dort andere Gemische zum Einsatz gelangen.

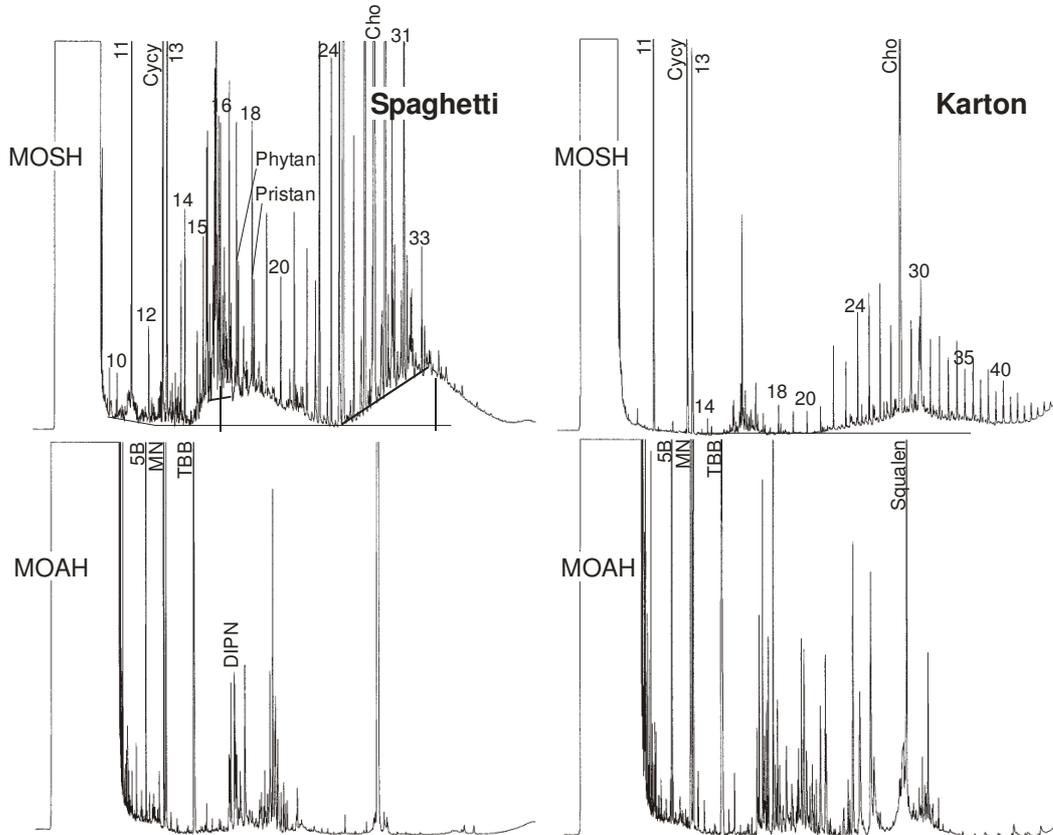
Der MOAH Gehalt in den Nudeln betrug 1,1 mg/kg und die Massenverteilung stimmt mit jener der MOSH überein. Eine namhafte Menge DIPN verweist auf Mineralöl aus Recyclingkarton. Die MOAH-Fraktion aus dem Karton zeigt vor allem, dass bei der vorliegenden relativ geringen Konzentration der MOAH (etwa 12 mg/kg bis  $n\text{-C}_{35}$ ) die Holzkomponenten dominieren.

#### 4.2.3.2 Übergang aus Umkarton?

Abbildung 32 stammt von in Frischfaserkarton verpackten Eierspaghetti und illustriert mögliche Schwierigkeiten in der Interpretation von Chromatogrammen. Die MOSH-Fraktion aus diesen Spaghetti dürfte drei Mineralöle enthalten haben.

Immer wieder finden sich in Lebensmitteln scheinbar fast aller Arten geringe Mengen flüchtiger Gemische im Bereich von  $n\text{-C}_{10}$  bis  $n\text{-C}_{14}$ , die möglicherweise

als Reinigungsmittel eingesetzt werden. Hier lag die Konzentration bei etwa 0,3 mg/kg. Das MOAH-Chromatogramm lässt keine Aussage zu, ob das Gemisch auch MOAH enthielt (bei 20 % MOAH wäre eine Konzentration von 0,07 mg/kg zu erwarten gewesen). In anderen Fällen wurde aber nachgewiesen, dass es sich um MOAH-freie Öle handelte.



**Abbildung 32. Spaghetti in Frischfaserkarton**

Der nachfolgende Peakhaufen zwischen  $n\text{-C}_{15}$  und  $n\text{-C}_{23}$  liegt im Bereich der Öle aus Druckfarben. Er endet bei  $n\text{-C}_{24}$ , was den Erwartungen für eine Gasphasenübertragung entspricht. Pristan und Phytan bestätigen Öl mineralischer Herkunft. Die aufsitzenden Signale zwischen  $n\text{-C}_{15}$  und  $n\text{-C}_{16}$  dürften allerdings nicht aus Mineralöl stammen. Nach deren Abzug wurde eine MOSH Konzentration von 1,7 mg/kg gemessen, wovon 1,2 mg/kg  $>n\text{-C}_{16}$ .

Im Karton ist nur wenig vom Migrat ins Lebensmittel zu sehen. Das Gemisch im Bereich von  $n\text{-C}_{10}$  bis  $n\text{-C}_{14}$  fehlt. Der Peakhaufen zwischen  $n\text{-C}_{15}$  und  $n\text{-C}_{17}$  entspricht einer Konzentration von nur 5 mg/kg und ist in der Zusammensetzung nicht typisch für Druckfarbenöle. Er stimmt schon eher mit der in den Spaghetti beobachteten aufsitzenden Gruppe überein, die als den MOSH nicht zugehörig interpretiert wurde. Der Übergang der MOSH im Bereich von  $n\text{-C}_{15}$  bis  $n\text{-C}_{23}$  in die Spaghetti müsste also fast vollständig gewesen sein, was eher unwahrscheinlich ist und vermuten lässt, dass sich diese MOSH ebenfalls bereits vor der Verpackung in den Spaghetti befanden.

In den Spaghetti ist allerdings eine namhafte Menge von DIPN zu sehen (0,2 mg/kg), die weder zu Frischfaserkarton passen, noch im MOAH-Chromatogramm des Kartons in entsprechender Menge zu beobachten sind. Die Spaghetti müssen also im Kontakt mit anderem Recyclingkarton gestanden haben. Übergänge aus dem Umkarton, ähnlich dem in [34] detailliert beschriebenen Fall, wäre eine mögliche Erklärung. Dort wurde für Eierteigwaren ein Übergang aus dem Umkarton (aus Wellpappe) von 6,1 mg/kg MOSH innerhalb 65 Tagen nachgewiesen.

Schließlich wurden in den Spaghetti hochmolekulare MOSH zentriert auf n-C<sub>33</sub> gefunden, die nicht von entsprechenden MOAH begleitet waren, also einem „food grade“ Öl entsprachen, das möglicherweise aus der Produktion stammte. Die Konzentration der Anteile <n-C<sub>35</sub> (nach Abzug aller aufsitzender Signale) betrug 17 mg/kg.

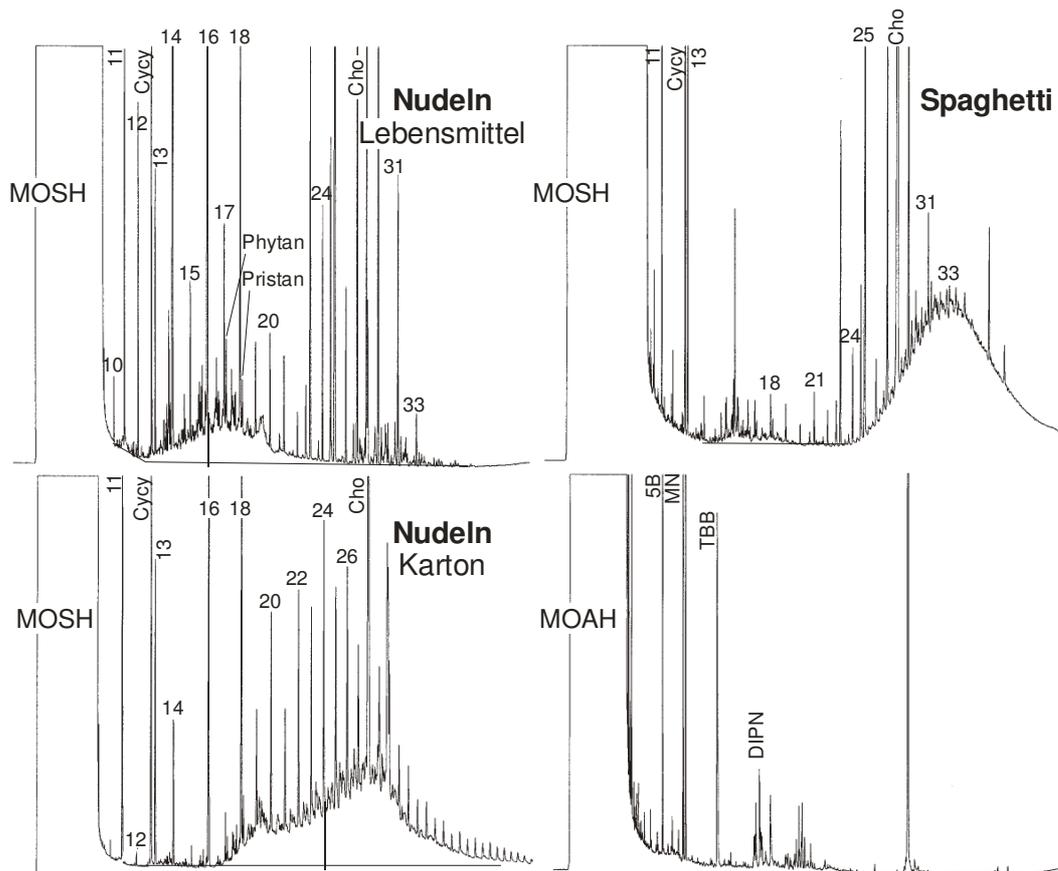
Neben dem Peakhaufen zwischen n-C<sub>15</sub> und n-C<sub>17</sub> enthielt der Karton etwas Wachs und eine breite Mischung MOSH aus wahrscheinlich mehreren Mineralölprodukten unbekannter Art (Konzentration n-C<sub>20</sub> bis n-C<sub>35</sub>: 42 mg/kg), ähnlich dem in Abbildung 33 gezeigten Karton. Denkbar ist, dass der Karton wiederum einen kleineren Anteil (ca. 10 %) an Recyclingfasern enthielt. Die MOAH-Chromatogramme der Spaghetti und des Kartons zeigen vor allem Verbindungen direkt oder indirekt aus Holz.

#### 4.2.3.3 POSH und andere Mineralölquellen

Abbildung 33 zeigt Chromatogramme von zwei verschiedenen Eierteigwaren. Die Nudeln (links) befanden sich in einem Karton aus einem Gemisch von Recyclingmaterial und Frischfasern. Das MOSH-Chromatogramm des Kartons (unten) zeigte eine Massenverteilung typisch für Recyclingkarton ohne Hinweis auf Mineralöl aus der Bedruckung, aber der Gehalt MOSH zwischen n-C<sub>16</sub> und n-C<sub>24</sub> betrug nur 80 mg/kg und jener zwischen n-C<sub>24</sub> und n-C<sub>35</sub> 130 mg/kg, was einem Recyclinganteil von 25-50 % entsprechen könnte.

Die Nudeln enthielten 4,1 mg/kg MOSH <n-C<sub>16</sub> und 5,5 mg/kg >n-C<sub>16</sub>, die zuerst einmal für Mineralöl typisch erscheinen, auch mit Phytan und Pristan. Daneben sind aber auch stark dominierende geradzahlige n-Alkane C<sub>10</sub> bis C<sub>18</sub> zu sehen, die auf POSH vom Polyethylen-Typ schließen lassen. Die Packung enthielt tatsächlich ein großflächiges Fenster, doch dieses bestand aus Polypropylen, wie beidseitiges FT-IR zeigte, und konnte damit nicht die Quelle dieser POSH sein. Im Kartonextrakt sind die geradzahligen n-Alkane ebenfalls zu sehen. Sie reichen bis etwa n-C<sub>26</sub>, verlieren sich dann aber in den n-Alkanen der Wachse, was vermuten lässt, dass sie nicht aus dem Karton stammen, sondern aus anderer Quelle dorthin migriert sind.

Für die Herkunft der Polyethylen-POSH konnte keine sichere Erklärung gefunden werden. Eine Möglichkeit wäre, dass die Packungen auf der Palette von einer Polyethylenfolie zusammengehalten worden waren. Der enge Kontakt bewirkte einen Übergang bis n-C<sub>26</sub> in den Karton, aber nur bis n-C<sub>20</sub> in die Nudeln.



**Abbildung 33. Chromatogramme von zwei Eierteigwaren, links Nudeln mit POSH (Lebensmittel und Faltschachtel), rechts Spaghetti (MOSH und MOAH aus dem Lebensmittel) mit einem hochmolekularen, aromatenfreien Mineralöl.**

Auf der rechten Seite der Abbildung 35 sind die MOSH und MOAH-Chromatogramme des (nicht angereicherten) Extrakts aus Spaghetti zu sehen, die in einem Frischfaserkarton verpackt waren. Die Spaghetti enthielten 0,8 mg/kg migrierte MOSH im Bereich zwischen  $n\text{-C}_{16}$  und  $n\text{-C}_{20}$ . Im Karton war kaum etwas davon zu sehen. Die namhaften Signale der DIPN in der MOAH-Fraktion lassen vermuten, dass das Mineralöl wieder aus dem Umkarton stammte.

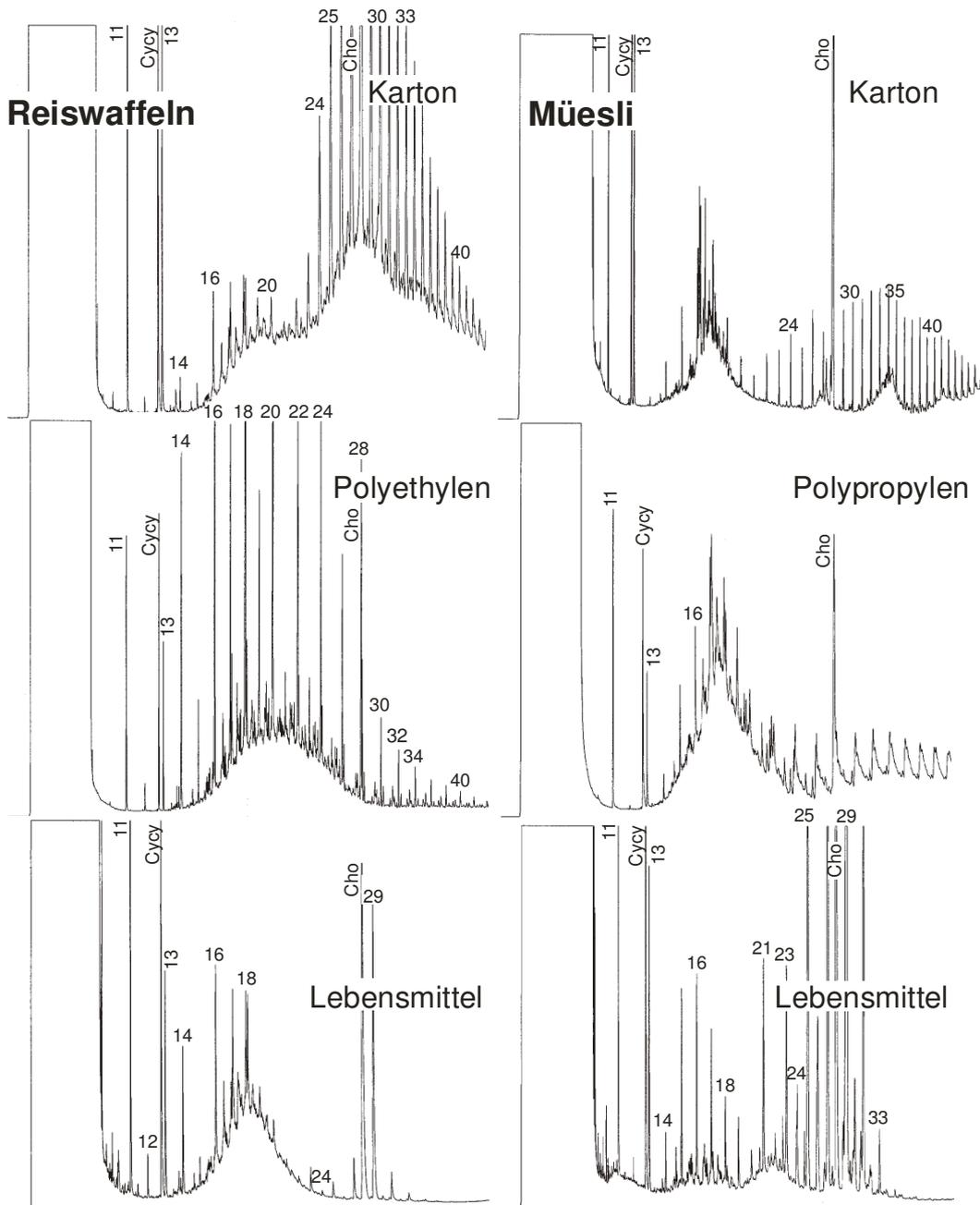
Später wurde ein aromatenfreies Mineralöl eluiert, das nicht migriert sein kann. Es ist auf  $n\text{-C}_{33}$  zentriert und enthält kaum Anteile unter  $n\text{-C}_{25}$ , entspricht also annähernd einem Paraffinöl der Klasse I gemäß JECFA, das mit einem hohen ADI (10 mg/kg KG) bewertet ist.

#### 4.2.4 Durchgang durch einen Kunststoffinnenbeutel

Die linken Chromatogramme in Abbildung 34 stammen von Schokoreiswaffeln, die ca. 1,5 Jahre lang in einem Innenbeutel vermutlich aus Polyethylen und einer Schachtel aus Recyclingkarton verpackt waren. Der Karton lieferte ein MOSH-Chromatogramm typischer Art (oben links) und enthielt noch 120 mg/kg MOSH  $<n\text{-C}_{24}$ .

Der Kunststoff saugte die flüchtigeren MOSH förmlich auf, wo sie eine Konzentration von etwa 1600 mg/kg erreichten. Für dieses Chromatogramm wurde von einem verdünnten Extrakt nur 20  $\mu\text{l}$  eingespritzt. Die Integration schloss die aufsitzenden Signale aus, die ungefähr dem POSH-Anteil entsprochen haben dürften. Diese hohe Konzentration erklärt sich durch die hohe Affinität der MOSH

zu Polyolefinen. Wohl auch durch die relative lange Lagerung bedingt, reichten die migrierten MOSH bis n-C<sub>28</sub> hinauf.



**Abbildung 34. Durchgang durch Kunststoffinnenbeutel: MOSH/POSH Fraktionen.**

Vor allem von den flüchtigeren MOSH, aber auch von den POSH ging ein Teil weiter auf das Lebensmittel über (14 mg/kg >n-C<sub>16</sub>). Die Polyolefine haben wohl eine stärkere Affinität für MOSH als die Lebensmittel, aber das einseitige Mengenverhältnis bewirkt, dass die Hauptmenge schliesslich trotz ungünstigem Verteilungsgleichgewicht im Lebensmittel endet. Dabei ist typisch, dass der Molekularmassenbereich auf etwa n-C<sub>23</sub> beschränkt blieb. Der verlangsamte Übergang und die hohe Affinität des Polyolefins gegenüber MOSH wirken sich vor allem auf die hochmolekularen Anteile aus.

Das Müsli (rechte Chromatogramme) war in Frischfaserkarton und einem Innenbeutel verpackt, der gemäß den extrahierten POSH zumindest dominierend aus Polypropylen bestand. Der Karton war vermutlich mit etwas mineralölhaltiger

Farbe bedruckt. Zudem enthielt er im spät eluierten Bereich PAOs. Vom Druckfarbenöl migrierte ein großer Teil in den Innenbeutel (1800 mg/kg). Der Übergang ins Müesli blieb bescheiden (1,2 mg/kg für den Bereich n-C<sub>14</sub> bis n-C<sub>19</sub>). Das Polypropylen war zwar keine dichte Barriere, bremste einen Übergang aber stark.

Auffällig ist die unterschiedliche Zusammensetzung der MOSH in den drei Kompartimenten. Im Lebensmittel sind die n-Alkane dominierend. Da die Verteilung geradzahlig/ungeradzahlig homogen ist, müssen sie aus Mineralöl stammen, also aus dem Karton migriert sein, wo sie nur noch unbedeutend sind. Die n-Alkane sind also bevorzugt ins den Kunststoff migriert und von diesem wieder abgegeben worden.

Das Müsli enthielt auch MOSH im Bereich zwischen n-C<sub>19</sub> und n-C<sub>25</sub> (1,1 mg/kg) aus einer Verunreinigung, die wohl schon vor der Verpackung erfolgte. Das entsprechende Öl ist hier klar abgetrennt, würde aber bei einer höheren Belastung mit migrierten MOSH wahrscheinlich mit den letzteren zusammen integriert und als Migrat interpretiert. In Getreideprodukten (z.B. Teigwaren) ist diese Verunreinigung immer wieder einmal festgestellt worden mit typischen Konzentrationen von einigen wenigen mg/kg.

## **5 Betrachtungen zur Messung in niedrigen Konzentrationsbereichen**

### **5.1 Messunsicherheit**

Bei sorgfältiger Verifizierung der Resultate ist die methodische Messunsicherheit klein. Die Extraktion ist praktisch vollständig, die Verluste flüchtiger Anteile vernachlässigbar, und die Zugabe der internen Standards sowie die on-line HPLC-GC-FID tragen nur wenig Messunsicherheit bei (wiederholte on-line HPLC-GC Analysen ergeben Chromatogramme mit absoluten Flächen, die meistens weniger als 5 % voneinander abweichen). Für die manuelle Methode ist die Unsicherheit größer. Hauptursachen sind die oben gelisteten Probleme, wie Verluste flüchtiger Komponenten und des internen Standards. Die dadurch bedingte Unsicherheit hängt von der Sorgfalt des Analytikers ab.

Der überwiegende Teil der Messunsicherheit dürfte mit der Integration des Mineralölpeakhaufens verbunden sein. Diese Unsicherheit ist für jede Probe verschieden. Sie steigt mit sinkender Menge eingespritzten Mineralöls und mit breiteren Peakhaufen. Sie hängt auch von der Verlässlichkeit der Basislinie ab. Eine horizontale Basislinie erleichtert die Integration sehr.

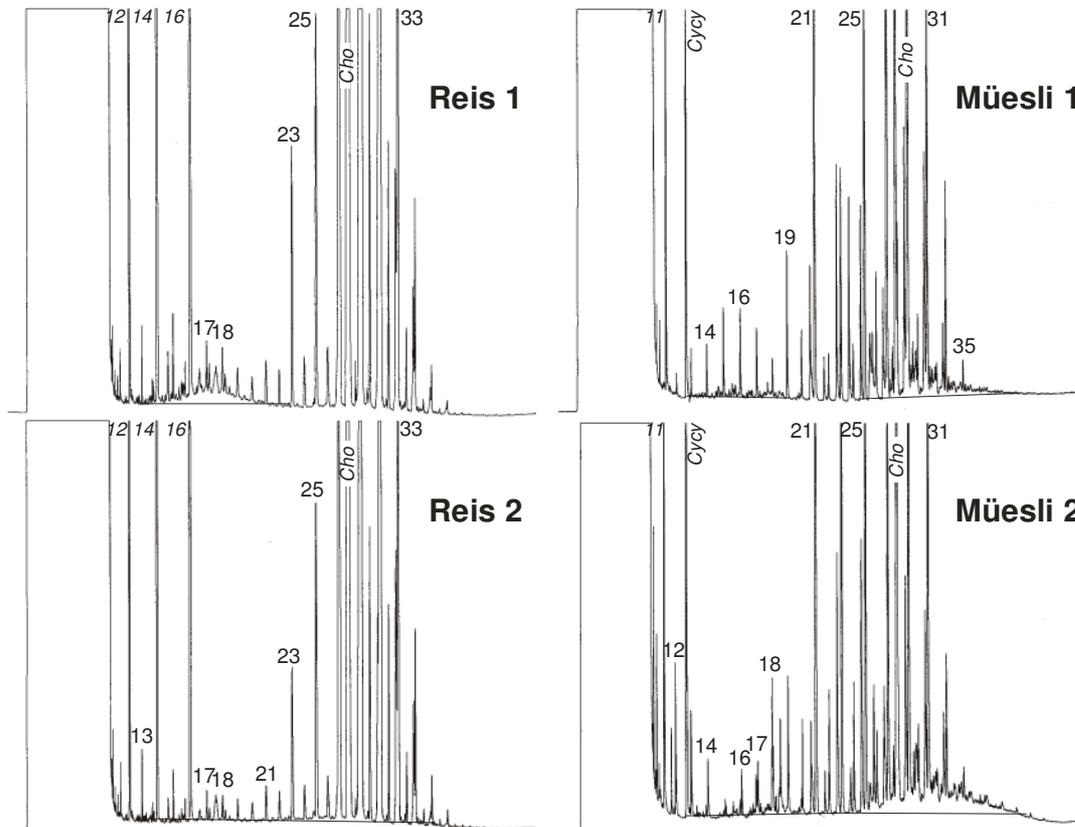
### **5.2 Nachweisgrenze**

#### **5.2.1 Lebensmittel geringen Fettgehalts**

Die Nachweisgrenze kann nicht aus einem Signal/Rausch-Verhältnis abgeleitet werden. Sie hängt von der Probe (Verteilung der Kohlenwasserstoffe, Interferenzen durch Komponenten des Lebensmittels) und der Messunsicherheit ab. Sie soll an Hand einiger konkreter Beispiele aus der on-line HPLC-GC spezifiziert werden.

Abbildung 35 zeigt MOSH-Chromatogramme je zweier Reis- und Müsliproben. Die Chromatogramme der beiden Reisproben wurden nach 5-facher Anreicherung erhalten. Die internen Standards entsprachen einer früheren Mischung (n-Alkane 12, 14 und 16), die sich wegen der Interferenzen der POSH als ungeeignet erwies. n-C<sub>17</sub> und n-C<sub>18</sub> begleitet von Pristan und Phytan, sowie die n-Alkane einigermaßen homogener Größe bis n-C<sub>20</sub> verweisen auf MOSH. Die Integration ergab einen Gehalt von 0,22 mg/kg (0,16 mg/kg davon über n-C<sub>16</sub>).

Im Reis 2 sind die Paare n-C<sub>17</sub>/Pristan und n-C<sub>18</sub>/Phytan wiederum deutlich zu sehen. Wenn gemäß eingezeichneter Basislinie von n-C<sub>13</sub> bis (aber ohne) n-C<sub>21</sub> integriert wird und die internen Standards sowie das breite Signal zwischen n-C<sub>17</sub> und n-C<sub>18</sub> abgezählt werden, ergibt sich ein Gehalt migrierter MOSH von 0,05 mg/kg. Im Bereich von n-C<sub>21</sub> bis n-C<sub>35</sub> ergab die Integration gemäß eingezeichneter Basislinie und ohne die aufsitzenden Signale eine Konzentration von 0,15 mg/kg.



**Abbildung 35. MOSH-Chromatogramme von Lebensmitteln zur Betrachtung von Messungen in niedrigen Konzentrationsbereichen.**

Die Anreicherung eines 1:1 Lebensmittelextrakts (20 g Lebensmittel/20 ml Lösungsmittel) um einen Faktor 5 setzt einen Fettgehalt von maximal 4 % voraus. Bei Reis, Weizen- und Maisgrieß wäre auch ein Faktor 10 möglich, doch bei Eier Teigwaren können die durch den Fettgehalt bestimmten Grenzen schon bei 5-facher Anreicherung erreicht werden. Für alle diese Proben kann also eine Nachweisgrenze für Migrante über die Gasphase (Kohlenwasserstoffe von ungefähr n-C<sub>12</sub> bis n-C<sub>25</sub>) von 0,1 mg/kg routinemässig erreicht werden. Dasselbe gilt auch für die MOAH. Die Nachweisgrenze für Mineralöle höherer Molekularmasse (im Bereich der endogenen Kohlenwasserstoffe) liegt aber höher, jedenfalls wenn die MOSH und MOAH nicht vorgängig angereichert werden.

### 5.2.2 Lebensmittel mittleren Fettgehalts

Die beschriebenen Methoden sind für Lebensmittel mit bis zu 20 % Fett geeignet, doch die 1:1 Extrakte dürfen nicht mehr angereichert werden (bzw. nur um einen Faktor, der einen Fettgehalt im Extrakt von 20 % nicht überschreitet).

Für die beiden Müesli in Abbildung 35 sind die MOSH-Chromatogramme nicht angereicherter Extrakte abgebildet. Müesli 1 befand sich in einer Kartonschachtel mit Kunststoff-Innenbeutel; der deklarierte Fettgehalt betrug 18 %. Mit der eingezeichneten Basislinie im früh eluierten Bereich und der Integration von n-C<sub>13</sub> bis

n-C<sub>20</sub> unter Abzug des n-C<sub>19</sub> ergab sich ein MOSH-Gehalt von 0,6 mg/kg. Die n-Alkane homogen verteilter Größe sowie das Muster der dazwischen eluierten Isoalkane sichern das Mineralöl ab, auch wenn Pristan und Phytan fehlen. Von POSH sind keine Signale sichtbar. Bei einer noch knapp vertretbaren extrem hoch bzw. tief gelegten Basislinie wurden Werte von 0,4 oder 0,9 mg/kg berechnet, d.h. die dadurch bedingte Unsicherheit liegt im Bereich von 40 %.

Im Bereich der n-Alkane C<sub>25</sub> bis etwa C<sub>40</sub> ist ebenfalls ein Mineralöl zu vermuten. Unter Abzug der aufsitzenden Signale, die wohl alle zum Lebensmittel gehören, könnte ein MOSH-Gehalt von 2 mg/kg abgeleitet werden. Dieser Wert mag aber auch bei 1 oder 3 mg/kg liegen, je nach angenommener Lage der Basislinie und der oberen Konturlinie gegen die Lebensmittelkomponenten, d.h. eine quantitative Angabe ist nicht wirklich möglich.

Für das Müsli 2 (in einer Schachtel aus Recyclingkarton mit Innenbeutel aus Polyethylen und Polypropylen) werden im früh eluierten Teil des Chromatogramms auffallend dominierende Signale für n-C<sub>12</sub>, n-C<sub>14</sub> und n-C<sub>16</sub> beobachtet, welche auf POSH aus Polyethylen hinweisen. Aber auch n-C<sub>17</sub> ist mit einem deutlichen Signal für Pristan zu sehen, was MOSH anzeigt. Das mit Phytan vergesellschaftete n-C<sub>18</sub> dürfte aus MOSH und POSH stammen. Das Verhältnis n-C<sub>17</sub>/Pristan bzw. n-C<sub>18</sub>/Phytan ist zwar in verschiedenen Mineralölen variabel, aber für ein gegebenes Mineralöl ungefähr gleich, d.h. etwa die Hälfte des n-C<sub>18</sub> dürfte von den POSH stammen. Daraus lässt sich ein Übergang für die Summe von MOSH und POSH ableiten. Nach Abzug der Signale von Cycy sowie der Komponente nach n-C<sub>18</sub> ergab die Integration über der eingezeichneten Basislinie von n-C<sub>12</sub> bis n-C<sub>20</sub> eine Konzentration von 0,8 mg/kg. Die Integration unter Annahme noch knapp vertretbar hohen und tiefen Basislinien ergab 0,6 bzw. 1,1 mg/kg. Dieses Resultat kann nicht nach MOSH und POSH differenziert werden; wahrscheinlich dominierten die POSH.

Im Bereich von n-C<sub>25</sub> bis etwa n-C<sub>42</sub> befindet sich ein weiterer Peakhaufen. Wenn die tiefsten vorliegenden Einschnitte für die Konturlinie gegen die Lebensmittelinhaltsstoffe verwendet werden, ergibt sich ein MOSH-Gehalt von 3,2 mg/kg. Werden aber diese Einschnitte nur wenig vertieft (Annahme einer unvollständigen Trennung), könnte die Konzentration auch nur 2,2 mg/kg betragen haben. Die Unsicherheit ist also asymmetrisch verteilt.

### 5.2.3 Fette und Öle

Von Lebensmitteln mit bis zu 20 % Fett kann ein Aliquot von 1 g auf die Trennsäule gebracht werden, von Fetten und Ölen allerdings nur 200 mg (was einer Verdünnung zu 20 % Lösungen entspricht). Damit liegen die Nachweisgrenzen nochmals ca. 5 Mal höher, nämlich im Bereich von 3-5 mg/kg.

Hier ist allerdings hinzuzufügen, dass die meisten Speiseöle und -fette eine signifikante Hintergrundbelastung (ca. 5 mg/kg Mineralöle höherer Molekularmasse) enthalten und auch die pflanzlichen n-Alkane entfernt werden müssen, um eine niedrigere Konzentration sicher messen zu können.

### 5.2.4 Weitere Anreicherung

Vorgängige Rekonzentrierung erlaubt zwar Gehalte im Bereich von 0,15 mg/kg routinemässig zu messen, ist aber für die beschriebene Methode für Proben mit namhaftem Fettanteil (über ca. 4 %) nur beschränkt oder gar nicht möglich.

Für die routinemäßige direkte Analytik von Lebensmitteln mit einem Fettgehalt im Bereich von 20 % mit Gehalten unterhalb von 1 mg MOSH /kg wäre eine rund dreimal höhere Kapazität der Vortrennung für Lipide nötig. Die Voraussetzung dafür wäre eine entsprechende Vergrößerung der Packungen, damit dreimal

größere Aliquots auf die Kartuschen aufgetragen oder in die HPLC eingespritzt werden können.

Für eine routinemäßige Kontrolle von Lebensmitteln im Bereich  $< 0,15$  mg MOAH/kg müsste die Kapazität rund 10 Mal höher sein. Eine entsprechende Vergrößerung der HPLC-Trennsäule für das on-line Verfahren wäre aber schwierig umzusetzen. Eine 25 cm x 4.6 mm Trennsäule hätte zwar eine 13 Mal höhere Kapazität, würde aber auch den Transfer eines viel größeren Fraktionsvolumen in die GC bedingen. Für die manuelle Methode würden statt den Kartuschen eigentliche Säulen benötigt, mit entsprechend größerem Verbrauch an Packungsmaterialien und Lösungsmittel.

Zudem stellen sich schnell auch weitere Probleme ein:

1. Insbesondere in Fetten und Ölen, sowie Extrakten aus stark fetthaltigen Lebensmitteln überladen die lebensmitteleigenen Kohlenwasserstoffe die GC oft dermaßen, dass die Trennung zuerst im Bereich dieser endogenen Kohlenwasserstoffe, dann aber bald auch im Bereich der über die Gasphase migrierenden MOSH zusammenbricht. Diese Kohlenwasserstoffe müssten also vorgängig entfernt werden, wofür die Vortrennung mit aktiviertem Aluminiumoxid entwickelt wurde (Kapitel 6.1).
2. Die MOAH im Bereich zwischen  $n-C_{23}$  und  $n-C_{45}$  werden oft massiv von Olefinen überlagert (Abbildung 17). Diese Olefine sind wiederum vor allem ein Problem bei der Analyse von Fetten und Ölen, sowie Extrakten aus stark fetthaltigen Lebensmitteln. Sie lassen sich durch Epoxydierung stark reduzieren, aber selbst dann ist eine Bestimmung von 0,15 mg MOAH/kg nicht in allen Lebensmitteln möglich.

Wie eingangs (Kapitel 2.6.4) beschrieben wurde, basieren sowohl die hier vorgestellte manuelle Methode wie auch die on-line HPLC-GC auf einem Kompromiss. Für die überwiegende Zahl der in Karton verpackten Lebensmittel ist eine vorgängige Anreicherung der Extrakte problemlos möglich. Zudem liegen heute die MOSH- und MOAH-Konzentrationen meistens wesentlich über den oben genannten Werten. Deswegen wurde einer Basismethode der Vorzug gegeben, ergänzt mit Methoden, die nur bei konkretem Bedarf angewandt werden.

## 6 Ergänzende Methoden

Die oben beschriebene Methode ist das Herzstück der Mineralölanalytik. Sie genügt aber nicht für alle Proben, entweder weil andere Komponenten die Analyse stören, oder weil die erwünschte Nachweisgrenze nicht erreicht wird. Für diese Fälle sind zusätzliche Werkzeuge entwickelt worden, die hier mit Verweis auf die Literatur nur kurz beschrieben werden.

### 6.1 Eliminierung der langkettigen n-Alkane

Natürlich in Lebensmitteln (vor allem Speiseölen) vorkommende n-Alkane können die Gaschromatogramme derart überladen, dass die MOSH nicht mehr zuverlässig nachweisbar sind: die Trennung zwischen den Signalen erreicht die Basislinie oder die obere Konturlinie der MOSH nicht mehr. In Grenzfällen kann das Problem mit geringeren Einspritzmengen und heruntergesetzter Abschwächung umgangen werden, doch meistens ist eine Eliminierung dieser n-Alkane erforderlich.

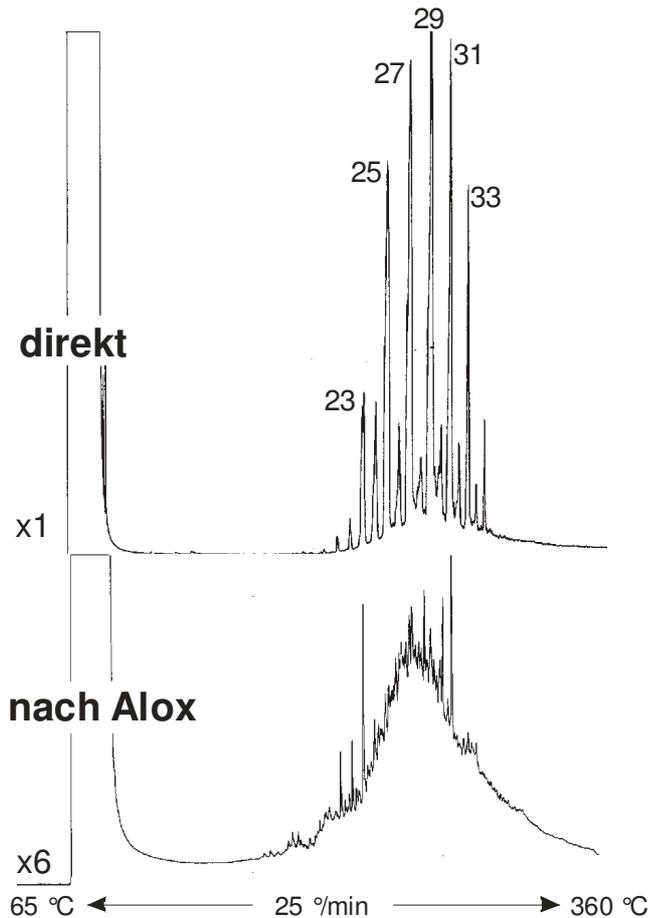
Langkettige n-Alkane erfahren auf aktiviertem (bei etwa 400 °C ausgeheiztem) Aluminiumoxid eine starke Retention, sofern mit Pentan oder Hexan eluiert wird (nicht aber mit Cyclohexan oder Isooktan) [35,36]. Der Mechanismus dieser Retention ist bisher nicht aufgeklärt worden.

Die Retention der n-Alkane auf aktiviertem Aluminiumoxid steigt ab ca. C<sub>20</sub> steil an (etwas abhängig von der Einspritzmenge und der Aktivierung); ab etwa n-C<sub>30</sub> erscheinen die n-Alkane überhaupt nicht mehr. Die große Mehrzahl der Isoalkane wird dagegen mit Durchbruch eluiert. Wenn nun also nur die Durchbruchfraktion weiter gezogen wird, werden die kürzerkettigen n-Alkane sowie annähernd alle verzweigten und cyclischen Alkane analysiert.

Die Methode ist nicht selektiv für die natürlich vorkommenden n-Alkane, bringt aber genau den erwünschten Effekt. n-Alkane mineralischen Ursprungs mit mehr als 20 Kohlenstoffatomen kommen praktisch nur in Wachsen in relevanten Mengen vor, die wiederum selten als Lebensmittelverunreinigung beobachtet werden. Die Methode ist auch nicht ganz selektiv für n-Alkane. Mit steigender Anzahl C-Atome werden auch steigende Mengen an gewissen verzweigten MOSH zurückgehalten. Bei C<sub>40</sub> kann etwa 20 % der MOSH verloren gehen. Wenn aber die toxikologisch relevanten MOSH nur bis n-C<sub>35</sub> reichen, ist auch das kein relevantes Problem.

Die Kapazität des aktivierten Aluminiumoxids für diese Retention ist gering (ca. 1 mg/10 g), was darauf hinweist, dass ein Nebeneffekt ausgenutzt wird. Die Kapazität reicht aber für die Anwendung aus.

Abbildung 36 zeigt als Beispiel ein Oliventresteröl (Sansa-Öl). Direkte HPLC-GC-FID zeigt einen unaufgelösten Peakhaufen unter den pflanzlichen n-Alkanen, wobei keine sichere Aussage möglich ist, ob die Probe MOSH enthält, da der unaufgelöste Anteil auf ungenügende Trennung der natürlichen Kohlenwasserstoffe zurückgehen könnte (die n-Alkane sind stark überladen). On-line HPLC-GC mit zweidimensionaler Vortrennung klärt die Situation: Auf Kieselgel wird die MOSH-Fraktion isoliert und auf einer nachfolgenden Aluminiumoxid-Trennsäule werden die langkettigen n-Alkane entfernt. Gleichzeitig wurde die Abschwächung um einen Faktor 6 reduziert.



**Abbildung 36. MOSH-Analyse eines Oliventresteröls (Sansa) direkt mittels normaler on-line HPLC-GC (oben) sowie nach on-line zweidimensionaler Vortrennung mittels Silikagel und Aluminiumoxid und 6 Mal reduzierter Abschwächung (unten; nach [38]).**

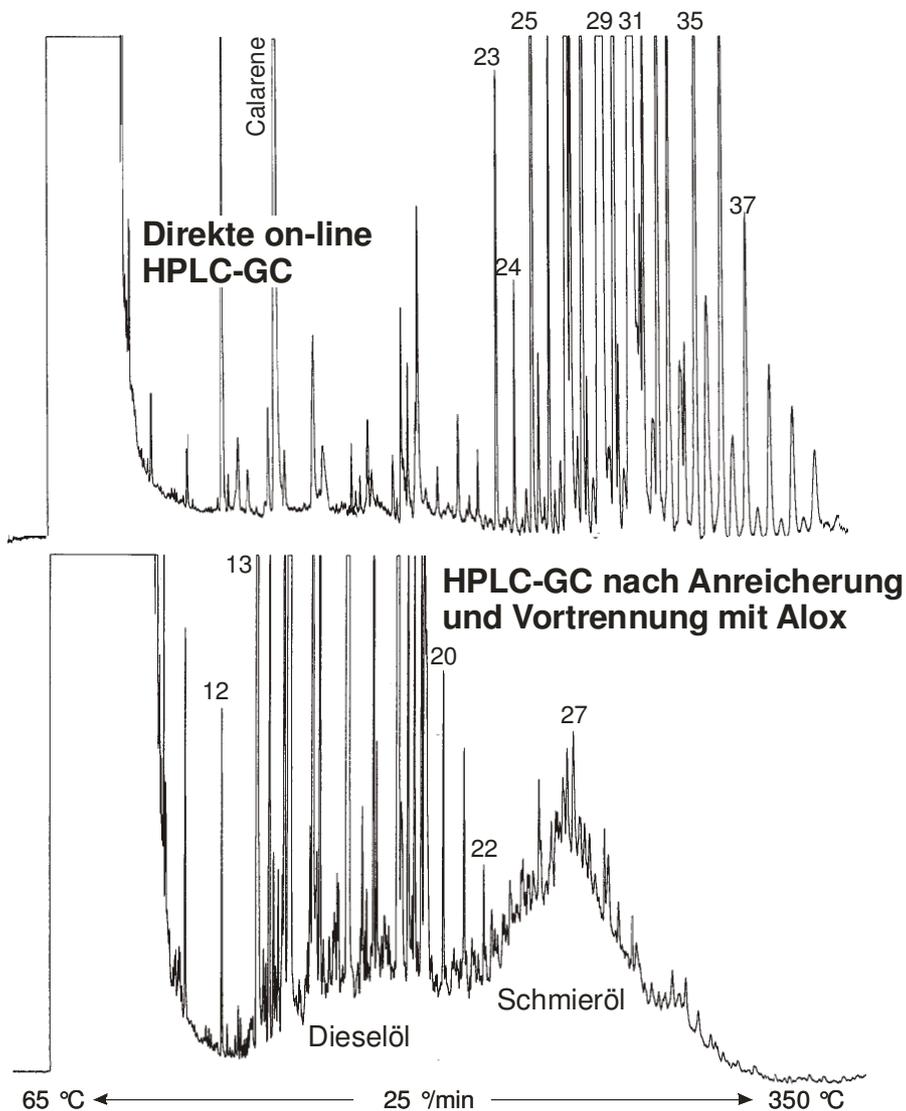
## 6.2 Anreicherung für MOSH

Für den empfindlicheren Nachweis von MOSH in Lebensmitteln mit rund 20 % Fett ist ein größeres Aliquot der Probe und für dieses eine größere Kapazität für die Retention der Lipide nötig, also eine größere Packung. Diese größere Packung wird nicht als Standardmethode vorgeschlagen, weil sie auch mit einem größeren Lösungsmittelverbrauch einhergeht, eher selten anzuwenden ist, und dann meistens auch die natürlichen n-Alkane eliminiert werden müssen. Wenn die hochmolekularen n-Alkane abgetrennt werden müssen, kann auch die MOAH-Analytik nicht mehr aus der gleichen Aufarbeitung erfolgen.

In [37] wird eine Methode beschrieben, die auf eine Kapazität von 1 g Speiseöl/-fett ausgelegt ist. Unter ein Bett von 6 g bei 400-600 °C aktiviertem Kieselgel wird ein Bett von 20 g bei 400 °C aktiviertem Aluminiumoxid eingefügt, das bis zu 2 mg langkettige n-Alkane eliminiert. Mit dieser Methode wurden Nachweisgrenzen von unter 0,1 mg/kg MOSH in Speiseölen erreicht, allerdings nur verlässlich mit on-line HPLC-GC für die Analyse, weil die Proben bei der Aufarbeitung allzu oft kontaminiert wurden [38].

Abbildung 37 zeigt die Wirkung an einem Sonnenblumenöl. Das obere Chromatogramm stammt von direkter on-line HPLC-GC-FID. Die endogenen Kohlenwasserstoffe überstellen das Chromatogramm derart, dass ein Nachweis von MOSH unmöglich ist. Zudem ist die Empfindlichkeit ausgereizt (geringe Abschwächung,

unruhige Basislinie). Das untere Chromatogramm zeigt die gleiche Probe nach Anreicherung und Eliminierung der langkettigen n-Alkane. Nun lässt sich für diese Probe eine Kontamination mit Diesel- oder Heizöl sowie mit Schmieröl nachweisen, mit einem totalen MOSH-Gehalt von 1,4 mg/kg.



**Abbildung 37.** Direkte on-line HPLC-GC-FID eines Sonnenblumenöls (oben) sowie nach off-line Anreicherung und Vortrennung an einer Kieselgel-Aluminiumoxid Trennsäule (unten), nach [40].

### 6.3 Epoxydierung

Natürlich in Lebensmitteln vorkommende Olefine können die MOAH-Analytik vor allem im Retentionsbereich der n-Alkane  $C_{27}$ - $C_{35}$  verunmöglichen. Dies betrifft vor allem Squalen und seine bei der Ölraffination gebildeten Isomerisierungsprodukte, Sterene und Carotinoide, also wiederum vor allem Fett- und Ölkomponenten. Beispiele wurden in Abbildung 17 gezeigt.

Die chromatographische Trennung von MOAH und Olefinen ist kein erfolgversprechender Weg, da sowohl die MOAH als auch die Olefine in der Flüssigchromatographie breite Elutionsfenster aufweisen. Deswegen wurde versucht, Olefine möglichst selektiv so zu derivatisieren, dass sie polarer werden und in der Vortrennung erst nach den MOAH eluiert werden. Epoxydierung mit einer Persäure erwies sich als ziemlich selektiv [10]. Dabei wird ausgenutzt, dass die Epoxydierung der meisten Olefine schneller verläuft als jene der Fettsäuren, und diese

wiederum schneller als für die Aromaten. Die Olefine werden mit einer Menge Persäure derivatisiert, die nur ca. 10 % des Verbrauchs der ungesättigten Fettsäuren entspricht. Die Fettsäuren reagieren mit dem Überschuss an Persäure weitgehend bevor die Aromaten angegriffen werden.

Die Epoxydierung wird am rohen Extrakt vor der Isolierung der MOSH und MOAH Fraktion durchgeführt. Fettarmen Proben wird etwas Speiseöl zugesetzt. Wegen besserer Selektivität wird zudem im Eisbad gekühlt.

Die Epoxydierung erfasst allerdings auch Aromaten mit Heteroatomen, wie die Thiophene, die vor allem in wenig raffinierten Mineralölen von Bedeutung sind. Je nach Mineralöl gehen deswegen zwischen 25 und 40 % der MOAH verloren.

Abbildung 38 zeigt die Wirkung für ein Rapsöl. Die direkt analysierte MOAH-Fraktion ist übersteuert von Olefinen und lässt keine MOAH-Analyse zu (oben). Die störenden Peaks werden durch vorgängige Epoxydierung praktisch vollständig eliminiert.

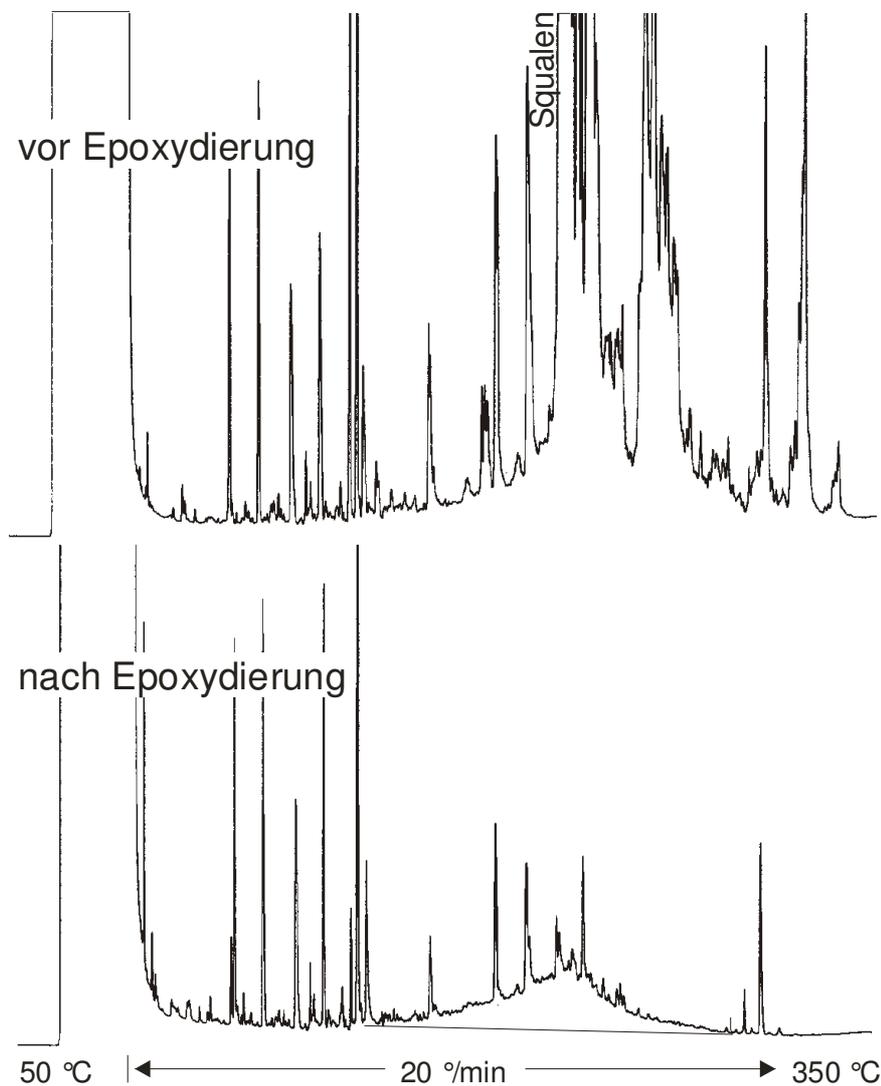


Abbildung 38. MOAH-Fraktion eines Rapsöls direkt aus on-line HPLC-GC-FID (oben), sowie nach vorgängiger Epoxydierung (unten).

#### 6.4 Anreicherung der MOAH

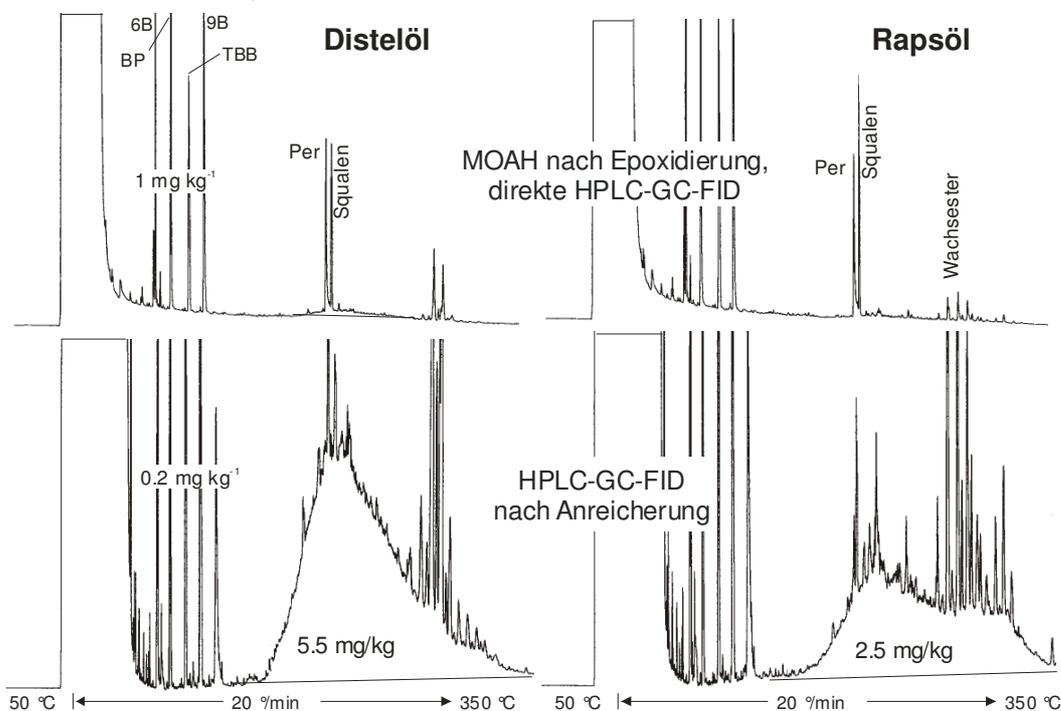
Die Erreichung einer Nachweisgrenze von 0,15 mg MOAH /kg für fetthaltige Proben oder Speiseöle nur durch den Einsatz wesentlich größerer Aliquots erreichbar, was eine Erhöhung der Kapazität zur Abtrennung der Lipide erfordert. Dies

wurde wiederum mittels Vortrennung erreicht, die in diesem Fall nur die Entfernung der Lipide bezweckt, also ohne aktiviertes Aluminiumoxid [10].

Wegen des stärkeren Eluenten (20 % Methylenechlorid/Hexan) ist die Kapazität von Kieselgel geringer. 12 g sind nötig, um 1 g Lipide zuverlässig abtrennen zu können. Diese Anreicherung verbessert die Nachweisgrenze für die on-line HPLC-GC um einen Faktor von etwa 50, was ausreicht, um 0,1 mg/kg messen zu können. Meistens muss die Anreicherung mit Epoxydierung kombiniert werden.

Abbildung 39 zeigt ein Beispiel für Speiseöle als ungünstigsten Fall. Die oberen Chromatogramme verdeutlichen, dass Epoxydierung zwar die Störsignale der Olefine ausgeräumt hat, aber die erforderliche Quantifizierungsgrenze für die MOAH nicht erreicht wird. Nach Anreicherung zeigten sich in den gleichen Ölen Gehalte von 5,5 und 2,5 mg/kg.

Im spät eluierten Bereich der Chromatogramme sind gesättigte Wachsester zu sehen. Diese weisen auf eine verminderte Retentionskraft der HPLC-Trennsäule (→ Spülung mit Methanol und MTBE) und hätten mit einer leicht verengten HPLC-Fraktion abgeschnitten werden können (beeinträchtigen die Analyse hier noch nicht namhaft).



**Abbildung 39.** Erniedrigung der Nachweisgrenze für die MOAH durch Anreicherung vor der HPLC-GC: Distelöl (links) und Rapsöl (rechts) nach Epoxydierung (adaptiert aus [10]).

### 6.5 Charakterisierung der MOAH

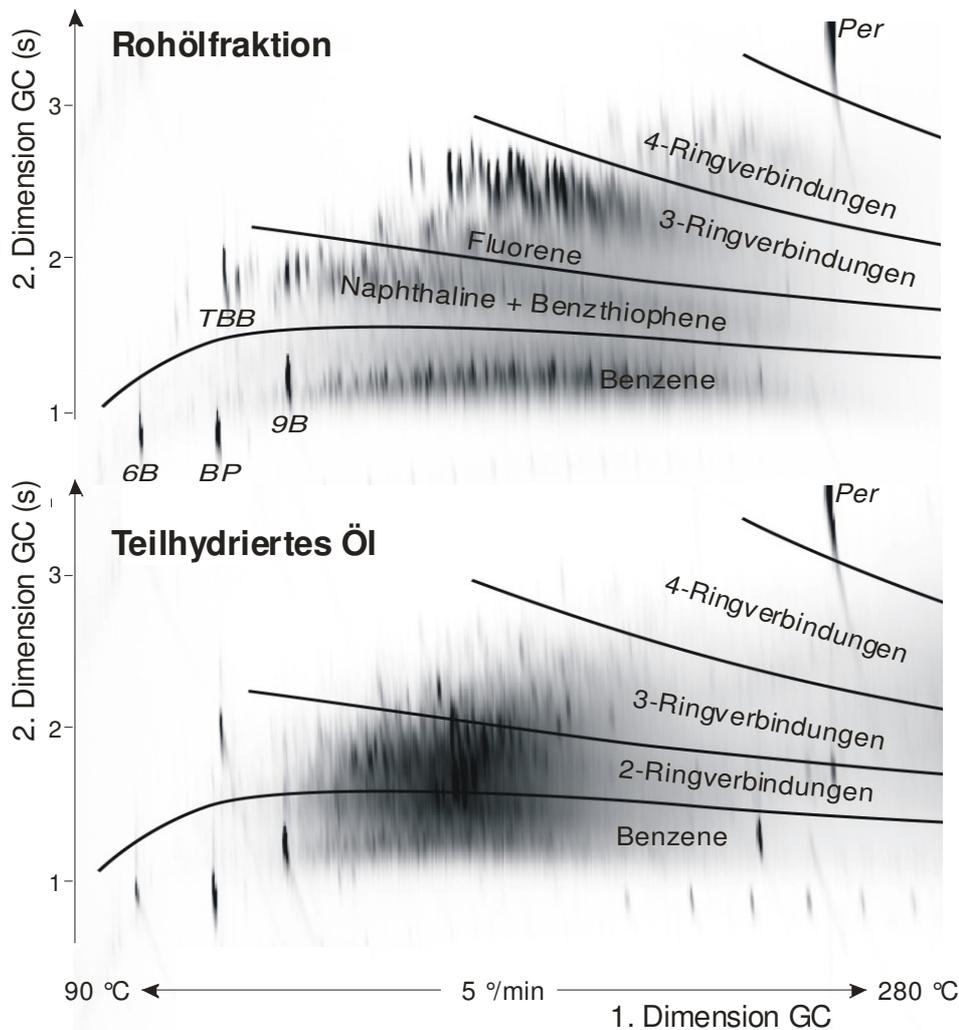
Zweidimensionale Gaschromatographie erlaubt zwar keine Trennung von MOSH und MOAH in Einzelverbindungen, aber eine gewisse Charakterisierung der Kohlenwasserstoffe [39-40414243]. Meistens wird für die erste Dimension eine apolare stationäre Phase gewählt, für die zweite eine polare. Da die Trennung zwischen MOSH und MOAH in der GC x GC unvollständig ist, drängt sich eine Vortrennung in flüssiger Phase auf [4,35].

GC x GC kann folgende Informationen liefern:

- MOSH: Trennung Paraffine-Naphthene. Die Naphthene werden in der zweiten Dimension stärker zurückgehalten. Bei guter Optimierung können auch Ein- und Zweiringsysteme getrennt werden.
- MOAH: gute Trennung nach Ringzahl, also Benzene, Naphthaline + Benzthiophene, Anthracene + Phenanthrene + Dibenzthiophene, etc. Die alkylierten Verbindungen bilden Banden, welche sich leicht absteigend durch den Plot ziehen, wie im oberen Chromatogramm der Abbildung 40 gezeigt wird. Bei niedrigem Alkylierungsgrad sind noch Signalkonglomerate unterscheidbar, die einem Grundgerüst mit einer gegebenen Anzahl Kohlenstoffe in der Alkylierung entspricht [35]. Bei stärkerer Alkylierung überlappen diese Zonen.

GC x GC erlaubt die MOAH zu charakterisieren. Rohe Mineralöle enthalten relativ viel polare MOAH, d.h. schwach alkylierte Kohlenwasserstoffe mit mehreren aromatischen Ringen (im Plot tendentiell links und oben angesiedelt). Diese werden bei der Raffination weitgehend extrahiert, was im MOAH-Plot dadurch in Erscheinung tritt, dass sich die Intensität der Signale gegen unten rechts verschiebt. Es gibt aber keine klaren Kriterien, um extrahierte von rohen Ölen zu unterscheiden.

Teilhydrierte Öle, wie sie in off-set Druckfarben verwendet werden, enthalten Verbindungen mit sowohl aromatischen als auch gesättigten Ringen. Dadurch verlieren sich die Banden definierter Ringzahl, weil die gesättigten Ringe zwar immer noch Retention in der zweiten Dimension erzeugen, aber schwächer als die Aromaten (unterer Plot in Abbildung 40).



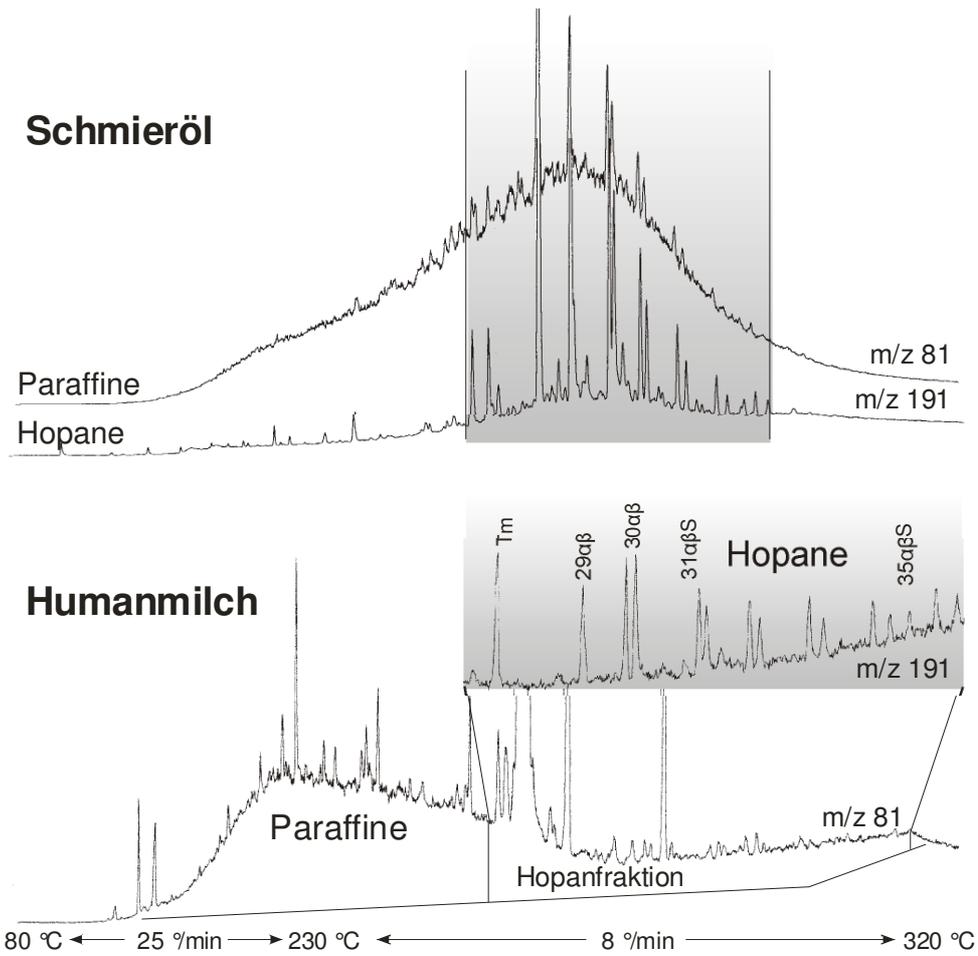
**Abbildung 40. Zweidimensionale Gaschromatographie (GCxGC) zur Charakterisierung von MOAH. Oberer Plot: rohe Mineralölfraction, z.B. für Jutesäcke; unten: Extrakt aus einer Zeitung (Druckfarbenöl). Adaptiert aus [4].**

### 6.6 Hopane zur Bestätigung der mineralischen Herkunft

Mineralöle enthalten Substanzen, welche als Marker für geologische Herkunft angesehen werden und in der lebenden Natur nicht vorkommen. Bekannt sind vor allem die Hopane und die Sterane. Die Hopane fallen in den Molekularmassenbereich der Schmieröle. Die Sterane werden noch etwas später eluiert und liegen damit oft ausserhalb des interessierenden Massenbereichs.

Hopane und Sterane sind über charakteristische Fragmente mittels Massenspektrometrie (EI/SIM) zu isolieren, wie dies in Abbildung 41 gezeigt wird. Im oberen Chromatogramm sind für ein Schmieröl die Massenspuren  $m/z$  81 (Kohlenwasserstoffe) und  $m/z$  191 (Hopane) übereinander gelegt. Aus solchen Chromatogrammen wurde auch die relative Intensität der Hopane in Mineralölen abgeschätzt [46].

Im unteren Chromatogramm wurden die Hopane aus den Kohlenwasserstoffen von Humanmilch extrahiert. Die Hauptmenge der Kohlenwasserstoffe befindet sich zwar in einem Bereich niedrigerer Molekularmasse (zentriert auf  $n\text{-C}_{23}$ ), aber die Hopane sind auch im Ausläufer noch klar sichtbar.



**Abbildung 41. Nachweis der Hopane in einem Schmieröl (oben) und in den MOSH aus Humanmilch (adaptiert aus [44]).**

## 7 Literaturverzeichnis

---

- 1 EFSA: EFSA statement on the contamination of sunflower oil with mineral oil exported from Ukraine, 29/05/08, [http://www.efsa.europa.eu/cs/BlobServer/Statement/contam\\_statement\\_sunflower%20oil\\_en.pdf?ssbinary=true](http://www.efsa.europa.eu/cs/BlobServer/Statement/contam_statement_sunflower%20oil_en.pdf?ssbinary=true)
- 2 Summary minutes of the meeting of the Standing Committee on the Food Chain and Animal Health, Brussels, 20 June 2008. [http://ec.europa.eu/food/committees/regulatory/scfcah/toxic/summary20062008\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/committees/regulatory/scfcah/toxic/summary20062008_en.pdf)
- 3 Biedermann M and Grob K, 2010. Is recycled newspaper suitable for food contact materials? Technical grade mineral oils from printing inks. *European Food Research and Technology*, 230, 785-796.
- 4 Lorenzini R, Fiselier K, Biedermann M, Barbanera M, Braschi I and Grob K (2010). Saturated and aromatic mineral oil hydrocarbons from paperboard food packaging: Prediction of long-term migration from contents in the paperboard; data from the market. *Food Additives and Contaminants*, 27, 1765-1774.
- 5 Walters DG, Sherrington KV, Worrell N and Riley RA, 1994. Formulation and analysis of food-grade mineral hydrocarbons in toxicology studies. *Food and Chemical Toxicology*, 32, 549-557.
- 6 Levy R, 1976. Nachweis von Mineralöl und Paraffin in Lebensmitteln. *Die Nahrung* 20, 773-775.
- 7 Castle L, Kelly M, Gilbert J, 1991. Migration of mineral oil hydrocarbons into foods. 1. Polystyrene containers for hot and cold beverages. *Food Additives and Contaminants*, 8, 693-700.
- 8 Grob K, Lanfranchi M, Egli J, Artho A, 1991. Determination of Food Contamination by Mineral Oil from Jute Bags using Coupled LC-GC. *J. AOAC* 74, 506-512
- 9 Biedermann M, Fiselier K, Grob K, 2009. Aromatic hydrocarbons of mineral oil origin in foods: method for determining the total concentration and first results. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 8711-8721.
- 10 Biedermann M, Grob K, 2012. On-line coupled high performance liquid chromatography – gas chromatography (HPLC-GC) for the analysis of mineral oil; Part 1: method of analysis in foods, environmental samples and other matrices. A review. *J. Chromatogr.* (in Vorbereitung)
- 11 Guinda A, Lanzón A, Albi T, 1996. Differences in hydrocarbons of virgin olive oils obtained from several olive varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 1723-1726
- 12 Koprivnjak O, Procida G, Favretto L, 1997. Determination of endogenous aliphatic hydrocarbons of virgin olive oils of four autochthonous cultivars from Krk island (Croatia). *Food Technology and Biotechnology*, 35, 125-131.
- 13 Muijs B, Jonker MTO, 2009. Evaluation of clean-up agents for total petroleum hydrocarbon analysis in biota and sediments. *J. Chromatogr. A* 1216, 5182-5189.
- 14 Wagner C, Neukom H-P, Galetti V, Grob K, 2001. Determination of mineral paraffins in feeds and foodstuffs by bromination and pre-separation on aluminium oxide: Method and results of a ring test. *Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene*, 92, 231-249.
- 15 Fiorini D, Paciaroni A, Gigli F, Ballini R, 2010. A versatile splitless injection GC-FID method for the determination of mineral oil paraffins in vegetable oils and dried fruit. *Food Control*, 21, 1155-1160.

- 
- 16 Biedermann-Brem S, Grob K, 2011. Removal of mineral oil migrated from paperboard packing during cooking of foods in boiling water. *European Food Research and Technology*, 1035–1041.
  - 17 Grob K, Müller E, 1987. Sample Reconcentration by Column-External Solvent Evaporation or Injection of Large Volumes into GC Capillary Columns. *J. Chromatogr.* 404, 297-305.
  - 18 Grob K, 1983. Solvent Effects in Capillary GC. *J. Chromatogr.* 279, 225-232.
  - 19 Grob K, 1987, 1991. *On-Column Injection in Capillary GC*. Hüthig, Heidelberg, ISBN 3-7785-1551-9, S. 255.
  - 20 Grob K, Karrer G, Riekkola ML, 1985. On-column injection of large sample volumes using the retention gap technique in capillary GC. *J. Chromatogr.* 333, 129-155
  - 21 Grob K, Neukom HP, 1985. Method for testing retention gaps and data on the GC retention power of differently deactivated capillary tubes. *J. Chromatogr.* 323, 237-246.
  - 22 Grob K, 2001. *Split and Splitless Injection for Quantitative GC*. K. Grob. Wiley-VCH, Weinheim, 2001, ISBN 3-527-29879-7
  - 23 Magni P, Porzano T, 2003. Concurrent solvent recondensation large sample volume splitless injection. *J. Separation Science*, 26, 1491–1498.
  - 24 Biedermann M, Fiscalini A, Grob K, 2004. Large volume splitless injection with concurrent solvent recondensation: keeping the sample in place in the hot vaporizing chamber. *J. Separation Science*, 27, 1157-1165.
  - 25 Grob K, Biedermann M, 2002. The two options for sample evaporation in hot GC injectors: thermospray and band formation. Optimization of conditions and injector design. *Analytical Chemistry*, 74, 10-16.
  - 26 Boselli E, Grob K, Lercker G, 1999. Capacity of uncoated 0.53 mm i.d. pre-columns for retaining sample liquid in presence of a solvent vapor exit. *J. High Resol. Chromatogr.* 22, 149-152.
  - 27 van der Hoff GR, van Zoonen P, Grob K, 1994. Deactivation of precolumns for capillary GC by a thin layer of OV-1701. *J. High Resol. Chromatogr.* 17, 37-42.
  - 28 Biedermann-Brem S, Kasprick N, Simat T, Grob K, 2012. Migration of polyolefin oligomeric saturated hydrocarbons (POSH) into food. *Food Addit Contam (eingereicht)*
  - 29 Grob K, Artho A, Mariani C, 1992. Determination of Raffination of Edible Oils and Fats by Olefinic Degradation Products of Sterols and Squalene, Using Coupled LC-GC. *Fat Science Technology* 94, 394-400.
  - 30 Grob K, Biedermann M, Artho A, Schmid JP, 1994. LC, GC, and GC-MS of Sterol Dehydration Products. *Riv. Ital. Sost. Grasse* 71, 533-538.
  - 31 Unterlagen des Workshop zur Analytik von Mineralöl im Kantonalen Labor Zürich, Juni 2010: <http://public.me.com/maurus>
  - 32 Moret S, Grob K, Conte LS, 1997. Mineral oil polyaromatic hydrocarbons in foods, e.g. from jute bags, by on-line LC-solvent evaporation (SE)-LC-GC-FID. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 204, 241-246.
  - 33 Biedermann M, Grob K, 2009. Comprehensive two-dimensional GC after HPLC pre-separation for the characterization of aromatic hydrocarbons of mineral oil origin in contaminated sunflower oil. *J. Separation Science*, 3726–3737
  - 34 Biedermann M, Ingenhoff JE, Barbanera M, Garbini D, Grob K, 2011. Migration of mineral oil into noodles from recycled fibers in the paperboard box and the corrugated board transport box as well as from printing inks: a case study. *Packaging Technology and Science (on-line)*.

- 
- 35 Fiselier K, Fiorini D, Grob K, 2009. Activated aluminum oxide selectively retaining long chain n-alkanes. Part I, description of the retention properties. *Analytica Chimica Acta*, 634, 96-101.
  - 36 Fiselier K, Fiorini D, Grob K, 2009. Activated aluminum oxide selectively retaining long chain n-alkanes: Part II. Integration into an on-line high performance liquid chromatography-liquid chromatography-gas chromatography-flame ionization detection method to remove plant paraffins for the determination of mineral paraffins in foods and environmental samples. *Analytica Chimica Acta*, 634, 102-109.
  - 37 Fiselier K, Grob K, 2009. Determination of mineral oil paraffins in foods by on-line HPLC-GC-FID: lowered detection limit; contamination of sunflower seeds and oils. *European Food Research and Technology*, 229, 679-688.
  - 38 Grundböck F, Fiselier K, Schmid F, Grob K, 2010. Mineral oil in sunflower seeds: the sources. *European Food Research and Technology*, 231, 209-213.
  - 39 Beens J, Blomberg J, Schoenmakers PJ, 2000. Proper tuning of comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC x GC) to optimize the separation of complex oil fractions. *Journal of High Resolution Chromatography*, 23, 182-188.
  - 40 Schoenmakers PJ, Oomen J, Blomberg J, Genuit W, van Velzen G, 2000. Comparison of comprehensive two-dimensional gas chromatography and gas chromatography - mass spectrometry for the characterization of complex hydrocarbon mixtures. *Journal of Chromatography A*, 892, 29-46.
  - 41 Vendevre C, Bertocini F, Espinat D, Thiebaut D, Hennion MC, 2005. Multidimensional gas chromatography for the detailed PIONA analysis of heavy naphtha: hyphenation of an olefin trap to comprehensive two-dimensional gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1090, 116-125.
  - 42 Edam R, Blomberg J, Janssen HG, Schoenmakers PJ, 2005. Comprehensive multidimensional chromatographic studies on the separation of saturated hydrocarbon ring structures in petrochemical samples. *J Chromatogr A*, 1086, 12-20.
  - 43 Diehl JW, Di Sanzo FP, 2005. Determination of aromatic hydrocarbons in gasolines by flow modulated comprehensive two-dimensional gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1080, 157-165
  - 44 Populin T, Biedermann M, Grob K, Moret S, Conte L, 2004. Relative hopane content confirming the mineral origin of hydrocarbons contaminating foods and human milk. *Food Additives and Contaminants*, 21, 893-904.