



Andrea Jurek, Dipl.-Ing.

**Spurenanalytische Methoden zur Charakterisierung
von
Bedarfsgegenständen**

DISSERTATION

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktorin der technischen Wissenschaften

eingereicht an der

Technischen Universität Graz

Betreuerin

Ao.Univ.-Prof. Dipl.-Ing. Dr.techn., Erich Leitner

Institut für Analytische Chemie und Lebensmittelchemie

Graz, März 2017

EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG

Ich erkläre an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst, andere als die angegebenen Quellen/Hilfsmittel nicht benutzt, und die den benutzten Quellen wörtlich und inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe. Das in TUGRAZonline hochgeladene Textdokument ist mit der vorliegenden Dissertation identisch.

Datum

Unterschrift

Danksagung

Allen voran möchte ich mich bei Herrn Ao. Univ. Prof. Dr. Erich Leitner für die kompetente Betreuung und das mir entgegengebrachte Vertrauen während meiner Dissertation, sowie für deren Begutachtung und Korrektur bedanken.

Mein Dank gilt Dr. Steffen Strassnig und Dr. Martin Messner (Mondi Frantschach GmbH) für die Durchführung der Fraktionierungen und ihre fachliche Hilfestellung.

Ich möchte mich bei allen ehemaligen und aktuellen Mitgliedern des Instituts für Analytische Chemie und Lebensmittelchemie, allen voran den Mitgliedern der Arbeitsgruppe für Lebensmittelchemie und Humansensorik, für ihre Hilfsbereitschaft, die gute Zusammenarbeit, das angenehme Arbeitsklima, viele wertvolle Anregungen und stete Hilfsbereitschaft bedanken, da diese wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein besonderer Dank gilt Frau DI Iris Tauber und Frau Elisabeth Wrana für die angenehme Atmosphäre in unserem Büro, das überaus geduldige Ertragen meiner Launen und die daraus erwachsenen Freundschaften.

Zuletzt möchte ich mich bei meiner Familie und meinen Freunden für ihre Geduld und großzügige Unterstützung bedanken. Allen voran Lini Meister für ihre verständnisvolle Art und die vielen Aufmunterungen und Motivationen, Nicole Pabi für ihre fachliche und freundschaftliche Hilfestellung und meiner Trainerin Monika Altenreiter für ihre entgegengebrachte Rücksichtnahme.

Besonderer Dank gilt meinen Eltern für ihre uneingeschränkte, liebevolle und vielseitige Unterstützung.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	8
2	Lebensmittelkontaktmaterialien	11
3	Lebensmittelkontaktmaterialien aus Papier und Karton	12
3.1	Rechtliche Regelungen für Lebensmittelkontaktmaterialien	13
3.1.1	Richtlinien für Lebensmittelkontaktmaterialien aus Kunststoff	13
3.1.1.1	<i>Gesamtmigrationslimit (Overall Migration Limit – OML)</i>	15
3.1.1.2	<i>Spezifisches Migrationslimit (Specific Migration Limit – SML)</i>	16
3.1.2	Richtlinien für Lebensmittelkontaktmaterialien aus Papier und Karton	16
3.1.2.1	<i>Migrationstests für Papier- und Kartonverpackungen</i>	17
4	Migrierende Substanzen in Papier	19
4.1	Bisphenole	21
4.1.1	Bisphenol A.....	21
4.1.2	Bisphenol-Analoga.....	25
4.1.3	Bisphenole in Lebensmittelkontaktmaterialien	27
4.1.4	Gesetzliche Richtlinien und Regulierungen von Bisphenolen	27
4.1.5	Analytische Methoden zur Bestimmung von Bisphenolen in Verpackungspapieren	29
4.2	Mineralölkohlenwasserstoffe	31
4.2.1	Gesetzliche Richtlinien und Regulierungen von Mineralölkohlen-wasserstoffen	33
4.2.2	Analytische Methoden zur Bestimmung von Mineralölkohlen-wasserstoffen in Papierprodukten	35
4.2.2.1	<i>Flüssigchromatographisch – Gaschromatographische Analyse</i>	36
4.2.2.2	<i>Mehrdimensionale gaschromatographische Analyse</i>	40
5	Theoretischer Hintergrund	41
5.1	Massenspektrometrie	41
5.1.1	Elektronenstoßionisation (EI).....	42
5.1.2	Chemische Ionisation (CI)	43
5.1.2.1	<i>Positiv Chemische Ionisation (PCI)</i>	44
5.1.2.2	<i>Negativ Chemische Ionisation (NCI)</i>	45
5.1.3	Elektrosprayionisation (ESI)	46
5.1.4	Quadrupol Massenanalysator	47
5.1.5	Tandem-Massenspektrometrie	48
5.1.5.1	<i>Triple-Quadrupole-Massenspektrometer (qqq-MS)</i>	49
5.1.6	Hochauflösende Massenspektrometrie (HR-MS).....	50
5.1.6.1	<i>Massenauflösung, Massenauflösungsvermögen, Massengenauigkeit</i>	51
5.1.6.2	<i>Massenanalysatoren in Kombination mit HR-MS</i>	52
5.1.6.2.1	<i>Time-of-Flight-Analysatoren (TOF)</i>	53

5.1.6.2.2	<i>Fourier-Transform-Ionencyclotronresonanz (FT-ICR)</i>	54
5.1.6.2.3	<i>Orbitrap</i>	56
5.2	Mehrdimensionale Gaschromatographie	57
5.2.1.1	<i>Heart-Cutting 2-dimensionale Gaschromatographie (MDGC)</i>	58
5.2.1.2	<i>Multidimensionale comprehensive Gaschromatographie (GCxGC)</i>	60
6	Material und Methoden	66
6.1	Bestimmung von Bisphenol A mit unterschiedlichen gaschromatographischen Methoden ..	66
6.1.1	Proben	67
6.1.2	Herstellung der Kalibrationsstandards	68
6.1.3	Extraktion der Papierproben mit MeOH	69
6.1.4	Kaltwasserextraktion nach DIN EN 645	70
6.1.5	Derivatisierung von BPA mittels Pentafluorobenzoylchlorid (PFBOCl)	70
6.1.5.1	<i>Methodenentwicklung</i>	71
6.1.5.2	<i>Derivatisierung der methanolischen Papierextrakte</i>	73
6.1.5.3	<i>Derivatisierung der Kaltwasserextrakte</i>	73
6.1.6	Derivatisierung von BPA mittels N,O-Bis(trimethylsilyl)-trifluoroacetamide (99 %) – Trimethylchlorsilan (1 %) (BSTFA-TMCS)	74
6.1.6.1	<i>Derivatisierung der Papierextrakte</i>	74
6.1.7	Gaschromatographische Analyse	75
6.1.7.1	<i>Analyse der Pentafluorobenzoyl-Derivate</i>	75
6.1.7.2	<i>Analyse der BSTFA-TMCS Derivate</i>	76
6.1.8	Methodenvalidierung	77
6.1.9	Berechnung der potenziellen Migration in das Packgut	77
6.2	Bestimmung von Bisphenolen (BPA, BPAF, BPB, BPE, BPF, BPS) mittels GC-MS/MS und LC-MS/MS	78
6.2.1	Proben	78
6.2.2	Herstellung der Kalibrationsstandards	79
6.2.3	Extraktion der Papierproben für die gaschromatographische Analyse	79
6.2.3.1	<i>Lösungsmittelextraktion</i>	79
6.2.3.2	<i>Folch Extraktion</i>	80
6.2.4	Extraktion der Papierproben für die flüssigchromatographische Analyse	80
6.2.5	Derivatisierung mittels BSTFA (GC-MS/MS)	80
6.2.6	Chromatographische Analyse mittels GC-MS/MS	81
6.2.7	Chromatographische Analyse mittels LC-MS/MS	81
6.2.8	Methodenvalidierung	82
6.2.9	Berechnung der potenziellen Migration in das Packgut	83
6.3	Analyse von Mineralölverbindungen	84
6.3.1	Proben	84

6.3.2	Herstellung der Standardlösungen	85
6.3.2.1	<i>Interner Standardmix</i>	85
6.3.2.2	<i>Standardlösungen zur Identifikation</i>	86
6.3.2.3	<i>Phenylalkanstandard und n-Alkanstandard</i>	87
6.3.3	Extraktion der Papierproben	87
6.3.3.1	<i>Extraktion der Papierproben für die Analyse mittels GCxGC-MS</i>	87
6.3.3.2	<i>Extraktion der Papierproben für die Analyse mittels GC-MS</i>	88
6.3.4	Fraktionierung der Extrakte und Bestimmung der Gesamt-konzentration an MOAH	88
6.3.5	Chromatographische Analyse mittels GCxGC-MS.....	89
6.3.6	Chromatographische Analyse mittels GC-MS	90
6.3.7	Chromatographische Analyse mittels HR-GC-MS/MS	90
7	Ergebnisse und Diskussion	92
7.1	Bestimmung von Bisphenol A mit unterschiedlichen gaschromatographischen Methoden ..	92
7.1.1	Derivatisierung von Bisphenol A.....	92
7.1.1.1	<i>Derivatisierung mit Pentafluorobenzoylchlorid</i>	93
7.1.1.2	<i>Derivatisierung mit BSTFA</i>	99
7.1.2	Methodenvalidierung	103
7.1.2.1	<i>Wiederfindung</i>	104
7.1.2.2	<i>Linearität</i>	104
7.1.2.3	<i>Präzision</i>	104
7.1.2.4	<i>Sensitivität</i>	105
7.1.3	Konzentration von Bisphenol A in Verpackungspapieren	107
7.1.4	Konzentration von Bisphenol A in Hygienepapieren	111
7.1.5	Berechnung der Migration in Lebensmittel(simulanzen)	112
7.1.6	Zusammenfassung	115
7.2	Bestimmung von Bisphenolen (BPA, BPAF, BPB, BPE, BPF, BPA) mittels GC-MS/MS und LC-MS/MS	117
7.2.1	Methodenentwicklung	117
7.2.1.1	<i>Derivatisierung mit BSTFA</i>	117
7.2.1.2	<i>Lösungsmittelextraktion vs. Folch-Extraktion</i>	118
7.2.1.3	<i>Matrixeffekte bei Analyse mittels LC-MS/MS</i>	119
7.2.2	Methodenvalidierung	120
7.2.2.1	<i>Wiederfindung</i>	120
7.2.2.2	<i>Linearität</i>	121
7.2.2.3	<i>Präzision</i>	122
7.2.2.4	<i>Sensitivität</i>	123
7.2.3	Konzentration von Bisphenolen in Papier und Kartonproben.....	126
7.2.4	Berechnung der Migration in Lebensmittel(simulanzen)	130

7.2.5	Zusammenfassung	133
7.3	Analyse von aromatischen Mineralölkohlenwasserstoffen	135
7.3.1	Gaschromatographische Analyse mittels GCxGC-MS	135
7.3.1.1	<i>Optimierung der Säulenkombination</i>	136
7.3.1.2	<i>Optimierung der Modulationsfrequenz und Temperaturrampe</i>	138
7.3.1.3	<i>Analyse der Proben</i>	140
7.3.2	Identifikation von Phenylalkanen	143
7.3.2.1	<i>Identifikation von Phenylalkanen mittels GCxGC-MS</i>	143
7.3.2.2	<i>Quantitative Bestimmung der Phenylalkane mittels GC-MS</i>	149
7.3.3	Identifikation einzelner Substanzen und Substanzklassen	158
7.3.3.1	<i>Identifizierung von Einzelsubstanzen</i>	158
7.3.3.2	<i>Biphenyle</i>	162
7.3.3.3	<i>Naphthaline</i>	165
7.3.3.4	<i>Nicht identifizierbare Substanzgruppen</i>	167
7.3.3.4.1	<i>Hochauflösende Massenspektrometrie</i>	168
7.3.4	Zusammenfassung	171
8	Literaturverzeichnis	174
9	Anhang	190
9.1	Abbildungsverzeichnis	190
9.2	Tabellenverzeichnis	193

1 Einleitung

Papier und Papierverpackungen sind unverzichtbare und vielseitig angewandte Produkte des täglichen Lebens. Da ein häufiger Kontakt mit Papier unvermeidbar ist, bestehen Bedenken über im Papier vorhandene Substanzen, die einen möglichen Einfluss auf die menschliche Gesundheit haben können. Papier und Karton haben eine lange und erfolgreiche Tradition in verschiedensten Anwendungsbereichen in der Verpackungsindustrie. Besonders Anwendungen in der Lebensmittelindustrie, stellen dabei ein anspruchsvolles und sensibles Anwendungsgebiet dar. Neben dem direkten Kontakt mit Lebensmitteln unterschiedlichster Eigenschaften (trocken, feucht, fettig, tiefgefroren, ...), kommen Papier- und Karton in diesem Bereich häufig als Transportverpackungen zum Einsatz.

Papier und Karton für Verpackungszwecke werden dabei je nach Anwendungsgebiet bis zu 100% aus Recyclingmaterial hergestellt. Recycling trägt zur Nachhaltigkeit bei, stellt aber im Verpackungsbereich sensibler Produkte ein Risiko dar, da es zum Übertrag von Rückständen des Recyclingmaterials (Bestandteile von, Beschichtungsmaterialien, Druckfarben, Klebstoffen ...) auf die daraus neu erzeugten Produkte kommen kann. Darüber hinaus kann es zu Querkontaminationen durch papierfremde Materialien kommen, wodurch eine potentielle Gesundheitsgefährdung entstehen kann. Das Vorhandensein von Fremdsubstanzen allein stellt dabei jedoch noch kein gesundheitliches Risiko dar. Erst die Art, Gefährlichkeit und Konzentration einer vorliegenden Substanz in Kombination mit dem Ausmaß der Migration und dem Umfang, mit dem der Verbraucher damit in Kontakt kommt, sind für ein potentielles Risiko verantwortlich. Rückstände aus dem Papiererzeugungsprozess können somit einerseits unbedenklich sein, aber auch ein ernstes gesundheitliches Risiko darstellen.

Der Fokus dieser Arbeit liegt dabei auf zwei zur Zeit heftig zur Diskussion stehenden Themen: der Migration von Bisphenolen und der Migration von Mineralölbestandteilen aus Verpackungsmaterialien aus Papier. Mangels toxikologischer Daten in Bezug auf das Vorkommen und die Auswirkungen dieser Substanzen ist eine gesundheitliche Risikobewertung allerdings häufig nicht möglich. Dies führt auch dazu, dass es keine oder nur unzureichende gesetzliche Richtlinien in Bezug auf die Migration und die erlaubte maximale tägliche Aufnahme dieser Substanzen gibt. Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung schneller, robuster und empfindlicher Analysemethoden zur Detektion migrierender Substanzen aus Papier im Ultraspurenbereich. Um den Herausforderungen unterschiedlicher komplexer Matrices in Anhängigkeit des Ausgangsmaterials (Papier, Karton, Frischfaser, Recyclingmaterial) gerecht zu werden, eigneten sich vor allem die Methoden der Flüssig-

chromatographie und Gaschromatographie in Kombination mit Massenspektrometrie (GC-MS und LC-MS).

Bisphenole sind eine Gruppe von Verbindungen die zwei Hydroxyphenyl-Funktionalitäten, die über ein Brückenatom miteinander verbunden sind, aufweisen. Von allen Bisphenolen ist Bisphenol A das bekannteste und am besten charakterisierte Bisphenol. Bisphenol A (BPA), eine potentiell endokrin wirksame Substanz mit schwacher Östrogenaktivität, kommt in einer Vielzahl von Bedarfsgegenständen, einschließlich Papierprodukten in Kontakt mit Lebensmitteln und Hygieneartikeln vor. In Papier kommt BPA überwiegend als Farbentwickler in Thermodruckpapieren, sowie als Weichmacher in Druckfarben, Harzen und Lacken vor. In Anbetracht der Tatsache, dass der Kontakt mit BPA mit einer Vielzahl an negativen gesundheitlichen Effekten in Verbindung steht, wurden der Einsatz und die Verwendung von BPA in vielen Ländern limitiert. Als Konsequenz daraus kommt eine Vielzahl an BPA strukturell ähnlichen Bisphenolen, als mögliche Alternativen zu BPA in industriellen Anwendungen, zum Einsatz. Im Gegensatz zu BPA existiert jedoch nur ein geringes Wissen in Bezug auf das toxikologische Potential dieser Bisphenole. Studien zeigen allerdings, dass diese Bisphenole eine ähnliche endokrine Aktivität aufweisen wie BPA. Darüber hinaus ist BPA das einzige Bisphenol für das auf europäischer Ebene gesetzliche Grenzwerte hinsichtlich der maximalen täglichen Aufnahme und der Migration aus Lebensmittelkontaktmaterialien festgesetzt sind.

Die analytische Bestimmung von Bisphenolen in Papier erfolgt überwiegend durch eine Kombination aus Extraktion, Konzentration und wenn nötig Derivatisierung der Analyten, gefolgt von flüssig- oder gaschromatographischer Auftrennung, gekoppelt mit Massenspektroskopie (LC-MS, GC-MS), oder tandem MS (LC-MS/MS, GC-MS/MS), wobei gaschromatographische Methoden eine Derivatisierung erfordern.

Die aktuelle Arbeit umfasst unterschiedliche gaschromatographische Methoden zur Analyse von BPA im Spurenbereich in Papier- und Kartonverpackungen für Lebensmittel, wobei die unterschiedliche Selektivität verschiedener Derivatisierungstechniken ausgenutzt wurde. Die Arbeit bezieht sich dabei auf zwei Derivatisierungsreaktionen (Silylierung und Halid-Alkylierung) und drei unterschiedlichen gaschromatographischen Trenn- und Detektionstechniken (GC-MS mit Elektronenstoßionisation (EI-GC-MS), GC-MS mit negativ chemischer Ionisation (NCI-GC-MS) und GC-MS/MS mit Elektronenstoßionisation (EI-GC-MS/MS)). Darüber hinaus erfolgte ein Vergleich der Analyse von sechs unterschiedlichen Bisphenolen mittels GC-MS/MS und LC-MS/MS. Neben einem methodischen Vergleich wurde auch die maximale Migration an BPA in Lebensmittel(simulanzen), unter Annahme des „worst case“ von 100% Migration, berechnet.

Die Analyse der Mineralölbestandteile bezieht sich auf Mineralölkohlenwasserstoffe, die sich in gesättigte (MOSH – Mineral Oil Saturated Hydrocarbons und aromatische Mineralölkohlenwasserstoffe MOAH – Mineral Oil Aromatic Hydrocarbons) unterscheiden. Die MOSH Fraktion besteht dabei aus linearen und verzweigten Alkanen, sowie alkylsubstituierten Cycloalkanen, wogegen die MOAH Fraktion aus hochalkylierten polyaromatischen Kohlenwasserstoffen mit bis zu vier aromatischen Ringen besteht. Der Fokus der Arbeit liegt dabei auf der aromatischen Fraktion, welche ca. 15-30 % der gesamten Mineralölfraction ausmacht, da diese unter Verdacht steht potentiell krebserregend und erbgutschädigend zu sein.

Die Hauptquelle von Mineralölverbindungen in Papier und Karton sind Bestandteile von Druckfarben auf Mineralölbasis, die entweder direkt auf die Verpackung aufgebracht oder über den Recyclingprozess in das Produkt eingebracht werden, da diese während des Recyclingprozesses nicht vollständig entfernt werden. Der Transfer von Mineralölkohlenwasserstoffen von der Packung in das Packgut erfolgt dabei entweder durch direkten Kontakt oder über die Gasphase, durch Verdampfung aus der Verpackung und Rekondensation im Packgut, wobei bis zu 70 % der relevanten Bestandteile in das Packgut migrieren können. Die derzeitige analytische Bestimmung von MOSH und MOAH erfolgt überwiegend durch online oder offline gekoppelte Flüssigchromatographie mit Gaschromatographie-Flammenionisationsdetektion und Large Volume Injektion (HPLC-GC-LV-FID), unter Bestimmung der Gesamtkonzentration der jeweiligen Fraktion, wodurch die Identifikation einzelner Verbindungen nicht möglich ist. Anhand dieses Mangels an detaillierter Information über die Zusammensetzung der MOAH ist es schwer das genotoxische Potential der MOAH zu evaluieren, weshalb derzeit auch keine anerkannte Evaluierung vorhanden ist.

Ziel der Arbeit war, anhand mehrdimensionaler gaschromatographischer Methoden in Kombination mit Massenspektrometrie, detailliertere Informationen über die Zusammensetzung der MOAH zu erhalten. Comprehensive GCxGC ist dabei die Technik der Wahl, um Sensitivität und Selektivität zu erhöhen und um eine Identifikation einzelner Substanzen und Substanzgruppen dieser komplexen Fraktion zu ermöglichen. Darüber hinaus erfolgte die Analyse der MOAH mittels hochauflösender Massenspektrometrie (HR-MS), um weitere Details zu der Zusammensetzung der MOAH zu erhalten, mit dem Ziel, dem Schritt einer toxikologischen Risikobewertung ein Stück näher zu kommen.

2 Lebensmittelkontaktmaterialien

Lebensmittelkontaktmaterialien (FCM – Food Contact Materials) sind laut der europäischen Lebensmittelsicherheitsbehörde (EFSA – European Food Safety Authority) definiert als Materialien und Artikel, die für den Kontakt mit Lebensmitteln vorgesehen sind. Dazu zählen neben Verpackungsmaterialien auch sämtliche Gebrauchsgegenstände wie Küchenutensilien, Trinkflaschen, Geschirr usw., sowie Materialien die bei der Produktion und Verarbeitung von Lebensmitteln mit diesen in Kontakt kommen. Einen großen Anteil der Lebensmittelkontaktmaterialien stellen dabei Verpackungsmaterialien. Diese sind von besonderer Bedeutung, da es in diesem Bereich überwiegend zu einem Langzeitkontakt der Lebensmittel mit dem Verpackungsmaterial kommt. Die Hauptaufgabe von Lebensmittelverpackungen ist es, die Qualität und Sicherheit des Packgutes zu erhalten, sowie dieses vor Schäden und äußeren Einflüssen zu schützen. Um den Schutz des Konsumenten zu gewährleisten dürfen keine Substanzen in das Packgut übertragen werden, deren Konzentration die menschliche Gesundheit gefährden, die unerwünschte Veränderungen in der Zusammensetzung des Lebensmittels mit sich bringen, oder zu einer Verschlechterung der sensorischen Eigenschaften des Produktes führen. Dennoch ist es unumgänglich, dass es zu Interaktionen zwischen Verpackung und Packgut kommt. Diese können dabei einen wesentlichen Einfluss auf die Sicherheit und/oder Qualität des Packgutes haben. Zu den häufigsten Interaktionen zwischen Verpackung und Packgut zählen Migration, Permeation, Sorption und Stoffübergang über die Gasphase. Zusätzlich kann es auch zu Abklatschereffekten (invisible off-set) kommen. Hierbei kommt es bei der Lagerung von Verpackungsmaterialien in Stapel- oder Rollenform zu einem Übertrag unerwünschter Substanzen von der Verpackungsaußenseite einer Verpackung auf die Lebensmittelkontaktseite der anderen Verpackung. Lebensmittelkontaktmaterialien haben demnach einen wesentlichen Einfluss auf die umschlossenen Produkte, insbesondere in Bezug auf Stofftransport aus der Gasphase und Migration (Strathmann et al. 2005).

Die Migration von unerwünschten Substanzen aus FCM in Lebensmittel, wird als eine der Hauptursachen von Lebensmittelkontaminationen vermutet, 100-1000 mal höher als Kontaminationen von Pestizidrückständen und Umweltverschmutzungen (Grob et al. 2006). Das Ausmaß der Migration wird dabei von Diffusionsprozessen, die einer thermodynamischen und kinetischen Kontrolle unterliegen, bestimmt (Bradley et al. 2014).

Obwohl der überwiegende Anteil der Lebensmittelkontaktmaterialien aus Kunststoff besteht ist der Anteil an Lebensmittelkontaktmaterialien aus Papier dennoch nicht zu vernachlässigen.

3 Lebensmittelkontaktmaterialien aus Papier und Karton

Die Anwendung von Papier und Karton im Lebensmittelkontakt ist vielfältig und reicht von Verpackungskarton und Verpackungspapier über Papiersäcke hin zu Küchenrollen, Kaffee- und Teefiltern. Die Art des Papiers, ob Frischfaser oder Recyclingware, sowie die Verarbeitung, ob beschichtet, bedruckt und geklebt oder geleimt haben dabei einen großen Einfluss auf die Eignung als Lebensmittelkontaktmaterial.

In direktem Kontakt mit Lebensmittel kommen überwiegend Frischfaserprodukte zum Einsatz, da diese in der Regel eine wesentlich geringere Konzentration unerwünschter, potenziell gesundheitsgefährdender Substanzen enthalten. Der Anteil an Recyclingpapieren im Lebensmittelkontakt ist dennoch nicht zu unterschätzen, da Papier das am häufigsten recycelte Verpackungsmaterial, mit einer Recyclingrate von 78% ist (Jamnicki 2015).

Recycling von Papier und Karton bietet ein Potential für Gegensätze. Einerseits ist Recycling im Sinne eines nachhaltigen Umganges mit natürlichen Ressourcen zu befürworten, andererseits gelangen durch Recycling unerwünschte Substanzen, in teilweise problematischen Konzentrationen, in Verpackungsmaterialien für sensible Produkte wie Lebensmittel und Hygieneartikel (Biedermann & Grob 2010; Jamnicki et al. 2015). Recycling trägt andererseits aber auch zur Reduktion von Müll bei. Der Einsatz von Recyclingware in der Produktion von Papier und Karton erfolgt in Abhängigkeit des herzustellenden Produktes, wobei bei der Erzeugung von Verpackungspapieren und -karton zu Transportzwecken die höchsten Einsatzquoten an Recyclingmaterial erreicht werden. Bei der Herstellung von Verpackungsmaterialien für sensible Produkte wie Lebensmittel, werden hohe Anforderungen an das Produkt gestellt, da eine Migration von Substanzen die die menschliche Gesundheit gefährden zu unterbinden ist. Aus diesem Grund wird Recyclingmaterial in Lebensmittel- und Hygienebereich meist als Sekundär- bzw. Transportverpackung verwendet. Sekundär- und Tertiärverpackungen gelten dabei nicht als Lebensmittelkontaktmaterialien, allerdings kann es durch Übertrag von Substanzen auf Primärverpackungen, und in weiterer Folge auf die Produkte, zur Migration unerwünschter Komponenten in gesundheitsgefährdendem Ausmaß kommen. Der Transfer unerwünschter Substanzen erfolgt dabei über die Gasphase durch unterschiedliche Schichten des Verpackungsmaterials, von der Tertiär- über die Sekundär- und Primärverpackung in das Produkt.

3.1 Rechtliche Regelungen für Lebensmittelkontaktmaterialien

Um den Konsumenten zu schützen wurden eine Vielzahl an Richtlinien und Verordnungen in Bezug auf Lebensmittelkontaktmaterialien von der Europäischen Kommission für den europäischen Raum erlassen. Lebensmittelkontaktmaterialien und Artikel, die für den Kontakt mit Lebensmitteln vorgesehen sind, werden von der europäischen Rahmenvereinbarung 1935/2004 (European Framework Regulation (EC) 1935/2004) geregelt. Diese beinhaltet Richtlinien für 17 unterschiedliche Gruppen an Lebensmittelkontaktmaterialien wie Kunststoffe, Papier und Karton, Glas, etc., aber auch Regulierungen in Bezug auf Druckfarben, Beschichtungen und Adhäsive, die bei der Produktion zum Einsatz kommen. Neben Verpackungsmaterialien (Plastik, Papier, Metall,...) unterliegen auch Verarbeitungsanlagen, Rohrleitungen, Förderbänder, Lagertanks, Gebrauchsgegenstände wie Küchenutensilien und dergleichen, speziellen Anforderungen. Die Rahmenvereinbarung EC 1935/2004 deklariert, dass jeder Artikel, der für den Kontakt mit Lebensmittel vorgesehen ist, ausreichend inert sein muss, um einen Transfer von Substanzen, in einem Ausmaß welcher die menschliche Gesundheit gefährdet und inakzeptable Veränderungen in der Zusammensetzung und/oder den organoleptischen Eigenschaften des Lebensmittels hervorruft, auszuschließen (European Commission 2004). Allerdings enthalten Lebensmittelkontaktmaterialien dennoch viele Substanzen die in das Packgut migrieren können, wodurch einhergehend mit der Rahmenvereinbarung EC 1935/2004 spezifische Maßnahmen zur Kontrolle der gesetzlichen Vorschriften, in Abhängigkeit der Art des Lebensmittelkontaktmaterials deklariert sind.

3.1.1 Richtlinien für Lebensmittelkontaktmaterialien aus Kunststoff

Richtlinien für Lebensmittelkontaktmaterialien aus Kunststoff sind in der Europäischen Vereinbarung 10/2011 (European Commission Regulation 10/2011) festgehalten (European Commission 2011). Diese beinhaltet eine sogenannte „Positiv-Liste“, in der alle für den Herstellungsprozess von Kunststoffen zugelassenen Substanzen (Monomere, Oligomere, Additive,...) aufgelistet sind.

Ein Problem stellen jedoch nicht vorsätzlich zugegebene Substanzen, sogenannte NIAS (non-intentionally added substances) dar, die nicht in der „Positiv-Liste“ angeführt sind und somit nicht für die Herstellung polymerer Lebensmittelkontaktmaterialien legitimiert sind (Bach et al. 2012). NIAS sind per Definition Verunreinigungen in den zur Herstellung eingesetzten Materialien, Reaktionszwischenprodukte des Herstellungsprozesses oder der Degradation, sowie Reaktionsprodukte die im fertigen Produkt auftreten (European

Commission 2011). NIAS haben dabei keinen Einfluss auf den Herstellungsprozess und die technische Qualität des Produktes. Für NIAS gelten daher, laut der Regulation 10/2011, dieselben Regelungen wie für Verunreinigungen und Reaktionszwischenprodukte, da die Risikobetrachtung einer Substanz nicht nur die Substanz selbst, sondern sowohl Verunreinigungen in der Substanz, als auch daraus entstehende Reaktions- und Abbauprodukte miteinbezieht (Kassauf et al. 2013). NIAS haben somit Artikel 3 der Framework Regulation 1935/2004 Folge zu leisten und unterliegen der Risikobewertung im Rahmen der Kunststoffverordnung 10/2011. Sofern diese Substanzen hinsichtlich der Risikobewertung von Bedeutung sind, sind sie in die Spezifikation der jeweiligen Substanz miteinzubeziehen. Da eine Spezifikation aller NIAS hinsichtlich ihrer Zulassung in der Produktion von Lebensmittelkontaktmaterialien undurchführbar ist, können Lebensmittelkontaktmaterialien NIAS enthalten die nicht in der „Positiv-Liste“ angeführt sind.

Die Überprüfung der gesetzlichen Regelungen hinsichtlich des Stofftransportes in das Produkt erfolgt mittels Migrationstests. Die Migration aller unerwünschter Stoffe in das Produkt wird anhand der europäischen Gesetzgebung durch ein Gesamtmigrationslimit (OML – overall migration limit) geregelt. Zusätzlich gibt es für viele Substanzen der „Positiv-Liste“ ein spezifisches Migrationslimit (SML – specific migration limit) (Bradley et al. 2009). Die Migration wird dabei in mg/kg Lebensmittel oder mg/dm² Verpackungsmaterial angeführt. Da die Deklaration von Lebensmittelkontaktmaterialien besagt, dass ein Übergang von Substanzen in Konzentrationen, die das Lebensmittel verändern, nicht erlaubt sind, wurde für das OML ein Wert von 10 mg/dm² Verpackungsmaterial in direktem Kontakt mit dem Produkt festgelegt. Dabei gilt die Annahme der konventionellen Regel, dass 1 Person von 60 kg Körpergewicht 1 kg eines Lebensmittels pro Tag konsumiert, welches in direktem Kontakt mit 6 dm² Verpackungsmaterial steht (European Commission 2011). Daraus ergibt sich somit ein maximales Gesamtmigrationslimit von 60 mg/kg Lebensmittel. Migration die diesen Wert überschreitet wird als inakzeptable Veränderung betrachtet. Die Bestimmung des OML und SML erfolgt mittels Migrationstests unter der Verwendung von Lebensmittelsimulanzien unter genau definierten Migrationsbedingungen. Je nach Art des zu testenden Lebensmittels kommen dabei unterschiedliche Lebensmittelsimulanzien zum Einsatz. Erlaubte Simulanzien sind:

- | | |
|-----------------------------------|-------------|
| - Ethanol 10% (v/v) | Simulanz A |
| - Essigsäure 3% (v/v) | Simulanz B |
| - Ethanol 20% (v/v) | Simulanz C |
| - Ethanol 50% (v/v) | Simulant D1 |
| - pflanzliche Öle | Simulanz D2 |
| - modifiziertes Polyphenylenoxide | Simulanz E |

Das spezifische Migrationslimit definiert die maximale Menge einer spezifischen Substanz, die in das Lebensmittel oder das entsprechende Lebensmittelsimulanz migrieren darf (Bradley et al. 2009).

Die Simulanzen A-D2 sind dabei für den Kontakt mit flüssigen und fettigen Lebensmitteln bestimmt, wogegen Simulanz E (Tenax®) für die Migration flüchtiger Substanzen aus trockenen Lebensmitteln eingeführt wurde. Zur Durchführung der Migrationstests werden die Lebensmittelsimulanzen mit den Lebensmittelkontaktmaterialien, unter genau definierten Bedingungen (Expositionsdauer, Temperatur, Menge an Simulant,...), in Abhängigkeit des Verwendungszweckes des FCM, in Kontakt gebracht. Die Migrationsbedingungen, die sowohl für OML, als auch SML gleich sind, basieren dabei auf „worst case“ Bedingungen in Bezug auf das jeweilige Lebensmittel (Veraart & Coulier 2007).

3.1.1.1 Gesamtmigrationslimit (Overall Migration Limit – OML)

Das Gesamtmigrationslimit ist ein Maß für die Inertheit eines Lebensmittelkontaktmaterials bei direktem Kontakt mit dem Lebensmittel. Es beschreibt die gesamte Masse an Substanzen die vom Kontaktmaterial in Lebensmittel bzw. Lebensmittelsimulanzen übergehen (Touar et al. 2005). Die Überprüfung des OML erfolgt anhand von Migrationstests, wobei ausschließlich flüssige Lebensmittelsimulanzen verwendet werden. Das OML ist somit für alle nicht flüchtigen Substanzen (Monomere, Oligomere, Additive,...), die vom FCM in das Lebensmittel migrieren ausgelegt. Das Ausmaß der Migration wird anschließend gravimetrisch bestimmt, indem die flüchtigen, flüssigen Simulanzen verdampft werden und der feste Rückstand gravimetrisch bestimmt wird. Bei der Verwendung von flüssigen, nicht flüchtigen Lebensmittelsimulanzen wird das Lebensmittelkontaktmaterial vor und nach der Exposition gewogen und der Masseverlust als Masse der migrierenden Substanzen bestimmt. Da dies jedoch wesentlich ungenauer ist, als die Bestimmung der Massenzunahme des Simulanzmaterials, kommen als Alternativen zu nicht flüchtigen Simulanzen häufig 95 %iges EtOH oder Isooctan als verdampfbare Medien zum Einsatz. Aufgrund des Vorgehens entsprechend der Norm CEN 1999, ist eine Erfassung von flüchtigen Substanzen im OML nicht möglich, da diese während des Verdampfungs- und Trocknungsvorganges der Simulanzmaterialien verloren gehen würden (Bradley et al. 2009). Darüberhinaus wird die Bestimmung des OML für flüchtige Bestandteile aus Kunststoffmaterialien anhand von Migrationstests in Simulanz E (Tenax), von der europäischen Union für als nicht notwendig erachtet (European Commission 2011).

3.1.1.2 Spezifisches Migrationslimit (Specific Migration Limit – SML)

Das spezifische Migrationslimit definiert die maximal Menge einer spezifischen Substanz, in das Lebensmittel oder das entsprechende Lebensmittelsimulanz migrieren darf (Bradley et al. 2009). Das SML einer spezifischen Substanz beruht dabei auf einer Sicherheits-evaluierung durch die EFSA, unter Berücksichtigung einer Toxizitätsevaluierung und des Migrationsverhaltens der jeweiligen Substanz (European Commission 2011). Die Bestimmung des SML erfolgt dabei durch Migrationstests unter definierten Bedingungen in Abhängigkeit der zu analysierenden Substanz. Für Substanzen, die kein spezifisches Migrationslimit aufweisen, darf die Migration 60 mg/kg Lebensmittel/Lebensmittelsimulanz oder 10 mg/dm² Lebensmittelkontaktmaterial nicht überschreiten. In Bezug auf das OML würde dies jedoch bedeuten, dass bei Erreichen dieses Wertes einer einzigen Substanz, außer dieser keine weiteren Substanzen aus der Verpackung in das Packgut übergehen dürfen.

3.1.2 Richtlinien für Lebensmittelkontaktmaterialien aus Papier und Karton

Lebensmittelkontaktmaterialien aus Papier und Karton stellen aufgrund unterschiedlicher, variierender Zusammensetzung aus natürlichem Rohmaterial ein komplexes Problem dar. Dies zeigt sich auch in der Tatsache, dass es auf europäischer Ebene bislang keine einheitlichen Richtlinien und Gesetze für Papier- und Kartonartikel gibt, die für den Kontakt mit sensiblen Produkten wie Lebensmitteln oder Hygieneartikel gedacht sind. Wie für alle anderen Materialien und Artikel, die mit Lebensmittel in Kontakt stehen, gelten für Papier und Karton die generellen Anforderungen der europäischen Rahmenvereinbarung 1935/2004 (European Commission 2004, Bradley et al. 2010). Die zentrale Aussage daraus lautet:

„Materials and articles must be manufactured in compliance with good manufacturing practice so that, under normal or foreseeable conditions of use, they do not transfer constituents into foodstuffs in quantities which could endanger human health or bring about an unacceptable change in the composition of the foodstuffs or deterioration in the organoleptic characteristics thereof“ (European Commission 2004).

2002 hat das Council of Europe eine Resolution für Papier- und Kartonartikel in Kontakt mit Lebensmitteln, Resolution AP 2001, veröffentlicht (Council of Europe 2002). Diese enthält eine Liste der bei der Papiererzeugung verwendeten Substanzen, sowie eine Liste möglicher Kontaminanten, in Kombination mit den jeweiligen Sicherheitsanforderungen und

Migrationslimits, soweit diese vorhanden sind. Die Migrationslimits beziehen sich dabei auf jene Werte, die in der Kunststoffverordnung 10/2011 der europäischen Kommission festgelegt sind. Des Weiteren wurden vom Council of Europe Richtlinien für Prüfbedingungen und Analysemethoden, in Bezug auf Papierprodukte aus Recyclingmaterial, sowie ein Leitfaden für gute Herstellerpraxis veröffentlicht. Diese Richtlinien sind gemeinsam mit der Resolution AP 2002 in der Grundsatzklärung betreffend Papier und Karton, angedacht für den Kontakt mit Lebensmitteln (Policy Statement concerning paper and board articles intended to come into contact with foodstuffs Version 4), zusammengefasst (Council of Europe 2009). Für die Mehrheit der darin aufgelisteten Substanzen existiert keine toxikologische Risikobewertung oder ist erst im Stadium der Bearbeitung. Die Schwierigkeit der Evaluierungsprozesse liegt dabei an der Herausforderung, dass Papier und Karton natürliche Produkte sind, die aus einer Vielzahl an bekannten und unbekannt organischen Substanzen unbekannter Toxizität bestehen. Ein zusätzliches Problem stellt die variierende Zusammensetzung des Rohmaterials dar. Aufgrund dieser unvollständig definierten chemischen Matrix, können Migrationstests in der Routineanalyse für bekannte bedenkliche Substanzen, wie sie für Lebensmittelkontaktmaterialien aus Kunststoff durchgeführt werden nicht global auf die Matrix Papier übertragen werden (Bradley et al. 2010).

3.1.2.1 Migrationstests für Papier- und Kartonverpackungen

Standardmigrationstests, wie sie für Lebensmittelkontaktmaterialien aus Kunststoff angewandt werden, lassen sich aus den bereits genannten Gründen nicht ohne Probleme auf Lebensmittelkontaktmaterialien aus Papier übertragen, bzw. sind nicht für die Bestimmung der Migration aus diesen geeignet. Lebensmittelkontaktmaterialien aus Kunststoff sind überwiegend in Kontakt mit flüssigen, feuchten oder fettigen Lebensmitteln, wodurch sich Migrationstests in flüssigen Simulanzmaterialien anbieten. Papier- und Karton stehen hingegen überwiegend in Kontakt mit trockenen Lebensmitteln, wodurch sich vollständig andere Testbedingungen ergeben. Die Auswahl von Simulanzmaterialien für Migrationstests aus Papier und Karton erfolgt dabei anhand von EU Direktive 85/572/EEC. Als Simulanzmaterial für trockene Lebensmittel dient modifiziertes Polyphenylenoxid (MPPO; Tenax[®]), eine feinkörnige pulverförmige Substanz. Tenax[®] zeigt eine Tendenz zur Überbestimmung der Migration aus Papier und Karton (European Union 2004) und gilt daher als sicheres Testsimulanz, da es höhere Migrationsraten gewährleistet als das zu ersetzende Lebensmittel (Bradley et al. 2010). Die Durchführung von Migrationstests aus Papier und Karton erfolgt dabei anhand von EU-Richtlinien die in den beiden Direktiven, EU Direktive

85/572/EEC (European Commission 1982) und EU Direktive 82/711/EEC (European Commission 1985), sowie deren Anhang, festgelegt sind. Migrationstests dienen dabei wie bereits erwähnt ausschließlich der Bestimmung und Überprüfung von spezifischen Migrationslimits.

4 Migrierende Substanzen in Papier

Unter Migration versteht man den Übergang von Substanzen aus der Verpackung in das Packgut und umgekehrt. Neben dieser Penetrationsmigration kann es auch zu einer Abklatsch-Migration („invisible“ set-off) kommen, wobei es bei der Lagerung von Verpackungen im Stapel oder auf der Rolle, zu einem Stoffübergang von der bedruckten, chemisch bearbeiteten Oberseite zur Packgutkontaktseite kommt. Zusätzlich kann es zu einem Stoffübergang auf das Packgut über die Gasphase im geschlossenen Luftraum einer Verpackung kommen. Dies führt vor allem zu Geruchs- und Geschmacksbeeinträchtigungen.



Abbildung 1: Stoffübergang von der Verpackung in das Packgut (Migration und Abklatsch)

Migration stand in den vergangenen Jahrzehnten überwiegend mit Kunststoffartikeln in Zusammenhang, heutzutage stammt jedoch eine wachsende Anzahl von Migrationsfällen von nicht-Kunststoffverpackungen. Papier und Karton, welche seit Anbeginn zu den wichtigsten Verpackungsmaterialien zählen (Leks-Stepien 2011), decken dabei einen großen Anteil von nicht auf Kunststoff basierenden Lebensmittelkontaktmaterialien ab. Der Migrationsmechanismus von Faser basierenden Materialien wie Papier unterscheidet sich aufgrund der Heterogenität und porösen Struktur der Zellulosefasern stark von jenen von Kunststoffmaterialien (Poças et al. 2011). Eine Vorhersage und Modellierung der Migration wie dies für Kunststoffmaterialien, bei denen eine homogene Verteilung der Migranten vorliegt, ist für Papier und Karton aufgrund der Inhomogenität der Fasermaterials nicht möglich (Lorenzini et al. 2013). Aufgrund ihres porösen Materials, sowie einem offenen Netzwerk aus Fasern mit Lufteinschlüssen bieten Papier und Karton nur wenig Widerstand gegen den Bewegungsmechanismus von migrierfähigen Substanzen (Bradley et al. 2014). Daraus resultierend erfolgt ein Diffusionstransport von Substanzen an die Kontaktfläche, wodurch das Potential für Migration erhöht wird. Der Transfer von Substanzen durch die Matrix Papier beinhaltet dabei Faktoren wie Adsorption und Desorption an den Zellulosefasern, Transfer durch die Fasern, sowie Diffusion durch die Gasphase in den

Poren, wobei zu berücksichtigen ist, dass die Migration durch die Gasphase wesentlich schneller verläuft als durch Feststoffe oder Flüssigkeiten (Poças et al. 2011). Migration beschränkt sich dabei auf Substanzen die ausreichend flüchtig sind um aus dem Verpackungsmaterial zu Verdampfen und im Packgut zu rekondensieren (Jickells et al. 2005; Lorenzini et al. 2010). Migration in das Packgut erfolgt dabei nicht nur aus der das Packgut direkt umschließenden Verpackung (Primärverpackung), sondern auch aus Überverpackungen und Transportkartons (Sekundär- und Tertiärverpackungen). Dies kann vor allem bei Produkten wie Lebensmitteln zu Problemen führen, da Über- und Transportkartons meist aus Recyclingmaterial mit hohem Anteil migrierfähiger Substanzen bestehen. Darüber hinaus gelten Sekundär- und Tertiärverpackungen nicht als Lebensmittelkontaktmaterialien, wodurch für diese Verpackungen andere Richtlinien hinsichtlich Migrationslimits gelten.

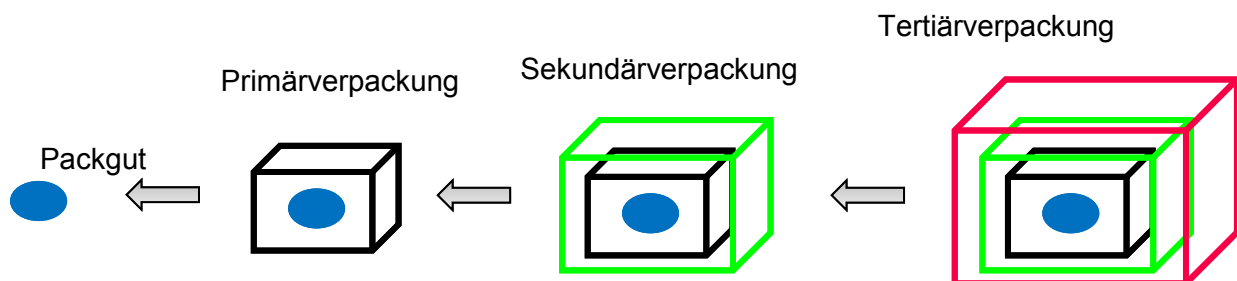


Abbildung 2: Stofftransport von Tertiär-, Sekundär- und Primärverpackung auf das Packgut

Das Ausmaß der Migration ist dabei abhängig von den physiochemischen Eigenschaften des Migranten, dem Verpackungsmaterial und dem Packgut (Barp et al. 2015a). Der Migrationsprozess ist weiters vom Dampfdruck, welcher die Migrationsrate bestimmt, dem Verteilungsgleichgewicht zwischen Verpackungsmaterial und Packgut, sowie externen Faktoren abhängig. (Mariani et al. 1999; Castle 2004; Triantafyllou et al. 2005; Zhang et al. 2008; Lorenzini et al. 2010; Poças et al. 2011). Zu den externen Faktoren zählen dabei:

- Ausgangskonzentration des/der Migranten in der Verpackung
- Art des Packgutes
- Lagertemperatur/Lagerdauer
- Vorhandensein von Barrieren
- Flächengewicht Papier

Je höher die Ausgangskonzentration der Migranten im Verpackungsmaterial ist, umso höher ist dabei die Wahrscheinlichkeit für eine hohe Migrationskonzentration. Für die Art des Packgutes gilt, dass fette oder feuchte Güter die Migration erhöhen. Das Gleiche gilt für eine erhöhte Lagertemperatur und lange Lagerdauer. Hinsichtlich der Barrieren gelten Glas und Aluminium als absolute funktionelle Barrieren (Feigenbaum et al. 2005), wogegen Barrieren

aus internen Papierverpackungen keinen Schutz bieten (Gärtner et al. 2009). Die meisten Barrieren bestehen jedoch aus Kunststoffmaterialien wie Polyethylenterephthalat (PET), Polyamid (PA), Polyethylene (PE) und Polypropylen (PP). PET und PA wirken dabei virtuell aufgrund ihrer niedrigen Diffusionsraten als absolute Barrieren für die durchschnittliche Lagerdauer vieler Produkte (Fiselier & Grob 2011). PE ist durch schlechte Barriereigenschaften charakterisiert, PP hingegen zeigt effektive Barriereigenschaften bei Umgebungstemperatur, bei erhöhter Temperatur gehen diese jedoch rasch verloren (Feigenbaum et al. 2005; Pastorelli et al. 2008). Darüberhinaus haben auch die chemischen Eigenschaften des jeweiligen Migranten einen wesentlichen Einfluss auf die Migration. Anhand von Studien der Migration unterschiedlicher Komponenten aus Papier und Karton in Tenax[®] zeigte sich, dass die Migration stark von der Polarität der migrierenden Substanz abhängig ist (Poças et al. 2011). Unpolare Substanzen equilibrieren bereits bei niedrigen Konzentration im Simulanzmaterial und die Migration wird nur schwach vom Dampfdruck beeinflusst, wogegen polare Substanzen eine wesentlich größere Abhängigkeit vom Dampfdruck zeigen und das Gleichgewicht im Simulanzmaterial erst bei wesentlich höheren Konzentrationen erreicht wird (Zurfluh et al. 2013).

4.1 Bisphenole

Bisphenole sind eine Gruppe chemischer Verbindungen die 2 Hydroxyphenyl-Gruppen aufweisen. Die Gruppe der Bisphenole beinhaltet mehrere Analoga denen gemeinsam ist, dass die beiden Hydroxyphenyl-Gruppen über ein Brückenatom miteinander verbunden sind. Dieses ist überwiegend ein Kohlenstoffatom mit Ausnahme von Bisphenol M (BPM), Bisphenol P (BPP) und Bisphenol S (BPS). Von allen Bisphenolen ist Bisphenol A, 4-[2-(4-Hydroxyphenyl)propan-2-yl]phenol (BPA), das bekannteste und am besten charakterisierte Bisphenol.

4.1.1 Bisphenol A

Bisphenol A ist eine potentiell endokrin wirksame Substanz mit schwacher Östrogenaktivität, die mit einer Vielzahl an negativen Auswirkungen auf den menschlichen Organismus in Verbindung gebracht wird (Haighthon et al. 2002; Völkel et al. 2002; Dekant & Völkel et al. 2008; von Goetz et al. 2010; Liao & Kannan 2011). Die Exposition der Menschheit gegenüber BPA ist, aufgrund des endokrinen Potentials von großem öffentlichen, als auch wissenschaftlichen Interesse (Geens et al. 2012; Liao & Kannan 2013).

Bisphenol A kommt dabei in einer Vielzahl an Bedarfsgegenständen des täglichen Gebrauchs, einschließlich Papierprodukten vor.

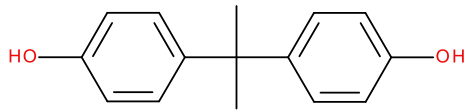


Abbildung 3: Struktur von Bisphenol A

Die Herstellung von Bisphenol A erfolgt durch säure-katalysierte Kondensation von Phenol und Aceton.

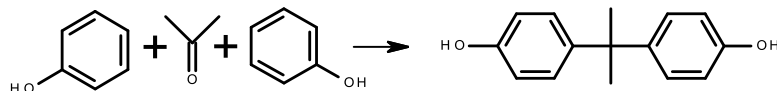


Abbildung 4: Synthese von Bisphenol A

Ein Großteil der Bisphenol A Produktion (~ 90%) wird zu Polycarbonaten und Epoxidharzen verarbeitet, der Rest wird für die Herstellung von Spezialchemikalien und weiteren Polymeren wie Phenolharzen, Phenoplasten, Polyurethan oder Polysulfonen verwendet.

Bisphenol A dient dabei primär als Monomer in der Produktion von Polycarbonaten und als Ausgangs- oder Startmaterial für Monomere bestimmter Epoxidharze (EFSA 2006).

Polycarbonate (PC) sind Kunststoffe die entweder durch Polykondensation von Phosgen mit Bisphenol A oder durch Umesterung von Diphenylcarbonat mit Bisphenol A entstehen.

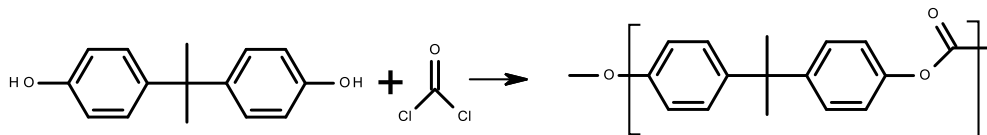


Abbildung 5: Synthese von Polycarbonat aus Bisphenol A und Phosgen

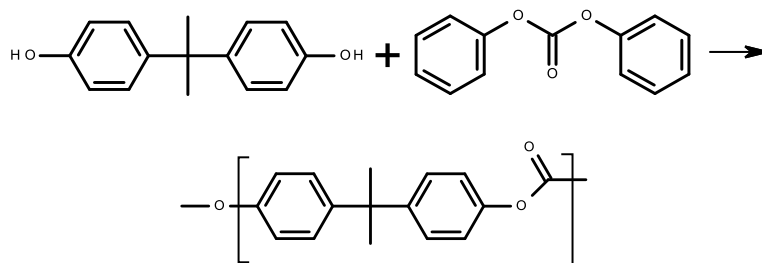


Abbildung 6: Synthese von Polycarbonat aus Bisphenol A und Diphenylcarbonat

Aufgrund ihrer Festigkeit, Steifheit und Härte, sowie Beständigkeit gegenüber wässrigen und fettigen Substanzen kommen Polycarbonate häufig als Lebensmittelkontaktmaterialien zum Einsatz. Die Anwendungsbereiche reichen dabei von Trinkflaschen über Aufbewahrungs-

boxen bis hin zu Mikrowellengeschirr. Einen Spezialfall im Bereich der Lebensmittelkontaktmaterialien stellen Kunststoffwasserleitungen aus Polycarbonat dar (Bae et al. 2002).

Epoxidharze sind härtbare Kunstharze, die durch die Umsetzung von BADGE (Bisphenol A diglycidyl ether) mit Bisphenol A entstehen. In einem ersten Schritt wird dabei BADGE als Basisepoxidharz aus Bisphenol A und Epichlorhydrin gebildet, in einem zweiten Schritt wird BADGE schließlich mit BPA zu Epoxidharzen umgesetzt (Runyon et al. 2002).

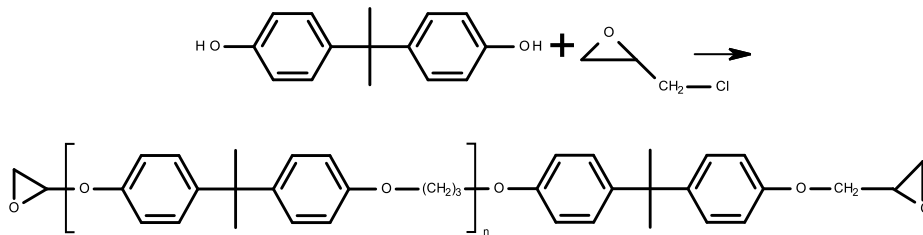


Abbildung 7: Bildung von Epoxidharzen aus Bisphenol A und Epichlorhydrin

Epoxidharze kommen bei der Produktion von Lacken auf Epoxidbasis zum Einsatz, die als Beschichtungsmaterial in Dosen, Schraubverschlüssen und Deckel zum Einsatz kommen um Produkte vor Verderb durch direktem Kontakt mit Metall zu schützen (Česen et al. 2016). Weitere Verwendung als Beschichtungsmaterialien finden Epoxidharze in Wassertanks für die örtliche Trinkwasserversorgung (Bae et al. 2002).

Weitere Anwendungsgebiete von Bisphenol A sind Antioxidans in PVC-Kunststoffen, Oberflächenbeschichtungen, Flammschutzmitteln, Druckfarben, Klebstoffen, Epoxidharzfarbstoffen, auf Harz basierende Verbundstoffen, bei der Herstellung von Reifen- und Bremsflüssigkeit, Dicht- und Füllstoffen in der Zahnmedizin, sowie Farbentwickler bei Thermodruckpapieren.

Hauptquelle von Bisphenol A in Papier sind Thermodruckpapiere. Dies sind spezielle Papiere für das Thermodruckverfahren, bei dem sich der Farbstoff am Papier durch die Einwirkung von Wärme ausbildet. Thermodruckpapiere sind im täglichen Leben allgegenwärtig, zu ihnen zählen vor allem Kassenbons, Tickets und Faxpapiere. Der Umgang mit diesen Papieren führt zu einer thermalen Aufnahme von BPA über Hautkontakt. Thermodruckpapiere bestehen aus zwei Schichten, dem Basispapier und einer thermisch sensiblen Schicht, welche einen thermochromen Farbstoff, einen Farbentwickler und ein Lösungsmittel (aliphatische Verbindungen wie Fettsäuren, Amide oder Alkohole) enthält. BPA dient dabei als Farbentwickler in der thermosensitiven Schicht (Mendum et al. 2011). Beim Druckprozess kommt es zu einer selektiven Aufheizung der zu bedruckenden Stellen des Papiers, wodurch es zu einer lösungsmittelkatalysierten Interaktion des Farbstoffes mit

dem Farbwärmer (BPA) kommt, die zu einer Farbausbildung an den selektiv aufgeheizten Stellen führt. In diesem Zusammenhang spielen auch Recyclingpapiere eine wesentliche Rolle, da anhand von Angaben der europäischen Kommission etwa 30% der Thermodruckpapiere in den Recyclingprozess gelangen, wodurch BPA in den Zyklus der Papierproduktion gelangt (Liao & Kannan 2011; Liao & Kannan 2012) und somit der BPA-Gehalt in Recyclingprodukten um ein Vielfaches höher ist als in Frischfaserprodukten (Ozaki et al. 2004). Neben den Thermodruckpapieren tragen aber auch in den Recyclingprozess eingebrachte BPA-haltige Druckfarben, Klebstoffe und Lacke zu einem erhöhten Bisphenol Gehalt in Recyclingpapieren bei.

Die Beobachtungen über eine schwache Östrogenaktivität von Bisphenol A haben zur Veranlassung zahlreicher toxikologischer Studien über das Gefahrenpotential von BPA geführt. Darüber hinaus gibt es Bedenken, dass BPA eine potentielle endokrin wirksame Aktivität aufweist, welche negative Auswirkungen auf die physische, neurologische und psychische Entwicklung von Lebewesen hat (Yi et al. 2010).

Das größte Gefahrenpotential für Konsumenten besteht durch Migration, welche auftritt, wenn eine nicht vollständige Polymerisierung stattgefunden hat und noch Restmonomere in der polymeren Matrix vorhanden sind. Unter gegebenen äußeren Einflüssen, wie Kontakt mit Säuren, Basen und fetthaltigen Substanzen oder erhöhter Temperatur sind Restmonomere äußerst zugänglich für Migration es erfolgt dabei eine Hydrolyse der, die Monomere verbindenden Esterbindungen, wodurch es zu einer „Auswaschung“ von Bisphenolen aus diversen Endprodukten kommen kann (Liao & Kannan 2011; Gallart-Ayala et al. 2013). Weiteres Potential für monomere Migration entsteht durch Depolymerisierung der polymeren Matrix als Folge von Alterungsprozessen, sowie durch die Verwendung von Bisphenolen als Additive in Lebensmittelkontaktmaterialien. Konsumenten sind Bisphenol A vor allem durch orale und dermale Aufnahme ausgesetzt, wobei die Aufnahme von BPA über die Nahrung die größte Gefahrenquelle darstellt.

Um die Exposition von Konsumenten durch die Aufnahme von BPA über die Nahrung zu bestimmen, wurden zahlreiche Studien durchgeführt, die die Migration von BPA in Nahrungsmittel mit den Nahrungsaufnahmegewohnheiten der Probanden in Relation stellten (Dekant & Völkel 2008; Von Goetz et al. 2010). Die toxikologischen Ergebnisse zeigen, dass eine rasche Biotransformation und Ausscheidung von BPA erfolgt, wodurch die Bioverfügbarkeit von BPA sehr gering ist und nur äußerst geringe Mengen an unmodifiziertem BPA, welches eine rezeptorbindende Aktivität aufweist in den Stoffwechsel gelangen. Selbst bei hohen Peak-Konzentrationen von oral aufgenommenem BPA folgt, dass die rezeptorbindende Aktivität und somit die endokrine Aktivität als sehr gering angesehen werden kann (EFSA 2006). Bezüglich der Mutagenität und Kanzerogenität von

BPA konnte keine genotoxische Aktivität, sowie erhöhte Tumorbildungsaktivität festgestellt werden, wodurch BPA anhand etlicher Studien als nicht genotixisch und kanzerogen eingestuft wird (European Commission 2002, Haighton et al. 2002).

4.1.2 Bisphenol-Analoga

Aufgrund der negativen Auswirkungen von BPA auf den menschlichen Organismus geht der Trend in Richtung der Produktion „BPA-freier“ Produkte, die Bisphenol-Analoga mit ähnlicher Struktur und Eigenschaften wie BPA, als Alternative zu BPA, enthalten. Der Term „BPA-frei“ ist dabei allerdings nicht genauer definiert.

Alternativen zu BPA sind dabei Bisphenol AF (BPAF), Bisphenol B (BPB), Bisphenol E (BPE) Bisphenol F (BPF) und Bisphenol S (BPS). Problematisch ist dabei, dass es auf Grund einer limitierten Anzahl an Studien nur wenig Information über das Gefahrenpotential und die Auswirkungen von Bisphenol-Analoga gibt. Es besteht jedoch der Verdacht, dass diese Substanzen ähnliche negative Effekte hervorrufen wie BPA (Rosenmai et al. 2014).

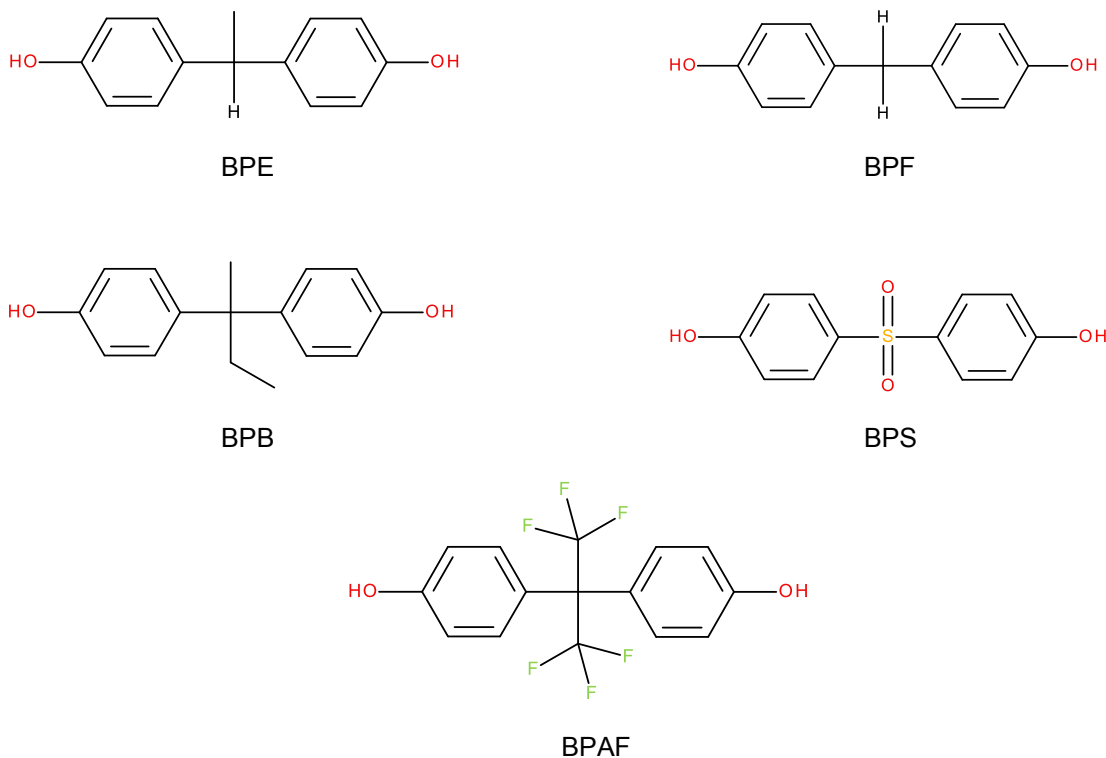


Abbildung 8: Struktur der untersuchten Bisphenol-Analoga

Bisphenol-Analoga kommen in unterschiedlichen industriellen Anwendungen zum Einsatz. BPF und BPB dienen als Alternative bei der Produktion von Epoxidharzen und Polycarbonaten für Lebensmittelkontaktmaterialien (Liao et al. 2012b; Liao & Kannan 2013;

Liao & Kannan 2014; Yang et al. 2014b). Darüber hinaus kommt BPB, wie auch BPAF bei der Produktion phenolischer Harze zum Einsatz (Cunha & Fernandes 2010; Liao & Kannan 2014; Yang et al. 2014a). Das Hauptanwendungsgebiet von BPAF ist jedoch als Quervernetzer bei der Synthese von Fluoroelastomeren (Liao & Kannan 2014; Yang et al. 2014b), Fluoropolymeren, elektronischen Bauteilen und optischen Sensoren (Konno et al. 2004; Baradie & Shoichet 2005). BPF kommt außerdem in der Massenproduktion von Polycarbonat, Polyester und Polyacrylat (Pérez-Palacios et al. 2012) zum Einsatz. BPE wird hingegen in industriellen Anwendungen als Quervernetzer bei der Produktion von Polyacrylat-Copolymeren verwendet (Wright & Paul 1997). BPS wird, neben dem Ersatz von BPA, bei der Erzeugung von Epoxidharzen, als Antikorrosionsmittel in Epoxidklebstoffen, als Monomer bei der Synthese von Polyethersulfosan und zunehmend als Additiv in Thermodruckpapieren verwendet, wo BPS BPA als Farbentwickler in der thermosensitiven Schicht ersetzt (Beccera & Odermatt 2012; Liao & Kannan 2012; Gallart-Ayala et al. 2013).

Gesetzliche Limitierungen und Einschränkungen hinsichtlich der Verwendung von Bisphenol führen zu einem schrittweisen Ersatz von BPA in industriellen Anwendungen durch Bisphenol-Analoga, die ähnliche Strukturen und Eigenschaften aufweisen, da für diese Substanzen keine gesetzlichen Regelungen festgelegt sind (Gallart-Ayala et al. 2011; Liao & Kannan 2012; Liao et al. 2012b; Yang et al. 2014a). Von signifikanter Bedeutung ist, dass diese Bisphenole dem Anschein nach nicht sicherer sind als BPA. Bisphenol-Analoga zeigen ein ähnliches toxikologisches Potential und eine ähnliche Östrogenaktivität wie BPA (Chen et al. 2002; Kitamura et al. 2005; Audebert et al. 2011; Okude et al. 2011; Feng et al. 2012; Grignard et al. 2012; Rosenmai et al. 2014). Zusätzlich zeigen Bisphenol-Analoga Effekte hinsichtlich der endokrinen und antiandrogenen Aktivität auf, sowie eine Beeinflussung des Steroid-Hormon Levels (Rosenmai et al. 2014). Diese agieren somit auf unterschiedliche Arten mit dem Endokrinsystem. BPF, BPE und BPB weisen eine leicht akute Toxizität und Genotoxizität (Liao et al. 2012b), bei einer ähnlichen Östrogenaktivität (Chen et al. 2002; Gallart-Ayala et al. 2011; Jiao et al. 2012; Gallart-Ayala et al. 2013; Yang et al. 2014b) und ähnlichen endokrinen Eigenschaften wie BPA auf (Kitamura et al. 2005; Grumetto et al. 2008). BPS zeigt zwar eine niedrigere endokrine und antiandrogene Aktivität als BPA, jedoch eine höhere Östrogenaktivität und eine gesteigerte Wirkung auf den Progesteron-Level (Rosenmai et al. 2014), vermutlich aufgrund der Polarität und des Vorhandenseins des Schwefel-Atoms in der Struktur von BPS (Rivas et al. 2002). BPAF hat ein größeres genotoxisches Potential als BPA (Lee et al. 2015) sowie einen erhöhten Einfluss auf den Testosteron-Level (Feng et al. 2012). Darüber hinaus können BPAF und BPB den Pregnan-X-Rezeptor aktivieren (Sui et al. 2012). Hinsichtlich der Umweltrelevanz zeigen einige Bisphenol-Analoga eine biologisch schlechtere Abbaubarkeit, wodurch diese Substanzen

nicht nur für den Menschen, sondern auch für die Umwelt, ein Gefahrenpotential darstellen (Ike et al. 2006; Danzl et al. 2009). Aufgrund dieser möglichen negativen Auswirkungen auf den Organismus und die Umwelt stehen diese Substanzen hinsichtlich ihrer endokrinen Aktivität bereits unter Beobachtung (Regueiro & Wenzl 2015).

4.1.3 Bisphenole in Lebensmittelkontaktmaterialien

Das größte Gefahrenpotential von Bisphenolen in Lebensmittelkontaktmaterialien besteht durch Migration. Migration tritt dann auf, wenn eine nicht vollständige Polymerisierung stattgefunden hat und noch Bisphenol Monomere in der polymeren Matrix vorhanden sind. Unter gegebenen äußeren Einflüssen, wie Kontakt mit Säuren, Basen und fetthaltigen Substanzen oder erhöhter Temperatur sind Restmonomere äußerst zugänglich für Migration. Unter sauren und basischen Bedingungen erfolgt eine Hydrolyse der Esterbindungen, die die Bisphenol Monomere verbinden, wodurch es zu einer „Auswaschung“ von Bisphenolen aus diversen Endprodukten kommen kann (Liao & Kannan 2011; Gallart-Ayala et al. 2013). Weiteres Potential für monomere Migration entsteht durch Depolymerisierung der polymeren Matrix als Folge von Alterungsprozessen, sowie durch die Verwendung von Bisphenolen als Additive in Lebensmittelkontaktmaterialien.

4.1.4 Gesetzliche Richtlinien und Regulierungen von Bisphenolen

Unter allen Bisphenolen ist BPA das einzige Bisphenol für das gesetzliche Limits hinsichtlich einer maximalen täglichen Aufnahme (TDI – Tolerable Daily Intake) und einer maximal erlaubten Migration festgelegt sind. Eine behördliche Evaluierung von Bisphenol A liegt von Seiten der europäischen Lebensmittelsicherheitsaufsichtsbehörde (EFSA - European Food Safety Authority) vor. Diese hat erst kürzlich, aufgrund der vermuteten zahlreichen negativen Auswirkungen auf den menschlichen Organismus mit denen BPA in Verbindung gebracht wird, den TDI auf 4 µg/kg Körpergewicht pro Tag reduziert (EFSA 2015a).

Eine erste Risikobeurteilung von BPA erfolgte 1984 vom Scientific Committee on Food (SCF), für die Verwendung von BPA in Plastikmaterialien und Artikeln die in Kontakt mit Lebensmitteln stehen. Dabei wurde anhand von an Nagetieren durchgeführten Studien ein Richtwert für den TDI von 50 µg/kg Körpergewicht/Tag festgelegt. Dieser Wert bezog sich auf einen NOAEL-Wert (Non-observed-Adverse-Effect Level) von 25 mg/kg Körpergewicht, der anhand von Studien an Ratten ermittelt wurde. Der NOAEL-Wert entspricht dabei der

höchsten Dosis eines Stoffes bei dem keine schädigende Wirkung in Bezug auf Wachstum, Entwicklung oder Lebensdauer eines Individuums beobachtet wird. Die Bestimmung des NOAEL-Wertes erfolgt immer auf Grundlage der sensibelsten Studie an den sensibelsten Probanden. Auf Grund von nicht vorhandenen vollständigen Datenbanken wurde seinerzeit zur Bestimmung des TDI zusätzlich ein Unsicherheitsfaktor von 500 angewandt. Im Regelfall wird hingegen ein Sicherheitsfaktor von 100 angewandt.

2002 erfolgte schließlich eine Reevaluierung von BPA aufgrund der Erfahrung zahlreicher neuer Studien. In Folge dessen wurde der TDI auf einen Wert von 10 µg/kg Körpergewicht/Tag, bezogen auf einen neuen NOAEL-Wert von 5 mg/kg Körpergewicht herabgesetzt.

2006 erfolgte erneut eine Reevaluierung von BPA in dessen Folge der TDI wieder auf 50 µg/kg Körpergewicht/Tag hinaufgesetzt wurde, da der Sicherheitsfaktor von 500 als nicht mehr notwendig erachtet wurde und durch den Regelfaktor von 100 ersetzt wurde. Auf Basis einer neuerlichen Bewertung der Risiken wurde der TDI 2014 auf einen temporären Wert (t-TDI) von 5 µg/kg Körpergewicht/Tag herabgesetzt (EFSA 2014). 2015 erfolgte schließlich eine weitere Herabsetzung dieses Wertes auf einen t-TDI von 4 µg/kg Körpergewicht /Tag (EFSA 2015a), der bis heute gültig ist. Dieser Wert ist jedoch weiterhin als temporärer Wert definiert, da die Festlegung eines fixen Wertes vom Ausgang einer Langzeitstudie abhängig ist, die verbleibende Unsicherheiten in Bezug auf die potentiell gesundheitsgefährdenden Eigenschaften von BPA aufklären soll (EFSA 2015b).

Darüber hinaus wurde vom Council of Europe ein spezifisches Migrationslimit (SML) für BPA aus allen Lebensmittelkontaktmaterialien von 0,6 mg/kg Lebensmittel festgelegt (Council of Europe 2009). Dies entspricht einem maximal erlaubten Übergang (QM-Wert - maximum permitted quantity) von 0,1 mg/dm² Papier, welches in direktem Kontakt mit dem Lebensmittel steht. Das spezifische Migrationslimit für BPA beruht allerdings auf einer EU-Richtlinie für Plastikmaterialien die Kontakt in mit Lebensmitteln stehen, die ein gänzlich anderes Migrationsverhalten aufweisen als Papier.

Hinsichtlich Bisphenol-Analoga sind keine gesetzlichen Richtlinien festgelegt, mit Ausnahme von BPS, für welches, bezogen auf die Zulassung von BPS als Monomer in Lebensmittelkontaktmaterialien aus Kunststoff, in der Europäischen Regulation EC 10/2011 ein spezifisches Migrationslimit von 0,05 mg/kg Lebensmittel festgelegt ist (European Commission 2011). Die Festlegung dieses SML beruht dabei jedoch auf Basis der niedrigen Migrationsraten von BPS (Geuke 2014), da vom Scientific Committee on Food veranschlagt wurde, dass für BPS kein TDI festgelegt werden konnte (SCF 2000).

4.1.5 Analytische Methoden zur Bestimmung von Bisphenolen in Verpackungspapieren

Die Analyse von Kontaminanten in Verpackungsmaterialien für sensible Produkte ist aufgrund geringer Konzentrationen der Zielverbindungen in Kombination mit komplexen Matrices meist eine große Herausforderung. Vor allem bei allgegenwärtigen Kontaminanten wie Bisphenolen gilt es Kreuzkontaminationen über alle analytischen Schritte hindurch, angefangen bei der Probenahme bis hin zur Analyse, zu vermeiden. Aus diesem Grund sollten ausschließlich inerte Materialien wie Glas oder Aluminiumfolie bei der Probenaufarbeitung zum Einsatz kommen, da es bei Kunststoffmaterialien zu einer möglichen Freisetzung von Bisphenolen aus den Probengefäßen kommen kann.

Aufgrund der gesetzlichen und toxikologischen Anforderungen sind hoch sensitive und selektive analytische Methoden notwendig um Bisphenole in Konzentrationsbereichen bis in den Bereich von ng/kg Papier zu analysieren. Die analytische Bestimmung von BPA im Spuren- und Ultraspurenbereich basiert auf unterschiedlichen gas- und flüssigchromatographischen Methoden. Am häufigsten kommen Gaschromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie (GC-MS) oder tandem-Massenspektrometrie (GC-MS/MS) und Flüssigchromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie (LC-MS) oder tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS) zum Einsatz (Chen et al. 2012). Im Vergleich zu single-MS ist tandem-MS (MS/MS) empfindlicher und selektiver, da durch die Auswahl adäquater Precursor- und Produktionen Matrixinterferenzen reduziert oder im besten Fall entfernt werden (Sánchez-Avila et al. 2011). Besonders bei komplexen Matrices werden anhand von MS/MS niedrigere Nachweis- und Quantifizierungslimits (Limit of Detection - LOD und Limit of Quantification – LOQ) erzielt (Kelly 2000; Jeannot et al. 2002; Quintana et al. 2004; Stanford & Weinberg 2007). Methoden basierend auf tandem-MS sind dabei ungefähr um den Faktor 10 empfindlicher als eine single-MS Detektion (Jeannot et al. 2002). Flüssigchromatographie kann außerdem in Kombination mit Fluoreszenzdetektion (FLD) oder Diodenarraydetektion angewandt werden (Razae et al. 2009; Yi et al. 2010; Santillana et al. 2011). Allerdings sind diese Methoden häufig durch eine schlechte Selektivität und Sensitivität charakterisiert, was zu hohen Detektionslimits und führt. Aus diesem Grund wird eine Kopplung mit Massenspektrometrie bevorzugt. Flüssigchromatographische Methoden haben den Vorteil, dass die Bestimmung von BPA direkt, ohne Derivatisierung erfolgen kann. Allerdings sind diese Methoden im Vergleich zur GC häufig durch eine schlechtere Selektivität, Sensitivität und Auftrennung aufgrund von Ionensuppressionsreaktionen charakterisiert (Tsukioka et al. 2003). Vor allem Elektrosprayionisation (ESI) ist anfällig für eine reduzierte Empfindlichkeit aufgrund von Ionensuppression (Gómez et al. 2007; Albero

et al. 2012). Aufgrund von Ionensuppression und Ionenverstärkung wird auch der Matrixeffekt verstärkt. Vor allem für die Analyse von komplexen Proben, wie Papierextrakten ist Ionensuppression sehr wahrscheinlich (Gómez et al. 2007).

Gaschromatographische Methoden erfordern hingegen eine Derivatisierung, sind jedoch durch eine erhöhte Selektivität, Sensitivität und Trennbarkeit charakterisiert. Eine Derivatisierung überführt die Zielanalyten in flüchtigere, thermisch stabilere Verbindungen, wodurch es zu einer Erhöhung der Selektivität und Sensitivität der Analyse kommt (Jeannot et al. 2002; Gómez et al. 2007). Die Derivatisierung von Bisphenolen erfolgt dabei überwiegend mittels Silylierung oder Halid-Alkylierung. Die am häufigsten verwendeten Silylierungsreagenzien sind Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamid (BSTFA), mit oder ohne Trimethylchlorsilan (TMCS) als Katalysator (Hernando et al. 2004; Hibberd et al. 2009; Fenlon et al. 2010; Kosarac et al. 2012; Albero et al. 2012; Lu et al. 2012), N-Methyl-N-(trimethylsilyl)trifluoroacetamid (MSTFA) (Yu et al. 2007) und N-*tert*-Butyldimethylsilyl-N-methyltrifluoroacetimid (MTBSTFA) (Kosjek et al. 2007). Eine Alternative zur Silylierung ist eine Halid-Alkylierung mit polyhalogenierten Derivatisierungsreagenzien, wobei überwiegend Pentafluorobenzylbromid (Tsukioka et al. 2003; Kuklennyik et al. 2003; Möder et al. 2007; Zhao et al. 2009) oder Pentafluorobenzoylchlorid (Kuch & Ballschmiter 2001; Boitsov et al. 2004; Geens et al. 2009; Li et al. 2010) zur Verwendung kommen. Eine weitere Möglichkeit der Derivatisierung wäre eine Acetylierung mit Acetanhydrid (Jiao et al. 2012). In Abhängigkeit der Art der Derivatisierung erfolgt eine unterschiedliche Anregung der Verbindungen in Bezug auf eine MS-Detektion, wobei eine Anregung entweder mittels Elektronenstoßionisation (EI), in Kombination mit Silylierung (Hernando et al. 2004; Hibberd et al. 2009; Fenlon et al. 2010; Kosarc et al. 2010; Albero et al. 2012; Lu et al. 2013), oder negativ chemischer Ionisation (NCI), in Kombination mit Halid-Alkylierung (Kuch & Ballschmiter 2001; Tsukioka et al. 2003; Möder et al. 2007; Zhao et al. 2009; Geens et al. 2009; Li et al. 2010), erfolgt. Eine Anregung mittels EI ist dabei die wesentlich weiter verbreitete Technik, allerdings können Hintergrundinterferenzen, sowie eine Vielzahl an Fragmenten, die mittels EI erzeugt werden, die Sensitivität der Zielverbindungen herabsetzen, was die Analyse von Bisphenolen im Spuren- und Ultraspurenbereich erschwert (Zhao et al. 2009). Ein weiterer Nachteil der Silylierung ist ihre geringe Stabilität auf Grund von Hydrolyse (Möder et al. 2007). Eine Anregung mittels NCI beruht dabei auf einer Elektroneneinfangreaktion, wodurch diese hoch selektiv und sensitiv für Verbindungen mit hoher Elektronenaffinität, wie dies z.B. bei polyhalogenierten Verbindungen der Fall ist. Durch die Derivatisierung mit Pentafluorobenzylbromid und Pentafluorobenzoylchlorid entstehen dabei hoch elektrophile Derivate mit hoher Empfindlichkeit für negativ chemische Ionisation (Yoshimura et al. 2002).

4.2 Mineralölkohlenwasserstoffe

Mineralölkohlenwasserstoffe (mineral oil hydrocarbons – MOH's) haben ihren Ursprung in der Mineralöldestillierung und –raffination und gelangen meist beim Herstellungsprozess, sowie bei der Bedruckung und Verarbeitung von Papier in das Verpackungsmaterial. MOH's sind eine äußerst komplexe Mischung aus Kohlenwasserstoffen unterschiedlicher Struktur und Kohlenstoffanzahl, meist zwischen 10 und 50 Kohlenstoffatomen. MOH's unterscheiden sich dabei in gesättigte (mineral oil saturated hydrocarbons – MOSH) und aromatische Mineralölkohlenwasserstoffe (mineral oil aromatic hydrocarbons – MOAH). MOSH beinhalten aliphatische (Paraffine) und cyclische Kohlenwasserstoffe (Cycloalkane, Naphthene), die sowohl linear als auch verzweigt vorliegen, bzw. eine Seitenkettenalkylierung aufweisen. MOAH bestehen hingegen aus hochalkylierten aromatischen Ringen, mit bis zu 5 aromatischen Ringen.

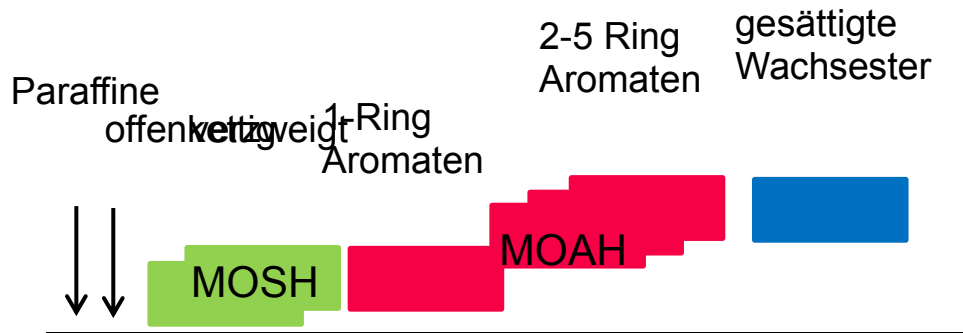


Abbildung 9: Übersicht Verteilung MOSH - MOAH

Die aromatische Fraktion steht dabei unter Verdacht mutagene und karzinogene Verbindungen zu enthalten (Vollmer et al. 2011; Moret et al. 2014). Generell erfolgt eine Klassifizierung von Mineralölen in mikrokristalline Wachse, niederschmelzende Wachse, hochviskose Mineralöle und mittel- und niederviskose Mineralöle, wobei man bei mittel- und niederviskosen Mineralölen zwischen 3 Klassen unterscheidet. Mineralöle der Klasse I haben eine relative Masse von 480-500 Da, bei einer Kohlenstoffanzahl $\geq n-C_{25}$ bei einem 5% Destillationspunkt. Klasse II und III Mineralöle haben eine relative Masse von 400-480 Da bzw. 300-400 Da, bei einer Kohlenstoffanzahl $\geq n-C_{22}$, respektive $\geq n-C_{17}$ bei einem 5% Destillationspunkt (JECFA 2002). Mineralöle der Klasse I gelangen dabei fast ausschließlich über Kontakt durch Benetzung oder Abscheidung bestimmter Substanzen aus der Luft in Lebensmittel (Neukom et al. 2002). Mineralöle der Klasse II und III gelangen hingegen über die Gasphase in Lebensmittel (Biedermann & Grob 2012):

Ausreichend flüchtige Mineralölbestandteile verdampfen dabei langsam aus der Verpackung und migrieren in das Packgut. Eine der Hauptquellen für Mineralölverbindungen in

Papierprodukten sind Druckfarben. Insbesondere Offset-Druckfarben auf Mineralölbasis, wie sie im Zeitungsdruck angewandt werden, enthalten hohe Konzentrationen von Mineralölkohlenwasserstoffen. Druckfarben auf Mineralölbasis bestehen dabei aus einem Trägersystem aus Harzen, pflanzlichen Ölen und hoch siedenden Mineralölprodukten, in dem die farbgebenden organischen Pigmente enthalten sind, wobei der Anteil der Mineralölbestandteile 20-30% beträgt (Droz & Grob 1997). Diese gelangen entweder durch direkte Applikation oder durch Recycling kontaminierter Fasern in das Verpackungsmaterial. Recyclingfasern, die für die Produktion von Verpackungen herangezogen werden enthalten verschiedene Arten von Mineralölbestandteilen. Neben Lösungsmitteln von Offsetdruckfarben sind dies Wachse zur Erhöhung der Wasserresistenz von Papier, sowie Mineralölbestandteile aus Klebstoffen, Verdünnungs- und Bindemitteln (Vollmer et al. 2011).

Eine nennenswerte Migration bei Umgebungstemperatur findet bei Kohlenwasserstoffen bis $n-C_{24}$ statt, wovon bis zu 70% in das Packgut migrieren. Weiters findet eine merkbar erhöhte Migration bis $n-C_{28}$ statt (Biedermann & Grob 2010; Lorenzini et al. 2010). Dabei wird davon ausgegangen, dass die Konzentration an MOH's $<n-C_{24}$ zum Zeitpunkt des Verpackens das Potential der Migration darstellt. Ausgehend davon, sowie der Tatsache, dass bei einer Migration von 70-80%, das maximale „Migrationspotential“ erreicht ist, lässt sich der Fortschritt der Migration bei Raumtemperatur bestimmen (Lorenzini et al. 2013). Eine maximale Migration von 70-80% beschreibt den „worst case“ und wird nur unter bestimmten Voraussetzungen, wie einer ausreichend langen Lagerdauer bei Umgebungstemperatur bzw. erhöhter Temperatur, Abwesenheit von Barrieren, sowie Lagerbedingungen die ein Ausdampfen der Substanzen in die Umgebungsluft minimieren, erreicht (Vollmer et al. 2011).

Migrationstests in Tenax[®] eignen sich dabei nicht, um die Langzeitmigration von Mineralölkohlenwasserstoffen in trockene Lebensmittel zu testen, da Tenax[®] für MOH's ein zu starkes Absorbens ist und es in Experimenten zu einer Überbestimmung bis um den Faktor 27 kam (Zurfluh et al. 2013). In weiterer Folge sind auch die Testbedingungen wie sie in der EU-Regulation 10/2011 (European Commission 2011) festgelegt sind ungeeignet.

Um die Langzeitlagerung von trockenen Lebensmitteln mit einer Haltbarkeit von bis zu mehreren Jahren zu simulieren, werden zur Durchführung routinemäßiger Migrationstest erhöhte Temperaturen bei verkürzter Lagerdauer angewandt. Die Beschleunigung der Migration durch Erhöhung der Temperatur führt jedoch dazu, dass es zur Migration von Kohlenwasserstoffen kommt, die bei Raumtemperatur keine signifikante Migration aufweisen (Zurfluh et al. 2013). Zusätzlich verlieren Barrieren wie z.B. Polypropylen (PP) bei erhöhten Temperaturen ihre Eigenschaften als Barriere. Für die Migration von Mineralölverbindungen aus Verpackungen ist es technisch somit einfacher und schneller den Gehalt an MOSH und

MOAH im Papierprodukt zu analysieren und die zu erwartende Migration anhand der Einschätzung, dass 70-80% an MOSH und MOAH $<n-C_{24}$ in das Produkt migrieren, zu berechnen (Zurfluh et al. 2013).

Die Toxizität von Mineralölverbindungen hängt dabei von der Molekulargewichtsverteilung, sowie vom Ausmaß der aromatischen Fraktion ab, da diese die vermutlich größte Toxizität aufweist (Purcaro et al. 2016). Die Toxizität der MOSH ist dabei strittig, es ist jedoch unumstritten, dass diese im menschlichen Gewebe akkumuliert und entzündliche Prozesse hervorruft, sowie Mikrogranulome bildet (Vollmer et al. 2011; EFSA 2012; Moret et al. 2014). MOSH sind dabei die quantitativ dominierende Kontaminantengruppe im menschlichen Körper, deren Gesamtkonzentration im Gewebe bis zu 1000 mg/kg überschreiten kann (Biedermann et al. 2015). Die Menge der Akkumulation einzelner Verbindungen der MOSH ist dabei umgekehrt proportional zur Länge der Kohlenstoffkette der jeweiligen Verbindung (Purcaro et al. 2016). Die aromatische Fraktion hingegen steht unter Verdacht mutagene und karzinogene Verbindungen zu enthalten (Vollmer et al. 2011; EFSA 2012; Moret et al. 2014), wodurch besonderes wissenschaftliches Interesse auf der Zusammensetzung dieser Fraktion liegt.

4.2.1 Gesetzliche Richtlinien und Regulierungen von Mineralölkohlenwasserstoffen

Derzeit gibt es keine gesetzlichen Limits für den Gehalt an Mineralölbestandteilen in Verpackungsmaterialien und Lebensmitteln.

2002 veröffentlichte das FAO/WHO Joint Expert Committee for Food Additives (JECFA) eine Gruppe temporärer Werte für die akzeptierbare tägliche Aufnahme (acceptable daily intake – ADI) für MOSH (JECFA 2002). Diese Werte beziehen sich auf den Flüchtigkeitsbereich von $n-C_{16}$ bis $n-C_{35}$, jenen Bereich der für die Migration von MOH's aus Verpackungsmaterialien relevant ist. Für hoch viskose Mineralöle (Mineralöle mit einem Molekulargewicht > 500 Da) wurde ein ADI von 0-20 mg/kg Körpergewicht festgelegt. Für mittel- und niederviskose Mineralöle (Mineralöle der Klasse I, II und III) wurde ein Wert von 10 mg/kg Körpergewicht für Mineralöle der Klasse I und 0-0,01 mg/kg Körpergewicht für Mineralöle der Klasse II und III festgelegt. Die weitaus höhere akzeptierbare tägliche Aufnahme für hoch viskose Mineralöle (0-20 mg/kg) und Mineralöle der Klasse I (10 mg/kg) basiert auf der Tatsache, dass bei diesen Mineralölen ein Übergang in das Produkt fast ausschließlich über direkten Kontakt erfolgt (Neukom et al. 2002). Zusätzlich erfolgt keine

signifikante Aufnahme von Mineralölen mit dementsprechend hohem Molekulargewicht über den menschlichen Gastrointestinaltrakt (Dima et al. 2011).

Die Evaluierung der JECFA basiert dabei allerdings auf raffiniertem Weißöl, welches frei von MOAH ist. Mineralöle in Recyclingprodukten und Druckfarben sind hingegen von technischer Reinheit mit einem entsprechenden aromatischen Anteil von 15-20%, der in Ausnahmefällen bis zu 50% ausmachen kann (Biedermann & Grob 2010; Lorenzini et al. 2010).

Anhand des temporären ADI und der konventionell gültigen Annahme, dass 1 Person mit einem Körpergewicht von 60 kg täglich 1 kg, des mit der jeweiligen Substanz verunreinigten Lebensmittels zu sich nimmt, wurde für Mineralöle der Klasse II und III ein Migrationslimit für MOSH von 0,6 mg/kg Lebensmittel bestimmt (Biedermann & Grob 2012). Eine direkte Bestimmung des Migrationslimits für MOAH konnte aufgrund des fehlenden ADI für diese Substanzklasse nicht durchgeführt werden. Obwohl für eine Vielzahl an Analysen keine quantitativen Daten bezüglich der MOAH verfügbar sind, lässt sich die Konzentration an MOAH anhand der typischen Mineralölzusammensetzung bestimmen (Purcaro et al. 2016). Anhand dieser Abschätzung wurde auch das Migrationslimit für MOAH ermittelt. Ausgehend von einem geschätzten Anteil von 20% MOAH in der gesamten Mineralölfraction wurde in Bezug auf das Limit für MOSH von 0,6 mg/kg, ein Limit von 0,15 mg/kg MOAH ermittelt (Biedermann & Grob 2010).

2010, und in weiterer Folge 2012 wurden von der European Food Safety Authority (EFSA) Berichte zur wissenschaftlichen Meinung von Mineralölkohlenwasserstoffen in Lebensmitteln (scientific opinion on mineral oil hydrocarbons in food) veröffentlicht. Diese basieren auf toxikologischen Daten aus der Literatur, sowie Risikoabschätzungen anhand von Konzentrationen analysierter Produkte vom Markt des davorliegenden letzten Jahrzehnts (EFSA 2010; EFSA 2012). Die von der EFSA veröffentlichten Berichte hinterfragten die von der JECFA festgelegten ADI's und es wurde eine Überarbeitung dieser von der EFSA angekündigt. In Bezug auf diese Stellungnahme der EFSA widerrief auch die JECFA ihre 2002 festgelegten temporären ADI's (JECFA 2012). Bis heute konnten jedoch aufgrund der Tatsache, dass für genotoxische Substanzen keine sichere Dosis angegeben werden kann, sowie fehlender wissenschaftlicher Daten in Bezug auf die Akkumulation im menschlichen Körper, keine neuen ADI's festgelegt werden (Purcaro et al. 2016). Die Limits von 0,6 mg/kg für MOSH, respektive 0,15 mg/kg für MOAH werden jedoch weiterhin als Bezugspunkt für die Festlegung des Detektionslimits bei analytischen Methoden herangezogen (Zurfluh et al. 2014). 2011 wurde diesbezüglich vom BfR (Bundesamt für Risikobewertung) ein temporärer Grenzwert für MOSH von n-C₁₀ bis n-C₁₆ von 12 mg/kg festgelegt. Dieser Wert beruht auf der Basis, dass MOSH in diesem Molekulargewichtsbereich nicht im menschlichen Körper akkumulieren (BfR 2011b). 2012 wurde ein zusätzlicher temporärer Grenzwert, basierend

auf Bioakkumulationsdaten von Tieren, von 4 mg/kg für die darauffolgende MOSH Fraktion von n-C₁₇ bis n-C₂₀ empfohlen (BfR 2012a). In einer Studie von Barp et al. 2014 wurde allerdings gezeigt, dass Daten die aus Tierstudien gewonnen werden zu einer deutlichen Unterbestimmung der Akkumulation an MOSH im menschlichen Körper führen (Barp et al. 2014). Die Tatsache, dass die Toxizität der MOSH nicht vollständig aufgeklärt ist, sowie ein Mangel an entsprechenden Daten, verhindert somit die Einführung von ADI's für die entsprechenden unterschiedlichen Molekulargewichtsbereiche der MOSH, die als Lebensmittelkontaminanten auftreten (Moret et al. 2016). Es wurde allerdings erst kürzlich festgestellt, dass die MOSH-Fraktion, mit bis zu über 10 g pro Person, zu den quantitativ größten Gruppen an Kontaminanten im menschlichen Körper zählt (Barp et al. 2014; Biedermann et al. 2015).

Hinsichtlich der MOAH gibt es keine anerkannte toxikologische Evaluierung, obwohl einige alkylierte polyaromatische Verbindungen ein karzinogenes Potential aufweisen (Biedermann & Grob 2012). Es gibt allerdings keine Einschätzung über den Anteil der genotoxischen Verbindungen in der MOAH, die das Potential haben in Lebensmittel und andere sensible Produkte zu migrieren (BfR 2009), wodurch keine ADI's festgelegt werden können. Schlussfolgernd sollten MOAH somit überhaupt nicht in Lebensmitteln vorkommen (EFSA 2012).

4.2.2 Analytische Methoden zur Bestimmung von Mineralölkohlenwasserstoffen in Papierprodukten

Die Herausforderung bei der Analyse von MOH's besteht einerseits in der Trennung von MOSH und MOAH mittels Flüssigchromatographie (LC) oder Festphasenextraktion (solid phase extraction - SPE), andererseits bei der darauffolgenden gaschromatographischen Analyse der beiden Fraktionen, da diese nicht als einzelne Separate Verbindungen sondern als nicht aufgelöste sogenannte „Mineralölberge“ eluieren.

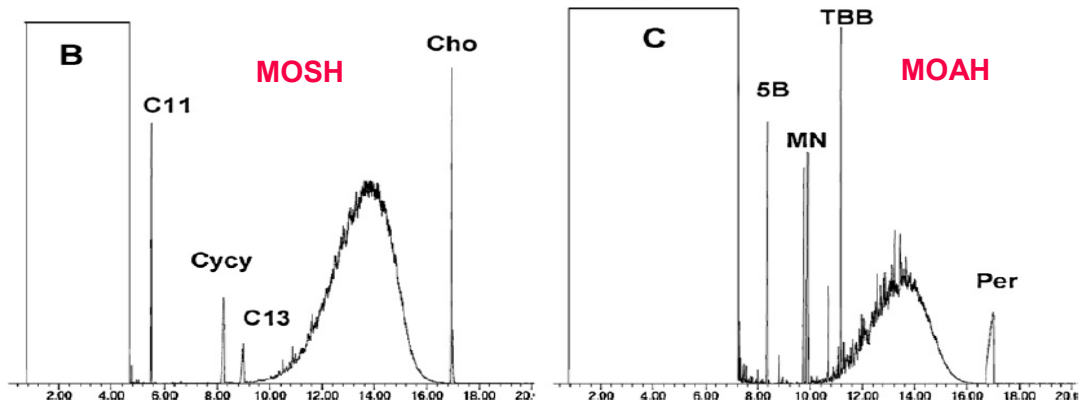


Abbildung 10: Nicht aufgelöster Mineralölberg der MOSH und MOAH

4.2.2.1 Flüssigchromatographisch – Gaschromatographische Analyse

Da die beiden Fraktionen eine unterschiedliche toxikologische Relevanz aufweisen, ist es von Bedeutung beide Fraktionen getrennt zu analysieren. Die am häufigsten angewandte Methode zur Trennung und Analyse von MOSH und MOAH ist eine on-line Kopplung Flüssigchromatographie – Gaschromatographie mit Flammenionisationsdetektion (on-line liquid chromatography-gas chromatography-flame ionisation detection (LC-GC-FID) (Biedermann et al. 2009)

Die Separation von MOSH und MOAH kann dabei sowohl on-line, LC gekoppelt mit GC (Biedermann et al. 2009; Tranchida et al. 2011; Biedermann & Grob 2012; Barp et al. 2013), oder off-line mittels nicht gekoppelter LC, oder SPE, in Form einer mit adäquaten Sorbens (meist Silbernitrat/Kieselgel) gefüllten Glassäule erfolgen (BfR 2011a; Moret et al. 2011; Moret et al. 2012; Fiselier et al. 2013). Die Trennung von MOSH und MOAH mittel LC erfolgt dabei auf einer Normalphasen HPLC. On-line LC-GC hat dabei den Vorteil, einer hohen Trenneffizienz bei gleichzeitigem hohen Probendurchsatz. Einerseits wird sowohl der Lösungsmittelverbrauch, als auch die Probenmanipulation verringert, wodurch die Reproduzierbarkeit erhöht wird, andererseits kommt es dabei zu einer Limitierung der Sensitivität, welche durch die Kapazität der LC Säule bestimmt wird (Moret et al. 2011; Purcaro et al. 2016). Ein weiterer Vorteil der on-line Kopplung ist der Transfer der gesamten Fraktion, bei einem wesentlich höheren Probendurchsatz, nachteilig allerdings ist, dass eine dementsprechend komplexe Instrumentation nur in wenigen Laboren zur Verfügung steht (Moret et al. 2012). Zusätzlich wird die gesamte Fraktion transferiert, wodurch weiterführende Analysen der einzelnen Fraktionen nicht möglich sind. Der Übergang von Flüssig- zu Gaschromatographie erfolgt dabei meist über Retention-Gap-Techniken (Biedermann & Grob 2012; Purcaro et al. 2012) oder anhand von auf injektionsbasierenden

programmierten Temperaturverdampfern (programmed temperature vaporizer – PTV) (Tranchida et al 2011; Mondello et al. 2012).

Off-line Methoden hingegen benötigen zumeist eine Konzentrierung der Probe nach LC oder SPE Elution, mit Ausnahmen für äußerst hoch kontaminierte Proben. Für die gaschromatographische Analyse ist zusätzlich eine large-volume Injektion (LVI) erforderlich, um eine ausreichend hohe Sensitivität zu erreichen. Gleichzeitig wird dabei der Verlust an flüchtigen Substanzen minimiert, der bei einer Konzentrierung der Proben auf kleine Volumina auftreten kann. Die LVI wird dabei entweder über eine on-column Injektion (OCI) mit Retention-Gap-Technik oder als hot-splitless Injektion mit gleichzeitiger Lösungsmittelrekondensation durchgeführt (Moret et al. 2012).

Die gaschromatographische Analyse mittels Flammenionisationsdetektor hat den Vorteil, dass eine quantitative Bestimmung von Kohlenwasserstoffen, die nicht als Standardsubstanzen verfügbar sind, möglich ist, da der FID dieselbe Response pro Masseneinheit für alle gesättigten Kohlenwasserstoffe gibt und die Response für aromatische Kohlenwasserstoffe nur geringfügig höher ist (Biedermann & Grob 2012). Der geringeren Selektivität und Sensitivität einer FID-Detektion ist allerdings mit entsprechender Probenvorbereitung und exakter Separation von MOSH und MOAH entgegenzuwirken, um sicherzustellen, dass ausschließlich MOSH oder MOAH den Detektor erreichen. Um eine quantitative Analyse durchführen zu können sind 50-100 ng MOSH oder MOAH erforderlich (Biedermann & Grob 2012). Aufgrund der FID-Detektion ist außerdem keine Identifizierung der Verbindungen möglich, wodurch auf diesem Weg ausschließlich eine Summenquantifizierung von MOSH und MOAH erfolgen kann. Dazu werden die „Mineralölberge“ der jeweiligen Fraktion als Gesamtes integriert und der jeweiligen Fraktion nicht zugehörige Verbindungen subtrahiert. Bezüglich der MOSH, welche eine Serie scharfer Signale über dem nicht aufgelösten Mineralölberg bildet gilt, dass sämtliche Signale der MOSH zuzurechnen sind. Hinsichtlich der MOAH hingegen wird davon ausgegangen, dass scharfe Signale nicht der MOAH angehören, da diese ausschließlich Haufen bilden (BfR 2012b). Der jeweiligen Fraktion nicht zugehörige Verbindungen ragen dabei als sogenannte „Aufsitzer“ aus dem Mineralölberg heraus und werden separat integriert und subtrahiert. Zu den der MOAH nicht zugehörigen Verbindungen zählen neben den internen Standards, Diisopropylnaphthaline (DIPN), aus Abietin- und Pimarsäure abgeleitete Kohlenwasserstoffe und Squalen, sowie Harze und andere Syntheseprodukte (BfR 2012b). DIPN wird in großen Mengen für selbst-durchschreibende Papiere verwendet und gelangt somit über den Recyclingprozess in Papierprodukte. Obwohl es sich bei DIPN um Verbindungen handelt die auch in Mineralölen vorkommen könnten, werden sie nicht der MOAH angerechnet, da sie synthetisch gewonnen werden. Bei aus Abietin- und Pimarsäure abgeleiteten Kohlenwasserstoffen (tricyclische

Verbindungen, häufig mit einem aromatischen Ring) handelt es sich um ungesättigte Kohlenwasserstoffe aus Holz und bei der Holzverarbeitung gewonnenen Produkten.

Aufgrund derselben Response für alle Kohlenwasserstoffe ist es möglich den gesamten „Mineralölberg“ mit einer einzigen Kohlenwasserstoffverbindung als interner Standard zu quantifizieren, wodurch Kalibrationsprobleme, die in Zusammenhang mit Massenspektrometrie entstehen vermieden werden. Um eine Summenquantifizierung zu erleichtern werden bei der gaschromatographischen Analyse sehr steile Temperaturrampen gefahren, wodurch sich die Elutionsdauer der Mineralölverbindungen verkürzt und steilere und schmälere "Mineralölberge" erhalten werden.

Durch eine eventuelle unvollständige Trennung der beiden Fraktionen kann es zu einem Vorliegen von den jeweiligen Fraktionen nicht zugehörigen Verbindungen (z.B.: gesättigte Kohlenwasserstoffe in der MOAH Fraktion und aromatische Verbindungen in der MOSH Fraktion) kommen, wodurch eine Summenquantifizierung zu falsch positiven Werten führen kann.

Die toxikologische relevante Fraktion der MOSH eluiert in einem Bereich von $n\text{-C}_{16}$ bis $n\text{-C}_{35}$, eine wesentliche bzw. merkbare Migration bei Umgebungstemperatur über einen ausreichend langen Zeitraum findet jedoch nur bis $n\text{-C}_{24}$ bzw. $n\text{-C}_{28}$ statt. Daraus kann geschlossen werden, dass MOSH größer $n\text{-C}_{28}$ in Lebensmitteln nicht aus dem Verpackungsmaterial, sondern aus anderen Quellen, wie einer Kontamination des Produktes vor der Verpackung stammen und aus toxikologischer Sicht vernachlässigbar sind (Biedermann & Grob 2010; Dima et al. 2011). Zur Bestimmung der Summe an MOSH in Verpackungsmaterialien wird somit eine Fläche von $n\text{-C}_{16}$ bis $n\text{-C}_{28}$ herangezogen. Diese Regeln werden jedoch aufgehoben, sobald ein Kontakt durch Benetzung entsteht, wie dies bei Partytellern aus Karton zum Beispiel der Fall ist (Dima et al. 2012).

Der für die MOAH relevante Bereich reicht hingegen bis $n\text{-C}_{24}$ bzw. $n\text{-C}_{35}$, da für die MOAH keine toxikologisch begründete Veranlassung besteht, nach Kohlenwasserstoffen über und unter $n\text{-C}_{16}$ zu trennen. Dabei erfolgt eine Aufsummierung bis $n\text{-C}_{24}$, sofern der Transfer der MOAH über die Gasphase erfolgt, und bis $n\text{-C}_{35}$, sofern der Transfer durch direkten Kontakt erfolgt. Auch die Begrenzung bei $n\text{-C}_{35}$ ist toxikologisch nicht begründet, sondern ergibt sich aus der Notwendigkeit eines definierten Abbruchs und der Analogie zur MOSH (BfR 2012b).

Für die Verifizierung und Anwendung dieser Methode zur Bestimmung der Summenkonzentration an MOSH und MOAH in der Praxis werden unterschiedliche interne Standards als Markersubstanzen für den Beginn und das Ende der jeweiligen Fraktion, zur Verifizierung der Performance, sowie zur Quantifizierung verwendet.

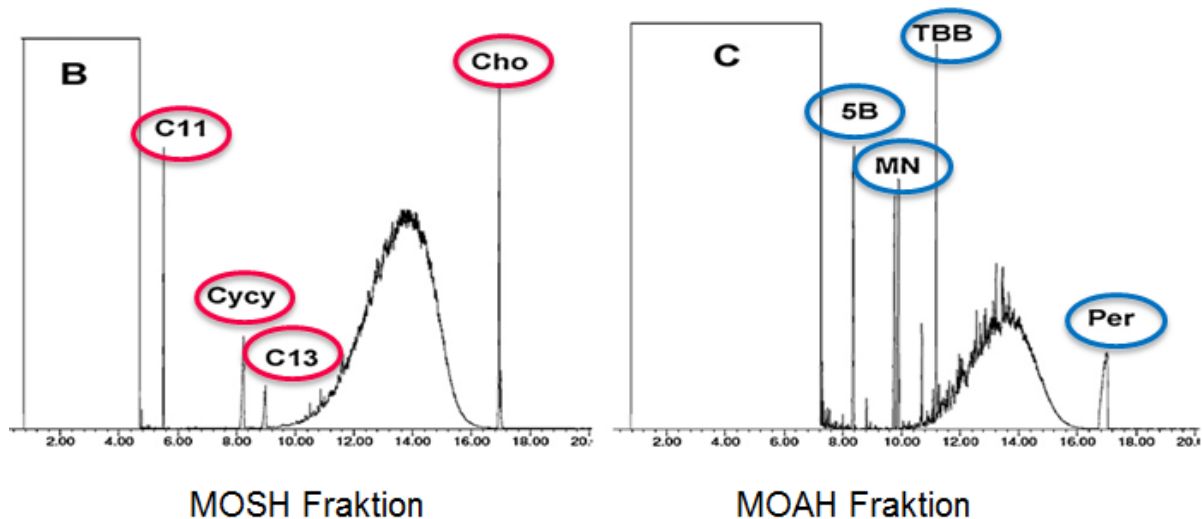


Abbildung 11: Interne Standards MOSH und MOAH

Als interne Standards der MOSH Fraktion werden Undecan (C11), Tridecan (C13), Bicyclohexyl (CyCy) und 5 α -Cholestan verwendet. Interne Standards der MOAH Fraktion sind Pentylbenzen (5B), 1-Methylnaphthalin (1MN), 2-Methylnaphthalin (2MN), *tri-tert*-Pentylbenzen (TBB) und Perylen (Per). 5 α -Cholestan markiert dabei das Ende der MOSH Fraktion und hat vollständig in dieser vorzuliegen, analog dazu verhält es sich für Perylen, welches das Ende der MOAH Fraktion markiert. *Tri-tert*-Pentylbenzen markiert hingegen den Beginn der MOAH Fraktion und hat vollständig in dieser vorzuliegen. Undecan dient zur Kontrolle gegenüber Abdampfverlust. Tridecan und Bicyclohexyl dienen dabei zur Verifizierung einer sicheren Auftrennung, beide müssen gut voneinander getrennt vorliegen, wobei Bicyclohexyl eine doppelt so hohe Konzentration aufweist wie Tridecan. Bicyclohexyl dient darüber hinaus als Quantifizierstandard der MOSH Fraktion. Die Standards der MOAH Fraktion haben die identische Aufgabe wie jene der MOSH. Pentylbenzen dient zur Kontrolle der Abdampfverluste, die beiden Methylnaphthaline dienen der Verifizierung einer sicheren Auftrennung, sollten jedoch im Vergleich zu Tridecan und Bicyclohexyl in der MOSH die gleiche Konzentration/Fläche aufweisen und dienen darüber hinaus zur Quantifizierung der MOAH-Fraktion.

Ein Problem bei der Identifizierung einzelner Verbindungen der MOSH und MOAH stellen vor allem die komplexen, variierenden Zusammensetzungen unterschiedlicher Proben, oft sogar unterschiedlicher Chargen oder Teile eines Produktes dar. Eine überwiegende Mehrheit identifizierter Verbindungen ist dabei nicht erhältlich, wodurch keine Kalibration und Bestimmung der Response und somit keine Quantifizierung erfolgen kann (Biedermann & Grob 2012)

4.2.2.2 Mehrdimensionale gaschromatographische Analyse

Um nähere Informationen über die Zusammensetzung der jeweiligen Fraktionen, insbesondere der MOAH Fraktion zu erhalten bietet sich eine mehrdimensionale Analyse an. Vor allem multidimensionale comprehensive Gaschromatographie (GCxGC) kommt hierbei zum Einsatz (Biedermann & Grob 2009). GCxGC ermöglicht dabei eine Auftrennung der MOAH nach Anzahl der aromatischen Ringe, wobei mehr oder weniger horizontale Banden erhalten werden (Biedermann & Grob 2009). Mit zunehmender Retentionszeit steigt dabei der Grad der Alkylierung der einzelnen Verbindungen. Biedermann und Grob konnten mittels GCxGC einzelne Gruppen der MOAH anhand ihrer Ringstruktur, sowie die Anzahl der Kohlenstoffatome der Alkylketten durch selektive Extraktion von Ionen bestimmen, allerdings kann die Art und Position der Alkylierung nicht bestimmt werden (Biedermann & Grob 2009). Auch mittels GCxGC erfolgt keine vollständige Auftrennung von MOSH und MOAH ohne vorhergehende Separation mittels LC, da gesättigte cyclische Kohlenwasserstoffe mit hochalkylierten aromatischen Kohlenwasserstoffen koeluierten. Insbesondere gesättigte vier- und fünf-Ring Kohlenwasserstoffe wie Sterane, Hopane und bicyclische Sesquiterpene eluieren dabei zeitgleich mit zwei- und drei-Ring Aromaten (Purcaro et al. 2016).

5 Theoretischer Hintergrund

In diesem Abschnitt wird näher auf die Theorie der angewandten Methoden eingegangen. Die durchgeführten Analysen bezogen sich auf unterschiedliche gaschromatographische und flüssigchromatographische Auftrennungen der Proben mit massenspektrometrischer Detektion. Chromatographie stellt die am weitesten verbreitete analytische Technik zur Auftrennung und Quantifizierung einzelner Substanzen komplexer Substanzgemische dar. Da die Technik der Gas- und Flüssigchromatographie bereits hinreichend bekannt sein sollte, werden in weiterer Folge ausschließlich die unterschiedlichen angewandten Techniken der massenspektrometrischen Detektion, sowie die Technik der mehrdimensionalen Gaschromatographie näher vorgestellt.

5.1 Massenspektrometrie

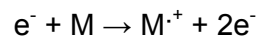
Massenspektrometrie (MS) ist heutzutage eine unverzichtbare analytische Methodik in der Chemie, sowie in zahlreichen verwandten Fachgebieten. Ziel der Massenspektrometrie ist dabei die Identifizierung von Verbindungen anhand von Molekül- bzw. Atommassen ihrer Bestandteile (Gross 2011).

Das Grundprinzip der MS ist es, aus organischen oder anorganischen Substanzen in geeigneter Weise Ionen zu erzeugen, diese nach ihrem Masse-zu-Ladungs-Verhältnis (m/z) zu trennen und mit einem Registriersystem nach ihrem spezifischen m/z -Verhältnis qualitativ und quantitativ zu erfassen (Gross 2011), wobei ausnahmslos Ionen aus Atomen oder Molekülen einer massenspektrometrischen Analyse zugänglich sind. Dazu werden die zu analysierenden Substanzen in ein Vakuumsystem überführt, die Moleküle und/oder Atome ionisiert, mit Hilfe eines elektrischen Feldes in einen Massenanalysator überführt und nach ihrem m/z -Verhältnis getrennt.

Einer der entscheidenden Schritte ist dabei die Ionisation, die anhand unterschiedlicher Ionisationstechniken erfolgen kann. Zu den am häufigsten angewandten Ionisationstechniken zählen Elektronenstoßionisation (EI) und chemische Ionisation (CI) in Kombination mit Gaschromatographie und Elektrosprayionisation (ESI) in Kombination mit Flüssigchromatographie.

5.1.1 Elektronenstoßionisation (EI)

Die Elektronenstoßionisation ist die klassische Ionisationsmethode in der organischen Massenspektrometrie für Verbindungen mit Molekulargewichten bis 100 Da (Gross 2011). Dabei kommt es zum Beschuss gasförmiger Neutralteilchen (ungeladene Moleküle) mit energiereichen Elektronen, wodurch es zur Ionisation kommt. Die Elektronen werden dabei mit einer Energie von 70 eV beschleunigt und bilden mit den neutralen ungeladenen Molekülen ein weiteres Elektron unter der Bildung eines einfach positiv geladenen Radikals.



Die Radikationen können je nach Stabilität und Elektronenenergie weiter zerfallen und Fragmente bilden. Unter definierten Bedingungen (Anregungsenergie 70 eV; Ionenquelle zwischen 150°C und 250°C; Druck $\sim 10^{-4}$ Pa) ist das Zerfallsmuster charakteristisch für eine Substanz, unabhängig von der Art des Massenspektrometers, wodurch EI-Spektren durch eine gute Reproduzierbarkeit charakterisiert sind. Digitalisierte Datenbanken von EI-Spektren erleichtern und vereinfachen dabei die Identifikation unbekannter Verbindungen.

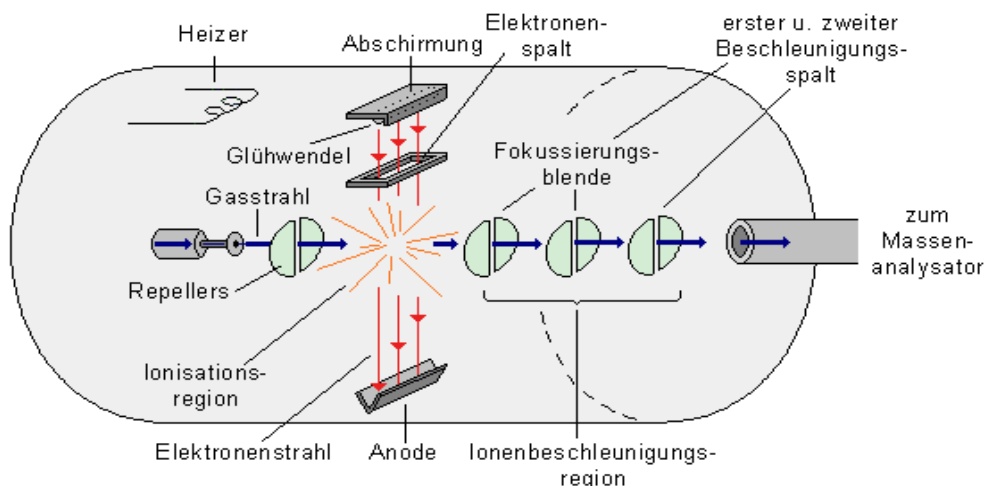


Abbildung 12: Schematische Darstellung Elektronenstoßionisation (EI)¹

Voraussetzung für eine Elektronenstoßionisation ist, dass der Analyt vor der Ionisation unzersetzt im gasförmigen Zustand vorliegt, wodurch sich eine Einschränkung auf im Hochvakuum flüchtige Verbindungen ergibt. Die EI kann zudem als „harte“ Ionisationstechnik bezeichnet werden, da die Ionisationsenergie weit über dem Ionisationspotential der Analytmoleküle liegt, wodurch es zu intensiver Fragmentierung kommt. Dahingehend erhält man strukturinformationen über die analysierten Verbindungen, ein Molekülpeak wird hingegen häufig nicht registriert.

¹ [Internet]. http://www.analyticjournal.de/glossar_beaetrage_einzel/massenspektrometrie.html

5.1.2 Chemische Ionisation (CI)

Die chemische Ionisation ist der Elektronenstoßionisation ähnlich, wobei in die Ionenquelle zusätzlich ein Ionisationsgas (Reaktandgas) im Überschuss eingebracht wird, welches durch Elektronenbeschuss ionisiert wird und seine Ladung durch unterschiedliche Mechanismen auf die gasförmig vorliegenden Probenmoleküle überträgt. Die CI beruht dabei auf Ion-Molekül Reaktionen, bei denen Moleküle in der Gasphase mit Ionen des Reaktandgases in Wechselwirkung treten (Todd 1995). Durch den Elektronenbeschuss des Reaktandgases kommt es dabei zur Bildung von Primärionen, die durch eine Serie von Stößen mit weiteren Reaktandgasmolekülen zu den eigentlich ionisierend wirkenden stabilen Ionen (CI-Plasmaionen) reagieren, welche die Analytmoleküle durch Protonierung ionisieren (Gross 2011). Als Reaktandgas bei der chemischen Ionisation kommen dabei Methan, Isobutan und Ammoniak zum Einsatz. Durch Abnahme der Protonenaffinität von Methan über Isobutan zu Ammoniak, kommt es in angeführter Reihenfolge von $[\text{CH}_5]^+$ > $[\text{C}_4\text{H}_9]^+$ > $[\text{NH}_4]^+$ zu einer schonenderen Ionisation, da die Exothermizität der Protonübertragungsreaktion abnimmt [Gross 2011]. Auf diese Weise lässt sich somit das Ausmaß der Fragmentierung steuern, wobei CI aufgrund der geringeren Anregungsenergie bei der Protonenübertragungs- und Anlagerungsreaktion generell wesentlich fragmentärmere Spektren liefert als die Elektronenstoßionisation. Die chemische Ionisation ist somit eine deutlich „sanftere“ Ionisationsmethode, bei der überwiegend Quasimolekülionen erzeugt werden, wodurch die CI vor allem der Bestimmung des Molekulargewichtes dient, jedoch wenig Strukturinformation liefert.

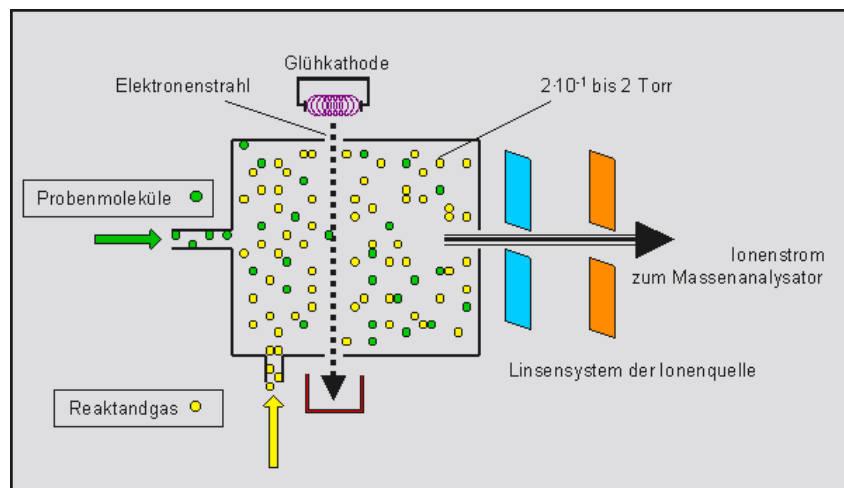


Abbildung 13: Schematische Darstellung chemische Ionisation (CI)²

In jedem CI-Plasma werden Ionen beider Polaritäten, positive und negative Ionen (z.B.: $[\text{M}+\text{H}]^+$ und $[\text{M}+\text{H}]^-$) gleichzeitig erzeugt. Anhand der Extraktion der austretenden Ionen aus

² [Internet]. <http://www.oc.uni-koeln.de/ms-oc/ci.htm>

der Ionenquelle unterscheidet man zwischen positiv chemischer Ionisation (PCI) und negativ chemischer Ionisation (NCI). Die Extraktion der Ionen ist dabei von der Polarität der Beschleunigungsspannung abhängig (Hunt et al. 1976).

5.1.2.1 Positiv Chemische Ionisation (PCI)

Eine positiv chemische Ionisation wird bevorzugt eingesetzt, wenn eine Elektronenstoßionisation nur unzureichende Information über die Molmasse der jeweiligen Analyten liefert. Das Messergebnis wird dabei primär durch die Wahl des Reaktandgases beeinflusst, wobei die PCI generell durch eine geringere Empfindlichkeit charakterisiert ist als die EI. Die Ionisationsreaktion zwischen Probe und Reaktandgasionen (Plasmaionen) kann dabei auf folgende Weise erfolgen (Bader et al. 2006):

- Protonenübertragung

Die Protonenübertragung stellt die Hauptreaktion der PCI dar, dabei kommt es zum Transfer eines Protons von sekundären Reaktandgasionen RH^+ auf Analytmoleküle, wodurch protonierte Analytmoleküle $[M+H]^+$ entstehen

- Kationenanlagerung

Hierbei kommt es zur Addition von Kationen an die Analytmoleküle, wodurch Moleküladdukte entstehen

- Hydridverlust

Bei einem Hydridverlust entreißen Reaktandgasionen mit hoher Hydridaffinität wasserstoffreichen Analytmolekülen ein Hydridion und lassen ein entsprechendes Kation $[M-H]^+$ zurück. Hydridverlust und Protonenübertragung können dabei parallel stattfinden

- Ladungsübertragung

Ein Ladungsaustausch beruht im Gegensatz zu den bisher angeführten Ionisationsreaktionen nicht auf dem Transfer von Protonen oder Hydridionen sondern auf einem Elektronentransfer. Dieser erfolgt dabei vom Analytmolekül auf ein Reaktandgasion, wodurch das Analytmolekül eine Ladung erhält

5.1.2.2 Negativ Chemische Ionisation (NCI)

Durch Umkehrung der Spannungspolarität in der Ionenquelle und am Detektor lassen sich negativ geladene Ionen detektieren (McKeown 1980; Stafford 1980). Im Gegensatz zu einer Molekül-Ion-Reaktion kommt es bei der NCI zu einer Anlagerung energiearmer thermischer Elektronen an elektrophile Analytmoleküle, welche die Elektronen quasi „einfangen“. Die Bildung der niederenergetischen Ionen erfolgt dabei durch Beschuss des Reaktandgases mit energiereichen Elektronen, die aus einem Glühdraht emittieren und der folgenden Reaktion des Zusammenstoßes dieser Elektronen mit dem Reaktandgas. Die Ionisationsreaktion zwischen Probe und Elektronen kann dabei auf folgende Weise erfolgen (Bader et al. 2006):

- Elektroneneinfang

Die Elektroneneinfangreaktion stellt die Hauptreaktion der NCI dar, dabei werden thermische Elektronen in unbesetzte Molekülorbitale aufgenommen, wodurch Radikalanionen gebildet werden ($M + e^- \rightarrow M^{\cdot-}$). Dieser Reaktionsablauf ist reversibel, wodurch es im ungünstigsten Fall zu einer Selbstentladung des Radikalanions kommt.

- Dissoziativer Elektroneneinfang

Beim dissoziativen Elektroneneinfang erfolgt die Stabilisierung des Radikalanions durch eine homolytische Bindungsspaltung ($MX + e^-_{(thermisch)} \rightarrow M^{\cdot} + X^{\cdot-}$).

- Ionenpaarbildung

Bei Ionenpaarbildung erfolgt eine Stabilisierung des Radikalanions durch eine heterogene Fragmentierung und unter Freisetzung des thermischen Elektrons ($MX + e^-_{(thermisch)} \rightarrow M^+ + X^- + e^-_{(thermisch)}$).

- Ion-Molekül-Reaktionen

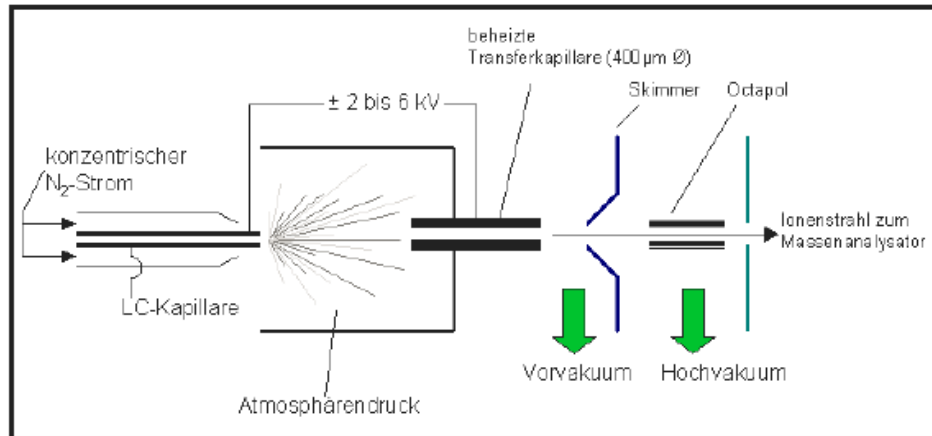
Eine Ionen-Molekül-Reaktion wird auch als Ionenadduktbildung bezeichnet und stellt eine unerwünschte Konkurrenzreaktion zum Elektroneneinfang dar. Dabei erfolgt zuerst die Ionisation einer Störkomponente (O_2 , H_2O , elektronenaffine Verbindungen), welche in weiterer Folge als (Radikal)anion mit dem Analytmolekül reagiert

Die negativ chemische Ionisation weist dabei eine hohe Selektivität für Verbindungen mit hoher Elektronenaffinität wie z.B.: Halogenverbindungen auf. Dabei kann eine Steigerung der Empfindlichkeit um bis zu zwei Zehnerpotenzen gegenüber EI und PCI stattfinden (Bader et al. 2006). Die NCI erfordert dabei eine Gasreinheit des Reaktandgases von 99,95 – 99,995%, da Sauerstoff und Wasserstoffverunreinigungen Störreaktionen verursachen.

5.1.3 Elektrosprayionisation (ESI)

Die Elektrosprayionisation (ESI) ist das am häufigsten angewandte Ionisationsverfahren bei Koppelung von Massenspektrometrie mit Flüssigchromatographie (Ardrey 2003). Die Elektrosprayionisation ist eine Ionisationsmethode für Substanzen, die sich nicht unzersetzt im Vakuum verdampfen lassen. ESI eignet sich somit auch zur Analyse von großen, nicht flüchtigen, leicht ladungsannehmenden Analyten, sowie thermisch instabilen Substanzen aus einer Lösung heraus. Die Ionisation der Analyten beginnt dabei bereits bei Atmosphärendruck, wobei das Hochvakuum des Massenanalysators schrittweise erreicht wird (Dole 1997). Voraussetzung dafür ist allerdings, dass die Analyten in einem niedrig siedenden Lösungsmittel (Acetonitril, Methanol, Chloroform, Wasser,...), sowie bei niedrigen Konzentrationen (10^{-4} bis 10^{-6} mol/l) stabil sind.

Bei der Elektrosprayionisation wird dabei eine Analytlösung (LC-Eluentenstrom) durch eine unter Spannung stehende Sprühkapillare (3-4 kV) in die Sprühkammer geleitet. Die Art der Spannung bestimmt dabei die Ladung der erzeugten Ionen (positiv oder negativ). Am Ende der Kapillare kommt es zur Bildung eines Überschusses gleich geladener, sich gegenseitig abstoßender Teilchen, die als feines Aerosol aus der Kapillare austreten. Anschließend erfolgt ein Transfer der geladenen Tröpfchen über eine beheizte Transferkapillare zur Vorvakuumstufe. Ein entgegengerichteter heißer Trägergasstrom (N_2) unterstützt die Vernebelung des Aerosols und führt zur Verdampfung des Lösungsmittels. Während des gesamten Vorganges kommt es zu einer Desolvatisierung der Tröpfchen, wodurch es zu einer Konzentrierung der geladenen Teilchen an immer kleinerem Volumen kommt. Dies führt zu einer Zunahme der elektrischen Dichte an der Tropfenoberfläche. Bei Erreichen einer kritischen Größe führt die Abstoßung gleicher Ladungen schließlich zum Platzen der Tröpfchen (Coulomb-Explosion), wodurch unsolvatisierte Molekülionen emittiert werden. Die durch vollständige Desolvatisierung gebildeten freien Ionen werden schließlich über den Skimmer (kegelförmige Elektrode) in das Hochvakuum des Massenanalysators eingebracht. Bis zum Eintritt in den Massenanalysator haben sich durch eine vollständige Desolvatisierung somit freie Ionen gebildet.

Abbildung 14: Schematische Darstellung Elektrosprayionisation³

5.1.4 Quadrupol Massenanalysator

Quadrupol-Massenspektrometer sind die am häufigsten angewandten Massenspektrometer in Kombination mit GC-MS und LC-MS, wo schnell scannende Massenfilter benötigt werden. Quadrupol-Geräte stellen dynamische Massenfilter für positive und negative Ionen dar und decken dabei bei gutem Auflösungsvermögen einen Massenbereich bis m/z 2000 ab (Gross 2011). Die Massentrennung erfolgt dabei in einem hochfrequenten elektrischen Feld quer zur Flugrichtung der Ionen. Ein Quadrupol besteht aus 4 sich paarweise gegenüberstehenden zylindrisch geformten Stabelektroden. Gegenüberliegende Elektroden weisen jeweils das selbe Potential auf, bestehend aus einer Gleich- und einer Wechselstromkomponente. Aufgrund der Anlegung einer sich periodisch abwechselnden Spannung entsteht ein Wechselfeld zwischen den einzelnen Stäben, wodurch nur Ionen mit bestimmten m/z -Verhältnis den Massenanalysator passieren können. Ionen unterschiedlicher Massen werden dabei mit gleichförmiger Geschwindigkeit axial durch das Quadrupolfeld geleitet. Durch das angelegte Wechselfeld wechseln sich Anziehung und Abstoßung in x - und y -Richtung ab, wodurch sich die Ionen anhand oszillierender Flugbahnen durch den Quadrupol bewegen. Die Resonanz der Ionen korreliert dabei mit der Amplitude der Wechselfeldspannung, wodurch nur Ionen mit einem bestimmten m/z -Verhältnis den Quadrupol passieren können. Ionen die diesem Verhältnis nicht entsprechen werden abgelenkt und kollidieren mit den Stabelektroden, was zu einer Neutralisation der Ionen führt, oder diese werden vom Vakuum abgesaugt.

³ [Internet]. <http://www.oc.uni-koeln.de/ms-oc/esi.htm>

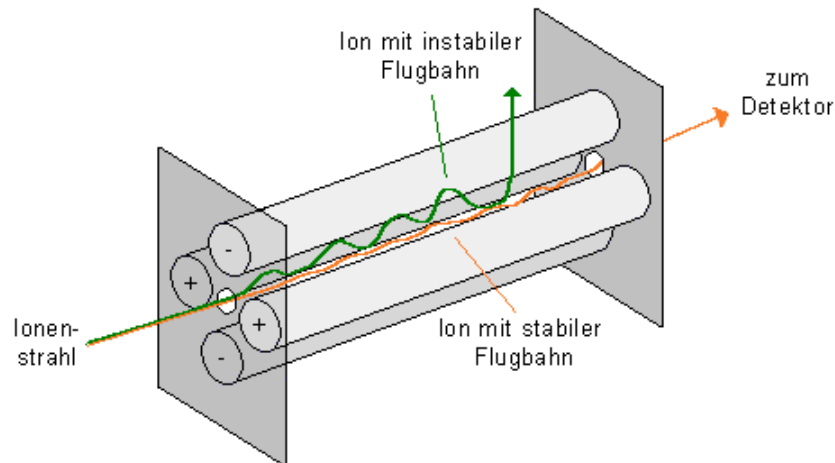


Abbildung 15: Schematische Darstellung Quadrupol Massenanalysator⁴

Alle Ionen, die das Feld des Quadrupol durchlaufen, werden von einem, gegensätzlich zu den jeweiligen Ionen, geladenen Detektor angezogen und treffen auf diesem auf. Das eingehende Signal wird dabei vielfach von einem Elektronenmultiplier verstärkt. Die Verstärkung erfolgt dabei proportional zur eingehenden Ionenmenge.

Bei der Datenaufzeichnung unterscheidet man zwischen Scan und SIM (Single Ion Monitoring). Im Scan-Mode werden alle Ionen eines definierten Bereiches erfasst, wodurch der Scan-Mode überwiegend zur Identifikation der einzelnen Verbindungen einer Probe und somit der qualitativen Analyse dient. Im SIM-Mode hingegen werden nur, selektierte Ionen registriert, wodurch sich der SIM-Mode vor allem zur Quantifizierung eignet.

5.1.5 Tandem-Massenspektrometrie

Unter dem Begriff Tandem-Massenspektrometrie (Tandem-MS, MS/MS) versteht man Techniken, bei denen massenselektierte Ionen einer zweiten massenspektrometrischen Analyse unterzogen werden (Mc Lafferty 1983; Busch et al. 1988). Durch die Kopplung zweier Massenspektrometer wird die Selektivität und Sensitivität von Analysen deutlich erhöht, was vor allem bei komplexen Matrices von Vorteil ist. Ein Tandem-Massenspektrometer enthält zumindest zwei Stufen die eine m/z -Analyse erlauben, die üblicherweise mit MS 1 und MS 2 bezeichnet werden (Gross 2011). Bei einer Tandem-MS Analyse werden in Folge im ersten Quadrupol (MS 1) Ionen mit spezifischer Masse selektiert, in einer sich zwischen den beiden Quadrupolen befindlichen Kollisionszelle (Stoßkammer) zu weiteren Zerfall angeregt, und die daraus resultierenden Zerfallsprodukte

⁴ [Internet]. http://www.vias.org/tmanalytik_germ/hl_ms_quadrupol.html

im zweiten Quadrupol (MS 2) selektiert und registriert. Die Anregung zu weiterem Zerfall in der Kollisionszelle erfolgt dabei über stoßinduzierte Dissoziation (collision-induced-dissociation CID). Dabei kommt es zur einer Fragmentierung stabiler Ionen in der Gasphase. Die aus MS 1 selektierten Ionen werden dabei in die mit einem Inertgas (meist Argon) gefüllte Kollisionszelle, in der der Druck des Gases deutlich über dem umgebenden Druck des Hochvakuums liegt, eingeleitet und durch Zusammenstoß mit dem Inertgas angeregt. Diese Anregung führt zu einer Fragmentierung der selektierten Ionen. Der austretende Ionenstrom wird schließlich in MS 2 transferiert, wo die Zerfallsprodukte aufgetrennt und registriert werden.

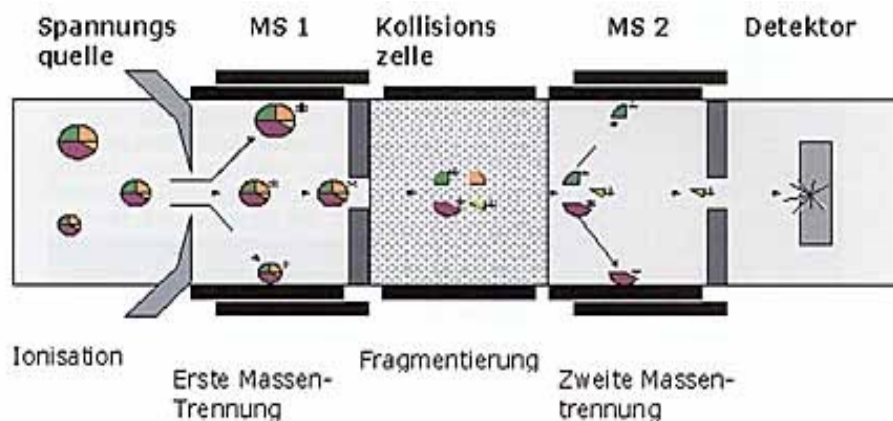


Abbildung 16: Schematische Darstellung Tandem-Massenspektrometrie⁵

5.1.5.1 Triple-Quadrupole-Massenspektrometer (qqq-MS)

Triple-Quadrupole-Massenspektrometer sind die am weitesten verbreiteten Massenspektrometer in Bereich der Tandem-Massenspektrometrie. Dabei werden 3 Quadrupole Massenfilter (Q1, Q2, Q3) unmittelbar hintereinander geschaltet, wobei der mittlere (Q2) als Kollisionszelle dient. Anhand der Theorie werden dabei in Q1 spezifische Ionen ausgewählt, in Q2 mit Hilfe des Kollisionsgases fragmentiert und die gebildeten Produktionen in Q3 detektiert. Das Ausmaß der Fragmentierung ist dabei von der Kollisionsenergie abhängig. Je höher die angelegte Spannung ist, umso stärker ist die Fragmentierung. Neben der unabhängigen Verwendung von Q1 und Q3 als eindimensionales Massenspektrometer, können Q1 und Q3 zu unterschiedlichen Analysemodi gekoppelt werden, diese sind:

⁵ [Internet]. http://www.uni-heidelberg.de/presse/ruca/ruca2_2002/hoffmann.html

- Produktionen Scan / Daughter Scan
Beim Produktionen Scan wird in Q1 ein Ion bestimmter Masse selektiert (Precursorion), in Q2 fragmentiert und alle resultierenden Fragmente (Produktionen) in Q3 gescannt.
- Precursorionen Scan / Parent Scan
Beim Precursorionen Scan wird Q1 im Scan-Mode betrieben, wodurch Ionen aller Massen eines definierten Massenbereiches in die Kollisionszelle gelangen und fragmentiert werden. In Q3 erfolgt die Selektion eines bestimmten Produktions, wodurch alle, für ein definiertes Produktion infrage kommenden Precursorionen bestimmt werden.
- Neutral Loss Scan
Beim Neutral Loss Scan erfolgt die Bestimmung der Massendifferenz zwischen Q1 und Q3, die sich durch die Abspaltung eines bestimmten Neutralteilchens in der Kollisionszelle ergibt. Dazu werden beide Massenspektrometer im Scan-Mode betrieben und alle Produktionen die durch Abspaltung des definierten Neutralteilchens entstehen registriert.
- Multiple Reaction Monitoring (MRM)
Beim MRM werden nur Analyten erfasst, die bestimmte Precursor- und Produktionen bilden. Dazu werden die gewünschten Precursorionen in Q1 selektiert, in der Kollisionszelle fragmentiert und mindestens zwei für den Zielanalyten charakteristische Fragmente in Q3 selektiv detektiert. Der MRM-Mode stellt damit die selektivste und empfindlichste Arbeitsweise eines qqq-MS dar und wird überwiegend zur Quantifizierung herangezogen.

5.1.6 Hochauflösende Massenspektrometrie (HR-MS)

Hochauflösende Massenspektrometrie (high resolution mass spectrometry (HR-MS) erlaubt die genaue Bestimmung von Massen und somit die Ermittlung von Summenformeln von Molekül- und Fragmentionen (Remane & Herzsuh 1977). Bis in die 1980er Jahre waren Messungen zur Bestimmung der exakten Masse fast ausschließlich mittels EI-MS an Magnetfeld-Sektorgeräten möglich (Gross 2011). Erst im Laufe der letzten zwei Jahrzehnte gewann die Bestimmung der exakten Masse durch die Einführung neuer Geräte mit zunehmendem Massenaufhebungsvermögen wieder an Bedeutung. Eine genaue Bestimmung der Masse beruht dabei auf der Tatsache, dass Ionen gleicher Massenzahl aufgrund unterschiedlicher Zusammensetzung Unterschiede im Millimassenbereich

aufweisen (Remane & Herzsuh 1977). Mit hochauflösender MS ist es somit möglich Verbindungen mit derselben nominellen Masse aber unterschiedlicher chemischer Formel zu unterscheiden. Unter nomineller Masse versteht man dabei die ganzzahlige Masse des am häufigsten in der Natur vorkommenden stabilen Isotops (Gross 2011). Anhand der exakten Masse (Isotopenmasse eines Isotops), welche die tatsächliche Masse unter Berücksichtigung der Nachkommastellen der Atommassen darstellt, können hingegen Summenformeln abgeleitet werden (Balogh 2004; Bristow 2006; Leslie & Volmer 2007; Gross 2011). Die exakte Masse des häufigsten Isotops eines Elements wird dabei als monoisotopische Masse bezeichnet. Sie kommt der nominellen Masse eines Atoms sehr nahe, ist aber mit Ausnahme des Kohlenstoff-Isotops ^{12}C nicht mit dieser ident (Gross 2011). Hochauflösung und Messungen zur Bestimmung der exakten Masse sind dabei gegenseitig voneinander abhängig sind, da sich mit zunehmender Auflösung meist auch die Massengenauigkeit verbessert, dennoch sollte man die Begriffe nicht verwechseln, da die Durchführung einer Messung bei hoher Auflösung allein nicht gleichzeitig auch die Bestimmung der exakten Masse bedeutet. Mit HR-MS wird dabei sowohl eine hohe Massengenauigkeit, als auch eine hohe Massenauflösung erzielt (Gross 2011).

5.1.6.1 Massenauflösung, Massenauflösungsvermögen, Massengenauigkeit

Unter *Massenauflösung* R versteht man den kleinsten Unterschied in m/z ($\Delta m/z$) der bei einem bestimmten Signal aufgetrennt werden kann (Gross 2011). Die Massenauflösung ist somit definiert als:

$$R = \frac{m}{\Delta m} = \frac{m/z}{\Delta m/z}$$

Je höher die Auflösung ist umso besser gelingt es, benachbarte Signale voneinander zu trennen. Das Auflösungsvermögen steht dabei in direktem Zusammenhang mit der Masse der jeweiligen zu trennenden Verbindungen. So können bei einer Auflösung von 1000 die Massen 50 und 50,05 sowie 100 und 100,1 bzw. 500 und 500,5 getrennt werden. Um die Massen 100 und 100,05 bzw. 500 und 500,05 zu trennen wäre jedoch eine Auflösung von 2000 bzw. 10000 nötig. Für die Bestimmung der exakten Masse ist somit mit zunehmender Masse der Verbindungen eine höhere Auflösung erforderlich.

Unter *Massenauflösungsvermögen* versteht man hingegen die Fähigkeit eines Geräts benachbarte Peaks aufzutrennen. Das Massenauflösungsvermögen ergibt sich, ausgedrückt als Funktion der Masse, aus der Peakbreite bei einem bestimmten Prozentsatz der Peakhöhe (Gross 2011). Das Massenauflösungsvermögen ist ein Maß für die Präzision über einen großen Massenbereich und wird überwiegend zur Bestimmung des Leistungsvermögens des Massenanalysators herangezogen.

Bei der *Massengenauigkeit* unterscheidet man zwischen absoluter und relativer Massengenauigkeit. Die *absolute Massengenauigkeit* ist dabei die Differenz der gemessenen exakten Masse und der berechneten exakten Masse ($\Delta m/z = m/z_{\text{exp.}} - m/z_{\text{ber.}}$). Die *relative Massengenauigkeit* für eine bestimmte Masse ist hingegen der Quotient der absoluten Massengenauigkeit und der Masse selbst.

Ausgehend von einer „unendlichen“ Massengenauigkeit sollte es möglich sein die Summenformel jedes beliebigen Ions allein auf Grundlage der exakten Masse zu bestimmen (Gross 2011). In der Realität kommt es jedoch in Abhängigkeit des Gerätetyps und der Betriebsart zu Abweichungen in der Größenordnung von einem bis mehreren ppm. Eine eindeutige Zuordnung zu Formeln auf Grundlage der exakten Masse gelingt allerdings nur in einem Bereich bis zu m/z 500, darüber hinaus übersteigt die Anzahl der Treffer bei Ionen mit größeren m/z Werten schnell jedes vernünftige Maß (Gross 2011).

Hochauflösende Massenspektrometrie ermöglicht dabei die Trennung von Fragmenten bis zur 5. Nachkommastelle, wogegen es in Routinespektren meist nur zu einer Trennung anhand der Nominalmasse bzw. maximal einer Nachkommastelle kommt. Von Hochauflösung spricht man dabei ab einer Auflösung $R > 5000$ (Gross 2011).

5.1.6.2 Massenanalysatoren in Kombination mit HR-MS

In Kombination mit HR-MS kommen überwiegend Flugzeit-Massenanalysatoren (TOF – time of flight), Fourier-Transform-Ionencyclotronresonanz-Massenanalysatoren (FT-ICR) und Orbitrap-Massenanalysatoren zum Einsatz. In Tabelle 1 sind die gerätespezifischen Eigenschaften der am häufigsten vorkommenden hochauflösenden Massenanalysatoren im Vergleich zu einem niedrigauflösenden Quadrupol-Massenspektrometer aufgelistet.

Tabelle 1: Gerätespezifische Eigenschaften ausgewählter Massenanalysatoren

Gerät	Trennprinzip	Massenbereich	Auflösung	Datenaufnahmerate
Quadrupol	hochfrequente Quadrupolfelder	max. 2000	Nominalmasse (niederauflösend)	max. 100 Hz (Routine 50 Hz)
TOF	Flugzeitmessung	(theor.) unbegrenzt	~ 30000	theor. Unbegrenzt (Routine 200 Hz)
FT-ICR	Cyclotronfrequenz	max. 20000	~ 10^8	< 5Hz
Orbitrap	axiale Oszillationsfrequenz	max. 6000	~ 10^6	max. 18 Hz (Routine < 10Hz)

5.1.6.2.1 Time-of-Flight-Analysatoren (TOF)

Das Konzept der Time-of-Flight-Analysatoren ist relativ einfach und beruht auf der zeitlichen Verteilung von Ionen verschiedenen m/z -Verhältnisses während ihres „Fluges“ entlang einer feldfreien Strecke, wobei leichtere Ionen früher den Detektor erreichen als schwerere Ionen. Voraussetzung dafür ist allerdings, dass alle Ionen gleichzeitig (bzw. innerhalb eines ausreichend kurzen Zeitintervalls) anhand eines gepulsten Gleichstromfeldes (gepulste Ionisationsmethode) beschleunigt werden. In Kombination mit HR-MS werden überwiegend Reflektor-TOF-Analysatoren und TOF-Analysatoren mit orthogonaler Beschleunigung verwendet.

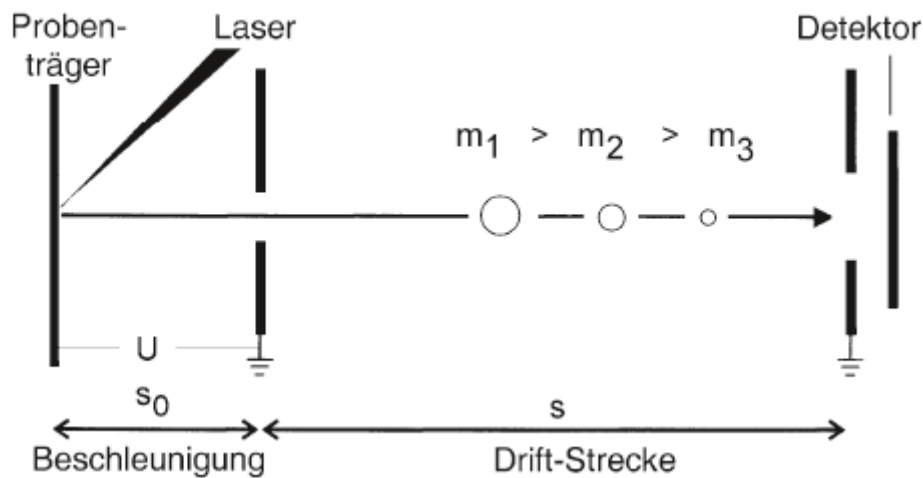


Abbildung 17: Prinzip eines linearen TOF-Analysators (Gross 2011)

Beim Reflektor-TOF-Analysator (ReTOF) dient ein Reflektor als Ionenspiegel, der Ionen unterschiedlicher kinetischer Energie zeitlich fokussiert. Der Reflektor besteht dabei aus ringförmigen Elektroden mit zunehmendem Elektrodenpotential. Diese sind hinter einer feldfreien Strecke gegenüberliegend zur Ionenquelle positioniert. Ionen unterschiedlicher kinetischer Energie treten dabei unterschiedlich weit in den Reflektor ein, bis sie ihre kinetische Energie verlieren und in entgegengesetzte Richtung ausgeworfen werden (Gross 2011). Dadurch kommt es zu einer Flugzeitkorrektur, von Ionen gleichem m/z -Verhältnisses mit unterschiedlicher kinetischer Energie, sodass diese gleichzeitig am Detektor eintreffen. Ionen mit hoher kinetischer Energie weisen dabei eine längere Flugbahn auf. Aufgrund der Kompensation der ursprünglichen Energieverteilung nimmt das Auflösungsvermögen zu, wobei ReTOF-Analysatoren ein Massenaufklärungsvermögen >10000 bei einer Massengenauigkeit von 5-10 ppm erreichen können (Marshall & Hendrickson 2008).

Die Anwendung einfacher TOF-Analysatoren ist jedoch auf die Kopplung mit Laserdesorption/Ionisation (LDI) bzw. Matrix-unterstützter Laserdesorption/Ionisation

(MALDI) beschränkt (Gross 2011). Dabei werden die, durch einen auf das Probenmaterial gerichteten Laserstrahl, gebildeten Ionen kontinuierlich extrahiert und beschleunigt. Sobald die Ionen von der Beschleunigungsstrecke in eine feldfreie Strecke übergehen sollten sie die gleiche kinetische Energie aufweisen und werden in weiterer Folge anhand unterschiedlicher Geschwindigkeit anhand ihres m/z -Verhältnisses aufgetrennt.

Mittels TOF-Analysatoren mit orthogonaler Beschleunigung (oaTOF) gelingt es Ionen aus einem kontinuierlichen Ionenstrahl heraus zu pulsen, wodurch es möglich wurde TOF-Analysatoren mit kontinuierlichen Ionenquellen zu kombinieren. Ein oaTOF-Analysator ist dabei grundsätzlich für alle Ionisationsmethoden geeignet (Guilhaus et al. 2000).

Dabei werden Ionen beim Verlassen der kontinuierlichen Ionenquelle zu einem nahezu parallelen Ionenstrahl fokussiert, welcher anschließend in einen orthogonalen Beschleuniger eintritt (Guilhaus et al. 2000). Daraus werden Ionenpakete durch einen scharfen Puls orthogonal abgelenkt und Richtung TOF-Analysator beschleunigt. Aus Sicht des TOF-Analysators kann diese orthogonale Beschleunigungseinheit als (gepulste) Ionenquelle angesehen werden.

Hinsichtlich der Analysatoren selbst unterscheidet man zwischen linearen oaTOF-Analysatoren und oaTOF-Analysatoren vom ReTOF-Typ (Gross 2011).

Time-of-flight Massenanalysatoren können dabei über einen theoretisch unbegrenzten Massenbereich betrieben werden und erreichen eine Auflösung von $R \sim 30000$. Eine theoretisch unbegrenzte Datenaufnahmerate, mit Routineanwendungen von bis zu 200 Hz ermöglicht dabei auch die Durchführung schneller Scans, wodurch TOF-Analysatoren auch häufig in Kombination mit mehrdimensionaler Chromatographie zum Einsatz kommen, da in diesem Bereich extrem schmale Peaks hohe Scangeschwindigkeiten erfordern um eine ausreichende Anzahl an Datenpunkten pro Peak zu erhalten. Hohe Datenaufnahmeraten führen dabei allerdings zu einer Verringerung der Auflösung (Dettmer-Wilde & Engewald 2014).

5.1.6.2.2 Fourier-Transform-Ionencyclotronresonanz (FT-ICR)

FT-ICR-Geräte bestehen zumeist aus einer Ionenquelle, einer Ionenoptik und einer ICR-Zelle (Ionencyclotronresonanzzelle). Moderne FT-ICR-Massenspektrometer, bei welchen es sich um Ionenfallen handelt, gewährleisten dabei ein ultrahohes Auflösungsvermögen ($R=10^5$ - 10^6) und höchste Massengenauigkeit ($\Delta m=10^{-4}$ - 10^{-3} Da) (Gross 2011).

Bei FT-ICR-Massenspektrometern kommt es zur Ausnutzung der Anwendung eines transversalen elektrischen Wechselfeldes senkrecht zu einem Magnetfeld.

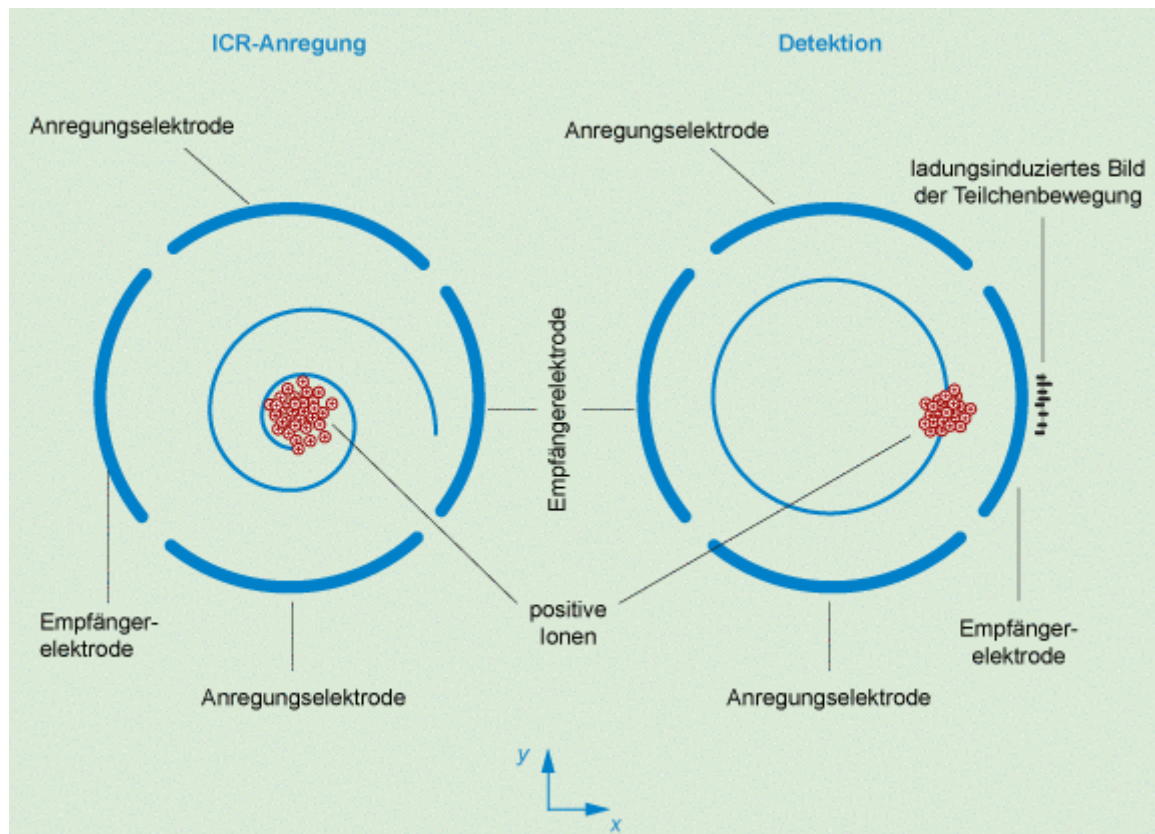


Abbildung 18: Schematische Darstellung einer ICR-Zelle

Zur Analyse werden extern erzeugte Ionen in die ICR-Zelle (=Massenanalysator) eingebracht, welche sich in einem starken homogenen Magnetfeld befindet. In der ICR-Zelle herrscht ein homogenes Magnetfeld, welches die Ionen aufgrund ihrer Lorentz-Kraft sofort auf eine Kreisbahn zwingt. Die Cyclotronfrequenz der Ionen ist dabei proportional zur Ladung und dem Magnetfeld und umgekehrt proportional zur Masse der Ionen. Durch Anlegen eines elektrischen Wechselfeldes (RF-Puls), dessen Frequenz mit der Cyclotronfrequenz der Ionen übereinstimmt, kommt es zu einer massenselektiven Anregung. Die daraus resultierende Cyclotron-Resonanz führt durch Aufnahme von Energie aus dem Wechselfeld zu einer Vergrößerung des Cyclotron-Radius der betreffenden Ionen, wobei eine Spiralbewegung entsteht. Leichtere Ionen erreichen den selben Radius dabei nach weniger Zyklen als schwerere Ionen, d.h. die Spirale verläuft für leichtere Ionen steiler (Gross 2011). Die Detektion beruht in der Folge darauf, dass die gebildete Ionenwolke eine Detektionselektrode wiederholt passiert und dabei einen winzigen Bildstrom erzeugt. Dieses transiente Signal wird erfasst, mittels Fourier-Transformation aus der Zeitdomäne in eine Frequenzdomäne umgewandelt und die daraus erhaltenen Frequenzen in m/z -Werte umgerechnet um ein Massenspektrum zu generieren. Da Frequenzen die mit der höchsten Genauigkeit bestimmbaren physikalischen Parameter sind, liefern FT-ICR-Massenanalysatoren eine sehr hohe Auflösung und Massengenauigkeit.

FT-ICR sind ausschließlich mit supraleitenden Magneten mit Feldstärken zwischen 7 und 15 Tesla ausgestattet, wobei Auflösung und Scangeschwindigkeit linear mit der magnetischen Flussdichte zunehmen. Nichts desto trotz sind die mittels FT-ICR-Geräten erreichbaren Datenaufnahmeraten nicht ausreichend für die Analyse extrem schmaler Peaks, wie im Bereich der UHPLC und mehrdimensionalen Gaschromatographie.

5.1.6.2.3 Orbitrap

Bei der Orbitrap handelt es sich um einen elektrostatischen Ionenfallen-Massenanalysator, bei dem es analog zu FT-ICR-Massenanalysatoren zu einer Bildstromdetektion periodischer Ionenbewegungen und einer Fourier-Transformation zur Umwandlung des transienten Signals in die Frequenzdomäne kommt. Im Vergleich zu FT-ICR-Geräten gibt es jedoch weder eine Frequenzanregung noch einen Magneten um die Ionen in der Ionenfalle zu halten (Gross 2011). Dies erfolgt stattdessen anhand eines elektrostatischen Feldes.

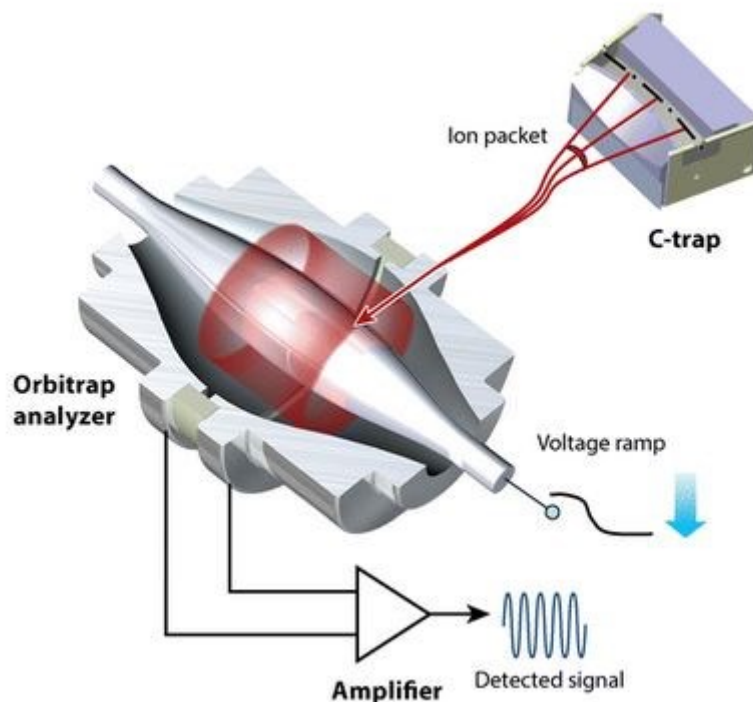


Abbildung 19: Schematische Darstellung eines Orbitrap-Massenanalysators⁶

Die Orbitrap besteht dabei aus einer zentralen spindelförmigen Elektrode und einer speziell geformten, fassförmigen zweiteiligen äußeren Elektrodenschale, die die innere Elektrode umschließt. Ionenpakete werden dabei entlang eines Potentialgefälles in die Orbitrap hineingepulst. Da die innere spindelförmige Elektrode einen axialen Feldgradienten erzeugt

⁶ [Internet]. <http://proteomicsnews.blogspot.co.at/2015/07/outstanding-review-on-evolution-of.html>

bewegen sich die Ionenpakete nach Eintritt in die Orbitrap in Spiralen um, sowie oszillierend entlang dieser. Die elektrostatische Anziehung in Richtung der zentralen Elektrode wird dabei durch eine Zentrifugalkraft kompensiert, die von der anfänglichen Tangentialgeschwindigkeit der Ionen herrührt, ähnlich eines Satelliten in seiner Umlaufbahn (Scigelova & Makarov 2006). Alle Ionen haben dabei die selbe Amplitude, während sich die Frequenz der Axialbewegung nach ihren m/z -Werten richtet. Die axiale Bewegung um die Spindel erzeugt dabei einen Bildstrom, der über die äußeren Elektroden detektiert und mittels Fourier-Transformation in ein hochaufgelöstes Massenspektrum transformiert wird.

Analog zu FT-ICR-Geräten ist die Datenaufnahmerate von Orbitrap-Massenanalysatoren nicht ausreichend für die Analyse sehr schmaler Peaks, die hohe Scanraten erfordern.

5.2 Mehrdimensionale Gaschromatographie

In eindimensionalen chromatographischen Anwendungen sind sich überlagernde, koeluiierende Verbindungen ein häufiges, unerwünschtes Problem. Eine der effektivsten Möglichkeiten diese Probleme zu umgehen ist die Erweiterung des analytischen Trennraums durch eine weitere chromatographische Auftrennung. Eine Möglichkeit die Peakkapazität und Selektivität eines chromatographischen Systems bei gleichbleibenden Detektionsbedingungen zu verbessern, ist die Anwendung mehrdimensionaler Chromatographie (MDC) (Mondello 2011). Ein Analyseinstrument zur mehrdimensionalen Chromatographie besteht dabei aus zwei Säulen unterschiedlicher Selektivität die über eine Transferleitung miteinander verbunden sind.

Anhand mehrdimensionaler Gaschromatographie kann eine deutliche Verbesserung der Trenneffizienz im Vergleich zu eindimensionaler Gaschromatographie erreicht werden, indem eine in erster Dimension aufgetrennte Probe einer weiteren Auftrennung in zweiter Dimension unterzogen wird (Cortes 1992). Um eine orthogonale Auftrennung zu erreichen ist dafür die Anwendung unterschiedlicher Trennmechanismen in erster und zweiter Dimension erforderlich (Mariott & Shellie 2002).

Man unterscheidet dabei 2 Arten von mehrdimensionaler GC:

- Heart-Cutting 2-dimensionale Gaschromatographie (MDGC)
- Multidimensionale comprehensive Gaschromatographie (GCxGC)

Bei der klassischen heart-cut Technik wird dabei ein spezifischer Bereich, oder auch mehrere ausgewählte Bereiche, nach Auftrennung in erster Dimension einer weiteren Auftrennung in zweiter Dimension unterzogen. Die beiden Trennsäulen in erster und zweiter

Dimension sind dabei von ähnlicher Trenneffizienz, jedoch unterschiedlicher Polarität, wodurch die Auftrennung der Substanzen in erster und zweiter Dimension auf unterschiedlichen Trennmechanismen beruht. Die Säule in erster Dimension ist üblicherweise unpolar, wogegen die Säule in zweiter Dimension eine polarere Beschichtung aufweist. Beide Säulen weisen dabei typischerweise Längen von 15-30 m, bei einem Innendurchmesser von 0,25 mm und einer Schichtdicke von 0,25-1 μm auf. Dies bedeutet, dass nur ein definierter Bereich des Eluentenstroms der zweiten Dimension zugeführt wird. Die Anzahl der „heart cuts“ ist dabei durch die benötigte Trenndauer der transferierten Fraktion in zweiter Dimension limitiert. Ein kontinuierlicher Transfer würde zum Verlust eines Teils der Auflösung der ersten Dimension führen (Mondello et al. 2002).

Von GCxGC wird hingegen gegen gesprochen, wenn die gesamte Probe von der ersten Dimension in die zweite Dimension überführt und weiter aufgetrennt wird (Liu & Philipps 1991).

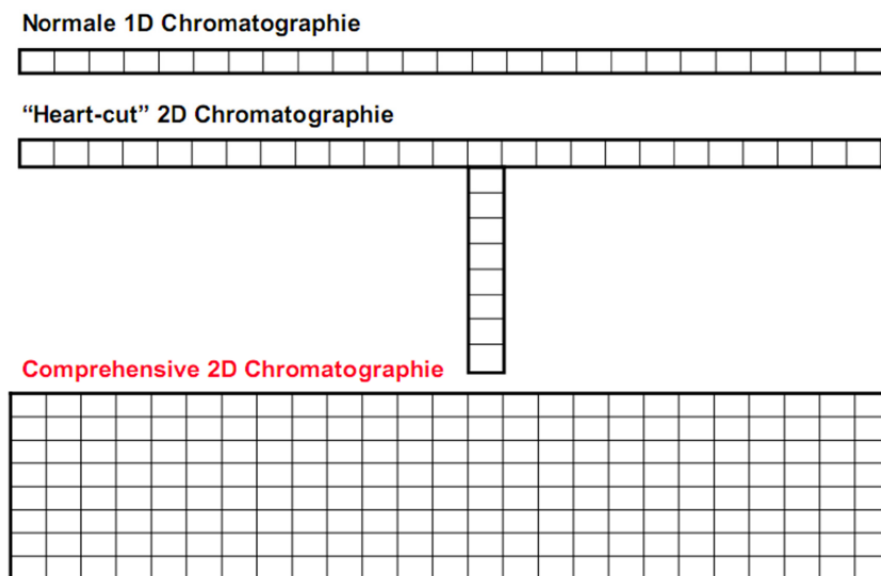
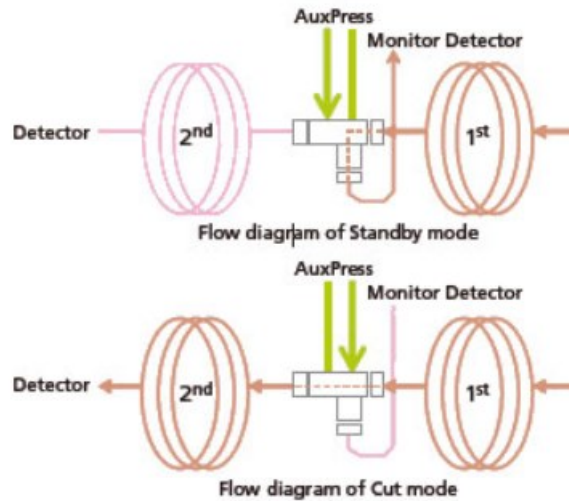


Abbildung 20: Auftrennungsschema mehrdimensionale Chromatographie

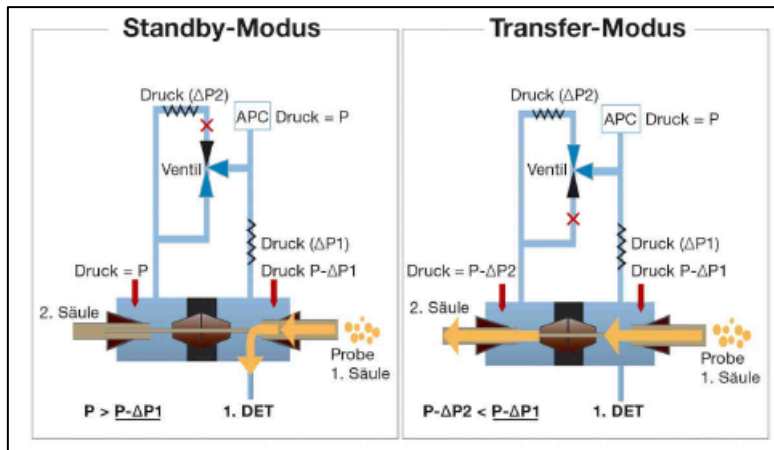
5.2.1.1 Heart-Cutting 2-dimensionale Gaschromatographie (MDGC)

Bei der MDGC wird wie bereits angeführt nur ein spezifischer Bereich des Eluats der ersten Dimension auf die zweite Dimension überführt. Der Transfer beruht dabei auf einem sogenannten „Deans-Switch“ Aufbau, der anhand von Druckunterschieden Komponenten entweder direkt zum Detektor oder in die zweite Säule leitet.

Abbildung 21: Deans-Switch Aufbau⁷

Diese herkömmliche Deans-Switch Technologie hat jedoch den Nachteil, dass es beim Transfer von Analyten von der ersten auf die zweite Dimension aufgrund des Druckunterschiedes am Ende der ersten Säule zu einer Verschiebung der Retentionszeiten der darauffolgenden Peaks kommt. Dadurch entsteht ein hoher Aufwand die korrekten Transferzeiten zu ermitteln. Erst durch die Entwicklung der Multi-Deans Switch Technologie konnte dieses Problem umgangen werden. Bei der Multi-Deans Switch Technologie halten verschiedene Restriktoren innerhalb des Systems, sowie ein Ventil außerhalb des Probenstroms den Druck am Ende der ersten Säule, unabhängig eines Transfers, konstant (Mondello et al. 2006; Lo Presti et al. 2008). Dies hat den Vorteil, dass es zu keiner Verschiebung der Retentionszeiten bei Durchführung eines „Cuts“ kommt, wodurch auch die Durchführung multipler Cuts möglich ist, sofern die benötigte Trenndauer in zweiter Dimension aufrechterhalten wird.

⁷ [Internet]. <http://www.shimadzu.com/an/gc/multidimgc/multidimmdgc.html>

Abbildung 22: Schematische Darstellung der Multi-Deans-Switch Technologie⁸

5.2.1.2 Multidimensionale comprehensive Gaschromatographie (GCxGC)

Im Vergleich zur MDGC, bei der mittels Heart-Cutting Technologie nur ausgewählte Teile der ersten Dimension auf die zweite Dimension übertragen werden, wird bei der GCxGC das gesamte Eluat der ersten Säule einer weiteren Auftrennung in zweiter Dimension unterzogen. Dabei muss sichergestellt werden, dass die gesamte Probe einem doppelten Auftrennungsprozess unterliegt. Dies bedeutet, dass Substanzen die in erster Dimension aufgetrennt wurden auch nach Separation in zweiter Dimension aufgetrennt bleiben müssen. Um einen vollständigen Transfer von der ersten auf die zweite Dimension zu ermöglichen ist es nötig den Eluentenstrom aus der ersten Dimension zu sammeln und in kleinen Fraktionen in die zweite Dimension einzubringen. Dies erfolgt über ein spezielles Interface, den Modulator. Der Modulator, der zwischen dem Ausgang der ersten Dimension und dem Inlet der zweiten Dimension platziert ist sammelt, isoliert, fokussiert und reinjiziert dabei schmale Banden des Eluats der ersten Dimension in zweite Dimension. Die Auftrennung in zweiter Dimension hat dabei extrem schnell zu erfolgen um sicherzustellen, dass die in erster Dimension erreichte Auftrennung aufrechterhalten bleibt. Dazu ist eine ausreichend häufige Modulation notwendig (Mondello 2011). Eine direkte Verbindung beider Säulen ohne Modulation würde zu einer eindimensionalen Auftrennung führen, da dadurch die Möglichkeit besteht, dass Substanzen die in erster Dimension aufgetrennt wurden in zweiter Dimension koeluiieren, oder sich ihre Elutionsreihenfolge ändert.

Der Modulator sammelt und fokussiert kleine Fraktionen des Eluentenstroms der ersten Dimension und injiziert diese in die zweite Dimension, während bereits die nächste Fraktion gesammelt wird. Die definierte Dauer dieses Prozesses wird als „Modulationsperiode“

⁸ [Internet]. <http://www.shimadzu.com/an/gc/multidimgc/multidimmdgc.html>

bezeichnet. Dies ist die Zeit die der Modulator für die Fraktionierung und Freisetzung der einzelnen Banden benötigt. Eine Modulationsperiode ist jedoch nicht ausreichend um den gesamten Peak zu transferieren. Dieser wird bei dem Modulationsprozess in entsprechende Portionen (Scheiben, Banden) unterteilt, sodass eine Serie von zweidimensionalen Retentionszeiten und somit auch eine zusätzliche visuelle Information entstehen. Durch die Modulation wird sichergestellt, dass die in erster Dimension erreichte Auftrennung der Komponenten aufrechterhalten bleibt und eine zusätzliche Auftrennung in zweiter Dimension möglich ist (Mondello 2011). Voraussetzung dafür ist allerdings ist, dass jeder von der ersten Dimension eluierende Peak zumindest dreimal gesammelt und in zweiter Dimension aufgetrennt werden muss (Murphy et al. 1998). Die Temperaturrampe für die Auftrennung in zweiter Dimension liegt dabei meist im Bereich von 2°C/min - 5°C/min, wodurch die Auftrennung in zweiter Dimension als isotherme Analyse betrachtet werden kann (Mondello 2011).

Man unterscheidet dabei zwischen thermischen Modulatoren und valve-based Modulatoren, wobei sich thermischen Modulatoren, bei denen zusätzlich zwischen cryogenen und heizenden Modulatoren unterschieden wird, durchgesetzt haben.

Bei cyrogenen Modulatoren erfolgt dabei eine Sammlung der Fraktionen durch Ausfrieren des Eluats von der ersten Dimension. Die Aufgabe auf die zweite Dimension erfolgt durch kurzes Aufheizen (wenigen Millisekunden) auf eine hohe Temperatur, welche durch einen elektrischen Impuls erzielt wird. Die Vorteile eines cryogenen Modulators sind dabei einerseits, dass hoch flüchtige Analyten fraktioniert werden können, andererseits lässt sich dadurch auch die Injektionszeit präzise steuern.

Ein einfacher und verlässlicher Modulator ist der sogenannte „Loop Modulator“. Dabei handelt es sich um einen zweistufigen cryogenen Modulator mit zwei Düsen, einer für den Heißluftstrom (Hot Jet) und einer für den Kaltluftstrom (Cold Jet). Die beiden Düsen sind dabei in einem 90° Winkel zueinander positioniert, um die aufzutrennenden Komponenten zu refokussieren und auf die zweite Säule zu transferieren. Während der Cold Jet (flüssiger N₂) kontinuierlich läuft, agiert der Hot Jet periodisch pulsierend. Das Aufheizen der ausgefrorenen Banden führt dabei zu einer Mobilisierung der zurückgehaltenen Analyten. Neben dem Festhalten und Freilassen der Analyten verhindert dieser zweistufige thermische Modulationsprozess durch das periodische Ein- und Ausschalten des Hot Jets auch das Einfrieren der Düse des Cold Jets.

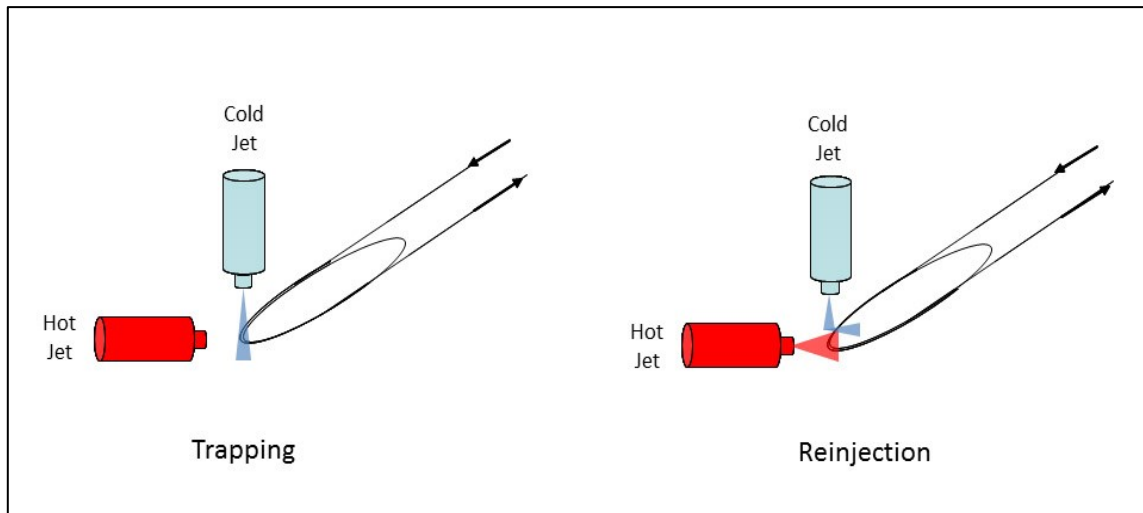


Abbildung 23: Funktionsprinzip des Loop-Modulators⁹

Der Vorteil dieses thermischen Modulationsverfahrens gegenüber anderen Modulationstechniken besteht dabei darin, dass anhand dieser Technik scharfe Modulationsimpulse erzeugt werden, wodurch Auflösung und Nachweisgrenze entscheidend verbessert werden (Shellie et al. 2002; Adahchour et al. 2005; Mondello et al. 2005).

Grundsätzlich wird in der GCxGC dasselbe Equipment wie bei eindimensionaler GC verwendet. Die beiden Säulen können dabei in einem oder in zwei separaten GC-Öfen positioniert sein. Die Auftrennung der beiden Säulen auf zwei Öfen bringt dabei den Vorteil, dass beide Auftrennungen mit, voneinander unabhängigen Temperaturprogrammen erfolgen können. Bei der Positionierung in einem Ofen können sich hingegen Limitierungen ergeben, da durch die unterschiedlichen Eigenschaften der beiden Säulen, die Limits der Anwendungstemperaturen oft stark voneinander abweichen (Tranchida et al. 2009). Die primäre Säule (Säule in 1. Dimension) ist üblicherweise eine unpolare Säule mit einer Länge von 15-30 m mit einem Innendurchmesser zwischen 0,1 und 0,25 mm und einer Schichtdicke von 0,25-1 μm . Die sekundäre Säule (Säule in 2. Dimension) ist hingegen wesentlich kürzer und effizienter mit einer Länge von 0,5 bis 2 m und einem Innendurchmesser zwischen 0,1 und 0,25 mm, um eine Auftrennung der aufgetragenen Komponenten innerhalb einer Modulationsperiode zu beenden. Das Beschichtungsmaterial soll dabei einen zur primären Säule entgegengerichteten Trennmechanismus aufweisen, wodurch polarere Beschichtungen als in erster Dimension verwendet werden.

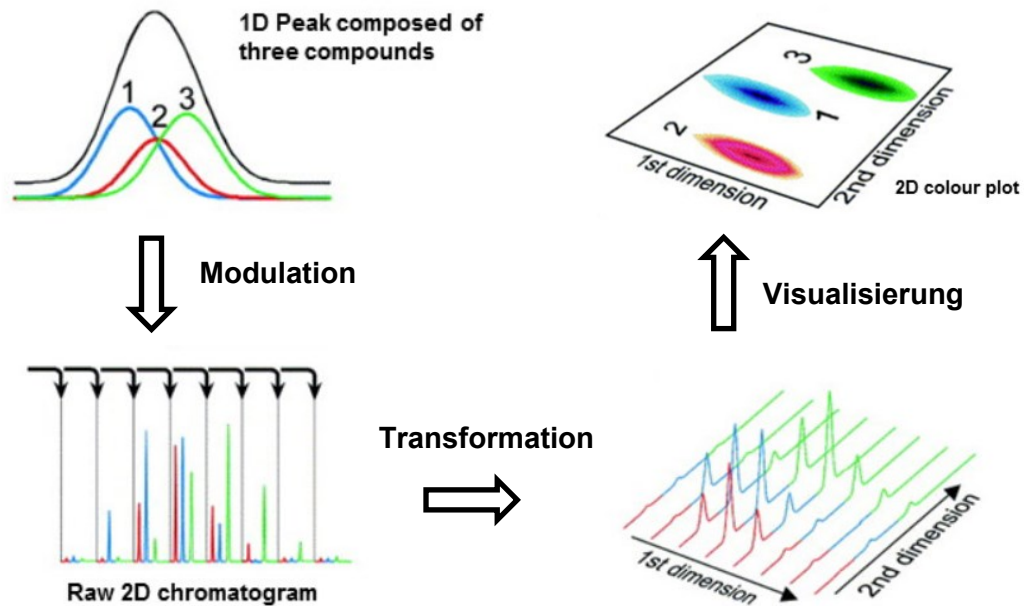
Die Anforderungen an einen Detektor in Kombination mit GCxGC sind eine hohe Datenaufnahmerate. Die sehr schnelle (nahezu isothermale) Auftrennung der modulierten

⁹ [Internet]. <http://lipidlibrary.aocs.org/Analysis/content.cfm?ItemNumber=41157>

Peaks in zweiter Dimension, die eine Peakbreite von 50-200 ms aufweisen, erfordern eine Datenaufnahmerate von zumindest 100 Hz. Der am weitesten verbreitete Detektor in Kombination mit GCxGC ist der Flammenionisationsdetektor (FID), der sowohl für quantitative, als auch qualitative Analysen zum Einsatz kommt. Neben der Anwendung von Flammenionisationsdetektoren kommt es darüber hinaus zur Kopplung von GCxGC mit Massenspektrometrie. Die Kombination von GCxGC mit Massenspektrometrie stellt ein starkes analytisches Messinstrument zur Identifikation komplexer Zusammensetzungen von flüchtigen Verbindungen dar (Mondello et al. 2008), da dadurch das Potential der GCxGC um eine zusätzliche Dimension erweitert wird.

Die Kombination von GCxGC mit Quadrupol-Massenspektrometern (q-MS), wie sie heutzutage häufig zum Einsatz kommt, war zu Beginn aufgrund der zu geringen Datenaufnahmeraten der q-MS jedoch nicht von Erfolg gekrönt. Erst die Entwicklung neuer leistungsfähigerer Quadrupol-Massenspektrometer, mit Scangeschwindigkeiten von bis zu 20 000 amu/s ermöglichte den Erfolg dieser Kombination. Die Datenaufnahmerate der q-MS ist dabei abhängig von der Scangeschwindigkeit (amu/s), der Interscan Verzögerung (Zeit zwischen Ende und Beginn eines Scans – ms) und dem Massenbereich. Die Genauigkeit der qualitativen und quantitativen Daten eines Massenspektrums ist dabei Abhängig von der Anzahl der Datenpunkte pro Peak, sowie vom Massenbereich des Scans. Umso höher die Datenaufnahmerate ist, umso mehr Punkte pro Peak sind somit erforderlich. Um diesen Anforderungen gerecht zu werden ist jedoch häufig eine Einschränkung des Massenbereichs erforderlich, was zu einer Limitierung führt.

Ein GCxGC Chromatogramm wird als dreidimensionaler Plot mit zwei Retentionszeiten und den Signalintensitäten als Achsen dargestellt (Mondello 2011). Der Detektor registriert dabei ein kontinuierliches lineares Signal, das eine Serie von Chromatogrammen der einzelnen Modulationsperioden darstellt. Die Interpretation solcher Chromatogramme ist komplex, da durch Modulation jede aus der ersten Dimension eluierende Verbindung in mehreren sekundären Chromatogrammen vorkommt. Um die Auswertung zu erleichtern werden die Daten über eine entsprechende Software in dreidimensionale Plots konvertiert (siehe Abbildung 24). Auf der x-Achse wird dabei die primäre Retentionszeit (Retentionszeit der Injektion in die 2. Dimension), auf der y-Achse die sekundäre Retentionszeit (absolute Retentionszeit abzüglich der Injektionszeit der Modulationsperiode) und auf der z-Achse die Signalintensität aufgetragen (Mondello 2011).

Abbildung 24: Graphische Darstellung einer GCxGC Analyse¹⁰

Vergleicht man nun MDGC mit GCxGC, so lässt sich sagen, dass MDGC gut geeignet für die Untersuchung einzelner Substanzen in komplexen Matrices ist, für die die Trennleistung in eindimensionaler GC nicht ausreicht. Für hoch komplexe Gemische aus denen mehrere Verbindungen untersucht werden sollen ergeben sich für die MDGC Limitierungen, da nur spezifische Teile des Eluats der ersten Dimension auf die zweite Dimension übertragen werden können. Für Anwendungen in diesem Bereich ist somit GCxGC die Methode der Wahl. Darüber hinaus ist GCxGC durch eine erhöhte Peakkapazität, eine verbesserte Sensitivität und Selektivität und damit verbunden einem besseren Signal-zu-Rausch Verhältnis (signal-to-noise ratio; S/N) charakterisiert. Das S/N-Verhältnis ist dabei Abhängig von der Signalintensität, sowie dem Hintergrundrauschen, welches sich aus dem chemischen Hintergrund der Matrix und dem elektrischen Rauschen zusammensetzt. Eine deutliche Steigerung der Peakkapazität der GCxGC im Vergleich zur MDGC ergibt sich dadurch, dass es durch den Transfer der gesamten Probe auf die zweite Dimension zu einer Multiplikation der Peakkapazitäten der beiden Säulen kommt, wogegen es bei der MDGC nur zu einer Steigerung der Peakkapazität durch Addition der Peakkapazitäten der beiden Säulen kommt. Das um ungefähr eine Größenordnung gesteigerte S/N-Verhältnis und die damit verbundene Steigerung der Empfindlichkeit der GCxGC gegenüber der MDGC ergibt sich aus dem Modulationsprozess bei der GCxGC. Durch den Fokussierungsprozess und die Injektion kurzer, scharfer Impulse in Form von schmalen diskreten Banden werden scharfe,

¹⁰ [Internet]. <http://lipidlibrary.aocs.org/Analysis/content.cfm?ItemNumber=41157>

schmale Peaks von 50-200 ms erzeugt, wogegen bei der MDGC Peakbreiten von 5-30 s analog zur eindimensionalen GC erhalten werden. Dies führt somit zu einer deutlichen Sensitivitätssteigerung der GCxGC gegenüber der MDGC.

6 Material und Methoden

Ziel aller analytischen Bestimmungen war es, Schadstoffe und migrierende Substanzen in Papier-, Karton- und Pappverpackungen für Lebensmittel- und Hygieneartikel, sowie in Hygieneartikeln aus Papier sowohl qualitativ als auch quantitativ zu erfassen und zu bestimmen. Die durchgeführten Arbeiten lassen sich in zwei große Themengebiete unterteilen: die Analyse von Bisphenolen (I) und die Analyse der Mineralölfraction (II). Hinsichtlich der Analyse von Bisphenolen erfolgte einerseits die Entwicklung und Validierung unterschiedlicher gaschromatographischer Methoden für die qualitative und quantitative Bestimmung von Bisphenol A in Papier, sowie die Entwicklung und Validierung einer GC-MS/MS und LC-MS/MS Methode zur qualitativen und quantitativen Analyse unterschiedlicher Bisphenole (BPA, BPAF, BPB, BPE, BPF, BPS). Bei der Analyse der Mineralölfraction lag der Fokus auf der Identifizierung einzelner Verbindungen und Verbindungsklassen der aromatischen Fraktion.

6.1 Bestimmung von Bisphenol A mit unterschiedlichen gaschromatographischen Methoden

Um Bisphenol A gaschromatographisch erfassen zu können ist auf Grund der Schwerflüchtigkeit von BPA eine Derivatisierung nötig. Ziel war die Entwicklung und Validierung unterschiedlicher Methoden zur Bestimmung von Bisphenol A in Verpackungspapieren, sowie die Überprüfung der Anwendbarkeit der Methoden anhand von Realproben. Dazu wurden unterschiedliche Derivatisierungstechniken, unterschiedliche gaschromatographische Analysetechniken und unterschiedliche Ionisationstechniken der Massenspektrometrie angewandt. Die Derivatisierung von Bisphenol A erfolgte nach Extraktion der Papierproben mit MeOH einerseits mit Pentafluorobenzoylchlorid (PFBOCl), andererseits mit N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide(99%)-trimethylchlorsilan(1%) (BSTFA-TMCS). Die gaschromatographische Analyse der Pentafluorobenzoyl-Derivate erfolgte mittels GC-MS im SIM-Mode nach Elektronenstoßionisation (EI-GC-MS) oder negativ chemischer Ionisation (NCI-GC-MS). Die Analyse der BSTFA Derivate erfolgte mittels GC-MS im SIM-Mode nach Elektronenstoßionisation (EI-GC-MS) und GC-MS/MS im MRM-Mode nach Elektronenstoßionisation (EI-GC-MS/MS).

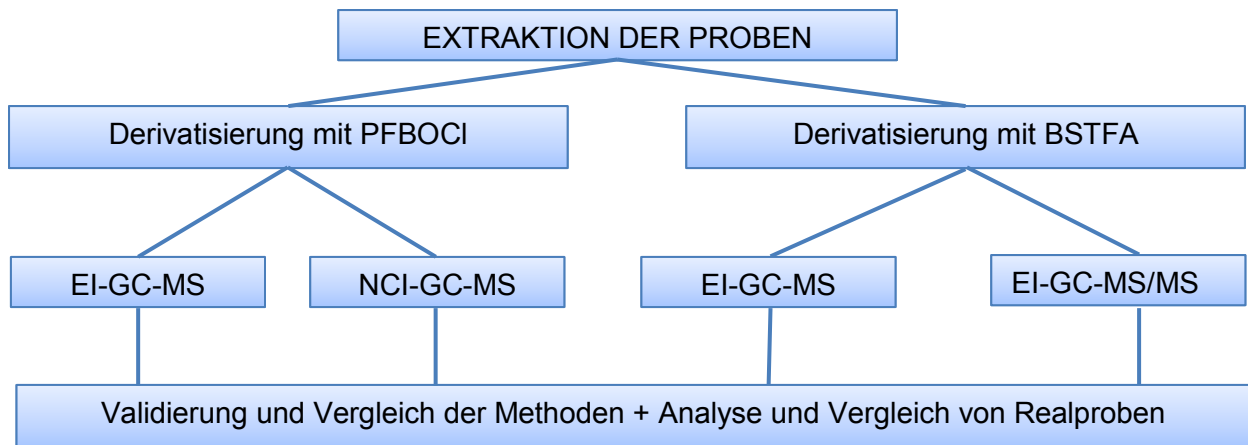


Abbildung 25: Darstellung der unterschiedlichen Derivatisierungs- und Analysetechniken der Bestimmung von BPA in Papier

Neben der Analyse von BPA in Verpackungspapieren für Lebensmittel, welche den Hauptbestandteil der Bestimmung von Bisphenol A ausmachten, wurde Bisphenol A auch in Hygienepapieren nachgewiesen. Die Extraktion der Hygienepapiere erfolgte dabei anhand einer Kaltwasserextraktion nach DIN EN 645. Anschließend erfolgte eine Derivatisierung mit Pentafluorobenzoylchlorid.

6.1.1 Proben

Als Ausgangsmaterial der einzelnen Experimente dienten Lebensmittelkontaktpapiere (Karton, Pappe) und Hygienepapiere (Papierhandtücher, Küchenrolle) mit unterschiedlichem Recyclinganteil. Es wurden 18 unterschiedliche Primär-, Sekundär- und Tertiärverpackungen, sowie 7 Hygienepapiere analysiert. Primär- und Sekundärproben stammten aus verschiedenen österreichischen Supermärkten, sowie Eigenproben aus dem Haushaltsbedarf. Tertiärproben und Hygienepapiere wurden von internationalen Papier- und Kartonerzeugern zur Verfügung gestellt. Alle Proben wurden sofort nach Erhalt in Alufolie eingewickelt und bei Raumtemperatur gelagert. Die Aufarbeitung der Proben erfolgte ausschließlich mit Gummihandschuhen und Bisphenol A-freiem Laborgeschirr. Art und Eigenschaften der Proben sind in Tabelle 2 aufgelistet. Zur Methodvalidierung mittels Standardaddition wurde eine ungebleichte Zelluloseprobe eines österreichischen Papier- und Kartonerzeugers mit einem Flächengewicht von 80g/m² verwendet.

Tabelle 2: Untersuchte Proben

Probe	Produkt	Art der Probe	Flächengewicht g/m ²
1	Nudelpackung 1	Primär - Frischfaser	235
2	Nudelpackung 2	Primär - Recycelt	300
3	Couscousverpackung	Primär - Frischfaser	275
4	Schokoladepackung	Primär - Frischfaser	490
5	Reisverpackung	Sekundär – Recycelt	450
6	Zuckerpackung	Sekundär – Recycelt	380
7	Cerealienverpackung	Sekundär – Recycelt	410
8	Transportbox Hygieneartikel	Tertiär – Recycelt	500
9	Transportbox Süßigkeiten 1	Tertiär – Recycelt	510
10	Transportbox Milch 1	Tertiär – Recycelt	370
11	Transportbox Gebäck	Tertiär – Recycelt	525
12	Transportbox Cerealien	Tertiär – Recycelt	490
13	Transportbox Süßigkeiten 2	Tertiär – Recycelt	400
14	Transportbox Kekse	Tertiär – Recycelt	340
15	Transportbox Sekt	Tertiär – Recycelt	410
16	Transportbox Milch 2	Tertiär – Recycelt	415
17	Transportbox Schokolade	Tertiär – Recycelt	430
18	Transportbox Süßigkeiten 3	Tertiär - Recycelt	400
H1	Papierhandtücher einzeln	Hygienepapier	30
H2	Papierhandtücher einzeln	Hygienepapier	40
H3	Papierhandtücher einzeln	Hygienepapier	40
H4	Papierhandtücher Rolle	Hygienepapier	40
H5	Küchenrolle	Hygienepapier	50
H6	Papierhandtücher Rolle	Hygienepapier	40
H7	Papierhandtücher einzeln	Hygienepapier	35

6.1.2 Herstellung der Kalibrationsstandards

Alle Standardlösungen, (BPA und BPA-d₁₆) wurden in einer Konzentration von 1 g/l in Methanol hergestellt. Die Arbeitslösungen der Kalibrationsstandards wurden dabei durch Verdünnung der jeweiligen Stammlösung in MeOH hergestellt und bei -18°C für maximal 3 Wochen aufbewahrt. Die Konzentration des internen Standards betrug 50 µg/kg Papier.

Es wurden 4-Punkt Kalibrationsgeraden in unterschiedlichen Konzentrationsstufen für unterschiedliche Kalibrationsbereiche hergestellt und jeweils eine Dreifachbestimmung durchgeführt. Die Kalibrationspunkte für die EI-GC-MS Messung der Pentafluorobenzoyl-Derivate waren 25, 50, 250, 500 und 2500 µg/kg Papier. Die Kalibration der Pentafluorobenzoyl-Derivate mittels NCI-GC-MS und der BSTFA Derivate mittels EI-GC-MS erfolgte für jeweils 2 Kalibrationsbereiche. Der untere Bereich der NCI-GC-MS Messung Pentafluorobenzoyl-Derivate umfasste 0,05 bis 1 µg/kg Papier (0,05; 0,1; 0,5 und 1 µg/kg), der obere Bereich 0,5 bis 50 µg/kg Papier (0,5; 5; 25 und 50 µg/kg).

Der Konzentrationspunkte für den unteren Konzentrationsbereich der EI-GC-MS Messung der BSTFA Derivate waren 5, 20, 35 und 50 µg/kg Papier, jene des oberen 50, 200, 350 und 500 µg/kg Papier. Die Kalibrationspunkte für die GC-MS/MS Analyse der BSTFA-Derivate waren analog zu jenen der EI-GC-MS Messung, aufgrund der höheren Sensitivität und Selektivität von GC-MS/MS gegenüber GC-MS wurde jedoch ein zusätzlicher Kalibrationsbereich von 0,5 bis 5 µg/kg Papier (0,5; 2; 3,5 und 5 µg/kg) hinzugefügt.

6.1.3 Extraktion der Papierproben mit MeOH

Für die Methodvalidierung wurden 2 g kleingeschnittene Zellulose (ca. 0,5 x 0,5 cm) in ein 40 ml Glasvial mit Schraubdeckel mit Teflonseptum eingewogen. Für die Methodvalidierung mittels Standardaddition erfolgte die Zugabe von 10 µl der jeweiligen Additionslösung für die entsprechenden Kalibrationspunkte, sowie die Zugabe von 10 µl des internen Standards BPA-d₁₆. Bei den Proben, wurde zu 2 g kleingeschnittener Probe je 10 µl der internen Standardlösung zugegeben. Nach der Zugabe von 20 ml MeOH wurden die Proben für 30 min im Ultraschallbad extrahiert, das Lösungsmittel dekantiert und mit Hilfe eines TurboVap Verdampfers (Biotage TurboVap® II Concentration Evaporator Workstation) unter N₂, bei einer Wasserbadtemperatur von 40°C auf ein Volumen von 0,5 ml eingeeengt. Die konzentrierten Extrakte wurden anschließend zur Entfernung etwaiger Feststoffpartikel durch einen 0,45 µm PTFE Spritzenfilter filtriert. Alle Extrakte wurden in 2 ml Schraubvials überführt und bis zur Derivatisierung bei -18°C tiefgekühlt. Aufgrund von zum Teil hohen BPA-Konzentrationen in Proben aus Recyclingmaterial war in gegebenen Fällen eine Verdünnung nötig, um den Kalibrationsbereich der jeweiligen Methode nicht zu überschreiten. In solchen Fällen wurde der Verdünnungsfaktor in Vorversuchen ermittelt und die Konzentration der internen Standardlösung vor der Extraktion an den Verdünnungsfaktor angepasst. Um eine maximale Extraktionsausbeute zu erzielen wurden in Vorversuchen das optimale Lösungsmittel, Extraktionsvolumina und Papiereinwaage ermittelt. Die unterschiedlichen getesteten Lösungsmittel waren, Aceton, Aceton/EtOH 1:1, MeOH und MeOH/H₂O 1:1.



Abbildung 26: Papierproben vor der Extraktion (li.) und filtrierte Extrakte (re.)

6.1.4 Kaltwasserextraktion nach DIN EN 645

Für alle Hygienepapiere wurde eine Kaltwasserextraktion nach DIN EN 645 durchgeführt (DIN 1994). Dazu wurden 10 g kleingeschnittene Probe (ca. 1 x 1 cm) in einen 500 ml Erlenmeyerkolben eingewogen mit 200 ml $\text{H}_2\text{O}_{\text{dest.}}$ aufgefüllt und 24 h bei Raumtemperatur extrahiert. Anschließend wurden die Extrakte filtriert und mittels eines Rotavapors auf ein definiertes Endvolumen von 250 ml gebracht. Die Konzentration des internen Standards (BPA- d_{16}) betrug 0,25 mg/kg Papier, wobei die interne Standardlösung in MeOH vorlag. Die mit internem Standard versehenen Kaltwasserextrakte wurden anschließend mit Pentafluorobenzoylchlorid derivatisiert und der Gehalt an Bisphenol A ermittelt. Die Derivatisierung mit PFBOCI und die anschließende gaschromatographische Analyse ersetzte dabei die Bestimmung von Bisphenol A mittels HPLC nach ÖNORM CEN/TS 13130-13 (ÖNORM 2005).

6.1.5 Derivatisierung von BPA mittels Pentafluorobenzoylchlorid (PFBOCI)

Die Derivatisierung von BPA mittels PFBOCI basiert auf bereits in der Literatur beschriebenen Methoden, die für die Derivatisierung von Papierextrakten optimiert wurden (Kuch & Ballschmiter 2001; Boitsov et al. 2004; Geens et al. 2009; Zhao et al. 2009; Li et al. 2010). Die Derivatisierung erfolgt dabei in Form einer extraktiven Derivatisierung aus wässrig-basischem Milieu bei gleichzeitiger Extraktion der gebildeten Derivate in n-Hexan. Durch die Einbringung von 10 Fluoratomen entstehen hoch elektrophile Derivate wodurch eine hohe Sensitivität für negativ chemische Ionisation entsteht. Die Analyse erfolgte anschließend zu Vergleichszwecken anhand von EI-GC-MS und NCI-GC-MS.

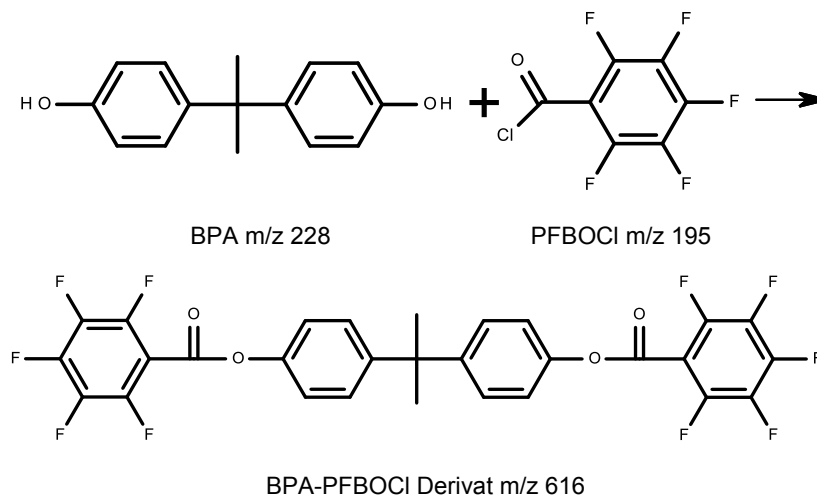


Abbildung 27: Derivatisierung von BPA mit Pentafluorobenzoylchlorid

6.1.5.1 Methodenentwicklung

Zur Derivatisierung wurden die organischen Extrakte mittels N_2 zur Trockene eingengt, in $H_2O_{\text{bidest.}}$ aufgenommen, Base und Derivatisierungsreagenz zugegeben und in organisches Milieu extrahiert. In diversen Vorversuchen zeigten sich die besten Resultate bei Aufnahme der zur Trockene eingengten Extrakte in 1 ml $H_2O_{\text{bidest.}}$, Zugabe von 2 M Kaliumhydroxid (KOH) als Base und anschließender Extraktion mit 2x2 ml Hexan. Die vereinten organischen Phasen wurden anschließend auf ein Volumen von 0,5 ml eingengt (Biotage TurboVap® II Concentration Evaporator Workstation) und mit Hexan auf ein Endvolumen von 1 ml aufgefüllt. Die schrittweise Optimierung der einzelnen Parameter erfolgte dabei anhand von Standardlösungen (BPA und BPA- d_{16} in MeOH) mit einer Konzentration von 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Papier. Die Optimierung der einzelnen Parameter bezog sich dabei auf:

- Volumen an zugegebener KOH
- Volumen bzw. Konzentration an zugegebenem Derivatisierungsreagenz
- Derivatisierungsdauer
- Derivatisierungstemperatur

In Tabelle 3 sind die einzelnen Parameter zur Methodenoptimierung aufgelistet, wobei die farbig gedruckten Ausführungen den optimalen Parametern entsprechen.

Tabelle 3: Parameter der Methodenoptimierung der Derivatisierung mit PFBOCI

Optimierung der Zugabe KOH
- 25 µl KOH 2 M
- 50 µl KOH 2 M
- <i>100 µl KOH 2 M</i>
- 150 µl KOH 2M
Optimierung der Zugabe PFBOCI
- PFBOCI 5 % in Toluol (jeweils 10 µl, 20 µl und 50 µl)
- PFBOCI 5 % in Hexan (jeweils 10 µl, 20 µl und 50 µl)
- <i>PFBOCI 10 % in Toluol</i> (jeweils 10 µl, <i>20 µl</i> und 50 µl)
- PFBOCI 10 % in Hexan (jeweils 10 µl, 20 µl und 50 µl)
Optimierung der Derivatisierungstemperatur
- <i>5 min bei Raumtemperatur</i>
- 5 min bei 40°C
- 5 min bei 60°C
- 5 min bei 80°C
Optimierung der Derivatisierungsdauer
- <i>2 min schütteln</i>
- 5 min schütteln
- 10 min schütteln
- 20 min schütteln

Alle Messungen zur Methodenoptimierung erfolgten mittels EI-GC-MS. Anhand der Methodenoptimierung wurde die in Abb. 22 angeführte Methode für die Derivatisierung methanolischer Papierextrakte entwickelt:

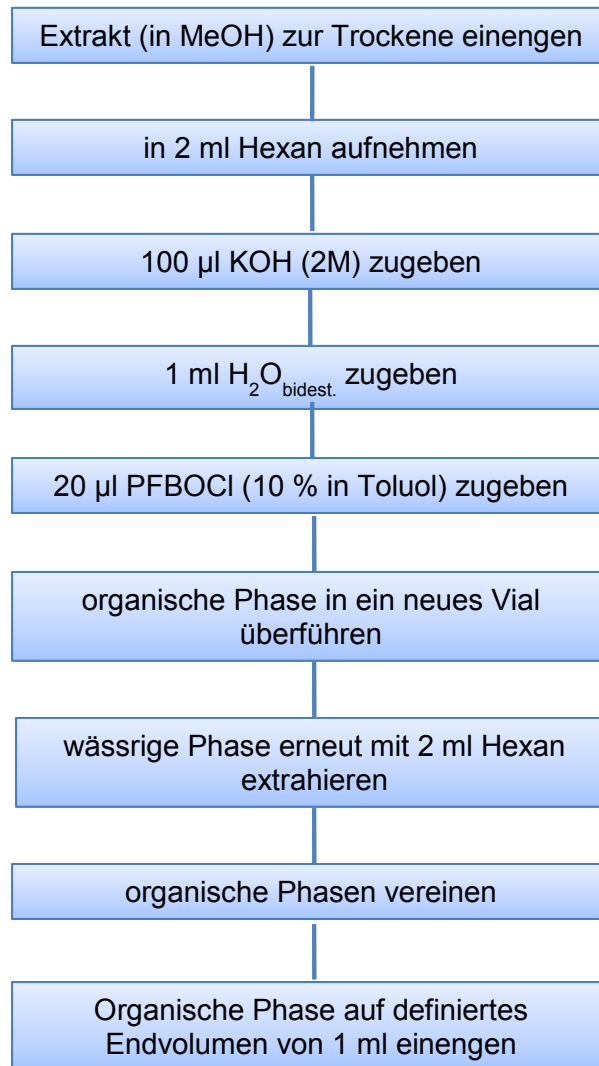


Abbildung 28: Optimierte Methode zur Derivatisierung von Papierextrakten mit PFBOCI

6.1.5.2 Derivatisierung der methanolischen Papierextrakte

Alle Extrakte wurden mit der unter 6.1.5.1 entwickelten Methode derivatisiert. Alle Derivate wurden bis zur Analyse bei -18°C tiefgefroren und waren 8 Wochen stabil.

6.1.5.3 Derivatisierung der Kaltwasserextrakte

Zur Derivatisierung der Kaltwasserextrakte wurde 1 ml wässriger Extrakt mit 100 µl KOH (2 M), und 20 µl PFBOCI (10 % in Toluol) versehen und mit 2x2 ml Hexan extrahiert. Alle weiteren Schritte erfolgten analog zur Derivatisierung der methanolischen Extrakte der Verpackungspapiere (siehe 6.1.5.1).

6.1.6 Derivatisierung von BPA mittels *N,O*-Bis(trimethylsilyl)-trifluoroacetamide (99 %) – Trimethylchlorsilan (1 %) (BSTFA-TMCS)

Die Derivatisierung von BPA mittels BSTFA basiert auf einer bewährten und optimierten In-House Methode, sowie in der Literatur beschriebenen Methoden, die für die Derivatisierung von Papierextrakten optimiert wurden (Hibberd et al. 2009; Fenlon et al. 2010; Lu et al. 2013). Die Derivatisierung erfolgt dabei pyridinkatalysiert in wasserfreiem Milieu, wodurch eine Derivatisierung der Kaltwasserextrakte ohne zu großen Analytverlust nicht möglich ist. Die derivatisierten Extrakte wurden anschließend mittels EI-GC-MS und EI-GC-MS/MS analysiert. Die BSTFA Derivate sind aufgrund unzureichender Elektrophilität ausschließlich einer Messung mittels Anregung durch Elektronenstoßionisation zugänglich.

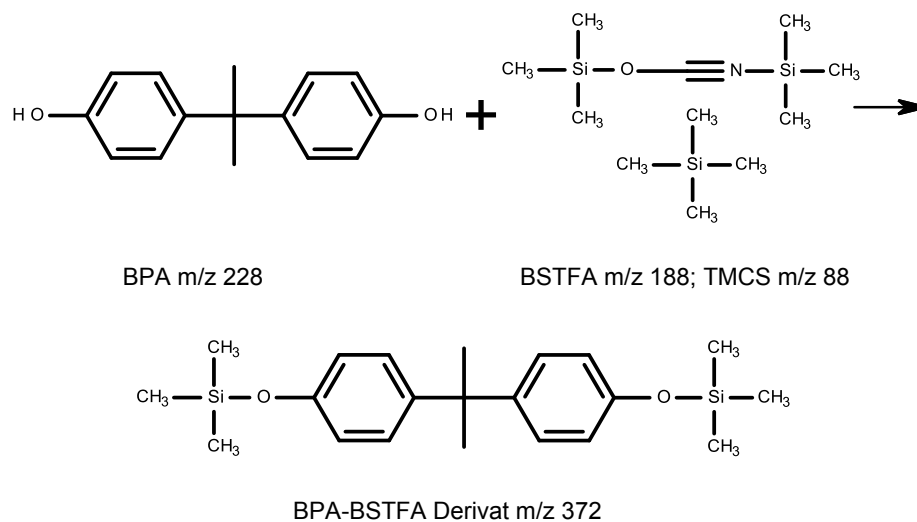


Abbildung 29: Derivatisierung von BPA mit BSTFA

6.1.6.1 Derivatisierung der Papierextrakte

Zur Derivatisierung wurden die Extrakte und Standards mittels N_2 zur Trockene eingengt, 50 μ l BSTFA-TMCS und 50 μ l Pyridin zugegeben. Dieser Ansatz wurde vorsichtig durchmischt und für 15 min bei Raumtemperatur zur Reaktion gebracht. Anschließend wurden die Derivate mit 400 μ l Ethylacetat auf ein Endvolumen von 500 μ l aufgefüllt. Alle Derivate wurden bis zur Messung bei -18°C tiefgekühlt und waren 3 Wochen stabil.

Zusätzlich wurde auch eine Derivatisierung ohne Pyridin durchgeführt, um den Einfluss von Pyridin auf die Derivatisierung festzustellen.

6.1.7 Gaschromatographische Analyse

Die Analyse der Pentafluorobenzoyl-Derivate erfolgte mittels GC-MS im SIM-Mode (Single Ion Monitoring), sowohl nach Ionisation mittels Elektronenstoßionisation (EI), als auch negativ chemischer Ionisation (NCI). Die Analyse der BSTFA Derivate erfolgte hingegen ausschließlich nach Ionisation mittels Elektronenstoßionisation durch GC-MS im SIM-Mode und GC-MS/MS im MRM-Mode (Multiple Reaction Monitoring).

6.1.7.1 Analyse der Pentafluorobenzoyl-Derivate

Die GC-MS Analyse der Pentafluorobenzoyl-Derivate wurden auf einem Shimadzu GC-MS 2010 Plus massenspektrometrischen System, ausgestattet mit einem Shimadzu AOC 5000-Plus Autosampler durchgeführt. Alle quantitativen Messungen erfolgten im Single Ion Monitoring (SIM-Mode). Die Massen für die Quantifizier- und Qualifizierungen von BPA und BPA-d₁₆ wurden anhand der Messungen eines Scan-Spektrums (TIC – Total Ion Chromatogramm) im Massenbereich von 50-700 amu ermittelt und sind Tabelle 4 zu entnehmen, die Messparameter sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

Tabelle 4: MS Parameter der GC-MS Messung der Pentafluorobenzoyl Derivate

GC-MS Parameter			
Säulenparameter			
Säule	Phenomenex ZB5-MS		
Länge	30 m		
Durchmesser (ID)	0,25 mm		
Schichtdicke	0,25 µm		
GC-Parameter			
Injektortemperatur	240°C		
Injektionsvolumen	1 µl splittless		
Flussrate	40 cm/sec Linear Velocity		
Trägergas	Helium		
Temperaturprogramm	90°C(1min) – 10°C/min – 320°C(5min)		
MS Parameter			
MS-Parameter (EI)		MS-Parameter (NCI)	
Ionenquelle	200°C	Ionenquelle	200°C
Interface	300°C	Interface	300°C
Solvent Cut	19 min	Solvent Cut	19 min
Energie EI	70 eV	Ionisationsgas	Isobutan 3.6
		Druck Isobutan	0,3 bar
Event Time	0,30 sec	Event Time	0,30sec

Tabelle 5: Analyseparameter der GC-MS Messungen der Pentafluorobenzoyl Derivate

GC-MS Analyse	Verbindung	Molekular- masse	Quantifizierung (<i>m/z</i>)	Qualifizierung (<i>m/z</i>)
EI-GC-MS (PFBOCI)	BPA	601	601	195
	BPA-d ₁₆	612	612	195
NCI-GC-MS (PFBOCI)	BPA	616	616	617
	BPA-d ₁₆	630	630	631

6.1.7.2 Analyse der BSTFA-TMCS Derivate

Die GC-MS Analysen der BSTFA-Derivate wurden auf einem Shimadzu GC-MS 2010 Plus massenspektrometrischen System, ausgestattet mit einem Shimadzu AOC 5000-Plus Autosampler, durchgeführt. Alle quantitativen Messungen erfolgten im Single Ion Monitoring (SIM-Mode). Die Massen für die Quantifizier- und Qualifizierungen wurden anhand der Messungen eines Scan-Spektrums im Massenbereich von *m/z* 50 - 700 ermittelt und sind Tabelle 6 zu entnehmen.

Tabelle 6: MS Parameter der GC-MS Messung der BSTFA-TMCS Derivate

GC-MS Analyse	Verbindung	Molekular- masse	Quantifizierung (<i>m/z</i>)	Qualifizierung (<i>m/z</i>)
EI-GC-MS (BSTFA)	BPA	372	357	358, 372
	BPA-d ₁₆	386	368	386

Die GC-MS/MS Analysen der BSTFA Derivate wurden auf einem Shimadzu GC-MS TQ 8040 massenspektrometrischen System, ausgestattet mit einer EI-Ionenquelle und einem Shimadzu AOC 5000-Plus Autosampler durchgeführt. Alle quantitativen Messungen erfolgten mittels Multiple Reaction Monitoring (MRM-Mode), als Kollisionsgas diente Argon. Die Massenübergänge und die entsprechenden Kollisionsenergien (CID – Collision Induced Dissociation Energy) sind in Tabelle 7 zusammengefasst.

Tabelle 7: MS Parameter der GC-MS/MS Messung der BSTFA-TMCS Derivate

Verbindung	Molekular- masse	Precursorion (<i>m/z</i>)	Produktion (<i>m/z</i>)	Kollisionsenergie (V)
BPA	372	357,2	191,2	20
		358,2	192,2	20
		372,2	357,2	10
		368,3	197,3	20
BPA-d ₁₆	386	369,3	198,3	20
		386,3	368,3	10

Alle gerätetechnischen Messparameter sind in Tabelle 8 zusammengefasst.

Tabelle 8: Analyseparameter der GC-MS und GC-MS/MS Messung der BSTFA Derivate

GC-MS/MS Parameter			
<i>Säulenparameter</i>			
Säule	Phenomenex ZB5-MS		
Länge	30 m		
Durchmesser (ID)	0,25 mm		
Schichtdicke	0,25 µm		
<i>GC-Parameter</i>			
Injektortemperatur	240°C		
Injektionsvolumen	1 µl splitless		
Flussrate	40 cm/sec Linear Velocity		
Trägergas	Helium		
Temperaturprogramm	90°C(1min) – 10°C/min – 260°C – 20°C/min – 310°C(3min)		
<i>MS-Parameter</i>			
<i>MS-Parameter (GC-MS)</i>		<i>MS-Parameter (GC-MS/MS)</i>	
Ionenquelle	200°C	Ionenquelle	200°C
Interface	280°C	Interface	280°C
Solvent Cut	14 min	Solvent Cut	16 min
Energie EI	70 eV	Energie EI	70 eV
Event Time	0,20 sec	Event Time	0,20 sec
		Kollisionsgas	Argon, 200 kPa

6.1.8 Methodvalidierung

Eine Methodenevaluierung erfolgte hinsichtlich Linearität, Präzision, Sensitivität und Wiederfindungsrate. Alle statistischen Analysen wurden dafür mittels der Statistiksoftware ValiData Version 3.02.48 durchgeführt.

6.1.9 Berechnung der potenziellen Migration in das Packgut

Um eine Einhaltung der gesetzlichen Regelungen hinsichtlich der Migration von Bisphenolen zu überprüfen, wurde die maximale Migration unter Annahme von 100% Migration in trockene Lebensmittel bzw. Lebensmittelsimulanz berechnet. Die Berechnungen bezogen sich dabei auf die von der EFSA festgelegte Definition, dass 1 kg trockene Lebensmittel in direktem Kontakt mit 6 dm² Verpackung stehen, sowie dem tatsächlichen Flächengewicht der jeweiligen Proben. Die Annahme von 100% Migration ist dabei als „worst case“ Szenario zu betrachten.

Zusätzlich erfolgte die Berechnung des methodischen LOD und LOQ per kg Packgut für ein Verpackungsmaterial mit einem fiktiven Flächengewicht von 400 g/m², unter den angeführten Bedingungen. Ein Flächengewicht von 400 g/m² soll dem durchschnittlichen Wert eines Verpackungskartons zwischen 200 und 600 g/m² entsprechen. Es ist hierbei zu berücksichtigen, dass diese Werte bei zunehmendem bzw. abnehmendem Flächengewicht größer bzw. kleiner sind, da die Migration vom tatsächlichen Flächengewicht abhängig ist.

6.2 Bestimmung von Bisphenolen (BPA, BPAF, BPB, BPE, BPF, BPS) mittels GC-MS/MS und LC-MS/MS

Ziel war die Entwicklung und Validierung unterschiedlicher Methoden zur Bestimmung von Bisphenolen in Verpackungspapieren, sowie die Überprüfung der Anwendbarkeit der Methoden anhand von Realproben. Dazu wurden unterschiedliche Analysetechniken (GC-MS/MS und LC-MS/MS) angewandt. Um eine für die GC-MS/MS ausreichende Flüchtigkeit zu erreichen, erfolgte eine Derivatisierung mit N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamid(99%)-trimethylchlorsilan(1%) (BSTFA-TMCS). Die gaschromatographische Analyse der BSTFA-Derivate erfolgte anschließend mittels GC-MS/MS im MRM-Mode nach Elektronenstoßionisation (EI-GC-MS/MS). LC-MS/MS erfordert keine Derivatisierung und ermöglicht eine direkte Analyse der Extrakte mittels LC-MS/MS im MRM-Mode nach Elektrosprayionisation (ESI-LC-MS/MS)

6.2.1 Proben

Es wurden 6 unterschiedliche Zellulose-, Papier- und Kartonproben, die als Ausgangsmaterial für Lebensmittelkontaktpapiere und Transportverpackungen dienen, untersucht. Die Proben bestanden aus 3 Frischfaser- und 3 Recyclingproben mit unterschiedlichem Recyclinganteil. Alle Proben wurden von unterschiedlichen europäischen Papier- und Kartonerzeugern zur Verfügung gestellt und stammen aus dem Jahr 2015. Für die Methodvalidierung wurde eine ungebleichte Frischfaser-Zelluloseprobe mit einem Flächengewicht von 80 g/m² verwendet. Alle Proben wurden sofort nach Erhalt in Alufolie eingewickelt und bei Raumtemperatur gelagert. Die Aufarbeitung der Proben erfolgte ausschließlich mit Gummihandschuhen und als Bisphenol A-frei deklariertem Laborgeschirr. Art und Eigenschaften der Proben sind in Tabelle 9 aufgelistet.

Tabelle 9: Untersuchte Proben

Probe	Produkt	Art der Probe	Flächengewicht g/m ²
1	Karton beschichtet	Frischfaser	240
2	Zellulose gerollt	Frischfaser	300
3	Karton gebleicht	Frischfaser	230
4	Testliner weiß	Recycelt	135
5	Karton beschichtet	Recycelt	180
6	Karton gebleicht	Recycelt	100

6.2.2 Herstellung der Kalibrationsstandards

Die Standardlösungen aller Verbindungen als auch der internen Standards (BPA-d₁₆ und ¹³C₁₂-BPA) wurden in einer Konzentration von 1 g/l in Methanol hergestellt. Für die gaschromatographische Analyse wurde BPA-d₁₆ als interner Standard verwendet, für die flüssigchromatographische Analyse in Abhängigkeit der Probenmatrix BPA-d₁₆ oder ¹³C₁₂-BPA. Die Arbeitslösungen der Kalibrationsstandards wurden als Mix durch Verdünnung der jeweiligen Stammlösungen in MeOH hergestellt und bei -18°C für maximal 3 Wochen aufbewahrt. Der interne Standard wurde auf eine Konzentration von 50 µg/kg Papier verdünnt.

Es wurden 4-Punkt Kalibrationsgeraden in unterschiedlichen Konzentrationsstufen für unterschiedliche Kalibrationsbereiche hergestellt und jeweils eine Dreifachbestimmung durchgeführt. Der untere Kalibrationsbereich umfasste 0,05 bis 5 µg/kg Papier (0,05; 2; 3,5 und 5 µg/kg), der mittlere Bereich umfasste 5 bis 50 µg/kg Papier (5; 20; 35 und 50 µg/kg), der obere Bereich umfasste 50 bis 500 µg/kg Papier (50; 200; 350 und 500 µg/kg).

6.2.3 Extraktion der Papierproben für die gaschromatographische Analyse

Die Extraktion der Proben erfolgte sowohl als Lösungsmittelextraktion in MeOH, als auch als Folchextraktion (Folch et al. 1957).

6.2.3.1 Lösungsmittelextraktion

Die Lösungsmittelextraktion erfolgte analog zur Extraktion der Proben mit MeOH für die Analyse von Bisphenol A mit unterschiedlichen gaschromatographischen Methoden (siehe 6.1.3), mit Ausnahme einer Papiereinwaage von 1 g statt 2 g.

6.2.3.2 Folch Extraktion

Für die Methodvalidierung wurden 1 g kleingeschnittene Zellulose (ca. 0,5 x 0,5 cm) in ein 40 ml Glasvial mit Schraubdeckel mit Teflonseptum eingewogen und 10 µl der jeweiligen Additionslösung, die den internen Standard enthielt, zugegeben. Bei den Proben wurde zu 2 g kleingeschnittener Probe je 10 µl interne Standardlösung zugegeben. Die Proben wurden in 10 ml mit Phosphorsäure angesäuertem H₂O (pH 1-2) aufgeschlämmt und in einem Disperser (Ultra-Turrax®) homogenisiert. Nach der Zugabe von 20 ml Folch Lösung (DCM+MeOH 2+1) wurden die Proben erneut für 1 min homogenisiert, 10 ml DCM zugegeben und für 10 min bei 3500 rpm zentrifugiert. Die organische Phase wurde anschließend unter N₂ in einem TurboVap Verdampfer (Biotage TurboVap® II Concentration Evaporator Workstation) bei einer Wasserbadtemperatur von 40°C auf ein Volumen von 0,5 ml eingengt. Die konzentrierten Extrakte wurden anschließend zur Entfernung etwaiger Feststoffpartikel durch einen 0,45 µm PTFE Spritzenfilter filtriert. Alle Extrakte wurden in 2 ml Schraubvials überführt und bis zur Derivatisierung bei -18°C tiefgekühlt.

6.2.4 Extraktion der Papierproben für die flüssigchromatographische Analyse

Die Extraktion der Proben für die flüssigchromatographische Analyse erfolgte ausschließlich mit MeOH. Wider Erwarten wurden für die Lösungsmittelextrakte gute Wiederfindungsraten erzielt, wodurch eine Extraktion in saurem Medium nicht nötig war. Eine Verdünnung der Proben vor der Analyse mit H₂O_{bidest.} (Anpassung der Lösungsmittelzusammensetzung der Probe an das Laufmittel dient zur Verbesserung der Peakform), sowie ein Ansäuern der Laufmittel sind ausreichend damit die Analyten in nicht protonierter Form vorliegen.

Die Extraktion der Proben erfolgte analog zur Lösungsmittelextraktion für die gaschromatographische Analyse (siehe 6.2.3.1). Vor der Analyse wurden die Proben mit H₂O_{bidest.} 1:1 verdünnt um die Lösungsmittelzusammensetzung der Proben an die Laufmittelzusammensetzung anzupassen.

6.2.5 Derivatisierung mittels BSTFA (GC-MS/MS)

Die Derivatisierung erfolgte analog zur Derivatisierung von BPA mittels BSTFA (siehe 6.1.6.1).

6.2.6 Chromatographische Analyse mittels GC-MS/MS

Die GC-MS/MS Analyse wurde auf einem Shimadzu GC-MS TQ 8040 massenspektrometrischen System, ausgestattet mit einer EI-Ionenquelle und einem Shimadzu AOC 5000-Plus Autosampler durchgeführt. Alle quantitativen Messungen erfolgten mittels Multiple Reaction Monitoring (MRM-Mode), als Kollisionsgas diente Argon. Die Massenübergänge und die entsprechenden Kollisionsenergien (CID – Collision Induced Dissociation Energy) sind in Tabelle 10 zusammengefasst, alle Messparameter in Tabelle 11.

Tabelle 10: MS Parameter der GC-MS/MS Messung der Derivate

Verbindung	MW (g/mol)	Quantifizierübergang <i>m/z</i> (V)	Qualifizierübergang 1 <i>m/z</i> (V)	Qualifizierübergang 2 <i>m/z</i> (V)
BPA	372	357,2>191,2 (CE 20)	358,2>192,2 (CE20)	372,2>357,2 (CE10)
BPA-d16	386	386,3>368,3 (CE10)	368,3>197,3 (CE 20)	369,3>198,3 (CE20)
BPAF	480	411,0>73,0 (CE 15)	480,0>411,0 (CE15)	480,0>73,0 (CE27)
BPB	386	357,3>73,1 (CE 27)	358,3>73,1 (CE27)	358,3>191,2 (CE18)
BPE	358	343,2>73,0 (CE 27)	344,2>73,0 (CE27)	344,2>191,2 (CE18)
BPF	344	179,0>73,0 (CE 15)	344,0>73,0 (CE 25)	344,0>179,0 (CE21)
BPS	394	394,0>379,0 (CE12)	379,0>73,0 (CE 27)	394,0>73,0 (CE27)

Tabelle 11: Analyseparameter der GC-MS/MS Messung

GC-MS/MS Parameter			
Säulenparameter			
Säule	Phenomenex ZB5-MS		
Länge	30 m		
Durchmesser (ID)	0,25 mm		
Schichtdicke	0,25 µm		
GC-Parameter			
Injektortemperatur	250°C		
Injektionsvolumen	1 µl splitless		
Flussrate	40 cm/sec Linear Velocity		
Trägergas	Helium		
Temperaturprogramm	90°C(1min) – 10°C/min – 310°C(1min)		
MS-Parameter			
Ionenquelle	200°C	Energie EI	70 eV
Interface	280°C	Event Time	0,20 sec
Solvent Cut	16 min	Kollisionsgas	Argon, 200 kPa

6.2.7 Chromatographische Analyse mittels LC-MS/MS

Die LC-MS/MS Analyse erfolgte auf einem Shimadzu Nexera LCMS-8050 (MS/MS). Alle quantitativen Messungen erfolgten mittels Multiple Reaction Monitoring (MRM-Mode), als

Kollisionsgas diente Argon. Die Massenübergänge und die entsprechenden Kollisionsenergien (CID – Collision Induced Dissociation Energy) sind in Tabelle 12 zusammengefasst.

Tabelle 12: MS Parameter der LC-MS/MS Messung der Extrakte

Verbindung	MW (g/mol)	Quantifizierübergang m/z (V)	Qualifizierübergang m/z (V)
BPA	228	227,0>212,0 (CE 17)	227,0>133,0 (CE 23)
BPA-d16	244	240,7>223,3 (CE21)	240,7>142,3 (CE24)
¹³ C ₁₂ -BPA	240	239,0>224,0 (CE20)	239,0>139,0 (CE26)
BPAF	336	335,0>265,0 (CE 22)	335,0>197,0 (CE 28)
BPB	242	241,1>212,1 (CE 20)	241,1>226,1 (CE 28)
BPE	214	213,0>198,0 (CE 20)	213,0>197,0 (CE 29)
BPF	200	199,1>93,0 (CE 23)	199,1>105,0 (CE 21)
BPS	250	249,0>107,9 (CE27)	249,0>225,9 (CE28)

Alle gerätetechnischen Messparameter sind in Tabelle 13 zusammengefasst.

Tabelle 13: Analyseparameter der LC-MS/MS Messung

LC-MS/MS Parameter			
<i>Säulenparameter</i>			
Säule	Kinetex C18		
Länge	100 mm		
Durchmesser (ID)	2,1 mm		
Partikelgröße	1,7 µm (100 Å)		
<i>LC-Parameter</i>			
Injektionsvolumen	5 µl splitless		
Flussrate	0,4 ml/min		
Mobile Phase	A: H ₂ O; B: MeOH		
Temperatur Säulenofen	40°C		
Gradienten Programm	35 %B – 10min – 100 %B(1min) – 0,1min –35 % B (3min)		
<i>MS-Parameter</i>			
Interface	400°C	Nebulizer gas	2 l/min
DL	250°C	Heating gas	10 l/min
Heating Block	400°C	Drying gas	10 l/min

6.2.8 Methodvalidierung

Die Methodvalidierung erfolgte analog zur Methodvalidierung der Bestimmung von BPA mit unterschiedlichen gaschromatographischen Methoden (siehe 6.1.8)

6.2.9 Berechnung der potenziellen Migration in das Packgut

Die Berechnung der potentiellen Migration in das Packgut erfolgte analog zur Berechnung der potentiellen Migration in das Packgut der Bestimmung von BPA mit unterschiedlichen gaschromatographischen Methoden (siehe 6.1.9)

6.3 Analyse von Mineralölverbindungen

Der Fokus der Analyse von Mineralölverbindungen in Papier und Karton lag auf der Analyse der aromatischen Fraktion. Ziel war dabei die Identifikation einzelner Verbindungen und Verbindungsklassen der MOAH, um ein Wissen für die Zusammensetzung der MOAH zu erhalten und somit eine Risikobeurteilung dieser Fraktion zu ermöglichen. Die Identifikation der MOAH Fraktion erfolgte dabei mittels mehrdimensionaler comprehensiver Gaschromatographie (GCxGC-MS). Zusätzlich wurde eine gaschromatographische Analyse mit hochauflösender Massenspektrometrie (HR-GC-MS/MS) durchgeführt. Um eine Einschätzung der verhältnismäßigen Zusammensetzung der MOAH erzielen zu können, erfolgte ein quantitativer Ansatz mittels eindimensionaler Gaschromatographie (GC-MS).

6.3.1 Proben

Als Ausgangsmaterial dienten unterschiedliche Kartonagen zur Herstellung von Verpackungskarton sowie Zeitungspapiere (Tageszeitung, Hochglanzmagazin). Kartonagen bestanden aus je 3 Frischfaser- und 3 Recyclingproben aus dem Jahr 2015 mit unterschiedlichem Recyclinganteil und wurden von internationalen Papier- und Kartonerzeugern zur Verfügung gestellt. Zeitungspapiere dienten zur Simulation des Ausgangsmaterials von Recyclingprodukten und wurden im Jahr 2015 in Deutschland gekauft.

Alle Proben wurden sofort nach Erhalt in Alufolie eingewickelt und bei Raumtemperatur gelagert. Die Aufarbeitung der Proben erfolgte ausschließlich mit Gummihandschuhen.

Tabelle 14: Untersuchte Proben

Probe	Produkt	Art der Probe	Flächengewicht g/m ²
1	Karton beschichtet	Frischfaser	240
2	Zellulose gerollt	Frischfaser	300
3	Karton gebleicht	Frischfaser	230
4	Testliner weiß	Recycelt	135
5	Karton beschichtet	Recycelt	180
6	Karton beschichtet	Recycelt	100
7	Tageszeitung	Recycelt	50
8	Hochglanzmagazin	Recycelt	70

6.3.2 Herstellung der Standardlösungen

Bei der Herstellung der Standardlösungen gilt es zwischen dem internen Standardmix zur Fraktionierung von MOSH und MOAH, sowie Standardlösungen zur Identifikation von Verbindungen der MOAH zu unterscheiden, wobei Standardlösungen zur Identifikation auch die Verbindungen des internen Standardmixes enthalten. Die zur Identifikation herangezogenen Standardverbindungen beziehen sich auf ein großes Datenset unterschiedlicher Substanzen, deren Vorkommen in der MOAH wahrscheinlich ist (alkylierte Aromaten, PAH's, ...). Diese dienen ausschließlich zur Identifikation von in der MOAH vorliegenden Substanzen. Zur Durchführung der quantitativen Analyse wurden ein Phenylalkanstandard und ein Alkanstandard hergestellt.

6.3.2.1 Interner Standardmix

Der interne Standardmix dient zur korrekten Fraktionierung von MOSH und MOAH mittels Flüssigchromatographie, sowie zur Kontrolle dieser. Die im Mix vorliegenden Verbindungen sind entweder MOSH oder der MOAH zugehörig.

Tabelle 15: Verbindungen des internen Standardmixes

Verbindungen MOSH	Verbindungen MOAH
Undecan (C11)	1-Phenylpentan (5B)
Tridecan (C13)	1-Methylnaphthalin (1MN)
Bicyclohexyl (CyCy)	2-Methylnaphthalin (2MN)
5 α -Cholestan (Cho)	<i>tri.-tert.-</i> Butylbenzen (TBB)
	Perylen (Per)

Die einzelnen Verbindungen des Standardmixes haben dabei unterschiedliche Funktionen. Undecan und 1-Phenylpentan dienen zur Kontrolle von Abdampfverlusten bei der Probenvorbereitung, 5 α -Cholestan markiert das Ende der MOSH, *tri.-tert.-*Butylbenzen den Beginn der MOAH und Perylen das Ende der MOAH Fraktion. Bicyclohexyl und die beiden Methylnaphthaline dienen hingegen als Quantifizierstandards der jeweiligen Fraktion, bei der Summenquantifizierung von MOSH und MOAH. Tridecan hingegen dient gemeinsam mit Bicyclohexyl zur Absicherung einer sicheren Auftrennung bei eindimensionaler gaschromatographischer Analyse (Biedermann & Grob 2012). Zur Herstellung des internen Standardmixes wurden zuerst Stammlösungen der einzelnen Verbindungen mit Ausnahme von 5 α -Cholestan und Perylen, in einer Konzentration von je 10 g/l in Toluol hergestellt. Anschließend wurden je 12 mg 5 α -Cholestan und Perylen in einen 20 ml Maßkolben eingewogen, 300 μ l der Stammlösung von Tridecan und 600 μ l der Stammlösungen der

anderen Standards zugegeben und mit Toluol auf 20 ml aufgefüllt. Die Konzentrationen der Verbindungen im Mix betragen somit in Abhängigkeit der Verbindung 0,6; 0,3 und 0,15 g/l.

6.3.2.2 Standardlösungen zur Identifikation

Sämtliche Standardlösungen zur Identifikation wurden in einer Konzentration von 1 g/l in Hexan hergestellt und bei -18°C gelagert. Sämtliche Standardlösungen enthalten dabei auch die Verbindungen des internen Standardmixes in einer Konzentration von 1 g/l. Die Herstellung der Arbeitslösungen erfolgte durch Verdünnung der jeweiligen Standardlösung in Hexan auf eine Konzentration von 5 mg/l und 1 mg/l. Die Analyse erfolgte anschließend mittels Flüssiginjektion. Für Messungen mittels Festphasenmikroextraktion (SPME) wurden 10 µl der 1 mg/l Verdünnung in ein 20 ml Headspacevial mit Glasmagnetprüher überführt und vermessen. In Abhängigkeit des Fortschrittes der Arbeit, kommt es zu einer unterschiedlichen Zusammensetzung der Identifikationslösungen, wobei die Anfangssubstanzen in den Standards erhalten bleiben und es zu einer Addition an Verbindungen in den Lösungen kommt. In Summe wurde mit 3 verschiedenen Standardlösungen gearbeitet, deren Zusammensetzung Tabelle 16 zu entnehmen ist.

Tabelle 16: Untersuchte Proben

Standardmix 1	Standardmix 2	Standardmix 3
Verbindungen des IS	Verbindungen Mix1	Verbindungen Mix 2
1-Phenylhexan	1-Phenylheptan	2,7-Dimethylnaphthalin
1-Phenylnonan	1-Phenylloctan	1,6-Dimethylnaphthalin
1-Phenyltadecan	1-Phenyldecan	2-Methyl-1-indanon
Naphthalin	1-Phenylundecan	3-Methyl-1-indanon
Benzothiophen	1-Phenyltadecan	5-Methyl-1-indanon
Dibenzothiophen	1-Phenyltridecan	2-Methoxynaphthalin
2,6-Dimethylnaphthalen	1-Phenyltetradecan	1-Methoxynaphthalin
Phenanthren	1-Phenylhexadecan	3,3'-Dimethylbiphenyl
9-Ethylphenanthren	1-Phenylheptadecan	4,4'-Dimethylbiphenyl
1,4,5,8-Tetramethylphenanthren	1-Phenylpentyn	3-Propylbiphenyl
Fluoren	1-Phenylhexyn	3-Ethylbiphenyl
Fluoranthren	1-Phenylcyclohexan	3,3',5,5'-Tetramethylbiphenyl
Chrysen	1-Phenylcyclohexen	Diphenylmethan
Pyren	Isobutylbenzen	9-Ethyl-10-methylphenanthren
Benzo[a]pyren	Isopentylbenzen	
	<i>Tert</i> -Pentylbenzen	
	1,4-Diethylbenzen	
	1,3,5-tri- <i>tert</i> -Butylbenzen	
	1,4-Dioctylbenzen	
	1-(Methylbutyl)benzen	
	1,4-Diisopropylbenzen	
	4-Phenylcyclohexan	

6.3.2.3 Phenylalkanstandard und n-Alkanstandard

Für eine quantitative Abschätzung des Anteiles an Phenylalkanen und gesättigten Kohlenwasserstoffen in der MOAH wurden ein Phenylalkanstandard und ein n-Alkanstandard in einer Konzentration von 1g/l in Hexan hergestellt. Die Arbeitslösungen wurden durch Verdünnung der jeweiligen Stammlösung in Hexan auf eine Konzentration von 1 mg/l hergestellt und mittels Flüssiginjektion vermessen. Der Phenylalkanmix besteht aus linearen Phenylalkanen von C₅ bis C₁₈ (1-Phenylpentan – 1-Phenylloctadecan) mit Ausnahme von Phenylpentadecan. Der n-Alkanmix besteht aus linearen n-Alkanen von C₈ bis C₂₆, sowie C₂₈ und C₃₂.

6.3.3 Extraktion der Papierproben

Die Extraktion der Proben erfolgte in Anlehnung des Protokolls des BfR in Kombination mit dem Kantonalen Labor Zürich (BfR 2012b), wobei die Papiereinwaage und das Lösungsmittelvolumen an die angewandte Analysetechnik angepasst wurden.

6.3.3.1 Extraktion der Papierproben für die Analyse mittels GCxGC-MS

Für die Extraktion der Proben für die Analyse mittels GCxGC-MS wurden 1 g kleingeschnittene Recyclingprobe und Zeitungsprobe (Probe 4-8) bzw. 2 g kleingeschnittene Frischfaserprobe (Probe 1-3) in ein 40 ml Glasvial mit Schraubdeckel mit Teflonseptum eingewogen. Nach der Zugabe von 10 µl der internen Standardlösung wurden die Proben mit 2x15 ml EtOH/Hexan 1:1 extrahiert, das Lösungsmittel dekantiert und die beiden Extrakte vereint. Die Extraktion erfolgte für jeweils 1 Stunde im Ultraschallbad. Zu den vereinten Extrakten wurde 20 ml H₂O zugegeben und für 5 min bei 300 rpm zur Phasentrennung zentrifugiert. Die Hexanphase wurde abgezogen, ein weiteres Mal mit 10 ml H₂O ausgeschüttelt, über Na₂SO₄ getrocknet und mit Hilfe eines TurboVap Verdampfers (Biotage TurboVap® II Concentration Evaporator Workstation) unter N₂, bei einer Wasserbadtemperatur von 40°C auf ein Volumen von 1 ml eingeengt. Die Extrakte wurden anschließend zur Auftrennung von MOSH und MOAH mittels Flüssigchromatographie an ein externes Labor abgegeben.

6.3.3.2 Extraktion der Papierproben für die Analyse mittels GC-MS

Für die Analyse mittels GC-MS war eine Erhöhung der Papiereinwaage notwendig, um ausreichend konzentrierte Extrakte zu erhalten. Die Berechnung der benötigten Papiereinwaage erfolgte anhand der Gesamtkonzentration an MOAH, die extern bestimmt, und deren Daten übermittelt wurden. Für Frischfaserproben (Probe 1-3) erfolgte eine Einwaage von 20 g Papier. Für Probe 4 und 6 wurden jeweils 8 g, für Probe 5 6 g und für die Tageszeitung (Probe 7) 100 mg eingewogen. Um eine vollständige Bedeckung der Proben mit Lösungsmittel während der Extraktion zu gewährleisten, erfolgte aufgrund der höheren Einwaage eine Anpassung des Extraktionsvolumens für Proben mit 20 g Einwaage auf ein Volumen von 100 ml, für Proben mit 8 g Einwaage auf ein Volumen von 45 ml und für Proben mit 4 g Einwaage auf 20 ml. Für Einwaagen kleiner 4 g wurde ein Extraktionsvolumen von 15 ml beibehalten. Die Durchführung der Extraktion erfolgte analog zur Extraktion der Papierproben für die Analyse mittels GCxGC-MS (siehe 6.3.3.1).

6.3.4 Fraktionierung der Extrakte und Bestimmung der Gesamtkonzentration an MOAH

Die Fraktionierung der Extrakte in MOSH und MOAH sowie die Bestimmung der Konzentration an MOAH erfolgte durch eine externe Institution nach dem Protokoll des BfR in Kombination mit dem Kantonalen Labor Zürich (BfR 2012b). Die Bestimmung der Gesamtkonzentration an MOAH erfolgte dabei bis n-C₃₅, da für die MOAH keine toxikologisch begründete Veranlassung besteht, nach Kohlenwasserstoffen über und unter n-C₁₆ zu trennen, wobei auch die Begrenzung bei n-C₃₅ nicht toxikologisch begründet ist, sich jedoch aus der Notwendigkeit eines definierten Abbruchs und der Analogie zur MOSH ergibt (BfR 2012b). In weiterer Folge wurden uns die MOAH-Fractionen zur Durchführung nachfolgend aufgelisteter Messungen ebenso übermittelt wie die Ergebnisse der Bestimmung der Summenkonzentration.

6.3.5 Chromatographische Analyse mittels GCxGC-MS

Die GCxGC-MS Analyse erfolgte auf einem Shimadzu GC-MS QP 2010, ausgestattet mit einer EI-Ionenquelle, einem Shimadzu AOC 5000-Plus Autosampler und einem Zoex Cryogenic Modulator. Alle Messungen erfolgten im Scan-Mode. Um eine bestmögliche zweidimensionale Auftrennung zu erzielen, wurden unterschiedliche Säulenkombinationen getestet und in weiterer Folge anhand der ausgewählten Säulenkombination die Modulationsfrequenz optimiert. Die Messungen erfolgten sowohl mittels Flüssiginjektion, als auch über Dampfphaseanalyse mittels Festphasenmikroextraktion (SPME). Für Analysen mittels Flüssiginjektion wurden die MOAH Fraktionen in 2 ml Crimpvials mit Mikroinsert überführt und analysiert. Für Analysen mittels SPME wurden je 10 µl der MOAH Fraktionen in ein 20 ml Headspacevial überführt und analysiert. Die Anreicherung erfolgte dabei für 30 min bei 150°C an einer 2 cm Stable Flex Faser mit einer 50/30 µm DVB/Carboxen/PDMS Beschichtung. Die Desorption erfolgte anschließend für 10 min bei 270°C im Injektor des GC. Die Messparameter der unterschiedlichen Set-Ups sind in Tabelle 17 angeführt.

Tabelle 17: Analyseparameter der GCxGC-MS

GCxGC-MS Parameter			
Säulenparameter			
	Säulenkombination 1	Säulenkombination 2	Säulenkombination 3
Säule 1. Dim.	Zebtron ZB5 30m x 0,25mm x 0,25µm	Zebtron ZB5 30m x 0,25mm x 0,25µm	Zebtron ZB-1HT 30m x 0,25mm x 0,25µm
Säule 2. Dim.	SGE BPX 50 2,5m x 0,15mm x 0,15µm	Supleco SLB-IL60 2,5m x 0,1mm x 0,1µm	SGE BPX 50 2,5m x 0,15mm x 0,15µm
Injektortemp.	270°C	270°C	270°C
Trägergas	He 155 kPA Konstanter Fluss	He 120 kPA Konstanter Fluss	He 155 kPA Konstanter Fluss
Temp. Programm	50°C(1min)-10°C/min- 120°C-2°C/min- 280°C(5min)	50°C(1min)-10°C/min- 120°C-2°C/min-245°C- 10°C/min- 270°C(4min)	T1: 50°C(1min)-10°C/min- 120°C-2°C/min-80°C(5min) T2: 50°C(1min)-10°C/min- 80°C-3°C/min-280°C(5min)
Temp. Modulator	280°C	280°C	280°C
Modulationsfrequ.	8 s, Hot Jet 350 ms	8 s, Hot Jet 350 ms	M1: 8 s, Hot Jet 350 ms M2: 5 s, Hot Jet 350 ms
MS-Parameter			
Ionenquelle	200°C	200°C	200°C
Interface	270°C	270°C	270°C
Solvent Cut	7 min	7 min	7 min
Energie EI	70 eV	70 eV	70 eV
Event Time	0,02 sec	0,02 sec	0,02 sec
Datenaufnahme	50 – 340 amu	50 – 340 amu	50 – 340 amu

6.3.6 Chromatographische Analyse mittels GC-MS

Die GC-MS Analyse erfolgte auf einem Shimadzu GC-MS TQ 8040 massenspektrometrischen System, ausgestattet mit einer EI-Ionenquelle und einem Shimadzu AOC 5000-Plus Autosampler. Alle Messungen wurden im Scan-Mode durchgeführt. Die Messungen erfolgten mittels Flüssiginjektion (siehe 0). Die Messparameter sind in Tabelle 18 angeführt.

Tabelle 18: Analyseparameter der GC-MS

GC-MS Parameter			
<i>Säulenparameter</i>			
Säule	Phenomenex ZB5-MSi		
Länge	30 m		
Durchmesser (ID)	0,25 mm		
Schichtdicke	0,25 µm		
<i>GC-Parameter</i>			
Injektortemperatur	240°C		
Injektionsvolumen	1 µl splittless		
Flussrate	40 cm/sec Linear Velocity		
Trägergas	Helium		
Temperaturprogramm	50°C(1min) – 8°C/min – 320°C(6min)		
<i>MS Parameter</i>			
Ionenquelle	200°C	Energie EI	70 eV
Interface	300°C	Massenbereich	50-400 amu
Solvent Cut	5 min	Event Time	0,30 sec

6.3.7 Chromatographische Analyse mittels HR-GC-MS/MS

Die HR-GC-MS/MS Analyse erfolgte am Thermo Firmenstandort in Runcorn, UK, auf einem Thermo QExactive™ GC Orbitrap™ GC-MS/MS. Die Messungen erfolgten mittels Flüssiginjektion. Die Messparameter sind in Tabelle 19 angeführt.

Tabelle 19: Messparameter GC-HR-MS Messung

GC-MS Parameter			
<i>Säulenparameter</i>			
Säule	Phenomenex ZB5-MSi		
Länge	30 m		
Durchmesser (ID)	0,25 mm		
Schichtdicke	0,25 µm		
<i>GC-Parameter</i>			
Injektortemperatur	240°C		
Injektionsvolumen	1 µl splittless		
Flussrate	Konstanter Fluss, 1,2 ml/min		
Trärgas	Helium		
Temperaturprogramm	40°C(1min) – 10°C/min – 80°C – 5°C/min - 320°C(8min)		
<i>MSPparameter</i>			
Ionenquelle	250°C	Energie EI	70 eV
Interface	250°C	Massenbereich	50-400 amu
Solvent Cut	8 min	FT Resolution	60000

7 Ergebnisse und Diskussion

7.1 Bestimmung von Bisphenol A mit unterschiedlichen gaschromatographischen Methoden

Die Bestimmung von Bisphenol A in unterschiedlichen Papierproben erfolgte nach Derivatisierung der Proben mit Pentafluorobenzoylchlorid bzw. BSTFA. Die unterschiedlichen Derivate wurden anschließend mit den entsprechenden gaschromatographischen Methoden analysiert. Die Pentafluorobenzoyl-Derivate wurden mittels GC-MS im SIM Mode sowohl nach Elektronenstoßionisation, als auch negativ chemischer Ionisation analysiert. Die BSTFA-Derivate wurden ausschließlich nach Elektronenstoßionisation mittels GC-MS im SIM Mode und GC-MS/MS im MRM Mode analysiert. Die unterschiedlichen Analysemethoden wurden anschließend validiert und einem Vergleich unterzogen. Es konnte gezeigt werden, dass anhand der unterschiedlichen Methoden übereinstimmende Ergebnisse erzielt wurden. Die einzelnen Methoden unterscheiden sich jedoch hinsichtlich Selektivität und Sensitivität.

Bezüglich der unterschiedlichen untersuchten Proben zeigten sich deutliche Unterschiede bezüglich der Art der Probe (Hygienepapier oder Verpackung, sowie Primär-, Sekundär-, oder Tertiärprobe).

Die Berechnung der maximalen Migration zeigte, dass keine der Proben, unter der Annahme des „worst case“ von 100% Migration, das gesetzlich festgelegte spezifische Migrationslimit von 0,6 mg/kg Lebensmittel überschritt.

Hinsichtlich der Methodvalidierung konnte gezeigt werden, dass alle Methoden selektiv und sensitiv genug zur Überprüfung der Einhaltung des SML sind, allerdings sind nicht alle Methoden ausreichend sensitiv um BPA in Primärproben aus Frischfasermaterial nachzuweisen.

7.1.1 Derivatisierung von Bisphenol A

Da die gaschromatographische Analyse von Bisphenol A aufgrund der Polarität der Hydroxylgruppen durch eine schlechte Sensitivität und Peakform charakterisiert ist, ist eine Derivatisierung notwendig um eine ausreichende Flüchtigkeit des Analyten zu erreichen. Dabei kommt es zu einer Überführung von BPA in eine weniger polare, flüchtigere Verbindung, wodurch die Selektivität und Empfindlichkeit der chromatographischen Analyse

deutlich gesteigert wird. Die Entwicklung von Analysemethoden zur Bestimmung von BPA in Verpackungspapieren basiert auf 2 unterschiedlichen Derivatisierungsreaktionen – einer Derivatisierung mit Pentafluorobenzoylchlorid (Halid-Alkylierung) und einer Derivatisierung mit BSTFA (Trimethylsilylierung).

7.1.1.1 Derivatisierung mit Pentafluorobenzoylchlorid

Eine Derivatisierung von Bisphenol A mit Pentafluorobenzoylchlorid ermöglicht eine GC-MS Analyse sowohl mittels Elektronenstoßionisation als auch negativ chemischer Ionisation. Durch die Einbringung von 10 Fluoratomen anhand der Pentafluorogruppe bei der Derivatisierung entsteht eine hoch elektrophile Verbindung mit hoher Elektronenaffinität. Negativ chemische Ionisation ist dabei eine hoch selektive und sensitive Methode für die Detektion elektrophiler polyhalogener Verbindungen, da ausschließlich elektrophile Verbindungen negative Ionen bilden können. Dadurch erweist sich die negativ chemische Ionisation, welche sich einer Elektroneneinfangreaktion bedient, als äußerst empfindliche Methode für die Ionisation der Pentafluorobenzoyl-Derivate (Tsukioka et al. 2003). Die dominierenden Ionisationsprozesse bei der negativ chemischen Ionisation sind Elektroneneinfang und dissoziativer Elektroneneinfang (Kuch & Ballschmiter 2001), wodurch die hohe Elektrophilität der Pentafluorobenzoyl-Derivate für eine hoch sensitive Detektion ausgenutzt werden kann. Die negativ chemische Ionisation bietet gegenüber der Elektronenstoßionisation zusätzlich den Vorteil einer „weichen“ Ionisation, was sich dadurch zeigt, dass Quantifizier- und Qualifizierung durch das Molekularion $[M]^-$ und dessen ^{13}C -Isotop $[M+1]^-$ charakterisiert sind. Zu beachten ist allerdings, dass sich in Abhängigkeit des Ionisationsgases die Molekularmasse $[M]^-$ des Ionisationsgases an $[M]^+$ der detektierten Verbindung addiert. Die Analyse der Pentafluorobenzoyl-Derivate mittels Elektronenstoßionisation, ist hingegen durch eine wesentlich stärkere Fragmentierung charakterisiert. Dabei ergibt sich ein homogenes Fragmentierungsmuster, mit dem Basision m/z 195 der Pentafluorobenzoylgruppe. Da es sich bei der Derivatisierung mit PFBOCI um eine extraktive Derivatisierung handelt, verbleiben polare Substanzen in der wässrigen Phase, wodurch die Derivatisierung einen zusätzlichen Reinigungsschritt darstellt (Geens et al. 2009).

Die Derivatisierung von BPA mittels PFBOCI erfolgte bisher ausschließlich für biologische Proben (Yoshimura et al. 2002; Tsukioka et al. 2003; Dirtu et al. 2008; Geens et al. 2009) und Wasserproben (Nakamura et al. 2001; Boitsov et al. 2004; Möder et al. 2007; Zhao et al. 2009; Li et al. 2010). Diese Proben erfordern hoch sensitive Analysen, da oft nur geringe Probemengen zur Verfügung stehen, sowie hochkomplexe Matrices mit einer Vielzahl an

koexistenten Substanzen vorliegen. Die negativ chemische Ionisation bringt dabei aufgrund ihrer hohen Selektivität und Empfindlichkeit einen großen Vorteil mit sich.

Die Derivatisierung von Bisphenol A in Papierextrakten basiert auf einer in der Literatur beschriebenen Methode von Kuch und Ballschmiter (Kuch & Ballschmiter 2001). Die Methodenoptimierung erfolgte Schritt für Schritt in Bezug auf das Volumen der zugegebenen Base (KOH 2 M), dem Volumen und der Konzentration von PFBOCl, sowie der Extraktionstemperatur und -dauer.

Ziel war es, eine robuste, selektive und sensitive Methode für die Derivatisierung von BPA in methanolischen und wässrigen Papierextrakten zu entwickeln. Die Methodenentwicklung erfolgte wie unter 6.1.5.1 angeführt anhand von Standards (BPA in MeOH) mit einer Konzentration von 50 µg/kg Papier.

Bei der Methodenentwicklung wurde so vorgegangen, dass der Reihe nach die einzelnen Parameter der Derivatisierung optimiert wurden. In einem ersten Schritt wurde das Volumen der zugegebenen Base (KOH 2 M) variiert. Wie in Abbildung 30 zu erkennen ist, konnte durch die Erhöhung des Volumens an KOH von 25 auf 100 µl ein deutlicher Anstieg der Empfindlichkeit erzielt werden. Das Signal-Rauschverhältnis (Signal to Nois Ratio; S/N Ratio) zeigt einen Anstieg von 1518 auf 12624. Das S/N Verhältnis wird dabei auf Basis der Signalintensität im Verhältnis zum Mittelwert (RMS – Root mean Square) des Rauschens der Basislinie, bezogen auf das Basision, von der Software berechnet. Wie daraus hervorgeht, ist der Empfindlichkeitsanstieg von 25 µl auf 50 µl deutlich höher als jener von 50 µl auf 100 µl. Das S/N bei 50 µl KOH beträgt 9509, jenes bei 100 µl KOH 12624. Dies zeigt eine geringe Steigerung der Empfindlichkeit um den Faktor 1,3. Aus diesem Grund wurde das optimale Volumen an zugegebener Base auf 100 µl festgesetzt. Für alle weiteren Schritte der Methodenentwicklung wurde daher ein Volumen von 100 µl KOH 2 M zum Derivatisierungsansatz zugegeben.

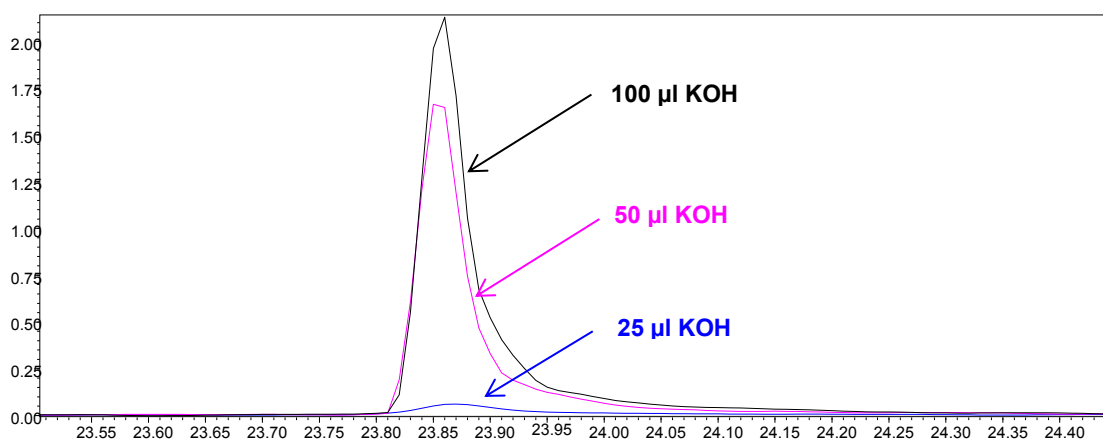


Abbildung 30: Optimierung der Zugabe an KOH (2 M)

Im nächsten Schritt wurde das Lösungsmittel, die Konzentration und das Volumen an PFBOCI optimiert. Dazu wurde PFBOCI in unterschiedlichen Konzentrationen in Hexan und Toluol gelöst. Die unterschiedlichen Lösungsmittel- und Konzentrationsansätze waren:

- PFBOCI 5 % in Hexan und PFBOCI 10 % in Hexan
- PFBOCI 5 % in Toluol und 10 % PFBOCI in Toluol

Zur Optimierung des Volumens erfolgte eine Derivatisierung mit 10, 20 und 50 μl der jeweiligen PFBOCI-Lösung. Tabelle 20 enthält die S/N Verhältnisse der unterschiedlichen Ansätze anhand deren die optimale Zusammensetzung des Derivatisierungsreagenz bestimmt wurde.

Tabelle 20: S/N Verhältnisse Optimierung Zugabe PFBOCI

PFBOCI	Volumen [μl]	S/N Ratio
5 % in Hexan	50	5266
	20	5719
	10	4466
5 % in Toluol	50	7274
	20	8261
	10	7197
10 % in Hexan	50	12649
	20	14261
	10	10457
10% in Toluol	50	15184
	20	16007
	10	14203

Wie zu sehen ist, tritt bei allen 4 Ansätzen ein maximales S/N Verhältnis bei einem Volumen von 20 μl Derivatisierungsreagenz auf. Im Falle von 50 μl ist eine Sättigung des Ansatzes zu erkennen, was wiederum zu einer Verschlechterung des Derivatisierungsumsatzes führt. Es ist auch eindeutig ersichtlich, dass eine Erhöhung des PFBOCI-Anteils im Lösungsmittel von 5% auf 10% zu einer Verdoppelung der Derivatisierungsausbeute führt, wobei eine Verdünnung von PFBOCI in Toluol eine gesteigerten Umsatz im Vergleich zu einer Verdünnung in Hexan ergibt. Der größte Umsatz wird bei einer Verdünnung von 10 % PFBOCI in Toluol und Zugabe von 20 μl dieser Verdünnung zum Derivatisierungsansatz erzielt. Auf eine Erhöhung des prozentuellen Anteils an PFBOCI im Lösungsmittel wurde aufgrund einer ausreichend hohen Signalintensität zugunsten von Umweltaspekten bezüglich PFBOCI, dessen Überschuss mit der wässrigen Matrix nach erfolgter Derivatisierung entsorgt wird, verzichtet. In Abbildung 31 sind einige ausgewählte

Optimierungsparameter der Optimierung von PFBOCl graphisch dargestellt, welche das Ergebnis, das aus der Berechnung der S/N Verhältnisse hervorgeht veranschaulicht.

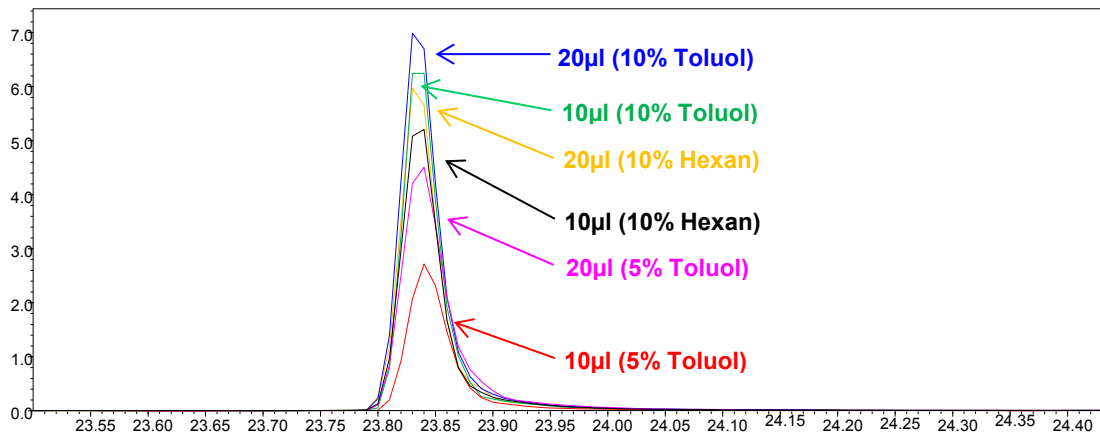


Abbildung 31: Optimierung der Zugabe an PFBOCl

Zur Bestimmung der optimalen Extraktionstemperatur wurde der Derivatisierungsansatz jeweils 5 min bei Raumtemperatur, 40°C, 60°C und 80°C extrahiert. Die Extraktionen bei erhöhter Temperatur wurden dabei in einem temperierten Heizblock, unter Rühren mit einem Glasmagnetrührer durchgeführt. Durch das Rühren konnte derselbe Effekt wie durch Schütteln erzielt werden. Wie in Abbildung 32 deutlich ersichtlich, konnte das beste Ergebnis bei Raumtemperatur erzielt werden. Auf Basis des S/N-Verhältnisses ergab sich bei RT eine um den Faktor 50 bessere Empfindlichkeit als bei Erhöhung der Temperatur auf 80°C. Bereits durch eine Erhöhung der Reaktionstemperatur auf 40°C verringert sich die Empfindlichkeit um den Faktor 1,4. Eine Erhöhung der Temperatur ist somit nicht zielführend, da es bei erhöhter Temperatur anscheinend zu einer Zersetzung des Pentafluorobenzoylchlorids kommt, bevor dieses mit den OH-Gruppen des Bisphenols reagiert, wodurch es zu einer deutlich schlechteren Derivatisierungsausbeute kommt.

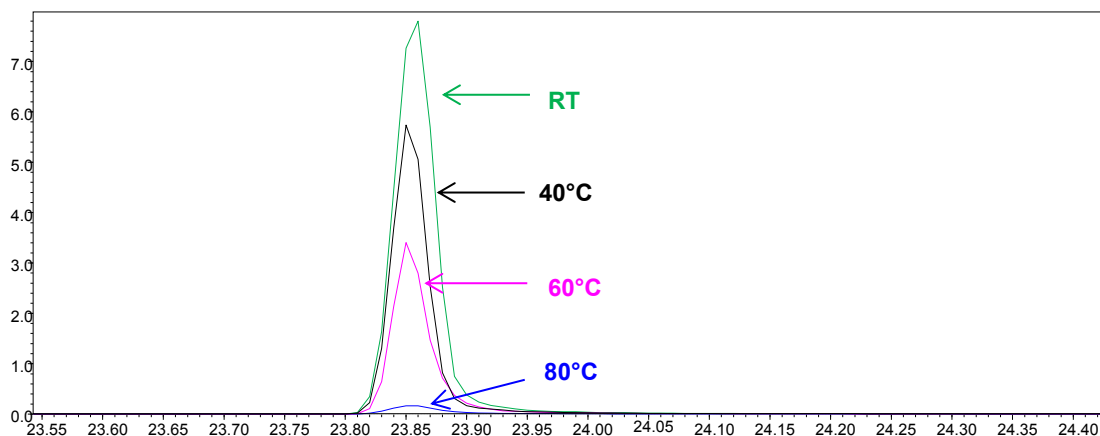


Abbildung 32: Optimierung der Extraktionstemperatur

In einem letzten Schritt wurde die optimale Extraktionsdauer ermittelt. Dazu wurde der Derivatisierungsansatz bei Raumtemperatur 2 min, 5 min, 10 min und 20 min unter schütteln auf einer Rüttelplatte extrahiert und anhand des S/N-Verhältnisses die optimale Reaktionsdauer ermittelt (siehe Tabelle 21). Die Ausbeute der Derivatisierung ist dabei umso besser, je kürzer die Reaktionsdauer ist.

Tabelle 21: S/N Ratio der Optimierung der Reaktionszeit

Reaktionszeit	S/N Ratio
2 min	97470
5 min	95037
10 min	56020
20 min	22696

Eine Reaktionsdauer von 20 min führt zu einer Verringerung der Empfindlichkeit um den Faktor 4,3. Dieses Ergebnis ist zur graphischen Veranschaulichung in Abbildung 33 dargestellt.

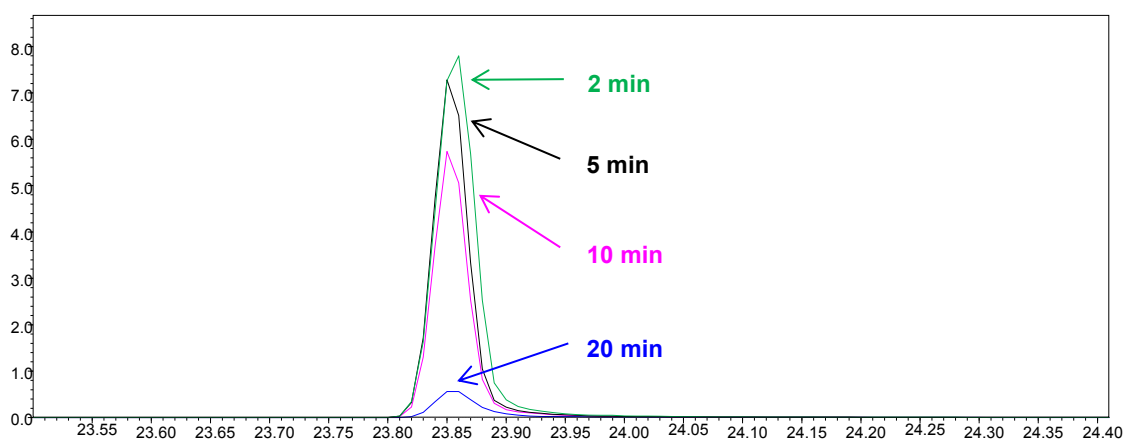


Abbildung 33: Optimierung der Extraktionsdauer

Alle quantitativen Messungen der Pentafluorobenzoyl-Derivate erfolgten im SIM-Mode, sowohl für die Elektronenstoßionisation als auch die negativ chemische Ionisation. Die Analyse im SIM-Mode führt dabei zu einer deutlichen Steigerung der Selektivität und Sensitivität im Vergleich zum Scan-Mode. Ein EI-GC-MS Chromatogramm und ein NCI-GC-MS Chromatogramm eines Standardmixes (BPA und interner Standard BPA-d₁₆) der Konzentration 50 µg/kg, sowie die entsprechenden Spektren sind in Abbildung 34 bis Abbildung 39 dargestellt. Aufgrund der hohen Anzahl von 16 deuterierten Wasserstoffatomen des internen Standards eluieren die beiden Verbindungen des Standardmixes getrennt, wodurch auch die Auswertung vereinfacht wird.

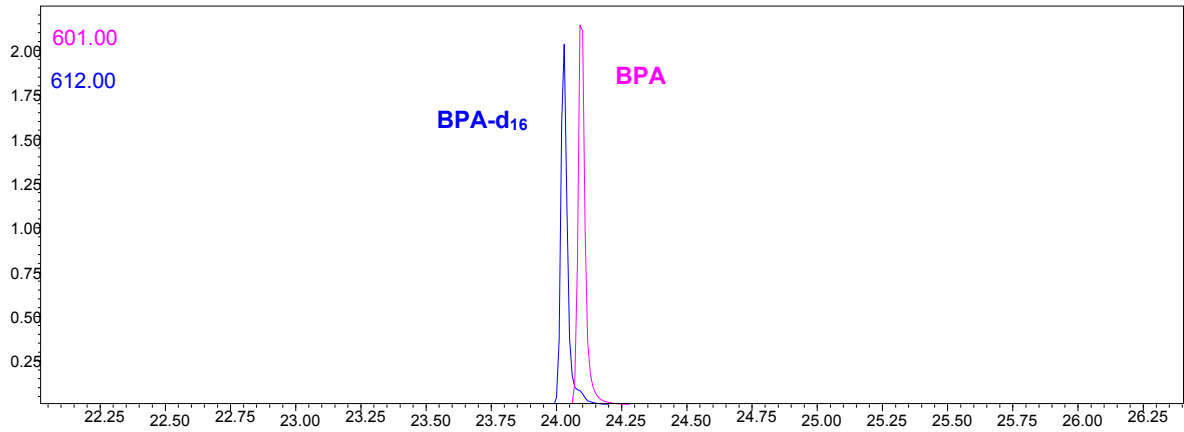


Abbildung 34: EI-GC-MS Chromatogramm von BPA- und BPA-d₁₆ (50 µg/kg)

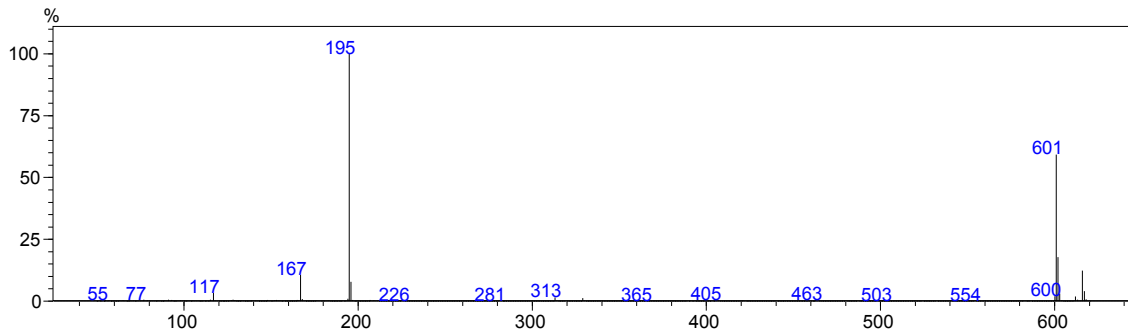


Abbildung 35: EI-Spektrum BPA (m/z 50-650)

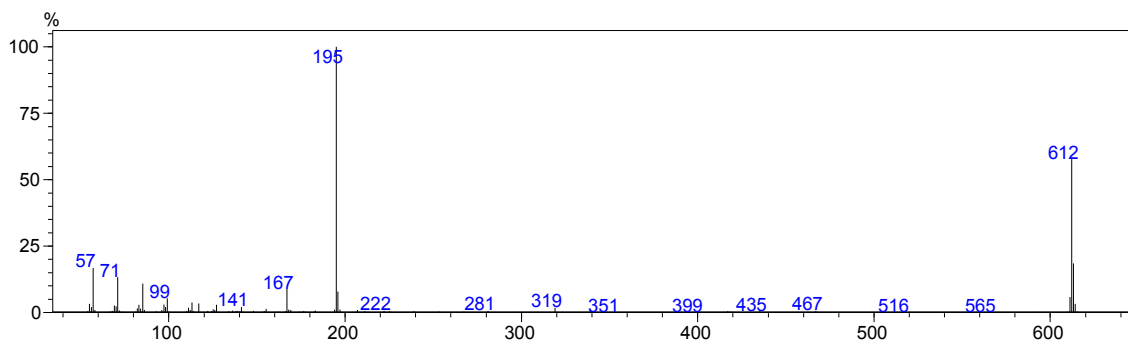


Abbildung 36: EI-Spektrum BPA-d₁₆ (m/z 50-650)

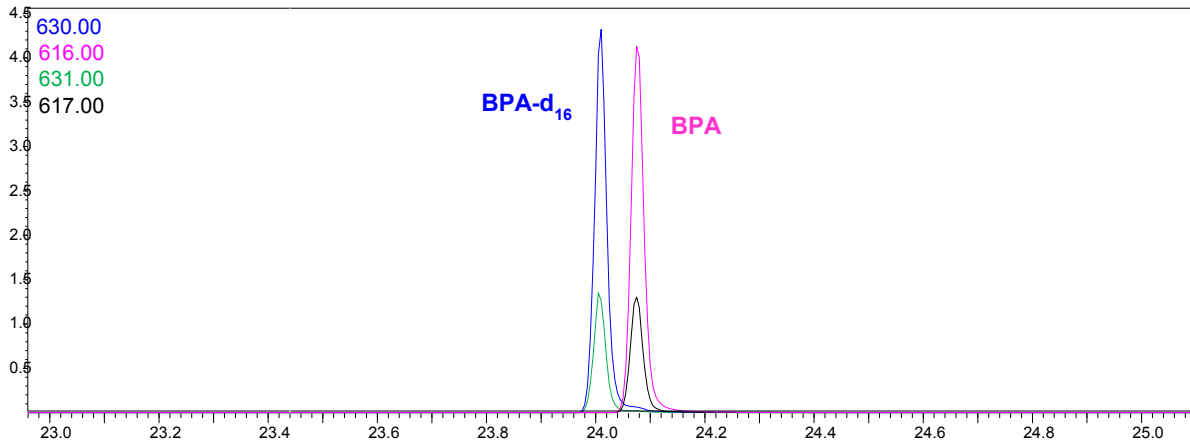
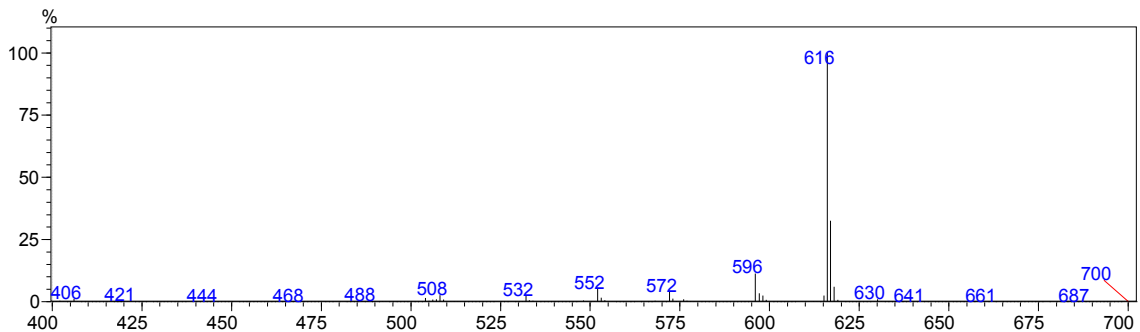
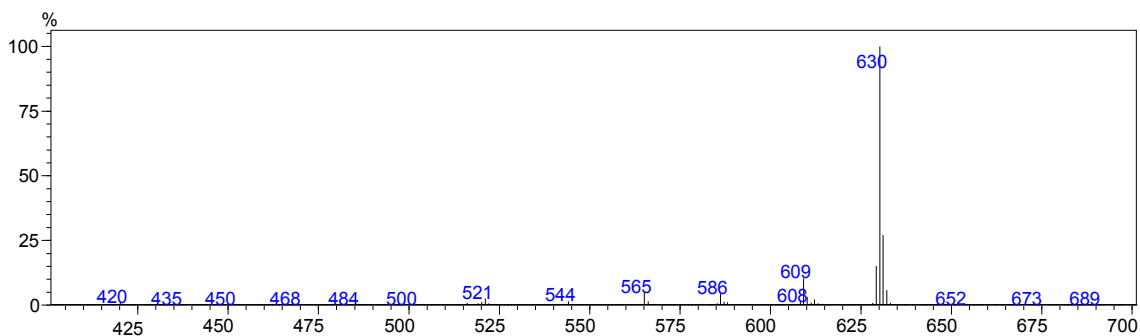
Abbildung 37: NCI-GC-MS Chromatogramm von BPA- und BPA-d₁₆ (50 µg/kg)

Abbildung 38: NCI-Spektrum BPA (m/z 400-700)

Abbildung 39: NCI-Spektrum BPA-d₁₆ (m/z 400-700)

7.1.1.2 Derivatisierung mit BSTFA

Die Derivatisierung von Bisphenol A mit N, O-bis(trimethylsilyl)-Trifluoroacetamide(99%)-Trimethylchlorsilan(1%) (BSTFA) gehört zu den Silylierungsreaktionen. Die Silylierung zählt dabei zu den am häufigsten angewandten Derivatisierungsreaktionen, deren Zweck eine

Erhöhung des gaschromatographischen Ansprechverhaltens polarer Verbindungen ist. Insbesondere bei polaren Verbindungen mit Phenylgruppen, wie Bisphenolen zählt die Silylierung zu den dominierenden Derivatisierungsmethoden (Albero et al. 2012). Dabei werden die Hydroxylgruppen durch Silylgruppen ersetzt, wodurch flüchtigere und stabilere Verbindungen gebildet werden. Die Silylierung ist charakterisiert durch Einfachheit und schnelle Reaktionszeiten, insbesondere bei Derivatisierung von Hydroxylgruppen, was vor allem für die Anwendung in der Routineanalytik wichtige Vorteile mit sich bringt. Zusätzlich ist die Silylierung im Vergleich zu extraktiven Derivatisierungen (z.B.: Derivatisierung mit PFBOCI) durch einen geringeren Lösungsmittelverbrauch charakterisiert, was in Zeiten von steigender Umweltrelevanz ebenfalls von Bedeutung ist. Durch die Bildung eines Trimethylsilylderivats ist allerdings ausschließlich eine massenspektrometrische Analyse mittels Anregung durch Elektronenstoßionisation möglich, da silylierte Derivate für eine Anregung mittels negativ chemischer Ionisation eine zu geringe Elektrophilität aufweisen.

Die Derivatisierung von BPA mittels BSTFA basiert auf einer bewährten und optimierten In-House Methode, sowie in der Literatur beschriebener Methoden, die für die Derivatisierung von Papierextrakten optimiert wurden (Hibberd et al. 2009; Fenlon et al. 2010; Lu et al. 2013). Die Derivatisierung erfolgte dabei pyridinkatalysiert in wasserfreiem Milieu. Die Derivatisierung mittels BSTFA erfolgte ausschließlich für methanolische Extrakte von Papier- und Kartonproben. Aufgrund der Tatsache, dass die Derivatisierungsreaktion mit BSTFA nur in wasserfreiem Milieu quantitativ stattfindet, konnten die Kaltwasserextrakte nach DIN EN 645 nicht anhand dieser Methode derivatisiert werden. Ein Einengen der Kaltwasserextrakte zur Trockene würde zu einem zu hohen Analytverlust führen.

Die Methodenentwicklung erfolgte wie bei den Pentafluorobenzoyl-Derivaten anhand eines Standardmixes (BPA und BPA-d₁₆ in MeOH) mit einer Konzentration von 50 µg/kg Papier.

Aufgrund der Tatsache, dass die Derivatisierung von BPA mit BSTFA auf einer etablierten und in Bezug auf die einzelnen Parameter bereits optimierten „In-House“-Methode basiert, war eine schrittweise Methodenoptimierung wie im Falle der Pentafluorobenzoyl-Derivate nicht mehr nötig. Es wurde jedoch der Einfluss von Pyridin auf die Derivatisierungsreaktion ermittelt. Hierbei zeigte sich, dass die Zugabe von Pyridin zum Derivatisierungsansatz einen positiven Einfluss auf die Derivatisierungsausbeute hat. Dies wurde anhand des S/N-Verhältnis darstellt, welches durch die Zugabe von Pyridin (S/N 127201) um den Faktor 1,85 höher ist als ohne die Zugabe von Pyridin (S/N 68758). Zusätzlich erhöhte die Zugabe von Pyridin die Reproduzierbarkeit. In Abbildung 40 ist der Einfluss von Pyridin auf die Derivatisierung graphisch dargestellt.

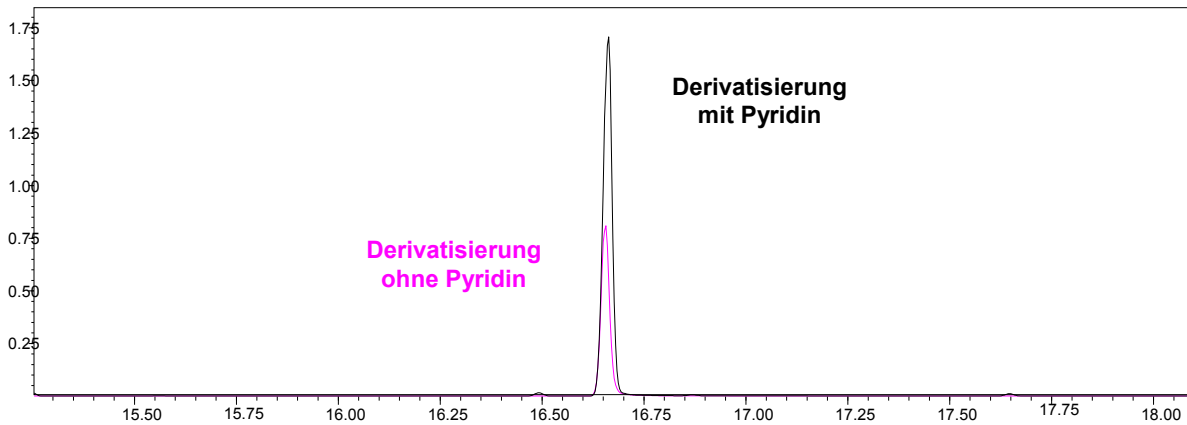


Abbildung 40: Einfluss von Pyridin auf die Derivatisierung mit BSTFA

Alle quantitativen Messungen der BSTFA-Derivate erfolgten mittels GC-MS im SIM-Mode und GC-MS/MS im MRM-Mode, wobei mittels GC-MS/MS eine deutlich gesteigerte Sensitivität und Selektivität erzielt wird. Diese Technik eignet sich vor allem für die Quantifizierung von Substanzen in der Spuren- und Ultraspurenanalyse, da aufgrund der Ionenselektion des Precursor- und Produktions es im MRM-Mode zu einer Reduktion der spektralen Interferenzen kommt, wodurch Matrixeffekte deutlich reduziert werden. Ein GC-MS und ein GC-MS/MS Chromatogramm eines Standardmixes (BPA und BPA-d₁₆; 50 µg/kg), sowie die entsprechenden Massenspektren sind in Abbildung 41 bis Abbildung 44 dargestellt.

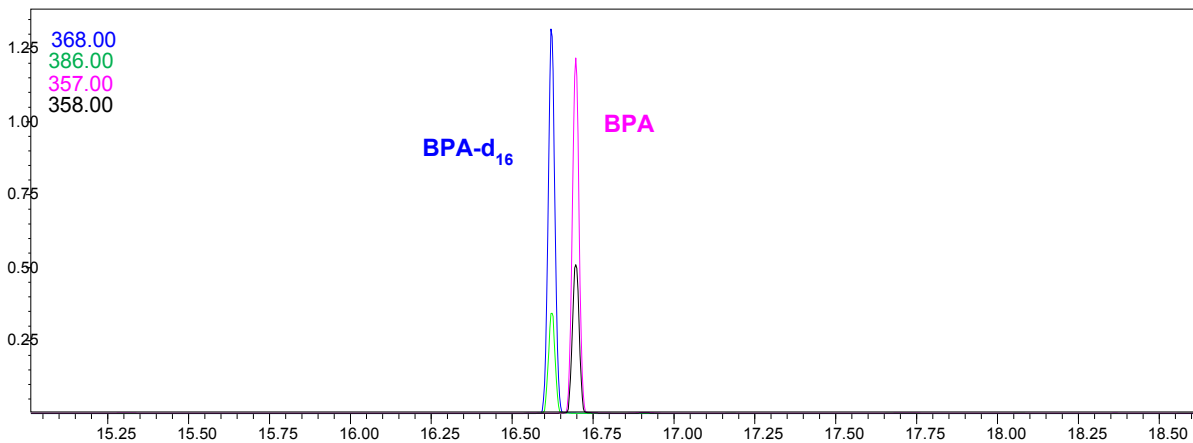


Abbildung 41: EI-GC-MS Chromatogramm von BPA- und BPA-d₁₆

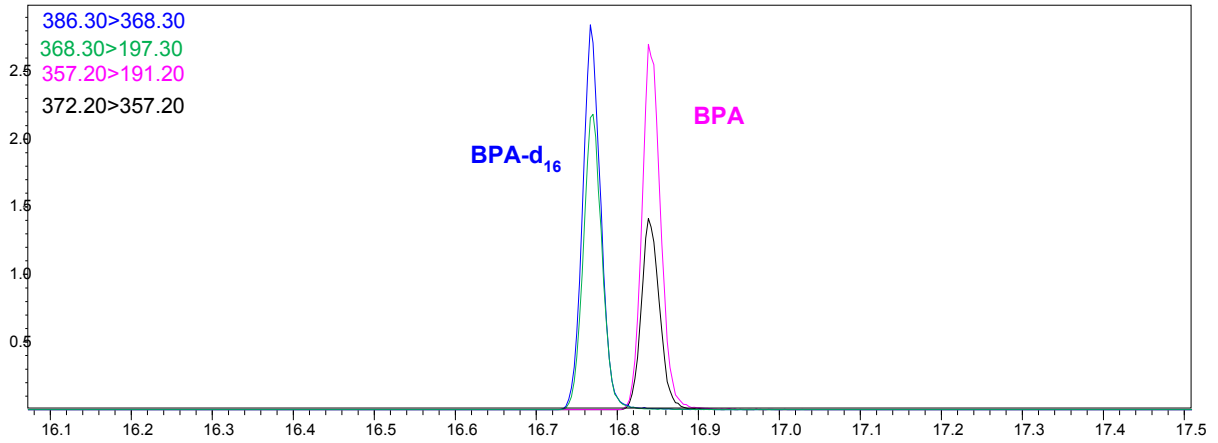


Abbildung 42: EI-GC-MS/MS Chromatogramm von BPA- und BPA-d₁₆

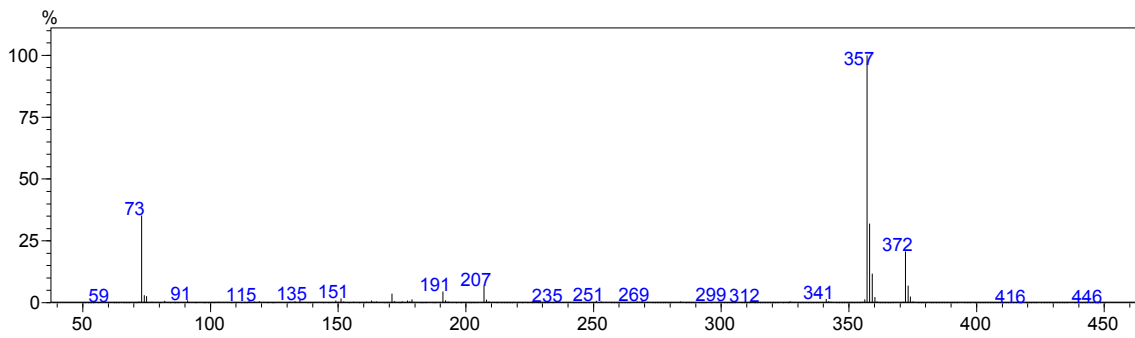


Abbildung 43: EI-Spektrum BPA (m/z 50-450)

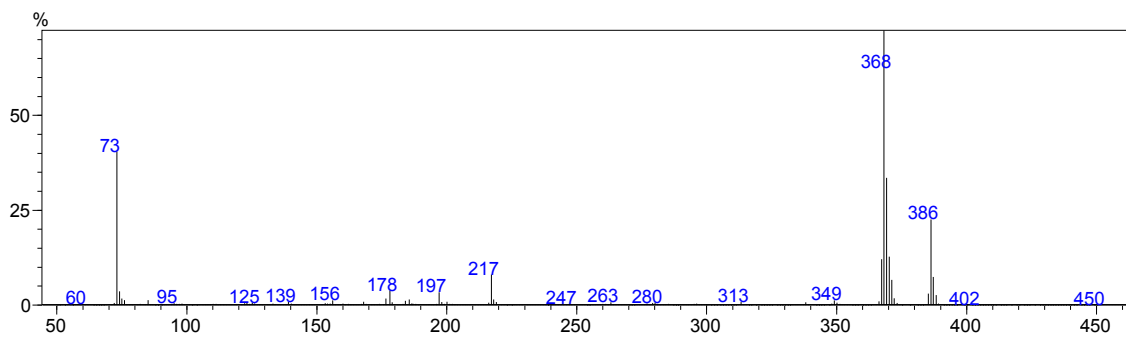


Abbildung 44: EI-Spektrum BPA-d₁₆ (m/z 50-450)

Vergleicht man die Chromatogramme eines BSTFA-Derivats und eines PFBOCI-Derivats, so ist zu erkennen, dass die BSTFA-Derivate deutlich früher eluieren, als die PFBOCI-Derivate. Die Elution der BSTFA-Derivate erfolgt in Abhängigkeit der Methode zwischen 16 und 17 min, wogegen die PFBOCI Derivate erst bei 24 min eluieren. Dies liegt am geringeren Molekulargewicht und der damit verbundenen höheren Flüchtigkeit und dem geringeren Siedepunkt der BSTFA-Derivate. Dieser Unterschied stammt vom wesentlich geringeren Molekulargewicht und der höheren Flüchtigkeit der Trimethylsilylgruppe im Vergleich zur Pentafluorobenzoylgruppe, da bei beiden Derivatisierungstechniken beide endständigen OH-Gruppen von BPA selektiv derivatisiert werden.

7.1.2 Methodvalidierung

Die analytischen Methoden wurden in Bezug auf ihre Anwendbarkeit für die Analyse von BPA in Verpackungspapieren evaluiert. Wiederfindung, Linearität, Präzision und Sensitivität wurden aus den ermittelten Daten berechnet und miteinander verglichen. Alle statistischen Analysen wurden mittels der Statistiksoftware ValiData Version 3.02.48 durchgeführt. Die Methodevaluierung wurde für alle Methoden in Bezug auf den untersten Kalibrationsbereich durchgeführt. Die Validierungsergebnisse sind in Tabelle 22 und Tabelle 23 dargestellt.

Tabelle 22: Validierungsparameter der unterschiedlichen Methoden

Methode	Wiederfindung	Linearität		Wiederholbarkeit (RSD %)	Reproduzierbarkeit (RSD %)
		Konzentration ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	R ²		
EI-GC-MS (PFBOCI deriv.)	74	25-2500	1,000	0,20	0,78
NCI-GC-MS (PFBOCI deriv.)	78	0,05-1	0,9982	0,27	2,15
GC-MS (BSTFA deriv.)	96	5-50	0,9938	1,45	4,84
GC-MS/MS (BSTFA deriv.)	93	0,5-5	0,9988	2,18	2,49

7.1.2.1 Wiederfindung

Alle Wiederfindungsexperimente wurden anhand von gespikten Proben bei einer Konzentration von 50 µg/kg, in Form einer 3-fach Bestimmung durchgeführt. Die Wiederfindungsraten bei einer Konzentration von 50 µg/kg betragen 74 % für die EI-GC-MS Messung der Pentafluorobenzoyl-Derivate, 88 % für die NCI-GC-MS Messung der Pentafluorobenzoyl-Derivate, 96 % für die GC-MS Messung der BSTFA-Derivate und 93% für die GC-MS/MS Messung der BSTFA-Derivate. Die Standardabweichung lag für alle Methoden unter 4 %. Die Wiederfindungsraten sind somit für alle Proben zufriedenstellend.

Bei genauer Betrachtung der Ergebnisse zeigt sich, dass anhand einer Silylierung eine bessere Wiederfindung erzielt wird als bei Derivatisierung mit Pentafluorobenzoylchlorid. Dies liegt daran, dass die Derivatisierung mit Pentafluorobenzoylchlorid aufgrund der extraktiven Derivatisierung und eines dadurch zusätzlich nötigen Konzentrierungsschrittes wesentlich komplexer und aufwendiger ist als die Derivatisierung mit BSTFA, wodurch die Analytverluste erklärt werden können.

7.1.2.2 Linearität

Die Linearität wurde anhand einer Dreifachbestimmung aller Kalibrationsbereiche durchgeführt. Alle Kalibrationslösungen enthielten den internen Standard BPA-d₁₆ in einer Konzentration von 50 µg/kg Papier. Eine Methode wurde als linear angesehen, sofern der Regressionskoeffizient größer 0,99 war und die Standardabweichungen der einzelnen Kalibrationspunkte unter 15 % lagen. Die einzelnen Kalibrationsbereiche, sowie die Linearitätskoeffizienten der einzelnen Kalibrationen sind in Tabelle 22 angeführt. Für alle Methoden konnte eine gute Linearität mit Korrelationskoeffizienten von 0,9938 bis 1,000 erzielt werden, wobei die GC-MS Messung der BSTFA-Derivate den niedrigsten Linearitätskoeffizienten von 0,9938 und die EI-GC-MS Messung der Pentafluorobenzoyl-Derivate den höchsten von 1,000 aufwiesen.

7.1.2.3 Präzision

Für die Evaluierung der Präzision wurden die Wiederholbarkeit und die Reproduzierbarkeit anhand von inter- und intra-Tages Experimenten durchgeführt. Die Präzision wurde dafür in Form der relativen Standardabweichung in Prozent dargestellt (RSD %). Für die Wiederholbarkeit wurde eine gespikte Probe mit einer Konzentration von 50 µg/kg Papier einer Dreifachbestimmung unterzogen. Für die Reproduzierbarkeit wurde eine Probe an drei

unterschiedlichen Tagen einer Dreifachbestimmung unterzogen. Sowohl Wiederholbarkeit, als auch Reproduzierbarkeit zeigten für alle Methoden zufriedenstellende Ergebnisse. Die relative Standardabweichung der Wiederholbarkeit lag dabei unter 2,18 %, jene der Reproduzierbarkeit unter 4,84 % (siehe Tabelle 22). Die Wiederholbarkeit der Pentafluorobenzoyl-Derivate lag dabei mit relativen Standardabweichungen <0,3 % um eine Größenordnung unter jener der BSTFA-Derivate. Dasselbe Bild bot sich bei der Reproduzierbarkeit der Pentafluorobenzoyl-Derivate analysiert mit EI-GC-MS. Die Reproduzierbarkeit der mit NCI-GC-MS analysierten Pentafluorobenzoyl-Derivate lag hingegen im Bereich der Reproduzierbarkeit der BSTFA-Derivate.

7.1.2.4 Sensitivität

Das Detektions- und Quantifizierungslimit (Limit of Detection – LOD und Limit of Quantification – LOQ) wurden anhand der Analyse von gespickten Proben im untersten Kalibrationsbereich der einzelnen Methoden ermittelt. Die Berechnung des LOD und LOQ erfolgte dabei mittels ValiData anhand der Kalibrieremethode.

Die ermittelten Werte reichen dabei von 0,02 – 6 µg/kg Papier für das Detektionslimit und 0,08 – 22 µg/kg Papier für das Quantifizierungslimit (siehe Tabelle 23).

Tabelle 23: LOD und LOQ der unterschiedlichen Methoden in Papier und Lebensmittel

Method	LOD Papier (µg/kg)	LOQ Papier (µg/kg)	LOD Lebensmittel (µg/kg)	LOQ Lebensmittel (µg/kg)
EI-GC-MS (PFBOCl deriv.)	6	22	0,2	0,6
NCI-GC-MS (PFBOCl deriv.)	0,02	0,08	0,0006	0,002
GC-MS (BSTFA deriv.)	2	8	0,05	0,2
GC-MS/MS (BSTFA deriv.)	0,2	0,7	0,005	0,02

Die niedrigsten Werte für LOD und LOQ mit 0,02 µg/kg und 0,08 µg/kg wurde für die Pentafluorobenzoyl-Derivate bei Analyse mittels NCI-GC-MS erzielt. Die Analyse mittels EI-GC-MS hingegen war mit Konzentrationen von 6 µg/kg und 22 µg/kg für LOD und LOQ um den Faktor 300 unempfindlicher. Dies zeigt die hohe Sensitivität und Selektivität der negativ chemischen Ionisation gegenüber Verbindungen mit hoher Elektronenaffinität. Hinsichtlich der BSTFA-Derivate zeigte sich die Selektivität und Sensitivität der GC-MS/MS Analyse gegenüber der GC-MS Analyse anhand einer um den Faktor 10 höheren Empfindlichkeit.

LOD und LOQ der BSTFA-Derivate liegen mit 2 µg/kg und 8 µg/kg (GC-MS) und 0,2 µg/kg und 0,7 µg/kg (GC-MS/MS) somit zwischen den Werten der Pentafluorobenzoyl-Derivate.

Vergleicht man den LOD und LOQ von BPA, die mit den unterschiedlichen Methoden ermittelt wurden, mit Werten aus der Literatur, so konnte nur ein Vergleich der GC-MS Messung der silylierten Derivate angestellt werden, da für alle anderen Methoden keine entsprechenden Daten bezüglich der Analyse von BPA in Papier gefunden wurden. Die in dieser Arbeit bestimmten Werte für LOD und LOQ sind dabei niedriger als, die in der Literatur angeführten. In der Studie von Suciu et al. wurde ein LOD von 0,015 mg/l und LOQ von 0,064 mg/l ermittelt (Suciu et al. 2013). Da die in der Literatur berichteten Werte allesamt in mg/l angegeben wurden, wurden die hier ermittelten Werte zu Vergleichszwecken in mg/l umgerechnet. Der LOD von 2 µg/kg und LOQ von 8 µg/kg, entspricht umgerechnet in mg/l 0,008 mg/l bzw. 0,032 mg/l. Dies entspricht im Vergleich zu den Literaturwerten einer um den Faktor 8 bzw. um den Faktor 2 gesteigerten Sensitivität. Allerdings ist darauf hinzuweisen, dass die in der Literatur angeführten Werte ohne Derivatisierung von BPA ermittelt wurden, wodurch diese Werte zu hinterfragen sind, da das gaschromatographische Ansprechverhalten von BPA ohne Derivatisierung in der Regel äußerst schlecht ist. Durch Derivatisierung wird ein deutlicher Anstieg der Sensitivität erzielt, indem man BPA in eine leichter flüchtige Verbindung verwandelt.

Anhand der ermittelten Werte für LOD und LOQ pro kg Papier, wurden in weiterer Folge LOD und LOQ pro kg Lebensmittel berechnet. Diese Berechnung basiert auf der Annahme des „worst case“ von 100% Migration für ein Papier mit einem fiktiven Flächengewicht von 400 g/m². Da mit zunehmendem Flächengewicht die Migration zunimmt, wurde ein Flächengewicht von 400 g/m² gewählt, um die Migration aus einem schweren Verpackungskarton bzw. Transportkarton zu simulieren. Die so berechneten Werte sollen und können Migrationsexperimente jedoch nicht ersetzen und geben keine aussagekräftige Auskunft über die tatsächlichen Detektions- und Quantifizierungslimits von BPA in Lebensmitteln und Lebensmittelsimulanzien, da diese stark von der Matrix des jeweiligen Lebensmittels abhängig sind. Die so berechneten Werte sollen lediglich zur Veranschaulichung dienen, um zu demonstrieren, dass die evaluierten Methoden sensitiv genug zur Überprüfung des spezifischen Migrationslimits von BPA sind, sofern die Migration rechnerisch ausgehend von der analysierten Konzentration pro kg Papier ermittelt wird.

Die so berechneten Werte für LOD und LOQ pro kg Lebensmittel(simulanz) umfassen einen Bereich von 0,0006 – 0,2 µg/kg (LOD) und 0,002 – 0,6 µg/kg (LOQ) (siehe Tabelle 23), mit einem Ansprechverhalten analog zu den in Papier analysierten Werten. Somit konnte gezeigt werden, dass alle Methoden für die Überprüfung des spezifischen Migrationslimits von

0,6 mg/kg Lebensmittel geeignet sind, da das Quantifizierungslimit selbst bei 100% Migration für alle Methoden mindestens um den Faktor 1000 unter diesem Wert liegt.

Vergleicht man die einzelnen Methoden miteinander, so ist eine Empfindlichkeitssteigerung jeweils um den Faktor 10 in folgender Reihenfolge zu erkennen: GC-MS der BSTFA-Derivate > GC-MS/MS der BSTFA-Derivate > NCI-GC-MS der Pentafluorobenzoyl-Derivate. Die Empfindlichkeit bei EI-GC-MS der Pentafluorobenzoyl-Derivate ist hingegen nochmal um den Faktor 3 schlechter als jene bei GC-MS der BSTFA-Derivate und somit die Methode mit der geringsten Empfindlichkeit.

7.1.3 Konzentration von Bisphenol A in Verpackungspapieren

Auf Basis der entwickelten und validierten Methoden wurden die unterschiedlichen Papier und Kartonproben, 4 Primär-, 3 Sekundär-, 11 Tertiärverpackungen analysiert. Alle Primärverpackungen waren Lebensmittelverpackungen für trockene Lebensmittel, wovon 3 aus Frischfaserkarton und 1 aus Recyclingmaterial waren. Alle Sekundär- und Tertiärverpackungen bestanden hingegen aus Recyclingkarton, wobei keine Information bezüglich des Recyclinggehaltes bekannt war.

Alle analysierten Proben waren mit BPA kontaminiert, jedoch waren nicht alle Methoden sensitiv genug um BPA in allen Proben nachzuweisen. So konnte mittels EI-GC-MS nach Derivatisierung mit Pentafluorobenzoylchlorid BPA in Primärverpackungen nicht nachgewiesen werden.

Anhand der internen Standardisierung mit BPA-d₁₆ erfolgte eine inhärente Korrektur von Matrixeffekten und Analytverlusten von der Probenvorbereitung bis zur Messung. Dadurch wurden Extraktions-, Derivatisierungs- und Anreicherungsverluste kompensiert. Die Verwendung eines deuterierten internen Standards bietet dabei zusätzlich die Vorteile der Standardisotopenverdünnungsanalyse (SIDA), indem Analyt und interner Standard die gleichen chemischen Eigenschaften aufweisen, wodurch die selben Signalverhältnisse für beide Verbindungen erhalten werden. Durch die Deuterierung von 16 Wasserstoffatomen eluieren die beiden Verbindungen außerdem getrennt voneinander, was zusätzlich zu einer Vereinfachung der Auswertung führt.

Die Konzentrationen von BPA bei Analyse mit den unterschiedlichen Methoden sind in Tabelle 24 dargestellt. Die Konzentrationen der Primärproben liegen in einem Bereich von 11 bis 422 µg/kg Papier, wobei die höchste Konzentration mit 422 µg/kg in der Primärprobe aus Recyclingkarton gefunden wurde. Die BPA Konzentrationen in den Primärproben aus

Frischfasermaterial sind hingegen um eine 10er Potenz niedriger. Die Konzentrationen in den Frischfaserproben lagen mit Werten zwischen 11 und 21 µg/kg Papier auch unter dem LOQ von 22 µg/kg der EI-GC-MS Methode für die Analyse von Pentafluorobenzoyl-Derivaten, wodurch die BPA Konzentration in diesen Proben mit EI-GC-MS nicht bestimmt werden konnte. Alle anderen Methoden waren ausreichend empfindlich um BPA auch in den Primärproben aus Frischfasermaterial nachzuweisen. Die Tatsache, dass in Verpackungen aus Recyclingkarton höhere Konzentrationen an BPA nachgewiesen wurden als in Verpackungen aus Frischfasermaterial, bestätigt auch die Tatsache, dass Recyclingproben stärker mit BPA belastet sind (Ozaki et al. 2004; Suciú et al. 2013).

Tabelle 24: Konzentrationen an BPA in Papier- und Kartonproben

Probe	Konzentration (mg/kg)				MW aller Methoden + (RSD%)
	EI-GC-MS (PFBOCI deriv.)	NCI-GC-MS (PFBOCI deriv.)	GC-MS (BSTFA deriv.)	GC-MS/MS (BSTFA deriv.)	
1	< LOQ	9,6 ± 0,4	11 ± 0,8	12 ± 9	11 ± 1,2 (11,09)
2	425 ± 15	418 ± 11	n,a,	n,a,	422 ± 5 (1,17)
3	< LOQ	14 ± 0,1	10 ± 0,4	12 ± 0,9	12 ± 2 (16,67)
4	< LOQ	21 ± 0,7	19 ± 2,6	23 ± 1,1	21 ± 2 (9,52)
5	665 ± 41	691 ± 14	664 ± 23	722 ± 39	686 ± 29 (4,30)
6	6693 ± 83	6262 ± 357	n,a	6086 ± 113	6347 ± 312 (4,92)
7	116 ± 1	113 ± 7	n,a,	103 ± 9	111 ± 7 (6,35)
8	9646 ± 142	12498 ± 199	n,a	n,a	11072 ± 2017 (18,2)
9	10033 ± 203	11870 ± 403	10125 ± 111	10575 ± 204	10651 ± 847 (7,95)
10	9968 ± 194	11079 ± 99	10287 ± 100	10831 ± 103	10541 ± 506 (4,80)
11	4745 ± 179	5020 ± 153	n,a,	n,a	4883 ± 194 (3,97)
12	4339 ± 218	4443 ± 407	4321 ± 22	4617 ± 71	4430 ± 136 (3,07)
13	9890 ± 34	10524 ± 297	8815 ± 161	9132 ± 230	9590 ± 769 (8,02)
14	11796 ± 404	13667 ± 402	13087 ± 99	13291 ± 301	12961 ± 813 (6,27)
15	7707 ± 396	7922 ± 82	8204 ± 131	8384 ± 98	8054 ± 300 (3,72)
16	4701 ± 12	5368 ± 330	n,a,	n,a	5034 ± 472 (9,38)
17	10213 ± 199	10754 ± 201	n,a,	n,a	10484 ± 383 (3,65)
18	5589 ± 122	6078 ± 197	n,a,	n,a	5833 ± 346 (5,93)

Die nachgewiesenen Konzentrationen in den Sekundärproben liegen in einem Bereich zwischen 12 und 6347 µg/kg Papier. Die niedrigsten Konzentrationen von 12 µg/kg entsprechen dabei den Werten, die in Primärproben aus Recyclingkarton nachgewiesen wurden, wogegen die höchste Konzentration von 6347 µg/kg den BPA Konzentrationen der Tertiärproben entspricht. Die höchsten Konzentrationen an BPA (4430-12961 µg/kg) wurden in Tertiärproben nachgewiesen. Dies könnte ein Anzeichen für einen höheren Recyclinggehalt dieser Proben sein, was auch mit der Theorie einhergeht, dass der Recyclinganteil umso höher ist, je weiter die Verpackung vom Packgut entfernt ist.

Bezüglich der Art der Bedruckung konnten keine Unterschiede zwischen Flexo und Offset bedruckten Proben festgestellt werden. Diesbezüglich konnten jedoch nur die Tertiärverpackungen verglichen werden, da für Primär- und Sekundärverpackungen keine Information über die Art der Bedruckung verfügbar war. Betrachtet man die Proben 9, 15, 16 und 18, welche mittels Offsetdruckverfahren bedruckt wurden, im Vergleich zu den Proben 8, 10, 11, 12, 13 und 17, welche mittels Flexodruckverfahren bedruckt wurden, konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Eine höhere Konzentration an BPA in Offset bedruckten Proben, (auf Epoxybasis basierende Druckfarben enthalten häufig BPA als Weichmacher) konnte nicht bestätigt werden. Dies zeigt, dass die Art der Verpackung, ob Recycling oder Frischfaser, bzw. der Recyclinganteil einen deutlich höheren Einfluss auf den BPA-Gehalt haben, als die Art der Bedruckung. Da die untersuchten Proben relativ hohe Konzentrationen an BPA enthalten, die vermutlich durch einen relativ hohen Recyclinggehalt verursacht sind, ist der Anteil der Druckfarbe an der Gesamtkonzentration an BPA zu gering um einen Einfluss feststellen zu können. Um den Einfluss der unterschiedlichen Druckverfahren und Druckfarben eindeutig feststellen zu können, müsste man die selbe Probe (am besten Frischfaser) mit den unterschiedlichen Farben und Druckverfahren bedrucken und anschließend die Konzentration an BPA bestimmen.

Im Allgemeinen stimmen die analysierten Konzentrationen an BPA in den untersuchten Proben mit Konzentrationen aus der Literatur, welche Konzentrationen von bis zu 10 000 mg/kg BPA berichten, überein (Vinggard et al. 2000; Gehring et al. 2004; Ozaki et al. 2004; Mendum et al. 2011; Liao & Kannan et al. 2012; Pérez-Palacios et al. 2012; Suciú et al. 2013). Die höchsten Konzentrationen an BPA bezüglich der Werte aus der Literatur liegen dabei in Thermodruckpapieren vor, die BPA als Farhentwickler in der thermosensitiven Schicht enthalten. Die Werte für Tertiärproben (4430-13 000 µg/kg) liegen im selben Bereich wie die Konzentrationen die von Vinggard et al. in Recyclingkarton und Wellpappe (3900-10 000 µg/kg) detektiert wurden (Vinggard et al. 2000).

Ein Vergleich der Ergebnisse der einzelnen Methoden zeigt, dass mit allen Methoden übereinstimmende Werte erzielt wurden, mit relativen Standardabweichungen < 12 %. Einzig bei Probe 3 und 8 liegt die Standardabweichung der unterschiedlichen Methoden bei 16 % bzw. 18 %. Eine Standardabweichung von 16 % bei Probe 3 kann durch den niedrigen Gehalt an BPA in dieser Probe begründet werden, deren Konzentration an BPA für die Pentafluorobenzoyl-Derivate bei Analyse mittels EI-GC-MS unter dem LOQ dieser Methode lag. Von Probe 8 wurden hingegen nur Pentafluorobenzoyl-Derivate analysiert, wodurch dies kein aussagekräftiges Ergebnis ist. Da jedoch die Ergebnisse der Proben die mit allen Methoden analysiert wurden übereinstimmen, ist davon auszugehen, dass dies auch für Proben gilt, die nicht mit allen Methoden analysiert wurden.

Es zeigte sich auch, dass für die Pentafluorobenzoyl-Derivate bei Analyse mittels EI-GC-MS generell die niedrigsten Konzentrationen der einzelnen Proben ermittelt wurden. Der Grund dafür dürfte einerseits darin liegen, dass diese Methode die geringste Empfindlichkeit für BPA aufweist, andererseits, dass eine Derivatisierung mit Pentafluorobenzoylchlorid spezifisch auf negativ chemische Ionisation ausgerichtet ist.

Wie sich zeigte sind alle Methoden für die Analyse von BPA in Papierproben geeignet, wengleich sich bei der EI-GC-MS Analyse von Pentafluorobenzoyl-Derivaten Einschränkungen ergeben. Die Konzentration an BPA in Primärproben aus Frischfasermaterial liegt dabei unter dem LOQ dieser Methode. Für gaschromatographische Analysen bei Anregung mittels Elektronenstoßionisation ist, aufgrund des geringeren Aufwandes und der damit verbundenen geringeren Fehleranfälligkeit eine Derivatisierung mit BSTFA zu bevorzugen. Eine Derivatisierung mit Pentafluorobenzoylchlorid und Analyse mittels NCI-GC-MS eignet sich hingegen aufgrund der extrem hohen Empfindlichkeit gegenüber den hoch elektrophilen Derivaten vor allem für Proben mit sehr niedrigem BPA Gehalt, sowie für die Derivatisierung von BPA aus wässrigen Extrakten.

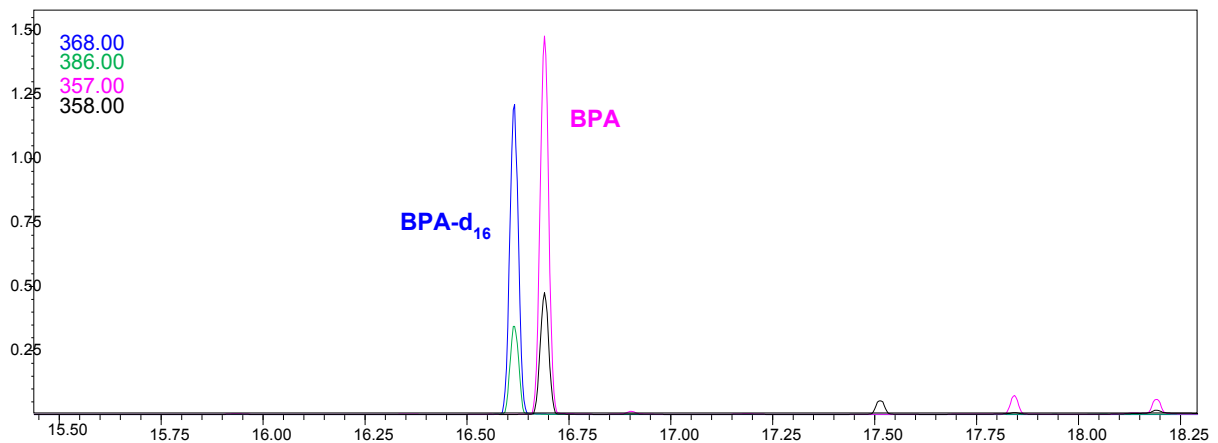


Abbildung 45: GC-MS Chromatogramm Tertiärprobe

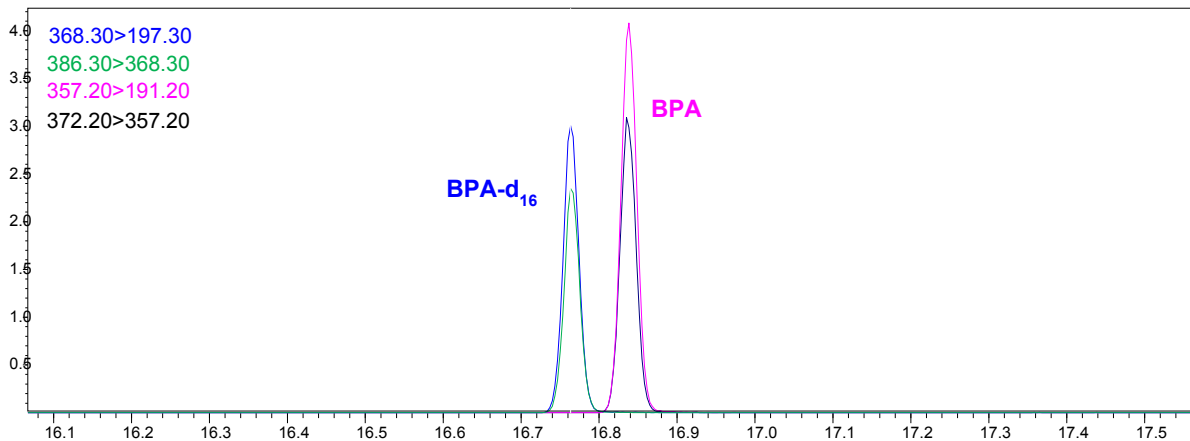


Abbildung 46: GC-MS/MS Chromatogramm Tertiärprobe

7.1.4 Konzentration von Bisphenol A in Hygienepapieren

Die Bestimmung der Konzentration an BPA in Hygienepapieren bezog sich auf 6 unterschiedliche Papierhandtücher und eine Küchenrolle. Es handelt sich somit um Hygienepapiere für den Kurzzeithautkontakt, welche durch ein geringes Flächengewicht von 25 bis 50 g/m² charakterisiert sind. Die Analyse von BPA in Hygienepapieren bezog sich dabei ausschließlich auf eine Analyse mittels NCI-GC-MS nach Derivatisierung der Kaltwasserextrakte mit Pentafluorobenzoylchlorid (siehe 6.1.4 und 6.1.5). Der Vorteil der Derivatisierung mit PFBOCI bestand einerseits in der direkten Derivatisierung der Kaltwasserextrakte, andererseits in der selektiven und sensitiven Analyse mittels NCI-GC-MS. Zudem wurden geringe Konzentrationen an BPA in den Hygienepapieren erwartet, wodurch man sich durch eine Analyse mittels NCI-GC-MS, aufgrund ihrer Empfindlichkeit, weitere Vorteile erwartete. Die ermittelten Konzentrationen an BPA sind in Tabelle 25 dargestellt.

Tabelle 25: Konzentrationen an BPA in Hygienepapieren

Probe	Konzentration (mg/kg) +(RSD%)
H1	1,36 ± 0,06 (4,75)
H2	5,05 ± 0,23 (4,51)
H3	4,98 ± 0,13 (2,61)
H4	0,37 ± 0,03 (8,10)
H5	7,76 ± 0,005 (0,06)
H6	0,46 ± 0,002 (3,61)
H7	2,06 ± 0,06 (2,73)

Die Analyse der Hygienepapiere ergab entgegen den Erwartungen relativ hohe Konzentrationen an BPA pro kg Papier, vergleichbar mit den BPA Gehalten in Tertiärproben. Aufgrund des geringen Flächengewichtes der Hygienepapiere im Vergleich zu Verpackungspapieren und Karton, ist der Gehalt an BPA in den Proben jedoch auf eine wesentlich größere Papierfläche verteilt, wodurch der Konsument diesbezüglich dennoch geringeren Konzentrationen an BPA ausgesetzt ist als bei Verpackungspapieren. Bei Hygienepapieren wie Papierhandtüchern und Küchenrollen erfolgt außerdem keine Migration im klassischen Sinne, sondern eine Übertragung von BPA über dermalen Kontakt. Vor allem bei einem Kurzzeitkontakt, wie es das Abtrocknen der Hände darstellt, ist eine geringe Übertragung von BPA zu erwarten, auch wenn der Kontakt mit Wasser und Seife ein wässrig-basisches Milieu darstellt, welches die Migration und Auswaschung von BPA aus dem Papier begünstigt.

Die Konzentrationen an BPA in den analysierten Hygienepapieren liegen dabei zwischen 0,37 und 7,76 mg/kg Papier. Rollenpapiere, wie Papierhandtücher zum Abreißen weisen dabei wesentlich geringere Konzentrationen auf als einzeln zu entnehmende Papierhandtücher, wie anhand von Probe H4 und H6 im Vergleich zu den restlichen Proben ersichtlich ist. Dies lässt auch die Vermutung zu, dass der Recyclinganteil in den analysierten Rollenpapieren wesentlich geringer ist als in den Einzelpapieren, auch wenn eine Bestätigung dessen aufgrund des nicht bekannten Recyclinganteils der Proben nicht möglich ist.

7.1.5 Berechnung der Migration in Lebensmittel(simulanzen)

Ausgehend von den ermittelten Konzentrationen an BPA in den Proben erfolgte eine Berechnung der maximalen Migration in Lebensmittel bzw. Lebensmittelsimulanzen. Die Berechnung der Migration bezog sich dabei auf die Annahme von 100% Migration, was das „worst case“ Szenario darstellen soll. In Abhängigkeit der Konzentration an BPA und des jeweiligen Flächengewichtes der Proben, sowie unter der gesetzlichen Regelung, dass 1 kg Lebensmittel in direktem Kontakt mit 6 dm² Verpackung steht, wurde die maximal mögliche Migration berechnet. Es ist jedoch zu berücksichtigen, dass es sich hierbei um eine überbestimmende Abschätzung der Migration handelt, da die tatsächlich auftretende Migration weit unter 100% liegt (Aurela et al. 1999; Summerfield & Cooper 2001; Aurela et al. 2001; Vasileios et al. 2002; Anderson & Castle 2003; Jickells et al. 2005; Jung et al. 2010; Fiselier et al. 2010; Suciú et al. 2013): Die Konzentration pro kg Packgut ist dabei vom jeweiligen Flächengewicht der Verpackung abhängig ist. Es ist somit nicht zwingend, dass die höchste Konzentration an BPA pro kg Papier die höchste Konzentration an BPA pro kg

Packgut ergibt. Eine Angabe der Konzentration an BPA pro kg Papier hat somit keine direkte Aussagekraft über die Migrationskonzentration an BPA im Packgut. Zur Bestimmung der effektiv auftretenden Migration ist somit die Durchführung von Migrationstests unter genau definierten Testbedingungen unerlässlich, da die tatsächlich auftretende Migration stark von der Art des Lebensmittels, der Lagerdauer und -temperatur und der Struktur des Papiers abhängt (Triantafyllou et al. 2007; Zülch & Piringer 2010). Die Durchführung von Migrationstests erfolgt dabei anhand von Lebensmittelsimulanzien. Wie Studien zeigen hat sich für die Migration unterschiedlicher, flüchtiger Substanzen aus Papier und Karton in trockene Lebensmittel Tenax[®] als das am besten geeignete Lebensmittelsimulanz erwiesen (Aurela et al. 2001; Summerfield & Cooper 2001; Triantafyllou et al. 2002; Zülch & Piringer 2010).

Die berechneten Konzentrationen pro kg Lebensmittel(simulanz) bei 100% Migration sind in Tabelle 26 dargestellt. Die so ermittelten Konzentrationen bei 100% Migration liegen dabei zwischen 0,15 und 333 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Lebensmittel(simulanz). In Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Analyse der Papierproben weisen die Primärproben aus Frischfasermaterial die niedrigsten, und Tertiärproben aus Recyclingmaterial die höchsten Migrationskonzentrationen auf.

Tabelle 26: Konzentration an BPA pro kg Lebensmittel bei 100% Migration

Probe	Konzentration ($\mu\text{g kg}^{-1}$)				
	EI-GC-MS (<i>PFBOCI</i>)	NCI-GC-MS (<i>PFBOCI</i>)	GC-MS (<i>BSTFA</i>)	GC-MS/MS (<i>BSTFA</i>)	MW aller Methoden + (RSD%)
1	< LOQ	0,13 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,15 ± 0,02 (11,09)
2	7,7 ± 0,3	7,5 ± 0,1	n,a,	n,a,	7,6 ± 0,1 (1,17)
3	< LOQ	0,23 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,20 ± 0,01	0,20 ± 0,03 (16,67)
4	< LOQ	0,62 ± 0,02	0,55 ± 0,05	0,68 ± 0,04	0,62 ± 0,07 (9,52)
5	18 ± 3	19 ± 3	18 ± 0,4	20 ± 1	19 ± 1 (4,30)
6	153 ± 2	143 ± 8	n,a	139 ± 2	145 ± 7 (4,92)
7	2,9 ± 0,3	2,8 ± 0,1	n,a,	2,5 ± 0,2	2,7 ± 0,2 (6,35)
8	290 ± 4	375 ± 7	n,a	n,a	333 ± 61 (18,21)
9	308 ± 7	364 ± 12	311 ± 4	325 ± 7	327 ± 26 (7,95)
10	223 ± 4	248 ± 2	230 ± 2	243 ± 3	236 ± 11 (4,80)
11	150 ± 6	158 ± 5	n,a,	n,a	154 ± 6 (3,97)
12	128 ± 7	131 ± 12	127 ± 0,6	136 ± 2	131 ± 4 (3,07)
13	240 ± 1	255 ± 6	214 ± 4	221 5	232 ± 19 (8,02)
14	242 ± 8	281 ± 8	269 ± 2	273 ± 6	266 ± 17 (6,27)
15	185 ± 1	191 ± 2	197 ± 2	202 ± 2	194 ± 7 (3,72)
16	117 ± 0,2	134 ± 8	n,a,	n,a	126 ± 12 (9,38)
17	261 ± 5	275 ± 5	n,a,	n,a	268 ± 10 (3,65)
18	135 ± 3	147 ± 5	n,a,	n,a	141 ± 8 (5,93)

Die berechneten Konzentrationen für die maximal mögliche Migration liegen dabei das 2-fache bis 4000-fache unter dem Wert des spezifischen Migrationslimit (SML) von 600 µg/kg Lebensmittel. Basierend auf dem SML und den ermittelten Daten, die sich auf eine Migration von 100% beziehen, können die untersuchten Verpackungsproben als sicher für den Gebrauch als Lebensmittelverpackungen eingestuft werden. Hinzu kommt, dass eine Migration von 100% äußerst unwahrscheinlich ist. Aus der Studie von Suciú et al. geht hervor, dass die tatsächliche Migration von BPA in Salz, Zucker und Tenax® unter den gegebenen Bedingungen jeweils unter einem Prozent lag (Suciú et al. 2013). Allerdings ist zu berücksichtigen, dass die auftretende Migration von äußeren Einflüssen wie der Struktur und Art des Verpackungsmaterials, der Lagertemperatur und der Lagerdauer abhängig ist (Triantafyllou et al. 2007; Zülch & Piringer 2010). Zusätzlich ist zu beachten, dass Sekundär- und Tertiärverpackungen nicht in direktem Kontakt mit dem Packgut stehen, wodurch höhere Konzentrationen an BPA in Sekundär- und Tertiärverpackungen kein Risiko in Bezug auf direkte Migration darstellen. Ein Übertrag von BPA aus diesen Verpackungen auf Primärverpackungen und in weiterer Folge auf das Packgut sollte für die Dauer einer durchschnittlichen Lagerung nicht ausreichend sein um ein potentiell Risiko darzustellen. Vor allem bei Tertiärverpackungen, die überwiegend für Transportzwecke zum Einsatz kommen, kommt es darüberhinaus meist zu einer reduzierten Kontaktzeit mit der Sekundärverpackung wodurch das Migrationsrisiko weiter reduziert wird.

Zusätzlich zur Berechnung der Migration für die Primär-, Sekundär- und Tertiärproben erfolgte auch eine Berechnung der Migration für Hygienepapiere. Obwohl bei Hygienepapieren kein direkter Bezug zu Lebensmitteln gegeben ist, wurde auch für Hygienepapiere die maximale Migration pro kg Lebensmittel berechnet. Aufgrund einer fehlenden gesetzlichen Berechnung für die Übertragung von BPA durch dermalen Kontakt, wird die Berechnung der Migration durch Hautkontakt über die Berechnung der spezifischen Migration in Lebensmitteln durchgeführt. Es wurde somit auch für Hygienepapiere das spezifische Migrationslimit von 0,6 mg/kg Lebensmittel herangezogen. Die Werte der maximalen Migration der Hygienepapiere sind dabei Tabelle 27 zu entnehmen.

Tabelle 27: Migrationskonzentration der Hygienepapiere bei 100% Migration

Probe	Konzentration (µg/kg) +(RSD%)
H1	2,32 ± 0,11 (4,75)
H2	12,7 ± 0,6 (4,51)
H3	11,7 ± 0,3 (2,61)
H4	0,85 ± 0,068 (8,10)
H5	23 ± 0,01 (0,06)
H6	1,18 ± 0,04 (3,61)
H7	4,50 ± 0,12 (2,73)

Anhand der Ergebnisse verdeutlicht sich der Einfluss des Flächengewichtes auf die Migrationskonzentration. Aufgrund des geringen Flächengewichtes, weisen Hygienepapiere bei annähernd gleicher Konzentration an BPA pro kg Papier wie Tertiärproben eine wesentlich geringere Migrationskonzentration auf. Die berechneten Konzentrationen liegen dabei in einem Bereich von 0,85 bis 23 µg/kg Lebensmittel. So ergibt sich für Probe H5 mit einem Flächengewicht von 50 g/m² bei einer Konzentration von 7,76 mg/kg Papier eine maximal mögliche Migration von 23 µg/kg Lebensmittel(simulanz). Vergleicht man dies mit Probe 15, einer Tertiärprobe mit einem Flächengewicht von 410 g/m², so zeigt sich, dass diese bei einer vergleichbaren Konzentration in Papier von 8,05 mg/kg eine deutlich höhere Migrationskonzentration von 194 µg/kg Lebensmittel aufweist.

7.1.6 Zusammenfassung

Die Ergebnisse zeigen die Anwendbarkeit aller Methoden in Bezug auf die unterschiedlichen Derivatisierungstechniken zum Nachweis von BPA in Papier und Karton. Eine Methodenevaluierung zeigte eine gute Linearität und Präzision aller Methoden. LOD und LOQ der einzelnen Methoden unterschieden sich hingegen jeweils um eine Größenordnung. Am empfindlichsten ist die Analyse von Pentafluorobenzoyl-Derivaten mit NCI-GC-MS, bei der die hohe Selektivität und Sensitivität der negativ chemischen Ionisation gegenüber den hoch elektrophilen polyhalogenierten Derivaten ausgenutzt wird, gefolgt von der Analyse von BSTFA-Derivaten mit EI-GC-MS/MS und EI-GC-MS. Die geringste Empfindlichkeit wurde für die Analyse von Pentafluorobenzoyl-Derivaten mit EI-GC-MS erzielt. Dies ist auch die einzige Methode mit der die Konzentration an BPA in Primärverpackungen aus Frischfaser nicht nachgewiesen werden konnte, da die Konzentration an BPA in den Proben unter dem LOQ dieser Methode lag. Diese Methode ist nur bedingt für die Quantifizierung von BPA in Papierprodukten geeignet, da die Konzentrationen an BPA in Frischfaserverpackungen tendenziell niedriger ist. Vergleicht man die Methoden hinsichtlich des Arbeitsaufwandes miteinander, so ist die Derivatisierung mit Pentafluorobenzoylchlorid durch einen wesentlich größeren Arbeits- und Zeitaufwand charakterisiert. Aufgrund des Extraktionsschrittes und der damit verbundenen Konzentrierung der Extrakte, ergibt sich auch eine größere Fehleranfälligkeit in Bezug auf Analytverluste. Eine Derivatisierung mit Pentafluorobenzoylchlorid bietet darüber hinaus aber auch den Vorteil der Derivatisierung wässriger Extrakte und stellt in Kombination mit NCI-GC-MS eine extrem selektive und sensitive Analysenmethode dar.

Die Ergebnisse zeigen, dass Bisphenol A ein allgegenwärtiger Kontaminant ist, der in allen analysierten Proben nachzuweisen ist. Es konnte auch gezeigt werden, dass das

verwendetes Ausgangsmaterial zur Papiererzeugung, ob Frischfaser oder Recyclingware, einen großen Einfluss auf die BPA Konzentration im Endprodukt hat. So wurden die höchsten Konzentrationen an BPA in Tertiärverpackungen aus recycelter Wellpappe nachgewiesen, die geringsten Konzentrationen hingegen in Primärproben aus Frischfaser. Dies zeigt auch, dass je näher die Verpackung am Endprodukt ist, die Konzentration an BPA abnimmt. So werden Primärverpackungen, die in direktem Kontakt mit dem Packgut stehen, überwiegend aus Frischfaserkarton hergestellt. Generell gilt dabei, je höher der Grad der Verpackung ist (sekundär, tertiär,...) desto höher ist der Recyclinganteil.

In Bezug auf die Berechnung der maximalen Migration an BPA zeigte sich, dass keine der analysierten Proben das maximale Migrationslimit von 0,6 mg/kg Lebensmittel(simulanz) überschritt. Davon ausgehend, sowie davon, dass die tatsächlich auftretende Migration weit unter 100% liegt und Sekundär- und Tertiärproben nicht in direktem Kontakt mit Lebensmitteln stehen, können die analysierten Proben als sicher für den Kontakt mit Lebensmitteln eingestuft werden.

7.2 Bestimmung von Bisphenolen (BPA, BPAF, BPB, BPE, BPF, BPA) mittels GC-MS/MS und LC-MS/MS

Nach erfolgter Bestimmung von Bisphenol A mit unterschiedlichen gaschromatographischen Methoden, wurde der Fokus auf weitere Bisphenole gelegt, da es aufgrund gesetzlicher Limitierungen von BPA in industriellen Anwendungen zunehmend zu einem Ersatz von BPA durch andere Bisphenole kommt (Gallart-Ayala et al. 2011; Liao & Kannan 2012; Liao et al. 2012b; Yang et al. 2014a). Die Analysen bezogen sich dabei neben BPA auf BPAF, BPB, BPE, BPF und BPS. Die unterschiedlichen Bisphenole wurden nach erfolgter Extraktion aus unterschiedlichen Papierproben mittels GC-MS/MS und LC-MS/MS im MRM-Mode analysiert. Für die Analyse mittels GC-MS/MS wurden die Extrakte mit BSTFA derivatisiert. Die beiden Analysemethoden wurden anschließend validiert und einem Vergleich unterzogen, sowie, analog zur Analyse der Bisphenole, die maximale Migration in das Packgut berechnet. Es konnte gezeigt werden, dass anhand beider Methoden übereinstimmende Ergebnisse erzielt wurden. Die beiden Methoden unterscheiden sich jedoch hinsichtlich der Herstellung der Extrakte.

Die untersuchten Proben zeigten deutliche Unterschiede bezüglich Vorkommen und Konzentration der analysierten Bisphenole, in Abhängigkeit der Art der Probe (Frischfaser- oder Recyclingprobe).

7.2.1 Methodenentwicklung

Die Methodenentwicklung bezog sich auf die Extraktion der Proben, da eine reine Lösungsmittelextraktion wie sie für die Analyse von BPA angewandt wurde, für die Bisphenol-Analoga in Bezug auf die gaschromatographische Analyse nicht die gewünschten Ergebnisse lieferte. So war neben einer Lösungsmittelextraktion die Durchführung einer Folch-Extraktion erforderlich, um eine quantitative Derivatisierung der Extrakte zu gewährleisten. Für die flüssigchromatographische Analyse war hingegen eine klassische Lösungsmittelextraktion ausreichend.

7.2.1.1 Derivatisierung mit BSTFA

Für die Analyse mittels GC-MS/MS erfolgte eine Derivatisierung der Extrakte mit BSTFA um ausreichend flüchtige und stabile Extrakte für eine gaschromatographische Analyse zu erhalten. Die Derivatisierung erfolgte dabei analog zur Derivatisierung von BPA mit BSTFA

zur Analyse von BPA mit unterschiedlichen gaschromatographischen Methoden (siehe 7.1.1.2), wobei sowohl eine Derivatisierung der Lösungsmittelextrakte als auch der Folch-Extrakte erfolgte.

7.2.1.2 Lösungsmittelextraktion vs. Folch-Extraktion

Für die GC-MS/MS Analyse war wie bereits erwähnt eine Lösungsmittelextraktion nicht ausreichend, da anhand dieser nur nicht zufrieden stellende Wiederfindungsraten der Bisphenol-Analoga von unter 40 % erzielt wurden. Bei Durchführung einer Folch-Extraktion konnten diese hingegen deutlich gesteigert werden. So lagen die Wiederfindungsraten bei Durchführung einer Folch-Extraktion in Abhängigkeit der Konzentration zwischen 70 und 117%. Die Wiederfindungsraten der einzelnen Kalibrationspunkte liegen dabei in einem Bereich von 70-116 % für BPA, 72-116 % für BPB, 70-115 % für BPE, 80-117 % für BPF, 70-115 % für BPAF und 78-107 % für BPS. Im Gegenzug dazu waren die bei der Lösungsmittel-extraktion erzielten Wiederfindungsraten deutlich geringer. Die höchste Wiederfindung konnte für BPA mit 34-60 % erzielt werden, wogegen die Wiederfindung der anderen Bisphenole deutlich unter 40 % lag. Dies deutet auf eine starke Matrixabhängigkeit der Wiederfindung hin, da in der vorhergehenden Arbeit zur Analyse von BPA mit unterschiedlichen gaschromatographischen Methoden Wiederfindungsraten für BPA von 74-93 % erzielt wurden (siehe 7.1.2.1). Allerdings erfolgte hierbei eine methanolische Extraktion aus Kopierpapier anstelle von Zellulosepapier (Jurek & Leitner 2015).

Für die niedrigen Wiederfindungen, welche bei der Lösungsmittel-extraktion erreicht wurden gibt es mehrere Möglichkeiten. (I) Bei der Lösungsmittel-extraktion liegen die Analyten in alkalischem Medium vor, wodurch diese zu Phenolaten deprotonieren und es zu einer Hinderung der Derivatisierung, aufgrund des Vorliegens der Analyten als Phenolate kommt. Die alkalische Stärke des Lösungsmittelmediums scheint dabei stark matrixabhängig zu sein, da die Derivatisierung in Kopierpapierextrakten wesentlich quantitativer verlief. (II) Die Lösungsmittelstärke von MeOH reicht in Abhängigkeit der Matrix (Kopierpapier vs. Zellulosepapier) nicht aus, um die Bisphenole quantitativ aus dem Papier zu extrahieren. (III) In Abhängigkeit der Matrix werden Substanzen aus dem Papier extrahiert, die eine quantitative Derivatisierung verhindern.

Da bei Analyse mittels LC-MS/MS eine Lösungsmittel-extraktion mit MeOH aus Zellulosepapier jedoch eine zufriedenstellende Wiederfindung von 71-115% erzielt wurde, lässt sich eine nicht ausreichende Ionenstärke zur quantitativen Extraktion ausschließen. Der Grund dürfte somit entweder das Vorhandensein von Substanzen die eine quantitative Derivatisierung verhindern, oder das Vorliegen der Bisphenole als Phenolate sein. Würden

die Bisphenole als Phenolate vorliegen, müsste dies jedoch auch einen Einfluss auf die Wiederfindung bei der LC-MS/MS Analyse haben. Durch die Verdünnung der Extrakte vor der Analyse (1:1 mit H₂O), um die Extrakte an die Laufmittelkonzentration anzupassen, könnte dieser Verdünnungsschritt ausreichend sein, um das Phenolat-Phenol Gleichgewicht in Richtung Phenole zu verschieben. Für die GC-MS/MS Analyse ist dieser Schritt jedoch nicht möglich, da eine Derivatisierung mit BSTFA in wasserfreiem Medium zu erfolgen hat. Bei der Folch-Extraktion wird die Protonierung durch ein Aufschlännen der Papierproben in saurem Medium verhindert. Durch den darauffolgenden Extraktionsschritt der Analyten in Dichlormethan erfolgt eine zusätzliche Aufreinigung der Extrakte. Dadurch kommt es zu einer Abtrennung der Analyten in der Dichlormethanphase von Matrixsubstanzen, die die Derivatisierung hindern, indem diese in der wässrig-methanolischen Phase zurückbleiben. Eine Matrixabhängigkeit der quantitativen Ausbeute bestätigte sich auch bei der Analyse der Papierproben, da für Proben mit komplexer Matrix bei Lösungsmittlextraktion niedrigere Wiederfindungen des internen Standards erhalten wurden. Wobei die geringsten Wiederfindungsraten bei Proben mit dem höchsten Recyclinggehalt festgestellt wurden. Bei Durchführung einer Folch-Extraktion wurde hingegen keine Matrixabhängigkeit festgestellt. Aufgrund der wesentlich komplexeren und aufwändigeren Durchführung der Folch-Extraktion ist diese jedoch auch wesentlich fehleranfälliger für arbeitsbedingte Analytverluste während des Extraktionsprozesses. Dennoch ist eine Folch-Extraktion in Bezug auf eine Analyse mittels GC-MS/MS unerlässlich, um eine ausreichende Wiederfindung der Analyten zu erzielen.

7.2.1.3 Matrixeffekte bei Analyse mittels LC-MS/MS

Die Analyse mittels LC-MS/MS war in Abhängigkeit der Probe durch starke Matrixeffekte bei der Verwendung von BPA-d₁₆ als interner Standard charakterisiert. Dies zeigte sich durch eine Erhöhung der Signalintensität von BPA-d₁₆ in den Proben im Vergleich zum Standard (siehe Abbildung 47).

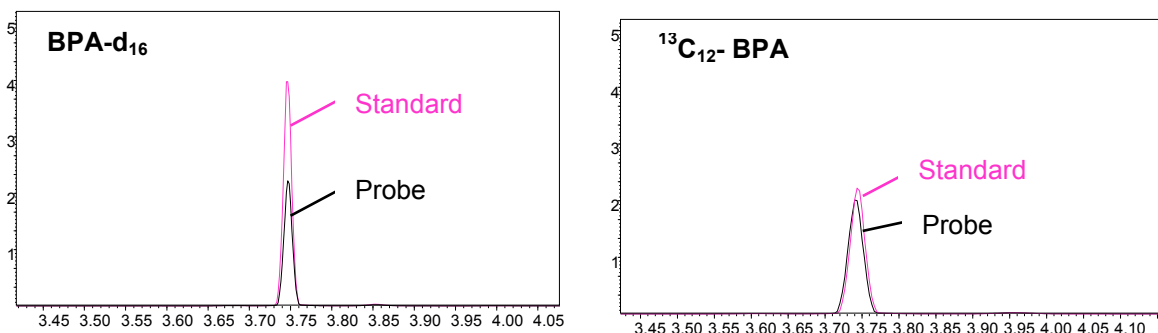


Abbildung 47: Matrixbezogene Signalerhöhung des IS (LC-MS/MS)

Vor allem in Recyclingproben mit hohem Recyclinggehalt und in beschichteten/laminierten Proben wies der interne Standard BPA-d₁₆ in den Proben eine nahezu doppelt so hohe Signalintensität auf als im Standard. Der Grund dafür liegt im Vorhandensein von Verbindungen in der Probe, die dieselben Ionenübergänge aufweisen wie BPA-d₁₆, wodurch es bei der MS/MS Detektion zu einer Signalverstärkung kommt. Um dieses Problem zu umgehen war ein Austausch von BPA-d₁₆ durch ¹³C₁₂-BPA erforderlich, dessen Ionenübergänge nicht von matrixbezogenen Substanzen beeinflusst wurden. Aufgrund der hohen Kosten für ¹³C₁₂-BPA erfolgte eine individuelle Anwendung von BPA-d₁₆ und ¹³C₁₂-BPA in Abhängigkeit der Probenmatrix. Die Anwendung des jeweiligen nötigen internen Standards wurde dabei in Vorversuchen durch Analyse der Proben ohne internen Standard ermittelt.

7.2.2 Methodvalidierung

Die Methodenevaluierung erfolgte für die GC-MS/MS und LC-MS/MS Methode, wobei beide Methoden auf ihre Anwendbarkeit für die Analyse von Bisphenolen in Papier und Papierprodukten überprüft wurden. Bei der Analyse mittels GC-MS/MS erfolgte eine Validierung für beide Extraktionstechniken, Lösungsmittlextraktion, als auch Folch-Extraktion. Aufgrund der schlechten Wiederfindungsraten der Bisphenol-Analoga bei Lösungsmittlextraktion für die Analyse mittels GC-MS/MS (siehe 7.2.1.2), wurden Linearität, Präzision und Sensitivität nur für die mittels Folch-Extraktion extrahierten Proben durchgeführt. Alle statistischen Analysen wurden mittels der Statistiksoftware ValiData Version 3.02.48 durchgeführt. Die Methodenevaluierung erfolgte für alle Validierungsparameter im untersten Kalibrationsbereich von 0,5 bis 5 µg/kg Papier, mit Ausnahme von BPS bei Analyse mittels GC-MS/MS, wofür eine Validierung des mittleren Kalibrationsbereiches von 5 bis 50 µg/kg Papier erfolgte, da die Kalibrationspunkte des unteren Kalibrationsbereiches unter dem Detektionslimit für BPS lagen. Zusätzlich wurde die Linearität der Methode über alle 3 Kalibrationsbereiche von 0,5-500 µg/kg Papier, respektive von 5 bis 500 µg/kg Papier ermittelt.

7.2.2.1 Wiederfindung

Alle Wiederfindungsexperimente für beide Extraktionstechniken wurden durch Spiken der Proben vor der Extraktion durchgeführt. Eine zufriedenstellende Wiederfindung für alle Bisphenole wurde dabei mit beiden Methoden erzielt, wobei die hier angeführten, sowie in

weiterer Folge diskutierten Werte für die GC-MS/MS Analyse aus bereits angeführten Gründen sich auf mittels Folch-Extraktion extrahierte Proben beziehen.

Die Wiederfindungsraten der Bisphenole für die einzelnen Kalibrationspunkte liegen dabei in einem Bereich von 70-117 %, wobei kein Trend hinsichtlich einzelner Bisphenole festgestellt werden konnte. Auch in Bezug auf die beiden Methoden und die damit verbundene unterschiedliche Probenvorbereitung konnten keine Unterschiede festgestellt werden. So lagen die Wiederfindungen für BPA zwischen 70-116 % (GC) und 82-113 % (LC), für BPB zwischen 72-116 % (GC) und 71-109 % (LC), für BPE zwischen 70-115 % (GC) und 76-112 % (LC), für BPF zwischen 80-117 % (GC) und 74-115 % (LC), für BPAF zwischen 70-115 % (GC) und 79-106 % (LC) und für BPS zwischen 78-107 % (GC) und 80-111 % (LC). Die geringste Wiederfindung bezieht sich dabei jeweils auf den untersten Kalibrationspunkt, für alle anderen Kalibrationspunkte ließen sich keine Tendenzen ableiten.

7.2.2.2 Linearität

Die Evaluierung der Linearität erfolgte anhand von Aufstockungsexperimenten bei allen Konzentrationsstufen. Die Verifizierung der Linearität erfolgte für den jeweils untersten Kalibrationsbereich von 0,5-5 µg/kg Papier, mit Ausnahme von BPS bei Analyse mittels GC-MS/MS (5-50 µg/kg Papier), sowie für den gesamten Kalibrationsbereich (0,5-500 µg/kg bzw. 5-500 µg/kg Papier). Die Bestimmung Linearität wurde anhand einer Dreifachbestimmung jedes Konzentrationslevels durchgeführt, wobei alle Standards den internen Standard BPA-d₁₆ in einer Konzentration von 50 µg/kg Papier enthielten. Eine Methode wurde als linear angesehen, sofern der Regressionskoeffizient größer 0,99 war und die Standardabweichung der einzelnen Kalibrationspunkte unter 15% lag. Die einzelnen Kalibrationsbereiche, sowie die Linearitätskoeffizienten der einzelnen Kalibrationen sind in Tabelle 28 und Tabelle 29 angeführt. Für alle Bisphenole konnte für die Analyse beider Methoden eine ausreichende Linearität > 0,9921 über den gesamten Kalibrationsbereich erzielt werden, wobei die Linearität über den unteren Kalibrationsbereich aufgrund der geringeren Konzentrationsspanne erwartungs-gemäß etwas besser ist. So liegen die Linearitäten für den unteren Kalibrationsbereich zwischen 0,9965 – 1,00 (GC-MS/MS) und 0,9977 – 0,9994 (LC-MS/MS) im Vergleich zum gesamten Bereich von 0,9974 – 0,9996 (GC-MS/MS) und 0,9921 – 0,9991 (LC-MS/MS). Die geringste Linearität im untersten Kalibrationsbereich zeigte bei beiden Methoden BPB, die höchste BPAF. Über den gesamten Bereich war die Linearität von BPF (GC-MS/MS) und BPB (LC-MS/MS) am Geringsten und für BPS bei beiden Methoden am Besten.

Tabelle 28: Linearität der einzelnen Bisphenole (LC-MS/MS)

Analyt	Linearität unterer Bereich		Linearität gesamter Bereich	
	Konzentration ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	R ²	Konzentration ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	R ²
BPA	0,5 - 5	0,9992	0,5 – 500	0,9971
BPAF	0,5 - 5	0,9994	0,5 – 500	0,9923
BPB	0,5 - 5	0,9977	0,5 – 500	0,9921
BPE	0,5 - 5	0,9986	0,5 – 500	0,9977
BPF	0,5 - 5	0,9989	0,5 – 500	0,9965
BPS	0,5 - 5	0,9993	0,5 – 500	0,9991

Tabelle 29: Linearität der einzelnen Bisphenole (GC-MS/MS)

Analyt	Linearität unterer Bereich		Linearität gesamter Bereich	
	Konzentration ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	R ²	Konzentration ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	R ²
BPA	0,5 - 5	0,9991	0,5 – 500	0,9992
BPAF	0,5 - 5	1,0000	0,5 – 500	0,9992
BPB	0,5 - 5	0,9965	0,5 – 500	0,9980
BPE	0,5 - 5	0,9991	0,5 – 500	0,9995
BPF	0,5 - 5	0,9992	0,5 – 500	0,9974
BPS	5 - 50	0,9999	5 – 500	0,9996

Hinsichtlich eines Vergleiches beider Methoden zeigt sich eine geringfügig größere Linearität für die Analyse mittels GC-MS/MS, jedoch lässt sich aufgrund des geringen Linearitätsunterschiedes keine eindeutige Tendenz hinsichtlich einer lineareren Methode ableiten, da Abweichungen in solch geringen Bereichen auch auf das Handling während der Probenvorbereitung und -aufarbeitung zurückgeführt werden können.

7.2.2.3 Präzision

Für die Evaluierung der Präzision wurden die Wiederholbarkeit und die Reproduzierbarkeit anhand von inter- und intra-Tages Experimenten durchgeführt. Die Präzision wurde dafür in Form der relativen Standardabweichung in Prozent dargestellt (RSD %). Für die Wiederholbarkeit wurde eine gespikete Probe im jeweiligen unteren Kalibrationsbereich einer Dreifachbestimmung unterzogen. Für die Reproduzierbarkeit wurde eine Probe an drei unterschiedlichen Tagen einer Dreifachbestimmung unterzogen. Sowohl Wiederholbarkeit, als auch Reproduzierbarkeit zeigten für beide Methoden und für alle Bisphenole zufriedenstellende Ergebnisse. Die Wiederholbarkeit lag dabei kleiner 19,83 %, die Reproduzierbarkeit unter 19,54 % (siehe Tabelle 30 und Tabelle 31). Die größten Messunsicherheiten wurden dabei jeweils für die niedrigsten Konzentrationspunkte der Kalibration erhalten, wobei BPA sowohl bei Wiederholbarkeit, als auch Reproduzierbarkeit bei Analyse mittels GC-MS/MS und LC-MS/MS am untersten Kalibrationsniveau die größte

Messunsicherheit aufweist. BPAF hingegen lieferte für beide Parameter die präzisesten Werte. Die Werte bei allen anderen Kalibrationspunkten aller Bisphenole waren sowohl bezüglich Wiederholbarkeit als auch Reproduzierbarkeit $< 15\%$. Die größere Messunsicherheit bei den niedrigsten Konzentrationen ist darauf zurückzuführen, dass die Messpunkte in diesem Bereich nahe dem Detektionslimit und unter dem Quantifizierungslimit liegen (siehe Tabelle 32). Hinsichtlich eines Methodenvergleiches wurden mit beiden Methoden übereinstimmende Ergebnisse erzielt und es konnte kein Trend hinsichtlich einer präziseren Methode festgestellt werden.

Tabelle 30: Präzision der LC-MS/MS Messung

Analyt	Wiederholbarkeit		Reproduzierbarkeit	
	Konzentration ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	% RSD	Konzentration ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	% RSD
BPA	0,5 - 5	1,22-18,77	0,5 – 500	1,86-17,43
BPAF	0,5 - 5	1,98-9,12	0,5 – 500	3,01-10,03
BPB	0,5 - 5	2,25-15,03	0,5 – 500	2,54-14,44
BPE	0,5 - 5	2,87-11,89	0,5 – 500	2,98-13,32
BPF	0,5 - 5	1,46-10,01	0,5 – 500	1,67-12,36
BPS	0,5 - 5	1,9-12,44	0,5 – 500	2,03-10,54

Tabelle 31: Präzision der GC-MS/MS Messung

Analyt	Wiederholbarkeit		Reproduzierbarkeit	
	Konzentration ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	% RSD	Konzentration ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	% RSD
BPA	0,5 - 5	0,39-19,83	0,5 – 500	1,73-16,58
BPAF	0,5 - 5	2,33-7,19	0,5 – 500	2,41-9,88
BPB	0,5 - 5	2,54-10,62	0,5 – 500	3,06-11,53
BPE	0,5 - 5	0,26-14,31	0,5 – 500	2,85-14,68
BPF	0,5 - 5	1,58-8,91	0,5 – 500	1,22-12,04
BPS	5 - 50	3,07-10,15	5 – 500	2,98-9,76

7.2.2.4 Sensitivität

Die Sensitivität wurde durch die Bestimmung des Detektionslimits (LOD) und des Quantifizierungslimits (LOQ) durch die Analyse gespikter Proben im untersten Kalibrationsbereich ermittelt. Die Berechnung des LOD und LOQ erfolgte dabei mittels ValiData anhand der Kalibriermethode. Die ermittelten Werte der LOD's für die GC-MS/MS Methode liegen zwischen $0,23 - 2,7 \mu\text{g/kg}$, jene der LOQ's zwischen $0,78 - 9,1 \mu\text{g/kg}$ Papier (siehe Tabelle 32).

Tabelle 32: LOD und LOQ der Bisphenole bei Analyse mittels GC-MS/MS und LC-MS/MS

	BPA	BPAF	BPB	BPE	BPF	BPS
LOD Papier (GC) ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	0,32	0,23	0,35	0,35	0,33	2,70
LOD Papier (LC) ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	0,38	0,29	0,36	0,40	0,35	0,31
LOQ Papier (GC) ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	1,06	0,78	1,16	1,14	1,08	9,10
LOQ Papier (LC) ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	1,21	1,09	1,32	1,28	1,24	1,15

LOD's, als auch LOQ's aller Bisphenole, mit Ausnahme von BPS liegen jeweils im selben Konzentrationsbereich, mit den niedrigsten Werten von 0,23 $\mu\text{g/kg}$ (LOD) und 0,78 $\mu\text{g/kg}$ (LOQ) für BPAF. Die Werte für BPS sind hingegen, bedingt durch das höhere Konzentrationsniveau des untersten Kalibrationspunktes, eine Zehnerpotenz höher als jene der anderen Bisphenole.

Die ermittelten Werte der LOD's für die LC-MS/MS Methode liegen zwischen 0,29 – 0,40 $\mu\text{g/kg}$, jene der LOQ's zwischen 1,09 – 1,32 $\mu\text{g/kg}$ Papier. Da die LC-MS/MS ausreichend empfindlich ist, um auch BPS im untersten Kalibrationsbereich zu detektieren, liegen die LOD's und LOQ's im selben Konzentrationsbereich, mit den niedrigsten Werten von 0,29 $\mu\text{g/kg}$ (LOD) und 1,09 $\mu\text{g/kg}$ (LOQ), analog zur GC-MS/MS ebenfalls für BPAF.

Der Grund für die um eine Größenordnung höher liegenden Werte für BPS bei Analyse mittels GC-MS/MS dürfte dabei in der allgemeinen Schwierigkeit gaschromatographischer Analysen von Schwefelverbindungen liegen. So haben Schwefelverbindungen hohe absorptive, adsorptive, photooxidative und metallkatalysatorische Eigenschaften, die zu irreversibler Adsorption, Reaktionen untereinander, katalytischen Reaktionen, Umlagerungsreaktionen ausgelöst durch unterschiedliche Materialien und Reaktionen mit Substanzen die in Kontakt mit Schwefelverbindungen sind, führen können (Wardenicki 1998). Da keine anderen Daten bezüglich einer gaschromatographische Analyse von BPS nach Derivatisierung mittels BSTFA in der Literatur gefunden wurden, liegen allerdings keine Vergleichsdaten vor. Einzig anhand einer Pyrolyse-GC-MS Methode konnten LOD'S für BPS von 0,41 mg/kg bis 0,97 mg/kg für unterschiedliche Papierproben ermittelt werden (Beccera & Odermatt 2012). Um die Selektivität und Sensitivität der gaschromatographischen Analyse von BPS zu verbessern könnte die Anwendung spezifischer schwefelselektiver Detektoren (z.B.: Flammenphotometrischer Detektor – FPD) ein lohnenswerter Versuch sein.

Hinsichtlich der anderen Bisphenole konnten in der Literatur keine Vergleichswerte zur gaschromatographischen Analyse gefunden werden.

In Bezug auf die mittels LC-MS/MS ermittelten Daten sind die, für BPA und BPF erzielten Detektionslimits weitaus niedriger als Vergleichswerte aus der Literatur. So wurden in einer

kürzlich publizierten Studie über unterschiedliche Bisphenol-Analoga aus sortiertem Papier in Haushaltsmüll, um 2 Zehnerpotenzen höhere Werte ermittelt (Pivnenko et al. 2015). Pérez-Palacios ermittelte für BPA und BPF LOD's von 0,33 mg/kg bzw. 0,16 mg/kg Papier, allerdings mit einer LC-MS Methode (Pérez-Palacios et al. 2012). Wenn man berücksichtigt, dass MS/MS Methoden um den Faktor 10 empfindlicher sind, so liegen diese Werte ebenfalls 2 Zehnerpotenzen über den in dieser Arbeit ermittelten Werten.

Zusätzlich zur Ermittlung des LOD und LOQ pro kg Papier, wurde anhand der ermittelten Werte für LOD und LOQ pro kg Papier wieder LOD und LOQ pro kg Lebensmittel errechnet. Diese Berechnung erfolgte wieder unter der Annahme von 100 % Migration für ein Verpackungspapier mit einem fiktiven Flächengewicht von 400 g/m² unter den unter 7.1.2.4 definierten Voraussetzungen.

Die so ermittelten Werte für die LOD's umfassen einen Bereich von 0,008 – 0,06 µg/kg Lebensmittel(simulanz) für die GC-MS/MS Methode und 0,007 – 0,01 µg/kg für die LC-MS/MS Methode. Die Werte für die LOQ's liegen zwischen 0,02 – 0,2 µg/kg (GC-MS/MS) und einheitlich bei 0,03 µg/kg für alle Bisphenole bei LC-MS/MS (siehe Tabelle 33)

Tabelle 33: LOD und LOQ im Lebensmittel bei Analyse mittels GC-MS/MS und LC-MS/MS

	BPA	BPAF	BPB	BPE	BPF	BPS
LOD Papier (GC) (µg kg ⁻¹)	0,008	0,006	0,008	0,008	0,008	0,06
LOD Papier (LC) (µg kg ⁻¹)	0,009	0,007	0,009	0,01	0,008	0,007
LOQ Papier (GC) (µg kg ⁻¹)	0,03	0,02	0,03	0,03	0,03	0,2
LOQ Papier (LC) (µg kg ⁻¹)	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03

Die Detektions- und Quantifizierlimits der entwickelten Methoden liegen bei Berechnung der maximalen Migration für BPA weit unter dem Migrationslimit von 0,6 mg/kg. Hinsichtlich aller anderer Bisphenole gibt es keine gesetzlichen Migrationslimits. Geht man jedoch von einer ähnlichen Toxizität der Verbindungen und damit einhergehenden Migrationslimits aus, so würden diese ebenfalls deutlich unterschritten werden.

Vergleicht man die beiden Methoden miteinander, so zeigt sich eine übereinstimmende Sensitivität beider Methoden mit Ausnahme von BPS, welches bei Analyse mittels GC-MS/MS um den Faktor 10 unempfindlicher ist als bei Analyse mittels LC-MS/MS.

7.2.3 Konzentration von Bisphenolen in Papier und Kartonproben

Die validierten Methoden wurden anschließend herangezogen um die Konzentration der unterschiedlichen Bisphenol-Analoga in 6 unterschiedlichen Papier- und Kartonprodukten, einschließlich 3 Frischfaser- und 3 Recyclingprodukten, zu analysieren. Hinsichtlich der GC-MS/MS Analyse erfolgte eine Quantifizierung sowohl der Folch-Extrakte, als auch der Lösungsmittel-extrakte. Durch die Zugabe des internen Standards (BPA-d₁₆) erfolgte eine Kompensation der Matrixeffekte und Analytverluste während der Probenaufarbeitung. Die inhärente Korrektur niedriger Wiederfindungsraten bei der Lösungsmittel-extraktion anhand des internen Standards ermöglichte somit einen Vergleich zu den mittels Folch-Extraktion extrahierten Proben. Da für eine aussagekräftige analytische Methode, jedoch eine Wiederfindung zwischen 80-120 % erforderlich ist, was für die Lösungsmittel-extrakte nicht bei allen Proben gegeben war, erfolgte hinsichtlich des Vergleiches mit der LC-MS/MS Methode ausschließlich ein Vergleich der Folch-Extrakte der GC-MS/MS Messung mit den Ergebnissen der LC-MS/MS Messung. Mit beiden Methoden (GC-MS/MS und LC-MS/MS) konnten übereinstimmende Ergebnisse erzielt werden, wie es anhand der vergleichbaren Ergebnisse der Methodenevaluierung zu erwarten war.

Die Konzentrationen der Bisphenole in den analysierten Proben, mittels GC-MS/MS und LC-MS/MS ermittelt, sind in Tabelle 34 und Tabelle 35 zusammengefasst.

Tabelle 34: Konzentration der Bisphenole in den Papier- und Kartonproben (LC-MS/MS)

Probe	Konzentration $\mu\text{g kg}^{-1}$ (RSD%)					
	BPA	BPAF	BPB	BPE	BPF	BPS
1	38±0,2	< LOQ	< LOQ	< LOQ	76±6,9	0,19±0,02
2	3165±101	< LOQ	< LOQ	5,7±0,3	61±5,4	13±0,9
3	118±6	< LOQ	< LOQ	< LOQ	27±2,1	0,11±0,01
4	6056±227	< LOQ	< LOQ	6,3±0,5	80±7,4	65±3,7
5	9599±361	< LOQ	< LOQ	< LOQ	45±4,9	99±6,8
6	745±15	< LOQ	< LOQ	7,4±0,6	87±8,1	51±4,2

Tabelle 35: Konzentration der Bisphenole in den Papier- und Kartonproben (GC-MS/MS)

Probe	Konzentration $\mu\text{g kg}^{-1}$ (RSD%)					
	BPA	BPAF	BPB	BPE	BPF	BPS
1	40±2	< LOQ	< LOQ	< LOQ	83±8,4	< LOQ
2	3179±80	< LOQ	< LOQ	6,0±0,9	56±7,1	11±0,9
3	112±4	< LOQ	< LOQ	< LOQ	21±3,0	< LOQ
4	6021±194	< LOQ	< LOQ	6,1±0,6	83±5,2	59±1,2
5	9641±296	< LOQ	< LOQ	< LOQ	50±5,5	106±5,1
6	733±21	< LOQ	< LOQ	6,8±0,3	83±10	49±3,0

Tabelle 36: Konzentration der Bisphenole (Mittelwert beider Analysen)

Probe	Konzentration $\mu\text{g kg}^{-1}$ (RSD%)					
	BPA	BPAF	BPB	BPE	BPF	BPS
1	39±2	< LOQ	< LOQ	< LOQ	80±9,3	0,19±0,02
2	3172±94	< LOQ	< LOQ	5,9±0,9	59±6,9	12±0,9
3	115±5	< LOQ	< LOQ	< LOQ	24±2,6	0,11±0,01
4	6039±213	< LOQ	< LOQ	6,2±0,7	82±6,8	62±2,3
5	9620±334	< LOQ	< LOQ	< LOQ	48±3,6	103±10
6	739±17	< LOQ	< LOQ	7,1±0,5	85±8,4	50±4,8

Alle Proben enthielten einen quantifizierbaren Gehalt an BPA und BPF, wogegen BPAF und BPB in keiner der analysierten Proben nachgewiesen werden konnte. BPS wurde in allen Proben detektiert, wobei bei der GC-MS/MS Methode die Konzentration an BPS in 2 Frischfaserproben unter dem Quantifizierungslimit (Probe 1 und 3) lag. Bei der Analyse mittels LC-MS/MS konnte BPS aufgrund der niedrigeren Nachweis- und Bestimmungsgrenze in allen Proben quantifiziert werden. Bezüglich BPE, enthielten eine Frischfaser- und 2 Recyclingproben BPE (Probe 2, 4 und 6), wobei jedoch bezüglich der Konzentration keine Unterschiede zwischen Frischfaser- und Recyclingprobe festgestellt wurde. Generell wurden in Bezug auf BPA und BPS in Recyclingproben im Vergleich zu Frischfaserproben höhere Konzentrationen der beiden Analyten detektiert. Die Konzentration an BPA war in Recyclingproben um den Faktor 3 bis 250 höher als in Frischfaserproben. Die Konzentration an BPS um den Faktor 7,5 bis 900. Für BPE und BPF konnte diesbezüglich kein Trend festgestellt werden, so lagen die Konzentrationen dieser Analyten in Frischfaser- und Recyclingproben im selben Konzentrationsbereich vor.

Betrachtet man die Ergebnisse für BPA genauer, so fällt auf, dass die Konzentration von Probe 2, einer ungebleichten Zellstoffprobe, den Konzentrationsbereichen der Recyclingproben entspricht. Probe 2 ist im Vergleich zu den anderen Frischfaserproben auch durch einen deutlich höheren Gehalt an BPS charakterisiert, was sich auch darin zeigt, dass dies die einzige Frischfaserprobe ist, bei der BPS mittels GC-MS/MS nachgewiesen werden konnte. Möglicher Grund dafür könnte sein, dass diese Probe auf einer Seite mit einer Glanzbeschichtung laminiert ist und die höheren Konzentrationen dieser beiden Analyten aus dieser Laminierung stammen. Da die Konzentrationen an BPA in Recyclingproben und Probe 2 (Frischfaser) den validierten Konzentrationsbereich der analytischen Methoden überschritten, wurden die Proben um den Faktor 100 verdünnt, um eine adäquate Analyse von BPA zu ermöglichen. Die Konzentrationen an BPA in allen Proben reichte von 39 bis 9620 $\mu\text{g/kg}$ Papier, mit der höchsten Konzentration für eine beschichtete Recyclingprobe (Probe 5). Darüber hinaus wurden generell höhere Konzentrationen an BPA in Recyclingproben detektiert (Probe 4-6) als in Frischfaserproben (Probe 1-3). Diese Werte

sind dabei in Übereinstimmung mit den von Liao und Kannan ermittelten Werten, die ebenfalls erhöhte Konzentrationen an BPA in Recyclingproben im Vergleich zu Frischfaserproben detektierten (Liao & Kannan 2012). Die unerwartet hohe Konzentration an BPA in Frischfaserprobe 2 von 3172 µg/kg stammt wie bereits erwähnt vermutlich von einem dünnen Laminatfilm, der auf einer Seite des Produktes aufgebracht ist. Im Allgemeinen stimmen die Konzentrationen an BPA in den Proben mit Werten aus der Literatur, welche von 10 µg/kg bis 30 000 µg/kg Papier reichen, überein (Vinggard et al. 2000; Gehring et al. 2004; Ozaki et al. 2004; Mendum et al. 2011; Liao & Kannan 2012; Pérez-Palacios et al. 2012; Suciú et al. 2013; Goldinger et al. 2015; Pivnenko et al. 2015; Pivnenko et al. 2016). Werte über 1000 µg/kg wurden dabei für Thermodruckpapiere berichtet, die BPA als Farbreaktivatoren enthalten. Die Konzentrationen an BPA in Thermodruckpapieren liegen dabei in der Regel um eine Größenordnung über den Konzentrationen anderer Papierprodukte (Mendum et al. 2011; Liao et al. 2012a; Goldinger et al. 2015). Im Vergleich zu den Werten aus der Literatur liegen die ermittelten Konzentrationen an BPA in den analysierten Proben somit im unteren Bereich. Die eher geringen Konzentrationen an BPA in den Proben im Vergleich zu den Literaturwerten ist dabei ein Anzeichen für die Bestimmung dieser Proben als Endprodukte für sensible Produkte wie Lebensmittel- und Hygieneverpackungen.

Neben BPA, war BPF der einzige Analyt, der mit beiden Methoden in allen Proben quantifiziert werden konnte. Im Vergleich zu den Konzentrationen an BPF die in Abfallprodukten aus Papier detektiert wurden (Pivnenko et al. 2015), sind die Konzentrationen der hier analysierten Proben geringfügig niedriger mit Werten zwischen 24 und 85 µg/kg Papier.

BPS war in allen Proben, mit Konzentrationen von 0,11 bis 103 µg/kg, vorhanden, konnte jedoch in zwei Proben (Probe 1 und Probe 3) nur mittels LC-MS/MS quantifiziert werden, da die Konzentrationen unter dem LOQ der GC-MS/MS Methode lagen. Die Konzentrationen in Frischfaserproben waren dabei um den Faktor 7,5 bis 900 niedriger als die Konzentrationen in Recyclingproben. Da die Konzentration an BPS in Probe 2 um den Faktor 100 höher ist als in den beiden anderen Frischfaserproben wird vermutet, dass die höhere Konzentration an BPS analog zu BPA von der Beschichtung dieser Probe stammt, die auch als Grund für die höhere BPA Konzentration dieser Probe im Vergleich zu andern Frischfaserproben vermutet wird. Um diese Vermutung zu bestätigen, wäre jedoch eine getrennte Analyse von Papier und Beschichtungsmaterial nötig.

In der Literatur berichtete Konzentrationen von BPS sind im Durchschnitt höher als die Konzentrationen der analysierten Proben (Liao et al. 2012a; Goldinger et al. 2015; Pivnenko et al. 2015). Allerdings ist zu berücksichtigen, dass die meisten Daten in der Literatur zu BPS aus der Analyse von Thermodruckpapieren stammen, in denen BPS zunehmend als Ersatz

für BPA als Farbtentwickler zum Einsatz kommt. Konzentrationen an BPS die sich auf Nicht-Thermodruckpapiere beziehen, liegen hingegen im selben Konzentrationsbereich wie in den vorliegenden Proben (Liao et al. 2012; Goldinger et al. 2015).

BPE wurde in den hier analysierten Proben in einer Frischfaser und zwei Recyclingproben quantifiziert, wobei die Konzentrationen unter 7,1 µg/kg liegen. Literaturwerte über die Konzentration an BPE wurden nur in einer Arbeit entdeckt und liegen im Bereich von <LOD bis 600 µg/kg (Pivnenko et al. 2015). Aufgrund der großen Konzentrationsspanne und der geringen Anzahl an analysierten Proben in denen BPE nachgewiesen werden konnte, lässt sich jedoch kein aussagekräftiger Vergleich durchführen.

Alle anderen analysierten Bisphenol-Analoga (BPAF und BPB) lagen in Übereinstimmung mit der Arbeit von Pivnenko (Pivnenko et al. 2015) unter dem Detektionslimit beider Methoden. Daraus lässt sich schließen, dass BPAF und BPB zur Zeit noch keinen beziehungsweise wenn nur einen äußerst geringen Ersatz für BPA darstellen.

Studien bestätigen einen zunehmenden Ersatz von BPA durch Bisphenol-Analog, indem Proben die durch eine eher geringe Konzentration an BPA charakterisiert sind, durch vergleichsweise hohe Konzentrationen an Bisphenol-Analoga charakterisiert sind (Pivnenko et al. 2015; Pivnenko et al. 2016). Vor allem die Verwendung von BPS als Farbtentwickler in Thermodruckpapieren ist im Zunehmen (Liao et al. 2012a). Daraus lässt sich schließen, dass ein zunehmender Gehalt an BPS in Recyclingprodukten über den Recyclingprozess von Thermodruckpapieren, mit hohen Konzentrationen an BPS, eingebracht wird und in Zukunft wohl noch steigen wird.

Wie bereits erwähnt erfolgte die Quantifizierung der Bisphenole mittels GC-MS/MS sowohl für die Folch-Extrakte, als auch für die Lösungsmittel-extrakte. Mit beiden Methoden konnten übereinstimmende Ergebnisse erzielt werden, da eine inhärente Korrektur der Wiederfindungsverluste über den internen Standard erfolgte. Die Wiederfindungsraten der Lösungsmittel-extrakte waren dabei, in Abhängigkeit von der Probe, jedoch um das 4-fache geringer als jene der Folch-Extrakte. Die Wiederfindungsraten der Folch-Extrakte lagen zwischen 76% und 92%, mit einem Durchschnitt von 86%, wogegen die Wiederfindungsraten der Lösungsmittel-extrakte zwischen 21% und 81%, mit einem Durchschnitt von 47%, schwankten. Die niedrigste Wiederfindung wurde dabei für Probe 2 (Frischfaser) aus Zellulosepapier, gefolgt von den Recyclingpapieren erhalten. Dies korrespondiert auch mit den schlechten Wiederfindungsraten der Aufstockungsexperimente in Zellulosepapier. Aus diesen Ergebnissen lässt sich schließen, dass aus der Matrix Zellulose bei Extraktion mit Methanol Substanzen gelöst werden, die eine quantitative Derivatisierung von Bisphenolen verhindern. Basierend auf diesen Ergebnissen ist für eine

quantitative Analyse von Bisphenolen mittels GC-MS/MS eine Folch-Extraktion trotz eines fehleranfälligeren Mehraufwandes zu empfehlen. Die Lösungsmittelextraktion mit MeOH eignet sich in diesem Zusammenhang nur bedingt als Möglichkeit für die Abschätzung der zu erwartenden Konzentrationen anhand eines vor der Extraktion zugesetzten internen Standards, um davon ausgehend den Kalibrationsbereich für die quantitative Analyse zu bestimmen. Dies kann von Vorteil sein, da man bei der Analyse von Bisphenolen häufig mit stark variierenden Kalibrationsbereichen (ng/kg bis mg/kg), in Abhängigkeit der Proben und Analyten konfrontiert ist, wodurch eventuell Verdünnungen, und damit einhergehend die Anpassung der Konzentration des internen Standards, notwendig sind.

7.2.4 Berechnung der Migration in Lebensmittel(simulanzen)

Ausgehend von der ermittelten Konzentration der Bisphenole in den Papierproben erfolgte die Berechnung der Konzentration in Lebensmittel und Lebensmittelsimulanzen unter der Annahme von 100% Migration. Die Annahme von 100% Migration soll dabei wieder das „worst case“ Szenario simulieren. Ausgehend vom Flächengewicht der einzelnen Proben und der allgemein gültigen Definition, die besagt dass 1 kg Lebensmittel in direktem Kontakt mit 6 dm² Verpackungsmaterial steht, wurde die maximale Migration aller quantitativ bestimmten Bisphenole berechnet. Es ist jedoch zu berücksichtigen, dass dies eine vereinfachte Abschätzung ist, da die tatsächliche Migration von Kontaminanten aus Papier weit unter 100% liegt (Aurela et al. 1999; Summerfield & Cooper 2001; Aurela et al. 2001; Vasileios et al. 2002; Anderson & Castle 2003; Jickells et al. 2005; Jung et al. 2010; Fiselier et al. 2010; Suci et al. 2013).

Die berechneten Konzentrationen der maximalen Migration beider Methoden sind in Tabelle 37 und Tabelle 38 zusammengefasst. Die Werte der Berechnung des „worst case“ Szenarios liegen dabei zwischen 0,002 und 104 µg/kg Lebensmittel.

Tabelle 37: Berechnung der maximalen Migration (LC-MS/MS)

Probe	Konzentration µg kg ⁻¹ (RSD%)					
	BPA	BPAF	BPB	BPE	BPF	BPS
1	0,55±0,003	< LOQ	< LOQ	< LOQ	1,1±0,1	0,003±0,0003
2	57±1,8	< LOQ	< LOQ	0,10±0,01	1,1±0,1	0,23±0,02
3	1,6±0,08	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0,37±0,03	0,002±0,0002
4	49±1,8	< LOQ	< LOQ	0,05±0,004	0,65±0,06	0,53±0,03
5	104±4	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0,49±0,05	1,1±0,07
6	4,5±0,09	< LOQ	< LOQ	0,04±0,004	0,52±0,05	0,31 ±0,03

Tabelle 38: Berechnung der maximalen Migration (LC-MS/MS)

Probe	Konzentration $\mu\text{g kg}^{-1}$ (RSD%)					
	BPA	BPAF	BPB	BPE	BPF	BPS
1	0,58±0,03	< LOQ	< LOQ	< LOQ	1,2±0,1	< LOQ
2	57±1,5	< LOQ	< LOQ	0,11±0,02	1,0±0,1	0,20±0,02
3	1,6±0,06	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0,29±0,08	< LOQ
4	49±1,6	< LOQ	< LOQ	0,05±0,005	0,67±0,04	0,48±0,01
5	104±3	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0,54±0,07	1,1±0,06
6	4,4±0,1	< LOQ	< LOQ	0,04±0,002	0,50±0,1	0,29±0,02

Tabelle 39: Berechnung der maximalen Migration (Mittelwert beider Analysen)

Probe	Konzentration $\mu\text{g kg}^{-1}$ (RSD%)					
	BPA	BPAF	BPB	BPE	BPF	BPS
1	0,57±0,04	< LOQ	< LOQ	< LOQ	1,2±0,2	0,003±0,0003
2	57±1,8	< LOQ	< LOQ	0,11±0,01	1,1±0,2	0,22±0,03
3	1,6±0,08	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0,33±0,05	0,002±0,0002
4	49±1,8	< LOQ	< LOQ	0,05±0,005	0,66±0,06	0,51±0,02
5	104±4	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0,52±0,05	1,1±0,07
6	4,5±0,2	< LOQ	< LOQ	0,04±0,004	0,51±0,08	0,30±0,02

Die berechneten Konzentrationen für die maximale Migration zeigen dabei wieder deutlich den Einfluss des Flächengewichtes auf die Migration. Je schwerer das Papier ist, desto höher ist die Konzentration der Bisphenole in einem kg Lebensmittel oder Lebensmittelsimulanz auf Basis der gleichen Ausgangskonzentration pro kg Papier. Aufgrund dieses Zusammenhangs zwischen Flächengewicht und Analytkonzentration weisen Proben mit der höchsten Konzentration des jeweiligen Analyten pro kg Papier nicht zwingend die höchste Konzentration bei 100% Migration auf. Dieses Phänomen lässt sich anhand eines Vergleiches von Probe 2 und Probe 4 anhand von BPA veranschaulichen. Für den Vergleich wurden dazu die Mittelwerte beider Analysen herangezogen. Die beiden Proben weisen ein Flächengewicht von 300 g/m² (Probe 2) und 135 g/m² (Probe 4) auf. Die Konzentration von BPA in Probe 4 ist dabei nahezu doppelt so hoch wie jene in Probe 2, 6039 $\mu\text{g/kg}$ im Vergleich zu 3172 $\mu\text{g/kg}$. Die berechnete Konzentration bei 100% Migration ist hingegen in Probe 2 mit 57 $\mu\text{g/kg}$ Lebensmittel(simulanz) im Vergleich zu 49 $\mu\text{g/kg}$ (Probe 4) höher. Dies trifft auch auf den Vergleich von Probe 3 zu Probe 6 zu, wobei die Konzentration an BPA in Papierprobe 6 sogar um den Faktor 6,5 höher ist als jene von Probe 3.

Die berechneten Migrationskonzentrationen von BPA lagen das 1000-fache bis 6-fache unter dem SML von BPA von 0,6 mg/kg. Neben BPA ist BPS dabei das einzige Bisphenol für das Richtlinien bezüglich der spezifischen Migration festgelegt sind. Bezieht man die berechnete

Migration von BPS in den Proben auf das SML von BPS von 0,05 mg/kg, welches per Definition jedoch ausschließlich für Lebensmittelkontaktmaterialien aus Kunststoff anzuwenden ist (European Commission 2011), so unterschreiten Recyclingproben dieses Limit um das 45 bis 170-fache. Frischfaserproben liegen sogar bis um den Faktor 25 000 unter diesem Limit. Auf Basis dieser Berechnungen können die analysierten Proben in Bezug auf die Migration von BPA und BPS als sicher erachtet werden. Für alle anderen Bisphenole existieren keine spezifischen Migrationslimits, weshalb diesbezüglich keine Aussage getroffen werden kann. Bezieht man die Migrationskonzentrationen der anderen Bisphenole jedoch auf das SML von BPA, so wird dieser Wert für alle anderen Bisphenole um den Faktor 40 bis 1250 unterschritten. Auch das deutlich niedrigere SML von BPS wird von allen andern Bisphenolen unterschritten.

Um die effektiv auftretende Migration zu bestimmen, ist die Durchführung von Migrationstests unter Verwendung von geeigneten Lebensmittelsimulanzien unter genau definierten Bedingungen jedoch unerlässlich. Die Migration von Substanzen aus Papier in trockene Lebensmittel wird dabei anhand von der Migration in Tenax[®] getestet, da sich Tenax[®] als das am besten geeignetste Simulanz für trockene Lebensmittel herausgestellt hat (Aurela et al. 2001; Summerfield & Cooper 2001; Triantafyllou et al. 2007; Zülch & Piringer 2010). Die tatsächliche Migration hängt dabei neben dem Flächengewicht stark von der Struktur des Papiers, sowie der Lagerdauer und der Lagertemperatur ab (Triantafyllou et al. 2007; Zülch & Piringer 2010). Bei Migration in Lebensmittel haben darüberhinaus die Eigenschaften des Lebensmittels einen Einfluss auf die Migration.

Weiterführend wurde auf Basis der berechneten maximalen Migration der Einfluss auf die Aufnahme von BPA über die Nahrungskette berechnet. Dies erfolgte ausschließlich für BPA, da BPA das einzige Bisphenol ist, für das eine maximale tägliche Aufnahme festgelegt wurde. Auf Basis der von der Europäischen Kommission festgelegten Annahme, dass eine Person mit einem Körpergewicht von 60 kg durchschnittlich 1 kg Lebensmittel pro Tag zu sich nimmt, wurde die maximale Aufnahmemenge an BPA berechnet und in Verhältnis zum t-TDI von 4 µg/kg/Körpergewicht gestellt. Diesbezüglich wird von der Konsumation von 1 kg des selben Lebensmittels, verpackt in der jeweiligen relevanten Verpackung ausgegangen. Bezogen auf den t-TDI von µg/kg Körpergewicht ergibt sich somit eine maximal erlaubte Aufnahme von 240 µg/kg BPA.

Die berechneten Werte zeigten somit, dass bei Verzehr von 1 kg Lebensmittel, verpackt in den analysierten Proben, es bei keiner der Proben zu einer Überschreitung des t-TDI kommen würde (siehe Tab. Tabelle 39). Selbst Probe 5, die bei einer Migrations-

konzentration von 104 µg/kg unterschreitet die berechnete maximale Aufnahme mit 1,7 µg/kg/Körpergewicht das erlaubte Limit um das 2,3-fache. Darüberhinaus sind diese Werte zusätzlich zu relativieren, da eine 100%ige Migration ein äußerst unwahrscheinliches Szenario ist. So haben Studien gezeigt, dass die tatsächliche Migration von BPA in Salz, Zucker, und das für trockene Lebensmittel relevante Lebensmittelsimulanz Tenax® unter 1 % liegt (Suciu et al. 2013). Auch ist die tägliche Nahrungsmittelaufnahme weitaus diverser, als 1 kg ein und desselben Nahrungsmittels, wobei ein Gutteil der aufgenommenen Nahrungsmittel nicht in Verpackungsmaterialien aus Papier verpackt ist. Zusätzlich handelt es sich bei jenen Proben mit den höchsten Konzentrationen um Recyclingproben, von denen auszugehen ist, dass sie nicht für den direkten Kontakt mit Nahrungsmitteln angedacht sind.

7.2.5 Zusammenfassung

Die Ergebnisse zeigen die Anwendbarkeit beider Methoden, in Bezug auf die Analyse von unterschiedlichen Bisphenolen in Papier- und Kartonprodukten aus Recycling- und Frischfasermaterial. Die Methodvalidierung zeigte eine gute Linearität und Präzision, sowie korrespondierende LOD's und LOQ's aller Bisphenole mit Ausnahme von BPS, welches eine um eine Größenordnung schlechtere Empfindlichkeit bei Analyse mittels GC-MS/MS zeigt. Der Grund dafür liegt in der chemischen Struktur von BPS, welches durch Schwefel als Brückenatom gaschromatographisch schlechter zugänglich ist. Da, wie die Analysen gezeigt haben, die Konzentrationen an BPS in Frischfaserproben, zum Teil unter dem LOQ der GC-MS/MS Messung liegen, ist GC-MS/MS nur bedingt zur Analyse von BPS geeignet. Sowohl für die LC-MS/MS Analyse, als auch die GC-MS/MS Analyse bei vorangestellter Folch-Extraktion wurden zufriedenstellende Wiederfindungsraten aller Bisphenole > 70 % erzielt. Eine Lösungsmittlextraktion der Proben mit MeOH und anschließende GC-MS/MS Analyse erwies sich hingegen aufgrund niedriger Wiederfindungen durch Matrixeffekte als nicht geeignet für eine quantitative Bestimmung der Bisphenole. Die LC-MS/MS Analyse war hingegen in Abhängigkeit der Probe von starken Matrixeffekten charakterisiert, was eine probenabhängige Verwendung von BPA-d₁₆ und ¹³C₁₂-BPA als internen Standard erforderte. Vergleicht man die beiden Analysemethoden miteinander, so ist GC-MS/MS aufgrund der notwendigen Folch-Extraktion und Derivatisierung durch einen wesentlich höheren Zeit- und Arbeitsaufwand charakterisiert als LC-MS/MS. Aufgrund des höheren Aufwandes und der damit verbundenen höheren Anzahl an Probenvorbereitungsschritten ist GC-MS/MS auch fehleranfälliger als LC-MS/MS. Da anhand beider Methoden, sowohl hinsichtlich Methodenevaluierung als auch Quantifizierung der einzelnen Bisphenole in Realproben

übereinstimmende Ergebnisse erzielt wurden, liegt die Wahl der jeweiligen Analyseverfahren somit am Anwender und der vorhandenen Geräteverfügbarkeit.

In Bezug auf das Vorkommen der Bisphenole in den Proben zeigten die Analysen, dass BPA das dominierende Bisphenol ist, was die Eigenschaft von BPA als allgegenwärtiger Kontaminant unterstreicht. Neben BPA wurden, in deutlich geringeren Konzentrationen noch BPE, BPF und BPS in den Proben detektiert, was auf eine beginnende Substitution von BPA durch Bisphenol-Analoga in industriellen Prozessen hindeutet.

Die Berechnung der maximalen Migration der Bisphenole zeigte, dass die Konzentrationen von BPA und BPS unter den spezifischen Migrationslimits der jeweiligen Substanz liegen. In Bezug auf die anderen analysierten Bisphenole kann diesbezüglich keine Aussage getroffen werden, da keine Migrationslimits für diese Substanzen existieren. Bezieht man die berechnete Maximalkonzentration auf die Grenzwerte von BPA und BPS, so liegen auch die Migrationskonzentrationen der anderen Bisphenole deutlich unter diesen Werten. In Anbetracht der Tatsache, dass die tatsächliche Migration weit unter 100% liegt, lässt sich vermuten, dass die analysierten Proben bezogen auf die Konzentration aller Bisphenole hinsichtlich Migration als sicher erachtet werden können.

7.3 Analyse von aromatischen Mineralölkohlenwasserstoffen

Um nähere Informationen über die Zusammensetzung der aromatischen Mineralölfraction zu erhalten erwiesen sich mehrdimensionale gaschromatographische Methoden mit massenselektiver Detektion als die Technik der Wahl, um ausreichend selektive und sensitive Analysen durchführen zu können. Mit Hilfe von comprehensive GCxGC-MS, sowie zusätzlich eindimensionaler GC-MS gelang es einzelne Verbindungen und Substanzklassen der aromatischen Fraction zu identifizieren.

Als Ausgangsmaterial für die Analysen dienten unterschiedliche Papier- und Kartonproben, die zur Herstellung von Verpackungskarton dienen sollten, sowie Zeitungspapiere (Tageszeitung, Hochglanzmagazin), die als Ausgangsmaterial für Recyclingware angedacht waren. Nach erfolgter Auftrennung der beiden Mineralölfractionen (MOSH und MOAH) wurde in weiterer Folge ausschließlich die MOAH-Fraction analysiert. Um ein Wissen über die Zusammensetzung der aromatischen Fraction zu erlangen und in Zukunft eine toxikologische Risikobewertung zu ermöglichen, lag das Hauptaugenmerk demnach auf der Identifikation aromatischer Verbindungen.

7.3.1 Gaschromatographische Analyse mittels GCxGC-MS

Die routinemäßige Analyse von Mineralölverbindungen in Verpackungsmaterialien erfolgt anhand der Bestimmung der Summenkonzentration an MOSH und MOAH. Für eine toxikologische Risikobewertung ist die Bestimmung der Summenkonzentration aufgrund fehlenden Wissens über die Zusammensetzung der Fractionen jedoch nicht zufriedenstellend.

Für die Identifikation einzelner Substanzen in MOSH und MOAH ist die mehrdimensionale gaschromatographische Analyse ein starkes Tool. Auf GCxGC basierende Methoden haben den Vorteil, die chromatographische Auflösung und Empfindlichkeit deutlich zu verbessern. Die zweidimensionale Auftrennung der Verbindungen auf Säulen unterschiedlicher Polarität zeigt dabei die volle Komplexität der aromatischen Fraction, da sogar bei der GCxGC Technik chromatographisch nicht aufgelöste Bereiche auftreten. Das trifft vor allem bei Proben mit hohen Mineralölkonzentrationen wie Recycling- und Zeitungspapierproben zu. Nicht aufgelöste Bereiche zeigen sich durch verschwommene, durchgängig dunkler gefärbte Bereiche im graphischen Plot des Chromatogramms, wogegen einzelne Peaks als helle Spots hervortreten. So überlagern sich bei eindimensionaler Analyse alle Verbindungen die in Abbildung 48 (2D-Plot eines GCxGC-Chromatogramms) in vertikaler Ebene hintereinander liegen. Diese Überlagerungen führen bei eindimensionaler Analyse zur Bildung der

sogenannten Mineralölberge. Dies lässt sich noch deutlicher in Form eines 3D-Plots darstellen (siehe Abbildung 49)

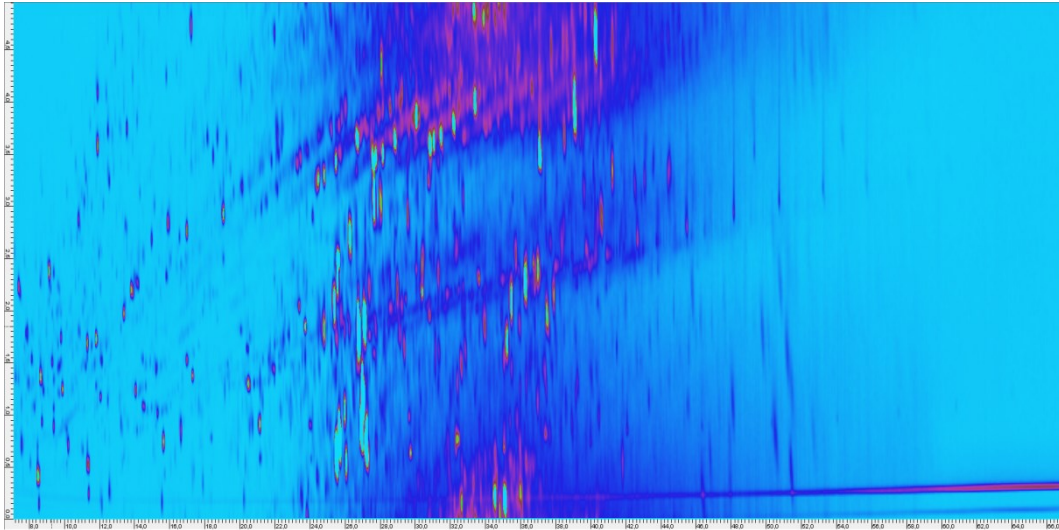


Abbildung 48: 2D-Darstellung eines Chromatogramms einer GCxGC-Analyse

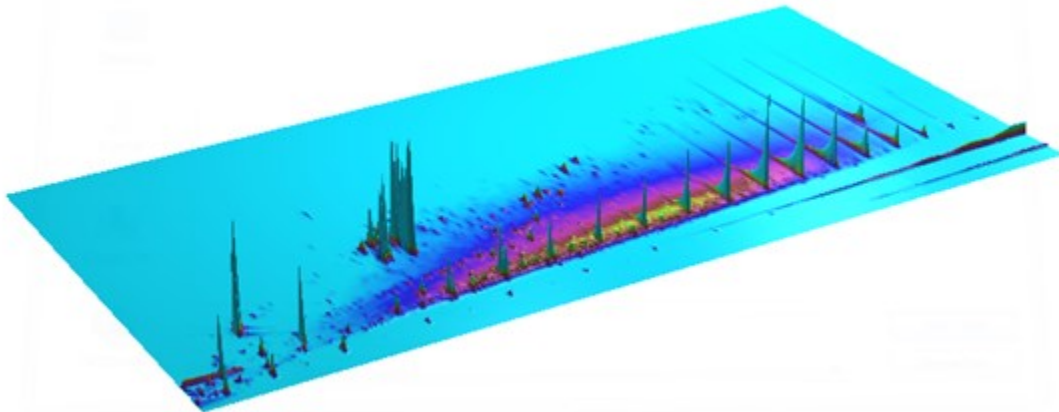


Abbildung 49: 3D-Plot eines GCxGC-Chromatogramms

7.3.1.1 Optimierung der Säulenkombination

Um eine optimale Auftrennung der Analyten zu erzielen, wurden 3 unterschiedliche Säulenkombinationen getestet. Dazu wurde jeweils ein Standardmix sowie die Proben mit den jeweiligen Säulenkombinationen vermessen. Säulenkombination 1 bestand aus einer unpolaren ZB-5 Säule (5 % Phenyl-methylpolysiloxan) in erster Dimension und einer mittelpolaren BPX 50 Säule (50 % Diphenyl-methylpolysiloxan) in 2. Dimension. Diese Kombination war jedoch durch eine bedingt optimale Auftrennung charakterisiert. Um den Polaritätsunterschied zwischen den beiden Dimensionen zu erhöhen, wurde in 2. Dimension die BPX 50 Säule durch eine SLB-IL60 (ionic liquid) Säule ersetzt. Diese ist durch die selben

Analyt-Phaseninteraktionen charakterisiert wie eine polare Polyethylenglykol Säule, weist jedoch eine wesentlich höhere Temperaturstabilität auf, wodurch sich diese Säule auch für den Einsatz in GCxGC Systemen, in denen sich beide Säulen in einem GC-Ofen befinden, eignet. Diese Kombination zeigte hinsichtlich einer orthogonalen Auftrennung aufgrund des Polaritätsunterschieds ein sehr gutes Auftrennungsvermögen der einzelnen Verbindungen. Allerdings weist die SLB-IL60 Säule eine wesentlich geringere Temperaturstabilität auf als deklariert, was die durchschnittlichen Lebensdauer der Säule auf einige wenige Messungen beschränkte, wodurch diese Kombination aus technischen Gründen nicht anwendbar war. In weiterer Folge wurde die Säule in 2. Dimension auf eine BPX50 Säule rückgebaut, die Säule in und erster Dimension jedoch gegen eine ZB-HT1 Säule (100% Dimethylpolysiloxan, hochtemperaturstabil) getauscht. Aufgrund des unpolaren Charakters der ZB-HT1 gegenüber der ZB-5 wurde die orthogonale Auftrennung im Vergleich zur Säulenkombination 1 erweitert. Diese Säulenkombination erwies sich hinsichtlich Stabilität und Auftrennungsvermögen als die beste Kombination und wurde für alle weiterführenden Messungen der Proben verwendet. Nachfolgende Grafiken derselben Probe, die die Verbindungen des internen Standardmix der MOAH Fraktion enthält, veranschaulichen das unterschiedliche Auftrennungsvermögen der einzelnen Säulenkombinationen.

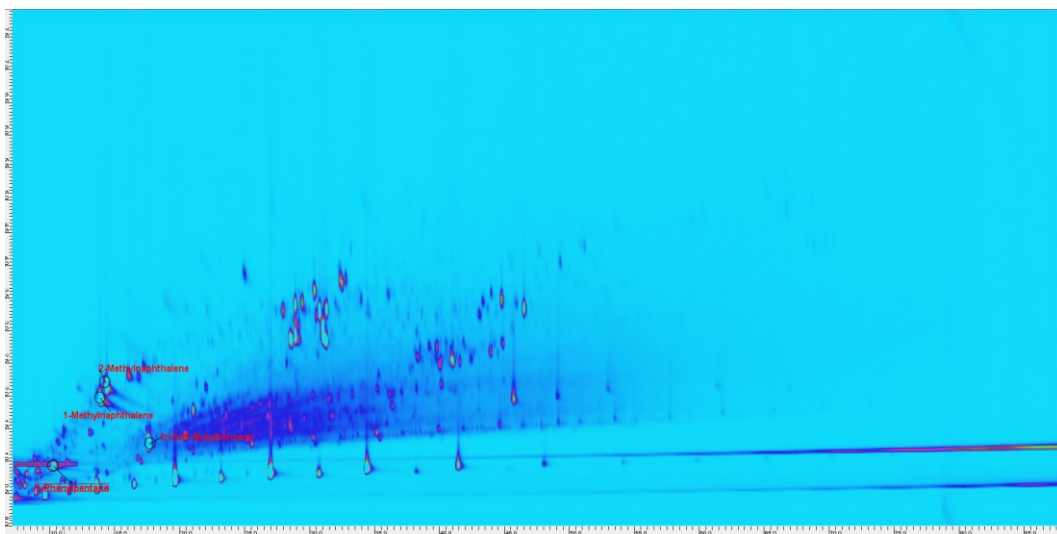


Abbildung 50: Säulenkombination 1 (ZB5 + BPX50)

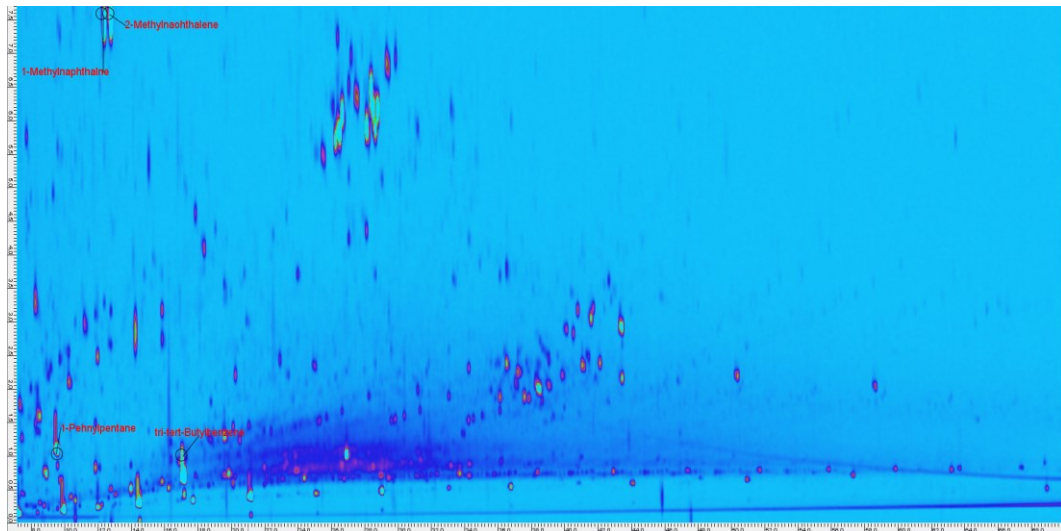


Abbildung 51: Säulenkombination 2 (ZB5 + SLB-IL60)

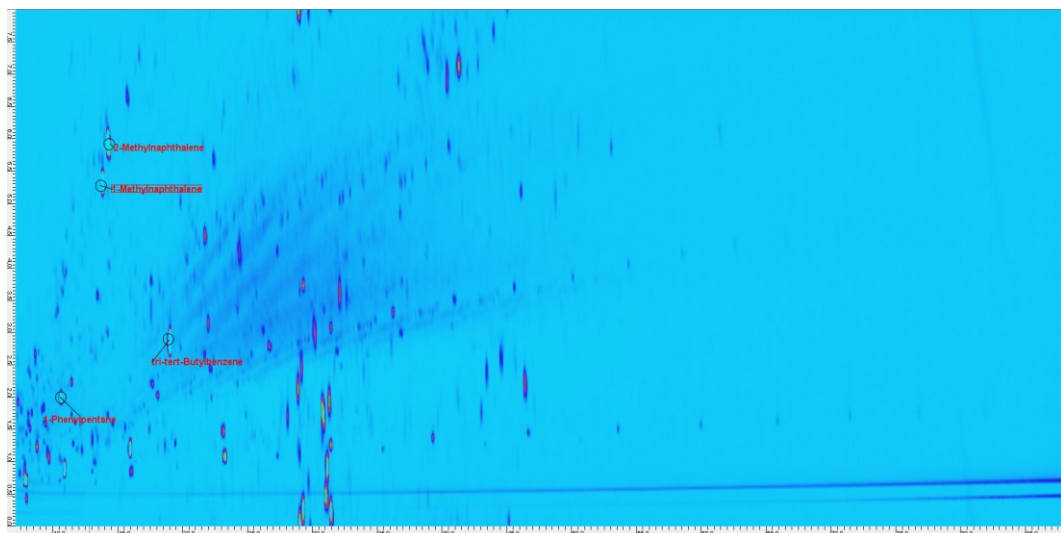


Abbildung 52: Säulenkombination 3 (ZB-HT1 + BPX50)

7.3.1.2 Optimierung der Modulationsfrequenz und Temperaturrampe

Nachfolgend wurde die Modulationsfrequenz, sowie die Temperaturrampe der Messung für die ausgewählte Säulenkombination optimiert. Abbildung 53 bis Abbildung 55 zeigen die Auftrennung bei einer Modulationsfrequenz von 8 Sekunden und einer Temperaturrampe von $2^{\circ}/\text{min}$ (8 sec_2 $^{\circ}/\text{min}$), sowie bei 8 sec_3 $^{\circ}/\text{min}$ und 5 sec_3 $^{\circ}/\text{min}$. Die beste Auftrennung konnte dabei bei einer Modulationsfrequenz von 5 Sekunden und einer Temperaturrampe von $3^{\circ}/\text{min}$ erreicht werden. Alle weiterführenden Messungen wurden mit dieser Kombination durchgeführt.

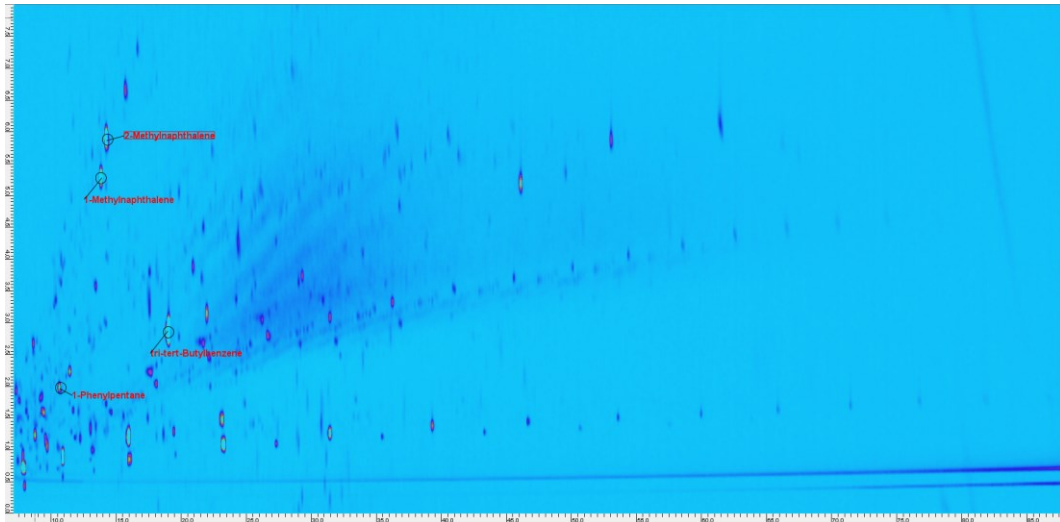


Abbildung 53: Säulenkombination 3, Modulation 8 sec_2°/min

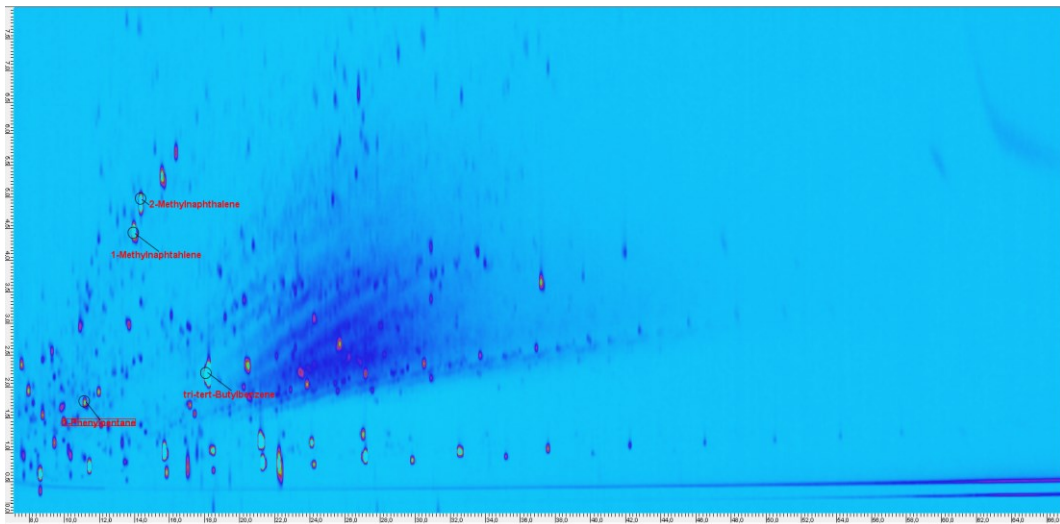


Abbildung 54: Säulenkombination 3, Modulation 8 sec_3°/min

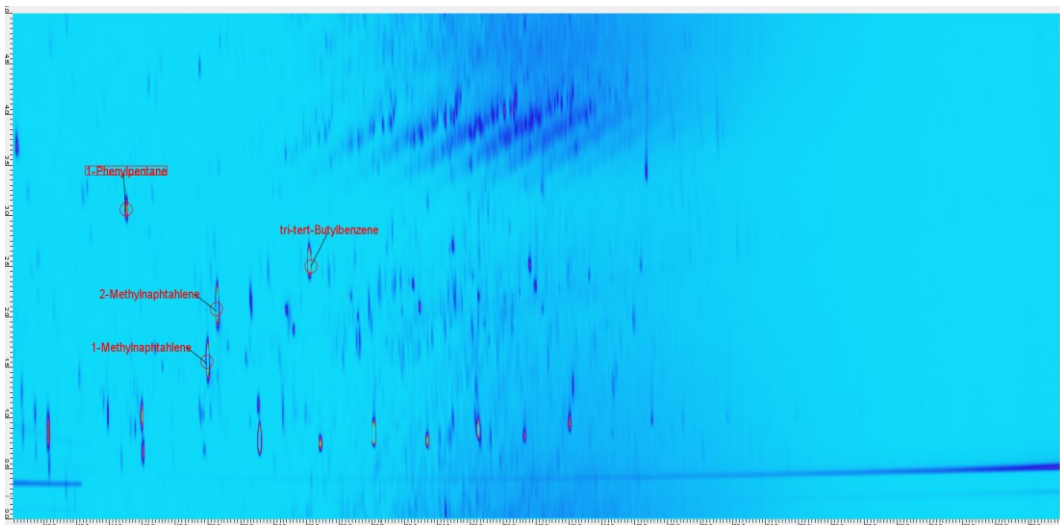


Abbildung 55: Säulenkombination 3, Modulation 5 sec_3°/min

7.3.1.3 Analyse der Proben

Die Analyse der Proben bezog sich auf 6 unterschiedliche Papier- und Kartonproben (3 Frischfaserproben, 3 Recyclingproben), die als Ausgangsmaterial zur Herstellung von Verpackungskarton dienen sollten, sowie einem Hochglanzmagazin und einer Tageszeitung. Zur Analyse wurden die Proben extrahiert und anhand des Protokolls des Kantonalen Labors Zürich in Kombination mit dem BfR (BfR 2012b) MOSH und MOAH getrennt. Die Extrakte der MOAH-Fraktion wurden entsprechend konzentriert und mittels GCxGC-MS analysiert.

Um zu garantieren, dass ausschließlich der MOAH zugehörige Substanzen in der Fraktion vorliegen ist eine exakte Fraktionierung von MOSH und MOAH von großer Bedeutung. Die flüssigchromatographische Trennung bei der Off-line Methode zur Trennung von MOSH und MOAH erfolgt dabei in der Regel durch die Sammlung einer Zwischenfraktion, zwischen der Elution von MOSH und MOAH. Erfolgt hingegen eine Trennung der beiden Fraktionen ohne die Sammlung einer Zwischenfraktion, ist die MOAH-Fraktion durch einen wesentlich höheren Anteil nicht aromatischer Substanzen charakterisiert (siehe Abbildung 56 und Abbildung 57).

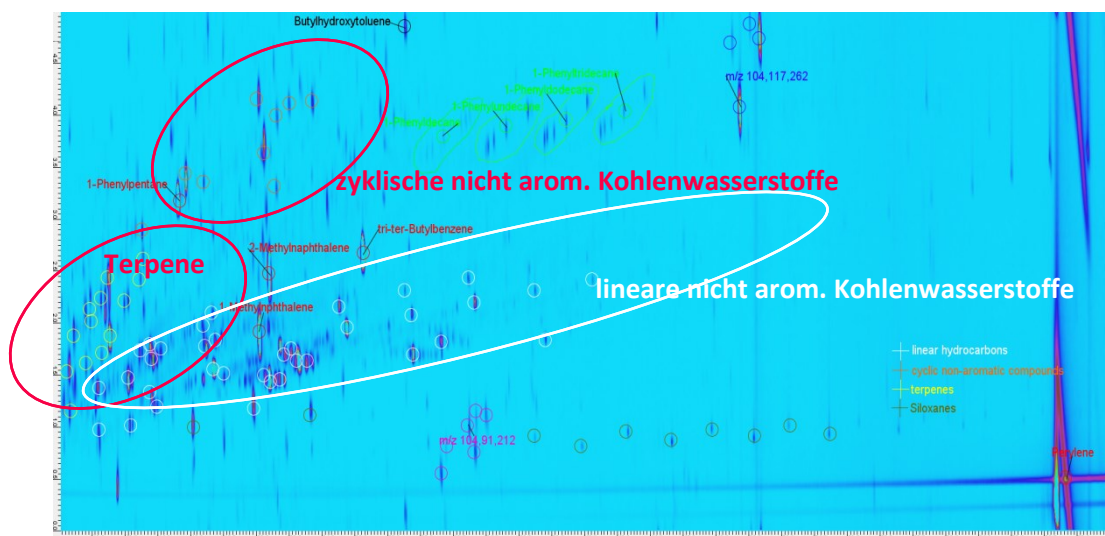


Abbildung 56: MOAH-Fraktion ohne Zwischenfraktion

Erfolgt hingegen eine Trennung mit Zwischenfraktion, so ist der Anteil an nicht aromatischen Verbindungen (gesättigte lineare und zyklische Kohlenwasserstoffe, Terpene) wesentlich geringer. Da die Probenvorbereitung für beide Proben identisch war, zeigen sich deutlich der Einfluss und die Wichtigkeit der Trennung von MOSH und MOAH. Diese stellt dabei einen der wichtigsten Schritte bei der Analyse von Mineralölkohlenwasserstoffen dar. Vor allem gesättigte Kohlenwasserstoffe, die Bestandteil der MOSH sein sollten, können bei Bestimmung der Gesamtsumme an MOSH und MOAH durch inkorrekte Fraktionierung zu falsch positiven Werten führen.

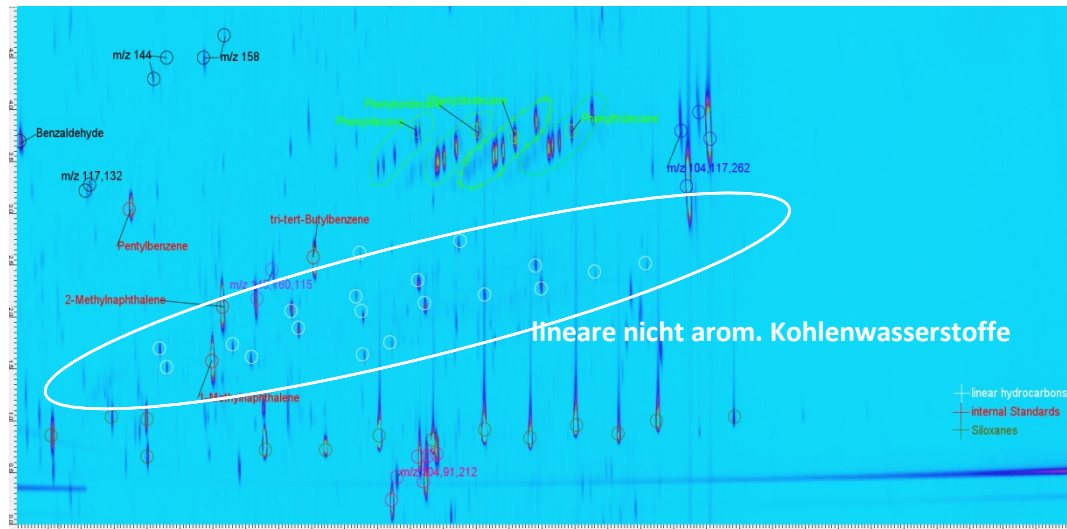


Abbildung 57: MOAH-Fraktion mit Zwischenfraktion

Anhand der mehrdimensionalen GCxGC-MS Analyse konnte gezeigt werden, dass alle Proben eine Verunreinigung mit nicht der MOAH zugehörigen Verbindungen aufwiesen. Ein Vergleich der analysierten Proben zeigt, dass in allen Proben aromatische Mineralölverbindungen nachgewiesen wurden, wobei Recyclingproben einen wesentlich höheren Anteil an Mineralölverbindungen aufweisen. In Frischfaserproben ist der Anteil der Mineralölverbindungen geringer, jedoch noch deutlich nachweisbar, was die Frage nach der Quelle der Mineralölverbindungen bei Frischfaserprodukten aufwirft. Diese sollten sofern sie nicht bedruckt und/oder verarbeitet sind (geklebt, geleimt, laminiert,...) frei von Mineralölverbindungen sein. Mögliche Kontaminationsquellen könnten Schmiermittel von Produktionsmaschinen sowie bei der Papiererzeugung eingesetzte Verarbeitungshilfsmittel sein (EFSA 2012). Weitere mögliche Kontaminationsquellen könnten bei der Lagerung, sowie durch Migration aus der Umgebung entstehen (Biedermann et al. 2011; Barp et al. 2015a).

Ein erster Vergleich der Proben zeigt dabei, dass wie bereits erwähnt, Recyclingproben, sowie Tageszeitungen durch einen wesentlich höheren Anteil an Mineralölverbindungen charakterisiert sind als in Frischfaserproben. Zur Identifikation einzelner Verbindungen diente dabei ein Standardmix bestehend aus den internen Standards der MOSH/MOAH Trennung (Biedermann&Grob 2012; Lorenzini et al. 2013), alkylierten Aromaten und polyaromatischen Kohlenwasserstoffen (PAH's) als nicht alkylierte Markersubstanzen. Die vorliegenden alkylierten Aromaten waren dabei in Anhängigkeit des verwendeten Standardmix (Standardmix 1-3) vom Fortschritt der Arbeit abhängig (siehe 6.3.2.2).

Dieser Vergleich zeigt, dass in Recyclingproben und Tageszeitungsproben generell eine wesentlich höhere Anzahl an Verbindungen vorliegt als in Frischfaserproben und

Druckverfahren ist dieser Unterschied jedoch wenig überraschend, da Hochglanzmagazine im Gegensatz zu Tageszeitungen überwiegend mittels Digitaldruck unter Verwendung UV-härtenden Farben erzeugt werden. Diese sind durch einen wesentlich geringeren Mineralölgehalt charakterisiert bzw. häufig auch auf mineralölfreier Basis. Daraus lässt sich ableiten, dass ein Großteil der Mineralölver-bindungen in Recyclingprodukten aus der Aufbereitung von Tageszeitungen und anderen Papierprodukten aus dem Off-set Druck stammen. Somit können Tageszeitungen als Quelle für die Mineralölkontamination herangezogen werden.

7.3.2 Identifikation von Phenylalkanen

Hinsichtlich der Analyse von Phenylalkanen erfolgte eine Identifizierung dieser Substanzgruppe mittels GCxGC-MS. Anschließend wurde eine quantitative Bestimmung der Phenylalkane mittels GC-MS durchgeführt.

7.3.2.1 Identifikation von Phenylalkanen mittels GCxGC-MS

Lineare und verzweigte Phenylalkane konnten als die dominierende, in allen Proben vorkommende, aromatische Substanzgruppe identifiziert werden. Eine eindeutige Identifizierung der Phenylalkane erfolgte dabei über den Phenylalkanstandard, der lineare 1-Phenylalkane mit einer Kohlenstoffkettenlänge von C₅ bis C₁₈ enthielt (Abbildung 60).

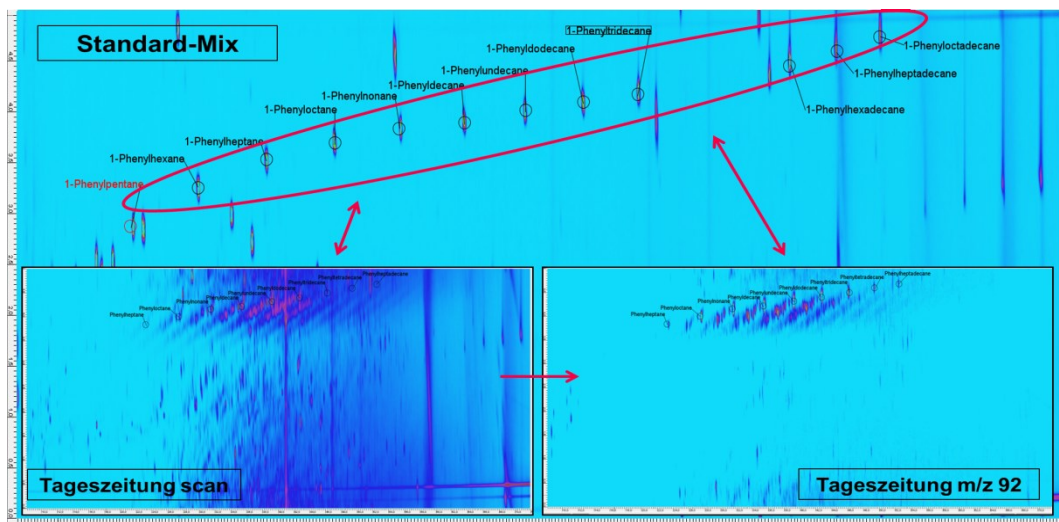


Abbildung 60: Phenylalkane (scan und m/z 92) in Standard und Probe (Tageszeitung)

Durch Extraktion des für die Phenylalkane charakteristischen Massenfragments m/z 92, zeigten sich ausgehend von den linearen Phenylalkanen, diagonale Geraden unbekannter Verbindungen, welche durch das selbe molekulare Massenfragment charakterisiert sind wie die korrespondierenden 1-Phenylalkane. Dies deutet auf unterschiedlich substituierte und verzweigte Analoga hin, wie am Beispiel von Phenylundecan dargestellt (Abbildung 61).

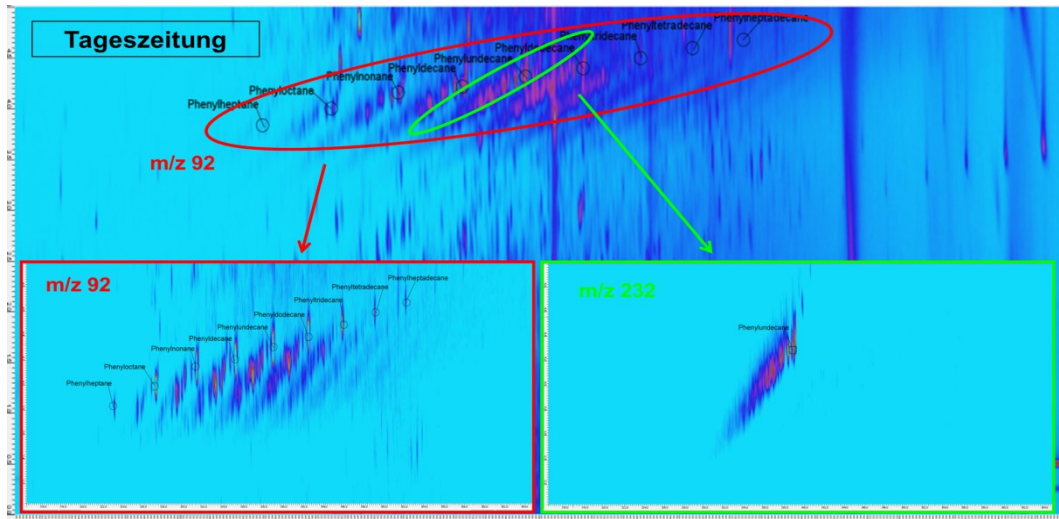


Abbildung 61: Phenylalkane und unterschiedlich substituierte/verzweigte Analoga

Durch Extraktion des jeweiligen charakteristischen Massenfragments (m/z 232 für Phenylundecan) zeigt sich die Charakterisierung dieser Verbindungen durch dasselbe molekulare Massenfragment, welches auf unterschiedlich substituierte und verzweigte Analoga hindeutet. Dies konnte anhand der im Standardmix enthaltenen Verbindungen 1-Phenylpentan, Isopentylbenzen und (1-Methylbutyl)benzen verifiziert werden (Abbildung 62).

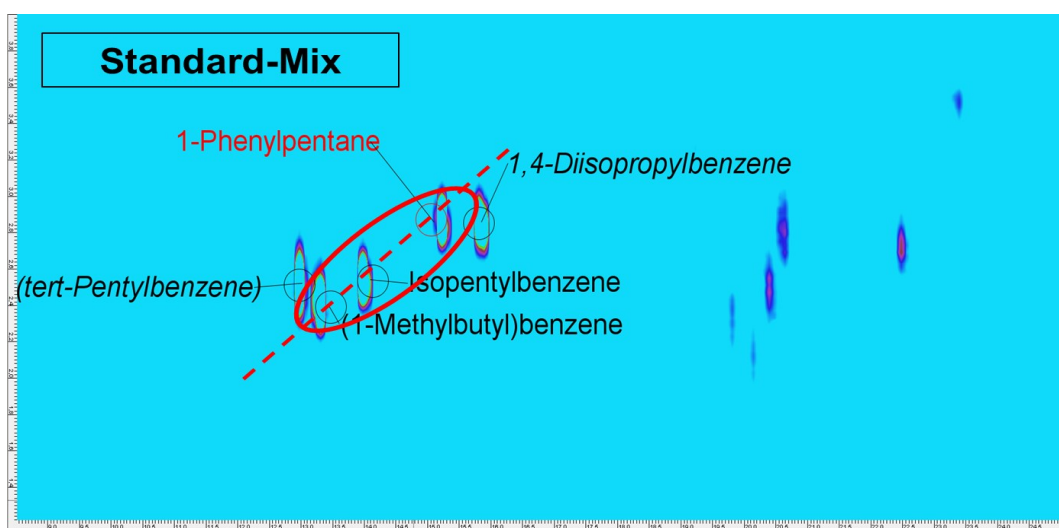


Abbildung 62: Nachweis von unterschiedlichen Verzweigungen und Substitutionen am Beispiel 1-Phenylpentan

Durch die Extraktion des für Phenylpropan charakteristischen molekularen Massenfragments m/z 148 konnte gezeigt werden, dass diese 3 Verbindungen auf einer Geraden liegen.

Um nähere Informationen über die unterschiedlichen Analoga zu erhalten erfolgte eine Zuordnung dieser anhand ihres Fragmentierungsmusters. Phenylalkane fragmentieren zu einem molekularen Massenfragment, sowie Fragmenten, die durch die Spaltung der Alkylgruppe entstehen. Phenylalkane können in Bezug auf das α -Kohlenstoffatom der Alkylkette in 3 Gruppen unterteilt werden:

- primäre Phenylalkane $-\text{CH}_2-$
- sekundäre Phenylalkane $-\text{CHR}_1-$
- tertiäre Phenylalkane $-\text{C R}_1\text{R}_2-$

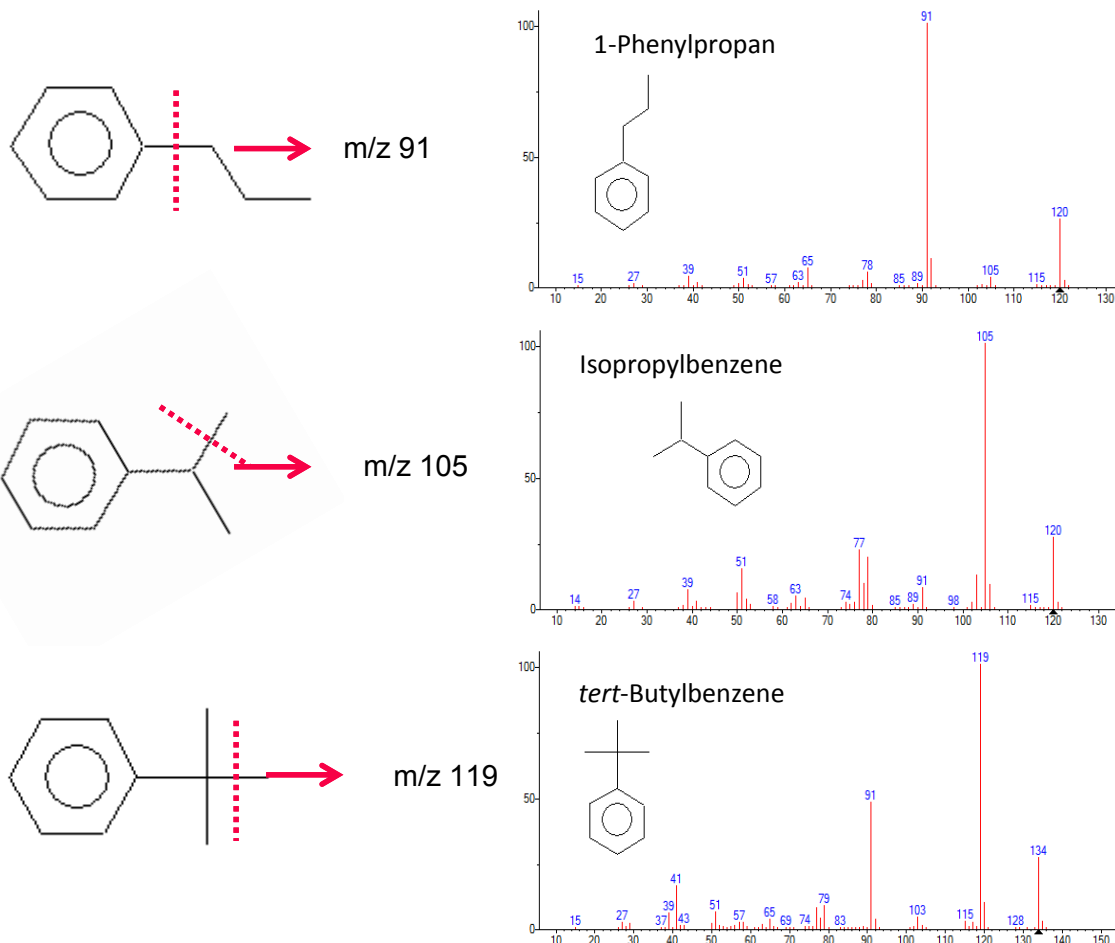


Abbildung 63: Fragmentierung von primären, sekundären und tertiären Phenylalkanen

Primäre Phenylalkane bilden ein Basisfragmentation bei m/z 91 (benzyliche Spaltung) und nahezu keine weiteren Fragmente. Es ist jedoch zu berücksichtigen, dass das Fragmentation m/z 91 allen Phenylalkanen gemein ist, wenn auch in Abhängigkeit des Substitutionsmusters in geringerer Intensität. Sekundäre Phenylalkane fragmentieren zu einem α -Methyl-

Carbokation (m/z 105). Die Spaltung der Methylgruppe ist dabei aufgrund der damit einhergehenden Bildung des instabileren RCH_2^+ Ions unwahrscheinlich. Tertiäre Phenylalkane zeigen ein Basisfragment bei m/z 119, da hierbei die Bildung des Dimethyl-Carbokations energetisch bevorzugt wird.

Die Fragmentierung der Phenylalkane erfolgt dabei definierter Fragmentierungsregeln. Diese besagen, dass die größte Alkylgruppe an der Stelle der höchsten Alkylsubstitution bevorzugt als neutrales Fragment verloren geht. Die am häufigsten vorkommenden Fragmente sind demnach m/z 91 (und 92), m/z 105, m/z 119 (und 120), m/z 133 und m/z 147. Dazugehörige Fragmentierungsmuster sind in Abbildung 64 dargestellt.

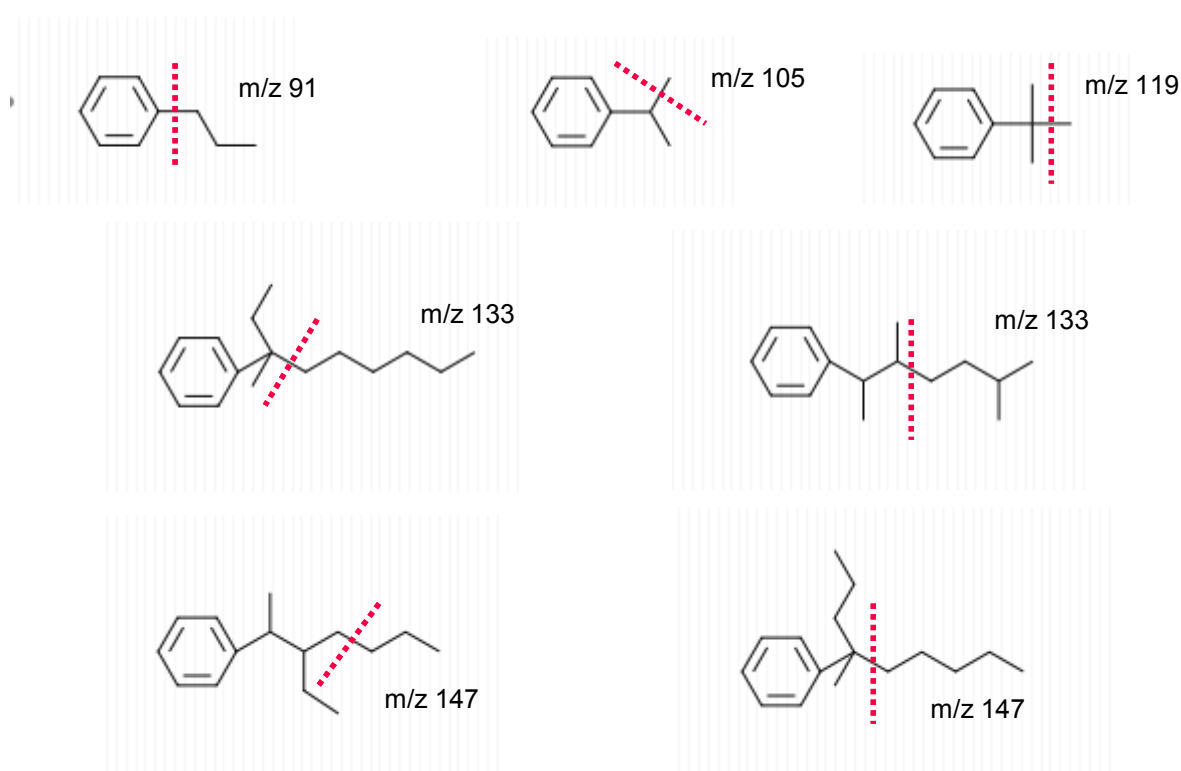


Abbildung 64: Fragmentierungsmuster von Phenylalkanen

Da die Fragmentierungsmuster der einzelnen Isomere der homologen Reihen für alle Phenylalkane ident sind, erfolgte eine Darstellung am Beispiel von Phenyl-dodecan. Anhand dessen konnten Analoga mit α -methyl, α -dimethyl, α -ethyl, α -propyl, α -butyl, α -pentyl und α -methyl- β -methyl Struktur, sowie Trimethylbenzene identifiziert werden (siehe Abbildung 65).

Phenylalkane mit einer α -methyl Struktur sind durch eine Methylgruppe am α -Kohlenstoffatom der Alkylgruppe charakterisiert und zeigen ein Basisfragment bei m/z 105. Die Alkylgruppe selbst kann sowohl linear als auch verzweigt vorliegen, wobei

Verzweigungen überwiegend bei höher nummerierten Kohlenstoffatomen vorliegen. Dies gilt auch für alle weiteren identifizierten Strukturen.

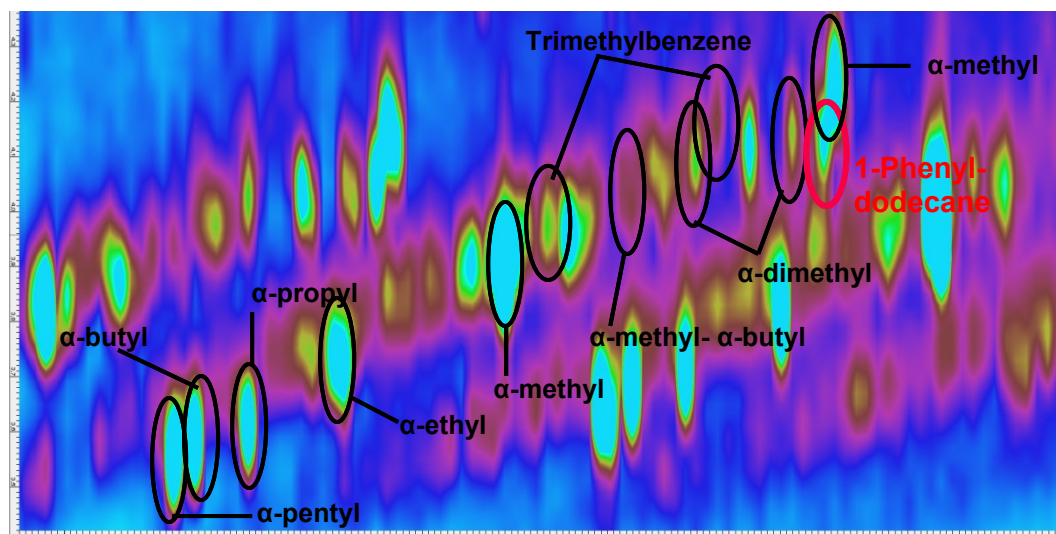


Abbildung 65: Identifizierte Strukturen von Phenylalkanen am Beispiel Phenyl-dodecan

Phenylalkane mit einer α -ethyl Struktur sind durch eine Ethylgruppe am α -Kohlenstoffatom der Alkylgruppe charakterisiert und zeigen ein Basisfragment bei m/z 91, infolge der benzyliischen Spaltung, sowie ein Fragment bei m/z 119. Dieses entsteht durch die Abspaltung der Alkylkette. Die gilt auch für Phenylalkane mit α -propyl, α -butyl und α -pentyl Struktur, die jeweils 2 Basisfragmente bei m/z 91 und 133, m/z 91 und 147, sowie m/z 91 und 161 aufweisen (siehe Abbildung 66)

Betrachtet man nun die einzelnen Spektren, so zeigt sich, dass mit zunehmender Kettenlänge, der sich am α -Kohlenstoffatom abspaltenden Alkylkette, die Intensität des Fragments m/z 91 zunimmt, wogegen die Intensitäten anderer Fragmente abnehmen. Daraus lässt sich schließen, dass mit zunehmendem Verzweigungsgrad am α -Kohlenstoffatom eine benzyliische Spaltung energetisch bevorzugt wird.

Neben Analoga mit α -methyl, α -dimethyl, α -ethyl, α -propyl, α -butyl, α -pentyl und α -methyl- β -methyl Struktur konnten auch Trimethylbenzene identifiziert werden. Trimethylbenzene sind durch charakteristische Massenfragmente bei m/z 133, m/z 134, m/z 119, m/z 105 und m/z 91 charakterisiert, wobei die Fragmente m/z 133 und m/z 134 dominieren. Ob entweder m/z 133 oder m/z 134 in höherer Intensität vorliegt ist dabei von der Position der Methylsubstituierung am Benzenring abhängig (siehe Abbildung 67). Hinsichtlich der in den Proben vorliegenden Trimethylbenzene war die Bestimmung der Position der Methylsubstituierung, sowie die Bestimmung der Zusammensetzung der Alkylkette (linear oder verzweigt) nicht möglich.

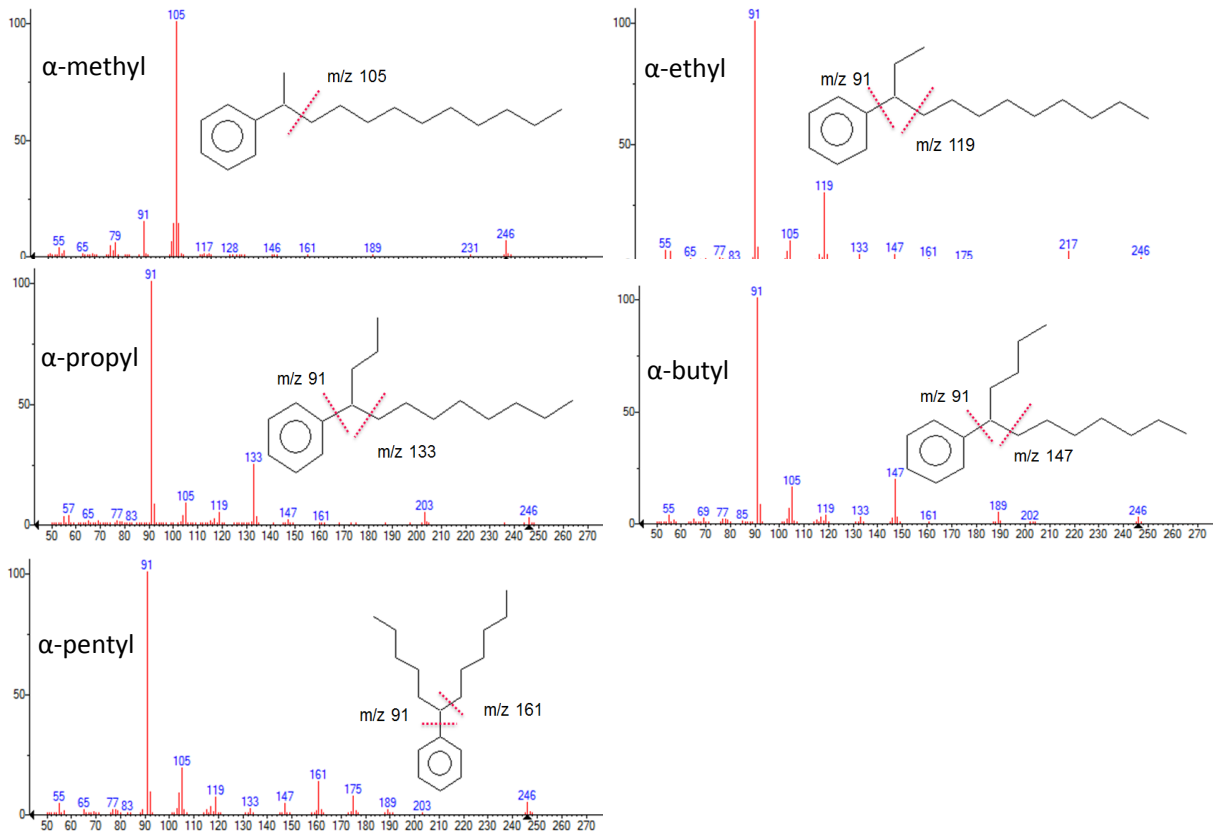


Abbildung 66: Spektren der identifizierten Strukturen von Phenylalkanen

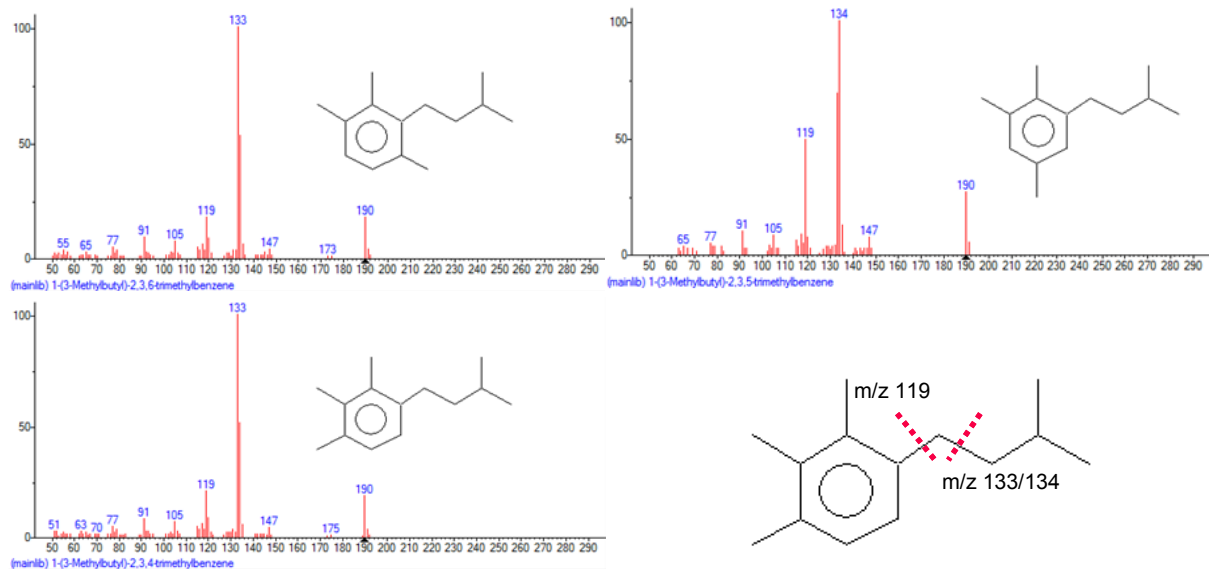


Abbildung 67: Spektren der unterschiedlichen Trimethylbenzene

Mit dem derzeitigen Stand der Analysen ist ausschließlich eine strukturelle Zuordnung eines Großteils der unbekanntes Analoga möglich. Eine eindeutige Identifizierung aller

Phenylalkane, vor allem jener mit langen, komplex verzweigten Kohlenstoffketten ist aufgrund eines Mangels an verfügbaren Standardsubstanzen nicht möglich.

Generell konnten Phenylalkane in allen analysierten Proben nachgewiesen werden und stellen somit einen substantiellen Anteil der MOAH Fraktion dar. Die höchsten Konzentrationen für diese Verbindungsgruppe wurden dabei in Tageszeitungen, gefolgt von Recyclingpapieren nachgewiesen. In Frischfaserproben war die Konzentration erwartungsgemäß geringer, jedoch noch deutlich nachweisbar.

7.3.2.2 Quantitative Bestimmung der Phenylalkane mittels GC-MS

Die Analyse mittels GC-MS diente dazu, den Anteil der Phenylalkane, sowie den Anteil der gesättigten Mineralölbestandteile (MOSH) in der MOAH-Fraktion zu bestimmen. Um bei eindimensionaler Analyse eine ausreichend intensive Response für die Quantifizierung einzelner Verbindungen bzw. der Substanzgruppe der Phenylalkane zu erhalten, war die Herstellung wesentlich konzentrierterer Extrakte notwendig (siehe 6.3.3). Um den Anteil und die Konzentration an Phenylalkanen und nicht aromatischen Kohlenwasserstoffen festzustellen, mussten die Analysenergebnisse der GC-MS Messung in Bezug zur Bestimmung der Summenkonzentration der MOAH mittel GC-FID gesetzt werden. Dies war nötig, da bei massenspektrometrischer Detektion eine direkte Quantifizierung über die internen Standards aufgrund einer unterschiedlichen Response von internen Standards und Zielanalyten nicht möglich ist. Als erster Schritt erfolgte somit die Bestimmung der Gesamtkonzentration an MOAH in den einzelnen Extrakten mittels off-line HPLC-GC-FID Messung, durchgeführt durch eine externe Institution. Die uns übermittelten Konzentrationen beziehen sich auf die Konzentration an MOAH bis n-C₃₅, abzüglich der internen Standards und DIPN (siehe Tabelle 40).

Tabelle 40: Konzentration Σ MOAH – n-C₃₅

Probe	Konzentration –C ₃₅ [mg/kg]
1 (Frischfaser)	2
2 (Recycling)	44
3 (Recycling)	237
4 (Frischfaser)	19
5 (Frischfaser)	13
6 (Recycling)	38
7 (Tageszeitung)	1109

Frischfaserproben weisen dabei wie zu erwarten einen geringeren Anteil an aromatischen Mineralölkohlenwasserstoffen auf als Recyclingproben, wenngleich die Konzentration an

MOAH in Frischfaserprobe 1 und 4 in einem ähnlichen Bereich liegt wie die Konzentration in Recyclingprobe 2 und 6. Die relativ hohe Konzentration dieser Proben im Vergleich zu den Recyclingproben ist überraschend, da Frischfaserproben in der Regel keine Mineralölkohlenwasserstoffe aufweisen sollten. Auch eine Verunreinigung bei der Produktion in solch einem Ausmaß ist eher unwahrscheinlich. Da es sich um nicht bedruckte Papiere handelt kann auch der Einfluss von Druckfarben vernachlässigt werden. Am wahrscheinlichsten ist eine Verunreinigung durch die Umgebung oder unsachgemäße Lagerung. Recyclingprobe 2 sticht dabei mit einer deutlich höheren MOAH Konzentration von 237 mg/kg Papier hervor. Dies deutet auf einen höheren Recyclinggehalt dieser Probe im Vergleich zu den anderen beiden Recyclingproben hin. Am höchsten ist die Konzentration an MOAH in der Zeitungsprobe. Mit 1109 mg/kg liegt die Konzentration dieser Probe um den Faktor 5 bis 500 über den Konzentrationen der Papierproben. Dies verdeutlicht die Tatsache, dass Zeitungspapiere einen wesentlichen Anteil an der Verunreinigung von Recyclingproben durch Mineralölkohlenwasserstoffe haben.

In Bezug auf die GC-MS Messung wurde als Erstes anhand der Analyse des Phenylalkan- und n-Alkanstandards das Verhältnis der Intensität der molekularen Massenfragmente der Phenylalkane, sowie des Fragmentes m/z 57 zur Bestimmung der gesättigten Kohlenwasserstoffe, im Verhältnis zum TIC der jeweiligen Verbindungen berechnet. Anschließend erfolgte die Analyse der Extrakte. Durch Extraktion der molekularen Massenfragmente der linearen Phenylalkane und ihrer durch dasselbe molekulare Massenfragment charakterisierten Analoga wurden die Retentionsbereiche der Phenylalkane bestimmt und in Relation zu den Retentionsbereichen der n-Alkane gestellt. Die Extraktion der molekularen Massenfragmente der Phenylalkane veranschaulicht dabei gut die Verschiebung der Elution hin zu höheren Retentionszeiten mit zunehmender Kettenlänge bzw. zunehmendem Verzweigungsgrad der Alkylketten. Die in den Proben vorliegenden Phenylalkane weisen dabei eine Alkylkettenlänge von 8 bis 23 Kohlenstoffatomen auf. Die Phenylalkan-Analoga mit derselben molekularen Masse eluieren dabei als nicht aufgelöste „Phenylalkanberge“, analog zum „Mineralölberg“ der gesamten MOAH-Fraktion, wobei sich der Elutionsbereich über einen Bereich von 6 bis 7 n-Alkanen erstreckt (siehe Abbildung 68). Anhand einer Überlagerung der Extrakte mit dem n-Alkanstandard konnte der Elutionsbereich der Phenylalkane in Bezug auf die n-Alkane ermittelt werden. Dies zeigte, dass die in den Proben detektierten Phenylalkane mit einer Alkylkettenlänge von C_8 bis C_{22} in einem Bereich der n-Alkane von $n-C_{13}$ bis $n-C_{32}$ eluieren (siehe Abbildung 69). Der relevante Bereich umfasst dabei den Bereich des nicht aufgelösten Mineralölberges, sowie in Abhängigkeit der Probe einen Bereich vor und nach dem Mineralölberg.

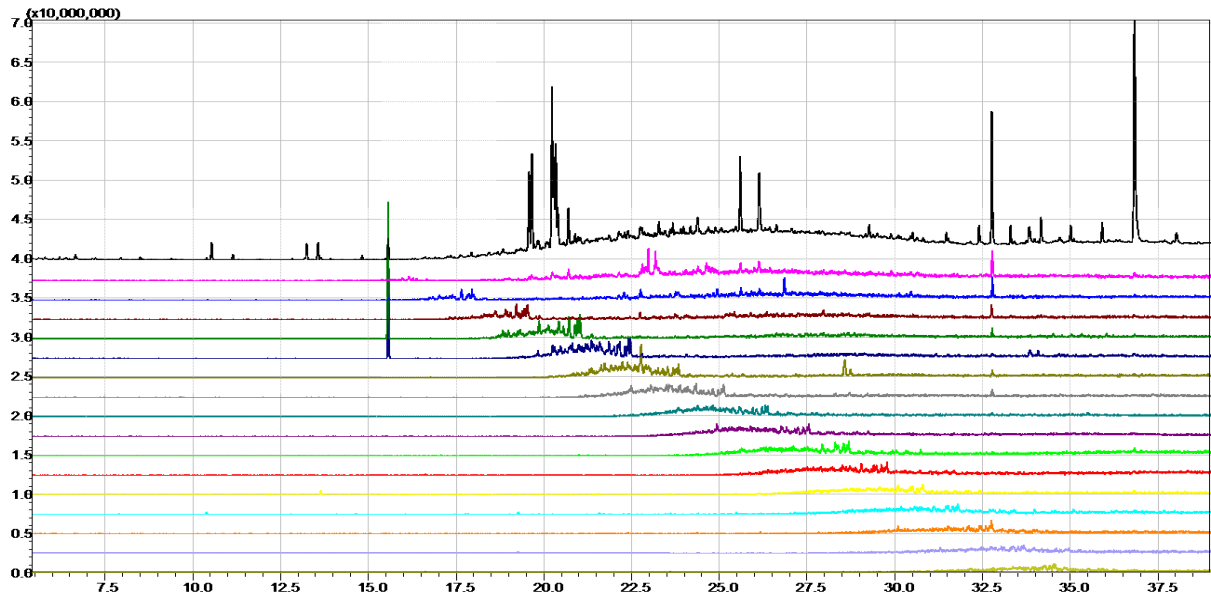


Abbildung 68: Extraktion der molekularen Massenfragmente der Phenylalkane

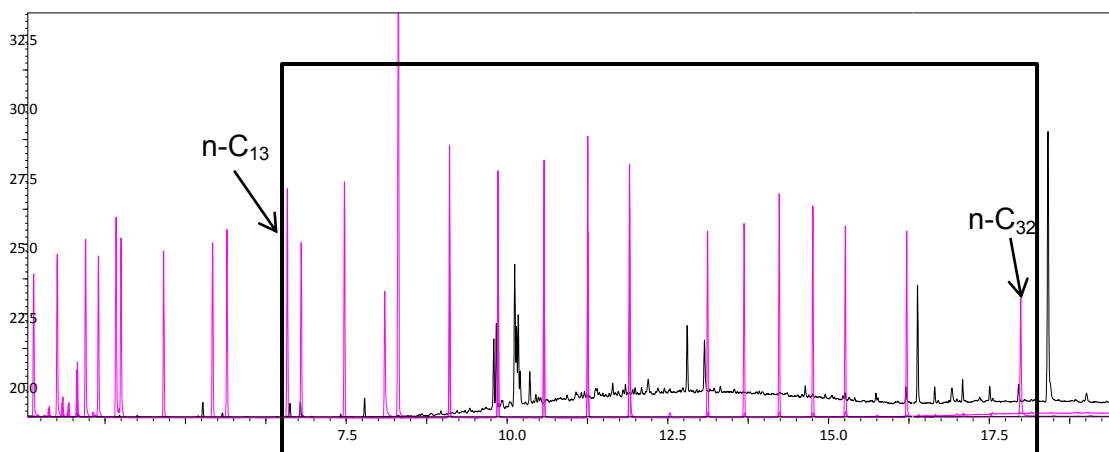


Abbildung 69: Relevanter Migrationsbereich der aromatischen Fraktion

Der Großteil des Elutionsbereichs der Phenylalkane fällt dabei in den Bereich des nicht aufgelösten Mineralölberges, welcher zwischen $n\text{-C}_{15}$ und $n\text{-C}_{28}$ eluiert. Dies verdeutlicht, dass bei Analyse der MOAH der ganze Bereich der n -Alkane zu berücksichtigen ist, da bei einer Bestimmung der Konzentration erst ab $n\text{-C}_{16}$, analog zur MOSH, ein Teil der Phenylalkane nicht erfasst werden würde. Ausgehend davon ist zu vermuten, dass dies auch auf andere in der MOAH vorliegende aromatische Substanzen zutrifft. In Tabelle 41 sind die Retentionsbereiche der Phenylalkane in Bezug auf die Retention der n -Alkane dargestellt.

Tabelle 41: Elutionsbereich der Phenylalkane

Verbindung	m/z	RT [min]	Bereich n-Alkane
Phenyloctan (C ₈)	190	14,67-16,95	C ₁₃ -C ₁₆
Phenylnonan (C ₉)	204	15,70-18,54	C ₁₄ -C ₁₇
Phenyldecan (C ₁₀)	218	16,43-20,11	C ₁₄ -C ₁₈
Phenylundecan (C ₁₁)	232	17,24-21,52	C ₁₅ -C ₁₉
Phenyl-dodecan (C ₁₂)	246	18,49-22,87	C ₁₆ -C ₂₀
Phenyltridecan (C ₁₃)	260	19,68-24,28	C ₁₆ -C ₂₁
Phenyltetradecan (C ₁₄)	274	20,27-25,41	C ₁₇ -C ₂₂
Phenylpentadecan (C ₁₅)	288	21,33-26,90	C ₁₈ -C ₂₃
Phenylhexadecan (C ₁₆)	302	22,57-28,44	C ₁₉ -C ₂₄
Phenylheptadecan (C ₁₇)	316	24,04-29,88	C ₂₀ -C ₂₆
Phenyloctadecan (C ₁₈)	330	25,06-31,91	C ₂₁ -C ₂₇
Phenylnonadecan (C ₁₉)	344	25,93-32,61	C ₂₁ -C ₂₈
Phenyleicosan (C ₂₀)	358	26,60-33,91	C ₂₂ -C ₂₉
Phenylheneicosan (C ₂₁)	372	28,01-34,61	C ₂₃ -C ₃₀
Phenyltricosan (C ₂₂)	386	28,82-35,67	C ₂₄ -C ₃₂

Zur quantitativen Bestimmung des Anteils der Phenylalkane an der MOAH wurden die Gesamtfläche MOAH bis n-C₃₅, abzüglich DIPN und interner Standards integriert. In weiterer Folge wurden die Molekularion-Fragmente der einzelnen Phenylalkane sowie m/z 57 für nicht aromatische Kohlenwasserstoffe extrahiert, integriert und deren Fläche anhand der über den Phenylalkan- und n-Alkanstandard bestimmten Faktoren auf die gesamte MOAH-Fraktion hochgerechnet. Um die unterschiedliche Response des MS-Detektors pro Masseneinheit an gesättigten Kohlenwasserstoffen für die einzelnen n-Alkane zu berücksichtigen, wurden die für die jeweiligen n-Alkane bestimmten Faktoren gemittelt. Anhand dessen konnten einerseits der prozentuelle Anteil der Phenylalkane und nicht aromatischen Kohlenwasserstoffe an der MOAH, sowie die prozentuelle Verteilung der einzelnen Phenylalkane in den unterschiedlichen Proben ermittelt werden. In weiterer Folge wurde die Konzentration der Phenylalkane bestimmt, indem der ermittelte prozentuelle Anteil der jeweiligen Substanzen an der MOAH zu der mittels GC-FID bestimmten Gesamtkonzentration an MOAH in Bezug gesetzt wurde. Eine direkte Bestimmung der Konzentration über die internen Standards bei massenspektrometrischer Detektion ist wie bereits erwähnt, aufgrund der unterschiedlichen Response der massenspektrometrischen Detektion pro Masseneinheit der Kohlenwasserstoffe nicht möglich. Die quantitative Bestimmung der Phenylalkane stellt deshalb nur eine grobe Abschätzung und keinesfalls eine exakte quantitative Analyse dar und dient in erster Linie dazu einen Überblick über die Zusammensetzung der MOAH, bzw. den Einfluss der Phenylalkane, sowie über den

Übertrag an MOSH zu erhalten. Der prozentuelle Anteil der Phenylalkane und der nicht aromatischen Kohlenwasserstoffe, sowie deren ermittelte Konzentrationen sind in Tabelle 42 zusammengefasst.

Tabelle 42: Konzentration und prozentueller Anteil Phenylalkane und ges. Kohlenwasserstoffe

Probe	MOAH – C ₃₅ [mg/kg]	Phenylalkane [mg/kg]	gesättigte KW [mg/kg]	Phenylalkane [%]	gesättigte KW [%]
1 (Frischfaser)	2	0,07	0,03	2,34	0,89
2 (Recycling)	44	2,8	0,06	6,53	0,31
3 (Recycling)	237	16	0,03	6,60	0,20
4 (Frischfaser)	19	0,85	0,16	4,39	0,37
5 (Frischfaser)	13	0,39	0,46	3,06	0,19
6 (Recycling)	38	1,1	0,06	3,02	0,16
7 (Tageszeitung)	1109	64	3,6	5,75	0,32

Der prozentuelle Anteil der Phenylalkane liegt in allen Proben zwischen 2,34 % und 6,60 %, mit einem Anteil von 5,75 % im Zeitungspapier, welches als Referenzmaterial für die Quelle von Mineralölkomponenten in Recyclingmaterial dient. In Frischfaserproben ist der prozentuelle Anteil mit 2,34 % bis 4,39 % etwas geringer als in Recyclingproben mit einem Anteil zwischen 3,02 % und 6,60 %, wobei der Anteil in Probe 6 mit 3,02 % dabei den Anteilen in den Frischfaserproben entspricht. Geht man davon aus, dass Zeitungspapiere zu den Hauptkontaminationsquellen von Mineralölverbindungen zählen, so scheint es verwunderlich, dass der prozentuelle Anteil der Phenylalkane in der Zeitungsprobe geringer ist als in Recyclingproben. Es ist jedoch zu berücksichtigen, dass sich der prozentuelle Anteil auf die jeweilige Gesamtkonzentration an MOAH in den Proben bezieht. Zusätzlich ist zu beachten, dass die Phenylalkane nur einen geringen Anteil an der gesamten aromatischen Fraktion ausmachen und ein niedriger Anteil an Phenylalkanen nicht zwingend mit einer niedrigen Gesamtkonzentration aromatischer Verbindungen in den Proben gleichzusetzen ist. Vergleicht man die Konzentrationen der Phenylalkane der Proben, so zeigt sich, dass die Konzentrationen in den Frischfaserproben mit 0,07-0,85 mg/kg alle unter den Konzentrationen der Recyclingproben mit 1,1-16 mg/kg Papier liegen. Bei den Recyclingproben sticht wiederum Probe 3 mit einer Konzentration von 16 mg/kg, im Vergleich zu 1,1 mg/kg und 2,8 mg/kg der anderen beiden Proben (P2 und P6) hervor. In Bezug auf die Konzentration der Phenylalkane weist die Zeitungsprobe, mit einer Konzentration von 64 mg/kg, wie erwartet den höchsten Wert auf. Abbildung 70 zeigt dabei die grafische Verteilung des Anteils der Phenylalkane und gesättigten Kohlenwasserstoffe an der MOAH.

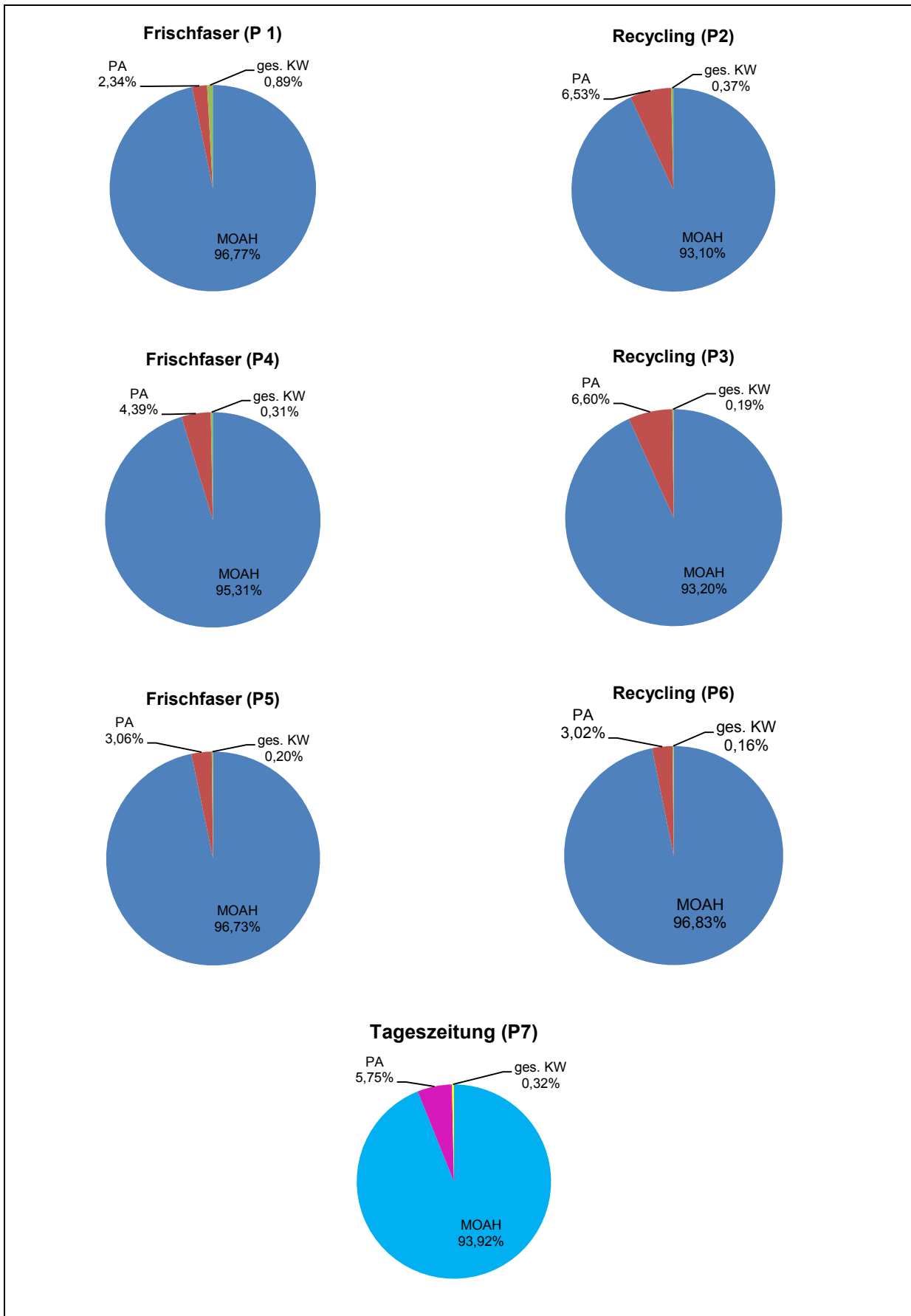


Abbildung 70: prozentueller Anteil Phenylalkane und ges. Kohlenwasserstoffe der MOAH

Die Analysen haben gezeigt, dass der prozentuelle Anteil der Phenylalkane, in Abhängigkeit der Probe (Frischfaser, Recycling, Zeitung) in einem Bereich von $\pm 5\%$ schwankt und die Konzentration der Phenylalkane in Zusammenhang mit der Gesamtkonzentration der aromatischen Fraktion steht, wobei gilt, je höher die Konzentration der MOAH, desto höher die Konzentration der Phenylalkane. In diesem Zusammenhang zeigt sich dann deutlich, dass Tageszeitungen, deren Konzentration an MOAH am höchsten ist, die höchste Konzentration an Phenylalkanen aufweisen.

Der Anteil an gesättigten Kohlenwasserstoffen liegt unabhängig von der Art der Probe unter einem Prozent, wodurch auch die Konzentration der gesättigten Kohlenwasserstoffe mit der Konzentration der gesamten MOAH steigt. Dies lässt sich dadurch erklären, dass Proben mit hoher Konzentration an MOAH generell auch durch eine hohe Konzentration an MOSH charakterisiert sind. Der Übertrag der gesättigten Kohlenwasserstoffe ist somit auf eine unsaubere Fraktionierung von MOSH und MOAH zurückzuführen, sollte im Idealfall jedoch 0% betragen. Da MOSH und MOAH koeluiieren und eine hohe Konzentration an MOAH somit mit einer hohen Konzentration an MOSH einhergeht, nimmt die Konzentration des Übertrags gesättigter Kohlenwasserstoffe mit steigender Konzentration der MOAH zu.

Bei Betrachtung der Gesamtverteilung zeigt sich, dass Phenylalkane und gesättigte Kohlenwasserstoffe nur einen geringen Anteil der gesamten aromatischen Fraktion ausmachen. Es stellt sich somit die Frage, welche Verbindungen den Rest der MOAH ausmachen. Dies verdeutlicht dabei die Komplexität dieser Fraktion und die Schwierigkeit einzelne Verbindungen zu identifizieren.

Die in den Proben nachgewiesenen Phenylalkane weisen dabei eine Alkylkettenlänge von 8 bis 22 Kohlenstoffatomen auf. Es wurden somit Phenylalkane zwischen Phenylloctan und Phenyl-dodecan detektiert, wobei die in den Frischfaserproben nachgewiesenen Phenylalkane eine maximale Alkylkettenlänge von 16 Kohlenstoffatomen aufwiesen. Eine Ausnahme stellte hierbei Probe 4 dar, die analog zu den Recyclingproben Phenylalkane von C_8 bis C_{22} enthält (siehe Tabelle 43)

Tabelle 43: Vorkommende Phenylalkane

Probe	Kettenlänge der nachgewiesenen Phenylalkane
1 (Frischfaser)	$C_8 - C_{16}$
2 (Recycling)	$C_8 - C_{22}$
3 (Recycling)	$C_8 - C_{22}$
4 (Frischfaser)	$C_8 - C_{22}$
5 (Frischfaser)	$C_8 - C_{15}$
6 (Recycling)	$C_8 - C_{22}$
7 (Tageszeitung)	$C_8 - C_{20}$

Auffällig ist, dass in der Zeitungsprobe nur Phenylalkane mit einer Kettenlänge von bis zu 20 Kohlenstoffatomen nachgewiesen wurden. Dies, sowie die Tatsache, dass in Frischfaserproben mit Ausnahme von Probe 4, Phenylalkane mit einer maximalen Kohlenstoffkettenlänge von 16 C-Atomen nachgewiesen wurden, deutet auf einen Eintrag von Phenylalkanen längerer Alkylketten über den Recyclingprozess hin. Mögliche Quellen für Phenylalkane mit langen Alkylketten könnten dabei Beschichtungen und Klebstoffe sein, da Probe 4, bei der es sich um eine beschichtete Frischfaserprobe handelt, eine ähnliche Verteilung der Phenylalkane aufweist wie Recyclingproben. Die Quellen können dabei einerseits die Beschichtung selbst, andererseits der Klebstoff zur Aufbringung der Beschichtung sein. Da Zeitungen weder Beschichtungen noch Klebstoffe enthalten, lässt sich somit auch erklären warum in der Zeitungsprobe, Phenylalkane mit einer maximalen Kettenlänge von 20 Kohlenstoffatomen nachgewiesen wurden.

Die Verteilung der unterschiedlichen Phenylalkane innerhalb der Proben (siehe Abbildung 71) zeigt dabei große Unterschiede. So zeigen Recyclingproben und die Zeitungsprobe eine relativ homogene Verteilung mit den geringsten Anteilen von Phenylalkanen mit Alkylkettenlängen kleiner C_{10} und größer C_{20} . Die beiden Frischfaserproben (P1 und P3), sind hingegen durch eine inhomogene Verteilung der Phenylalkane charakterisiert. Probe 1 weist eine Zentrierung von Phenylalkanen mit einer Kettenlänge von C_{11} bis C_{13} auf, welche im Vergleich zu relativ geringen Anteilen der andern Phenylalkane dominieren. Probe 3 hingegen weist einen Anteil von nahezu 70 % an Phenylnonan (68,39 %) auf. Eine Ausnahme stellt wiederum Probe 4 dar, deren Verteilung der Phenylalkane jener von Recyclingproben ähnlich ist. Grund dafür dürfte wie bereits erwähnt die Beschichtung dieser Probe sein. Um eine Bestätigung dieser Vermutung zu erhalten bedarf es allerdings einer getrennten Analyse von Papier, Beschichtung und Klebstoff, was im Rahmen dieses Projektes nicht möglich war.

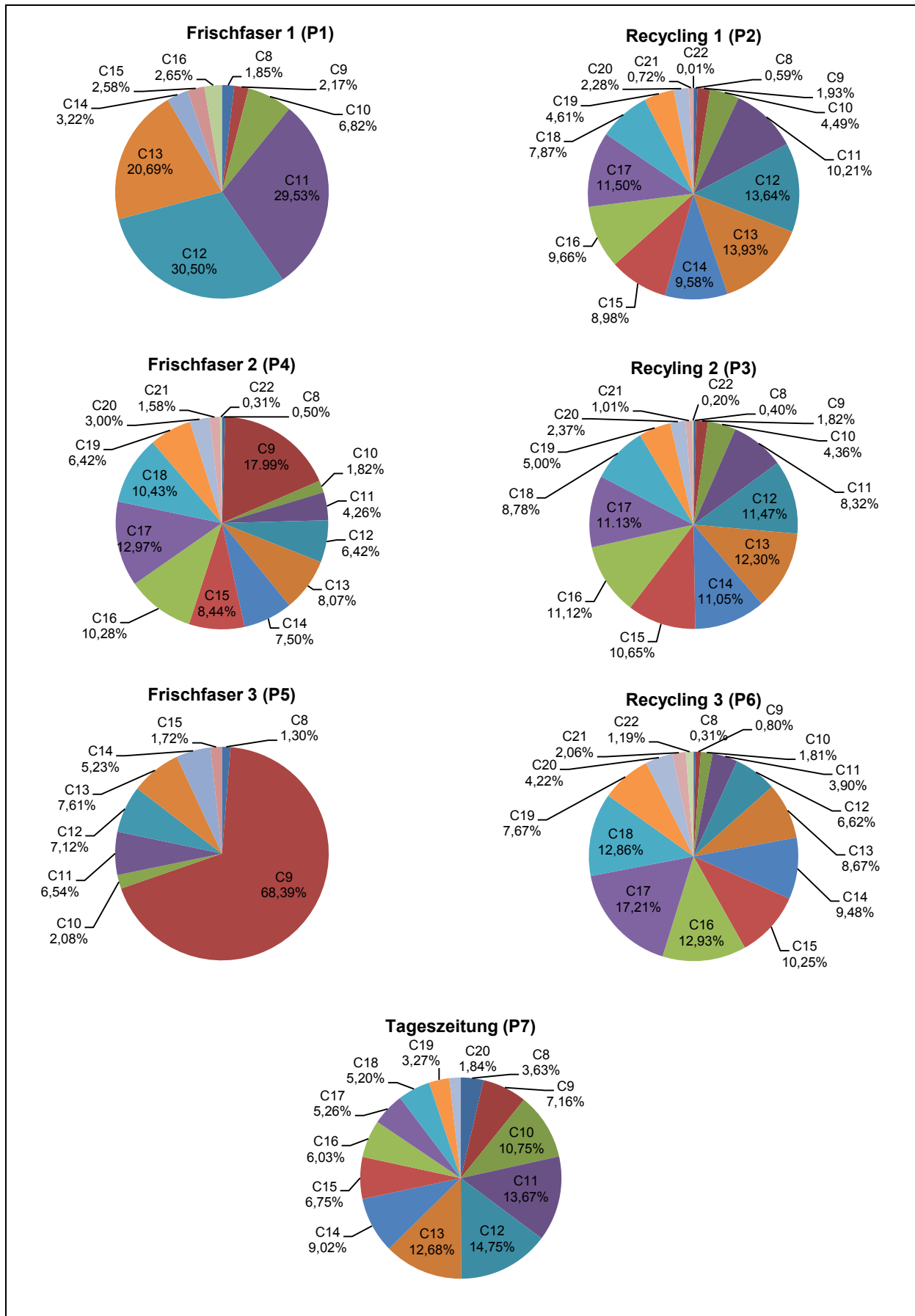


Abbildung 71: Prozentuelle Verteilung der Phenylalkane der einzelnen Proben

7.3.3 Identifikation einzelner Substanzen und Substanzklassen

Neben der Identifikation der Phenylalkane gelang die Identifikation weniger aromatischer Einzelsubstanzen, sowie zweier größerer Substanzklassen, alkylierter Biphenyle und alkylierter Naphthaline. Hinsichtlich beider Substanzklassen konnte jedoch, mangels erwerblicher Standardsubstanzen keine eindeutige Zuordnung aller identifizierten Verbindungen durchgeführt werden. Darüber hinaus konnten einzelne Gruppen an Verbindungen, die durch dieselben spezifischen Massenfragmente charakterisiert sind, detektiert, jedoch nicht identifiziert werden. Da eine eindeutige Identifizierung über Standards und eine Zuordnung dieser Verbindungen anhand ihrer charakteristischen Massenfragmente nicht möglich war, erfolgte anhand von hochauflösender Massenspektrometrie zumindest die Bestimmung der Zusammensetzung dieser Fragmente.

7.3.3.1 Identifizierung von Einzelsubstanzen

Die Identifizierung von Einzelsubstanzen erfolgte anhand von Standardmix 3, wodurch die Identifikation auf die darin enthaltenen Substanzen limitiert war. Die Zusammensetzung des Standardmixes bezog sich dabei auf anhand von in Vorversuchen durch Abgleich massenspektrometrischer Datenbanken identifizierte Verbindungen, sowie in der MOAH vermutete Substanzen, und sollte zur deren Verifizierung dienen. Zu den identifizierten Verbindungen zählen alkylierte Benzene, alkylierte Naphthaline, alkylierte Biphenyle, Methoxynaphthaline und Diphenylmethane. Zusätzlich wurden einige polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAH's – polycyclic aromatic hydrocarbons) identifiziert.

Der Großteil der identifizierten aromatischen Verbindungen eluiert dabei vor Beginn des nicht aufgelösten Bereiches. Dies zeigt, dass dieser Bereich selbst bei Analyse mittels GCxGC-MS, vor allem bei Recyclingproben und Proben mit einer hohen Konzentration an Mineralölbestandteilen, zu komplex ist um einzelne Verbindungen zu identifizieren. Abbildung 72 zeigt den Standardmix 3 mit Markierung der in den Proben identifizierten Substanzen. Die schwarze Linie stellt dabei den Beginn des nicht aufgelösten Bereiches in den Proben dar. Die in den Proben nachgewiesenen Verbindungen sind rot markiert, die übrigen im Mix enthaltenen Verbindungen einschließlich der Phenylalkane und der internen Standards zur Trennung und Quantifizierung von MOSH und MOAH schwarz. Durch Abgleich des Standardmixes wurden anschließend die jeweiligen Verbindungen in den Proben identifiziert.

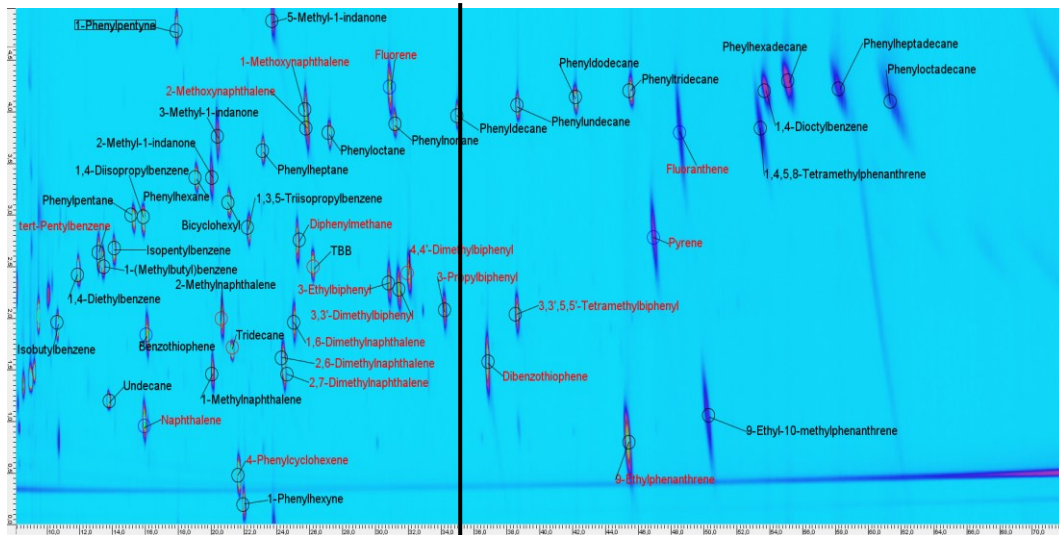


Abbildung 72: Standardmix mit Markierung der nachgewiesenen Substanzen

Die in den Proben identifizierten Verbindungen, sowie ihr Vorkommen in den jeweiligen Proben sind in Tabelle 44 angeführt.

Tabelle 44: Identifizierte Einzelsubstanzen der MOAH

Verbindung	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7
t-Pentylbenzen	+	+	+	+	+	+	+
4-Phenylcylohexen	+	+	+		+		
1,6-Dimethylnaphthalin	+	+	+	+		+	
2,6-Dimethylnaphthalin	+		+	+			
2,7-Dimethylnaphthalin	+	+	+	+		+	
9-Ethylphenanthren		+					
3,3'-Dimethylbiphenyl		+	+	+		+	+
4,4'-Dimethylbiphenyl			+	+		+	
3-Ethylbiphenyl		+	+	+		+	+
3-Propylbiphenyl		+	+	+		+	
3,3',5,5'-Tetramethylbiphenyl		+	+	+		+	
1-Methoxynaphthalin	+	+	+	+	+	+	
2-Methoxynaphthalin	+	+	+	+	+	+	
Diphenylmethan	+	+	+	+		+	
Naphthalin		+	+	+		+	+
Fluoren				+		+	+
Fluoranthen	+	+		+		+	+
Pyren				+		+	
Dibenzothiophen		+		+		+	

Die einzige, in allen Proben identifizierte, Verbindung war t-Pentylbenzen, wogegen 9-Ethylphenanthren ausschließlich in Probe 2, einer Recyclingprobe nachgewiesen wurde.

In den beiden Frischfaserproben P1 und P5, sowie in der Tageszeitung, wurden deutlich weniger aromatische Einzelsubstanzen identifiziert, als in den übrigen Proben. In diesen

beiden Frischfaserproben konnte die Substanzklasse der Biphenyle nicht nachgewiesen werden, in der Zeitungsprobe nur 3-Ethylbiphenyl und 3,3'-Dimethylbiphenyl. In allen anderen Proben konnten hingegen alle im Standardmix enthaltenen Biphenyle nachgewiesen werden. Auffällig ist, dass Probe 4, eine Frischfaserprobe, zu den Proben mit den meisten identifizierten Verbindungen zählt. Da es sich hierbei um die beschichtete Probe handelt, die auch bei der Verteilung der Phenylalkane eine Verteilung analog zu den Recyclingprodukten aufweist, lässt sich schließen, dass auch hierbei die Beschichtung für das Vorhandensein von Verbindungen, die in anderen Frischfaserproben nicht vorkommen, verantwortlich ist.

Da der Großteil der identifizierten Verbindungen, wie bereits erwähnt, vor dem Mineralölberg eluiert, zeigt sich, dass Beschichtungsmaterialien und Klebstoffe vermutlich vor allem in diesem Elutionsbereich einen großen Einfluss haben. Dies verdeutlicht auch den Einfluss dieser Bestandteile auf das Recycling, da die in der beschichteten Frischfaserprobe identifizierten Verbindungen auch in Recyclingprodukten wiederzufinden sind, jedoch in der Zeitungsprobe nicht vorkommen. Dennoch gelten Zeitungspapiere als Hautquelle für die Verunreinigung von Recyclingproben mit Mineralölbestandteilen, da diese so wie es scheint überwiegend die nicht identifizierbaren Verbindungen des Mineralölberges enthalten.

Neben den angeführten identifizierten Verbindungen die der MOAH zuzurechnen sind, wurden auch einige PAH's detektiert. Es ist dabei bekannt, dass die MOAH-Fraktion geringe Anteile an PAH's enthalten kann (BfR 2012b). Diese können somit auch als nicht alkylierte Markersubstanzen der MOAH betrachtet werden. Die in den Proben nachgewiesenen PAH's waren Naphthalin, Fluoranthen, Fluoren, Pyren und Dibenzothiophen, wobei keine eindeutige Tendenz bezüglich deren Vorkommens in der unterschiedlichen Art der Proben festgestellt werden konnte. Abbildung 73 zeigt den Nachweis der identifizierten Verbindungen bei Extraktion der jeweiligen selektiven Ionen einer Recyclingprobe

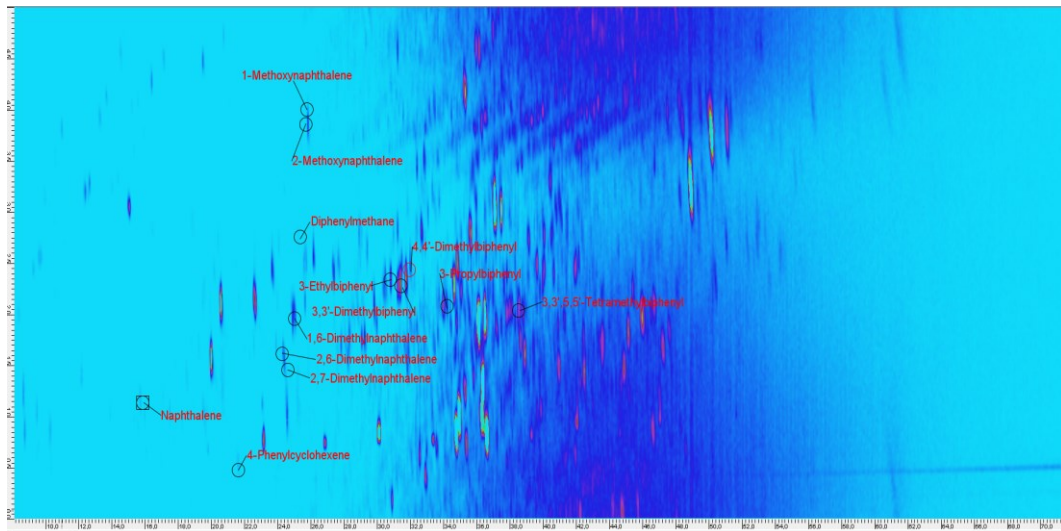


Abbildung 73: Identifizierte Substanzgruppen in Bezug auf eine Recyclingprobe

Neben den identifizierten Biphenylen und Naphthalinen wurden in den Proben weitere unterschiedlich substituierte Verbindungen dieser Substanzgruppen nachgewiesen. Diese konnten jedoch aufgrund eines Mangels an verfügbaren Standards nicht eindeutig identifiziert werden. Anhand ihrer spezifischen Massenfragmente konnte jedoch anhand eines Abgleichs der Spektren mit massenspektrometrischen Datenbanken eine Zuordnung der Substitution, hinsichtlich der Alkylierung durchgeführt werden. In Abbildung 74 sind dabei die Retentionsbereiche dieser beiden Substanzgruppen in Bezug auf das gesamte Chromatogramm dargestellt.

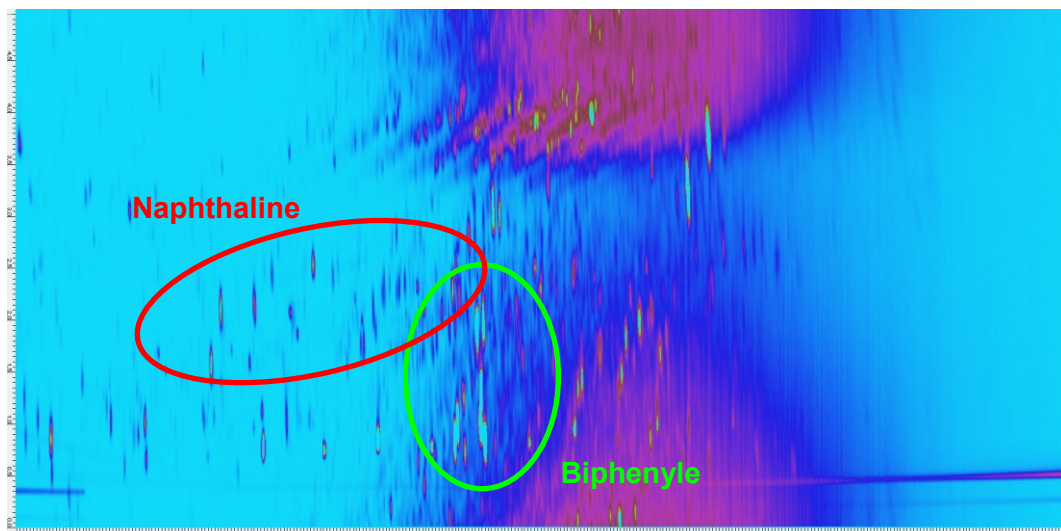


Abbildung 74: Identifizierte Substanzgruppen in Bezug auf eine Recyclingprobe

7.3.3.2 *Biphenyle*

Die Gruppe der Biphenyle eluiert gleichzeitig mit den Diisopropylnaphthalinen (DIPN). Bei eindimensionaler Analyse kommt es somit zu einer Überlagerung der Biphenyle mit DIPN. Durch die Subtraktion von DIPN, welche bei der Bestimmung der Gesamtkonzentration an MOAH durchgeführt wird, kann es dadurch auch zu einer unerwünschten Subtraktion der Biphenyle kommen, die jedoch Bestandteil der MOAH sind. Generell wird davon ausgegangen, dass Diisopropylnaphthaline als Aufsitzer aus dem Mineralölberg herausragen und Biphenyle sich im Mineralölberg befinden. Bei Subtraktion von DIPN in Form der Aufsitzer wird also davon ausgegangen, dass die Biphenyl-Fraktion erhalten bleibt und somit in die Bestimmung der Gesamtkonzentration an MOAH miteinbezogen wird. Da bei Analyse mittels GC-FID jedoch keine Eindeutige Zuordnung koeluiender Verbindungen möglich ist, wie dies bei Analyse mittels GC-MS anhand der Massenspektren der Fall ist, kann eine mit der Subtraktion von DIPN einhergehende Subtraktion zumindest eines Teiles der Biphenyl-Fraktion nicht ausgeschlossen werden. Dies kann im gegebenen Fall zu einer falsch-positiven Bestimmung der Gesamtkonzentration an MOAH führen.

Neben den über den Standardmix identifizierten Biphenylen 3-Ethylbiphenyl, 3-Propylbiphenyl, 3,3'-Dimethylbiphenyl, 4,4'-Dimethylbiphenyl und 3,3',5,5'-Tetramethylbiphenyl konnten durch Abgleich der Spektren mit der NIST-Spektrendatenbank drei unterschiedliche Gruppen von Biphenylen identifiziert werden, die jeweils durch die selben Massenfragmente charakterisiert sind. Bei Gruppe 1 handelt es sich dabei um Tetramethyl- und/oder Diethylbiphenyle, bei Gruppe 2 um Trimethylbiphenyle und bei Gruppe 3 um Dimethylbiphenyle. Die jeweiligen Gruppen, sowie die über den Standard eindeutig identifizierten Biphenyle sind in Abbildung 75 dargestellt.

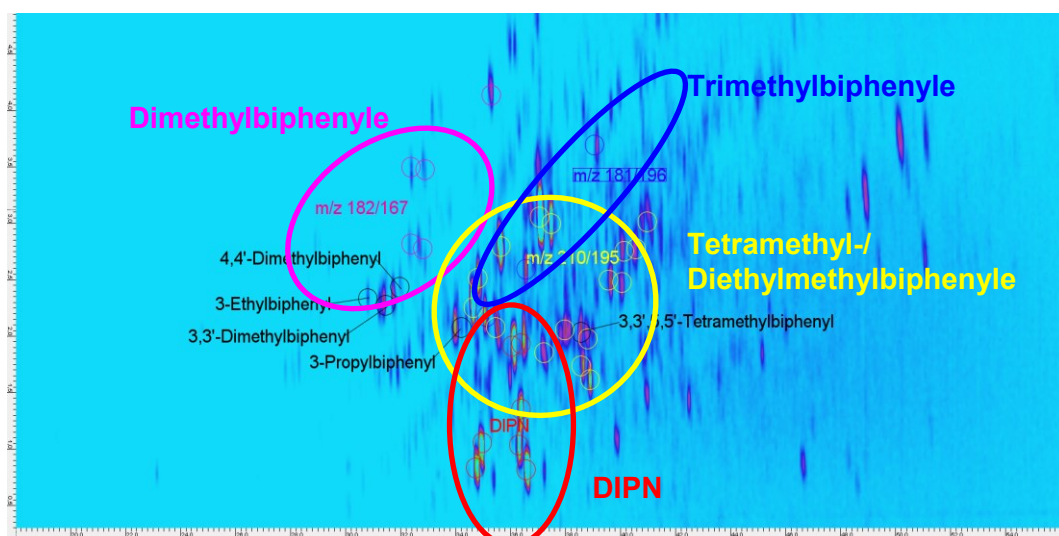


Abbildung 75: Identifizierte Biphenyle

Gruppe 1 der Tetramethyl- oder Diethylbiphenyle, ist durch die Massenfragmente 195, 210 und 165 charakterisiert und stellt die größte Gruppe der unterschiedlich substituierten Biphenyle. Gleichzeitig ist dies auch die Gruppe mit den intensivsten Peaks der Biphenyle, was bedeutet, dass die Biphenyle mit den höchsten in den Proben vorliegenden Konzentrationen dieser Gruppe zuzuordnen sind. Eine eindeutige Zuordnung hinsichtlich Tetramethyl- oder Diethylbiphenyl ohne spezifische Standardverbindungen ist ausschließlich anhand der Massenspektren nicht möglich, da sich die Spektren nur geringfügig im Verhältnis der Massenfragmente unterscheiden (siehe Abbildung 76). Eine geringe Abweichung des Massenverhältnisses kann aber auch matrixbedingt sein, wodurch eine eindeutige Zuordnung nicht möglich ist.

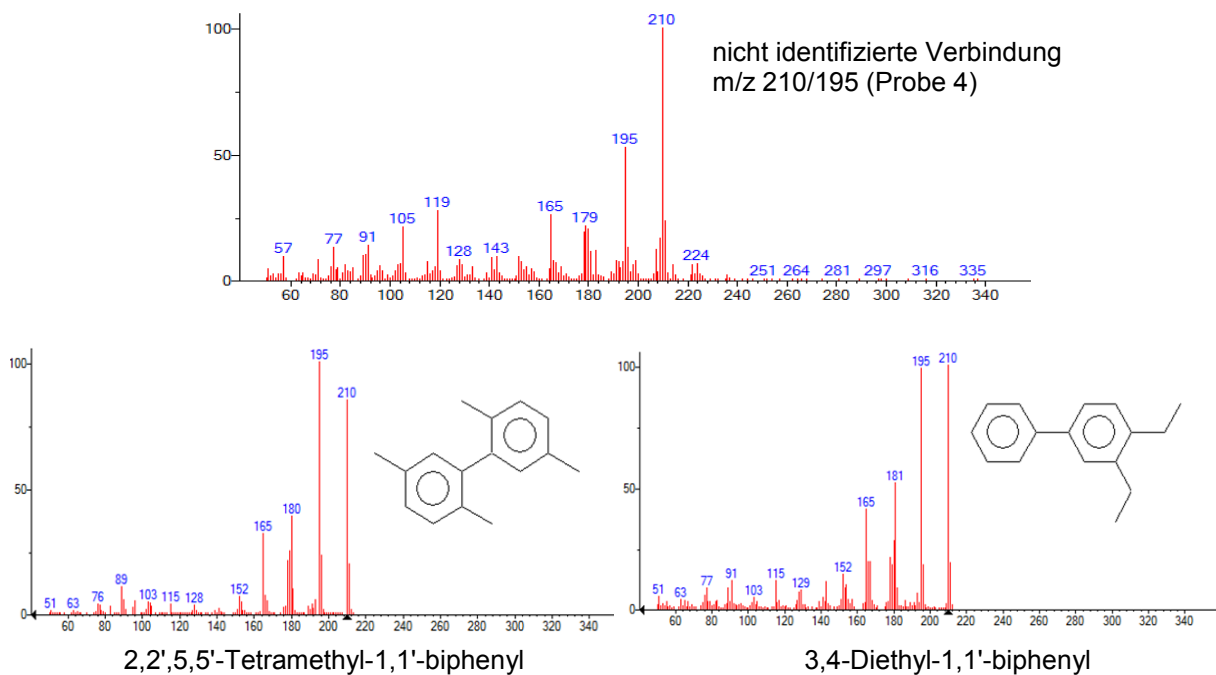


Abbildung 76: Spektrenabgleich Tetramethyl-/Diethylbiphenyle

Bei den Verbindungen der Gruppe 2, die durch die Massenfragmente 196, 181 und 165 charakterisiert sind, lässt ein Spektrenabgleich das Vorliegen von Trimethylbiphenylen vermuten, allerdings könnte es sich auch um Methyl substituierte Diphenylmethane handeln wie Abbildung 77 zeigt. Eine eindeutige Zuordnung ist analog zu Gruppe 1 ebenfalls nicht möglich. Darüberhinaus war dies die Gruppe die mit 3 Verbindungen die geringste Anzahl an Verbindungen die durch dieselben Fragmente charakterisiert sind aufwies. Dies erschwert zusätzlich die Zuordnung, aufgrund fehlender Vergleichsmöglichkeiten. Da die einzelnen Verbindungen jedoch relativ weit auseinander liegen, lässt das auf unterschiedliche Substanzgruppen schließen. Die Tatsache, dass zumindest 2 der Verbindungen auf einer Diagonalen liegen, lässt vermuten, dass es sich hierbei um 2 Verbindungen einer

Substanzklasse handelt, die analog zu den Phenylalkanen auf einer homologen Geraden liegen, wie dies typisch für GCxGC-Analysen ist (siehe Abbildung 75).

Bei den Verbindungen von Gruppe 3, charakterisiert durch die Massenfragmente 182/167, lässt sich aufgrund des Spektrenvergleichs auf Dimethylbiphenyle schließen. Mit 3,3'-und 4,4'-Dimethylbiphenyl konnten anhand des Standardmix 2 Substanzen dieser Gruppe eindeutig identifiziert werden, die andern Verbindungen dieser Gruppe weisen eine identische Fragmentierung auf, können aber aufgrund nicht vorhandener Standards nicht identifiziert werden.

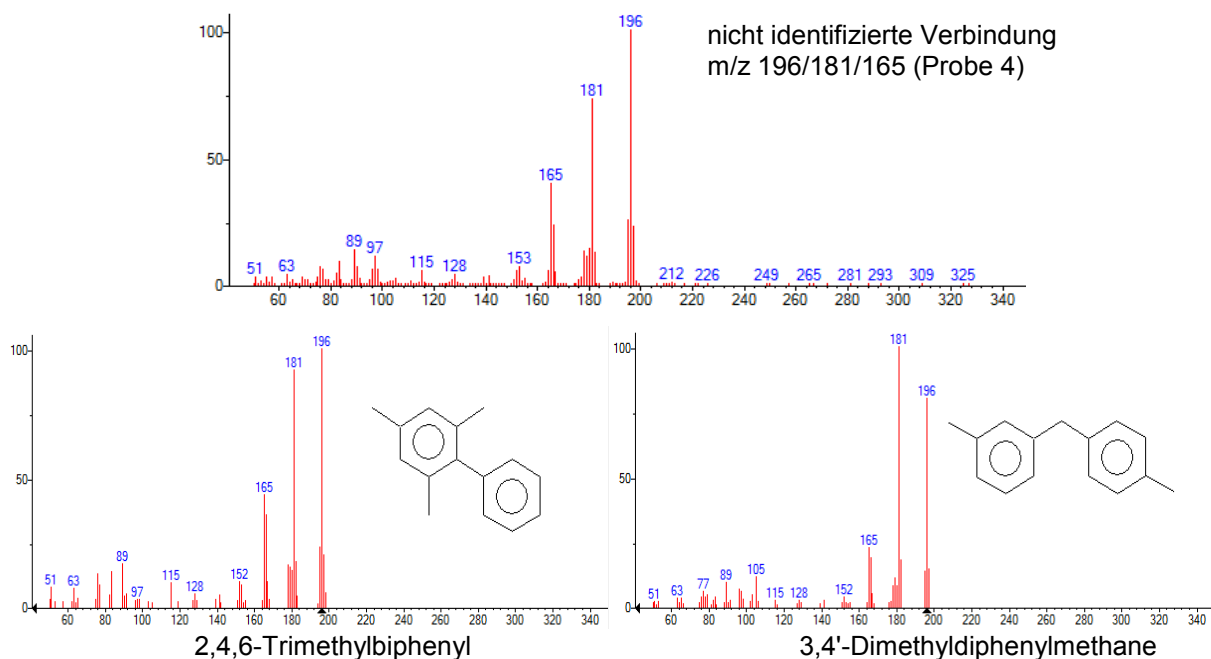
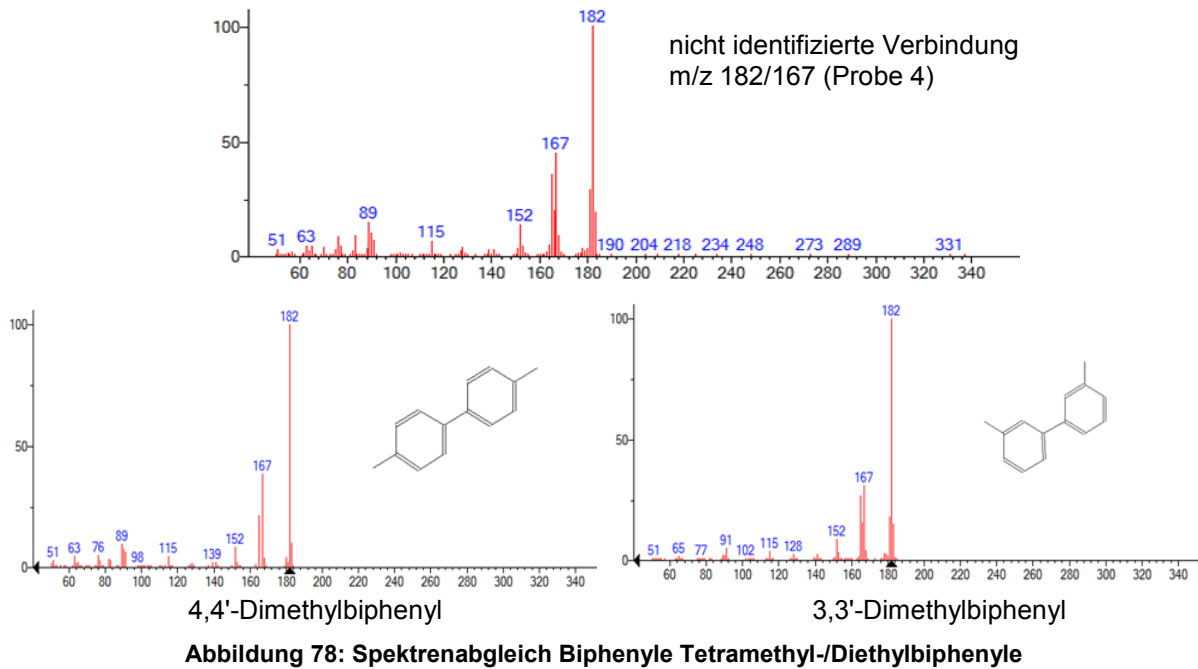


Abbildung 77: Spektrenabgleich Trimethylbiphenyle/ Methyl substituierte Diphenylmethane



7.3.3.3 Naphthaline

Neben den über den Standardmix identifizierten Dimethylnaphthalinen (1,6-Dimethylnaphthalin, 2,6-Dimethylnaphthalin, 2,7-Dimethylnaphthalin) konnten anhand des Fragmentierungsmusters noch weitere Dimethylnaphthaline identifiziert werden, deren Position der Methylgruppen ohne Verifizierung durch die jeweilige Standardsubstanz nicht bestimmbar ist. Neben den Dimethylnaphthalinen wurden durch Spektrenabgleich mit der NIST-Datenbank noch zwei weitere Gruppen von Naphthalinen identifiziert, welche durch die Fragmente 170 und 155 bzw. 184 und 169 charakterisiert sind. Bei Gruppe 1, charakterisiert durch die Fragmente 170 und 155, handelt es sich um Trimethyl- und/oder Isopropylnaphthaline. Bei Gruppe 2, charakterisiert durch die Fragmente 184 und 169, handelt es sich mit großer Wahrscheinlichkeit um Tetramethylnaphthaline. Wobei auch die Möglichkeit besteht, dass es sich um Naphthaline mit einer Methyl- und einer Isopropylgruppe handelt. Die unterschiedlich substituierten Verbindungen der jeweiligen Gruppen bilden dabei, analog zu den Phenylalkanen, homologe Diagonalen (siehe Abbildung 79). Dimethylnaphthaline und die Gruppe der Trimethyl-/Isopropylnaphthaline eluiert dabei zum größten Teil vor Beginn des nicht aufgelösten Bereiches der Mineralölfraction, wobei sich die am spätesten eluierenden Verbindungen der Trimethyl-/Isopropylnaphthaline bereits mit diesem Bereich überschneiden. Durch Extraktion der charakteristischen Ionen sind diese jedoch gut vom Mineralölberg abtrennbar. Problematisch ist allerdings, dass diese Verbindungen bereits in den Elutionsbereich der

Diisopropylnaphthaline fallen, wodurch es bei eindimensionaler Analyse zu den in 7.3.3.2 dargelegten Problemen kommen kann. Dies trifft auch auf die Gruppe 2 (Tetramethyl-/Methyl-Isopropylnaphthaline) zu, deren Elutionsbereich sich mit DIPN und den Biphenylen überschneidet (Abbildung 79).

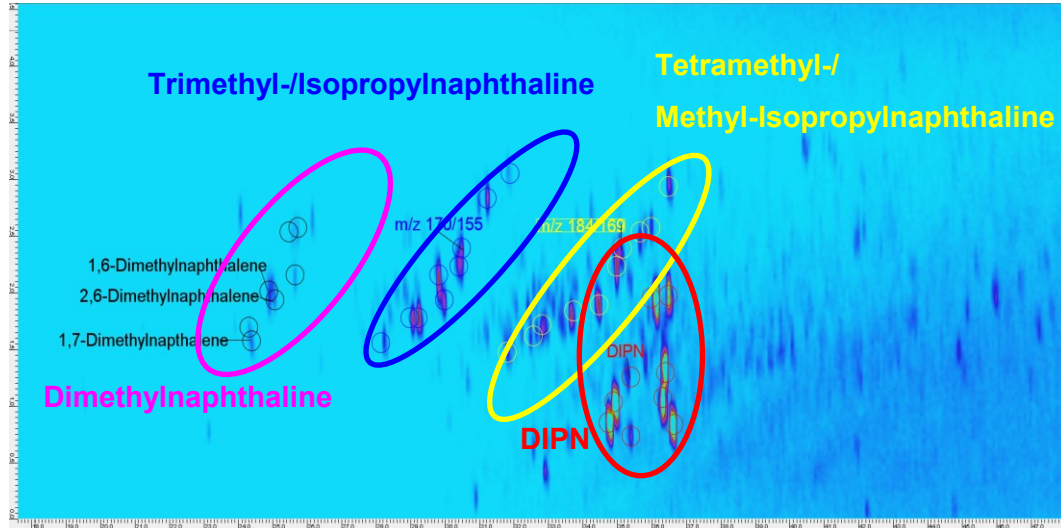


Abbildung 79: Identifizierte Naphthaline

Eine eindeutige Zuordnung hinsichtlich Trimethyl- und/oder Isopropylnaphthalinen bzw. Tetramethyl- und/oder Methyl und Isopropyl substituierten Naphthalinen ist rein anhand eines Spektrenvergleichs, analog zu den Biphenylen, nicht möglich, da sich die Spektren wiederum nur geringfügig im Verhältnis der Massenfragmente unterscheiden und eine eindeutige Identifikation das Vorhandensein von Standardverbindungen erfordert.

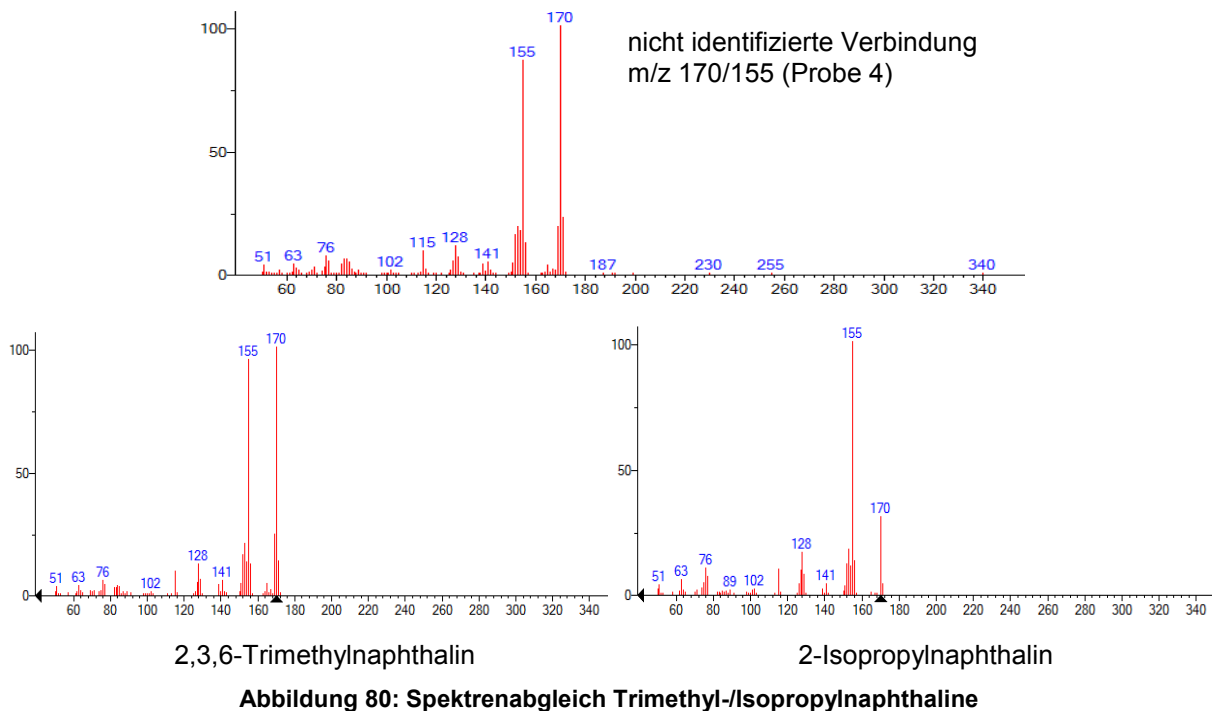


Abbildung 80: Spektrenabgleich Trimethyl-/Isopropylnaphthaline

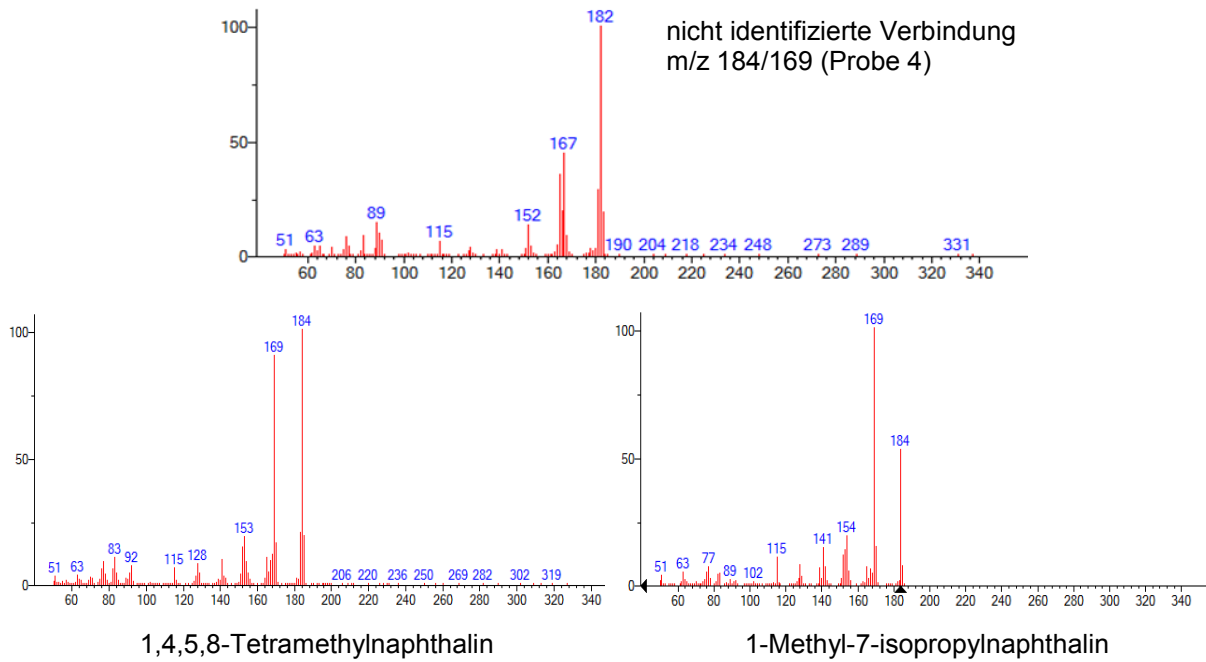


Abbildung 81: Spektrenabgleich Tetramethylnaphthaline/Methyl-Isopropyl substituierte Naphthaline

7.3.3.4 Nicht identifizierbare Substanzgruppen

Neben den identifizierten Verbindungen und Substanzklassen konnten einige Verbindungen nachgewiesen werden die durch dieselben Massenfragmente charakterisiert sind und teilweise auf homologen Geraden liegen. Die Verbindungen bilden spezifische Gruppen von Substanzen, die jedoch anhand eines Spektrenabgleichs mit der NIST-Datenbank nicht zu identifizieren waren. Diese Verbindungen eluierten dabei überwiegend im nicht vollständig aufgelösten Bereich des Chromatogramms (siehe Abbildung 82).

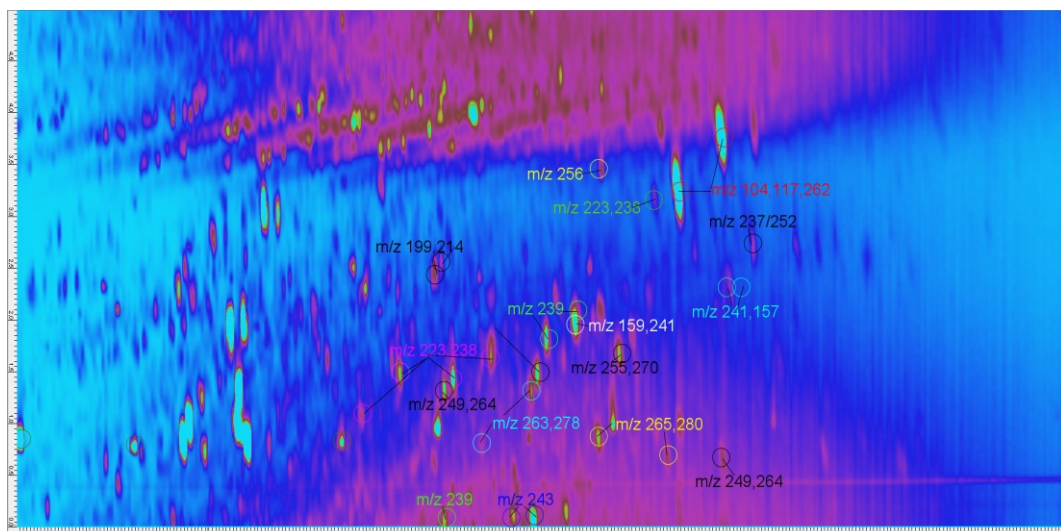


Abbildung 82: Charakteristische Massenfragmente nicht identifizierter Substanzgruppen

Um zumindest die Zusammensetzung dieser charakteristischen Fragmente zu bestimmen, wurde eine Analyse mittels hochauflösender Massenspektrometrie (GC-HR-MS) durchgeführt. Um neben der Bestimmung der Retentionszeiten einen Bezug zum Retentionsbereich der jeweiligen n-Alkane herzustellen erfolgte zuerst Lokalisierung der jeweiligen Verbindungen im eindimensionalen Chromatogramm durch Extraktion der charakteristischen Ionen. Abbildung 83 zeigt dabei ein Beispiel der Lokalisierung der jeweiligen Verbindungen im eindimensionalen Chromatogramm. Dazu erfolgte eine Überlagerung des TIC mit den spezifischen Ionen der höchsten Intensität, welche für eine verbesserte Darstellung mit dem Faktor 100 multipliziert wurden.

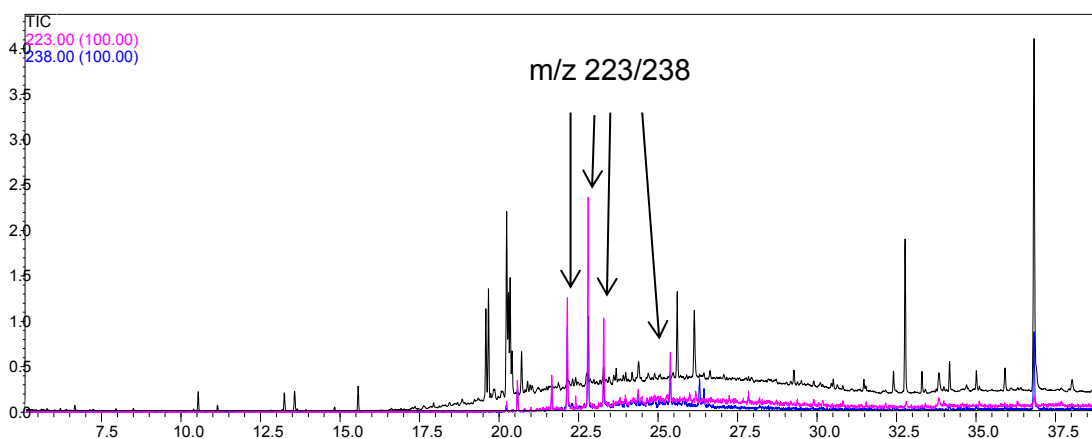


Abbildung 83: Lokalisierung charakteristischer Fragmente anhand von GC-MS

7.3.3.4.1 Hochauflösende Massenspektrometrie

Die hochauflösende Massenspektrometrie diente dem Ziel der zusätzlichen Identifikation einzelner Verbindungen, sowie der Bestimmung der Fragmentzusammensetzung charakteristischer Fragmente einzelner unbekannter Substanzgruppen. Dazu wurden einige ausgewählte Proben mittels eines Thermo Q Exactive™ GC Orbitrap™ GC-MS/MS Systems am Firmensitz von Thermo in Runcorn vermessen.

Um eine möglichst exakte Massenbestimmung zu ermöglichen wurden die Daten dabei mit einer minimalen Massenauflösung aufgezeichnet. Dies diente vor allem zur Eliminierung falsch-positiver Ergebnisse der Datenbanksuche, wie nachfolgendes Beispiel von 1,5-Diisopropylnaphthalen und Dibenzothiophen verdeutlicht.

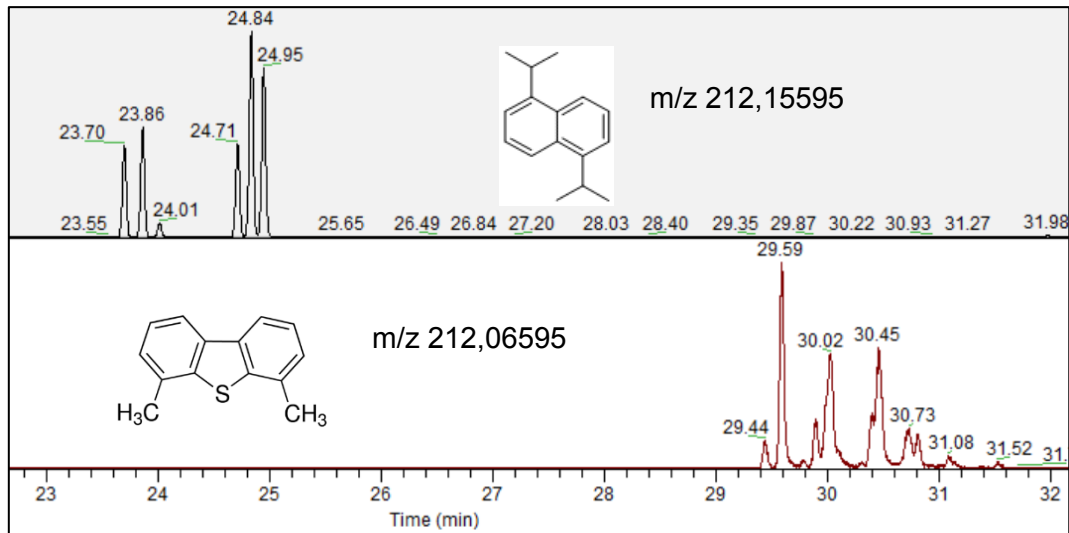


Abbildung 84: Massenbestimmung anhand von HR-GC-MS

Die beiden Verbindungen trennt dabei nur eine Massendifferenz von 0,0899 amu. Bei „normaler“ GC-MS Analyse kann dies zu falsch-positiven Ergebnissen führen, da beide Verbindungen eine nominale Masse von m/z 212 aufweisen, welche nicht unterschieden werden kann. Allerdings ergeben sich auch bei hochauflösender Massenspektrometrie Limitierungen, vor allem bei der Analyse von Kohlenwasserstoffen mit derselben molekularen Masse. Weisen Kohlenwasserstoffe keine Heteroatome auf und sind durch die selbe Summenformel charakterisiert, so kann keine eindeutige Identifizierung der jeweiligen vorliegenden Verbindungen erfolgen. In diesem Fall, wie dies auch bei den Proben auftritt, kann mittels GC-HR-MS ausschließlich die Zusammensetzung der Fragmente bestimmt werden.

Das Vorhandensein von Heteroatomen erleichtert die Identifizierung einzelner Substanzen deutlich. So konnten anhand hochauflösender Massenspektrometrie Dimethyldiphenylether, Dimethylindanone und Methoxynaphthaline eindeutig nachgewiesen werden. 1-Methoxynaphthalin und 2-Methoxynaphthalin konnten dabei bereits anhand des Standardmixes mittels GCxGC-MS nachgewiesen werden. Jedoch ergeben sich auch bei Vorhandensein von Heteroatomen Limitierungen bei Analyse mit hochauflösender Massenspektrometrie, da auch in diesem Fall zwischen an unterschiedlichen Positionen substituierten Isomeren nicht unterschieden werden kann, wie dies die genannten Beispiele zeigen.

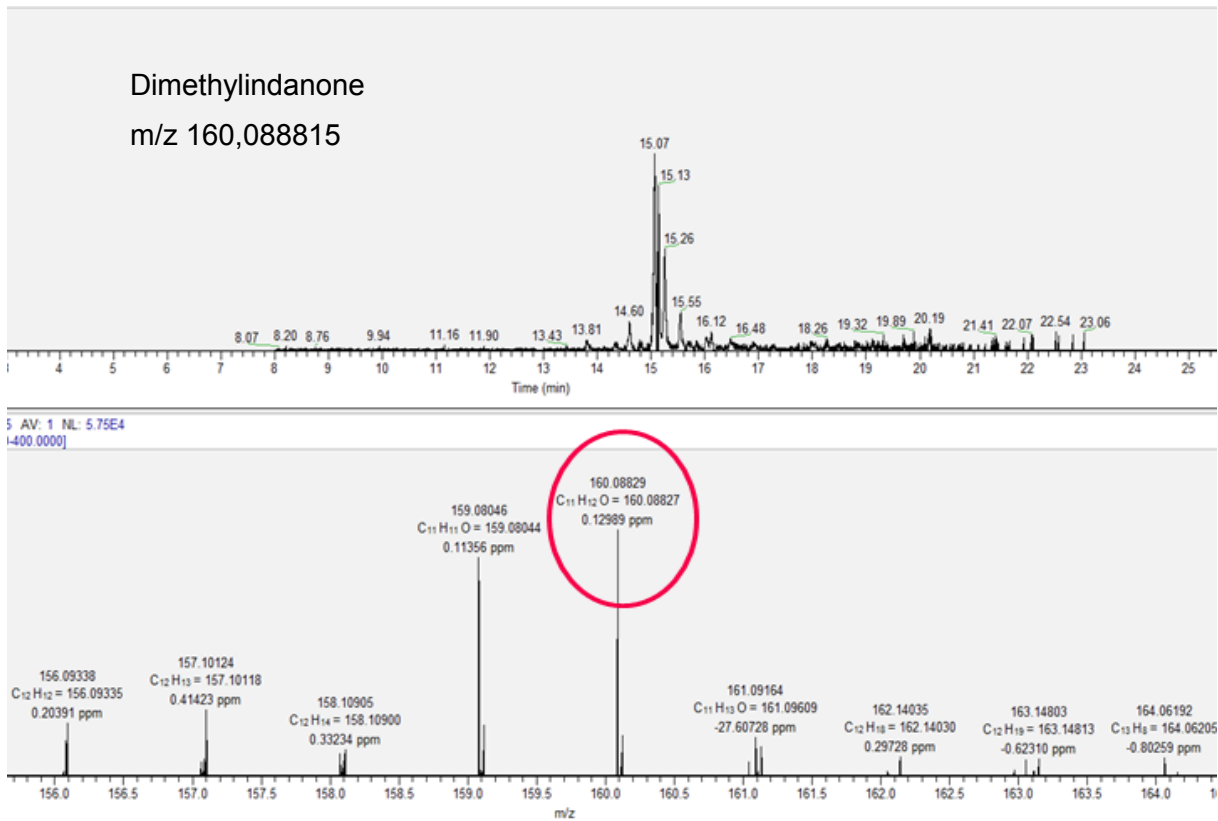


Abbildung 85: Identifikation von Dimethylindanonen mittels GC-HR-MS

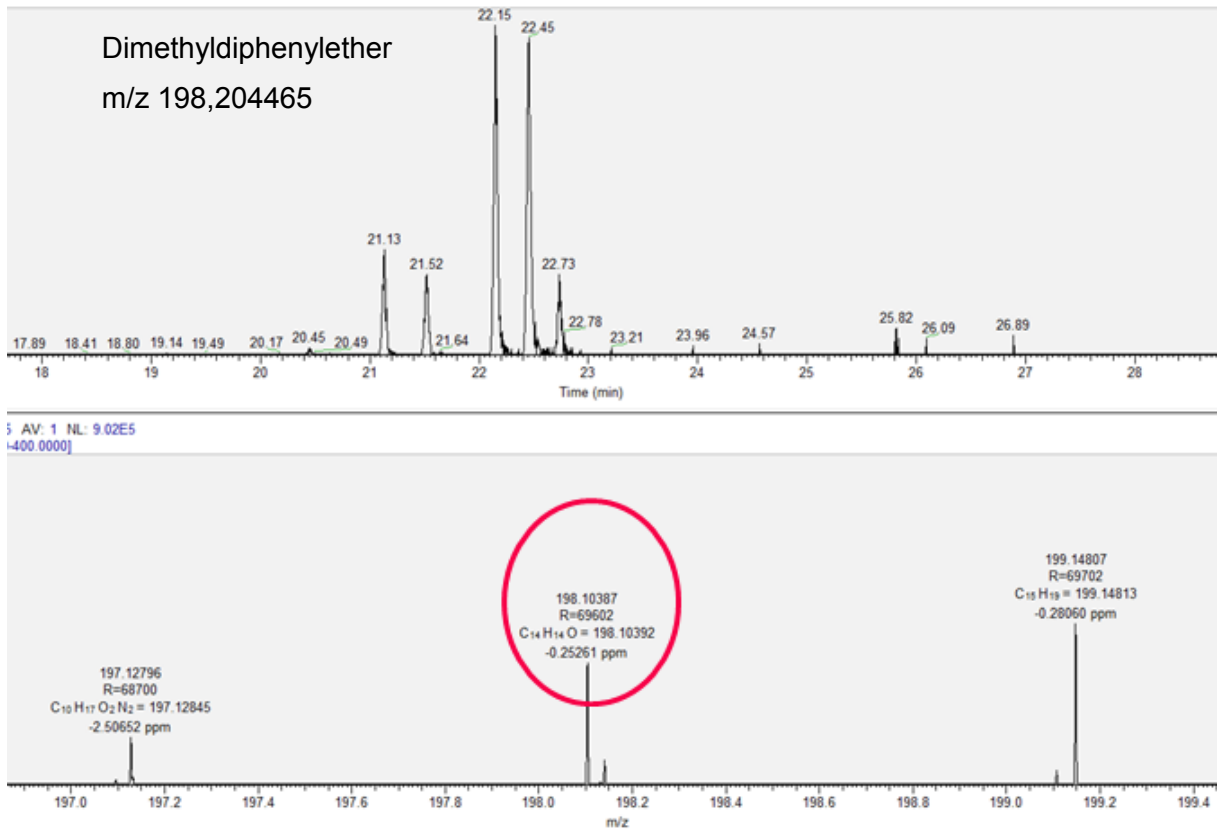


Abbildung 86: Identifikation von Dimethyldiphenylether mittels GC-HR-MS

Für mittels GCxGC-MS nicht identifizierbare Substanzgruppen erfolgte weiterführend eine Bestimmung der charakteristischen Fragmentzusammensetzung, mittels GC-HR-MS. Anhand eines Abgleiches mit den eindimensionalen GC-MS Messungen wurde darüber hinaus der Retentionsbereich der unbekanntesten Verbindungen in Bezug auf die n-Alkane bestimmt. Die so bestimmte Zusammensetzung der jeweiligen Fragmente ist in Tabelle 45 zusammengefasst.

Tabelle 45: Bestimmung der Fragmentzusammensetzung mittels GC-HR-MS

Fragmente	exakte Masse	Fragmentzusammensetzung	RT n-Alkane
104	104,06207	C_8H_8	
117	117,06988	C_9H_9	$C_{21}-C_{22}$
162	262,17160	$C_{20}H_{20}$	
256	256,24005	$C_{16}H_{32}O$	$C_{20}-C_{21}$
257	257,24783	$C_{16}H_{33}O$	
237	237,16385	$C_{18}H_{21}$	$C_{22}-C_{23}$
252	252,18736	$C_{19}H_{24}$	
241	241,19507	$C_{18}H_{25}$	$C_{21}-C_{22}$
157	157,10124	$C_{12}H_{13}$	
199	119,14185	$C_{15}H_{19}$	$C_{19}-C_{20}$
214	214,17169	$C_{16}H_{22}$	
223	223,14185	$C_{17}H_{19}$	$C_{18}-C_{19}; C_{21}-C_{22}$
238	238,17163	$C_{18}H_{22}$	
255	255,21097	$C_{19}H_{27}$	$C_{20}-C_{21}; C_{23}-C_{24}$
270	270,23462	$C_{20}H_{30}$	
241	241,19507	$C_{18}H_{25}$	$C_{20}-C_{21}$
159	159,11681	$C_{12}H_{15}$	
243	243,21073	$C_{18}H_{27}$	$C_{19}-C_{20}$
249	249,16370	$C_{19}H_{21}$	$C_{19}-C_{20}$
264	264,17934	$C_{20}H_{24}$	
239	239,17934	$C_{18}H_{23}$	$C_{18}-C_{20}$
265	265,19525	$C_{20}H_{25}$	$C_{20}-C_{22}$
280	280,21866	$C_{21}H_{28}$	
263	263,17960	$C_{20}H_{23}$	$C_{19}-C_{20}$
278	278,20290	$C_{21}H_{26}$	

7.3.4 Zusammenfassung

Die Analysen zeigten, dass GCxGC-MS eine kraftvolle und aussagekräftige Methode bei der Analyse von Mineralölbestandteilen darstellt. GCxGC-MS erfordert jedoch eine vorangestellte Trennung von MOSH und MOAH, da durch die zeitgleiche Elution gesättigter Mineralölkohlenwasserstoffe und hoch alkylierter Aromaten eine Trennung der beiden Fraktionen mit ausschließlicher Anwendung von GCxGC-MS nicht zu erreichen ist. Die

Analysen zeigten dabei die Wichtigkeit einer exakten Trennung, da es durch eine unsaubere Trennung der beiden Fraktionen zu einem unerwünschten Übertrag von Substanzen der gesättigten Fraktion in die aromatische Fraktion kommen kann.

Aufgrund der Komplexität der MOAH ist es nicht möglich alle vorliegenden Einzelsubstanzen zu identifizieren. Das Problem besteht einerseits darin, dass die MOAH aus zu vielen unterschiedlichen Verbindungen, in Abhängigkeit der Ausgangsmatrix, besteht, andererseits darin, dass viele dieser Verbindungen als Reinsubstanzen nicht verfügbar sind. Neben der Identifikation von Phenylalkanen als die dominierende Substanzklasse in der aromatischen Fraktion konnten noch weitere Substanzklassen unterschiedlich substituierter Biphenyle und Naphthaline identifiziert werden, wobei eine eindeutige Zuordnung aller Analoga aufgrund nicht verfügbarer Standardsubstanzen nicht möglich war. Darüber hinaus konnte anhand von verfügbaren Standardsubstanzen eine geringe Anzahl an einzelnen aromatischen Verbindungen der MOAH identifiziert werden. Hochauflösende Massenspektrometrie ermöglichte zusätzlich die Bestimmung der Fragmentzusammensetzung charakteristischer Fragmente unbekannter Substanzgruppen.

Eine Charakterisierung der MOAH kann daher zum derzeitigen Stand ausschließlich nach allgemeinen Eigenschaften, wie der Zugehörigkeit zu spezifischen Substanzklassen, Anzahl der aromatischen Ringe und der molekularen Masse einzelner Verbindungen bzw. charakteristischer Fragmente dieser, erfolgen. Die analysierten Fraktionen zeigen zwar einzelne identifizierbare Peaks, ein Großteil der Fraktionen der Proben ist jedoch durch hochkomplexe, verschwommene Bereiche nicht aufgelöster Verbindungen charakterisiert, welche mit zunehmender Retentionszeit und zunehmendem Molekulargewicht der Verbindungen ausgeprägter werden. Zunehmendes Molekulargewicht bedeutet dabei primär eine höhere Alkylierung im Gegensatz zu einer größeren Anzahl aromatischer Ringe. Dies bedeutet somit eine höhere Anzahl an Isomeren.

Für eine toxikologische Risikoevaluierung, welche der nächste Schritt bei der Bestimmung der Relevanz von Mineralölverbindungen als Lebensmittelkontaminanten ist, ist eine Identifizierung aller einzelnen in der MOAH vorliegenden Substanzen jedoch unerlässlich. Dahingehend ist eine toxikologische Evaluierung der MOAH in naher Zukunft nicht sehr vielversprechend.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die mehrdimensionale GCxGC Technik in Kombination mit hochauflösender Massenspektrometrie durchaus in der Lage ist wertvolle Informationen über die chemische und strukturelle Zusammensetzung von Mineralölverunreinigungen in Papier- und Kartonproben zu liefern. Dennoch besteht weiterer

Handlungsbedarf in der Aufklärung der Zusammensetzung, die letztendlich eine korrekte Risikoabschätzung ermöglicht.

8 Literaturverzeichnis

- Adahchour M, Brandt M, Baier H-U, Vreuls RJJ, Batenburg M, Brinkmann UAT. 2005. Comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to a rapid-scanning quadrupole mass spectrometer: principles and applications. *J Chromatogr A*. 1067: 245-254
- Albero B, Sánchez-Brunete C, Miguel E, Pérez RA, Tadeo JL. 2012. Determination of selected organic contaminants in soil by pressurized liquid extraction and gas chromatography tandem mass spectrometry with in situ derivatization. *J Chromatogr A*. 1248: 9-17
- Anderson WAC, Castle L. 2003. Benzophenone in cardboard packaging materials and the factors that influence its migration into food. *Food Addit Contam*. 20(6): 607-618
- Ardrey RE. 2003. *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry - An Introduction*. Chichester: John Wiley & Sons
- Audebert M, Dolo L, Perdu E, Cravedi J, Zalko D. 2011. Use of the γ -H2AX assay for assessing the genotoxicity of bisphenol A and bisphenol F in human cell lines. *Arch. Toxicol*. 85: 1463–1473
- Aurela B, Kulmala H, Söderhjelm L. 1999. Phthalates in paper and board packaging and their migration into tenax. *Food Addit Contam*. 16(12): 571-577
- Aurela B, Ohra-aho T, Söderhjelm L. 2001. Migration of alkylbenzenes from packaging into food and tenax[®]. *Packag Technol Sci*. 14: 71-77
- Bach C, Dauchy X, Chagnin MC, Etienne S. 2012. Chemical compounds and toxicological assessments of drinking water stored in polyethylene terephthalate (PET) bottles: A source of controversy reviewed. *Water Research*. 46: 571-583
- Bae B, Jeong JH, Lee SJ. 2002. The quantification and characterization of endocrine disrupter bisphenol-A leaching from epoxy resin. *Water Sci Technol*. 46: 381-387
- Balogh MP. 2004. Debating resolution and mass accuracy in mass spectrometry. *Spectroscopy* 19: 34-38
- Baradie B, Shoichet MS. 2005. Novel fluoro-terpolymers for coatings applications. *Macromolecules*. 38(13): 5560–5568
- Barp L, Purcaro G, Moret S, Conte LS. 2013. A high-sample-throughput LC-GC method for mineral oil determination. *J Sep Sci*. 36: 3135-3139
- Barp L, Kornauth C, Wueger T, Rudas M, Biedermann M, Reiner A, Concini N, Grob K. 2014. Mineral oil in human tissues, Part I: Concentrations and molecular mass distributions. *Food Chem Toxicol*. 72: 312-321

- Barp L, Suman M, Lambertini F, Moret S. 2015a. Migration of selected hydrocarbon contaminants into dry pasta packed in direct contact with recycled paperboard. *Food Addit Contam Part A*. 32(2): 271-283
- Barp L, Suman M, Lambertini F, Moret S. 2015b. Migration of selected hydrocarbon contaminants into dry semolina and egg pasta packed in direct contact with virgin paperboard and polypropylene film. *Food Addit Contam Part A*. 32(9): 1542-1551
- Becerra V, Odermatt J. 2012. Detection and quantification of traces of bisphenol A and bisphenol S in paper samples using analytical pyrolysis-GC/MS. *Analyst*. 137: 2250-2259
- BfR (Bundesamt für Risikobewertung). 2009. Übergänge von Mineralöl aus Verpackungsmaterialien auf Lebensmittel, Stellungnahme Nr.008/2010 des BfR vom 09. Dezember 2009 [Internet]. [citet 2016 Sept 13]. Available from: http://www.bfr.bund.de/cm/343/uebergaenge_von_mineraloel_aus_verpackungsmaterialien_auf_lebensmittel.pdf
- BfR (Bundesamt für Risikobewertung). 2011a. Bestimmung von Kohlenwasserstoffen aus Mineralöl (MOSH und MOAH) oder Kunststoffen (PSH, PAO) in Verpackungsmaterialien und trockenen Lebensmitteln mittels Festphasenextraktion und GC-FID [Internet]. [citet 2016 Sept 6]. Available from: <http://www.bfr.bund.de/cm/343/bestimmung-von-kohlenwasserstoffen-aus-mineraloel-oder-kunststoffen.pdf>
- BfR (Bundesamt für Risikobewertung). 2011b. 7.Sitzung der BfR-Kommission für Bedarfsgegenstände, Protokoll der Sitzung vom 14, p 9. [Internet]. [citet 2016 Sept 19]. Available from: http://www.bfr.bund.de/cm/343/7_sitzung_der_bfr_kommission_fuer_bedarfsgegenstaend.pdf
- BfR (German Federal Institute for Risk Assessment) (2012a). 10. Sitzung der BfR-Kommission für Bedarfsgegenstände, Protokoll vom 29. November 2012. p 6. [Internet]. [citet 2016 Sept 19]. Available from: <http://www.bfr.bund.de/cm/343/10-sitzung-der-bfr-kommission-fuer-bedarfsgegenstaende.pdf>
- BfR (German Federal Institute for Risk Assessment) (2012b). Messung von Mineralöl-Kohlenwasserstoffen in Lebensmitteln und Verpackungsmaterialien. Stellungnahme des BfR vom 04. Mai 2012 [Internet]. [citet 2016 Nov 21]. Available from: <http://www.bfr.bund.de/cm/343/messung-von-mineraloel-kohlenwasserstoffen-in-lebensmitteln-und-verpackungsmaterialien.pdf>
- Biedermann M, Grob K. 2009. Comprehensive two-dimensional GC after HPLC prepreparation for the characterization of aromatic hydrocarbons of mineral oil origin in contaminated sunflower oil. *J Sep Sci*. 32: 3726-3737

- Biedermann M, Fiselier K, Grob K. 2009. Aromatic hydrocarbons of mineral oil origin in foods: method for determining the total concentration and first results. *J Agric Food Chem.* 57: 8711-8721
- Biedermann M, Grob K. 2010. Is recycled newspaper suitable for food contact materials? Technical grade mineral oils from printing inks. *Eur Food Res Technol.* 230: 785-796
- Biedermann M, Grob K. 2012. On-line coupled high performance liquid chromatography-gas chromatography for the analysis of contamination by mineral oil. Part 1: Method of analysis. *J Chromatogr A.* 1255: 56-75
- Biedermann M, Barp L, Kornauth C, Wüger T, Rudas M, Reiner A, Concini N, Grob K. 2015. Mineral oil in human tissues, Part II: Characterization of the accumulated hydrocarbons by comprehensive two-dimensional gas chromatography. *Sci Total Environ.* 506-507: 644-655
- Biedermann S, Tschudin P, Grob K. 2010. Transfer of bisphenol A from thermal printer paper to the skin. *Anal Bioanal Chem.* 398: 571-576
- Boitsov S, Meier S, Klungsøyr J, Svoldal A. 2004. Gas chromatography-mass spectrometry analysis of alkylphenols in produced water from offshore oil installations as pentafluorobenzoate derivatives. *J Chromatogr A.* 1059: 131-141
- Bradley EL, Castle L, Jickells AM, Mountfort KA, Read WA. 2009. Use of overall migration methodology to test for food-contact substances with specific migration limits. *Food Addit Contam.* 26: 574-582
- Bradley EL, Stamatii M, Salkinoja-Salonen M, Andersson M, Bertaud F, Hoornstra D, Zucco F, Weber A, Turco L, Traussnig H, Hakulinen P, Speck DR, von Wright U, Honkalampi-Hämäläinen J, Paakkanen J, Severin I, Lhuguenot J-C, Dahlmann O. 2010. Test procedures for obtaining representative extracts suitable for reliable in vitro toxicity assessments of paper and board intended for food contact. *Food Addit Contam.* 27: 262-271
- Bradley EL, Castle L, Speck DR. 2014. Model studies from paper and board into fruit and vegetables and into TenaxTM as a food simulant. *Food Addit Contam Part A.* 31 (7): 1301-1309
- Bristow AWT. Accurate mass measurement for the determination of elemental formula - a tutorial. *Mass Spectrom Rev.* 25: 99-111.
- Busch KL, Glish GL, McLuckey SA. 1988. *Mass Spectrometry/Mass Spectrometry.* New York: Wiley VCH
- Castle L. 2004. A03021: Migration from recycled paper and board to dry foods. Research into the factors involved, leading to practical avoidance and amelioration measures [Internet]. London (UK): Food Standards Agency; [cited 2016 Aug 9]. Available from: http://www.foodbase.org.uk/results.php?f_report_id=640

- Česen M, Lambropoulou D, Laimou-Geraniou M, Kosjek T, Blaznik U, Heath D, Heath E. 2016. Determination of bisphenols and related compounds in honey and their migration from selected food contact materials. *J Agric Food Chem.* 64: 8866-8875
- Chen MY, Ike M, Fujita M. 2002. Acute toxicity, mutagenicity, and estrogenicity of bisphenol-A and other bisphenols. *Environ Toxicol.* 17: 80-86
- Chen M, Tao L, Collins EM, Austin C, Lu C. 2012. Simultaneous determination of multiple phthalate metabolites and bisphenol A in human urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B.* 904: 73-80
- Cortes HJ. 1992. Developments in multidimensional separation systems. *J Chromatogr A.* 626(1): 3-23
- Council of Europe. 2002. Council of Europe Resolution AP (2002) 1 on paper and board materials and articles intended to come into contact with foodstuffs [Internet]. [citet 2016 Aug 8]. Available from:
[https://wcd.coe.int/ViewDoc.jsp?p=&Ref=ResAP\(2002\)1&Language=lanEnglish&Ver=original&direct=true](https://wcd.coe.int/ViewDoc.jsp?p=&Ref=ResAP(2002)1&Language=lanEnglish&Ver=original&direct=true)
- Council of Europe. 2009. Policy statement concerning paper and board materials and articles intended to come in contact with foodstuffs – Version 4 [Internet]. [citet 2016 Aug 8]. Available from:
https://search.coe.int/cm/Pages/result_details.aspx?ObjectID=09000016804e4794
- Cunha, SC, Fernandes JO. 2010. Quantification of free and total bisphenol A and bisphenol B in human urine by dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) and heart-cutting multidimensional gas chromatography–mass spectrometry (MD-GC/MS). *Talanta.* 83: 117–125.
- Danzl E, Sei K, Soda S, Ike M, Fujita M. 2009. Biodegradation of bisphenol A, bisphenol F and bisphenol S in seawater. *Toxicol Appl Pharmacol.* 228: 114-134
- Dekant W, Völkel W. 2008. Human exposure to bisphenol A by monitoring: Methods, results and assessment of environmental exposures. *Toxicol Appl Pharmacol.* 228: 114-134
- Dettmer-Wilde K, Engewald K. (Hrsg.). 2014. Practical gas chromatography: a comprehensive reference. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag
- Dima G, Verzera A, Grob K. 2011. Migration of mineral oil from party plates of recycled paperboard into foods: 1. Is recycled Paperboard fit for purpose? 2. Adequate testing procedure. *Food Addit Contam.* 11: 1619-1628
- DIN. 1994. DIN EN 645 - Papier und Papper vorgesehen für den Kontakt mit Lebensmitteln – Herstellung eines Kaltwasserextraktes
- Dirtu AC, Roosens L, Geens T, Gheorghe A, Neels H, Covaci A. 2008. Simultaneous determination of bisphenol A, triclosan, and tetrabrombisphenol A in human serum using

- solid-phase extraction and gas chromatography-electron capture negative-ionization mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem.* 391: 1175-1181
- Dole RB (Hrsg.). 1997. *Electrospray Ionization Mass Spectrometry- Fundamentals, Instrumentation and Applications*; Dole RB, (Hrsg.). Chichester: John Wiley & Sons
- Droz C, Grob K. 1997. Determination of food contaminatin by mineral oil material from printed cardboard using on-line coupled LC-GC-FID. *Z Lebensm Unters Forsch A.* 205: 239-241
- EFSA. 2006. Scientific opinion on 2,-bis(4-hygroxyphenyl)propane (Bisphenol A). *EFSA J.* 428: 1-75
- EFSA. 2010. Opinion on Flavouring Group Evaluation 25, Rev. 1: aliphatic and aromatic hydrocarbons from chemical group 31. EFSA panel on food contact materials, enzymes, flavourings and processing aids (CEF). *EFSA J.* 8: 1334
- EFSA. 2012. Opinion on mineral oil hydrocarbons in food. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). *EFSA J.* 10(6): 2074-2269
- EFSA [Internet]. 2014. Parma: European Food Safety Authority; [citet: 2014 Jul 9]. Available from: <http://www.efsa.europa.eu/en/press/news/140117.htm>
- EFSA. 2015a. Scientific Opinion on the risks to public health related to the presence of bisphenol A (BPA) in foodstuffs. *EFSA J.* 13: 3978-4000.
- EFSA [Internet]. 2015b. Parma: European Food Safety Authority; [citet: 2015 Feb 3]. Available from: <http://www.efsa.europa.eu/de/corporate/pub/factsheetbpa150121.htm>
- European Commission. 1982. Council Directive 82/711/EEC of October 1982 laying down the basic rules necessary for testing migration of constituents of plastic materials and articles in contact with foodstuffs. *Off J Europ Comm.* L297/25: 26-30
- European Commission. 1985. Council Directive 85/575/EEC of December 1985 laying down the list of simulants to be used for testing migration of constituents of plastic materials and articles in contact with foodstuffs. *Off J Europ Comm.* L374/14: 14-21
- European Commission [Internet]. 2002. Final Opinion of the Scientific Committee on Food on Bisphenol A; [zitiert: 04.01.2014]; von: ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out128_en.pdf
- European Commission. 2004. Regulation (EC) No. 1935/2004 of the European Parliament and the Council of 27 October 2004 on materials and articles intended to come into contact with foodstuffs and Repealing Directives 80/590/EEC and 89/109/EEC (L338/4) [Internet]. [citet 2016 Aug 8]. Available from: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/en/ALL/?uri=CELEX%3A32004R1935>
- European Commission. 2011. Commission Regulation (EU) No 10/2011 of 14 January 2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food. *Off. J. of the European Union* 2011 vol.54 L12/1

- European Union. 2002. Eu-Project FAIR-CT98-4318 'Recyclability'. Programme on the recyclability of food packaging materials with respect to food safety considerations – polyethylene terephthalate (PET), paper & Board and plastics covered by functional barriers. Final Project Report. [Internet]. [citet 2016 Aug 8]. Available from: https://www.google.at/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&ved=0ahUKEwjE6Lyi zrHOAhXJVRQKHeyMCV0QFggnMAE&url=http%3A%2F%2Fbookshop.europa.eu%2Fhu%2Fprogramme-on-the-recyclability-of-food-packaging-materials-with-respect-to-food-safety-considerations-polyethylene-terephthalate-pet-paper-board-and-plastics-covered-by-functional-barriers-pbEUNA20249%2Fdownloads%2FEU-NA-20-249-ENC%2FEUNA20249ENC_001.pdf%3Bpgid%3Dy8dIS7GUWMDSR0EAIMEUUsWb0000BeWpEuxA%3Bsid%3DnYA0beuppzU0cbikT7iqyomMP0NIPUIq4dA%3D%3FFileName%3DEUNA20249ENC_001.pdf%26SKU%3DEUNA20249ENC_PDF%26CatalogueNumber%3DEUNA-20-249-ENC-C&usq=AFQjCNFFqI_n0IC5b9oRCrZy3XhDq4bYYPQ&sig2=iErgLhwikLe8Aup_boxIMw&cad=rja
- Feigenbaum A, Dole P, Aucejo S, Dainelli D, De La Cruz Garcia C, Hankemeier T, N'gono Y, Papaspyrides CD, Paseiro P, Pastorelli S. 2005. Functional barriers: properties and evaluation. *Food Addit Contam.* 22: 956-967
- Feng Y, Yin J, Jiao Z, Shi J, Li M, Shao B. 2012. Bisphenol AF may cause testosterone reduction by directly affecting testis function in adult male rats. *Toxicol Lett.* 211: 201-209
- Fenlon KA, Johnson AC, Tyler CR, Hill EM. 2010. Gas-liquid chromatography-tandem mass spectrometry methodology for the quantification of estrogenic contaminants in bile of fish exposed to wastewater treatment works effluents and from wild populations. *J Chromatogr A.* 1217: 112-118
- Fiselier K, Rutschmann E, McCombie G, Grob K. 2010. Migration of di(2-ethylhexyl) maleate from cardboard boxes into foods. *Eur Food Res Technol.* 230: 619-626
- Fiselier K, Grob K. 2011. Barriers against migration of mineral oil from paperboard food packaging: experimental determination of breakthrough periods. *Packag Technol Sci.* 25(5): 285-301
- Fiselier K, Grundböck F, Schön K, Kappenstein O, Pfaff K, Hutzler C, Luch A, Grob K. 2013. Development of a manual method for the determination of mineral oil in foods and paperboard. *J Chromatogr A.* 1271: 192-200
- Folch J, Lees M, Solane Stanley GH. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem.* 226: 497-507
- Gärtner S, Balski M, Koch M, Nehls I. 2009. Analysis and migration of phthalates in infant food packed in recycled paperboard. *J Agric Food Chem.* 57: 10675-10681

- Gallart-Ayala H, Moyano E, Galceran MT. 2011. Analysis of bisphenols in soft drinks by on-line solid phase extraction fast liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Chim Acta*. 683: 227-233
- Gallart-Ayala H, Núñez O, Lucci P; 2013. Recent advances in LC-MS analysis of food-packaging contaminants. *Trends Anal Chem*. 42: 99-124
- Geens T, Neels H, Covaci A. 2009. Sensitive and selective methods for the determination of bisphenol-A and triclosan in serum and urine as pentafluorobenzoate-derivates using GC-ECNI/MS. *J Chromatogr B*. 877: 4042-4046
- Geens T, Goeyens L, Kannan K, Neels H, Covaci A. 2012. Levels of bisphenol-A in thermal paper receipts from Belgium and estimation of human exposure. *Sci total Environ*. 435-436: 30-33
- Gehring M, Vogel D, Tennhardt L, Weltin D, Bilitewski B. 2004. Bisphenol A contamination of wastepaper, cellulose and recycled paper products. *Waste Manage Environ II*. 78: 294-300
- Geuke Birgit. 2014. Dossier-Bisphenol S [internet]. [citet 2016 Jul 18]. Available from: https://www.google.at/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwjyGNTp8_zNAhVMtBoKHcCeCAIQFgggtMAE&url=http%3A%2F%2Fwww.foodpackagingforum.org%2Fwp-content%2Fuploads%2F2015%2F11%2FFFPF_Dossier05_BPS.pdf&usg=AFQjCNHnO3RUTU0IldmpBBhQddqJmIMtQ&sig2=_N41h-bVr4O2u3lzl98mxg
- Goldinger DM, Demierre A-L, Zoller O, Rupp H, Reinhard H, Magnin R, Becker TW, Bourqui-Pittet M. 2015. Endocrine activity of alternatives to BPA found in thermal paper in Switzerland; *Regul Toxicol Pharm*. 71: 453-462
- Gómez MJ, Agüera A, Mezcua M, Hurtado J, Mocholí F, Fernández-Alba AR. 2007. Simultaneous analysis of neutral and acidic pharmaceuticals as well as related compounds by gas chromatography-tandem mass spectrometry in wastewater. *Talanta*. 73: 314-320
- Grignard E, Lapenna S, Bremer S. 2012. Weak estrogenic transcriptional activities of bisphenol A and bisphenol S. *Toxicol In Vitro*. 26: 727-731.
- Grob K, Biedermann M, Scherbaum E, Roth M, Rieger K. 2006. Food contamination with organic materials in perspective: packaging materials as the largest and least controlled source? A view focusing on the European situation. *Cri Rev Food Sci Nutr*. 46 (7): 529-535
- Gross JH. 2011. *Massenspektrometrie. Ein Lehrbuch*. Berlin:Springer
- Grumetto L, Montesano D, Seccia S, Albrizio S, Barbato F. 2008. Determination of bisphenol A and bisphenol B residues in canned peeled tomatoes by reversed-phase liquid chromatography. *J Agric Food Chem*. 56: 10633-10637
- Guilhaus M, Selby D, Mlynski V. 2000. Orthogonal acceleration time-of-flight mass spectrometry. *Mass spectrum Rev*. 19(2): 65-107

- Haigthon LA, Hlywka JJ, Dull J, Kroes R, Lynch BS, Munro IC. 2002. An evaluation of the possible carcinogenicity of bisphenol A to humans. *Regul Toxicol Pharmacol.* 35: 238-254
- Hernando MD, Mezcuca M, Gómez MJ, Malato O, Agüera A, Fernández-Alba AR. 2004. Comparative study of analytical methods involving gas chromatography-mass spectrometry after derivatization and gas chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of selected endocrine disrupting compounds in wastewaters. *J Chromatogr A.* 1047: 129-135
- Hibberd A, Maskouki K, Zhang Z, Zhou JL. 2009. An improved method for the simultaneous analysis of phenolic and steroidal estrogens in water and sediment. *Talanta.* 77: 1315-1321
- Hunt DF, Stafford GC, Crow FW. 1976. Pulsed Positive- and Negative-Ion CI-MS. *Anal. Chem.* 48: 2098-2104
- Ike M, Chen MY, Danzl E, Sei K, Fujita M. 2006. Biodegradation of a variety of bisphenols under aerobic and anaerobic conditions. *Water Sci. Technol.* 53 (6): 153-159.
- Jamnicky S, Handke T, Härting M, Lozo B, Jakovljević M. 2015. Deinking possibilities in the reduction of mineral oil hydrocarbons from recovered paper grades. *Cellulose Chem Technol.* 49(7-8): 667-684
- Jeannot R, Sabik H, Sauvard E, Dagnac T, Dohrendorf K. 2002. Determination of endocrine-disrupting compounds in environmental samples using gas and liquid chromatography with mass spectrometry. *J Chromatogr A.* 974: 143-159
- Jickells SM, Poulin J, Mountfort KA, Fernández-Ocaña M. 2005. Migration of contaminants by gas phase transfer from carton board and corrugated board box secondary packaging into foods. *Food Addit Contam.* 22(8): 768-782
- JECFA. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives [Internet]. 2002. Evaluation of certain food additives: fifty-ninth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series 913. [cited 2016 Sept 5]. Available from: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_913.pdf
- JECFA. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives [Internet]. 2012. Evaluation of certain food additives: seventy-sixth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series 974. [cited 2016 Sept 14]. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/77752/1/WHO_TRS_974_eng.pdf?ua=1
- Jiao Y, Ding L, Fu S, Zhu S, Li H, Wang L. 2012. Determination of bisphenol A, bisphenol F and their diglycidyl ethers in environmental water by solid phase extraction using magnetic multiwalled carbon nanotubes followed by GC-MS/MS. *Anal Methods.* 4: 291-298
- Jung T, Simat TJ, Altkofer W. 2010. Mass transfer ways of ultraviolet printing ink ingredients into foodstuffs. *Food Addit Contam.* 27(7): 1040-1049

- Jurek A, Leitner E. 2015. Comparing different gas chromatographic methods for the quantification of bisphenol A (BPA) trace levels in paper and cardboard products from the market. *Food Addit Contam.* 32(8): 1331-1342
- Kassauf A, Maalouly J, Chebib H, Rutledge DN, Ducruet V. 2013. Chemometric tools highlight non intentionally added substances (NIAS) in polyethylene terephthalate (PET). *Talanta.* 115: 928-937
- Kelly C. 2000. Analysis of steroids in environmental water samples using solid-phase extraction and ion-trap gas chromatography-mass spectrometry and gas chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A.* 872: 309-314
- Kitamura S, Suzuki T, Sanoh S, Kohta R, Jinno N, Sugihara K, Yoshihara S, Fujimoto N, Watanabe H, Ohta S. 2005. Comparative study of the endocrine-disrupting activity of Bisphenol A and 19 related compounds. *Toxicol. Sci.* 84: 249–259.
- Konno Y, Suzuki H, Kudo H, Kameyama A, Nishikubo T. 2004. Synthesis and properties of fluorine-containing poly(ether)s with pendant hydroxyl groups by the polyaddition of bis(oxetane)s and bisphenol AF. *Polym J.* 36(2):114–122
- Kosarac I, Kubwabo C, Lalonde K, Forster W. 2012. A novel method for the quantitative determination of free and conjugated bisphenol A in human maternal serum and umbilical cord blood serum using a two-step solid phase extraction and gas chromatography/tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B.* 898: 90-94
- Kosjek T, Heath E, Kompare B. 2007. Removal of pharmaceutical residues in a pilot wastewater treatment plant. *Anal Bioanal Chem.* 387: 1379-1387
- Kuch HM, Ballschmiter K. 2001. Determination of endocrine-disrupting phenolic compounds and estrogens in surface and drinking water by HRGC-(NCl)-MS in the picogram per liter range. *Environ Sci and Technol.* 35: 3201-3206
- Kuklenyik Z, Ekong J, Cutchins C D, Needham LL, Calafat AM. 2003. Simultaneous measurement of urinary bisphenol A and alkylphenols by automated solid-phase extractive derivatization gas chromatography/ mass spectrometry. *Anal Chem* 75: 6820-6825
- Lee S, Liao C, Song GJ, Ra K, Kannan K. 2015. Emission of bisphenol analogues including Bisphenol A and Bisphenol F from wastewater treatment plants in Korea. *Chemosphere.* 119: 1000-1006
- Leks-Stepien J. 2011. Paper packaging material and food safety. *Int Circ Educ Inst Graph Arts Technol.* 4: 49-51
- Leslie AD, Volmer DA. 2007. Dealing with the masses: a tutorial on accurate masses, mass uncertainties, and mass defects. *Spectroscopy.* 22: 32,34-32,39

- Li X, Ying GG, Su HC, Yi XB, Wang L. 2010. Simultaneous determination and assessment of 4-nonylphenols, bisphenol A and triclosan in tap water, bottled water and baby bottles; *Environ Int.* 36: 557-562
- Liao C, Kannan K. 2011. Widespread occurrence of bisphenol A in paper and paper products: implications for human exposure. *Environ Sci Technol.* 45: 9372-9379
- Liao C, Kannan K. 2012. Bisphenol S, a new bisphenol analogue, in paper products and currency bills and its association with bisphenol A residues. *Environ Sci Technol.* 46: 6515-6522
- Liao C, Liu F, Guo Y, Moon H-B, Nakata H, Wu Q, Kannan K. 2012a. Occurrence of eight bisphenol analogues in indoor dust from the United States and several Asian countries: implications for human exposure; *Environ Sci Technol.* 46(16): 9138-9145
- Liao C, Liu F, Alomirah H, Loi VD, Mohd MA, Moon H-B, Nakata H, Kannan K. 2012b. Bisphenol S in human urine from the United States and seven Asian countries: occurrence and human exposure; *Environ Sci Technol.* 46: 6860-6866
- Liao C, Kannan K. 2013. Concentration profiles of bisphenol A and other bisphenol analogues in foodstuffs from the United States and their implications for human exposure. *Agric Food Chem.* 61: 4566-4662
- Liao C, Kannan K. 2014. Survey of alkylphenols, bisphenols and triclosan in personal care products from China and the United States. *Arch Environ Contam Toxicol.* 67: 50-59
- Liu Z, Philipps JB. 1991. Comprehensive two-dimensional gas chromatography using an on-column thermal modulator interface. *J Chromatogr Sci.* 29(6): 227-231
- Lo Presti M, Sciarrone D, Crupi ML, Costa R, Ragusa S, Dugo G, Mondello L. 2008. Evaluation of the volatile and chiral composition in *Pistacia lentiscus* L. essential oil. *Flavour Fragr J.* 23(4): 249-257
- Lorenzini R, Fiselier K, Biedermann M, Barbanera M, Braschi I, Grob K. 2010. Saturated and aromatic mineral oil hydrocarbons from paperboard food packaging: estimation of long-term migration from contents in the paperboard and data on boxes from the market. *Food Addit Contam.* 27(12): 1765-1774
- Lorenzini R, Biedermann M, Grob K, Garbini D, Barbanera M, Braschi I. 2013. Migration kinetics of mineral oil hydrocarbons from recycled paperboard to dry food: monitoring of two real cases. *Food Addit Contam Part A.* 30(4): 760-770
- Lu J, Wu J, Stoffella J, Wilson C. 2013. Analysis of Bisphenol A, Nonylphenol, and Natural Estrogens in Vegetables and Fruits using Gas Chromatography-tandem mass spectrometry. *J Agr Food Chem.* 61: 84-89
- Mariott P, Shellie R. 2002. Principles and applications of comprehensive two-dimensional gas chromatography. *Trend Anal Chem.* 21(9-10): 573-585

- Mariani MB, Chiacchierini E, Gesumundu C. 1999. Potential migration of diisopropyl naphthalenes from recycled paperboard packaging into dry foods. *Food Addit Contam.* 16(5): 207-213
- Marshall AG, Hendrickson CL. 2008. High-resolution mass spectrometers. *Annu Rev Anal Chem.* 1: 579-599
- McKeown M. 1980. Instrumentation for negative ion detection. *Environ Health Perspect.* 36: 97-102
- McLafferty FW (Hrsg). 1983. *Tandem Mass Spectrometry*. New York: John Wiley & Sons
- Mendum T, Stoler E, VanBenschoten H, Warner JC. 2011. Concentration of bisphenol A in thermal paper. *Green Chem Lett Rev.* 4(1): 81-86
- Möder M, Braun P, Lange F, Schrader S, Lorenz W. 2007. Determination of endocrine disrupting compounds and acidic frugs in water by coupling of derivatization, gas chromatography and negative-chemical ionization mass spectrometry. *Clean.* 35 (5): 444-451
- Mondello L, Lewis AC, Bartle KD (Hrsg). 2002. *Multidimensional chromatography*. Chichester: Wiley
- Mondello L, Casilli A, Tranchida PQ, Dugo G, Dugo P. 2005. Comprehensive two-dimensional gas chromatography in combination with rapid scanning quadrupole mass spectrometry in perfume analysis. *J Chromatogr A.* 1067: 234-243
- Mondello L, Casilli A, Tranchida PQ, Furukawa M, Komori K, Miseki K, Dugo P, Dugo G. 2006. Fast enantiomeric analysis of a complex essential oil with an innovative multidimensional gas chromatographic system. *J Chromatogr A.* 1105: 11-16
- Mondello L, Tranchida PQ, Dugo P, Dugo G. 2008. Comprehensive two-dimensional gas chromatography-mass spectrometry: a review. *Mass Spectrom Rev.* 27: 101-124
- Mondello L. 2011. *Comprehensive chromatography in combination with mass spectrometry*. Hoboken: John Wiley & Sons
- Mondello L, Zoccali M, Purcaro G, Franchina FA, Sciarrone D, Moret S, Conte L, Tranchida PQ. 2012. Determination of saturated-hydrocarbon contamination in baby foods by using on-line liquid-gas chromatography and off-line liquid chromatography-comprehensive gas chromatography combined with mass spectrometry. *J Chromatogr A.* 1259: 221-226
- Moret S, Barp L, Grob K, Conte LS. 2011. Optimised off-line SPE-GC-FID method for the determination of mineral oil saturated hydrocarbons (MOSH) in vegetable oils. *Food Chem.* 129: 1898-1903
- Moret S, Barp L, Purcaro G, Conte LS. 2012. Rapid and sensitive solid phase extraction-large volume injection-gas chromatography for the analysis of mineral oil saturated and aromatic hydrocarbons in cardboard and dried foods. *J Chromatogr A.* 1243: 1-5

- Moret S, Scolaro M, Barp L, Purcaro G, Sander M, Conte LS. 2014. Optimisation of pressurised liquid extraction (PLE) for rapid and efficient extraction of superficial and total mineral oil contamination from dry foods. *Food Chem.* 157: 470-475
- Moret S, Scolaro M, Barp L, Purcaro G, Conte LS. 2016. Microwave assisted saponification (MAS) followed by on-line liquid chromatography (LC)-gas chromatography (GC) for high-throughput and high-sensitivity determination of mineral oil in different cereal-based foodstuffs. *Food Chem.* 196: 50-57
- Murphy RE, Schure MR, Foley JP. 1998. Effect of sampling rate on resolution in comprehensive two-dimensional liquid chromatography. *Anal Chem.* 70(8): 1585-1594
- Nakamura S, Sian TH, Daishima S. 2001. Determination of estrogens in river water by gas chromatography-negative-ion chemical-ionization mass spectrometry. *J of Chromatogr A.* 919: 275-282
- Neukom H-P, Gron K, Biedermann M, Noti A. 2002. Food contamination by C₂₀-C₅₀ mineral paraffins from the atmosphere. *Atmos Environ.* 36: 4839-4847
- Okuda K, Fukuuchi T, Takiguchi M, Yoshihara S. 2011. Novel pathway of metabolic activation of bisphenol A-related compounds for estrogenic activity. *Drug Metab. Dispos.* 39: 1696-1703
- ÖNORM. 2005. ÖNORM CEN/TS 13130-13 - Werkstoffe und Gegenstände in Kontakt mit Lebensmitteln – Substanzen in Kunststoffen, die Beschränkungen unterliegen – Teil 13: Bestimmung von 2,2-Bis(4-Hydroxyphenyl)Propan (Bisphenol A) in Prüflebensmitteln
- Ozaki A, Yamaguchi Y, Fujita T, Kuroda K, Endo G. 2004. Chemical analysis and genotoxic safety assessment of paper and paperboard used for food packaging. *Food Chem Tox.* 42: 1323-1337
- Pastorelli S, Sanches-Silva A, Cruz JM, Simoneau C, Paseiro Losada P. 2008. Study of the migration of benzophenone from printed cardboard packages to cakes through different plastic films. *Eur Food Res Technol.* 227: 1585-1590
- Pérez-Palacios D, Fernández-Recio MA, Moreta C, Tena MT. 2012. Determination of bisphenol-type endocrine disrupting compounds in food-contact recycled-papermaterials by focused ultrasonic solid-liquid extraction and ultra performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry. *Talanta.* 99: 167-174
- Pivnenko K, Pedersen GA, Eriksson E, Astrup TF. 2015. Bisphenol A and its structural analogues in household waste paper. *Waste Manage.* 44: 39-47
- Pivnenko K, Olsson ME, Götze R, Eriksson E, Astrup TF. 2016. Quantification of chemical contaminants in the paper and board fractions of municipal solid waste. *Waste Manage* 51: 43-54

- Poças MF, Oliveira JC, Pereira JR, Brandsch R, Hogg T. 2011. Modelling migration from paper into a food simulant. *Food Control*. 22: 303-312
- Purcaro G, Moret S, Conte L. 2012. Hyphenated liquid chromatography–gas chromatography technique: Recent evolution and applications. *J Chromatogr A*. 1255: 100-111
- Purcaro G, Barp L, Moret S. 2016. Determination of hydrocarbon contamination in foods. A review. *Anal Methods*. 8: 5755-5772
- Quintana JB, Carpinteiro J, Rodríguez I, Lorenzo RA, Carro AM, Cela R. 2004. Determination of natural and synthetic estrogens in water by gas chromatography with mass spectrometric detection. *J Chromatogr A*. 1024: 177-185
- Regueiro J, Wenzl T. 2015. Determination of bisphenols in beverages by mixed-mode solid-phase extraction and liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 1422: 230-238
- Rezaee M, Yamini Y, Shariati S, Esrafil A, Shamsipur M. 2009. Dispersive liquid-liquid microextraction combined with high performance liquid chromatography-UV detection as a very simple, rapid and sensitive method for the determination of bisphenol A in water samples. *J Chromatogr A*. 1216: 1511-1514
- Rivas A, Lacroix M, Olea-Serrano F, Laios I, Leclercq G, Olea N. 2002. Estrogenic effect of a series of bisphenol analogues on gene and protein expression in MCF-7 breast cancer cells. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 82: 45-53
- Rosenmai AK, Dybdahl M, Pedersen M, van Vugt-Lussenburg BMA, Wedeby EB, Taxvig C, Vinggaard AM. 2014. Are Structural Analogues to Bisphenol A Safe Alternatives?. *Toxicol Sci*. 139(1): 35-47
- Runyon J, Noti A, Grob K, Biedermann M, Dudler V. 2002. Isolation of the <1000 Dalton Migrants from Food Packaging Materials by Size Exclusion Chromatography (SEC). *Mitteilung aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene* 93: 57-72
- Sánchez-Avila J, Fernández-Sanjuan M, Vicente J, Lacorte S. 2011. Development of a multi-residue method for the determination of organic micropollutants in water, sediment and mussels using gas chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 1218: 6799-6811
- Santillana MI, Ruiz E, Nieto MT, Bustos J, Maia J, Sendón R, Sánchez JJ. 2011. Migration of bisphenol A from polycarbonate baby bottles purchased in the Spanish market by liquid chromatography and fluorescence detection; *Food Addit Contam*. 28: 1610-1618
- SCF [Internet]. 2000. Opinion of the Scientific Committee on Food on the 10th additional list of monomers and additives for food contact materials [Internet]. [citet 201 Jul 16]. Available from: http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out62_en.pdf

- Scigelova M, Makarov A. 2006. Orbitrap mass analyser – overview and application in proteomics. *Proteomics*. 6 Suppl 2 (S2):16-21
- Shellie R, Mondello L, Mariott P, Dugo G. 2002. Characterisation of lavender essential oils by using gas chromatography–mass spectrometry with correlation of linear retention indices and comparison with comprehensive two-dimensional gas chromatography. *J Chromatogr A*. 970: 225-234
- Stafford GC. 1980. Instrumental aspects of positive and negative ion chemical ionization mass spectrometry. *Environ Health Perspect*. 3: 85–88
- Stanford BD, Weinberg HS. 2007. Isotope dilution for quantitation of steroid estrogens and nonylphenols by gas chromatography with tandem mass spectrometry in septic, soil and groundwater matrices. *J Chromatogr A*. 1176: 26-36.
- Strathmann S, Pastorelli S, Simoneau C. 2005. Investigation of the interaction of active packaging material with food aroma compounds. *Sens Actuators B*. 106: 83-87
- Suciu NA, Tiberto F, Vasileiadis S, Lamastra L, Trevisan M. 2013. Recycled paper-paperboard for food contact materials: Contaminants suspected and migration into food and food simulant. *Food Chem*. 141: 4146-4151
- Sui Y, Ai N, Park SH, Rios-Pilier J, Perkins JT, Welsh WJ, Zhou C. 2012. Bisphenol A and its analogs activate human pregnane X receptor. *Environ Health Perspect*. 120 (3): 399–405.
- Summerfield W, Cooper I. 2001. Investigation of migration from paper and board into food-development of methods for rapid testing. *Food Addit Contam*. 18: 77-88
- Todd JFJ. 1995. Recommendations for Nomenclature and Symbolism for Mass Spectroscopy Including an Appendix of Terms Used in Vacuum Technology. *Int J Mass Spectrom Ion Process*. 142: 211-240
- Touar L, Salafrance J, Sánchez C, Nerín C. 2005. Migration studies to assess the safety and use of a new antioxidant active packaging. *J Agric Food Chem*. 53: 5270-5275
- Tranchida PQ, Purcaro G, Conte L, Dugo P, Dugo G, Mondello L. 2009. Generation of improved gaslinear velocities in a comprehensive two-dimensional gas chromatography system. *Anal Chem*. 81: 8529-8537
- Tranchida PQ, Zoccali M, Purcaro G, Moret S, Conte LS, Beccaria M, Dugo P, Mondello L. 2011. A rapid multidimensional liquid–gas chromatography method for the analysis of mineral oil saturated hydrocarbons in vegetable oils. *J Chromatogr A*. 1218: 7476-7480
- Triantafyllou VI, Akrida-Demertzi K, Demertzis PG. 2002. Migration studies from recycled paper packaging materials: development of an analytical method for rapid testing. *Anal Chim Acta*. 467: 253-260

- Triantafyllou VI, Akrida-Demertzi K, Demertzis PG. 2005. Determination of partition behaviour of organic surrogates between paperboard packaging materials and air. *J Chromatogr A*. 1077(1): 74-79
- Triantafyllou VI, Akrida-Demertzi K, Demertzis PG. 2007. A study on the migration of organic pollutants from recycled paperboard packaging materials to solid food matrices. *Food Chem*. 101: 1759-1768
- Tsukioka T, Brock J, Graiser S, Nguye, J, Nakazawa H, Makino T. 2003. Determination of trace amounts of bisphenol A in urine by negative-ion chemical-ionization-gas chromatography/mass spectrometry. *Anal Sci*. 19: 151-153
- Veraart R, Coulier L. 2007. Compliance testing of chemical migration, in: Barnes KA, Sinclair R, Watson D (Hrsg.), *Chemical migration and food contact materials*, Woodhead Publishing, Cambridge, pp. 87-121
- Vinggaard AM, Körner W, Lund KH, Bolz U, Petersen JH. 2000. Identification and quantification of estrogenic compounds in recycled and virgin paper for household use as determined by an in vitro yeast estrogen screen and chemical analysis. *Chem Res Toxicol*. 13: 1214-1222
- Völkel W, Colnot T, Csanády GA, Filser JG, Dekant W. 2002. Metabolism and kinetics of bisphenol A in human at low doses following oral administration. *Chem Res Toxicol*. 15: 1281-1287
- Vollmer A, Biedermann M, Grundböck F, Ingenhoff J-E, Biedermann-Brem S, Altkofer W, Grob K. 2011 Migration of mineral oil from printed paperboard into dry foods: survey of the German market. *Eur Food Res Technol*. 232: 175-182
- Von Goetz N, Wormuth M, Scheringer M, Hungerbühler K. 2010. Bisphenol A: How the most relevant exposure sources contribute to the total consumer exposure. *Risk Analysis*. 30: 473-487
- Wardencki W. 1998. Problems with the determination of environmental sulphur compounds by gas chromatography. *J Chromatogr A*. 793: 1-19
- Wright CT, Paul DR. 1997 Gas sorption and transport in UV-irradiated polyacrylate copolymers based on tetramethyl bisphenol-A and dihydrobenzophenone. *J Membr Sci*. 124: 161-174
- Yang Y, Lu L, Zhang J, Yang Y, Wu Y, Shao B. 2014a. Simultaneous determination of seven bisphenols in environmental water and solid samples by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 1328: 26-34
- Yang Y, Guan J, Yin J, Shao B, Li H. 2014b. Urinary levels of bisphenol analogues in residents living near a manufacturing plant in south China. *Chemosphere*. 112: 481-486

- Yi B, Kim C, Yang M. 2010. Biological monitoring of bisphenol A with HPLC/FLD and LC/MS/MS assays. *J Chromatogr B*. 878: 2606-2610
- Yoshimura Y, Brock JW, Makino T, Nakazawa H. 2002. Measurement of bisphenol A in human serum by gas chromatography/mass spectrometry. *Anal Chim Acta*. 458: 331-336
- Yu Z, Pelszus S, Huck PM. 2007. Optimizing gas chromatographic-mass spectrometric analysis of selected pharmaceuticals and endocrine-disrupting substances in water using factorial experimental design. *J Chromatogr A*. 1148: 65-77
- Zhang K, Noonan GO, Begley TH. 2008. Determination of 2,6-diisopropyl-naphthalene (DIPN) and n-dibutylphthalate (DBP) in food and paper packaging materials from US marketplaces. *Food Addit Contam*. 25(11): 1416-1423
- Zhao JL, Ying GG, Wang L, Yang JF, Yang XB, Yang LH, Li X. 2009. Determination of phenolic endocrine disrupting chemicals and acidic pharmaceuticals in surface water of the Pearl Rivers in South China by gas chromatography-negative chemical ionization-mass spectrometry. *Sci Total Environ*. 407: 962-974
- Zülch A, Piringer O. 2010. Measurement and modelling of migration from paper and board into foodstuffs and dry food simulants. *Food Addit Contam*. 27(9): 1306-1324
- Zurfluh M, Biedermann M, Grob K. 2013. Simulation of the migration of mineral oil from recycled paperboard into dry foods by Tenax[®]?. *Food Addit Contam Part A*. 30(5): 909-918
- Zurfluh M, Biedermann M, Grob K. 2014. Enrichment for reducing the detection limits for the analysis of mineral oil in fatty foods. *J Verbr Lebensm*. 9: 61-69

9 Anhang

9.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Stoffübergang von der Verpackung in das Packgut (Migration und Abklatsch).....	19
Abbildung 2: Stofftransport von Tertiär-, Sekundär- und Primärverpackung auf das Packgut	20
Abbildung 3: Struktur von Bisphenol A.....	22
Abbildung 4: Synthese von Bisphenol A	22
Abbildung 5: Synthese von Polycarbonat aus Bisphenol A und Phosgen	22
Abbildung 6: Synthese von Polycarbonat aus Bisphenol A und Diphenylcarbonat	22
Abbildung 7: Bildung von Epoxidharzen aus Bisphenol A und Epichlorhydrin	23
Abbildung 8: Struktur der untersuchten Bisphenol-Analoga	25
Abbildung 9: Übersicht Verteilung MOSH - MOAH	31
Abbildung 10: Nicht aufgelöster Mineralölberg der MOSH und MOAH	36
Abbildung 11: Interne Standards MOSH und MOAH	39
Abbildung 12: Schematische Darstellung Elektronenstoßionisation (EI)	42
Abbildung 13: Schematische Darstellung chemische Ionisation (CI).....	43
Abbildung 14: Schematische Darstellung Elektrosprayionisation	47
Abbildung 15: Schematische Darstellung Quadrupol Massenanalysator	48
Abbildung 16: Schematische Darstellung Tandem-Massenspektrometrie	49
Abbildung 17: Prinzip eines linearen TOF-Analysators (Gross 2011)	53
Abbildung 18: Schematische Darstellung einer ICR-Zelle	55
Abbildung 19: Schematische Darstellung eines Orbitrap-Massenanalysators	56
Abbildung 20: Auftrennungsschema mehrdimensionale Chromatographie	58
Abbildung 21: Deans-Switch Aufbau.....	59
Abbildung 22: Schematische Darstellung der Multi-Deans-Switch Technologie	60
Abbildung 23: Funktionsprinzip des Loop-Modulators	62
Abbildung 24: Graphische Darstellung einer GCxGC Analyse	64
Abbildung 25: Darstellung der unterschiedlichen Derivatisierungs- und Analysetechniken der Bestimmung von BPA in Papier	67
Abbildung 26: Papierproben vor der Extraktion (li.) und filtrierte Extrakte (re.).....	70
Abbildung 27: Derivatisierung von BPA mit Pentafluorobenzoylchlorid	71
Abbildung 28: Optimierte Methode zur Derivatisierung von Papierextrakten mit PFBOCI	73
Abbildung 29: Derivatisierung von BPA mit BSTFA.....	74
Abbildung 30: Optimierung der Zugabe an KOH (2 M)	94
Abbildung 31: Optimierung der Zugabe an PFBOCI	96
Abbildung 32: Optimierung der Extraktionstemperatur	96
Abbildung 33: Optimierung der Extraktionsdauer	97
Abbildung 34: EI-GC-MS Chromatogramm von BPA- und BPA-d ₁₆ (50 µg/kg).....	98
Abbildung 35: EI-Spektrum BPA (m/z 50-650).....	98

Abbildung 36: EI-Spektrum BPA-d ₁₆ (m/z 50-650).....	98
Abbildung 37: NCI-GC-MS Chromatogramm von BPA- und BPA-d ₁₆ (50 µg/kg).....	99
Abbildung 38: NCI-Spektrum BPA (m/z 400-700).....	99
Abbildung 39: NCI-Spektrum BPA-d ₁₆ (m/z 400-700).....	99
Abbildung 40: Einfluss von Pyridin auf die Derivatisierung mit BSTFA	101
Abbildung 41: EI-GC-MS Chromatogramm von BPA- und BPA-d ₁₆	101
Abbildung 42: EI-GC-MS/MS Chromatogramm von BPA- und BPA-d ₁₆	102
Abbildung 43: EI-Spektrum BPA (m/z 50-450).....	102
Abbildung 44: EI-Spektrum BPA-d ₁₆ (m/z 50-450).....	102
Abbildung 45: GC-MS Chromatogramm Tertiärprobe.....	110
Abbildung 46: GC-MS/MS Chromatogramm Tertiärprobe	111
Abbildung 47: Matrixbezogene Signalerhöhung des IS (LC-MS/MS).....	119
Abbildung 48: 2D-Darstellung eines Chromatogramm einer GCxGC-Analyse.....	136
Abbildung 49: 3D-Plot eines GCxGC-Chromatogramms	136
Abbildung 50: Säulenkombination 1 (ZB5 + BPX50)	137
Abbildung 51: Säulenkombination 2 (ZB5 + SLB-IL60)	138
Abbildung 52: Säulenkombination 3 (ZB-HT1 + BPX50)	138
Abbildung 53: Säulenkombination 3, Modulation 8 sec_2°/min	139
Abbildung 54: Säulenkombination 3, Modulation 8 sec_3°/min	139
Abbildung 55: Säulenkombination 3, Modulation 5 sec_3°/min	139
Abbildung 56: MOAH-Fraktion ohne Zwischenfraktion	140
Abbildung 57: MOAH-Fraktion mit Zwischenfraktion	141
Abbildung 58: Vergleich der Papier- und Kartonproben (Recycling, Frischfaser).....	142
Abbildung 59: Vergleich von Hochglanzmagazin und Tageszeitung	142
Abbildung 60: Phenylalkane (scan und m/z 92) in Standard und Probe (Tageszeitung)	143
Abbildung 61: Phenylalkane und unterschiedlich substituierte/verzweigte Analoga	144
Abbildung 62: Nachweis von unterschiedlichen Verzweigungen und Substitutionen am Beispiel 1-Phenylpentan.....	144
Abbildung 63: Fragmentierung von primären, sekundären und tertiären Phenylalkanen.....	145
Abbildung 64: Fragmentierungsmuster von Phenylalkanen.....	146
Abbildung 65: Identifizierte Strukturen von Phenylalkanen am Beispiel Phenyl-dodecan	147
Abbildung 66: Spektren der identifizierten Strukturen von Phenylalkanen	148
Abbildung 67: Spektren der unterschiedlichen Trimethylbenzene	148
Abbildung 68: Extraktion der molekularen Massenfragmente der Phenylalkane.....	151
Abbildung 69: Relevanter Migrationsbereich der aromatischen Fraktion	151
Abbildung 70: prozentueller Anteil Phenylalkane und ges. Kohlenwasserstoffe der MOAH	154
Abbildung 71: Prozentuelle Verteilung der Phenylalkane der einzelnen Proben.....	157
Abbildung 72: Standardmix mit Markierung der nachgewiesenen Substanzen.....	159
Abbildung 73: Identifizierte Substanzgruppen in Bezug auf eine Recyclingprobe	161
Abbildung 74: Identifizierte Substanzgruppen in Bezug auf eine Recyclingprobe	161

Abbildung 75: Identifizierte Biphenyle	162
Abbildung 76: Spektrenabgleich Tetramethyl-/Diethylbiphenyle.....	163
Abbildung 77: Spektrenabgleich Trimethylbiphenyle/ Methyl substituierte Diphenylmethane	164
Abbildung 78: Spektrenabgleich Biphenyle Tetramethyl-/Diethylbiphenyle	165
Abbildung 79: Identifizierte Naphthaline	166
Abbildung 80: Spektrenabgleich Trimethyl-/Isopropyl-naphthaline	166
Abbildung 81: Spektrenabgleich Tetramethylnaphthaline/Methyl-Isopropyl substituierte Naphthaline	167
Abbildung 82: Charakteristische Massenfragmente nicht identifizierter Substanzgruppen	167
Abbildung 83: Lokalisierung charakteristischer Fragmente anhand von GC-MS	168
Abbildung 84: Massenbestimmung anhand von HR-GC-MS.....	169
Abbildung 85: Identifikation von Dimethylindanonen mittels GC-HR-MS	170
Abbildung 86: Identifikation von Dimethyldiphenylether mittels GC-HR-MS.....	170

9.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Gerätespezifische Eigenschaften ausgewählter Massenanalytoren	52
Tabelle 2: Untersuchte Proben	68
Tabelle 3: Parameter der Methodenoptimierung der Derivatisierung mit PFBOCI	72
Tabelle 4: MS Parameter der GC-MS Messung der Pentafluorobenzoyl Derivate	75
Tabelle 5: Analyseparameter der GC-MS Messungen der Pentafluorobenzoyl Derivate	76
Tabelle 6: MS Parameter der GC-MS Messung der BSTFA-TMCS Derivate	76
Tabelle 7: MS Parameter der GC-MS/MS Messung der BSTFA-TMCS Derivate	76
Tabelle 8: Analyseparameter der GC-MS und GC-MS/MS Messung der BSTFA Derivate	77
Tabelle 9: Untersuchte Proben	79
Tabelle 10: MS Parameter der GC-MS/MS Messung der Derivate	81
Tabelle 11: Analyseparameter der GC-MS/MS Messung	81
Tabelle 12: MS Parameter der LC-MS/MS Messung der Extrakte	82
Tabelle 13: Analyseparameter der LC-MS/MS Messung	82
Tabelle 14: Untersuchte Proben	84
Tabelle 15: Verbindungen des internen Standardmixes	85
Tabelle 16: Untersuchte Proben	86
Tabelle 17: Analyseparameter der GCxGC-MS	89
Tabelle 18: Analyseparameter der GC-MS	90
Tabelle 19: Messparameter GC-HR-MS Messung	91
Tabelle 20: S/N Verhältnisse Optimierung Zugabe PFBOCI	95
Tabelle 21: S/N Ratio der Optimierung der Reaktionszeit	97
Tabelle 22: Validierungsparameter der unterschiedlichen Methoden	103
Tabelle 23: LOD und LOQ der unterschiedlichen Methoden in Papier und Lebensmittel	105
Tabelle 24: Konzentrationen an BPA in Papier- und Kartonproben	108
Tabelle 25: Konzentrationen an BPA in Hygienepapieren	111
Tabelle 26: Konzentration an BPA pro kg Lebensmittel bei 100% Migration	113
Tabelle 27: Migrationskonzentration der Hygienepapiere bei 100% Migration	114
Tabelle 28: Linearität der einzelnen Bisphenole (LC-MS/MS)	122
Tabelle 29: Linearität der einzelnen Bisphenole (GC-MS/MS)	122
Tabelle 30: Präzision der LC-MS/MS Messung	123
Tabelle 31: Präzision der GC-MS/MS Messung	123
Tabelle 32: LOD und LOQ der Bisphenole bei Analyse mittels GC-MS/MS und LC-MS/MS	124
Tabelle 33: LOD und LOQ im Lebensmittel bei Analyse mittels GC-MS/MS und LC-MS/MS	125
Tabelle 34: Konzentration der Bisphenole in den Papier- und Kartonproben (LC-MS/MS)	126
Tabelle 35: Konzentration der Bisphenole in den Papier- und Kartonproben (GC-MS/MS)	126
Tabelle 36: Konzentration der Bisphenole (Mittelwert beider Analysen)	127
Tabelle 37: Berechnung der maximalen Migration (LC-MS/MS)	130
Tabelle 38: Berechnung der maximalen Migration (LC-MS/MS)	131

Tabelle 39: Berechnung der maximalen Migration (Mittelwert beider Analysen).....	131
Tabelle 40: Konzentration Σ MOAH – n-C ₃₅	149
Tabelle 41: Elutionsbereich der Phenylalkane	152
Tabelle 42: Konzentration und prozentueller Anteil Phenylalkane und ges. Kohlenwasserstoffe	153
Tabelle 43: Vorkommende Phenylalkane.....	155
Tabelle 44: Identifizierte Einzelsubstanzen der MOAH.....	159
Tabelle 45: Bestimmung der Fragmentzusammensetzung mittels GC-HR-MS.....	171