

## Abstract (german)

Die Menge an Lebensmitteln, die in beschichteten Konservendosen oder beschichteten Leichtmetallbehältern verpackt wird, ist in den letzten Jahrzehnten aufgrund ihrer Vorzüge wie lange Haltbarkeit und geringe Kosten angestiegen. Ein Übergang von Metallionen wird durch eine Lackierung oder Kunststoffbeschichtung vermieden, an dessen Stelle tritt jedoch der Stofftransfer (Migration) von Bestandteilen aus den Beschichtungen. Derzeit beziehen sich nur zwei rechtliche Regelungen betreffend die Menge der migrierenden Substanzen auf diese Verpackungsarten. Einerseits legte der Europäische Rat einen Grenzwert von 10 mg/dm<sup>2</sup> Verpackung für die Summe aller migrierenden Substanzen (Gesamtmigrat) fest, andererseits wird der Übergang von Bisphenol A Diglycidylether (BADGE), Bisphenol F Diglycidylether und deren Hydrolyse- und Hydrochlorierungsprodukten in Lebensmittel auf 1 mg/kg beschränkt.

Die meisten der zuvor publizierten Arbeiten beschreiben Methoden zur Überwachung der genannten Grenzwerte. Ein weiterer, entscheidender Punkt zur Beurteilung der Migration ist das Molekulargewicht der migrierenden Substanzen und damit verbunden ihre Absorption im menschlichen Gastro-Intestinaltrakt. Der „Scientific Committee on Food“ bezeichnet Substanzen mit einem Molekulargewicht < 1000 Da als potentiell absorbierbar und damit toxikologisch relevant, während den Substanzen mit einem Molekulargewicht > 1000 Da eine geringere Bedeutung beigemessen wird. Die vorliegende Arbeit stellt einen ersten Versuch dar, geeignete Methoden zu entwickeln, mit denen die Zusammensetzung des Gesamtmigrates < 1000 Da aufgeklärt werden kann. Abschließend wurde die Summe der Einzelergebnisse für die Migratkomponenten mit dem Wert für das Gesamtmigrat < 1000 Da verglichen, um eine Massenbilanz zu erhalten. Dieses Konzept wurde an einem Epoxy- und einem Polyestercoating getestet.

Hierzu wurde zuerst eine alternative Methode zur simultanen Bestimmung des Gesamtmigrates und des Anteil < 1000 Da unter der Verwendung der Größenausschlußchromatographie (SEC) gekoppelt mit einem Verdampfungslichtstredetektor (ELSD) entwickelt. Ein statistischer Vergleich beider Methoden (die Gravimetrie wurde zur Bestimmung des Anteils < 1000 Da erweitert) ergab, dass die SEC-ELSD-

Methode in Hinblick auf die Bestimmung des Gesamtmigrates kein äquivalenter Ersatz für die Gravimetrie ist, da sie signifikant niedrigere Ergebnisse liefert. Jedoch zur Bestimmung des Anteils  $< 1000$  Da, wofür keine Referenzmethode existiert, ist die SEC-ELSD-Methode die Methode der Wahl, da nur mit dieser aufgrund der besseren Reproduzierbarkeit und der niedrigeren Nachweisgrenze geringe Migratgehalte meßbar sind.

Etwa 50 % des Gesamtmigrates  $< 1000$  Da in 95 % Ethanol (bestimmt als ca. 1.3 mg/dm<sup>2</sup> für beide Coating-Typen) konnten als harzverwandte Substanzen, hauptsächlich Oligomere und Reaktionsprodukte mit weiteren Coating-Inhaltsstoffen, aufgeklärt werden. Ein Screening-Gradient wurde dafür auf einer Umkehrphase entwickelt, der eine hohe Auflösung für alle harzverwandten Substanzen  $< 1000$  Da erreichte. Die Identifizierung der Bisphenol A (BPA)-verwandten Substanzen aus dem Epoxycoating erfolgte nach Elektrosprayionisation mit massenselektiver Detektion (ESI-MSD) und wurde durch Mikrosynthesen von monomerem und dimerem BADGE mit Solventien und Phenolen abgesichert. Die sensitive Fluoreszenzdetektion und ein kommerziell erhältlicher BADGE-Referenzstandard wurden zur Quantifizierung aller BPA-verwandten Substanzen  $< 1000$  Da als BADGE-Äquivalente verwendet, da die Fluoreszenzresponse der Substanzen auf dem BPA-Gerüst beruht.

Eine akkuratere Quantifizierung der Einzelsubstanzen konnte durch die Kombination der Fluoreszenzresponse mit der Strukturinformation (erhalten aus den Massenspektren) erreicht werden. Die Berechnung erfolgte über die Kalibrierung des BPA-Chromophoranteils im Molekül.

Für die rechtlich geregelten BADGE-Derivate wurde eine weitere, spezifischere Methode unter Verwendung eines ternären Gradienten, synthetisierten Referenzstandards für alle Derivate und eines internen Standards entwickelt sowie in Hinblick auf eine Verwendung für Überwachungszwecke vollständig validiert. Die Identifizierung der Polyester-verwandten Substanzen erforderte die Bestimmung der Polyestermonomere mit spezifischen Methoden nach deren Freisetzung durch eine hydrolytische Spaltung. Erst mit Hilfe der Information über die enthaltenen Monomere konnten sich die migrierenden Substanzen als cyclische Oligoester auf

Basis von Terephthalsäure (TPA) und Isophthalsäure (IPA) sowie mehreren Polyolen mittels ESI-MSD identifizieren lassen. Die Menge der einzelnen, migrierenden Ester wurde unter Verwendung der UV-Kalibration eines kommerziell erhältlichen TPA/IPA-Ester (z.B. Bis-hydroxyethylterephthalat) und der Information über die Anzahl der TPA/IPA-Einheiten im Molekül bestimmt. Die spezifische Methode zur Analyse der Säurekomponenten im Polyester ermöglichte weiterhin die Identifizierung und Quantifizierung eines Rückstandes der Trimellithsäure im Epoxycoating-Migrat (95 % Ethanol, ca. 0.08 mg/dm<sup>2</sup>), die als Monomer im Anhydridhärter verwendet wird.

Ein weiterer Anteil von ca. 20 % des Gesamtmigrates < 1000 Da in 95 % Ethanol aus dem Epoxycoating konnte migrierenden Schmierstoffen zugeschrieben werden. Eine flüssigchromatographische Methode mit einer Diolphase wurde zur Identifizierung und quantitativen Abschätzung der hauptsächlich verwendeten Schmierstoffe entwickelt, die deren Trennung nach dem polaren Molekülrest in zwölf Lipidklassen (Paraffin, Wachsester, Cholesterinester, Fettsäuremethylester, Triacylglyceride, Fettalkohole, freie Fettsäuren, Cholesterin, 1,3-Diacylglyceride, 1,2-Diacylglyceride, Monoacylglyceride und Fettsäureamide) ermöglichte. Da die Detektorresponse des verwendeten ELSDs von der Kettenlänge und dem Grad der Sättigung abhängig ist, ist die Quantifizierung von Lipidklassen mit unbekannter Zusammensetzung nur semi-quantitativ.

Mit allen entwickelten Methoden konnten ca. 75 % des Gesamtmigrates < 1000 Da in 95 % Ethanol des Epoxycoatings aufgeklärt werden. Die Tatsache, daß noch ca. 60% des Gesamtmigrates < 1000 Da in 95 % Ethanol vom Polyestercoating unbekannt sind, ist nicht zufriedenstellend. Bei der Diskussion des unbekanntes Anteils ist jedoch die beträchtliche Unsicherheit der Werte, besonders der mit dem ELSD gemessenen Werte, zu berücksichtigen. Weiterhin sollte dieses Analysenkonzept durch Methoden zur Bestimmung von weiteren Härterkomponenten (besonders für Phenol- und Aminhärter) oder von anderen Additiven wie Pigmenten, Katalysatoren, Entschäumern oder Fließhilfen erweitert werden. Es bleibt jedoch hervorzuheben, daß diese Arbeit einer der ersten Versuche ist, die Identität und Menge der migrierenden Substanzen < 1000 Da aufzuklären.