

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Lehrstuhl für Lebensmittelverpackungstechnik

**Untersuchungen zum Migrationspotential von Nanomaterialien  
aus Kunststoff-Lebensmittelverpackungen**

Johannes Wilfried Bott

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender:

Prof. Dr. Dr.-Ing. Heiko Briesen

Prüfer der Dissertation:

1. Prof. Dr. Horst-Christian Langowski

2. Prof. Dr. Karl-Heinz Engel

Die Dissertation wurde am 25.04.2017 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 05.09.2017 angenommen.

## Vorwort

Die vorliegende Arbeit entstand im Zeitraum von Mai 2011 bis November 2015 in der Abteilung Produktsicherheit und Analytik am Fraunhofer Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung in Freising.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Horst-Christian Langowski für die Überlassung dieses interessanten Themas. Bereits während meines Studiums und des Verfassens meiner damaligen Abschlussarbeit standen Sie mir mit Rat und Tat zur Seite, wodurch Sie mein Interesse an der Forschung geweckt und mich zu dem nächst größeren Schritt motiviert haben. Die Möglichkeit, sich nun über einen längeren Zeitraum hinweg intensiv mit einer herausfordernden Fragestellung befassen zu können, hat mir viel Freude bereitet. Auch wenn es auf dem Weg zum Ziel immer neue und komplexere Hürden zu meistern galt, stellen die Erfahrungen und das Erlernte aus dieser Zeit für mich eine Bereicherung dar, welche ich auf meinem weiteren Weg nicht vermissen möchte.

Herrn Prof. Dr. Karl-Heinz Engel möchte ich herzlichst für die Übernahme des Zweitgutachten, Herrn Prof. Dr. Dr. Briesen für den Prüfungsvorsitz danken.

Herrn Dr. Roland Franz und Frau Dr. Angela Störmer gilt ebenfalls mein Dank, insbesondere dafür, ihr enormes fachliches Wissen mit mir geteilt zu haben, welches das Fundament meiner Forschung zu diesem Thema darstellt. Selbst in scheinbar festgefahrenen Situationen habe ich bei Euch stets offene Türen und den notwendigen Denkanstoß für neue Lösungsansätze gefunden. Ich danke Euch beiden für die viele Zeit die ihr mir gewidmet habt und dass ihr mir beim Voranschreiten der Arbeit durch Eure analytische und kritische Denkweise geholfen habt, stets auf Kurs zu bleiben. Ferner danke ich Euch für all das Erlernte was den sachlichen Rahmen dieser Arbeit übersteigt. All das woran ich hier am Institut mitwirken durfte, ermöglichte mir nicht nur eine fachliche und persönliche Weiterentwicklung, sondern machte die letzten Jahre zu einer spannenden und sehr kurzweiligen Zeit.

Des Weiteren danke ich:

Herrn Dipl. Ing. Gerd Wolz für die technische Einarbeitung bei all meinen Versuchen und Geräten, die vielen Stunden mit mir im Labor wenn im Institut schon das Licht ausging, die vielen fachlichen Ratschläge und ebenso die vielen nicht-fachlichen Unterhaltungen. Auch von Dir, Gerd, habe ich mir viel abschauen können und danke Dir dafür, dass der Spaß in der Arbeit nie zu kurz kam.

Herrn Dr. Frank Welle für die ein oder andere Nachhilfestunde in Chemie, den vollen Durchblick bei Excel und Word, die nostalgischen Ausflüge in eine Zeit, in der das Promovieren noch GANZ anders ablief und die Fähigkeit, einem den notwendigen Motivationsschub zu verpassen. Frank, schaff was!

Meinem lieben Bürokollegen Dipl. Ing. Dominik Fiedler, ohne welchen sich folgende Dinge halbiert hätten: Spaß an und in der Arbeit, Kaffeekonsum, Strafzahlungen für Anglizismen und mein Schimpfwortschatz. Danke für eine phantastische Zeit während und neben der Arbeit!

Den Kollegen der Abteilung Produktsicherheit und Analytik, welche in puncto Zusammenhalt und Hilfsbereitschaft unübertrefflich sind. Danke, dass ihr mir den Einstieg so angenehm gemacht habt. Egal wo es mich einmal hin verschlagen wird, ich hoffe immer solche Kollegen wie Euch um mich herum zu haben.

Und zu guter Letzt danke ich meiner Familie und meiner Frau Manuela. Danke, dass ihr mir das alles ermöglicht habt, danke für Eure Geduld, Euren Rückhalt und dass ihr mir immer im richtigen Moment die Zeit für meine Doktorarbeit gegeben habt aber sie mir im richtigen Moment wieder genommen habt!

*You changed the outcome by measuring it!*

Professor Hubert J. Farnsworth

## Kurzfassung

Die Verwendung von Nanomaterialien als Polymeradditive verspricht die Möglichkeit, Lebensmittelverpackungen aus Kunststoffen mit optimierten oder innovativen Eigenschaften herzustellen. Der rapiden Entwicklung neuer Verpackungen hinkte jedoch die Bewertung einer sicheren Anwendbarkeit hinterher. Sowohl Konsumenten als auch Behörden stehen daher einer Anwendung von Nanomaterialien generell und insbesondere bei Lebensmittelkontaktmaterialien skeptisch gegenüber. Ein Risiko bei einer Anwendung von Nanomaterialien als Polymeradditiv für Lebensmittelverpackungen bestünde für den Verbraucher jedoch nur dann, wenn es zu einer Exposition gegenüber diesen Materialien kommt.

Das Ziel dieser Arbeit war es zu untersuchen, ob in eine Polymermatrix eingearbeitete Nanomaterialien bei andauerndem Kontakt mit einem Lebensmittel auf dieses übergehen können. Hierbei wurden Nanomaterialien und Verpackungspolymere untersucht, welche für die Praxis eine besonders hohe Relevanz haben oder hinsichtlich des Migrationspotentials einen ungünstigen Grenzfall darstellten. Die Auswahl von Kohlenstoffschwarz (CB), synthetischen amorphen Siliciumdioxid (SAS) und Titanitrid (TiN) erfolgte dabei unter dem Gesichtspunkt, typische Partikelgrößen und Strukturen von Nanomaterialien zu berücksichtigen. Zudem wurde mit organisch modifiziertem Laponite und Nanosilber Nanomaterialien untersucht, welche hinsichtlich ihrer Partikelgröße ein im Vergleich zu anderen Nanomaterialien höheres Migrationspotential erwarten ließen. Laponite ist ein synthetisch hergestelltes Schichtsilikat, welches Plättchen mit Durchmessern von etwa 25 nm und einer Schichtdicke von gerade einmal 1 nm enthält. Das untersuchte Nanosilber lag im Polymer überwiegend in Form einzelner kugelförmiger Partikel vor, welche teilweise Durchmesser von gerade einmal 10 nm aufwiesen. Als Matrix wurde Polyethylen geringer Dichte (PE-LD) als Verpackungspolymer mit einer bekannt hohen Diffusivität ausgewählt.

Bis heute fehlen standardisierte Prüfverfahren zum Nachweis der Migration von partikelförmigen Substanzen, weshalb zunächst eine hierfür geeignete analytische Methode erstellt wurde. Als analytisches System wurde die Kopplung der asymmetrischen Fluss Feld-Fluss Fraktionierung (AF4) an einen Vielwinkel-Lichtstreuungsdetektor (MALS) sowie die induktiv gekoppelte Plasma Massenspektrometrie (ICP-MS) zum Nachweis migrierter Nanomaterialien genutzt. Insbesondere die Kombination aus AF4 und MALS eignete sich zum direkten, empfindlichen Nachweis partikelförmiger Substanzen in Lebensmittelsimulanzien. Zusätzlich zu den experimentellen Arbeiten wurde eine theoretische Abschätzung anhand eines mathematischen Modells zum Migrationspotential von Nanomaterialien in einer Polymermatrix entwickelt.

Im Rahmen der analytischen Nachweisgrenzen von  $0,1 - 43 \mu\text{g kg}^{-1}$  ( $\mu\text{g}$  Nanomaterial pro kg Lebensmittel) wurde gezeigt, dass die Migration von Nanomaterialien unabhängig von den Prüfbedingungen, Ausgangskonzentrationen im Polymer und des verwendeten Lebensmittelsimulanz nicht nachweisbar ist. Die mathematische Modellierung zeigte zudem, dass lediglich von Nanomaterialien mit Partikelgrößen von etwa 1 – 3 nm eine messbare Migration zu erwarten wäre. Diese Partikelgrößen existieren jedoch bei keinem als Polymeradditiv angedachtem Nanomaterial in isolierter Form. Die experimentellen Untersuchungen sowie die theoretische Betrachtung zum Migrationspotential von Nanomaterialien zeigten somit, dass Polymeradditive mit üblichen nanoskaligen Strukturen, d. h. mit zu Aggregaten fest verschmolzenen Partikeln und Aggregatdurchmessern von 100 nm und größer, nicht auf ein Lebensmittel migrieren, sobald diese fest in eine Polymermatrix eingearbeitet sind.

## Abstract

The use of nanomaterials as polymer additives holds promise for the production of food packaging plastics with optimized or innovative properties. Despite the rapid development of new products in recent years based on the benefits of nanomaterials, the assessments of these materials from a safety perspective are still lacking. This has led to skepticism of nanomaterials amongst consumers and authorities alike, particularly when these materials are used as additives in food contact materials. However, a risk for the consumer is only present when exposure to nanomaterials used as a polymer additive for food packaging is possible.

The aim of this study was to examine whether nanomaterials can migrate from packaging into food during extensive contact of the packaging with the food. Nanomaterials and packaging polymers relevant to packaging applications or representing high migration potential were investigated. The nanomaterials carbon black (CB), synthetic amorphous silica (SAS) and titanium nitride (TiN) were selected for analysis in order to cover a broad range of particle sizes and structures of typical nanomaterials. Moreover, organically modified laponite and nanosilver were examined due to their expected higher migration potential as a result of their lower particle size. Laponite is a synthetically-layered silicate that is composed of single platelets with 25 nm in diameter and 1 nm in thickness. The nanosilver examined was present in the polymer as spherical particles with diameters of 10 nm. Low density polyethylene (PE-LD) was selected as a packaging polymer with a known high diffusivity.

To date there is still a lack of standardized test procedures for the detection of migrated substances in particulate form, owing to the absence of suitable analytical methods. Asymmetric flow field-flow fractionation (AF4) coupled to a multi-angle light scattering detector (MALS) and additional inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) were chosen as analytical systems for the detection of migrated nanomaterials. The AF4/MALS system is especially suitable for the direct examination and sensitive detection of migrated particulate substances in the food simulants. The migration potential of nanomaterials in general was estimated by mathematical migration modeling.

A migration of nanomaterials out of the polymer was not detected within the analytical limits of detection ( $0.1\text{-}43\ \mu\text{g kg}^{-1}$ ;  $\mu\text{g}$  nanomaterial per kg food), independently of the test conditions, initial concentrations of the nanomaterial in the polymer, and food simulant used. Migration models showed that nanomaterials consisting of only particles of 1-3 nm diameter have a potential to migrate at measurable concentrations. However, particles at these sizes do not exist in isolated form in any of the nanomaterials intended for use as polymer additives. Both the experimental examinations and the theoretical considerations demonstrate that polymer additives with typical nanoscale structures, i.e., a fused, aggregated structure with aggregate sizes of typically more than 100 nm, do not migrate into food once they are incorporated into a polymer matrix.

# Inhaltsverzeichnis

Vorwort .....	2
Kurzfassung.....	4
Abstract .....	5
Abbildungsverzeichnis .....	9
Tabellenverzeichnis.....	13
Abkürzungsverzeichnis .....	15
1 Einleitung .....	1
2 Zielsetzung der Arbeit und Herangehensweise .....	3
3 Grundlagen und Stand des Wissens .....	6
3.1 Nanomaterialien .....	6
3.1.1 Definition von Nanomaterialien .....	6
3.1.2 Nanomaterialien in Lebensmittelverpackungen .....	8
3.1.3 Regulierung von Nanomaterialien zur Anwendung in Lebensmittelkontaktmaterialien aus Kunststoffen .....	14
3.2 Migration von Nanomaterialien aus Kunststofflebensmittelverpackungen .....	16
3.2.1 Abschätzung des Migrationspotentials von Nanomaterialien aus einer Kunststoffverpackung .....	17
3.2.2 Überblick über Studien zur Migration von Nanomaterialien aus Lebensmittelverpackungen aus Kunststoffen.....	28
3.3 Analytische Methoden zur Charakterisierung und Detektion von Nanomaterialien.....	30
3.3.1 Asymmetrische Fluss Feld-Fluss Fraktionierung (AF4) .....	32
3.3.2 Statische Lichtstreuung zur Bestimmung von Partikelgrößen.....	37
3.3.3 Stabilität von Dispersionen.....	43
4 Material und Methoden .....	47
4.1 Referenz-Nanomaterialien.....	47
4.1.1 Synthetisches amorphes Siliciumdioxid (SAS).....	47
4.1.2 Titannitrid (TiN).....	49
4.1.3 Kohlenstoffschwarz (CB).....	50
4.1.4 Laponite.....	51
4.1.5 Silber-Nanopartikel .....	52
4.2 Auswahl und Herstellung der Nanokomposite.....	53
4.2.1 SAS-Nanokomposite .....	53
4.2.2 TiN-Nanokomposite.....	53

4.2.3	CB-Nanokomposite .....	54
4.2.4	Laponite-Nanokomposite .....	55
4.2.5	Silber-Nanokomposite .....	55
4.3	Charakterisierung des Nanomaterials im Polymer mittels TEM/REM .....	55
4.4	Bestimmung der Migration von Nanomaterialien .....	56
4.4.1	Geräte zum Nachweis der Migration von Nanomaterialien .....	56
4.4.2	Methoden zum Nachweis der Migration von Nanomaterialien.....	58
5	Ergebnisse und Diskussion.....	69
5.1	Synthetisch amorphes Siliciumdioxid (SAS) .....	69
5.1.1	Untersuchung der Nanokomposite mittels TEM/REM .....	69
5.1.2	Herstellung von Dispersionen aus dem Referenz-Nanomaterial.....	71
5.1.3	AF4/MALS-Methodenentwicklung.....	72
5.1.4	Partikelgrößenverteilung der dispergierten SAS-Partikel .....	76
5.1.5	Kalibrierung des Systems anhand von Kalibrierdispersionen .....	80
5.1.6	Bestimmung der Stabilität der Standards .....	87
5.1.7	Ergebnisse der Migrationsversuche.....	95
5.1.8	Betrachtung der Ergebnisse aus den SAS-Migrationsversuchen.....	102
5.2	Titannitrid (TiN).....	106
5.2.1	Untersuchung der Nanokomposite mittels TEM .....	106
5.2.2	Vorversuche zur Untersuchung von TiN-Dispersionen mittels AF4/MALS .....	106
5.2.3	Quantifizierung von Titan zum Nachweis von TiN mittels ICP-MS .....	108
5.2.4	Bestimmung der Migration von TiN aus den Nanokompositen.....	109
5.2.5	Betrachtung der Ergebnisse aus den TiN-Migrationsversuchen .....	112
5.3	Kohlenstoffschwarz (CB).....	113
5.3.1	Untersuchung der Nanokomposite mittels TEM .....	113
5.3.2	Herstellung von Dispersionen aus dem Referenz-Nanomaterial.....	115
5.3.3	AF4/MALS Methodenentwicklung.....	117
5.3.4	Partikelgrößenverteilung der dispergierten CB-Partikel .....	119
5.3.5	Kalibrierung des Systems anhand von Kalibrierdispersionen .....	120
5.3.6	Bestimmung der Stabilität der Standards .....	123
5.3.7	Ergebnisse der Migrationsversuche.....	128
5.3.8	Betrachtung der Ergebnisse aus den CB-Migrationsversuchen.....	133
5.4	Laponite.....	135
5.4.1	Untersuchung der Nanokomposite mittels TEM .....	135

5.4.2	Herstellung von Dispersionen aus dem Referenz-Nanomaterial.....	136
5.4.3	AF4/MALS Methodenentwicklung.....	138
5.4.4	Partikelgrößenverteilung der dispergierten Laponite-Partikel.....	139
5.4.5	Kalibrierung des Systems anhand von Kalibrierdispersionen .....	140
5.4.6	Bestimmung der Stabilität der Standards .....	142
5.4.7	Ergebnisse der Migrationsversuche.....	143
5.4.8	Betrachtung der Ergebnisse aus den Laponite-Migrationsversuchen.....	148
5.5	Nanosilber .....	151
5.5.1	Untersuchung der Nanokomposite mittels TEM.....	151
5.5.2	Quantifizierung von Silber mittels ICP-MS .....	152
5.5.3	Bestimmung der Migration von Silber aus den Silber-Nanokompositen.....	153
5.5.4	Überprüfung der Stabilität von Nanosilber in wässrigen Lebensmittelsimulanzen ...	155
5.5.5	Betrachtung der Ergebnisse aus den Nanosilber-Migrationsversuchen .....	157
6	Abschließende Betrachtung zur Migration von Nanomaterialien aus einem Polymer.....	162
7	Zusammenfassung.....	166
8	Literatur .....	169
9	Anhang .....	179

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Unterteilung von Nanoobjekten nach der Anzahl der nanoskaligen Dimensionen.....	7
Abbildung 2: Typischer Aufbau eines Nanomaterials .....	7
Abbildung 3: Schematischer Aufbau eines Schichtsilikats .....	11
Abbildung 4: Verteilungszustände von Schichtsilikaten im Polymer .....	11
Abbildung 5: Barriereprinzip von Schichtsilikaten.....	12
Abbildung 6: Schematische Darstellung des Migrationsverlaufs einer Substanz aus einer Verpackung auf ein Lebensmittel.....	18
Abbildung 7: Herleitung des Fickschen Diffusionsgesetzes anhand eines quaderförmiges Volumenelements .....	19
Abbildung 8: Verlauf der Migration (auf ein Lebensmittel) in Abhängigkeit des Verteilungskoeffizienten ( $K_{p,L}$ ) und Diffusionskoeffizienten ( $D_p$ ).....	24
Abbildung 9: Modellierter migrierter Menge nach 10 d bei 40 °C von sphärischen Kohlenstoffschwarzpartikeln aus einer PE-LD Verpackung in Abhängigkeit der Partikelgröße.....	28
Abbildung 10: Schematischer Aufbau eines AF4-Trennkanaals. ....	34
Abbildung 11: Trennschritte bei einem AF4 Probenlauf .....	36
Abbildung 12: Lichtstreuung an großen Partikeln .....	40
Abbildung 13: Schematischer Aufbau eines Vielwinkel-Lichtstreu (MALS) Detektors.....	41
Abbildung 14: Unterschiedliche Methoden der Darstellung von Debye-Plots .....	42
Abbildung 15: Sstabilität von Dispersionen: DLVO-Theorie.....	46
Abbildung 16: Übersicht über unterschiedliche Formen von Siliciumdioxid (Silica) .....	48
Abbildung 17: TEM-Messung eines Nanokomposits mit HMDZ modifizierten SAS-Partikeln.....	69
Abbildung 18: TEM-Messung eines Nanokomposits mit PDMS modifizierten SAS-Partikeln.....	70
Abbildung 19: TEM-Messung eines Nanokomposits mit Fällungskieselsäure-Partikeln .....	70
Abbildung 20: REM-Aufnahmen der Polymerschnittkanten von PE-LD Folien ohne (links) und mit kolloidalem SAS .....	70
Abbildung 21: SAS-Bodensatz nach 24 h bei wässrigen Dispersionen der hydrophilen Fällungskieselsäure.....	72
Abbildung 22: AF4 Trennmethode zur Fraktionierung von HMDZ modifizierten SAS-Partikeln. ....	74
Abbildung 23: AF4 Trennmethode zur Fraktionierung von PDMS modifizierten SAS-Partikeln .....	74
Abbildung 24: AF4 Trennmethode zur Fraktionierung von Fällungskieselsäure-Partikeln.....	75

Abbildung 25: AF4 Trennmethode zur Fraktionierung von kolloidalen SAS-Partikeln.....	76
Abbildung 26: Partikelgrößenverteilung der in 95 % Ethanol dispergierten HMDZ behandelten SAS-Partikel (100 ng ml <sup>-1</sup> ). .....	77
Abbildung 27: Partikelgrößenverteilung der in 95 % Ethanol dispergierten PDMS behandelten SAS-Partikel (100 ng ml <sup>-1</sup> ). .....	78
Abbildung 28: Partikelgrößenverteilung der in einer Tensidlösung dispergierten Fällungskieselsäure-Partikel (200 ng ml <sup>-1</sup> ). .....	79
Abbildung 29: Größenverteilung der in SDS-Tensidlösung dispergierten kolloidalen SAS-Partikel (100 ng ml <sup>-1</sup> ). .....	80
Abbildung 30: Fraktogramme der HMDZ-SAS-Kalibrierstandards .....	81
Abbildung 31: Fraktogramme der PDMS-SAS-Kalibrierstandards .....	83
Abbildung 32: Fraktogramme der Fällungskieselsäure-Kalibrierstandards .....	84
Abbildung 33: Fraktogramme der kolloidalen SAS-Kalibrierstandards .....	86
Abbildung 34: Stabilität von SAS-HMDZ-Dispersionen.....	89
Abbildung 35: Stabilität von SAS-PDMS-Dispersionen .....	91
Abbildung 36: Stabilität von Fällungskieselsäure-Dispersionen.....	93
Abbildung 37: Stabilität von kolloidalen SAS-Dispersionen.....	94
Abbildung 38: Migrationszelle aus Edelstahl mit PTFE-Dichtung.....	95
Abbildung 39: AF4 Fraktogramme eines HMDZ-SAS-Nanokomposits in 95 % Ethanol .....	96
Abbildung 40: AF4 Fraktogramme eines HMDZ-SAS-Nanokomposits in Isooktan .....	96
Abbildung 41: AF4 Fraktogramme eines HMDZ-SAS-Nanokomposits in 3 % v/v Essigsäure.....	97
Abbildung 42: Aufstockung der in 95 % Ethanol gelagerten Migrationsprobe. ....	98
Abbildung 43: AF4 Fraktogramme eines PDMS-SAS-Nanokomposits in 95 % Ethanol .....	98
Abbildung 44: AF4 Fraktogramme eines PDMS-SAS-Nanokomposits in Isooktan. ....	99
Abbildung 45: AF4 Fraktogramme eines PDMS-SAS-Nanokomposits in 3 % v/v Essigsäure .....	99
Abbildung 46: Aufstockung der in 95 % Ethanol gelagerten Migrationsprobe .....	100
Abbildung 47: AF4 Fraktogramme der Fällungskieselsäure-Nanokomposits in Tensidlösung.....	101
Abbildung 48: AF4 Fraktogramme eines kolloidalen SAS-Nanokomposits in Tensidlösung.....	101
Abbildung 49: Aufstockung der in einer Tensidlösung gelagerten Migrationsprobe .....	102
Abbildung 50: TEM-Aufnahmen eines TiN-Nanokomposits .....	106

Abbildung 51: TiN-Dispersionen nach 24 h Lagerung bei Raumtemperatur bei denen Ethylenglycol-Wasser-Gemische als Dispersionsmittel eingesetzt wurden.....	107
Abbildung 52: Blindwert einer 75 % Ethylenglykol – 25 % Wasser Mischung nachdem zuvor eine Dispersion mit TiN injiziert wurde.....	108
Abbildung 53: Kalibrierung des ICP-MS mittels Titan-Standards im Bereich von 0 bis 50 $\mu\text{g l}^{-1}$ .....	109
Abbildung 54: Kalibrierung des ICP-MS mittels Titan-Standards im Bereich von 0 bis 1000 $\mu\text{g l}^{-1}$ .	109
Abbildung 55: Ergebnisse der Titan-Messungen in den Migrationsproben.....	111
Abbildung 56: Vergleich des Titangehalts der in 3 % v/v Essigsäure angesetzten Migrationsproben mit dem Blindwert der 3 % v/v Essigsäure.....	111
Abbildung 57: TEM Aufnahme eines CB-Nanokomposits (5 % Printex 80® in PE-LD) im 2 $\mu\text{m}$ Maßstab (links) und 200 nm Maßstab (rechts). .....	113
Abbildung 58: TEM Aufnahme eines CB-Nanokomposits (5 % Printex 85® in PE-LD) im 2 $\mu\text{m}$ Maßstab (links) und 500 nm Maßstab (rechts). .....	113
Abbildung 59: TEM Aufnahme eines CB-Nanokomposits (5 % Printex 80® in PS) im 2 $\mu\text{m}$ Maßstab (links) und 500 nm Maßstab (rechts). .....	114
Abbildung 60: TEM Aufnahme eines CB-Nanokomposits (5 % Printex 85® in PS) im 2 $\mu\text{m}$ Maßstab (links) und 500 nm Maßstab (rechts). .....	114
Abbildung 61: TEM Aufnahme von Printex® 80 und Printex® 85 .....	115
Abbildung 62: CB-Dispersionen: frisch hergestellt .....	116
Abbildung 63: CB-Dispersionen nach Lagerung für 24 h bei Raumtemperatur .....	116
Abbildung 64: Vergleich von CB Dispersionen dispergiert in 95 % Ethanol und 2000 $\text{mg l}^{-1}$ SDS Tensidlösung.....	117
Abbildung 65: AF4 Trennmethode zur Fraktionierung von P80-Partikeln.....	118
Abbildung 66: AF4 Trennmethode zur Fraktionierung von P85-Partikeln.....	118
Abbildung 67: Partikelgrößenverteilung der in 95 % Ethanol dispergierten P80-Partikel .....	119
Abbildung 68: Partikelgrößenverteilung der in 95 % Ethanol dispergierten P85-Partikel.....	120
Abbildung 69: Fraktogramme der P80-Kalibrierstandards sowie die aus der Gesamt-Peakfläche aller Detektorwinkel ermittelte Kalibrierkurve.....	121
Abbildung 70: Fraktogramme der P85-Kalibrierstandards sowie die aus der Gesamt-Peakfläche aller Detektorwinkel ermittelte Kalibrierkurve.....	123
Abbildung 71: Stabilität der P80-Dispersionen.....	125
Abbildung 72: Stabilität der P85-Dispersionen.....	127
Abbildung 73: Lagerung der Teststreifen in 100 ml Schottflaschen.....	128
Abbildung 74: AF4 Fraktogramme eines P80 und P85-Nanokomposits in 95 % Ethanol .....	129

Abbildung 75: AF4 Fraktogramme eines P80 und P85-Nanokomposits in Isooktan .....	130
Abbildung 76: AF4 Fraktogramme eines P80 und P85-Nanokomposits in 3 % v/v Essigsäure.....	131
Abbildung 77: Aufstockung zweier in 95 % Ethanol gelagerter Migrationsproben. ....	133
Abbildung 78: TEM-Aufnahmen eines Laponite-Nanokomposits. ....	136
Abbildung 79: Laponite Dispersionen.....	138
Abbildung 80: AF4 Trennmethode zur Fraktionierung von Laponite-Partikeln.....	139
Abbildung 81: Partikelgrößenverteilung der in der Tensidlösung dispergierten Laponite-Partikel ...	140
Abbildung 82: Fraktogramme der Laponite-Kalibrierstandards .....	141
Abbildung 83: Stabilität der Laponite-Referenzdispersion.....	143
Abbildung 84: AF4 Fraktogramme der 2 % Laponite-Nanokomposite .....	145
Abbildung 85: AF4 Fraktogramme der 4 % Laponite-Nanokomposite und der 6 % Laponite-Nanokomposite .....	146
Abbildung 86: Aufnahme der Migrationsproben nachdem diese zuvor geschüttelt wurden .....	147
Abbildung 87: Fraktogramme einer 6 % Laponite Migrationsprobe .....	148
Abbildung 88: TEM-Aufnahmen eines Silber-Nanokomposits .....	152
Abbildung 89: Kalibrierung des ICP-MS mittels Silber Standards im Bereich von 0 bis 50 $\mu\text{g l}^{-1}$ ....	153
Abbildung 90: Kalibrierung des ICP-MS mittels Silber Standards im Bereich von 0 bis 200 $\mu\text{g l}^{-1}$ ..	153
Abbildung 91: Ergebnisse der Ag-NP Migrationsmessungen.....	155
Abbildung 92: AF4-Fraktogramme einer Ag-NP Dispersion in 3 % v/v Essigsäure.....	157
Abbildung 93: Stabilität von Ag-NP in 3 % v/v Essigsäure.....	157

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Quellen von Definitionen zum Begriff "Nanomaterial" .....	6
Tabelle 2: Errechnete Werte des Diffusionskoeffizienten anhand Gleichung 21 in Abhängigkeit des Partikeldurchmessers von Kohlenstoffschwarzpartikeln bei einer Systemtemperatur von 40 °C. ....	27
Tabelle 3: Verwendete SAS-Typen und vorhandene Herstellerangaben .....	49
Tabelle 4: Verwendetes TiN und vorhandene Herstellerangaben .....	50
Tabelle 5: Verwendete CB-Typen und vorhandene Herstellerangaben .....	51
Tabelle 6: Eigenschaften der SAS-Nanokomposite .....	53
Tabelle 7: Herstellung (in Eigenproduktion) und Eigenschaften der TiN-Nanokomposite .....	54
Tabelle 8: Eigenschaften der CB-Nanokomposite .....	54
Tabelle 9: Herstellung und Eigenschaften der Laponite-Nanokomposite.....	55
Tabelle 10: Herstellung und Eigenschaften der Silber-Nanokomposite.....	55
Tabelle 11: Aufbau des AF4/MALS Systems und Trennkanaloptionen.....	57
Tabelle 12: Parameter zur Bestimmung von Silber und Titan mittels ICP-MS .....	58
Tabelle 13: Chemikalien zur Herstellung von Dispersionsmitteln.....	62
Tabelle 14: Verwendete Geräte zur Herstellung von Dispersionen .....	63
Tabelle 15: Bestimmung des Titan-Gehalts der TiN-Nanokomposite .....	67
Tabelle 16: Bestimmung des Silbergehalts der Silber-Nanokomposite .....	68
Tabelle 17: Herstellung der SAS-Stammdispersionen .....	72
Tabelle 18: Gesamt-Peakflächen der HMDZ- SAS-Kalibrierstandards, bezogen auf ein Injektionsvolumen von 5 ml. ....	82
Tabelle 19: Gesamt-Peakfläche der PDMS-SAS-Kalibrierstandards, bezogen auf ein Injektionsvolumen von 5 ml. ....	83
Tabelle 20: Errechnete Gesamt-Peakfläche der einzelnen Fällungskieselsäure-Kalibrierstandards anhand der MALS Detektorsignale. Ergebnisse bezogen auf ein Injektionsvolumen von 5 ml. ....	85
Tabelle 21: Errechnete Gesamt-Peakfläche der einzelnen kolloidalen SAS-Kalibrierstandards anhand der MALS Detektorsignale. Ergebnisse bezogen auf ein Injektionsvolumen von 5 ml. ....	87
Tabelle 22: Bestimmung der Wiederfindungsrate und der Methodennachweisgrenze für HMDZ modifizierte SAS-Partikel.....	90
Tabelle 23: Bestimmung der Wiederfindungsrate und der Methodennachweisgrenze für PDMS modifizierte SAS-Partikel.....	92

Tabelle 24: Bestimmung der Wiederfindungsrate und der Methodennachweisgrenze für Fällungskieselsäure-Partikel .....	93
Tabelle 25: Bestimmung der Wiederfindungsrate und der Methodennachweisgrenze für kolloidale SAS-Partikel .....	95
Tabelle 26: Nachweisgrenzen der SAS-Migrationsstudien bezogen auf die Fläche der Verpackung und auf die Masse Lebensmittel .....	104
Tabelle 27: Bestimmung der Wiederfindungsraten (Mittelwerte) bzgl. Titan mittels ICP-MS (bezogen auf 100 ml Simulanz).....	110
Tabelle 28: Errechnete Gesamt-Peakfläche der einzelnen P80-Kalibrierstandards anhand der MALS Detektorsignale. Ergebnisse bezogen auf ein Injektionsvolumen von 1 ml. ....	122
Tabelle 29: Errechnete Gesamt-Peakfläche der einzelnen P85-Kalibrierstandards anhand der MALS Detektorsignale. Ergebnisse bezogen auf ein Injektionsvolumen von 1 ml. ....	123
Tabelle 30: Bestimmung der Wiederfindungsrate und der Methodennachweisgrenze für P80 CB-Partikel.....	126
Tabelle 31: Bestimmung der Wiederfindungsrate und der Methodennachweisgrenze für P85 CB-Partikel.....	128
Tabelle 32: Nachweisgrenzen der CB-Migrationsstudien bezogen auf die Fläche der Verpackung und auf die Masse Lebensmittel (bei einer Verpackungsfläche von 6 dm <sup>2</sup> pro kg Lebensmittel). ....	135
Tabelle 33: Errechnete Gesamt-Peakflächen der einzelnen Laponite-Kalibrierstandards anhand der MALS Detektorsignale. Ergebnisse bezogen auf ein Injektionsvolumen von 2 ml. ....	142
Tabelle 34: Bestimmung der Wiederfindungsrate und der Methodennachweisgrenze für Laponite-Partikel unter Migrationsbedingungen (1 ml Injektionsvolumen).....	143
Tabelle 35: Bestimmung der Wiederfindungsraten (Mittelwerte) bzgl. Silber mittels ICP-MS (bezogen auf 100 ml Simulanz).....	154

# Abkürzungsverzeichnis

## Abkürzungen

---

AAS	Atomabsorptionsspektrometrie
AF4	engl.: „asymmetric flow field-flow fractionation“ Asymmetrische Fluss Feld-Fluss Fraktionierung
Ag, Ag-NP	Silber, Silber-Nanopartikel
CB	engl.: „carbon black“ Kohlenstoffschwarz
CPS	engl.: „counts per second“ Signalstärke bei Massenspektrometern
CTA	Cellulosetriacetat
DLS	Dynamische Lichtstreuung
EVA	Ethylvinylacetat Copolymer
EVOH	Ethylen-Vinylalkohol-Copolymer
ICP-MS	engl.: „inductively coupled plasma mass spectrometry“ Induktiv gekoppelte Plasma-Massenspektrometrie
ICP-OES	engl.: “inductively coupled plasma optical emission spectrometry” Atomemissionsspektrometrie
MALS	engl.: “multi angle light scattering” Vielwinkel-Lichtstreuung
MMT	Montmorillonit ein häufig vorkommendes natürliches Schichtsilikat mit der empirischen Zusammensetzung $(\text{Na,Ca})_{0,33}(\text{Al,Mg})_2(\text{Si}_4\text{O}_{10})(\text{OH})_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$
PEEK	Polyetheretherketon
PE-HD	Polyethylen hoher Dichte
PE-LD	Polyethylen geringer Dichte
PES	Polyethersulfon
PET	Polyethylenterephthalat
PFA	Perfluoralkoxy Polymer
PLA	engl.: “polylactic acid” Polymilchsäure
PMMA	Polymethylmethacrylat
PP	Polypropylen
PTFE	Polytetrafluorethylen
PVC	Polyvinylchlorid
PVDF	Polyvinylidenfluorid
RC	Regenerierte Cellulose
REM	Rasterelektronenmikroskopie
rps	engl.: „rotations per second“ Umdrehungen pro Minute; Angabe der Rotationsgeschwindigkeit der

	peristaltischen Pumpe des ICP-MS
SAS	Synthetisches amorphes Siliciumdioxid
SDS	engl.: „sodium dodecylsulfate“ Natriumlaurylsulfat
SLS	Statische Lichtstreuung
SP-ICP-MS	engl.: „single particle inductively coupled plasma mass spectrometry“
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
TiN	Titannitrid

## Größen

---

$d_L$	Schichtdicke des Lebensmittels	m
$d_P$	Schichtdicke des Polymers	m
D	Diffusionskoeffizient	$m^2 s^{-1}$
$I_0$	Intensität des Laserlichts	W
$I_\theta$	Intensität des gestreuten Laserlichts bei Winkel $\theta$	W
$K_{P,L}$	Verteilungskoeffizient zwischen Polymer und Lebensmittel	-
$\lambda$	Wellenlänge des Lasers	nm
M	Molekulargewicht	$g mol^{-1}$
$r_g$	engl.: „radius of gyration“ Schwerpunktsradius	nm
T	Temperatur des Systems	K
$T_D$	dimensionslose Größe im allgemeinen Ausdruck für den Stofftransport	-
t	Zeit	s
$T_{m,P}$	Schmelztemperatur des Polymers	K

V	Volumen	m <sup>3</sup>
$\dot{V}_C$	Querfluss-Volumenstrom	ml min <sup>-1</sup>

### Indices

---

L	Lebensmittel
P	Polymer
r	relativ



## 1 Einleitung

Eine Lebensmittelverpackung ist eine Einheit, in welcher ein Lebensmittel dem Verbraucher übergeben wird. Hinsichtlich der Funktionalität einer Verpackung werden dabei hohe Anforderungen gestellt, um den Qualitätserhalt des verpackten Lebensmittels zu gewährleisten. Neben der grundlegenden Funktion, ein Lebensmittel transportfähig zu machen und Produktverluste zu vermeiden, stellt der Schutz des Lebensmittels ein wichtiges Kriterium dar, indem die Verpackung das Eindringen von beispielsweise Schmutz und Mikroorganismen verhindert. Eine ausreichende Barrierefunktion der Verpackung soll zudem das Eindringen von Gasen (insbesondere Sauerstoff) und Fehlparfums aus der Umgebung des verpackten Lebensmittels sowie Verluste flüchtiger Lebensmittelbestandteile wie Aromen, Wasserdampf oder Kohlendioxid (bei Getränken), vermeiden. Auch ein einfaches Formen und Gestalten der Verpackung ist aus Sicht des Herstellers von Bedeutung. Bei all diesen Anforderungen muss das Verpackungsmaterial dabei physikalisch-chemisch so beschaffen sein, dass die Verpackung bei mittelbarem oder unmittelbarem Kontakt mit dem Füllgut kaum Wechselwirkungen eingeht und somit keine erheblichen Mengen schädlicher Substanzen auf das Lebensmittel übergehen [1-4].

Kunststoffe werden bereits seit Jahrzehnten als Verpackungsmaterial eingesetzt und oftmals aufgrund ihrer einfachen Herstell- und Formbarkeit bei gleichzeitig geringem Produktgewicht gegenüber anderen Materialien wie Glas, Metall oder Papier bevorzugt [5]. Die physikalisch-chemischen Eigenschaften des reinen Kunststoff-Polymers reichen jedoch zumeist nicht aus, um die genannten Anforderungen an die Lebensmittelverpackung in vollem Umfang zu erfüllen. Insbesondere hinsichtlich Stabilität und Barrierewirkung weisen die meisten in der Praxis eingesetzten Polymere Nachteile auf [2]. Durch den Einsatz von Nanomaterialien können Kunststoff-Verpackungen produziert werden, welche in ihren Eigenschaften gegenüber dem reinen Polymer überlegen sind [6-12]. Kunststoffe, bei denen das Nanomaterial homogen in die Polymermatrix eingearbeitet wurde und somit als Füllstoff dient, werden als Nanokomposite bezeichnet [13]. Durch eine gezielte Auswahl eines bestimmten Nanomaterials können dabei spezifische Eigenschaften des Polymers optimiert werden. Nanokomposite, bei denen beispielsweise Nano-Ton-Partikel in das Polymer eingearbeitet wurden, weisen eine verbesserte thermische und mechanische Belastbarkeit auf. Zusätzlich wird die Barrierefunktion der Verpackung durch Auffüllen der Polymermatrix mit diesen Partikeln erhöht [13-21]. Polymere, denen Titandioxid zugesetzt wurde, können die Verpackung und das Lebensmittel vor schädigender UV-Strahlung schützen [11, 22]. Durch eine Vielzahl potentiell nutzbarer Nanomaterialien ergeben sich viele weitere vorteilhafte Anwendungsmöglichkeiten. Neben den verbesserten Materialeigenschaften der Nanokomposite seien auch die durch den Einsatz von Nanomaterialien realisierbaren aktiven und intelligenten Verpackungen genannt, welche aufgrund von Wechselwirkungen der Verpackung mit dem Lebensmittel oder dessen Umgebung erweiterte Funktionalität bieten können [8, 9]. Zu den aktiven Verpackungen werden beispielsweise solche gezählt, die nanoskalige Silberpartikel enthalten. Die Wechselwirkung dieser aktiven Verpackung beruht dabei auf der Abgabe antimikrobiell wirksamer Silberionen bei Kontakt mit dem Lebensmittel, wodurch dessen Haltbarkeit zusätzlich verlängert werden soll [23-28]. Bei intelligenten Verpackungen wird die Nanotechnologie für die Entwicklung von Sensoren genutzt, welche innerhalb oder außerhalb der Verpackung angebracht den Zustand des Lebensmittels überwachen sollen [10, 29]. Beispielsweise kann die Verpackung anhand temperaturempfindlicher Sensoren den Verbraucher darüber informieren, ob bei einem leicht verderblichen Lebensmittel die notwendige Kühlkette bis zum Erwerb des Lebensmittels ununterbrochen blieb [9]. In der Praxis spielen hierbei Nanomaterialien derzeit noch eine untergeordnete Rolle, das größte Potential nanoskaliger Polymeradditive liegt derzeit bei der Optimierung des Verpackungsmaterials.

Die speziellen Eigenschaften von Nanomaterialien lassen sich auf deren morphologische Eigenschaften zurückführen. Mit abnehmender Partikelgröße steigt das Verhältnis aus Oberfläche zu Volumen, d.h. nanoskalige Materialien weisen im Vergleich zu Materialien im mikro- oder makroskopischen Größenbereich eine überproportional größere Oberfläche auf. Die vergrößerte Oberfläche nanoskaliger Substanzen führt dabei nicht nur zu einer erhöhten Reaktivität des Materials, einzelne Nanomaterialien können sich zudem in ihren physikalischen und chemischen Eigenschaften von Substanzen im mikroskopischen Größenbereich unterscheiden [6, 30]. Die Herstellung höchst effizienter Materialien mit Eigenschaften, die neuartig oder den bisherigen Materialien überlegen sind, macht die Nanotechnologie zu einer Schlüsseltechnologie des 21. Jahrhunderts [31].

Dem rasanten und stetig steigenden Wachstum der Anwendung dieser Technologie stehen jedoch auch Bedenken zum sicheren Umgang gegenüber. Die hohe Reaktivität von Nanomaterialien und das zum großen Teil fehlende Wissen darüber, wie sich Nanomaterialien auf den Menschen und seine Umwelt auswirken könnten, führte zu einer allgemein breiten Skepsis gegenüber Nanomaterialien [32-34]. Speziell bei Konsumprodukten, insbesondere bei Lebensmitteln und den hierfür notwendigen Lebensmittelkontaktmaterialien, steht der Verbraucher einem Einsatz von Nanomaterialien zum Teil skeptisch gegenüber [35, 36]. Das weitestgehende Fehlen wissenschaftlich gesicherter Information über das Risiko von Nanomaterialien führte auch auf Ebene der Behörden zu einem vorsichtigen Verhalten. Zum Schutze des Verbrauchers wandte daher die Europäische Kommission das Vorsorgeprinzip an und regelte die Anwendung von Nanomaterialien bei Lebensmittelkontaktmaterialien aus Kunststoff in der Verordnung (EU) Nr. 10/2011 [37]. Demnach dürfen nur Nanomaterialien bei der Herstellung von Lebensmittelkontaktmaterialien verwendet werden, welche unter Berücksichtigung ihrer nanoskaligen Struktur bewertet wurden und in der sogenannten „Unionsliste“ im Anhang der Verordnung gelistet sind. Bisher sind lediglich wenige Nanomaterialien unter Berücksichtigung bestimmter Spezifikationen und Beschränkungen zugelassen. Außerdem regelt die Verordnung, dass die Autorisierung weiterer Nanomaterialien nicht allgemein erfolgen kann, sondern aufgrund einer Risikoanalyse auf Einzelfallbasis erfolgen muss.

Die Grundlage einer Risikoanalyse bilden dabei die Bewertung des Gefährdungspotentials einerseits und des Expositionspotentials andererseits. Da Nanomaterialien auch hinsichtlich ihrer Toxizität andere Eigenschaften als größer strukturierte Materialien aufweisen können, muss das Gefährdungspotential für eine Vielzahl nanoskaliger Substanzen erfasst werden, auch wenn von der gleichen Substanz mit konventioneller Struktur bereits Daten existieren [37]. Grundsätzlich kann nur von einem Risiko von Nanomaterialien ausgegangen werden, wenn sowohl eine Gefährdung als auch eine Exposition möglich ist [31]. Hinsichtlich des Gefährdungspotentials lassen sich bisher nur wenige Daten aus wissenschaftlichen Toxizitätsstudien zusammentragen. Die dabei wichtigsten Parameter wie die Toxikokinetik, d.h. die Aufnahme, Verteilung und Speicherung von Nanomaterialien im Körper, sowie die Toxikodynamik, d.h. die Wirkung auf den Organismus, sind weitestgehend unbekannt [38]. Bisher konnten jedoch nur wenige Nanomaterialien aufgrund der inhärent schwierigen Analytik untersucht werden. Insbesondere die Frage nach langfristigen Auswirkungen kann derzeit nur ungenügend beantwortet werden, da diese neuartigen Materialien noch nicht ausreichend lange erforscht werden konnten [39]. Bei einem Einsatz von Nanomaterialien in Lebensmittelverpackungen aus Kunststoffen ist es daher zielgerichteter, die Risikoanalyse anhand der Ermittlung des Expositionspotentials durchzuführen. Nanomaterialien, welche fest in die Polymermatrix eingebettet sind, würden nur zu einer Exposition gegenüber dem Verbraucher führen, wenn sie aus der Verpackung auf das Lebensmittel migrieren.

Die Migration einer Substanz aus einer Polymermatrix lässt sich als Diffusion der Substanz durch das Polymer und aus diesem heraus beschreiben. Die Möglichkeit dieser Substanz, sich innerhalb einer Matrix zu bewegen, hängt dabei von verschiedenen Faktoren ab. Als maßgebliche Triebkraft gilt der Diffusionskoeffizient für die im Polymer verteilte Substanz, welcher wiederum von verschiedenen Parametern abhängig ist [40]. Anhand von Migrationsmessungen konventioneller Polymeradditive (z.B. Lichtstabilisatoren oder Antioxidantien) ist bekannt, dass der Diffusionskoeffizient dabei mit zunehmender Molekülgröße bzw. mit zunehmender Molekularmasse abnimmt [3]. Polymeradditive mit höherer Molekularmasse besitzen daher bei gegebener Temperatur einen kleineren Diffusionskoeffizienten und migrieren langsamer als Additive mit niedrigerem Molekulargewicht. Anders als bei konventionellen Polymeradditiven, welche in der Regel aus nur einem einzigen Molekül bestehen, stellt ein Nanomaterial einen festen Verbund mehrerer Moleküle oder Atome dar [41, 42]. Daraus lässt sich für die Praxis zunächst theoretisch ableiten, dass Nanomaterialien im Vergleich zu konventionellen Polymeradditiven, wenn überhaupt, nur extrem langsam aus dem Polymer migrieren können.

Diese Annahme allein kann jedoch ohne analytischen Nachweis für die Bewertung des Expositionspotentials von in Lebensmittelverpackungen eingesetzten Nanomaterialien nicht herangezogen werden. Im Gegensatz zu konventionellen Additiven, bei denen üblicherweise die Migration anhand der Art und der Menge der migrierten Substanz erfasst wird, muss bei Nanomaterialien zusätzlich das Charakterisierungsmerkmal der Partikelgröße erfasst werden. Dies stellt die Analytik vor große Schwierigkeiten, da konventionelle chromatographische oder massenspektrometrische Analysetechniken zur Detektion von Nanomaterialien unter diesem Gesichtspunkt ungeeignet sind. Bis jetzt existieren noch keine Leitfäden oder zertifizierte Referenzmaterialien und nur wenige spezielle Analysetechniken, welche eine zielgerichtete Versuchsdurchführung zum Nachweis der Migration von Nanomaterialien erlauben [43]. Dies führt nach wie vor dazu, dass die wenigen bisher publizierten Migrationsstudien zu Nanomaterialien in Lebensmittelverpackungen untereinander keine Vergleichbarkeit zulassen. Zudem müssen viele der dargestellten Ergebnisse, aufgrund der teils unkonventionellen Herangehensweise und Analysetechniken, welche keinen direkten Nachweis von Nanomaterialien ermöglichen, sehr kritisch bewertet werden.

## 2 Zielsetzung der Arbeit und Herangehensweise

Das übergeordnete Ziel dieser Arbeit ist es, anhand von einzelnen Migrationsstudien mit modellhaftem Charakter eine allgemeine Bewertung des Migrationspotentials von in Kunststoff-Lebensmittelverpackungen eingesetzten Nanomaterialien zu ermöglichen. Neben Untersuchungen an in der Praxis bereits Anwendung findenden Materialien, wurden auch Versuche an Materialien durchgeführt, welche hinsichtlich des Migrationspotentials von Nanomaterialien einen auf die Praxis bezogenen besonders ungünstigen Grenzfall darstellen. Die in dieser Arbeit durchgeführten Versuche sollten dabei ein möglichst umfassendes Spektrum an Nanomaterialien in Lebensmittelverpackungen einerseits und Kontaktbedingungen mit Lebensmitteln von praxisrelevanten bis hin zu „worst-case“ Bedingungen andererseits abdecken. Die Versuchsplanung erfolgte daher unter Berücksichtigung der folgenden Parameter:

- Wahl des verwendeten Nanomaterials:
  - Nanomaterialien, welche hinsichtlich ihres strukturellen Aufbaus typisch für die Mehrzahl an Nanomaterialien sind und bereits Anwendung in der Praxis finden.

- Nanomaterialien, welche aufgrund ihrer Struktur und Partikelgröße ein höheres Migrationspotential erwarten lassen.
- Nanomaterialien, welche eine gute analytische Nachweisbarkeit ermöglichen (z.B. aufgrund der Elementzusammensetzung des Nanomaterials)
- Wahl des verwendeten Kunststoffpolymers:
  - Kunststoffe, welche Anwendung als Lebensmittelverpackungsmaterial finden und eine typische Matrix für das verwendete Nanomaterial darstellen.
  - Kunststoffe, welche aufgrund ihrer physikalisch-chemischen Eigenschaften eine hohe Diffusivität besitzen.

Neben der Dauer und der Temperatur bei den Migrationsversuchen galt auch das eingesetzte Lebensmittelsimulanz als entscheidender Parameter. Es sollte sowohl der Kontakt zu unterschiedlichen Arten an Lebensmitteln (z.B. wässrig, alkoholhaltig, fettig, oder sauer) abgedeckt werden, als auch eine gute Aufnahmefähigkeit (Dispergierbarkeit) der migrierenden Substanz (Nanomaterial) gewährleistet sein, um einen analytischen Nachweis zu ermöglichen. Neben Lebensmittelsimulanzien, welche für die Durchführung von Migrationsstudien in der Verordnung (EU) Nr. 10/2011 festgelegt sind, wurden auch alternative Simulanzien verwendet, welche eine optimale Dispergierbarkeit des jeweiligen Nanomaterials ermöglichen. Auch Simulanzien, welche das verwendete Polymer quellen und somit eine Migration von Nanomaterialien erleichtern könnten, fanden Anwendung.

Als analytischer Ansatz sollte eine Methode erarbeitet werden, welche eine möglichst direkte Detektion und Quantifizierung von Nanomaterialien in den Migrationsproben ermöglichte. Das Ziel war hierbei, nach Ende der Migrationsversuche die Proben möglichst ohne aufwendige Probenaufbereitung zu analysieren, um einen etwaigen Einfluss der Probenbehandlung auf die Nachweisbarkeit des Nanomaterials zu minimieren. Die Anforderungen, welche dabei an die analytische Methode gestellt werden, sind sehr komplex. Einerseits mussten die Proben aus den Migrationsversuchen möglichst direkt messbar sein, d.h. die Analysenmethode musste auf eine Vielzahl an Lebensmittelsimulanzien anwendbar sein, andererseits musste ein eindeutiger Nachweis von Nanomaterialien in der Probe möglich sein. Hierfür war eine Trennung des Nanomaterials von etwaig anderen vorhandenen Probenbestandteilen, eine Charakterisierung des Nanomaterials (d. h. Bestimmung der Partikelgröße) sowie eine Quantifizierung des detektierten Nanomaterials notwendig.

Allgemein werden für die Entwicklung und die anschließende Validierung einer analytischen Methode Standards benötigt, bei denen Art und Menge des enthaltenen Analyten exakt bestimmt sind. Für die Versuche in dieser Arbeit sind bis heute jedoch keine zertifizierten Standards erhältlich, weshalb ein grundlegender Teil dieser Arbeit sich zunächst mit dem Herstellen von Referenzdispersionen beschäftigte, welche den Charakter eines Standards erfüllen sollten. Um bei den jeweiligen Migrationsversuchen eine substanzspezifische Referenzdispersion zu erhalten, wurden Dispersionen hergestellt, die das identische Nanomaterial der jeweiligen Nanokomposite enthielten. Um den Charakter eines Nanomaterial-Standards gewährleisten zu können, mussten jedoch neben der Art und der Menge des enthaltenen Nanomaterials zusätzlich auch nano-spezifische Eigenschaften berücksichtigt werden. Einerseits sollte in umfangreichen Versuchen sichergestellt werden, dass das Nanomaterial in den Referenzdispersionen dieselben Partikelgrößen enthalten wie sie auch in den Nanokompositen vorzufinden sind. Andererseits musste sichergestellt werden, dass die Stabilität des Nanomaterials in der Referenzdispersion unter den bei den Migrationsversuchen angewandten Bedingungen (Art des Simulanz, Temperatur und Dauer der Lagerung) gewährleistet ist. Nur unter

zusätzlicher Berücksichtigung der beiden zuletzt genannten Kriterien ist es möglich anhand des entscheidenden Parameters der Partikelgröße eine Migration von Nanomaterialien überhaupt erst nachzuweisen. Das Herstellen der Referenzdispersionen ist somit ein fundamentaler Bestandteil dieser Arbeit. Bis jetzt ist keine andere Arbeit bekannt, welche die Detektion, Identifizierung, Charakterisierung und Stabilität der in dieser Arbeit untersuchten Nanomaterialien unter den bei Migrationsprüfung angewandten Bedingungen untersucht hat. Die Ergebnisse der Dispersionsversuche sollen daher als entscheidender Teil dieser Arbeit behandelt werden.

Zum Nachweis von Nanomaterialien in Lebensmittelsimulanzien bietet oftmals nur eine Kombination aus mehreren Analysetechniken die Möglichkeit, die genannten Kriterien (Detektion, Quantifizierung und Charakterisierung) zu erfüllen. In dieser Arbeit wurde daher eine Kombination aus asymmetrischer Fluss Feld-Fluss Fraktionierung (AF4) mit einem Vielwinkel-Lichtstreuendetektor (engl.: „multi angle light scattering detector“, „MALS“) kombiniert. AF4 diene in dieser Arbeit zur Fraktionierung der Probenbestandteile nach der Partikelgröße, bzw. zur Abtrennung von Nanomaterialien von anderen enthalten Probenbestandteilen. Der nachgeschaltete MALS Detektor diene der Bestimmung der Partikelgrößenverteilung einerseits und der Quantifizierung des Nanomaterials andererseits. Je nach Eigenschaft des verwendeten Nanomaterials wurden Migrationsversuche auch unter Verwendung eines induktiv gekoppelten Plasma Massenspektrometers (engl.: „inductively coupled plasma mass spectrometer“, „ICP-MS“), zum Nachweis von Nanomaterial spezifischen Elementen durchgeführt.

### 3 Grundlagen und Stand des Wissens

#### 3.1 Nanomaterialien

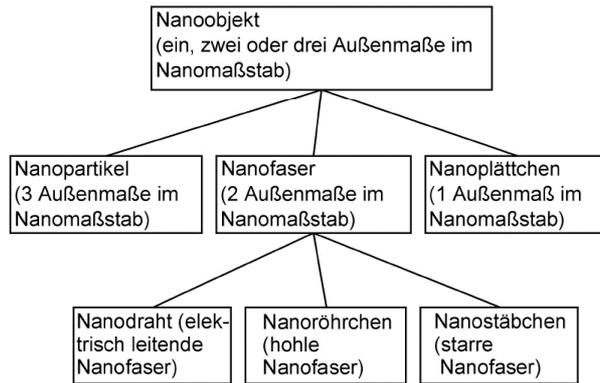
##### 3.1.1 Definition von Nanomaterialien

Mit dem rasanten Fortschritt der Nanotechnologie und den daraus hervorgebrachten neuartigen Nanomaterialien stellte sich auch die Frage danach, wie Nanomaterialien begrifflich von anderen Materialien und Strukturen abgegrenzt werden können. Um ein Material in seiner nanoskaligen Struktur bewerten zu können, muss zunächst einmal definiert werden, wann eine Substanz als Nanomaterial verstanden wird. Während der letzten Jahre diskutierten nationale und internationale Behörden, Industrievereinigungen und Normungsorganisationen darüber, wie Nanomaterialien definiert werden können, woraus sich eine Vielzahl an Definitionen ergab. Ein Überblick relevanter Definitionen ist in Tabelle 1 dargestellt.

**Tabelle 1: Quellen von Definitionen zum Begriff "Nanomaterial"**

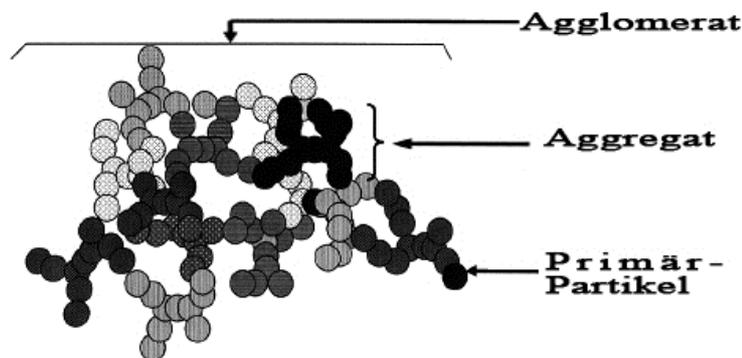
<b>ISO</b> <i>Internationalen Organisation für Normung</i>	ISO/TS 80004 (Teil 1 bis 4): <i>Nanotechnologien – Fachwörterverzeichnis</i>
<b>CEN</b> <i>Europäisches Komitee für Normung</i>	CEN ISO/TS 27687:2008: <i>Nanotechnologien – Terminologie und Begriffe für Nanoobjekte – Nanopartikel, Nanofaser und Nanoplättchen</i>
<b>SCENIHR</b> <i>Wissenschaftlicher Ausschuss der Europäischen Kommission für neu auftretende und neu identifizierte Gesundheitsrisiken</i>	SCENIHR Stellungnahme (08. Dezember 2010): <i>Scientific Basis for the Definition of the Term nanomaterial</i>
<b>ASTM</b> <i>American Society for Testing and Materials</i>	ASTM E2456-06, 2012 <i>Standard Terminology Relating to Nanotechnology</i>
<b>VCI</b> <i>Verband der Chemischen Industrie</i>	VCI Stellungnahme, (Februar 2010): <i>VCI position on the definition of the term nanomaterial for use in regulations laying down provisions on substances</i>
<b>EU</b> <i>Europäische Union</i>	2011/696/EU: <i>Empfehlung der Kommission vom 18. Oktober 2011 zur Definition von Nanomaterialien</i>

Im Allgemeinen werden in den unterschiedlichen Definitionen Nanomaterialien als Substanzen mit Strukturen im Größenbereich von 1 bis 100 nm festgelegt. Einzelne Definitionen gehen dabei noch auf weitere Begrifflichkeiten ein, welche im Zusammenhang mit Nanomaterialien einhergehen. In der Definition des Europäischen Komitees für Normung (CEN ISO/TS 27687:2008) werden nanoskalige Materialien als Nanoobjekte bezeichnet, wenn diese in einer, zwei oder allen drei Dimensionen Außenmaße im 1 bis 100 nm Bereich aufweisen. Je nach Anzahl der nanoskaligen Dimensionen lassen sich laut dieser Definition Nanoobjekte in Nanoplättchen (eine Dimension im Nanomaßstab), Nanofasern (zwei Dimensionen im Nanomaßstab) und Nanopartikel (drei Dimensionen im Nanomaßstab) unterscheiden (Abbildung 1).



**Abbildung 1: Unterteilung von Nanoobjekten nach der Anzahl der nanoskaligen Dimensionen nach CEN ISO/TS 27687:2008 [41].**

Des Weiteren wird in Abhängigkeit der Struktur zwischen Partikeln, Aggregaten und Agglomeraten unterschieden. Demnach sind Partikel (bzw. Nanoobjekte) Stücke einer Substanz mit definierten äußeren Grenzen, wobei sich Partikel aufgrund ihrer hohen Oberflächenenergie zu größeren Einheiten, den Aggregaten und Agglomeraten, zusammenlagern können. Aggregate sind laut Definition ein Verband aus Partikeln, in welchem aufgrund starker chemischer oder physikalischer Kräfte die Partikel fest miteinander verbunden sind. Agglomerate hingegen bestünden aus losen, durch schwache chemische oder physikalische Kräfte zusammengehaltenen Partikeln oder Aggregaten. Ein typischer Aufbau eines Nanomaterials mit dieser Struktur, wie sie bei einer Vielzahl an Nanomaterialien vorkommt ist schematisch in Abbildung 2 gezeigt.



**Abbildung 2: Typischer Aufbau eines Nanomaterials (hier: Kohlenstoffschwarz). Das Agglomerat besteht aus lose gebundenen Aggregaten, welche wiederum aus fest gebundenen Primärpartikeln bestehen [44].**

Maßgeblich für den Raum innerhalb der Europäischen Union ist jedoch die Definition der Kommission 2011/696/EU anzusehen, welche alle EU-Mitgliedsstaaten, EU-Agenturen und Wirtschaftsteilnehmer auffordert diese Definition für legislative und politische Zwecke anzuwenden. Laut dieser Empfehlung ist der Begriff Nanomaterial wie folgt festgelegt:

- „‘Nanomaterial‘ ist ein natürliches, bei Prozessen anfallendes oder hergestelltes Material, das Partikel in ungebundenem Zustand, als Aggregat oder als Agglomerat enthält, und bei dem mindestens 50 % der Partikel in der Anzahlgrößenverteilung ein oder mehrere Außenmaße im Bereich von 1 nm bis 100 nm haben.“
- „‘Partikel‘ ist ein sehr kleines Teilchen einer Substanz mit definierten physikalischen Grenzen.“

- „‘Agglomerat‘ ist eine Ansammlung schwach gebundener Partikel oder Aggregate, in der die resultierende Oberfläche ähnlich der Summe der Oberflächen der einzelnen Bestandteile ist.“
- „‘Aggregat‘ ist ein Partikel aus fest gebundenen oder verschmolzenen Partikeln.“

Diese Definition beabsichtigt auf eine einfache Art und Weise, Nanomaterialien zu definieren. Zur begrifflichen Festlegung wird die Partikelgröße als einziges und eindeutiges Charakterisierungsmerkmal herangezogen. Demnach spielen spezifische, durch die nanoskalige Struktur hervorgerufene Eigenschaften eines Materials keine Rolle. Während die Partikelgröße ein auf alle Substanzen anwendbarer und messbarer Parameter darstellt, müssen nano-spezifische Eigenschaften hingegen substanzspezifisch erfasst werden. Potentielle Risiken, welche aufgrund der nanoskaligen Struktur auftreten können, sind keine allgemein auf Nanomaterialien anwendbaren Eigenschaften und müssen daher in einer gesonderten Risikoanalyse ermittelt werden. Des Weiteren umfasst die Definition sowohl natürlich vorkommende als auch technisch hergestellte Nanomaterialien (MEMO/11/704 der EC).

Auf Seiten der Industrie als auch nichtstaatlicher Organisationen stößt diese Definition auf breite Kritik. Es wird argumentiert, dass, ohne auf die nanospezifischen Eigenschaften einer Substanz einzugehen, der Größenbereich der Definition von 1 nm bis 100 nm willkürlich erscheint. So könnte es dazu kommen, dass Materialien, auf welche die Definition zutrifft, aufwändige und kostenintensive Risikoanalysen erfordern, obwohl sie keine signifikant anderen Eigenschaften als größer strukturierte Materialien aufweisen. Zudem treffe die Definition nun auch auf Substanzen zu, welche bereits seit Jahren auf dem Markt etabliert und von Behörden anerkannt sind, ohne zuvor als Nanomaterial definiert gewesen zu sein. Zudem wird befürchtet, dass Materialien welche knapp oberhalb der 100 nm-Grenze liegen und signifikant andere Eigenschaften aufweisen als mikroskopische Substanzen, ohne angemessene Risikoanalysen auf den Markt gelangen können [45].

In dieser Arbeit wird der Begriff Nanomaterial als Oberbegriff für nanostrukturierte Substanzen entsprechend der Definition 2011/696/EU verwendet (z.B. Nanosilber, Kohlenstoffschwarz, etc.). Der Begriff Nanopartikel bezieht sich im Folgenden auf ein einzelnes Teilchen eines Nanomaterials, welches zumeist der kleinsten dispergierbaren Einheit eines bestimmten Nanomaterials entspricht (z.B. ein einzelnes Aggregat eines bestimmten Nanomaterials).

### 3.1.2 Nanomaterialien in Lebensmittelverpackungen

Nanomaterialien finden in vielzähligen Branchen aufgrund neuartiger Eigenschaften oder ihrer höheren Effizienz im Vergleich zu konventionellen Materialien Anwendung. Der Fokus dieser Arbeit liegt auf der Anwendung in Lebensmittelverpackungen, wobei sich hier ebenfalls eine Vielzahl an Potentialen aufzählen lassen. Wie bereits geschildert lassen sich Nanomaterialien in Lebensmittelverpackungen in Abhängigkeit ihrer Funktion zur Optimierung von Verpackungsmaterialien oder zur Herstellung aktiver oder intelligenter Verpackungen verwenden [8, 9].

#### 3.1.2.1 Nanokomposite zur Verbesserung der Polymereigenschaften

Polymere, bei denen Nanomaterialien in die Polymermatrix eingearbeitet wurden, werden als Nanokomposite bezeichnet. Nanokomposite bestehen dabei aus einer kontinuierlichen und einer dispersen Phase, wobei die kontinuierliche Phase das umgebende Polymer darstellt, die disperse Phase die im Polymer als Füllstoff homogen verteilten (dispergierten) Nanomaterialien [10]. Allgemein zielen Nanokomposite darauf ab, grundlegende Polymereigenschaften zu verbessern. Zu den grund-

legenden Polymereigenschaften in Hinblick auf den Einsatz als Verpackungsmaterial zählt die thermische und mechanische Belastbarkeit, die Barrierefunktion gegenüber Wasserdampf, Gasen (z. B. Sauerstoff oder Kohlendioxid) und flüchtigen Bestandteilen des Lebensmittels (z. B. Aromen), sowie den Schutz der Verpackung und des verpackten Lebensmittels vor schädigender UV-Strahlung [6, 46]. Allein durch das Auffüllen der Polymermatrix mit Nanomaterialien können bereits grundlegende Verbesserungen erzielt werden. Zu den Nanomaterialien, über die eine optimierende Wirkung berichtet wurde, zählen beispielsweise Zinkoxid (ZnO) [47], Siliciumdioxid (SiO<sub>2</sub>) [48], Nano-Tonerden (Clays/Schichtsilikate) [14, 18], Titandioxid (TiO<sub>2</sub>) [22] und nanofibrillierte Zellulose (NFC) [49]. Allgemein konnte durch den Einsatz dieser Nanomaterialien eine bessere Zerreißfestigkeit, eine höhere Temperaturbelastbarkeit und eine verbesserte Barriere Wirkung gegenüber Gasen und Wasserdampf des zugrundeliegenden Polymers belegt werden, was sich auf das Auffüllen der Polymermatrix mit nanoskaligen Substanzen zurückführen lässt. Die chemische Natur des jeweiligen Nanomaterials verleiht dem entsprechendem Nanokomposit zudem substanzspezifische Eigenschaften. Beispielsweise konnte bei Polymeren mit ZnO eine antimikrobielle Wirkung nachgewiesen werden, auch wenn der genaue zugrundeliegende antimikrobielle Mechanismus noch nicht vollständig aufgeklärt werden konnte. Die Bildung reaktiver Sauerstoffspezies, Wechselwirkungen der Bakterienzellen mit dem Nanomaterial selbst oder die Abgabe von Zn<sup>2+</sup>-Ionen gelten jedoch als am wahrscheinlichsten. Zu den substanzspezifischen Eigenschaften von TiO<sub>2</sub> zählt die schtzende Wirkung vor schädigender UV-Strahlung. Im Vergleich zu Polymeren ohne TiO<sub>2</sub> konnte eine Zunahme der Absorption und eine Abnahme der Transmission von UV-A und UV-B Strahlen mit zunehmender TiO<sub>2</sub> Konzentration im Polymer beobachtet werden. Durch den Einsatz von NFC konnten zwar keinen substanzspezifischen Auswirkungen festgestellt werden, jedoch wird NFC zunehmend als wirksamer Füllstoff bei Biopolymeren untersucht. Auf Nanomaterialien, deren Eigenschaften als Polymeradditiv bereits gut erforscht sind und/oder die als Additiv für Kunststoff-Lebensmittelverpackungen bereits zugelassen sind soll im Folgenden näher eingegangen werden.

Synthetisch amorphes Siliciumdioxid (SAS) wird bereits seit 1950 [50] als Nanomaterial produziert, auch wenn es erst seit Aufkommen der Definition (2011/696/EU) als ein solches betrachtet wird. SAS gilt aufgrund seiner Eigenschaften als ein sehr vielseitig einsetzbares Nanomaterial und dient als Verdickungsmittel bei beispielsweise Druckfarben und Kosmetika, Adsorbens bei Druckerpapieren und ebenfalls als Fließhilfsmittel in Lebensmitteln, wie beispielsweise Salz [50]. In eine Polymermatrix eingearbeitet entstehen Nanokomposite, welche durch SAS in ihren thermischen sowie mechanischen Eigenschaften verbessert sind. Durch die Zugabe von SAS in die Polymermatrix können je nach Polymer Eigenschaften wie Steifigkeit, Elastizität, Barrierefunktion, Widerstandsfähigkeit gegen Wasser und Verarbeitbarkeit des Polymers eingestellt werden [6, 48, 51, 52].

Ein weiteres Nanomaterial, welches seit geraumer Zeit auf dem Markt ist, ist Kohlenstoffschwarz (engl. „Carbon Black“). Kohlenstoffschwarz wird hauptsächlich in der Kautschukindustrie eingesetzt (z. B. Einstellung von Elastizität und Abrieb von Reifen) [53], jedoch kommt dieses Nanomaterial auch in der Produktion von Verpackungspolymeren zum Einsatz. Kohlenstoffschwarz dient einerseits als Pigment bei der Bedruckung von Verpackungen, andererseits wird es auch als Kunststoffadditiv direkt eingesetzt. Neben der Verstärkung des Polymers wird Kohlenstoffschwarz zum Färben, als Lichtschutz und zum Einstellen der elektrischen Leitfähigkeit von Polymeren verwendet [53, 54].

Als Nanomaterial mit einer spezifisch-technischen Eigenschaft sei zudem Titannitrid (TiN) genannt. TiN wird als sogenanntes „Reheat“-Additiv bei der Herstellung von Getränkeflaschen aus Polyethylenterephthalat (PET) verwendet. PET-Flaschen werden durch Streckblasen von PET-Vorformlingen hergestellt. Dabei wird der Vorformling durch Erhitzen erweicht und in einer Blasform

auf die endgültige Flaschenform aufgeblasen. Nanoskaliges TiN in der PET-Matrix soll dabei einen besseren Wärmeübergang durch verstärkte Absorption von Infrarot-Strahlung auf das Polymer ermöglichen. Hierdurch wird das Polymer schneller aufgeweicht wodurch ein höherer Durchsatz bei geringerem Energieaufwand während der Produktion realisiert werden kann [55].

Aufgrund der guten Verfügbarkeit, geringen Kosten, einfachen Verarbeitbarkeit und der jeweiligen Produkteigenschaften stellen Schichtsilikate das am häufigsten verwendete anorganische Nanomaterial dar [13]. Schichtsilikate dienen als Füllstoff zur Erhöhung der thermischen und mechanischen Belastbarkeit des Polymers und sollen als Nanokomposit zugleich die Barrierefunktion der Verpackung erhöhen [5, 6, 13-16, 18-20]. Schichtsilikate bestehen aus zu Stapeln zusammengelagerten ultrafeinen Plättchen, wobei die einzelnen Plättchen seitliche Ausdehnungen von bis zu mehreren Mikrometern und Schichtdicken von gerade einmal 1 nm aufweisen, während der gesamte Stapel mehrere Mikrometer dick sein kann. In der Natur existieren unterschiedliche Arten von Schichtsilikaten, welche sich je nach Aufbau des Schichtsilikats in die Gruppen Illit, Kaolinit, Attapulgit (auch Palygorskit), Chlorit und Smektit unterteilen lassen [56]. Die Grundstruktur aller Schichtsilikate beruht dabei auf einzelnen oberflächengeladenen Schichten, welche durch entsprechende Gegenionen zusammengehalten werden. Man unterscheidet dabei zwei Arten von Schichten, die Tetraederschicht und Oktaederschicht, aus denen einzelne Plättchen aufgebaut sind. Die Tetraederschicht besteht aus Tetraedern, bei denen jeweils ein Metallion von vier Sauerstoffatomen umgeben ist. Die Oktaederschicht besteht aus zentralen Metallionen, welche von jeweils acht Sauerstoffatomen umgeben sind [18]. Je nach Schichtsilikat sind die Metallionen der Tetraeder dabei Ionen von Silicium ( $\text{Si}^{4+}$ ), Aluminium ( $\text{Al}^{3+}$ ), oder Eisen ( $\text{Fe}^{3+}$ ), die der Oktaeder überwiegend Ionen von Aluminium ( $\text{Al}^{3+}$ ), Eisen ( $\text{Fe}^{3+}$  oder  $\text{Fe}^{2+}$ ), oder Magnesium ( $\text{Mg}^{2+}$ ), zum Teil auch Lithium ( $\text{Li}^+$ ), Mangan ( $\text{Mn}^{2+}$ ), Cobalt ( $\text{Co}^{2+}$ ), Nickel ( $\text{Ni}^{2+}$ ), Kupfer ( $\text{Cu}^{2+}$ ), Zink ( $\text{Zn}^{2+}$ ), Vanadium ( $\text{V}^{3+}$ ), Chrom ( $\text{Cr}^{3+}$ ) oder Titan ( $\text{Ti}^{4+}$ ) [57]. Bei Illit und Kaolinit sind die durch die Oberflächenladungen (Illit) oder durch starke Wasserstoffbindungen (Kaolinit) verursachten Wechselwirkungen so stark, dass jeweils eine 1:1 Schichtstruktur aus je einer tetraedrischen und einer oktaedrischen Schicht entsteht (Zweischichtstruktur), die nicht weiter aufquellen kann. Attapulgit bildet eine 2:1 Schichtstruktur (Dreischichtstruktur aus zwei Tetraederschichten und einer Oktaederschicht) mit nadelförmigen Kristallen aus, welche durch starke mechanische Kräfte in einzelne mineralische Fasern zerlegt werden können. Chlorit besteht aus einer festen, nicht weiter quellbaren 2:2 Schichtstruktur (Vierschichtstruktur). Die am häufigsten auftretende Gruppe der Schichtsilikate ist die Smektit-Gruppe, welche wie Attapulgit eine 2:1 Schichtstruktur aufweist, jedoch keine faserigen Kristalle bildet. Der typische Aufbau eines Schichtsilikats der Smektit-Gruppe soll am Beispiel des häufig zitierten Montmorillonits (MMT) veranschaulicht werden. Die einzelnen Plättchen des MMT weisen eine „Sandwich“-Struktur auf, welche aus zwei äußeren Tetraederschichten und einer mittleren Oktaederschicht besteht (Abbildung 3) [13]. Durch eine teilweise Substitution des Aluminiums (dreiwertig) durch Magnesium (zweiwertig) entsteht eine negative Ladung an der Oberfläche des Dreischichtverbands. Durch positive geladene Gegenionen (typischerweise Natrium ( $\text{Na}^+$ ) oder Calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ )) in einer wässrigen Zwischenschicht werden die einzelnen Plättchen zusammengehalten und zu einem größeren Schichtsilikat gestapelt [6, 13]. MMT zeichnet sich besonders dadurch aus, dass die einzelnen Stapel quellen können und eine hohe Ionenaustauschkapazität besitzen. Diese natürlich vorkommenden Schichtsilikate weisen einen hydrophilen Charakter auf, welcher eine weitere Modifikation des Nanomaterials vor der Einarbeitung in ein organisches Polymer notwendig macht. Durch den Austausch der anorganischen Kationen ( $\text{Na}^+$ , bzw.  $\text{Ca}^{2+}$ ) durch organische Ammoniumverbindungen kann die Kompatibilität mit dem Polymer erhöht werden. Organisch modifizierte Schichtsilikate werden als „Organoclays“ bezeichnet [58, 59].

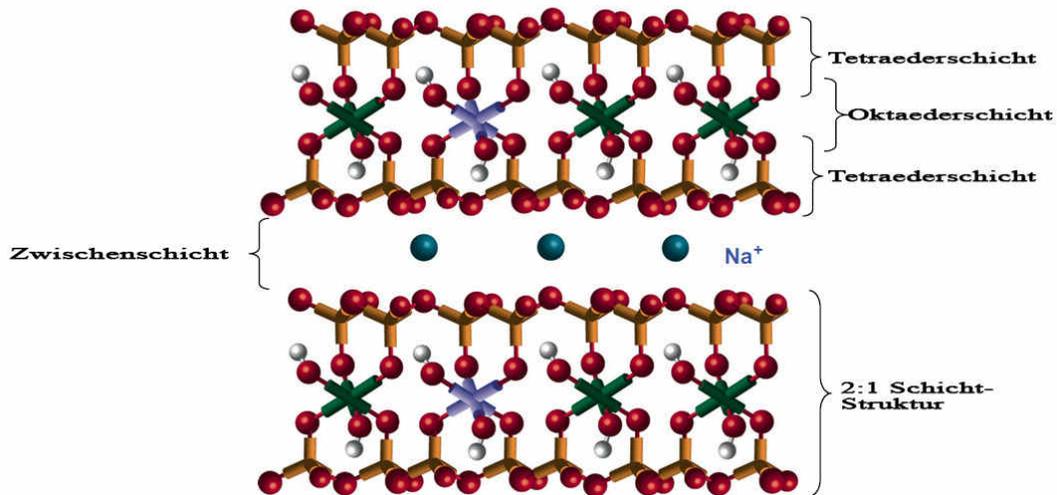


Abbildung 3: Schematischer Aufbau eines Schichtsilikats. Je eine oktaedrische Schicht sowie zwei tetraedrische Schichten bilden ein Plättchen, welches durch elektrostatische Wechselwirkungen mit Gegenionen in einer Zwischenschicht mit einem weiteren Plättchen verbunden ist (nach [13]).

Die Verbesserung der Polymereigenschaften hängt dabei davon ab, in welcher Form die Schichtsilikate im Polymer dispergiert sind. Je feiner die Partikel verteilt sind, desto stärker ist der Effekt des Nanomaterials auf das Polymer. Man unterscheidet dabei die drei Zustände phasengetreunt, interkaliert und exfoliiert, in denen die Schichtsilikate im Polymer vorliegen können (Abbildung 4) [6]. Phasengetreunt bedeutet dabei, dass die Schichtsilikate als noch ganze Stapel im Polymer vorliegen. Bei einer Interkalierung dringen einzelne Molekülketten des umgebenden Polymers in die Zwischenschichten der Schichtsilikate (zwischen zwei Plättchen), wodurch ein Mehrschichtverbund aus Polymer und Schichtsilikat entsteht. Durch noch stärkere Wechselwirkungen zwischen Polymerketten und Schichtsilikaten kann es zu einer vollständigen Auflösung der Stapelstruktur kommen. Die einzelnen Plättchen liegen in diesem Fall homogen im Polymer verteilt vor, man spricht von einer Exfolierung des Schichtsilikats.

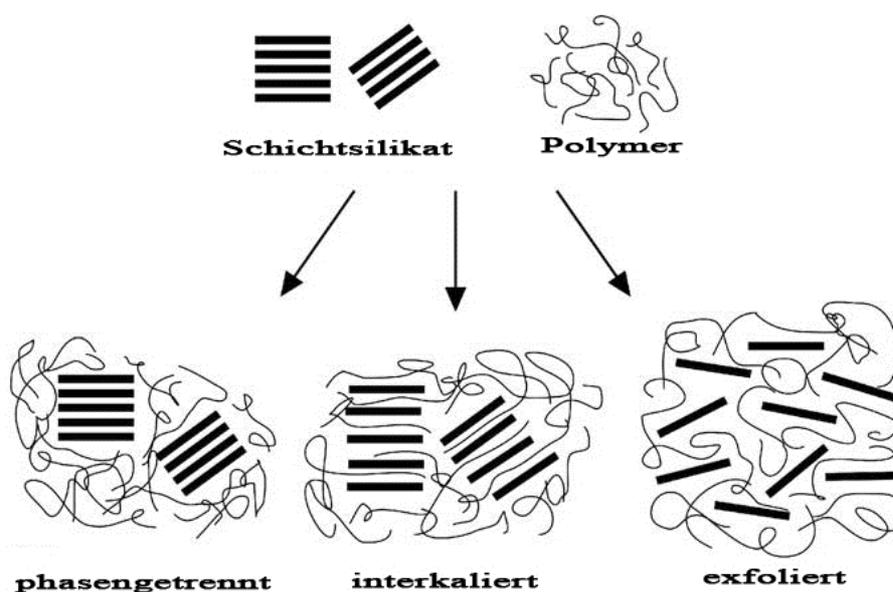
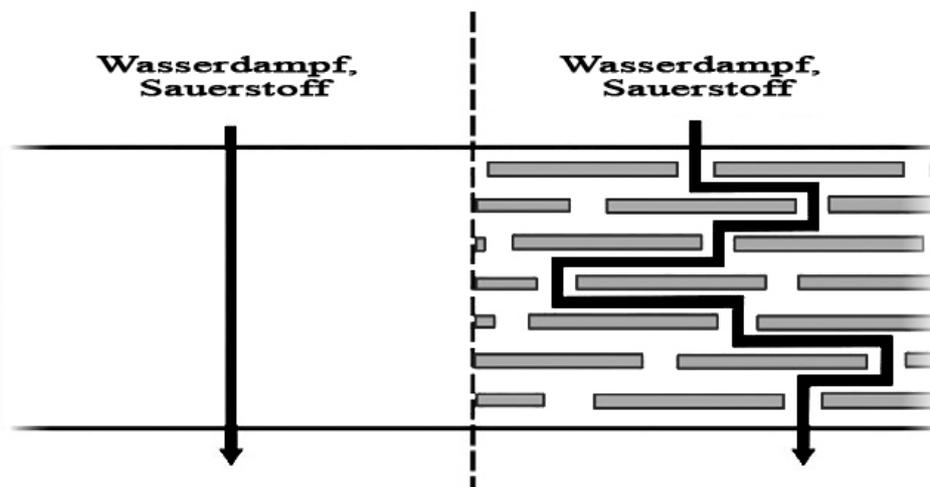


Abbildung 4: Verteilungszustände von Schichtsilikaten im Polymer (nach [6]).

Der Zusammenhang aus Schichtsilikaten und der Art und Weise wie diese im Polymer verteilt sind, zeigt sich besonders hinsichtlich der Barrierefunktion der Schichtsilikat-Nanokomposite. Im Gegensatz zum Polymer weisen die Plättchen der Schichtsilikate eine deutlich schlechtere Durchlässigkeit von Gasen und Wasserdampf auf. Eine merkliche Reduzierung der durch das Polymer durchdringenden Stoffmenge kann jedoch nur dann erzielt werden, wenn die Substanz (z.B. Sauerstoff) auf ihrem Weg durch das Polymer möglichst oft auf ein Plättchen des Schichtsilikats trifft. Aus Abbildung 4 wird ersichtlich, dass die Wahrscheinlichkeit hierfür im exfoliierten Zustand des Schichtsilikats deutlich erhöht wird. Die Barrierewirkung beruht daher darauf, dass der permeierende Stoff nicht mehr direkt, sondern nur auf Umwegen das Polymer durchdringen kann (Abbildung 5) [6, 60]. Die Zeit bis zum Durchbruch der permeierenden Substanz kann somit verlängert und die Permeationsrate erniedrigt werden.



**Abbildung 5: Barriereprinzip von Schichtsilikaten (vereinfacht):** Im Vergleich zum reinem Polymer (a) muss eine permeierende Substanz einen längeren Weg durch das Polymer zurücklegen, wenn Silikatplättchen homogen im Polymer verteilt sind (b) (nach [60]).

### 3.1.2.2 Aktive und intelligente Verpackungen

Aus heutiger Sicht des Verbrauchers und der Hersteller von Lebensmitteln gelten die bisher an die Lebensmittelverpackung genannten Anforderungen weitestgehend als Standard. Es rücken zunehmend Aspekte wie eine Verlängerung der Haltbarkeit des Lebensmittels und die Möglichkeit Informationen über das verpackte Lebensmittel abzurufen in den Vordergrund. Die bisher genannten Verpackungssysteme dienen in erster Linie der Verbesserung der Verpackung selbst, welche somit einen besserer Schutz des Lebensmittels gewährleisten, den neuen Forderungen jedoch nicht nachkommen können. Der Trend geht daher auch in die Entwicklung von Verpackungssystemen, welche eine zusätzliche bzw. erweiterte Funktionalität bieten, den sogenannten aktiven und intelligenten Verpackungen. Die Begriffe „aktiv“ und „intelligent“ stehen dabei für die Möglichkeit der Verpackung mit dem Lebensmittel selbst bzw. mit dessen Umwelt zu interagieren. Eine genaue Definition ist dabei in Artikel 3 der Verordnung (EG) Nr. 450/2009 der Europäischen Kommission festgelegt. Demnach heißt es [61]:

- „,aktive Materialien und Gegenstände‘ Materialien und Gegenstände, die dazu bestimmt sind, die Haltbarkeit eines verpackten Lebensmittels zu verlängern oder dessen Zustand zu erhalten bzw. zu verbessern. Sie sind derart beschaffen, dass sie gezielt Bestandteile enthalten, die Stoffe an das verpackte Lebensmittel oder die das Lebensmittel umgebende Umwelt abgeben oder diesen entziehen können.“

- *„intelligente Materialien und Gegenstände‘ Materialien und Gegenstände, mit denen der Zustand eines verpackten Lebensmittels oder die das Lebensmittel umgebende Umwelt überwacht wird.“*

Zu den aktiven Verpackungen, welche Stoffe aus dem Lebensmittel oder dessen Umgebung aufnehmen sollen, zählen beispielsweise Sauerstoffabsorber [8, 62, 63], welche den im Lebensmittel oder innerhalb der Verpackung enthaltenen Sauerstoff aufnehmen, um einen Qualitätsverlust durch Oxidation zu verhindern. Auch durch das Lebensmittel abgegebener Wasserdampf kann zu Qualitätsverlusten führen, wenn es hierdurch zu Wachstum von Mikroorganismen kommt. Spezielle Absorber können freigesetzten Wasserdampf binden und somit sich positiv auf die Haltbarkeit des Lebensmittels auswirken [7, 64]. Ein weiteres Beispiel des Qualitätserhalts stellen Ethylenabsorber da. Ethylen ist ein in Pflanzen enthaltenes Hormon, welches bei Absonderung das Reifen von Früchten fördert. Durch ein Absorbieren von frei gewordenem Ethylen, kann somit ein vorzeitiges Reifen, bzw. Verderben des Lebensmittels verzögert werden [7]. Aktive Verpackungen, welche Stoffe auf das Lebensmittel oder dessen Umgebung abgeben sollen, zielen zumeist darauf ab, die Haltbarkeit des Lebensmittels zu verlängern indem das Wachstum von Mikroorganismen eingeschränkt wird. Allgemein kann der mikrobielle Verderb des Lebensmittels als der entscheidendste, die Haltbarkeit limitierende Faktor angesehen werden. Insbesondere bei nanoskaligen Metallen wie Gold (Au) [65, 66] und Silber (Ag) [23, 24], oder Metalloxiden wie  $\text{TiO}_2$  [22, 65] und  $\text{ZnO}$  [24, 67, 68] konnte eine antimikrobielle Wirkung nachgewiesen werden. Dabei stellen Silber-Nanopartikel (Ag-NP) das am häufigsten untersuchte antimikrobiell wirkende Nanomaterial dar. Die bakterizide Wirkung von Silber beruht dabei auf dem Binden von Silberionen an zellulären Bestandteilen der Bakterienzellen, wodurch es zu Schädigung der Zellwände, Zellmembranen und Zellkerne, sowie elementar wichtiger Biomakromoleküle wie der Desoxyribonukleinsäure (DNS), Adenosintriphosphat (ATP) oder Nicotinamidadenindinukleotid (NADH) kommen kann [23, 69-71].

Intelligente Verpackungen, welche das Lebensmittel selbst oder seine Umwelt innerhalb der Verpackung überwachen, sollen Informationen über den Zustand des Lebensmittels vom Zeitpunkt des Verpackens bis zur Entnahme des Produktes durch den Konsumenten liefern. Bisher ist es Lebensmittelherstellern nur über die Angabe eines Mindesthaltbarkeitsdatums möglich dem Verbraucher mitzuteilen, bis wann die Qualität des Lebensmittels gewährt ist. Eine solche Angabe stützt sich jedoch stets auf die Annahme, dass sich sowohl Verpackung als auch Produkt zum Zeitpunkt des Verpackens in einem einwandfreien Zustand befinden. Produktfehler an der Verpackung, welche ein Eindringen von Sauerstoff oder Mikroorganismen ermöglichen, Schäden der Verpackung durch den Transport oder eine Unterbrechung einer einzuhaltenden Kühlkette können bei einer solchen Angabe nicht berücksichtigt werden. Der tadellose Zustand des Lebensmittels lässt sich im Nachhinein nur durch aufwändige analytische Verfahren bestimmen, eine Kontrolle durch den Verbraucher ist nicht möglich. Durch den Einsatz von Nanosensoren auf oder in der Verpackung wird es ermöglicht, dem Verbraucher Informationen über den „Ist-Zustand“ des Lebensmittels zu liefern. Nanosensoren auf Basis von nanoskaligen  $\text{TiO}_2$  Partikeln, oder nanoskaligen Zinndioxid ( $\text{SnO}_2$ ) Partikeln sind in der Lage, bei Kontakt mit Sauerstoff mit dem Farbstoff Methyleneblau zu reagieren [6, 60]. Als Sensor in einer Lebensmittelverpackung würde ein Farbumschlag das Vorhandensein von Sauerstoff in der Verpackung anzeigen und somit einen Hinweis auf potentielle Qualitätsverluste durch Oxidation oder aerobe Mikroorganismen hinweisen. Spezielle Nanosensoren können auch dazu eingesetzt werden, um einen Mikroorganismenbefall direkt zu erfassen. Beim Verderb des Nahrungsmittels entstehen bedingt durch den Stoffwechsel der Mikroorganismen Gase, welche spezifisch für den jeweiligen Mikroorganismus sind. Nanosensoren auf Basis nanoskaliger Metalloxide oder elektrisch leitende Polymer-Nanokomposite können dazu eingesetzt werden, um anhand der Änderung

der elektrischen Leitfähigkeit des Sensors, Art und Menge des befallenden Mikroorganismus zu identifizieren [6, 10, 60]. Um die Einhaltung einer Kühlkette zu überprüfen, können sogenannte Zeit-Temperatur Indikatoren zum Einsatz kommen. Zhang et al. [72] entwickelten beispielsweise einen Sensor, welcher anhand der zunehmenden Anlagerung von Silber an Gold-Nanostäbchen einen Farbumschlag von Rot auf Grün mit mehreren farblichen Zwischenstufen anzeigen kann. Die resultierende Farbe des Sensors ist abhängig von der Stärke der angelagerten Silberschicht, wobei die Geschwindigkeit dieser Anlagerung von Zeit und Temperatur abhängig ist. Die Geschwindigkeit des Farbumschlags kann zudem durch Variation der zur Herstellung des Sensors nötigen Reagenzien an unterschiedliche Produkte bzw. an Wachstumsraten von bestimmten Mikroorganismen angepasst werden. Außen an eine Verpackung angebracht kann der Sensor somit produktspezifisch und in Abhängigkeit der ausgesetzten Temperatur eine exaktere Information über die Haltbarkeit des verpackten Lebensmittels geben.

### 3.1.3 Regulierung von Nanomaterialien zur Anwendung in Lebensmittelkontaktmaterialien aus Kunststoffen

Die allgemeine Anwendung von Materialien und Gegenständen, für die ein Lebensmittelkontakt vorgesehen ist, ist in der Verordnung EG Nr. 1935/2004 reguliert [73]. Diese Verordnung nimmt jedoch keinen direkten Bezug auf Substanzen in nanoskaliger Form. Dennoch wird in Artikel 3 hervorgehoben, dass Lebensmittelkontaktmaterialien nach guter Herstellungspraxis herzustellen sind und bei einer vorhergesehenen Verwendung des Produktes keine Bestandteile in Mengen auf das Lebensmittel abgegeben werden, welche „die menschliche Gesundheit gefährden, eine unvermeidbare Veränderung der Zusammensetzung der Lebensmittel, oder eine Beeinträchtigung der organoleptischen Eigenschaften der Lebensmittel herbeiführen“ [73]. Auch wenn Nanomaterialien in dieser Verordnung nicht explizit erwähnt sind, werden mit Artikel 3 der Verordnung Lebensmittelkontaktmaterialien somit allgemein und folglich auch nanoskalige Substanzen adressiert.

Die Anwendung von Nanomaterialien in Lebensmittelkontaktmaterialien aus Kunststoffen ist hingegen explizit in der Verordnung EU Nr. 10/2011 der Europäischen Union reguliert [37]. Aufgrund dessen, dass Substanzen mit nanoskaliger Struktur andere physikalische und chemische Eigenschaften aufweisen können und somit sich auch hinsichtlich ihrer Toxizität anders verhalten können, müssen Nanomaterialien auf Einzelfallbasis bewertet werden. Demnach dürfen Nanomaterialien nur dann verwendet werden, wenn sie unter Berücksichtigung ihrer nanospezifischen Eigenschaften bewertet wurden und in der im Anhang der Verordnung befindlichen Liste zugelassener Monomere und Additive (Tabelle 1 in Anhang I der Verordnung, auch „Unionsliste“ genannt) aufgeführt sind. In der Unionsliste können Stoffe aufgeführt sein, welche sowohl als nanostrukturiertes als auch größer strukturiertes Material existieren. Ist zu einem früheren Zeitpunkt die Bewertung des Stoffes nur anhand des größer strukturierten Materials erfolgt, wird dasselbe Material mit nanoskaligen Strukturen nicht analog gelistet. Auch trifft auf Nanomaterialien nicht mehr das Prinzip der funktionellen Barriere zu (Artikel 13, Absatz 4b). Nach diesem Prinzip dürften auch bestimmte, nicht gelistete Substanzen in Kunststoffen eingesetzt werden, wenn sie sich hinter einer nicht mit dem Lebensmittel in Kontakt stehenden Barrierschicht eines Mehrschicht-Polymers befinden und die Migration dieser Substanzen weniger als 0,01 mg pro kg Lebensmittel beträgt.

Ursprünglich waren in der Unionsliste (Stand 14. Januar 2011) lediglich drei Substanzen mit nanoskaligen Strukturen gelistet und zur Anwendung in Kunststoffen für Lebensmittelkontaktmaterialien unter Berücksichtigung bestimmter Spezifikationen zugelassen. Diese Substanzen und deren Spezifikationen sind:

- Titanitrid, Nanopartikel (TiN):  
*„Nur zur Verwendung bei PET-Flaschen bis zu 20 mg/kg. Primärpartikel mit einer Größe von etwa 20 nm. Im PET Agglomerate mit einem Durchmesser von 100-500 nm, bestehend aus Titanitrid-Nanopartikeln“*
- synthetisch amorphes Siliciumdioxid (SAS):  
*„Primärpartikel von 1-100 nm, aggregiert zu 0,1-1 µm, die Agglomerate von 0,3 µm bis Millimetergröße bilden können“*
- Kohlenstoffschwarz (CB):  
*„Primärpartikel von 10-300 nm, aggregiert zu 100-1 200 nm, die Agglomerate von 300 nm-mm bilden können. Höchstwert für die Verwendung von Kohlenstoffschwarz im Polymer: 2,5 Gew.-%.“*

TiN ist das einzige Additiv in dieser Liste, welches explizit als Nanomaterial bewertet wurde. Das Gremium für Materialien, die mit Lebensmitteln in Berührung kommen, Enzyme, Aromastoffe und Verarbeitungshilfsstoffe (CEF) der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA), welche für die Risikobewertung innerhalb der Europäischen Union zuständig ist, veröffentlichte 2008 [74] und 2012 [55] zu Titanitrid eine Stellungnahme. Aus dieser Stellungnahme geht hervor, dass bei Titanitrid unter den vorhergesehenen Gebrauchsbedingungen kein Risiko für den Verbraucher besteht, da keine Exposition gegenüber diesem Material zu erwarten ist. Titanitrid wurde daher unter Berücksichtigung von Spezifikationen in die Unionsliste übernommen. Diese Spezifikationen beinhalten, dass TiN bis zu einer maximalen Konzentration von 20 mg kg<sup>-1</sup> nur in PET-Flaschen verwendet werden darf. Unter diesen Bedingungen wird keine Migration von TiN-Nanopartikel aus der PET-Matrix erwartet. Des Weiteren werden die strukturspezifischen Eigenschaften von TiN auf Primärpartikel von etwa 20 nm und Agglomerate im PET mit Durchmessern von 100 bis 500 nm angegeben.

SAS und CB werden im Gegensatz zu TiN nicht explizit als Nanomaterial in der Unionsliste der Verordnung gelistet. Dennoch werden anhand der Spezifikationen für diese als Nanomaterial auftretenden Stoffe charakteristische Größenangaben aufgeführt. Bei SAS werden die Primärpartikel mit Größen von 1 bis 100 nm angegeben, welche Aggregate von 0,1 bis 1 µm und Agglomerate von 0,3 µm bis in den Millimeterbereich bilden. Bei CB werden Primärpartikelgrößen von 10 bis 300 nm aufgeführt, welche Aggregate von 0,1 bis 1,2 µm und Agglomerate von 0,3 µm bis in den Millimeterbereich bilden. Zusätzlich ist die höchste im Polymer zugelassene Konzentration für CB auf 2,5 Gew.-% festgelegt. Beide Materialien, SAS und CB, werden bereits seit Jahrzehnten als Zusatzstoffe in Lebensmittelkontaktmaterialien verwendet und gelten daher nicht als neuartig hergestellte Nanomaterialien. Bei einer früheren Bewertung dieser Substanzen durch den damaligen Wissenschaftlichen Lebensmittelausschuss (SCF) der Europäischen Kommission [75] wurden bereits strukturspezifische Eigenschaften wie Primärpartikelgröße und die Fähigkeit, Aggregate und Agglomerate zu bilden und als solche im Endprodukt vorzuliegen berücksichtigt, auch wenn diese Eigenschaften zur damaligen Zeit noch nicht unter dem Begriff „Nano“ festgelegt waren. Mittlerweile erfolgte eine erneute Bewertung von SAS (silanisiert) durch die EFSA [76].

Bis zum heutigen Zeitpunkt wurde die Unionsliste um nur wenige Nanomaterialien erweitert, bei welchen explizit nanospezifische Struktureigenschaften bewertet wurden. Zum einen handelt es sich um polymere Nanopartikel, zum anderen um ein bestimmtes Schichtsilikat. Im Detail sind dies:

- Copolymer von Butadien, Ethylacrylat, Methylmethacrylat und Styrol, vernetzt mit Divinylbenzol
- nicht vernetztes Copolymer von Butadien, Ethylacrylat, Methylmethacrylat und Styrol
- Copolymer von Butadien, Ethylacrylat, Methylmethacrylat und Styrol, vernetzt mit 1,3-Butandioldimethacrylat
- Kaolin

Die ersten drei genannten polymeren Nanomaterialien wurden durch die EFSA [77] bewertet und als Modifizierungsmittel zur Erhöhung der Schlagfestigkeit von reinem Polyvinylchlorid (PVC) durch die Verordnung EU 2015/174 [78] vom 5. Februar 2015 mit in die Unionsliste aufgenommen. Als Einschränkung, bzw. Spezifikation wurde festgelegt, dass diese Nanomaterialien entweder einzeln oder alle zusammen in nicht weichgemachtem PVC für den Lebensmittelkontakt zugelassen sind, wenn der gesamte Gewichtsanteil weniger als 10 % w/w („weight / weight“, massenbezogene Angabe) beträgt, die Anwendung nicht über der Raumtemperatur erfolgt und die Partikel insgesamt größer als 20 nm, bzw. mindestens 95 % der Partikelanzahl größer als 40 nm sind [78]. Kaolin (Hauptbestandteil des Kaolinites) wurde ebenfalls von der EFSA bewertet und für unbedenklich erklärt, wenn die festgelegten Spezifikationen eingehalten werden [79]. Das in Ethylen-Vinyl-Alkohol-Copolymer (EVOH) eingearbeitete Kaolin-Schichtsilikat zeigte bei der Bewertung, dass es zu keiner Exfolierung der einzelnen Plättchen kommt, aber Stapel mit einer Dicke von weniger als 100 nm existieren können. Daher wurde als Spezifikation festgelegt, dass Kaolin mit bis zu 12 % w/w in EVOH verwendet werden darf, wenn sich die EVOH-Schicht hinter einer funktionellen Barrierschicht einer mehrschichtigen Polymerstruktur befindet, die keine Migration von Kaolinpartikeln zulässt. Unter Angabe der Spezifikation wurde Kaolin ebenfalls mit der Verordnung EU 2015/174 in die Unionsliste aufgenommen.

Weitere Schichtsilikate, insbesondere MMT, sind in der EU Verordnung 10/2011 nicht explizit als Nanomaterialien aufgeführt. Bentonit hingegen wird unter der FCM („Food Contact Material“-)Stoff-Nr. 393 aufgeführt. Bentonit ist ein MMT, bei dem alle Kationen der Zwischenschichten Natriumionen ( $\text{Na}^+$ ) sind [56]. Bentonit wird ähnlich wie SAS und CB, bereits seit langer Zeit als Kunststoffadditiv verwendet und ist für die Anwendung in Kunststoffen mit Lebensmittelkontakt bewertet und zugelassen [80].

Andere Nanomaterialien wie z. B. die bereits erwähnten Metalle (Au, Ag), Metalloxide ( $\text{TiO}_2$ ,  $\text{SnO}_2$ , ZnO) und andere sind zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht gelistet und somit nicht zur Anwendung in Lebensmittelkontaktmaterialien aus Kunststoffen zugelassen.

### 3.2 Migration von Nanomaterialien aus Kunststofflebensmittelverpackungen

Nanomaterialien, welche Anwendung in Lebensmittelverpackungen aus Kunststoffen finden sollen, müssen vor ihrer Zulassung anhand einer Risikoanalyse bewertet werden. Die Risikoanalyse umfasst dabei prinzipiell die Exposition gegenüber einer Substanz einerseits und der Gefährdung durch das Material (Toxizität) andererseits. Ein Risiko gegenüber einer Substanz besteht jedoch nur dann, wenn beide Kriterien, Exposition und Toxizität, erfüllt sind. Eine Gefährdung des Menschen ist immer dann möglich, wenn es zu einem Kontakt, bzw. zur Aufnahme von toxischen Substanzen kommt. Dennoch kann ein Risiko auch von toxisch wirkenden Substanzen ausgeschlossen werden, wenn ein Kontakt zum Menschen ausgeschlossen ist. Nanomaterialien, welche als Additive in Lebensmittelverpackungen aus Kunststoffen eingearbeitet sind, können demnach nur dann ein Risiko für den Menschen darstellen, wenn sie aus der Lebensmittelverpackung auf das Lebensmittel migrieren und folglich über

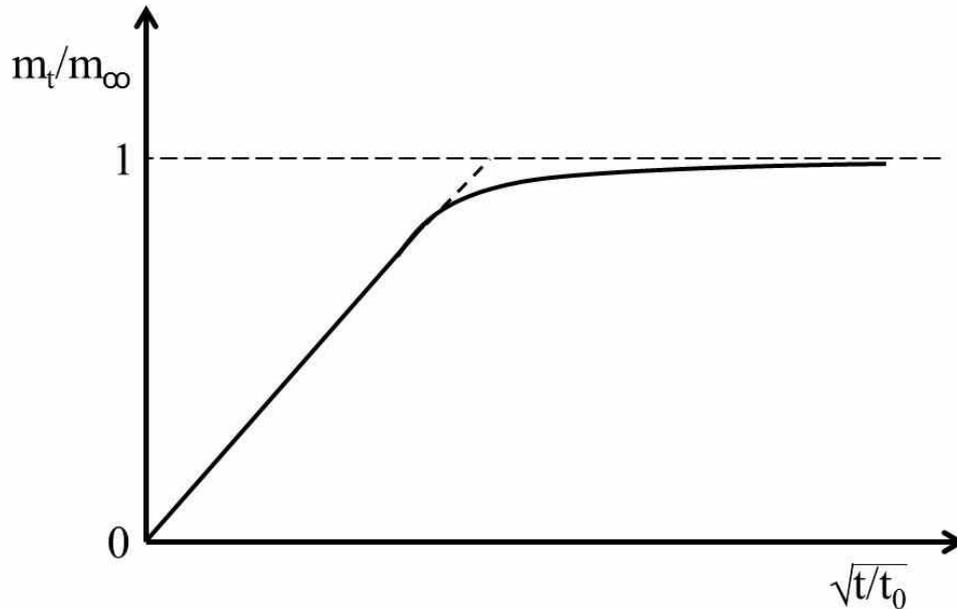
das Nahrungsmittel vom Menschen konsumiert werden. Nanomaterialien können daher als unbedenkliches Additiv eingestuft werden, wenn der Nachweis der Nichtmigration auf Lebensmittel erbracht werden kann. Ein aktuelles Beispiel ist die Bewertung von nanoskaligem Zinkoxid (ZnO), welches durch die EFSA am 10.04.2015 als unbedenklich eingestuft wurde, obwohl keine Daten zur nanospezifischen Toxizität dieser Substanz vorhanden sind [81].

Um die Toxizität von Nanomaterialien insbesondere die langfristige Auswirkung bei andauerndem Kontakt zu ermitteln bedarf es langwieriger und aufwendiger Studien. Nachdem aber das Risiko auch durch eine Bewertung der Exposition ermittelt werden kann, ist es in dem Fall der Anwendung in Lebensmittelverpackungen zweckmäßig, zunächst das Migrationspotential von Nanomaterialien zu bestimmen. In den letzten Jahren konnte daher ein Anstieg an Studien festgestellt werden, die sich mit der Freisetzung von Nanomaterialien aus einer Polymermatrix auf ein Lebensmittel (bzw. Lebensmittelsimulanz) beschäftigt haben. Im Folgenden soll zunächst das Migrationspotential von Nanomaterialien von der theoretischen Seite her betrachtet werden, bevor im Anschluss daran ein Überblick über bereits veröffentlichte Migrationsstudien gegeben wird.

### 3.2.1 Abschätzung des Migrationspotentials von Nanomaterialien aus einer Kunststoffverpackung

#### 3.2.1.1 Grundlagen der Diffusion

Unter Migration wird grundlegend der Transport von Masse, Energie oder einer anderen Größe von einem Ort zu einem anderen verstanden [82]. Bei Lebensmittelverpackungen stellt die wichtigste Art der Migration der Stofftransport einer Substanz (z.B. Nanopartikel) durch eine sie umgebende Matrix (z.B. Polymer) auf ein mit der Matrix in Kontakt stehendes Medium (z.B. Lebensmittel) dar. Als treibende Kraft der Migration gilt die Diffusion, bei der es aufgrund von thermischer Energie zu einer molekularen Bewegung von Teilchen kommt. Angeregt durch die Vibration einzelner Atome bewegen sich die Teilchen oder Moleküle in unbestimmte Richtungen fort. Kommt es zu einem Zusammenstoß mit einem Molekül der umgebenden Matrix wird die Bewegung in eine andere Richtung fortgesetzt. Die Richtungsänderung erfolgt dabei rein zufällig, weshalb dieses Phänomen auch als „random walk“ bezeichnet wird [83]. Trotz der willkürlichen Bewegung der einzelnen Teilchen findet Diffusion scheinbar zielgerichtet entlang eines Konzentrationsgefälles, von Bereichen mit hoher Konzentration zu Bereichen mit niedriger Konzentration, statt. Obwohl die Moleküle prinzipiell in beide Richtungen eines Gradienten diffundieren können, kollidieren die Teilchen in Bereichen höherer Konzentration häufiger. Die Wahrscheinlichkeit, dass Teilchen dabei aus diesem Bereich in Richtung niedriger Konzentration umgelenkt werden ist somit höher als andersherum [83]. Bei einer Lebensmittelverpackung, welche in direktem Kontakt mit einem Lebensmittel steht, herrscht anfangs ein Konzentrationsgefälle bezüglich der eingesetzten Polymeradditive zwischen Verpackung (hohe Konzentration) und Lebensmittel (niedrige Konzentration). Im Falle einer Migration dieser Additive, diffundieren zunächst ausschließlich Additivmoleküle aus der Verpackung in das Lebensmittel und reichern sich dort an. Die Diffusion entlang des Gefälles findet solange statt, bis die Konzentrationsunterschiede thermodynamisch ausgeglichen sind. Man spricht dann von einem Gleichgewichtszustand, in welchem gleich viele Moleküle aus der Verpackung auf das Lebensmittel migrieren wie wiederaufgenommen werden. Der Verlauf der Migration bis zum Erreichen des Gleichgewichtszustands ist schematisch in Abbildung 6 dargestellt.



**Abbildung 6:** Schematische Darstellung des Migrationsverlaufs einer Substanz aus einer Verpackung auf ein Lebensmittel;  $m_t$  ist die zum Zeitpunkt  $t$  migrierte Menge,  $m_\infty$  ist die migrierte Menge im Gleichgewichtszustand. Im Gleichgewichtszustand ist das Verhältnis der beiden Mengen gleich, es findet keine zusätzliche Anreicherung der Substanz im Lebensmittel mehr statt (nach [3]).

Wechselwirkungen zwischen Verpackung und Lebensmittel wurden bereits seit Jahrzehnten erforscht. Anhand der gewonnenen Daten konnte abgeleitet werden, dass die Migration von Substanzen aus einer Lebensmittelverpackung heraus dabei vorhersehbaren physikalischen Prozessen unterliegt. Diese Prozesse lassen sich mittels mathematischer Transport-, bzw. Diffusionsgleichungen beschreiben. Die grundlegenden Mechanismen der Diffusion wurden durch Adolf Fick im Jahr 1855 beschrieben [84]. Die von Fick entwickelten Differentialgleichungen sind bis heute Grundlage für zahlreiche Berechnungen von Transportvorgängen. Eine umfassende Herleitung und zahlreiche Lösungen für verschiedene Anwendungen der Diffusionsgleichungen sind in dem Buch von Crank [83] beschrieben. Die dort verfassten Lösungen und Herleitungen gelten bis heute als Standard. Die im Folgenden zusammengefasst dargestellte Herleitung des Massentransports anhand der Fickschen Gesetze (Gleichung 1 bis Gleichung 10), basieren daher auf der Arbeit von Crank.

Fick nahm an, dass die Menge einer diffundierenden Substanz durch einen bestimmten Bereich proportional zum Konzentrationsgradienten in senkrechter Richtung zu diesem Bereich ist. Diese Annahme, ausgedrückt in Gleichung 1, ist als erstes Ficksches Gesetz bekannt.

$$F = -D \frac{\partial C}{\partial x} \quad \text{Gleichung 1}$$

$F$  ist dabei die Menge bzw. der Fluss einer Substanz, die durch einen bestimmten Bereich diffundiert,  $C$  die Konzentration der diffundierenden Substanz und  $x$  die Raumkoordinate in senkrechter Richtung von dem entsprechenden Bereich entlang des Gradienten.  $D$  ist dabei eine spezifische Konstante, die als Diffusionskoeffizient bezeichnet wird. Das Minuszeichen drückt dabei aus, dass die Diffusion von Bereichen mit hoher Konzentration zu Bereichen mit niedriger Konzentration stattfindet. Das erste Ficksche Gesetz kann in Polymeren dann Anwendung finden, wenn an jedem Ort im Polymer die gleichen Bedingungen hinsichtlich der Diffusion vorherrschen (isotropes Medium) und der Konzentrationsgradient konstant bleibt (stationärer Zustand). Bei der Migration findet jedoch ein

Massentransport aus dem Polymer heraus statt, wodurch die Konzentration der migrierenden Substanz innerhalb des Polymers zeitlich und örtlich variabel ist (instationärer Zustand). Aus seinem ersten Gesetz leitete Fick für diesen Fall Differentialgleichungen für den instationären Zustand der Diffusion in einem isotropen Medium ab. Die Herleitung der Diffusionsgleichung lässt sich anhand eines Volumenelements verdeutlichen, durch welches eine Substanz migriert. Hierzu stellt man sich einen Quader vor, dessen Seiten parallel zu den Achsen eines Koordinatensystems ausgerichtet sind und Kantenlängen von  $2dx$ ,  $2dy$  und  $2dz$  aufweist (Abbildung 7). Die Fläche durch die Eckpunkte  $ABCD$  sei die Eintrittsfläche, die Fläche durch die Eckpunkte  $A'B'C'D'$  die Austrittspunkte für die migrierende Substanz. Beide Flächen stehen dabei senkrecht auf der  $x$ -Achse. Das Zentrum des Quaders ist durch einen Punkt  $P$  mit den Koordinaten  $P(x,y,z)$  festgelegt.

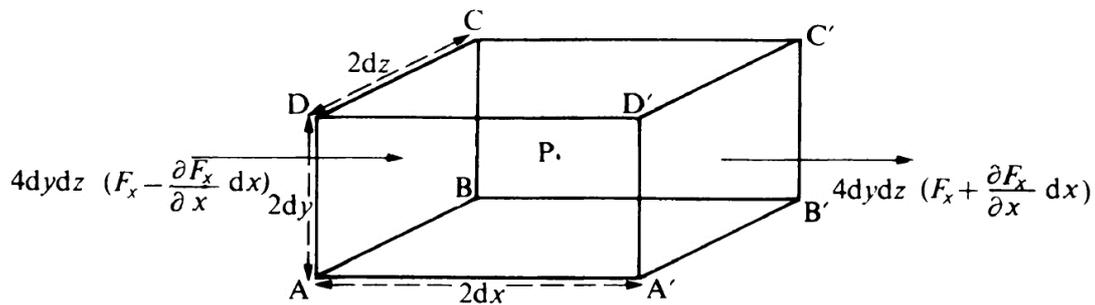


Abbildung 7: Herleitung des Fickschen Diffusionsgesetzes anhand eines quaderförmiges Volumenelements [83].

Für die Diffusion einer Substanz in Richtung  $x$ - $dx$  in den Quader durch die Eintrittsfläche erhält man

$$4dydz \left( F_x - \frac{\partial F_x}{\partial x} dx \right). \tag{Gleichung 2}$$

$F_x$  stellt dabei den Fluss der migrierenden Substanz durch eine zu  $ABCD$  parallele Fläche durch den Punkt  $P$  dar.

Für die Diffusion einer Substanz aus dem Quader durch die Austrittsfläche heraus gilt

$$4dydz \left( F_x + \frac{\partial F_x}{\partial x} dx \right). \tag{Gleichung 3}$$

Subtrahiert man von der in den Quader eingetretenen Menge die ausgetretene, erhält man als Bilanz in  $x$ -Richtung

$$-8dxdydz \frac{\partial F_x}{\partial x}. \tag{Gleichung 4}$$

Entsprechend der Diffusion in  $x$ -Richtung erhält man für die Diffusion in  $y$ -Richtung den Term

$$-8dxdydz \frac{\partial F_y}{\partial y} \tag{Gleichung 5}$$

und für die Diffusion in  $z$ -Richtung den Term

$$-8dxdydz \frac{\partial F_z}{\partial z}. \tag{Gleichung 6}$$

Zusätzlich kann die über die Zeit in den Quader diffundierende Menge anhand der Kontinuitätsgleichung erfasst werden:

$$8dxdydz \frac{\partial C}{\partial t}. \quad \text{Gleichung 7}$$

Durch Gleichsetzen der Gleichung 4 bis Gleichung 7 erhält man die nach Ort und Zeit aufgelöste Bilanz:

$$\frac{\partial C}{\partial t} + \frac{\partial F_x}{\partial x} + \frac{\partial F_y}{\partial y} + \frac{\partial F_z}{\partial z} = 0. \quad \text{Gleichung 8}$$

Setzt man für die jeweiligen Flüsse  $F_x$ ,  $F_y$  und  $F_z$  Gleichung 1 ein und nimmt einen konstanten Diffusionskoeffizienten an (isotropes Polymer), so ergibt sich aus Gleichung 8 die allgemeine Differentialgleichung

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \left( \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 C}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 C}{\partial z^2} \right). \quad \text{Gleichung 9}$$

Anhand Gleichung 9 ist es möglich die Konzentration einer diffundierenden Substanz in Abhängigkeit von Zeit und Ort zu beschreiben. Es handelt sich jedoch dabei um eine Differentialgleichung zweiter Ordnung, für welche es keine einfache Lösung gibt. Für spezielle Anwendungen existieren analytische Lösungen der Differentialgleichung, in komplizierten Fällen kann die Gleichung allerdings nur unter vereinfachenden Annahmen oder numerisch gelöst werden. Im Falle der Migration einer Substanz aus dem Polymer auf ein Lebensmittel findet die Diffusion entlang des Konzentrationsgradienten zwischen der Verpackung und dem Lebensmittel statt. In diesem Fall verläuft die Diffusion senkrecht zur Verpackungsfläche nur in x-Richtung. Dadurch vereinfacht sich Gleichung 9 zu der als zweites Ficksches Gesetz bekannten Gleichung:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2}. \quad \text{Gleichung 10}$$

### 3.2.1.2 Migration aus einer Kunststoffverpackung auf ein Lebensmittel

Anhand dieser Differentialgleichung (Gleichung 10) lässt sich die Migration einer Substanz aus einer Lebensmittelverpackung auf ein Lebensmittel beschreiben. Für diesen Spezialfall, bei welchem eine definierte Fläche der Verpackung mit dem Lebensmittel in Kontakt steht, muss hinsichtlich der Migration einer diffundierenden Substanz eine Massenbilanz erstellt werden. Für die Lösung der Differentialgleichung werden spezielle Annahmen getroffen und sollen im Folgenden zusammenfassend (Gleichung 11 bis Gleichung 20) für ein Zweiphasensystem beschrieben werden, bei dem die eine Phase ein einschichtiges Polymer („Monolayer“) sei, die andere Phase ein flüssiges Lebensmittel, oder Lebensmittelsimulanz. Eine ausführliche Beschreibung der Herleitung für diese Anwendung ist bei Piringer [85] zu finden.

Eine Verpackung bestehend aus dem Polymer P mit der Schichtstärke  $d_p$  und der Dichte  $\rho_p$  stehe über die Fläche A mit einem flüssigen Lebensmittel L des Volumens  $V_L$  und der Dichte  $\rho_L$  in Kontakt. Die beiden Phasen P und L weisen unterschiedliche Merkmale hinsichtlich der Diffusion einer Substanz auf, woraus sich die unterschiedlichen Diffusionskoeffizienten  $D_p$  und  $D_L$  ergeben. Für dieses System werden folgende Annahmen getroffen [82]:

- Die migrierende Substanz, mit einer anfänglichen Konzentration  $C_{p,0}$ , ist homogen in P verteilt und zeigt eine gute Aufnahmefähigkeit in L. Hierdurch diffundiert die in L migrierte Substanz weiter in das Lebensmittel herein, weshalb es zu einer Abnahme der Konzentration der Substanz an der Grenzfläche zwischen P und L kommt. Das Konzentrationsgefälle und der Massentransport von P nach L bleibt somit erhalten.

- Die Diffusion in L ist deutlich schneller als in P. Dies gilt insbesondere dann, wenn das flüssige Lebensmittel geschüttelt oder gerührt wird. Der bestimmende Parameter für die Anreicherung der Substanz im Lebensmittel, ausgedrückt über die zum Zeitpunkt  $t$  enthaltene Konzentration  $C_{L,t}$ , ist somit nicht der Abstand  $x$  der Substanz von der Kontaktfläche zwischen P und L, sondern die Zeit  $t$ .
- Zwischen P und L finden keine Wechselwirkungen statt, ein Quellen der Polymermatrix wird ausgeschlossen.
- Die gesamte Menge der migrierenden Substanz bleibt während der Migration in P und in L zusammen konstant (keine äußerliche Einwirkung).
- Im Gleichgewichtszustand findet eine gleichmäßige Verteilung (Aufnahme und Abgabe) der migrierenden Substanz zwischen P und L statt. Die Verteilung zwischen beiden Phasen wird mittels des Verteilungskoeffizienten  $K_{P,L}$  ausgedrückt, welcher das Verhältnis des Produkts aus Konzentration und Dichte bzgl. P und L darstellt.

$$K_{P,L} = \frac{C_P \rho_P}{C_L \rho_L} \quad \text{Gleichung 11}$$

- Der Diffusionskoeffizient  $D_p$  ist während der Diffusion der Substanz in P konstant.
- Die Migration findet nur in senkrechter Richtung zur Kontaktfläche zwischen P und L statt.

Mittels Laplace-Transformation und Einführen der beiden dimensionslosen Größen  $\alpha$  und  $T$  mit

$$\alpha = \frac{1}{K_{P,L}} \frac{V_L}{V_P} = \frac{1}{K_{P,L}} \frac{d_L}{d_p} \quad \text{Gleichung 12}$$

und

$$T = \frac{D_p t}{d_p^2} \quad \text{Gleichung 13}$$

erhält man unter Berücksichtigung der getroffenen Annahmen den von Crank entwickelten, allgemeinen Ausdruck für den Stofftransport einer Substanz aus einem Polymer in eine gut gemischte Flüssigkeit in Form von

$$\frac{m_t}{m_\infty} = 1 - \sum_{n=1}^{\infty} \frac{2\alpha(1+\alpha)}{1+\alpha+\alpha^2 q_n^2} \exp(-q_n^2 T). \quad \text{Gleichung 14}$$

Dabei ist  $m_t$  die zum Zeitpunkt  $t$  aus dem Polymer in das Lebensmittel migrierte Menge an Substanz und  $m_\infty$  die migrierte Menge bei Erreichen des Gleichgewichtszustands. Der Parameter  $q_n$  ist der positive Betrag aus der Wurzel der trigonometrischen Gleichung

$$\tan q_n = -\alpha q_n. \quad \text{Gleichung 15}$$

Die Beträge für  $q_n$  in Abhängigkeit von  $\alpha$  und  $n$  können aus Tabellen in der Literatur entnommen werden [83].

Anhand Gleichung 14 lässt sich der Verlauf der Migration einer migrierenden Substanz bis zum Erreichen des Gleichgewichtszustandes darstellen (s. Abbildung 6). Hinsichtlich der Migration von Polymeradditiven auf ein Lebensmittel ist aber vor allem die Frage von Bedeutung, wieviel Substanz

aus einer definierten Fläche der Verpackung zu einem bestimmten Zeitpunkt auf das Lebensmittel übergegangen ist. Unter Berücksichtigung der Massenbilanz kann Gleichung 14 nach diesen Kriterien entsprechend umgeformt werden. Die gesamte Masse an migrierbarer Substanz entspricht im Gleichgewichtszustand der im Polymer und im Lebensmittel enthaltenen oder zum Zeitpunkt Null ausschließlich im Polymer enthaltenen Menge:

$$m_{P,0} = V_L C_{L,\infty} + V_P C_{P,\infty} = V_P C_{P,0} \quad \text{Gleichung 16}$$

Die im Gleichgewichtszustand aufs Lebensmittel migrierte Masse kann durch Kombination mit Gleichung 11, bzw. Gleichung 12 ausgedrückt werden als:

$$m_{L,\infty} = V_L C_{L,\infty} = V_P C_{P,\infty} = \frac{V_P C_{P,0}}{\frac{1}{\alpha} + 1} = m_{P,0} \frac{\alpha}{1 + \alpha} \quad \text{Gleichung 17}$$

Das Massenverhältnis im Gleichgewichtszustand ist demnach:

$$\frac{m_{L,\infty}}{m_{P,\infty}} = \frac{\alpha}{1 + \alpha} \quad \text{Gleichung 18}$$

Der Anteil, welcher von der Verpackung aufs Lebensmittel zum Zeitpunkt  $t$  migriert ist, lässt sich ausdrücken als:

$$\frac{m_{L,t}}{m_{P,0}} = \frac{m_{P,t}}{m_{L,\infty}} \frac{\alpha}{1 + \alpha} \quad \text{Gleichung 19}$$

Unter Berücksichtigung dieser Massenbilanz kann durch Kombination von Gleichung 14 und Gleichung 19 die Migration in Abhängigkeit der Fläche der Verpackung und der Zeit ausgedrückt werden:

$$\frac{m_{L,t}}{A} = C_{P,0} \rho_P d_P \left( \frac{\alpha}{1 + \alpha} \right) \left[ 1 - \sum_{n=1}^{\infty} \frac{2\alpha(1 + \alpha)}{1 + \alpha + \alpha^2 q_n^2} \exp \left( -D_P t \frac{q_n^2}{d_P^2} \right) \right] \quad \text{Gleichung 20}$$

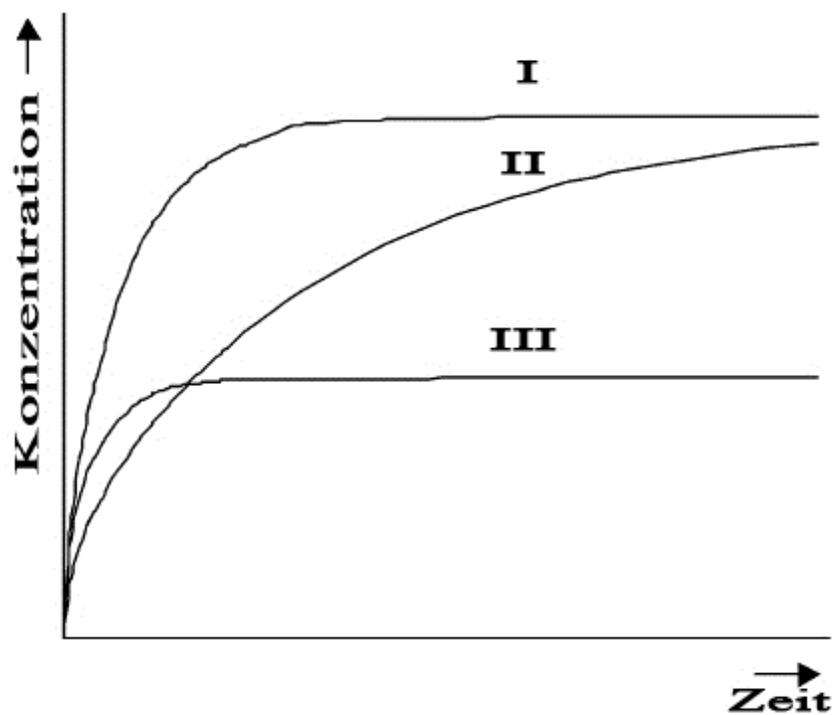
Anhand dieser Gleichung lässt sich nun die Migration einer Substanz auf ein Lebensmittel modellieren. Moderne Softwarelösungen zur Bestimmung der Migration bauen auf dieser Gleichung auf und die Ergebnisse aus einer simulierten Migration können bei der Bewertung von Polymeradditiven verwendet werden [40]. Um eine möglichst exakte Abschätzung der migrierten Menge einer bestimmten Substanz zu ermöglichen, müssen die in Gleichung 20 mit einfließenden Größen realistisch festgelegt werden. Parameter wie die Anfangskonzentration der migrierenden Substanz ( $C_{P,0}$ ) der Dichte des Polymers ( $\rho_P$ ), die Schichtdicke des Polymers ( $d_P$ ) sowie die Kontaktfläche  $A$  des Polymers lassen sich dabei entsprechend der Anwendung festlegen. Den größten Einfluss auf den Verlauf der Migration nehmen jedoch der Verteilungskoeffizient  $K_{P,L}$  (vgl. Gleichung 12) sowie der Diffusionskoeffizient der migrierenden Substanz im Polymer  $D_P$ , da  $D_P \ll D_L$ .

Die Aufnahmefähigkeit einer migrierenden Substanz im Lebensmittel, ausgedrückt durch den Verteilungskoeffizienten, ist abhängig von der chemischen Natur der jeweiligen Matrix (Verpackung bzw. Lebensmittel) und der migrierenden Substanz selbst. Viele Polymeradditive sind organischen Ursprungs und zeigen in wässrigen Lebensmitteln (Simulanzien) einer sehr schlechte, in fettigen Lebensmitteln (Simulanzien) hingegen eine sehr gute Löslichkeit. Oftmals werden für Lebensmittelverpackungen Polyolefine (wie PE-LD, PE-HD, PP) eingesetzt, welche unpolare Polymere sind. Die Migration einer organischen Substanz aus einem solchen organischen, unpolaren Polymer auf ein organisches, unpolares Lebensmittel (Simulanz) führt demnach zu einer sehr guten Aufnahme der

migrierenden Substanz weshalb sich Werte für  $K_{P,L}$  von  $\leq 1$  ergeben. Mit zunehmender Polarität des Lebensmittels (z.B. wässrige Lebensmittel anstelle von fettigen) verschlechtert sich die Aufnahme-fähigkeit und  $K_{P,L}$  nimmt größere Werte an. Am schlechtesten wäre in diesem Beispiel die Aufnahme der migrierenden Substanz in reinem Wasser, für welches sich ein Wert von  $K_{P,L} \gg 1$  ergibt. Hinsichtlich der Modellierung der Migration einer Substanz kann daher bereits über Festlegung des Verteilungskoeffizienten entscheidend beeinflusst werden wie stark eine migrierende Substanz von einem Lebensmittel aufgenommen werden kann. Tatsächlich können Fälle auftreten, bei denen sich für die Verteilungskoeffizienten Werte von  $K_{P,L} < 1$  bis  $K_{P,L} > 1000$  ergeben. Bei der Verwendung von Polyolefinen als Polymermatrix nehmen in der Praxis die Verteilungskoeffizienten jedoch typischerweise Werte zwischen 1 und 1000 an. Sind keine spezifischen Daten zur exakten Bestimmung  $K_{P,L}$  vorhanden (z.B. die Konzentrationen der migrierenden Substanz im Polymer und Lebensmittel im Gleichgewichtszustand), so werden für die Modellierung der Migration mit  $K_{P,L}=1$  (sehr gute Aufnahme) und  $K_{P,L}=1000$  (sehr schlechte Aufnahme) übliche Grenzfälle festgelegt, den sogenannten „worst-case“ Parametern [82]. Während der Verteilungskoeffizient die Aufnahme-fähigkeit der migrierenden Substanz vom Lebensmittel beschreibt, geht der Diffusionskoeffizient  $D_p$  auf kinetische Aspekte ein und beschreibt wie stark sich eine Substanz unter Einfluss verschiedener Aspekte in einer Polymermatrix bewegen kann. Die hierbei maßgeblichen Einflussgrößen sind vielfältig und komplex und sollen im Folgenden an Beispielen veranschaulicht werden. Auf Polymeradditive, welche in einen Kunststoff eingearbeitet und somit von Polymerketten umgeben sind, ist die umgebende Polymermatrix ein entscheidender Einflussfaktor. Einer Substanz ist es einerseits dann möglich sich zu bewegen, wenn hierfür genügend freier Raum vorhanden ist. In einem Polymer bedeutet dies, dass zwischen den einzelnen Polymerketten ausreichend Hohlräume vorhanden sein müssen, durch welche sich Teilchen hindurchbewegen können. Diese Vorstellung wird durch das sogenannte „Freie-Volumen-Modell“ beschrieben [86, 87]. Andererseits ist eine Diffusion der Substanz auch bei Kollisionen mit den Polymerketten möglich, wenn die migrierende Substanz über ausreichend Energie verfügt, um Polymerketten zu verschieben. Dieser Prozess wird wiederum entscheidend von der Temperatur des Systems beeinflusst. Die Temperatur wirkt sich sowohl auf die Beweglichkeit der Teilchen direkt (thermische Energie) als auch auf rheologische Eigenschaften des Polymers aus. Mit zunehmender Temperatur sinkt die Viskosität des Polymers, wodurch sich eine höhere Flexibilität der Polymerketten ergibt. Eine hierbei kritische Größe stellt die Glasübergangstemperatur  $T_G$  dar, welche spezifisch für das verwendete Polymer ist. Bei Temperaturen oberhalb von  $T_G$  bleiben die Polymerketten flexibel und besitzen „gummiartige“ Eigenschaften, bei Temperaturen unterhalb von  $T_G$  weisen Polymere hingegen meist spröde, bzw. weniger flexible Eigenschaften auf, da die Polymerketten relativ starr sind. Als polymerspezifische Größe kann das relative Molekulargewicht des Polymers verwendet werden, welches sich entscheidend auf die mechanischen und thermischen Eigenschaften und auch auf  $T_G$  auswirkt.

Neben der Temperatur nimmt auch die Polymerstruktur einen Einfluss auf das Diffusionsvermögen der migrierenden Substanz. Bereits bei einem bestimmten Polymertyp kann es hinsichtlich seiner Struktur deutliche Unterschiede geben. Bei Polyethylen (PE) wird beispielsweise zwischen dem linearen Typ PE-HD (wenige Seitenketten) und dem stark verzweigten PE-LD, welches viele Seitenketten aufweist, unterschieden. Mit zunehmender Verzweigung der Polymerketten erhöht sich dabei die Elastizität des Polymers, da es insgesamt weniger kompakt ist als ein lineares. In diesem Zusammenhang spricht man auch von der Kristallinität eines Polymers, bei welcher zwischen kristallinen und amorphen Bereichen des Polymers unterschieden wird. Kristalline Bereiche entstehen bei langen Molekülketten, welche entweder keine oder nur sehr wenige, kurze und symmetrisch angelagerte Seitenketten (Verzweigungen) aufweisen. Hierdurch können sich die Molekülketten des

Polymers parallel zueinander anordnen und somit eine kompaktere, dichtere Struktur annehmen. In amorphen Bereichen ist das Polymer hingegen durch vielzählige Seitenketten stark verzweigt. Durch eine gegenseitige Beeinflussung der Seitenketten kann sich keine geordnete Kristallstruktur ausbilden, das Polymer weist somit eine lockerere Struktur auf und hat eine geringere Dichte. Abgesehen von den Eigenschaften der umgebenden Matrix wirkt sich zudem die Beschaffenheit der migrierenden Substanz selbst auf das Diffusionsvermögen durch eine Polymermatrix aus. Je größer und komplexer die Struktur der Substanz ist, desto wahrscheinlicher sind Kollisionen und Wechselwirkungen mit den umgebenden Ketten des Polymers. Die bisher geschilderten Aspekte sollen verdeutlichen, wie sehr das System aus Verpackung, Lebensmittel und migrierender Substanz von mehreren Faktoren abhängig sind, welche jedoch in Form von  $K_{P,L}$  und  $D_p$  berücksichtigt werden. Der Einfluss der zuletzt genannten Parameter auf den Verlauf der Migration ist zur Veranschaulichung in Abbildung 8 schematisch dargestellt.



**Abbildung 8:** Verlauf der Migration (auf ein Lebensmittel) in Abhängigkeit des Verteilungskoeffizienten ( $K_{P,L}$ ) und Diffusionskoeffizienten ( $D_p$ ). Im Vergleich zu Kurve I ergibt sich der Verlauf von Kurve II durch einen niedrigeren Wert für  $D_p$ , bei gleichem  $K_{P,L}$ . Kurve III ergibt sich durch einen höheren Wert für  $K_{P,L}$ , während  $D_p$  unverändert bleibt (nach [88]).

Je höher die Werte für den Diffusionskoeffizienten desto schneller migriert eine Substanz auf das Lebensmittel. Dies wird durch den steileren Verlauf der Kurve in Abbildung 8 dargestellt, wodurch auch der Gleichgewichtszustand früher erreicht wird. Bei höheren Werten für den Verteilungskoeffizienten wird insgesamt weniger migrierende Substanz vom Lebensmittel aufgenommen, die Rate mit der die migrierende Substanz auf das Lebensmittel übergeht, bleibt hierbei jedoch weitestgehend unverändert. Hinsichtlich der Migration wird daher ersichtlich, dass der Diffusionskoeffizient der geschwindigkeitsbestimmende Parameter ist.

### 3.2.1.3 Modellierung der Migration eines Nanomaterials

Um anhand von Gleichung 20 unter gegebenen Randbedingungen (Zeit, Temperatur und Konzentration im Polymer) die Migration von Nanomaterialien aus einem bestimmten Polymer zu

errechnen, müssen folglich sinnvolle Werte für  $K_{P,L}$  und  $D_P$  eingesetzt werden.  $K_{P,L}$  kann dabei für verschiedene Partikelgrößen als konstant angenommen werden. Um den ungünstigen Fall einer sehr guten Aufnahmefähigkeit im Lebensmittel zu generieren wird zudem  $K_{P,L}=1$  festgelegt. Um den Einfluss der Partikelgröße des verwendeten Nanomaterials in Gleichung 20 einfließen zu lassen, müssen einzelne Diffusionskoeffizienten in Abhängigkeit der Partikelgröße berechnet werden. Zudem erfordert eine realitätsnahe Berechnung eine Berücksichtigung der komplexen Vorgänge während der Diffusion in einer Polymermatrix. Piringer stellte für die unterschiedlichsten Systeme aus Polymer und Polymeradditiven eine Sammlung möglicher Diffusionsgleichungen zusammen, bei denen Wechselwirkungen zwischen Polymer und der migrierenden Substanz berücksichtigt werden [85]. Für die Berechnung von Diffusionskoeffizienten von Nanomaterialien existieren jedoch bis heute keine speziellen Gleichungen. Dennoch lassen sich anhand grundlegender Kriterien, welche auf die Diffusion von Migranten allgemein zutreffen und auch für nanoskalige Substanzen gültig sind, plausible Werte für Nanomaterialien unter Verwendung von Diffusionsgleichungen gewöhnlicher Polymeradditive errechnen. Diese Kriterien sind:

- Die Diffusion hängt von der Partikelgröße ab. Mit zunehmender Partikelgröße nimmt die Mobilität des Partikels im Polymer ab. Der Einfluss des molekularen Volumens auf die Diffusionsgeschwindigkeit ist ein anerkanntes Kriterium und wurde beispielsweise anschaulich für Polymeradditive in PET dargestellt [89].
- Die Diffusion hängt vom Molekulargewicht der migrierenden Substanz ab. Mit zunehmendem Molekulargewicht nimmt die Mobilität der migrierenden Substanz im Polymer ebenfalls ab [3]. Nanomaterialien werden im Folgenden als quasi-Moleküle mit einem quasi-Molekulargewicht angesehen.
- Die Morphologie der migrierenden Substanz nimmt ebenfalls Einfluss auf die Mobilität. Eine Kugel weist in Bezug auf ihr Volumen die geringste Oberfläche auf, weshalb sphärische Partikel weniger Wechselwirkungen mit der umgebenden Matrix eingehen, als weniger kompakte Strukturen (z. B. verzweigte Aggregate).

In Bezug auf Nanomaterialien wird daher ersichtlich, dass das Diffusionspotential mit abnehmenden Partikeldurchmesser und Molekulargewicht sowie einer sphärischen Form steigt. Da Nanomaterialien jedoch neben unterschiedlichen Partikelgrößen auch unterschiedliche Strukturen (Kugeln, Stäbchen, Plättchen, Primärpartikel, verzweigte Aggregate, usw.) aufweisen, können Diffusionskoeffizienten für Nanomaterialien nicht allgemein sondern nur substanzspezifisch ermittelt werden. Anhand von Berechnungen eines „worst-case“-Nanomaterials, d. h. eines Nanomaterials bei welchem aufgrund der oben beschriebenen Einflussgrößen auf die Diffusion von einem erhöhten Migrationspotential ausgegangen werden kann, ist es möglich abzuschätzen, in welcher Größenordnung die Migration auch von chemisch anderen Nanomaterialien stattfindet. Als Bestandteil dieser Arbeit wurde eine Berechnung unter solchen „worst-case“ Kriterien für das Nanomaterial Kohlenstoffschwarz durchgeführt und veröffentlicht [90, 91]. Die Ergebnisse dieser Modellierung spiegeln die Erwartung wider, dass Nanomaterialien aufgrund ihrer Größe keine signifikante Mobilität in einer Polymermatrix aufweisen. Die hierdurch gewonnenen Erkenntnisse sollen daher auch als Grundlage für eine abschließende Betrachtung und Diskussion der experimentell gewonnenen Daten dieser Arbeit dienen.

Kohlenstoffschwarz besteht aus zu Aggregaten zusammengelagerten, elliptischen bis sphärischen Partikeln aus Kohlenstoff. Aufgrund der niedrigen Atommasse von Kohlenstoff ( $M_C=12 \text{ g mol}^{-1}$ ) und der geringen Dichte von Kohlenstoffschwarz ( $\rho = 1 \text{ g cm}^{-3}$ ) ergibt sich ein Nanomaterial, für das sich unter der Annahme, dass Kohlenstoffschwarz zudem in Form von isolierten und sphärischen

Primärpartikeln vorliegt, quasi- Molekulargewichte des Partikels in Abhängigkeit des Durchmessers (Kugelvolumen) errechnen lassen. Die sphärische Form sowie das niedrige Molekulargewicht der einzelnen Partikel ergibt ein Nanomaterial, für welches sich höhere Migrationsraten errechnen lassen als für ein Nanomaterial mit der gleichen Größe aber einer anderen chemischen Zusammensetzung. Die Berechnung der Diffusionskoeffizienten erfolgte in PE-LD für Kohlenstoffschwarzpartikel anhand einer Gleichung nach Piringer (Gleichung 6.28 in [85]), welche anhand von Diffusionsmessungen von n-Alkanen in Polyethylen empirisch ermittelt wurde.

$$D_{P,i} = D_u \exp(w_{i,e} - w_{p,e} 0,14(14j + 2)^{\frac{2}{3}} - w w_{j,e}^{\frac{2}{3}} T_{m,P} R/RT) \quad \text{Gleichung 21}$$

mit

$$w_{i,e} = \left(1 + \frac{2\pi}{i}\right)^{i/e} \quad \text{Gleichung 22}$$

$$j = \left(i^{\frac{1}{3}}\right) \quad \text{Gleichung 23}$$

$$w_{j,e} = \left(1 + \frac{2\pi}{j}\right)^{j/e} \quad \text{Gleichung 24}$$

$$p = \left(\frac{M_{r,P}}{14}\right)^{1/3} \quad \text{Gleichung 25}$$

$$w_{p,e} = \left(1 + \frac{2\pi}{p}\right)^{p/e} \quad \text{Gleichung 26}$$

$$i = (M_{r,i} - 2)14 \quad \text{Gleichung 27}$$

$$w = e^{2\pi/e} \quad \text{Gleichung 28}$$

$$D_u = 1m^2s^{-1}$$

Mittels dieser Gleichung lassen sich sowohl Polymer spezifische als auch Partikel spezifische Merkmale erfassen, indem die Schmelztemperatur des Polymers  $T_{m,P}$ , sein Molekulargewicht  $M_{r,P}$ , sowie das relative Molekulargewicht  $M_{r,i}$  der diffundierenden Partikel und auch die Temperatur  $T$  des Systems erfasst werden. Das Produkt  $0,14(14j+2)^{2/3}$  in Gleichung 21 steht zudem für die molekulare Querschnittsfläche des diffundierenden Partikels. Dieser Term, welcher abhängig von der molekularen Größe des Migranten ist, berücksichtigt somit den Widerstand der migrierenden Substanz bei der Diffusion durch das Polymer. Mittels  $w_{p,e}$  werden zudem weitere Wechselwirkungen des Migranten mit dem umgebenden Polymer berücksichtigt.

Um den Einfluss der Partikelgröße von Kohlenstoffschwarz auf den Diffusionskoeffizienten zu berücksichtigen, werden diese Nanopartikel als Quasi-Moleküle betrachtet. Hierdurch lässt sich die Partikelgröße auf ein relatives Molekulargewicht wie folgt umrechnen:

$$V_i = \frac{1}{6\pi d^3} \quad \text{Gleichung 29}$$

$$m_i = V_i \rho \quad \text{Gleichung 30}$$

$$m_C = \frac{M_C}{N_A} \quad \text{Gleichung 31}$$

$$n = \frac{m_i}{m_C} \quad \text{Gleichung 32}$$

$$M_{r,i} = nM_C \quad \text{Gleichung 33}$$

Durch Multiplikation des Volumens  $V_i$  eines kugelförmigen Kohlenstoffschwarzpartikels des Durchmessers  $d$  mit der Dichte  $\rho$  ( $= 1 \text{ g cm}^{-3}$ ) erhält man die absolute Masse  $m_i$  für diesen Partikel. Setzt man

diese Masse ins Verhältnis zur absoluten Masse eines Kohlenstoffatoms  $m_C$  (Gleichung 31) erhält man die Zahl  $n$  der Kohlenstoffatome in einem Partikel des Durchmessers  $d$ . Durch Multiplikation der relativen Atommasse von Kohlenstoff  $M_C$  mit der Anzahl der Kohlenstoffatome in einem Partikel des entsprechenden Durchmessers erhält man das Quasi-Molekulargewicht  $M_{r,i}$  des Kohlenstoffschwarzpartikels. Setzt man die von der Partikelgröße abhängigen Molekulargewichte in Gleichung 21 ein und nimmt zudem PE-LD mit einer Molekularmasse von  $M_{r,P} = 5000 \text{ g mol}^{-1}$  sowie eine Schmelztemperatur des Polymers von  $T_{m,P} = 110 \text{ °C}$  an, ergeben sich Diffusionskoeffizienten, welche für Partikel mit Durchmessern von 1,0 nm bis 10 nm in Tabelle 2 dargestellt sind.

**Tabelle 2: Errechnete Werte des Diffusionskoeffizienten  $D_{P,i}$  anhand Gleichung 21 in Abhängigkeit des Partikeldurchmessers von Kohlenstoffschwarzpartikeln bei einer Systemtemperatur von 40 °C.**

d [nm]	$V_i$ [nm <sup>3</sup> ]	$m_i$ [E-21 g]	N C Atome	$M_{r,i}$ [g mol <sup>-1</sup> ]	$D_{P,i}$ [cm <sup>2</sup> s <sup>-1</sup> ]
1	0,5	0,5	26	314	<b>2,9 E-09</b>
1,5	1,8	1,8	88	1060	<b>1,9 E-11</b>
2	4,2	4,2	209	2512	<b>1,4 E-13</b>
3	14,1	14,1	707	8478	<b>3,9 E-17</b>
4	33,5	33,5	1675	20096	<b>5,4 E-20</b>
5	65,4	65,4	3271	39250	<b>2,1 E-22</b>
6	113,0	113,0	5652	67824	<b>1,7 E-24</b>
7	179,5	179,5	8975	107702	<b>2,4 E-26</b>
8	267,9	267,9	13397	160768	<b>4,8 E-28</b>
9	381,5	381,5	19076	228906	<b>1,3 E-29</b>
10	523,3	523,3	26167	314000	<b>4,4 E-31</b>

Unter der Verwendung der Gleichung für den Massentransport (Gleichung 20) ist es nun möglich unter gegebenen Randbedingungen die migrierte Menge an Kohlenstoffschwarz in Abhängigkeit der Partikelgröße (ausgedrückt durch das Molekulargewicht) zu berechnen. Legt man als Anfangskonzentration  $C_{P,0} = 25000 \text{ mg kg}^{-1}$  (2,5 % ist die zugelassene Höchstmenge nach der EU Verordnung 10/2011), sowie eine Kontaktzeit von zehn Tagen bei 40 °C fest, ergeben sich für eine würfelförmige Verpackung mit einer Kantenlänge von 10 cm (Gesamtfläche: 6 dm<sup>2</sup>, Volumen: 1 l), einer Materialstärke von 3 mm und einem Lebensmittel, welches Kohlenstoffschwarz sehr gut aufnehmen kann ( $K_{P,L} = 1$ ) die in Abbildung 9 dargestellte Abhängigkeit der migrierten Menge von der quasi-Molekülmasse der Partikel.

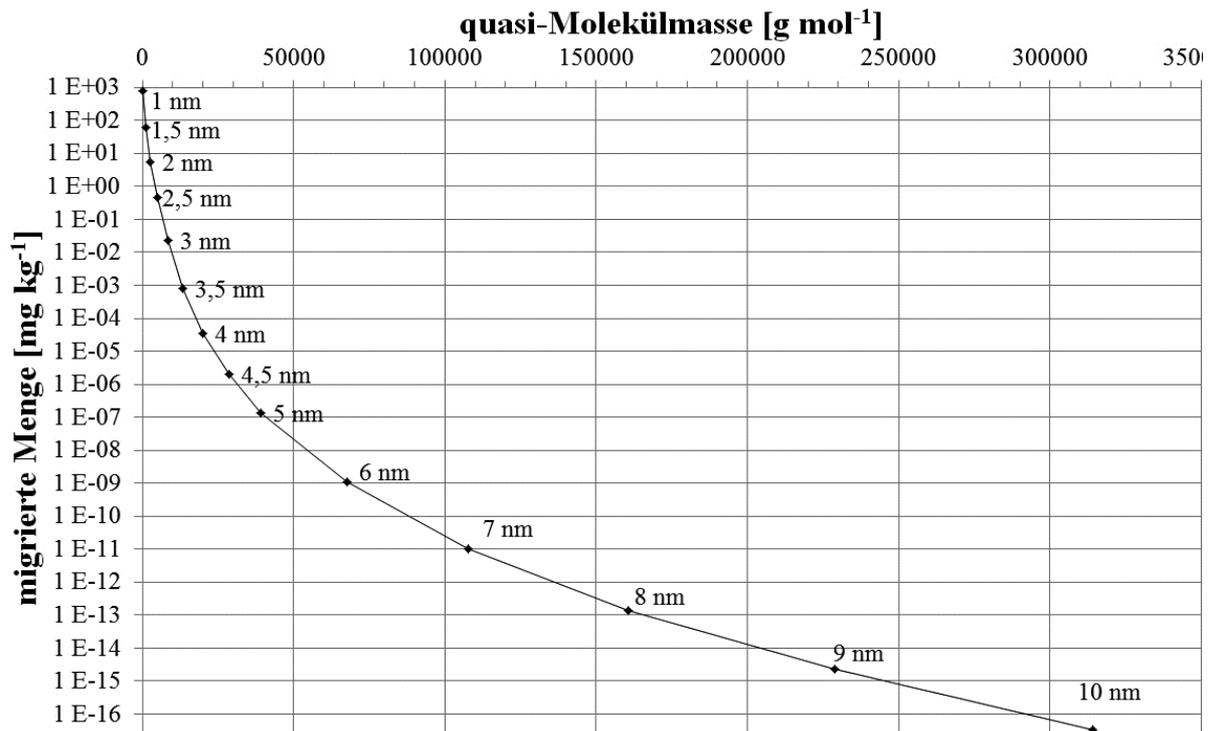


Abbildung 9: Modellierter migrierter Menge nach 10 d bei 40 °C von sphärischen Kohlenstoffschwarzpartikeln aus einer PE-LD Verpackung in Abhängigkeit der Partikelgröße ausgedrückt als relative Molekülmasse.

Würden die in der PE-LD Verpackung eingesetzten Kohlenstoffschwarzpartikel ausschließlich aus Partikeln mit 1 nm im Durchmesser bestehen ( $M_{r,i} = 314 \text{ g mol}^{-1}$ ) wäre die migrierte Menge am Ende der Kontaktzeit rund 770 mg Kohlenstoffschwarz pro kg Lebensmittel. Dies entspricht in etwa einer Menge, welche sich auch für gewöhnliche Polymeradditive wie Antioxidantien mit vergleichbarer Molekülmasse errechnen lässt. Mit zunehmender Partikelgröße fällt jedoch der größenabhängige Verlauf der Kurve in Abbildung 9 rapide ab. Für Kohlenstoffschwarzpartikel mit einem Durchmesser von 10 nm ( $M_{r,i} = 314000 \text{ g mol}^{-1}$ ) lässt sich nur noch eine migrierte Menge von  $3,5 \text{ E-17 mg kg}^{-1}$  errechnen. Bereits für eine Partikelgröße von 4 nm ( $M_{r,i} = 20096 \text{ g mol}^{-1}$ ) ergibt sich ein Wert im  $\text{ng kg}^{-1}$  Bereich, welcher analytisch kaum mehr erfassbar wäre. Diese Werte lassen sich bereits anhand der eingesetzten Diffusionskoeffizienten errahnen, die aufgrund der sehr niedrigen Werte darauf hindeuten, dass Nanopartikel in diesem Größenbereich nur extrem langsam diffundieren können.

Anhand der Modellierung der Migration von Kohlenstoffschwarz, welches aufgrund der oben genannten Gründe ein „worst-case“ Nanomaterial darstellt, lässt sich für andere Nanomaterialien mit höherer quasi-Molekülmasse eine noch niedrigere Mobilität im Polymer erwarten, was zu noch niedrigeren Migrationsraten führen würde. Anhand der hier dargestellten Überlegungen und Berechnung lässt sich somit abschätzen, dass Nanopartikel, wenn überhaupt, nur in extrem niedrigen Mengen migrieren, die sich analytisch kaum bis gar nicht erfassen lassen und physiologisch ohne Bedeutung wären.

### 3.2.2 Überblick über Studien zur Migration von Nanomaterialien aus Lebensmittelverpackungen aus Kunststoffen

In den letzten Jahren wurde eine Reihe an Publikationen über die Migration von Nanomaterialien aus Nanokompositen veröffentlicht. Eine klare Aussage darüber, ob Nanomaterialien unter praxisrelevanten Bedingungen migrieren können, kann jedoch anhand dieser Publikationen nicht abgeleitet werden. Die veröffentlichten Ergebnisse einzelner Studien zu einem Nanomaterial sind trotz

identischer Bedingungen hinsichtlich Zeit und Temperatur während der Migrationsversuche untereinander widersprüchlich. Durch unterschiedliche analytische Verfahren und eine individuelle Herangehensweise bei den Migrationsstudien wird erkennbar, dass bereits der methodische Ansatz einer Versuchsstudie sich ergebnisbeeinflussend auswirkt und somit eine eindeutige Interpretation der Ergebnisse erschwert. Im Folgenden soll diese Thematik anhand relevanter Migrationsstudien im Überblick dargestellt werden, deren Ergebnisse im Vergleich zu den Messungen dieser Arbeit später noch detaillierter diskutiert werden sollen.

Zu den am häufigsten untersuchten Verpackungspolymeren zählen Nanokomposite, welche Silber-Nanopartikel enthalten. Bei all diesen Studien wurden die eingesetzten Lebensmittelsimulanzien am Ende der Migrationsversuche mittels induktiv gekoppelter Plasma Massenspektrometrie (ICP-MS) oder Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) untersucht. In den Arbeiten von Goetz et al. [92] und Artiaga et al. [93] wurde unabhängig voneinander die Migration von Silber aus kommerziell erhältlichen Silber-Nanopartikelhaltigen Polyethylen-Beuteln derselben Marke bestimmt. Von Götz et al. konnte nach 10 Tagen bei 20 °C keinen Übergang von Silber auf das Simulanz 3 % v/v Essigsäure oberhalb der Nachweisgrenze von  $0,05 \mu\text{g dm}^{-2}$  feststellen. Bei Artiaga et al. wurden nach 10 Tagen bei 40°C im selben Simulanz  $18 \mu\text{g dm}^{-2}$  als flächenbezogener Übergang von Silber auf 3 % v/v Essigsäure festgestellt. In der Arbeit von Götz et al. wurden zusätzlich noch Frischhaltedosen aus Polypropylen (PP) untersucht. Wiederum handelte es sich hierbei um ein Silber-Nanopartikelhaltiges Produkt derselben Marke. Obwohl von Götz et al. im Vergleich zu den untersuchten PE-Beuteln einen geringeren Silbergehalt im Polymer der PP-Dosen ermittelten, konnte hierbei eine Migration von Silber aus den Dosen von  $950 \mu\text{g dm}^{-2}$  auf 3 % v/v Essigsäure nach 10 Tagen bei 20 °C festgestellt werden. Bei allen Studien dieser Autoren wurden noch weitere Lebensmittelsimulanzien untersucht, jedoch wurden die höchsten Migrationsraten in dem wässrigen und sauren Simulanz 3% Essigsäure festgestellt. Durch weitere Untersuchungen an diesen Proben, welche mit zusätzlicher Probenaufbereitung verbunden waren, kamen alle Autoren zu der Schlussfolgerung, dass das migrierte Silber in Form von Nanopartikel migriert sein muss. Weitere Studien zur Migration von Silber-Nanopartikeln sind von Song et al. [94] und Huang et al. [95] erschienen. Bei einer Lagerung der Proben bei 40 °C in Essigsäure stellten Song et al. bereits nach wenigen Stunden einen Anstieg der Silberkonzentration im Simulanz fest. Bereits nach Lagerung der Proben für neun Stunden wurde ein Übergang von 3 % des gesamten in einer PE-Folie enthaltenen Silbers gemessen. Auch in dieser Arbeit wurden zwar mehrere Simulanzien verwendet, die Migration von Silber fand offenbar überwiegend in 3 % v/v Essigsäure statt. Huang et al. untersuchten PE-Beutel, welchen laut Hersteller Silber-Nanopartikel zugesetzt waren. In dieser Arbeit konnte ebenfalls eine Abgabe von Silber am Ende der Kontaktzeit festgestellt werden, jedoch machte die Verwendung von wässrigen (Reinstwasser), sauren (4 % Essigsäure), weniger polaren (95 % v/v Ethanol) und nicht polaren (Hexan) Simulanzien keinen signifikanten Unterschied aus und steht somit in Widerspruch zu den Erkenntnissen der anderen Studien. Beide kommen dennoch zu dem Schluss, dass ein Übergang von Silber in Form von Nanopartikeln auf Lebensmittel möglich sei.

Weitere Studien untersuchten die Migration von Schichtsilikaten, welche im exfolierten Zustand als einzelne Plättchen mit einer Dimension im Nanometerbereich vorlagen. Schmidt et al. [96] untersuchten den Übergang von Schichtsilikaten auf 95 % v/v Ethanol bei Polymilchsäure (PLA) Nanokompositen mit eingearbeiteten Laurat-modifizierten Magnesium-Aluminium „Layered Double Hydroxides“ (LDHs) Plättchen. Nach 10 Tagen bei 40 °C wurde das Lebensmittelsimulanz nass-chemisch mit Salpetersäure aufgeschlossen und die migrierte Menge an LDHs über den Magnesiumgehalt in den aufgeschlossenen Proben ermittelt. Aus den detektierten Mengen an Magnesium folgerten die Autoren auf eine LDH-Migration aus dem PLA Polymer von 0,2 bis

2,2 mg dm<sup>-2</sup> bei einer LDH Konzentration im Polymer von 1,8, bzw. 5,5 % (w/w). Ein zudem in dieser Studie festgestellter Molekulargewichtsverlust des Nanokomposits wurde durch den Verlust an Masse bedingt durch die Migration der LDHs aus dem Polymer begründet. In einer früheren Studie von Schmidt et al. [97] wurden ebenfalls organophile Schichtsilikat PLA-Nanokomposite hinsichtlich der Migration der einzelner Plättchen untersucht. In dieser Arbeit wurde das Lebensmittelsimulanz 95 % v/v Ethanol nach einer Kontaktdauer 10 Tagen bei 40 °C mittels asymmetrischer Fluss Feld-Fluss Fraktionierung (AF4) auf Schichtsilikate und mittels ICP-MS auf vorhandenes Magnesium untersucht. Hierbei konnte keine Migration von Schichtsilikaten festgestellt werden. Farhoodi et al. [98] untersuchten in ihrer Arbeit organophile Schichtsilikat/PET-Nanokomposite. Ebenfalls wurden mittels ICP-MS Migrationsproben auf das Vorhandensein von Aluminium und Silicium überprüft. Über einen Zeitraum von 90 Tagen konnte ein konstanter Anstieg der Aluminium- und Siliciumkonzentration in den in 3 % v/v Essigsäure bei 45 °C gelagerten Proben gemessen werden. Am Ende der Lagerung wurde für Aluminium ein Gehalt von 0,34 mg pro kg Lebensmittelsimulanz und für Silicium ein Gehalt von 9,5 mg kg<sup>-1</sup> ermittelt. Da neben Magnesium auch Aluminium und Silicium wesentliche Bestandteile von Schichtsilikaten sind, folgerten die Autoren, dass eine Migration des verwendeten Schichtsilikats auch aus PET auf ein Lebensmittel möglich sei.

Die hier dargestellten Ergebnisse stehen im Widerspruch zu der Erwartung, dass Substanzen in Form von Nanomaterialien ein zu geringes Migrationspotential haben, um die Migration analytisch erfassen zu können (siehe 3.2.1.3). Bei vielen dieser Studien lässt sich eine zum Teil unkonventionelle Herangehensweise bei der Probenaufbereitung feststellen, welche zu Fehlschlüssen führte aber für die verwendeten Analysetechniken erforderlich waren. Beispielsweise wurden in manchen Studien die Prüfmuster in eine Vielzahl kleinerer Prüfstücke zerschnitten um die Empfindlichkeit der eingesetzten analytischen Methode zu steigern. Auch lassen sich bei vielen Studien zusätzliche Probenaufbereitungsschritte, wie dem Eindampfen einer Probenmatrix bis zur Trockene, feststellen, ohne dass dabei ein etwaiger Einfluss der Probenaufbereitung auf den Analyten untersucht und berücksichtigt wurde. Die Möglichkeit eines direkten Nachweises von potentiell migrierten Nanomaterialien ohne zusätzliche Probenaufbereitung ist in einer Lebensmittelsimulanz-Matrix jedoch mit konventionellen Analysetechniken kaum möglich. Im folgenden Kapitel soll daher ein Überblick über Analysemethoden und Anforderungen hinsichtlich der Charakterisierung und Detektion von Nanomaterialien zusammengestellt werden.

### 3.3 Analytische Methoden zur Charakterisierung und Detektion von Nanomaterialien

Nanomaterialien erfordern eine speziell angepasste Analytik, bei welcher als grundlegende Aspekte die Detektion (sind Nanopartikel vorhanden?), Identifikation (chemische Zusammensetzung), Quantifizierung (wieviel Nanomaterial?) und Charakterisierung (Zustand der Aggregation, Oberflächenstruktur und Partikelgröße) des Nanomaterials im Vordergrund stehen. Konventionelle chromatographische Techniken, wie Gas-, Flüssigkeits-, oder auch Gel-Permeations-Chromatographie stoßen aufgrund des im Vergleich zu konventionellen Polymeradditiven deutlich größeren Partikelgrößenbereichs der Nanomaterialien an ihre Grenzen. Dennoch existieren eine Reihe hochspezifischer Techniken, welche speziell für Untersuchungen an Nanomaterialien entwickelt wurden oder sich zur Bestimmung einzelner Kriterien eignen. Einen Überblick über existierende Techniken, die zur Untersuchungen an Nanomaterialien allgemein Anwendung finden, ist den Arbeiten von Blasco [99], Noonan [100] und Singh [101] dargestellt. Demnach lassen sich einzelne Techniken eingruppiert in:

- Methoden zur Charakterisierung einzelner Einheiten eines Nanomaterials (z.B. Strukturaufklärung einzelner Aggregate)

- Methoden zur Charakterisierung des gesamten in einer Probe vorliegenden Nanomaterials (z.B. Bestimmung der Partikelgrößenverteilung eines Nanomaterials in einer Probe)
- Methoden zur Bestimmung der chemischen Zusammensetzung des Nanomaterials

Zu den charakterisierenden Methoden zählen Techniken, mittels derer sich beispielsweise die Form, Größe, Zustand der Aggregation und Oberfläche (Fläche, Struktur, Ladung) einzelner Partikel eines Nanomaterials in einer Probe untersuchen lassen. Hierzu finden beispielsweise bildgebende Mikroskopie-Techniken wie die optische Nahfeldmikroskopie (NSOM), Rastersondenmikroskopie (SPM), konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie (CLSM), Rasterelektronenmikroskopie (SEM), Transmissionselektronenmikroskopie (TEM), Röntgenmikroskopie (XRM), Raster-Röntgen-Transmissions-Mikroskopie (STXM) und die Raster-Kraft-Mikroskopie (AFM) Anwendung.

Als chromatographische oder chromatographieähnliche Methoden, mittels derer eine größenabhängige Trennung des Nanomaterials nach der jeweiligen Aggregatsgröße möglich ist, eignen sich beispielsweise die Größenausschlusschromatographie (SEC), hydrodynamische Chromatographie (HDC), Kapillarelektrophorese (CE) und die Feld-Fluss Fraktionierung (FFF).

Spektroskopische oder spektroskopieähnliche Methoden, die zur Charakterisierung eines Nanomaterials angewendet werden können, sind unter anderem die statische Lichtstreuung (SLS), dynamische Lichtstreuung (DLS), Röntgendiffraktometrie (XRD), Röntgen-Kleinwinkelstreuung (SAXS, Spezialfall der XRD), Neutronen-Kleinwinkelstreuung (SANS), Raman-Spektroskopie, Laserinduzierte Fluoreszenz (LIF), Kernspinresonanzspektroskopie (NMR), Photonenkorrelations-spektroskopie (PCS) und Laserdiffraktometrie (LD).

Die Bestimmung der Elementzusammensetzung eines Nanomaterials, welche sich maßgeblich auf die Eigenschaften eines Materials auswirkt, erfolgt häufig mittels induktiv gekoppelter Plasma Massenspektrometrie (ICP-MS), Atomabsorptionsspektroskopie (AAS), Röntgenfluoreszenzanalyse (XRF), oder energiedispersiver Röntgenspektroskopie (EDX).

Viele der oben aufgeführten Techniken sind hochspezifisch und eignen sich nur zur Bestimmung einzelner Kriterien, wie die Partikelgröße oder die chemische Zusammensetzung. Um umfassendere Informationen über ein zu untersuchendes Nanomaterialien zu erhalten, d.h. um beispielsweise zugleich quantifizieren und charakterisieren zu können, ist oftmals eine Kombination einzelner Methoden miteinander notwendig.

Zur Charakterisierung von Nanopartikeln in einer Polymermatrix findet eine Kombination aus strukturaufklärender XRD, elementspezifischer EDX und TEM Anwendung. Mittels TEM kann die Größe, sowie die Struktur von Nanomaterialien in einem zweidimensionalen Bild überprüft werden [102]. XRD und EDX Messungen liefern zugleich Informationen über die Struktur und die chemische Zusammensetzung des jeweiligen Partikels [103]. Zudem ist es mit TEM möglich, eine auf der Partikelanzahl basierende Partikelgrößenverteilung zu bestimmen, auch wenn diese Auswertung sehr aufwendig ist. Diese Techniken eignen sich somit speziell in statischen Systemen z.B. für die Strukturaufklärung (d.h. Bestimmung von Größe und Form einzelner Aggregate und ggf. der Primärpartikel) eines bestimmten Nanomaterials in einer Polymermatrix.

Um das Migrationspotential von Nanomaterialien aus Kunststoff-Lebensmittelverpackungen untersuchen zu können, bedarf es wiederum anderer spezieller Techniken. Gerade in komplexen Matrices wie Lebensmitteln bzw. Lebensmittelsimulanzien kann der Nachweis von Nanomaterialien jedoch

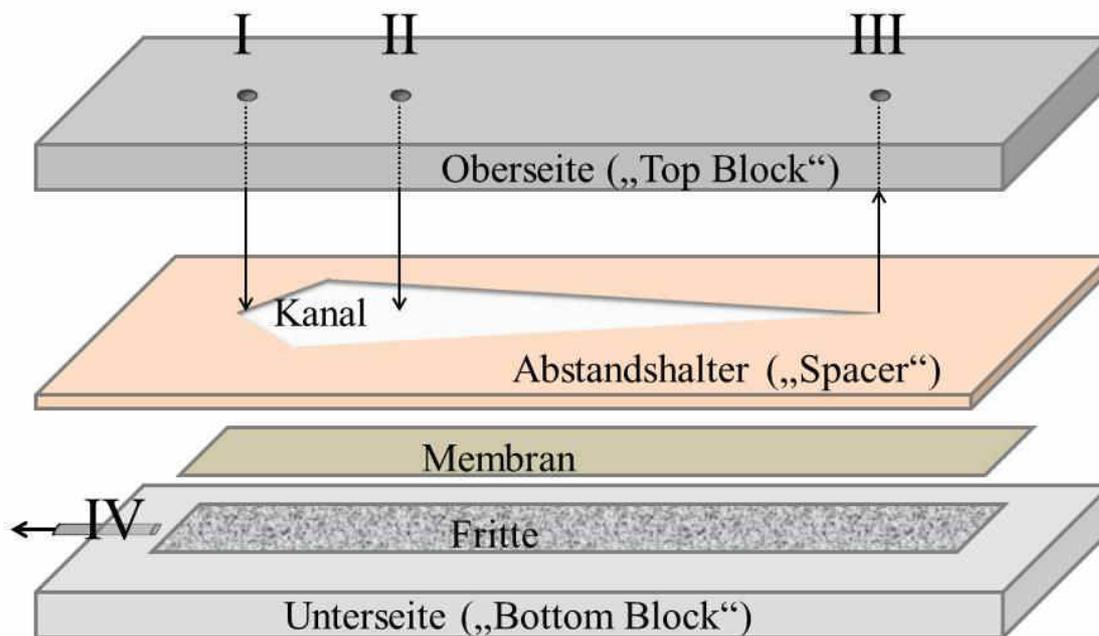
problematisch sein [98]. Die für die Detektion von Nanomaterialien hierbei zwingend notwendige Dispersionsstabilität ist in vielen komplexen Medien nicht gewährleistet [99]. Die die Nanomaterialien umgebende Matrix nimmt entscheidenden Einfluss darauf, ob Nanomaterialien stabil dispergiert bleiben oder sich auflösen oder sedimentieren (bedingt durch Zusammenlagerung einzelner Partikel oder Aggregate), wodurch sie nicht mehr als dispergierte Partikel detektierbar wären [100]. Um Nanomaterialien in komplexen Matrices eindeutig detektieren zu können, muss zudem eine Analysetechnik vorhanden sein, welche eine klare Unterscheidung oder Abtrennung des Nanomaterials von anderen Matrixkomponenten ermöglicht. Asymmetrische Fluss Feld-Fluss Fraktionierung (AF4) wird oftmals als geeignete Technik verwendet, um Nanomaterialien nach ihrer Größe zu trennen und in Kombination mit einem Vielwinkel-Lichtstreuendetektor (MALS) oder dynamischen Lichtstreuendetektor (DLS) exakte Partikelgrößenverteilungen zu bestimmen [104-107]. Die Kombination aus AF4 und einem Lichtstreuendetektor ermöglicht zwar Trennung und Bestimmung der Größen von Partikeln, liefert jedoch keine Information über deren chemischer Zusammensetzung, wodurch eine eindeutige Identifizierung und einfache Quantifizierung migrierter Nanomaterialien möglich wäre. Elementspezifische Techniken wie die ICP-MS, haben hingegen das Potential Metalle mit hoher Empfindlichkeit zu detektieren und quantifizieren [108]. Ist die chemische Zusammensetzung eines Nanomaterials bekannt, kann somit in einem Lebensmittel, bzw. Lebensmittelsimulanz spezifisch nach Elementen gesucht werden, welche auch im Nanomaterial enthalten sind. Das Detektionsprinzip der Bestimmung des Verhältnis aus Masse zu Ladung ist dabei das gleiche wie bei gewöhnlichen Massenspektrometern. ICP-MS unterscheidet sich jedoch in der Art der Ionisierung des Probenmaterials. Durch die Überführung der injizierten Probe in ein Plasma erfolgt eine vollständige Desorption, Atomisierung und Ionisierung der Probe. Hierdurch entsteht eine Vielzahl an Ionen, welche für die hohe Empfindlichkeit dieser Technik verantwortlich sind. Konventionelle ICP-MS ist aber wiederum nicht dazu in der Lage, zwischen verschiedenen Spezies eines Metalls, z.B. zwischen gelöst vorliegenden Silberionen oder Silber in Form von Nanopartikeln zu unterscheiden [109, 110]. „Single Particle“ ICP-MS (SP-ICP-MS) ist eine neue Technik, mit derer es möglich ist, gelöste Metalle von Metallen in partikulärer Form zu unterscheiden. Auch die Bestimmung der Partikelgrößenverteilung basierend auf der Partikelanzahl ist hiermit möglich [111-113]. SP-ICP-MS benötigt jedoch neben geeigneten Dispersionsmitteln auch geeignete Referenzmaterialien mit definierten Partikelgrößen. In der Praxis zeigen sich somit oftmals Schwierigkeiten, wenn komplexere Proben untersucht werden, welche Nanomaterialien mit einer breiten Partikelgrößenverteilung in einem für ICP-MS ungeeigneten Dispersionsmittel, wie organische Lösemittel, enthalten [109, 114]. Bis heute wurde von keiner eigenständigen Analysetechnik berichtet, die dazu in der Lage ist in den für diese Arbeit und anderen Studien relevanten Lebensmittelsimulanzien alle Kriterien (Detektion, Identifikation, Quantifizierung und Charakterisierung) hinsichtlich der Erfassung der Migration von Nanomaterialien zu ermöglichen. Um einen Nachweis der Migration von Nanomaterialien auf ein Lebensmittel oder Lebensmittelsimulanz zu ermöglichen, bedarf es daher oftmals einer Kombination verschiedener Methoden, die sowohl eine Quantifizierung als auch einen eindeutigen Nachweis der nanoskaligen Form ermöglichen. Eine Kombination aus AF4 mit einem Lichtstreuendetektor und ICP-MS wurde hierfür bereits erfolgreich getestet [115-118]. Da diese zuletzt genannten Techniken auch die zentrale Analytik in dieser Arbeit darstellen, soll im Folgenden auf die Funktionsweise und die an diese Analytik gestellten Anforderungen stärker eingegangen werden.

### 3.3.1 Asymmetrische Fluss Feld-Fluss Fraktionierung (AF4)

Die AF4 ist eine der Chromatographie ähnliche Trenntechnik aus der Familie der Feld-Fluss Fraktionierung (FFF), welche durch J. Calvin Giddings in den 1960er Jahren erfunden wurde. FFF-

Techniken dienen in erster Linie der Trennung hochmolekularer Polymere und Nanopartikel, wobei eine Trennung von Partikeln im Bereich von etwa  $10^{-3}$  bis  $10^2$   $\mu\text{m}$  möglich ist. Allen FFF-Techniken ist dabei gemein, dass die Trennung der Probe im Gegensatz zur Chromatographie ohne eine stationäre Phase (Trennsäule) auskommt, sondern in einem durchströmten Kanal erfolgt, auf welchen von außen ein Trennfeld angelegt wird. Im Vergleich zu chromatographischen Verfahren wie der Größenausschlusschromatographie (SEC) ergeben sich hieraus die Vorteile, dass Wechselwirkungen mit dem Trennsystem minimiert werden. Die einzelnen FFF-Techniken werden dabei nach Art des Trennfeldes unterschieden, welches beispielsweise eine Temperaturgradient (thermische FFF), ein Zentrifugalfeld (Sedimentations-FFF) oder ein elektrisches Feld (elektrische FFF) sein kann. Im Falle der AF4 ist das Trennfeld ein hydrodynamisches, welches durch einen Querfluss in senkrechter Richtung zum Kanal angelegt wird [119-123].

Der Trennkanal einer AF4 ist aus mehreren Komponenten aufgebaut (Abbildung 10). Ein massiver Block mit einer Fritte und einem Auslass für den Querfluss („Cross-Flow“) bildet die Unterseite des Kanals („Bottom Block“). Auf der Fritte befindet sich eine semipermeable Membran, welche durchlässig für den Eluenten, nicht jedoch für bestimmte partikuläre Probenbestandteile ist. Auf dieser Membran ist wiederum ein Abstandshalter („Spacer“) mit einer mittigen Aussparung angebracht. Die Oberseite des Trennkanals („Top Block“) wird durch einen massiven Kanaldeckel abgeschlossen, welcher mit verschiedenen Ein- und Auslässen für Probe und Fließmittel versehen ist. Der eigentliche Trennkanal, d.h. der Kanal in welchen die Probe injiziert und getrennt wird, wird durch das „Spacer-Membran-Sandwich“ in der Mitte gebildet, welches durch den Kanaldeckel und dem „Bottom Block“ an Ober- und Unterseite begrenzt ist. Der eigentliche Trennkanal ist in etwa 30 cm lang, 2 cm breit und hat eine Höhe in Abhängigkeit des „Spacers“ von 100 bis 500  $\mu\text{m}$ .



I = Injektionsströmung („Tip-Flow“)

II = Fokussierströmung („Focus-Flow“)

III = Kanalausgang

IV = Querflusströmung („Cross-Flow“)

Abbildung 10: Schematischer Aufbau eines AF4-Trennkanales.

Die Trennung einer Probe erfolgt bei der AF4 in mehreren Schritten (Abbildung 11). Zu Beginn eines AF4 Probenlaufs (Injektionsphase) werden unterschiedliche Strömungen an den Kanal angelegt. Mittels der Injektionsströmung („Flow in“) gelangt zunächst Fließmittel in den Kanal. Diese Strömung dient dem Eintrag der Probe in den Kanal einerseits und dem Transport der in der Probe dispergierten Partikel zum Kanalaustritt („Flow out“) in einem späteren Schritt andererseits. Zusätzlich zur Injektionsströmung wird eine Fokussierströmung („Focus Flow“) über einen weiteren Kanaleinlass angelegt. Hierbei wird dasselbe Fließmittel wie für die Injektionsströmung verwendet, in den Kanal gepumpt. Durch den Auslass des Querflusses (Abbildung 10) wird über die Membranfläche hinweg Fließmittel durch die Membran und Fritte gleichmäßig wieder abgepumpt. Eine weitere aus dem Kanal austretende Strömung ist der Detektorfluss („Flow out“) welcher sich aus der Differenz der in den Kanal eintretenden Strömungen (Injektions- und Fokussierströmung) und dem aus dem Kanal austretendem Querfluss ergibt. Sobald alle Flüsse eingestellt sind und sich das System stabilisiert hat, kann die Injektion und Trennung einer Probe erfolgen. Eine Probe, welche üblicherweise aus einer Dispersion unterschiedlich großer Partikeln besteht, wird in den Fließweg der Injektionsströmung gegeben und gelangt zusammen mit dieser in den Kanal (Abbildung 11 a). Die zugleich angelegte Fokussierströmung verhindert dabei, dass selbst bei einem größeren Injektionsvolumen die Probe nach Eintritt in den Kanal sofort wieder über den Detektorausgang verlassen kann. Aus dem Zusammenspiel aus Kanalgeometrie sowie Injektions- und Fokussierströmung reichern sich die injizierten Partikel an einer immer schmäler werdenden Bande an (Abbildung 11 b), man spricht von einer Fokussierung der Partikel. Der über den gesamten Kanal angelegte Querfluss bewirkt dabei, dass die einzelnen Partikel in Richtung Membran, der sogenannten Akkumulationswand, gedrückt werden. Der Querfluss dient somit als Trennkraft, welche sich in senkrechter Richtung zur Hauptströmungsrichtung (entlang des Kanals) auf die Partikel auswirkt. Höhere Querflüsse bewirken dabei einen stärkeren Sog

auf die Partikel. Aufgrund der Eigendiffusion der Partikel ist es ihnen jedoch möglich entgegen der Strömungsrichtung des Querflusses von der Akkumulationswand weg zu diffundieren. Da die Diffusion abhängig von der Partikelgröße ist, ist es kleineren Partikeln möglich weiter in den Kanal zu diffundieren als größeren. Durch das Wechselspiel der beiden entgegengesetzt wirkenden Kräfte aus Eigendiffusion und Querfluss, bilden sich mit der Zeit einzelne Schichten aus, in welchen sich unterschiedlich große Partikel angereichert haben. In diesen Schichten herrscht in Abhängigkeit der Partikelgröße ein Gleichgewicht aus Trennkraft und Diffusion der Partikel. In höheren Schichten (näher zur Kanalmitte) befinden sich vermehrt kleinere Partikel, während größere Partikel sich in Schichten in der Nähe der Akkumulationswand anreichern. Die Auftrennung in einzelne von der Partikelgröße abhängige Fraktionen erfolgt nach dem kontinuierlichen Herunterfahren der Fokussierströmung (Abbildung 11 c). Es tritt nun nur mehr die Injektionsströmung in den Kanal ein und transportiert dabei die Partikel zum Kanalausgang (Elutionsphase). Die Kanalgeometrie der AF4 ermöglicht dabei eine laminare Strömung mit einem parabolischen Geschwindigkeitsprofil. Die laminare Strömung bewirkt, dass die einzelnen Schichten nicht verwirbelt werden und sich die Partikel nicht mehr durchmischen. Aufgrund des Strömungsgradienten herrschen im Kanal unterschiedliche Strömungsgeschwindigkeiten, wobei die Geschwindigkeit in der Kanalmitte am größten, in den Randbereichen am niedrigsten ist. Kleinere Partikel, welche aufgrund ihrer Größe weiter in Richtung Kanalmitte diffundieren konnten, befinden sich nun in Strömungsschichten mit einer höheren Geschwindigkeit als größere Partikel, welche sich in niedrigeren Strömungsschichten befinden. Somit erfolgt eine Auftrennung nach der Partikelgröße, wobei kleinere Partikel vor größeren Partikeln aus dem Kanal gespült werden. Während der Detektorfluss während eines Probenlaufs in der Regel konstant bleibt, kann während der Elutionsphase das Trennfeld durch Einstellen des Querflusses variiert werden. Der zum Detektorausgang hin schmaler werdende Kanal (siehe Abbildung 10) ermöglicht dabei, dass trotz des Verlusts an Fließmittel (Querfluss) die Strömungsgeschwindigkeit konstant bleibt. Durch eine Änderung des Querflusses während des Probelaufs kann die AF4 Methode an unterschiedliche Partikelfraktionen flexibel angepasst werden [106, 124, 125].

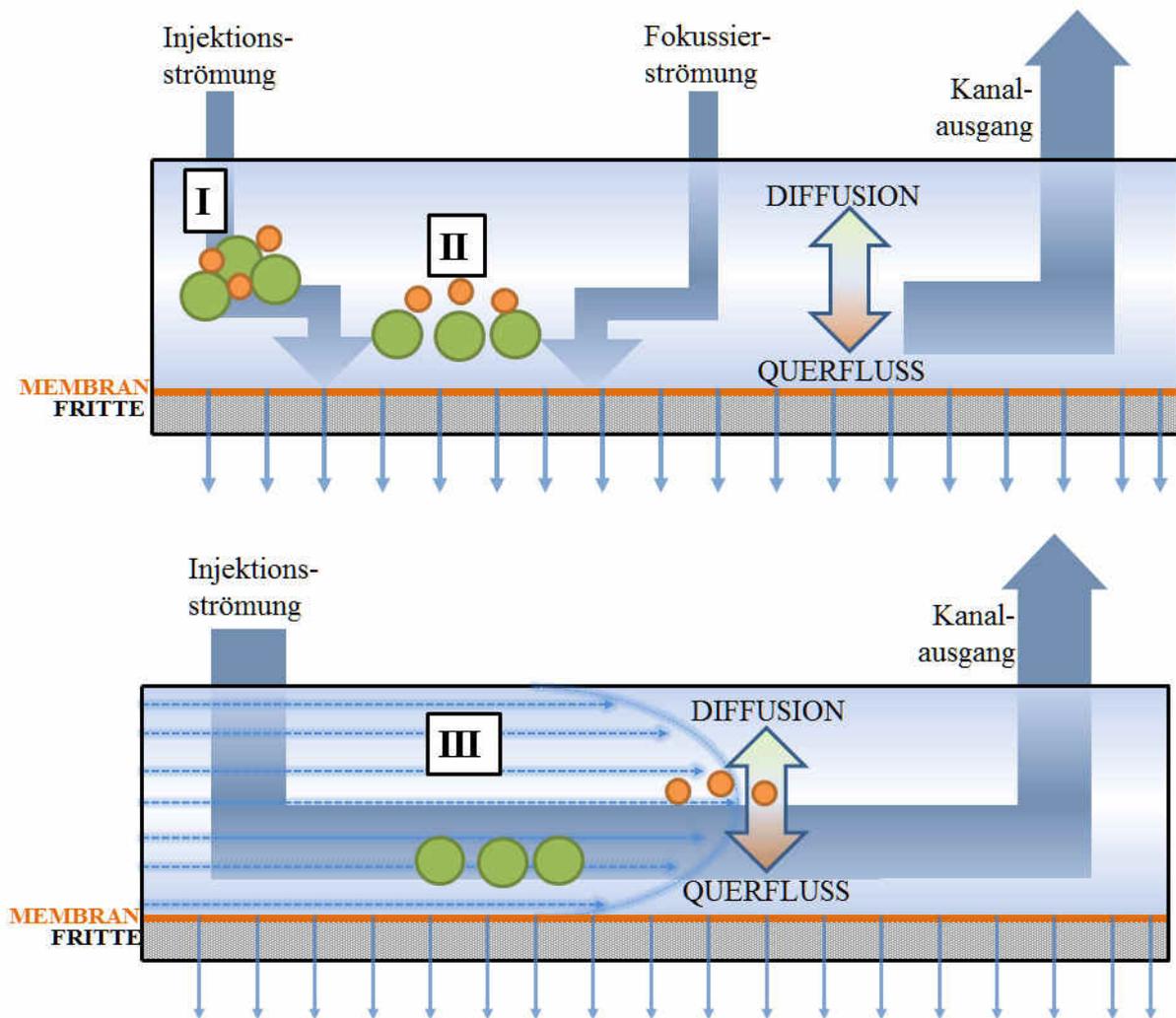


Abbildung 11: Trennschritte bei einem AF4 Probenlauf. (I) Injektion der Probe, (II) Fokussierung der Probe und (III) Trennung der Probe.

Die theoretischen Grundlagen der von der Partikelgröße abhängigen Trennung in einem AF4 Kanal sind mittlerweile gut erforscht und lassen sich unter der Annahme, dass keine Wechselwirkungen zwischen einzelnen Partikeln sowie zwischen Partikeln und der Akkumulationswand auftreten beschreiben [120, 121, 126]. Aus der zugrundeliegenden AF4-Theorie lässt sich ableiten, dass sich die Partikelgröße des Analyten bei gegebenen Systemparametern anhand dessen Retentionszeit bestimmen lässt:

$$d_h = \frac{2kTV^0}{\pi\eta\dot{V}_c w^2 t_0} t_r$$

Gleichung 34

Hierbei ist  $d_h$  der hydrodynamische Durchmesser des Partikels,  $k$  die Boltzmann-Konstante,  $T$  die Systemtemperatur,  $V^0$  das Totvolumen des Kanals,  $\eta$  die dynamische Viskosität des Fließmittels,  $\dot{V}_c$  der Querfluss-Volumenstrom,  $w$  die Kanalhöhe,  $t_0$  die Totzeit (Zeit, welcher eine Analyt ohne angelegtes Kraftfeld zur Durchströmung des Kanals benötigt) und  $t_r$  die Retentionszeit. Hieraus wird ersichtlich, dass die Retentionszeit eines Partikels, d.h. die Trennung einzelner Partikelfraktionen, von der Partikelgröße abhängig ist. Da die Trennung auf dem Zusammenspiel der entgegengesetzt wirkenden Kräfte des Trennfeldes und der Diffusion der Partikel beruht, ist der größenabhängige

Diffusionskoeffizient die entscheidende Triebkraft bei der AF4. Durch Einstellen verschiedener Parameter lässt sich jedoch die Trennleistung eines AF4 Systems an die zu untersuchende Probe anpassen und optimieren. Die Möglichkeit einer unterschiedlichen Kanalgeometrie (Kanallänge und Höhe des „Spacers“), verschiedene Trennmembranen und Fließmittel zu verwenden, sowie die Möglichkeit die Systemtemperatur sowie die Flussraten anzupassen, machen dieses System äußerst flexibel, der Aufwand, eine optimierte Methode für ein Partikelsystem zu entwickeln, ist jedoch entsprechend hoch.

### 3.3.2 Statische Lichtstreuung zur Bestimmung von Partikelgrößen

Wie im vorherigen Kapitel geschildert ist eine Trennung von Nanomaterialien anhand von Partikelgrößen mittels AF4 möglich. Auch eine Bestimmung der Partikelgröße ist anhand der sich aus der AF4-Methode ergebenden spezifischen Retentionszeiten möglich. Neben geeigneten Detektoren setzt die Bestimmung der Partikelgröße anhand einer Retentionszeit jedoch einige Annahmen voraus, welche wie oben beschrieben, nur im Idealfall Gültigkeit besitzen. Eine größenabhängige Bestimmung der Elutionszeit ist beispielsweise anhand von sphärischen Referenz-Nanopartikeln mit einheitlicher Partikelgröße möglich. In der Praxis sind aber häufig Nanomaterialien von Interesse, welche keine kugelförmige Gestalt haben und über eine breite Partikelgrößenverteilung verfügen. Zudem können Effekte auftreten, welche sich auf das Trennverhalten der Partikel auswirken und somit eine Bestimmung anhand der Retentionszeit verfälschen. Eine Überladung des Trennkanals mit Probe, der sterische Effekt (Inversion der Elutionsreihenfolge) und Wechselwirkungen der Partikel mit der Trennmembran sind keine seltenen Phänomene. Zudem konnte festgestellt werden, dass Partikel unterschiedlichen Materials aber mit derselben mittleren Größe zu unterschiedliche Zeiten eluieren. Die chemische Zusammensetzung und die Form von Partikeln kann somit ebenfalls zu einer Verfälschung der Partikelgrößenbestimmung durch bloßes Messen der Retentionszeit führen [104, 127]. Um nach einer erfolgreichen Trennung einzelner Partikelfraktionen mittels AF4 Partikelgrößen dennoch exakt bestimmen zu können, ist eine Kombination der AF4 mit einem nachgeschalteten Detektor sinnvoll. Hierbei finden vor allem Lichtstreuendetektoren Anwendung, mittels derer die Charakterisierung der Probe „online“, d.h. direkt an die AF4 gekoppelt, erfolgen kann. Als eine bewährte Technik hat sich hierbei die Verwendung eines Vielwinkel-Lichtstreuendetektors (MALS), dessen Grundprinzip auf der statischen Lichtstreuung beruht, etabliert. Der Vorteil der Charakterisierung mittels Lichtstreuung liegt dabei allgemein auf der Anwendbarkeit über einen großen Partikelgrößenbereich sowie der Möglichkeit Partikelgrößen absolut, d.h. ohne substanzspezifische Kalibrierung des Systems, zu bestimmen. Die Grundlagen der Wechselwirkung von Licht und Materie, sowie die anhand der Streuung des Lichts abgeleiteten Möglichkeiten zur Partikelgrößenbestimmung sollen im Folgenden näher erläutert werden. Die Grundlagen der Lichtstreuung gehen dabei auf Arbeiten von Einstein [128], Rayleigh [129], Debye [130] und Zimm [131] zurück. Die Anwendbarkeit der statischen Lichtstreuung zur Bestimmung von Partikelgrößen ist dabei ausführlich in den Arbeiten von Podzimek [125], Andersson [132] und Johnson [133] dargestellt, auf deren Darstellungen sich die folgenden Herleitungen beziehen.

Lichtstreuung entsteht als natürliches Phänomen durch die Wechselwirkung von Licht mit Materie. Da Licht eine elektromagnetische Welle ist, d.h. aus einem oszillierenden Feld elektrischer und magnetischer Energie besteht, werden neutrale Teilchen beim Auftreffen von Licht durch dieses angeregt. In dem Teilchen wird hierdurch ein Dipol erzeugt, welcher durch die Schwingung der eingetretenen Strahlung selbst zu oszillieren beginnt. Hierdurch wird das Teilchen selbst zu einer Strahlungsquelle, ähnlich der Dipolwirkung in einer Radioantenne. Die Fähigkeit eines Teilchens (Atom oder Molekül) von einem äußerlichen elektrischen Feld angeregt zu werden, nennt man

Polarisierbarkeit und beschreibt wie leicht sich die Elektronenwolke eines Teilchens durch das elektrische Feld verschieben lässt. Lichtstreuung kann dabei sowohl an Gasen, Flüssigkeiten oder Feststoffen auftreten, wobei die Intensität des gestreuten Lichts von der Wellenlänge des Lichts und dem Abstand der Streuzentren des streuenden Teilchens abhängig ist. Gerade bei Feststoffen kann es bei der Streuung des Lichts an mehreren Streuzentren eines Partikels (oder Moleküls) zu destruktiven Interferenzen kommen, welche die Intensität des insgesamt gestreuten Lichts abschwächen. Bei einem perfekten Kristall beispielsweise, dessen Atome zueinander in einem symmetrischen Abstand angeordnet sind, sind die destruktiven Interferenzen so stark, dass überhaupt kein Licht gestreut werden kann. In der Realität tritt jedoch bedingt durch lokale Inhomogenität und Oberflächenschichten auch an Kristallen Lichtstreuung auf. Dennoch sind die gestreuten Intensitäten von Feststoffen kleiner als die von Flüssigkeiten. Dies liegt daran, dass aufgrund der Brownschen Molekularbewegung die Zahl der Moleküle in einem bestimmten Volumenelement in einer Flüssigkeit mit der Zeit schwankt, wodurch auch die Intensität der gestreuten Strahlung schwankt und durch Interferenzen weniger stark ausgelöscht wird. Um die Intensität der Streustrahlung von Feststoffen in einer Flüssigkeit (z.B. Dispersion von Nanopartikeln) zu bestimmen, muss daher der durch die Partikel verursachte gestreute Überschuss (engl.: „excess scattering“) bestimmt werden. In der Praxis geschieht dies, indem von einer gemessenen Intensität einer partikelhaltigen Probe die gemessene Intensität des entsprechenden Löse-, bzw. Dispergiermittel-Blindwerts abgezogen wird.

Bei der Messung der Lichtstreuung zur Charakterisierung von Partikeln finden im Wesentlichen drei Arten der Lichtstreuung Anwendung, die statische Lichtstreuung (SLS), die dynamische Lichtstreuung (DLS) und die Ramanspektroskopie. Bei der Ramanstreuung weisen einfallendes und gestreutes Licht unterschiedliche Wellenlängen auf. Die Informationen der Ramanspektroskopie dienen vor allem der Strukturaufklärung. Bei der DLS und SLS sind die Wellenlängen des einfallenden und gestreuten Lichts identisch. Mittels DLS werden in einem bestimmten Volumenelement einer Flüssigkeit Schwankungen der Lichtintensität ermittelt. Da diese Schwankung von der Brownschen Molekularbewegung der Teilchen bzw. von der Diffusion der Teilchen verursacht wird, lässt sich anhand der Intensitätsschwankung auf Diffusionskoeffizienten und somit auf hydrodynamische Durchmesser der streuenden Teilchen folgern. Bei der SLS wird im Gegensatz zur DLS nicht die Schwankung der Intensität pro Zeiteinheit ermittelt, sondern die durchschnittliche gestreute Intensität in Abhängigkeit des Streuwinkels bestimmt. Anhand der winkelabhängigen mittleren Streuintensitäten lassen sich das Molekulargewicht und die Molekülgröße in Form des Schwerpunktsradius (in der engl. Literatur als „radius of gyration“,  $r_g$ , bezeichnet) bestimmen. Auf die zugrundeliegenden Gleichungen, anhand derer die Bestimmung des Molekulargewichts und der Partikelgröße erfolgen, sollen im Folgenden näher eingegangen werden.

Der grundlegende Zusammenhang zwischen gestreuter Lichtintensität und Teilchen in einer Lösung/Dispersion lässt sich mittels der Rayleigh-Gleichung ausdrücken:

$$\frac{R_\theta}{Kc} = MP(\theta) - 2A_2M^2P^2(\theta)c + \dots \quad \text{Gleichung 35}$$

Hierbei ist  $R_\theta$  das Rayleigh-Verhältnis,  $c$  ist die Konzentration der Teilchen in der Dispersion,  $M$  ist deren Molekulargewicht,  $A_2$  ist der zweite Virialkoeffizient, welcher die Wechselwirkung der Teilchen mit der umgebenden Lösung beschreibt,  $K$  ist eine optische Konstante und  $P(\theta)$  ist die winkelabhängige Streufunktion. Die obige Gleichung kann noch höhere Terme enthalten (dritter, vierter Virialkoeffizient, usw.), welche aber bei niedrigen Konzentrationen vernachlässigt werden können. Auch der zweite Virialkoeffizient  $A_2$  kann in dieser Arbeit vernachlässigt werden, da bei Messungen mittels AF4 die Probe im Trennkanal durch die notwendigen Volumenströme weiter stark

verdünnt wird [132]. Das Rayleigh-Verhältnis ist direkt abhängig zu dem winkelabhängigen Verhältnis aus der bei  $\theta$  gestreuten Lichtintensität zur Intensität des einfallenden Lichts:

$$R_\theta = \frac{(I_\theta - I_{\theta, \text{Lösemittel}})}{I_0 V} \quad \text{Gleichung 36}$$

$I_\theta$  ist dabei die bei dem Streuwinkel  $\theta$  gemessene Intensität der Dispersion,  $I_{\theta, \text{Lösemittel}}$  die bei  $\theta$  gemessene Intensität des reinen Löse-/Dispergiermittels,  $I_0$  ist die Intensität des einfallenden Lichts,  $V$  ist das Volumen der streuenden Dispersion (bestrahltes Volumen der Messzelle) und  $r$  ist der Abstand der Messzelle vom Detektor. Der Winkel  $\theta$  gibt dabei den Winkel zwischen einfallendem und gestreutem Licht an, wobei  $\theta = 0^\circ$  die Ausbreitungsrichtung des einfallenden Lichts ist. Gleichung 35 ist nur für den Fall gültig, dass das einfallende Licht in vertikaler Richtung polarisiert ist. Für diesen Fall ist die optische Konstante  $K$  definiert als:

$$K = \frac{4\pi^2 n_0^2}{\lambda_0^4 N_A} (dn/dc)^2, \quad \text{Gleichung 37}$$

mit  $n_0$  als Brechungsindex des Lösemittels,  $\lambda_0$  die Wellenlänge des einfallenden Lichts im Vakuum,  $N_A$  ist die Avogadrozahl und  $dn/dc$  das spezifische Brechungsindexinkrement der streuenden Partikel.

Die Streufunktion  $P(\theta)$  wird verwendet, um die gestreuten Intensitäten in Abhängigkeit des Streuwinkels und in Abhängigkeit der Partikelgröße zu beschreiben. Sehr kleine Partikel, welche weniger als  $1/20$  der Wellenlänge des einfallenden Lichts groß sind, verhalten sich wie eine Punktquelle und werden als Isotropstrahler bezeichnet. Diese kleinen Partikel streuen Licht kugelförmig in alle Richtungen mit derselben Intensität, wodurch sich keine Abhängigkeit der Intensität von  $\theta$  mehr ergibt. Für Isotropstrahler ist eine Partikelgrößenbestimmung mittels SLS somit nicht möglich. Bei Partikeln welche größer als  $1/20$  der einfallenden Wellenlänge sind, kann das Phänomen festgestellt werden, dass die gestreute Lichtintensität bei größer werdenden Streuwinkeln abnimmt. Bei größeren Partikeln wird das einfallende Licht von verschiedenen Bereichen des Partikels gestreut, wobei das gestreute Licht in Abhängigkeit des Streuwinkels phasenverschoben ist (

Abbildung 12), wobei die Phasenverschiebung mit zunehmenden Streuwinkeln zunimmt. Durch diese Überlagerung des gestreuten Lichts unterschiedlicher Streuzentren (intramolekulare Interferenz) werden die Intensitäten bei größeren Winkeln abgeschwächt. Für kleine Partikel kann die Streufunktion unabhängig von ihrer Form näherungsweise angegeben werden mit:

$$P(\theta) = 1 - \left( \frac{16\pi^2}{3\lambda^2} \right) (r_g)^2 \sin^2 \left( \frac{\theta}{2} \right) \quad \text{Gleichung 38}$$

Wobei  $\lambda = \lambda_0/n_0$  die Wellenlänge des einfallenden Lichts in dem entsprechenden Lösemittel ist und  $r_g$  der Schwerpunktsradius. In manchen Fällen zeigt sich jedoch, dass ab einer gewissen Partikelgröße auch die Partikelform eine Rolle spielt. In der Praxis zeigt sich dies, wenn anhand obiger Gleichung wiederum keine Winkelabhängigkeit festgestellt werden kann. Für diesen Fall wurden jedoch für einige Partikelformen spezifische Streufunktionen entwickelt. Am relevantesten sind dabei die Streufunktionen für kompakte Kugeln:

$$P(\theta) = \left( \frac{3}{h^3} (\sin h - h \cos h) \right)^2 \quad \text{Gleichung 39}$$

sowie Hohlkugeln:

$$P(\theta) = \left(\frac{\sin h}{h}\right)^2 \quad \text{Gleichung 40}$$

und Knäuel, sogenannten „Random Coils“

$$P(\theta) = \frac{2}{h^4} (e^{-h^2} - 1 + h^2) \quad \text{Gleichung 41}$$

mit

$$h = r \frac{4\pi n}{\lambda} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right) \quad \text{Gleichung 42}$$

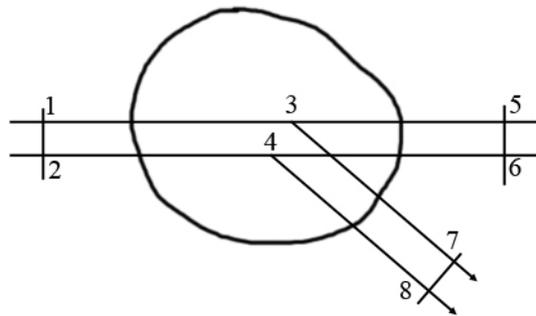
Bei den formspezifischen Streufunktionen für eine Kugel, Hohlkugel und „random coil“ bezieht sich  $r$  dabei auf geometrische Größen. Der Zusammenhang zwischen geometrischer Größe  $r$  und Schwerpunktsradius  $r_g$  lässt sich anhand folgender Gleichungen herstellen:

$$r_g = \sqrt{\frac{3}{5}} r_{Kugel} \quad \text{Gleichung 43}$$

$$r_g = r_{Hohlkugel} \quad \text{Gleichung 44}$$

$$r_g = \sqrt{\frac{1}{6}} r_{Knäuel} \quad \text{Gleichung 45}$$

wobei mit  $r_{Knäuel}$  der Ende-zu-Ende Abstand eines „Random coils“ gemeint ist.



**Abbildung 12: Lichtstreuung an großen Partikeln.** Der Weg 1-3-5 entspricht exakt der Länge von 2-4-6 (keine Streuung,  $\theta = 0^\circ$ ). Der Weg 1-3-7 ist bei gestreuten Strahlen jedoch länger als bei 2-4-8. Diese Phasenverschiebung führt zu destruktiven intramolekularen Interferenzen, welche sich mit zunehmenden Streuwinkel verstärkt (nach [125]).

Anhand der jeweiligen Streufunktionen lassen sich nun Partikelgrößen und Molekularmassen in Abhängigkeit des Streuwinkels bestimmen. Setzt man beispielsweise die allgemeine Streufunktion (Gleichung 38) in die Rayleigh-Gleichung (Gleichung 35) ein (unter Vernachlässigung des zweiten Virialkoeffizienten), erhält man:

$$\frac{R_\theta}{Kc} = M \left(1 - \left(\frac{16\pi^2}{3\lambda^2}\right) \langle r_g \rangle^2 \sin^2\left(\frac{\theta}{2}\right)\right) \quad \text{Gleichung 46}$$

Aus Gleichung 46 wird ersichtlich, dass bei  $\theta = 0^\circ$  (d.h.  $\sin^2(\theta/2) = 0$ ) das Molekulargewicht direkt anhand der gemessenen Streuintensitäten, ausgedrückt durch das Rayleigh-Verhältnis  $R_\theta$ , bestimmt werden kann. Eine Messung von gestreutem Licht ist jedoch bei  $\theta = 0^\circ$  nicht möglich. Die Lösung der obigen Gleichung erfolgt daher, indem Streuintensitäten in Abhängigkeit verschiedener Winkeln gemessen werden und die winkelabhängigen Daten gegen  $\theta = 0^\circ$  extrapoliert werden. Dies lässt sich in

der Praxis anhand eines MALS-Detektors realisieren. Bei einem MALS-Detektor wird eine Messzelle (Durchflusszelle) mit Laserlicht bestrahlt. Um die Messzelle herum sind in bestimmten Winkeln Detektoren angebracht, welche das von der Probe gestreute Licht aufzeichnen.

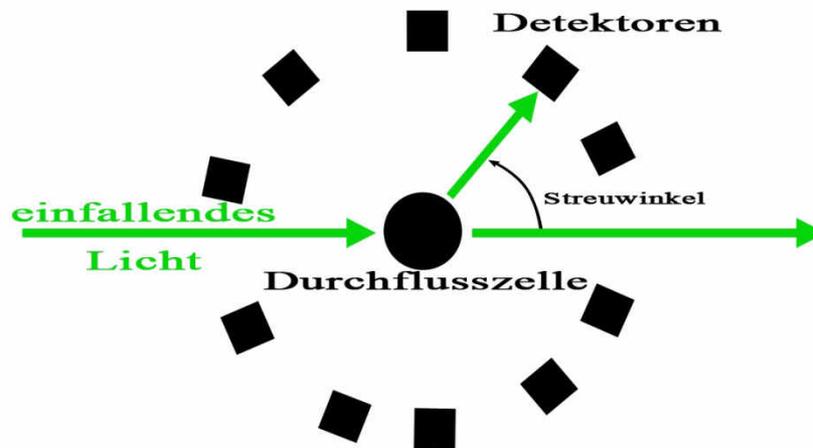
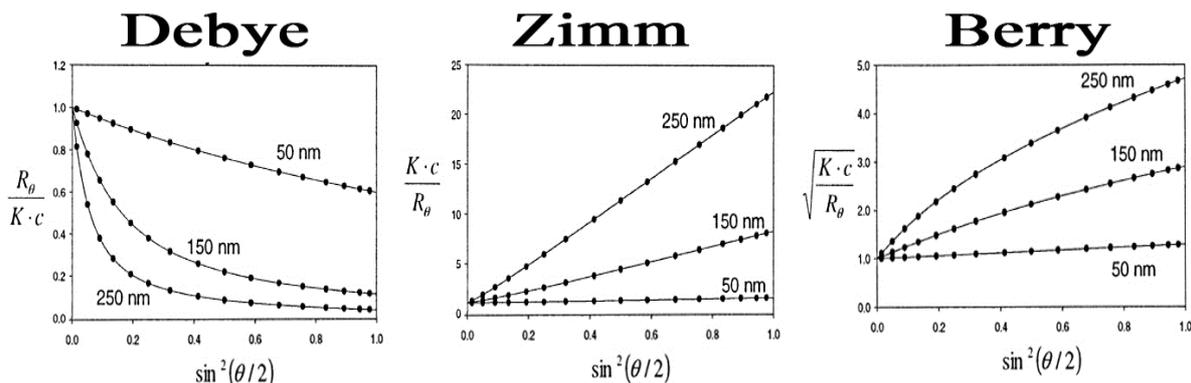


Abbildung 13: Schematischer Aufbau eines Vielwinkel-Lichtstreu (MALS) Detektors.

Trägt man in einem Diagramm die winkelabhängige gestreute Lichtintensität in Form von  $R_{\theta}/Kc$  (Ordinate) gegen den entsprechenden Streuwinkel in Form von  $\sin^2(\theta/2)$  (Abszisse) auf, erhält man den sogenannten Debye-Plot. Durch Extrapolation der Messergebnisse lässt sich nun  $R_{\theta}/Kc$  für  $\sin^2(\theta/2)=0$  durch Extrapolation bestimmen. Für sehr kleine Winkel ist der Verlauf der Datenreihe dabei linear. Aus dem Schnittpunkt der extrapolierten Datenreihe bei  $\theta = 0^\circ$  kann daher das Molekulargewicht direkt abgelesen werden, aus der Steigung der Gerade bei sehr kleinen Winkeln ( $\theta$  gegen  $0^\circ$ ) ergibt sich der Schwerpunktsradius.

Bei der Darstellung des Debye-Plots werden unterschiedliche Methoden unterschieden, bei denen die gemessene Intensität auf verschiedene Arten gegen  $\sin^2(\theta/2)$  aufgetragen werden. Man unterscheidet die Debye-, Zimm- und Berry-Methode. Bei der Debye-Methode werden die Daten wie in Gleichung 46 dargestellt aufgetragen ( $R_{\theta}/Kc$  gegen  $\sin^2(\theta/2)$ ). Bei der Zimm-Methode werden die entsprechenden Kehrwerte ( $Kc/R_{\theta}$  gegen  $\sin^2(\theta/2)$ ) aufgetragen und bei der Berry-Methode werden die Werte in Form der Wurzel aus den Werten der Zimm-Methode ( $(Kc/R_{\theta})^{1/2}$  gegen  $\sin^2(\theta/2)$ ) aufgetragen. Die unterschiedlichen Methoden der Darstellung ermöglichen eine unterschiedliche Gewichtung des Einflusses der Partikelkonzentration auf die einzelnen Streuwinkel. In der Praxis muss die richtige Methode experimentell gewählt werden. Diejenige Methode, welche die geringsten Abweichungen der einzelnen Messpunkte vom Debye-Plot aufweist, ist für die Auswertung bzw. Bestimmung von  $M$  und  $r_g$  am geeignetsten. Bei Abweichungen einzelner Punkte (Intensität an einem bestimmten Winkel) können auch einzelne Winkel aus der Berechnung rausgenommen werden. Da jedoch die Berechnung auf Grundlage der Extrapolation der Daten für  $\theta \rightarrow 0^\circ$  erfolgt, ist es von enormer Bedeutung, dass gerade die kleinen Winkel zu der entsprechenden Auswertemethode passen. Beispiele für die unterschiedlichen Debye-Plots für ein „random coil“ unterschiedlicher Größen ist in Abbildung 14 dargestellt. Die mittels MALS gewonnenen Daten sind dabei identisch, lediglich die Darstellungsart unterscheidet sich.



**Abbildung 14:** Unterschiedliche Methoden der Darstellung von Debye-Plots. Die einzelnen Punkte stellen die an den einzelnen Winkeln des MALS Detektors gemessenen Intensitäten dar (nach [132]).

Anhand des Schnittpunkts mit der Ordinate liefern die einzelnen Methoden das Molekulargewicht in Form von  $M$  (Debye),  $M^{-1}$  (Zimm) und  $M^{-1/2}$  (Berry). Die Steigung  $m_0$  der jeweiligen Geraden bei sehr kleinen Winkeln entspricht dabei  $\partial(R_\theta/Kc)/\partial\sin^2(\theta/2)_{\theta\rightarrow 0^\circ}$  bei der Debye-Methode,  $\partial(Kc/R_\theta)/\partial\sin^2(\theta/2)_{\theta\rightarrow 0^\circ}$  bei der Zimm-Methode und  $\partial(Kc/R_\theta)^{-1/2}/\partial\sin^2(\theta/2)_{\theta\rightarrow 0^\circ}$  bei der Berry-Methode. Unter Verwendung der jeweiligen Steigung lassen sich die jeweiligen Debye-Plots nach  $r_g^2$  auflösen und man erhält

$$r_g^2 = \frac{-3m_0\lambda^2}{16\pi^2 M} \quad \text{Gleichung 47}$$

für die Debye-Methode,

$$r_g^2 = \frac{3m_0\lambda^2 M}{16\pi^2} \quad \text{Gleichung 48}$$

für die Zimm-Methode, bzw.

$$r_g^2 = \frac{3\lambda^2 m_0 \sqrt{M}}{8\pi^2} \quad \text{Gleichung 49}$$

für die Berry-Methode. Der Schwerpunktsradius  $r_g$  ist dabei wie auch der hydrodynamische Radius  $r_h$ , keine exakte geometrische Größe. Bei Nanopartikeln mit einer aggregiertem Struktur oder Knäuel-förmigen Polymeren ist eine Angabe der exakten Partikel-/Polymergröße auch nicht möglich. Anhand des Schwerpunktsradius lässt sich jedoch beschreiben, wie die Masse eines Partikels oder Moleküls, um dessen Schwerpunkt verteilt ist. Man kann sich einen Partikel als einen aus lauter Einzelmassen aufgebautes Objekt vorstellen, bei dem die einzelnen Massen  $m_i$  mit dem Abstand  $r_i$  um den Schwerpunkt des Partikels verteilt sind. Das Quadrat des Schwerpunktsradius ist somit definiert als der mittlere quadratische Abstand der Massen vom Schwerpunkt des Partikels. Man erhält somit den Ausdruck:

$$r_{g,w} = \left( \frac{\sum m_i r_i^2}{\sum m_i} \right)^{\frac{1}{2}} \quad \text{Gleichung 50}$$

Gleichung 50 stellt das Gewichtsmittel des Schwerpunktsradius dar, welches bei monodispersen Systemen gültig ist. Bei polydispersen Systemen fallen Partikel mit einer höheren Molekularmasse stärker ins Gewicht, d.h. sie streuen mehr Licht als kleinere Partikel derselben Konzentration, weshalb in diesem Fall nicht das Gewichtsmittel, sondern das Zentrifugenmittel des Schwerpunktsradius

bestimmt wird. Durch die Verwendung des Zentrifugenmittels wird der Einfluss hochmolekularer Bestandteile berücksichtigt und man erhält:

$$r_{g,z} = \left( \frac{1}{M} \sum w_i M_i r_i^2 \right)^{\frac{1}{2}} \quad \text{Gleichung 51}$$

Hierbei ist  $w_i$  der Anteil der Molekülmasse  $M_i$  an der gesamten Molekülmasse  $M$ .

Ein enormer Vorteil der statischen Lichtstreuung ist, dass der Partikelradius in Form von  $r_g$  rein anhand gemessener Intensitätsunterschiede bei verschiedenen Winkeln ermittelt werden kann. Änderungen in  $dn/dc$  (enthalten in der optischen Konstante  $K$ , vgl. Gleichung 37) wirken sich zwar sowohl auf die Steigung als auch den Schnittpunkt mit der Ordinate eines Debye-Plots und somit direkt auf die Bestimmung des Molekulargewichts aus. Die Bestimmung des Schwerpunktradius ist hiervon jedoch unbeeinträchtigt, da Änderungen in  $M$  und  $m_0$  sich gegenseitig kompensieren. Für die Bestimmung exakter Partikelgrößen ist somit lediglich die Auswahl einer geeigneten Streufunktion entscheidend, während zur Bestimmung von Molekularmassen zusätzliche Parameter wie die konzentrationsabhängige Änderung des Brechungsindex vorab bekannt sein müssen. Für viele Partikel oder Polymere, lassen sich hierzu Daten in der Literatur nachschlagen oder sich mittels geeigneten Detektoren (z.B. Brechungsindex-Detektor) bestimmen.

Aus den hier geschilderten Grundlagen der statischen Lichtstreuung ergeben sich einige Vorteile, welche die Kombination aus AF4 mit einem MALS-Detektor zu einem geeigneten Messsystem zum Nachweis und zur Charakterisierung von Nanomaterialien in dieser Arbeit machen. Die Anforderungen und die Vorteile der statischen Lichtstreuung hinsichtlich der folgenden Migrationsstudien lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- SLS liefert Partikelgrößen unabhängig von der Form der Partikel (ausgedrückt als  $r_g$ ). SLS ist dabei eine absolute Methode, die Bestimmung der Partikelgrößen erfolgt rein auf Unterschieden der winkelabhängigen Streuintensitäten. Daher ist eine Charakterisierung des Nanomaterials unabhängig von anderen System-, bzw. Stoffgrößen ( $dn/dc$ ,  $M$ ) möglich.
- Bei der SLS können zwischen verschiedenen Molekülen/Partikeln in einem Lösemittel Interferenzen auftreten, welche die gestreute Lichtintensität abschwächen. Die hier beschriebenen Gleichungen haben daher nur bei stark verdünnten Lösungen Gültigkeit. Da bei Migrationsmessungen Analysen im Nachweisgrenzenbereich durchgeführt werden, sowie eine starke Verdünnung der Probe im AF4 Kanal erfolgt, können die hier geschilderten Herleitungen in dieser Arbeit verwendet werden.
- Die Intensitäten des gestreuten Lichts hängen neben einstellbaren Parametern des Detektors (z.B. Leistung des Lasers) von der Partikelgröße, dem Molekulargewicht und der Konzentration der Partikel ab. Für ein und dasselbe Nanomaterial (gleiche Partikelgröße sowie gleiches Molekulargewicht) können somit die detektierten Intensitäten bei unterschiedlichen Konzentrationen des Nanomaterials auch zur Quantifizierung der Partikelfraktion im AF4-Fraktogramm verwendet werden.

### 3.3.3 Stabilität von Dispersionen

In der konventionellen Analytik wie Chromatographie oder Massenspektrometrie werden Lösungen, d.h. ein homogenes Gemisch aus Analyt und Lösemittel, untersucht. Nur wenn eine gute Löslichkeit einer Substanz in dem entsprechenden Lösemittel gewährleistet ist, kann ein Nachweis und eine

Quantifizierung des Analyten erfolgen. Bei der Analyse von Nanomaterialien spielen neben der Art (chemische Beschaffenheit) und Menge des Nanomaterials auch die Partikelgröße eine wichtige Rolle. Oftmals ist es nicht möglich das Nanomaterial in seiner reinen Form als Schüttgut wie die Untersuchung eines Pulvers unter dem Mikroskop zu verwenden. Viele Analysen erfordern, dass der Analyt zuvor von einem geeigneten Medium, welches zumeist eine Flüssigkeit ist, aufgenommen wurde. Für Nanomaterialien, welche in ihrer partikulären Form untersucht werden sollen [134], ist ein Lösen des Nanomaterials in einem Lösemittel jedoch unerwünscht, es muss stattdessen in seiner partikulären Form dispergiert vorliegen. Im Gegensatz zu Lösungen sind Dispersionen heterogene Stoffgemische, welche aus einer dispersen Phase (z.B. Nanomaterial) und einem Dispersionsmedium (z.B. Wasser) bestehen. Die disperse Phase liegt dabei in dem Dispersionsmedium fein verteilt vor. Im Falle von Nanomaterialien spricht man auch von einem kolloidalen System. Um Nanomaterialien in einer Flüssigkeit nachweisen, charakterisieren und quantifizieren zu können, ist es von enormer Wichtigkeit, dass die entsprechende Dispersion zudem über einen gewissen Zeitraum hinweg stabil bleibt. Ein kolloidales System kann jedoch durch unterschiedliche chemisch-physikalische Prozesse zerstört werden. Solche Prozesse sind:

- Bilden einer homogenen Lösung durch Auflösung des kolloidalen Systems
- Bilden eines grobdispersen Systems durch Anlagerung von Teilchen (Aggregation, bzw. Agglomeration)
- Gelbildung, d.h. es entsteht ein feindisperses System aus einer festen und einer flüssigen Phase

Ein Auflösen oder Aggregieren der Partikel würde bereits in geringem Maße dazu führen, dass eine unverfälschte Charakterisierung der Partikelgrößen nicht mehr möglich ist, da durch Auflösungs-vorgänge Partikel kleiner, durch Zusammenlagerungen größer werden. Im schlimmsten Fall führt die Zerstörung des kolloidalen Systems dazu, dass das Nanomaterial überhaupt nicht mehr nachgewiesen werden kann. Dies tritt ein, wenn das Nanomaterial vollständig aufgelöst wird (auf seine molekularen Bestandteile). Einzelne Partikel und Aggregate können zudem durch gegenseitige Anlagerung so groß werden, dass sie aussedimentieren und somit analytisch ebenfalls nicht mehr erfasst werden können. Andererseits gibt es chemisch-physikalische Mechanismen, welche die Stabilität eines kolloidalen Systems aufrechterhalten. Ein Auflösen der Partikel kann vermieden werden, indem als Dispersionsmedium eine Flüssigkeit verwendet wird, in welcher der Partikel aufgrund seiner chemischen Zusammensetzung keine Löslichkeit aufweist. Einer Zusammenlagerung dispergierter Partikel kann hingegen auf unterschiedliche Arten entgegengewirkt werden. Die hierzu notwendigen Mechanismen beruhen auf dem Zusammenspiel von attraktiven (sich gegenseitig anziehenden) und repulsiven (sich gegenseitig abstoßenden) Kräften. Diese Wechselwirkungen sind in der Theorie nach Stern sowie in der DLVO-Theorie beschrieben [134, 135].

Die Theorie nach Stern beschreibt die Stabilisierung von oberflächlich geladenen Molekülen aufgrund von elektrostatischer Abstoßung. Dabei werden zwei Modellvorstellungen miteinander verknüpft. Zum einen wird das Modell eines Plattenkondensators (elektrische Doppelschicht) nach Helmholtz berücksichtigt, zum anderen die Theorie der diffusen Doppelschicht nach Gouy und Chapman. Sterns Modellvorstellung besagt, dass in ausreichend kleinem Abstand die Ladungen an der Oberfläche eines Partikels Gegenionen, deren Ladung entgegengesetzt zur Nettooberflächenladung des Partikels ist, aus einer umgebenden elektrolytischen Lösung anziehen und eine relativ feste Schicht bilden, die sogenannte „Helmholtz-Schicht“. Dadurch wird die Oberflächenladung weitestgehend kompensiert. Innerhalb dieser Schicht, die als Plattenkondensator betrachtet werden kann, bildet sich ein starkes

Potential aus, welches mit zunehmendem Abstand von der Helmholtz-Schicht exponentiell abnimmt. Dieses Potential, auch Zeta-Potential genannt, reicht jedoch noch aus, um auf weitere Ionen in der Lösung anziehend bzw. abstoßend zu wirken. Aufgrund des schwachen Potentials außerhalb der Schicht und der Brownschen Molekularbewegung kommt es zu keiner festen Bindung dieser Ionen. Es bildet sich eine diffuse Ladungswolke, in welcher die Ionen frei beweglich sind. Ohne die Einwirkung anderer Partikel kann sich diese Ladungswolke beständig weiter aufbauen, bis das Zeta-Potential gegen Null geht. Nähern sich jedoch zwei Partikel mit einer solchen Ladungswolke an, überlagern sich die jeweiligen Ladungsschichten, wodurch sich wieder ein Potential aufbaut und es zur elektrostatischen Abstoßung kommt.

Die DLVO-Theorie (benannt nach Derjaguin, Landau, Verwey und Overbeek) beschreibt die Stabilität einer Dispersion anhand des Zusammenspiels aus repulsiven, elektrostatischen Kräften einerseits und den attraktiven van-der-Waals-Kräften andererseits. Wie oben beschrieben nimmt das Potential ausgehend von der elektrostatischen Doppelschicht des Partikels mit zunehmendem Abstand vom Partikel ab. Somit ist die Anziehung und Konzentration von Gegenionen in direkter Umgebung zur Teilchenoberfläche maximal. Aufgrund der mit Ladungen angesammelten diffusen Ionenschicht kommt es nun zur elektrostatischen Abstoßung  $G_{el}$  von Partikeln gleicher Ladung und folglich zur Stabilisierung der Dispersion. Dieser Abstoßung wirkt die attraktive van-der-Waals-Kraft  $G_A$  entgegen, welche ebenfalls mit dem Abstand abnimmt. Auf zwei Partikel in einer Dispersion wirken sich diese entgegengesetzten Kräfte überlagernd aus. Die resultierende Gesamtkraft  $G_T$  ( $G_T = G_{el} + G_A$ ) auf zwei sich annähernder Partikel mit dem Abstand  $h$  zueinander lässt sich graphisch darstellen (Abbildung 15). In dem DLVO-Diagramm sind dabei die entgegengesetzt wirkenden Kräfte auf der Ordinate dargestellt. Für Werte mit  $G > 0$  ist die resultierende Gesamtkraft repulsiv, bei  $G < 0$  hingegen attraktiv. Nähern sich zwei Partikel an, d.h. der Abstand  $h$  wird kleiner, wirkt zunächst eine abstoßende Kraft. Das Maximum dieser Kraft ist bei  $G_{max}$  erreicht.  $G_{max}$  hängt dabei vor allem vom Zeta-Potential der Partikel und der Elektrolytkonzentration des Dispersionsmediums ab und stellt eine Art Energiebarriere dar. Durch noch weiteres Annähern der Partikel wird diese Barriere überwunden, d.h. die attraktiven van-der-Waals-Kräfte fallen stärker ins Gewicht als die repulsiven elektrostatischen Kräfte und die Partikel lagern sich aneinander an. Die DLVO-Theorie lässt sich auch auf die hier untersuchten Nanomaterialien, welche als eine kolloidale Dispersion vorliegen, übertragen. Bestimmte in einem Dispersionsmedium enthaltene Ionen können sich an der Oberfläche der dispergierten Partikel anlagern und eine stabilisierende elektrostatische Doppelschicht ausbilden. Ist das Potential dieser Schicht ausreichend hoch, stoßen sich die dispergierten Nanomaterialien gegenseitig ab und verhindern somit ein Koagulieren. Nähern sich die Teilchen jedoch soweit aneinander an, dass die attraktive van-der-Waals-Kraft die elektrostatische Abstoßung überwiegt, verklumpen die einzelnen Teilchen. Weiteres Koagulieren von Teilchen kann dazu führen, dass die aneinander gelagerten Teilchen eine Größe erreichen, ab welcher sie nicht mehr stabil dispergiert sind. Mit zunehmender Partikelgröße reduziert sich die Teilchenbewegung, während sich die auf die Teilchen wirkende Schwerkraft aufgrund der zunehmenden Masse verstärkt. Dadurch sedimentieren die Partikel und lagern sich als Bodensatz im Gefäß ab. Dieses Phänomen tritt dann auf, wenn entweder die Teilchen über genügend Energie verfügen um das elektrische Potential zu überwinden oder wenn sich keine elektrostatische Doppelschicht mehr ausbilden kann. In der Praxis ist dies bei zu hohen Temperaturen der Fall oder wenn im Dispersionsmedium Ionen enthalten sind, welche die elektrostatische Doppelschicht kompensieren. Die Temperatur des Systems als auch die Ionenstärke des Dispersionsmediums sind somit bereits zwei grundlegende Parameter, die es bei der Herstellung von Nanomaterial-Dispersionen zu beachten gilt.

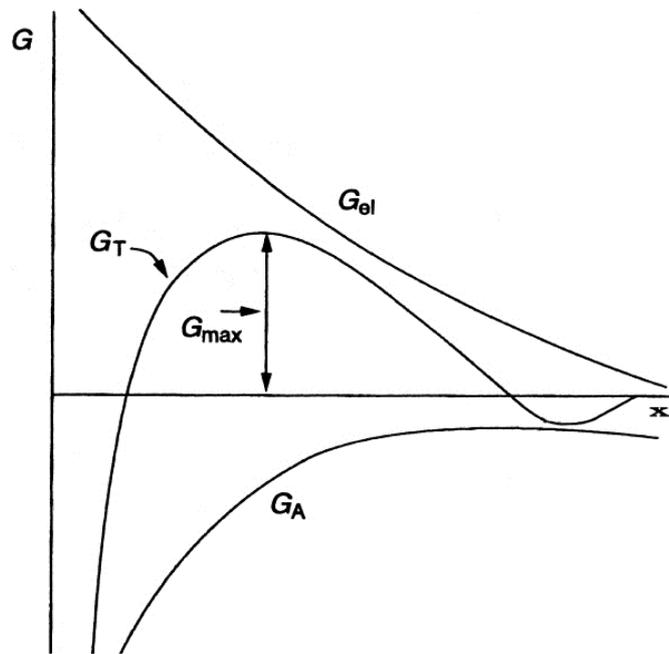


Abbildung 15: Abhängigkeit der gesamten auf zwei Partikel wirkende Kraft ( $G$ ) in Abhängigkeit ihres Abstands  $x$  zueinander. Die Gesamtkurve  $G_T$  entsteht durch Überlagerung attraktiver Kräfte  $G_A$  und repulsiver Kräfte  $G_{el}$ . Am Schnittpunkt der Abszisse mit der Ordinate gilt  $G=0$ . Bei  $G_T > 0$  ist die auf die Partikel wirkende resultierende Kraft repulsiv, bei  $G_T < 0$  ist die resultierende Kraft attraktiv (nach [134]).

Auf Grundlage der DLVO-Theorie lässt sich folglich auch eine weitere Art der Stabilisierung erklären, die sterische Stabilisierung. Hierbei werden langkettige Moleküle an die Oberfläche des Partikels gebunden, welche als eine Art Abstandshalter wirken. Diese Ketten bewirken, dass sich Partikel nicht mehr beliebig nahe annähern können, wodurch der in der DLVO-Theorie beschriebene kritische Abstand nicht erreicht werden kann und somit eine Anlagerung von Partikeln vermieden wird.

Anhand der beschriebenen Mechanismen wird ersichtlich, dass sowohl die Partikeleigenschaften (z.B. Oberfläche und Oberflächenladung) und die umgebende Matrix erheblichen Einfluss auf die Stabilität von Dispersionen nehmen. Auch die Temperatur des Systems spielt eine entscheidende Rolle, da sich höhere Temperaturen auf das Auflösen der Partikel aber auch auf die Diffusion und somit auf das Annähern der Teilchen direkt auswirken. Die Stabilität eines kolloidalen Systems lässt sich jedoch durch Einstellen gewisser Parameter optimieren. So kann beispielsweise durch Einstellen der Temperatur, der Viskosität, der Elektrolytkonzentration (Ionenstärke) und des pH-Werts das Dispersionsmedium an das entsprechende Nanomaterial angepasst werden. Eine Zugabe von Additiven wie Tenside kann zudem einerseits eine bessere Benetzbarkeit des Nanomaterials mit dem Dispersionsmedium bewirken, andererseits können hierdurch Wechselwirkungen zwischen einzelnen Partikeln minimiert werden, indem beispielsweise Oberflächenladungen kompensiert werden oder durch Anreicherung mit langkettigen Molekülen eine sterische Stabilisierung ermöglicht wird [136-140].

Die hier aufgeführten Kriterien sind in Hinblick auf analytische Methoden zur Charakterisierung von Nanomaterialien und insbesondere zur Detektion und Quantifizierung von Nanomaterialien in Migrationsversuchen als fundamental zu betrachten. Die Kenntnis über Wechselwirkungen zwischen Dispersionsmedium und Nanomaterial kann entscheidenden Einfluss auf die richtige Interpretation von Ergebnissen nehmen. Dieser Aspekt soll im Zusammenhang der Ergebnisse dieser Arbeit und der Studien aus der Literatur später nochmal aufgegriffen werden.

## 4 Material und Methoden

### 4.1 Referenz-Nanomaterialien

Die Anzahl an Substanzen, welche aufgrund ihrer Morphologie als Nanomaterial definiert werden, ist immens. Das Ziel dieser Arbeit war es daher, anhand von Untersuchungen ausgewählter Nanomaterialien das Migrationspotential dieser Substanzen unter praxisrelevanten Bedingungen möglichst allgemein zu erfassen. Hierfür wurden einerseits Substanzen ausgewählt, welche bereits seit geraumer Zeit als Polymeradditive Anwendung finden, jedoch nicht unter dem Aspekt eines Nanomaterials bewertet wurden. Andererseits wurden gezielt Substanzen gewählt, welche aufgrund ihrer partikulären Struktur (Partikelgröße sowie Morphologie einzelner Partikel und Aggregate) im Vergleich zu anderen Nanomaterialien eine hohe Mobilität in einer Polymermatrix erwarten lassen. Durch eine geeignete Auswahl an Nanomaterialien ist es somit möglich, sowohl Nanokomposite zu untersuchen, welche eine hohe Relevanz für die Praxis haben, als auch solche, welche zwar (noch) keine Anwendung als Lebensmittelverpackung finden, aber hinsichtlich des Migrationspotentials von Nanomaterialien einen „worst-case“ darstellen. Zudem wurde der Fokus bei der Auswahl der Nanomaterialien auf solche Substanzen gelegt, welche einen Nachweis der Substanz in Migrationsversuchen auch im Spurenbereich ermöglichen.

Im Folgenden werden die für diese Studie verwendeten Nanomaterialien, sowie die für die Betrachtung und Diskussion der Ergebnisse dieser Arbeit relevanten Informationen über Herstellung, substanzspezifischer Eigenschaften und Anwendung des entsprechenden Nanomaterials in Lebensmittelverpackungen aus Kunststoffen zusammengefasst.

#### 4.1.1 Synthetisches amorphes Siliciumdioxid (SAS)

##### 4.1.1.1 Allgemeine Informationen zu SAS

SAS wird in Form eines weißen Pulvers oder als kolloidale Dispersion in vielen industriellen Anwendungen eingesetzt. SAS wird dabei in Kunststoffen überwiegend zur Verbesserung der thermischen und mechanischen Belastbarkeit, zur Verbesserung der Barriere-Eigenschaften, als UV-Schutz sowie als Produktionshilfsmittel, Mattierungsmittel und Färbemittel des Polymers verwendet [50, 141, 142]. Der Grundbaustein von SAS ist Siliciumdioxid, auch Silica genannt, welches als natürlicher Hauptbestandteil der Erdkruste überall auf der Erde vorkommt. Silica existiert dabei in verschiedenen Formen, welche sich grundlegend in amorphe und kristalline Formen unterscheiden lassen (Abbildung 16). Neben natürlich vorkommenden Formen (z.B. als Kieselgur) entsteht amorphes Silica bei der Herstellung von reinem Silicium und Ferrosilicium-Legierungen als Nebenprodukt. Industriell wird jedoch ausschließlich die synthetische Form des amorphen Silicas, SAS, als Polymeradditiv genutzt. Hierbei lassen sich wiederum bedingt durch den Herstellungsprozess und anschließender Produktverarbeitung pyrogenes Silica (thermischer Prozess), Fällungs-Silica („nasser“ Prozess), kolloidales Silica („nasser“ Prozess) und Silica-Gel („nasser“ Prozess) voneinander unterscheiden. Letzteres hat als Polymeradditive jedoch keine Bedeutung. SAS entsteht durch eine chemische Reaktion reaktiver Silizium-Vorläufer (Siliciumtetrachlorid oder Natriumsilicate).

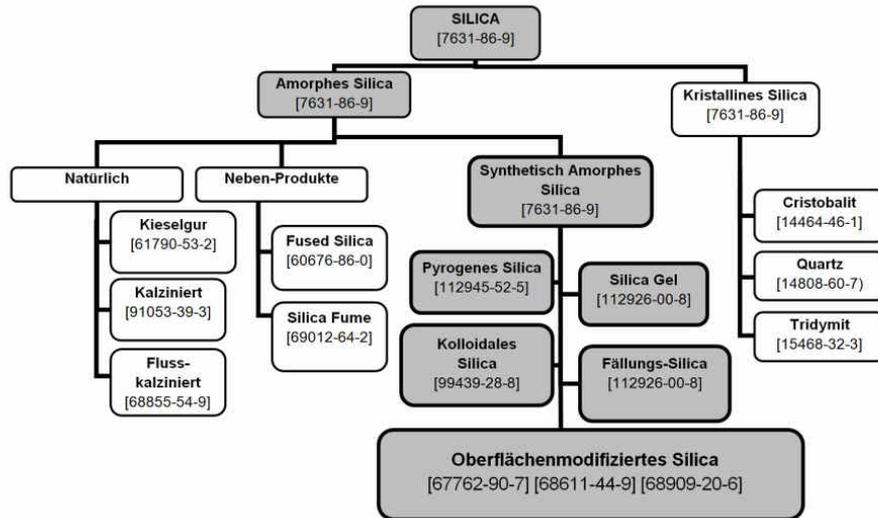


Abbildung 16: Übersicht über unterschiedliche Formen von Siliciumdioxid (Silica). Die Nummern sind die jeweiligen CAS-Nummern.

Durch Nukleation, Koagulierung und Koaleszenz entstehen in einem ersten Produktionsschritt Primärpartikel mit Durchmessern von typischerweise unter 100 nm. Durch kovalente Bindungen lagern sich im Falle der pyrogenen und der Fällungs-SAS einzelne Primärpartikel zu Aggregaten zusammen, welche im Größenbereich von 100 nm bis mehrere Mikrometer liegen. Innerhalb einer Aggregatsstruktur weisen die Primärpartikel zueinander keine physikalischen Grenzen mehr auf, sie sind fest miteinander verschmolzen. Einzelne Aggregate können wiederum durch schwächere Kräfte, wie van-der-Waals Kräfte, oder Wasserstoffbrückenbindungen, miteinander wechselwirken und sich zu größeren, aber lockereren Verbänden aneinanderlagern, den Agglomeraten. Pyrogenes und Fällungs-SAS wird als Pulver auf den Markt gebracht und liegt somit in Form von Agglomeraten im oberen Mikrometerbereich vor. Kolloidales SAS hingegen wird als Dispersion vermarktet. Die Besonderheit von kolloidalem SAS ist, dass das Wachstum der Primärpartikel im Herstellungsprozess gezielt gesteuert wird. Durch die Kontrolle bestimmter Parameter (Zeit, Temperatur, pH-Wert und die Zugabe von Additiven) lässt sich das Wachstum der Primärpartikel steuern und auch stoppen. Durch Beeinflussung der Oberflächenladung der Primärpartikel wird ein anschließendes Aggregieren und Agglomerieren einzelner Partikel verhindert. Kolloidale SAS wird folglich als Dispersion sphärischer Primärpartikel mit Durchmessern von etwa 4 bis 100 nm auf den Markt gebracht.

Die große Anzahl an Primärpartikeln in einem SAS-Aggregat bedingt eine enorme Oberfläche im Vergleich zum Volumen des Aggregats. Durch zusätzlich an der Oberfläche gebundene Silanol-Gruppen (Si-O-H) lässt sich SAS sehr gut mit Wasser benetzen, SAS ist somit hydrophil. Durch Deaktivierung der oberflächlichen Silanol-Gruppen mit Organosilicium-Verbindungen lässt sich SAS jedoch auch mit hydrophoben Oberflächen herstellen. Zur hydrophoben Modifizierung werden am häufigsten folgende Organosilicium-Verbindungen eingesetzt:

- Hexamethyldisilazan (HMDZ):  $\text{Si-O-Si}(\text{CH}_3)_3$
- Dimethyldichlorsilan (DDS):  $\text{Si-O}[\text{Si}(\text{CH}_3)_2\text{-O}]_x$ , mit  $x = 1$  bis  $3$
- Polydimethylsiloxan (PDMS):  $\text{Si-O}[\text{Si}(\text{CH}_3)_2\text{-O}]_x$  mit  $x = 3$  bis  $6$

Die jeweiligen Organosilicium-Verbindungen unterscheiden sich dabei nach ihrer Zahl funktioneller Gruppen. DDS und PDMS weisen nach Hydrolyse bi-funktionelle Gruppen auf, HMDZ hingegen nur eine funktionelle Gruppe. Die Modifikation der Oberfläche von SAS

wirkt sich auf die Benetzbarkeit mit unterschiedlichen Lösemitteln aus, nicht jedoch auf die Partikelgröße (Aggregatsgröße).

#### 4.1.1.2 Verwendete SAS-Typen und grundlegende Informationen des Herstellers

Im Rahmen dieser Arbeit sollen die Ergebnisse zu Untersuchungen unterschiedlicher SAS-Typen präsentiert werden. Um den Einfluss unterschiedlicher SAS-Strukturen sowie unterschiedlicher Oberflächenmodifikationen zu erfassen, wurden folgende vier SAS-Typen untersucht:

- SAS (pyrogen) modifiziert mit HMDZ (hydrophob)
- SAS (pyrogen) modifiziert mit PDMS (hydrophob)
- Fällungs-SAS ohne Oberflächenmodifizierung (hydrophil)
- Kolloidales SAS (hydrophil)

Einen Überblick über substanzspezifische Eigenschaften sowie Hersteller und Handelsnamen sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

**Tabelle 3: Verwendete SAS-Typen und vorhandene Herstellerangaben**

	SAS-HMDZ	SAS-PDMS	Fällungs-SAS	Kolloidales SAS
Handelsname	AEROSIL® R812S	AEROSIL® R202	SIPERNAT® 22S	LUDOX® HS-30
Hersteller	Evonik Hanau-Wolfgang Deutschland	Evonik Hanau-Wolfgang Deutschland	Evonik Hanau-Wolfgang Deutschland	Grace Worms Deutschland
Auslieferungsform	Pulver aus SAS-Agglomeraten	Pulver aus SAS-Agglomeraten	Pulver aus SAS-Agglomeraten	Dispersion primärer SAS-Partikel
Durchschnittliche Partikelgröße	Keine Angabe	Keine Angabe	13,5 µm (Agglomerate)	12 nm (Primärpartikel)
Spezifische Oberfläche	220±25 m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup>	100±20 m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup>	190 m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup>	230 m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup>

#### 4.1.2 Titanitrid (TiN)

##### 4.1.2.1 Allgemeine Informationen zu TiN

Nanoskaliges Titanitrid (TiN) wird als „Reheat“-Additiv bei der Herstellung von Polyethylenterephthalat-Flaschen (PET) eingesetzt. Es dient der schnelleren Hitzaufnahme zum Erweichen des PET beim Streckblasen der Flaschen aus den „Preforms“. Das verwendete Titanitrid weist üblicherweise eine Primärpartikelgröße von < 20 nm auf und wird als Dispersion an PET Granulat-Hersteller verkauft, die diese Dispersion während der Polymerisation des PET zusetzen. Eine Sicherheitsbewertung von nanoskaligen TiN Partikeln wurde bereits durch die EFSA durchgeführt. Hierbei wurde TiN mit einer Konzentration von 20 mg kg<sup>-1</sup> in PET-Flaschen eingesetzt und Migrationsprüfungen unterzogen. Die EFSA folgerte aus den Ergebnissen, dass es zu keiner Exposition des Verbrauchers gegenüber TiN Partikeln kommen wird, wenn TiN in PET-Flaschen eingesetzt wird. Wie bereits in Kapitel 3.1.3 beschrieben ist TiN daher bereits in der Positivliste der EU-Verordnung

Nr. 10/2011 unter folgender Spezifikation gelistet: „Keine Migration von Titanitrid-Nanopartikeln. Nur zur Verwendung bei PET-Flaschen bis zu 20 mg kg<sup>-1</sup>. Primärpartikel mit einer Größe von etwa 20 nm. Im PET Agglomerate mit einem Durchmesser von 100-500 nm, bestehend aus Titanitrid-Nanopartikeln.“

#### 4.1.2.1 Verwendetes TiN-Nanomaterial und grundlegende Informationen des Herstellers

Das Ziel der Untersuchungen dieser Arbeit war es, Migrationsversuche an TiN-Nanokompositen durchzuführen, wobei das TiN Nanomaterial in eine Polymermatrix mit einer höheren Diffusivität als PET eingearbeitet werden soll. Hierzu wurde TiN als Dispersion in Weißöl mit einer Konzentration von 8 % TiN zur Verfügung gestellt. Zusätzlich wurde ein reines TiN-Pulver als Referenzmaterial bereitgestellt.

**Tabelle 4: Verwendetes TiN und vorhandene Herstellerangaben**

	<b>TiN „Dispersion“ (8 % TiN in Weißöl)</b>	<b>TiN „Pulver“</b>
Hersteller	Colormatrix Knowsley England	PlasmaChem Berlin Deutschland
Herstellerangaben	„Entspricht der Spezifikation zur Anwendung in PET“: Primärpartikel ca.: 20 nm Aggregate ca. 100 – 500 nm	Durchschnittliche (Primär-) Partikelgröße ca. 20 nm und 50 nm

#### 4.1.3 Kohlenstoffschwarz (CB)

##### 4.1.3.1 Allgemeine Informationen zu CB

CB wird überwiegend als Farbpigment, Füllstoff und Additiv verwendet. In Lebensmittelkontaktmaterialien wird CB zur Färbung, bzw. Tönung, sowie als UV-Schutz und Additiv zur Einstellung der elektrischen Leitfähigkeit eingesetzt. CB wird durch unvollständige Verbrennung von Kohlenwasserstoffen gewonnen. Es existieren unterschiedliche Methoden CB herzustellen, wobei der sogenannten “furnace-black” Prozess, welcher ein thermisch-oxidativer Prozess ist, am geläufigsten ist. Hierbei werden schwerflüchtige aromatische Kohlenwasserstoffe als Rohmaterial eingesetzt und in einem heißen Gasstrom, welcher leichtflüchtige Kohlenwasserstoffe als Brennmaterial nutzt, aufgebrochen. Die schweren Kohlenwasserstoffe werden in einer 1350 – 1700 °C heißen Flamme verdampft und in der Gasphase durch Pyrolyse gespalten. Durch Abkühlen des Reaktors, z.B. durch Einsprühen von Wasser, bilden sich einzelne CB Partikel. Dieser Prozess lässt sich durch Kontrolle der Reaktionstemperatur, des Systemdrucks und des Zeitpunkts der Abkühlung steuern, wodurch gezielt bestimmte Partikelgrößen hergestellt werden können. Ähnlich wie beim Herstellungsprozess von pyrogener SAS (siehe 4.1.1.1) entstehen zunächst Primärpartikel, welche jedoch durch Koaleszenz mit weiteren Partikeln zu größeren Aggregaten verschmelzen. Mehrere Aggregate lagern sich durch schwächere Wechselwirkungen wiederum zu noch größeren Agglomeraten zusammen, als welche CB in Form eines schwarzen Pulvers auf den Markt gebracht wird. CB für Anwendungen in Lebensmittelkontaktmaterialien weist kugelähnliche Primärpartikel mit Durchmessern von etwa 10 bis 80 nm auf, welche zu Aggregaten von 100 bis 800 nm verschmolzen sind. CB-Agglomerate erreichen Agglomeratsgrößen im oberen Mikrometer- bis Millimeterbereich. Wie in Kapitel 3.1.3 geschildert ist auch CB unter Eingrenzung bestimmter Spezifikationen als Additiv zur Verwendung in

Lebensmittelkontaktmaterialien aus Kunststoffen zugelassen. CB wird seit Jahrzehnten als Kunststoffadditiv und Pigment eingesetzt. Die damalige Sicherheitsbewertung von CB erfolgte jedoch nicht unter Fokussierung auf die nanospezifischen Eigenschaften von CB [53, 143-146].

#### 4.1.3.2 Verwendete CB-Typen und grundlegende Informationen des Herstellers

Je nach Herstellungsprozess und den verwendeten Prozessbedingungen lassen sich eine Reihe unterschiedlicher CB-Typen herstellen. Für diese Arbeit wurden vom Hersteller zwei CB-Typen zur Anwendung als Additiv in Lebensmittelkontaktmaterialien aus Kunststoffen zur Verfügung gestellt. Die verwendeten CB-Typen wurden mittels des oben beschriebenen „furnace-Black“ Prozesses hergestellt und entsprechen dem sogenannten Typ „medium colour furncae“. Beide CB Typen haben dabei dieselbe Primärpartikelgröße, unterscheiden sich jedoch hinsichtlich ihres strukturellen Aufbaus. Die Aggregate bestehen hierbei aus Ketten fest verschmolzener CB-Primärpartikel, welche je nach CB-Typ unterschiedlich stark verzweigt sind. CB mit einer hohen Anzahl an Verzweigungen wird als „hoch strukturiertes“ Material bezeichnet, CB mit nur wenigen Verzweigungen als „niedrig strukturiertes“ Material.

**Tabelle 5: Verwendete CB-Typen und vorhandene Herstellerangaben**

	<b>Printex® 80</b>	<b>Printex® 85</b>
Hersteller	Orion Frankfurt am Main Deutschland	Orion Frankfurt am Main Deutschland
Auslieferungsform	Schwarzes Pulver aus CB-Agglomeraten	Schwarzes Pulver aus CB-Agglomeraten
Durchschnittliche Partikelgröße	16 nm (Primärpartikel)	16 nm (Primärpartikel)
Spezifische Oberfläche	200 m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup>	220 m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup>
Ölabsorptionsnummer	105 ml (100g) <sup>-1</sup>	54 ml (100g) <sup>-1</sup>
Struktur	„hoch strukturiert“	„niedrig strukturiert“

#### 4.1.4 Laponite

Laponite sind synthetisch hergestellte kolloidale Schichtsilikate, welche aus gestapelten Plättchen bestehen. Im Vergleich zu natürlichen Schichtsilikaten, wie Bentonite (siehe 3.1.2.1), weisen Laponite deutlich kleinere Dimensionen auf. Während die Schichtdicke einzelner Plättchen ebenfalls 1 nm beträgt, weisen Laponite in ihrer Längs- und Querausdehnung Durchmesser von nur etwa 25 nm auf, während bei natürlich vorkommenden Schichtsilikaten Durchmesser von mehreren Mikrometern erreicht werden. Laponite werden überwiegend als Filmbildner oder als Additiv zum Einstellen des rheologischen Verhaltens von Flüssigkeiten/Dispersionen verwendet. In Konsumgütern werden Laponite zur Verbesserung der Suspensionsstabilität (z.B. in Reinigungsprodukten) und zum Einstellen des Fließverhaltens (z.B. in Zahnpasta) eingesetzt. Bei der Herstellung von Polymeren und Papier werden Laponite eingesetzt, um antistatische Oberfläche zu erzeugen oder im Falle eines Nanokomposits die Barrierewirkung gegenüber Sauerstoff zu erhöhen [147]. Bei der Herstellung werden in einem Reaktor Natrium-, Magnesium- und Lithiumsalze mit Natriumsilicaten unter

definierten Mischungsverhältnissen und Prozesstemperaturen vermischt, wodurch ein amorpher Niederschlag entsteht, welcher durch eine anschließende Hochtemperaturbehandlung teilweise kristallisiert. Das hieraus entstehende Produkt wird noch gewaschen, gefiltert, getrocknet und zu einem feinen weißen Pulver vermahlen. Laponite bilden dabei dieselbe 2:1 „Sandwich“-Struktur aus Tetraedern und Oktaedern aus, wie sie bereits von den natürlich vorkommenden Schichtsilikaten bekannt ist. Laponite sind grundsätzlich hydrophil, lassen sich jedoch durch Oberflächenmodifikation hydrophobieren [148].

#### 4.1.2.2 Verwendetes Laponite und grundlegende Informationen des Herstellers

Für diese Arbeit wurde das organophile, hydrophobe Laponite-Material RXG7308 von BYK Additives (Moosburg, Deutschland) zur Verfügung gestellt. Hierbei handelte es sich um ein weißes Pulver, welches laut Hersteller aus zu Stapeln zusammengelagerten Laponite-Plättchen von 1 nm Schichtstärke und 25 nm im Durchmesser besteht.

#### 4.1.5 Silber-Nanopartikel

##### 4.1.5.1 Allgemeine Informationen zu Silber-Nanopartikeln

Silber-Nanopartikel sind sehr feine Partikel aus elementarem Silber. Üblicherweise werden sie nach dem sogenannten „bottom-up“ Prinzip durch Reduktion positiv geladener Silberionen in einer wässrigen Lösung zu elementarem Silber hergestellt. In der wässrigen Lösung wachsen die Silberpartikel durch Koaleszenz einzelner Silberatome beständig an, wobei das Wachstum durch die Zugabe von Stabilisatoren kontrolliert werden kann. Hierdurch lassen sich sphärische Nanopartikel definierter Größe herstellen [149, 150]. Silber-Nanopartikel werden hauptsächlich als antimikrobiell wirksames Additiv verwendet, da Silber bereits seit geraumer Zeit für seine effektive Wirkung gegen Mikroben bekannt ist. Die Wirkung von Silber beruht dabei jedoch eher auf der Toxizität freier Silberionen als auf der von elementarem Silber selbst. Die hohe Effizienz von Silber-Nanopartikeln wird daher dem im Vergleich zu konventionellem Silber enorm vergrößerten Verhältnis aus Oberfläche zu Volumen der nanoskaligen Partikel zugeschrieben, welche somit ein höheres Potential, haben Silberionen freizusetzen [23, 69, 71, 151-155]. Aufgrund dieser hohen antimikrobiellen Effizienz werden Silber-Nanopartikel in medizinischen Produkten, Kühlschränken, Textilien und Kosmetika eingesetzt [156]. Die Anwendung von Silber-Nanopartikeln bei Lebensmittelverpackungen gilt ebenfalls als vielversprechend. Von Nanokompositen, bestehend aus einem Verpackungspolymer und Silber-Nanopartikeln, erhofft man sich eine höhere mikrobielle Stabilität des verpackten Lebensmittels durch die Abgabe von Silberionen auf das Lebensmittel, wodurch eine längere Haltbarkeit des Produkts bezweckt werden soll [8, 11, 60, 64].

Nanosilber zählt zu den Nanomaterialien, welche zur Anwendung als Nanokomposite für Lebensmittelverpackungen am häufigsten untersucht wurden. Dennoch ist nanoskaliges Silber bis heute nicht in der Positiv-Liste der EU Verordnung 10/2011 als zugelassenes Additiv gelistet.

##### 4.1.5.1 Verwendete Silbernanopartikel und grundlegende Informationen des Herstellers

Das zur Herstellung von Silber-Nanokompositen verwendete Material (siehe Kapitel 4.2.5), stand nicht in Form eines Pulvers oder einer Dispersion als Referenzmaterial zur Verfügung, sondern lediglich als Nanosilber-Polymer Masterbatch. In Anlehnung an die Spezifikationen der Silber-Nanopartikel wurde daher zur Methodenentwicklung die Silber-Nanopartikel Dispersion PL-Ag-S10-1mg von PlasmaChem (Berlin, Deutschland) eingesetzt. Diese Dispersion enthielt kolloidales Silber in

Form von 10 nm großen Silberpartikeln bei einer Konzentration von  $100 \text{ mg l}^{-1}$  in einer stabilisierten wässrigen Lösung.

#### 4.2 Auswahl und Herstellung der Nanokomposite

Neben der Auswahl der Nanomaterialien, nehmen auch die Konzentration des Nanomaterials im Nanokomposit und die zugrunde liegende Polymermatrix einen erheblichen Einfluss auf das Diffusionsverhalten des Analyten (vgl. Kapitel 3.2). Ziel bei der Auswahl und Herstellung der Nanokomposite war es, sowohl Materialien zu untersuchen, wie sie in der Praxis Anwendung finden, als auch solche zu verwenden, welche hinsichtlich der Eigenschaften des Polymers und des Nanomaterials einen „worst-case“ bezüglich der Migration von Nanomaterialien darstellen. Die für die Migrationsprüfungen verwendeten Folien mit den zuvor gelisteten Nanomaterialien stammten zum Teil aus industriellen Untersuchungsaufträgen und wurden als fertige Prüfmuster zur Verfügung gestellt. Im Falle von Titanitrid, Silber und Laponite wurden die Folien in Eigenproduktion am Fraunhofer IVV hergestellt. Bei allen Folien standen unterschiedliche Konzentrationen des entsprechenden Nanomaterials zur Verfügung. Dies diente dazu, um im Falle eines positiven Befunds in den Migrationsmessungen eine konzentrationsabhängige Korrelation (Ficksche Diffusion) zu den gemessenen Werten erstellen zu können. Bei den SAS-HMDZ, SAS-PDMS und kolloidalen SAS Mustern stand im Rahmen der Studie nur eine einzige Konzentration des Nanomaterials im Polymer zur Verfügung. Diese entsprach jedoch jeweils einer Menge des Nanomaterials in dem Prüfmuster, welche die Konzentration in praxisrelevanten Anwendungen überschreitet.

##### 4.2.1 SAS-Nanokomposite

SAS-Nanokomposite wurden von Evonik Industries AG (Hanau-Wolfgang, Deutschland) und Grace Europe Holding GmbH (Worms, Deutschland) hergestellt und für die Messungen am Fraunhofer IVV zur Verfügung gestellt. Das jeweilige Nanomaterial wurde durch Extrusion zu SAS/PE-LD-Nanokompositen in Form von dünnen Folien verarbeitet. Ein Überblick über die jeweiligen SAS-Muster ist in Tabelle 6 dargestellt.

**Tabelle 6: Eigenschaften der SAS-Nanokomposite**

	SAS-HMDZ	SAS-PDMS	Fällungs-SAS	Kolloidales SAS
Hersteller	Evonik	Evonik	Evonik	Grace
Polymer	PE-LD (Lupolen 3020K, Lyondell Basell)	PE-LD (Lupolen 3020K, Lyondell Basell)	PE-LD (Lupolen 3020K, Lyondell Basell)	PE-LD (Lupolen 3020K, Lyondell Basell)
Folienstärke [ $\mu\text{m}$ ]	60	60	60	25
SiO <sub>2</sub> im Polymer [% w/w]	3,0 0,0 (PE-LD Referenz)	3,0 0,0 (PE-LD Referenz)	0,5 / 1,0 / 3,0 0,0 (PE-LD Referenz)	0,9 0,0 (PE-LD Referenz)

##### 4.2.2 TiN-Nanokomposite

Nanokomposite aus TiN und PE-LD wurden in Eigenproduktion am Fraunhofer IVV hergestellt. Die von Colormatrix (Knowsley, England) zur Verfügung gestellte TiN-Dispersion wurde zunächst mit PE-LD Granulat vermengt und mittels Compoundierung zu einem homogenen Masterbatch verarbeitet. Durch weiteres Mischen des Masterbatches mit PE-LD Rohgranulat wurden im Anschluss

Folien mit unterschiedlichen Konzentrationen an TiN mittels Extrusion hergestellt. Die Herstellung und Kenndaten der Folien sind in Tabelle 7 zusammengefasst.

**Tabelle 7: Herstellung (in Eigenproduktion) und Eigenschaften der TiN-Nanokomposite**

Masterbatch-Herstellung	Vermengen der TiN Dispersion mit PE-LD und mehrmaliges Compoundieren in einem Collin Doppelschneckenextruder (Collin ZK25, Dr. Collin GmbH, Deutschland)
Folien-Herstellung	Verdünnen des Masterbatches mit PE-LD und Extrusion zu Folien mittels Collin Flachfolienanlage (Collin CR72-190, Dr. Collin GmbH, Deutschland)
Polymermatrix	PE-LD (Lupolen 1806H, Lyondell Basell)
Folienstärke [ $\mu\text{m}$ ]	60
TiN-Konzentration (nominell) im Polymer [ $\text{mg kg}^{-1}$ ]	100 / 500 / 1000 0 (PE-LD Referenz)

#### 4.2.3 CB-Nanokomposite

Die Herstellung der CB-Nanokomposite erfolgte durch die Orion Engineered Carbons GmbH (Frankfurt am Main, Deutschland). Hierbei wurden für diese Arbeit Nanokomposite mit zwei unterschiedlichen CB-Typen und zwei unterschiedlichen Polymeren zur Verfügung gestellt. Alle Nanokomposite wurden zu Platten der Größe 90 mm x 60 mm x 3 mm mittels Spritzgussverfahren verarbeitet. Die Eigenschaften der CB-Nanokomposite sind in Tabelle 8 dargestellt.

**Tabelle 8: Eigenschaften der CB-Nanokomposite**

	<b>Printex® 80</b>		<b>Printex® 85</b>	
	PE-LD (Icorene N 2105, ICO Polymers)	PS (Polystyrol 143 E, BASF SE)	PE-LD (Icorene N 2105, ICO Polymers)	PS (Polystyrol 143 E, BASF SE)
Polymermatrix				
Materialstärke [mm]	3	3	3	3
Konzentration bzgl. CB im Polymer [ $\text{mg kg}^{-1}$ ]	25000 / 50000 0 (PE-LD Referenz)	25000 / 50000 0 (PS Referenz)	25000 / 50000	25000 / 50000

#### 4.2.4 Laponite-Nanokomposite

Neben der pulverförmigen Laponite RXG7308 Probe wurde von BYK Additives GmbH (Moosburg, Deutschland) ebenfalls ein Masterbatch aus Ethylvinylacetat-Copolymer (EVA, 26 % Vinylacetat) und desselben Laponite-Typs zur Verfügung gestellt. Das Masterbatch (SO 9015), welches 11 % Laponite enthielt, wurde zur Produktion der Nanokomposit-Folien in Eigenproduktion verwendet. Der Herstellungsprozess und die Materialeigenschaften sind in Tabelle 9 zusammengefasst.

**Tabelle 9: Herstellung und Eigenschaften der Laponite-Nanokomposite**

Compound-Herstellung	Mischen des SO 9015 Masterbatch mit EVA-Granulat und sechsmaliges Compoundieren in einem Collin Doppelschneckenextruder (Collin ZK25, Dr. Collin GmbH, Deutschland) zu einem Compound mit 10 % Laponite im Polymer
Folienherstellung	Verdünnung des Laponite/EVA-Compounds mit PE-LD und Extrusion zu Folien mittels Collin Flachfolienanlage (Collin CR72-190, Dr. Collin GmbH, Deutschland)
Verwendete Polymere	EVA: Escorene Ultra FL 00226CC, Exxon Mobil, (26 % Vinylacetat) PE-LD: Lupolen 1806H, Lyondell Basell
Folienstärke [ $\mu\text{m}$ ]	60
Konzentration (nominell) bzgl. Laponite [%]	2 / 4 / 6 0 (EVA/PE-LD Referenz)

#### 4.2.5 Silber-Nanokomposite

Die für diese Arbeit verwendeten Silber-Nanokompositfolien wurden in Eigenproduktion hergestellt. Hierfür wurde ein Silber-Nanopartikel PE-LD Masterbatch (ROMBEST AM 6500NANO, Romcolor, Copaceni, Rumänien), welches  $6500 \text{ mg kg}^{-1}$  Nanosilber enthält, erworben. Mittels PE-LD Granulat wurden aus dem Masterbatch Folien mit unterschiedlichen Nanosilber-Konzentrationen hergestellt. Die Materialeigenschaften der Silber-Nanokomposite sind in Tabelle 10 zusammengefasst.

**Tabelle 10: Herstellung und Eigenschaften der Silber-Nanokomposite**

Folienherstellung	Verdünnung des Nanosilber-Masterbatch mit PE-LD und Extrusion zu Folien mittels Collin Flachfolienanlage (Collin CR72-190, Dr. Collin GmbH, Deutschland)
Polymermatrix	PE-LD: B21/2.0 LDPE, Rompetrol, Rumänien
Folienstärke [ $\mu\text{m}$ ]	60
Konzentration (nominell) bzgl. Silber [ $\text{mg kg}^{-1}$ ]	50 / 150 / 250 0 (PE-LD Referenz)

### 4.3 Charakterisierung des Nanomaterials im Polymer mittels TEM/REM

Mittels der bildgebenden TEM Technik ist es möglich, einzelne Partikel/Aggregate im Polymer zu visualisieren. Hierdurch können Partikelgrößen und Partikelgrößenverteilung des im Polymer dispergierten Nanomaterials sichtbar gemacht werden. Ziel dieser Untersuchungen war es zu

überprüfen, ob durch die Herstellung der Nanokomposite das Nanomaterial homogen im Polymer verteilt war. Zudem wird durch diese Technik sichtbar, ob die bei der Produktion der Folien wirkenden Scherkräfte (im Compounder oder Extruder) ausreichend waren, um Agglomerate des Nanomaterials aufzubrechen und somit das Nanomaterial in seiner kleinstmöglichen dispergierbaren Form in die Polymermatrix einzuarbeiten. Die Informationen der Untersuchungen mittels TEM dienen auch dazu, um für die anschließenden Untersuchungen mittels AF4/MALS eine Methode zu entwickeln, welche gezielt auf die im jeweiligen Polymer vorhandenen Partikelgrößen angepasst ist.

In senkrechter Richtung zur Polymerfläche wurden von verschiedenen Stellen der Nanokomposite Cryo-Mikrotomschnitte angefertigt, welche eine Überprüfung der Verteilung des Nanomaterials innerhalb des Polymers ermöglichten. Bei den Nanokompositen, welche in Eigenproduktion hergestellt wurden (TiN-, Laponite-, Silber-Nanokomposite), wurde ein externes Labor (Innoform GmbH, Oldenburg, Deutschland) zur Anfertigung der TEM-Bilder beauftragt. Zu den Nanokompositen welche aus Prüfaufträgen stammten (SAS- und CB-Nanokomposite) wurden TEM-Aufnahmen zu den jeweiligen Proben durch den Hersteller des Prüfmaterials zur Verfügung gestellt. Zu den kolloidalen SAS Prüfmustern standen lediglich REM-Aufnahmen der Polymeroberfläche zur Verfügung. Soweit bei den Ergebnissen nicht anders angegeben, erfolgte die Charakterisierung mittels TEM anhand des Nanokomposits mit der höchsten Konzentration des Nanomaterials im Polymer.

#### 4.4 Bestimmung der Migration von Nanomaterialien

##### 4.4.1 Geräte zum Nachweis der Migration von Nanomaterialien

Die Bestimmung der Migration von Nanomaterialien aus den Nanokompositen auf ein Lebensmittel-simulanz wurde partikelspezifisch mittels AF4/MALS und elementspezifisch mittels ICP-MS durchgeführt. Die Anwendung der ICP-MS beschränkte sich dabei auf den Nachweis von Titanionen bei Untersuchungen von TiN-Nanokompositen und Silberionen bei Silber-Nanokompositen. Andere Nanomaterialien waren aufgrund der hohen Hintergrundbelastung relevanter Elemente für diese Analytik ungeeignet. Ein Nachweis der Migration von Kohlenstoff (CB) oder Silicium (SAS, Laponite) -haltiger Partikel im Spurenbereich mittels ICP-MS, lässt sich aufgrund des Ionisierungspotentials des Kohlenstoffs sowie der hohen Hintergrundbelastung von sowohl Kohlenstoff (Kohlendioxid in der Atmosphäre) als auch Silicium (in Glas gelagerte Lösemittel, Gerätebauteile aus Quarz) nicht bewerkstelligen. Der Nachweis von nicht für die ICP-MS geeigneten Nanomaterialien erfolgte daher ausschließlich mittels AF4/MALS.

##### 4.4.1.1 Asymmetrische Fluss Feld-Fluss Fraktionierung

Als AF4-System wurde eine „AF2000 MT Series mid temperature“ AF4 von Postnova Analytics, (Landsberg am Lech, Deutschland) verwendet. Das System ist modular aufgebaut und bietet die Möglichkeit, verschiedene Kanalooptionen sowie unterschiedliche Detektoren zu verwenden. Der für diese Arbeit verwendete Aufbau der AF4, sowie die unterschiedlichen Optionen für den Trennkanal sind in Tabelle 11 dargestellt.

**Tabelle 11: Aufbau des AF4/MALS Systems und Trennkanaloptionen**

AF4-Modul	Funktion/Spezifikation	Bezeichnung/Hersteller
Eluent Organizer	Anschluss verschiedener Fließmittel	PN7205 Postnova Analytics
Eluent Degasser	Entgasung der Fließmittel	PN7520 Postnova Analytics
HPLC Pumpen	Fördern der Fließmittel; je eine Pumpe für Tip- und Focus-Flow	PN1130 Postnova Analytics
AF4-Control-Modul mit integrierter Kloehnpumpe	Steuerung der AF4 und Erzeugung des Trennfeldes (Cross-Flow)	AF2000 Modul Postnova Analytics
Säulen/-Kanalofen mit Trennkanal	Temperieren des Kanals auf eine konstante Temperatur Temperaturbereich: 5 °C bis 80 °C	PN4020 Postnova Analytics
Autosampler	Automatische Injektion der Proben bei einer AF4 Sequenz	PN5300 Postnova Analytics
Kanaloptionen	Funktion/Spezifikation	Hersteller
Kanal	Material: PMMA (wässrige Proben), Edelstahl (organische Lösemittel) Dimensionen: 335 mm x 50 mm Trennbereich: 1 nm bis 10 µm	Postnova Analytics
Spacer	Material: PEEK Kanalhöhen: 190, 250, 350, 500 µm	Postnova Analytics
Membran	Regenerierte Cellulose (RC, 5 kDa und 10 kDa Trenngrenze) Cellulosetriacetat (CTA, 5 kDa Trenngrenze)  Polyvinylidenfluorid (PVDF, 30 kDa Trenngrenze)  Polyethersulfon (PES, 5 kDa Trenngrenze)	Postnova Analytics
Detektoren	Funktion/Spezifikation	Hersteller
21-Winkel MALS Detektor	21 Detektoren/Streuwinkel (7° bis 164°) Laser-Wellenlänge: 532 nm (grün) Laser-Leistung: 2,5 bis 50 mW	PN3621 Postnova Analytics
7-Winkel MALS Detektor	7 Detektoren/Streuwinkel (35° bis 145°) Laser-Wellenlänge: 635 nm (rot) Laser-Leistung: 35 mW	Brookhaven Instruments Corporation

#### 4.4.1.2 Induktiv gekoppelte Plasma-Massenspektrometrie

Zur elementspezifischen Untersuchung der Migrationsproben der Silber- und TiN-Nanokomposite sowie zur Konzentrationsbestimmung der Nanomaterialien im Nanokomposit wurde ein Agilent ICP-MS der Serie 7700 (Agilent Technologies, USA) verwendet. Die in einer wässrigen, sauren Matrix vorliegende Probe wird mittels einer peristaltischen Pumpe zum Probenaufgabensystem des ICP-MS gefördert, wo diese zu einem feinen Aerosol zerstäubt wird. Das Aerosol wird über ein Fördergas (Argon) in ein Hochtemperatur-Plasma (Argon-Plasma) geleitet, in welchem die Probe atomisiert und ionisiert wird. Über Ionenlinsen werden noch neutrale von geladenen Probenbestandteile abgetrennt. Die Ionen gelangen in ein Octopol Reaktionssystem, welches als Kollisions- bzw. als Reaktionszelle dient. Die Zelle kann sowohl unter Vakuum als auch unter Verwendung eines Bremsgases (Helium) betrieben werden. Durch die Verwendung eines Bremsgases können eventuell in der Probe vorhandene Oxide oder geladene Moleküle durch vermehrte Kollisionen mit dem Bremsgas ausgefiltert werden, wodurch das Risiko von Interferenzen mit dem eigentlichen Analyten minimiert wird. Zusätzlich werden im Octopol die Ionen fokussiert und gebündelt in einen Hochfrequenz-Quadrupol eingeleitet. Der Quadrupol dient als Massenfilter, wobei durch eine spezifische Wechselstromfrequenz die Ionen nach ihrem Verhältnis aus Masse zu Ladung ( $m/z$ ) getrennt werden. Die somit elementspezifisch aufgetrennten Ionen gelangen anschließend zum Detektor, welcher durch Aufschlagen der Ionen Sekundärelektronen erzeugt und dieses durch einen Sekundärelektronenvervielfacher verstärkt. Anhand der Signalstärke (Ausgabe als „counts per seconds“, „CPS“) und dem Vergleich der Signalstärke von Kalibrierstandards (externe Kalibrierung) wird die Konzentration des Analyten in der Probe errechnet. Die gerätespezifischen Parameter zur Untersuchung der Proben auf Silber und Titan sind in Tabelle 12 dargestellt.

**Tabelle 12: Parameter zur Bestimmung von Silber und Titan mittels ICP-MS**

Anregungsenergie für das Plasma	1550 W
Plasma Gas	Argon, 15 l min <sup>-1</sup>
Geschwindigkeit der peristaltischen Pumpe	0,3 rps
Aerosol-Düse	Micro Mist (Agilent Technologies, USA)
Autosampler	ASX-520 (Agilent Technologies, USA)
Messmodus	Vakuum oder mit Bremsgas (Helium)
Analyt-Isotop	Ag <sup>107</sup> , Ti <sup>47</sup>

#### 4.4.2 Methoden zum Nachweis der Migration von Nanomaterialien

##### 4.4.2.1 Simulanzen und Testbedingungen

Migrationsstudien wurden in Anlehnung an die Vorgaben der EU Verordnung 10/2011 durchgeführt. Hierzu wurden von verschiedenen Stellen der Prüfmuster Probenausschnitte entnommen, welche unter den folgend genannten Bedingungen, in Lebensmittelsimulanzen getaucht, gelagert wurden. Die Wahl der Simulanzen und Prüfbedingungen erfolgte nach den Angaben im Anhang V der EU Verordnung 10/2011, welche eine Langzeitlagerung des verpackten Lebensmittels bei Raum-

temperatur (länger als sechs Monate) inklusive Heißabfüllung (2 h bei 70 °C, bzw. 15 min bei 100 °C) simulieren. Bei der Wahl der Lebensmittelsimulanzien wird grundsätzlich der Kontakt der Verpackung zu einem wässrigen oder einem fettigen Lebensmittel unterschieden. 10 % v/v Ethanol diente in den Migrationsversuchen als ein wässriges, 3 % v/v Essigsäure als ein wässriges, saures Lebensmittelsimulanz. 95 % v/v Ethanol und Isooktan dienten als alternatives Simulanz für den Kontakt zu fettenden Lebensmitteln. Aufgrund der unterschiedlich hydrophilen bzw. lipophilen Eigenschaften der Simulanzien und aufgrund der besseren Wechselwirkung dieser flüssigen Medien mit dem Verpackungsmaterial gilt der Kontakt der Verpackung zu diesen Simulanzien als zumindest ebenso streng, wenn nicht strenger als der Kontakt zu sämtlichen realen Lebensmitteln. Die Eigenschaften der einzelnen Simulanzien in Hinblick auf die eingesetzten Polymere und die damit in Kontakt stehenden Lebensmittel sollen im Folgenden genauer hervorgehoben werden:

- Isooktan:  
Durch den Kontakt mit Isooktan kommt es zu einem Aufquellen der Polymermatrix von Polyolefinen, wie PE-LD, aber auch von PS. Die Migration von in der Polymermatrix enthaltenen Komponenten wird somit erleichtert. Aufgrund der starken Wechselwirkung des Isooktans mit diesen Polymeren, wird Isooktan für die Schnellextraktion nach EN 1186-15 [157] verwendet. Die Lagerung eines Prüfmusters auf Polyolefin-Basis in Isooktan für 24 h bei 40 °C gilt als ebenso streng wie die Langzeitlagerung in Öl, inklusive Heißabfüllung und Sterilisation. Diese Prüfbedingung kann daher auch als ein ebenso strenger Test für die Langzeitlagerung fettiger Lebensmittel betrachtet werden. Auch bei dieser Testbedingung kann aufgrund des Aufquellens der Polymermatrix eine beschleunigte Migration partikulärer Substanzen angenommen werden.
- 95 % v/v Ethanol:  
95 % v/v Ethanol ist ein alternatives Fettsimulanz. Im Vergleich zu Isooktan wird PE-LD und PS durch 95 % v/v Ethanol weniger stark gequollen. Die Wechselwirkungen des Polymers mit diesem Simulanz können als ähnlich stark betrachtet werden wie bei einer Lagerung der Probe in Olivenöl. Die Prüfbedingungen für 95 % v/v Ethanol sind daher äquivalent zu den offiziellen Testbedingungen mittels Öl. Laut der Richtlinie 97/48/EG [158] der Europäischen Kommission (gültig bis 31.12.2012) gelten 10 d Lagerung bei 40 °C als Testbedingung einer Langzeitlagerung. Neuere Testbedingungen werden in der Verordnung EU 10/2011 geregelt. Demnach entsprechen die Bedingungen zur beschleunigten Simulation einer Langzeitlagerung (mehr als 180 d) der Probenlagerung für 10 d bei 60 °C.
- 10 % v/v Ethanol:  
Die Verwendung von 10 % v/v Ethanol simuliert den Kontakt zu Lebensmittel mit hydrophilen Eigenschaften. Die vorgeschriebenen Prüfbedingungen sind identisch wie für 95 % v/v Ethanol.
- 3 % v/v Essigsäure:  
Durch die Verwendung von 3 % v/v Essigsäure wird der Kontakt der Verpackung zu wässrig-sauren Lebensmitteln simuliert. Die vorgeschriebenen Prüfbedingungen sind dabei dieselben wie für 95 % v/v Ethanol.
- Alternative Simulanzien für den Nachweis von Nanopartikeln:  
In keiner der Richtlinien existieren spezielle Vorschriften hinsichtlich der Verwendung von Lebensmittelsimulanzien mit Kontakt zu Nanokompositen. Wie bereits in Kapitel

3.3.3 beschrieben, ist in Hinblick auf den Nachweis von Nanomaterialien in ihrer partikulären Form in einem Simulanz nicht eine gute Löslichkeit sondern eine gute Dispergierbarkeit des Analyten entscheidend. Im Falle einer unzureichend stabilen Dispersion bei Verwendung der zuvor genannten EU-offiziellen Lebensmittelsimulanzien, wäre ein analytischer Nachweis eines nanopartikulären Analyten unmöglich.

Als alternatives Simulanz muss in diesem Fall ein Dispersionsmittel verwendet werden, welches zur Herstellung stabiler Dispersionen des entsprechenden Nanomaterials geeignet ist. Die Verwendung eines Dispersionsmittels als Lebensmittelsimulanz bedeutet, dass aufgrund der Fähigkeit, Nanomaterialien stabil zu dispergieren, eine gute Aufnahme eventuell migrierter Nanopartikel durch das Lebensmittelsimulanz gewährleistet ist. In analoger Sichtweise zu konventionellen Analyten, entspricht bei Nanomaterialien die Verwendung eines geeigneten Dispersionsmittels dem Kontakt der Verpackung zu einem Lebensmittel, für welches sich ein niedriger Verteilungskoeffizient ( $K_{P,L} \approx 1$ ) ergeben würde. Die Prüfbedingung unter Verwendung eines geeigneten Dispersionsmittels als Lebensmittelsimulanz kann somit hinsichtlich der Migration eines Nanomaterials als äußerst streng bewertet werden. Als alternatives Lebensmittelsimulanz wurden daher auch Dispersionsmittel eingesetzt, denen in Vorversuchen mit dem entsprechenden Referenz-Nanomaterial eine entsprechende Eignung nachgewiesen werden konnte.

Um Kontaminationen und Wachstum von Mikroorganismen in den wässrigen Dispersionsmitteln zu verhindern, welche einen störenden Einfluss auf die folgende Analytik nehmen könnten, wurden alle Lösungen filtriert (0,1  $\mu\text{m}$  Millipore Filterscheibe) und mit dem Biozid Natriumazid ( $\text{NaN}_3$ , MerckMillipore, Deutschland) stabilisiert. Organische Lösemittel, wie 95 % v/v Ethanol und Isooktan sind von Natur aus steril und wurden lediglich vorab filtriert.

Die Verwendung einer definierten Fläche (z.B. 1  $\text{dm}^2$ ) pro Volumen Lebensmittelsimulanz bei den Probenausschnitten ermöglicht die Angabe einer auf die Verpackungsfläche bezogene Migrationsmenge. Diese lässt sich wiederum durch Verwendung des Modells des sogenannten EU-Würfels (siehe EU 10/2011 Absatz 34) auf eine migrierte Menge des Migranten pro Kilogramm Lebensmittel umrechnen. Das Modell setzt hierbei eine würfelförmige Verpackung mit 1  $\text{dm}^2$  Seitenfläche, bzw. 6  $\text{dm}^2$  Gesamtfläche voraus. Hieraus ergibt sich ein Volumen von 1  $\text{dm}^3$  bzw. eine Masse von 1 kg Lebensmittel, welche über die gesamte Fläche des Würfels mit dem Lebensmittel (Simulanz) in Kontakt steht. Bei allen Migrationsversuchen wurden daher Ausschnitte von exakt 1  $\text{dm}^2$  Probenfläche in den jeweiligen Simulanzien unter den genannten Prüfbedingungen gelagert. Bei Nanokompositen in Form von dünnen Folien wurden hierzu Quadrate mit 10 cm Kantenlänge geschnitten und gefaltet, bei Nanokompositen in Form von Platten (CB) wurden die Platten in drei Streifen geschnitten, deren Gesamtfläche wiederum 1  $\text{dm}^2$  entsprach. Am Ende der Lagerung der Proben wurden die Nanokomposite aus den Migrationsgefäßen entfernt und die Lebensmittelsimulanzien mit den im Folgenden beschriebenen Methoden auf das Vorhandensein des jeweiligen Nanomaterials untersucht. Details zur Durchführung der Migrationsversuche werden im folgenden Kapitel zu den jeweiligen Nanokompositen aufgeführt.

#### 4.4.2.2 AF4/MALS Methodenentwicklung

Die Kombination aus AF4 und MALS dient im ursprünglichen Sinn der Trennung und Charakterisierung von Polymeren, aber auch von Nanomaterialien, wobei in der Regel der Analyt in einer bekannten hohen Konzentration (im  $\text{mg l}^{-1}$ -Bereich) als Reinsubstanz, d.h. ohne störende Ver-

unreinigungen, in einem entsprechendem Dispergier-/Lösemittel untersucht wird. Eine Identifizierung und Quantifizierung eines Analyten spielt in der AF4/MALS Analytik allgemein eine eher untergeordnete Rolle bzw. eine solche Anwendung ist bisher nicht bekannt. Da sich als substanzspezifische Größe lediglich der Diffusionskoeffizient des Analyten auf die Trennung mittels AF4 auswirkt, ist eine Untersuchung komplexerer Proben mit deutlich höherem Aufwand verbunden, als Messungen von z.B. Polymerstandards. Komplexe Proben stellen in der AF4-Analytik solche dar, welche mehrere unterschiedliche Komponenten enthalten. Eine eindeutige Trennung eines Mehrkomponentensystems ist nur dann möglich, wenn sich die einzelnen Bestandteile hinsichtlich ihrer Partikelgrößenverteilung deutlich voneinander unterscheiden. Viele der in dieser Arbeit untersuchten Nanomaterialien sind jedoch aufgrund ihrer aggregierten Struktur polydispers, d.h. es existieren von demselben Nanomaterial unterschiedliche Partikelgrößen, die sich über einen breiten Bereich erstrecken können. Hierdurch kann sich ein fließender Übergang zu anderen Probenbestandteilen ergeben, wodurch eine klare Abgrenzung einzelner Komponenten schwierig, ggf. unmöglich wird. Andere Matrixbestandteile in den Migrationsproben in dieser Arbeit können beispielsweise extrahierte Oligomere aus dem Polymer sein, welche aufgrund der strengen Prüfbedingungen durch Wechselwirkungen zwischen Polymer und Simulanz in die Probe gelangen. Die Detektion mittels MALS ist zudem nicht substanzspezifisch, d.h. eine Unterscheidung verschiedener Substanzen allein anhand der gemessenen Streulichtintensitäten ist nicht möglich.

Das Ziel der AF4/MALS Methodenentwicklung in dieser Arbeit war es daher, eine Methode zu entwickeln, welche speziell an die Partikelgrößen des jeweiligen Nanomaterials angepasst ist und somit eine Abtrennung von anderen Probenbestandteilen ermöglicht. Ein Nachweis des entsprechenden Nanomaterials sollte somit anhand spezifischer Retentionszeiten während eines AF4-Laufs ermöglicht werden. Durch die Abtrennung des Nanomaterials von anderen Probenbestandteilen sollte zudem eine Quantifizierung des Nanomaterials in der Probe ermöglicht werden. Durch die Verwendung von Dispersionen, in denen das Nanomaterial in unterschiedlichen Mengen dispergiert wurde, kann außerdem die gestreute Lichtintensität mit der injizierten Menge des Nanomaterials korreliert werden. Aus dieser Information konnte somit die massenbezogene Menge an Nanomaterial in den Migrationsproben bestimmt werden. Diejenige Methode, welche eine Trennung und Quantifizierung des jeweiligen Nanomaterials in Lebensmittelsimulanzien ermöglichte, sollte dann in den folgenden Migrationsversuchen zum Nachweis migrierter Nanopartikel dienen.

Für jeden in dieser Arbeit untersuchten Nanokomposit musste die AF4/MALS Methode an das jeweilige Nanomaterial angepasst werden. Hierfür wurde in Vorstudien das zur Produktion der Nanokomposite verwendete Referenz-Nanomaterial (siehe Kapitel 4.1) genutzt, um Referenz-Dispersionen herzustellen, welche einige grundlegende Kriterien erfüllen mussten. Die Nanopartikel in der Referenz-Dispersion sollten einerseits dieselbe Partikelgrößenverteilung aufweisen wie die im Polymer dispergierten Partikel, da nur so ein eindeutiger Nachweis des Nanomaterials in den späteren Migrationsproben anhand spezifischer Elutionszeiten ermöglicht wurde. Zudem musste eine ausreichende Stabilität des Nanomaterials in den eingesetzten Lebensmittelsimulanzien unter den in den Migrationsversuchen verwendeten Prüfbedingungen sichergestellt sein, um eine Quantifizierung des Nanomaterials zu ermöglichen. Die verallgemeinerte Vorgehensweise bei den Vorstudien lässt sich somit in folgende einzelne Arbeitsschritte aufteilen:

- Dispergieren des Referenz-Nanomaterials
- Entwicklung einer AF4 Methode zur Trennung des Nanomaterials

- Bestimmung der Partikelgrößenverteilung des Nanomaterials in der Dispersion und Vergleichen mit den TEM-Daten der Nanokomposite
- Kalibrierung des Systems mittels Referenzdispersionen
- Bestimmung der Stabilität unter den bei Migrationsprüfungen angewandten Bedingungen

#### 4.4.2.2.1 Herstellen von Referenz-Stammdispersionen für die AF4

Referenz-Dispersionen wurden aus dem jeweiligen Referenz-Nanomaterial (wie in Kapitel 4.1 gelistet) unter Verwendung verschiedener Dispersionsmittel und Dispergiergeräte hergestellt. Als Dispersionsmittel wurden sowohl EU-offizielle Lebensmittelsimulanzien als auch additivierte, wässrige Dispersionslösungen getestet. Ein Überblick über die verwendeten Chemikalien zur Herstellung der Referenz-Dispersionen liefert Tabelle 13.

**Tabelle 13: Chemikalien zur Herstellung von Dispersionsmitteln**

<b>Dispersionsmittel und Additive</b>	<b>Herstellung/Hersteller/Bemerkung</b>
Reinstwasser	Aufbereitung von Leitungswasser mittels Reinstwasseranlage (TKA GenPure, TKA Wasseraufbereitungssysteme GmbH, Niederelbert, Deutschland)
3 % v/v Essigsäure	Verdünnung reiner Essigsäure ( $\geq 99,7$ %, ACS Reagent, Sigma Aldrich, USA) mit Reinstwasser
95 % v/v Ethanol	Verdünnung von Ethanol Absolut ( $\geq 99,8$ %, Sigma Aldrich, USA) mit Reinstwasser
10 % v/v Ethanol	Verdünnung von Ethanol Absolut ( $\geq 99,8$ %, Sigma Aldrich, USA) mit Reinstwasser
Isooktan	$\geq 99$ %, für die HPLC, Sigma Aldrich, USA
Natriumchlorid	$\geq 99$ %, Reagent Plus, Sigma Aldrich, USA
Natronlauge	1,0 M, für die Elektrophorese, Sigma Aldrich, USA
Natriumdodecylsulfat (SDS)	$\geq 99$ %, für die Elektrophorese, Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland
Tensidgemisch NovaChem100	Postnova Analytics, Landsberg, Deutschland

Die Dispersionsmittel 3 % v/v Essigsäure, 10 % v/v Ethanol, 95 % v/v Ethanol und Isooktan sind identisch wie die in den Migrationsversuchen eingesetzten Lebensmittelsimulanzien. Des Weiteren wurden wässrige Dispersionsmittel hergestellt, welche durch Einstellen des pH-Werts, der Salzkonzentration (Ionenstärke) oder durch die Verwendung geeigneter Tenside an die Eigenschaften des jeweiligen Nanomaterials angepasst wurden. NaCl diente hierbei zur Anpassung der Ionenstärke, NaOH wurde für alkalische Dispersionen verwendet. Als Tenside fanden SDS und NovaChem100 (Postnova Analytics, Landsberg, Deutschland) Anwendung. NovaChem100 ist ein vom Hersteller des

AF4-System speziell zur Dispergierung von Nanomaterialien entwickeltes Gemisch ionischer und nicht-ionischer Tenside. Alle Dispersionsmittel wurden vor der Verwendung über einen 0,1 µm Filter filtriert, um eventuell vorhandene Partikel zu entfernen.

Pulverförmige Referenz-Nanomaterialien wurden mittels einer Analysenwaage in ein geeignetes Gefäß eingewogen und mit den Dispersionsmitteln vermengt. Durch den zusätzlichen Energieeintrag der Dispergiergeräte sollte eine bessere Benetzung des Nanomaterials sowie ein Aufbrechen der Agglomerate gewährleistet werden. Während bei der Herstellung der Nanokomposite Agglomerate durch starke Scherkräfte im Extruder zu kleineren Aggregaten aufgebrochen werden, erfolgte der Energieeintrag bei der Herstellung der Referenz-Dispersionen mittels der in Tabelle 14 gelisteten Geräte.

**Tabelle 14: Verwendete Geräte zur Herstellung von Dispersionen**

<b>Gerät</b>	<b>Prinzip</b>	<b>Hersteller/Eigenschaften</b>
Ultraschall-Bad	Gleichmäßige Verteilung hochfrequenter, mechanischer Schwingungen auf eine mit Wasser gefüllte Wanne, in welcher das Probengefäß steht	ELMA Transsonic 420 Elma Schmidbauer GmbH, Singen, Deutschland Leistung: 70 W Frequenz: 35 kHz
Ultraschall-Sonotrode	Punktuelter Eintrag hochfrequenter, mechanischer Schwingungen direkt in die Probe. Durch den gezielten Eintrag der Schwingung kann im Vergleich zum Ultraschall-Bad auch bei geringer Leistung des Geräts mehr Energie auf die Probe übertragen werden.	Vibra Cell VC50T Sonics & Materials Inc., Newtown, USA Leistung: 50 W (regelbar von 0 bis 100 %) Frequenz: 20 kHz
Vortex-Mischer	Durchmischung der Probe durch Rotation und Vibration des auf den Vortex aufgebrachten Probengefäßes	Janke & Kunkel VF2 Vortex IKA Labortechnik, Staufen im Breisgau, Deutschland Regelbare Drehzahl von 0 bis 2500 s <sup>-1</sup>
Ultra-Turrax	Homogenisieren einer Probe nach dem Rotor-Stator-Prinzip. Durch Erhöhung der Drehzahl des Rotors steigt die auf die Partikel wirkende Scherkraft.	UltraTurrax T22 basic IKA Labortechnik, Staufen im Breisgau, Deutschland Regelbare Drehzahl von 3000 bis 25000 s <sup>-1</sup>

Im Anschluss an die Dispersionsversuche wurden die Proben quantitativ in Messkolben überführt und mit dem jeweiligen Dispersionsmittel zur Eichmarke des Messkolbens aufgefüllt. Das Ziel bei der Herstellung der Referenz-Dispersionen war es, durch eine geeignete Kombination aus Dispersionsmittel und Energieeintrag das eingewogene Referenz-Nanomaterial vollständig zu dispergieren. Insbesondere in Hinblick auf die Verwendung der Dispersionen als Kalibrierstandards zur quantitativen Bestimmung des Nanomaterials war es entscheidend, dass die dispergierte Menge des Nanomaterials auch der tatsächlich eingewogenen Menge entsprach. Als geeignete Dispersion wurde daher für die Vorversuche an der AF4 nur diejenige Dispersion verwendet, welche keine Sedimentation des Nanomaterials aufwies. Hierzu wurden die Dispersionen eine Woche bei

Raumtemperatur im Labor stehen gelassen und im Anschluss überprüft, ob sich ein sichtbarer Bodensatz gebildet hatte.

Referenznanomaterialien, welche bereits als Dispersion zur Verfügung gestellt wurden (kolloidales SAS), wurden lediglich dahingehend überprüft, ob es durch die Verwendung eines der oben gelisteten Dispersionsmittel bei einer Verdünnung zu Niederschlägen des Nanomaterials oder der bereits in der Dispersion enthaltenen Additive kommt.

#### 4.4.2.2.2 Trennung des Nanomaterials mittels AF4/MALS

Durch die Auswahl unterschiedlicher Kanalkomponenten (Trennmembran, Spacer), sowie Einstellung der Systemparameter (Tip-Flow, Focus-Flow, Cross-Flow, Detector-Flow, Injektionsdauer, Systemtemperatur und Leistung des Lasers) ist die AF4 sehr vielseitig und kann an die spezifischen Eigenschaften des zu untersuchenden Nanomaterials angepasst werden. Zudem kann die AF4 mit unterschiedlichen Fließmitteln betrieben werden, welche in der Regel jedoch identisch mit dem geeigneten Dispersionsmittel sind.

Neben der Auswahl des Dispersionsmittels müssen die einzelnen Parameter der AF4 optimiert werden, um eine erfolgreiche Trennung des Nanomaterials zu ermöglichen. Das Ziel der AF4-Methodenentwicklung ist es, ein scharfes, intensives Signal der jeweiligen Nanopartikelfraktion im AF4-Fraktogramm zu erhalten, welches eindeutig von anderen Probenbestandteilen und den für AF4-Läufe typischen „Void“- und „Membrane Release“-Signalen (Peaks) unterschieden werden kann. „Membrane-Release“-Signale entstehen am Ende eines AF4-Laufs, wenn keine Trennkraft auf das System mehr einwirkt, d.h. wenn kein „Cross-Flow“ mehr angelegt ist. Das Signal wird dabei von Partikeln erzeugt, welche so groß sind, dass die auf sie einwirkende Trennkraft bei angelegtem „Cross-Flow“ ein Eluieren der Partikel während der Elutionsphase (siehe Kapitel 3.3.1) verhindert. Zusätzlich kann das Herunterfahren des Trennfeldes einen Druckverlust verursachen, welcher einen Einfluss auf das Fließmittel nimmt und zu einer Signal-Drift führen kann. Der sogenannte „Void-Peak“ wird durch nicht aufgetrennte Partikel oder Veränderungen der Fließmittelzusammensetzung bedingt durch lange Fokussierzeiten verursacht. Der „Void-Peak“ wird beispielsweise durch Salze, Tenside, Biozide oder andere Dispersionsadditive sowie von Partikeln verursacht, welche deutlich zu groß sind, um anhand des AF4 Prinzips getrennt zu werden. Dieses Signal entsteht direkt nach Injektionsphase zu Beginn eines AF4-Laufs und ist vergleichbar mit dem Totvolumen bei der Chromatographie. Die Fokussierung der Probe während der Injektionsphase ermöglicht es, auch sehr große Volumina (1 ml bis 10 ml) in den Trennkanal zu injizieren. Hierdurch lässt sich eine höhere Empfindlichkeit bezüglich der in der Probe enthaltenen Partikel erzielen, es wird jedoch auch eine stärkere Ausprägung des „Void“ und „Membrane Release“ Peaks bewirkt. Durch exaktes Einstellen aller Systemparameter soll es daher ermöglicht werden, dass, während das Trennfeld noch aktiv ist, zu einer bestimmten Elutionszeit nur das jeweilige Nanomaterial aus dem Kanal zum Detektor strömt.

#### 4.4.2.2.3 Bestimmung der Partikelgrößenverteilung des dispergierten Referenznanomaterials

Nachdem eine geeignete Methode zur Herstellung von Referenz-Nanomaterial Dispersionen und eine geeignete AF4/MALS Methode gefunden wurde, wurden die Daten aus dem Lichtstreuexperiment verwendet, um die Partikelgrößenverteilung des dispergierten Nanomaterials zu bestimmen. Hierfür wurden Auswertemethoden nach Zimm, Berry und Debye als auch formabhängige Plots für Kugel, Hohlkugeln und „random coils“ miteinander verglichen (siehe Kapitel 3.3.2). Dasjenige Modell, welches die geringsten Abweichungen zu den Lichtstreudaten aufwies, wurde für die Berechnung der

Partikelgrößen verwendet. Über den gesamten Elutionsbereich des Nanomaterials wurden in Folge die Partikelgrößen in Form von Schwerpunktsradien errechnet, welche sich unter Verwendung von Gleichung 43 bis Gleichung 45 in geometrische Größen umrechnen ließen. Die hieraus gewonnenen Größen dienten dem Vergleich mit den aus den TEM-Untersuchungen erhaltenen Daten des im Polymer dispergierten Nanomaterials. In dem Fall, dass die im Polymer vorkommenden Partikelgrößen des Nanomaterials nicht mit denen des Referenz-Nanomaterials in den Dispersionen übereinstimmten, mussten einzelne Schritte zur Herstellung der Dispersionen wiederholt oder angepasst werden, bis die jeweiligen Partikelgrößen des im Polymer und in der Dispersion enthaltenen Nanomaterials übereinstimmend waren.

#### 4.4.2.2.4 Bestimmung der Geräte- und Methodennachweisgrenze

Zeigten die wie in Kapitel 4.4.2.2.1 beschriebenen Stammdispersionen eine ausreichende Stabilität, d.h. es konnte kein Signalverlust bei wiederholten AF4/MALS Messungen festgestellt werden, wurden diese zur Herstellung von Kalibrierstandards durch weitere Verdünnung mit dem Dispersionsmittel verwendet. Zusätzlich zu einem Dispersionsmittel-Blindwert wurden nacheinander Kalibrierdispersionen mit steigender Konzentration des jeweiligen Nanomaterials in die AF4 injiziert. Aus den aufgezeichneten Signalintensitäten wurde dann mittels Integration die Gesamt-Peakfläche der jeweiligen Konzentration des Nanomaterials bestimmt und gegen die nominelle Konzentration der Kalibrierdispersion graphisch aufgetragen. Hierzu wurden zunächst diejenigen Winkel aus dem AF4/MALS Fraktogramm bestimmt, welche ein deutlich vom Grundsignal des jeweiligen Winkels unterscheidbares Signal erzeugten. Da in der AF4-Software keine Bestimmung der Signalfläche vorgesehen ist, wurden die Daten (Signalintensität über die Elutionszeit) eines jeden Winkels der jeweiligen Dispersion exportiert und mittels der Datenanalysensoftware Origin 9 (OriginLab Corporation, USA) integriert. Die sich hieraus ergebenden Signalflächen der einzelnen Winkel wurden anschließend zur Gesamt-Peakfläche aufsummiert. Durch die Verwendung der gesamten Peakfläche (Integration über mehrere Winkel) lassen sich kleinere Schwankungen der Signalintensitäten ausgleichen und reproduzierbarere Daten erstellen. Durch graphisches Auftragen der Gesamt-Peakfläche gegen die injizierte nominelle Konzentration wurden Kalibrierkurven erstellt. Die sich hieraus ergebende Kurvengleichung diente dann zur Bestimmung der Konzentration einer unbekannt Probe anhand der gemessenen Signalintensitäten.

Die Bestimmung der Nachweisgrenze anhand der Standarddispersionen erfolgte dabei konservativ. Als Gerätenachweisgrenze wurde die geringste Konzentration angenommen, deren Signale aus dem Lichtstreuexperiment noch deutlich von den Signalen anderer Konzentrationen und dem Signal des Dispersionsmittels (Blindwert) unterschieden werden konnte. Die Bestimmung der Methodennachweisgrenze erfolgte in Abhängigkeit der jeweiligen Prüfbedingungen bei den Migrationsversuchen. Hierzu wurde eine Standarddispersion mit einer Konzentration des Nanomaterials etwa zehnmals höher als die Gerätenachweisgrenze unter denselben Bedingungen (Zeit und Temperatur) gelagert wie die Migrationsproben. Am Ende der Lagerung wurde von dieser Dispersion mittels AF4/MALS die Gesamt-Peakfläche bestimmt und mit der Gesamt-Peakfläche der nicht gelagerten frisch hergestellten Referenzdispersion verglichen. Die sich hieraus ergebende Wiederfindung wurde zur Berechnung der Methodennachweisgrenze aus der Gerätenachweisgrenze verwendet. Zur Bestimmung der Methodennachweisgrenze in Abhängigkeit des verwendeten Lebensmittelsimulanz, wurden zudem Dispersionen mit dem jeweiligen Lebensmittelsimulanz als Dispersionsmittel angefertigt. Diese wurden ebenfalls unter den jeweiligen Prüfbedingungen gelagert und am Ende der Lagerung zu mit dem jeweiligen Lebensmittelsimulanz frisch hergestellten Dispersionen als auch zu Dispersionen der gleichen Konzentration mit dem am besten geeigneten Dispersionsmittel

(Referenzdispersion, welche keine Sedimentation des Nanomaterials zeigte) verglichen. Hierzu wurden die Lebensmittelsimulanz-Dispersionen zunächst bis zur Trockene eingedampft (bei 40 °C unter Verwendung eines leichten Stickstoffvolumenstroms), mit dem am besten geeigneten Dispersionsmittel wiederaufgenommen und quantitativ in Messkolben überführt, sodass rechnerisch dieselbe Konzentrationen des Nanomaterials wie bei der Referenzdispersion enthalten war.

Soweit nicht anders angegeben erfolgte die Bestimmung der Nachweisgrenzen im dreifachen Probenansatz, wobei jede einzelne Probe zweimal mittels AF4/MALS gemessen wurde.

#### 4.4.2.3 ICP-MS Messungen zur Bestimmung der Analytkonzentration

ICP-MS Messungen wurden durchgeführt um die Konzentration von entweder Silber oder Titan in den Migrationsproben als auch in den zuvor in Eigenproduktion hergestellten Nanokompositen zu bestimmen. Im Gegensatz zur AF4/MALS-Analytik ist bei ICP-MS Messungen keine aufwändige Methodenentwicklung nötig, Proben können nach entsprechender Aufbereitung und Kalibrierung des Systems direkt gemessen und ausgewertet werden.

Die Kalibrierung des Geräts erfolgte extern durch eine Standardreihe, für welche geeignete ICP-MS Standards verwendet wurden. Zur Herstellung von Silber-Kalibrierstandards wurde die Kalibrierlösung „MERCK VI multi-element ICP-MS calibration standard“ (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) verwendet. Das darin enthaltende Silber ( $10 \text{ mg l}^{-1}$ ) wurde mit 3 %  $\text{HNO}_3$  zu Kalibrierstandards mit einem Silbergehalt von 1, 2, 5, 10, 50, 100 und  $200 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$  verdünnt. Für Titanhaltige Proben wurde das System mittels der Kalibrierlösung „MERCK XVII multi-element ICP-MS calibration standard“ (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland), welche  $100 \text{ mg l}^{-1}$  Titan enthält, kalibriert. Hierfür wurden Standards mit einem Titangehalt von 0, 1, 2,5, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 und  $1000 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$  hergestellt, indem die Kalibrierlösung mit 3 %  $\text{HNO}_3$  verdünnt wurde. 3 %  $\text{HNO}_3$  wurde durch Verdünnung einer konzentrierten  $\text{HNO}_3$  (69 %, J. T. Baker, for trace metal analysis, USA) mit Reinstwasser hergestellt und diente bei der Kalibrierung als Blindwert.

Zur Bestimmung der Konzentration des Nanomaterials in den Nanokompositen wurden von diesen Proben entnommen und nass-chemisch aufgeschlossen. Die Probennahme erfolgte dabei an verschiedenen Stellen des Polymers, um eventuelle Schwankungen durch eine inhomogene Verteilung des darin dispergierten Nanomaterials zu erfassen. Definierte Mengen des Nanokomposits wurden in PTFE-Tiegel eingewogen und mit 9 ml 69 %  $\text{HNO}_3$  versetzt. Der Aufschluss der Proben erfolgte bei 160 °C für 10 h in geeigneten Druckbehältern in einem Wärmeschrank (Druckaufschluss). Die abgekühlten Proben wurden im Anschluss in 10 ml Messkolben überführt und zur Eichmarke mit der konzentrierten  $\text{HNO}_3$  aufgefüllt. Mittels Reinstwasser wurden alle Proben anschließend verdünnt, um den hohen Säuregehalt des Aufschlusses zu verringern. Weitere Verdünnungen der Proben wurden gegebenenfalls mit 3 %  $\text{HNO}_3$  durchgeführt. Hierdurch lagen alle Proben in derselben Matrix vor wie sie auch zur Kalibrierung des ICP-MS mit den Kalibrierstandards verwendet wurde. Somit lassen sich Matrixeffekte, wie Beeinflussung des Aerosols durch eine unterschiedliche Viskosität der Probe, verhindern.

Zur Bestimmung der Analytkonzentration in den Migrationsproben wurden die flüssigen Lebensmittelsimulanzien bis zur Trockene eingedampft (40 °C unter Verwendung eines leichten Stickstoffvolumenstroms). Anschließend wurden die Proben mit 3 %  $\text{HNO}_3$  wieder aufgenommen, quantitativ in Messkolben überführt und bis zur Eichmarke aufgefüllt. Um hierdurch verursachte Probenverluste zu bestimmen, wurden zuvor Wiederfindungsraten in Abhängigkeit von dem jeweiligen Lebensmittelsimulanz bestimmt. Zur Herstellung von Wiederfindungsproben wurde eine

definierte Menge des Kalibrierstandards in Messkolben vorgelegt und mit dem jeweiligen Lebensmittelsimulanz aufgefüllt. Anschließend wurden die Wiederfindungsproben analog zu den Migrationsproben bis zur Trockene eingedampft und mit 3 % HNO<sub>3</sub> wieder aufgenommen. Als Referenzprobe diente ein mit 3 % HNO<sub>3</sub> hergestellter Standard. Die sich hieraus ergebenden Wiederfindungsraten wurden zur Berechnung der Methodennachweisgrenze berücksichtigt.

#### 4.4.2.3.1 Bestimmung des TiN-Gehalts der Nanokomposite

Da die TiN-Nanokomposite in Eigenproduktion hergestellt wurden, sollte mittels ICP-MS der tatsächliche Gehalt an TiN-Nanopartikeln mittels ICP-MS bestimmt werden. Hierzu wurden nass-chemische Aufschlüsse der Nanokomposite angefertigt, wodurch es zu einer vollständigen Zerstörung der bei der ICP-MS Analytik störenden organischen Matrix des Polymers kam. Anorganische Bestandteile der Probe bleiben dabei in Form von gelösten Ionen im sauren Aufschluss erhalten. Die Bestimmung des Titangehalts wurde bei allen drei Nanokompositen (nominelle TiN-Konzentration: 100, 500 und 1000 mg kg<sup>-1</sup>) sowie beim PE-LD-Blindwert durchgeführt. Von verschiedenen Stellen der Folien wurden Proben entnommen, welche in kleine Stücke von etwa 3 x 3 mm geschnitten wurden. 50 mg der Folien-Schnipsel wurden in geeignete Druckbehälter aus PTFE eingewogen und mit 10 ml einer 69 % HNO<sub>3</sub> befüllt. Der Aufschluss erfolgte während einer Lagerung der Druckbehälter bei 160 °C für 13 h. Der erfolgreiche Aufschluss der Folien zeigte sich anhand einer klaren Flüssigkeit, nachdem die aufgeschlossenen Proben auf Raumtemperatur abgekühlt waren. Nachdem alle Aufschlussproben quantitativ in 10 ml Messkolben überführt und zur Messmarke aufgefüllt wurden, wurden jeweils 0,5 ml der Probe mit 9,5 ml Reinstwasser verdünnt und mittels ICP-MS gemessen. Die Aufschlüsse der Folien erfolgten in dreifacher Anfertigung. Die Ergebnisse der Titan-Bestimmung sind in Tabelle 15 zusammengefasst. Zur besseren Vergleichbarkeit wurde der nominelle TiN-Gehalt anhand des Atomgewichts von Titan und Stickstoff auf den nominellen Gehalt von Titan zurückgerechnet.

**Tabelle 15: Bestimmung des Titan-Gehalts der TiN-Nanokomposite**

Probe	Nomineller TiN-Gehalt [mg kg <sup>-1</sup> ]	Nomineller Titan-Gehalt [mg kg <sup>-1</sup> ]	Gemessener Titan-Gehalt [mg kg <sup>-1</sup> ]
PE-LD Referenz	0	0	0
TiN-Nanokomposit A	100	77	80 ± 3,3
TiN-Nanokomposit B	500	387	350 ± 7,1
TiN-Nanokomposit C	1000	774	490 ± 4,7

Nachdem die Proben der Dreifachbestimmung aus unterschiedlichen Stellen der Folien entnommen wurden, deuten die angegebenen Standardabweichungen auf eine homogene Verteilung von TiN-Partikeln in den Nanokompositen hin. Bei dem Nanokomposit mit der nominell höchsten Konzentration an TiN-Partikeln im Polymer wurde weniger Titan nachgewiesen als erwartet. Dennoch zeigte sich bei dieser Folie die höchste Konzentration an Titan, weshalb diese Folie für die weiteren Versuche verwendet wurde.

#### 4.4.2.3.2 Bestimmung des Silber-Gehalts der Nanokomposite

Der tatsächliche Silbergehalt der in Eigenproduktion hergestellten Silber-Nanokomposite wurde nach Aufschluss der Proben mittels ICP-MS bestimmt. Hierzu wurden nass-chemische Aufschlüsse der Nanokomposite angefertigt, wodurch es zu einer vollständigen Zerstörung der organischen PE-LD Matrix kam. Anorganische Bestandteile der Probe bleiben dabei in Form von gelösten Ionen im sauren Aufschluss erhalten. Die Bestimmung des Silbergehalts wurde bei allen drei Nanokompositen (nominelle Ag-Konzentration: 50, 150 und 250 mg kg<sup>-1</sup>) sowie beim PE-LD Blindwert durchgeführt. Von verschiedenen Stellen der Folien wurden Proben entnommen, welche in kleine Schnipsel von etwa 3 x 3 mm geschnitten wurden. 50 mg der Folien-Schnipsel wurden in geeignete Druckbehälter aus PTFE eingewogen und mit 10 ml einer 69 % HNO<sub>3</sub> befüllt. Der Aufschluss erfolgte während einer Lagerung der Druckbehälter bei 160 °C für 10 h. Der erfolgreiche Aufschluss der Folien zeigte sich anhand einer klaren Flüssigkeit nachdem die aufgeschlossenen Proben auf Raumtemperatur abgekühlt waren. Nachdem alle Aufschlussproben quantitativ in 10 ml Messkolben überführt und zur Messmarke aufgefüllt wurden, wurden jeweils 0,5 ml der Probe mit 9,5 ml Reinstwasser verdünnt und mittels ICP-MS gemessen. Die Aufschlüsse der Folien erfolgten in vierfacher Anfertigung. Die Ergebnisse der Silber-Bestimmung sind in Tabelle 16 zusammengefasst.

**Tabelle 16: Bestimmung des Silbergehalts der Silber-Nanokomposite**

Nomineller Silber-Gehalt [mg kg <sup>-1</sup> ]	Gemessener Silber-Gehalt [mg kg <sup>-1</sup> ]
0	0.1 ± 0.03
50	48.7 ± 2.6
150	185.2 ± 27.4
250	249.8 ± 5.7

Nachdem die Proben der Vierfachbestimmung aus unterschiedlichen Stellen der Folien entnommen wurden, deuten die angegebenen Standardabweichungen auf eine homogene Verteilung von Silber-Partikeln in den Nanokompositen hin. Bei dem Nanokomposit mit der mittleren Konzentration an Silber-Partikeln im Polymer wurde mehr Silber nachgewiesen als bei der Herstellung des Nanokomposits beabsichtigt wurde. Da sich diese Konzentration jedoch deutlich von denen der anderen Nanokomposite unterschied, wurde auch diese Folie für die weiteren Versuche verwendet.

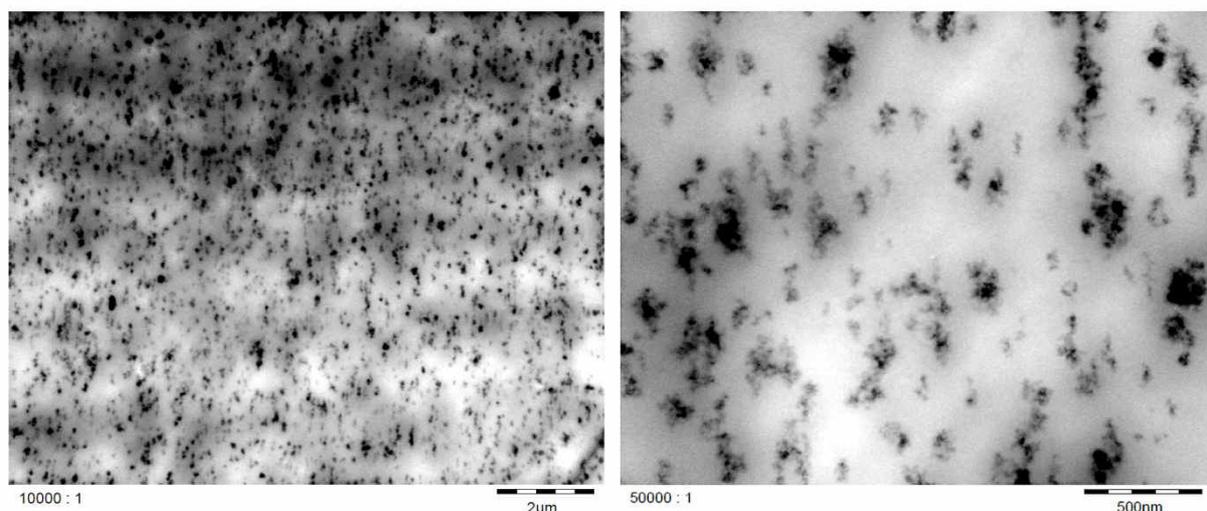
## 5 Ergebnisse und Diskussion

### 5.1 Synthetisch amorphes Siliciumdioxid (SAS)

#### 5.1.1 Untersuchung der Nanokomposite mittels TEM/REM

Die Ergebnisse der bildgebenden Untersuchungen zur Partikelgrößenverteilung der verschiedenen SAS-Partikel in ihrer jeweiligen PE-LD Matrix ist im Folgenden zusammenfassend dargestellt. Mittels TEM wurden Nanokomposite mit HMDZ (Abbildung 17), PDMS (Abbildung 18) behandelten SAS-Partikeln sowie Nanokomposite mit unbehandelter Fällungskieselsäure (Abbildung 19) untersucht. Zu den Nanokompositen bei denen kolloidales SAS verwendet wurde, standen lediglich REM Aufnahmen zur Verfügung (Abbildung 20). TEM Aufnahmen mit einer geringeren Auflösung zeigten, dass das SAS-Nanomaterial in allen Polymeren homogen verteilt vorlag. Das Fehlen größerer Agglomerat-Strukturen in diesen Bildern deutet auf ein erfolgreiches Aufbrechen der Agglomerate durch die bei der Herstellung der Folien wirkenden Scherkräfte hin. Bei einer höheren Auflösung konnte bei den mit TEM untersuchten SAS-Nanomaterialien festgestellt werden, dass diese in Form von Aggregaten vorlagen. Auch wenn die Qualität der TEM-Bilder bei dieser starken Vergrößerung begrenzt ist, lässt sich der typische Aufbau einzelner SAS-Aggregate erkennen. Die hier vorliegenden SAS-Aggregate bestehen aus einer weintraubenartigen Ansammlung primärer Partikel, welche sich zu Aggregaten mit externen Dimensionen von etwa 100 bis 200 nm verbunden haben. Isoliert vorliegende Primärpartikel konnten in keiner Folie nachgewiesen werden. Die mittels REM aufgenommen Bilder der kolloidalen SAS-Nanokomposite erlauben keine eindeutige Strukturaufklärung des Nanomaterials. Im Vergleich zur reinen PE-LD Folie lässt sich jedoch an der Schnittkante des Polymers mit SAS-Partikeln eine deutlich rauere Oberfläche erkennen. Da während der Herstellung der kolloidalen SAS-Nanokomposite das wässrige Dispersionsmittel der kolloidalen SAS Dispersion vollständig verdampft wird, ist anzunehmen, dass die kolloidalen SAS Partikel sich während der Extrusion zu größeren Aggregaten zusammengelagert haben.

Eine quantitative Bestimmung der Partikelgrößenverteilung des im Polymer dispergierten SAS-Nanomaterials war aufgrund der limitierten Aufnahmequalität der elektronenmikroskopischen Methoden nicht möglich.



**Abbildung 17: TEM-Messung eines Nanokomposits mit HMDZ modifizierten SAS-Partikeln (3 % SAS im Polymer). Aufnahmen mit 10000-facher (links) und 50000-facher (rechts) Vergrößerung.**

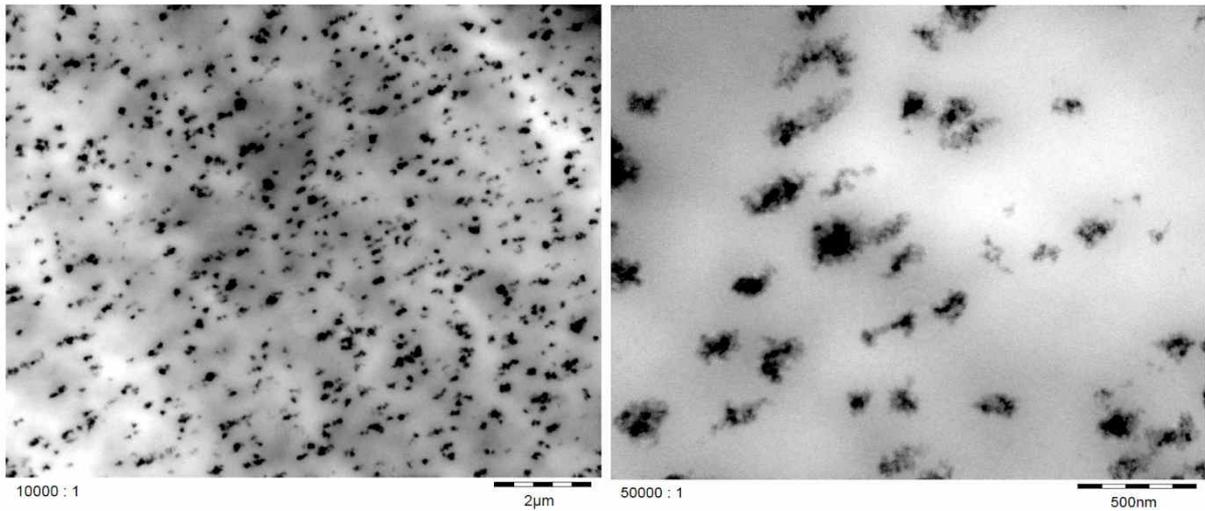


Abbildung 18: TEM-Messung eines Nanokomposits mit PDMS modifizierten SAS-Partikeln (3 % SAS im Polymer).  
Aufnahmen mit 10000-facher (links) und 50000-facher (rechts) Vergrößerung.

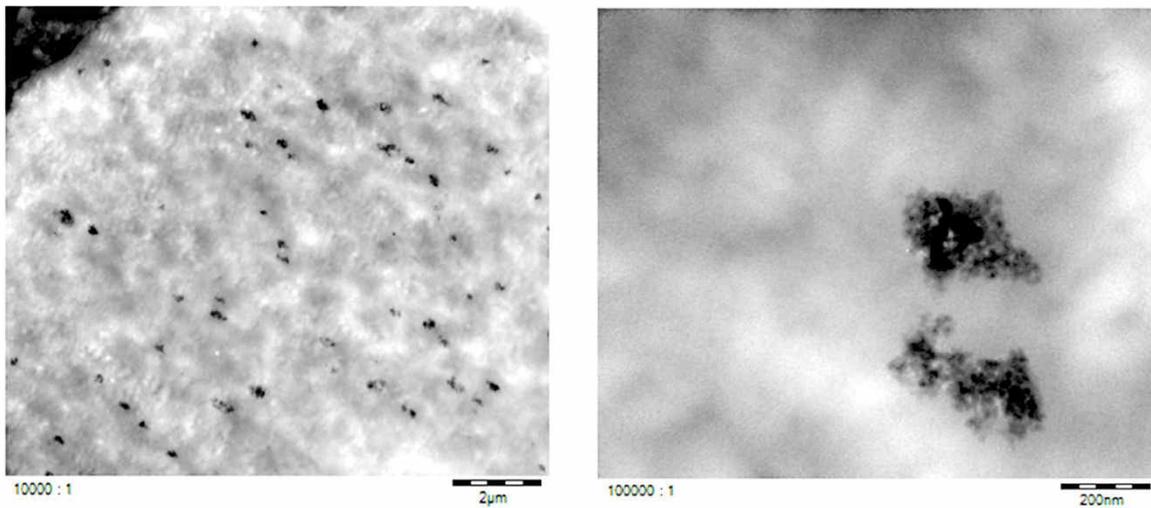


Abbildung 19: TEM-Messung eines Nanokomposits mit Fällungskieselsäure-Partikeln (0,5 % SAS im Polymer).  
Aufnahmen mit 10000-facher (links) und 100000-facher (rechts) Vergrößerung.

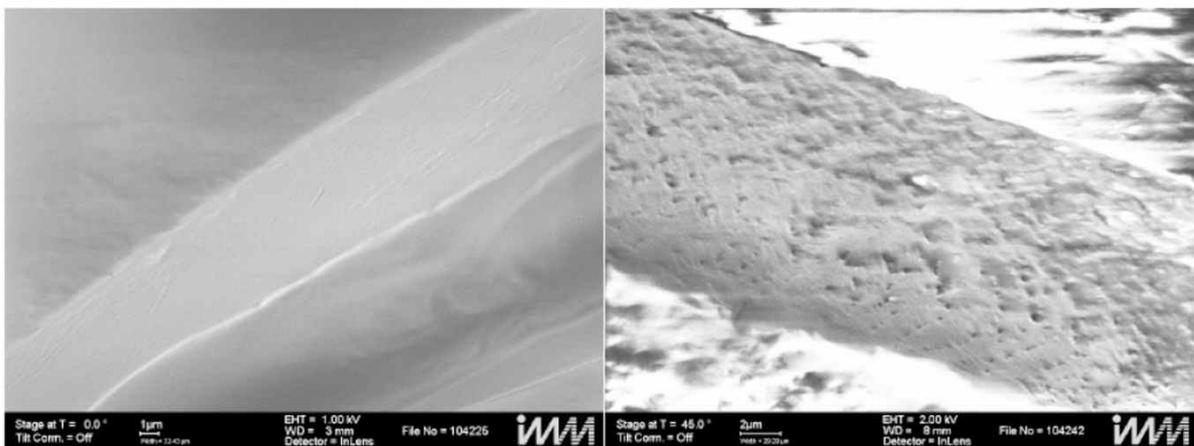


Abbildung 20: REM-Aufnahmen der Polymerschnittkanten von PE-LD Folien ohne (links) und mit kolloidalem SAS (3 % SAS im Polymer, rechts).

### 5.1.2 Herstellung von Dispersionen aus dem Referenz-Nanomaterial

Da für SAS kein geeigneter Konzentrationsdetektor existiert, erfolgte die massenbezogene Bestimmung von SAS-Partikeln anhand der gestreuten Lichtintensitäten bei AF4/MALS Messungen. Hierfür und für die weitere Methodenentwicklung sind Dispersionen, bei denen das eingewogene SAS Material vollständig dispergiert ist zwingend erforderlich. Während kolloidales SAS herstellungsbedingt bereits als stabile Dispersion zur Verfügung stand, mussten für die beiden hydrophoben SAS-Typen (HMDZ und PDMS behandelt) sowie für die hydrophile Fällungskieselsäure zunächst verschiedene Dispersionsmittel und Dispergiermethoden, wie in Kapitel 4.4.2.2.1 gelistet, getestet werden.

Die beiden hydrophoben SAS-Typen zeigten bereits bei 95 % v/v Ethanol eine gute Benetzbarkeit des pulverförmigen Nanomaterials. In 100 ml Messkolben wurden 100 mg des jeweiligen HMDZ bzw. PDMS modifizierten Nanomaterials eingewogen und bis zur Eichmarke mit 95 % v/v Ethanol aufgefüllt. Nachdem die Proben geschüttelt wurden, zeigten alle Proben eine milchige Trübung, bei der jedoch noch größere Agglomerate sichtbar waren, welche zur Sedimentation neigten. Nach 30 min im Ultraschall-Bad zeigten diese Dispersionen eine homogene Trübung ohne mit dem Auge erkennbare Partikel. Auch nach der Lagerung über eine Woche bei Raumtemperatur konnte sich kein sichtbares Absetzen des Nanomaterials erkennen lassen, wodurch 95 % v/v Ethanol als ein geeignetes Dispersionsmittel für diese beiden hydrophoben SAS-Typen weiterverwendet wurde.

Bei Dispersionsversuchen mit der hydrophilen Fällungskieselsäure zeigte sich, dass es zu keinerlei Benetzung des Nanomaterials bei der Verwendung organischer Lösemittel kommt. Bei der Verwendung der wässrigen Lebensmittelsimulanzien als Dispersionsmittel zeigte sich zwar eine bessere Benetzung, jedoch sedimentierte die eingewogene Menge Nanomaterial bereits nach kürzester Zeit in Form eines flockigen Niederschlags vollständig aus. Die Verwendung einer SDS-Tensidlösung ( $500 \text{ mg l}^{-1}$ ) zeigte zunächst eine noch bessere Benetzung des Nanomaterials, jedoch wies auch diese Dispersion bereits nach 24 h einen weißen Bodensatz und einen klaren Überstand (Abbildung 21) auf. Der flockige Bodensatz bei allen diesen Dispersionen deutete darauf hin, dass es durch bloßes Schütteln in dem jeweiligen Dispersionsmittel nicht möglich war, die zur Sedimentation neigenden Agglomeratstrukturen aufzubrechen. Daher wurden die Dispersionen zusätzlich noch mit den in Tabelle 14 gelisteten Geräten behandelt, um eine feinere Verteilung des Nanomaterials in der jeweiligen Dispersion zu erwirken. Mit Ausnahme der mittels  $500 \text{ mg l}^{-1}$  SDS-Lösung hergestellten Dispersion zeigten dennoch alle anderen Versuche keine erhöhte Stabilität. Jedoch konnte auch bei der Tensidlösung die hydrophobe Fällungskieselsäure erst unter Zuhilfenahme der Ultraschall-Sonotrode vollständig dispergiert werden. Hierzu wurde das in ein Zentrifugenvial eingewogene Nanomaterial mit der Tensidlösung versetzt und für 60 min mit der Ultraschall-Sonotrode bei 100 % Ausgangsleistung dispergiert. Zur Tensidlösung wurden vorab zusätzlich  $100 \text{ mg l}^{-1}$   $\text{NaN}_3$  gegeben um einen möglichen negativen Effekt des Biozids auf die Dispersionsstabilität zu erfassen. Das Zentrifugenvial stand während dieser Zeit in einem Eisbad, um die bei dem Dispersionsversuch entstandene Wärme abzuführen. Am Ende des Dispersionsversuchs wurde die Dispersion quantitativ mit der Tensidlösung in einen Messkolben überführt und bis zur Eichmarke aufgefüllt. Auf diese Weise wurde eine Dispersion mit einem SAS-Gehalt von  $500 \text{ mg l}^{-1}$  hergestellt, welche wie auch die hydrophoben SAS / 95 % v/v Ethanol Dispersionen eine milchige Trübung und keinerlei Bodensatz nach einer Woche Lagerung zeigten.

Die kolloidale SAS Dispersion wurde lediglich dahin gehend untersucht, ob es durch die Verwendung wässriger Dispersionsmittel und durch den Einsatz eines Biozids zu sichtbaren Niederschlägen und

somit zum Verlust der Dispersionsstabilität kolloidaler SAS-Partikel kommt. Da die Dispersion laut Hersteller bereits stabilisierende Additive enthielt, wurde zur Verdünnung der Herstellerdispersion eine Tensidlösung mit  $500 \text{ mg l}^{-1}$  SDS und  $100 \text{ mg l}^{-1}$   $\text{NaN}_3$  verwendet. Nachdem hierbei kein Bodensatz festgestellt werden konnte, wurde für folgende Versuche ebenfalls eine  $500 \text{ mg l}^{-1}$  SDS-Lösung zur Verdünnung der kolloidalen SAS Dispersion verwendet.



**Abbildung 21: SAS-Bodensatz nach 24 h bei wässrigen Dispersionen der hydrophilen Fällungskieselsäure. Hierbei ist SAS in (v.l.n.r.) 10 % v/v Ethanol, 3 % v/v Essigsäure, Reinstwasser und einer SDS-Lösung dispergiert. In dem Probenvial rechts wurde zum Vergleich eine SDS-Lösung ohne SAS-Partikel abgefüllt.**

Anhand der oben beschriebenen Verfahren wurde aus jedem SAS-Typ eine Stammdispersion hergestellt, welche der AF4-Methodenentwicklung einerseits und der Herstellung von Kalibrierstandards andererseits diene. Die Herstellung und SAS-Konzentrationen der jeweiligen Dispersionen ist in Tabelle 17 zusammengefasst.

**Tabelle 17: Herstellung der SAS-Stammdispersionen**

SAS-Typ	Dispersionsmittel	Dispergierv erfahren	SAS-Gehalt [ $\text{mg l}^{-1}$ ]
HMDZ-SAS	95 % v/v Ethanol	Schütteln + 60 min Ultraschall-Bad	1000
PDMS-SAS	95 % v/v Ethanol	Schütteln + 60 min Ultraschall-Bad	1000
Fällungskieselsäure	$500 \text{ mg l}^{-1}$ SDS $100 \text{ mg l}^{-1}$ $\text{NaN}_3$ in Reinstwasser	Rühren + 60 min Ultraschall-Sonotrode im Eisbad	500
Kolloidales SAS	$500 \text{ mg l}^{-1}$ SDS $100 \text{ mg l}^{-1}$ $\text{NaN}_3$ in Reinstwasser	Schütteln	1000

### 5.1.3 AF4/MALS-Methodenentwicklung

Anhand kleinerer Injektionsvolumina von 20 bis  $100 \mu\text{l}$  der Stammdispersionen wurde in ersten Vorversuchen das AF4/MALS Systems an die jeweiligen Eigenschaften des Nanomaterials angepasst. Hierzu wurden verschiedene der in Tabelle 11 gelisteten Optionen daraufhin getestet, ob sich bei AF4 Läufen ein eindeutiges Signal des jeweiligen Nanomaterials erzeugen ließ. Wurde eine geeignete

Einstellung gefunden, wurde die Methode lediglich an längere Injektionszeiten angepasst, um auch höhere Volumina injizieren zu können und somit SAS-Partikel in Dispersionen niedriger Konzentration messen zu können. Diese Methode diente letztendlich auch zur Überprüfung der Migrationsproben auf das Vorhandensein des jeweiligen SAS-Materials. Die einzelnen Methoden zur Trennung des jeweiligen SAS-Materials lassen sich wie folgt zusammenfassen.

### **HMDZ und PDMS modifizierte SAS-Partikel**

Da die HMDZ und PDMS behandelten SAS-Partikel aus demselben Ausgangsmaterial (pyrogene Kieselsäure) hergestellt wurden und sich lediglich hinsichtlich ihrer Oberflächenmodifikation unterscheiden, wurde für beide SAS-Typen dieselbe AF4/MALS Methode verwendet. Während der Injektionsphase von 28 min wurden Dispersionen mit einem Volumen von bis zu 5 ml (Verwendung einer 5 ml Probenschleife) in den AF4-Kanal injiziert. Bei einem Injektionsvolumenstrom von  $0,2 \text{ ml min}^{-1}$  wurde während dieser Zeit die Probe vollständig injiziert und mit einer Fokussierströmung von  $2,3 \text{ ml min}^{-1}$  fokussiert. Als Querfluss („Cross-Flow“) wurde ein Volumenstrom von  $1,5 \text{ ml min}^{-1}$  angelegt, welcher während der Injektionsphase konstant blieb. Der Übergang von Injektionsphase zur Elutionsphase wird mit der sogenannten Transitionsspanne beschrieben. Während der Transitionsspanne wird die Fokussierströmung heruntergefahren und die Elutionsströmung („Tip-Flow“) entsprechend erhöht. Für HMDZ und PDMS behandelte SAS-Partikel wurde eine Transitionsspanne von 0,2 min gewählt. Nach der Transition wurde der Querfluss zunächst für weitere 2 min konstant gehalten, bevor dieser innerhalb von 0,2 min durch einen linearen Verlauf auf  $0,0 \text{ ml min}^{-1}$  reduziert wurde. Ohne Querfluss wurde der Kanal mit einem Detektorfluss, welcher für den gesamten AF4-Lauf konstant auf  $1,0 \text{ ml min}^{-1}$  gehalten wurde, für weitere 30 min gespült. Der AF4 Kanal wurde mit einem  $500 \mu\text{m}$  „Spacer“ und einer 5 kDa RC Membran ausgestattet und auf konstante  $45 \text{ }^\circ\text{C}$  temperiert. Als Detektor wurde der 21-Winkel MALS Detektor verwendet, welcher auf 20 % Leistung betrieben wurde.

Der Verlauf des Querfluss-Trennfeldes sowie die sich aus der oben beschriebenen Methode ergebenden Fraktogramme für HMDZ und PDMS behandelte SAS-Partikel sind in Abbildung 22 (HMDZ) und Abbildung 23 (PDMS) dargestellt. Bei beiden Fraktogrammen erzeugte der 95 % v/v Ethanol Blindwert kein Signal, wohingegen die in 95 % v/v Ethanol dispergierten SAS-Partikel ein klares Signal erzeugten. In Vorversuchen war es nicht möglich, eine Methode zu entwickeln, welche eine Elution des Nanomaterials ermöglicht, solange noch ein Querfluss angelegt ist. Beide SAS-Typen eluierten erst, nachdem das Trennfeld vollständig eliminiert wurde. Dies deutete darauf hin, dass das Nanomaterial in Form von größeren Aggregaten vorlag oder Wechselwirkungen mit der Trennmembran auftraten. Bei beiden SAS-Typen konnte zu Beginn der Elutionsphase ein Void-Peak ( $t = 28 \text{ min} - 31 \text{ min}$ ) detektiert werden. Obwohl beide SAS-Typen aus demselben Ausgangsmaterial bestanden, konnten trotz identischer AF4-Methode unterschiedliche Peaksignale für die SAS-Partikel festgestellt werden. HMDZ behandelte SAS-Partikel erzeugten einen schärferen Peak als PDMS behandelte Partikel und eluierten von  $t = 32 \text{ min} - 43 \text{ min}$ , PDMS behandelte Partikel hingegen von  $t = 32 \text{ min} - 49 \text{ min}$ . Da beide Nanomaterialien auch bei den Dispersionsversuchen identisch behandelt wurden, lässt dies auf unterschiedliche starke Wechselwirkungen der Partikel untereinander und mit dem Dispersionsmittel, bedingt durch die unterschiedlichen Oberflächeneigenschaften, schließen.

Fraktogramme, wie sie bei PDMS behandelten SAS-Partikeln auftreten, sind nicht untypisch für die AF4. Im Gegensatz zur Chromatographie, bei welcher starke Wechselwirkungen mit dem Säulenmaterial auftreten, lassen sich aufgrund des Strömungsverhaltens der einzelnen Partikel

teilweise nur unsymmetrische Peakformen erzeugen, welche sich über einen breiten Elutionsbereich erstrecken.

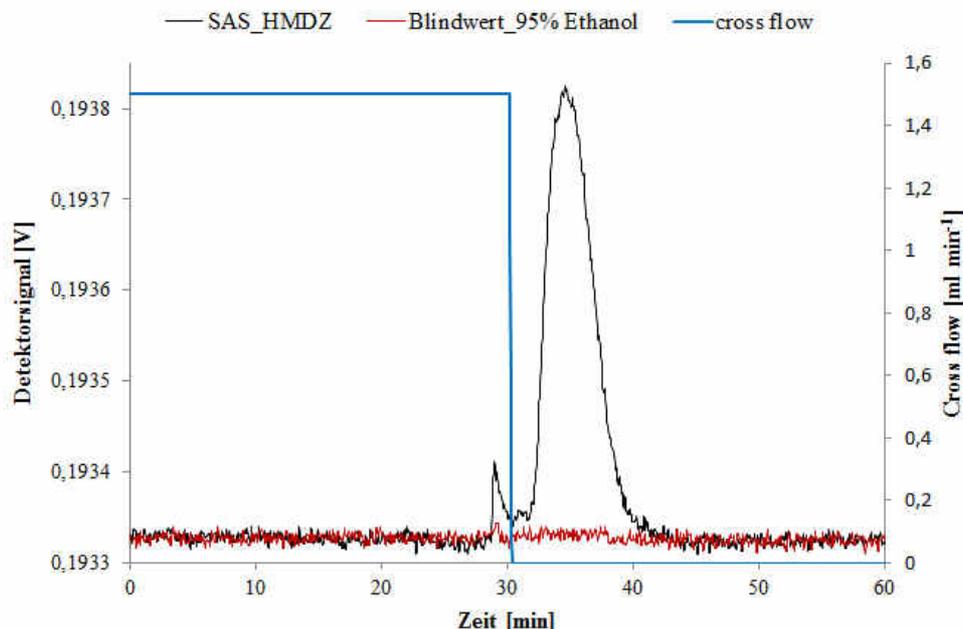


Abbildung 22: AF4 Trennmethode zur Fraktionierung von HMDZ modifizierten SAS-Partikeln. Signal des 92° Detektors einer 100 ng ml<sup>-1</sup> SAS in 95 % v/v Ethanol Dispersion (schwarz) sowie des Blindwerts des Dispersionsmittels (rot).

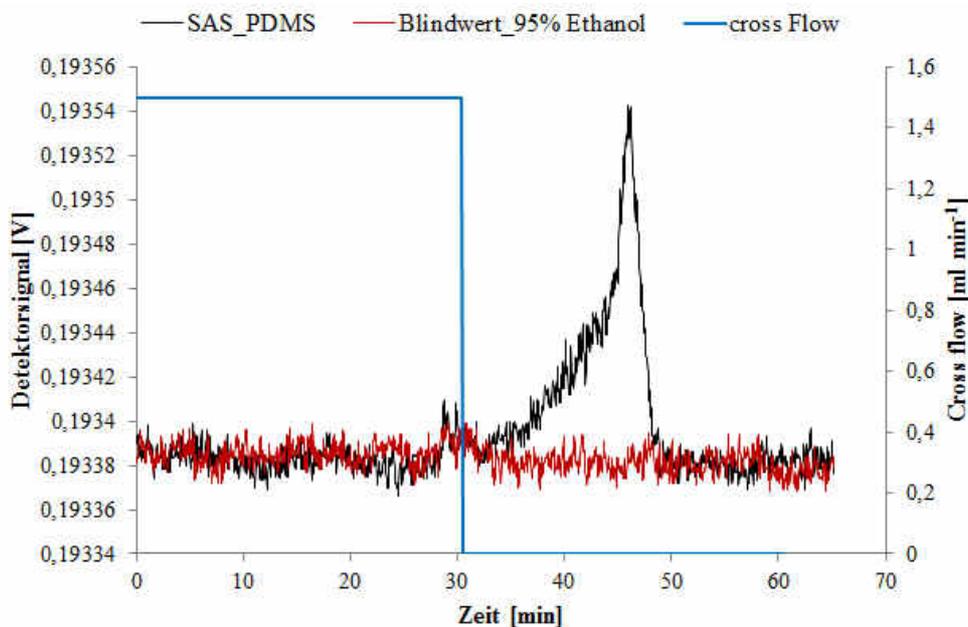


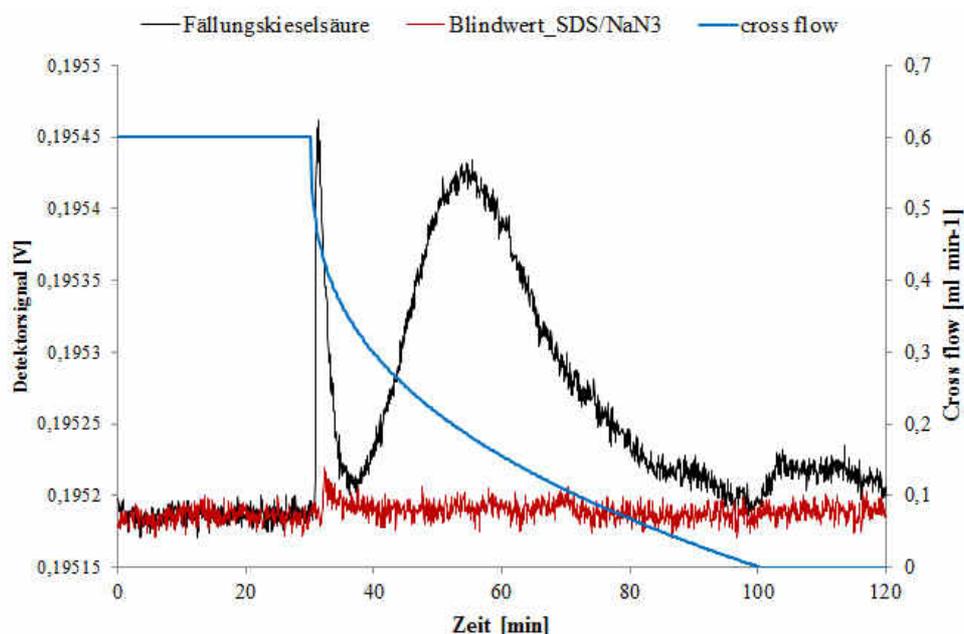
Abbildung 23: AF4 Trennmethode zur Fraktionierung von PDMS modifizierten SAS-Partikeln. Signal des 92° Detektors einer 100 ng ml<sup>-1</sup> SAS in 95 % v/v Ethanol Dispersion (schwarz) sowie des Blindwerts des Dispersionsmittels (rot).

### Fällungskieselsäure

Die in einer Tensidlösung dispergierten hydrophilen Partikel der Fällungskieselsäure zeigten ein von den hydrophoben SAS-Partikeln unterschiedliches Strömungsverhalten, weshalb eine entsprechend

andere Methode zur Fraktionierung entwickelt wurde. Die hydrophilen SAS-Partikel wurden bei einem Injektionsvolumen von 5 ml, einem Injektionsfluss von  $0,2 \text{ ml min}^{-1}$ , einem Fokussierfluss von  $1,1 \text{ ml min}^{-1}$  und einem Querfluss von  $0,6 \text{ ml min}^{-1}$  über 30 min hinweg in den AF4-Kanal injiziert und fokussiert. Nach einer Transitionsspanne (Übergang von Injektions- auf Elutionsphase) von 0,2 min wurde der Querfluss anhand einer parabolischen Funktion (Leistungsgradient: 0,35) innerhalb von 70 min eliminiert ( $\dot{V}_C = 0 \text{ ml min}^{-1}$ ). Diese nicht lineare Funktion ermöglicht eine schnellere Abnahme der Trennfeldstärke im vorderen Bereich des Fraktogramms, welche ein schnelleres Eluieren der Partikel bei einer breitgefächerten Partikelgrößenverteilung bewirken soll. Der Leistungsgradient kann in der Steuersoftware der AF4 mit Werten zwischen Null und Eins vorgegeben werden, wobei kleinere Werte eine raschere Abnahme des Trennfeldes zu Beginn der Elutionsphase bewirken. Ohne Querfluss wurde der Kanal für weitere 20 min gespült. Der Detektorfluss betrug für die gesamte Dauer des AF4-Laufs  $0,7 \text{ ml min}^{-1}$ . Der Kanal war mit einem  $500 \mu\text{m}$  „Spacer“ und einer 30 kDa PVDF Membran ausgestattet. Die Kanaltemperatur wurde auf  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  eingestellt und der 21-Winkel MALS Detektor bei 20 % Leistung betrieben.

Das Fraktogramm einer verdünnten Fällungskieselsäure Dispersion sowie der Verlauf des Trennfeldes sind in Abbildung 24 abgebildet. Während die Tensid-/Biozid-Lösung kein überlagerndes Signal erzeugte, konnte ein deutliches Signal für SAS-Partikel von  $t = 37 \text{ min} - 100 \text{ min}$  festgestellt werden. Zusätzlich zeigte sich bei Dispersionen zu diesem SAS-Typ ein ausgeprägter „Void“-Peak nach der Injektionsphase sowie ein schwacher „membrane release“ Peak am Ende des AF4-Laufs. Diese Signale sind auf Verunreinigungen bei der Herstellung des Nanomaterials zurückzuführen (z.B. Staub) oder auf nicht vollständig getrennte SAS-Partikel. Verschiedene Versuche mit unterschiedlich eingestellten Strömungen diese Signale zu minimieren führten jedoch zu keiner Besserung. SAS-Partikel eluierten bei dieser Methode bei noch aktivem Trennfeld vollständig aus dem Kanal.



**Abbildung 24:** AF4 Trennmethode zur Fraktionierung von Fällungskieselsäure-Partikeln. Signal des  $92^\circ$  Detektors einer  $200 \text{ ng ml}^{-1}$  SAS Dispersion dispergiert in einer  $500 \text{ mg l}^{-1}$  SDS /  $100 \text{ mg l}^{-1}$   $\text{NaN}_3$  Lösung (schwarz), sowie des Blindwerts des Dispersionsmittels (rot).

### Kolloidale SAS-Partikel

Für verdünnte kolloidale SAS Dispersionen wurde die AF4-Methode wie folgt optimiert. Während einer Injektionsdauer von 40 min wurde der Querfluss bei  $0,8 \text{ ml min}^{-1}$  konstant gehalten, die Probe wurde mit einem Injektionsfluss von  $0,2 \text{ ml min}^{-1}$  injiziert und mit einem Fokussierfluss von  $1,45 \text{ ml min}^{-1}$  fokussiert. Die Transitionsspanne betrug 0,2 min, nach welcher die Fokussierströmung eliminiert wurde, der Querfluss jedoch für weiter 15 min bei  $0,8 \text{ ml min}^{-1}$  konstant gehalten wurde. Im Anschluss daran wurde der Querfluss innerhalb einer Minute durch einen linearen Verlauf eliminiert und der Kanal für weitere 25 min gespült. Der Detektorfluss betrug für den gesamten AF4-Lauf  $0,85 \text{ ml min}^{-1}$ . Wie bei der hydrophilen Fällungskieselsäure wurde der Kanal mit einem  $500 \mu\text{m}$  „Spacer“ und einer 30 kDa PVDF Membran ausgestattet sowie auf  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  temperiert. Die Laserleistung des 21-Winkel MALS Detektors wurde jedoch auf 50 % der maximalen Leistung erhöht.

Das Fraktogramm der SAS-Dispersion, des Blindwerts des Dispersionsmittels, sowie der Trennfeldverlauf ist für kolloidale SAS-Partikel in Abbildung 25 abgebildet. Der  $500 \text{ mg l}^{-1}$  SDS /  $100 \text{ mg l}^{-1}$   $\text{NaN}_3$  Dispersionsmittel Blindwert erzeugte in dem AF4-Fraktogramm wiederum kein Signal, wohingegen die SAS-Partikel einen deutlichen Ausschlag im Fraktogramm erzeugten. Kolloidale SAS-Partikel eluierten von  $t = 43 \text{ min} - 52 \text{ min}$ , während der Querfluss noch konstant gehalten wurde. Nach der vollständigen Eliminierung des Trennfeldes ließ sich ein weiterer Peak ab  $t = 55 \text{ min}$  erkennen. Dieses Signal lässt sich auf Verunreinigungen bzw. Additive in der Herstellerdispersion des kolloidalen SAS-Materials zurückführen, welche, bedingt durch eine Druckschwankung am Ende des AF4-Laufs, sich auf das Signal auswirken.

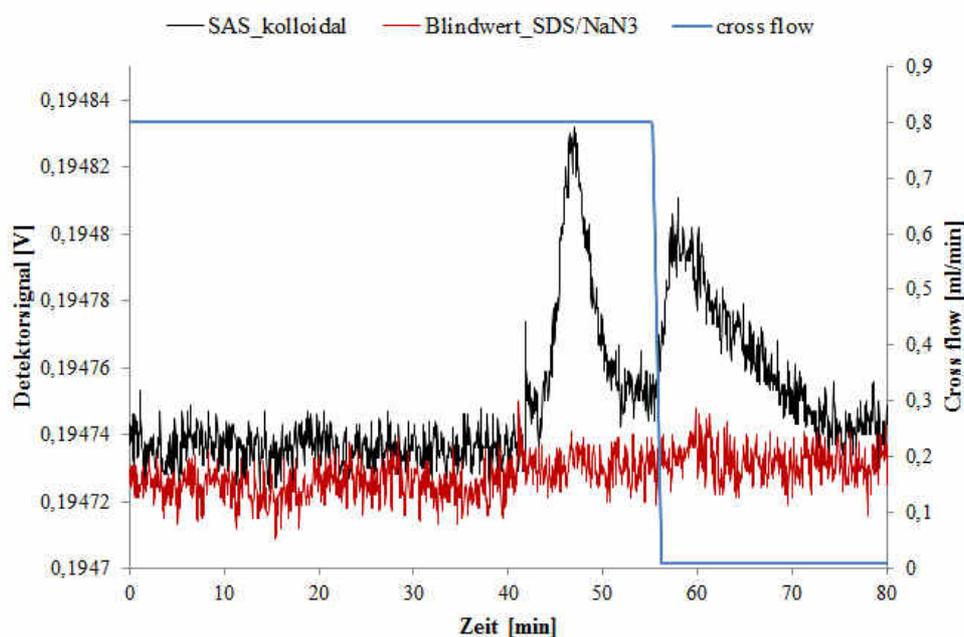
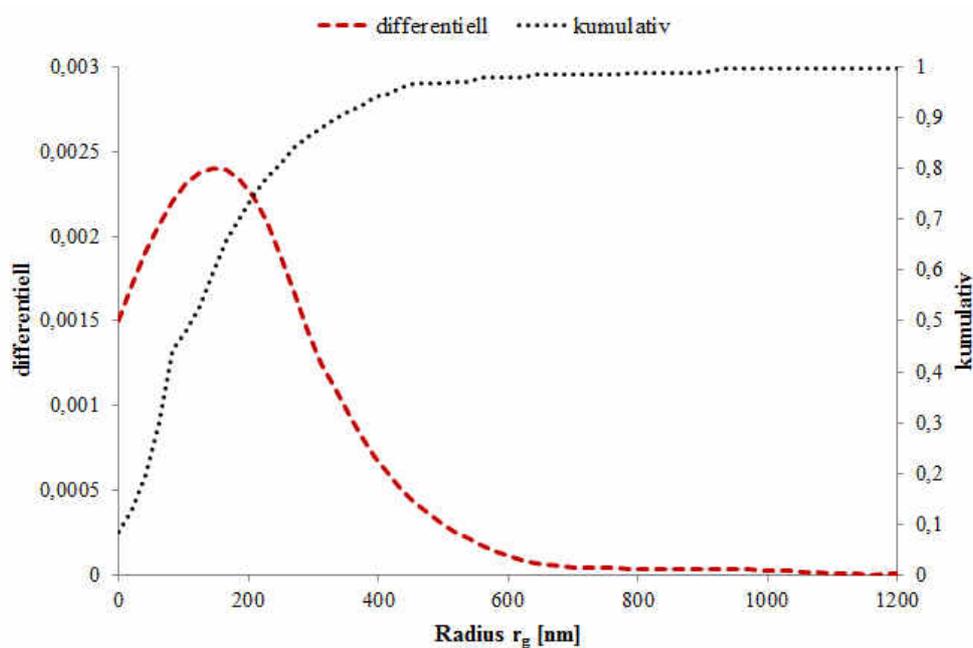


Abbildung 25: AF4 Trennmethode zur Fraktionierung von kolloidalen SAS-Partikeln. Signal des  $92^\circ$  Detektors einer  $100 \text{ ng ml}^{-1}$  SAS Dispersion dispergiert in einer  $500 \text{ mg l}^{-1}$  SDS /  $100 \text{ mg l}^{-1}$   $\text{NaN}_3$  Lösung (schwarz) sowie des Blindwerts des Dispersionsmittels (rot).

#### 5.1.4 Partikelgrößenverteilung der dispergierten SAS-Partikel

Die Bestimmung der Partikelgrößen der in 95 % v/v Ethanol dispergierten HMDZ modifizierten SAS-Partikeln erfolgte anhand eines Berry-Plots der zweiten Ordnung. Hierfür wurden die Streulichtwinkel von  $12^\circ$  bis  $100^\circ$  berücksichtigt. Das Weglassen der höheren Winkel ist bei der Berechnung der

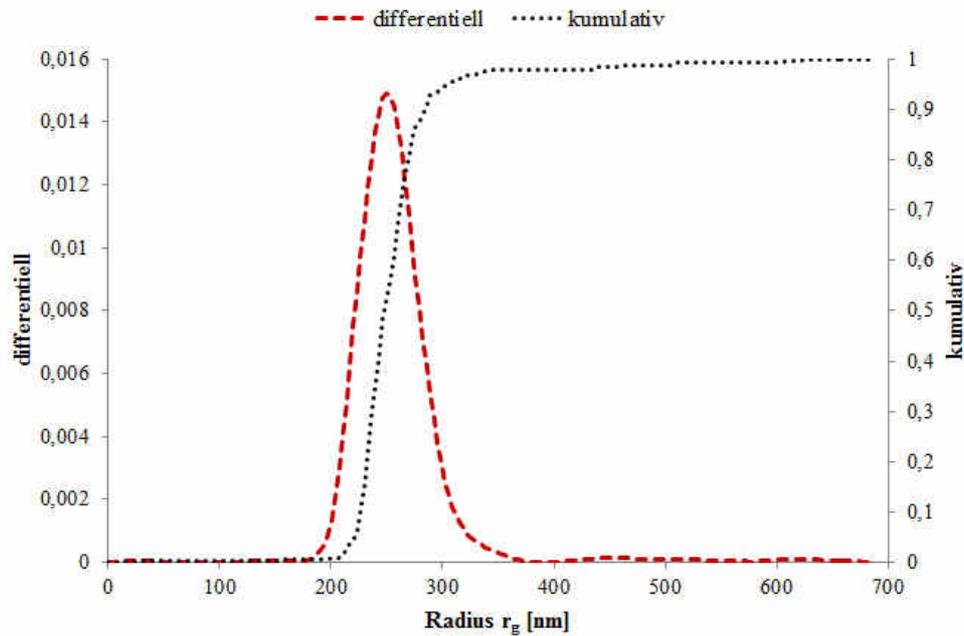
Partikelgrößen unproblematisch, da gerade die Extrapolation zu  $0^\circ$  entscheidend ist. Kleinere Winkel haben somit bei der Auswertung der Daten eine größere Bedeutung. Die Berechnung der Partikelgrößen für HMDZ behandelte SAS-Partikel lässt sich in Form einer kumulativen und der entsprechenden differentiellen Kurve darstellen (Abbildung 26). Die Auswertung der entsprechenden MALS Signale ergab Partikelradien (errechnet als Schwerpunktsradien  $r_g$ ) im Bereich von 70 nm bis 800 nm, wobei Partikel mit  $r_g = 125$  nm am häufigsten gemessen wurden. Durch Umrechnung auf eine geometrische Größe (vgl. Gleichung 43) ergibt sich hieraus der Radius einer kompakten Kugel mit 160 nm. Diese Berechnung wurde jedoch unter Annahme eines sphärischen Partikels getroffen, welche, wie aus den TEM-Aufnahmen bekannt, nicht für SAS-Partikel zutreffend sind. Dennoch zeigt sich anhand dieser Auswertung, dass die mittels TEM gefundenen Partikelgrößen auch in den Referenzdispersionen enthalten sind und detektiert werden können. Die hierbei angewandte Methode der Dispersionsherstellung und AF4/MALS-Messungen ist somit hinsichtlich detektierbarer Partikelgrößen zur Messung von aus dem Polymer migrierter SAS-Partikel geeignet.



**Abbildung 26: Partikelgrößenverteilung der in 95 % v/v Ethanol dispergierten HMDZ behandelten SAS-Partikel ( $100 \text{ ng ml}^{-1}$ ).**

Die Bestimmung der Partikelgrößen der in 95 % v/v Ethanol dispergierten PDMS modifizierte SAS-Partikeln erfolgte anhand eines Berry-Plots zweiten Grades (vgl. Gleichung 35). Hierfür wurden die Streulichtwinkel von  $24^\circ$  bis  $134^\circ$  berücksichtigt. Das Ergebnis der Berechnung der Partikelgrößen für PDMS behandelte SAS-Partikel ist in Abbildung 27 dargestellt. Es wurden Partikelradien ( $r_g$ ) im Bereich von 100 nm bis 400 nm gefunden, wobei Partikel mit 250 nm am häufigsten gemessen wurden. Die Umrechnung auf eine geometrische Größe ergibt einen Kugelradius von etwa 320 nm. Diese Partikel- bzw. Aggregatsgröße war zwar in den TEM-Aufnahmen nicht erkennbar, die Auswertung der TEM-Bilder erfolgte jedoch nicht quantitativ. Zudem stellt die Umrechnung des Schwerpunktsradius auf eine geometrische Größe nur eine Näherung dar, die auf nicht vollständig realen Annahmen getroffen werden konnte. SAS liegt nicht in Form einfacher geometrischer Gebilde vor (z.B. kompakte Kugel), sondern bildet eine verzweigte Aggregatsstruktur aus elliptischen Primärpartikeln, für welche eine exakte Umrechnung von  $r_g$  auf eine geometrische Größe nur approximativ möglich ist. Dennoch zeigt sich anhand dieser näherungsweise Auswertung, dass die errechneten geometrischen Aggregatsgrößen mit denen mittels TEM gefundenen Aggregats-

durchmessern (100 nm bis 200 nm) übereinstimmen und somit von der AF4/MALS Methode abgedeckt werden.



**Abbildung 27: Partikelgrößenverteilung der in 95 % v/v Ethanol dispergierten PMDS behandelten SAS-Partikel ( $100 \text{ ng ml}^{-1}$ ).**

Zur Auswertung der Partikelgrößen der in einer Tensidlösung dispergierten Fällungskieselsäure-Partikeln wurde ein Berry-Plot der zweiten Ordnung angewandt, für welchen die Streulichtwinkel von  $12^\circ$  bis  $148^\circ$  berücksichtigt wurden. In der Dispersion wurden Partikelgrößen ( $r_g$ ) von 40 nm bis 800 nm gemessen, mit der häufigsten Anzahl an 110 nm Partikeln. Das geometrische Kugeläquivalent entspricht einem Radius von 140 nm. Die Auswertung zeigt, dass die mittels TEM gefundenen Partikelgrößen (100 nm bis 200 nm) auch in den Referenzdispersionen der Fällungskieselsäure enthalten sind und somit von der AF4/MALS Methode abgedeckt werden.

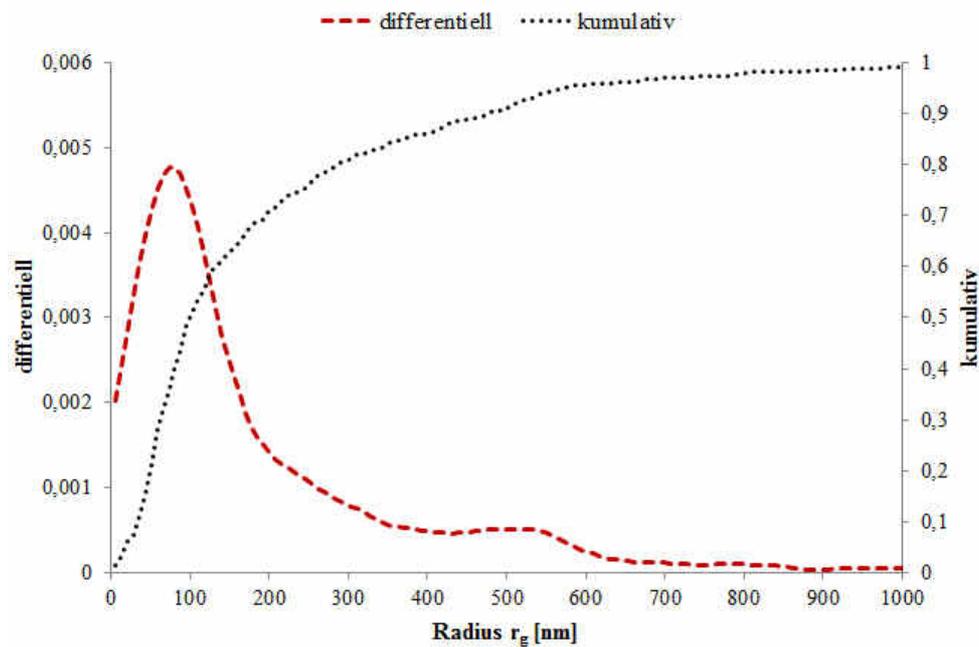


Abbildung 28: Partikelgrößenverteilung der in einer Tensidlösung dispergierten Fällungskieselsäure-Partikel ( $200 \text{ ng ml}^{-1}$ ).

Die Auswertung der Streulichtsignale der AF4 Läufe der kolloidalen SAS Dispersionen ergab erwartungsgemäß die engste Verteilung der enthaltenen Partikelgrößen (im Vergleich zu den aggregierten SAS-Typen). Die Berechnung erfolgte anhand eines Zimm-Plots, bei welchem die  $12^\circ$  bis  $140^\circ$  Streuwinkel berücksichtigt wurden. Hierbei wurden Radien ( $r_g$ ) von 4 nm bis 14 nm gefunden, mit der höchsten Anzahl an Partikel mit 6 nm-Radien. Unter der Annahme kompakter Kugeln entspricht dies einem Kugeldurchmesser von etwa 15 nm. Dies ist in guter Näherung mit den Herstellerangaben (12 nm), da der Detektor aufgrund des verwendeten Lasers bei diesen Partikelgrößen an die Grenze seiner Auflösung stößt. Die zur Verfügung gestellten REM-Aufnahmen des Nanokomposits zeigten, dass die kolloidalen SAS-Partikel während der Herstellung der Folien sich zu Aggregaten zusammengelagert haben. Eine Aussage darüber, ob dennoch SAS-Partikel in ihrer ursprünglichen Form enthalten waren, ist aufgrund des schlechten Auflösungsbereichs von REM-Geräten nicht möglich. Die hier erarbeitete Methode zur Trennung von kolloidalen SAS-Partikeln kann daher als „worst-case“-Methode angesehen werden, welcher der Untersuchung auf das Vorhandensein der kleinstmöglichen SAS-Partikel in den Migrationsproben dient. Das Vorhandensein von zu Aggregaten zusammengelagerter Partikel in den Migrationsproben würde sich trotz der auf kolloidale Partikel abzielenden AF4 Methode im AF4 Fraktogramm sichtbar machen, sodass auch mit der zuvor beschriebenen Methode eine Aussage über das Migrationspotential solcher Partikel getroffen werden kann.

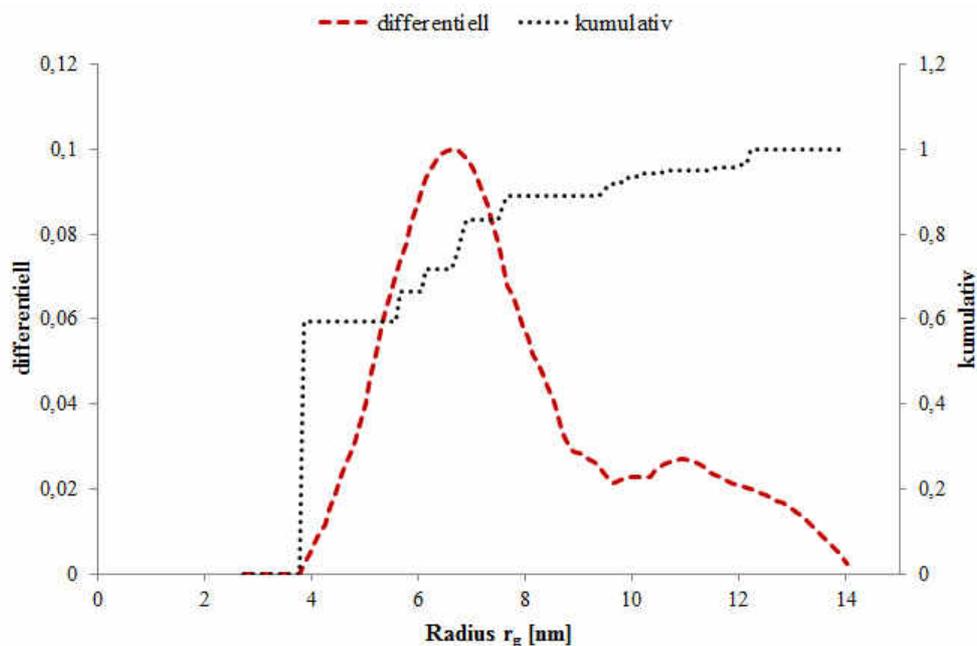


Abbildung 29: Größenverteilung der in SDS-Tensidlösung dispergierten kolloidalen SAS-Partikel (100 ng ml<sup>-1</sup>).

#### 5.1.5 Kalibrierung des Systems anhand von Kalibrierdispersionen

Zum massenbezogenem Nachweis der SAS-Partikel wurden Kalibrierstandards aus den jeweiligen Stammdispersionen (Tabelle 17) hergestellt. Ziel war es eine Korrelation zwischen injizierter Masse des Nanomaterials und den gemessenen Lichtstreuintensitäten zu erstellen. Hierfür wurden nacheinander zunächst das Dispersionsmittel allein, dann in aufsteigender Reihenfolge die Dispersionen mit unterschiedlichen Mengen dispergierten Nanomaterials in die AF4 injiziert. Zur Bestimmung der Gesamt-Peakfläche durch Integration einzelner Winkel wurden diejenigen Signale ausgewählt, welche eine eindeutige Unterscheidung zu dem Signal der nächstniedrigeren und nächsthöheren Konzentration des Nanomaterials in der Dispersion zuließen. Für die in dieser Arbeit verwendeten SAS-Typen wurden alle Winkel des Detektors mit Ausnahme des 7° und 164° Winkels verwendet. Alle Proben wurden mittels einer vollständig geladenen 5 ml Probenschleife in das System injiziert. Alle im Folgenden präsentierten Ergebnisse stellen Mittelwerte aus Dreifachansätzen dar.

Zur Bestimmung der Gerätenachweisgrenze für HMDZ und PDMS modifizierte SAS-Partikel wurde aus der Stammdispersion eine Standardreihe durch Verdünnung mit 95 % v/v Ethanol hergestellt. Die Konzentrationen der einzelnen Standards betragen hierbei 0 (95 % v/v Ethanol Blindwert), 5, 10, 25, 50 und 125 ng ml<sup>-1</sup>. Bei den gewählten Konzentrationen konnten die Signale der einzelnen Standards sowohl von den anderen Kalibrierstandards als auch vom Blindwert des Dispersionsmittel unterschieden werden (HMDZ: Abbildung 30, links; PDMS: Abbildung 31, links). Zur Egalisierung von Schwankungen der gestreuten Lichtintensitäten einzelner Winkel erfolgte die Bestimmung der Nachweisgrenze anhand der Gesamt-Peakfläche. Die auf das Injektionsvolumen bezogene Gesamt-Peakfläche bezogen auf die nominelle Konzentration des Kalibrierstandards ist für HMDZ modifizierte SAS-Partikel in Tabelle 18, sowie graphisch in Abbildung 30 (rechts) dargestellt. Die Ergebnisse für PDMS behandelte SAS-Partikel sind entsprechend in Tabelle 19, sowie Abbildung 31 (rechts) zusammengefasst.

Die graphische Darstellung der ermittelten Gesamt-Peakflächen über die jeweiligen Konzentrationen der SAS-Standards zeigte, dass ein klarer Zusammenhang zwischen injizierter Masse des Nanomaterials und der gestreuten Lichtintensität besteht. Auch wenn eine solche Korrelation in der

„klassischen“ AF4-Analytik keine Rolle spielt, so lässt sich mittels dieser Methode eine Quantifizierung eines Nanomaterials anhand gemessener Streuintensitäten bewerkstelligen. Im Falle von HMDZ modifizierten SAS-Partikeln ergab sich im untersuchten Konzentrationsbereich ein linearer Zusammenhang zwischen Konzentration der Partikel und gemessener Streuintensität. Alle injizierten Dispersionen ergaben dabei Flächenwerte, welche sich eindeutig der jeweiligen Konzentration zuordnen und von anderen Konzentrationen unterscheiden ließen. Da auch eine Unterscheidung, sowohl im AF4-Fraktogramm als auch anhand der Gesamt-Peakflächen zum Blindwert möglich war, wurde der Standard mit der geringsten Konzentration als Nachweisgrenze angenommen. Bei 5 ml Injektionsvolumen entsprach dies einer Konzentration von  $5 \text{ ng ml}^{-1}$ .

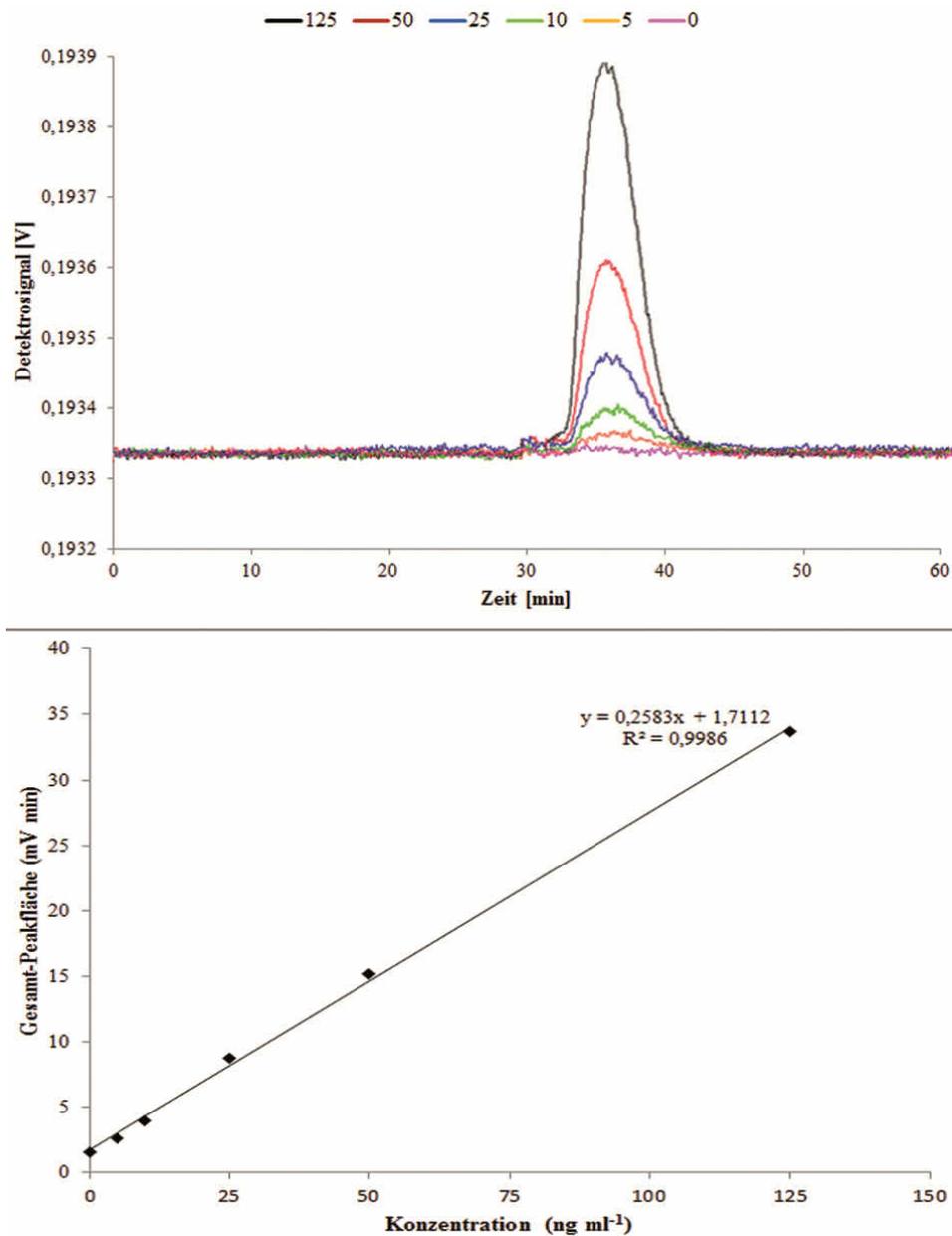


Abbildung 30: Fraktogramme der HMDZ-SAS-Kalibrierstandards. Oben: Signale des 92° Detektors, unten: Kalibrierkurve ermittelt aus der Gesamt-Peakfläche aller Detektorwinkel.

**Tabelle 18: Gesamt-Peakflächen der HMDZ- SAS-Kalibrierstandards, bezogen auf ein Injektionsvolumen von 5 ml.**

Konzentration des Standards [ng ml <sup>-1</sup> ]	Absolute injizierte Masse [ng]	Gesamt-Peakfläche [mV min]
0	0	1,58
5	25	2,60
10	50	3,98
25	125	8,78
50	250	15,16
125	625	33,71

Dispersionen aus PDMS modifizierter SAS-Partikel erzeugten ebenfalls einen linearen Verlauf der Kalibrierkurve. Anhand der breiteren Peakform, bei vergleichbarer maximaler Signalintensitäten, ergaben sich bei PDMS behandelten SAS-Dispersionen insgesamt größere Gesamt-Peakflächen im Vergleich zu Dispersionen aus HMDZ behandelten SAS-Partikeln. Die ermittelten Peakflächen ließen sich ebenfalls eindeutig einer bestimmten Konzentration zuordnen und vom Blindwert des Dispersionsmittels unterscheiden. Als Nachweisgrenze bei 5 ml Injektionsvolumen wurde daher der Standard mit einer Konzentration von 5 ng ml<sup>-1</sup> angenommen.

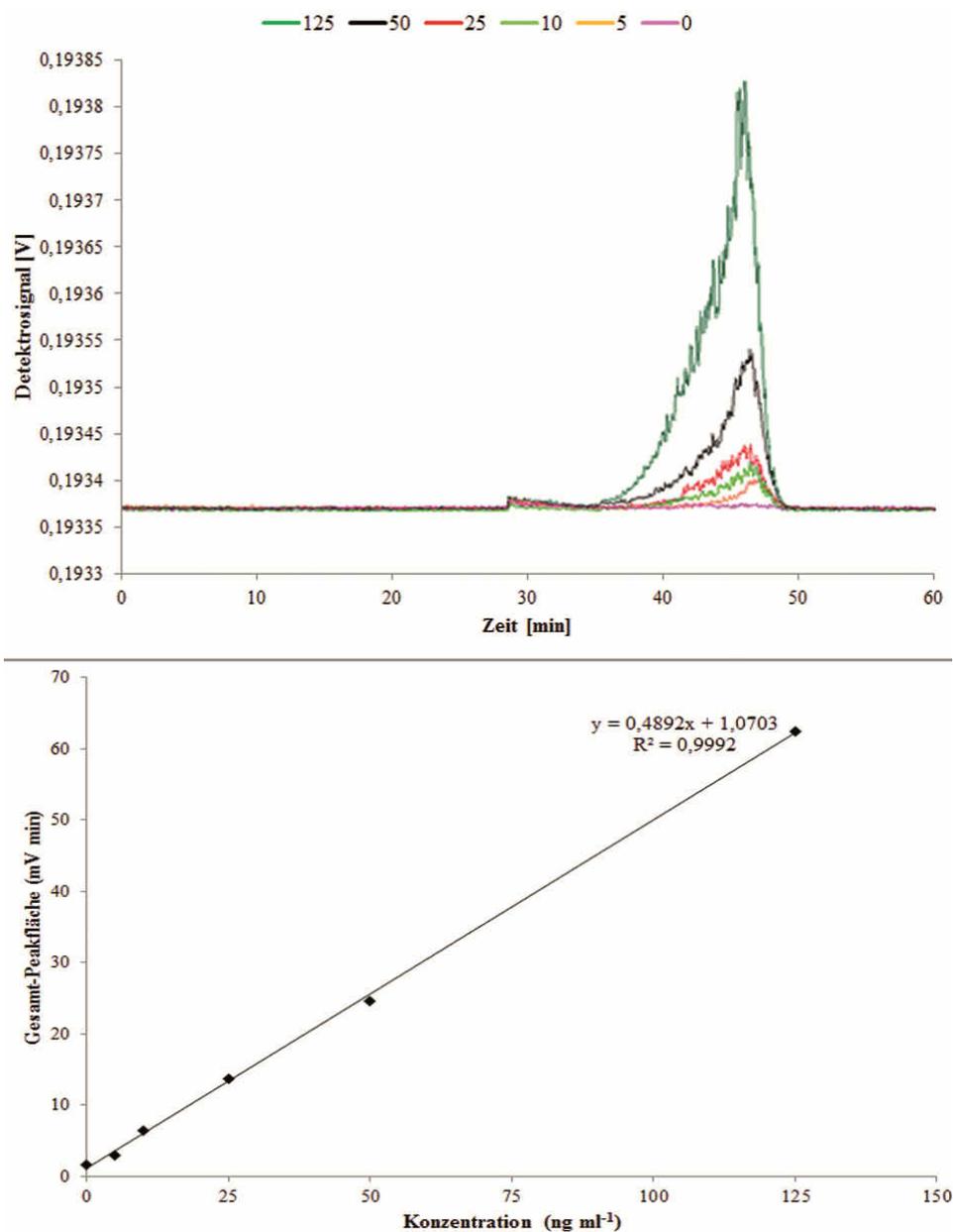


Abbildung 31: Fraktogramme der PDMS-SAS-Kalibrierstandards. Oben: Signale des 92° Detektors, unten: Kalibrierkurve ermittelt aus der Gesamt-Peakfläche aller Detektorwinkel.

Tabelle 19: Gesamt-Peakfläche der PDMS-SAS-Kalibrierstandards, bezogen auf ein Injektionsvolumen von 5 ml.

Konzentration des Standards [ng ml <sup>-1</sup> ]	Absolute injizierte Masse [ng]	Gesamt-Peakfläche [mV min]
0	0	1,57
5	25	2,89
10	50	6,37
25	125	13,27
50	250	24,51
125	625	62,53

Zur Kalibrierung des Systems bezüglich hydrophiler Fällungskieselsäure-Partikel wurden aus der Stammdispersion Kalibrierdispersionen mit 0, 10, 25, 50, 100, 150 und 200 ng ml<sup>-1</sup> hergestellt. Zur

Verdünnung und als Dispersionsmittel Blindwert diente eine  $500 \text{ mg l}^{-1}$  SDS und  $100 \text{ mg l}^{-1}$   $\text{NaN}_3$ -Lösung. Die AF4-Läufe der einzelnen Dispersionen erzeugten Signale, die von anderen Standards und dem Dispersionsmittel-Blindwert unterschieden werden konnten (Abbildung 32). Eine Auftragung der Gesamt-Peakfläche gegen die entsprechende Konzentration des jeweiligen Standards ergab im Gegensatz zu den hydrophoben SAS-Typen keinen linearen Verlauf der Kalibrierkurve. Dennoch konnte eine eindeutige Korrelation zwischen injizierter Masse und Signalintensität hergestellt werden. Der zu den hydrophoben SAS-Typen unterschiedliche Kurvenverlauf könnte auf strukturelle Unterschiede im Aufbau einzelner SAS-Partikel/Aggregate zurückzuführen sein. Als kleinster Standard ließ sich eine Dispersion mit einem SAS Gehalt von  $10 \text{ ng ml}^{-1}$  bzgl. der Gesamt-Peakfläche noch vom Blindwert unterscheiden. Diese Konzentration wurde daher bei einem Injektionsvolumen von 5 ml als Nachweisgrenze festgelegt.

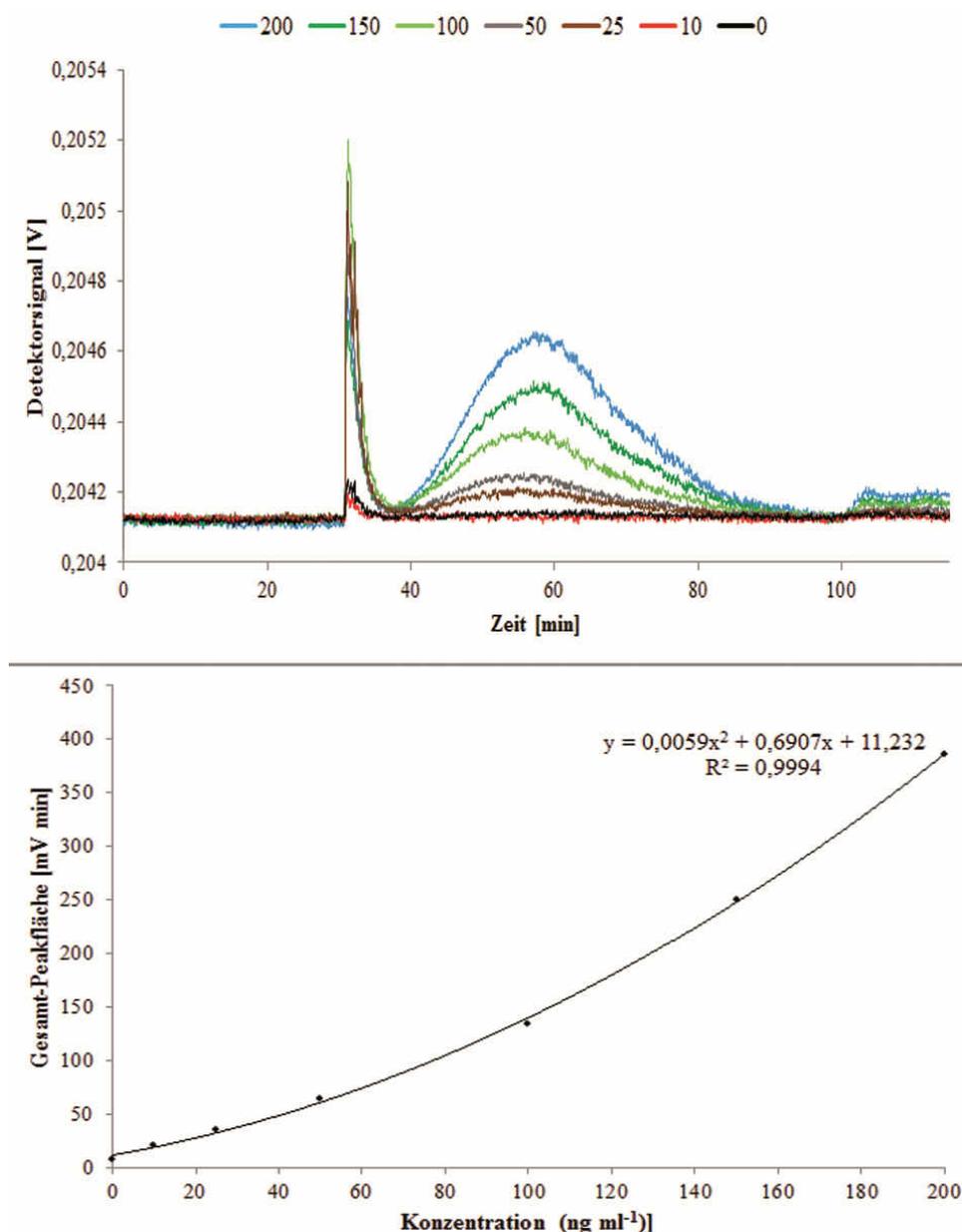


Abbildung 32: Fraktogramme der Fällungskieselsäure-Kalibrierstandards. Oben: Signale des  $92^\circ$  Detektors, unten: Kalibrierkurve ermittelt aus der Gesamt-Peakfläche aller Detektorwinkel.

**Tabelle 20: Errechnete Gesamt-Peakfläche der einzelnen Fällungskieselsäure-Kalibrierstandards anhand der MALS Detektorsignale. Ergebnisse bezogen auf ein Injektionsvolumen von 5 ml.**

Konzentration des Standards [ng ml <sup>-1</sup> ]	Absolute injizierte Masse [ng]	Gesamt-Peakfläche [mV min]
0	0	7,01
10	50	20,2
25	125	37,5
50	250	63,9
100	500	132,2
150	750	253,3
200	1000	386,3

Die Bestimmung der Nachweisgrenze bzgl. kolloidaler SAS-Partikel erfolgte anhand einer Standardreihe mit Dispersionen mit Konzentrationen von 0, 50, 75, 100, 125, 175 und 200 ng ml<sup>-1</sup>. Hierzu wurde die Stammdispersion mit einer 500 mg l<sup>-1</sup> SDS und 100 mg l<sup>-1</sup> NaN<sub>3</sub> Lösung verdünnt, welche zugleich als Dispersionsmittel-Blindwert diente. Im Vergleich zu allen anderen SAS-Typen erzeugten kolloidale SAS-Dispersionen die niedrigsten Signalintensitäten. Aufgrund der Tatsache, dass hierbei das Nanomaterial in Form von dispergierten Primärpartikeln vorliegt, sind pro Partikel weniger Streuzentren enthalten als bei einem aggregiertem Nanomaterial. In Abbildung 33 sind die einzelnen Signalverläufe der Kalibrierstandards übereinander gelegt sowie der Verlauf, der sich aus den Signalintensitäten ergebenden Kalibrierkurve. Da der Standard mit einer Konzentration von 50 ng ml<sup>-1</sup> bei keinem Detektorwinkel ein vom Grundsignal des Blindwerts unterschiedliches Signal lieferte, wurde er nicht zur Berechnung der Kalibrierkurve verwendet. Die nächsthöhere Konzentration von 75 ng ml<sup>-1</sup> lieferte hingegen über alle Detektorwinkel hinweg Signale, welche eine Unterscheidung zum Blindwert und zur Berechnung der Kalibrierfunktion verwendet werden konnten. Die Nachweisgrenze bei einer 5 ml Probeninjektion ist somit für kolloidale SAS-Partikel 75 ng ml<sup>-1</sup>.

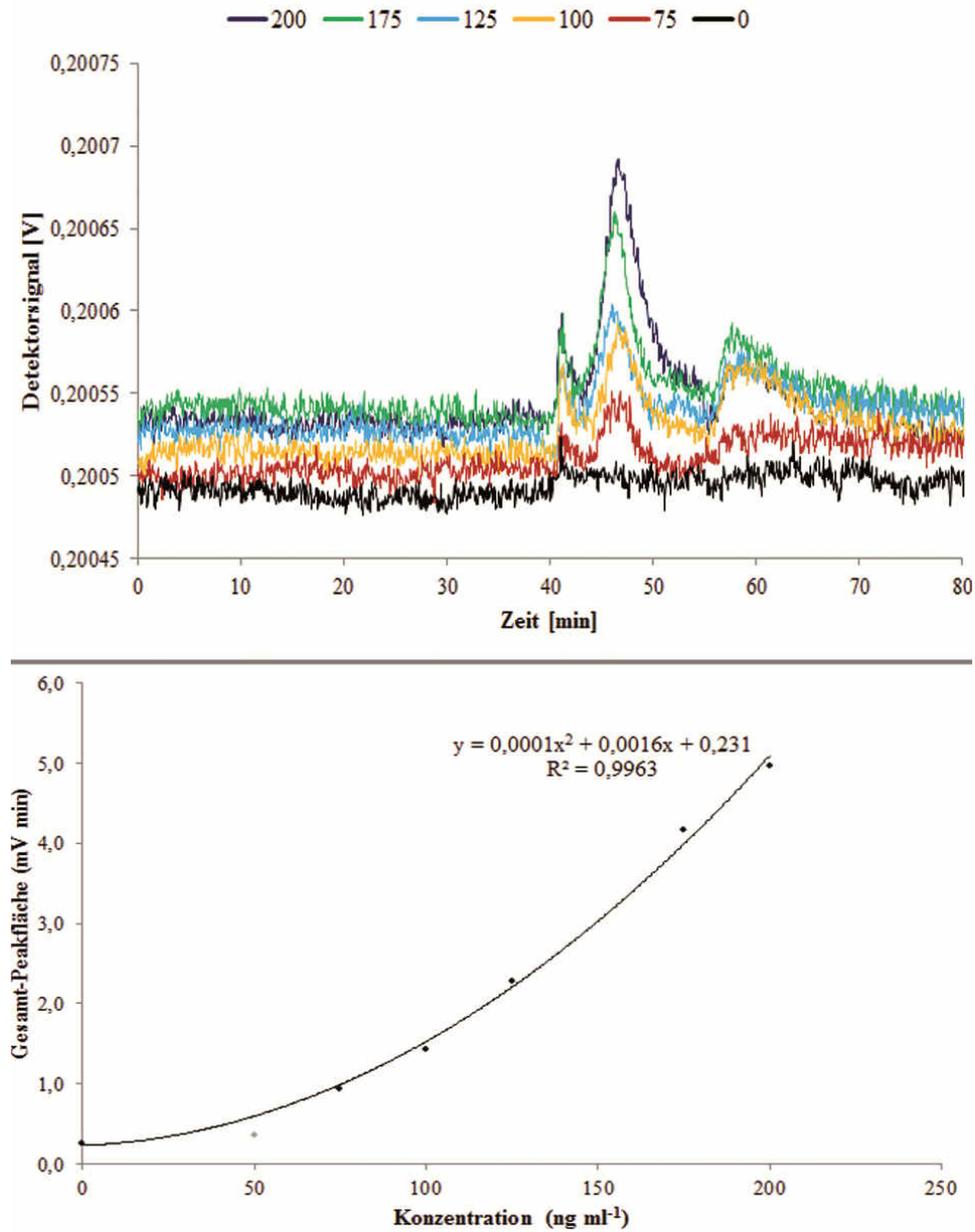


Abbildung 33: Fraktogramme der kolloidalen SAS-Kalibrierstandards. Oben: Signale des 92° Detektors, unten: Kalibrierkurve ermittelt aus der Gesamt-Peakfläche aller Detektorwinkel.

**Tabelle 21: Errechnete Gesamt-Peakfläche der einzelnen kolloidalen SAS-Kalibrierstandards anhand der MALS Detektorsignale. Ergebnisse bezogen auf ein Injektionsvolumen von 5 ml.**

Konzentration des Standards [ng ml <sup>-1</sup> ]	Absolute injizierte Masse [ng]	Gesamt-Peakfläche [mV min]
0	0	0,26
50	250	0,36
75	375	0,93
100	500	1,44
125	625	2,28
175	825	4,16
200	1000	4,96

### 5.1.6 Bestimmung der Stabilität der Standards

Um einen Einfluss der bei den Migrationsversuchen angewandten Prüfbedingungen auf die Stabilität der SAS-Dispersionen zu erfassen, wurden Stabilitäts-/Wiederfindungsversuche durchgeführt. Ziel war es hierbei zu ermitteln, ob eine Detektion des Nanomaterials in den verschiedenen Lebensmittelsimulanzien und insbesondere nach einer Lagerung bei höheren Temperaturen noch immer möglich ist. Hierfür wurden Dispersionen aus dem jeweiligen SAS-Material und dem entsprechendem Lebensmittelsimulanz hergestellt, indem eine definierte Menge Simulanz mit der jeweiligen SAS-Stammdispersion aufgestockt wurde. Bei den beiden hydrophoben SAS-Typen (HDMZ und PDMS behandeltes SAS), sowie bei der hydrophilen Fällungskieselsäure wurden aus den Lebensmittelsimulanzien 95 % v/v Ethanol, Isooktan und 3 % v/v Essigsäure Dispersionen mit einem SAS-Gehalt von jeweils 100 ng ml<sup>-1</sup> hergestellt. Hierzu wurde in 50 ml Messkolben (entspricht der bei Migrationsversuchen eingesetzten Menge an Simulanz) 50 µl der jeweiligen 100 mg l<sup>-1</sup> SAS-Dispersion vorgelegt und mit dem entsprechenden Lebensmittelsimulanz bis zur Eichmarke aufgefüllt. Im Falle der Fällungskieselsäure wurde zusätzlich noch eine 100 ng ml<sup>-1</sup> Dispersion in der entsprechenden Tensidlösung hergestellt. Die Herstellung der Dispersionen zur Stabilitätsbestimmung von kolloidalem SAS entsprach der der Fällungskieselsäure (Dispersionen in 95 Ethanol, Isooktan, 3 % v/v Essigsäure und SDS/NaN<sub>3</sub>-Tensidlösung) jedoch wurden aufgrund der schlechteren Nachweisbarkeit der kolloidalen SAS-Partikel-Dispersionen mit einem SAS-Gehalt von 500 ng ml<sup>-1</sup> hergestellt. Alle Dispersionen wurden in Folge in Migrationszellen geschüttet wie sie auch in den anschließenden Migrationsversuchen verwendet wurden. Die verschlossenen Zellen wurden für 10 d bei 60 °C gelagert. Proben, welche Isooktan enthielten, entsprechend für 24 h bei 40 °C. Am Ende der Lagerung wurden die Dispersionen unter Verwendung eines Stickstoffstroms bei 40 °C zur Trockene eingedampft und mit 50 ml des geeigneten Dispersionsmittels (95 % v/v Ethanol bei hydrophoben SAS-Typen, Tensidlösung bei hydrophilen SAS-Typen) wieder aufgenommen. Dispersionen, welche bereits mittels des geeigneten Dispersionsmittels hergestellt und gelagert wurden, wurden nicht eingedampft und konnten direkt mittels AF4/MALS gemessen werden. Als Referenzdispersion diente eine frisch hergestellte nicht gelagerte 100 ng ml<sup>-1</sup> (500 ng ml<sup>-1</sup> bei kolloidalem SAS) Dispersion in dem jeweiligen Dispersionsmittel (95 % v/v Ethanol bei hydrophoben SAS-Typen, Tensidlösung bei hydrophilen SAS-Typen). Durch diesen Versuchsaufbau wird einerseits der Einfluss von Dauer und Temperatur bei der Lagerung, andererseits der Einfluss der unterschiedlichen Lebensmittelsimulanzien sowie der Probenaufbereitung sichtbar. Die Wiederfindungs-, bzw. Stabilitätsrate wurde dabei anhand des Verhältnisses der Gesamt-Peakflächen gelagerter Dispersionen zur Referenzdispersion bestimmt. Dieses Verhältnis wurde wiederum zur Bestimmung der Methodennachweisgrenze verwendet, indem

die Wiederfindungsrate mit den Gerätenachweisgrenzen aus Kapitel 5.1.5 verrechnet wurden. Die im Folgenden angegebenen Werte sind Mittelwerte aus Dreifachbestimmungen.

### **HMDZ modifizierte SAS-Partikel**

Nach Lagerung der in 95 % v/v Ethanol hergestellten Dispersion für 10 d bei 60 °C zeigten die Fraktogramme der AF4-Läufe ein geringeres Signal im Vergleich zur frisch hergestellten Referenzdispersion (Abbildung 34 und Tabelle 22). Aus dem Verhältnis der Gesamt-Peakflächen wurde eine Wiederfindungsrate von 55,2 % errechnet. Ursache hierfür könnten Adhäsion-Effekte an der Innenwand der Migrationszellen sein. Proben, welche in Isooktan gelagert wurden, zeigten eine noch geringere Wiederfindungsrate. Nach der Lagerung und der anschließenden Aufbereitung der Proben wurden 38,8 % des in der Referenzdispersion enthaltenen SAS-Gehalts wiedergefunden. Die niedrigere Wiederfindungsrate lässt sich auf den zusätzlichen Probenaufbereitungsschritt zurückführen, welcher für Dispersionen mit Isooktan notwendig war. Dispersionen, welche in 3 % v/v Essigsäure angesetzt wurden, zeigten die niedrigsten Wiederfindungsraten. Hierbei konnten lediglich 18,2 % des ursprünglichen SAS-Gehalts nachgewiesen werden. Die im Vergleich zu in Isooktan angefertigten Proben niedrigere Wiederfindung ist zum einen durch die strengere Prüfbedingung (10 d/60 °C bei 3 % v/v Essigsäure, 24 h/40 °C bei Isooktan) zu begründen, zum anderen durch das Potential des sauren Simulanz, anorganische Substanzen zu lösen. Unter Berücksichtigung der Wiederfindungsraten ergeben sich als Methodennachweisgrenze für die jeweiligen Lebensmittel-simulanzien, ausgedrückt als absolute Masse bei 5 ml Injektionen, 45,3 ng für 95 % v/v Ethanol, 64,4 ng für Isooktan und 137,4 ng für 3 % v/v Essigsäure.

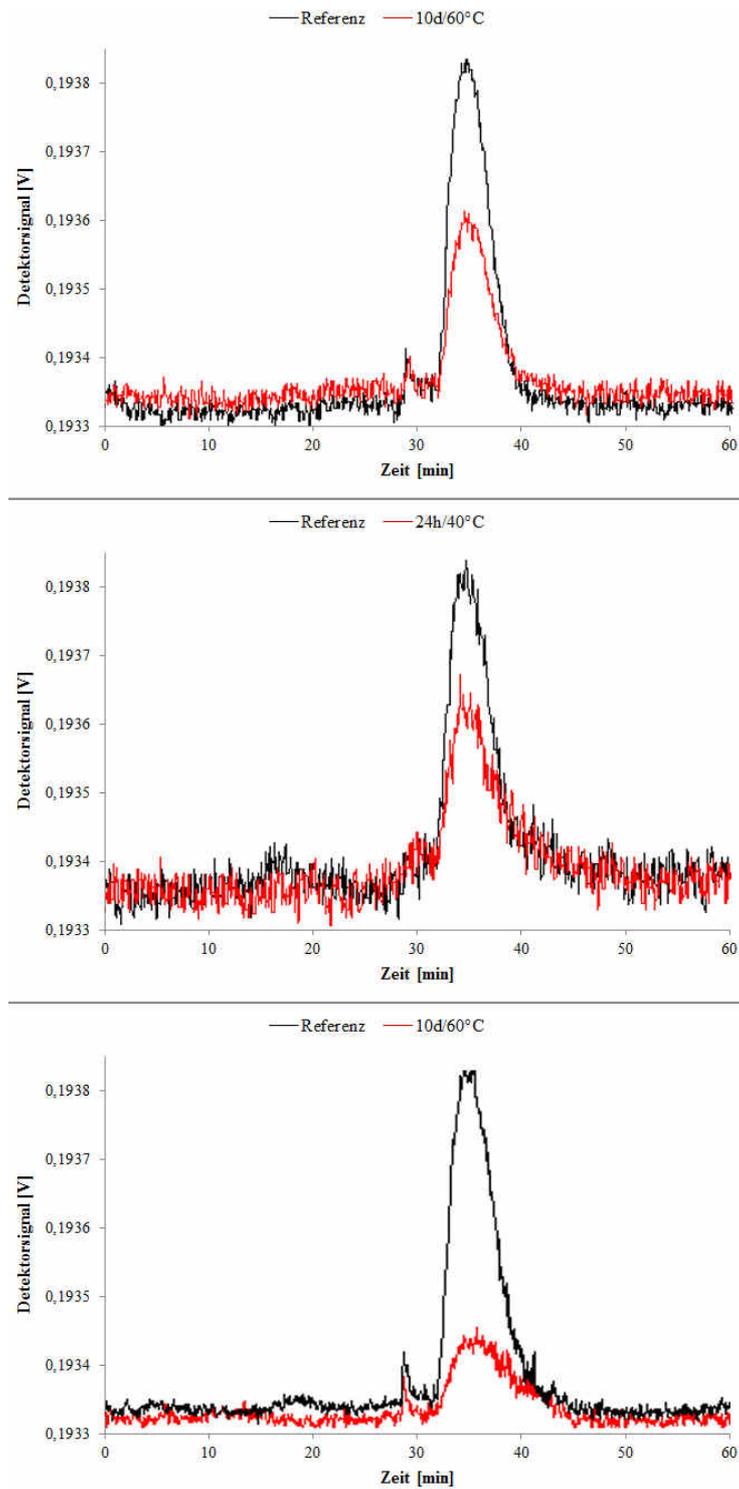


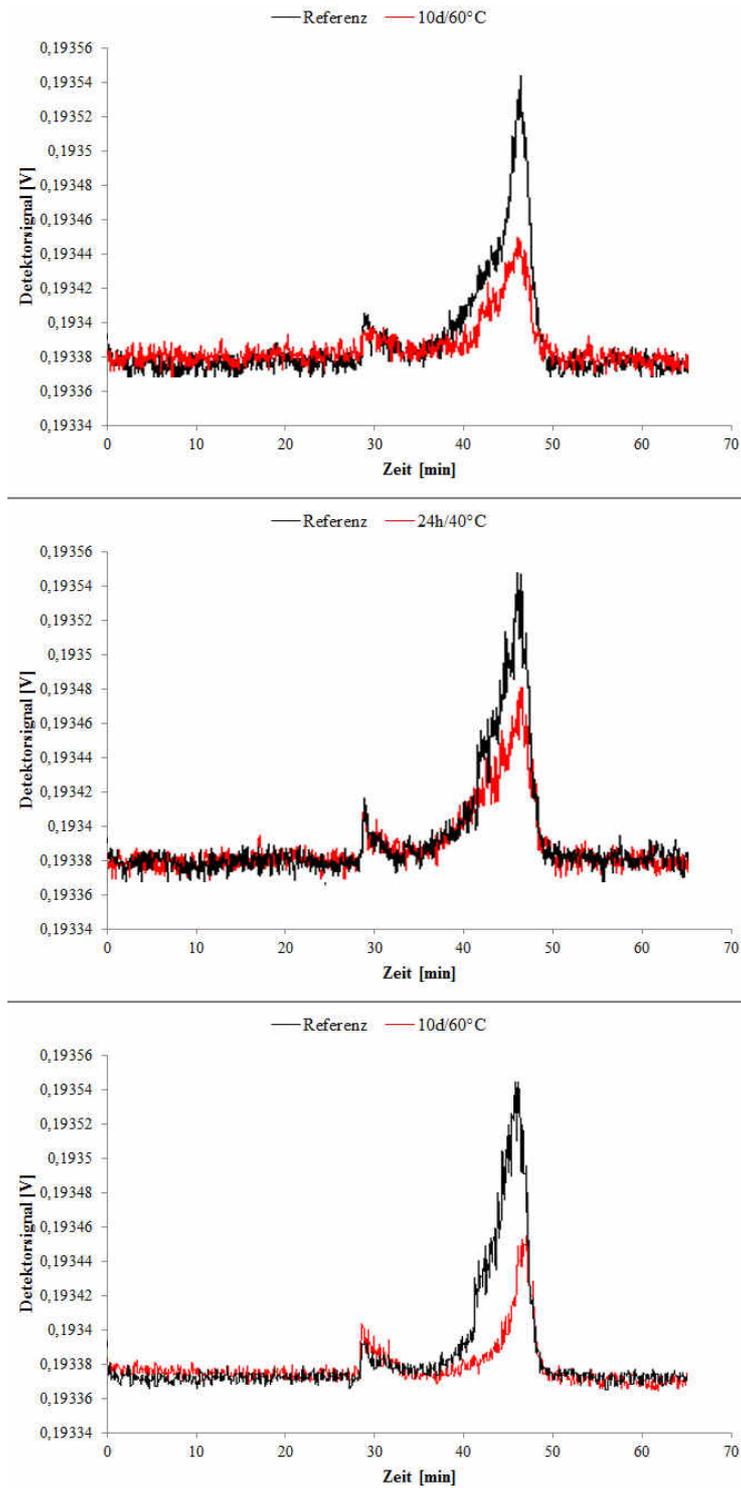
Abbildung 34: Fraktogramme der mittels 95 % v/v Ethanol frisch hergestellten SAS-HMDZ Referenzdispersion (schwarz), sowie der unter Prüfbedingungen gelagerten Dispersionen (rot) in 95 % v/v Ethanol (oben), Isooktan (Mitte) und 3 % v/v Essigsäure (unten).

**Tabelle 22: Bestimmung der Wiederfindungsrate und der Methodennachweisgrenze für HMDZ modifizierte SAS-Partikel unter Migrationsbedingungen bezogen auf 50 ml Simulanz und 5 ml Injektionsvolumen.**

Fläche Referenz [mV min]	Dispersion	Fläche nach Lagerung [mV min]	Wiederfindungsrate [%]	Nachweisgrenze nach Lagerung [ng]
	95 % v/v Ethanol	15,63	55,2	45,3
28,32	Isooktan	10,97	38,8	64,4
	3 % v/v Essigsäure	5,15	18,2	137,4

### PDMS modifizierte SAS-Partikel

PDMS modifizierte SAS-Partikel zeigten ähnliche Effekte wie HMDZ modifizierte SAS-Partikel. In allen drei Lebensmittelsimulanzien kam es durch die Lagerung und die anschließende Probenaufbereitung zu Verlusten des dispergierten Nanomaterials (Abbildung 35 und Tabelle 23). Für Dispersionen in 95 % v/v Ethanol wurden 67,7 % der ursprünglichen SAS-Menge wiedergefunden, in Isooktan 46,2 % und in 3 % v/v Essigsäure 20,0 %. Hieraus ergeben sich methodenbezogene Nachweisgrenzen von 36,9 ng (95 % v/v Ethanol), 54,1 ng (Isooktan) und 125,0 ng (3 % v/v Essigsäure).



**Abbildung 35: Fraktogramme der mittels 95 % v/v Ethanol frisch hergestellten SAS-PDMS Referenzdispersion (schwarz), sowie der unter Prüfbedingungen gelagerten Dispersionen (rot) in 95 % v/v Ethanol (oben), Isooktan (Mitte) und 3 % v/v Essigsäure (unten).**

**Tabelle 23: Bestimmung der Wiederfindungsrate und der Methodennachweisgrenze für PDMS modifizierte SAS-Partikel unter Migrationsbedingungen bezogen auf 50 ml Simulanz und 5 ml Injektionsvolumen.**

Fläche Referenz [mV min]	Dispersion	Fläche nach Lagerung [mV min]	Wiederfindungsrate [%]	Nachweisgrenze nach Lagerung [ng]
	95 % v/v Ethanol	33,99	67,7	36,9
50,21	Isooktan	23,20	46,2	54,1
	3 % v/v Essigsäure	10,06	20,0	125,0

### Fällungskieselsäure-Partikel

Bei den hydrophilen Fällungskieselsäure-Partikeln zeigte sich bei Dispersionen in 95 % v/v Ethanol, Isooktan und 3 % v/v Essigsäure, dass eine Messung mittels AF4 nach Aufbereitung der Proben nicht mehr möglich ist. Bereits in frisch hergestellten, nicht gelagerten Dispersionen konnten nach Eindampfen der Dispersionen und Aufnahme in der Tensidlösung keine SAS-Partikel mehr nachgewiesen werden (Abbildung 36). Hydrophile SAS-Partikel zeigten bereits bei den Dispersionsversuchen keine Stabilität in diesen Lebensmittelsimulanzien, weshalb davon auszugehen ist, dass die Probenverluste durch Sedimentation, Adhäsion an der Gefäßwand oder durch Auflösen der Partikel (bei 3 % v/v Essigsäure) verursacht sind. Im Gegensatz hierzu zeigten in einer  $500 \text{ mg l}^{-1}$  SDS /  $100 \text{ mg l}^{-1}$   $\text{NaN}_3$ -Lösung hergestellte Dispersionen eine sehr hohe Stabilität. Nach einer Lagerung der Dispersion für 10 d bei  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  wurden noch 86,1 % der ursprünglichen enthaltenen SAS-Partikel nachgewiesen. Bei Verwendung dieser Tensidlösung als Lebensmittelsimulanz würde sich somit eine Methodennachweisgrenze von 58,1 ng ergeben. Für die anschließenden Migrationsversuche zeigte sich aus den Wiederfindungsversuchen, dass alleine die Tensidlösung als geeignetes Lebensmittelsimulanz anwendbar ist.

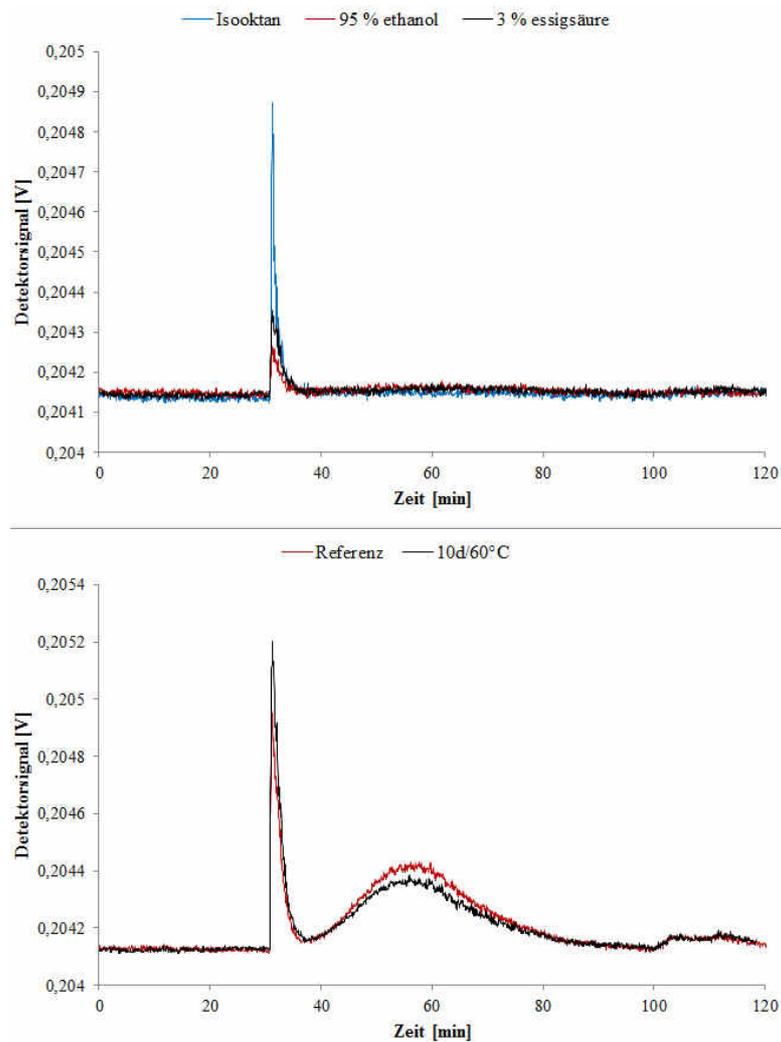


Abbildung 36: Fraktogramme der Fällungskieselsäure-Dispersionen. Oben: in konventionellen Simulanzen, unten: in einer SDS/NaN<sub>3</sub> Lösung (rot frisch hergestellt, schwarz nach 10d/60°C).

Tabelle 24: Bestimmung der Wiederfindungsrate und der Methodennachweisgrenze für Fällungskieselsäure-Partikel unter Migrationsbedingungen bezogen auf 50 ml Simulanz und 5 ml Injektionsvolumen.

Fläche Referenz [mV min]	Dispersion	Fläche nach Lagerung [mV min]	Wiederfindungsrate [%]	Nachweisgrenze nach Lagerung [ng]
167,9	Tensidlösung	144,6	86,1	58,1

### Kolloidale SAS-Partikel

Wie schon bei der hydrophilen Fällungskieselsäure zeigten auch Dispersionen aus kolloidalen SAS-Partikeln, welche in den konventionellen Lebensmittelsimulanzen angesetzt wurden, keine Stabilität bzw. Nachweisbarkeit der SAS-Partikel. Insbesondere bei 95 % v/v Ethanol und auch bei Isooktan konnte bereits bei frisch hergestellten Dispersionen kein Signal für SAS-Partikel im Fraktogramm festgestellt werden. Stattdessen zeigten diese Proben extreme „Void“-Peaks. Diese Signale traten nur bei kolloidalen SAS-Dispersionen auf, nicht jedoch bei Fällungskieselsäure-Dispersionen, bei denen dieselbe Tensidlösung zur Herstellung der Stammdispersion verwendet wurde. Es ist daher davon

auszugehen, dass die in der kolloidalen SAS-Stammdispersion noch enthaltenen Additive der Herstellerdispersion zu Wechselwirkungen mit den organischen Lösemitteln führten. Trübungen, die dabei entstehen, können zu deutlichen Signalen im AF4-Lauf führen, auch wenn diese mit bloßem Auge in der Dispersion ( $100 \text{ ng ml}^{-1}$ ) nicht erkennbar waren. Dispersionen, welche jedoch in einer  $500 \text{ mg l}^{-1} / 100 \text{ mg l}^{-1}$   $\text{NaN}_3$ -Lösung gelagert wurden, zeigten ebenfalls eine sehr gute Stabilität der dispergierten SAS-Partikel. Am Ende der Lagerung konnte 87,5 % der ursprünglichen Masse wiedergefunden werden. Dies führt zu einer massenbezogenen Methodennachweisgrenze von kolloidalen SAS-Partikeln in einer Tensidlösung von  $428 \text{ ng}$ . Die in diesen Versuchen verwendete Tensidlösung soll daher auch in den folgenden Migrationsversuchen als Lebensmittelsimulanz verwendet werden.

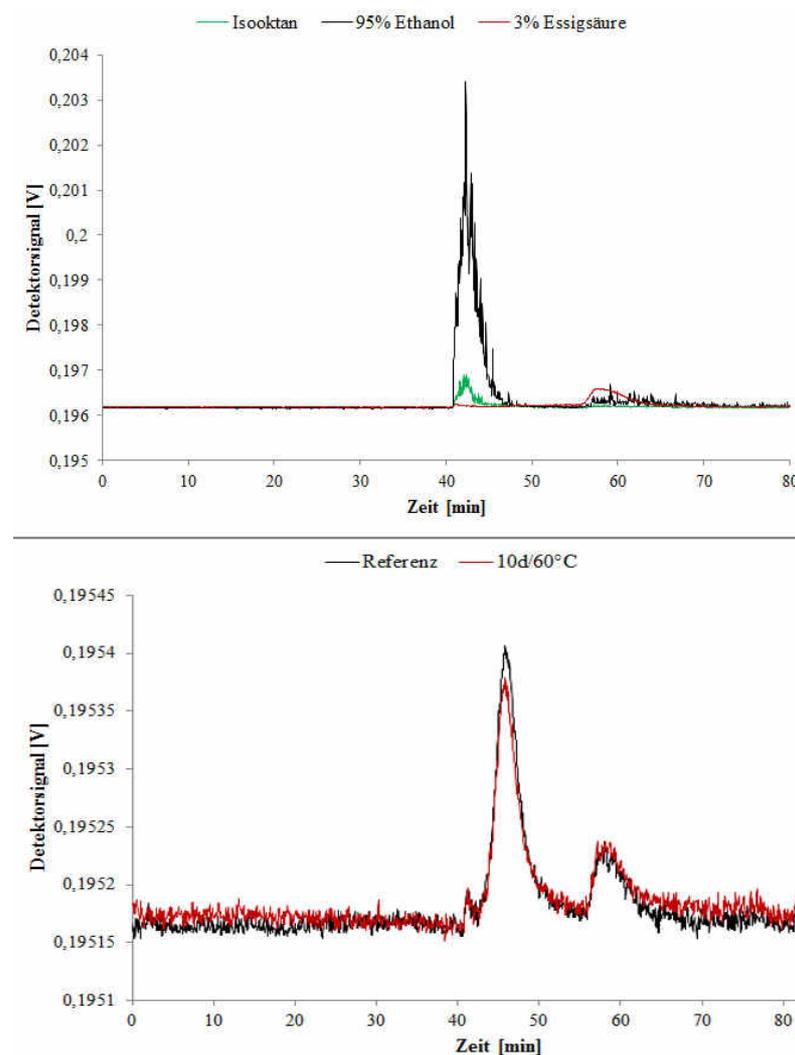


Abbildung 37: Fraktogramme der kolloidalen SAS-Dispersionen. Links: in konventionellen Simulanzien, rechts: in einer SDS/ $\text{NaN}_3$  Lösung (schwarz frisch hergestellt, rot nach 10d/60°C).

**Tabelle 25: Bestimmung der Wiederfindungsrate und der Methodennachweisgrenze für kolloidale SAS-Partikel unter Migrationsbedingungen bezogen auf 50 ml Simulanz und 5 ml Injektionsvolumen.**

Fläche Referenz [mV min]	Dispersion	Fläche nach Lagerung [mV min]	Wiederfindungsrate [%]	Nachweisgrenze nach Lagerung [ng]
18,2	Tensidlösung	15,9	87,5	428

### 5.1.7 Ergebnisse der Migrationsversuche

Anhand der oben beschriebenen Ergebnisse der Vorstudie wurden Migrationsversuche zur Untersuchung der Freisetzung des SAS-Nanomaterials aus den jeweiligen Nanokompositen durchgeführt. Hierzu wurden aus den Folien Ausschnitte von 1 dm<sup>2</sup> (10 cm x 10 cm) aus den Folien geschnitten, gefaltet und in Edelstahl-Migrationszellen gesteckt (Abbildung 38). Die Migrationszellen wurden mit 50 ml Lebensmittelsimulanz befüllt. Bei dieser Menge waren die Folienausschnitte vollständig mit dem Simulanz bedeckt. Als Simulanzien wurden diejenigen ausgewählt, bei denen sich ein Nachweis der SAS-Partikel unter den Prüfbedingungen realisieren ließ. Am Ende der Lagerung wurden die Folien aus den Simulanzien entfernt. Die Simulanzien wurden entsprechend der in Kapitel 5.1.6 beschriebenen Vorgehensweise (Eindampfen und Wiederaufnahme im geeigneten Dispersionsmittel) behandelt und mittels AF4/MALS untersucht. Die im Folgenden präsentierten Ergebnisse stammen aus Migrationsversuchen, bei denen die Proben im Dreifachansatz angefertigt wurden und jeweils zweimal mittels AF4/MALS untersucht wurden. Aus Gründen der Übersicht sind nur AF4-Fraktogramme einzelner Probenansätze abgebildet, welche repräsentativ für die anderen sind.



**Abbildung 38: Migrationszelle aus Edelstahl mit PTFE-Dichtung im Deckel zur Lagerung Lösemittelhaltiger Proben bei hohen Temperaturen.**

### HMDZ modifizierte SAS-Nanokomposite

Migrationsproben, welche in 95 % v/v Ethanol gelagert wurden, zeigten zu Beginn der Elutionsphase einen „Void“-Peak im AF4-Fraktogramm (Abbildung 39). Dieses Signal trat sowohl bei Proben auf, bei denen Nanokomposite verwendet wurden, als auch bei den PE-LD-Blindwerten. Es ist daher anzunehmen, dass dieses Signal durch geringe Mengen extrahierter Oligomere aus dem Polymer verursacht wurde. Zu Elutionszeiten, welche typisch für HMDZ modifizierte SAS-Partikel sind (t = 32 min – 43 min), konnte kein Signal festgestellt werden.

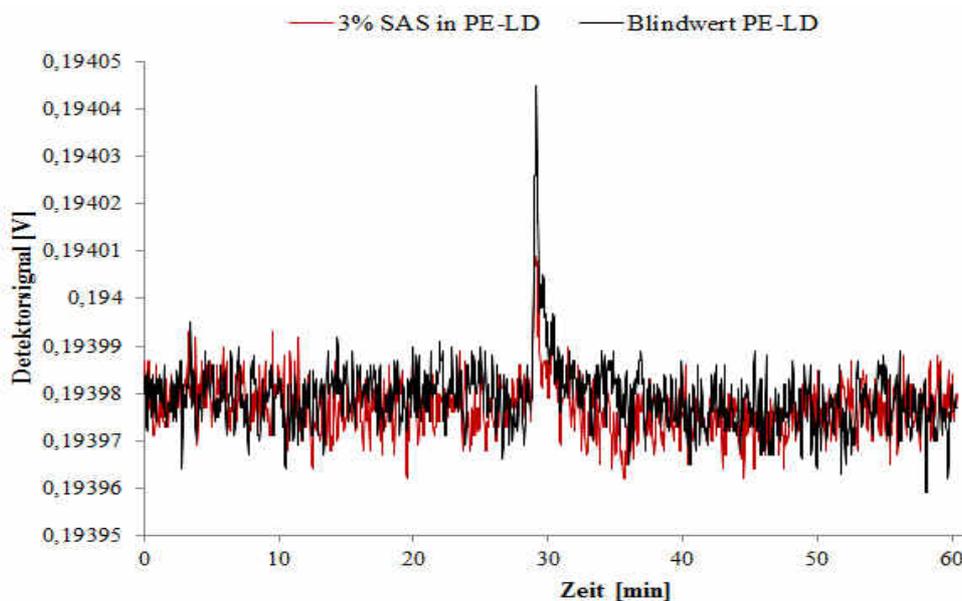


Abbildung 39: AF4 Fraktogramme eines HMDZ modifizierten SAS-Nanokomposits (rot) und des PE-LD-Blindwerts (schwarz), welche 10 d bei 60 °C in 95 % v/v Ethanol gelagert wurden.

Ebenfalls zeigten die in Isooktan gelagerten Proben zu Elutionszeiten, die relevant für SAS-Partikel sind, kein Signal (Abbildung 40). Der zu Beginn der Elutionsphase sichtbare „Void“-Peak ist bei in Isooktan angesetzten Proben stärker ausgeprägt als bei den in 95 % v/v Ethanol angesetzten Proben. Dies lässt sich auf eine stärkere Wechselwirkung des unpolarenen Lösemittels mit der PE-LD Matrix zurückführen.

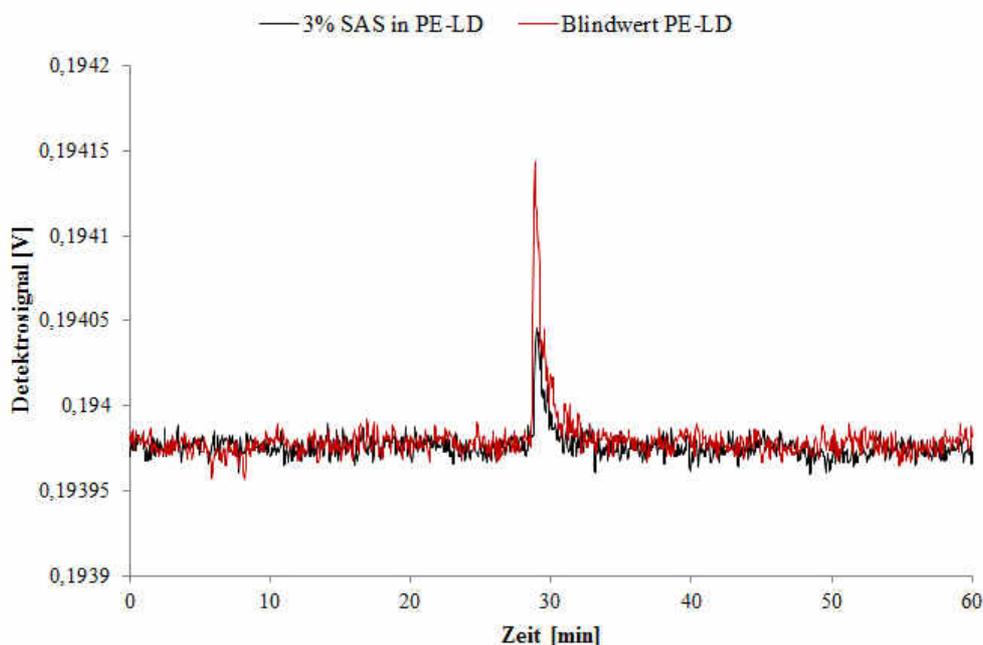
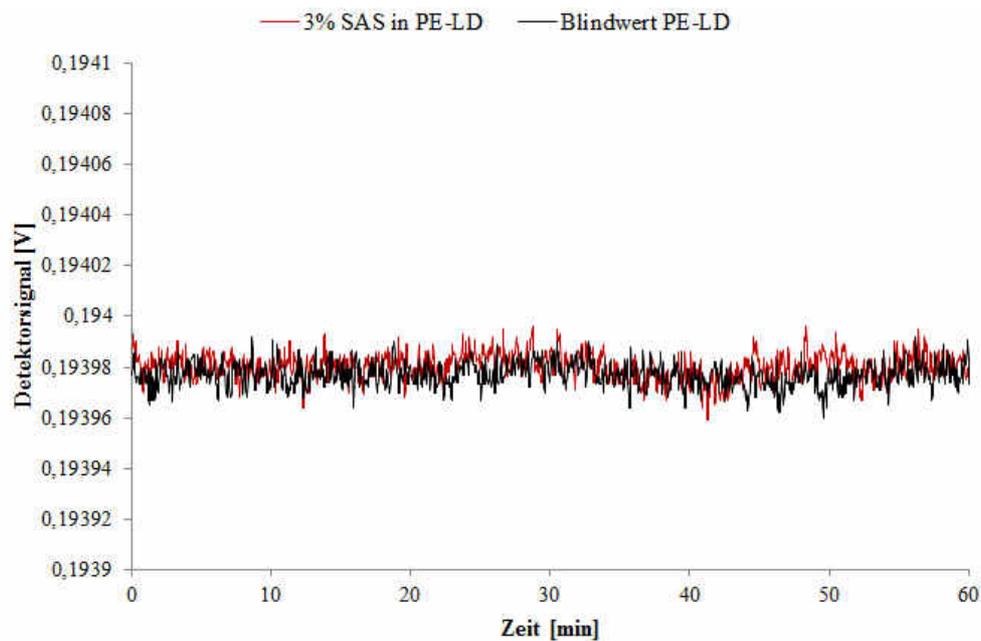


Abbildung 40: AF4 Fraktogramme eines HMDZ modifizierten SAS-Nanokomposits (rot) und des PE-LD-Blindwerts (schwarz), welche 24 h bei 40 °C in Isooktan gelagert wurden.

Die in 3 % v/v Essigsäure gelagerten Migrationsproben erzeugten weder bei den SAS-Nanokompositen noch bei den PE-LD-Blindwerten ein Signal im AF4-Lauf (Abbildung 41). Insbesondere zu SAS-typischen Elutionszeiten konnte ein Vorhandensein von SAS-Partikeln in den Migrationsproben nicht nachgewiesen werden.



**Abbildung 41:** AF4 Fraktogramme eines HMDZ modifizierten SAS-Nanokomposits (rot) und des PE-LD-Blindwerts (schwarz), welche 10 d bei 60 °C in 3 % v/v Essigsäure gelagert wurden.

Die bisherigen Ergebnisse aus den Vorversuchen zeigten bereits, dass HMDZ modifizierte SAS-Partikel in den hier aufgeführten Simulanzien und Prüfbedingungen unter Berücksichtigung der jeweiligen Nachweisgrenze nachweisbar gewesen wären. Diese Vorversuche wurden jedoch ausschließlich anhand von Dispersionen ohne Verwendung der entsprechenden Folien durchgeführt. Um Verluste des Nanomaterials durch Wechselwirkungen mit den in den Simulanzien gelagerten Folien, oder Matrixeffekte bedingt durch extrahierte Oligomere, auszuschließen, wurden die Migrationsproben mittels einer Referenzdispersion aufgestockt. Dies soll den Fall darstellen, dass eine definierte Menge an Nanomaterial aus dem Polymer migriert wäre. Hierzu wurden eine in 95 % v/v Ethanol gelagerte Probe mit der SAS-Stammdispersion auf  $10 \text{ ng ml}^{-1}$  aufgestockt und mit der zuvor gemessenen, nicht aufgestockten Probe verglichen (Abbildung 42). Anhand der beiden Fraktogramme wurde ersichtlich, dass das aufgestockte Nanomaterial zu den erwartenden Elutionszeiten detektiert wurde und eine Abtrennung von anderen Signalen, wie dem „Void“-Peak möglich war.

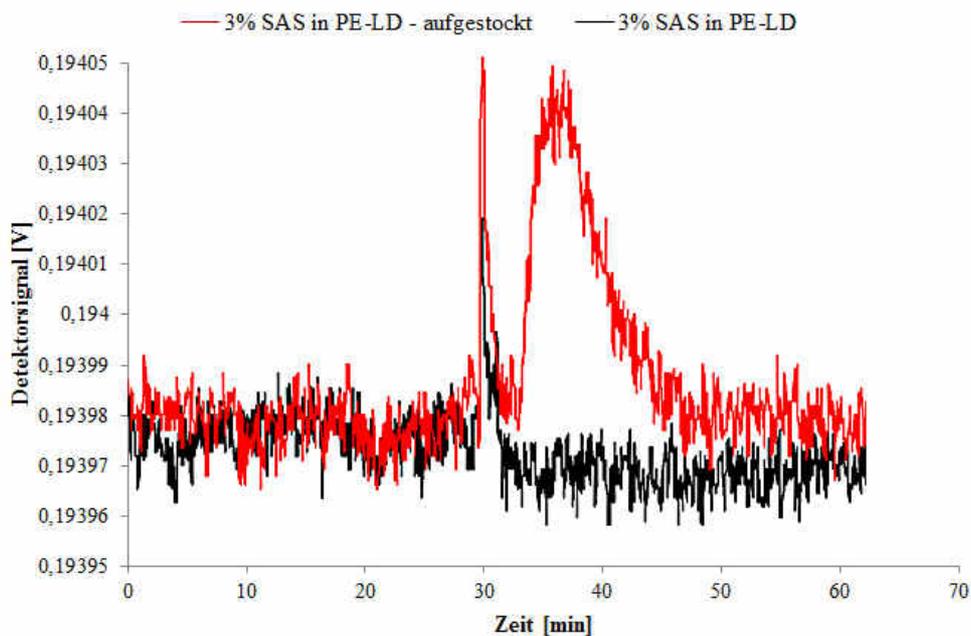


Abbildung 42: Aufstockung der in 95 % v/v Ethanol gelagerten Migrationsprobe (rot) im Vergleich zur nicht aufgestockten Probe (schwarz).

### PDMS modifizierte SAS-Nanokomposite

Die in 95 % v/v Ethanol gelagerten Proben der PDMS-modifizierten SAS-Nanokomposite und PE-LD-Blindwerte erzeugten lediglich einen „Void“-Peak, welcher bei beiden Proben (mit und ohne SAS im Polymer) mit vergleichbaren Intensitäten ausgeprägt war. Auch hier konnte dieses Signal auf Wechselwirkungen zwischen Polymer und Lebensmittelsimulanz zurückgeführt werden, was zur einer geringfügigen Extraktion oligomerer Bestandteile aus der Polymermatrix führte. Zu Elutionszeiten, welche typisch für PDMS modifizierte SAS-Partikel sind ( $t = 32 \text{ min} - 49 \text{ min}$ ), konnten keine Partikel nachgewiesen werden.

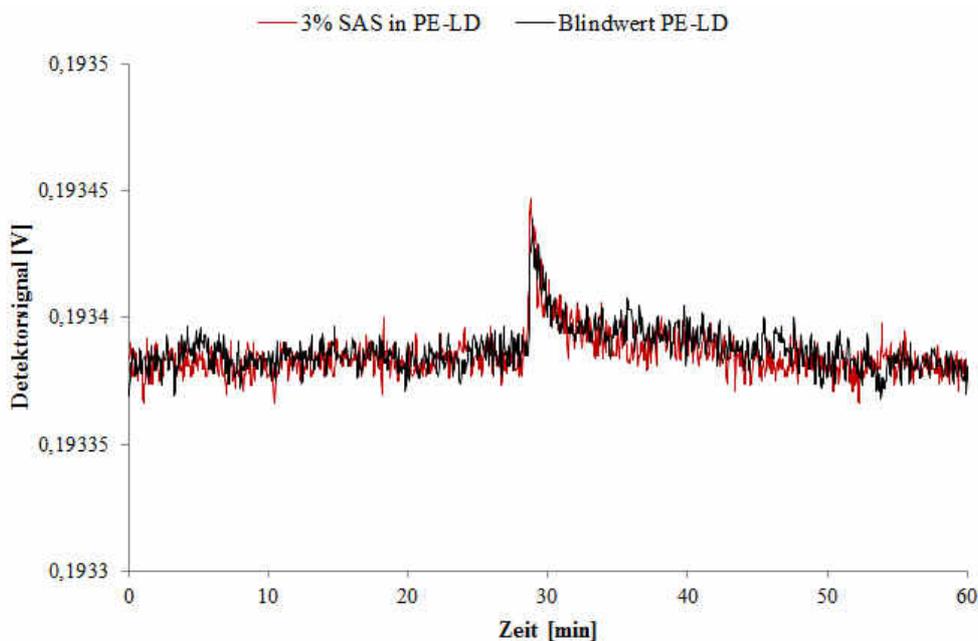


Abbildung 43: AF4 Fraktogramme eines PDMS-modifizierten SAS-Nanokomposits (rot) und des PE-LD-Blindwerts (schwarz), welche 10 d bei 60 °C in 95 % v/v Ethanol gelagert wurden.

Ebenfalls wurde kein SAS-Nanomaterial anhand der spezifischen Elutionszeiten in Migrationsproben nachgewiesen, welche mit Isooktan angesetzt wurden. Auffällig bei diesen Proben waren lediglich die stärker ausgeprägten „Void“-Peaks, welche sowohl bei Polymerproben mit und ohne SAS in der Polymermatrix auftraten.

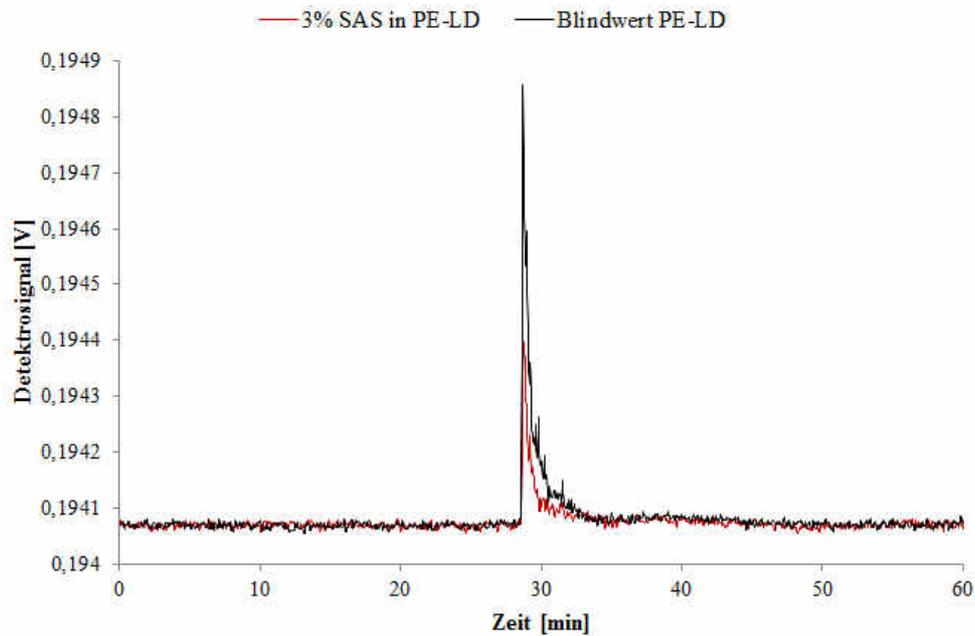


Abbildung 44: AF4 Fraktogramme eines PDMS-modifizierten SAS-Nanokomposits (rot) und des PE-LD-Blindwerts (schwarz), welche 24 h bei 40 °C in Isooktan gelagert wurden.

Auch die in 3 % v/v Essigsäure angesetzten Migrationsproben zeigten keinerlei SAS-Partikel anhand eines Signals zu relevanten Elutionszeiten. Ähnlich wie die in 95 % v/v Ethanol angesetzten Proben wurde bei diesen Proben ein Signal für den „Void“-Peak detektiert, welcher wiederum durch Wechselwirkungen zwischen Simulanz und Polymer verursacht scheint.

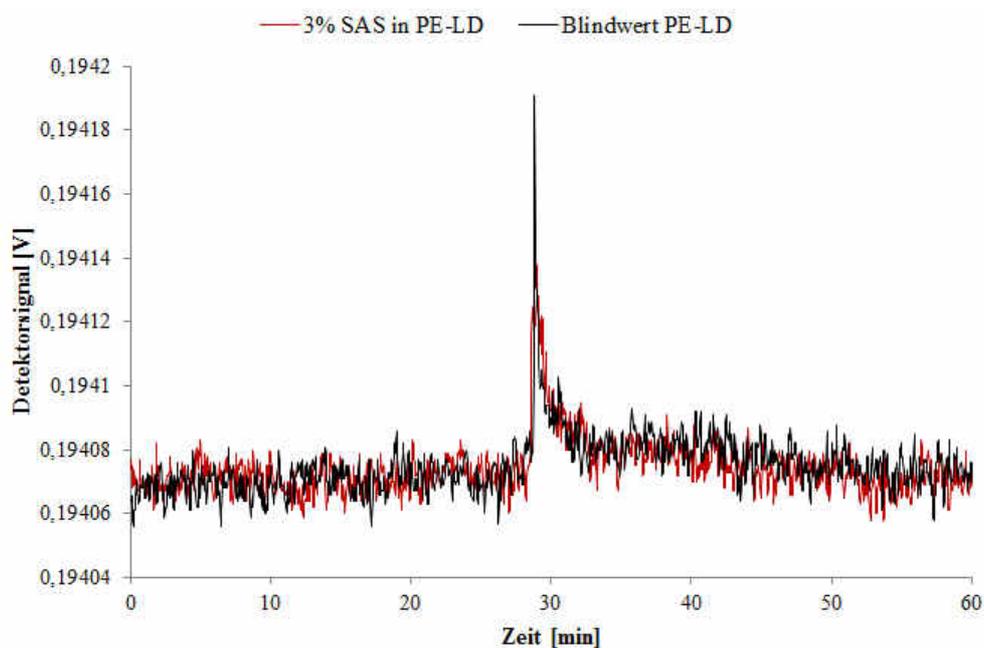


Abbildung 45: AF4 Fraktogramme eines PDMS-modifizierten SAS-Nanokomposits (rot) und des PE-LD-Blindwerts (schwarz), welche 10 d bei 60 °C in 3 % v/v Essigsäure gelagert wurden.

Eine Aufstockung der in 95 % v/v Ethanol angesetzten Migrationsprobe auf eine SAS-Konzentration von ebenfalls  $10 \text{ ng ml}^{-1}$  zeigte, dass eine Trennung und Detektion von SAS-Partikeln auch im niedrigem Konzentrationsbereich möglich gewesen wäre.

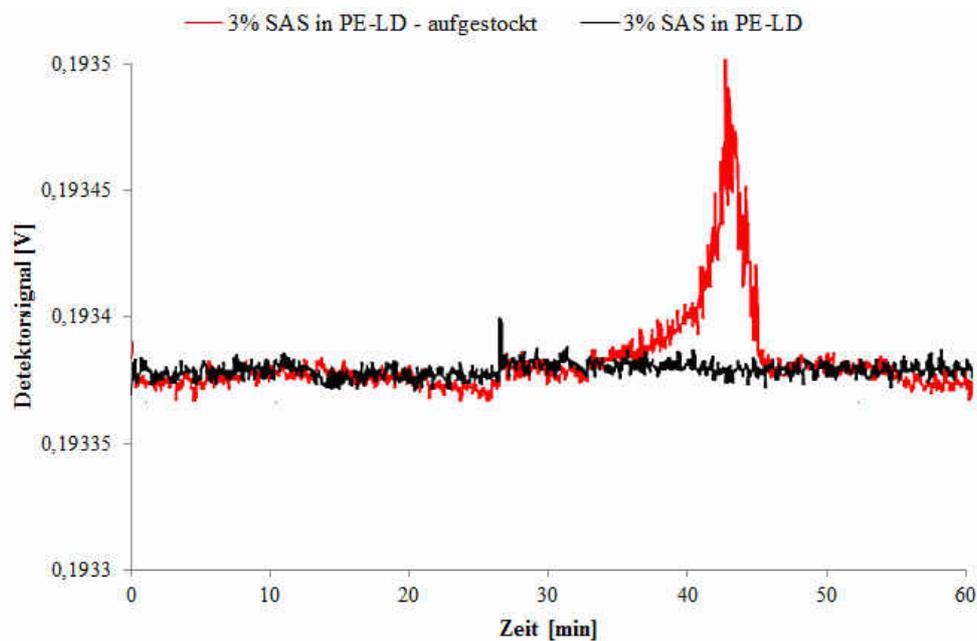


Abbildung 46: Aufstockung der in 95 % v/v Ethanol gelagerten Migrationsprobe (rot) im Vergleich zur nicht aufgestockten Probe (schwarz).

### Fällungskieselensäure-Nanokomposite

Da die Vorversuche zeigten, dass ein Nachweis der Nanopartikel der Fällungskieselensäure in konventionellen Lebensmittelsimulanzien nicht möglich war, wurde die Migrationsversuche ausschließlich unter Verwendung der Tensidlösung als Simulanz verwendet. Für die Migrationsversuche standen Nanokomposite mit unterschiedlichen Mengen im Polymer dispergierter SAS-Partikeln zur Verfügung. AF4-Läufe der Migrationsversuche zeigten bei diesen Proben ein Signal zu Fällungskieselensäure spezifischen Elutionszeiten ( $t = 37 \text{ min} - 100 \text{ min}$ ). Dieses Signal konnte bei allen Proben sowohl ohne SAS im Polymer, als auch mit SAS im Polymer festgestellt werden. Die Signale waren dabei hinsichtlich der Intensität identisch. Der unterschiedliche Gehalt des SAS-Nanomaterials im Polymer (0,5 %, 1,0 % und 3,0 %) nahm dabei offensichtlich keinerlei Einfluss auf die Signalstärke des detektierten Signals. Nachdem die unterschiedlichen Konzentrationen nicht zu einer Zunahme des Signals führten, wurde eine konzentrationsabhängige Migration des SAS-Materials aus dem Polymer ausgeschlossen. Vielmehr lag die Vermutung nahe, dass das detektierte Signal wiederum durch extrahierte Oligomere oder durch eine Kontamination des Systems verursacht sei, da keinerlei Unterschied zwischen den Nanokompositen und dem Polymer-Blindwert zu erkennen waren.

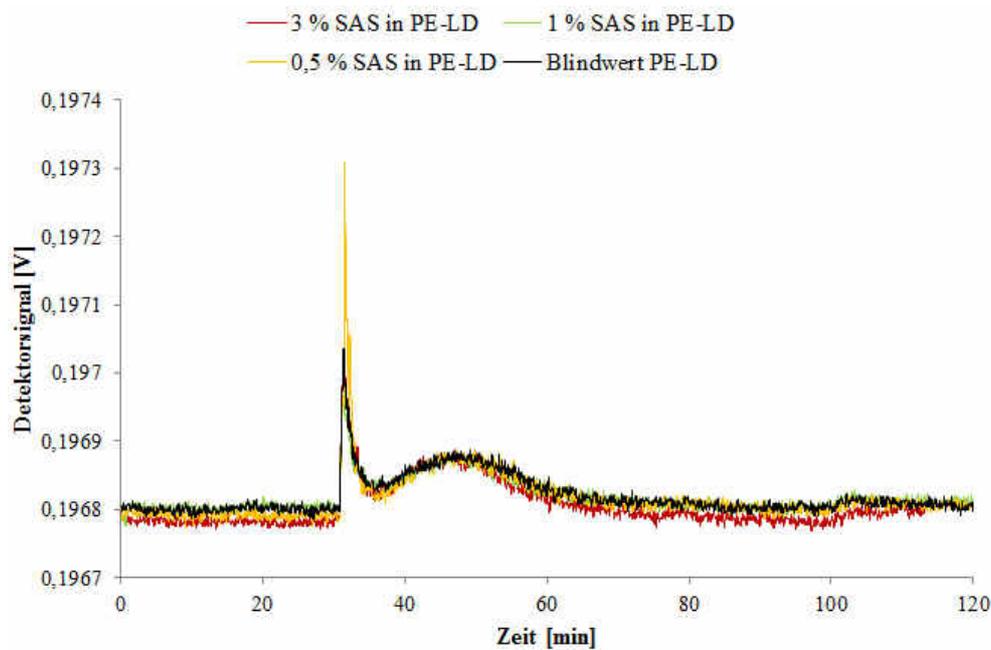


Abbildung 47: AF4 Fraktogramme der Fällungskieselsäure-Nanokomposits (rot: 3 % SAS, grün: 1 % SAS, gelb: 0,5 % SAS) und des PE-LD-Blindwerts (schwarz), welche 10 d bei 60 °C in einer SDS/ $\text{NaN}_3$  Tensidlösung gelagert wurden.

### Kolloidales SAS-Nanokomposite

Die in einer  $500 \text{ mg l}^{-1}$  SDS /  $100 \text{ mg l}^{-1}$   $\text{NaN}_3$ -Tensidlösung angesetzten Migrationsproben zeigten durchgehend identische Signale. Sowohl die PE-LD-Blindwertproben als auch die Nanokomposite zeigten zu Beginn der Elutionsphase einen schwach ausgeprägten „Void“-Peak, sowie am Ende der Elutionsphase einen „membrane release“-Peak, welcher im Vergleich zum Dispersionsmittel Blindwert etwas stärker ausgeprägt war. Zu Elutionszeiten, welche relevant für kolloidales SAS wären ( $t = 43 \text{ min} - 52 \text{ min}$ ), konnten keine SAS-Partikel nachgewiesen werden (Abbildung 48).

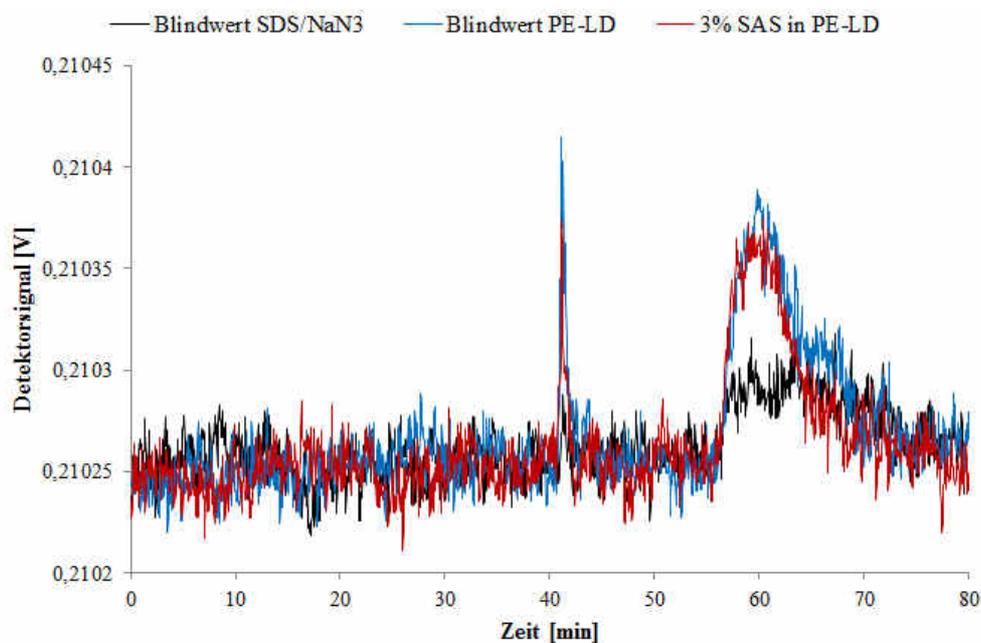


Abbildung 48: AF4 Fraktogramme eines kolloidalen SAS-Nanokomposits (rot) und des PE-LD-Blindwerts (blau), welche 10 d bei 60 °C in einer  $500 \text{ mg l}^{-1}$  SDS /  $100 \text{ mg l}^{-1}$   $\text{NaN}_3$ -Tensidlösung gelagert wurden (Blindwert der Tensidlösung: schwarz).

Die identischen Signale in den AF4-Fraktogrammen von Polymer-Blindwertproben und den Nanokompositen deuten darauf hin, dass es sich hierbei um extrahierte Oligomere handelte. Zur Validierung der AF4-Methode wurden Vergleichsmessungen zwischen aufgestockten und nicht aufgestockten Proben durchgeführt. Hierzu wurde eine für 10 d bei 60 °C gelagerte Nanokomposit-Migrationsprobe gemessen, im Anschluss auf einen kolloidalen SAS Gehalt von 250 ng ml<sup>-1</sup> aufgestockt und nochmals mittels AF4 gemessen. Die Fraktogramme beider AF4 Läufe (Abbildung 49) zeigen nahezu identische Signale für „Void“- und „membrane release“-Peaks. Die aufgestockte Probe zeigte jedoch zu den SAS-Partikeln spezifischen Elutionszeiten ein eindeutiges Signal. Eine eindeutige Abtrennung der SAS-Partikel von „Void“- und „membrane release“-Signale konnte trotz mehrerer Versuche nicht realisiert werden. Dennoch zeigten diese Versuche, dass ein eindeutiger Nachweis von SAS-Partikeln in den Migrationsproben möglich gewesen wäre.

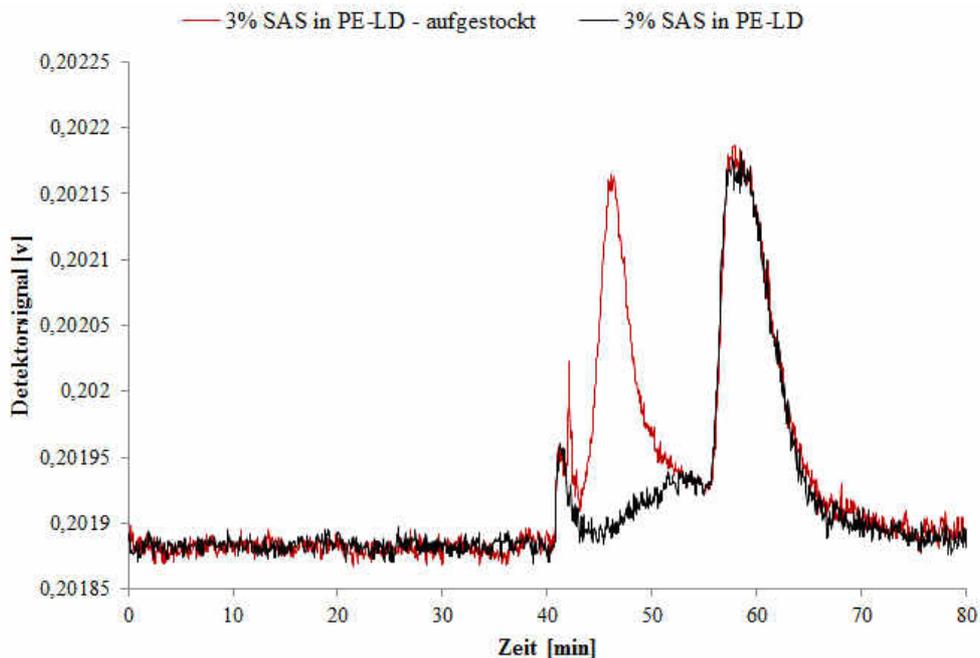


Abbildung 49: Aufstockung der in einer Tensidlösung gelagerten Migrationsprobe (rot) im Vergleich zur nicht aufgestockten Probe (schwarz).

#### 5.1.8 Betrachtung der Ergebnisse aus den SAS-Migrationsversuchen

Unterschiedliche Varianten von SAS sollten dahingehend untersucht werden, ob SAS in seiner nanopartikulären Form aus einer Polymermatrix migrieren kann, wenn diese über längere Zeit mit einem Lebensmittelsimulanz in Kontakt steht. SAS stellt dabei sowohl die qualitative als auch die quantitative Analytik vor große Herausforderungen. Dispersionen von SAS, bei denen ein flüssiges Dispersionsmittel verwendet wird, können zu Veränderungen der Partikelform oder zu Verlusten des Nanomaterials führen, wenn die umgebende Matrix nicht vollständig an das jeweilige Nanomaterial angepasst ist. In ungeeigneten Dispersionsmitteln können Verluste des SAS-Nanomaterials durch Auflösen oder Sedimentation der Partikel auftreten [138, 159]. Die Stabilität der dispergierten Nanomaterialien beeinflusst somit auch entscheidend die Möglichkeit SAS in seiner partikulären Form quantitativ zu erfassen. Die Möglichkeit, SAS anhand empfindlicher Nachweismethoden wie der elementspezifischen ICP-MS zu erfassen, erscheint zudem aufgrund der hohen Hintergrundbelastung an gelöstem Silicium (im mg l<sup>-1</sup>-Bereich) in Löse- und Dispersionsmitteln zumindest im für Migrationsversuche relevanten Spurenbereich als unmöglich. Während Verluste der typischen SAS-Strukturen durch Auflösungsprozesse in flüssigen Medien bedingt sind, zeigten Studien auf der

anderen Seite, dass SAS-Partikel als Schüttgut (Pulver) oder eingearbeitet in eine feste Matrix eine hohe Stabilität aufweisen. Durch entsprechende Kräfte, wie den Scherkräften in einem Extruder, ist es zwar möglich SAS-Agglomerate aufzubrechen, um somit eine feinere Verteilung des Nanomaterials in Form von Aggregaten zu ermöglichen. Ein Aufbrechen der Aggregate in seine Primärpartikelstruktur ist jedoch durch mechanische Kräfte nicht möglich [44]. Je nach Intensität der einwirkenden Scherkräfte liegt SAS somit in Nanokompositen in Form von Agglomeraten und/oder Aggregaten vor.

Die mittels AF4/MALS durchgeführten Vorversuche zeigten, dass es möglich war, aus dem jeweiligen Nanomaterial Dispersionen herzustellen, in welchen dieselben Partikelgrößen des im Polymer dispergierten SAS-Nanomaterials enthalten waren. Durch die Verwendung von Dispersionen mit unterschiedlichen Konzentrationen des dispergierten SAS-Nanomaterials konnte zudem gezeigt werden, dass bei Berechnung der Gesamt-Peakfläche aus den aufgezeichneten Signalen eine Korrelation zwischen gestreuter Lichtintensität und injizierter Masse möglich war. Hieraus ließen sich substanzspezifische Nachweisgrenzen errechnen, wobei für SAS-Typen mit aggregierten Strukturen niedrigere Nachweisgrenzen erzielt wurden als für kolloidales SAS. Da einfallendes Licht von kleineren Strukturen weniger stark gestreut wird, werden folglich auch trotz gleicher massenbezogener Konzentration der kolloidal vorliegenden SAS-Partikeln niedrigere Intensitäten des gestreuten Lichts detektiert als bei derselben Masse an Partikeln, welche sich zu größeren Strukturen (Aggregaten) zusammengelagert haben. Bei der Überprüfung der Stabilität der Dispersionen unter Verwendung der bei Migrationsmessungen angewandten Prüfbedingungen zeigte sich erwartungsgemäß, dass diejenigen Dispersionen, welche in dem aus den Dispersionsversuchen als am geeignetsten befundenen Dispersionsmittel hergestellt wurden, auch die höchsten Wiederfindungsraten erzielen ließen. Bei den beiden hydrophilen SAS-Typen wurde die höchste Stabilität in 95 % v/v Ethanol gefunden, die beiden hydrophilen SAS-Typen ließen sich am stabilsten in einer Tensidlösung dispergieren. Bei Verwendung konventioneller Lebensmittelsimulanzien (3 % v/v Essigsäure, 95 % v/v Ethanol und Isooktan) zeigte sich bei allen Dispersionen, dass Verluste des Nanomaterials auftraten. Hydrophiles SAS zeigte hierbei keinerlei Signale mehr in den Fraktogrammen, während hydrophobes SAS auch in Isooktan und 3 % v/v Essigsäure-Dispersionen Signale erzeugten. Die hierbei gemessenen Signale lassen sich eher durch Sedimentation des Nanomaterials oder Anhaften an der Gefäßwand erklären, als durch Auflösen der Partikel. Ein Auflösen der Partikel würde zu kleiner werdenden Strukturen der jeweiligen Aggregate führen und sich somit anhand der Elutionszeit im AF4 Fraktogramm erkennen lassen. Hydrophiles SAS zeigte bei Verwendung von Tensidlösungen die höchste Stabilität aller untersuchten SAS-Materialien während des Prüfzeitraums. Durch die Anlagerung von Tensiden an der Oberfläche des Nanomaterials scheint es neben einer besseren Benetzung des Nanomaterials somit zu weniger Wechselwirkungen zwischen den Partikeln untereinander und der Gefäßwand zu kommen. Diese Untersuchungen zeigten, dass trotz Verluste des Nanomaterials ein Nachweis von SAS-Partikeln unter Prüfbedingungen und unter Berücksichtigung der sich hieraus ergebenden Nachweisgrenze in Migrationsproben möglich war. Migrationsmessungen zu den Nanokompositen bei denen hydrophobes SAS sowie kolloidales SAS verwendet wurde, zeigten jedoch keine Signale zu Elutionszeiten, welche relevant für das jeweilige Nanomaterial waren. Unter Berücksichtigung der Wiederfindungsraten (Kapitel 5.1.6), sowie der eingesetzten Menge Lebensmittelsimulanz (50 ml) und Fläche der Probe (1 dm<sup>2</sup>) fand keine nachweisbare Migration unter den in Tabelle 26 angegebenen auf die Verpackungsfläche bzw. Masse des verpackten Lebensmittels bezogenen Nachweisgrenzen statt.

**Tabelle 26: Nachweisgrenzen der SAS-Migrationsstudien bezogen auf die Fläche der Verpackung und auf die Masse Lebensmittel (bei einer Verpackungsfläche von 6 dm<sup>2</sup> pro kg Lebensmittel).**

SAS-Typ	Matrix/Simulanz	Pro dm <sup>2</sup> Verpackungsfläche [ng dm <sup>-2</sup> ]	Pro kg Lebensmittel [µg kg <sup>-1</sup> ]
HMDZ	95 % v/v Ethanol	452,9	2,7
	Isooktan	644,3	3,9
	3 % v/v Essigsäure	1373,6	8,2
PDMS	95 % v/v Ethanol	369,3	2,2
	Isooktan	541,1	3,2
	3 % v/v Essigsäure	1250	7,5
Kolloidal	500 mg l <sup>-1</sup> SDS / 100 mg l <sup>-1</sup> NaN <sub>3</sub>	4285,7	25,7

Die Validierung der jeweiligen Methoden durch Aufstockungen der Migrationsproben zeigte, dass, wenn diese SAS-Typen in Form von nanoskaligen Partikeln auf das Lebensmittelsimulanz migriert wären, eine Trennung von anderen Matrixkomponenten mittels AF4 und eine Detektion mittels MALS möglich gewesen wäre.

Bei Migrationsuntersuchungen, bei denen Fällungskieselsäure-Nanokomposite verwendet wurden, zeigte sich bei allen Proben ein Signal zu Elutionszeiten, welche typisch für dieses Nanomaterial waren. Diese Signale schienen jedoch weder von der Konzentration des Nanomaterials im Polymer abhängig zu sein, noch konnte ein Unterschied zum Polymer-Blindwert festgestellt werden. Die Migration von SAS-Partikeln aus den Nanokompositen als Ursache für dieses Signal ist daher unwahrscheinlich. Als Ursache wäre eine Kontamination der Tensidlösung oder der Migrationszellen mit Partikeln denkbar oder das Vorhandensein extrahierter Oligomere, welche sowohl in Migrationsansätzen der Nanokomposite als auch in Referenz-Folien ohne SAS enthalten sein könnten. Im Vergleich zu hydrophilem, kolloidalem SAS musste bei der Fällungskieselsäure eine AF4-Methode gewählt werden, bei welcher das Trennfeld nach der Injektionsphase rapide reduziert werden musste. Hierdurch ergab sich eine Dauer der Elutionsphase für Partikel der Fällungskieselsäure von über 1 h (Abbildung 24). Es ist nicht auszuschließen, dass während dieser Phase auch andere Matrixkomponenten, wie extrahierte Oligomere, eluieren, da nur ein geringer Querfluss im Kanal angelegt war. Dies ist insbesondere dann möglich, wenn extrahierte Oligomere keinen deutlichen Größenunterschied zu den dispergierten SAS-Partikeln aufweisen. Hierdurch zeigt sich ein entscheidender Nachteil der AF4, bei welcher der größenabhängige Diffusionskoeffizient als einziger Parameter die Trennung im Kanal beeinflusst. Bei anderen Systemen, wie der Zentrifugal-Feld Fluss Fraktionierung (CF3), wird die Trennung anhand des Dichteunterschieds der dispergierten Partikel zusätzlich beeinflusst. Hierdurch wäre es möglich, gleichgroße, aber unterschiedlich schwere Partikel voneinander zu trennen, während bei der AF4 keine Trennung dieser Partikel möglich ist. Dies zeigte sich bei den Migrationsproben, da durch eine Anpassung der AF4 Methode keine bessere Trennung der detektierten Signale erreicht werden konnte.

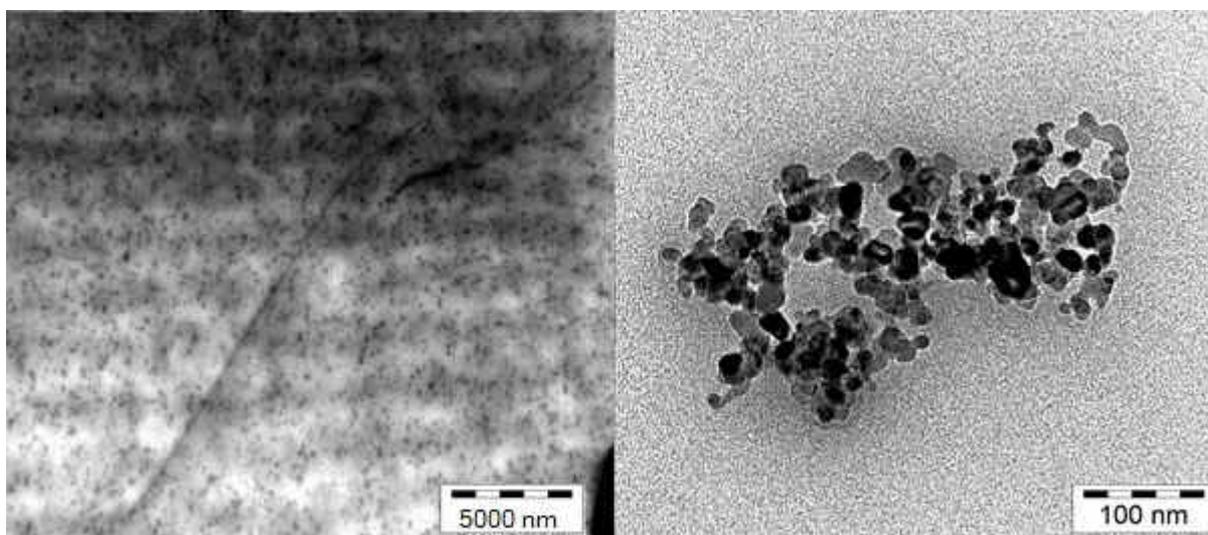
Die Migration von SAS aus Nanokompositen konnte mittels AF4/MALS im Falle von Fällungskieselsäure weder eindeutig ausgeschlossen noch bestätigt werden. Untersuchungen zu den anderen Spezies von SAS zeigten jedoch, dass eine Migration unter den gewählten Prüfbedingungen und unter Berücksichtigung der Nachweisgrenzen ausgeschlossen werden konnte. Bedenkt man, dass die Größe eines Migranten der entscheidende Parameter hinsichtlich der Diffusion durch eine Polymermatrix ist, ist aufgrund der hier gewonnenen Erkenntnisse die Migration von Fällungskieselsäure-Partikeln unwahrscheinlich. Fällungskieselsäure-Partikel zeigten in Vorversuchen mittels AF4/MALS und bei den TEM-Aufnahmen eine ähnliche Struktur und Partikelgrößenverteilung wie die HMDZ und PDMS modifizierte SAS-Partikel. Für letztere konnte eine Migration aus dem Polymer ausgeschlossen werden, wobei die Prüfbedingungen und das verwendete Polymer identisch wie bei den Fällungskieselsäure-Nanokompositen waren. Zudem konnte eine Migration der kolloidalen Kieselsäure ausgeschlossen werden. Im Gegensatz zu den anderen untersuchten SAS-Typen zeigt kolloidales SAS keine aggregierte Partikelstruktur. Da kolloidales SAS aus isoliert vorliegenden Primärpartikeln besteht, konnte daher bei diesem Nanomaterial im Vergleich zu aggregierten SAS-Strukturen von einem höherem Diffusionspotential im Polymer ausgegangen werden. Zudem wiesen die kolloidalen SAS-Nanokomposite eine Folienstärke von nur 25  $\mu\text{m}$  anstelle von 60  $\mu\text{m}$  auf (vgl. Tabelle 6). Eine geringere Folienstärke bedeutet, dass das im Polymer eingearbeitete Nanomaterial im Falle einer Migration eine kürzere Wegstrecke zur Lebensmittelseite zurücklegen muss und somit weniger Widerstand erfährt. Die kolloidalen SAS-Nanokomposite stellen somit das „worst-case“ Material der hier untersuchten SAS-Nanokomposite dar.

Zum jetzigen Zeitpunkt sind andere Studien, die sich mit der Migration von SAS aus einem Polymer heraus beschäftigt haben, nicht bekannt. Elias et al. [160] untersuchte jedoch die Migration von sowohl hydrophiler als auch hydrophober SAS-Partikel innerhalb eines Polymer im geschmolzenem Zustand. Hierzu wurde ein System aus zwei nicht mischbaren Polymeren, Polypropylen (PP) und einem Ethylvinylacetat-Copolymer (EVA), untersucht. SAS wurde hierbei sowohl nur zu einem Polymer als auch zu beiden Polymeren hinzugegeben. Aus den Komponenten wurden dann „Polymerblends“ mittels Extrusion hergestellt als auch Folien im Mehrschichtaufbau. Bei den Polymerblends wurde ein Verhältnis von PP zu EVA von 80:20 gewählt, wodurch das EVA nach der Extrusion in Form von kleinen Tropfen im PP vorlag. Elias et al. stellten fest, dass hydrophiles SAS bevorzugt in der EVA-Phase gefunden werden konnte, während sich hydrophobes SAS bevorzugt in der Grenzschicht zwischen den beiden Polymeren ansiedelte. Die Autoren konnten zeigen, dass ein Übergang der SAS-Partikel zwischen den Polymer-Phasen möglich war. Die Übergänge fanden jedoch nur dann statt, wenn die Polymere im geschmolzenen Zustand vorlagen und zudem auf die „Polymerblends“ (5 min im Extruder bei 200 °C) als auch auf die Polymere mit mehrschichtigem Aufbau (60 min im Rheometer bei 200 °C) Scherkräfte ausgewirkt wurden. In einem statischen Experiment, bei welchem das mehrschichtige Polymer ohne die Einwirkung von Scherkräften für 2 h bei 200 °C gelagert wurde, fand kein Übergang der SAS-Partikel in eine andere Polymerphase statt. Die Autoren folgerten aus diesem Befund, dass die Viskosität der Polymere im geschmolzenen Zustand zu hoch wäre, um eine Diffusion der SAS-Partikel zu ermöglichen. Die beobachtete Anreicherung der SAS-Partikel in der jeweils geeigneteren Matrix in den zuvor beschriebenen Experimenten (hydrophiles SAS in EVA, hydrophobes SAS in der Grenzschicht zwischen PP und EVA) ist daher eher auf die Bewegung des geschmolzenen Polymers beim Durchmischen unter Einwirkung starker Scherkräfte im Extruder oder Rheometer zurückzuführen.

## 5.2 Titanitrid (TiN)

### 5.2.1 Untersuchung der Nanokomposite mittels TEM

Mittels TEM wurden Proben der TiN-Nanokomposite mit der niedrigsten ( $100 \text{ mg kg}^{-1}$ ) und der höchsten ( $1000 \text{ mg kg}^{-1}$ ) Konzentration an TiN-Partikeln im Polymer untersucht. Die TEM-Aufnahmen zeigten dabei, dass TiN homogen im Polymer verteilt war (Abbildung 50). TEM-Aufnahmen mit hoher Auflösung zeigten, dass das TiN-Nanomaterial in Form von Aggregaten mit nanoskaligen Dimensionen im PE-LD vorlag (Abbildung 50). Das hohe Auflösungsvermögen dieser TEM-Aufnahmen machte den typischen Aufbau der TiN-Aggregate, welche aus fast sphärischen Primärpartikeln von etwa 20 nm im Durchmesser bestanden, ersichtlich. Diese Primärpartikel lagerten sich zu unregelmäßig geformten Aggregaten zusammen, welche durchschnittliche Längen oder Durchmesser von 100 nm bis 500 nm aufwiesen. Isoliert vorliegende Primärpartikel konnten in den Aufnahmen nicht nachgewiesen werden.



**Abbildung 50:** TEM-Aufnahmen eines TiN-Nanokomposits ( $1000 \text{ mg kg}^{-1}$  TiN im Polymer). Aufnahmen im 5000 nm (links) und 100 nm Maßstab (rechts).

### 5.2.2 Vorversuche zur Untersuchung von TiN-Dispersionen mittels AF4/MALS

Für die Möglichkeit, TiN-Partikel in den späteren Migrationsproben partikelspezifisch zu erfassen, wurden Vorversuche zur stabilen Dispergierbarkeit und AF4-Methodenentwicklung durchgeführt. In 10 ml Autosamplervials wurde pulverförmiges TiN-Referenznanomaterial (PlasmaChem GmbH, Berlin, Deutschland, Primärpartikelgröße: 20nm) eingewogen, in welche anschließend die Zugabe verschiedener Dispersionsmittel erfolgte. Getestet wurden organische Lösemittel (Ethanol, Hexan, 2-Propanol, Aceton), wässrige Tensidlösungen (SDS, Novachem), wässrige alkalische und saure Lösungen (NaOH, Essigsäure) sowie Ethylenglykol-Wasser-Gemische. Bei wässrigen Lösungen ergab sich durch die Möglichkeit, den pH-Wert (von pH = 3 bis 12) sowie die Tensidkonzentration (von  $2000 \text{ mg l}^{-1}$  bis  $20000 \text{ mg l}^{-1}$ ) einzustellen, eine Vielzahl an Dispersionen. Mit Ausnahme der Ethylenglykol-Wasser-Gemische zeigten jedoch alle Dispersionsansätze bereits innerhalb der ersten Stunde nach Herstellung eine vollständige Sedimentation des TiN-Nanomaterials, wobei die Tensidlösungen noch eine geringfügige Färbung des Überstands aufwiesen. Auch die Verwendung der in Tabelle 14 gelisteten Dispergiergeräte bewirkte nur eine minimale Verbesserung der Dispersionsstabilität. Gemische aus Ethylenglykol und Wasser hingegen zeigten eine bessere Wirkung. Es wurden Dispersionen getestet, bei denen als Dispersionsmittel ein Gemisch mit jeweils 25, 50, 75 und 100 %-m/m Ethylenglykol/Wasser verwendet wurden. Alle Dispersionen wurden für

1 h im Ultraschall-Bad dispergiert, wodurch alle Dispersionen eine dunkelblaue Färbung zeigten. Da TiN üblicherweise eine gelblich/goldene Färbung aufweist (z.B. bei Werkzeugbeschichtungen), deutet die intensive Blaufärbung der TiN-Dispersionen auf das Vorliegen als eine nanoskalige Struktur hin. Dies ist ein Phänomen, welches bei mehreren Substanzen bei Partikelgrößen im Nanometerbereich beobachtet werden kann. Beispielsweise weisen auch nanoskaliges Gold eine rötliche Färbung und nanoskaliges Silber eine gelbliche Färbung auf.

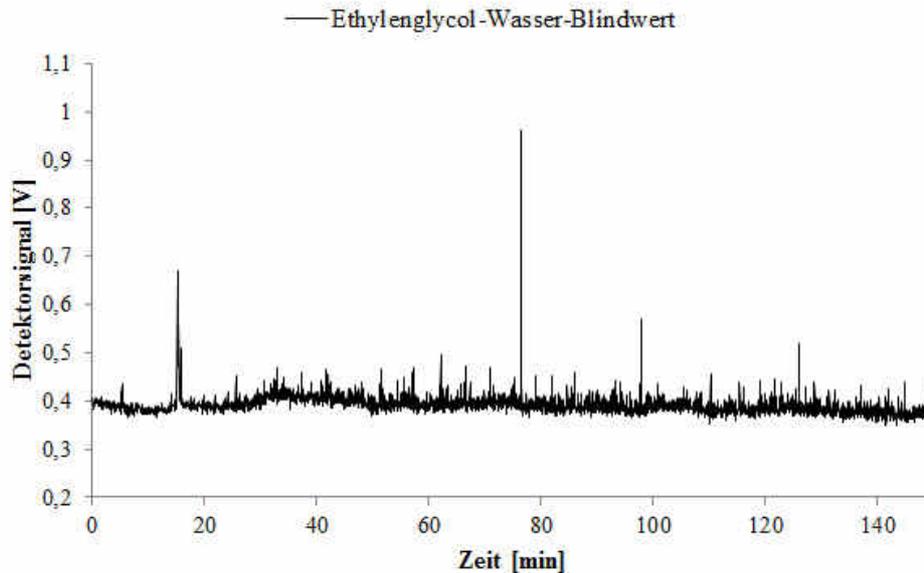
Eine Mischung aus 75 % Ethylenglykol und 25 % Wasser zeigte die intensivste Einfärbung des Dispersionsmittels durch die tiefblauen TiN-Nanopartikel. Zur ersten Abschätzung der Stabilität dieser Dispersionen sollten AF4-Messungen über den Zeitraum von einer Woche wiederholt werden, wobei die Dispersionen bei Raumtemperatur gelagert wurden. Es zeigte sich jedoch bereits nach 24 h, dass alle Dispersionen einen Bodensatz aufwiesen und der Überstand nur noch eine schwache Blaufärbung aufwies (Abbildung 51). Die Dispersion welche Ethylenglykol mit einem Volumenanteil von 75 % (v/v) enthielt zeigte auch nach Absetzung des TiN-Materials eine stärkere Färbung, weshalb davon ausgegangen wurde, dass bei dieser Dispersion noch am meisten Nanomaterial dispergiert ist. Der Überstand dieser Dispersion wurde daher für Vorversuche an der AF4 genutzt. Hierzu wurde die Dispersion für 30 min bei einer relativen Zentrifugalbeschleunigung von 5000 g zentrifugiert, sodass der Überstand zwar keine sichtbaren Partikel mehr enthielt, aber noch immer eine signifikante Blaufärbung aufwies. Hieraus wurde abgeleitet, dass größere Agglomerate mit geringer Dispersionsstabilität entfernt wurden, jedoch noch kleinere Aggregate im Überstand enthalten waren, welche bei den anschließenden AF4-Messungen weniger schnell aussedimentieren würden.



**Abbildung 51: TiN-Dispersionen nach 24 h Lagerung bei Raumtemperatur bei denen Ethylenglykol-Wasser-Gemische als Dispersionsmittel eingesetzt wurden. V.l.n.r. 25, 50, 75 und 100 % Ethylenglykol.**

Als Standard Setup wurde die AF4 mit einem 350 mm „Spacer“ und einer 10 kDa RC Membran (vgl. Tabelle 11) ausgestattet. Als Fließmittel wurden verschiedene Lösungen getestet, wobei sich zeigte, dass es bei Verwendung von Ethylenglykol-Wasser-Gemischen zu Problemen mit dem notwendigen Druck im AF4-System kam. Es wurde daher als Fließmittel eine wässrige 1000 mg l<sup>-1</sup> Novachem-Tensidlösung verwendet, welche bei den Dispersionsversuchen ebenfalls eine schwache Färbung des Dispersionsmittels aufzeigte und bei AF4-Läufen keine Probleme mit dem Systemdruck verursachte. Bereits bei den ersten AF4-Läufen zeigte sich jedoch, dass auch der klare Überstand der TiN-Dispersion noch Partikel enthielt, welche im Kanal der AF4 zur Sedimentation neigten. Bei allen AF4-Läufen bei denen eine RC-Membran verwendet wurde, konnte kein schmalbandiges Signal für die TiN-Partikel erzeugt werden, vielmehr wiesen die AF4-Fraktogramme ein starkes Rauschen während der gesamten Elutionsphase auf. Dies deutete auf starke Wechselwirkungen der TiN-Partikel mit der

Membran hin. Ohne die Möglichkeit einer eindeutigen Fraktionierung von TiN-Partikeln wäre eine eindeutige Abtrennung von möglichen anderen Probenbestandteilen in späteren Migrationsuntersuchungen (z.B. extrahierte Oligomere) unmöglich. Auch die im Anschluss gefahrenen Dispersionsmittel-Blindwerte zeigten ein stark verrauschtes Signal, wenn zuvor eine Probe mit TiN injiziert wurde (Abbildung 52). Auch die Verwendung anderer Trennmembranen, welche aufgrund einer PES- oder PVDF-Beschichtung eine glattere Oberfläche aufweisen als RC-Membranen, zeigten hierbei keinerlei Besserung. Neben der fehlenden Möglichkeit TiN-Partikel zu fraktionieren ergibt sich hieraus das Problem der Probenverschleppung in folgende AF4-Läufe.



**Abbildung 52:** Blindwert einer 75 % Ethylenglykol – 25 % Wasser Mischung nachdem zuvor eine Dispersion mit TiN injiziert wurde.

Nachdem weder stabile TiN-Dispersionen, noch eindeutige Signale für TiN-Partikel in AF4-Läufen erzeugt werden konnten, ist die Methode zum Nachweis von TiN mittels AF4/MALS ungeeignet. Unstabile Dispersionen führen dazu, dass eine Quantifizierung des Nanomaterials anhand der Signale des Lichtstredetektors nicht möglich ist, da die tatsächliche Menge an Nanomaterial in Dispersion unbekannt ist. Eine nicht eindeutige Fraktionierung der TiN-Nanopartikel im AF4-Lauf würde zudem in späteren Migrationsversuchen dazu führen, dass eine Abtrennung und somit Unterscheidung von eventuell vorhandenen anderen Matrixkomponenten (Verunreinigungen, extrahierte Oligomere) mittels AF4 nicht möglich ist.

### 5.2.3 Quantifizierung von Titan zum Nachweis von TiN mittels ICP-MS

Mittels der in Kapitel 4.4.2.3 beschriebenen Standardreihe wurde eine externe Kalibrierung des ICP-MS zur Quantifizierung von Titan in den Nanokompositen sowie in Migrationsproben durchgeführt. Die Korrelation des Detektorsignals (als „counts per second, CPS“) gegen die Titan-Konzentration des jeweiligen Standards ist für den unteren Konzentrationsbereich (0 bis  $50 \mu\text{g l}^{-1}$ ) in Abbildung 53 dargestellt, für den gesamten Konzentrationsbereich in Abbildung 54. Über den gesamten Konzentrationsbereich hinweg auch im Bereich niedriger Konzentrationen ergab sich eine lineare Abhängigkeit des Detektorsignals von der Titan-Konzentration der Standards. Der Standard mit einer Titan-Konzentration von  $1 \mu\text{g l}^{-1}$  ergab noch ein ausreichendes Signal, welches sich sowohl vom Blindwert der Säure als auch von der nächsthöheren Konzentration unterscheiden ließ. Die Gerätenachweisgrenze des ICP-MS wurde daher für Titan auf  $1 \mu\text{g l}^{-1}$  festgelegt.

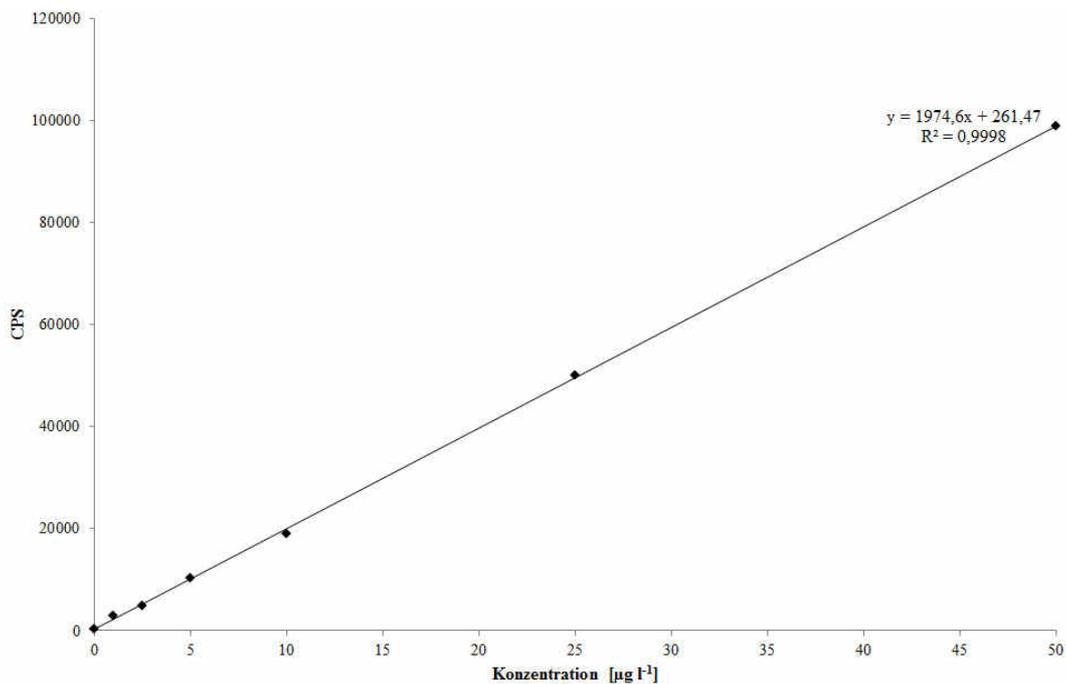


Abbildung 53: Kalibrierung des ICP-MS mittels Titan-Standards im Bereich von 0 bis 50  $\mu\text{g l}^{-1}$ .

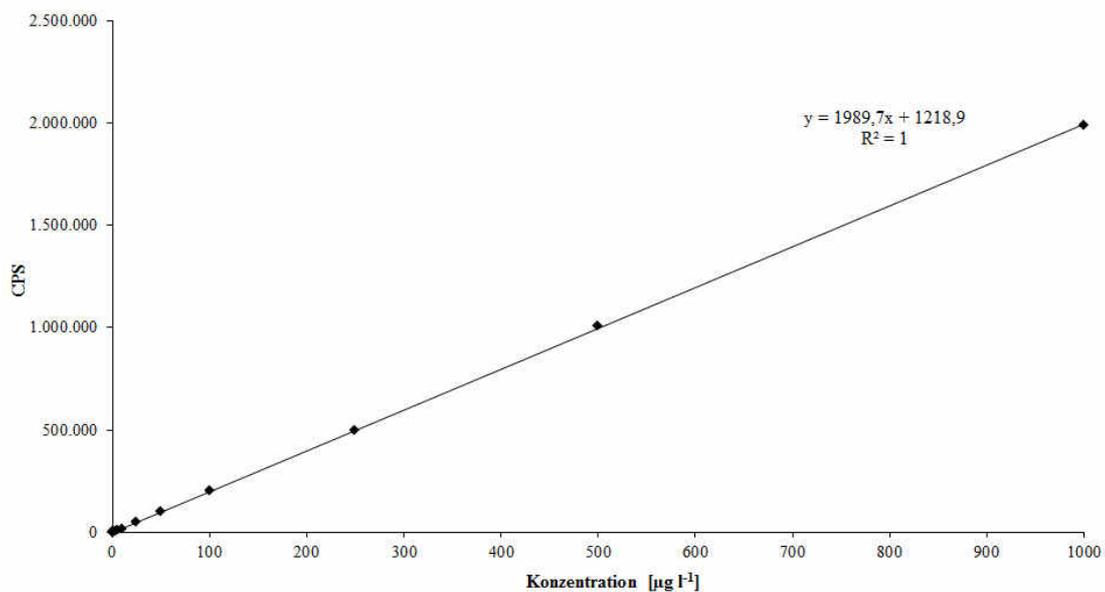


Abbildung 54: Kalibrierung des ICP-MS mittels Titan-Standards im Bereich von 0 bis 1000  $\mu\text{g l}^{-1}$ .

#### 5.2.4 Bestimmung der Migration von TiN aus den Nanokompositen

Zur Bestimmung der Migration von Ti bzw. TiN aus den Nanokompositen wurden Folienausschnitte von 1 dm<sup>2</sup> in Lebensmittelsimulanzien getaucht. Als Simulanzien wurden 95 % v/v Ethanol, Isooktan, 3 % v/v Essigsäure und eine wässrige 2000 mg l<sup>-1</sup> Novachem Tensidlösung verwendet. Letztere wurde verwendet, da sich bei den Dispersionsversuchen zur AF4 Methodenentwicklung anhand einer Färbung des Überstands bei Verwendung der Tensidlösung gezeigt hat, dass sich ein Teil des Nanomaterials hiermit dispergieren lässt. Die Folienausschnitte wurden in 100 ml Erlenmeyerkolben gegeben und mit 100 ml des jeweiligen Simulanz befüllt. Proben mit Isooktan wurden für 24 h bei 40 °C gelagert, alle anderen Proben für 10 d bei 60 °C. Am Ende der Lagerung wurden die Folien aus

den Erlenmeyerkolben entfernt und die Simulanzien schrittweise in 15 ml Zentrifugenvials, welche als Autosamplervials für die ICP-MS Messungen dienten, überführt. Hierbei wurde das Simulanz vollständig bis zur Trockene unter Verwendung eines Stickstoffstromes eingedampft. Der Rückstand wurde direkt in den Vials mit 15 ml einer 3 % HNO<sub>3</sub> wieder aufgenommen. Um etwaige Verluste durch die Probenaufbereitung zu erfassen, wurden gleichartig behandelte Wiederfindungsproben mituntersucht. Hierzu wurden in 100 ml Messkolben 0,1 ml des 100 mg l<sup>-1</sup> gelösten Titan-Kalibrierstandards (vgl. Kapitel 4.4.2.3) vorgelegt und mit dem jeweiligen Simulanz bis zur Messmarke aufgefüllt. Hierdurch ergab sich eine nominelle Ti-Konzentration von 100 µg l<sup>-1</sup> pro Standard. Die Wiederfindungsproben wurden in Erlenmeyerkolben überführt und unter denselben Bedingungen gelagert, eingedampft und mit einer 3 % HNO<sub>3</sub> wieder aufgenommen wie auch die Migrationsproben. Als Referenz diente ein frisch angesetzter 100 µg l<sup>-1</sup> Ti-Standard in 3 % HNO<sub>3</sub>. Sowohl die Migrationsproben als auch die Wiederfindungsproben wurden im Dreifachansatz angefertigt.

Die Wiederfindungsversuche zeigten, dass alle Lebensmittelsimulanzien zum empfindlichen Nachweis von Titan mittels oben beschriebener Prozedur zur Probenaufbereitung geeignet waren. Die gemessenen Konzentrationen und sich hieraus ergebenden Wiederfindungsraten sind in Tabelle 27 dargestellt.

**Tabelle 27: Bestimmung der Wiederfindungsraten (Mittelwerte) bzgl. Titan mittels ICP-MS (bezogen auf 100 ml Simulanz)**

Probe	Ti-Konzentration [µg l <sup>-1</sup> ]	Wiederfindung bzgl. der in der Referenz gemessenen Konzentration [%]
<b>Referenz in 3 % HNO<sub>3</sub></b>	<b>100,3</b>	<b>(100)</b>
95 % v/v Ethanol	83,4	83,2
Isooktan	87,0	86,7
3 % v/v Essigsäure	103,1	102,8
2000 mg l <sup>-1</sup> Novachem	96,9	96,6

Anhand der Wiederfindungsraten, dem Volumen der 3 % v/v HNO<sub>3</sub> und der Gerätenachweisgrenze lassen sich hieraus Methodennachweisgrenzen für die jeweiligen Lebensmittelsimulanzien in Form von Masse Titan pro Fläche der PE-LD Folie, bzw. pro kg Lebensmittel nach Umrechnung anhand des EU-Würfelmmodells (würfelförmige Verpackung mit dem Volumen 1000 cm<sup>3</sup> und einer Oberfläche von 6 dm<sup>2</sup>), ausdrücken. Als Nachweisgrenzen für die Methode wurden 18,0 ng dm<sup>-2</sup> (108,0 ng kg<sup>-1</sup>) für 95 % v/v Ethanol, 17,3 ng dm<sup>-2</sup> (103,2 ng kg<sup>-1</sup>) in Isooktan, 15,5 ng dm<sup>-2</sup> (93,0 ng kg<sup>-1</sup>) in der Novachem Tensidlösung und 14,6 ng dm<sup>-2</sup> (87,5 ng kg<sup>-1</sup>) in 3 % v/v Essigsäure erzielt.

In Migrationsproben, bei denen eine 2000 mg l<sup>-1</sup> Novachem-Lösung, 95 % v/v Ethanol oder Isooktan verwendet wurde, konnte keine Migration von Titan am Ende der Lagerung der Proben festgestellt werden (Abbildung 55). In allen Proben bei denen 3 % v/v Essigsäure als Lebensmittelsimulanz verwendet wurde, konnte jedoch Titan in geringen Mengen festgestellt werden. Die einzelnen Proben enthielten dabei einen durchschnittlichen Titangehalt von 18,3 ng dm<sup>-2</sup> (Folie A), 17,7 ng dm<sup>-2</sup> (Folie B) und 22,1 ng dm<sup>-2</sup> (Folie C). Bei Migrationsproben, welche mit der PE-LD Referenz angefertigt

wurden, konnte jedoch eine vergleichbare Konzentration an Titan festgestellt werden. Die gemessenen Gehalte an Titan in den Migrationsproben, bei welchen TiN-Nanokomposite verwendet wurden, können daher nicht als Migration von TiN-Partikeln interpretiert werden.

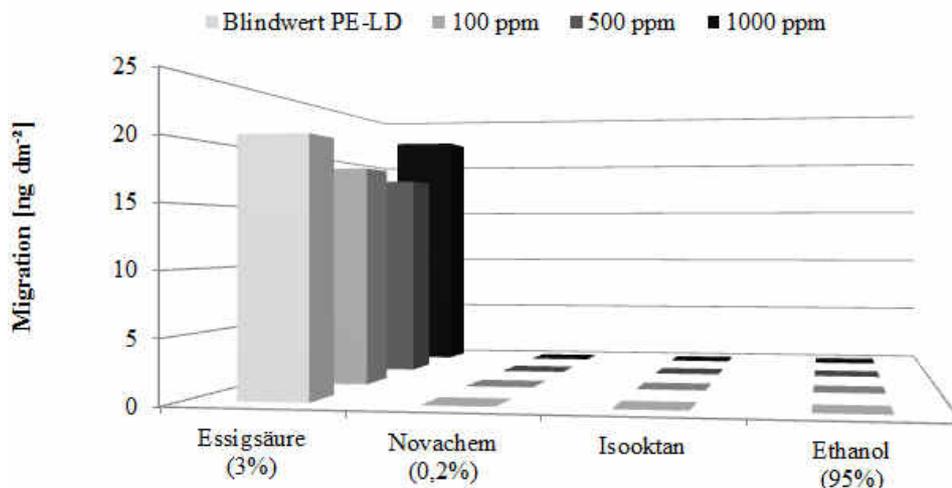


Abbildung 55: Ergebnisse der Titan-Messungen in den Migrationsproben

Da die Bestimmung des Titangehalts der Folien bereits ergeben hatte, dass in der PE-LD Referenz selbst kein Titan nachgewiesen werden konnte, wurde zusätzlich die Hintergrundkonzentration der verwendeten 3 % v/v Essigsäure bestimmt. Hierdurch zeigte sich, dass bereits die Essigsäure Titan enthielt (Abbildung 56). Untersuchungen zu weiteren frisch angesetzten 3 % v/v Essigsäure Lösungen zeigten, dass jedes Mal Titan in diesem Simulanz nachgewiesen werden konnte und somit dieses Simulanz grundsätzlich mit Titan kontaminiert ist. Unter Beachtung der in Abbildung 56 angegebenen Konzentrationen wird zudem ersichtlich, dass die gemessenen Titan-Gehalte an der Nachweisgrenze des Systems ( $1 \mu\text{g l}^{-1}$ ) aufgezeichnet wurden. Resultierende Schwankungen und Abweichungen lassen sich anhand der schlechteren Messgenauigkeit in diesem Konzentrationsbereich begründen und können nicht als signifikant betrachtet werden.

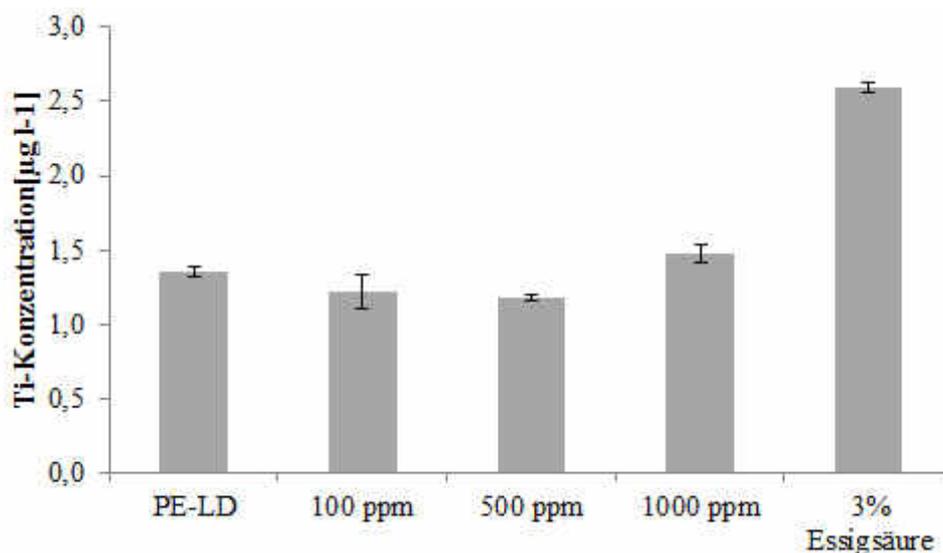


Abbildung 56: Vergleich des Titangehalts der in 3 % v/v Essigsäure angesetzten Migrationsproben mit dem Blindwert der 3 % v/v Essigsäure.

### 5.2.5 Betrachtung der Ergebnisse aus den TiN-Migrationsversuchen

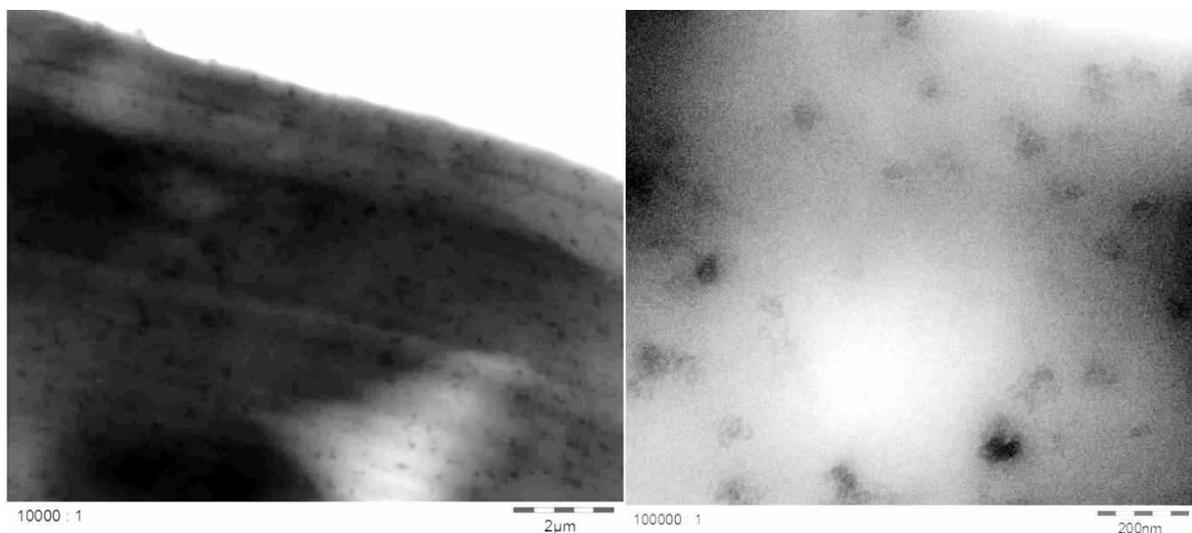
Nanopartikuläres TiN wurde als Modellsubstanz für diese Studie gewählt, da sich Titan mittels ICP-MS empfindlich messen lässt und TiN chemisch sehr beständig gegen Oxidation ist [161]. Hierdurch lässt sich erwarten, dass mittels ICP-MS gemessenes Titan in den Migrationsproben partikulären und nicht ionischen Ursprungs (gelöst durch Wechselwirkungen mit wässrigen, oder sauren Simulanzien) sein muss. Vorversuche mittels ICP-MS zeigten, dass unter Anwendung der strengen Prüfbedingungen und der notwendigen Probenaufbereitung ein Nachweis von Titan im Spurenbereich möglich gewesen wäre. Unter Berücksichtigung von Wiederfindungsraten lagen die Nachweisgrenzen bei 14,6 ng bis 18,0 ng Titan pro dm<sup>2</sup> Nanokomposit. Trotz der hohen Empfindlichkeit dieser Methode konnte mit Ausnahme der 3 % v/v Essigsäure kein Titan in den Lebensmittelsimulanzien nachgewiesen werden. Die im Spurenbereich nachgewiesene Titankonzentration in den in 3 % v/v Essigsäure angesetzten Migrationsproben ließen sich jedoch einer Verunreinigung der Essigsäure mit Titan zuschreiben. Migrationsansätze des PE-LD Blindwerts wiesen dieselbe Konzentration an Titan auf wie die TiN-haltigen Nanokomposite, wobei in Vorversuchen nachgewiesen wurde, dass in den PE-LD Folien kein Titan enthalten war. Zusätzlich angefertigte Essigsäure-Blindwertproben zeigten alle in etwa dieselbe Konzentration an Titan, weshalb ein Nachweis der Migration nur oberhalb des Titan-Hintergrunds der Essigsäure nachweisbar gewesen wäre. Eine Zunahme an Titan in 3 % v/v Essigsäure Migrationsansätzen konnte jedoch nicht festgestellt werden. Vielmehr kam es zu einer Abnahme des in der Essigsäure gelösten Titans, wenn diese mit den Testfolien in Kontakt war. Eine Migration von TiN-Partikeln auf die Lebensmittelsimulanzien würde eine Erhöhung des Titangehalts der Migrationsproben mit sich ziehen. Ein Anstieg der Titankonzentration konnte jedoch in keiner der untersuchten Proben nachgewiesen werden. Es kann somit gefolgert werden, dass TiN-Partikel selbst unter den hier angewandten strengen Prüfbedingungen nicht aus der PE-LD Matrix migrierte.

Die Ergebnisse dieser Arbeit stimmen mit Migrationsuntersuchungen überein, über welche in einer Stellungnahme der EFSA berichtet wurde [55, 74]. Hierbei wurden PET-Flaschen mit einem TiN-Gehalt von bis zu 20 mg kg<sup>-1</sup> untersucht. Bei einer Nachweisgrenze von 5 µg l<sup>-1</sup> Simulanz konnte keine Migration von Titan festgestellt werden. Im Vergleich zu den von der EFSA beschriebenen Untersuchungen sind die in dieser Arbeit verwendeten Bedingungen deutlich strenger. Neben einer deutlich höheren Konzentration des Nanomaterials im Polymer wurde mit PE-LD ein Polymer verwendet, von welchem allgemein höhere Migrationsraten zu erwarten sind als bei PET. Dennoch zeigte sich auch hier, dass kein Titan nachweisbar war. Weitere Studien zum Migrationspotential von TiN-Nanopartikeln sind nicht bekannt. Ähnliche Messungen zur Migration nanoskaliger und titanhaltiger Partikel wurden von Lin et al. [162] durchgeführt. Die Autoren untersuchten Lebensmittelsimulanzien dahingehend, ob Titan aus Nanokompositen aus TiO<sub>2</sub> und PE-LD freigesetzt werden. In Migrationsansätzen, welche mit 3 % v/v Essigsäure angefertigt wurden, konnten die Autoren Titan nachweisen. Im Vergleich zu TiN weist TiO<sub>2</sub> eine geringere Stabilität gegen Oxidation auf. 3 % v/v Essigsäure stellt unter den Lebensmittelsimulanzien zudem dasjenige dar, welche das höchste Vermögen hat anorganische Substanzen zu lösen. Die Autoren folgerten hieraus, dass es sich hierbei um einen Oberflächeneffekt handeln musste, bei welchem Titan von der Oberfläche der TiO<sub>2</sub>-Partikel gelöst wurde. Einen Nachweis der Migration von TiO<sub>2</sub> in seiner partikulären Form schlossen die Autoren somit aus.

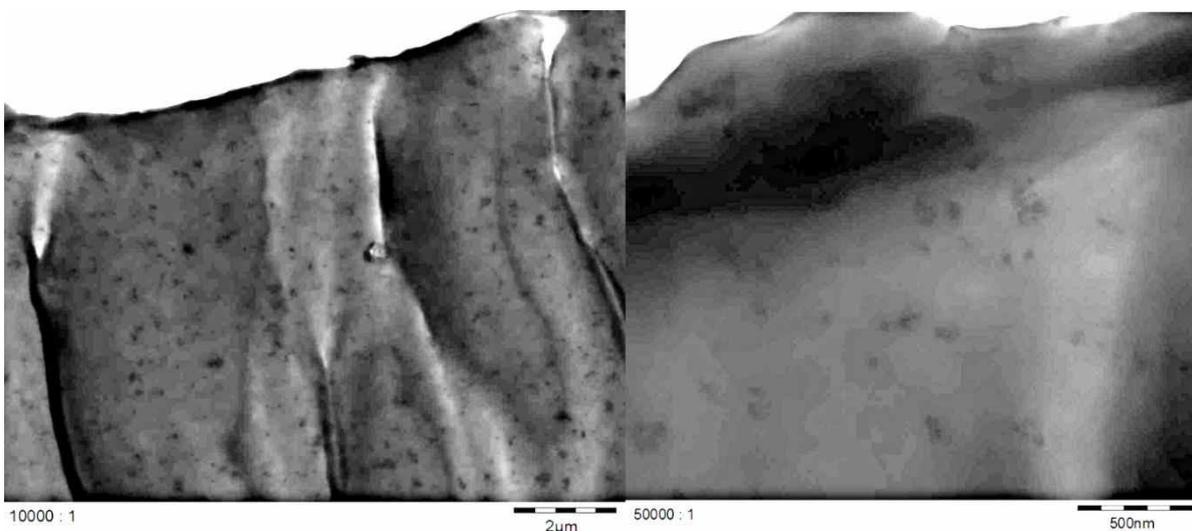
### 5.3 Kohlenstoffschwarz (CB)

#### 5.3.1 Untersuchung der Nanokomposite mittels TEM

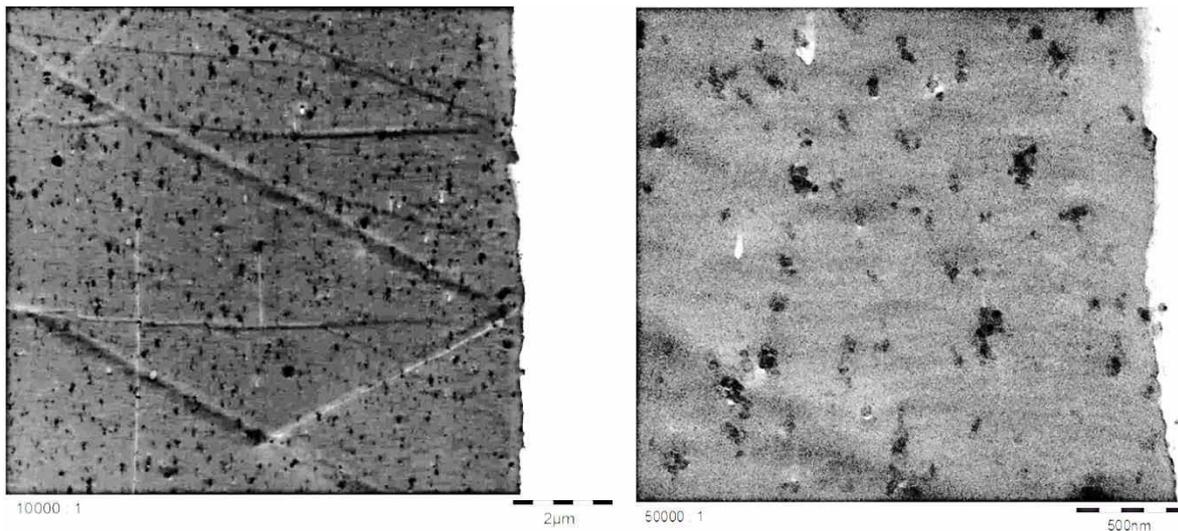
Untersuchungen an CB-Nanokompositen wurden an vier verschiedenen Mustern durchgeführt, welche sich nach Art des verwendeten CB-Typs (Printex®80, im Folgenden „P80“, oder Printex®85, im Folgenden „P85“) sowie des verwendeten Polymers (PE-LD oder PS) unterschieden. Zu jedem Muster wurden vom Hersteller der Nanokomposite TEM Aufnahmen zur Verfügung gestellt, welche bei einer geringeren Vergrößerung die Verteilung des Nanomaterials im Polymer abbilden und bei stärkerer Vergrößerung einzelne Aggregate sichtbar machen sollten. Wie im Folgenden erkennbar ist, war die Qualität der zur Verfügung gestellten Aufnahmen eingeschränkt. Insbesondere die Aufnahmen der PE-LD Muster (Abbildung 57 und Abbildung 58) erschwerten eine eindeutige Auswertung der Partikelgrößenverteilung der im Polymer dispergierten CB-Partikel. Die auf den Aufnahmen zu erkennenden Schatten und Wellen deuten darauf hin, dass die Verwendung von Polymerplatten anstelle von dünnen Folien zu Problemen bei der Anfertigung der Mikrotomschnitte führte.



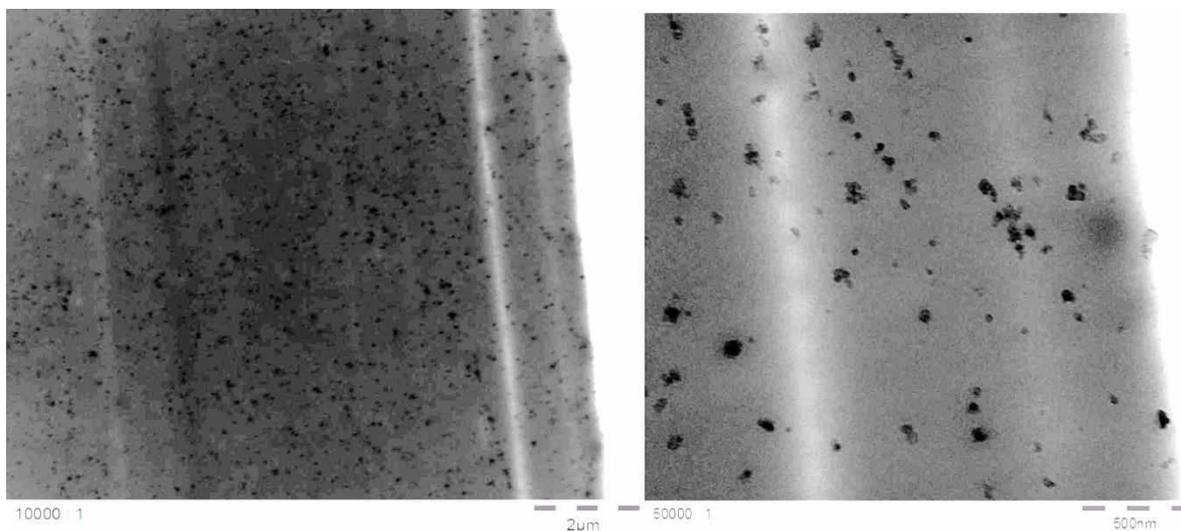
**Abbildung 57:** TEM Aufnahme eines CB-Nanokomposits (5 % Printex 80® in PE-LD) im 2 µm Maßstab (links) und 200 nm Maßstab (rechts).



**Abbildung 58:** TEM Aufnahme eines CB-Nanokomposits (5 % Printex 85® in PE-LD) im 2 µm Maßstab (links) und 500 nm Maßstab (rechts).



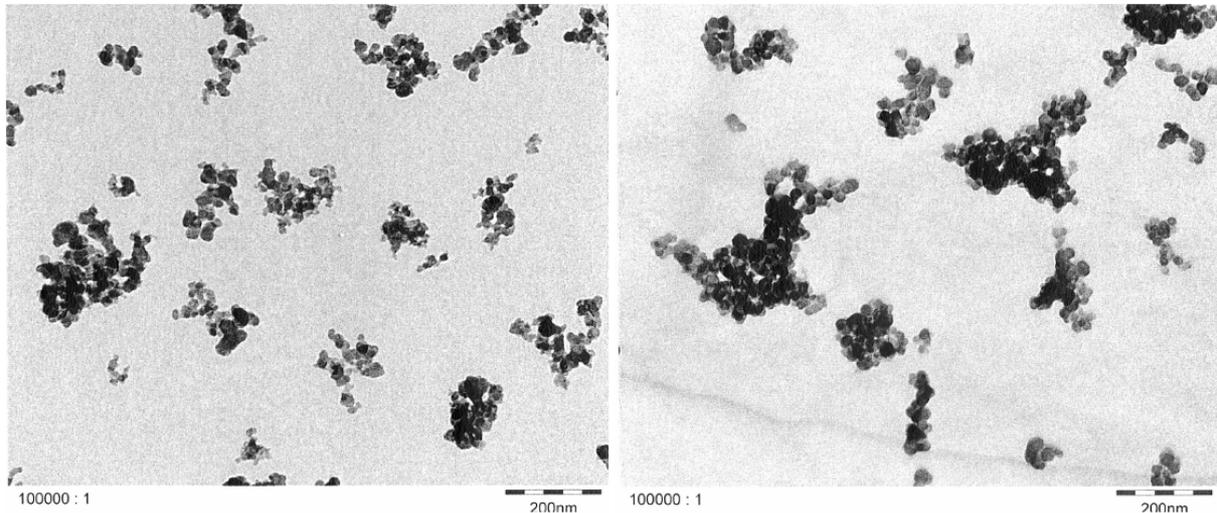
**Abbildung 59:** TEM Aufnahme eines CB-Nanokomposits (5 % Printex 80® in PS) im 2  $\mu\text{m}$  Maßstab (links) und 500 nm Maßstab (rechts).



**Abbildung 60:** TEM Aufnahme eines CB-Nanokomposits (5 % Printex 85® in PS) im 2  $\mu\text{m}$  Maßstab (links) und 500 nm Maßstab (rechts).

Um einen besseren Eindruck über die Struktur des CB-Nanomaterials zu gewinnen, wurden daher zusätzliche TEM Aufnahmen von CB-Dispersionen angefertigt. Hierzu wurden beide CB-Typen in Chloroform dispergiert, auf einen Objektträger aufgetragen (aus Kupfer, weitere Spezifikationen unbekannt) und mittels TEM untersucht, wobei das Dispersionsmittel in der Probenkammer des TEM verdampfte und CB-Partikel im trockenem Zustand auf dem Objektträger vorhanden waren. Hierdurch war es möglich, Aufnahmen der Aggregate ohne eine störende Matrix, welche die Partikel umgibt, anzufertigen. Anhand der Aufnahmen von CB im trockenem Zustand (Abbildung 61) wird ersichtlich, dass bei beiden CB-Typen die Primärpartikelstruktur nahezu identisch ist. Sowohl bei P80 als auch bei P85 lag das Nanomaterial in Form von Aggregaten vor, welche üblicherweise Größen von 100 - 200 nm aufwiesen. Die kleinsten Partikelgrößen, die auf diesen Aufnahmen gefunden wurden, waren Aggregate mit Durchmessern von etwa 40 nm. Isoliert vorliegende Primärpartikel mit Durchmessern von 16 nm konnten auf keinen der Aufnahmen gefunden werden. Die Aggregate von CB ähneln in ihrem Aufbau der Struktur wie sie auch schon von TiN und SAS bekannt ist. Aggregate bestehen aus aneinander gelagerten Primärpartikeln, wobei die Aggregate an Seitenketten erinnernde Verzweigungen aufweisen. Die in den Aggregaten sichtbaren Primärpartikel weisen bei CB eine leicht elliptische Form auf. Aufnahmen der Nanokomposite in geringerer Vergrößerung zeigten, dass das

Nanomaterial in beiden Polymeren homogen verteilt war und in Form von Aggregaten im Polymer vorlag. Trotz der sehr eingeschränkten Qualität der Aufnahmen bei stärkerer Vergrößerung, schienen beide CB-Typen denselben strukturellen Aufbau aufzuweisen wie die CB-Partikel im trockenen Zustand. Demnach lagen beide CB-Typen in beiden Polymeren als Aggregate mit Durchmessern von etwa 40 bis 100 nm vor.



**Abbildung 61: TEM Aufnahme von Printex® 80 (links) und Printex® 85 (rechts) welche in Chloroform dispergiert und auf einem Objektträger aufgetragen wurden.**

### 5.3.2 Herstellung von Dispersionen aus dem Referenz-Nanomaterial

Wie schon bei SAS-Nanomaterialien ist es bei CB nicht möglich anhand einer elementspezifischen Analytik einen Migrationsnachweis zu erlangen. CB besteht ausschließlich aus Kohlenstoff, welcher bei der hohen Plasmatemperatur des ICP-MS vollständig zu Kohlenstoffdioxid verbrennen würde. Weitere Elemente, welche sich für einen spezifischen Nachweis eignen würden, sind in CB nicht enthalten. Die qualitative und quantitative Erfassung von CB erfolgte daher ausschließlich über die Fraktionierung mittels AF4 und Charakterisierung anhand charakteristischer Lichtstreuensignale des MALS-Detektors. Hierfür wurden Dispersionen benötigt, in welchen das CB-Nanomaterial stabil dispergiert ist und zugleich dieselben Partikelgrößen enthält wie sie auch in den Nanokompositen vorhanden sind. Verschiedene wässrige als auch organische Lösungen wurden nach ihrem Potential getestet, CB-Partikel zu benetzen und ohne Sedimentation in einer stabilen Dispersion zu halten. Bei wässrigen Lösungen zeigten sowohl eine  $1000 \text{ mg l}^{-1}$  Novachem- und eine  $2000 \text{ mg l}^{-1}$  SDS-Lösung eine gute Benetzung des CB-Nanomaterials. Bei organischen Lösemitteln konnte mit 95 % v/v Ethanol ebenfalls eine gute Benetzung der Partikel bewirkt werden. Um eine erste Abschätzung der Stabilität dieser Dispersionen zu gewinnen, wurden daher mittels dieser Dispersionsmittel Stammdispersionen hergestellt, welche die jeweiligen CB-Partikel in einer Konzentration von  $100 \text{ mg l}^{-1}$  enthielten. Zum Aufbrechen der Agglomerate wurden die Ansätze für 30 min in ein Ultraschall-Bad gestellt. Nach der Behandlung im Ultraschall-Bad zeigten alle Dispersionen eine tiefschwarze Färbung (Abbildung 62). Zur Beurteilung der Stabilität wurden diese Dispersionen bei Raumtemperatur im Labor stehen gelassen. Nach 24 h zeigten mit einer SDS-Lösung angesetzte Dispersionen eine nahezu vollständige Sedimentation beider CB-Typen (Abbildung 63). Partikel, welche in der Novachem-Lösung angesetzt wurden, zeigten zwar eine höhere Stabilität, jedoch setzten sich auch hier Teile des Nanomaterials ab. Beide in 95 % v/v Ethanol angesetzten CB-Dispersionen zeigten jedoch nach 24 h noch immer eine tiefschwarze Färbung. Letztere Dispersionen wurden daher

für weitere 6 d bei Raumtemperatur stehen gelassen, wobei sich auch nach dieser Zeit kein Verlust des Nanomaterials durch Absetzen am Gefäßboden bemerkbar gemacht hatte.



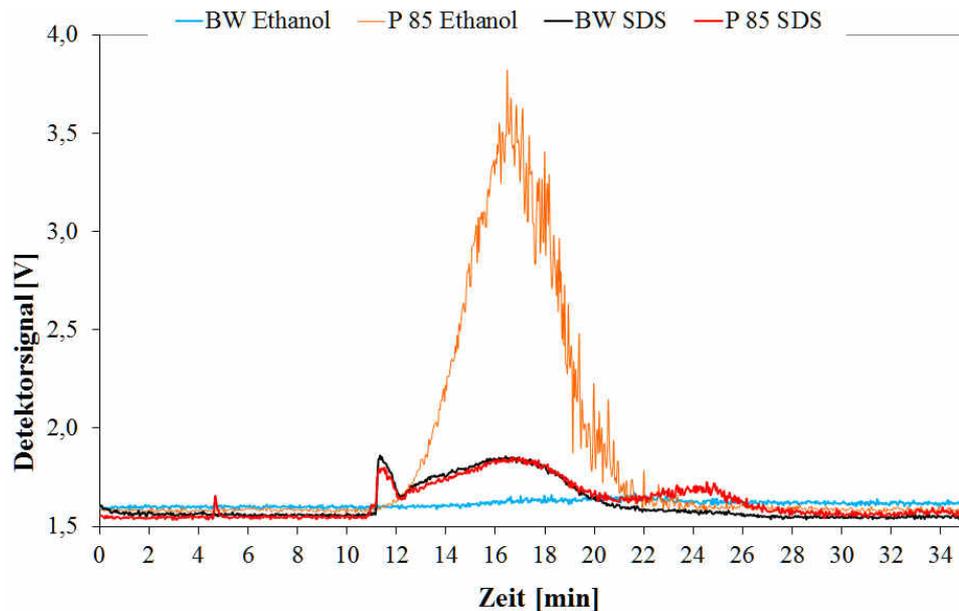
**Abbildung 62:** Jeweils  $100 \text{ mg l}^{-1}$  P80 und P85 dispergiert in  $1000 \text{ mg l}^{-1}$  Novachem (links),  $2000 \text{ mg l}^{-1}$  SDS (Mitte) und 95 % v/v Ethanol (rechts). Aufnahme nachdem die Dispersionen frisch hergestellt und in Glasvials abgefüllt wurden.



**Abbildung 63:** Jeweils  $100 \text{ mg l}^{-1}$  P80 und P85 dispergiert in  $1000 \text{ mg l}^{-1}$  Novachem (links),  $2000 \text{ mg l}^{-1}$  SDS (Mitte) und 95 % v/v Ethanol (rechts). Aufnahme nachdem die Dispersionen für 24 h bei Raumtemperatur gelagert wurden.

Die jeweilige Stabilität der Dispersionen ließ sich auch anhand erster AF4-Messungen durch die jeweilige Signalintensität überprüfen (Abbildung 64). CB-Dispersionen, welche in 95 % v/v Ethanol angesetzt wurden, erzeugten ein deutliches Signal im AF4 Fraktogramm, während der 95 % v/v Ethanol Blindwert keinerlei störende Signale erzeugte.

Bei Tensidlösungen verursachte bereits der Blindwert ein deutliches Signal. Dieselbe eingewogene Menge CB (wie bei den Dispersionen in 95 % v/v Ethanol) erzeugte in einer SDS-Lösung ein nur schwaches Signal. Im Vergleich zu in 95 % v/v Ethanol angesetzten Dispersionen eluierten CB-Partikel, welche in Tensidlösungen angesetzt wurden, zudem später. Dies ist ein Hinweis auf Wechselwirkungen mit der Membran aufgrund unzureichender Stabilität. 95 % v/v Ethanol erschien daher als geeignetes Dispersionsmittel, weshalb frisch hergestellte  $100 \text{ mg l}^{-1}$  CB Dispersionen (P80 und P85) in 95 % v/v Ethanol zur weiteren AF4/MALS Methodenentwicklung genutzt wurde.



**Abbildung 64:** Vergleich von CB (P85) Dispersionen dispergiert in 95 % v/v Ethanol (orange) und 2000 mg l<sup>-1</sup> SDS Tensidlösung (rot) mit den jeweiligen Dispersionsmittel-Blindwerten.

### 5.3.3 AF4/MALS Methodenentwicklung

Aus den in Tabelle 11 aufgeführten Optionen der AF4 wurden diejenigen ausgewählt, mittels derer sich ein eindeutiges Signal für CB-Partikel erzeugen ließ. Da sich auf den TEM-Aufnahmen der beiden CB-Typen in Dispersion keine Unterschiede hinsichtlich externer Dimensionen erkennen ließ (vgl. Abbildung 61), wurde sowohl für P80-Dispersionen als auch für P85-Dispersionen dieselbe AF4 Methode verwendet. Als optimalste Einstellung wurden dabei folgende Optionen identifiziert:

In einem Standardkanal, welcher mit einem 350 µm „Spacer“ und einer 5 kDa RC-Membran ausgestattet war, wurden Proben mit einem Volumen von bis zu 1 ml (1 ml Probenschleife) injiziert. Der Kanal wurde dabei konstant auf 40 °C temperiert. Als Fließmittel wurde 95 % v/v Ethanol verwendet. Während der Injektionsphase wurden Proben mit einem Injektionsvolumenstrom von 0,1 ml min<sup>-1</sup> in den Kanal injiziert, in welchem die in der Probe enthaltenen Partikel für 10 min mit einer Fokussierströmung von 3,1 ml min<sup>-1</sup> gesammelt wurden. Als Querfluss wurde ein konstanter Volumenstrom von 2,5 ml min<sup>-1</sup> über die Membranfläche angelegt. Nach einer Transitionsdauer von 1 min wurde der Querfluss innerhalb von 10 min auf 0,1 ml min<sup>-1</sup> reduziert, indem eine parabolische Funktion (Leistungsgradient: 0,2) verwendet wurde. Diese Funktion ermöglichte eine schnelle Reduzierung des Trennfeldes im vorderen Bereich der Elutionsphase, während im hinteren Bereich eine niedrigere aber konstantere Trennkraft auf den Kanal ausgewirkt wird. Hierdurch sollten schärfere Signale für CB-Partikel und eine somit höhere Empfindlichkeit bewirkt werden. Innerhalb weiterer 10 min wurde der verbleibende Querfluss linear auf 0 ml min<sup>-1</sup> heruntergefahren. Der Kanal wurde daraufhin ohne Querfluss für weitere 10 min gespült. Der während des gesamten AF4 Laufs konstante Detektorfluss betrug 0,7 ml min<sup>-1</sup>. Als MALS-Detektor wurde der 7-Winkel Lichtstreuendetektor von Brookhaven Instruments verwendet. Der Verlauf des Trennfeldes während eines AF4-Laufs sowie die sich hieraus ergebenden Fraktogramme sind für eine P80-Dispersionen in Abbildung 65 und für eine P85-Dispersion in Abbildung 66 dargestellt.

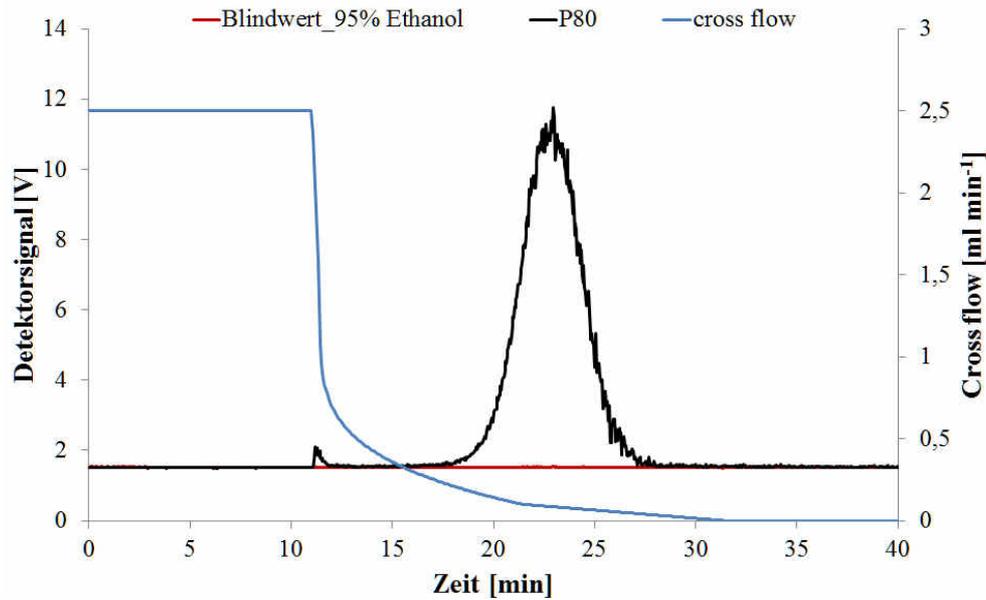


Abbildung 65: AF4 Trennmethode zur Fraktionierung von P80-Partikeln. Signal des 92° Detektors einer 250 ng ml<sup>-1</sup> P80 in 95 % v/v Ethanol Dispersion (schwarz), sowie des Blindwerts des Dispersionsmittels (rot).

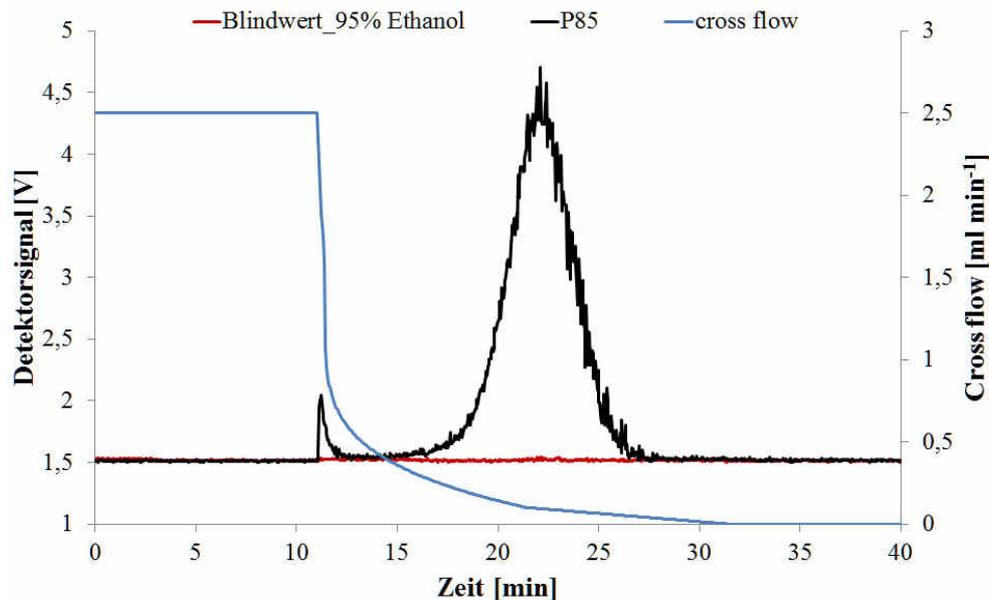


Abbildung 66: AF4 Trennmethode zur Fraktionierung von P85-Partikeln. Signal des 92° Detektors einer 250 ng ml<sup>-1</sup> P85 in 95 % v/v Ethanol Dispersion (schwarz), sowie des Blindwerts des Dispersionsmittels (rot).

Die aufgrund der TEM-Aufnahmen getroffene Annahme, beide CB-Typen ähneln sich anhand ihrer externen Dimensionen, bestätigte sich im AF4 Fraktogramm anhand identischer Elutionszeiten. Sowohl P80 als auch P85 Dispersionen erzeugten einen Peak bei  $t = 16 - 27$  min. Bei identischen Einwaagen bei der Herstellung der Dispersionen (hier: 250 ng ml<sup>-1</sup>) erzeugten P80 Dispersionen dabei ein stärkeres Signal im Fraktogramm. Trotz identischer Partikelgrößen deutet dies auf Unterschiede hinsichtlich der Strukturierung des Nanomaterials hin. Laut Hersteller handelt es sich bei P80 um eine höher strukturierte Substanz, d.h. bei identischer Partikel-/Aggregatsgröße weisen P80 Aggregate stärkere Verzweigungen auf. Strukturelle Unterschiede zu dem P85 Nanomaterial ließen sich auf den TEM-Aufnahmen nicht ausmachen, jedoch handelt es sich hierbei nur um zweidimensional

Aufnahmen, anhand derer die Komplexität des Nanomaterials nicht ausgemacht werden konnte. Die Unterschiede zwischen den gestreuten Lichtsignalen bestätigen jedoch die Angaben des Herstellers, da mit zunehmender Zahl der Verzweigungen mehr Primärpartikel und somit mehr Streuzentren pro Aggregat vorhanden sind.

#### 5.3.4 Partikelgrößenverteilung der dispergierten CB-Partikel

Die Bestimmung der Partikelgrößen der in 95 % v/v Ethanol dispergierten P80 und P85-Partikel erfolgte anhand eines Berry-Plots der zweiten Ordnung. Hierfür wurden alle Streulichtwinkel ( $35^\circ$  bis  $145^\circ$ ) des 7-Winkel MALS Detektors berücksichtigt. Die Auswertung der entsprechenden MALS Signale ergab bei P80 Dispersionen (Abbildung 67) Partikelgrößen ( $r_g$ ) im Bereich von 30 nm bis 200 nm, wobei Partikel mit 60 nm am häufigsten gemessen wurden. Bei P85 Dispersionen (Abbildung 68) lagen die gemessenen Partikelgrößen ( $r_g$ ) zwischen 20 nm und 200 nm, wobei Partikel mit 48 nm am häufigsten gemessen wurden. Durch Umrechnung auf eine geometrische Größe (mit Gleichung 43) ergibt sich der Durchmesser einer kompakten Kugel mit 155 nm (P80) bzw. 124 nm (P85). Auch hier stellt die Umrechnung auf eine geometrische Größe nur eine Näherung dar, da diese Berechnung unter Annahme eines sphärischen Partikels getroffen wurde, welche wie aus den TEM-Aufnahmen bekannt, nicht für CB-Partikel zutreffend ist. Zudem sind mittels des 7-Winkel MALS Detektors keine so exakten Auswertungen möglich wie bei dem 21-Winkel MALS Detektor (welcher für alle anderen Nanomaterialien in dieser Arbeit verwendet wurde), da gerade die kleinen Winkel bei der Berechnung der Partikelgröße entscheidend sind. Der 21-Winkel MALS-Detektor stand jedoch zur Untersuchung des CB-Nanomaterials noch nicht zur Verfügung. Dennoch zeigt sich anhand dieser Auswertung, dass die mittels TEM gefundenen Partikelgrößen auch über die AF4/MALS Methode abgedeckt und detektiert werden können. Die hierbei angewandte Methode der Dispersionsherstellung und AF4/MALS Messungen ist somit hinsichtlich detektierbarer Partikelgrößen zur Messung von aus dem Polymer migrierter CB-Partikel geeignet.

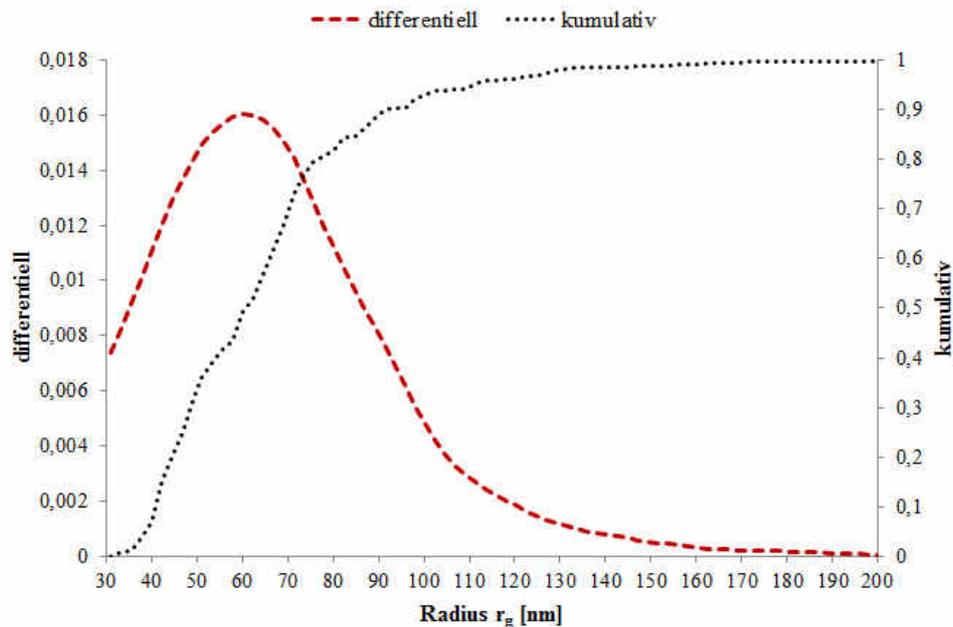
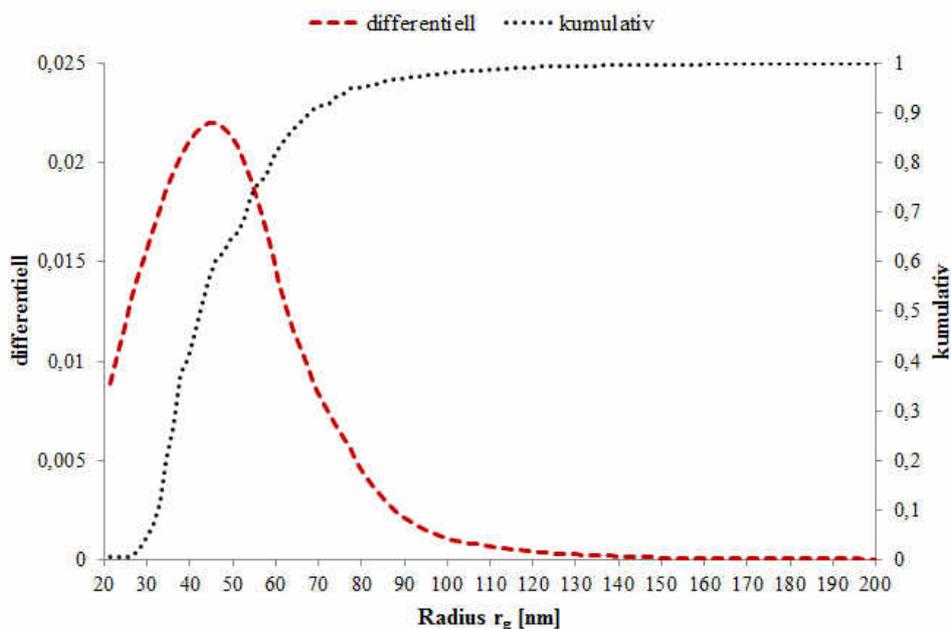


Abbildung 67: Partikelgrößenverteilung (bzgl. Masse) der in 95 % v/v Ethanol dispergierten P80-Partikel ( $100 \text{ ng ml}^{-1}$ ).



**Abbildung 68: Partikelgrößenverteilung (bzgl. Masse) der in 95 % v/v Ethanol dispergierten P85-Partikel ( $100 \text{ ng ml}^{-1}$ ).**

P80 Dispersionen zeigten somit, dass die Mehrzahl der enthaltenen Partikel etwas größer waren als bei P85 Dispersionen. Dies lässt sich auch anhand der Fraktogramme bestätigen, bei denen sich zwar beide CB-Typen über denselben Elutionsbereich erstrecken, das Signalmaximum der P80 Dispersionen jedoch etwas später erreicht wurde als bei P85 Dispersionen.

### 5.3.5 Kalibrierung des Systems anhand von Kalibrierdispersionen

Zum massenbezogenem Nachweis der CB-Partikel wurden Kalibrierstandards aus den jeweiligen Stammdispersionen ( $100 \text{ mg l}^{-1}$ ) hergestellt. Ziel war es, eine Korrelation zwischen injizierter Masse des Nanomaterials und den gemessenen Lichtstreuintensitäten zu erstellen. Hierfür wurden nacheinander zunächst der Dispersionsmittel-Blindwert (95 % v/v Ethanol), dann in aufsteigender Reihenfolge die Dispersionen mit unterschiedlichen Mengen dispergierten Nanomaterials in die AF4 injiziert. Zur Bestimmung der Gesamt-Peakfläche durch Integration und Aufsummieren der einzelnen Detektorwinkel wurden diejenigen Signale (Detektorwinkel) ausgewählt, welche eine eindeutige Unterscheidung zu dem Signal der nächstniedrigeren und nächsthöheren Dispersion zuließen. Für die in dieser Arbeit verwendeten CB-Typen wurden alle Winkel des 7-Winkel MALS Detektors verwendet. Alle Proben wurden mittels einer vollständig geladenen 1 ml Probenschleife in das System injiziert. Alle im Folgenden präsentierten Ergebnisse stellen Mittelwerte aus Dreifachansätzen dar.

Zur Bestimmung der Gerätenachweisgrenze für P80 und P85 CB-Partikel wurde aus der Stammdispersion eine Standardreihe durch Verdünnung mit 95 % v/v Ethanol hergestellt. Die Konzentrationen der einzelnen Standards betragen hierbei 0 (95 % v/v Ethanol Blindwert), 10, 25, 50, 100 und  $250 \text{ ng ml}^{-1}$ . Bei den gewählten Konzentrationen konnten die Signale der einzelnen Standards sowohl von den anderen Kalibrierstandards als auch vom Blindwert des Dispersionsmittel unterschieden werden (P80: Abbildung 69, links; P85: Abbildung 70, links). Zur Egalisierung von Schwankungen der gestreuten Lichtintensitäten einzelner Winkel erfolgte die Bestimmung der Nachweisgrenze anhand der Gesamt-Peakfläche. Die auf das Injektionsvolumen bezogene Gesamt-Peakfläche bezogen auf die nominelle Konzentration des Kalibrierstandards ist für P80 Dispersionen

in Tabelle 28, sowie graphisch in Abbildung 69 (rechts) dargestellt. Die Ergebnisse für P85 Dispersionen sind entsprechend in Tabelle 29, sowie Abbildung 70 (rechts) zusammengefasst.

Die graphische Darstellung der ermittelten Gesamt-Peakflächen über die jeweiligen Konzentrationen der jeweiligen CB-Standards zeigte, dass ein klarer Zusammenhang zwischen injizierter Masse des Nanomaterials und der gestreuten Lichtintensität besteht. Dispersionen bei denen P80 verwendet wurde, zeigten im Vergleich zu P85 Dispersionen bereits bei den einzelnen Fraktogrammen (eine Konzentration, ein Detektor-Winkel) höhere Signale. Dies pflanzt sich bei der Berechnung der Gesamt-Peakfläche fort, wodurch für P80 Dispersionen insgesamt höhere Werte ergaben. Für beide CB-Typen ergab sich im untersuchten Konzentrationsbereich ein linearer Zusammenhang zwischen Konzentration der Partikel und gemessener Streuintensität. Alle injizierten Dispersionen ergaben dabei Flächenwerte, welche sich eindeutig der jeweiligen Konzentration zuordnen und von anderen Konzentrationen unterscheiden ließen. Da auch eine Unterscheidung sowohl im AF4-Fraktogramm, als auch anhand der Gesamt-Peakflächen zum Blindwert möglich war, wurde der Standard mit der geringsten Konzentration als Nachweisgrenze angenommen. Bei einem Injektionsvolumen von 1 ml entsprach dies einer Konzentration von  $10 \text{ ng ml}^{-1}$ .

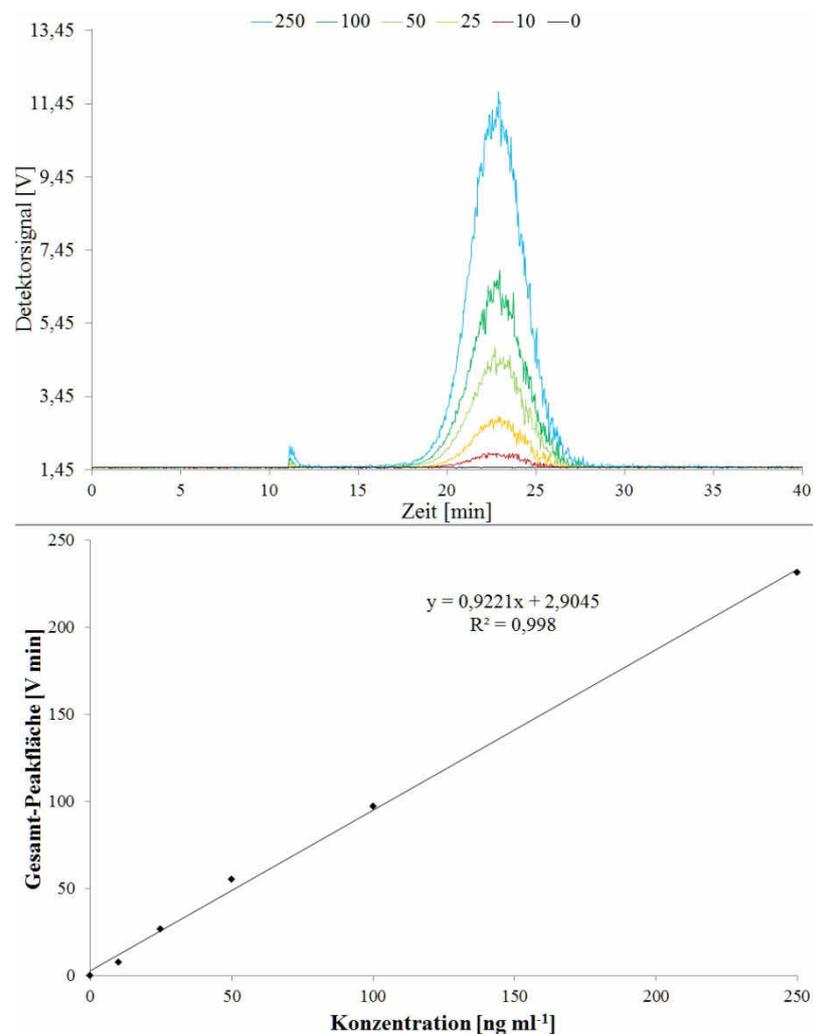


Abbildung 69: Fraktogramme der P80-Kalibrierstandards (oben: Signale des  $90^\circ$  Detektors), sowie die aus der Gesamt-Peakfläche aller Detektorwinkel ermittelte Kalibrierkurve (unten).

**Tabelle 28: Errechnete Gesamt-Peakfläche der einzelnen P80-Kalibrierstandards anhand der MALS Detektorsignale. Ergebnisse bezogen auf ein Injektionsvolumen von 1 ml.**

Konzentration des Standards [ng ml <sup>-1</sup> ]	Absolute injizierte Masse [ng]	Gesamt-Peakfläche [V min]
0	0	0,02
10	10	7,77
25	25	26,89
50	50	55,23
100	100	97,22
250	250	231,43

Obwohl P85 Dispersionen ein geringeres Potential einfallendes Laserlicht zu streuen aufwiesen, konnten dennoch die Lichtstreusignale einer jeden Konzentration verwendet werden um eine Korrelation der injizierten Masse mit der Lichtstreuintensität zu errechnen. Abbildung 70 zeigt, dass sich im unteren Konzentrationsbereich bei bestimmten Winkeln nur geringfügige Unterschiede zwischen den einzelnen Konzentrationen ergaben (10 ng ml<sup>-1</sup> (rot) und 25 ng ml<sup>-1</sup> (orange)). Durch die Berechnung der Gesamt-Peakfläche kommt es jedoch zu einer Verstärkung dieser Unterschiede, sodass sich durch die Auswertung aller Lichtstreuwinkel die in der Abbildung dargestellte Kalibrierfunktion ergab, anhand welcher sich auch niedrigere Konzentrationen gut unterscheiden ließen. Aus Gründen der Übersicht sind in den entsprechenden Abbildungen immer nur die Signale eines einzelnen Detektorwinkels abgebildet (vgl. Abbildung 70, oben). Die Auswertung aller Detektorwinkel fand jedoch bei der Berechnung der Gesamtpeakfläche in Abhängigkeit der Konzentration des injizierten Standards Berücksichtigung (Abbildung 70, unten). Eine Abbildung aller Detektorsignale (Winkel) pro Injektion ist der Vollständigkeit halber im Anhang (Abbildung A1 für einen 7-Winkel MALS und Abbildung A2 für einen 21-Winkel MALS) abgebildet.

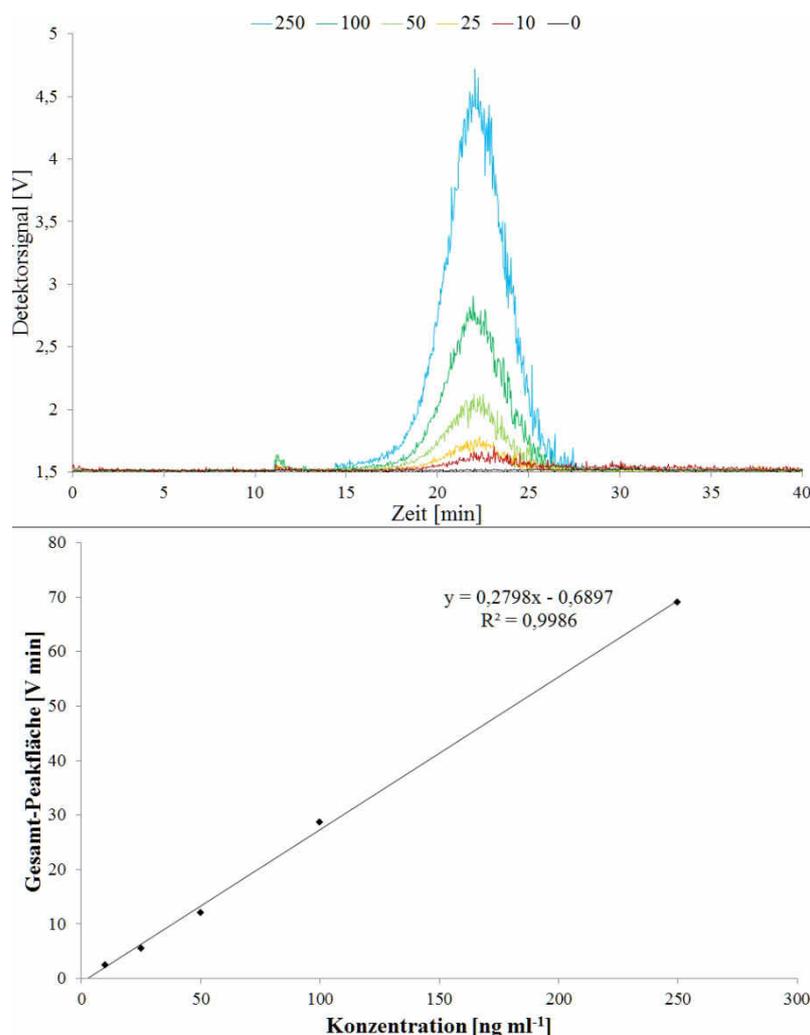


Abbildung 70: Fraktogramme der P85-Kalibrierstandards (oben: Signale des 90° Detektors), sowie die aus der Gesamt-Peakfläche aller Detektorwinkel ermittelte Kalibrierkurve (unten).

Tabelle 29: Errechnete Gesamt-Peakfläche der einzelnen P85-Kalibrierstandards anhand der MALS Detektorsignale. Ergebnisse bezogen auf ein Injektionsvolumen von 1 ml.

Konzentration des Standards	Absolute injizierte Masse	Gesamt-Peakfläche
0	0	0,04
10	10	2,41
25	25	5,45
50	50	12,05
100	100	28,67
250	250	69,03

### 5.3.6 Bestimmung der Stabilität der Standards

Der Einfluss der bei den Migrationsprüfungen angewandten Prüfbedingungen auf die Stabilität der CB-Dispersionen wurde anhand von Stabilitäts-/Wiederfindungsversuchen ermittelt. Frisch hergestellte CB-Dispersionen wurden hierzu direkt vor und nach der Lagerung (10 d / 60 °C in 3 % v/v Essigsäure und 95 % v/v Ethanol, bzw. 24 h / 40 °C in Isooktan) gemessen und miteinander verglichen. Eine frisch hergestellte 100 mg l<sup>-1</sup> CB-Stammdispersion (jeweils P80 und P85) in 95 % v/v Ethanol wurde verwendet, um die jeweiligen Lebensmittelsimulanzien auf einen CB-Gehalt von

100  $\mu\text{g l}^{-1}$  aufzustocken, indem jeweils 0,1 ml der Stammdispersionen in 100 ml PP-Messkolben vorgelegt wurden und mit den jeweiligen Simulanzien zur Eichmarke aufgefüllt wurden. Die Lagerung der Proben erfolgte in analoger Weise zu den Migrationsversuchen in 100 ml Schottflaschen, in welche die Dispersionen umgeschüttet wurden. In 95 % v/v Ethanol frisch angesetzte 100  $\mu\text{g l}^{-1}$  CB-Dispersionen dienten als Referenzdispersionen, weshalb die in diesem Simulanz hergestellten und gelagerten Proben direkt in die AF4 injiziert wurden. CB-Dispersionen in 3 % v/v Essigsäure und Isooktan wurden am Ende der Lagerung quantitativ in mehreren Schritten in 10 ml Autosampler-Vials überführt, mittels eines Stickstoffstroms bei 40 °C bis zur Trockene eingedampft. Im Anschluss wurden die Proben mit 5 ml 95 % v/v Ethanol für 15 min im Ultraschall-Bad redispergiert. Die Stabilität/Wiederfindung der CB-Partikel in den jeweiligen Simulanzien wurde anhand der resultierenden Gesamt-Peakflächen gelagerter Proben zur Referenzdispersion (in 95 % v/v Ethanol) ermittelt. Diese Verhältnisse dienten wiederum der Berechnung der Methoden-Nachweisgrenzen von CB-Dispersionen, welche den Einfluss des verwendeten Simulanz und den bei den Migrationsversuchen angewandten Prüfbedingungen berücksichtigen.

Sowohl P80- (Abbildung 71) als auch P85-Dispersionen (Abbildung 72) zeigten nach der Lagerung in den jeweiligen Simulanzien geringere Signalintensitäten, Peakverbreiterungen und etwas verzögerte Elutionszeiten im Vergleich zur entsprechenden Referenzdispersion. In 95 % v/v Ethanol gelagerte Dispersionen erzeugten dabei im Vergleich zu den in Isooktan und 3 % v/v Essigsäure angesetzten und gelagerten Dispersionen höhere Signalintensitäten. Eine Verschiebung der Elutionszeit (zu späteren Zeiten) sowie ein breiterer Elutionsbereich deuten darauf hin, dass die Lagerung der Dispersionen Einfluss auf die Partikelgrößenverteilung der enthaltenen CB-Partikel genommen hat. Sowohl das jeweilige Peak-Maximum als auch das Peak-Ende verschob sich bei allen gelagerten CB-Dispersionen nach hinten, während der Beginn der jeweiligen Signale identisch mit den nicht gelagerten Referenzen war. Hieraus ließ sich folgern, dass eine Verbreiterung der Partikelgrößenverteilung hin zu größeren Partikeln stattgefunden haben musste. Beide Effekte deuten somit ein Re-Agglomerieren kleinerer CB-Aggregate zu größeren Strukturen an. Durch das Zusammenlagern der Partikel zu größeren Strukturen ergeben sich etwas andere winkelabhängige Streuintensitäten, die Summe des gestreuten Lichts sollte jedoch weitestgehend unverändert bleiben, da die Zahl der Streuzentren bei zusammengelagerten Partikeln erhalten bleibt. Die zusätzlichen Verluste an Signalintensität sind daher durch Verluste an Nanomaterial zu erklären. Während der Lagerung der Dispersionen kann eine Adhäsion der Partikel an der Gefäßwand nicht ausgeschlossen werden. Zudem begünstigt die Verschiebung der Partikelgrößenverteilung zu einem etwas grobdisperseren System die Sedimentation von Partikeln, welche in Folge nicht in die AF4 injiziert werden. Dispersionen welche in Isooktan und 3 % v/v Essigsäure angesetzt wurden, zeigten im Vergleich zu 95 % v/v Ethanol eine geringere Dispersionsstabilität und erforderten einen zusätzlichen Probenaufbereitungsschritt (Eindampfen zur Trockene und Wiederaufnahme in 95 % v/v Ethanol). Eine hierdurch verursachte schlechtere Nachweisbarkeit ließ sich jedoch durch die Wiederaufnahme der Proben in einer geringeren Menge 95 % v/v Ethanol (5 ml bei Isooktan und 3 % v/v Essigsäure) weitestgehend kompensieren. Die sich aus dem Verhältnis der Gesamt-Peakflächen der gelagerten Dispersionen zur jeweiligen Referenzdispersion ergebende Wiederfindungsrate sowie die sich hieraus ergebende Nachweisgrenze der Methode sind für P80-Dispersionen in Tabelle 30, für P85-Dispersionen in Tabelle 31 zusammengefasst.

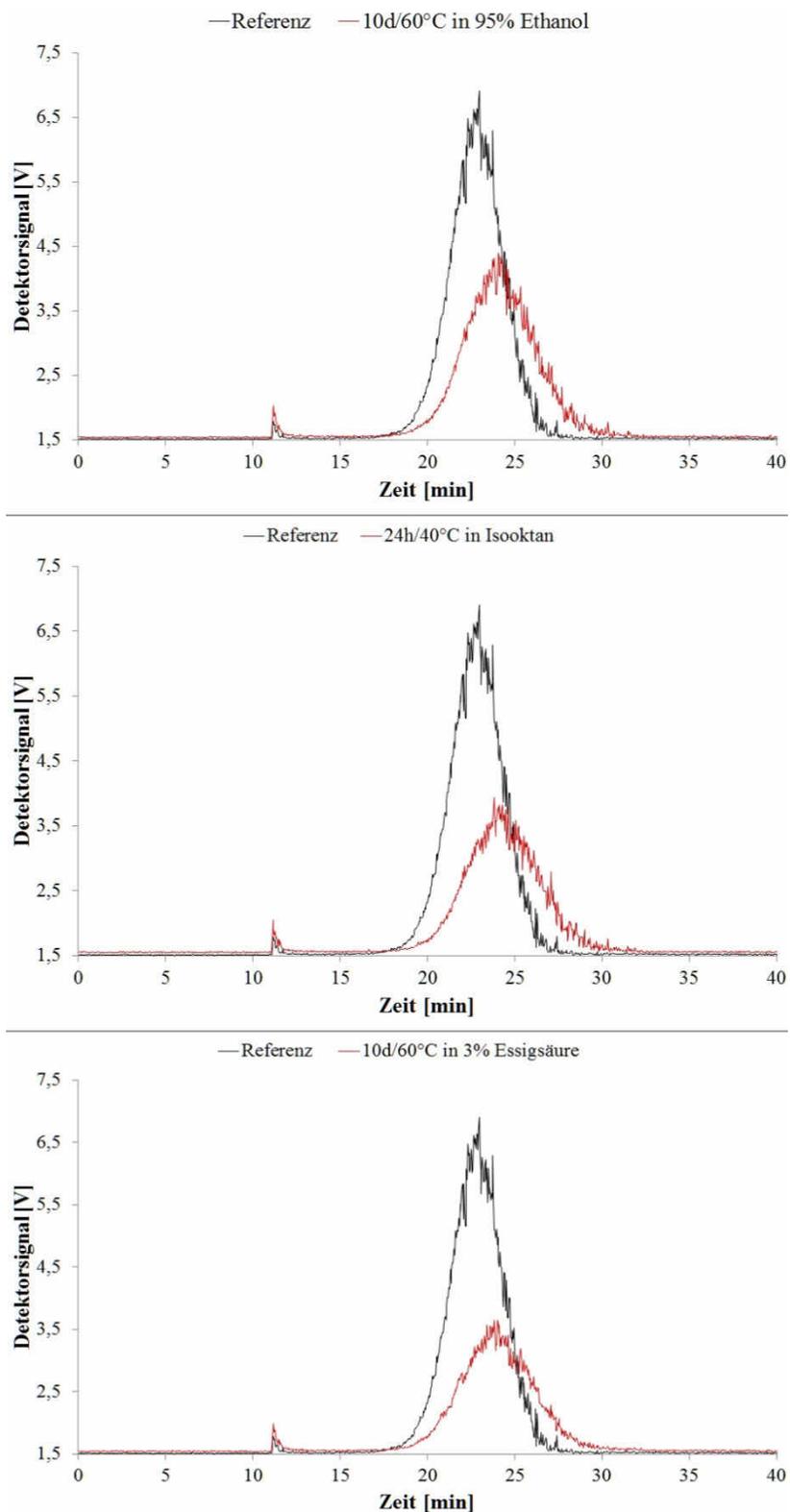
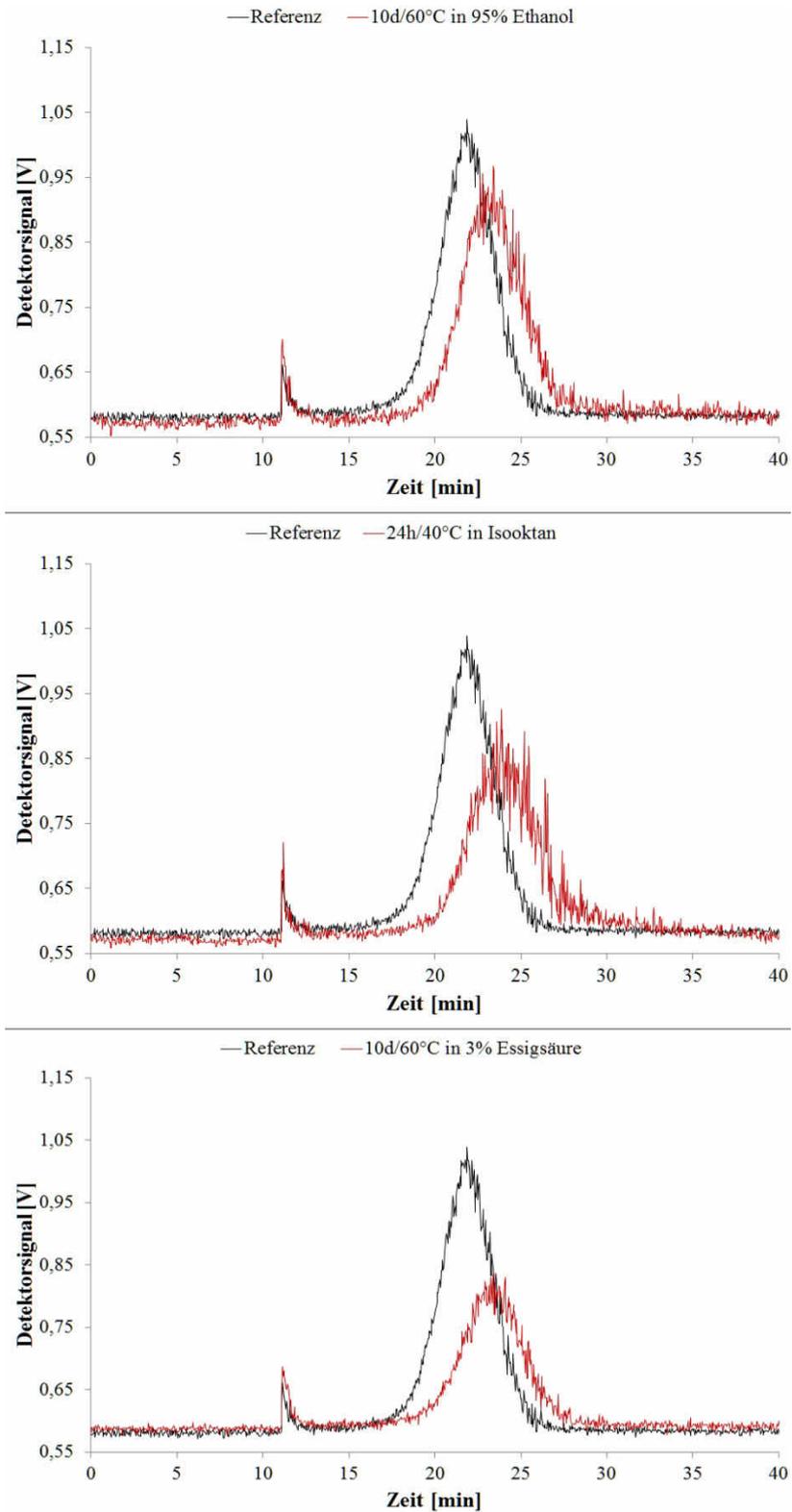


Abbildung 71: Fraktogramme der mittels 95 % v/v Ethanol frisch hergestellten P80-Referenzdispersion (schwarz), sowie der unter Prüfbedingungen gelagerten Dispersionen (rot) in 95 % v/v Ethanol (oben), Isooktan (Mitte) und 3 % v/v Essigsäure (unten).

**Tabelle 30: Bestimmung der Wiederfindungsrate und der Methodennachweisgrenze für P80 CB-Partikel.**

<b>Fläche Referenz [V min]</b>	<b>Dispersion</b>	<b>Fläche nach Lagerung [V min]</b>	<b>Wiederfindungsrate bzgl. der Gesamt- Peakfläche der Referenz [%]</b>	<b>Nachweisgrenze nach Lagerung [ng]</b>
<b>82,6</b>	95 % v/v Ethanol	51,4	62,2	16,1
	Isooktan	40,5	49,0	20,4
	3 % v/v Essigsäure	41,0	49,6	20,2



**Abbildung 72:** Fraktogramme der mittels 95 % v/v Ethanol frisch hergestellte P85-Referenzdispersion (schwarz), sowie der unter Prüfbedingungen gelagerten Dispersionen (rot) in 95 % v/v Ethanol (links), Isooktan (Mitte) und 3 % v/v Essigsäure (rechts).

Tabelle 31: Bestimmung der Wiederfindungsrate und der Methodennachweisgrenze für P85 CB-Partikel

Fläche Referenz [V min]	Dispersion	Fläche nach Lagerung [V min]	Wiederfindungsrate bzgl. der Gesamt- Peakfläche der Referenz [%]	Nachweisgrenze nach Lagerung [ng]
28,5	95 % v/v Ethanol	17,4	61,1	16,4
	Isooktan	12,1	42,5	23,5
	3 % v/v Essigsäure	13,5	47,4	21,1

### 5.3.7 Ergebnisse der Migrationsversuche

Aufbauend auf den Erkenntnissen der Vorstudie wurden Migrationsversuche zur Untersuchung der Freisetzung von CB-Partikeln aus den jeweiligen Nanokompositen durchgeführt. Die in Form von Platten vorliegenden Nanokomposite (2,5 % m/m / 5 % m/m P80 bzw. P85 in PE-LD bzw. PS) wurden in Streifen von 20 x 70 x 3 mm zerschnitten, wodurch sich eine Gesamtfläche (inkl. der Schnittkanten) von 1 dm<sup>2</sup> ergab. Je drei Teststreifen wurden in 100 ml Schottflaschen geben (Abbildung 73), mit Stickstoff ausgeblasen (Entfernung von Staub), mit 100 ml des jeweiligen Simulanz befüllt und unter den in Kapitel 5.3.6 geschilderten Bedingungen gelagert. Die Teststreifen waren während der gesamten Lagerung vollständig von dem jeweiligen Simulanz bedeckt.



**Abbildung 73: Lagerung der Teststreifen in 100 ml Schottflaschen, welche mit Deckeln mit einer Dichtung aus PTFE verschlossen wurden. Glasstäbe dienen als Abstandhalter zwischen den Teststreifen um eine vollständige Benetzung der Nanokomposite zu gewährleisten.**

Am Ende der Lagerung wurden die Teststreifen aus den Simulanzien entfernt, die Simulanzien wurden entsprechend der in Kapitel 5.3.6 beschriebenen Vorgehensweise (Eindampfen und Wiederaufnahme in 95 % v/v Ethanol, usw.) behandelt und mittels AF4/MALS untersucht. Polymere ohne CB wurden als Blindwertproben in den jeweiligen Simulanzien unter identischen Bedingungen und mittels identischer Probenaufbereitung ebenfalls untersucht. Die im Folgenden präsentierten Ergebnisse stammen aus Migrationsversuchen, bei denen die Proben im Dreifachansatz angefertigt wurden und jeweils zweimal mittels AF4/MALS untersucht wurden. Aus Gründen der Übersicht sind nur AF4-Fraktogramme einzelner Probenansätze (5 % CB im Polymer) abgebildet, die Ergebnisse der Ansätze der Nanokomposite mit dem geringeren Gehalt an CB (2,5 % im Polymer) sind jedoch im Anhang dieser Arbeit abgebildet.

Untersuchungen der in 95 % v/v Ethanol gelagerten Proben (Abbildung 74) zeigten sowohl für die

Proben mit einer PE-LD Matrix als auch aus einer PS Matrix zu Beginn der Elutionsphase ein deutliches Signal („Void-Peak“ bei  $t = 11 \text{ min} - 13 \text{ min}$ ). Hierbei waren die Signale der Polymer Blindwertproben und der Nanokomposite weitestgehend identisch. Proben mit einer PS-Matrix erzeugten ein deutlich höheres Signal-Rausch-Verhältnis, da das im Vergleich zu PE-LD polarere PS offensichtlich mit dem polaren Simulanz stärkere Wechselwirkungen einging. Aus den Vorversuchen war bekannt, dass CB-Partikel mit Partikelgrößen, wie sie in den hier getesteten Polymeren vorhanden waren, zwischen  $t = 16 \text{ min}$  und  $t = 27 \text{ min}$  eluieren. Unter Berücksichtigung der bei Stabilitäts-/Wiederfindungsversuchen festgestellten Verschiebung der Elutionszeiten erweiterte sich der Elutionsbereich bis auf  $t = 35 \text{ min}$ . Bei keiner der untersuchten Proben konnte in diesem Bereich ein Signal detektiert werden.

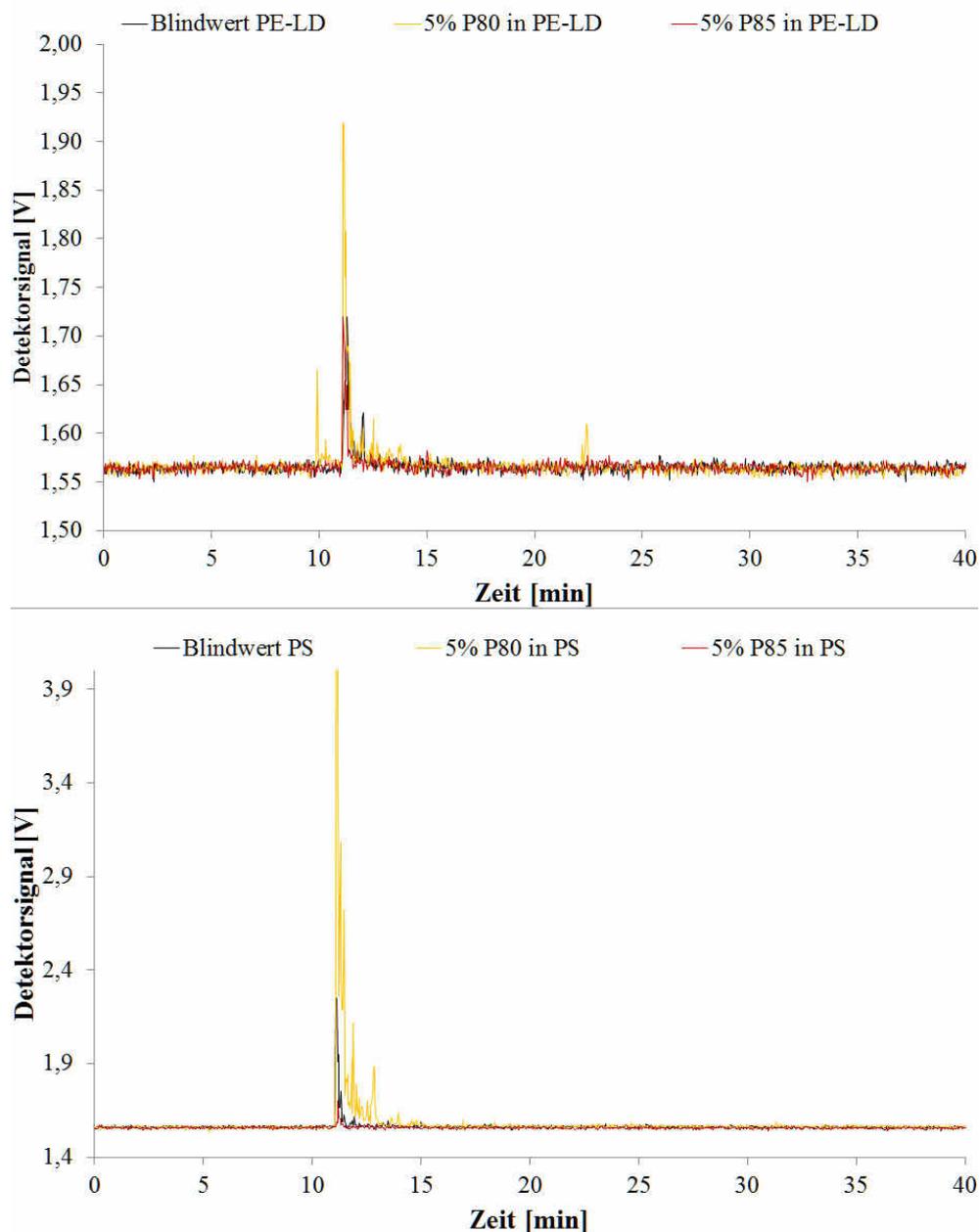


Abbildung 74: AF4 Fraktogramme eines P80-(orange) und P85-Nanokomposits (rot) sowie des Polymer Blindwerts (schwarz), welche 10 d bei  $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$  in 95 % v/v Ethanol gelagert wurden. Oben: PE-LD, unten: PS.

Migrationsproben, welche in Isooktan gelagert wurden, ergaben ein ähnliches Bild wie die in 95 % v/v Ethanol gelagerten Proben. Die Verwendung von Isooktan schien hierbei jedoch zu noch stärkeren Wechselwirkungen mit den Polymeren geführt zu haben, da die höheren Signale zu Beginn der Elutionsphase auf höhere Mengen extrahierter Oligomere schließen ließ. Oligomere konnten mittels der verwendeten AF4-Methode nicht aufgetrennt werden und eluierten daher zu Beginn der Elutionsphase als Void-Peak in den Fraktogrammen. Anhand des Elutionsbereichs der „Void-Peaks“ und der Signalintensitäten konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen Polymeren mit CB und solchen ohne CB in der Polymermatrix festgestellt werden. Die Verwendung von P80 oder P85 als Nanoadditiv in der jeweiligen Polymermatrix zeigte folglich ebenfalls keinerlei Unterschiede bzgl. der Menge an extrahierten Oligomeren. Zu Elutionszeiten, welche relevant für CB-Partikel waren, wurde kein Signal in den AF4-Fraktogrammen festgestellt.

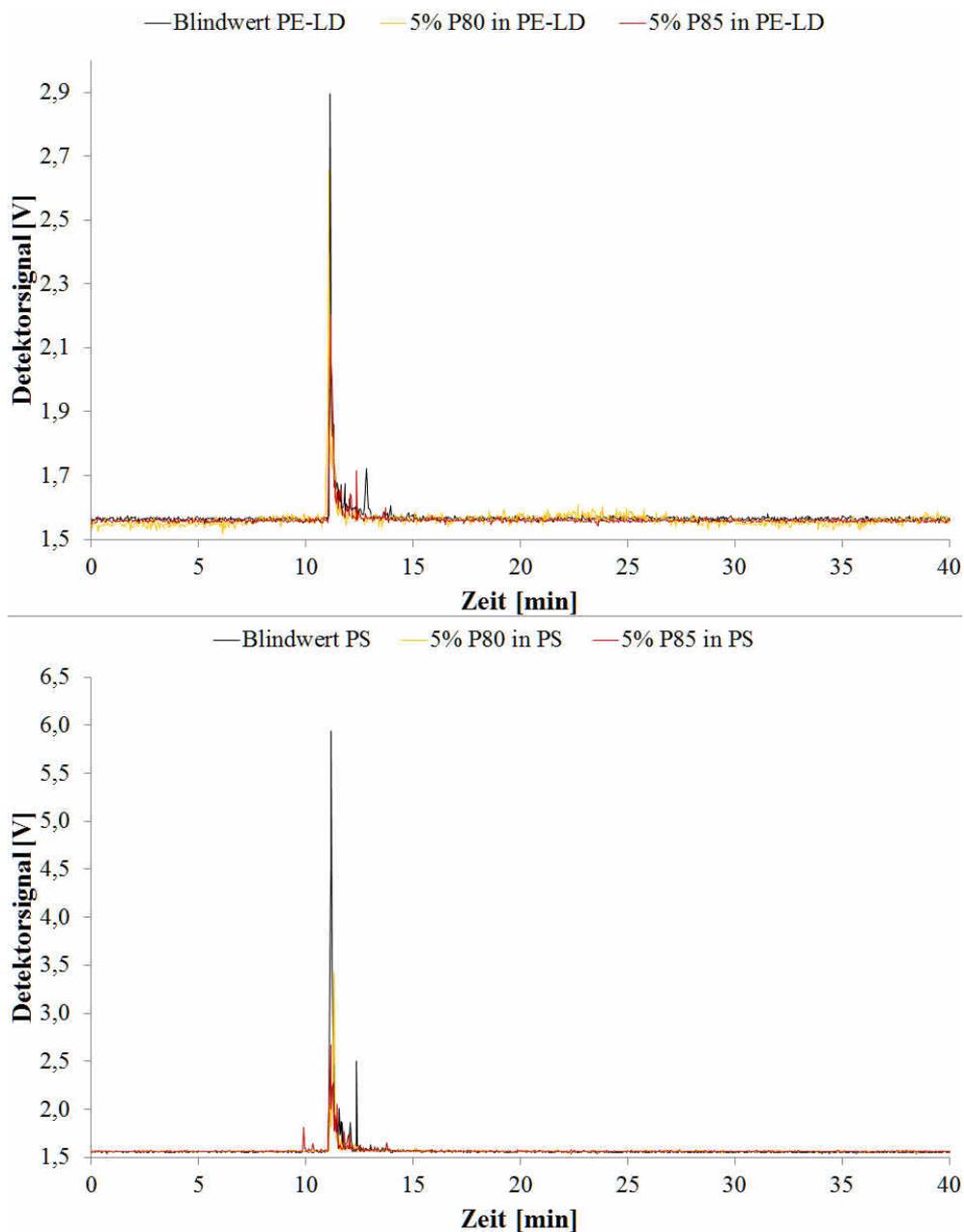


Abbildung 75: AF4 Fraktogramme eines P80-(orange) und P85-Nanokomposits (rot) sowie des Polymer Blindwerts (schwarz), welche 24 h bei 40 °C in Isooktan gelagert wurden. Oben: PE-LD, unten: PS.

Migrationsproben, welche in 3 % v/v Essigsäure gelagert wurden, erzeugten keinerlei Signale in den AF4 Fraktogrammen. Weder die Nanokomposite (PE-LD und PS Matrix mit P80 oder P85) noch die Polymer-Blindwerte erzeugten ein Signal zu Beginn der Elutionszeit, sodass bei diesen Proben von keiner signifikanten Wechselwirkung des Polymers mit dem sauren, wässrigen Lebensmittelsimulanz ausgegangen werden konnte. Insbesondere zu Elutionszeiten, die einen Nachweis migrierter CB-Partikel ermöglichen würden, konnte keine Abweichung vom Grundsignal des Detektors festgestellt werden.

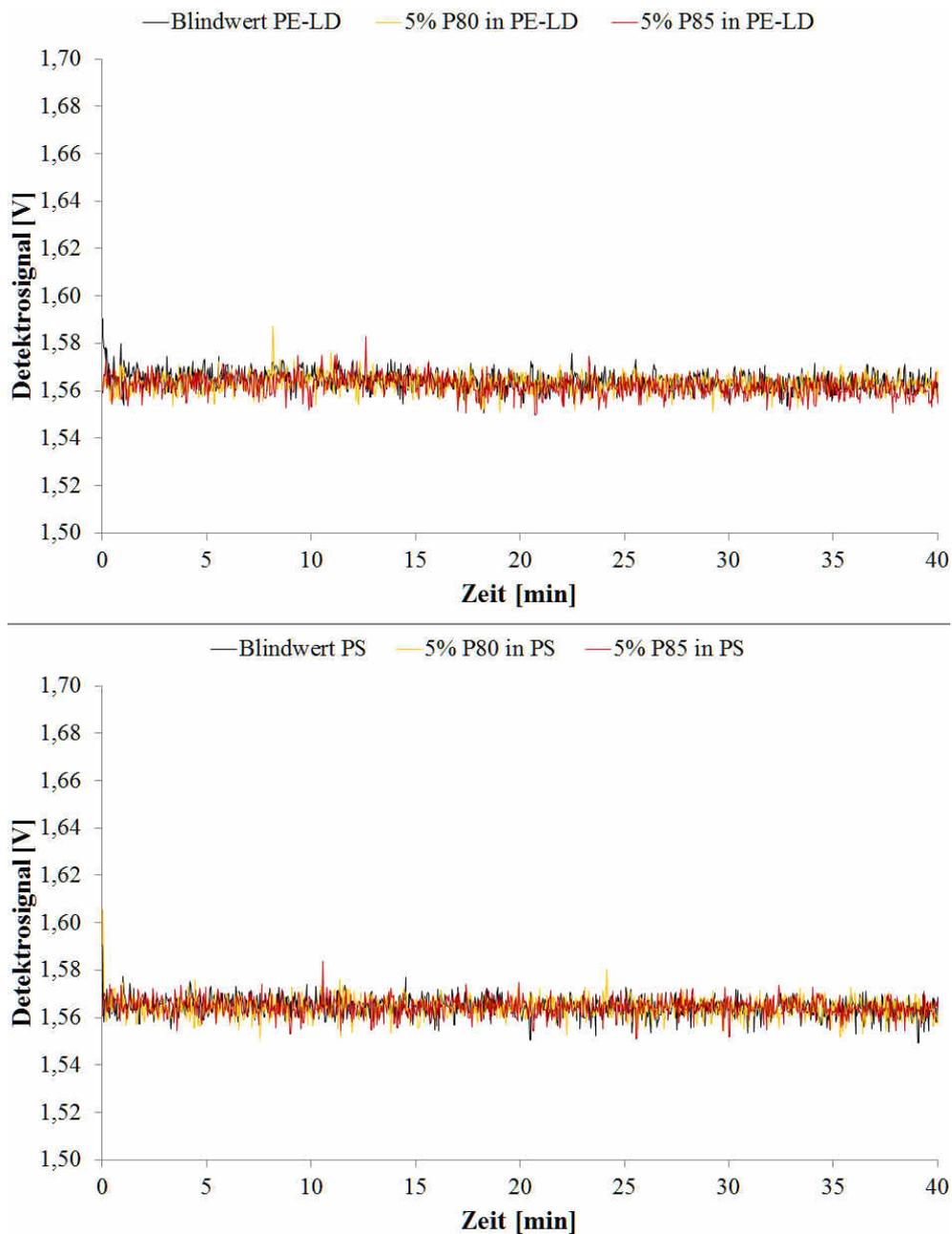


Abbildung 76: AF4 Fraktogramme eines P80-(orange) und P85-Nanokomposits (rot) sowie des Polymer Blindwerts (schwarz), welche 10 d bei 60 °C in 3 % v/v Essigsäure gelagert wurden. Oben: PE-LD, unten: PS.

Vorversuche zum Nachweis der P80-/P85-CB-Partikel in den hier aufgeführten Simulanzien und Prüfbedingungen zeigten, dass diese Nanomaterialien unter Berücksichtigung der jeweiligen Nachweisgrenze mittels AF4/MALS nachweisbar gewesen wären (siehe Abbildung 71 und Abbildung

72). Ein Einfluss extrahierter Oligomere konnte bei den Vorversuchen jedoch nicht bestimmt werden. Um eine Nachweisbarkeit potentiell migrierter CB-Partikel in den Lebensmittelsimulanzien trotz anderer vorhandener Matrixkomponenten zu gewährleisten, wurden Aufstockungen der in 95 % v/v Ethanol gelagerten Migrate angefertigt. Hierdurch sollte überprüft werden, ob trotz vorhandener Oligomere eine Abtrennung und somit ein Nachweis des Nanomaterials vom „Void-Peak“ möglich gewesen wäre. Hierzu wurden die Migrationslösungen (P80-Nanokomposite und P85-Nanokomposite) auf einen CB-Gehalt von jeweils  $50 \mu\text{g l}^{-1}$  aufgestockt, wofür eine Dispersion mit demselben CB-Typ verwendet wurde, wie er auch in dem entsprechendem Nanokomposit der Migrationsprobe enthalten war. Der Vergleich der aufgestockten Migrate mit den ursprünglichen nicht aufgestockten Migraten zeigte, dass das aufgestockte Nanomaterial zu den erwarteten Elutionszeiten einen Signalausschlag verursachte. Die in den Migraten enthaltenen Oligomere blieben durch die Zugabe des Nanomaterials unbeeinträchtigt, was durch identische „Void-Peaks“ der aufgestockten und der nicht aufgestockten Probe abgeleitet werden konnte. Fraktogramme der aufgestockten Proben sind exemplarisch für die jeweiligen CB/Polymersysteme anhand Migrate eines P80/PS-Nanokomposits sowie eines P85/PE-LD-Nanokomposits in Abbildung 77 dargestellt.

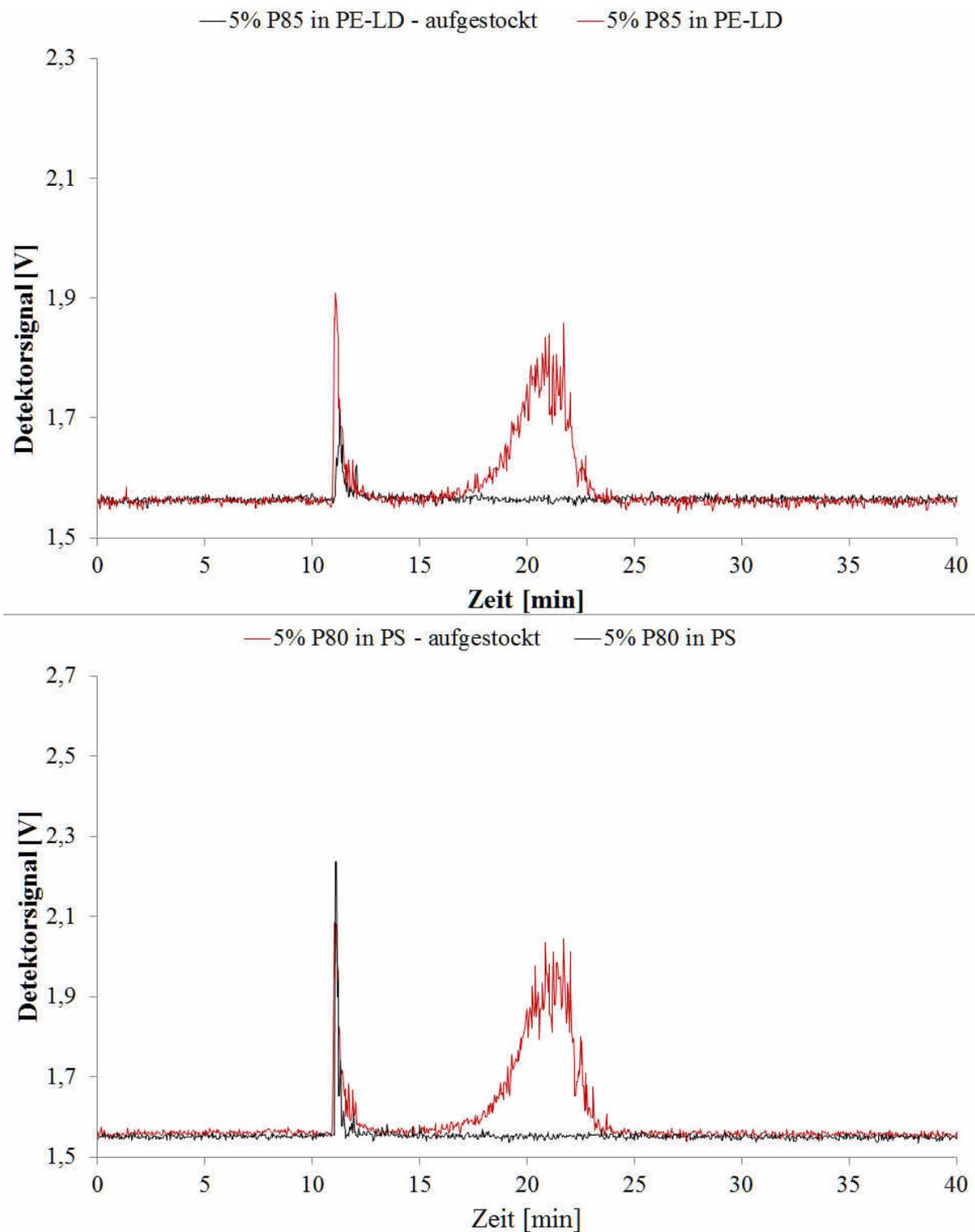


Abbildung 77: Aufstockung zweier in 95 % v/v Ethanol gelagerter Migrationsproben (oben: P85/PE-LD-Nanokomposit, unten: P80/PS-Nanokomposit).

### 5.3.8 Betrachtung der Ergebnisse aus den CB-Migrationsversuchen

Das Ziel der Migrationsuntersuchungen zu CB-Nanokompositen war festzustellen, ob CB in seiner partikulären Form aus einer Polymermatrix bei Kontakt mit einem Lebensmittelsimulanz auf dieses übergehen kann. Ein analytischer Nachweis der Migration von CB-Partikeln in Lebensmittel bzw. Lebensmittelsimulanzien stellt eine anspruchsvolle Aufgabe dar, da industriell produziertes CB aus elementarem Kohlenstoff besteht und nahezu frei von anderen Elementen ist. Ein elementspezifischer

Nachweis mittels der häufig zum Nachweis anorganischer Substanzen eingesetzten ICP-MS ist nicht möglich, da der Kohlenstoff im Plasma des ICP-MS mit dem in der Luft vorhandenen Sauerstoff sofort zu Kohlenstoffdioxid reagieren würde. Es wurde daher wiederum ein analytischer Ansatz gewählt, welcher einen Nachweis von CB-Partikeln in Migrationsproben anhand der Kombination der Fraktionierung des Nanomaterials in den Simulanzien mittels AF4 und Erfassung der Partikel mittels MALS ermöglichen sollte. Als zwingend erforderliches Kriterium stand der Nachweis der Stabilität der Partikel in den Simulanzien bei Vorversuchen im Vordergrund. Die bei den Migrationsversuchen angewandten Prüfbedingungen können sich auf die strukturelle Zusammensetzung des dispergierten Nanomaterials auswirken und somit eine Nachweisbarkeit der Partikel erschweren. In der AF4-Analytik machen sich solche Effekte durch eine Verschiebung und/oder Verbreiterung des Signals bemerkbar, wodurch die Empfindlichkeit des Systems zum Nachweis der Partikel reduziert wird. Im extremsten Fall würde ein zu grobdisperses System zum gänzlichen Verlust der Partikel durch Sedimentation führen. Diese Effekte sind bei der Charakterisierung von CB mittels AF4 und Lichtstreutechniken bereits aus anderen Studien bekannt [163, 164]. Im Gegensatz zu diesen Untersuchungen, bei denen die Bestimmung der Partikelgrößen in einem gut messbarem Konzentrationsbereich im Fokus standen, war das Ziel dieser Arbeit, CB auch nach Lagerung der Dispersionen unter strengen Migrationsprüfbedingungen in einem niedrigen Konzentrationsbereich nachweisen zu können. Anhand der Messungen zur Bestimmung der Stabilität von CB-Dispersionen konnte hierbei der Einfluss der jeweiligen Dispersionsmittel aufgezeigt werden. CB-Dispersionen welche in 95 % v/v Ethanol dispergiert waren, konnten auch nach Lagerung der Proben für 10 d bei 60 °C bei ausreichenden Signalintensitäten gemessen werden. Dispersionen, welche in 3 % v/v Essigsäure oder Isooktan gelagert wurden, erzielten erst nachdem sie in 95 % v/v Ethanol überführt und aufkonzentriert wurden (Wiederaufnahme in 5 ml statt 100 ml 95 % v/v Ethanol) vergleichbare Ergebnisse. Trotz der guten Dispergierbarkeit in 95 % v/v Ethanol und der zusätzlichen Behandlung der Dispersionen im Ultraschall-Bad am Ende der Lagerung zeigten alle Dispersionen die oben beschriebenen Effekte der Peak-Verbreiterung und somit eine Art Alterungseffekt dieser CB-Dispersionen auf. Die beobachtete Verbreiterung des CB-Signals im AF4 Fraktogramm führte jedoch nur zu geringfügig anderen Elutionszeiten, sodass der Effekt der Re-Agglomeration kleinerer CB-Aggregate als minimal zu bewerten ist. Da bei einer Zusammenlagerung der Partikel die Nettoanzahl an Streuzentren erhalten bleibt, wurde aus den aufgezeichneten Signalen die Gesamt-Peakfläche gelagerter Dispersionen bestimmt, um im Vergleich zu Referenzdispersionen Verluste des Nanomaterials durch Sedimentation oder Adhäsion an der Gefäßwand zu erfassen. Anhand dieser Wiederfindungsraten zeigte sich, dass es trotz der strengen Prüfbedingungen noch immer möglich war, CB in jedem der Simulanzien nachzuweisen. Unter Berücksichtigung der Wiederfindungsraten (Kapitel 5.3.6), sowie der eingesetzten Menge Lebensmittelsimulanz (100 ml) und Fläche der Probe konnte nachgewiesen werden, dass keine Migration von CB unter Berücksichtigung der in Tabelle 32 angegebenen Nachweisgrenzen stattfand.

**Tabelle 32: Nachweisgrenzen der CB-Migrationsstudien bezogen auf die Fläche der Verpackung und auf die Masse Lebensmittel (bei einer Verpackungsfläche von 6 dm<sup>2</sup> pro kg Lebensmittel).**

CB-Typ	Matrix/Simulanz	Pro dm <sup>2</sup> Verpackungsfläche [µg dm <sup>-2</sup> ]	Pro kg Lebensmittel [µg kg <sup>-1</sup> ]
P80	95 % v/v Ethanol	1,6	9,7
	Isooktan	2,0	12,2
	3 % v/v Essigsäure	2,0	12,1
P85	95 % v/v Ethanol	1,6	9,7
	Isooktan	2,4	14,1
	3 % v/v Essigsäure	2,1	12,7

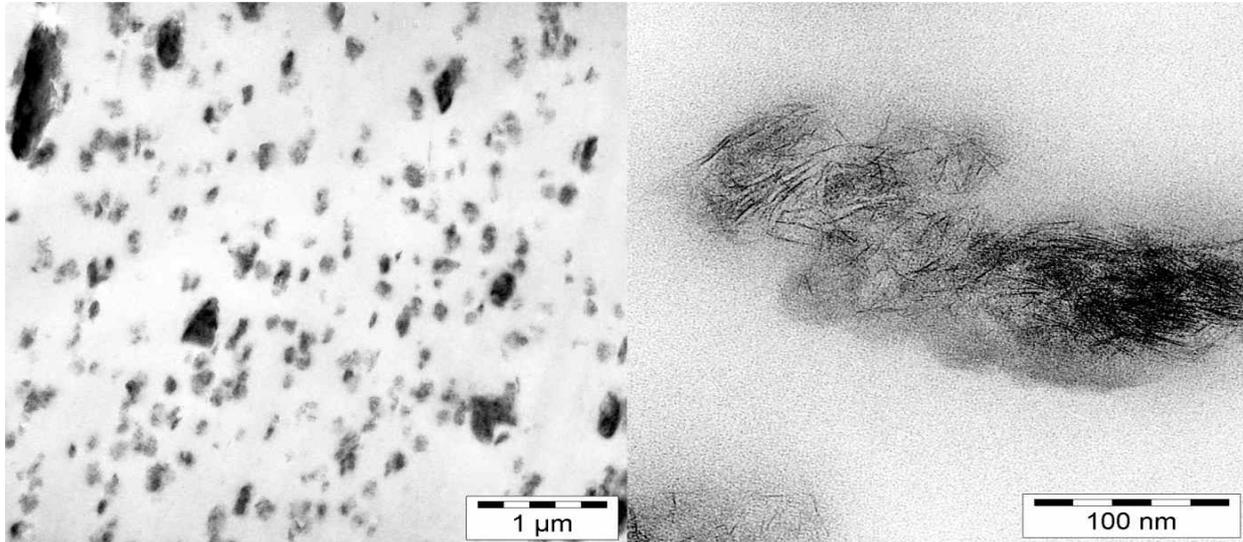
Ein direkter Vergleich der hier gefundenen Ergebnisse mit Daten von Expositionsstudien ist nicht möglich. Obwohl CB seit Jahrzehnten als Additiv in der Gummi-, Druckfarben- und Kunststoffindustrie eingesetzt wird, fokussierten sich bisherige Expositionsstudien überwiegend auf den Kontakt zu CB während der Produktion, jedoch nicht auf CB in Konsumgütern. Einen Überblick über die zahlreichen bisher erschienenen Toxikologie- und Expositionsstudien sind in einer Monographie der Internationalen Agentur für Krebsforschung (IARC) erschienen [165]. Aus den dort zusammengefassten Studien folgte die IARC, dass CB, sobald es in der für das Endprodukt vorgesehenen Matrix eingearbeitet ist, zu keiner Exposition gegenüber dem Verbraucher führt. Es wird jedoch angemerkt, dass die analytischen Möglichkeiten Kohlenstoff in seiner elementaren Form zu erfassen, kaum vorhanden sind, weshalb das Wissen über die Exposition gegenüber CB in Konsumgütern lückenhaft ist. Mit der in dieser Arbeit präsentierten Methode konnte jedoch gezeigt werden, dass die Kombination aus AF4 und MALS einen empfindlichen Nachweis von Kohlenstoff in Form von CB-Partikeln in Lebensmittelsimulanzien ermöglicht. Aus den hier gewonnenen Daten kann die Annahme der IARC bestätigt werden, dass CB nicht zu einer Exposition gegenüber dem Verbraucher führt, wenn es in einer Polymermatrix eingebunden ist.

## 5.4 Laponite

### 5.4.1 Untersuchung der Nanokomposite mittels TEM

Mittels TEM wurden Ausschnitte der Laponite-Nanokomposite mit der höchsten Konzentration (6 %) an Laponite-Partikeln im Polymer untersucht. Die TEM-Aufnahmen mit einer geringeren Auflösung (Abbildung 78, links) zeigten dabei, dass die Laponite Partikel homogen im Polymer verteilt waren. Hierbei lag das Nanomaterial in Form von elliptisch geformten Aggregaten vor. Anhand dieser Aufnahmen wird ersichtlich, dass eine vollständige Exfolierung dieses Schichtsilikats in einzelne Plättchen, welche ein Auflösen der Aggregatsstruktur bewirkt hätten, nicht möglich war. Auf TEM-Aufnahmen mit hoher Auflösung (Abbildung 78, rechts) erkennt man jedoch, dass innerhalb dieser Aggregate die Schichtsilikate nicht mehr ausschließlich in Form von kompakten Stapeln, bei denen einzelne Plättchen stets parallel zueinander ausgerichtet sind, vorlagen. Auf dem in diesem Bild abgebildetem Aggregat lässt sich im rechten unteren Teil noch eine kompaktere Anordnung mit zueinander parallel ausgerichteten Plättchen erkennen, während im linken oberen Teil des Aggregats die Plättchen eine losere Anordnung ohne eine bestimmte räumliche Orientierung aufweisen. Der hierbei erkennbare größere Abstand zwischen einzelnen Plättchen bestätigt, dass die Scherkräfte beim mehrmaligen Compoundieren ausreichend waren, um zumindest eine Interkalierung dieses Schicht-

silikats zu bewirken. Hierdurch war es möglich, Nanokomposite herzustellen, in welchen Laponite zwar in Form von Aggregaten mit durchschnittlichen Größen von etwa 100 nm bis 500 nm vorlagen, die Aggregate jedoch nicht mehr aus kompakten Stapeln, sondern aus einer losen Ansammlung einzelner Plättchen bestanden. Einzelne Plättchen zeigten dabei Ausdehnungen von etwa 20 nm bis 30 nm und eine Dicke von nur etwa 1 nm.



**Abbildung 78:** TEM-Aufnahmen eines Laponite-Nanokomposits (6 % Laponite im Polymer). Aufnahmen im 1000 nm (links) und 100 nm Maßstab (rechts).

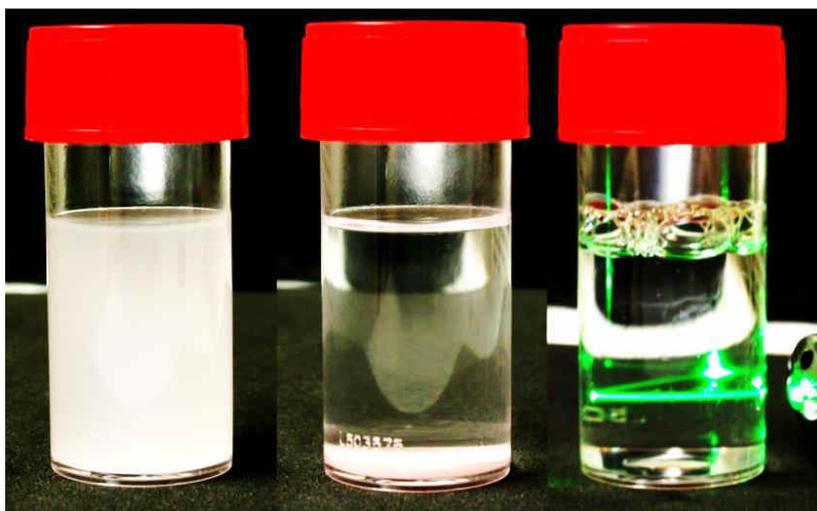
#### 5.4.2 Herstellung von Dispersionen aus dem Referenz-Nanomaterial

Bei der Herstellung der Laponite Dispersionen standen die Stabilität der Dispersionen einerseits und eine zum Polymer identischen Partikelgrößenverteilung andererseits im Vordergrund. Schichtsilikate weisen dabei unter den Nanomaterialien eine Besonderheit auf. Aggregate bestehen aus zu Stapeln zusammengelagerten Plättchen, welche bei natürlich vorkommenden (hydrophilen) Schichtsilikaten durch elektrostatische Wechselwirkungen zusammengehalten werden (vgl. Abbildung 3). Während bei den meisten Nanomaterialien (wie SAS, CB, TiN, etc.) Aggregate die kleinste dispergierbare Einheit darstellen [44], ist es bei Schichtsilikaten möglich, durch Anpassung des Dispersionsmittels Aggregate in ihre primären Bausteine, d.h. in einzelne Plättchen, aufzulösen (Exfolierung). Insbesondere natürlich vorkommende Schichtsilikate, welche einen hydrophilen Charakter aufweisen, lassen sich gut dispergieren. Bei Bentonite reicht bereits die in der Luft vorhandene Feuchtigkeit aus, um ein Quellen des Nanomaterials zu bewirken, wodurch sich der Abstand zwischen einzelnen Plättchen vergrößert. In einem wässrigen Medium lassen sich für die meisten natürlich vorkommenden Schichtsilikate durch Einstellen des pH-Werts und der Ionenstärke die elektrostatischen intermolekularen Wechselwirkungen kompensieren und somit eine gute Dispergierbarkeit erzielen [56]. In dieser Arbeit wurde einerseits aufgrund der kleineren Partikelgrößen, andererseits aufgrund der besseren Kompatibilität mit einer unpolaren PE-LD Matrix jedoch ein organisch modifizierter Laponite verwendet, ein „Organoclay“. Studien zu Organoclays zeigten, dass die Herstellung stabiler Dispersionen hierbei mehr Schwierigkeiten bereitet als bei hydrophilen „Clays“. Vorversuche zur Herstellung stabiler Laponite Dispersionen stützen sich daher zunächst auf Erkenntnisse aus der Literatur. Die Methode nach Hanley et al. [166], bei welcher Organoclay Dispersionen hergestellt wurden, indem das Nanomaterial in Toluol gerührt wurde und eine stufenweise Zugabe von Methanol erfolgte, führten bei dem in dieser Arbeit verwendeten Laponite nicht zum gewünschten Erfolg. Bereits nach kurzer Zeit sedimentierte das Nanomaterial vollständig aus. Ho et al. [58] konnten durch

die Verwendung von Trichlorethen eine vollständige Exfolierung des verwendeten Organoclays bezwecken, wodurch stabile Dispersionen entstanden. Auf die Verwendung des hoch toxischen Trichlorethens wurde jedoch im Rahmen dieser Arbeit verzichtet. Li et al. [167] nutzen eine Mischung organischer Lösemittel und nicht ionischer Tenside zur Herstellung von Dispersionen. Die Verwendung von Span 80 (Sorbitan Monooleate) führte hierbei zu stabilen Dispersionen. In dieser Arbeit wurden daher verschiedene Ansätze, bei denen unterschiedliche organische Lösemittel mit Span 80 gemischt wurden, auf ihre Eignung als Dispersionsmittel getestet. Eine Mischung aus Xylol und Span 80 ( $10.000 \text{ mg l}^{-1}$ ) zeigte hierbei eine gute Dispergierbarkeit des Nanomaterials. Laponite Dispersionen in einer Xylol/Span 80 Mischung verhielten sich hierbei thixotrop. Ließ man die Dispersionen über Nacht stehen, bildete sich am Boden des Probengefäßes ein Gel aus, welches sich durch leichtes Schütteln vollständig auflösen ließ. Dies deutete auf ein Quellen der Plättchen und somit auf eine erfolgreiche Interkalierung der Schichtsilikat-Stapel hin. Wie schon bei den Migrationsuntersuchungen war auch hier das Ziel, das geeignete Dispersionsmittel als alternatives Simulanz für Migrationsversuche zu nutzen. Da PE-LD gegenüber Xylol, insbesondere bei den höheren Temperaturen während der Migrationsversuche, nicht beständig ist, erschien die Verwendung dieses Lösemittels als Simulanz ungeeignet, da ein Auflösen, bzw. zu starkes Quellen des Polymers vermieden werden sollte. Bei der Verwendung mehr konventioneller Simulanzen als Dispersionsmittel zeigte 95 % v/v Ethanol zunächst eine sehr gute Benetzung des Laponite-Pulvers. Laponite Dispersionen in 95 % v/v Ethanol zeigten zunächst eine intensive, milchig-weiße Trübung, doch bereits nach 24 h Lagerung bei Raumtemperatur sedimentierten die Laponite Partikel vollständig aus (Abbildung 79, links und Mitte). Bereits die intensive Trübung der in 95 % v/v Ethanol dispergierten Partikel deutete darauf hin, dass eine Exfolierung der Laponite-Stapel nicht möglich war. Da bei den zuvor genannten Studien letztendlich erst durch die Exfolierung der Schichtsilikate stabile Dispersionen entstanden, wurde daher versucht, über einen hohen Energieeintrag in die Dispersion ein beschleunigtes Quellen der Plättchen und eine bessere Verteilung des Nanomaterials im Dispersionsmittel zu bewirken. Hierbei zeigte sich die im Folgendem beschriebene Methode als geeignet.

50 mg des Laponite Pulvers wurden in eine 50 ml PP-Zentrifugenial eingewogen, mit 20 ml einer  $25000 \text{ mg l}^{-1}$  Novachem Tensidmischung (sowie  $200 \text{ mg l}^{-1} \text{ NaN}_3$ ) vermischt und für 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Hierbei zeigte sich wiederum eine milchige Trübung der Dispersion. Im Anschluss wurde die Dispersion für 45 min mit der Ultraschall-Sonotrode behandelt. Das Zentrifugenial befand sich dabei in einem Eisbad, um die durch die Behandlung mit der Ultraschall-Sonotrode entstandene Wärme abzuführen. Der hierbei extreme Energieeintrag führte dazu, dass am Ende des Dispersionsversuch keine milchige Trübung mehr zu erkennen war. Eine leichte Opaleszenz der Dispersion deutete darauf hin, dass eine Interkalierung/Exfolierung des Nanomaterials erfolgreich war. Dies war in guter Übereinstimmung mit den zuvor erwähnten Studien, bei denen die Trübung der Dispersion mit abnehmenden Partikelgrößen der Schichtsilikate ebenfalls abnahm. Nach der Behandlung mit Ultraschall wurde die Dispersionen quantitativ in einen 200 ml PFA-Messkolben überführt und mit der Tensidlösung zur Eichmarke aufgefüllt. Der Gehalt an Laponite in der  $25000 \text{ mg l}^{-1}$  Tensidlösung lag somit bei  $250 \text{ mg l}^{-1}$ . Nachdem die Dispersion eine Woche bei Raumtemperatur gelagert wurde zeigte die Dispersion nach wie vor eine leichte Opaleszenz, jedoch keinerlei Bodensatz. Um den Verbrauch an Tensiden und ein übermäßiges Aufschäumen des Dispersionsmittels bei Druckschwankungen im AF4-Kanal zu vermeiden, wurden Verdünnungen der Laponite-Stammdispersion mit einer  $2000 \text{ mg l}^{-1}$  Novachem /  $200 \text{ mg l}^{-1} \text{ NaN}_3$  Lösung hergestellt. Eine  $5000 \mu\text{g l}^{-1}$  Laponite Dispersion war dabei völlig klar, zeigte jedoch noch immer ein sehr hohes Potential, einfallendes Licht zu streuen. Dies wurde mit einem einfachen Test überprüft, bei welchem

ein Laserpointer an das Probengefäß gehalten wurde (Abbildung 79, rechts). In der vollkommen klaren Lösung konnte das Laserlicht als intensiver Strahl wahrgenommen werden. Aus dem Fehlen einer intensiven Trübung, bei einem zugleich hohen Potential einfallendes Licht zu streuen, wurde abgeleitet, dass Laponite als sehr kleine Partikel in der Lösung vorliegen musste und somit eine teilweise Exfolierung, zumindest eine Interkalierung des Nanomaterials erfolgreich war. Da anhand der TEM-Bilder der Laponite-Nanokomposite erkennbar war, dass Laponite bereits im interkalierten Zustand vorlag, wurde für die folgenden Vorversuche und die anschließenden Migrationsuntersuchungen die  $2000 \text{ mg l}^{-1}$  Novachem /  $200 \text{ mg l}^{-1}$   $\text{NaN}_3$  Lösung als Dispersionsmittel und alternatives Simulanz zum Nachweis von Laponite verwendet. Ein Vergleich der in der Dispersion und im Polymer enthaltenen Partikelgrößen ist in Kapitel 5.4.4 aufgeführt.

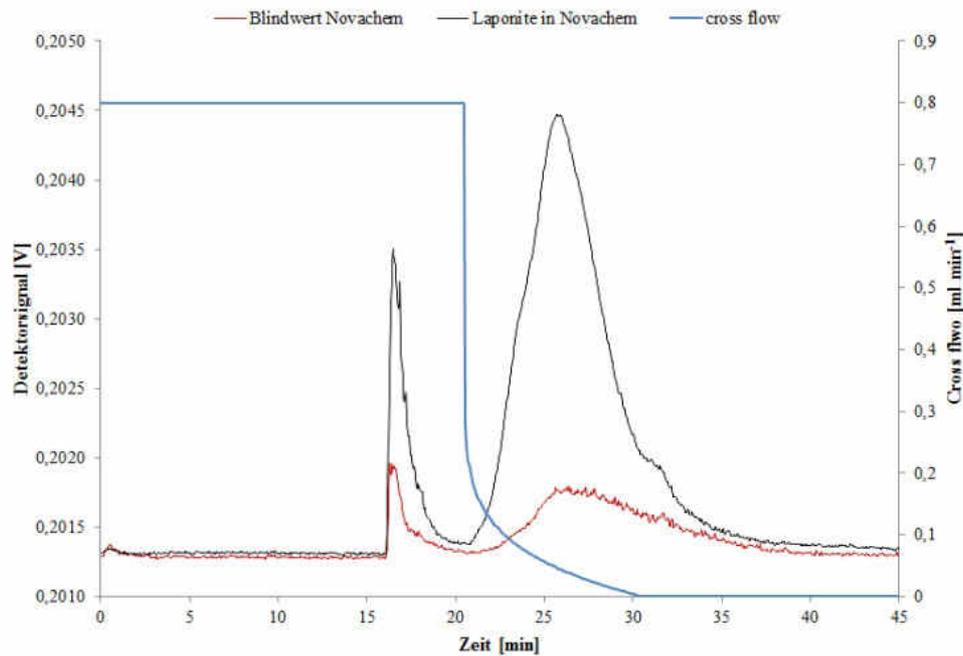


**Abbildung 79: Laponite Dispersionen; links: in 95 % v/v Ethanol (frisch hergestellt), Mitte: in 95 % v/v Ethanol (nach 24 h), rechts in Novachem-Tensidlösung ( $5000 \mu\text{g l}^{-1}$  nach 7 d).**

#### 5.4.3 AF4/MALS Methodenentwicklung

AF4-Messungen zeigten die reproduzierbarsten Ergebnisse, wenn das System mit einem Standardkanal, einem  $500 \mu\text{m}$  „Spacer“ und einer  $10 \text{ kDa}$  PES-Membran ausgestattet wurde. Proben wurden mit einem Volumen von bis zu  $2 \text{ ml}$  ( $2 \text{ ml}$  Probenschleife) injiziert. Der Kanal wurde dabei konstant auf  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  temperiert. Als Fließmittel wurde Reinstwasser mit  $200 \text{ mg l}^{-1}$   $\text{NaN}_3$  verwendet.

Während der Injektionsphase wurden Proben mit einem Injektionsvolumenstrom von  $0,15 \text{ ml min}^{-1}$  in den Kanal injiziert, in welchem die in der Probe enthaltenen Partikel für  $15 \text{ min}$  mit einer Fokussierströmung von  $1,1 \text{ ml min}^{-1}$  gesammelt wurden. Als Querfluss wurde ein konstanter Volumenstrom von  $0,8 \text{ ml min}^{-1}$  über die Membranfläche angelegt. Nach einer Transitionsdauer von  $0,5 \text{ min}$  wurde der Querfluss zunächst für weitere  $5 \text{ min}$  konstant gehalten und anschließend innerhalb von  $10 \text{ min}$  auf  $0,0 \text{ ml min}^{-1}$  reduziert, indem eine parabolische Funktion (Leistungsgradient:  $0,15$ ) verwendet wurde. Diese Funktion ermöglichte eine schnelle Reduzierung des Trennfeldes im vorderen Bereich der Elutionsphase, während im hinteren Bereich eine niedrigere aber konstantere Trennkraft auf den Kanal ausgewirkt wird. Hierdurch sollten schärfere Signale für Laponite-Partikel und eine somit höhere Empfindlichkeit bewirkt werden. Innerhalb weiterer  $25 \text{ min}$  wurde der Kanal ohne Querfluss gespült. Der während des gesamten AF4-Laufs konstante Detektorfluss betrug  $0,45 \text{ ml min}^{-1}$ . Als MALS Detektor wurde der  $21$ -Winkel Lichtstreuendetektor von Postnova ( $25 \%$  Abgabeleistung) verwendet (siehe Tabelle 11). Der Verlauf des Trennfeldes während des AF4-Laufs, sowie das sich hieraus ergebende Fraktogramm ist für eine Laponite-Dispersionen in Abbildung 80 dargestellt.



**Abbildung 80:** AF4 Trennmethode zur Fraktionierung von Laponite-Partikeln. Signal des 92° Detektors einer  $2000 \mu\text{g l}^{-1}$  Laponite in  $2000 \text{ mg l}^{-1}$  Novachem Dispersion (schwarz), sowie des Blindwerts des Dispersionsmittels (rot).

Laponite-Dispersionen erzeugten einen Peak von  $t = 21 - 40 \text{ min}$  sowie einen intensiven „Void-Peak“ zu Beginn der Elutionsphase (ab  $t = 16 \text{ min}$ ). Injektionen des Blindwerts des  $2000 \text{ mg l}^{-1}$  Novachem /  $200 \text{ mg l}^{-1}$   $\text{NaN}_3$  Dispersionsmittels erzeugten zu denselben Elutionszeiten ein schwächer ausgeprägtes Signal im AF4 Fraktogramm. Der bei der Laponite-Dispersion stärker ausgeprägte „Void-Peak“ lässt sich auf die bei der Herstellung der Stammdispersion benötigte hohe Menge des Tensids zurückführen. Die Erzeugung eines scharfen, Chromatographie-ähnlichen Peaks ließ sich bei keiner der getesteten AF4-Methoden erzeugen. Ein Grund könnte hierfür sein, dass die Plättchenstruktur des dispergierten Laponites eine Anreicherung des Nanomaterials in definierten Strömungsschichten des AF4-Kanals während der Fokussierung nicht ermöglichte. Aufgrund von Verwirbelungen im Kanal eluieren die Partikel trotz ähnlicher Partikelgrößen auf mehrere Schichten verteilt und erstrecken sich somit über einen breiteren Elutionsbereich. Bei der oben beschriebenen Methode wurde ein rapider Rückgang des Trennfeldes („Cross-Flow“) gewählt. Hierdurch kommt es zu einer beschleunigten Elution der in den Kanal injizierten Partikel. Die hierbei entstehende Druckschwankung wirkt sich jedoch auch auf das Fließ- und Dispersionsmittel aus, weshalb zur selben Zeit der Blindwert ein Signal im Fraktogramm erzeugt. Versuche, bei denen mit einem konstanten Querfluss während der Elutionsphase gearbeitet wurde, erzeugten zwar kein Signal bei Injektionen des Blindwerts, jedoch verbreiterte sich der Elutionsbereich der Laponite-Partikel so stark, dass eine empfindliche Quantifizierung der Partikel nicht mehr möglich gewesen wäre. Für die Bestimmung der massenbezogenen Lichtstreuintensitäten müssen daher anhand der hier gewählten Methode die mittlere Gesamtintensität des Blindwerts, welche in Mehrfachinjektionen bestimmt wurde, abgezogen werden.

#### 5.4.4 Partikelgrößenverteilung der dispergierten Laponite-Partikel

Die Lichtstreuensignale zur Bestimmung der Partikelgrößen wurden anhand eines Zimm-Plots (vgl. Abbildung 14) ausgewertet. Bei der Berechnung wurden der  $7^\circ$ ,  $12^\circ$  und  $164^\circ$  Detektorwinkel nicht verwendet. Die in der Dispersion enthaltenen Partikelgrößen erstreckten sich über einen Bereich von etwa  $r_g = 16 \text{ nm} - 130 \text{ nm}$ . Am häufigsten waren dabei Partikel mit einem Schwerpunktsradius von etwa  $30 \text{ nm}$  enthalten. Anhand der ermittelten Partikelgrößen lässt ableiten, dass die in der Dispersion

enthaltenen Partikel nur zum Teil in Form von exfoliierten Plättchen vorlagen. Ein Teil der Partikel schien noch in Form von kleineren Aggregaten in dem Dispersionsmittel vorhanden gewesen zu sein. Die relative breite Partikelgrößenverteilung der Laponite-Partikel (einzelne Plättchen sowie kleinere Aggregate) ist in guter Übereinstimmung mit dem breiten Elutionsbereich und der Peakform im AF4-Fraktogramm. Der Vergleich der jeweiligen Partikelgrößenverteilung der im Polymer (siehe Kapitel 5.4.1) und in der Dispersion (Abbildung 81) enthaltenen Laponite-Partikel ergab ähnliche Ergebnisse. TEM-Aufnahmen zeigten Aggregate mit Durchmessern von etwa 100 bis 500 nm. Diese Aggregate waren zum Teil im interkalierten Zustand im Polymer vorhanden. Einzelne Plättchen zeigten Ausdehnungen von etwa 20 bis 30 nm bei einer Schichtdicke von nur 1 nm. Unter Annahme einer Knäuel-Struktur der Laponite-Aggregate lassen sich die mittels AF4/MALS gemessenen Schwerpunktradien anhand Gleichung 45 zu geometrischen Größen umrechnen. Hierdurch ergaben sich Knäuelgrößen von 39 bis 318 nm (als „Ende-zu-Ende“ Distanz des Knäuels). Somit wären die im Polymer enthaltenen Laponite-Partikel durch ihre Größe mittels der AF4/MALS Methode im Falle einer Migration nachweisbar.

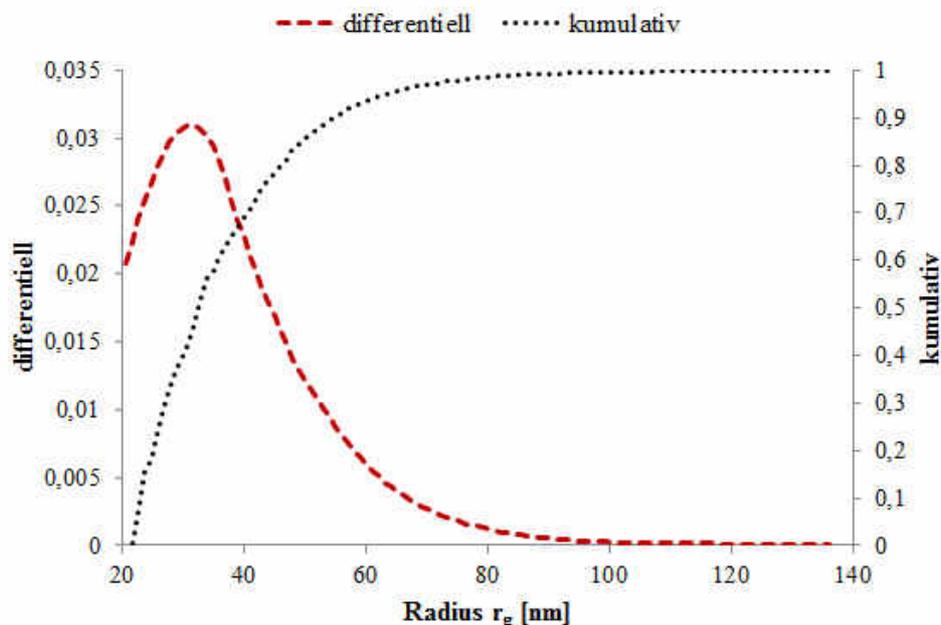
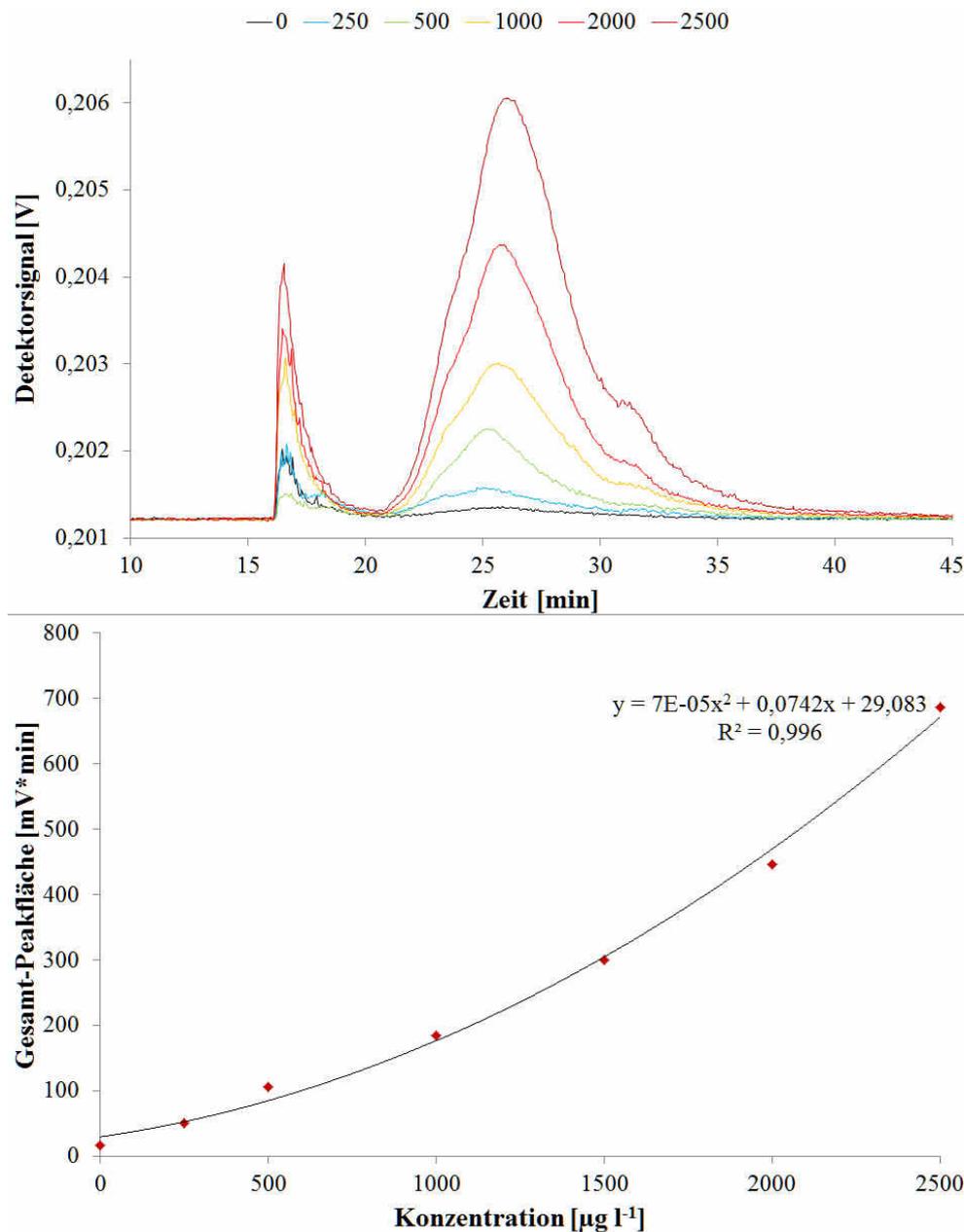


Abbildung 81: Partikelgrößenverteilung der in der Tensidlösung dispergierten Laponite-Partikel (2000 µg l<sup>-1</sup>).

#### 5.4.5 Kalibrierung des Systems anhand von Kalibrierdispersionen

Die Laponite-Stammdispersion (vgl. Kapitel 5.4.2) diente der Herstellung von Kalibrierstandards zur Korrelation der gestreuten Lichtintensitäten mit der injizierten Masse. Durch eine mehrstufige Verdünnung der Stammdispersion wurden Dispersionen mit einem nominellen Laponite-Gehalt von 250, 500, 1000, 1500, 2000 und 2500 µg l<sup>-1</sup> hergestellt. Die im Vergleich zu den anderen untersuchten Nanomaterialien größeren Konzentrationsabstände wurde aufgrund der schlechteren Empfindlichkeit der AF4/MALS Methode bzgl. der von Laponite gestreuten Lichtintensitäten gewählt. Zur Kalibrierung wurde zunächst das Dispersionsmittel (2000 mg l<sup>-1</sup> Novachem / 200 mg l<sup>-1</sup> NaN<sub>3</sub>) als Blindwert eingespritzt, gefolgt von den Dispersionen mit unterschiedlichen Mengen des dispergierten Nanomaterials in aufsteigender Reihenfolge. Zur Bestimmung der Gesamt-Peakfläche durch Integration der einzelnen Detektorwinkel wurden diejenigen Signale ausgewählt, welche eine eindeutige Unterscheidung zu dem Signal der nächstniedrigeren und nächsthöheren Dispersion

zuließen. Dies war für alle Winkel mit Ausnahme des 7°, 12° und 164° Winkels möglich. Alle Proben wurden mittels einer vollständig geladenen 2 ml Probenschleife in das System injiziert.



**Abbildung 82: Fraktogramme der Laponite-Kalibrierstandards (oben: Signale des 92° Detektors), sowie die aus der Gesamt-Peakfläche aller Detektorwinkel ermittelte Kalibrierkurve (unten).**

In dem gewählten Konzentrationsbereich konnten die Signale der einzelnen Standards sowohl von den anderen Kalibrierstandards als auch vom Blindwert des Dispersionsmittels unterschieden werden (Abbildung 82). Die graphische Darstellung der ermittelten Gesamt-Peakflächen über die jeweiligen Konzentrationen der jeweiligen Laponite-Standards zeigte, dass eine Korrelation zwischen injizierter Masse des Nanomaterials und der gestreuten Lichtintensität bestand. Es ergab sich im untersuchten Konzentrationsbereich eine Kalibrierkurve, welche sich durch das in Abbildung 82 (rechts) angegebene Polynom beschreiben ließ. Alle injizierten Dispersionen ergaben dabei Flächenwerte, welche sich eindeutig der jeweiligen Konzentration zuordnen und von anderen Konzentrationen

unterscheiden ließen. Da auch eine Unterscheidung sowohl im AF4-Fraktogramm, als auch anhand der Gesamt-Peakflächen zum Blindwert möglich war, wurde der Standard mit der geringsten Konzentration als Nachweisgrenze angenommen. Mit einer Gesamt-Peakfläche von 50,2 mV min entsprach dies dem dreifachen Wert der bei dem Blindwert errechneten Fläche (Tabelle 33). Bei einem Injektionsvolumen von 2 ml entsprach die kleinste messbare Konzentration 250  $\mu\text{g ml}^{-1}$ .

**Tabelle 33: Errechnete Gesamt-Peakflächen der einzelnen Laponite-Kalibrierstandards anhand der MALS Detektorsignale. Ergebnisse bezogen auf ein Injektionsvolumen von 2 ml.**

Konzentration des Standards [ $\mu\text{g l}^{-1}$ ]	Absolute injizierte Masse [ $\mu\text{g}$ ]	Gesamt-Peakfläche [mV min]
0	0	16,7
250	0,5	50,2
500	1,0	105,0
1000	2,0	183,7
1500	3,0	300,1
2000	4,0	446,9
2500	5,0	686,3

#### 5.4.6 Bestimmung der Stabilität der Standards

Zur Bestimmung der Stabilität des Nanomaterials in der Tensidlösung wurde eine 1000  $\mu\text{g l}^{-1}$  Dispersion für 10 d bei 60 °C gelagert. Nachdem in Vorversuchen lediglich die Tensidlösung eine erfolgreiche Dispergierung der Laponite-Partikel ermöglichte, wurden andere Lösungen nicht zur Eignung als Lebensmittelsimulanz getestet. 15 ml einer frisch hergestellten Dispersion wurden in 30 ml Probenvials aus PP gegeben und in einem Wärmeschrank gelagert. Ein Teil der Dispersion wurde zuvor als Referenzprobe direkt in die AF4 injiziert. Der Vergleich der AF4-Fraktogramme vor und nach der Lagerung derselben Dispersion zeigte, dass Laponite Partikel sehr stabil in der Tensidlösung dispergiert sind und auch bleiben. Die Fraktogramme der Dispersionen (Dreifachansatz) nach der Lagerung zeigten nahezu identische Signale wie die frisch hergestellten Dispersionen. Sowohl die Partikel der frisch hergestellten als auch der gelagerten Dispersion eluierten zu identischen Zeiten mit nahezu identischen Signalintensitäten. Im Mittel erzeugten die gelagerten Dispersionen sogar etwas höhere Signalintensitäten, sodass sich aus dem Verhältnis der Gesamt-Peakflächen gelagerter Dispersionen zu frisch hergestellter Dispersionen eine Wiederfindungsrate von 105,1 % errechnen ließ.

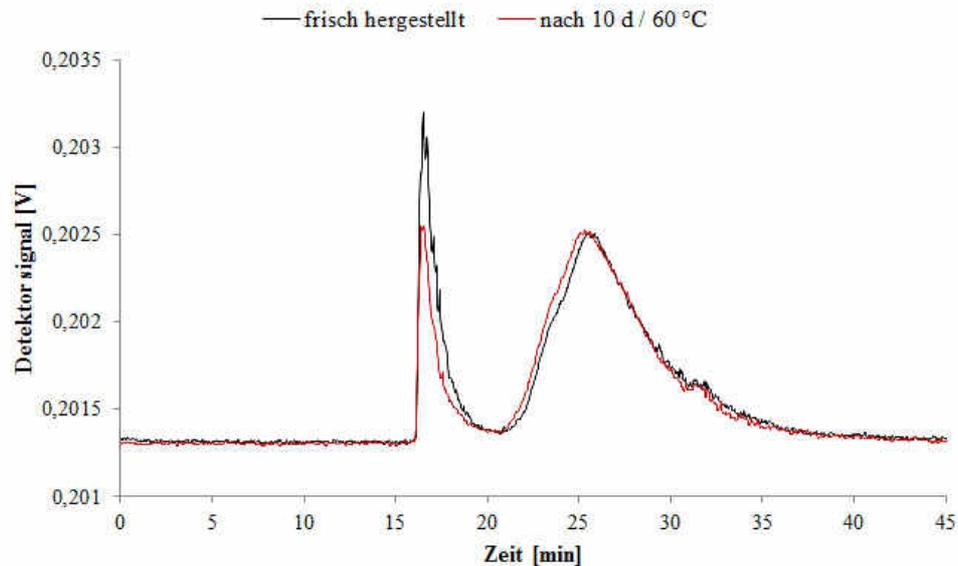


Abbildung 83: Fraktogramme einer frisch hergestellten Laponite-Referenzdispersion (schwarz), sowie der unter Prüfbedingungen gelagerten Dispersion (rot).

Tabelle 34: Bestimmung der Wiederfindungsrate und der Methodennachweisgrenze für Laponite-Partikel unter Migrationsbedingungen (1 ml Injektionsvolumen).

Fläche Referenz [V min]	Fläche nach Lagerung [V min]	Wiederfindungsrate [%]	Nachweisgrenze nach Lagerung [ng]
183,7	193,0	105,1	476

#### 5.4.7 Ergebnisse der Migrationsversuche

Aus den Laponite/PE-LD-Nanokompositen mit 2, 4 und 6 % Laponite im Polymer wurden Folienausschnitte von 10 x 10 cm entnommen, gefaltet und in 30 ml Probenbehälter aus PP gegeben. Sowohl die Probenbehälter als auch die Folien wurden zur Entfernung von Staub zuvor mit Stickstoff abgeblasen. Bei einer Zugabe von 15 ml der Tensidlösung waren die gefalteten Folienausschnitte dabei vollständig mit dem alternativen Simulanz bedeckt. Als Blindwerte wurden Ausschnitte aus Folien verwendet, welche aus dem identischen PE-LD, jedoch ohne Nanomaterialien hergestellt wurden. Am Ende der Lagerung wurden die Folienausschnitte entfernt und 2 ml des Simulanz in die AF4 injiziert. Blindwertproben (Polymer und Simulanz) wurden dabei in dreifacher Ausfertigung, die Nanokomposite in vierfacher Ausfertigung präpariert.

Typische Elutionszeiten für Laponite-Partikel sind von  $t = 21$  min bis  $t = 40$  min. Aufgrund der rapiden Abnahme des Trennfeldes erzeugte bereits der Dispersionsmittel-Blindwert zu diesen Elutionszeiten ein Signal im AF4-Fraktogramm (vgl. Abbildung 80). Sowohl AF4/MALS Messungen der Migrationsproben ohne Laponite im Polymer (Polymer Blindwert) als auch mit 2 %, 4 % und 6 % Laponite im Polymer erzeugten alle zu den für Laponite-Partikel relevanten Elutionszeiten ein Signal. Jedoch erzeugte keine dieser Proben dabei ein Signal, welches höhere Intensitäten als der Lebensmittelsimulanz-Blindwert verursachte. Dies deutete darauf hin, dass weder oligomere Bestandteile des Polymers noch Laponite-Partikel selbst auf das Simulanz nach 10 d bei 60 °C übergegangen waren. Zusätzlich vorhandene Matrixbestandteile (Oligomere oder Laponite-Partikel) würden zu höheren Signalintensitäten, oder zu einem Signalausschlag an einer anderen Stelle des

Fraktogramms führen. Dies konnte jedoch bei keiner einzigen Probe festgestellt werden. Vielmehr hatte es den Anschein, dass die Tenside in der Simulanzlösung von den Folien, insbesondere von Laponite-Partikeln, welche an der Oberfläche der Folie (Schnittkanten) vorhanden sind, absorbiert wurden. Dieser Effekt ließ sich mit zunehmender Laponite-Konzentration im Polymer verstärkt beobachten. Migrationsproben, bei welchen PE-LD Referenzfolien und Nanokomposite mit 2 % Laponite im Polymer verwendet wurden (Abbildung 84), erzeugten im AF4-Fraktogramm entweder exakt gleiche oder geringere Intensitäten als der Blindwert der Tensidlösung (Simulanz), welche ebenfalls für 10 d bei 60 °C gelagert wurde. Alle Migrationsproben, bei denen Nanokomposite mit 4 % Laponite im Polymer verwendet wurden, erzeugten deutlich geringere Signalintensitäten als dieselbe Tensidlösung ohne Kontakt zu diesen Nanokompositen (Abbildung 85 ,links). Die 6 % Laponite-Nanokomposite erzeugten zu Elutionszeiten, welche sowohl für Laponite-Partikel als auch die Tensidlösung relevant wäre, keinerlei Signal mehr (Abbildung 85, rechts).

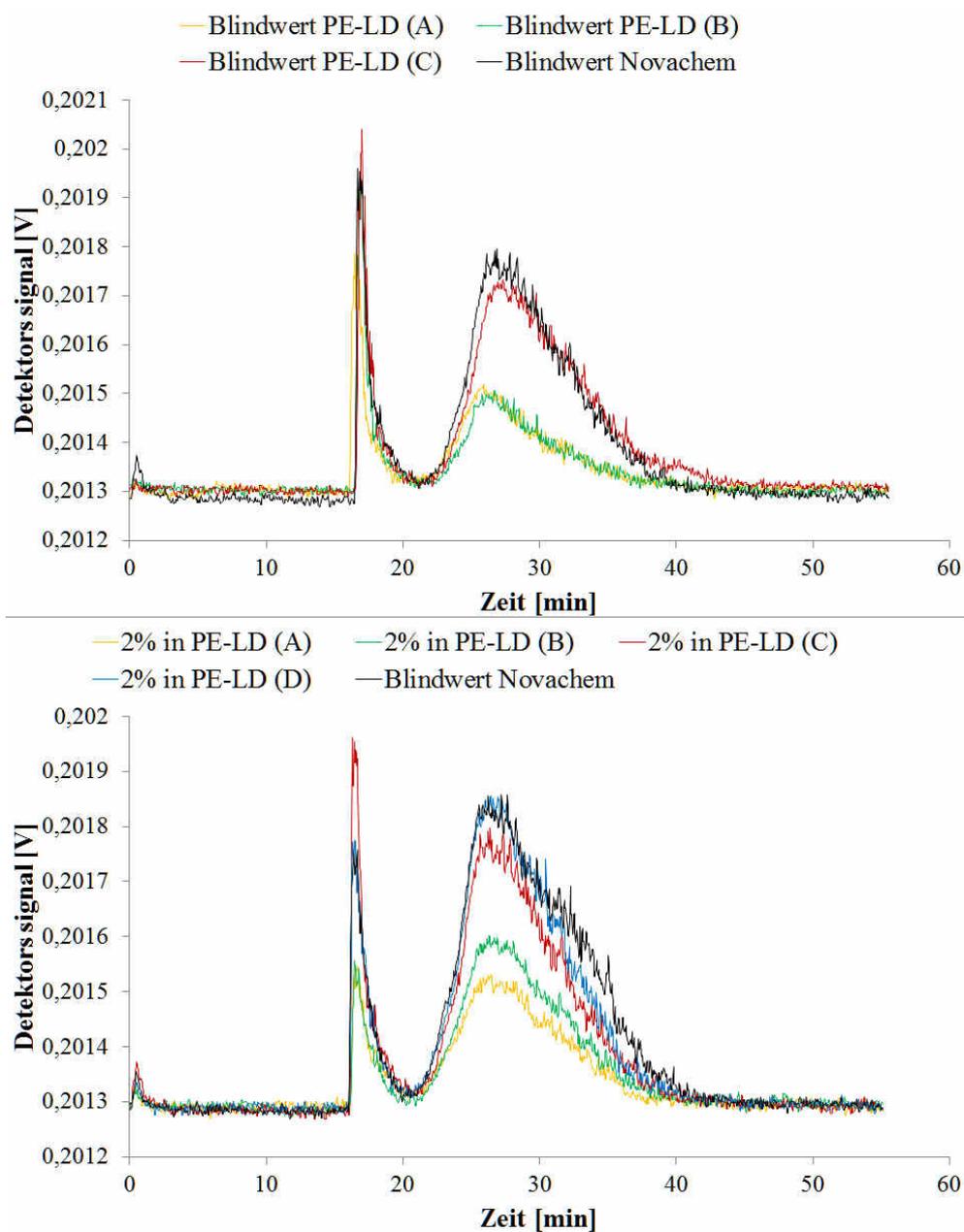
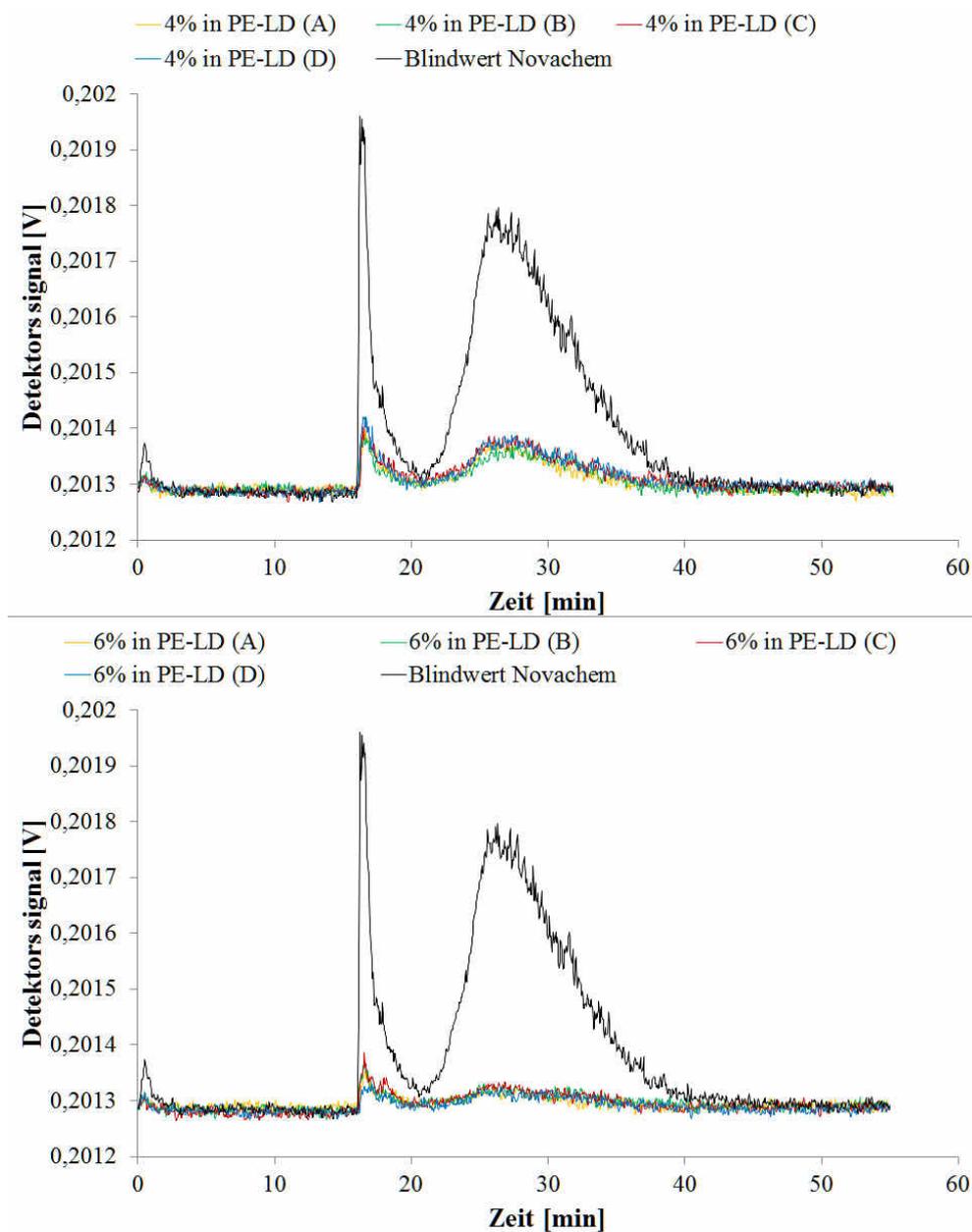


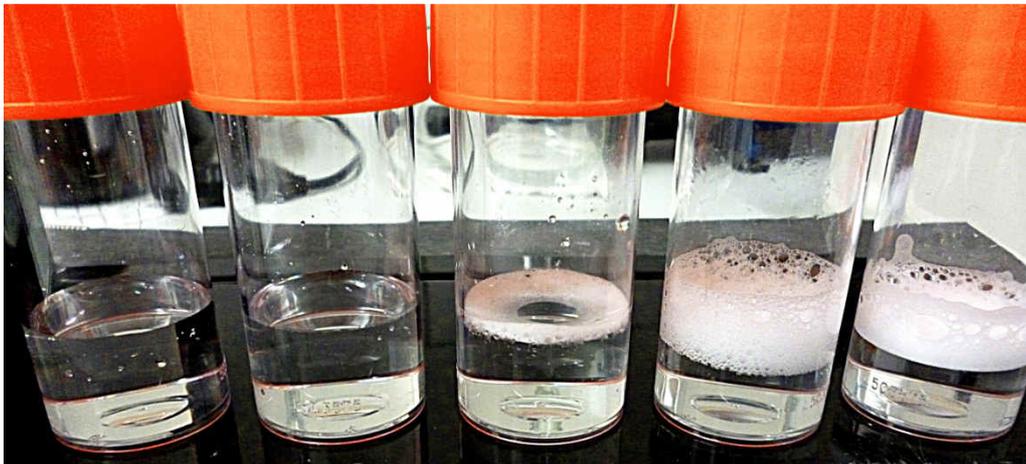
Abbildung 84: AF4 Fraktogramme der PE-LD Referenzproben (oben) und der 2 % Laponite-Nanokomposite (unten) nach Lagerung für 10 d bei 60 °C in einer 2000 mg l<sup>-1</sup> Tensidlösung.



**Abbildung 85:** AF4 Fraktogramme der 4 % Laponite-Nanokomposite (oben) und der 6 % Laponite-Nanokomposite (unten) nach Lagerung für 10 d bei 60 °C in einer 2000 mg l<sup>-1</sup> Tensidlösung.

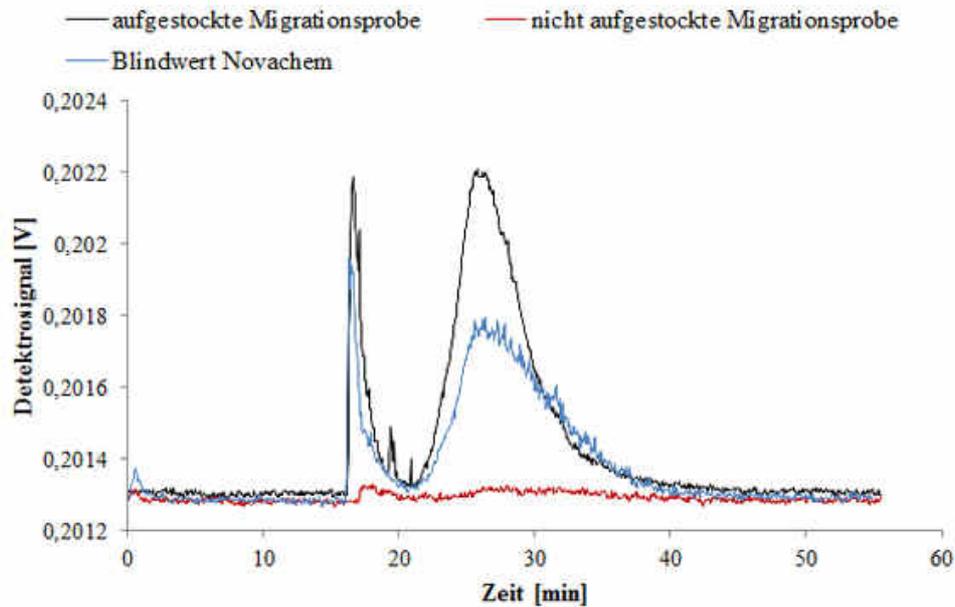
Anhand der Vorversuche zur Herstellung der Laponite-Dispersionen war bekannt, dass im Gegensatz zu vielen anderen getesteten Lösungen die Novachem-Tensidlösung geeignet ist, um das Laponite-Pulver in eine stabile Dispersion zu überführen. Die Stabilitätsuntersuchungen zeigten zudem, dass selbst über den bei der Migrationsprüfung angewandten Zeitraum keine Verluste des Nanomaterials in der Tensidlösung auftraten. Es war daher naheliegend anzunehmen, dass zwischen den Laponite-Partikeln und den Tensidmolekülen eine starke Wechselwirkung auftrat. Die Vermutung, dass sich die in den Simulanzien vorhandenen Tensidmoleküle mit Laponitepartikeln an der Oberfläche des Polymers, insbesondere an den Schnittkanten der Ausschnitte anlagerten ist somit wahrscheinlich. Der Verlust der in den Simulanzien enthaltenen Tenside wurde daher anhand eines simplen Tests überprüft. Da Novachem eine sehr stark schäumende Tensidlösung ist, konnte das Vorhandensein von Tensiden in den Proben über die Schaumbildung nach dem Schütteln der gelagerten Proben überprüft

werden (Abbildung 86). Sowohl das Referenz-Simulanz (Tensidlösung ohne Kontakt zu einer Folie) als auch das Simulanz der Referenz-Folie (Tensidlösung in Kontakt mit der PE-LD Referenz) wiesen eine starke Schaumbildung auf. Simulanzien, welche in Kontakt mit den Laponite-Nanokompositen mit 2 %-Laponite im Polymer waren, zeigten hingegen ein geringeres Potential Schaum zu bilden. Simulanzien, in denen zuvor die 4 %- und 6 %-Laponite-Nanokomposite gelagert wurden, zeigten keinerlei Schaumbildung.



**Abbildung 86: Aufnahme der Migrationsproben nachdem diese zuvor geschüttelt wurden: Proben der 6 %-, 4 %-, 2 %-Laponite-Nanokomposite, sowie die PE-LD Referenzprobe und der Referenz-Tensidlösung (v. l. n. r.) nach Lagerung für 10 d bei 60 °C.**

Wie bereits erwähnt, wurde angenommen, dass das Vorhandensein extrahierter Oligomere oder migrierter Laponite-Partikel zu deutlichen Signalintensitäten geführt hätte, welche oberhalb der des Blindwerts der Tensidlösung gelegen wären. Zur weiteren Validierung und zum Ausschluss von Matrixeffekten durch Verluste des Tensids in der Simulanzlösung, wurde eine 6 %-Laponite Migrationsprobe, welche keinen Tensidgehalt mehr erkennen ließ, aufgestockt. 10  $\mu\text{l}$  einer 250  $\text{mg l}^{-1}$  Laponite Dispersion wurden mit der entsprechenden Migrationsprobe zur Eichmarke eines 5 ml Messkolbens aufgefüllt. Dies ergab eine Dispersion mit einem Laponite-Gehalt von 500  $\mu\text{g l}^{-1}$  (Nachweisgrenze der Methode), mittels derer überprüft werden sollte, ob die Laponite-Partikel trotz fehlender Tensidmatrix in der Migrationsprobe ein Signal im AF4-Fraktogramm erzeugten. Der Vergleich beider Fraktogramme (Abbildung 87) machte deutlich, dass trotz der in Summe geringeren Tensidkonzentration in der Migrationsprobe Laponitepartikel ein deutliches Signal erzeugt hätten, welches oberhalb des Signals des Blindwerts gewesen wäre.



**Abbildung 87:** Fraktogramme einer 6 % Laponite Migrationsprobe (rot) mit derselben Migrationsprobe welche zusätzlich auf  $500 \mu\text{g l}^{-1}$  Laponite aufgestockt wurde und des Blindwerts der Tensidlösung.

#### 5.4.8 Betrachtung der Ergebnisse aus den Laponite-Migrationsversuchen

Laponite zählt aufgrund seines Aufbaus aus Plättchen, welche nur einen Nanometer dick sind und Durchmesser von nur wenigen Nanometern aufweisen, zu den kleinsten Schichtsilikaten (bzgl. aller drei Dimensionen) und Nanomaterialien (bzgl. einer Dimension). Die hohe Effektivität von Schichtsilikaten als Polymeradditiv beruht dabei auf dem Prinzip, die Stapelstruktur aufzulösen und eine homogene Verteilung einzelner Plättchen im Polymer zu erwirken. Das Vorhandensein einzelner Plättchen mit äußerst geringen externen Dimensionen lässt zudem im Vergleich zu anderen Nanomaterialstrukturen eine höhere Mobilität des Nanomaterials in einer Polymermatrix vermuten, weshalb auch in dieser Arbeit eine Exfolierung oder zumindest eine Interkalierung der Laponite-Stapel angestrebt wurde. Die starken Wechselwirkungen zwischen einzelnen Plättchen in der Stapelstruktur bereiten jedoch enorme Schwierigkeiten, eine vollständige Exfolierung der Schichtsilikate zu bewirken. Eine Reihe wissenschaftlicher Studien beschäftigte sich daher im Grundsatz mit der Einarbeitung der Schichtsilikate in eine Polymermatrix, insbesondere mit Faktoren, welche die Kompatibilität des Nanomaterials mit der Polymermatrix erhöhen [14, 15, 18, 19, 59, 168, 169]. Gerade die Einarbeitung der Schichtsilikate in unpolare Polymere wie Polyolefine gilt selbst bei organisch modifizierten Schichtsilikaten als schwierig. Schichtsilikate, bei denen die natürlich vorkommenden Kationen (vor allem  $\text{Na}^+$ ) durch quartäre Ammoniumverbindungen ausgetauscht wurden, bewirken zwar eine homogenere Verteilung in Polyolefinen, eine Interkalierung oder gar eine Exfolierung der gestapelten Schichtsilikate war in vielen Studien dennoch nicht möglich. Erst eine Beimischung polarerer Substanzen in die Polymermatrix zeigte ein Aufquellen des Nanomaterials und somit ein Auflockern der Stapelstruktur nach der Extrusion des Nanokomposits. In dieser Arbeit zeigten die TEM-Aufnahmen, dass die Beimischung von EVA (polar) zu PE-LD (unpolar) sowie die Auswirkung starker Scherkräfte durch sechsmaliges Compoundieren des Masterbatches eine Interkalierung der modifizierten Laponite-Stapel in der PE-LD Matrix bewirkte (Abbildung 78). Eine vollständige Exfolierung des Nanomaterials konnte in dieser Arbeit nicht bewirkt werden. Jedoch zeigte sich anhand der Interkalierung des Nanomaterials, dass einzelne Plättchen einzelner Aggregate aus der kompakten Stapelstruktur bereits herausgelöst waren. Dies ließ im Vergleich zu anderen Nanokompositen eine höhere Mobilität des Nanomaterials in dem verwendeten Lebensmittel-

verpackungs-Polymer erwarten. Im Folgenden musste der auf die Migration von Laponite ausgerichtete Nachweis an die im PE-LD vorhandenen Partikelgrößen angepasst werden. Sowohl die optische Bewertung der Dispersionen, welche leicht opak und nicht mehr milchig trüb erschienen, als auch die Auswertung der Signale aus dem Lichtstreuexperiment zeigten, dass sowohl die Partikelgrößen einzelner Plättchen als auch interkalierter Laponite-Stapel in der Dispersion vorhanden waren und durch die AF4/MALS Methode abgedeckt wurden. Die Dispersionsversuche zeigten, dass das verwendete Tensidgemisch dazu in der Lage war, die durch den hohen Energieeintrag der Ultraschall-Sonotrode erzeugten Laponite-Plättchen und Aggregate stabil zu dispergieren. Aufgrund der starken Wechselwirkung zwischen dem Nanomaterial und der Tensidlösung konnte somit auch über die Dauer des Prüfzeitraums eine hohe Stabilität bewirkt werden, da das Nanomaterial nach der Lagerung noch immer vollständig in Form von Partikeln nachweisbar war. Die recht aufwendige Vorarbeit für diese Migrationsstudie lässt sich somit wie folgt zusammenfassen:

- Laponite konnte in Form einzelner Plättchen/interkalierter Laponite-Stapel im Polymer dispergiert werden.
- Es wurde ein auf Laponite abgestimmtes Simulanz gefunden, welches im Falle einer Migration Laponite-Partikel, auch einzelne Plättchen, stabil dispergieren könnte. Die Laponite-Partikel wiesen im Simulanz dieselben Partikelgrößen auf wie im Polymer.
- Die AF4/MALS Methode war dazu geeignet im Falle einer Migration Laponite-Partikel nachzuweisen, wobei die im Polymer vorhandenen Partikelgrößen durch die Methode abgedeckt wurden.

Statt einer Migration der Laponite-Partikel in die Tensidlösung konnte bei den Migrationsversuchen gezeigt werden, dass es zu einem Verlust des Tensids bei Kontakt zu den Laponite-Nanokompositen kommt. Da zumindest an den Schnittkanten der Folienausschnitte ein direkter Kontakt des Nanomaterials mit den gelösten Tensiden möglich war, gilt eine Adsorption des Tensids an im Polymer eingebetteten Laponite-Partikeln als wahrscheinlich. Dieser Effekt bestätigte sich mit der abnehmenden Signalintensität bei zunehmender Konzentration des Laponites im Polymer. Da zudem Aufstockexperimente zeigten, dass bereits geringe Mengen des Nanomaterials in der Migrationsprobe zu einem deutlichen Signal führten, kann das Vorhandensein von Laponite-Partikeln in den Migrationsproben unter Berücksichtigung der Nachweisgrenze ausgeschlossen werden. Bei diesem Test wurde zudem der Effekt nur noch sehr geringer Tensidkonzentrationen auf die Nachweisbarkeit von Laponite berücksichtigt, da die nur sehr geringe Menge (10 µl) der zudotierten Stammdispersion auch zu einer starken Verdünnung des in der Stammdispersion enthaltenen Tensids führte. Der Einfluss des somit nur noch in geringen Mengen vorhandenen Tensids auf das erzeugte Signal der aufgestockten Probe ist daher zu vernachlässigen. Es lässt sich daher aussagen, dass es zu keiner Migration kommt, obwohl die Tensidlösung eine Aufnahme und Verteilung des Laponite-Materials prinzipiell ermöglicht. Selbst an der Oberfläche befindliche Laponite-Partikel binden eher die im Simulanz enthaltenen Tenside, als dass es zu einer Ablösung dieser Partikel aus den Schnittkanten kommt.

Ein Vergleich mit anderen Studien zur Migration von Schichtsilikaten ist aufgrund der nur geringen Anzahl der Studien und der Art und Weise, wie diese Studien durchgeführt wurden, nur schwer möglich. Bisher sind nur die Studien von Schmidt et al. [96, 97] sowie von Farhoodi et al. [98] zu diesem Thema bekannt. Die Ergebnisse dieser Studien wurden bereits im Überblick zum Stand des Wissens in Kapitel 3.2.2 dieser Arbeit dargestellt, weshalb an dieser Stelle lediglich eine kritische Betrachtung dieser Ergebnisse erfolgen soll:

In der früheren Studie von Schmidt et al. (2009) konnten die Autoren mittels einer Kombination aus AF4/MALS/ICP-MS keine Migration organisch modifizierter Schichtsilikate auf 95 % v/v Ethanol feststellen. Obwohl mittels AF4/MALS Signale im AF4-Fraktogramm detektiert wurden, konnten mittels ICP-MS in den jeweiligen Migraten keine Elemente nachgewiesen werden, welche den verwendeten Schichtsilikaten hätten zugeordnet werden können. Die Autoren folgerten daher, dass die in den Fraktogrammen erzeugten Signale durch eine Extraktion oligomerer Bestandteile aus der PLA-Matrix verursacht wurden. In der späteren Studie von Schmidt et al. (2011) wurde wiederum ein Nanokomposit eines organisch modifizierten Schichtsilikats in einer PLA-Matrix untersucht. Nachdem Ausschnitte in 95 % v/v Ethanol gelagert wurden, erfolgte ein saurer Aufschluss der Proben und eine elementspezifische Untersuchung mittels ICP-MS. Anhand der gefundenen Menge an Magnesium folgerten die Autoren, dass das verwendete Schichtsilikat aus der PLA-Matrix auf das Lebensmittelsimulanz migriert sein musste, da Magnesium das am häufigsten vorkommende Element in dem verwendeten Schichtsilikat war. Eine Untersuchung, ob das gemessene Magnesium in gelöster Form oder in Form eines partikulären Schichtsilikats migrierte, wurde von den Autoren in dieser Studie mittels TEM-Aufnahmen durchgeführt. Hierbei stellten die Autoren fest, dass nach Eindampfen der Probe auf einem Kupfer-Probenträger Partikel ersichtlich wurden, welche mit einem pulverförmigen Referenz-Schichtsilikat Ähnlichkeit aufwiesen. Hierbei kann bereits argumentiert werden, dass der zur Untersuchung mit TEM notwendige Probenaufbereitungsschritt des Eindampfens zur Neubildung von partikulären Strukturen durch zuvor gelöste ionische Bestandteile führen könnte. Von einem direkten Nachweis der Migration partikulärer Schichtsilikate kann hierbei somit nicht gesprochen werden. Des Weiteren wurde von den Autoren das Molekulargewicht des verwendeten Polymers vor und nach der Migration untersucht, wobei eine deutliche Reduktion des Molekulargewichts festgestellt wurde. Dies wurde vor allem auf eine hydrolytische Wirkung der Schichtsilikate auf das umgebende PLA zurückgeführt. Die Autoren folgerten zwar, dass eine Anwendung des verwendeten modifizierten Schichtsilikats als Füllstoff in einer PLA-Matrix überdacht werden müsse, einen Zusammenhang zwischen der Zerstörung der Matrix und ein hierdurch erst ermöglichtes Freisetzen des Nanomaterials wurde jedoch nicht explizit hervorgehoben. Eine Zerstörung der Polymermatrix durch Hydrolyse durch das eingearbeitete Nanomaterial entbehrt jedoch jeglicher Anwendbarkeit des Nanokomposits in der Praxis und lässt zudem keine vernünftige Aussage über die auf der Fickschen Diffusion beruhenden Migration des Nanomaterials aus der entsprechenden Polymermatrix zu.

In der von Farhoodi et al. durchgeführten Studie kamen die Autoren ebenfalls zu dem Schluss, dass es den untersuchten Schichtsilikaten möglich war aus einer Polymermatrix bei Kontakt mit einem Lebensmittelsimulanz auf dieses überzugehen. In dieser Studie schnitten die Autoren einen Organoclay/PET-Nanokomposit in eine Vielzahl kleinerer Probenstücke und tauchten diese über einen Zeitraum von bis zu 90 d in 3 % v/v Essigsäure. Aus einem Anstieg der mittels ICP-OES bestimmten Konzentration an Magnesium, Aluminium und Silicium in der Säure folgerten die Autoren auf die Migration ganzer Schichtsilikat-Partikel. Bei dieser Studie wurde jedoch durch das Zerschneiden der Testprobe in viele Einzelstücke eine Vielzahl an Schnittkanten erzeugt, an denen das Vorkommen von nicht vollständig mit Polymer umhüllten Nanopartikeln wahrscheinlich ist. Das von seiner Grundstruktur anorganische Nanomaterial wurde dann bei 45 °C in direkten Kontakt mit dem Lebensmittelsimulanz gebracht, welches ein relativ hohes Potential hat, anorganische Substanzen zu lösen. Aufgrund des direkten Kontakts der an der Oberfläche der Schnittkante frei vorliegenden anorganischen Nanopartikel mit der Säure, ist anzunehmen, dass die von den Autoren gemessenen Nanopartikel-spezifischen Elemente in gelöster Form vorgelegen sein mussten und nicht in Form ganzer Nanopartikel. Eine genauere Untersuchung zur Bestimmung der Spezies, bzw. zur

Untersuchung der Stabilität des Nanomaterials in 3 % v/v Essigsäure, wurde von den Autoren jedoch nicht durchgeführt.

Bei keiner der hier aufgeführten Studien konnte ein eindeutiger Nachweis der Migration von Schichtsilikaten erbracht werden. Zwar wurde bei zwei der drei hier vorgestellten Studien auf eine Migration gefolgert, jedoch beriefen sich die Autoren hierbei auf Daten, welche keine zweifelsfreie Interpretation zuließen. Sowohl die Probenaufbereitung für das Migrationsexperiment als auch für die anschließenden analytischen Untersuchungen erlaubten keinen direkten Nachweis des Nanomaterials und müssen hinsichtlich einer möglichen Artefaktbildung kritisch betrachtet werden. Weder die Zerstörung der Polymermatrix durch Hydrolyse noch die vorhandenen Nanokomposit-Schnittkanten, fanden in diesen Studien bei der Interpretation der Ergebnisse Berücksichtigung. Bedenkt man, dass ein Quellen des Polymers eine Abgabe des Nanomaterials an der Grenzfläche zwischen Polymer und Lebensmittel forcieren könnte, so gelten Prüfbedingungen, bei denen eine Auflösung des Polymers (Hydrolyse) bewirkt wurde, als gänzlich ungeeignet. Ein positiver Befund an Schichtsilikaten in den Migrationsproben würde sich eher auf ein Herauslösen aus der Polymermatrix zurückführen lassen, als auf eine Migration beruhend auf der Fickschen Diffusion. Auch das Vorhandensein von Schnittkanten sollte bei der Interpretation der Befunde kritisch berücksichtigt werden. Proben, welche in mehrere kleine Teilstücke zerschnitten wurden, weisen an den Schnittkanten Flächen auf, an welchen das Nanomaterial möglicherweise nicht mehr vollständig von Polymer umhüllt ist. Hierdurch findet ein direkter Kontakt des Nanomaterials mit dem eingesetzten Lebensmittelsimulanz statt. Die Tatsache, dass bei dieser Art der Versuchsdurchführung lediglich in Simulanzien mit einem höheren Oxidationspotential Spuren des anorganischen Nanomaterials gefunden wurden (z.B. Magnesium in 3 % v/v Essigsäure), lassen hierbei eher auf eine Abgabe von Bestandteilen des Nanomaterials durch starke Wechselwirkungen mit dem Simulanz schließen, als auf die Migration ganzer Partikel. Die Verwendung rein element-spezifischer und nicht partikel-spezifischer Analysetechniken erlaubt zudem keinen Rückschluss auf die Migration des Nanomaterials in seiner partikulären Form, wenn lediglich Partikelbestandteile in gelöster Form detektiert wurden.

Nur bei einer einzigen Studie wurde ein Ansatz gewählt, welcher keine Beeinflussung der Polymermatrix durch das durchgeführte Migrationsexperiment verursachte. Die in dieser Studie gewählte Kombination aus sowohl element-spezifischer als auch partikel-spezifischer Analysemethoden stellt zusätzlich einen deutlich geeigneteren Ansatz zur Detektion partikulärer Schichtsilikate in den Simulanzien dar. In dieser Studie zeigte sich jedoch, dass kein Übergang des Nanomaterials stattfand.

Abschließend lässt sich folgern, dass unter Verwendung realistischer und praxisrelevanter Prüfbedingungen keine Migration von Schichtsilikaten zu erwarten ist, wenn diese vollständig in eine Polymermatrix eingearbeitet und von Polymer umhüllt sind.

## 5.5 Nanosilber

### 5.5.1 Untersuchung der Nanokomposite mittels TEM

Mittels TEM wurden Folienausschnitte der Nanokomposite mit der niedrigsten ( $50 \text{ mg kg}^{-1}$ ) und höchsten ( $250 \text{ mg kg}^{-1}$ ) Konzentration an Silber im Polymer untersucht (Abbildung 88). Diese Aufnahmen zeigten die für Silber-Nanopartikel typische Struktur, welche sich deutlich von den anderen in dieser Arbeit untersuchten Nanomaterialien unterschied. Silber-Nanopartikel lagen in Form von isolierten primärpartikel-ähnlichen Strukturen homogen verteilt im Polymer vor. Das Nanomaterial zeigte dabei überwiegend elliptisch geformte und zum Teil auch kugelförmige

Strukturen mit unterschiedlichen Größen. Die kleinsten gefundenen Partikel waren Kugeln mit Durchmessern von etwa 10 nm. Die größten Partikel hingegen zeigten eine eher elliptische Form mit Durchmessern von etwa 100 nm bis 270 nm. Zudem wurden Silber-Nanopartikel in Form von Stäbchen gefunden, welche Dimensionen von etwa 25 nm x 200 nm aufwiesen. Am häufigsten wurden auf den TEM-Aufnahmen in beiden Polymeren kugelförmige Partikel von etwa 50 nm im Durchmesser ausgemacht.

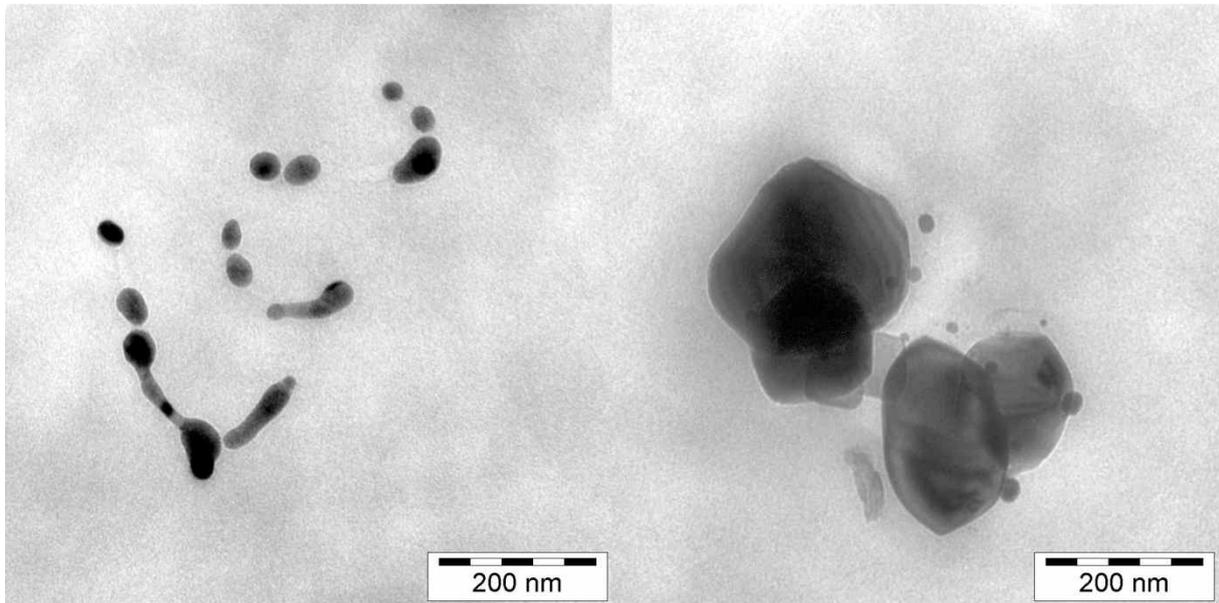


Abbildung 88: TEM-Aufnahmen eines Silber-Nanokomposits (links:  $50 \text{ mg kg}^{-1}$  Silber, rechts:  $250 \text{ mg kg}^{-1}$  Silber) im 200 nm Maßstab.

### 5.5.2 Quantifizierung von Silber mittels ICP-MS

Mittels der in Kapitel 4.4.2.3 beschriebenen Standardreihe wurde eine externe Kalibrierung des ICP-MS zur Quantifizierung von Silber in den Nanokompositen sowie in Migrationsproben durchgeführt. Die Korrelation des Detektorsignals (CPS) gegen die nominelle Silber-Konzentration des jeweiligen Standards ist für den unteren Konzentrationsbereich (0 bis  $50 \mu\text{g l}^{-1}$ ) in Abbildung 89 dargestellt, für den gesamten Konzentrationsbereich (0 bis  $200 \mu\text{g l}^{-1}$ ) in Abbildung 90. Über den gesamten Konzentrationsbereich hinweg, auch im Bereich niedriger Konzentrationen, ergab sich eine lineare Abhängigkeit des Detektorsignals von der Silber-Konzentration der Standards. Der Standard mit einer Silber-Konzentration von  $1 \mu\text{g l}^{-1}$  ergab noch ein ausreichendes Signal, welches sich sowohl vom Blindwert der Säure als auch von der nächsthöheren Konzentration unterscheiden ließ. Die Gerätnachweisgrenze des ICP-MS wurde daher für Silber auf  $1 \mu\text{g l}^{-1}$  festgelegt.

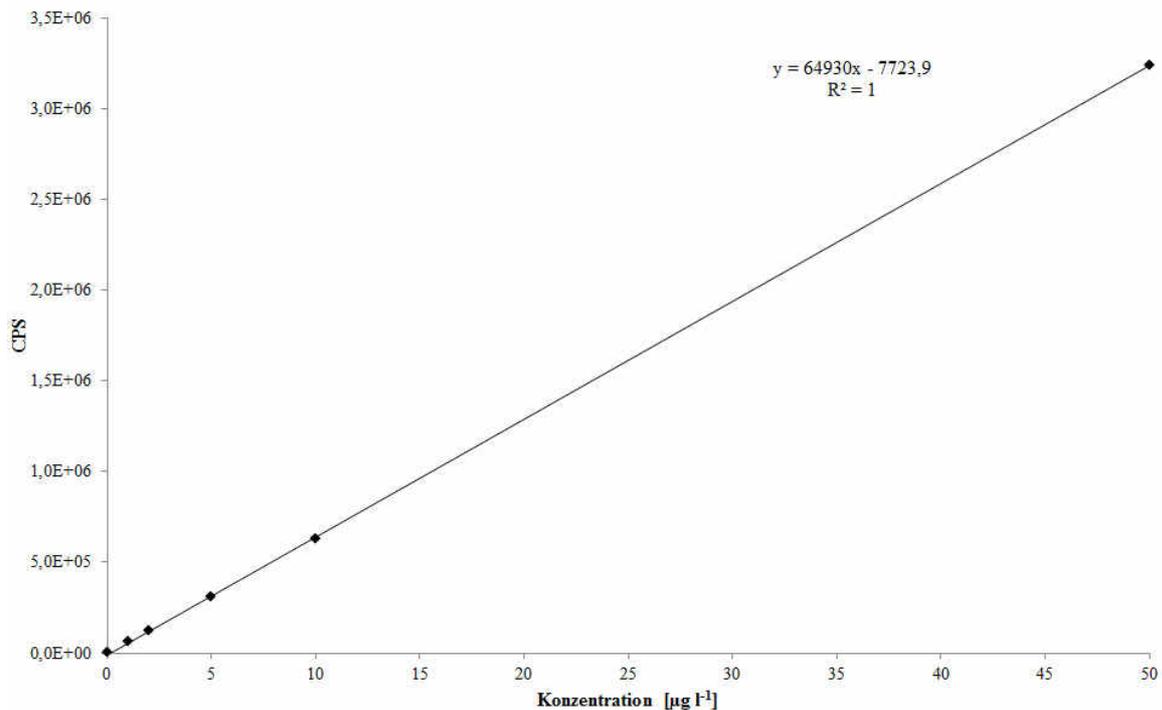


Abbildung 89: Kalibrierung des ICP-MS mittels Silber Standards im Bereich von 0 bis 50 µg l<sup>-1</sup>.

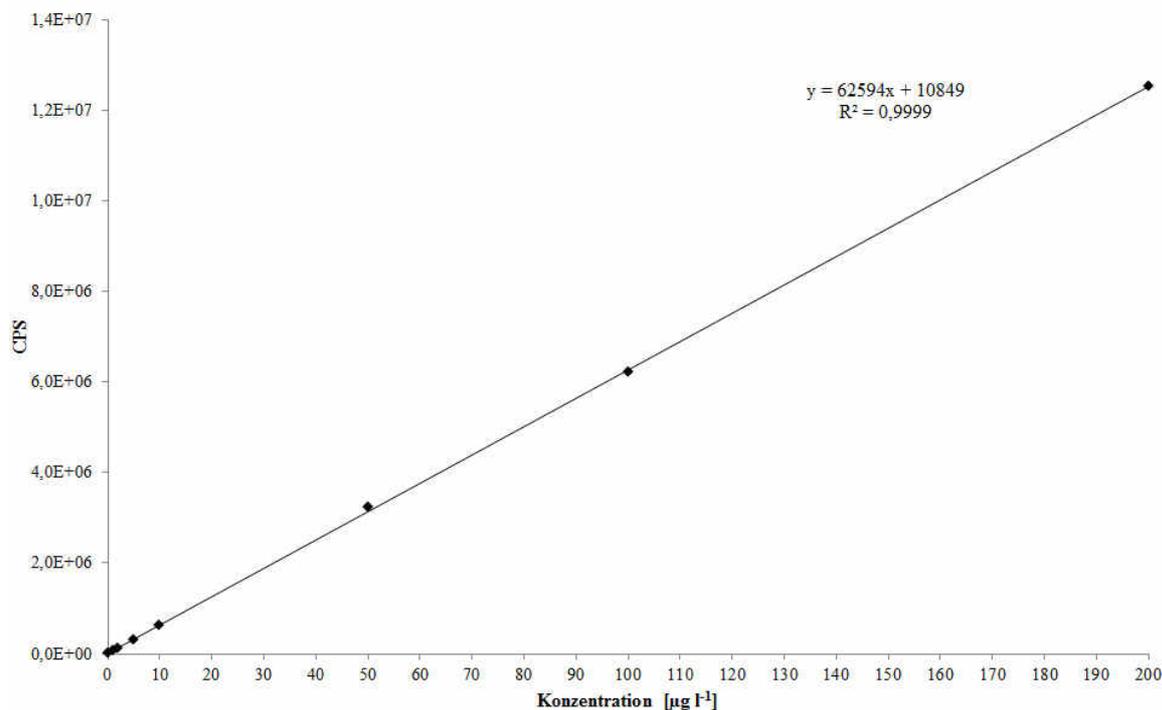


Abbildung 90: Kalibrierung des ICP-MS mittels Silber Standards im Bereich von 0 bis 200 µg l<sup>-1</sup>.

### 5.5.3 Bestimmung der Migration von Silber aus den Silber-Nanokompositen

Zur Bestimmung der Migration von Silber aus den Nanokompositen wurden Folienausschnitte von 1 dm<sup>2</sup> in Lebensmittelsimulanzien getaucht. Als Simulanzien wurden 95 % v/v Ethanol, Isooktan, 10 % v/v Ethanol und 3 % v/v Essigsäure verwendet. Die Folienausschnitte wurden in 100 ml Schottflaschen gegeben und mit 100 ml des jeweiligen Simulanz befüllt. Proben mit Isooktan wurden

für 24 h bei 40 °C gelagert, alle anderen Proben für 10 d bei 60 °C. Am Ende der Lagerung wurden die Folien aus den Probengefäßen entfernt und die Simulanzen schrittweise in 15 ml Zentrifugenvials, welche als Autosamplervials für die ICP-MS Messungen dienten, überführt. Hierbei wurde das Simulanz vollständig bis zur Trockene unter Verwendung eines Stickstoffstromes eingedampft. Der Rückstand wurde direkt in den Vials mit 15 ml einer 3 % v/v HNO<sub>3</sub> wieder aufgenommen.

Um etwaige Verluste durch die Probenaufbereitung zu erfassen wurden gleichartig behandelte Wiederfindungsproben mituntersucht. Hierzu wurden in 100 ml Messkolben 0,1 ml der 100 mg l<sup>-1</sup> kolloidalen Silberdispersion (PL-Ag-S10-1mg, siehe Kapitel 4.1.5.1) vorgelegt und mit dem jeweiligen Simulanz bis zur Messmarke aufgefüllt. Hierdurch ergab sich eine nominelle Konzentration von 100 µg l<sup>-1</sup> pro Standard. Die Wiederfindungsproben wurden in 100 ml Schottflaschen überführt und unter denselben Bedingungen gelagert, eingedampft und mit einer 3 % v/v HNO<sub>3</sub> wieder aufgenommen wie auch die Migrationsproben. Als Referenz diente ein anhand der kolloidalen Silberdispersion frisch angesetzter 100 µg l<sup>-1</sup> Standard in 3 % v/v HNO<sub>3</sub>. Sowohl die Migrationsproben als auch die Wiederfindungsproben wurden im Dreifachansatz angefertigt.

Die Wiederfindungsversuche zeigten, dass alle Lebensmittelsimulanzen zum empfindlichen Nachweis von Silber mittels oben beschriebener Prozedur geeignet waren. Die gemessenen Konzentrationen und sich hieraus ergebenden Wiederfindungsraten sind in Tabelle 35 dargestellt.

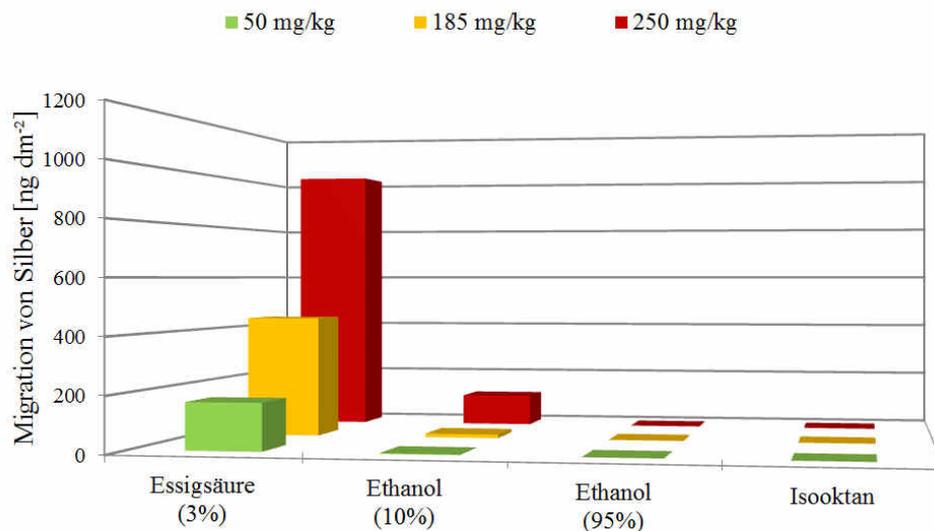
**Tabelle 35: Bestimmung der Wiederfindungsraten (Mittelwerte) bzgl. Silber mittels ICP-MS (bezogen auf 100 ml Simulanz)**

Probe	Ag-Konzentration [µg l <sup>-1</sup> ]	Wiederfindung bzgl. der gemessenen Konzentration in der Referenz [%]
<b>Referenz in 3 % v/v HNO<sub>3</sub></b>	<b>104,2</b>	<b>(100)</b>
95 % v/v Ethanol	89,5	85,9
Isooktan	88,3	84,7
10 % v/v Ethanol	95,6	91,7
3 % v/v Essigsäure	98,4	94,4

Anhand der Wiederfindungsraten, dem Volumen der 3 % HNO<sub>3</sub> und der Gerätenachweisgrenze wurden hieraus Methodennachweisgrenzen für die jeweiligen Lebensmittelsimulanzen in Form von Masse Silber pro Fläche der PE-LD Folie (bzw. pro kg Lebensmittel) ermittelt. Als Methodennachweisgrenzen wurden demnach 11,6 ng dm<sup>-2</sup> (0,7 µg kg<sup>-1</sup>) für 95 % v/v Ethanol, 11,8 ng dm<sup>-2</sup> (0,71 µg kg<sup>-1</sup>) in Isooktan, 10,9 ng dm<sup>-2</sup> (0,65 µg kg<sup>-1</sup>) in 10 % v/v Ethanol und 10,6 ng dm<sup>-2</sup> (0,64 µg kg<sup>-1</sup>) in 3 % v/v Essigsäure erzielt. Zur Herstellung der Wiederfindungsproben wurde eine kolloidale Silberdispersion (10 nm Partikel) verwendet, um den Einfluss der Lagerung auf die Stabilität des Silbers in Form von Partikel zu erfassen.

Die Untersuchung der Migrationsproben zeigte, dass in den wässrigen Lebensmittelsimulanzen 10 % v/v Ethanol und 3 % v/v Essigsäure eine Migration von Silber eindeutig nachweisbar war. Bei

der Migration von Silber konnte dabei eine Abhängigkeit von der Konzentration des Silbers in den Nanokompositen festgestellt werden (Abbildung 91). Nachdem bei den Polymer-Blindwerten (PE-LD Folien ohne Silber) kein Silber in diesen Simulanzen nachweisbar war, wurde die in den wässrigen Simulanzen gemessenen Silberkonzentration als aus dem Nanokomposit migriertes Silber interpretiert. Nach Lagerung der Proben für 10 d bei 60 °C lagen die insgesamt migrierten Mengen an Silber in 10 % v/v Ethanol bei 2,4 ng dm<sup>-2</sup> (50 mg kg<sup>-1</sup> Silber-Nanokomposit), 13,2 ng dm<sup>-2</sup> (185 mg kg<sup>-1</sup> Silber-Nanokomposit) und 115,1 ng dm<sup>-2</sup> (250 mg kg<sup>-1</sup> Silber-Nanokomposit). In 3 % v/v Essigsäure wurde am Ende der Lagerung ein Übergang des Silbers von 168,5 ng dm<sup>-2</sup> (50 mg kg<sup>-1</sup> Silber-Nanokomposit), 444,8 ng dm<sup>-2</sup> (185 mg kg<sup>-1</sup> Silber-Nanokomposit) und 1010,9 ng dm<sup>-2</sup> (250 mg kg<sup>-1</sup> Silber-Nanokomposit) festgestellt. Durch ICP-MS Messungen der Migrationsproben, welche in Lebensmittelsimulanzen für den fettenden Lebensmittelkontakt angesetzt wurden (95 % v/v Ethanol und Isooktan), konnten am Ende der Lagerung bei keinem der Nanokomposite (50, 185 und 250 mg kg<sup>-1</sup> Silber im Polymer) Silber in den Simulanzen nachgewiesen werden. Hieraus konnte gefolgert werden, dass keine Migration von Silber auf 95 % v/v Ethanol nach 10 d bei 60 °C und auf Isooktan nach 24 h bei 40 °C stattgefunden hatte.



**Abbildung 91: Ergebnisse der Migrationsmessungen. Migrationsproben der Nanokomposite mit 50, 185 und 250 mg kg<sup>-1</sup> Silber, welche 10 d/60 °C in 3 % v/v Essigsäure, 10 % Ethanol, 95 % v/v Ethanol gelagert wurden, sowie 24 h/40 °C in Isooktan.**

#### 5.5.4 Überprüfung der Stabilität von Nanosilber in wässrigen Lebensmittelsimulanzen

Eine Migration von Silber konnte wie zuvor beschrieben nur in wässrigen Lebensmittelsimulanzen nachgewiesen werden. Eine Unterscheidung der Silberspezies ist mittels ICP-MS jedoch nicht möglich. Das heißt, die gemessenen Migrationswerte stellen lediglich die gesamte Menge des migrierten Silbers dar, bei welcher nicht zwischen gelöstem, ionischem Silber und/oder Silber in partikulärer Form („Nano-Silber“) unterschieden werden konnte. Um eine Aussage über die Spezies des in den wässrigen Simulanzen, insbesondere in der 3 % v/v Essigsäure, detektierten Silbers treffen zu können, wurden daher Stabilitätsprüfungen mittels AF4/MALS in 3 % v/v Essigsäure durchgeführt. Zur Charakterisierung von Nanosilber wurde der AF4-Kanal mit einem 350 µm „Spacer“ und einer 10 kDa regenerierte Cellulose Membran ausgestattet und auf 40 °C temperiert. Als Fließmittel wurde Reinstwasser mit 100 mg l<sup>-1</sup> NaN<sub>3</sub> verwendet. Proben von 1 ml Volumen (1000 µl Probenschleife) wurden mit einem Injektionsvolumenstrom von 0,2 ml min<sup>-1</sup> in die AF4 injiziert und mit einer

Fokussierströmung von  $2,15 \text{ ml min}^{-1}$  fokussiert. Während der Injektionsdauer von 10 min und einer zusätzlichen Transitionsdauer von 0,2 min wurde der Querfluss konstant auf  $1,85 \text{ ml min}^{-1}$  gehalten. Nach der Transition wurde der Querfluss mittels eines Leistungsgradienten (Wert: 0,2) innerhalb von 20 min auf  $0,08 \text{ ml min}^{-1}$  reduziert und im Anschluss für weitere 10 min auf diesem Wert konstant gehalten. Nach dieser Zeit erfolgte eine vollständige Abschaltung des Querflusses und ein Spülen des Kanals für weitere 15 min ohne jegliches Trennfeld. Als Detektorfluss wurde ein Volumenstrom von  $0,5 \text{ ml min}^{-1}$  gewählt, welcher während des gesamten AF4-Laufs konstant gehalten wurde. Als Detektor wurde der 21-Winkel Detektor von Postnova Analytics bei 30 % Ausgangsleistung betrieben. Ähnlich wie bei den Kalibrierversuchen anderer Nanomaterialien in dieser Arbeit wurden die gestreuten Lichtintensitäten bei verschiedenen Winkeln aufgezeichnet und zur Bestimmung der Gesamtintensität ausgewertet. Die hieraus resultierende Gesamt-Peakfläche wurde genutzt um eine eventuelle Abnahme der Partikelstabilität anhand der Abnahme der Signalintensitäten zu erfassen.

Zur Überprüfung der Stabilität von kolloidalem Silber in 3 % v/v Essigsäure wurde die  $100 \text{ mg l}^{-1}$  kolloidale Silber-Dispersion zunächst mit Reinstwasser auf einen Silbergehalt von  $1,0 \text{ mg l}^{-1}$  verdünnt. Hiervon wurde wiederum 1 ml in einen 20 ml Messkolben (aus PP) gegeben und mit 3 % v/v Essigsäure bis zur Eichmarke aufgefüllt. Die nominelle Konzentration des kolloidalen Silbers in 3 % v/v Essigsäure entsprach demnach  $50 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$ . 1 ml dieser Dispersion wurde sofort nach der Herstellung in die AF4 injiziert. Die restliche Dispersion wurde bei Raumtemperatur gelagert. Wiederholungsmessungen zur Überprüfung der Signalintensität wurden stündlich durchgeführt (Dauer eines AF4-Laufs: 60 min).

Das AF4-Fraktogramm der frisch hergestellten  $50 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$  Nanosilber in 3 % v/v Essigsäure Dispersion zeigte ein deutliches Signal für die Nanosilber-Partikel (Abbildung 92). Die Silber-Partikel eluierten dabei von  $t = 13 \text{ min} - 40 \text{ min}$ . Unter der Annahme kompakter sphärischer Partikel wurde anhand des aus einem Zimm-Plot gewonnenen Schwerpunktsradius ( $r_g$ ) Kugeldurchmesser von 10,8 nm errechnet. Über den Zeitraum von 5 h wurde dieselbe Dispersion immer wieder in die AF4 injiziert. Bereits nach Lagerung der Dispersion bei Raumtemperatur für 1 h zeigte sich ein signifikanter Verlust an Signalintensität. Der Verlust an Signalstärke setzte sich mit jeder weiteren Injektion in das System fort, bis schließlich nach 5 h Lagerung bei Raumtemperatur die Dispersion kein von dem 3 % v/v Essigsäure Blindwert unterscheidbares Signal mehr lieferte.

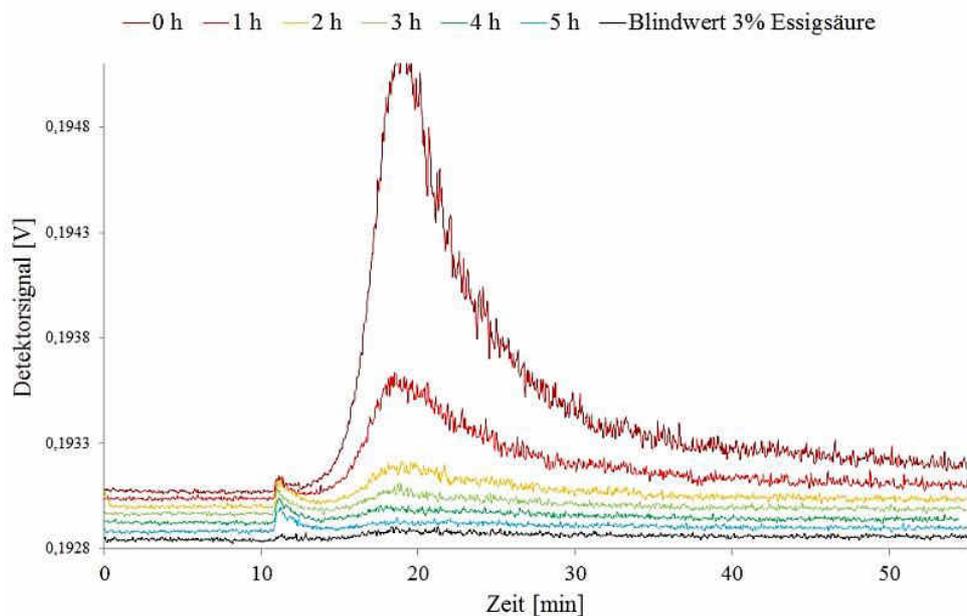


Abbildung 92: Signale des 92° MALS Detektors einer  $50 \mu\text{g l}^{-1}$  Nanosilber-Dispersion, welche in 3 % v/v Essigsäure angesetzt wurde und stündlich in die AF4 injiziert wurde.

Für eine bessere Korrelation der aufgezeichneten Signalintensität mit der injizierten Masse an Silber-Partikeln wurde die Gesamt-Peakfläche anhand der einzelnen Detektorwinkel einer jeden Injektion errechnet. Durch die logarithmische Auftragung der Gesamt-Peakfläche über die Dauer der Lagerung konnte der kinetische Prozess des Auflösens der Partikel dargestellt werden (Abbildung 93). Anhand der Steigung der Geraden konnte eine Halbwertszeit von 0,6 h für kolloidales Silber in 3 % v/v Essigsäure errechnet werden.

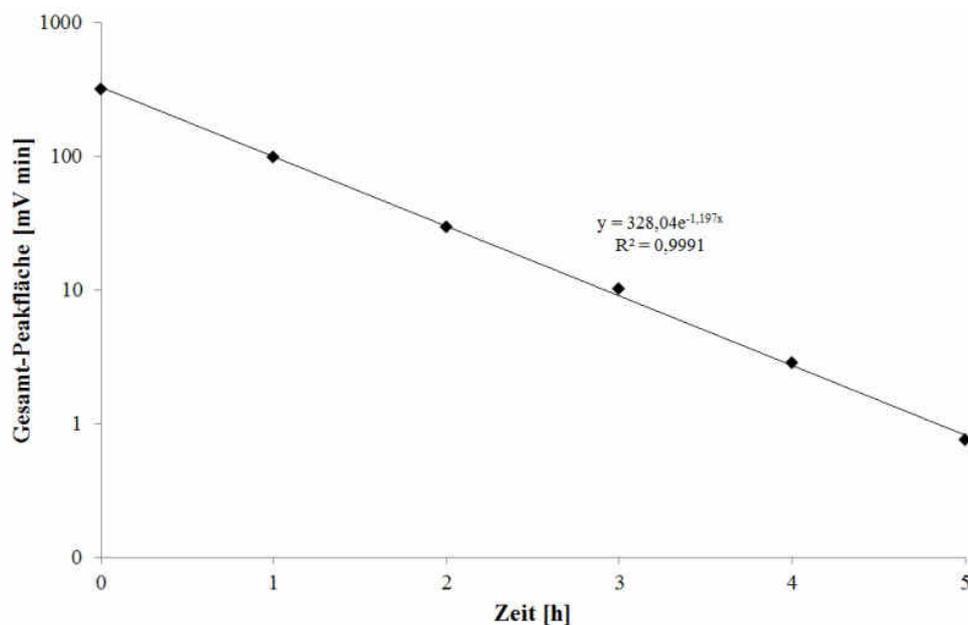


Abbildung 93: Abnahme der Gesamt-Peakfläche über die Zeit einer in 3 % v/v Essigsäure hergestellten kolloidalen Silber-Dispersion ( $10 \text{ nm}$  Partikel,  $50 \mu\text{g l}^{-1}$ )

### 5.5.5 Betrachtung der Ergebnisse aus den Nanosilber-Migrationsversuchen

Silber zählt aufgrund der empfindlichen Nachweismöglichkeit mittels ICP-MS als das am häufigsten untersuchte Nanomaterial hinsichtlich seines Migrationspotentials in Kunststoff-Lebensmittel-

verpackungen. Diese Analysetechnik allein erlaubt jedoch noch keine eindeutige Unterscheidung zwischen verschiedenen Silber-Spezies, weshalb die Frage, ob Silber in seiner partikulären Form migrieren kann bis heute in den Literaturstudien nicht zweifelsfrei beantwortet wurde. Eine klare analytische Unterscheidung zwischen migrierten Silber-Nanopartikeln und Silber in gelöster, ionischer Form ist essentiell. In dieser Arbeit konnte mit zusätzlichen Untersuchungen mittels partikelbezogener AF4/MALS-Analytik gezeigt werden, dass unter den Prüfbedingungen, bei denen ein Übergang des Silbers möglich war, Silber nicht in Form von Nanopartikeln vorliegen konnte. Aus den in dieser Arbeit gewonnenen Daten und dem Wissen über grundlegende Eigenschaften von Nanosilber ließ sich logisch folgern, dass das in dieser als auch in anderen Migrationsstudien nachgewiesene Silber nicht in Form von Partikeln sondern in Form von gelösten Silberionen vorgelegen haben musste. Es ist allgemein bekannt, dass die antimikrobielle Aktivität Nanosilber-haltiger Kunststoff-Verpackungen auf der Abgabe ionischen Silbers beruht. Dieser Prozess beruht dabei auf dem oxidativen Auflösen elementaren Silbers bei Kontakt mit geeigneten Medien [23]. In einer umfassenden Arbeit zeigte Kittler [170] den kinetischen Prozess des Auflöserns partikulären Silbers und demonstrierte ebenfalls, dass dieser Prozess stark von dem mit den Partikeln wechselwirkenden, umgebenden Medium abhängt. Kittler beobachtete dabei, dass die von der Oberfläche des Silberpartikels gelösten Silberionen schneller wegdiffundieren, als dass sie durch Auflösen des Partikel wieder neu gebildet werden. Hieraus lässt sich ableiten, dass das Auflösen der Nanosilber-Partikel der geschwindigkeitsbestimmende Parameter bei der Migration von Silber aus Silber-Nanokompositen ist.

Die hier präsentierten Ergebnisse zeigten, dass Silber nur dann aus einer PE-LD Matrix migrierte, wenn die Nanokomposite mit wässrigen Lebensmittelsimulanzien in Kontakt standen. Standen die Nanokomposite jedoch mit Simulanzien für den fettenden Lebensmittelkontakt (95 % v/v Ethanol und Isooktan) in Kontakt, fand kein Übergang von Silber statt, obwohl bei der Validierung der Methode sehr hohe Wiederfindungsraten und sehr niedrige Nachweisgrenzen bzgl. Silber auch in diesen Lebensmittelsimulanzien erzielt wurden. Silber konnte jedoch nur in solchen Simulanzien gefunden werden, in welchen Nanosilber-Partikel keine, oder nur eine sehr geringe, chemische Stabilität besitzen und ein Auflösen zu Silberionen wahrscheinlich ist. In 10 % Ethanol konnten Spuren von migriertem Silber nachgewiesen werden. Dies kann auf den hohen Wasseranteil dieses Simulanz zurückgeführt werden, welcher ein Ablösen ionischen Silbers von Nanosilber-Partikeln bedingt. In 3 % v/v Essigsäure ließen sich signifikant höhere Mengen migrierten Silbers feststellen, welche in etwa neunfach über denen in 10 % Ethanol lagen. Dies ist aus chemischer Sicht betrachtet plausibel, da 3 % v/v Essigsäure als dasjenige Simulanz bekannt ist, welches gegenüber anorganischen Substanzen am aggressivsten im Sinne von Lösen oder auch Oxidation ist. Im Gegensatz dazu zeigten die Ansätze mit den organischen Simulanzien 95 % v/v Ethanol und Isooktan keine Abgabe von Silber aus der Polymermatrix. Isooktan ist dafür bekannt, stabile Nanosilber Dispersionen zu produzieren [171] und Ethanol ist sogar dazu in der Lage, Silberionen zu reduzieren [172]. Von daher führt die Verwendung der beiden zuletzt genannten Simulanzien eher zu einer Stabilisierung von Nanosilber-Partikeln als zu einem Auflösen derer Strukturen. Die chemisch begründete Annahme, dass Nanosilberpartikel in 3 % v/v Essigsäure aufgrund oxidativer Auflösungs Vorgänge keine Stabilität besitzen, konnte hier mittels AF4/MALS-Messungen gezeigt werden. Eine grundlegende Voraussetzung für diese Analytik ist, dass die zu untersuchende Probe stabile Partikel enthält [117, 124], da gelöste Partikel (Ionen) aus dem AF4 Kanal ausgewaschen werden [115]. Allgemein eignet sich die AF4 zur Trennung von Partikelgrößen im Bereich von 1 nm bis zu mehreren Mikrometern, weshalb Silberionen mit einem effektiven Ionenradius von nur 0,115 nm [173] zu klein sind um mittels AF4/MALS getrennt und detektiert zu werden. Für die AF4/MALS Messungen wurde eine Nanosilber-Dispersion, welche Partikel mit 10 nm im Durchmesser enthielt, verwendet (PL-Ag-S10-

1mg, PlasmaChem GmbH, Deutschland). Diese Dispersion wurde aus zweierlei Gründen für Stabilitätsmessungen mittels AF4/MALS verwendet. Zum einen stand das Silber, welches bei der Herstellung der Nanokomposite im Silber-Masterbatch enthalten war nicht als Einzelsubstanz zur Verfügung, weshalb ein Ersatzmaterial verwendet werden musste. Zum anderen enthielt die Dispersion Silberpartikel mit definierten Partikelgrößen. Die hierbei verwendete Dispersion wurde unter dem Aspekt, den kleinsten in den Nanokompositen nachgewiesenen Partikelgrößen zu entsprechen, ausgewählt. Mit Durchmessern von gerade einmal 10 nm entsprachen die Silberpartikel der Dispersion den kleinsten mittels TEM nachgewiesenen Silberpartikeln im Polymer. Von allen im Polymer vorhandenen Partikeln können diese als diejenigen mit dem höchsten Migrationspotential betrachtet werden. AF4 Messungen dieser 10 nm Partikel Dispersionen in 3 % v/v Essigsäure erzeugten bereits nach 5 h Lagerung bei Raumtemperatur keinerlei Signale mehr im AF4-Fraktogramm. Auf der anderen Seite zeigten jedoch Stabilitätsmessungen mittels ICP-MS, dass der gesamte Silbergehalt in diesem Simulanz selbst über einen Zeitraum von 10 d bei 60 °C nahezu konstant blieb. Daraus folgt, dass sich das Nanosilber für die AF4 Messungen innerhalb kürzester Zeit auflöste. Unter Berücksichtigung der längeren Lagerung bei deutlich höheren Temperaturen bei den Migrationsuntersuchungen (10 d bei 60 °C gegen 5 h bei Raumtemperatur) kann davon ausgegangen werden, dass es zu einem vollständigen Auflösen auch größerer Nanosilber-Partikel in 3 % v/v Essigsäure kommen muss. Es ist daher offensichtlich, dass das detektierte Silber in 3 % v/v Essigsäure in seiner ionischen Form vorgelegen haben muss.

Das Auflösen von Nanosilber in Lebensmittelsimulanzien wurde auch in einer Arbeit von Jokar [174] beobachtet. Jokar stellte Nanosilber-Dispersionen in 3 %-v/v Essigsäure, Reinstwasser, 10 %-v/v Ethanol, 20 %-v/v Ethanol und 50 %-v/v Ethanol her. Mittels sp-ICP-MS wurde die Konzentration von Nanosilber-Partikeln in den Simulanzien nach Lagerung der Dispersionen für 10 Tage bei 40 °C ermittelt und mit der Konzentration an Partikeln einer frisch hergestellten Referenzdispersion verglichen. Bezüglich der Anfangskonzentration an Partikeln konnte Jokar in 50 %-v/v Ethanol nach der Lagerung noch etwa 71 % der Partikel widerfinden. In 20 %-v/v Ethanol wurden noch 8 %, in 10 %-v/v Ethanol und Reinstwasser nur noch 4 % der ursprünglich enthaltenen Partikel detektiert. In 3 %-v/v Essigsäure konnte Jokar kein Nanosilber mehr nachweisen, die Partikel waren vollständig aufgelöst. Jokar konnte somit eine Abhängigkeit der Widerfindung partikulären Silbers vom verwendeten Simulanz aufzeigen. Mit zunehmendem Oxidationspotential, bzw. mit höheren Anteilen an Wasser oder sogar Säure in den Simulanzien, nahm die Stabilität des partikulären Silbers deutlich ab.

Der Rückschluss anderer publizierter Studien, von der mit ICP-MS gemessenen Silberkonzentration in wässrigen Medien auf die Migration ganzer Nanosilber-Partikeln zu schließen, ist aus Sicht der hier präsentierten Ergebnisse und Überlegungen somit nicht nur unlogisch, sondern auch fehlerbehaftet.

Zu den Studien, bei denen eine Migration von Nanosilber-Partikeln anhand einer migrierten Menge an Silber postuliert wurde, zählen die Arbeiten von Huang et al. [95], Goetz et al. [92], Song et al. [94], sowie Artiaga et al. [93]. Die Ergebnisse dieser Studien wurden bereits als Überblick in Kapitel 3.2.2 dargestellt. Im Folgenden soll daher im Zusammenhang mit dem zuvor beschriebenen Wissen zu Nanosilber und den Ergebnissen der Untersuchungen in dieser Arbeit eine kritische Auseinandersetzung mit den Arbeiten dieser Autoren erfolgen:

Huang et al. führte Migrationsmessungen an kommerziell erhältlichen Nanosilber haltigen Lebensmittelbehältern durch. Die Ergebnisse der Autoren sind dabei insofern überraschend, da die Migration des Silbers unabhängig von dem verwendeten Lebensmittelsimulanz war. In 4 % Essigsäure wurde in etwa dieselbe Menge an Silber nachgewiesen wie in Reinstwasser, n-Hexan und 95 % v/v

Ethanol bei einer Lagerung der Proben bei 50 °C. Diese Ergebnisse stehen somit in Kontrast zu den Daten aus anderen Studien, bei denen der Kontakt des Nanokomposits mit sauren Simulanzien immer zu deutlich höheren Migrationsraten des Silbers aus Polyolefinen im Vergleich zu wässrigen Simulanzien oder organischen Lösemitteln führte. Die Autoren folgerten auf die Migration von Silber in Form von Nanopartikeln aufgrund von Untersuchungen der Migrationsproben mittels REM, wodurch Silber in partikulärer Form sichtbar gemacht werden konnte. Hierzu wurden die Proben zunächst mit Ethanol vermischt und anschließend bis zur Trockene eingedampft, bevor sie zur Untersuchung mittels REM auf einen Probenträger aufgetragen wurden.

Goetz et al. untersuchten die Migration von Silber aus Nanosilber haltigen Lebensmittelbehältern auf Reinstwasser, 10 % Ethanol, 3 % v/v Essigsäure und Olivenöl. Die Autoren fanden die höchste Menge an migriertem Silber in 3 % v/v Essigsäure, wohingegen in Reinstwasser und 10 % Ethanol deutlich geringere Mengen und in Olivenöl keine Migration von Silber festgestellt werden konnte. Die in der Studie festgestellte hohe und schnelle Abgabe von Silber auf das Simulanz wurde zwar eher mit der Diffusion von Silberionen als von Nanosilberpartikeln begründet, dennoch fanden die Autoren partikuläres Silber anhand von Untersuchungen mittels REM, TEM und SP-ICP-MS. Während für Untersuchungen mittels REM und TEM die Proben vollständig auf einem Silica-Probenträger eingedampft wurden, erfolgte die Charakterisierung des detektierten Silbers mittels SP-ICP-MS, wofür ebenfalls eine spezielle Probenaufbereitung verwendet wurde. Um die Empfindlichkeit des SP-ICP-MS hinsichtlich vorhandener Nanosilber-Partikel zu erhöhen, wurden Probenansätze mit einem unüblich hohen Verhältnis aus Polymer zu Simulanz gewählt. Mit einem angegebenen Verhältnis von mehr als 10 cm<sup>2</sup> Nanokomposit pro ml Reinstwasser, wird ersichtlich, dass die Probenbehälter in viele sehr kleine Stücke geschnitten werden mussten, um eine vollständige Benetzung mit dem Reinstwasser zu gewähren. Da anstelle von Folien in diesem Fall stabile Lebensmittelbehälter verwendet wurden, kann davon ausgegangen werden, dass die Behälter deutlich höhere Schichtstärken aufweisen als es bei Folien der Fall wäre. Hierdurch und durch das notwendige Kleinschneiden der Proben ergeben sich eine Vielzahl an Schnittkanten, welche unrealistische Testbedingungen erzeugen und somit einen enormen Einfluss auf das Messresultat haben können. Während die Nanosilber-Partikel an der Oberfläche compoundierter oder mittels Spritzgussverfahren hergestellter Nanokomposite vollständig von Polymer umhüllt sind, kann es an Schnittkanten zu einem direkten Kontakt des Nanomaterials mit dem Simulanz kommen. Insbesondere bei Verwendung von 3 % v/v Essigsäure, Reinstwasser und 10 % Ethanol, welche Simulanzien sind, die ein oxidatives Auflösen der Partikel bewirken [174], wird bei einer hohen Anzahl an Schnittkanten ein Freiwerden von Silberionen gegebenenfalls begünstigt. An diesen Stellen kann das Simulanz die Nanosilber-Partikel entweder direkt angreifen, oder tiefer in das Polymer eindringen, um eine weitere Freisetzung von Silberionen zu begünstigen.

Artiaga et al. untersuchten die Migration von Silber auf die Simulanzien Reinstwasser, 10 % Ethanol, 3 % v/v Essigsäure und 95 % v/v Ethanol. Nach Lagerung der Proben für 10 d bei 40 °C wurden lediglich in 3 % v/v Essigsäure und Reinstwasser eine Migration von Silber festgestellt, wobei in 3 % v/v Essigsäure höhere Werte nachgewiesen wurden als in Reinstwasser. Zur Charakterisierung des mittels ICP-MS nachgewiesenen Silbers wurden Untersuchungen mittels REM und AF4 durchgeführt. In beiden Fällen konnten die Autoren Silber in Form von Partikeln nachweisen, wenn auch im Falle der AF4 Messungen nur eine geringfügige Unterscheidung des Nanosilber-Peaks von dem Grundsignal im Fraktogramm möglich war. Sowohl im Falle der Untersuchungen mittels REM als auch mittels AF4 wurden die Migrationsproben zuvor vollständig zur Trockene eingedampft. Für AF4 Messungen wurden die Proben mit einer stabilisierenden Tensidlösung wiederaufgenommen und im Anschluss daran untersucht.

Die Tatsache, dass in den Arbeiten der genannten Autoren Silber überhaupt nachgewiesen werden

konnte, entspricht den Erkenntnissen von Kittler. Die Abgabe von Silber beruht auf dem oxidativen Auflösen der Silberpartikel und in Folge dessen auf der Diffusion gelöster Silberionen. Der von Kittler beschriebene Einfluss des umgebenden Mediums lässt sich anhand der genannten Silber-Migrationsstudien übereinstimmend nachvollziehen. Signifikante Mengen migrierten Silbers wurden ausschließlich in wässrigen Medien gefunden, wobei in wässrig-sauren Medien (Essigsäure) mit Abstand die höchsten Mengen detektiert wurden. Der Zusammenhang zwischen der migrierten Silbermenge und dem umgebenden Medium lässt bereits auf einen oxidativen Prozess schließen. Einen weiteren Hinweis auf diesen Effekt liefert die Arbeit von Su et al. [175]. Die Autoren konnten ebenfalls die Abgabe von Silber aus einer PE-LD Folie auf wässrige, insbesondere saure Simulanzien aufzeigen. Die Abgabe des Silbers unter identischen Bedingungen ließ sich jedoch auf ein Minimum reduzieren, wenn das Polymer antioxidativ wirkende Additive enthielt. Die Frage, warum die zuvor genannten Autoren dennoch ein Nachweis von Silber in seiner partikulären Form beschrieben, lässt sich anhand der durchgeführten Probenaufbereitung erklären. Der Nachweis partikulären Silbers mittels REM/TEM oder im Falle von Artiaga et al. mittels AF4 erlaubte kein direktes Untersuchen derjenigen Migrationsproben, in welchen Silber nachgewiesen wurde. Bei allen Methoden wurden Aliquote entnommen, welche vollständig zur Trockene eingedampft werden mussten. Da Silber jedoch ein sensibles Redoxsystem darstellt, kann hierbei der Effekt auftreten, dass zuvor zu Silberionen oxidiertes Silber wieder zu elementarem Silber reduziert wird. Dieser Effekt konnte anschaulich von Glover et al. nachgewiesen werden [176]. Die Autoren brachten einen kleinen Tropfen Wasser auf einen Objektträger für TEM-Aufnahmen auf und brachten diesen mit einem Silberlöffel in Kontakt. Während der Tropfen auf dem Objektträger eintrocknete konnten die Autoren die Entstehung neuer Silberpartikel beobachten. Die Autoren konnten dieses Phänomen durch einen Sättigungseffekt des gelösten Silbers in dem kleiner werdenden Tropfen während der Trocknung und einer anschließenden Reduktion zu elementarem Silber auf der Oberfläche des Objektträgers erklären.

Alle aus dieser Arbeit und aus der Literatur gewonnenen Daten lassen folglich auch bei Nanosilber den Schluss zu, dass Silber nicht in Form von Partikeln, sondern wenn überhaupt in seiner ionischen Form aus der Polymermatrix migrierte. Gegenteilige Aussagen lassen sich aufgrund der unsachgemäßen Probenaufbereitung und der fehlenden Validierung der Analysenmethode als falsch-positiv interpretieren (Nachweis mittels REM/TEM nach Eindampfen der Proben, Schnittkanteneffekte im Migrationsansatz), wodurch keinerlei Rückschluss auf praxisrelevante Bedingungen mehr möglich ist.

## 6 Abschließende Betrachtung zur Migration von Nanomaterialien aus einem Polymer

Die Frage nach dem Migrationspotential von Nanomaterialien aus Verpackungskunststoffen kam zu einem Zeitpunkt auf, zu welchem analytische Methoden zum Nachweis partikulärer Substanzen fehlten bzw. die notwendigen Kriterien der Detektion, Charakterisierung und Quantifizierung von Nanomaterialien in komplexen Probenmatrices nicht simultan bewerkstelligen konnten. Mit Ausnahme von Nanosilber lassen sich daher nur wenige Studien aufzählen, bei denen erste Untersuchungen zu diesem Thema durchgeführt wurden. Konventionelle Analysentechniken ergeben nur in Kombination die Möglichkeit, diese Kriterien zu erfassen, jedoch ist hierbei die Gefahr von Artefakten oder falsch-positiver Ergebnisse gegeben. Die Schwierigkeit besteht darin, dass gängige Verfahren zum Nachweis konventioneller Polymeradditive nicht ohne Weiteres auf nanoskalige Substanzen übertragen werden können. Um die Migration von Additiven im nanoskaligen Größenbereich zweifelsfrei nachweisen zu können, muss daher neben der Art und Menge des Additivs auch der Aspekt der Partikelgröße bei den einzelnen Methodenschritten berücksichtigt werden. Das Beispiel Nanosilber zeigte, dass bei Kombinationen elementspezifischer Techniken (ICP-MS, ICP-OES, AAS) und bildgebender Verfahren (REM, TEM) Einflüsse der notwendigen Probenaufbereitung oftmals unberücksichtigt bleiben. Die hieraus gewonnenen Daten erlauben keinen direkten Nachweis der Migration von Nanosilber und können zudem fehlerbehaftet sein. In dieser Arbeit lag der Fokus daher darauf, Nanomaterialien in Lebensmittelsimulanzien so direkt wie möglich zu erfassen und Einflüsse der umgebenden Matrix und der Prüfbedingungen auf die Nachweisbarkeit partikulärer Substanzen zu berücksichtigen. Durch die Verwendung von AF4/MALS und einer eigens an das jeweilige Nanomaterial angepassten Methodenentwicklung war es möglich, Migrationsstudien an Nanomaterialien wie SAS, CB und Laponite durchzuführen, für welche sonst keine geeigneten Detektionsmöglichkeiten existieren. Neben der Möglichkeit der Detektion, Charakterisierung und Quantifizierung des Nanomaterials in Lebensmittelsimulanzien wurde hierbei auch der Einfluss der Probenlagerung und der Probenaufbereitung auf das Nanomaterial erfasst. Die Validierung der Methode in Abhängigkeit des jeweiligen Nanomaterials und aller angewandten Prüfbedingungen zeigte dabei, dass ein Nachweis dieser Nanomaterialien im Falle einer Migration bei niedrigen Nachweisgrenzen messtechnisch möglich war. Die zum Nachweis von TiN und Nanosilber angewandte ICP-MS Analytik zielte grundsätzlich auf einen empfindlichen Nachweis von Titan-, bzw. Silberionen ab, welcher im Falle eines positiven Befunds eine Differenzierung der Spezies mittels AF4/MALS folgte. Auch hier zeigten Validierungsmessungen, dass bei allen eingesetzten Simulanzien und Prüfbedingungen ein Nachweis der Migration möglich war. Bei keinem der untersuchten Nanokomposite konnte eine Migration der im Polymer eingearbeiteten Nanomaterialien festgestellt werden. Lediglich bei Silber-Nanokompositen konnte in Abhängigkeit des verwendeten Simulanz eine Abgabe von Silber festgestellt werden, wobei die detektierten Mengen ionischer und nicht partikulärer Natur waren. Diese Messungen bestätigten somit lediglich die beabsichtigte Wirkweise des als antimikrobiell wirkend gedachten „Nano-Additivs“.

Trotz der in dieser Arbeit als streng zu betrachtenden Prüfbedingungen konnte gezeigt werden, dass das Nanomaterial nicht einmal in Spuren auf die Lebensmittelsimulanzien übergegangen war. Auch wenn die durchgeführten Validierungsmaßnahmen zeigten, dass unter den angewandten Prüfbedingungen ein Nachweis im Falle einer Migration möglich gewesen wäre, stellt sich die Frage, ob Nanomaterialien allgemein eine ausreichende Beweglichkeit in einer Polymermatrix besitzen, aus der eine nachweisbare Migrationsmenge resultiert. Wie bereits erwähnt, ist der Stofftransport in einer Polymermatrix ein physikalischer Prozess, welcher sich bei Kenntnis der physikalischen Parameter und Randbedingungen beschreiben lässt. Eine erste Abschätzung des Migrationspotentials von

Nanopartikeln lieferte die Arbeit von Simon et al. [177]. Die Autoren errechneten Diffusionskoeffizienten für sphärische Nanosilberpartikel mit 5 nm im Durchmesser in Abhängigkeit der Polymermatrix und Temperatur. Die Grundlage für diese Berechnungen bildete dabei die Stokes-Einstein-Gleichung, welche die Diffusion in einer Flüssigkeit beschreibt. Die Autoren betrachteten daher die Polymere als Flüssigkeiten hoher Viskosität, wobei die zur Berechnung notwendige Viskosität vom Zustand des Polymers in der Schmelze auf Temperaturen unterhalb des Schmelzpunktes zurückgerechnet wurden. Für die betrachteten Polymere (PE-LD, PE-HD, PP, PET und PS) ergaben sich aufgrund der niedrigeren Viskosität für PE-LD die höchsten Diffusionskoeffizienten. Für eine Temperatur von 25 °C ergab sich ein Diffusionskoeffizient in PE-LD für einen 5 nm Nanopartikel von  $6,62 \text{ E-}19 \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  (zum Vergleich:  $< 4,37 \text{ E-}23 \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  in PET). Bei einer Anfangskonzentration des Nanomaterials in der Verpackung von  $1 \text{ kg m}^{-3}$ , einer Verpackungsfläche von  $0,2 \text{ m}^2$  und einer Lagerung bei 25 °C ergaben sich hieraus eine errechnete migrierte Menge von  $260 \text{ } \mu\text{g}$  Silber bei PE-LD ( $0,22 \text{ } \mu\text{g}$  Silber bei PET-Verpackungen), welche nach einer Dauer von einem Jahr auf das Lebensmittel übergegangen wäre. Obwohl diese Werte bereits äußerst niedrig sind, betonen die Autoren den überschätzenden Charakter ihrer Berechnungen. Neben der Annahme, das Polymer sei eine Flüssigkeit, wurden Wechselwirkungen des migrierenden Partikels mit Polymermolekülen vernachlässigt. Trotz der Migration des Nanomaterials aus dem Polymer heraus, wurde eine konstant bleibende Anfangskonzentration angenommen und der Einfluss des Lebensmittels auf den Nanokomposit vernachlässigt. Dennoch ergaben sich bei diesen Berechnungen so niedrige Werte, dass die Autoren die Migration von Nanopartikeln als vernachlässigbar gering einstufen. Am Beispiel des 5 nm Partikels errechneten die Autoren, dass bei einer Verpackung von  $1 \text{ dm}^3$  Volumen und einer Folienstärke von  $50 \text{ } \mu\text{m}$  unter oben genannten Bedingungen die Dauer bis zum Erreichen des Gleichgewichtszustands („Sättigung“ des Lebensmittels) etwa 1500 Jahre betragen würde. Simon et al. folgerten daher, dass wenn überhaupt, Migration nur von sehr kleinen Partikeln von etwa 1 nm in Polymeren mit niedriger Viskosität auftreten kann, wenn zudem keine Wechselwirkungen zwischen Nanopartikel und Polymer auftreten.

Eine realistischere Betrachtung der physikalischen Transportvorgänge von Nanomaterialien in einer Polymermatrix wurde ausführlicher in Kapitel 3.2.1.3 beschrieben. Hierbei wurden molekulare Wechselwirkungen des migrierenden Nanopartikels mit makromolekularen Strukturen des Polymers berücksichtigt. Anhand der in Tabelle 2 gelisteten Diffusionskoeffizienten von CB-Primärpartikeln in PE-LD bei 40 °C zeigt sich deutlich, dass sich hierbei für ein 5 nm Partikel trotz der höheren Temperatur ein niedrigerer Diffusionskoeffizient ergibt als der von Simon et al. errechnet wurde. Obwohl hinsichtlich des Migrationspotentials von Nanomaterialien hierbei Parameter gewählt wurden, welche einen äußersten Grenzfall darstellen, ergeben sich im Vergleich zu Simon et al. aufgrund der Verwendung eines realistischeren Modells nochmals deutlich niedrigere Werte bezüglich der Migration einzelner Nanopartikel. Bei einem CB-Nanokomposit mit 3 mm Plattenstärke, einer Ausgangskonzentration von  $25000 \text{ mg kg}^{-1}$  und einer Kontaktfläche von  $1 \text{ dm}^2$  ergibt sich eine modellierte Migration von  $1,37 \text{ E-}7 \text{ mg kg}^{-1}$  (etwa  $0,1 \text{ ng}$  CB pro kg Lebensmittel) nach einer Kontaktdauer von 10 d bei 40 °C. Im Vergleich zur Ausgangskonzentration stellt dies einen extrem niedrigen Wert dar, welcher darauf hindeutet, wie unglaublich niedrig die Mobilität der Nanomaterialien innerhalb des Polymers ist. Um dies zu verdeutlichen können in Abhängigkeit des Diffusionskoeffizienten auch Durchbruchzeiten errechnet werden. Durchbruchzeiten leiten sich von Permeationsmessungen ab, bei denen bestimmt wird, wie lange eine Substanz braucht, um vollständig durch das Polymer zu diffundieren (von Außenseite zur Innenseite des Polymers) [178]. Durchbruchzeiten lassen sich mittels des Ausdrucks  $t = l^2/6D$  berechnen [83]. Hierbei ist  $t$  die Durchbruchzeit der diffundierenden Substanz,  $l$  ist die Dicke des Polymers und  $D$  der Diffusions-

koeffizient der diffundierenden Substanz. Unter Annahme einer Temperatur von 40 °C können durch Einsetzen der Diffusionskoeffizienten aus Tabelle 2 Durchbruchzeiten für CB-Partikel in PE-LD errechnet werden. Der Einfluss der Polymermatrix ist durch die entsprechenden Diffusionskoeffizienten bereits berücksichtigt. Für ein 5 nm CB-Partikel ergibt sich folglich unter Annahme einer dünnen Folie von 50 µm eine Durchbruchzeit von etwa 630.000.000 Jahre. Für 10 nm CB-Partikel würde sich bei der entsprechenden 3 mm starken Nanokomposit-Platte eine migrierte Menge von etwa  $3,5 \cdot 10^{-17} \text{ mg kg}^{-1}$  und eine Durchbruchzeit durch eine 50 µm Folie von  $3,0 \cdot 10^{17}$  Jahren ergeben.

Bei den genannten Beispielen wird ersichtlich, dass bereits bei sehr kleinen Partikelgrößen derartig niedrige Migrationsraten erzielt werden, dass eine Detektion selbst mit den empfindlichsten Methoden unmöglich ist. Lediglich Partikel mit Durchmessern von bis zu 3 nm würden anhand des Modells Migrationsraten ergeben, welche einen Nachweis mit den in dieser Arbeit aufgeführten Techniken ermöglichen würden. Aus den bereits genannten Gründen stellen die hier aufgeführten Überlegungen zur Migration von CB-Partikeln einen „worst-case“ dar und lassen somit die Folgerung zu, dass Nanomaterialien mit einer anderen chemischen Zusammensetzung zu keinen höheren Migrationsraten führen würden. Praxisrelevant ist zudem, dass die in Lebensmittelverpackungen eingesetzten Nanomaterialien nicht aus isoliert vorliegenden, kugelförmigen Primärpartikeln im Bereich weniger Nanometer bestehen, sondern überwiegend aggregierte Strukturen im Bereich von 100 nm und mehr aufweisen. Die mathematische Modellierung ergibt folglich, dass eine Migration aus einem Verpackungspolymer heraus, wenn überhaupt, nur in nicht nachweisbaren Mengen stattfindet, welche aus toxikologischer Sicht ohne Relevanz ist.

Die Daten der theoretischen Modellierung bestätigen somit die Erkenntnisse aus dem experimentellen Teil dieser Arbeit. Anhand der Auswahl der hierbei verwendeten Nanomaterialien und Testsysteme können ebenfalls Rückschlüsse auf die Migration anderer Nanomaterialien und anderer Verpackungspolymere getroffen werden. Auch bei den experimentellen Arbeiten wurde der Ansatz verfolgt, einen „worst-case“ zu generieren, um das Migrationspotential von Nanomaterialien auch bei weniger strengen Bedingungen abzubilden. Das bei allen Nanokompositen verwendete PE-LD stellt ein Verpackungspolymer mit einer relativ hohen Diffusivität dar, wodurch höhere Diffusionsraten erzielt werden, als bei starren Polymeren, wie es bei PET der Fall ist. Die bei den Migrationsversuchen gewählten Prüfbedingungen und Auswahl der Simulanzien gelten ebenfalls als äußerst streng. Eine Lagerung bei 60 °C für 10 d stellt ein beschleunigendes Prüfverfahren dar, welche mindestens so streng ist wie eine Lagerung bei Raumtemperatur für mehr als ein halbes Jahr. Die Verwendung der Simulanzien 95 % v/v Ethanol und Isooktan in Kontakt mit PE-LD Folien führen zudem zu einem Quellen des Polymers, wodurch Wechselwirkungen des Migrantens mit der Polymermatrix minimiert werden und eine Diffusion durch das Polymer erleichtert wird [179]. Die Auswahl der Nanomaterialien selbst sollte typische Partikelgrößen und Strukturen von Nanomaterialien abdecken. Zusätzlich wurden jedoch auch Materialien verwendet, welche für die Verwendung als Additiv in Verpackungspolymeren untypisch sind, hinsichtlich ihrer Partikelgröße/-struktur jedoch ein höheres Migrationspotential erwarten ließen. CB, TiN und SAS stellen mit ihrer weintraubenartigen Aggregatsstruktur Nanomaterialien dar, welche vom Aufbau und den enthaltenen Partikelgrößen typisch für viele andere Nanomaterialien sind. Die Auswahl der jeweiligen Typen dieser Nanomaterialien orientierte sich dabei hinsichtlich der Primärpartikel- und Aggregatsgröße am unteren Ende der in der Positivliste der Kunststoffverordnung EU 10/2011 aufgeführten Spezifikationen. Mit Laponite und Nanosilber wurden zudem Materialien untersucht, die aufgrund ihrer Größe einen „worst-case“ darstellen sollten. Laponite, mit nur wenigen Nanometern im Durchmesser und nur einem einzigen Nanometer Schichtdicke sowie Nanosilber, welches auch als kugelförmige Partikel

von gerade einmal 10 nm im Durchmesser vorlag, ermöglichten Untersuchungen an Strukturen, wie sie bei den konventionellen „Nano-Additiven“ nicht existent sind. Bei den umfangreichen Migrationsprüfungen konnte trotz strenger Prüfbedingungen und niedriger Nachweisgrenzen bei keinem der Nanokomposite eine Abgabe des Nanomaterials in seiner partikulären Form auf die Lebensmittelsimulanzien festgestellt werden. Hieraus konnte abgeleitet werden, dass die untersuchten Nanomaterialien nicht auf Lebensmittel migrieren, sobald sie in einer festen Polymermatrix eingearbeitet und vollständig von Polymer umhüllt sind. Aufgrund des überschätzenden Charakters der Migrationsmodellierung und des als sehr streng zu bewertenden experimentellen Ansatzes lässt sich in Bezug auf andere nanoskalige Substanzen folgern, dass die Einarbeitung des Nanomaterials in eine Polymermatrix zu einer Immobilisierung der Partikel führt. Eine Abgabe des Nanomaterials auf ein Lebensmittel basierend auf den Fickschen Gesetzen der Diffusion findet wenn überhaupt derart langsam statt, dass die beabsichtigte Nutzungsdauer der Verpackung weit unterhalb der Durchbruchzeit des Nanomaterials liegt. Eine Exposition des Verbrauchers gegenüber Nanomaterialien in Lebensmittelverpackungen aus Kunststoffen gilt anhand der hier gefundenen Daten als ausgeschlossen. Schlussfolgernd lässt sich somit sagen, dass Nanomaterialien allgemein unter praxisrelevanten Bedingungen nicht auf Lebensmittel migrieren.

## 7 Zusammenfassung

Der Einsatz von Nanomaterialien in Konsumgütern allgemein und in Kunststoff-Lebensmittelverpackungen im Speziellen gilt nach wie vor als potentiell riskant, da das Wissen über toxikologische Eigenschaften dieser Materialien weitestgehend unbekannt ist. Um ein potentielles Risiko bei einer Anwendung dieser Materialien in Lebensmittelverpackungen auszuschließen, muss entweder die Toxikologie geklärt sein oder eine Exposition des Verbrauchers gegenüber diesen Materialien ausgeschlossen werden. Beide Ansätze bedürfen geeigneter analytischer Verfahren, welche zu einer Bewertung des von Nanomaterialien ausgehenden Risikos herangezogen werden können.

In dieser Arbeit wurde eine geeignete analytische Methode erstellt mittels derer Migrationsstudien an Nanokompositen durchgeführt wurden. Ziel war es zu untersuchen ob eine Migration von Nanomaterialien aus einer Kunststoff-Lebensmittelverpackung auf Lebensmittel bzw. Lebensmittelsimulanzien stattfindet. Die Auswahl der Nanokomposite erfolgte dabei unter dem Gesichtspunkt eine möglichst allgemeingültige Abschätzung des Migrationspotentials von Nanomaterialien zu erzielen. Die Nanomaterialien Kohlenstoffschwarz (CB) und synthetisch amorphes Siliciumdioxid (SAS) und Titanitrid (TiN) bilden aufgrund ihres aggregatbildenden Aufbaus eine Nanomaterialstruktur wie sie typisch für eine Vielzahl an Nanomaterialien ist. Die unterschiedliche chemische Zusammensetzung dieser Nanomaterialien deckte dabei unterschiedliche physikalisch-chemische Eigenschaften ab und somit unterschiedlich starke Wechselwirkungen mit der Polymermatrix und dem Lebensmittelsimulanz. Durch unterschiedliche Typen dieser Nanomaterialien (unterschiedliche Ausgangssubstanzen, Herstellungsverfahren und Oberflächenmodifikationen) wurde das Spektrum der untersuchten Nanomaterialien zusätzlich erweitert. Laponite und Nanosilber wurden als Nanomaterialien ausgesucht, welche aufgrund kleinster Partikelgrößen ein für Nanomaterialien höheres Migrationspotential erwarten lassen. Nanokomposite wurden mit Lebensmittelsimulanzien in Kontakt gebracht, welche einerseits den Kontakt des Verpackungsmaterials zu allen Lebensmitteln simulieren, andererseits einen analytischen Nachweis der Migration des Nanomaterials in seiner partikulären Form ermöglichten. Die Lagerung der Proben erfolgte unter Bedingungen, welche strenger als eine Langzeitlagerung unter praxisrelevanten Bedingungen anzusehen sind. Der analytische Nachweis der Migration auf die Lebensmittelsimulanzien erfolgte hierbei mittels asymmetrischer Fluss Feld-Fluss Fraktionierung (AF4) gekoppelt an einen Vielwinkel-Lichtstreuendetektor (MALS) und/oder induktiv gekoppelter Plasma Massenspektrometrie (ICP-MS). Neben der Untersuchung der Migrationsproben mittels dieser Techniken lag dabei der analytische Schwerpunkt in dieser Arbeit bei der Anpassung der genannten Methoden an das jeweilige Nanomaterial, um ein zum Nachweis von Nanomaterialien geeignetes Messsystem zu erhalten. Insbesondere bei Verwendung der AF4/MALS waren umfangreiche Vorversuche zur Methodenentwicklung notwendig. Hierzu wurden Dispersionen hergestellt, in welchen das Nanomaterial dieselben Partikelgrößen enthielt wie in den jeweiligen Nanokompositen. Es wurde zudem geprüft, dass die Dispersionen eine bezüglich der angewandten Prüfbedingungen ausreichende Stabilität gewährte. Für die analytische Messung wurde auch die AF4/MALS Methode entsprechend an die jeweiligen Materialien angepasst. Sowohl die breite Partikelgrößenverteilungen als auch komplexere Strukturen der untersuchten Nanomaterialien, welche in aggregierten Formen deutlich von einer idealen Kugelform abweichen sowie Wechselwirkungen des Nanomaterials innerhalb des Trennkanals der AF4 machten eine einfache Anpassung der Methode anhand der physikalischen Grundlagen dieser Technik vorab unmöglich. Die AF4/MALS Methodenentwicklung musste daher durch sukzessives Anpassen einzelner Parameter für das jeweilige Nanomaterial optimiert werden. Im Vergleich zu konventionelleren Verfahren, wie massenspektrometrische Verfahren, ergab sich hierdurch ein hoher

Aufwand bei der Vorbereitung der Untersuchungen. Es zeigte sich jedoch, dass die jeweiligen Methoden eine direkte Untersuchung der Migrationsproben zum Nachweis des Nanomaterials erlaubten. Nachträgliche Probenaufbereitungsschritte wurden daher weitestgehend überflüssig, wodurch die Gefahr von Artefakten und falsch positiver Ergebnisse minimiert wurde. Umfangreiche Validierungsmaßnahmen zeigten, dass die jeweilige Methode dazu in der Lage war, das Nanomaterial im Falle einer Migration nachzuweisen. Eine Abtrennung von anderen Matrixbestandteilen der Migrationsproben zum eindeutigen Nachweis des jeweiligen Nanomaterials konnte in den meisten Fällen ebenfalls erreicht werden. Lediglich bei zwei Substanzen (Laponite und hydrophiles SAS) war eine eindeutige Unterscheidung des Nanomaterials von extrahierten Polymer- bzw. Dispersionsmittelbestandteilen nicht eindeutig möglich. Durch den Vergleich mit Referenzproben ohne Nanomaterialien, welche identische Signale erzeugten, konnte jedoch eine Migration des Nanomaterials ausgeschlossen werden.

Die Ergebnisse der Migrationsstudien dieser Arbeit zeigten, dass das Nanomaterial in den Nanokompositen unabhängig von den gewählten Prüfbedingungen und den verwendeten Simulanzien nicht aus ihrer Polymermatrix migrierten. Bei einem mittels ICP-MS festgestellten Übergang von Silber aus den Silber-Nanokompositen auf wässrige Simulanzien konnte durch zusätzliche Untersuchungen mittels AF4/MALS die Migration des Silbers in Form von nanoskaligen Partikeln ausgeschlossen werden. Hierbei handelte es sich lediglich um die Abgabe ionischen Silbers, was eben der Intention einer Anwendung eines Silber-Nanokomposits entsprach. Im Rahmen der Studie zu Nanosilber wurde zudem durch den Vergleich mit anderen Studien deutlich, wie entscheidend eine zielgerichtete und auf das Nanomaterial zugeschnittene Analytik ist. Eine oftmals ungeeignete Probenaufbereitung bei Verwendung konventioneller Analysetechniken machte andere Studien zum Teil nicht nachvollziehbar und erschwerten eine folgerichtige Interpretation der Ergebnisse. Eine Fehlinterpretation der Ergebnisse in dieser Arbeit wurde durch die prinzipielle Möglichkeit des direkten Nachweises migrierter Nanomaterialien in den Simulanzien vermieden. Zusammengefasst wurde jedoch festgestellt, dass die Nanomaterialien unter Berücksichtigung der Nachweisgrenzen nicht auf Lebensmittelsimulanzien migrierten. Die auf ein Lebensmittel bezogenen Nachweisgrenzen lagen bei  $2,2 - 8,2 \mu\text{g kg}^{-1}$  für SAS in aggregierter Form,  $25,7 \mu\text{g kg}^{-1}$  für kolloidales SAS,  $0,1 - 0,24 \mu\text{g kg}^{-1}$  für TiN,  $2,2 - 12,7 \mu\text{g kg}^{-1}$  für CB,  $43 \mu\text{g kg}^{-1}$  für Laponite und  $0,1 \mu\text{g kg}^{-1}$  für Silber in organischen Lösemitteln. Die trotz der niedrigen Nachweisgrenzen festgestellte Nicht-Migration nanoskaliger Partikel aus einer Polymermatrix ist in guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen einer theoretischen Betrachtung der Mobilität von Nanomaterialien allgemein. Hierzu wurden Berechnungen anhand eines Modells durchgeführt, welches in Bezug auf die Diffusion des Nanomaterials durch eine Polymermatrix realistisch, durch die Verwendung einer „worst-case“ Modellsubstanz jedoch überschätzenden Charakter aufweist. Diffusionskoeffizienten, welche Wechselwirkungen des migrierenden Materials mit dem umgebenden Polymer berücksichtigten, wurden für unterschiedliche Partikelgrößen eines Nanomaterials errechnet, welches im Vergleich zu anderen Nanomaterialien eine höhere Mobilität in einer Polymermatrix besitzt. Die errechneten Werte zeigten, dass die Modellsubstanz in ihrer Beweglichkeit so stark eingeschränkt war, dass nur hypothetisch existierende Primärpartikel von etwa einem bis drei Nanometer im Durchmesser zu einer messbaren Migration führen würden. Als Modellsystem wurden Nanopartikel aus elementarem Kohlenstoff (niedriges Molekulgewicht) und als Polymermatrix Polyethylen geringer Dichte (hohe Diffusivität bzgl. eines Migranten) angenommen. Hieraus lässt sich ableiten, dass Nanomaterialien mit einer anderen chemischen Zusammensetzung und/oder bei Verwendung einer anderen Polymermatrix keine höhere Mobilität aufweisen würden und somit zu ebenso niedrigen Migrationsraten führen würden. Die für die Modellsubstanz Kohlenstoffschwarz modellierten Werte zeigten bereits ab einer

Partikelgröße von 5 nm, dass eine Migration nur noch im Sub-Spurenbereich stattfinden würde und somit von keinerlei physiologischer Bedeutung wäre und keinesfalls analytisch erfassbar wäre. Untersuchungen der Nanokomposite mit hochauflösenden bildgebenden Verfahren zeigten zudem, dass Nanomaterialien üblicherweise nicht in Form von isolierten Primärpartikeln sondern in Form von Aggregaten mit Durchmessern von typischerweise 100 nm und mehr vorliegen. Selbst Laponite-Plättchen mit einer Schichtdicke von gerade einmal 1 nm, eines der kleinsten Nanomaterialien überhaupt, weist in seiner Längs- und Querausdehnung Dimension von etwa 20 nm bis 30 nm auf. Starke Wechselwirkungen mit den verworrenen Polymerketten würden demnach auch bei diesem Material zu einer stark verlangsamten Diffusion einzelner Plättchen durch das Polymer führen. Sphärische Primärpartikel mit Durchmessern von weniger als 5 nm, welche theoretisch zu einer messbaren Migration führen können, existieren jedoch in keinem für Kunststoffverpackungen eingesetzten oder beabsichtigten nanoskaligen Polymeradditiv. Sowohl aus den Ergebnissen der experimentellen Untersuchungen als auch aus den Daten der Migrationsmodellierung leitet sich daher ab, dass Nanomaterialien in Lebensmittelverpackungen nicht zu einer Exposition gegenüber dem Verbraucher führen, da sie durch die umgebende Polymermatrix nahezu vollständig immobilisiert sind und nicht auf Lebensmittel migrieren.

Ausgehend von den Ergebnissen dieser Arbeit leitet sich ab, dass für zukünftige Risikoanalysen von Nanomaterialien in Kunststoffen für den Lebensmittelkontakt zuerst und vermutlich alleinig die Frage nach der Partikelgröße geklärt werden muss. Per EU-Definition gelten auch Substanzen mit externen mikro- und makroskopischen Strukturen als Nanomaterial, wenn die zugrundeliegende Primärstruktur in den nanoskaligen Bereich fällt. Da Nanomaterialien üblicherweise selbst durch enorme mechanische Kräfte nicht in ihre Primärstrukturen zerlegt werden können, ist ein Migrationspotential von solchen Substanzen nicht zu erwarten. Eine einfache Größen- bzw. Strukturaufklärung mittels hochauflösender bildgebender Verfahren des Nanomaterials in den Nanokompositen könnte somit auf einfache Art und Weise klären, ob ein Expositionsrisiko bei diesen Materialien bestünde. Da nach wie vor aus analytischer Sicht bei Migrationsstudien keine einheitlichen Ergebnisse erzielt werden, ist für die Zukunft eine Etablierung standardisierter Prüfverfahren erforderlich. Neben einer zielgerichteten Analytik, welche zur Detektion, Identifizierung, Charakterisierung und Quantifizierung der Nanomaterialien geeignet ist, werden insbesondere einheitliche Prüfverfahren benötigt, welche stärker die Partikelgröße als wichtiges Kriterium ins Gewicht nehmen. Erst wenn anhand robuster Prüfmethoden einheitliche, reproduzierbare und übertragbare Ergebnisse ermöglicht werden, kann eine Validierung der Nanoanalytik durchgeführt werden und somit einen besseren Vergleich mit publizierten Daten erlauben. Neben der Wahl einer geeigneten Methode ist hierbei nach wie vor der Bedarf nach geeigneten Referenz-Nanomaterialien zur Überprüfung der entsprechenden Methoden groß.

Auch wenn die Daten dieser Arbeit dafür sprechen, dass unter normalen Umständen keine Migration von Nanomaterialien basierend auf der Fickschen Diffusion aus einem Polymer zu erwarten ist, wäre eine Aufklärung der Umstände, unter denen Nanomaterialien über andere Mechanismen abgegeben werden könnten, sinnvoll. Hierzu zählt beispielsweise die Klärung; ob Nanokomposite nach einer thermischen, mechanischen (Abrieb, Biegen des Nanokomposits, etc.) oder lösemittelbasierten Belastungen (starkes Quellen der Polymermatrix) nanoskalige Additive abgeben. Mit diesen Daten könnte eine Bewertung der Sicherheit von Nanokompositen in Abhängigkeit der beabsichtigten Anwendung umfassender erfolgen.

## 8 Literatur

1. Robertson, G.L., *Food Packaging: Principles and Practice*. 3 ed. 2012, Boca Raton, Florida, United States: CRC Press.
2. Raheem, D., *Application of plastics and paper as food packaging materials – an overview*. Emirates Journal of Food and Agriculture, 2012. **25**(3).
3. Piringer, O., *Wechselwirkungen zwischen Lebensmittel und Verpackung*. Chem.-Ing.-Tech., 1988. **60**(4): p. 255-265.
4. Buchner, N.S., *Verpackung von Lebensmitteln*. 1 ed. Lebensmitteltechnologische, verpackungstechnische und mikrobiologische Grundlagen. 1999: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
5. Arora, A. and G.W. Padua, *Review: nanocomposites in food packaging*. Journal of Food Science, 2010. **75**(1): p. 43-49.
6. Azeredo, H., *Nanocomposites for food packaging applications*. Food Research International, 2009. **42**(9): p. 1240-1253.
7. Brody, A.L., et al., *Scientific status summary. Innovative food packaging solutions*. Journal of Food Science, 2008. **73**(8): p. R107-16.
8. Chaudhry, Q., et al., *Applications and implications of nanotechnologies for the food sector. Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment*, 2008. **25**(3): p. 241-258.
9. Cushen, M., et al., *Nanotechnologies in the food industry – Recent developments, risks and regulation*. Trends in Food Science & Technology, 2012. **24**(1): p. 30-46.
10. Mihindukulasuriya, S.D.F. and L.T. Lim, *Nanotechnology development in food packaging: A review*. Trends in Food Science & Technology, 2014. **40**(2): p. 149-167.
11. Silvestre, C., D. Duraccio, and S. Cimmino, *Food packaging based on polymer nanomaterials*. Progress in Polymer Science, 2011. **36**(12): p. 1766-1782.
12. Sozer, N. and J.L. Kokini, *Nanotechnology and its applications in the food sector*. Trends Biotechnol, 2009. **27**(2): p. 82-9.
13. Paul, D.R. and L.M. Robeson, *Polymer nanotechnology: Nanocomposites*. Polymer, 2008. **49**(15): p. 3187-3204.
14. Alexandre, M.D., Philippe, *Polymer layered silicate nanocomposites: preparation, properties and uses of a new class of materials*. Materials Science and Engineering, 2000. **28**: p. 1-63.
15. Hotta, S. and D.R. Paul, *Nanocomposites formed from linear low density polyethylene and organoclays*. Polymer, 2004. **45**(22): p. 7639-7654.
16. Kaneko, M.L.Q.A., et al., *Improvement of toughness in polypropylene nanocomposite with the addition of organoclay/silicone copolymer masterbatch*. Polymer Composites, 2013. **34**(2): p. 194-203.
17. Kiliaris, P. and C.D. Papaspyrides, *Polymer/layered silicate (clay) nanocomposites: An overview of flame retardancy*. Progress in Polymer Science, 2010. **35**(7): p. 902-958.
18. Pavlidou, S. and C.D. Papaspyrides, *A review on polymer-layered silicate nanocomposites*. Progress in Polymer Science, 2008. **33**(12): p. 1119-1198.
19. Pereira de Abreu, D.A., et al., *Development of new polyolefin films with nanoclays for application in food packaging*. European Polymer Journal, 2007. **43**(6): p. 2229-2243.
20. Sinha Ray, S. and M. Okamoto, *Polymer/layered silicate nanocomposites: a review from preparation to processing*. Progress in Polymer Science, 2003. **28**(11): p. 1539-1641.
21. Zhang, W.a., et al., *Effects of different kinds of clay and different vinyl acetate content on the morphology and properties of EVA/clay nanocomposites*. Polymer, 2003. **44**(26): p. 7953-7961.

22. Chaudhari, S., T. Shaikh, and P. Pandey, *A Review on Polymer Tio2 Nanocomposites*. International Journal of Engineering Research and Application, 2013. **3**(5): p. 1386-1391.
23. Dallas, P., V.K. Sharma, and R. Zboril, *Silver polymeric nanocomposites as advanced antimicrobial agents: classification, synthetic paths, applications, and perspectives*. Advances in Colloid and Interface Science, 2011. **166**(1-2): p. 119-135.
24. Emamifar, A., et al., *Evaluation of nanocomposite packaging containing Ag and ZnO on shelf life of fresh orange juice*. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2010. **11**(4): p. 742-748.
25. Palomba, M., et al., *Activity of Antimicrobial Silver Polystyrene Nanocomposites*. Journal of Nanomaterials, 2012. **2012**: p. 1-7.
26. Palza, H., K. Delgado, and I. Pinochet, *Improving the metal ion release from nanoparticles embedded in a polypropylene matrix for antimicrobial applications*. Journal of Applied Polymer Science, 2014: p. n/a-n/a.
27. Pongnop, W., et al., *Effects of incorporating technique and silver colloid content on antibacterial performance for thermoplastic films*. Journal of Applied Polymer Science, 2011. **122**(5): p. 3456-3465.
28. Valipoor Motlagh, N., M.T. Hamed Mosavian, and S.A. Mortazavi, *Effect of Polyethylene Packaging Modified with Silver Particles on the Microbial, Sensory and Appearance of Dried Barberry*. Packaging Technology and Science, 2013. **26**(1): p. 39-49.
29. Rossi, M., et al., *Scientific basis of nanotechnology, implications for the food sector and future trends*. Trends in Food Science & Technology, 2014. **40**(2): p. 127-148.
30. Vajtai, R., *Handbook of Nanomaterials*. 2013, Heidelberg: Springer-Verlag.
31. [DECHEMA], *10 Jahre Forschung zu Risikobewertung, Human- und Ökotoxikologie von Nanomaterialien* Statuspapier des DECHEMA/VCI-Arbeitskreises „Responsible Production and Use of Nanomaterials“, 2011.
32. Kumar, A. and A. Dhawan, *Genotoxic and carcinogenic potential of engineered nanoparticles: an update*. Arch Toxicol, 2013. **87**(11): p. 1883-900.
33. [JRC] *Impact of engineered nanomaterials on health: considerations for benefit-risk assesment* JRC Reference Reports - EUR-24847 EN, 2011. DOI: 10.2788/29424
34. Gaszó, A., S. Greßler, and F. Schiemer, *Nano - Chancen und Risiken aktueller Technologien*. 2007, Wien: SpringerWienNewYork.
35. Frewer, L.J., et al., *Consumer attitudes towards nanotechnologies applied to food production*. Trends in Food Science & Technology, 2014. **40**(2): p. 211-225.
36. Bieberstein, A., et al., *Consumer choices for nano-food and nano-packaging in France and Germany*. European Review of Agricultural Economics, 2013. **40**(1): p. 73-94.
37. *Verordnung (EU) Nr. 10/2011 der Kommission vom 14. Januar 2011 über Materialien und Gegenstände aus Kunststoff, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen*. 2011.
38. Bouwmeester, H., et al., *State of the safety assessment and current use of nanomaterials in food and food production*. Trends in Food Science & Technology, 2014. **40**(2): p. 200-210.
39. Bouwmeester, H., et al., *Review of health safety aspects of nanotechnologies in food production*. Regul Toxicol Pharmacol, 2009. **53**(1): p. 52-62.
40. Simoneau, C., *Applicability of generally recognised diffusion models for the estimation of specific migration in support of EU Directive 2002/72/EC*. JRC scientific and technical reports: EUR 24514 EN, 2010.
41. CEN, *DIN CEN ISO/TS 27687, in Nanotechnologien – Terminologie und Begriffe für Nanoobjekte – Nanopartikel, Nanofaser und Nanoplättchen*. 2008, Europäisches Komitee für Normung (CEN): Brüssel.

42. Fahlman, B.D., *Nanomaterials*, in *Materials Chemistry (second edition)*. 2011, Springer Science+Business Media B.V.: Heidelberg.
43. *Towards a review of the EC Recommendation for a definition of the term "nanomaterial" - Part 1: Compilation of information concerning the experience with the definition*. JRC Scientific and Policy Reports - Report EUR 26567 EN, 2014. **Report EUR 26567 EN**, DOI: 10.2788/36237
44. Gray, C.A. and H. Muranko, *Studies of robustness of industrial aciniform aggregates and agglomerates--carbon black and amorphous silicas: a review amplified by new data*. *J Occup Environ Med*, 2006. **48**(12): p. 1279-90.
45. [ECOS], *Nanomaterials Definition Fact Sheet*. 2014, European Environmental Citizens Organisation for Standardisation (ECOS).
46. Bradley, E.L., L. Castle, and Q. Chaudhry, *Applications of nanomaterials in food packaging with a consideration of opportunities for developing countries*. *Trends in Food Science & Technology*, 2011. **22**(11): p. 604-610.
47. Lepot, N., et al., *Synthesis of ZnO nanorods from aqueous solution*. *Materials Letters*, 2007. **61**(13): p. 2624-2627.
48. Hua Zou, S.W., Jian Shen, *Polymer/Silica Nanocomposites: Preparation, Characterization, Properties, and Applications*. *Chemical Reviews*, 2008. **108**: p. 3893-3957.
49. Zimmermann, T., N. Bordeanu, and E. Strub, *Properties of nanofibrillated cellulose from different raw materials and its reinforcement potential*. *Carbohydrate Polymers*, 2010. **79**(4): p. 1086-1093.
50. [ECETOC] *Synthetic Amorphous Silica (CAS No. 7631-86-9)*. JACC REPORT No. 51 2006.
51. Wu, C.L., et al., *Tensile performance improvement of low nanoparticles filled-polypropylene composites*. *Composites Science and Technology*, 2002. **62**: p. 1327-1340.
52. Vladimirov, V., et al., *Dynamic mechanical and morphological studies of isotactic polypropylene/fumed silica nanocomposites with enhanced gas barrier properties*. *Composites Science and Technology*, 2006. **66**(15): p. 2935-2944.
53. Voll, M. and P. Kleinschmit, *Carbon, 6. Carbon Black*, in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. 2010, Wiley-VCH Verlag.
54. Wang, M.-J., et al., *Carbon Black*. 2003, *Encyclopedia of polymer science and technology*. p. 52-91.
55. EFSA *Scientific Opinion on the safety evaluation of the substance, titanium nitride, nanoparticles, for use in food contact materials*. 2012. DOI: 10.2903/j.efsa.2012.2641
56. Luckham, P. and S. Rossi, *The colloidal and rheological properties of bentonite suspensions*. *Advances in Colloid and Interface Science*, 1999. **82**: p. 43-92.
57. Brigatti, M.F., E. Galan, and B.K.G. Theng, *Structures and mineralogy of clay minerals*, in *Handbook of Clayscience*, F. Bergaya, B.K.G. Theng, and G. Lagaly, Editors. 2006, Elsevier Ltd. p. 19-86.
58. Ho, D. and C. Glinka, *Effects of Solvent Solubility Parameters on Organoclay Dispersions*. *Chem. Mater.*, 2003. **15**: p. 1309-1312.
59. Li, X.H., C. S. , *Nanostructure of EVA/Organoclay Nanocomposites: Effects of Kinds of Organoclays and Grafting of Maleic Anhydride onto EVA*. *Journal of Applied Polymer Science*, 2002. **87**: p. 1901-1909.
60. Duncan, T.V., *Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: barrier materials, antimicrobials and sensors*. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2011. **363**(1): p. 1-24.
61. *Verordnung (EG) Nr. 450/2009 der Kommission über aktive und intelligente Materialien und Gegenstände, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen*. Verordnung (EG) Nr. 450/2009 2009.

62. Xiao-e, L., et al., *Light-driven oxygen scavenging by titania/polymer nanocomposite films*. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 2004. **162**(2-3): p. 253-259.
63. Busolo, M.A. and J.M. Lagaron, *Oxygen scavenging polyolefin nanocomposite films containing an iron modified kaolinite of interest in active food packaging applications*. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2012. **16**: p. 211-217.
64. Realini, C.E. and B. Marcos, *Active and intelligent packaging systems for a modern society*. Meat Sci, 2014. **98**(3): p. 404-19.
65. Hajipour, M.J., et al., *Antibacterial properties of nanoparticles*. Trends in Biotechnology, 2012: p. 1-13.
66. Dastjerdi, R. and M. Montazer, *A review on the application of inorganic nano-structured materials in the modification of textiles: focus on anti-microbial properties*. Colloids Surf B Biointerfaces, 2010. **79**(1): p. 5-18.
67. Shi, L.E., et al., *Synthesis, antibacterial activity, antibacterial mechanism and food applications of ZnO nanoparticles: a review*. Food Additives and Contaminants Part A 2014. **31**(2): p. 173-186.
68. Espitia, P.J.P., et al., *Zinc Oxide Nanoparticles: Synthesis, Antimicrobial Activity and Food Packaging Applications*. Food and Bioprocess Technology, 2012. **5**(5): p. 1447-1464.
69. Das, P., et al., *Effects of silver nanoparticles on bacterial activity in natural waters*. Environmental Toxicology & Chemistry, 2012. **31**(1): p. 122-30.
70. Chen, X. and H.J. Schluesener, *Nanosilver: a nanoproduct in medical application*. Toxicology Letters, 2008. **176**(1): p. 1-12.
71. Lok, C.N., et al., *Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities*. Journal of Biological Inorganic Chemistry, 2007. **12**(4): p. 527-34.
72. Zhang, C., et al., *Time-Temperature Indicator for Perishable Products Based on Kinetically Programmable Ag Overgrowth on Au Nanorods*. ACS Nano, 2013. **7**(5): p. 4561-4568.
73. *Verordnung (EG) Nr. 1935/2004 über Materialien und Gegenstände, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen und zur Aufhebung der Richtlinien 80/590/EWG und 89/109/EWG*. 2004.
74. EFSA *Scientific Opinion of the Panel on food contact materials, enzymes, flavourings and processing aids (CEF) - Question No EFSA-Q-2005-151, EFSA-Q-2006-324, EFSA-Q-2006-323*. 2008.
75. SCF, *Report of the Scientific Committee for Food on a First Series of Food Additives of Various Technological Functions*. EUR 13416, 1991.
76. EFSA, *Scientific Opinion - Statement on the safety assessment of the substance silicon dioxide, silanated, FCM Substance No 87 for use in food contact materials*. EFSA Journal, 2014. **12**(6).
77. EFSA *Scientific Opinion on the safety assessment of the substances (butadiene, ethyl acrylate, methyl methacrylate, styrene) copolymer either not crosslinked or crosslinked with divinylbenzene or 1,3-butanediol dimethacrylate, in nanoform, for use in food contact materials*. 2015. DOI: 10.2903/j.efsa.2014.3635
78. *Verordnung (EU) 2015/174 der Kommission vom 5. Februar 2015 zur Änderung und Berichtigung der Verordnung (EU) Nr. 10/2011 über Materialien und Gegenstände aus Kunststoff, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen*. 2015.
79. EFSA *Scientific Opinion on the safety assessment of the substances, kaolin and polyacrylic acid, sodium salt, for use in food contact materials*. 2014. DOI: 10.2903/j.efsa.2014.3637
80. EC *Synoptic Document - Provisional list of monomers and additives notified to European Commission as substances which may be used in the manufacture of plastics or coatings intended to come into contact with foodstuffs*. 2005.

81. EFSA *Scientific Opinion on the safety evaluation of the substance zinc oxide, nanoparticles, uncoated and coated with [3-(methacryloxy)propyl] trimethoxysilane, for use in food contact materials*. 2015. **EFSA Journal** **2015**;**13(4)**:4063, DOI: 10.2903/j.efsa.2015.4063
82. Piringer, O., *Mathematical modelling of chemical migration from food contact materials*, in *Chemical Migration and Food Contact Materials*, K. Barnes, R. Sinclair, and D. Watson, Editors. 2007, Woodhead Publishing: Abington, England.
83. Crank, J., *The Mathematics of Diffusion*. second ed. 1975: Oxford University Press, Ely House, London W.I.
84. Adolf, F., *Über Diffusion*, in *Annalen der Physik*. 1855, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim. p. 59-86.
85. Piringer, O., *A Uniform Model for Prediction of Diffusion Coefficients with Emphasis on Plastic Materials*, in *Plastic Packaging - Interactions with Food and Pharmaceuticals*, O. Piringer and A.L. Baner, Editors. 2008, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim. p. 163 - 194.
86. Vrentas, J.S. and J.L. Duda, *Diffusion of Small Molecules in Amorphous Polymers*. *Macromolecules*, 1976. **9**: p. 785-790.
87. Vrentas, J.S., et al., *Free-Volume Theories for Self-Diffusion in PolymerSolvent Systems. 11. Predictive Capabilities*. *Journal of Polymer Science - Polymer Physics Edition*, 1985. **23**: p. 289-304.
88. Helmroth, E., et al., *Predictive modelling of migration from packaging materials into food products for regulatory purposes*. *Trends in Food Science & Technology*, 2002. **13**: p. 102-109.
89. Welle, F., *A New Method for the Prediction of Diffusion Coefficients in Poly(ethylene terephthalate)*. *Journal of Applied Polymer Science*, 2013: p. 1845-1851.
90. Bott, J., A. Störmer, and R. Franz, *A Comprehensive Study into the Migration Potential of Nano Silver Particles from Food Contact Polyolefins*, in *Chemistry of Food, Food Supplements, and Food Contact Materials: From Production to Plate*, M.A. Benvenuto, et al., Editors. 2014, American Chemical Society, ACS symposium series: Washington D.C. p. 51-70.
91. Bott, J., A. Störmer, and R. Franz, *A model study into the migration potential of nanoparticles from plastics nanocomposites for food contact*. *Food Packaging and Shelf Life*, 2014. **2(2)**: p. 73-80.
92. von Goetz, N., Fabricius, L., Glaus, R., Weitbrecht, V., Gunther, D., Hungerbuhler, K., *Migration of silver from commercial plastic food containers and implications for consumer exposure assessment*. *Food Additives and Contaminants: Part A* 2013.
93. Artiaga, G., et al., *Migration and characterisation of nanosilver from food containers by AF(4)-ICP-MS*. *Food Chem*, 2015. **166**: p. 76-85.
94. Song, H., et al., *Migration of silver from nanosilver-polyethylene composite packaging into food simulants*. *Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment*, 2011. **28(12)**: p. 1758-62.
95. Huang, Y., et al., *Nanosilver Migrated into Food-Simulating Solutions from Commercially Available Food Fresh Containers*. *Packaging Technology and Science*, 2011. **24(5)**: p. 291-297.
96. Schmidt, B., et al., *Migration of nanosized layered double hydroxide platelets from polylactide nanocomposite films*. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 2011: p. 1-11.
97. Schmidt, B., et al., *Combining asymmetrical flow field-flow fractionation with light-scattering and inductively coupled plasma mass spectrometric detection for characterization of nanoclay used in biopolymer nanocomposites*. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 2009. **26(12)**: p. 1619-27.

98. Farhoodi, M., et al., *Migration of Aluminum and Silicon from PET/Clay Nanocomposite Bottles into Acidic Food Simulant*. Packaging Technology and Science, 2013: p. n/a-n/a.
99. Blasco, C. and Y. Picó, *Determining nanomaterials in food*. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2011. **30**(1): p. 84-99.
100. Noonan, G.O., et al., *Measurement Methods to Evaluate Engineered Nanomaterial Release from Food Contact Materials*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2014. **13**(4): p. 679-692.
101. Singh, G., et al., *Measurement Methods to Detect, Characterize, and Quantify Engineered Nanomaterials in Foods*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2014. **13**(4): p. 693-704.
102. Smith, D.J., *Characterisation of Nanomaterials Using Transmission Electron Microscopy*, in *Nanocharacterisation*, J. Hutchison and A. Kirkland, Editors. 2007, RSC Publishing. p. 1-27.
103. Sharma, R., et al., *X-ray diffraction: a powerful method of characterizing nanomaterials*. Recent Research in Science and Technology, 2012. **4**(8): p. 77-79.
104. Baalousha, M., et al., *Size fractionation and characterization of natural colloids by flow-field flow fractionation coupled to multi-angle laser light scattering*. J Chromatogr A, 2006. **1104**(1-2): p. 272-81.
105. Fraunhofer, W.W., G.; Coester, C., *Asymmetrical Flow Field-Flow Fractionation and Multiangle Light Scattering for Analysis of Gelatin Nanoparticle Drug Carrier Systems*. Anal. Chem., 2004. **76**: p. 1909-1920.
106. Kammer, F.v.d., M. Baborowski, and K. Friese, *Field-flow fractionation coupled to multi-angle laser light scattering detectors: Applicability and analytical benefits for the analysis of environmental colloids*. Analytica Chimica Acta, 2005. **552**(1-2): p. 166-174.
107. Zattoni, A., et al., *Asymmetrical flow field-flow fractionation with multi-angle light scattering detection for the analysis of structured nanoparticles*. J Chromatogr A, 2009. **1216**(52): p. 9106-12.
108. Montoro Bustos, A.R., J. Ruiz Encinar, and A. Sanz-Medel, *Mass spectrometry for the characterisation of nanoparticles*. Anal Bioanal Chem, 2013. **405**(17): p. 5637-43.
109. Fabricius, A.L., et al., *ICP-MS-based characterization of inorganic nanoparticles-sample preparation and off-line fractionation strategies*. Anal Bioanal Chem, 2014. **406**(2): p. 467-79.
110. Pace, H.E., et al., *Single Particle Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry: A Performance Evaluation and Method Comparison in the Determination of Nanoparticle Size*. Environmental Science & Technology, 2012. **46**(22): p. 12272-12280.
111. Laborda, F., et al., *Selective identification, characterization and determination of dissolved silver(I) and silver nanoparticles based on single particle detection by inductively coupled plasma mass spectrometry*. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2011. **26**(7): p. 1362-1371.
112. Mitrano, D.M., et al., *Detecting nanoparticulate silver using single-particle inductively coupled plasma-mass spectrometry*. Environ Toxicol Chem, 2012. **31**(1): p. 115-21.
113. Monserud, J.H., E.K. Leshner, and J.F. Ranville, *Real time single particle-inductively coupled plasma-mass spectrometry for detection and characterization of nanoparticles*. Abstracts of Papers of the American Chemical Society, 2009. **237**.
114. Olesik, J.W. and P.J. Gray, *Considerations for measurement of individual nanoparticles or microparticles by ICP-MS: determination of the number of particles and the analyte mass in each particle*. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2012. **27**(7): p. 1143-1155.
115. Bouby, M., H. Geckeis, and F.W. Geyer, *Application of asymmetric flow field-flow fractionation (AsFIFFF) coupled to inductively coupled plasma mass spectrometry (ICPMS) to the quantitative characterization of natural colloids and synthetic nanoparticles*. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2008. **392**(7-8): p. 1447-57.

116. Bolea, E., et al., *Size characterization and quantification of silver nanoparticles by asymmetric flow field-flow fractionation coupled with inductively coupled plasma mass spectrometry*. Anal Bioanal Chem, 2011. **401**(9): p. 2723-32.
117. Poda, A.R., et al., *Characterization of silver nanoparticles using flow-field flow fractionation interfaced to inductively coupled plasma mass spectrometry*. Journal of Chromatography A, 2011. **1218**(27): p. 4219-25.
118. Meermann, B., *Field-flow fractionation coupled to ICP-MS: separation at the nanoscale, previous and recent application trends*. Anal Bioanal Chem, 2015. **407**(10): p. 2665-74.
119. Fedotov, P.S., et al., *Fractionation and characterization of nano- and microparticles in liquid media*. Anal Bioanal Chem, 2011. **400**(6): p. 1787-804.
120. Giddings, J.C., *Field-Flow Fractionation: Analysis of Macromolecular, Colloidal, and Particulate Materials*. Science, 1993. **260**: p. 1456-1463.
121. Wahlund, K.-G.G., J. Calvin *Properties of an Asymmetrical Flow Field-Flow Fractionation Channel Having One Permeable Wall*. Anal. Chem, 1987. **59**: p. 1332-1339.
122. Giddings, J.C. and M.N. Myers, *Steric Field-Flow Fractionation: A New Method for Separating 1 to 100  $\mu\text{m}$  Particles*. Separation Science and Technology, 1978. **13**(8): p. 637-645.
123. Otte, T.K., Thorsten; Moldenhauer, Evelin, *Feldflussfraktionierung – Ein universelles Trennprinzip zur Charakterisierung von Makromolekülen und Partikeln*. Analytik News vom 04.11.2010, 2010.
124. Kammer, F., et al., *Separation and characterization of nanoparticles in complex food and environmental samples by field-flow fractionation*. Trends in Analytical Chemistry, 2011. **30**(3): p. 425-436.
125. Podzimek, S., *Light Scattering, Size Exclusion Chromatography and Asymmetric Flow Field Flow Fractionation: Powerful Tools for the Characterization of Polymers, Proteins and Nanoparticles*. 2011, Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
126. Messaud, F.A., et al., *An overview on field-flow fractionation techniques and their applications in the separation and characterization of polymers*. Progress in Polymer Science, 2009. **34**(4): p. 351-368.
127. Gigault, J. and V.A. Hackley, *Observation of size-independent effects in nanoparticle retention behavior during asymmetric-flow field-flow fractionation*. Anal Bioanal Chem, 2013. **405**(19): p. 6251-8.
128. Einstein, A., *Theorie der Opaleszenz von homogenen Flüssigkeiten und Flüssigkeitsgemischen in der Nähe des kritischen Zustandes*. Annalen der Physik, 1910. **338**(16): p. 1275-1298.
129. Rayleigh, L., *The Incidence of Light upon a Transparent Sphere of Dimensions Comparable with the Wave-Length*. Proceedings of the Royal Society of London - Series a, 1910. **84**(567): p. 25-46.
130. Debye, P., *Zerstreuung von Röntgenstrahlen*. Annalen der Physik, 1915. **351**(6): p. 809-823.
131. Zimm, B.H., *The Scattering of Light and the Radial Distribution Function of High Polymer Solutions*. The Journal of Chemical Physics, 1948. **16**(12): p. 1093.
132. Andersson, M., B. Wittgren, and K.-G. Wahlund, *Accuracy in Multiangle Light Scattering Measurements for Molar Mass and Radius Estimations. Model Calculations and Experiments*. Analytical Chemistry, 2003. **75**: p. 4279-4291.
133. Johnson, C., S, Jr. and D.A. Gabriel, *Laser Light Scattering*, ed. E.J. Bell. 1994, Mineola, N.Y.: Dover Publications Inc.
134. Tadros, T., *General Principles of Colloid Stability and the Role of Surface Forces*, in *Colloids and Interface Science Series, Vol. 1*  
*Colloid Stability: The Role of Surface Forces, Part I*. 2007, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.

135. Ruckenstein, E. and M. Manciu, *Nanodispersions: Interactions, Stability, and Dynamics*. 2010: Springer Science+Business Media, LLC.
136. Du, H., et al., *Preparation and assembly of nanosized polymer latex*. *Materials Chemistry and Physics*, 1997. **51**: p. 277-282.
137. Guo, Z., et al., *Dispersion of nano-TiN powder in aqueous media*. *Journal of Alloys and Compounds*, 2010. **493**(1-2): p. 362-367.
138. Metin, C.O., et al., *Stability of aqueous silica nanoparticle dispersions*. *Journal of Nanoparticle Research*, 2010. **13**(2): p. 839-850.
139. Wäsche, R.S., G., *Influence of the Dispersants in Gelcasting of Nanosized TiN*. *Journal of the European Ceramic Society*, 1997. **17**: p. 421-426.
140. Widegren, J.B., L., *The effect of acids and bases on the dispersion and stabilization of ceramic particles in ethanol*. *Journal of the European Ceramic Society*, 2000. **20**: p. 659-665.
141. Flörke, O.W., et al., *Silica*, in *Ullman's Encyclopedia Of Industrial Chemistry*. 2012, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
142. Rupprecht, H.F., H., *Exakte Bezeichnung für Kieselsäure-Produkte*. *Pharm. Ind.*, 1990. **52**(4): p. 492-495.
143. [OECD] *SIDS initial assessment profile, CAS-Number: 1333-86-4, Carbon Black*. OECD Agreed Conclusion, 2006.
144. [ICBA] *Carbon Black User's Guide - Safety, Health, & Environmental Information*. 2004.
145. Environment Canada, H.C. *Carbon Black - Draft Screening Assessment for the Challenge*. 2011.
146. Watson, A.Y. and P.A. Valberg, *Carbon Black and Soot: Two Different Substances*. *AIHAJ - American Industrial Hygiene Association*, 2001. **62**(2): p. 218-228.
147. Yoo, J., et al., *Graphene oxide and laponite composite films with high oxygen-barrier properties*. *Nanoscale*, 2014. **6**(18): p. 10824-30.
148. *Laponite performance additives*. Product Information Sheet.
149. United States-Environmental Protection Agency (EPA), *State of Science - Literature Review: Everything Nanosilver and More*. 2010.
150. Wiley, B., Y. Sun, and Y. Xia, *Synthesis of Silver Nanostructures with Controlled Shapes and Properties*. *Accounts of Chemical Research*, 2007. **40**: p. 1067–1076.
151. [SCENIHR] *Risk Assessment of Products of Nanotechnologies*. 2009.
152. Hadrup, N., et al., *Subacute oral toxicity investigation of nanoparticulate and ionic silver in rats*. *Archives of Toxicology*, 2012. **86**(4): p. 543-551.
153. Tavares, P., et al., *Evaluation of genotoxic effect of silver nanoparticles (Ag-Nps) in vitro and in vivo*. *Journal of Nanoparticle Research*, 2012. **14**(4): p. 1-7.
154. Lee, Y.J., et al., *Ion-release kinetics and ecotoxicity effects of silver nanoparticles*. *Environmental Toxicology & Chemistry*, 2012. **31**(1): p. 155-159.
155. Xiu, Z.M., et al. *Negligible particle-specific antibacterial activity of silver nanoparticles*. *Nano Letters*, 2012. **12**, 4271-4275 DOI: 10.1021/nl301934w
156. Buzea, C., I.I. Pacheco, and K. Robbie, *Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity*. *Biointerphases*, 2007. **2**(4): p. MR17-MR71.
157. *DIN EN 1186-15:2002-12 (Norm): Werkstoffe und Gegenstände in Kontakt mit Lebensmitteln - Kunststoffe - Teil 15: Alternative Prüfverfahren zur Bestimmung der Migration in fettige Prüflebensmittel durch Schnellextraktion in Iso-Octan und/oder 95 %iges Ethanol; Deutsche Fassung EN 1186-15:2002*. 2002.
158. *RICHTLINIE 97/48/EG DER KOMMISSION vom 29. Juli 1997 zur zweiten Änderung der Richtlinie 82/711/EWG des Rates über die Grundregeln für die Ermittlung der Migration von*

- Materialien und Gegenständen aus Kunststoff, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen.* 97/48/EG, 1997.
159. Aureli, F., et al., *Investigating agglomeration and dissolution of silica nanoparticles in aqueous suspensions by dynamic reaction cell inductively coupled plasma-mass spectrometry in time resolved mode.* Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2012. **27**(9): p. 1540.
160. Elias, L., et al., *Migration of nanosilica particles in polymer blends.* Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics, 2008. **46**(18): p. 1976-1983.
161. Avasarala, B. and P. Haldar, *Electrochemical oxidation behavior of titanium nitride based electrocatalysts under PEM fuel cell conditions.* Electrochimica Acta, 2010. **55**(28): p. 9024-9034.
162. Lin, Q.B., et al., *Migration of Ti from nano-TiO-polyethylene composite packaging into food simulants.* Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment, 2014: p. 1-7.
163. Park, Y., W. Kim, and D. Lee, *Size analysis of industrial carbon blacks by sedimentation and flow field-flow fractionation.* Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2003. **375**(4): p. 489-495.
164. Bae, J., et al., *Application of flow field-flow fractionation (FIFFF) for size characterization of carbon black particles in ink.* Microchemical Journal, 2012. **104**: p. 44-48.
165. IARC *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans.* Carbon Black, Titanium Dioxide and Talc, 2010. **93**,
166. Hanley, H.J.M., C.D. Muzny, and E. Manias, *A SANS Study of Organoclay Dispersions.* International Journal of Thermophysics, 2001. **22**(5).
167. Li, L., et al., *Dispersion stability of organoclay in octane improved by adding nonionic surfactants.* Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2012. **415**: p. 180-186.
168. Barbas, J.M., A.V. Machado, and J.A. Covas, *Evolution of dispersion along the extruder during the manufacture of polymer-organoclay nanocomposites.* Chemical Engineering Science, 2013. **98**: p. 77-87.
169. Beauvalet, M.S., et al., *Influence of glycerol on morphology and properties of polylactide/montmorillonite nanocomposites.* Polymer Bulletin, 2012. **70**(6): p. 1863-1873.
170. Kittler, S., *Synthesis, solubility and biological activity of silver nanoparticles - Ph.D. thesis,* in *Institute of Inorganic Chemistry.* 2009, University of Duisburg-Essen.
171. V. A. Alexandrova, et al., *Silver-carboxymethyl chitin nanocomposites.* Polymer Science Series A, 2013. **55**(2): p. 107-114.
172. Koch, M., et al., *Use of a silver ion selective electrode to assess mechanisms responsible for biological effects of silver nanoparticles.* Journal of Nanoparticle Research, 2012. **14**(2).
173. Shannon, R.D., *Revised Effective Ionic Radii and Systematic Studies of Interatomic Distances in Halides and Chalcogenides.* Acta Crystallographica, 1976. **A32**: p. 751-767.
174. Jokar, M., *Suitability of Food Simulants for Migration Study of Silver Nanoparticles,* in *Poster, 6th International Symposium of Food Packaging - Scientific Developments Supporting Safety and Innovation, 16.-18. November, Barcelona.* 2016.
175. Su, Q.-Z., et al., *Effect of antioxidants and light stabilisers on silver migration from nanosilver-polyethylene composite packaging films into food simulants.* Food Additives & Contaminants: Part A, 2015. **32**(9): p. 1561-1566.
176. Glover, R.D., J.M. Miller, and J.E. Hutchison, *Generation of Metal Nanoparticles from Silver and Copper Objects: Nanoparticle Dynamics on Surfaces and Potential Sources of Nanoparticles in the Environment.* ACS Nano, 2011. **5**(11): p. 8950-8957.
177. Simon, P., Q. Chaudhry, and D. Bakos, *Migration of engineered nanoparticles from polymer packaging to food – a physicochemical view.* Journal of Food and Nutrition Research, 2008. **47**(3): p. 105-113.

- 
178. Diehl, H. and F. Welle, *How to determine functional barrier performance towards mineral oil contaminants from recycled cardboard*. Food Packaging and Shelf Life, 2015. **5**: p. 41-49.
179. Hampe, D. and O. Piringer, *Studies on the permeation of inorganic salts through plastic films*. Food Addit Contam, 1998. **15**(2): p. 209-16.

## 9 Anhang

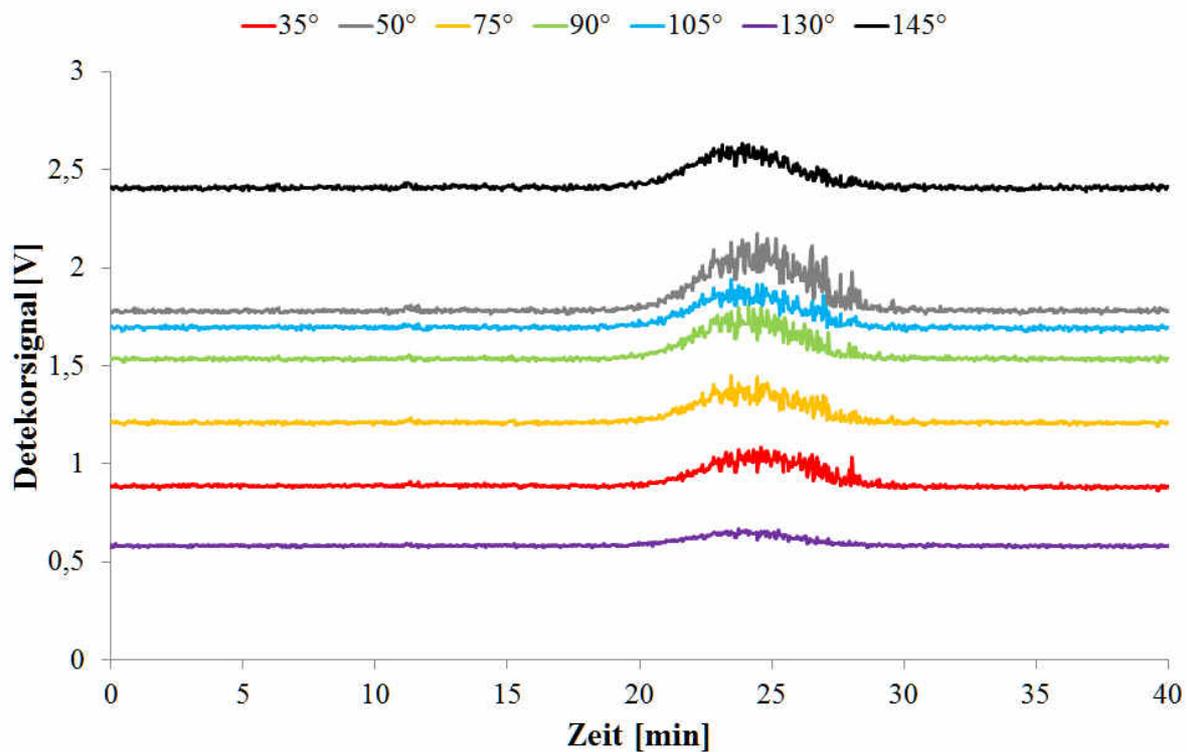


Abbildung A1: Darstellung aller Detektorsignal eines 7-Winkel MALS Detektors. Injektion einer  $10 \text{ ng ml}^{-1}$  Printex 80 Carbon Black Dispersion.

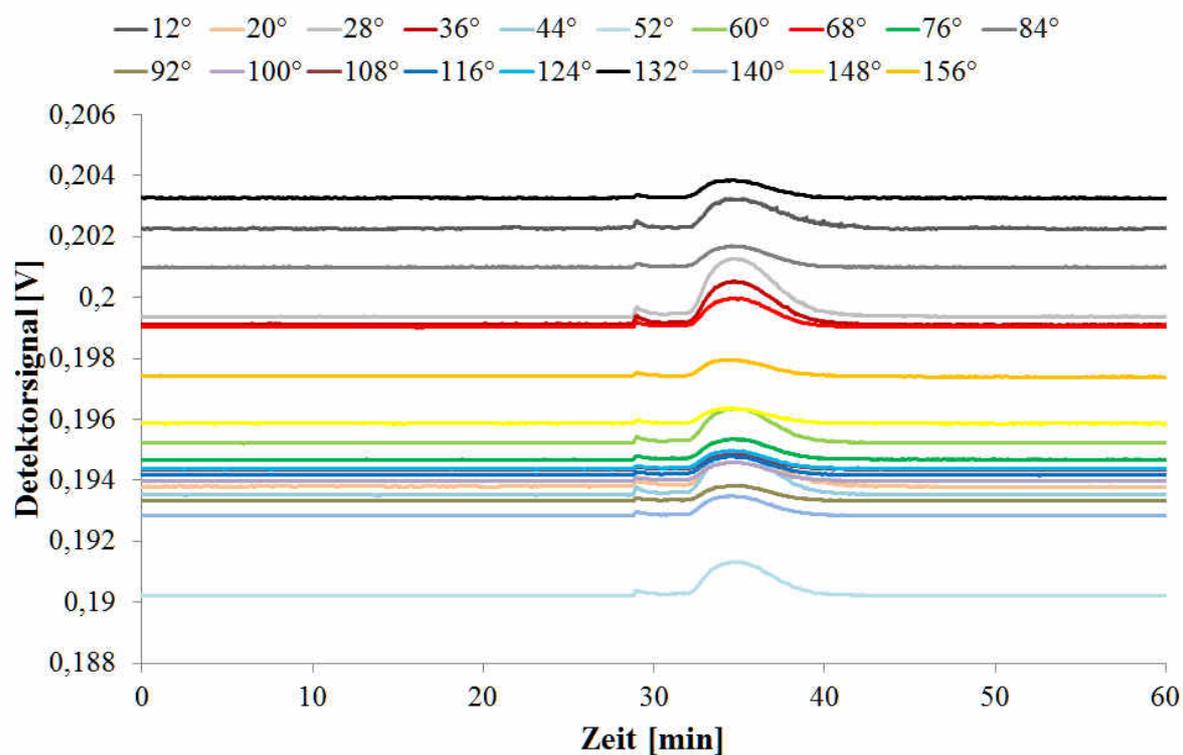


Abbildung A2: Darstellung aller Detektorsignal eines 21-Winkel MALS Detektors (mit Ausnahme des 7° Detektors). Injektion einer  $125 \text{ ng ml}^{-1}$  HMDZ behandelten SAS Dispersion.

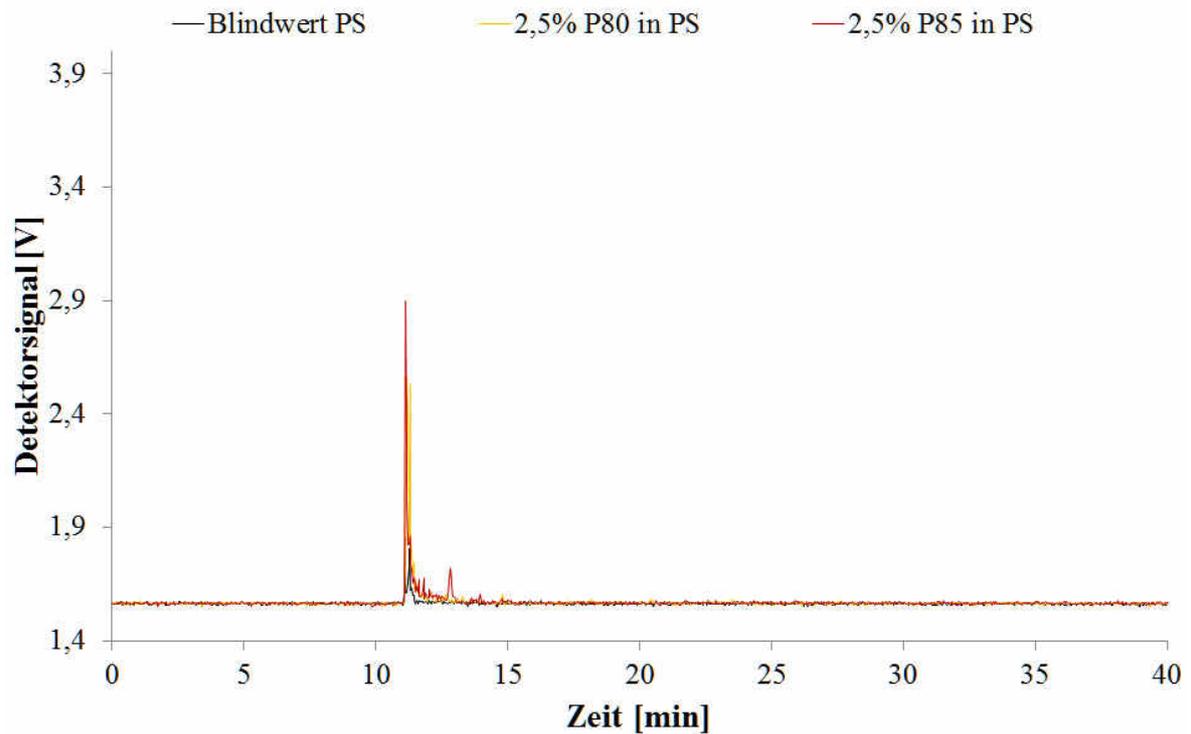
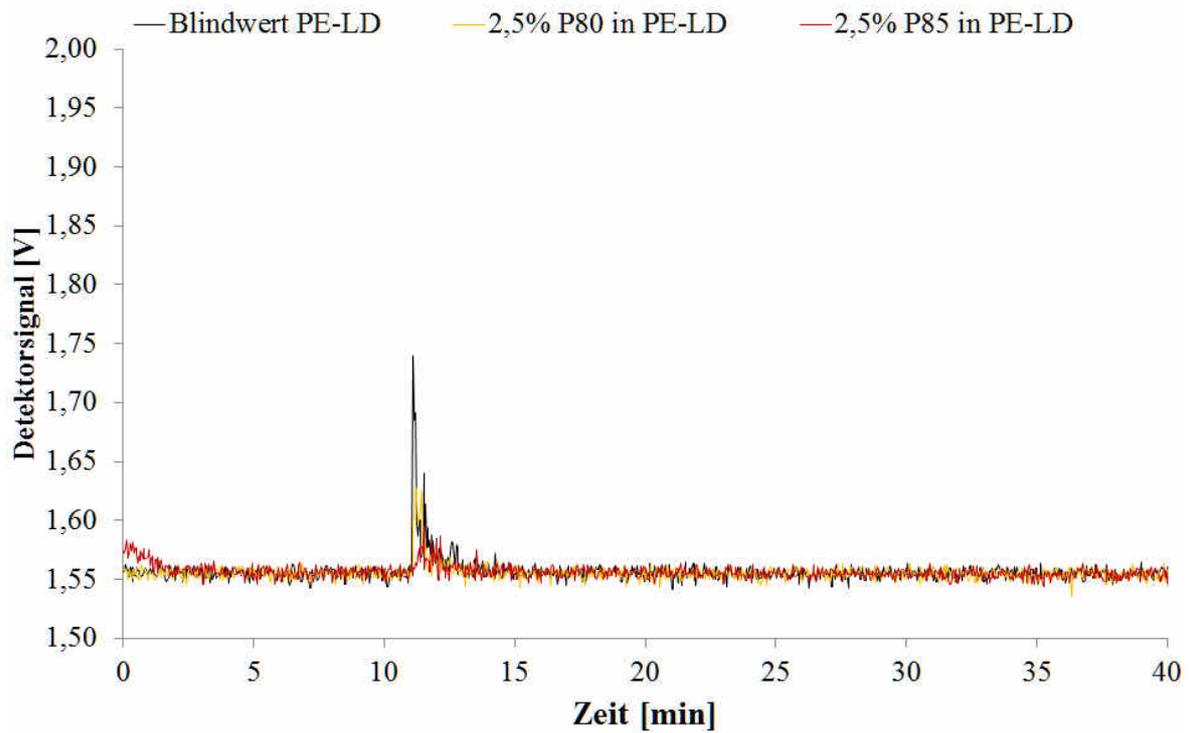


Abbildung A3: AF4 Fraktogramme eines P80-(gelb) und P85-Nanokomposits (rot) sowie des Polymer Blindwerts (schwarz), welche 10 d bei 60 °C in 95 % v/v Ethanol gelagert wurden. Oben: PE-LD, unten: PS

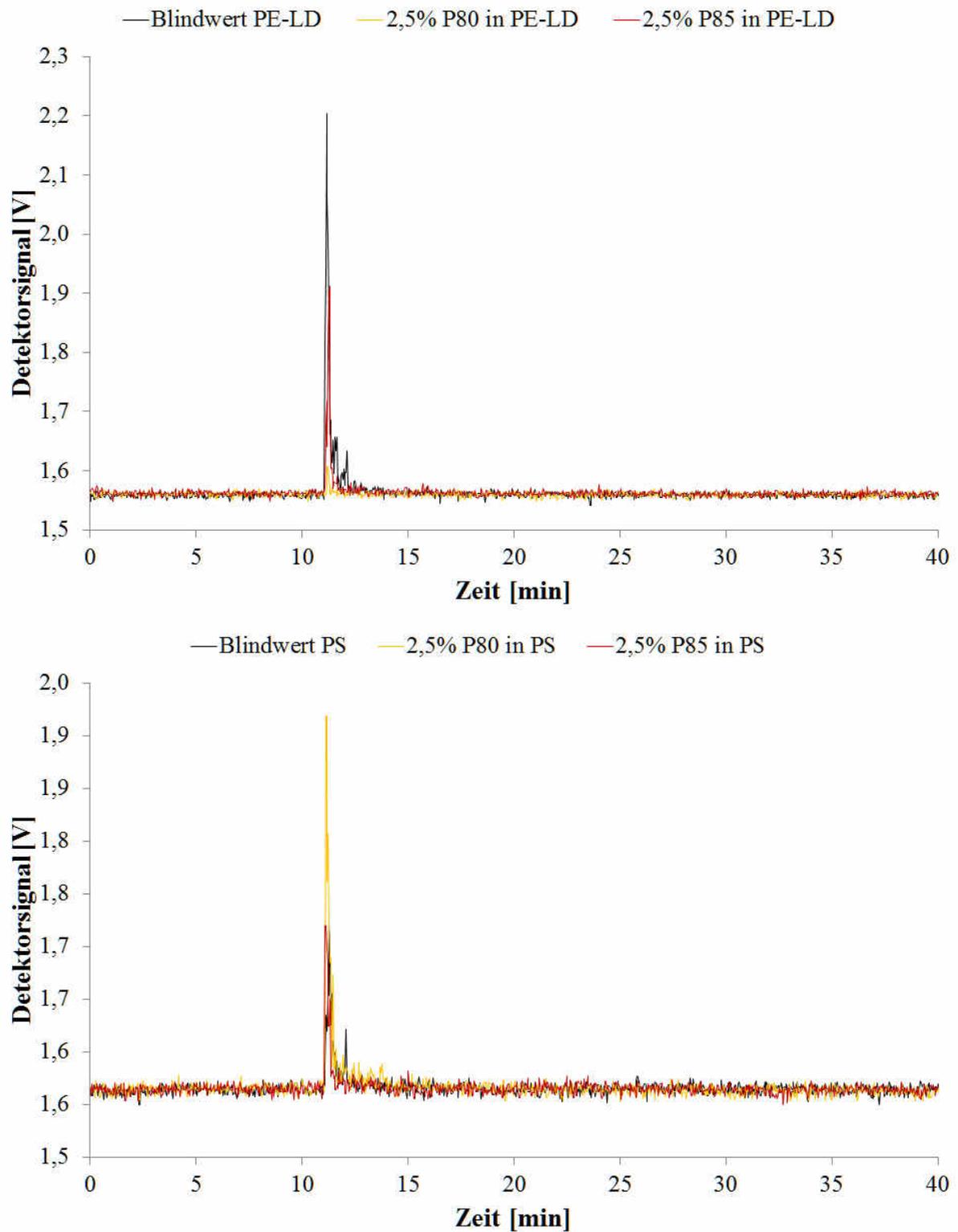


Abbildung A4: AF4 Fraktogramme eines P80-(gelb) und P85-Nanokomposits (rot) sowie des Polymer Blindwerts (schwarz), welche 24 h bei 40 °C in Isooktan gelagert wurden. Oben: PE-LD, unten: PS

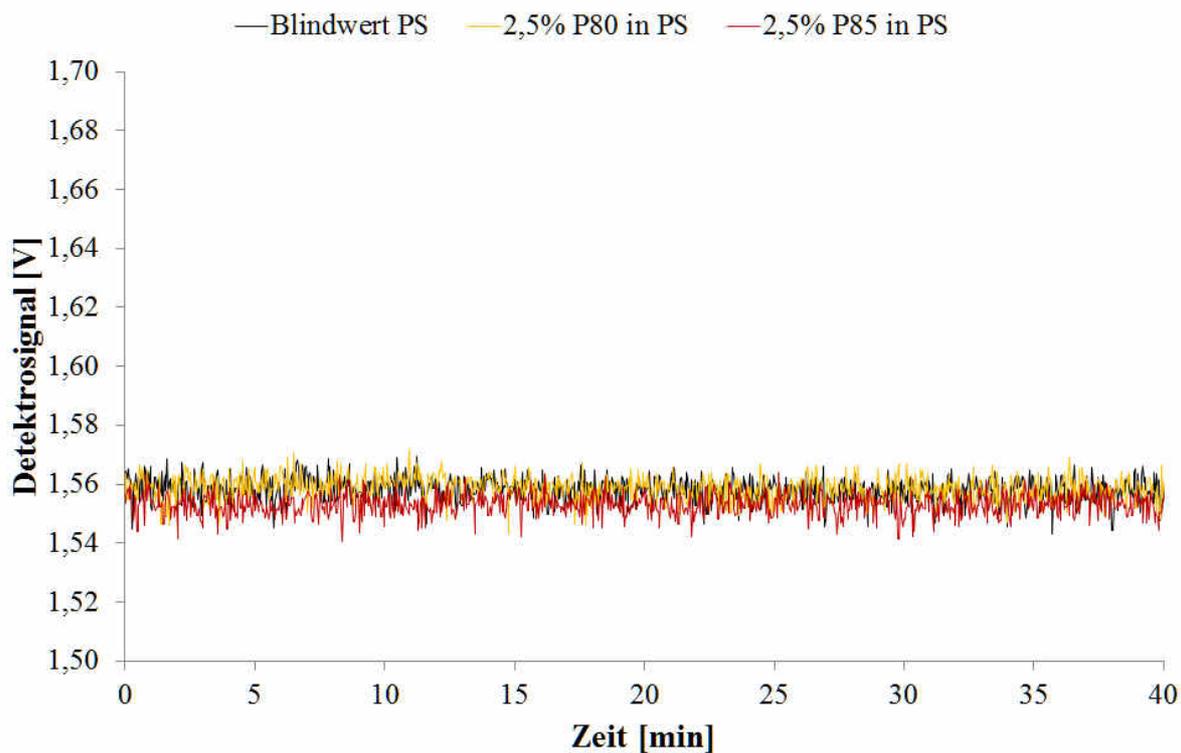
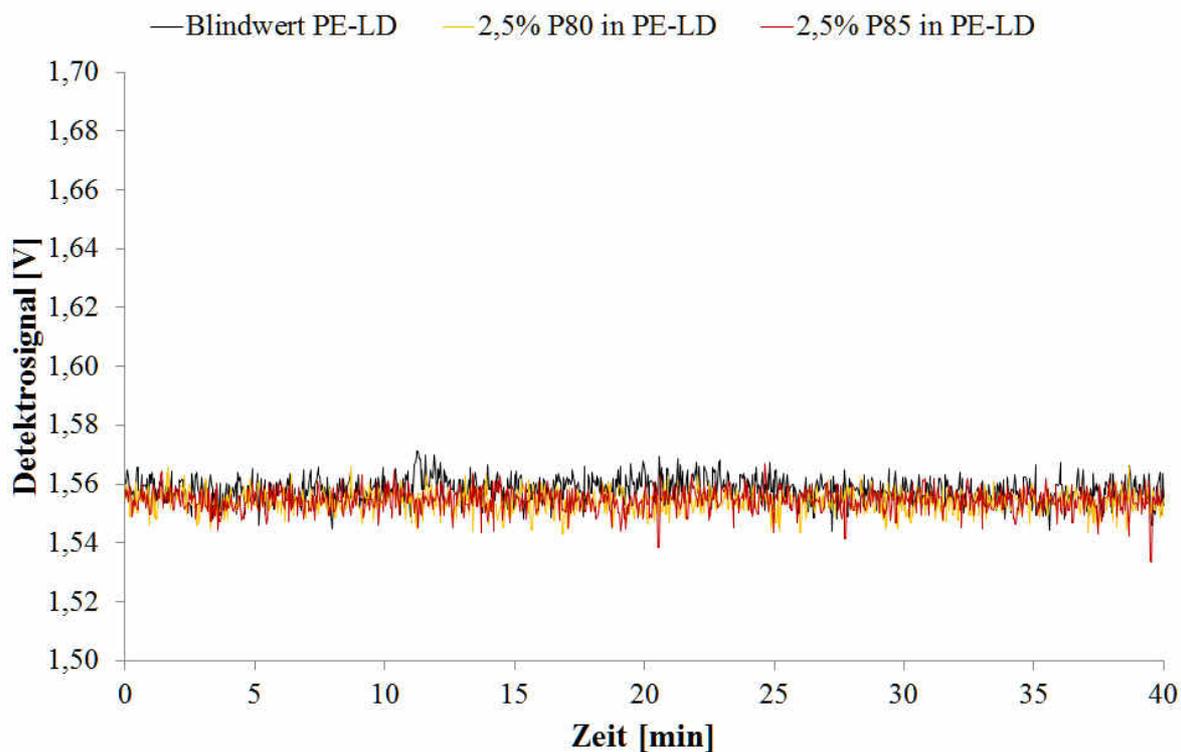


Abbildung A5: AF4 Fraktogramme eines P80-(gelb) und P85-Nanokomposits (rot) sowie des Polymer Blindwerts (schwarz), welche 10 d bei 60 °C in 3 % v/v Essigsäure gelagert wurden. Oben: PE-LD, unten: PS