

Bestimmung von Kohlenwasserstoffen aus Mineralöl (MOSH und MOAH) in Lebensmittelverpackungen mittels online LC-GC-FID

Stand: 10.02.2025

1 Zweck und Anwendungsbereich

Diese Prüfvorschrift legt ein Verfahren zur Bestimmung von Kohlenwasserstoffen aus Mineralöl (MOSH und MOAH) in Lebensmittelkontaktmaterialien aus Papier, Pappe oder Faserguss mittels LC-GC-FID im Arbeitsbereich für MOAH und MOSH von 10 bis 170 bzw. 950 mg/kg fest.

2 Definitionen

Folgende Kohlenwasserstoffe können im Rahmen dieser Prüfvorschrift analytisch erfasst werden.

- **Mineral oil saturated hydrocarbons (MOSH):** gesättigte Kohlenwasserstoffe aus Mineralöl. Diese bestehen aus Paraffinen (offenkettigen Kohlenwasserstoffen) sowie Naphthenen (cyclischen Kohlenwasserstoffen), die meistens hoch alkyliert sind und entweder direkt aus dem Mineralöl stammen oder durch die Hydrierung von Aromaten sowie weiteren Umwandlungsprozessen bei der Raffination gebildet wurden.
- **Polyolefin oligomeric saturated hydrocarbons (POSH):** gesättigte Kohlenwasserstoffe, welche als Oligomere aus Polyolefin-Kunststoffen (Polyethylen, Polypropylen) und verwandten Produkten in Lebensmittel übergehen können.
- **Poly alpha olefines (PAO):** Isoparaffine mit kurzen Haupt- und langen Seitenketten. Ausgangssubstanzen sind entweder kurzkettige Polyethylene (z. B. Hexen oder Octen) oder olefinische Fraktionen, die aus dem Steam-Cracking-Verfahren gewonnen und destillativ in relativ enge Flüchtigkeitsbereiche getrennt werden. Niedrigmolekulare PAO sind beispielsweise Hauptbestandteil synthetischer Motorenschmieröle oder von im Bereich der Lebensmittelproduktion eingesetzten Schmierölen; höhermolekulare PAO (Harze) werden für Klebstoffe eingesetzt (Hotmelts bestehen weitgehend aus PAO).

ANMERKUNG: Mit dem in dieser Prüfvorschrift beschriebenen analytischen Verfahren ist eine chromatographische Trennung von MOSH, POSH und PAO nicht möglich. Diese werden als Summenparameter erfasst.

- **Mineral oil aromatic hydrocarbons (MOAH):** Kohlenwasserstoffe aus Mineralöl, die aus überwiegend hoch alkylierten mono- und/oder polyaromatischen Ringen bestehen. In teilhydrierten Mineralölen kommen auch gesättigte und aromatische Ringe nebeneinander vor. Kohlenwasserstoffe mit mindestens einem aromatischen Ring werden den MOAH zugerechnet, auch wenn sie zum weit überwiegenden Teil aus gesättigten Kohlenstoffen bestehen.

3 Prinzip

Diese Methode beschreibt die Extraktion und quantitative Bestimmung von Kohlenwasserstoffen aus Mineralölen (MOSH und MOAH) sowie Kunststoffen (POSH, PAO) in Lebensmittelkontaktmaterialien aus Papier, Pappe oder Faserguss.

Die quantitative Bestimmung der beiden Fraktionen wird mittels großvolumiger on-column Injektion auf eine unbelegte Vorsäule (Retention Gap) mittels online-LC-GC-FID durchgeführt. Dabei erfolgt eine vorherige Fraktionierung in MOSH und MOAH durch Flüssigchromatografie (LC) und die anschließende Auftrennung dieser Fraktionen durch Gaschromatographie (GC), wo sie mittels Flammenionisationsdetektor (FID) detektiert werden.

4 Reagenzien und Lösungen

4.1 *n*-Hexan (Hexan; CAS Nr. 110-54-3; ≥ 99,0 %)

4.2 Dichlormethan (DCM; CAS Nr. 75-09-2; ≥ 99,5 %)

4.3 Ethanol (EtOH; CAS Nr. 64-17-5; ≥ 99,9 %)

4.4 Reinstwasser (Typ I, DIN ISO 3696)

4.5 Ethanol/*n*-Hexan-Gemisch (4.3 und 4.1 v/v 1:1)

Es wird eine Lösung aus Ethanol und *n*-Hexan in einem Mischungsverhältnis von 1:1 (v/v) arbeitstäglich frisch hergestellt.

4.6 Interne Standardlösung

Tabelle 1: Zusammensetzung des analytischen MOSH/MOAH Standards in Toluol

Substanz	CAS Nr.	Konzentration [µg/ml]	Abkürzung	Fraktion
<i>n</i> -Undekan	1120-21-4	300	n-C11	MOSH, POSH, PAO
<i>n</i> -Tridekan	629-50-5	150	n-C13	
Bicyclohexyl	92-51-3	300	Cycy	
5α-Cholestan	481-21-0	600	Cho	
1-Methylnaphthalin	90-12-0	300	1MN	MOAH
2-Methylnaphthalin	91-57-6	300	2MN	
1,3,5-Tri- <i>tert</i> -butylbenzol	1460-02-2	300	TBB	
Perylen	198-55-0	600	Per	
Pentylbenzol	538-68-1	300	5B	

4.7 Alkanmix -Standard-Lösung in Hexan (1 µg/ml)

Zum Beispiel C7-C40 gesättigte *n*-Alkane Standardlösung (34 Substanzen) oder Retentionszeit Standard mit 10 *n*-Alkanen (C10-C50).

5 Geräte und Hilfsmittel

5.1 Hilfsmittel

- 500 ml Glasflasche
- Aluminiumfolie
- Braunglas Vials 1,5 ml mit Inserts und Deckel mit PTFE (Polytetrafluorethylen)-Septum
- Glas Pasteurpipetten
- Glas-Spritze (20 µl)
- diverse Glasvollpipetten
- diverse Messkolben
- Pipettierhilfe mit Filter
- diverse Probengläser (z. B. 5 ml)
- Zentrifugengläser mit Schraubverschluss (z. B. 23 ml und 45 ml)

5.2 Geräte

- Messgerät: online-LC-GC-FID
- Laborzentrifuge (5000 U/Min; optional)
- Trockenschrank (maximale Temperatur mind. 400°C) / Muffelofen

- Vakuum-Rotationsverdampfer
- Präzisionswaage, Analysenwaage

6 Durchführung

6.1 Minimierung und Kontrolle von Kohlenwasserstoff Blindwerten

Es müssen sämtliche Arbeitsschritte auf mögliche Kontaminationen überprüft werden. Arbeitstäglich müssen Blindwerte aller verwendeten Standards, Lösungsmittel und Laborgefäße durch Mitführung von geeigneten Blindproben in der Routine erfasst werden. Damit soll sichergestellt werden, dass bei der Aufarbeitung der Proben keine Kontamination auftritt. Als kritische Punkte in der Analytik von Kohlenwasserstoffen sind u. a. die Nutzung von Handcremen (Laborpersonal), Schliiffetten, Rotationsverdampfern und Spritzen zu nennen. Diverse Laborglaswaren (z. B. GC-Vials oder Pasteurpipetten) werden häufig in Kartonverpackungen oder Polyolefin-Folien geliefert. Daher müssen derart verpackte und andere nichtvolumetrische Laborglaswaren vor Gebrauch gegebenenfalls mind. bei 380°C über 48 h in einem Trockenschrank ausgeheizt werden.

Es muss sichergestellt werden, dass bereits ausgeheizte Laborglaswaren bis zu deren Gebrauch vor einer erneuten Kontamination durch Kohlenwasserstoffe geschützt (z. B. in ausgeheizter Aluminiumfolie verpackt) aufbewahrt werden. Alle anderen Laborglaswaren, die nicht bei hohen Temperaturen ausgeheizt werden dürfen (Messkolben, Zentrifugengläser usw.) werden vor der Verwendung mindestens drei Mal mit *n*-Hexan gespült. Die Glasspritzen, welche beispielsweise zur Zugabe von internen Standards herangezogen werden, sollen vor und nach der Benutzung mindestens 10-mal mit *n*-Hexan gespült werden.

6.2 Probenaufarbeitung

Probenzerkleinerung

Ein repräsentativer Anteil der Papier-, Faserguss- oder Kartonprobe muss zerkleinert werden (die Verwendung von Handschuhen und einer Schere vermeidet hier den Hautkontakt). Die resultierenden Papier- oder Kartonstücke sollen dabei eine Kantenlänge kleiner 2 cm aufweisen. Die so vorbereitete Probe muss anschließend in einem geeignet inerten Glas- oder Metallgefäß (z. B. 500 ml Glasflasche) homogenisiert werden. Aus Kartonverpackungen (z. B. Schachteln) sollte die Probe derart herausgeschnitten werden, dass keine Kleberanteile (z. B. Hotmelt-Kleber) enthalten sind. Die aus dem Kleber stammenden Kohlenwasserstoffe hoher Molekularmasse können die gaschromatografische Bestimmung empfindlich stören. Von jeder Probe wird mindestens eine Doppelbestimmung sowie eine Blindwertbestimmung (ohne Einwaage) pro Ansatzserie durchgeführt.

Frischfaser

Von den homogenisierten Proben werden 2 g Papier, Faserguss oder Karton auf $\pm 0,1$ g genau in ein 45 ml Zentrifugenglas mit Schraubdeckel (mit PTFE-Dichtung) eingewogen. Darauf werden 20 μ l der internen Standardlösung (4.6) pipettiert. Anschließend werden 10 ml Ethanol/*n*-Hexan Lösung (4.5) zugegeben und gut geschüttelt. Dieses Gemisch wird für zwei Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Vor der Entnahme der Extraktionslösung wird das Glasgefäß nochmals gut geschüttelt. Anschließend werden ca. 4–6 ml Extrakt mittels Pasteurpipette in ein 23 ml Zentrifugenglas mit Schraubdeckel überführt und mit 10 ml Reinstwasser (4.4) geschüttelt, um das Ethanol abzutrennen. Im Falle einer schlechten Phasentrennung werden die Extrakte 10 min bei ca. RZB = 1710 x g zentrifugiert. Mittels Pasteurpipetten werden dann ca. 4 ml der organischen Phase in ein Probenglas überführt. Für die Messung an der LC-GC-FID werden die Extrakte in 1,5 ml Vials mit Insert und PTFE-Septum abgefüllt.

Recyceltes Material

Wenn es sich bei der Probe um recyceltes Material handelt, werden 1 g homogenisierte Probe auf $\pm 0,1$ g genau in ein 23 ml Zentrifugenglas mit Schraubdeckel (mit PTFE-Dichtung) eingewogen. Anschließend wird die Probe analog zu Frischfaser Karton bzw. Papier angesetzt.

6.3 Messbedingungen am online-LC-GC-FID-System

Die Messungen können mit online-LC-GC-FID Instrumenten verschiedener Hersteller durchgeführt werden. Die angeführten Bedingungen sind beispielhaft und müssen an das jeweilige System angepasst werden.

LC-Methodenparameter

Tabelle 2: LC-Laufmittel-Gradient

Zeit [min]	A <i>n</i> -Hexan [%]	B DCM [%]	Fluss [ml/min]
0,00	100,0	0,0	0,050
0,01	100,0	0,0	0,300
1,50	65,0	35,0	0,300
6,00	65,0	35,0	0,300
6,10	0,0	100,0	0,500
15,00	0,0	100,0	0,500
15,10	100,0	0,0	0,500
25,00	100,0	0,0	0,500
25,10	100,0	0,0	0,300
30,00	100,0	0,0	0,300

LC-Säule: Allure Silica, 250 mm × 2,1 mm, 5 µm
 Injektionsvolumen: je nach Konzentration 10–100 µl, standardmäßig 50 µl
 Fraktion Start (MOSH): 2 min
 Fraktion Start (MOAH): 4,4 min
 Fraktion Länge: jeweils 1,5 min
 Analysendruck: 150 kPa (constant Pressure Mode)
 Abdampfdruck: variabel (z. B. 84 kPa für MOSH und 72 kPa für MOAH)
 Backflush Start: 6 min
 Backflush Länge: 9 min

GC-Methodenparameter

Tabelle 3: GC-Ofentemperatur-Programm

Heat Rate [°C/min]	Value [°C]	Hold Time [min]	Run Time [min]
	60	8	8
20	370	6,5	30

GC-Vorsäule: Retention Gap; 10 m, 0,53 mm
 GC-Säule: Quervernetztes Dimethylpolysiloxan (100%) unpolar; 0,25 mm × 15 m;
 0,25 µm
 Injektor: on column
 Transfervolumen: 450 µL
 Trägergas: Wasserstoff

Einstellungen am Detektor (FID):

Temperatur:	350°C
Wasserstoff Fluss:	30 ml/min
Luft-Durchfluss:	300 ml/min
Durchfluss-Modus:	konstant Makeup
Makeup-Durchfluss:	25 ml/min
Makeup Gas:	Stickstoff

*ANMERKUNG 1: Die unbelegte GC-Vorsäule muss geringe Retentionskraft aufweisen, d. h. darf bei erhöhter Elutionstemperatur keine Peakverbreiterung verursachen (z. B. für eine Serie von *n*-Alkanen).*

ANMERKUNG 2: Temperaturbeständige Trennsäulen mit geringem Säulenbluten sollten bevorzugt werden.

Integration der Chromatogramme

Integration der Fläche von breiten Peakhaufen („Humps“) mit senkrechten Schnitten. Abzug von überstehenden Signalen.

6.4 Durchführung der Messung

Die Blindproben, Probenextrakte, Kohlenwasserstoff-Standardlösungen und Kontrolllösungen werden unter identischen gaschromatographischen Bedingungen analysiert.

Zwischen den Standard- und Probenmessungen ist ein Lösungsmittelblank (Hexan) zu analysieren. Das resultierende Chromatogramm wird zur Basislinienbestimmung der nachfolgenden Chromatogramme der Blindwertprobe, der Probenextrakte, und der Kontrolllösungen vor der Integration verwendet.

7 QS-Proben

7.1 Interne Standards

Die eingesetzten internen Standards haben zwei Funktionen: Einige dienen der Quantifizierung der Kohlenwasserstoffe, andere der Absicherung der hier beschriebenen Methode.

Zur Ermittlung der Geräteperformance wird in jeder Sequenz eine interne Standardlösung analysiert. Diese Lösung wird mittels einer 1:100 Verdünnung der ISTD-Lösung (4.6) mit *n*-Hexan hergestellt, und ist 6 Monate bei -30°C unter Lichtausschluss haltbar. Das Injektionsvolumen beträgt 50 µl.

MOSH und POSH Fraktion

Folgende Standards sind für die MOSH- und POSH-Fraktion relevant:

- Bicyclohexyl (Cycy) dient als interner Standard zur Quantifizierung der MOSH/POSH Fraktion. Es kommt in Mineralölen und Kunststoffen kaum in relevanten Mengen vor.
- *n*-Tridekan (*n*-C13) soll die Trennung zwischen *n*-C13 und Cycy absichern. Coeluiertes *n*-C13 aus der Probe würde überhöhte Cycy-Peakflächen erzeugen, und damit zu einer Unterschätzung der MOSH/POSH Mengen bei der Quantifizierung führen. Diese Trennung ist auf GC-Säulen mit einer stationären Phase aus Polysiloxanen mit 5% Phenylsubstitution unvollständig. Zudem unterstützt *n*-C13 die Identifizierung von Cycy als internem Standard, da Cycy und *n*-C13 als charakteristisches Paar erscheinen. *n*-C13 wird in halber Konzentration zugefügt, damit die Signale eindeutig zugeordnet werden können.
- Das noch flüchtigere *n*-Undekan (*n*-C11) dient als „Wächter“: Bei Abdampfverlusten in der Probenaufarbeitung oder bei der Einspritzung ins GC-System ist davon auszugehen, dass *n*-C11 in höherem Ausmaß verloren geht als Cycy. Die Peakfläche von *n*-C11 soll daher gegenüber Cycy nicht signifikant reduziert sein. Wenn die Fläche von Cycy größer ist als jene von *n*-C11, kann dies aber auch auf eine Coelution von Cycy mit einer probeneigenen Substanz zurückzuführen sein.
- In Proben mit geringer Belastung im Bereich von *n*-C28 steht auch 5 α -Cholestan (Cho) als Vergleich zur Verfügung. Cho dient aber vor allem der Absicherung der MOSH/MOAH-Trennung durch die Flüssigchromatografie.

MOAH-Fraktion

Folgende Standards sind für die MOAH-Fraktion relevant:

- 1- und 2-Methylnaphthalin (1-MN und 2-MN) werden als interne Standards zur Quantifizierung der MOAH-Fraktion mit gleicher Konzentration zugesetzt. Sie werden als Paar eluiert und sind damit leicht zu identifizieren, auch wenn die Retentionszeiten wegen ggf. variablen Toluolanteilen in der eingespritzten Lösung geringfügig schwanken können. Die beiden Peaks sollen die gleiche Fläche aufweisen. Andernfalls zeigt das größere Signal Coelution mit einer Probenkomponente an, d. h. das kleinere Signal wird für die Auswertung verwendet.
- Pentylbenzol (5B) wird als „Wächter“ für Verluste von flüchtigen Komponenten eingesetzt (analog *n*-C11).
- Tri-*tert*-Butylbenzol (TBB) wird zur Absicherung der MOSH/MOAH-Trennung während der Flüssigchromatographie eingesetzt (Anfang der MOAH-Fraktion).
- Perylen markiert den Abschluss der MOAH-Fraktion und überwacht damit die Retentionskraft der Flüssigchromatographie.

Qualitätskontrollprobe

Für die analytische Qualitätskontrolle soll ein geeignetes Mineralöl (z. B. ein auf dem Markt erhältliches Mineralöl mit gut detektierbarem Signal, welches über eine längere Zeit stabil ist.) zur Überprüfung der Trennleistung bzgl. der aromatischen und aliphatischen Mineralölbestandteile arbeitswöchentlich und möglichst bei jeder Sequenz mitgeführt werden. Dabei werden die bestimmten prozentualen Anteile (Wiederfindung) an MOSH und MOAH in eine entsprechende Regelkarte eingetragen.

8 Integration der Chromatogramme

Ein großer Teil der Integration muss manuell vorgenommen werden (z. B. Festlegung der Basislinie und Integration aufsitzender Signale, die abgezogen werden müssen). Dies erfolgt über folgende Schritte:

1. Die Basislinie aus einem Blindwert-Chromatogramm wird über das auszuwertende Chromatogramm gelegt (Overlay-Chromatogramm).
2. Die Festlegung der Integrations-Schnitte für die Molekularmassenbereiche erfolgt mittels einer Messung von 1 µg/ml Alkanmix-Standard Lösung (0) in *n*-Hexan auf dem entsprechenden Kanal analog zur JRC Guidance¹.
3. Die Gesamtflächen dieser Molekularmassenbereiche werden integriert.
4. Die nicht den MOAH zuzurechnenden Komponenten in der MOAH-Fraktion (z. B. Diisopropylnaphthalin; DIPN) werden als Aufsetzer integriert und von der Gesamtfläche abgezogen.
5. Zugefügte interne Standards werden identifiziert, integriert und von der integrierten Gesamtfläche subtrahiert. Dabei sollte eine Verifizierung durchgeführt werden (Vergleich der Flächen der Standards).
6. Die integrierten Flächen werden über den jeweiligen internen Standard quantifiziert. Da für alle MOSH/POSH und MOAH eine annähernd gleiche massenspezifische FID Response, die linear von der Menge der eluierenden Mineralölkohlenwasserstoffe abhängt, zu Grunde gelegt wird (dies muss für den jeweiligen GC-FID mittels Kalibrierung verifiziert werden), werden für die Berechnungen der bestimmten MOSH/POSH und MOAH Gehalte keine Responsefaktoren herangezogen.

ANMERKUNG: Alle Chromatogramme sollten visuell auf korrekte Integration überprüft werden. Die Schnitte der Integration sollten aus dem Chromatogramm ersichtlich sein.

¹

S. Bratinova, P. Robouch, E. Hoekstra, *Guidance on sampling, analysis and data reporting for the monitoring of mineral oil hydrocarbons in food and food contact materials – 2nd Edition*, Publications Office of the European Union, Luxembourg, 2023, doi:10.2760/963728, JRC133174

9 Berechnung und Auswertung

Die Berechnung der bestimmten MOSH/POSH- und MOAH-Gesamtgehalte sowie ggf. der einzelnen Fraktionen erfolgt analog zu JRC Guidance¹.

$$w_{MOxH} = \frac{A_{MOxH} \times m_{ISTD} \times 1000}{A_{ISTD} \times m}$$

A_{MOxH} Signalfäche (MOSH oder MOAH) nach Basislinien-Korrektur und Abzug der aufsitzenden Signale.

A_{ISTD} Peakfläche des Internen Standards (Cycy/2MN)

m_{ISTD} Masse des zugegebenen Internen Standards (Cycy/2MN) zur Probe in mg.

m Einwaage der Probe in g

x A oder S.

10 Angabe der Ergebnisse

Die Ergebnisse werden als Gesamt-MOSH- und Gesamt-MOAH-Gehalt angegeben:

- total MOSH (C10-C35) in mg/kg
- total MOAH (C10-C35) in mg/kg

Ergebnisse werden inklusive Messunsicherheit mit zwei signifikanten Stellen angegeben (erweiterte Messunsicherheit, $k=2$, ~95% Konfidenzintervall). Die Angabe der Messunsicherheiten erfolgt in der gleichen Einheit wie die der Messergebnisse.

11 Erläuterungen und Hinweise

Diese Methode wurde im Nationalen Referenzlabor für Stoffe, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen etabliert und validiert.

Alle in dieser Methode aufgeführten Handelsnamen oder sich auf einzelne Anbieter beziehende Produktbeschreibungen dienen lediglich als Information zur Unterrichtung der Anwender dieser Methode und bedeuten keine Anerkennung des genannten Produktes durch das BfR. Gleichwertige Produkte können verwendet werden, wenn sie nachweisbar zu vergleichbaren oder besseren Ergebnissen führen.

¹

S. Bratinova, P. Robouch, E. Hoekstra, *Guidance on sampling, analysis and data reporting for the monitoring of mineral oil hydrocarbons in food and food contact materials – 2nd Edition*, Publications Office of the European Union, Luxembourg, 2023, doi:10.2760/963728, JRC133174