

Styrololigomere aus Lebensmittel-Bedarfsgegenständen

Nachweis und Bestimmung von Styrololigomeren in Lebensmitteln und Simulanzien

T. Funke*, C. Goldbeck, T. Püth, S. Kunen

Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Münsterland-Emscher-Lippe, Postfach 1980, 48007 Münster

Einleitung:

Polystyrol nimmt unter den Verpackungsmaterialien für Lebensmittel schon lange eine große Rolle ein und ist im direkten Lebensmittelkontakt bei zahlreichen Produkten vertreten, so z.B. als Einleger für Wurst- und Käsepackungen, in Menüschaalen, thermischen Isolationsschichten und Joghurtbechern. Die Bedeutung der Kunststoffe auf Styrolbasis nimmt derzeit sogar zu, weil nicht zuletzt der aus Bisphenol-A hergestellte Kunststoff Polycarbonat (PC) in Verruf geraten ist. Daher wird auch auf Kunststoff-Alternativen auf Styrolbasis ausgewichen, wie z.B. Polystyrol (PS), Styrol-Acrylnitril (SAN) und Acrylnitril-Butadien-Styrol (ABS).

Aufgrund der breiten Anwendung und des massenhaften, täglichen Gebrauchs der Kunststoffe auf Styrolbasis mit Lebensmittelkontakt kommt der diesbezüglichen Frage nach einer GMP-konformen Herstellungspraxis (GMP-Konformität) eine große Bedeutung zu.

Nach Art. 5 Abs. 2 der GMP-VO (EG) Nr. 2023/2006 [1] sind seitens der Unternehmer die Ausgangsmaterialien so auszuwählen, dass sie vorab festgelegten Spezifikationen entsprechen, die gewährleisten, dass das Material oder der Gegenstand den für sie geltenden Regeln genügt. Diese Spezifikationen sind zu dokumentieren und den zuständigen Behörden auf Verlangen zugänglich zu machen (Art. 7 Abs. 3).

Gemäß Artikel 19 Kunststoff-VO (EU) Nr. 10/2011 [2] i.V.m. GMP-VO muss der Produktverantwortliche vor dem Inverkehrbringen seine Produkte gemäß international anerkannten wissenschaftlichen Grundsätzen über die Risikobewertung beurteilen und überprüfen, ob diese dem Artikel 3 der Lebensmittel-Bedarfsgegenstände-VO (EG) Nr. 1935/2004 [3] genügen und nicht geeignet sind:

- a) die menschliche Gesundheit zu gefährden oder
- b) eine unvermeidbare Veränderung der Zusammensetzung der Lebensmittel herbeizuführen. In diese Überprüfungen sind nicht nur die Edukte und Produkte, sondern auch alle möglichen

Reaktionsprodukte (NIAS, not intentionally added substances) wie die Styrol-Oligomere einzubeziehen und diese mindestens auf ihre Genotoxizität zu prüfen.

Das BfR ist zu dem Ergebnis gekommen, dass im Fall der Styrol-Oligomere derzeit nicht von einem genotoxischen Potential auszugehen ist und somit Übergänge von bis zu 50 µg/kg je Verbindung noch als unbedenklich angesehen werden können (Stellungnahme 023/2016 des BfR vom 21. April 2016).

Übergänge von Substanzen oberhalb von Mengen, die aufgrund toxikologischer Bewertungen als sicher beurteilt werden, können als unvertretbar i.S.v. Art. 3 Abs. 1b der Verordnung (EG) Nr. 1935/2004 angesehen werden, da über die gesundheitlichen Auswirkungen des Verzehrs von derart kontaminierten Lebensmitteln nichts bekannt ist und ein derartiges Lebensmittel daher auch nicht als unbedenklich eingestuft werden kann.

Styrol-Produkte, bei denen Migrationsuntersuchungen im Ergebnis zu einer Überschreitung des o.g. Wertes führen, stehen im Widerspruch zur guten Herstellungspraxis und dürfen gemäß Artikel 4 d Verordnung (EU) Nr. 10/2011 nicht in Verkehr gebracht werden.

Wird der Wert von 50 µg/kg in einem real verpackten Lebensmittel überschritten, wird für den Bedarfsgegenstand ein Verkehrsverbot nach Artikel 4 a Verordnung (EU) Nr. 10/2011 ausgesprochen. Darüber hinaus ist es nach § 31 Abs. 3 LFGB verboten, Lebensmittel in den Verkehr zu bringen, die unter Verwendung eines Bedarfsgegenstandes hergestellt oder behandelt worden sind, der nicht den Maßgaben von Artikel 3 Abs. 1 Verordnung (EG) Nr. 1935/2004 entspricht.

Im Gegensatz zur Bestimmung der Oligomere im Polystyrol, wo mit Gehalten im höheren mg/kg Bereich zu rechnen ist (Tabelle 1), erfordert die Analytik zur Bestimmung der Oligomere im Lebensmittel bzw. in Lebensmittelsimulanzien eine besondere Art der Probenvorbereitung sowie der Selektivität und Sensitivität der Analysenmethode.

Daher war es das Ziel, eine Analysenmethode zu entwickeln, die universell einsetzbar ist und einen hohen Grad an Automatisierbarkeit, Präzision, Empfindlichkeit und Robustheit aufweist.

Gehalte in Polystyrol (PS)

Name	Formel	Molekulargewicht	Gehalt im Polymer
Monomer Styrol	C ₈ H ₈	Molekulargew.: 104,2 g/mol	bis zu ≈ 3.000 mg/kg PS
Dimere (SD1- SD4)	C ₁₆ H ₁₆	Molekulargew.: 208,2 g/mol	bis zu ≈ 1.000 mg/kg PS
Trimere (ST1 –ST5)	C ₂₄ H ₂₄	Molekulargew.: 312,4 g/mol	bis zu ≈ 20.000 mg/kg PS

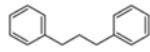
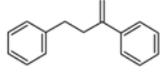
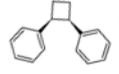
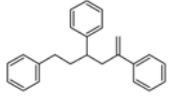
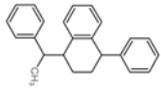
Tabelle 1: Gefundene Gehalte an Styrol-Monomerem und -Oligomeren in geschäumtem Polystyrol (Genualdi, S., Nyman, P. and Begley, T.; 2014)

Methodik:

Die quantitative Bestimmung der Polystyrol-Oligomere beruht auf einer LC-GC-MS/MS Messung, mit der sich Styrol-Oligomere analytisch gesichert bereits in sehr niedrigen Konzentrationen (NWG 1 bis 60 ng/kg entsprechend 0,001 bis 0,06 µg/kg) in Lebensmitteln und Lebensmittel-Simulanzien, insbesondere in Ölen und fetthaltigen Lebensmitteln nachweisen lassen.

Nach der Abtrennung von Fettkomponenten (hauptsächlich Triglyceriden) und anderen möglichen Matrixkomponenten unter Verwendung einer Normalphasenchromatographie (NPLC) werden die Dimere und Trimere des Polystyrols fraktioniert. Nach Überleitung der Fraktionen über ein Interface in den Gaschromatographen erfolgt die chromatographische Trennung und Quantifizierung der Analyten unter Verwendung eines Triple-Quad-Detektors. Die direkte Kopplung des GC-QqQ-Systems mit der NPLC ermöglicht eine sehr hohe Empfindlichkeit. Darüber hinaus ist keine zeit- und kostenintensive Probenvorbereitung zum Abtrennen der Matrixbestandteile der Lebensmittelsimulanzien (Öle, z. B. Sonnenblumenöl) erforderlich.

Die hier vorgestellte Methode erfasst die in Tabelle 2 dargestellten Substanzen.

<i>Name</i>	<i>CAS Nr.</i>	<i>Abkürzung</i>	<i>Struktur</i>
1,3-Diphenylpropan	1081-75-0	SD-1	
2,4-Diphenyl-1-buten	16606-47-6	SD-3	
trans-1,2-Diphenylcyclobutan	20071-09-4	SD-4	
2,4,6-Triphenyl-1-hexen	18964-53-9	ST-1	
1a-Phenyl-4a-(1-phenylethyl)- 1,2,3,4-tetrahydronaphthalen	26681-79-8	ST-2	
1a-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)- 1,2,3,4-tetrahydronaphthalen		ST-3	
1e-Phenyl-4a-(1-phenylethyl)- 1,2,3,4-tetrahydronaphthalen		ST-4	
1e-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)- 1,2,3,4-tetrahydronaphthalen		ST-5	

Tab. 2: Strukturen und Abkürzungen ausgewählter Styrol-Dimere (SD) und -Trimere (ST) (Ohyama et al., 2001)

Chemikalien und Reagenzien:

- n-Hexan SupraSolv® für Gaschromatographie ECD+FID
- Dichlormethan SupraSolv® für Gaschromatographie ECD+FID
- Ethanol, Uvasol® für Spektroskopie
- Referenzsubstanzen: Alle oben aufgeführten Dimere und Trimere wurden über Wako Chemicals GmbH, Neuss bezogen

(Anm.: Zusätzlich kann das Monomere Styrol (CAS: 100-42-5) sowie 2-Methylstyrol (CAS: 611-15-4) zur Quantifizierung mit eingesetzt werden.)

- Tenax®; Modifiziertes Polyphenylenoxid (MPPPO), 60 - 80 mesh, Tenax® TA,
- 10 % Vol. Ethanol-Lösung (v/v)
- 50 % Vol. Ethanol-Lösung (v/v)

Anmerkung: Für die Quantifizierung des Trimeren ST-2, d.h. des 1a-Phenyl-4a-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydronaphthalens gibt es z.Z. keine verfügbare Referenzsubstanz. Aus diesem Grund wird die Summe aller vier vorkommenden Isomere als Gesamtgehalt Trimere ST2-ST5 bestimmt und zur Quantifizierung des o.g. Trimeres (ST-2) die berechneten Gehalte der drei anderen Trimere von diesem Gesamtgehalt subtrahiert.

- Stammlösungen der Dimere und Trimere; c = 100 µg/mL Hexan (Einzellösungen der Referenzsubstanzen)
- verdünnte Stammlösung 1; c = 5 µg/mL Hexan (Zusammenführung der Einzellösungen)
- verdünnte Stammlösung 2; c = 250 ng/mL Hexan
- Interne Standardlösung 1 (ISTD1):

1-Methylnaphthalene (90-12-0), 300 µg/mL

2-Methylnaphthalene (91-57-6), 300 µg/mL

n-Pentylbenzene (538-68-1), 300 µg/mL

Perylene (198-55-0), 600 µg/mL

1,3,5-Tri-*tert*-butylbenzene (1460-02-2), 300 µg/mL

- Interne Standardlösung 2(ISTD2): Verdünnung von ISTD1; c = 30 µg/mL Hexan
- Interne Standardlösung 3(ISTD3): Verdünnung von ISTD2; c= 3,0 µg/mL Hexan (für Proben, bzw. Öl-Migrate, Tenax-Migration)
- Interne Standardlösung 4 (ISTD4): Verdünnung von ISTD2; c = 3 µg/ml Ethanol (für Proben; für Ethanol-Migrate)

- Kalibrierreihe für Öl-Migrate und Tenax-Übergänge:

Für die Bestimmung der Öl-Migrate und Tenax-Extrakte wird eine 6-Punkt-Kalibrierung in einem Arbeitsbereich von 0,25 ng/ml bis 5,0 ng/ml angesetzt.

Für die Kalibrierung werden je 10 µl, 20 µl, 50 µl, 100 µl, 150 µl und 200 µl der verdünnten Stammlösung 2 in einen 10 ml Messkolben pipettiert. Nach Zugabe von je 10 µl ISTD2 wird der Messkolben mit Hexan bis zur Marke aufgefüllt.

- Kalibrierreihe für Ethanol-Migrate (10 .% Vol. und 50 % Vol.) :

Für die Bestimmung der Ethanol-Migrate wird eine 6-Punkt-Kalibrierung in einem Arbeitsbereich von 5,0 ng/ml bis 100,0 ng/ml angesetzt.

Für die Kalibrierung werden je 10 µl, 20 µl, 50 µl, 100 µl und 200 µl der verdünnten Stammlösung 1 in einen 10 ml Messkolben pipettiert. Nach Zugabe von je 10 µl ISTD2 wird der Messkolben mit Hexan bis zur Marke aufgefüllt.

Geräte und Hilfsmittel:

- HPLC-GC Kopplung mit MS-Triplequad-Detektor:

HPLC System für Normalphasenanwendung mit binärer Pumpe und Variablen Wellenlängendetektor(VW) -Detektor, hier: Agilent 1100 HPLC;

LC/GC-Interface, hier: Axel Semrau Chronect Interface

GC/MS, hier: Gaschromatograph Bruker GC 456 mit EVOQ-TripleQuad (QqQ)-MS-Detektor

HPLC-Trennsäule: Restek Allure Silica 250mm * 2,1 mm; ID 5 µm

Retention Gap: 10 m x 0,53 mm ID unbelegte Metallvorsäule, z.B. Siltek (Restek Art Nr.: 566455)

GC-Trennsäule: Restek RXI-5ms (Art. Nr.: 13423); 30 m * 0,25 mm ID * 0,25 µm Filmdicke

Trägergas: Helium

Durchführung:

Probenvorbereitung/Migration:

Die Migration erfolgt gemäß den Vorgaben der Kunststoffverordnung (Verordnung (EU) Nr. 10/2011).

Da die Kapazität der HPLC-Kieselgelsäule die maximale Menge an Fett begrenzt, darf die absolute Menge an Fett pro Einwaage nicht mehr als 20 mg betragen.

Bedarfsgegenstände mit Lebensmittelkontakt aus aufgeschäumtem Polystyrol; Migration mit Öl bzw. Miglyol:

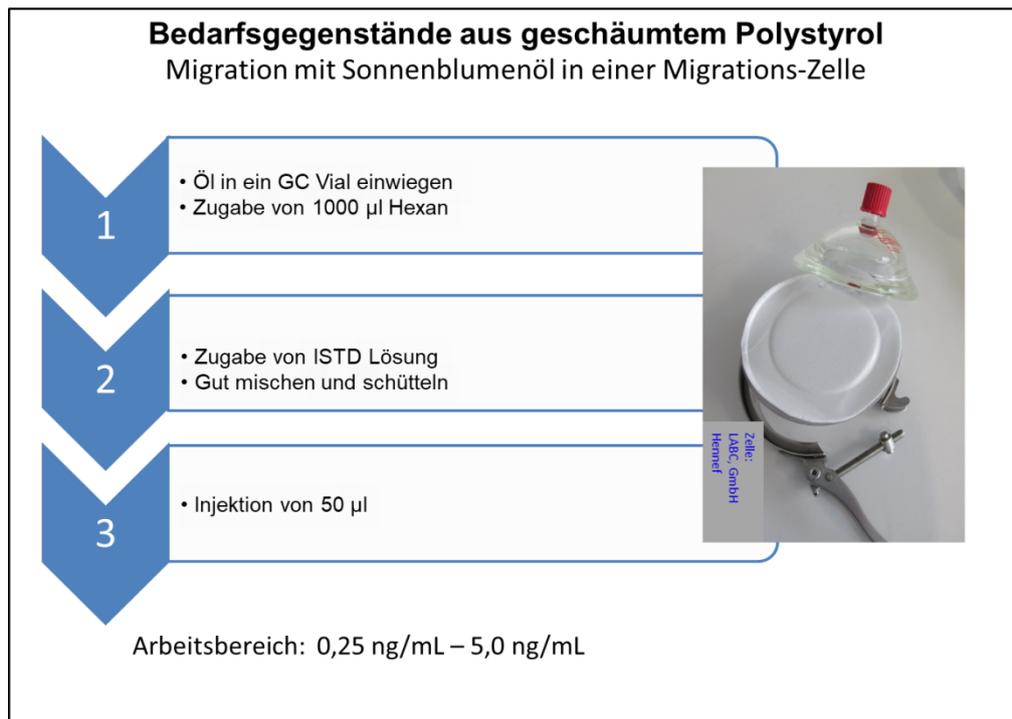


Abb. 1 : Fließschema Probenaufarbeitung zur Bestimmung der Polystyrol-Oligomere nach Migration mit Sonnenblumenöl

Bedarfsgegenstände mit Lebensmittelkontakt aus Polystyrol; Migration mit 10 % Vol. Ethanol bzw. 50.% Vol Ethanol:

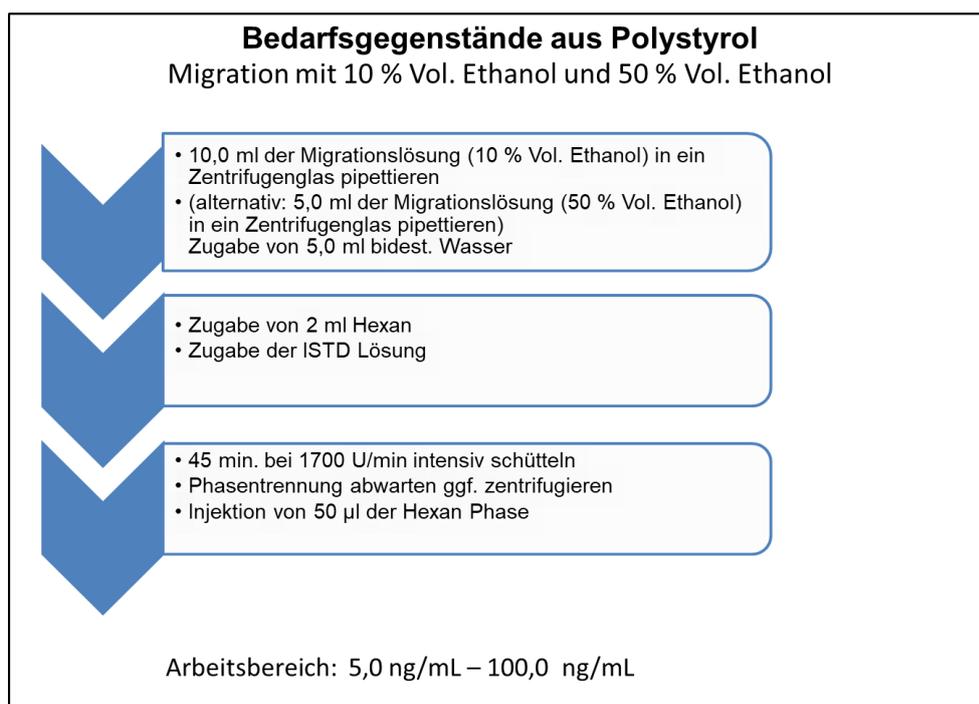


Abb. 2 : Fließschema Probenaufarbeitung zur Bestimmung der Polystyrol-Oligomere nach Migration mit 10 % Vol. Ethanol und 50 % Vol. Ethanol

Bedarfsgegenstände mit Lebensmittelkontakt aus Polystyrol Tenax® Migration:

Die Migration der Polystyrol Oligomere erfolgt mit Hilfe von modifiziertem Polyphenylenoxid (MPPO), bezeichnet als Tenax®, analog der DIN EN 14338.

Tenax® dient als Simulanz für fetthaltige Lebensmittel und wird überwiegend zur Bestimmung von Übergängen über die Gasphase durchgeführt.

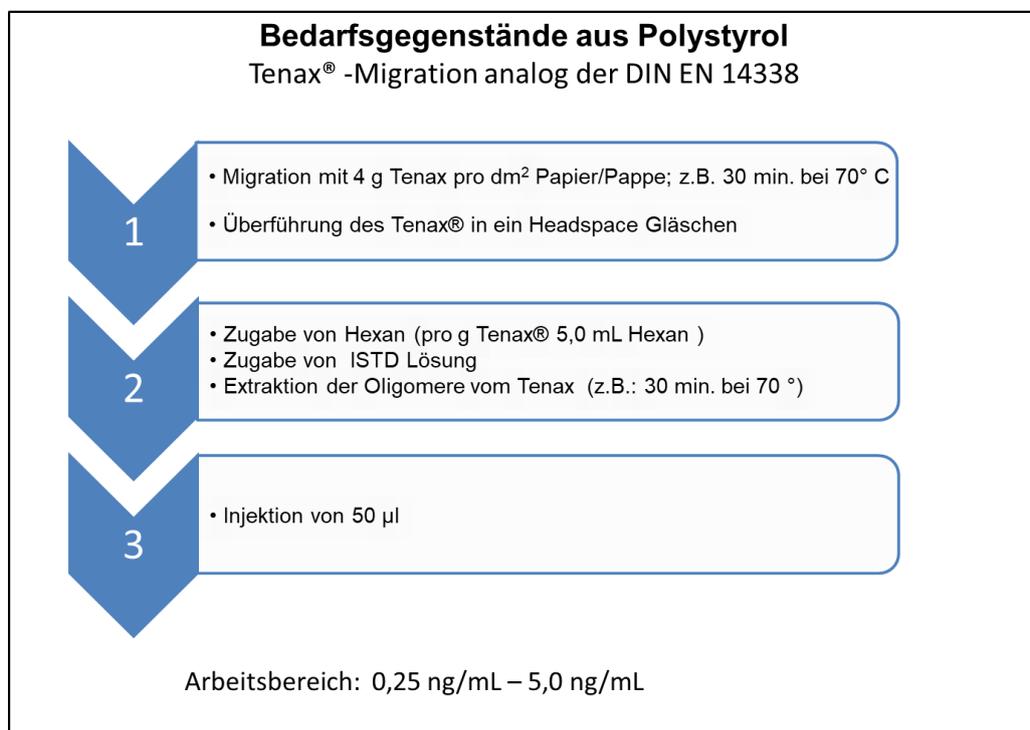


Abb. 3 : Fließschema Probenaufarbeitung zur Bestimmung der Polystyrol-Oligomere nach Tenax - Migration

Chromatographische Trennung und Detektion:

Nach durchgeführter Probenaufarbeitung werden die Hexan-Extrakte der Quantifizierung mittels HPLC/GC-MS-Kopplung zugeführt. Einen Überblick über die einzelnen Komponenten des Analysensystems zeigen die Abbildungen 4 und 5.

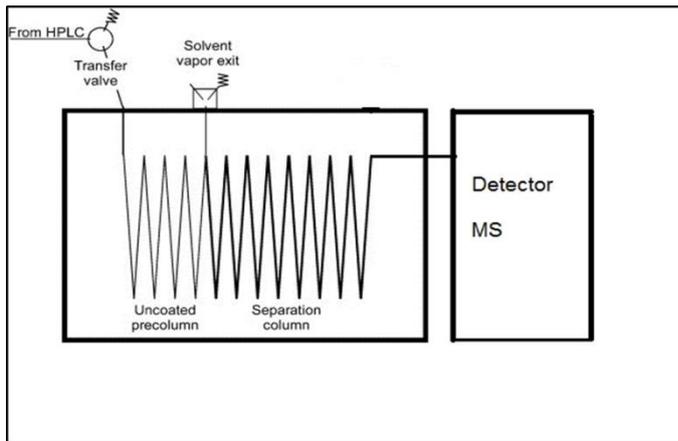


Abb. 4: Aufbau des Analysensystems insbesondere Kopplung zwischen HPLC und GC

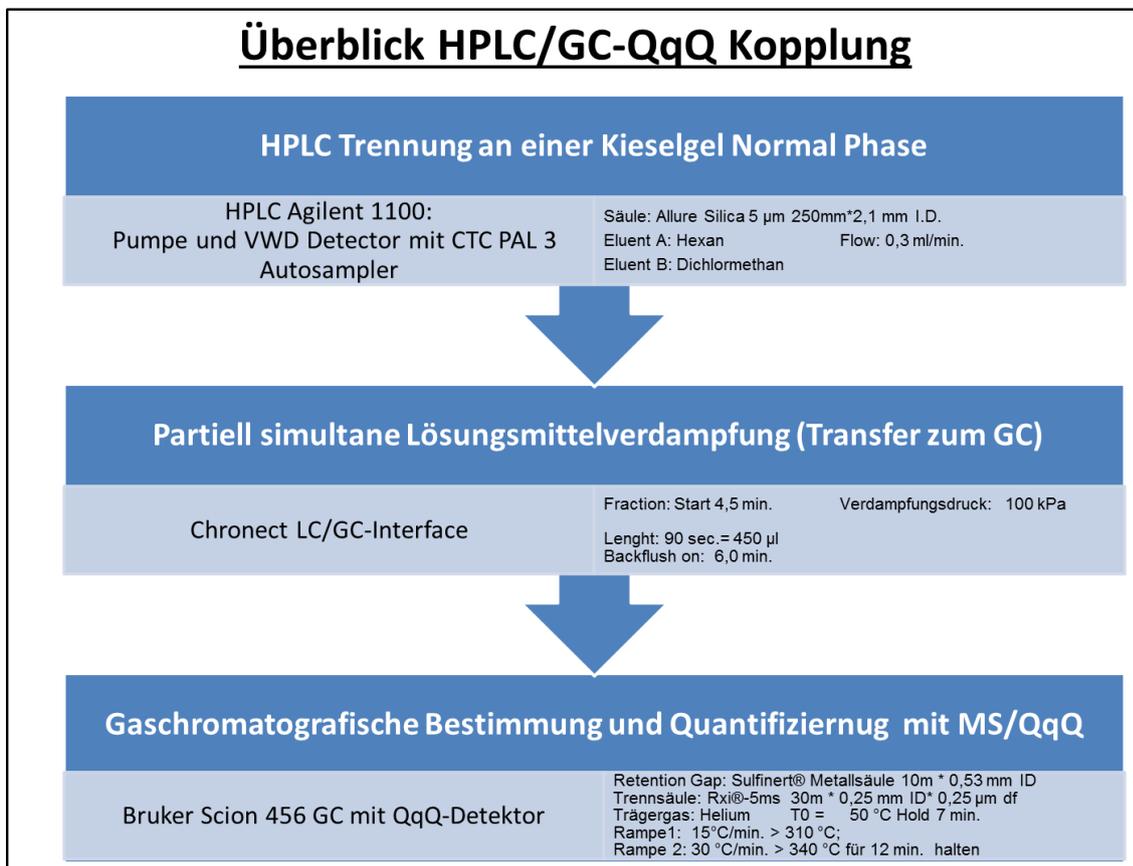


Abb. 5: Schematischer Aufbau der LC/GC- QqQ Kopplung

Die Abtrennung der Polystyrol-Di- und Trimere von der Matrix erfolgt auf einer HPLC-Kieselgelsäule. In Abb. 6 sind die HPLC-Chromatogramme der einzelnen Analyten im Overlay-Modus dargestellt. Die Fraktion des Zeitfensters von 4,5 bis 6,0 min. wird mithilfe der partiell simultanen Lösungsmittelverdampfung online in den Gaschromatographen transferiert.

Hier findet die chromatographische Trennung und anschließende Quantifizierung der Analyten statt. Die optimierten Bedingungen und Parameter für die einzelnen Komponenten sind ebenfalls in Abb. 4 dargestellt.

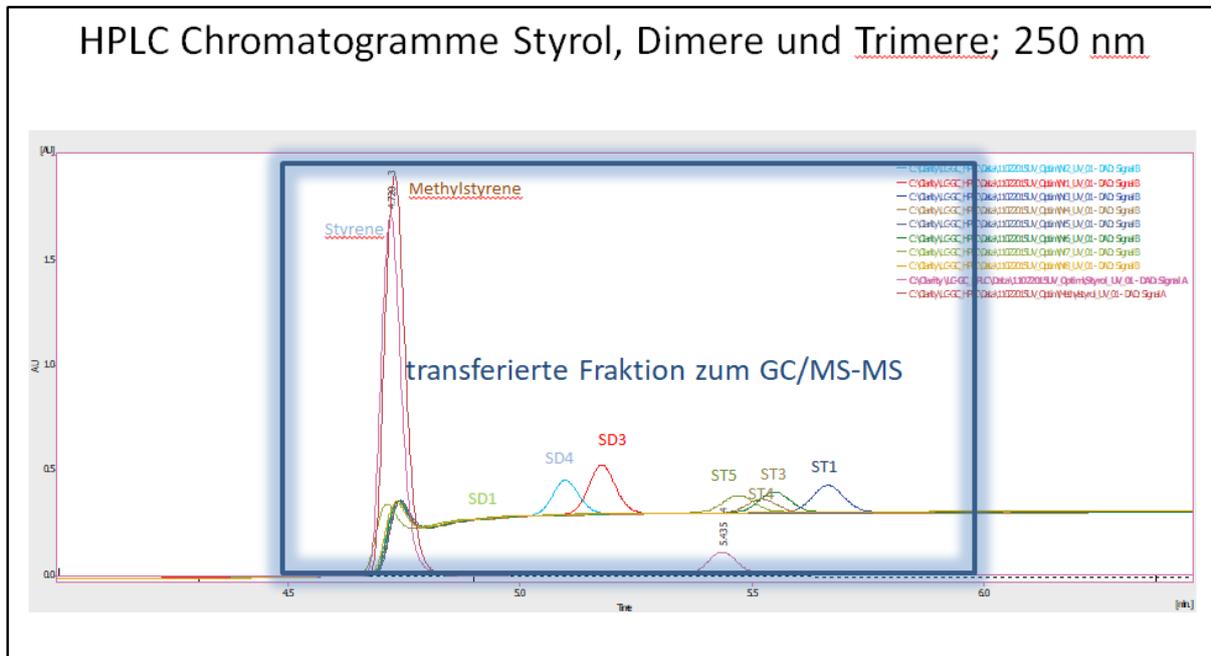


Abb. 6: HPLC Chromatogramme und zum GC/MS-MS transferierte Fraktion

Für die Quantifizierung der Analyten wird nach chromatographischer Trennung eine Detektion mittels Multiple Reaction Monitoring (MRM) durchgeführt. Die Berechnung erfolgt nach dem Prinzip des internen Standards, wobei 1-Methylnaphthalin als interner Standard dient. Exemplarisch sind in Abb. 7 die Detektionsbedingungen für die Precursor- und die daraus resultierenden Productionen mit den Übergängen m/z 207 > m/z 129 und m/z 207 > m/z 91 für das Trimere (ST4), das 1e-Phenyl-4a-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydronaphthalen dargestellt. Die Kalibrierung weist eine ausreichende Linearität auf.

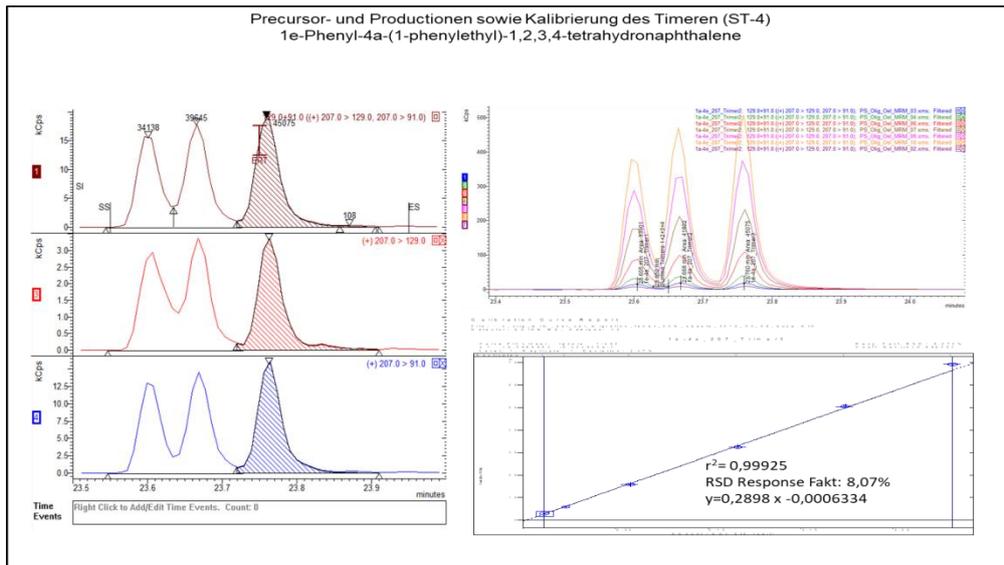


Abb. 7: Precursor- und Produktionen sowie Kalibrierfunktion für das Trimer ST4

Kontrolle von Blindwerten:

Regelmäßige Tests müssen sicherstellen, dass bei der Handhabung und Aufarbeitung der Proben keine Kontamination auftritt. Die Tests müssen entsprechend der jeweiligen Probenmatrix angepasst werden und sämtliche Aufarbeitungsschritte einbeziehen. Die so erhaltenen Methodenblindwerte werden zur Kontrolle von Fremdkontaminationen in das Analysensystem injiziert.

Präzision des Verfahrens:

Aufgrund der einfach gehaltenen Probenaufarbeitung und der Möglichkeit, ein großes Injektionsvolumen (50 µl = Standardinjektionsvolumen) aufzugeben, ergeben sich sehr niedrige Nachweis- und Bestimmungsgrenzen (s. Tab. 3).

Die Nachweisgrenzen (NWG) wurden aus dem Signal-Rausch-Verhältnis von 10:1 mit Hilfe eines entsprechend verdünnten Standards der Analyten ermittelt.

Verbindung	Lebensmittel, einschließlich Öl-Migrate		Ethanol-Migrate		Tenax-Migrate	
	NWG [ng/kg]	BG [ng/kg]	NWG [ng/kg]	BG [ng/kg]	NWG [ng/dm ²]	BG [ng/dm ²]
1,3-Diphenylpropan	15	62	1,2	4,9	0,103	0,410
2,4-Diphenyl-1- buten	10	38	0,8	3,1	0,064	0,254
trans-1,2- Diphenylcyclobutan	13	52	1,0	4,1	0,086	0,344
2,4,6-Triphenyl-1- hexen	10	39	0,8	3,1	0,065	0,260
1e-Phenyl-4e-(1- phenylethyl)- 1,2,3,4- tetrahydronaphthal en	8	32	0,7	2,6	0,054	0,215
1a-Phenyl-4e-(1- phenylethyl)- 1,2,3,4- tetrahydronaphthal en	10	38	0,8	3,1	0,064	0,256
1e-Phenyl-4a-(1- phenylethyl)- 1,2,3,4- tetrahydronaphthal en	11	43	0,9	3,5	0,072	0,290

Tab. 3: Nachweis- (NWG=S/N=10:1) und Bestimmungsgrenzen (BG=S/N=40:1) in Abhängigkeit von der Matrix

In Tabelle 4 sind die Kenndaten des Verfahrens dargestellt. Die Variationskoeffizienten (VK) wurden anhand von sechs Aufarbeitungen eines mit den Analyten dotierten Sonnenblumenöls bestimmt (Signifikanzniveau 95 %).

Verfahrenskontrolle:

Zur Verfahrenskontrolle wird ein interner Standard, der eine Reihe von Standardsubstanzen erhält, mitgeführt. Diese Substanzen haben unterschiedliche Funktionen, anhand derer das Verfahren von der Probenvorbereitung über die Fraktionierung, die Überführung in den Gaschromatographen und die Quantifizierung mittels MS-MS- (QqQ) Detektion überprüft werden kann. Folgende Standards haben sich zur Funktionskontrolle bewährt:

Pentylbenzol (5B) wird als „Wächter“ zur Kontrolle von Verlusten flüchtiger Komponenten eingesetzt, dient also zur Funktionsüberprüfung der partiellen Lösungsmittelverdampfung.

1- und 2-Methylnaphthalin (1-MN und 2-MN) werden als eigentlich interne Standards mit gleicher Konzentration zugesetzt. Die beiden Peaks sollen die gleiche Fläche aufweisen.

1-MN wird als Interner Standard zur Berechnung nach dem Prinzip des internen Standards herangezogen.

Substanz	NWG (S/N=10:1) [ng/kg]	BG (S/N=40:1) [ng/kg]	s	VK [%]	Vertrauensbereich	Wiederholbarkeit [%]
1,3-Diphenylpropane	15	62	7,1	8,0	7,5	15
2,4-Diphenyl-1-butene	10	38	2,7	4,2	2,8	8
trans-1,2-Diphenylcyclobutane	13	52	3,8	4,3	4,0	8
2,4,6-Triphenyl-1-hexene	10	39	5,7	8,9	6,0	17
1e-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)- 1,2,3,4-tetrahydronaphthalen	8	32	3,5	6,3	3,7	12
1a-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)- 1,2,3,4-tetrahydronaphthalene	10	38	5,2	7,4	5,4	14
1e-Phenyl-4a-(1-phenylethyl)- 1,2,3,4-tetrahydronaphthalene	11	43	2,8	3,7	2,9	7

Tab.4: Präzisionsdaten für die Öl-Migrate (95 % Signifikanzniveau, n=6)

Ergebnisse und Diskussion:

24 Bedarfsgegenstände aus Hart-Polystyrol (Tabelle 5) und 46 aus geschäumtem Polystyrol (Tabelle 6) wurden unter verschiedenen realistischen Migrationsbedingungen untersucht, die dem bestimmungsgemäßen oder vernünftigerweise vorhersehbaren Gebrauch entsprachen.

Des Weiteren wurden 40 Lebensmittel-Proben auf deren Styrol-Oligomeren-Gehalt untersucht (Tabelle 7).

Proben, bei denen Styrol-Oligomeren-Übergänge oberhalb von 50 µg/kg je Einzelverbindung nachgewiesen wurden, sind zur besseren Übersicht in den Tabellen durch Fettdruck hervorgehoben.

Migrationsuntersuchungen (Tabelle 5 und 6):

Bei den Gegenständen aus Hartpolystyrol (Tabelle 5) handelt es sich überwiegend um Sport-Trinkflaschen, Tassen und Becher, die bestimmungsgemäß nur kurzzeitig mit Getränken in Kontakt kommen. Die Migrationsuntersuchungen erfolgten daher unter Verwendung von 50 % Vol. Ethanol und 10 % Vol. Ethanol. Es war zu beobachten, dass mit einem Anstieg der Alkoholkonzentration und Temperatur auch die Gehalte der Styrololigomeren im Migrat anstiegen. Die höchsten Übergänge waren bei einer Migrationsdauer von 2 Stunden bei 70°C in 50 % Vol. Ethanol festzustellen. Bei allen Proben wurde der Richtwert von 50 µg/kg eingehalten.

Hartpolystyrol

50 % Ethanol-Migrat: 2 Stunden bei 70 °C					
Oligomer	Anzahl	Median [µg/kg]	Min. [µg/kg]	Max. [µg/kg]	Anzahl größer 50 µg/kg
1,3-Diphenylpropane	6	< NG	< NG	36	0
2,4-Diphenyl-1-butene	6	< NG	< NG	29	0
trans-1,2-Diphenylcyclobutan	6	3,7	< NG	12	0
2,4,6-Triphenyl-1-hexene	6	10	1,6	34	0
1e-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydro	6	12	0,1	18	0
1a-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	6	12	0,05	22	0
1e-Phenyl-4a-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	6	6,5	0,04	11	0

50 % Ethanol-Migrat: 2 Stunden bei 20 °C					
Oligomer	Anzahl	Median [µg/kg]	Min. [µg/kg]	Max. [µg/kg]	Anzahl größer 50 µg/kg
1,3-Diphenylpropane	7	< NG	< NG	< NG	0
2,4-Diphenyl-1-butene	7	< NG	< NG	< NG	0
trans-1,2-Diphenylcyclobutan	7	0,4	< NG	3	0
2,4,6-Triphenyl-1-hexene	7	1,7	< NG	2,5	0
1e-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydro	7	1,5	0,08	2,7	0
1a-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	7	1,9	0,04	5,4	0
1e-Phenyl-4a-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	7	1,1	0,03	2	0

10 % Ethanol-Migrat: 2 Stunden bei 70 °C					
Oligomer	Anzahl	Median [µg/kg]	Min. [µg/kg]	Max. [µg/kg]	Anzahl größer 50 µg/kg
1,3-Diphenylpropane	3	< NG	< NG	< NG	0
2,4-Diphenyl-1-butene	3	< NG	< NG	< NG	0
trans-1,2-Diphenylcyclobutan	3	1,2	0,6	2	0
2,4,6-Triphenyl-1-hexene	3	< NG	< NG	< NG	0
1e-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydro	3	1	1	1,3	0
1a-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	3	0,6	0,6	1,1	0
1e-Phenyl-4a-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	3	0,7	< BG	0,9	0

10 % Ethanol-Migrat: 2 Stunden bei 20 °C					
Oligomer	Anzahl	Median [µg/kg]	Min. [µg/kg]	Max. [µg/kg]	Anzahl größer 50 µg/kg
1,3-Diphenylpropane	8	< NG	< NG	< NG	0
2,4-Diphenyl-1-butene	8	< NG	< NG	< NG	0
trans-1,2-Diphenylcyclobutan	8	0,7	< NG	1,1	0
2,4,6-Triphenyl-1-hexene	8	< NG	< NG	1,2	0
1e-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydro	8	1	< NG	1,3	0
1a-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	8	0,6	< NG	0,8	0
1e-Phenyl-4a-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	8	0,5	< NG	1	0

Tabelle 5: Ergebnisse der Migrationsuntersuchungen von Proben aus Hart-Polystyrol

Ein anderes Bild findet sich bei den Migrationsuntersuchungen von Proben aus geschäumtem Polystyrol (Tabelle 6). Bei diesen Gegenständen handelt es sich überwiegend um Menueschalen und Thermoboxen, die uneingeschränkt für alle Lebensmittelarten bestimmt sind. Die Migrationsuntersuchungen erfolgten daher unter Verwendung von Sonnenblumenöl und 50 % Vol. Ethanol.

Die höchsten Übergänge waren bei einer Migrationsdauer von 10 Tagen bei 40 °C in Sonnenblumenöl festzustellen; bei ca. 80 % der Proben wurde der Beurteilungswert von 50 µg/kg z.T. deutlich überschritten. Auch unter weniger strengen Migrationsbedingungen (24 Stunden bei 40 °C) wurden Überschreitungen festgestellt und bei ca. 18 % der Proben der Richtwert nicht eingehalten. Derartige Überschreitungen stehen im Widerspruch zur guten Herstellungspraxis.

Geschäumtes Polystyrol

Öl-Migrat: 10 Tage bei 40 °C

Oligomer	Anzahl	Median [µg/kg]	Min. [µg/kg]	Max. [µg/kg]	Anzahl größer 50 µg/kg
1,3-Diphenylpropane	16	< NG	< NG	4,2	0
2,4-Diphenyl-1-butene	16	< NG	< NG	< NG	0
trans-1,2-Diphenylcyclobutan	16	19	< NG	127	1
2,4,6-Triphenyl-1-hexene	16	< NG	< NG	< NG	0
1e-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	16	74	34	231	12
1a-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	16	87	17	312	13
1e-Phenyl-4a-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	16	55	9,2	188	8

Öl-Migrat: 24 Stunden bei 40 °C

Oligomer	Anzahl	Median [µg/kg]	Min. [µg/kg]	Max. [µg/kg]	Anzahl größer 50 µg/kg
1,3-Diphenylpropane	27	0,6	< NG	2,6	0
2,4-Diphenyl-1-butene	27	1,2	< NG	17	0
trans-1,2-Diphenylcyclobutan	27	4,5	0,7	23	0
2,4,6-Triphenyl-1-hexene	27	< NG	< NG	195	5
1e-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	27	15	1	91	3
1a-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	27	26	2,5	158	5
1e-Phenyl-4a-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	27	9,5	0,7	52	2

Ethanol (50 % Vol.)-Migrat: 10 Tage bei 40 °C

Oligomer	Anzahl	Median [µg/kg]	Min. [µg/kg]	Max. [µg/kg]	Anzahl größer 50 µg/kg
1,3-Diphenylpropane	3	36	35	37	0
2,4-Diphenyl-1-butene	3	28	25	45	0
trans-1,2-Diphenylcyclobutan	3	14	7,7	20	0
2,4,6-Triphenyl-1-hexene	3	18	17	22	0
1e-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	3	15	14	16	0
1a-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	3	11	6,9	12	0
1e-Phenyl-4a-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	3	7,4	5,4	7,6	0

Tenax-Migrat: 10 Tage bei 40 °C

Oligomer	Anzahl	Median [µg/kg]	Min. [µg/kg]	Max. [µg/kg]	Anzahl größer 50 µg/kg
1,3-Diphenylpropane	3	< NG	< NG	< NG	0
2,4-Diphenyl-1-butene	3	< NG	< NG	< NG	0
trans-1,2-Diphenylcyclobutan	3	1,2	0,4	5,4	0
2,4,6-Triphenyl-1-hexene	3	< NG	< NG	< NG	0
1e-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	3	0,8	0,4	3,1	0
1a-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	3	2,4	0,4	9,1	0
1e-Phenyl-4a-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	3	1,4	0,8	5,2	0

Hartpolystyrol

Ethanol (50 % Vol.)-Migrat: 2 Stunden bei 70 °C

Oligomer	Anzahl	Median [µg/kg]	Min. [µg/kg]	Max. [µg/kg]	Anzahl größer 50 µg/kg
1,3-Diphenylpropane	6	< NG	< NG	36	0
2,4-Diphenyl-1-butene	6	< NG	< NG	29	0
trans-1,2-Diphenylcyclobutan	6	3,7	< NG	12	0
2,4,6-Triphenyl-1-hexene	6	10	1,6	34	0
1e-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	6	12	0,1	18	0
1a-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	6	12	0,05	22	0
1e-Phenyl-4a-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	6	6,5	0,04	11	0

Ethanol (50 % Vol.)-Migrat: 2 Stunden bei 20 °C

Oligomer	Anzahl	Median [µg/kg]	Min. [µg/kg]	Max. [µg/kg]	Anzahl größer 50 µg/kg
1,3-Diphenylpropane	7	< NG	< NG	< NG	0
2,4-Diphenyl-1-butene	7	< NG	< NG	< NG	0
trans-1,2-Diphenylcyclobutan	7	0,4	< NG	3	0
2,4,6-Triphenyl-1-hexene	7	1,7	< NG	2,5	0
1e-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	7	1,5	0,08	2,7	0
1a-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	7	1,9	0,04	5,4	0
1e-Phenyl-4a-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	7	1,1	0,03	2	0

Ethanol (10 % Vol.)-Migrat: 2 Stunden bei 70 °C

Oligomer	Anzahl	Median [µg/kg]	Min. [µg/kg]	Max. [µg/kg]	Anzahl größer 50 µg/kg
1,3-Diphenylpropane	3	< NG	< NG	< NG	0
2,4-Diphenyl-1-butene	3	< NG	< NG	< NG	0
trans-1,2-Diphenylcyclobutan	3	1,2	0,6	2	0
2,4,6-Triphenyl-1-hexene	3	< NG	< NG	< NG	0
1e-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	3	1	1	1,3	0
1e-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	3	0,6	0,6	1,1	0
1e-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	3	0,7	< BG	0,9	0

Ethanol (10 % Vol.)-Migrat: 2 Stunden bei 20 °C

Oligomer	Anzahl	Median [µg/kg]	Min. [µg/kg]	Max. [µg/kg]	Anzahl größer 50 µg/kg
1,3-Diphenylpropane	8	< NG	< NG	< NG	0
2,4-Diphenyl-1-butene	8	< NG	< NG	< NG	0
trans-1,2-Diphenylcyclobutan	8	0,7	< NG	1,1	0
2,4,6-Triphenyl-1-hexene	8	< NG	< NG	1,2	0
1e-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	8	1	< NG	1,3	0
1a-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	8	0,6	< NG	0,8	0
1e-Phenyl-4a-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	8	0,5	< NG	1	0

Tabelle 6: Ergebnisse der Migrationsuntersuchungen von Proben aus Polystyrol

Verpackte Lebensmittel (Tabelle 7):

An verpackten Lebensmitteln wurden sowohl Fleisch-, Fisch-, Käse- und Milchprodukte als auch Back- und Süßwaren auf Übergänge von Styrololigomeren untersucht.

Bis auf eine Ausnahme wurde dabei der vom BfR vorgeschlagene Beurteilungswert von 50 µg/kg je Verbindung eingehalten.

Bei der auffälligen Probe handelte es sich um eine Schokolade in Gestalt einer CD, welche in einer CD-Hülle aus hartem Polystyrol verpackt war. Aufgrund des sehr ungünstigen Oberflächen-Volumen-Verhältnisses waren Stoffübergänge begünstigt. Es ist unklar, ob es sich bei dem Kunststoff der CD-Hülle um Material handelt, welches dazu bestimmt war, mit Lebensmitteln in Kontakt zu kommen oder ob eine handelsübliche CD-Hülle minderer Qualität zu einem Lebensmittelkontaktmaterial zweckentfremdet wurde. Der noch tolerierbare Wert von 50 µg/kg wurde für mehrere Styrol-Oligomere signifikant überschritten (Einzelverbindung bis zu 300 µg/kg). Derartige Gehalte an Styrol-Oligomeren sind nicht als unbedenklich anzusehen und damit als eine unvertretbare Veränderung der Zusammensetzung des Lebensmittels im Sinne von Artikel 3 (1) Buchstabe b Verordnung (EG) Nr. 1935/2004 zu beurteilen. Die Verpackung wurde nach Artikel 4 a VO (EU) Nr. 10/2011 und das Lebensmittel nach § 31 Abs. 3 LFGB beanstandet.

Lebensmittel

Kontakmaterial:	Menueboxen aus geschäumtem Polystyrol									
Lebensmittel:	Pommes Frites				Berliner		Chop-Suey mit Hühnchen		Blattsalat mit Dressing	
Oligomer	Anzahl	Durchschnitt [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	Min. [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	Max. [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	Anzahl	[$\mu\text{g}/\text{kg}$]	Anzahl	[$\mu\text{g}/\text{kg}$]	Anzahl	[$\mu\text{g}/\text{kg}$]
1,3-Diphenylpropane	2	< NG	< NG	< NG	1	< NG	1	< NG	1	< NG
2,4-Diphenyl-1-butene	2	< NG	< NG	< NG	1	< NG	1	< NG	1	< NG
trans-1,2-Diphenylcyclobutan	2	7,2	6,7	7,6	1	1	1	1,4	1	0,8
2,4,6-Triphenyl-1-hexene	2	< NG	< NG	< NG	1	< NG	1	< NG	1	< NG
1e-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	2	33	28	37	1	8,4	1	11	1	5,5
1a-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	2	20	14	25	1	3,2	1	6,6	1	2,5
1e-Phenyl-4a-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	2	11	7,8	14	1	2	1	11	1	1,4

Kontakmaterial:	Einleger aus geschäumtem Polystyrol									
Lebensmittel:	Käse				Kochschinken		Räucherlachs			
Oligomer	Anzahl	Median [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	Min. [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	Max. [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	Anzahl	[$\mu\text{g}/\text{kg}$]	Anzahl	[$\mu\text{g}/\text{kg}$]		
1,3-Diphenylpropane	16	< NG	< NG	< NG	1	< NG	1	< NG		
2,4-Diphenyl-1-butene	16	< NG	< NG	< NG	1	< NG	1	< NG		
trans-1,2-Diphenylcyclobutan	16	< NG	< NG	< NG	1	< NG	1	< NG		
2,4,6-Triphenyl-1-hexene	16	2,1	< NG	5,9	1	< NG	1	< NG		
1e-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	16	1,3	< NG	4,1	1	< NG	1	< NG		
1a-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	16	2,1	< NG	8,8	1	< NG	1	< NG		
1e-Phenyl-4a-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	16	1,4	< NG	5	1	< NG	1	< NG		

Kontakmaterial:	Beuten aus geschäumtem Polystyrol				Isolierungen aus geschäumtem Polystyrol			
Lebensmittel:	Honig				Tiefkühlorten			
Oligomer	Anzahl	Median [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	Min. [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	Max. [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	Anzahl	Median [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	Min. [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	Max. [$\mu\text{g}/\text{kg}$]
1,3-Diphenylpropane	10	< NG	< NG	< NG	4	< NG	< NG	< NG
2,4-Diphenyl-1-butene	10	< NG	< NG	< NG	4	< NG	< NG	< NG
trans-1,2-Diphenylcyclobutan	10	< NG	< NG	< NG	4	0,6	0,3	0,8
2,4,6-Triphenyl-1-hexene	10	< NG	< NG	< NG	4	< NG	< NG	< NG
1e-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	10	< NG	< NG	0,8	4	0,8	0,7	0,9
1a-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	10	< NG	< NG	1,2	4	0,3	0,2	0,4
1e-Phenyl-4a-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	10	0,3	0,2	1,3	4	0,1	0,1	0,2

Kontakmaterial:	CD-Hülle aus Hartpolystyrol		Becher aus Hartpolystyrol			
Lebensmittel:	Schokolade		Joghurt			
Oligomer	Anzahl	[$\mu\text{g}/\text{kg}$]	Anzahl	Durchschnitt [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	Min. [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	Max. [$\mu\text{g}/\text{kg}$]
1,3-Diphenylpropane	1	3,7	2	< NG	< NG	< NG
2,4-Diphenyl-1-butene	1	< NG	2	< NG	< NG	< NG
trans-1,2-Diphenylcyclobutan	1	16	2	< NG	< NG	< NG
2,4,6-Triphenyl-1-hexene	1	300	2	< NG	< NG	< NG
1e-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	1	58	2	< NG	< NG	< NG
1a-Phenyl-4e-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	1	106	2	< NG	< NG	< NG
1e-Phenyl-4a-(1-phenylethyl)-1,2,3,4-tetrahydr.	1	203	2	< NG	< NG	< NG

Tabelle 7: Ergebnisse der Migrationsuntersuchungen verpackter Lebensmittel

Zusammenfassung:

Mit der hier beschriebenen Methode lassen sich Styrololigomere analytisch gesichert bereits in sehr niedrigen Konzentrationen (NWG 1 bis 60 ng/kg entsprechend 0,001 bis 0,06 $\mu\text{g}/\text{kg}$) nachweisen.

Als Beurteilungswert, ab wann Übergänge von Styrol-Oligomeren auf Lebensmittel nicht mehr als unbedenklich anzusehen sind, kann eine Konzentration von 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ je Verbindung herangezogen werden (Stellungnahme 023/2016 des BfR vom 21. April 2016).

Bei allen untersuchten geschäumten Verpackungsmaterialien war ein Übergang von Styrol-Oligomeren in Lebensmittel-Simulanzen nachweisbar. Unter Langzeitbedingungen (10 Tage bei 40 °C) mit Öl als Simulanz wurde bei ca. 80 % der Proben der Beurteilungswert z.T. deutlich überschritten. Auch unter Kurzzeitbedingungen (24 Stunden bei 40 °C) wurde der Beurteilungswert bei ca. 18 % der Proben nicht eingehalten. Derartige Überschreitungen stehen im Widerspruch zur guten Herstellungspraxis und können zu einem Verkehrsverbot führen.

Bedarfsgegenstände aus Hartpolystyrol hingegen hielten unter realistischen Migrationsbedingungen (Kurzzeitbedingungen) den Beurteilungswert ein.

Bis auf eine Ausnahme wurde der vom BfR vorgeschlagene Beurteilungswert von allen untersuchten Lebensmitteln eingehalten. Die Gehalte an Styrol-Oligomeren wurden bei der auffälligen Probe als unververtretbare Veränderung der Zusammensetzung des Lebensmittels beurteilt.

Literatur:

- 1) Verordnung (EG) Nr. 2023/2006 der Kommission vom 22. Dezember 2006 über gute Herstellungspraxis für Materialien und Gegenstände, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen (ABl. L 384 vom 29.12.2006, S. 75), zuletzt geändert durch die Verordnung (EG) Nr. 282/2008 der Kommission vom 27. März 2008
- 2) 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 (ABl. L 12 vom 15.1.2011, S. 1), zuletzt geändert durch die Verordnung (EU) 2017/752 der Kommission vom 28. April 2017
- 3) Verordnung (EG) Nr. 1935/2004 des europäischen Parlaments und des Rates vom 27. Oktober 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 (ABl. L 338 vom 13.11.2004, S. 4), zuletzt geändert durch die Verordnung (EG) Nr. 596/2009 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 18. Juni 2009
- 4) Genualdi, S., Nyman, P. and Begley, T. (2014) Updated evaluation of the migration of styrene monomer and oligomers from polystyrene food contact materials to foods and food simulants. *Food Additives and Contaminants Part a-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment* 31(4): 723-733
- 5) Ohyama, K. I., Nagai, F. and Tsuchiya, Y. (2001) Certain styrene oligomers have proliferative activity on MCF-7 human breast tumor cells and binding affinity for human estrogen receptor alpha. *Environmental Health Perspectives* 109(7): 699-703

6) EFSA (2008) Guidance document on the submission of a dossier on a substance to be used in Food Contact Materials for evaluation by EFSA by the Panel on additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC). <http://www.efsa.europa.eu/de/efsajournal/pub/21r>

* Funke Analytic Consult, Postdamm 178, 48477 Hörstel