



A. Abschlussbericht zum Forschungsvorhaben

LENA - Lebensmittelsicherheit und Nanotechnologie

Az. StMUG: 47d-G7131-2008/46-6

ID-Vorhabensnummer: 15649

LGL-Projektnummer: 09-18

Projektzeitraum: 1.5.2009 - 31.10.2012

Projektleiter: Prof. Dr. Hermann Fromme, Prof. Dr. Wolfgang Schmid

Verfasser des Berichts: Dr. Richard Winterhalter

Projektdurchführung: R. Winterhalter, W. Matzen, M. Kohlhuber

**Sachgebiet: AP 3 Chemikaliensicherheit und Toxikologie, LM 4
Grundsatzfragen zu Lebensmitteln und zur Lebensmittelqualität, Novel
Food**

**Kooperationspartner: Dr. Roland Franz, Fraunhofer-Institut für Verfah-
renstechnik und Verpackung, Freising (IVV)**

Projektdurchführung: R. Franz, D. Kemmer, A. Störmer, G. Wolz, J. Bott

Projekttitel

LENA - Lebensmittelsicherheit und Nanotechnologie

Projekt Nr. 09-18

Modul 1: Nanopartikel - Migration aus Verpackungen in Lebensmittel

Johannes Bott, Roland Franz, Diana Kemmer, Angela Störmer, Gerd Wolz

Fraunhofer Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung, Giggenhauserstr. 35,
85354 Freising

Modul 2: Nanomaterialien in Lebensmitteln - Analytik und Charakterisierung der Produkte

Richard Winterhalter, Wolfgang Matzen, Martina Kohlhuber, Wolfgang Völkel, Hermann Fromme

Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL), Sachgebiet Chemikaliensicherheit und Toxikologie (AP 3)

Abschlussbericht

**Bayerisches Landesamt für
Gesundheit und Lebensmittelsicherheit**



Im Auftrag des Bayerischen Staatsministeriums für Umwelt und Gesundheit

Inhaltsverzeichnis

1	Modul 1: Nanopartikel-Migration aus Verpackungen in Lebensmittel	6
1.1	Einleitung	6
1.2	Fragestellungen im Modul 1.....	6
1.3	Definitionen.....	7
1.4	Nanomaterialien für Lebensmittelverpackungen und Lebensmittelbedarfsgegenstände.....	9
1.4.1	Nanokomposite	9
1.4.1.1	Definition	9
1.4.1.2	Nanokomposite mit Schichtsilikaten	10
1.4.1.3	Anwendung von Nanokompositen bei Lebensmittelverpackungen	11
1.4.1.4	Rechtliche Situation.....	13
1.4.1.5	Kommerziell eingesetzte Systeme für den Lebensmittelkontakt.....	14
1.4.1.6	Cellulose Nanokomposite - Nanocellulose	15
1.4.2	Nanoskalige Oberflächenbeschichtungen.....	17
1.4.2.1	Allgemeines.....	17
1.4.2.2	Aufgedampfte nanoskalige Barrierschichten aus SiO _x bzw. AlO _x .	17
1.4.2.3	Weitere Oberflächenmodifizierungen	18
1.4.2.4	Nanopartikeläre Beschichtungen aus Siliziumdioxid (SiO _x) auf der Innenseite von Kunststoffflaschen	18
1.4.3	Als Nanomaterialien spezifizierte anorganische Materialien in der Kunststoffverordnung.....	19
1.4.3.1	Carbon Black / Kohlenstoffschwarz (PM Ref. Nr. 42 080).....	19
1.4.3.2	Siliziumdioxid (SiO ₂) (PM Ref Nr. 86240).....	20
1.4.3.3	Titannitrid (TiN) (PM Ref. Nr. 93 485).....	21
1.4.4	Antimikrobiell wirksame Nanopartikel	22
1.4.4.1	Silber	22
1.4.4.2	Nanoskaliges Zinkoxid und Magnesiumoxid.....	24
1.4.4.3	Nanoskaliges Titandioxid.....	24
1.4.5	Weitere nanoskalige Additive.....	24
1.4.5.1	Nanopigmente – „Nanocolorants“	24
1.4.6	Klebstoffe.....	25
1.4.6.1	Klebstoffe mit nanoskaliger Stärke	25
1.4.6.2	Klebstoffe auf Basis nanoskaliger Hybridpolymere und/oder neuer nanoskaliger Füllstoffe	25
1.5	Experimentelle Arbeiten.....	27
1.5.1	Vorarbeiten zur Etablierung einer Methode zur Untersuchung von Nanopartikeln mittels asymmetrischer Fluss-Feldflussfraktionierung (AF4).....	27
1.5.1.1	Einführung in die Feldflussfraktionierung	27
1.5.1.2	Detektion mittels Mehrwinkel-Lichtstreuung (MALS)	28
1.5.1.3	Instrumentation.....	31
1.5.1.4	Fließmittel für die AF4	31
1.5.1.5	Membranen für die AF4.....	32

1.5.1.6	Versuche mit unterschiedlichen Nanopartikeln.....	32
1.5.1.7	Nanoclay (organisch modifizierter Montmorillonit).....	36
1.5.1.8	Vorversuche zu Titannitrid.....	38
1.5.1.9	Untersuchungen zur Reproduzierbarkeit von AF4-Messungen.....	43
1.5.2	Nanoskaliges Titannitrid (TiN) in PET-Getränkeflaschen.....	45
1.5.2.1	Prüfmaterial.....	45
1.5.2.2	Bestimmung von Titan im Flaschenmaterial mittels ICP-MS.....	45
1.5.2.3	Migrationsuntersuchungen.....	45
1.5.2.4	Bestimmung von Titan (Ti) in der Migrationslösung mittels ICP-MS.....	46
1.5.2.5	Ergebnisse.....	47
1.5.2.6	Untersuchungen mittels AF4.....	50
1.5.2.7	TEM-Messungen der Titannitridpartikel im Flaschenmaterial.....	51
1.5.2.8	Oberflächenuntersuchungen von Flaschenwandausschnitten mit Rasterkraftmikroskopie.....	51
1.5.3	Nanoskaliges Titannitrid (TiN) in LDPE-Flachfolien.....	54
1.5.3.1	Herstellung von mit nanoskaligem TiN dotierten LDPE-Folien.....	54
1.5.3.2	Bestimmung des Gehalts an Titan (Ti) im Folienmaterial.....	56
1.5.3.3	TEM-Messungen der Titannitridpartikel im Folienmaterial.....	56
1.5.3.4	Migrationsuntersuchungen.....	57
1.5.3.5	Bestimmung von Titan in der Migrationslösung mittels ICP-MS.....	58
1.5.3.6	Ergebnisse.....	59
1.5.3.7	Theoretische Migrationsberechnungen - Migrationsmodell.....	72
1.6	Zusammenfassung und Schlussfolgerung.....	78
1.7	Literaturverzeichnis.....	84
2	Modul 2 - Nanomaterialien in Lebensmitteln: Analytik und Charakterisierung der Produkte.....	89
2.1	Einleitung.....	89
2.2	Fragestellung und Aufgaben in Modul 2.....	96
2.3	Größenbestimmung von Nanopartikeln mit Asymmetrischer-Fluss- Feldflussfraktionierung (AF ⁴).....	97
2.3.1	Funktionsweise der Feldflussfraktionierung.....	97
2.3.2	Kalibrierung des Messgerätes.....	99
2.3.3	Übersicht der benutzten Nanopartikel-Standards.....	102
2.3.3.1	Kieselol (amorphe Kieselsäure, SiO ₂).....	102
2.3.3.2	Pyrogene Kieselsäure.....	107
2.3.3.3	Nanosilber.....	114
2.4	Bestimmung von Nanopartikeln in Nahrungsergänzungsmitteln mittels AF ⁴ 119	
2.4.1	Feste Nahrungsergänzungsmittel (SiO ₂ , TiO ₂ , Eisenoxid).....	122
2.4.1.1	Dispergiermethoden für pulverförmige Nahrungsergänzungsmittel 122	
2.4.1.2	Einfluss des Eluenten auf die Homogenisierung.....	124
2.4.2	Vergleich von „Nano“ und konventionellen SiO ₂ -haltigen Nahrungsergänzungsmitteln.....	127

2.4.3	Kolloidales Silber (Silberwasser).....	133
2.5	Zusammenfassung	136
2.6	Literaturverzeichnis.....	138
2.7	Tabellenverzeichnis	140
2.8	Abbildungsverzeichnis	142

1 Modul 1: Nanopartikel-Migration aus Verpackungen in Lebensmittel

1.1 Einleitung

Die Wissenschaft der Nanotechnologie ist ein interdisziplinäres Arbeitsgebiet, das ein breites Einsatzfeld z.B. in den Materialwissenschaften, in Elektronik, Optik und Energie, sowie in Chemie, Biologie und Medizin findet.

Nanomaterialien finden sich bereits in zahlreichen Alltagsprodukten und sogenannten verbrauchernahen Produkten. Zu den prominentesten Beispielen gehören funktionale Textilien mit schmutzabweisender oder antibakterieller Ausrüstung, der Einsatz von nanoskaligen Titandioxid als Weißpigment und UV-Filter in Lacken, Wandfarben und Sonnencremes, sowie nanoskaliges Siliziumdioxid als Füllstoff z.B. in Kunststoffen, Silikonen, Druckfarben und Zahnpasta (Nanocare Broschüre 2009). Der Einsatz von Nanotechnologie verspricht auch im Lebensmittel- bzw. Verpackungssektor vielfältige Anwendungsmöglichkeiten. Im Bereich der Lebensmittelverpackungen und bei Lebensmittelbedarfsgegenständen werden Nanomaterialien bereits eingesetzt.

1.2 Fragestellungen im Modul 1

Im Modul 1 des Projekts „LENA – Lebensmittelsicherheit und Nanotechnologie“ werden folgende Teilaspekte bearbeitet:

- Welche nanoskaligen Materialien und Stoffe werden bei der Herstellung von Lebensmittelverpackungen eingesetzt?
- Können Nanopartikel aus Verpackungsmaterialien in nanoskaliger Form in Lebensmittel übergehen (Migration)?
- Wenn ja, unter welchen Bedingungen (Kontaktbedingungen Verpackung – Lebensmittel, der Nano-Materialien und der Verpackung)?
- Wie können Nano-Partikel analytisch erfasst werden und wie lassen sich solche Migrationsprozesse praktikabel prüfen?

In der ersten Projektphase (Juni 2009 bis November 2009) wurde eine umfangreiche Literaturrecherche durchgeführt, um zu klären welche nanoskaligen Materialien und Stoffe bei der Herstellung von Lebensmittelverpackungen potenziell oder tatsächlich eingesetzt werden. Ziel der Recherche war es, einen aktuellen Überblick zu den Einsatzgebieten und Anwendungen von Nanotechnologie in Lebensmittelverpackungen und Lebensmittelbedarfsgegenständen zu gewinnen.

Im Detail wurden dabei folgende Teilaspekte erfasst:

- Welche Typen von Nanomaterialien können Anwendung in Lebensmittelverpackungen und Lebensmittelbedarfsgegenständen finden?
- Für welche Anwendungen im Lebensmittelkontakt und in welchem Ausmaß werden Nanomaterialien bereits eingesetzt?
- Welche weiteren Einsatzgebiete im Bereich Lebensmittelverpackung und Lebensmittelbedarfsgegenstände sind absehbar?

Im 2. Projektabschnitt (November 2009 bis Oktober 2012) lag der Fokus unserer Arbeiten einerseits auf der weiteren Etablierung der Analyse von Nanopartikeln mittels asymmetrischer Fluss Feld-Fluss-Fraktionierung an verschiedenen Nanomaterialien und andererseits auf der Anwendung dieser Methodik zu experimentellen Untersuchungen an realen Verpackungsmustern. Als Beispiel für die Migrationsprüfung eines Nanomaterials wurde Titannitrid als Additiv gewählt. Dieses wurde in PET-Flaschen und in LDPE-Folien eingebracht. ICP-MS Messungen zur spezifischen Detektion waren ebenso vorgesehen. Die Materialien mit Titannitrid wurden mittels Transmissions-elektronenmikroskopie (TEM) und Rasterkraftmikroskopie charakterisiert.

1.3 Definitionen

Bisher ist keine einheitliche Definition verfügbar, was unter „Nano“ zu verstehen ist. Im wissenschaftlichen Kontext bezeichnet „nano“ zunächst die Größenordnung 10^{-9} . Daraus abgeleitet werden, als einfachste Definition, unter Nanopartikeln Teilchen mit einem Durchmesser kleiner als 100 Nanometern (nm) verstanden.

Der Wissenschaftliche Ausschuss „Neu auftretende und neu identifizierte Gesundheitsrisiken“ der EU Kommission definiert Nanomaterialien folgendermaßen: „Generally nanomaterials are defined as being smaller than about 100 nm in at least one dimension. The currently proposed definitions use the size of the primary parti-

cle/structure as a starting point. However, when a nanomaterial is in particulate form, the particles may be present as single particles but might also be present as agglomerates/aggregates. Depending on the nanomaterial, the majority of the particulates may actually be agglomerates/aggregates. This may lead to the misinterpretation that agglomerates/aggregates of nanoparticles that have dimensions well beyond the 100 nm size are not considered nanomaterials. Yet they retain specific physicochemical properties which are characteristic for nanomaterials, most likely due to their relative large specific surface area (SSA). Therefore, when describing a nanomaterial it is important to describe not only the mean particle size but also the size of the primary particles.”

Die EFSA scientific opinion “The Potential Risks Arising from Nanoscience and Nanotechnologies on Food and Feed Safety” definiert engineered Nanomaterialien: “An engineered nanomaterial (ENM) is any material that is deliberately created such that it is composed of discrete functional and structural parts, either internally or at the surface, many of which will have one or more dimensions of the order of 100 nm or less” (EFSA, 2009). Die Veränderung von Material- bzw. Partikeleigenschaften, die bei verkleinerten Dimensionen beobachtet werden, träten natürlich nicht exakt bei 100 nm auf. Daher solle diese obere „Grenze“ von 100 nm nicht starr ausgelegt werden, sondern Nanopartikel besser als Partikel *in der Größenordnung von 100 nm und darunter* bezeichnet werden (EFSA 2009).

Eine weitere Definition von Nanopartikeln findet sich in der Vornorm DIN CEN ISO/TS 27687 „Nanopartikel - Terminologie und Definitionen“. Danach sind Nanopartikel Objekte, deren Ausdehnung *in allen drei* Dimensionen zwischen 1 und 100 nm liegt. Objekte, deren Ausdehnung nur in zwei Dimensionen im nm-Bereich liegt, werden als Nanoröhren und partikuläre Objekte bezeichnet. Objekte mit nur einer Dimension unter 100 nm werden Nanoplättchen (Nanopellets) genannt (DIN CEN ISO/TS 27687, 2008).

Weitere Definitionen mit Relevanz für “engineered nanomaterials” (ENM) sowie allgemeine Überlegungen und Strategien zur Charakterisierung und Bewertung von ENM in Lebensmitteln und Futtermitteln finden sich in der wissenschaftlichen Stellungnahme der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) „Guidance on risk assessment concerning potential risks arising from applications of nanoscience and nanotechnologies to food and feed” (EFSA 2011).

Die EU-Kommission veröffentlichte am 18.10.2011 folgende Definition von Nanomaterialien (EU 2011):

„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.

In besonderen Fällen kann der Schwellenwert von 50 % für die Anzahlgrößenverteilung durch einen Schwellenwert zwischen 1 % und 50 % ersetzt werden, wenn Umwelt-, Gesundheits-, Sicherheits- oder Wettbewerbserwägungen dies rechtfertigen. Abweichend sind Fullerene, Graphenflocken und einwandige Kohlenstoff-Nanoröhren mit einem oder mehreren Außenmaßen unter 1 nm als Nanomaterialien zu betrachten.

Für „Partikel“, „Agglomerat“ und „Aggregat“ gelten folgende Begriffsbestimmungen:

- a) „Partikel“ ist ein sehr kleines Teilchen einer Substanz mit definierten physikalischen Grenzen;
- b) „Agglomerat“ ist eine Ansammlung schwach gebundener Partikel oder Aggregate, in der die resultierende Oberfläche ähnlich der Summe der Oberflächen der einzelnen Bestandteile ist;
- c) „Aggregat“ ist ein Partikel aus fest gebundenen oder verschmolzenen Partikeln.

1.4 Nanomaterialien für Lebensmittelverpackungen und Lebensmittelbedarfsgegenstände

1.4.1 Nanokomposite

1.4.1.1 Definition

Nanokomposite sind Materialien, bei denen Nanomaterialien in eine konventionelle Matrix, z.B. Polymere, eingelagert sind. Bei den eingesetzten Nanopartikeln handelt es sich vorwiegend um Tone, Metalle oder Kohlenstoffnanoröhrchen (carbon nanotubes). Der Zusatz dieser Füllstoffe in Partikelform ermöglicht eine Verbesserung / Veränderung der Eigenschaften des Grundmaterials z.B. in Hinblick auf mechanische Festigkeit und Belastbarkeit, sowie elektrische und thermische Leitfähigkeit. Zum Erreichen dieser Effekte werden Nanopartikel im Konzentrationsbereich von 0,5 – 5 % eingesetzt (Lange und Wyser, 2003).

1.4.1.2 Nanokomposite mit Schichtsilikaten

Am weitesten verbreitet sind Nanokomposite, die aus einer organischen Polymermatrix und organophilen Ton-Füllstoffen („Nano-Ton“) aufgebaut sind. Sie werden Polymer-Clay-Nanocomposites (PCN) genannt. Insbesondere Komposite von Polymeren mit Montmorillonit (MMT) haben kommerziell große Bedeutung gefunden wie z.B. Nylon6-Montmorillonit-Komposite („Nano-PA6“).

Bei Montmorillonit handelt es sich um ein Schichtsilikat (Phyllosilikat) mit der chemischen Zusammensetzung $(Al_2[(OH)_2/Si_4O_{10}]\cdot nH_2O)$ und einer Dreischichtstruktur. Die Schichtdicke beträgt dabei ca. 1 nm, während die Querabmessung von 30 nm bis mehreren Mikrons betragen kann. Die parallelen Schichten werden dabei durch schwache elektrostatische Kräfte zusammengehalten. Aufgrund seiner großen Oberfläche und seinem großen Durchmesser / Dicke-Verhältnis („aspect ratio“) eignet sich MMT hervorragend als Füllstoff, um eine Versteifung des Polymers zu erzielen (Weiss et al., 2006; Pavlidou und Papaspyrides, 2008).

Die homogene Verteilung von MMT in organischen Polymermatrices wird jedoch durch dessen ausgeprägte hydrophile Eigenschaften erschwert. Um die Kompatibilität von Ton und Polymer zu verbessern und eine homogene Verteilung der nanoskaligen Partikel in der organischen Matrix zu erreichen, ist daher eine organische Modifizierung der Partikeloberfläche notwendig (Oberflächenmodifizierung). Dies geschieht heute in der Regel durch Kationen-Austauschreaktionen zwischen den Natrium-Ionen des Silikats und einem Alkylammoniumsalz (z.B. quaternären Ammoniumverbindungen oder 12-Aminododekansäure, ADA). Die in die Plättchen des natürlichen Tons hinein ausgetauschten Alkylkationen machen den hydrophilen Ton organophil, so dass dieser leichter in der Polymermatrix dispergierbar wird. (Weiss et al., 2006; Pavlidou und Papaspyrides, 2008).

Prinzipiell unterscheidet man drei Arten von Polymer-Schichtsilikat-Hydriden, die sich in der dreidimensionalen Anordnung der Schichtsilikate im Polymer unterscheiden. In Mikrokompositen (konventionelle Komposite) liegen Polymer und Tonsilikat, vorwiegend agglomeriert, unvermischt in diskret getrennten Phasen vor.

Im Zustand der „Intercalation“ liegt die organische Komponente eingefügt zwischen Ton-Schichten, so dass eine Multilayer-Struktur aus abwechselnden Polymer- und anorganischen Schichten entsteht, die jeweils wenige Nanometer dick sind. Im Zustand der „Exfoliation“ sind die Schichten des Tons hingegen vollständig voneinander

getrennt und die einzelnen Silikatschichten liegen verteilt in der Polymermatrix vor. Diese beiden Zustände erlauben die Ausbildung von *Nanokompositen*.

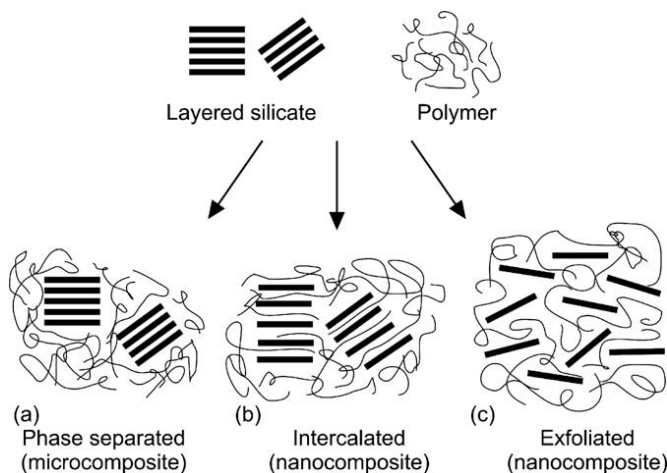


Abbildung 1: Kompositentypen abgeleitet aus der Interaktion von Tonsilikaten und Polymeren: (a) phasengetrennte Mikrokomposite, (b) „intercalated“ Nanokomposite und (c) „exfoliated“ Nanokomposite (Alexandre und Dubois, 2000; Azeredo, 2009)

Kommerziell eingesetzte Nanokomposit-Systeme (vergleiche Abschnitt 1.4.1.5) basieren vorwiegend auf Montmorillonit (MMT). Darüber hinaus sind jedoch auch weitere Nanokomposite auf Kaolinit-Basis für Lebensmittelverpackungen in der Literatur beschrieben (Cabedo et al., 2006; Ammala et al., 2007).

1.4.1.3 Anwendung von Nanokompositen bei Lebensmittelverpackungen

Polymer-Clay-Nanokomposite (PCN) können gegenüber den reinen Polymeren deutlich verbesserte Materialeigenschaften hinsichtlich der mechanischen und thermischen Stabilität, der Entflammbarkeit und Barriereigenschaften aufweisen. Das Ausmaß dieser verbesserten Materialeigenschaften ist abhängig vom Polymertyp, vom verwendeten Nano-Ton, sowie von der Güte der Dispersion der Nanopartikel in der Polymermatrix (Ray et al. 2006; Azeredo, 2009).

Für die Anwendung von PCNs in Lebensmittelverpackungen ist insbesondere die Verbesserung der Barriereigenschaften von Interesse, da diese einen direkten Einfluss auf die Haltbarkeit und Qualität der verpackten Produkte haben.

Zahlreiche Studien zeigen, dass das Einbringen von Nano-Ton in die Polymermatrix zu einer (sehr) starken Verbesserung der Barriereigenschaften gegenüber der Sauerstoff- und Wasserdampf-Permeation führt. So wurden z.B. für Nylon-6 Nanokom-

posite um den Faktor 4 niedrigere Sauerstoff-Transmissionsraten gegenüber dem reinen Nylon-6-Polymer ermittelt (Brody, 2006).

Eine Verbesserung der Barriereigenschaften ist insbesondere bei Biopolymerbasierten Folien (aus Polymilchsäure (Polylactic acid, PLA), Polycaprolactone (PCL) und insbesondere Stärke) beschrieben, die in der Regel keine ausgeprägte Barriere Wirkung aufweisen (Azeredo, 2009; Pavlidou and Papaspyrides, 2008; Lange und Wyser, 2003).

Die drastische Verbesserung der Barriereigenschaften wird durch das so genannte „tortuous path“ („gewundener Pfad“) Modell von Nielson (1967) erklärt. Demnach zwingen die undurchlässigen, ins Polymer eingelagerten Nanopartikel eindringende Gasmoleküle dazu bei ihrer Diffusion durch das Polymer einen längeren Weg zurückzulegen (Abbildung 2). Die Verlängerung des Diffusionswegs ist abhängig vom Durchmesser / Dicke-Verhältnis („aspect ratio“) des nanoskaligen Füllstoffs und von der im Komposit eingesetzten Füllstoffkonzentration.

Die Nanopartikel wirken somit als physikalische Barriere, die die Diffusion z.B. von Sauerstoff durch die Polymermatrix verlangsamen und somit die Haltbarkeit des verpackten Produkts verlängert werden kann.

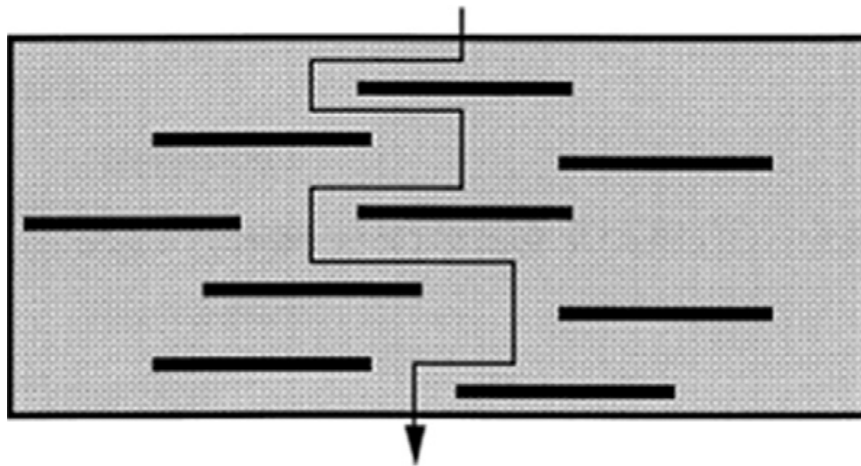


Abbildung 2: Vorgeschlagenes Modell für den gewundenen Zickzack-Diffusionspfad in einem exfoliated PCN, das als Gasbarriere fungiert (Pavlidou und Papaspyrides, 2008)

Nanokomposit-Materialien kommen sowohl in flexiblen als auch in formstabilen Verpackungssystemen zum Einsatz. Sie finden in Sauerstoffbarriere-Schichten bei Flaschen für Fruchtsäfte, Milchprodukten, Bier und alkoholfreie Erfrischungsgetränke Verwendung. Darüber hinaus werden Nanokomposit-Schichten auch in Multilayerfilmen eingesetzt, um die Haltbarkeit von verschiedensten Produkten wie Fleischpro-

dukte, Käse, Süßwaren und zur Erhitzung in der Verpackung vorgesehene Lebensmittel („Fertigmenüs“), zu verlängern. (Brody, 2007; Moraru et al., 2003).

Die Vorteile des Einsatzes von Nanokompositen lassen sich folgendermaßen zusammenfassen: Die Anwendung von Nanokompositen erlaubt die Einsparung von Material und ermöglicht verbesserte Materialeigenschaften wie erhöhte Steifheit bei gleichzeitiger Flexibilität, erhöhte chemische und thermische Stabilität. Darüber hinaus können Nanokomposite zu einer signifikanten Verbesserung der Barriereigenschaften (reduzierte Gaspermeabilität) des Polymers führen.

In Kombination mit Nano-Oxiden wie Titandioxid kann auch der UV-Schutz verbessert werden (Pfaff und Tentschert, 2008).

1.4.1.4 Rechtliche Situation

Montmorillonit (Bentonit, Ref. Nr. 37280, CAS: 1302-78-9) ist in Form des Bulkmaterials als Additiv für Kunststoffe im Lebensmitteldirektkontakt gemäß der EU Kunststoffrichtlinie 2002/72/EG und der deutschen Bedarfsgegenständeverordnung zugelassen.

Bisher liegt keine Zulassung bzw. Bewertung von Tonen in nanopartikulärer Form (Nanopartikel) durch die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit bzw. durch andere nationale und internationale Behörden vor.

Erkenntnisse zum Übergang von nanopartikulärem Ton auf Lebensmittel liegen nicht vor. Aus physikalisch-chemischen Gründen kann bei sehr kleinen (1 nm großen) Nanopartikeln in Verpackungsmaterialien für Lebensmittel ein Übergang in das Lebensmittel nicht ausgeschlossen werden. Bei größeren, fest mit dem Verpackungsmaterial verbundenen Nanopartikeln ist ein solcher Übergang in das Lebensmittel dagegen unwahrscheinlich (Simon et al. 2008). Die derzeit bekannten Anwendungen beziehen sich auf die Verwendung von Nano-Ton in inneren Schichten von Verbundmaterialien, aus denen nicht mit einer Exposition von Verbrauchern gegenüber Nanopartikeln zu rechnen ist (BfR Stellungnahme Nr. 001/2009).

Werden Nano-Tonpartikel nicht in die oben genannten Polymere, sondern in Stärke eingearbeitet, erhält man biologisch abbaubare (Verpackungs-)materialien. Diese Komposite sind in ihren technischen Eigenschaften (z.B. hinsichtlich Festigkeit und wasserabweisenden Eigenschaften) den herkömmlich hergestellten Stärkepolymeren überlegen (Halley et al., 2006; BfR Stellungnahme Nr. 001/2009).

1.4.1.5 Kommerziell eingesetzte Systeme für den Lebensmittelkontakt

Eine Übersicht über aktuell kommerziell erhältliche Nanokomposit-Systeme basierend auf Polyamiden liefert Tabelle 1.

Tabelle 1: Übersicht kommerziell erhältlicher / eingesetzter Nanokomposit-Systeme basierend auf Polyamid (Pavlidou und Papaspyrides, 2008; Chaundry et al., 2008; ObservatoryNano 2009).

Produkt	Hersteller	Grundpolymer	Website
Durethan®	Lanxess / Bayer	PA6	www.lanxess.com *
NycoNano TM	Nycoa	PA6	www.nycoa.net
Aegis TM	Honeywell	PA6	www.honeywell.com
Nanoblend TM	PolyOne	PA6	www.polyone.com
Nanomide TM	NanoPolymer	PA6	www.nanopolymer.com
Ecobesta®	Ube Industrie	PA6 Copolymer	www.ube.com
Systemer	Showa Denko	PA6	www.showadenko.com
Imperm®	Nanocor / Colormatrix	MXD6	www.nanocor.com
M9® *	Mitsubishi Gas Chemical Company	MXD6	www.mgc.co.jp

*: Die aktuelle Verfügbarkeit dieses Produkts ist unklar (Stand Oktober 2009).

Komposite aus Polyamiden und Nano-Ton (z.B. Imperm® und Durethan® KU2-2601) werden als Barrierschichten für Mehrschicht-Verpackungsmaterialien wie Multilayer-PET-Flaschen, Folien, Container sowie für beschichtetes Papier und Karton eingesetzt. In Verbundmaterialien werden diese Komposite in der Regel in der Mittelschicht, ohne direkten Kontakt zum Lebensmittel eingesetzt. Darüber hinaus werden solche Nanokomposit-Materialien auch mit Sauerstoff-Scavenger-Technologien kombiniert (z.B. Aegis® OX, Aegis® HFX, Aegis® NC).

Die japanische Firma Kuraray (www.kurarister.com) vertreibt PET- und eine PA-Folien (KURARISTER® C und KURARISTER® N), die mit einem „Polymer Nanokomposit“ beschichtet sein sollen. Die Folien werden in Folienverbunden z.B. für Standbeutel für die Verpackung von Lebensmitteln eingesetzt. Informationen zur Identität des eingesetzten Nanokomposits, einschließlich Partikelgrößen, liegen nicht vor.

Bio-Nanokomposite bezeichnen den Einsatz von Nano-Tonpartikeln in biologisch abbaubaren Polymeren wie Stärke, Cellulose und Polymilchsäure. Bio-Nanokomposite sind bisher vorwiegend in der wissenschaftlichen Literatur beschrieben. Der kommerzielle Einsatz von solchen Bio-Nanokompositen als Verpackungsmaterialien ist bisher nicht bekannt.

1.4.1.6 Cellulose Nanokomposite - Nanocellulose

Nanokomposite mit Cellulose-Nanofasern stellen einen weiteren Anwendungsbereich von Nanokompositen in Verpackungsmaterialien dar.

Nanocellulose (nanofibrillierte Cellulose (NFC), auch mikrofibrillierte Cellulose genannt, wird aus Zellstofffasern isoliert. Die einzelnen Fibrillen (Stränge) weisen dabei Durchmesser (2-20 nm) im Nanometer- und Längen im Mikrometerbereich auf.

Das Eigenschaftsprofil von Cellulose Nanokompositen (mit Cellulosefibrillen verstärkte Polymere) umfasst u.a. Bioabbaubarkeit, Transparenz sowie hervorragende Festigkeits- und Thermoeigenschaften. Diese sind jedoch stark abhängig von der chemischen Kompatibilität zwischen dem verstärkenden Füllstoff (nanofibrillierte Cellulose) und der Matrix. Aufgrund des hydrophilen Charakters der nanofibrillierten Cellulose sind die Wechselwirkungen der Cellulosefibrillen mit hydrophoben Matrices oftmals unzureichend. Um eine Dispersion des Füllstoffs und eine gute Adhäsion beider Phasen zu erreichen, muss die hydrophile nanofibrillierte Cellulose (NFC) je nach Einsatz in verschiedenen (Bio-)polymeren, chemisch modifiziert bzw. funktionalisiert werden und so ihre Polarität an weniger hydrophile oder hydrophobe Polymermatrices angepasst werden. Dies ist insbesondere bei der Herstellung von Verbundwerkstoffen aus Kunststoffen und NFC der Fall, so dass die NFC ohne Reagglomerationen und bei Erhaltung der Netzwerkstruktur ins Zielpolymer überführt werden kann (Zimmermann, 2009; Azeredo, 2009).

In der Literatur beschriebene chemische Modifikationen umfassen Derivatisierungsreaktionen der Hydroxylgruppen der Cellulosefibrillen, wie Veresterungen bzw. Acylierungen mit Fettsäuren, die z.B. für Komposite mit Polyethylen eingesetzt werden (Freire et al., 2008; Azeredo, 2009). Darüber hinaus kann auch durch die Zugabe von oberflächenaktiven Stoffen wie Tensiden die Kompatibilität von Nanocellulose und hydrophoben Polymermatrices verbessert werden. Das Tensid stellt hierbei eine Art „Quervernetzer“ dar, indem sich die hydrophile Kopfgruppe des Tensids an die Cellulose anlagert, während der hydrophobe Tensidanteil die Verbindung in die Matrix ermöglicht.

„All-cellulose composites“, also Komposite ausschließlich aus Cellulose aufgebaut, stellen einen Idealfall dar, da hier sowohl die verstärkenden Fasern als auch die Matrix Cellulose-basiert ist und so eine hervorragende Interaktion zwischen den beiden

Phasen möglich ist. Gängige Zielmatrices für Nanocellulose sind daher vorwiegend Biopolymere wie Stärke bzw. Hydroxypropylcellulose.

Eine Einschränkung des Einsatzes von Nanocellulose in hydrophoben Matrices stellt deren hohe Wasserbindungskapazität dar, die ebenfalls auf dem hydrophoben Charakter der Zellulosefibrillen beruht (Hubbe et al., 2008).

Im Rahmen des schwedischen Forschungsprojekts „Nanocell“¹ wurden u.a. Anwendungspotentiale von Nanocellulose für Polymerfilme untersucht (Projektkoordination: STFI-Packforsk (jetzt Innventia AB)).

Darüber hinaus sind auch Studien zum Einsatz von fibrillärer Nanocellulose in Kompositmaterialien mit Polyurethan (Auad et al., 2009; Wu et al., 2007), Polymilchsäure (Fukuzumi et al., 2009), sowie als „Nanopapier“ (Henriksson et al., 2008) publiziert. Hinsichtlich des kommerziellen Einsatzes von Nanocellulose bzw. von Nanokompositen mit Cellulose-Nanofasern sind folgende Aspekte relevant:

Cellulose selbst ist in großen Mengen verfügbar, der Einsatz nachwachsender Rohstoffe wird angestrebt, jedoch ist die Herstellung von Nanocellulose (in Form von Cellulose „whisker“) relativ energieintensiv und bisher nicht im industriellen Maßstab verfügbar. Eingesetzt wird daher meist mikrokristalline Cellulose (MCC), welche neben den nicht erwünschten amorphen Anteilen, sehr hohe Anteile an Cellulose-Mikrokristallen enthält.

Als ein kommerzielles Einsatzgebiet von Cellulose Nanokompositen konnte das von der US-amerikanischen FDA zugelassene GreenCoat® von Polymate Ltd. und Nanotech Industries, Inc. (NTI)² identifiziert werden. Hierbei soll es sich um ein hydrophobes Polymer-Nanokomposit-Material handeln, das als Beschichtung („Coating“) auf Papiere aufgetragen wird. Es soll sich durch Wasser-, Öl- und Fettbeständigkeit, Recyclefähigkeit und Bioabbaubarkeit sowie durch verbesserte Barriereigenschaften auszeichnen. Das Anwendungspotential umfasst zahlreiche papier- bzw. kartonbasierte Packmittel für den Lebensmitteldirektkontakt wie z.B. Papiertüten und Kartonschachteln. Eine Produktdarstellung ist online verfügbar³.

¹ <http://www.woodwisdom.fi/default.asp?docId=12331> und http://www.innventia.com/templates/STFIPage_7677.aspx

² <http://www.nanotechindustriesinc.com/greencoat.php>

³ <http://www.nanotechindustriesinc.com/greencoat.php>

Spezifische Informationen zur Zusammensetzung des Nanokomposits bzw. eine allgemein verfügbare FDA Bewertung sind gegenwärtig nicht online verfügbar.

1.4.2 Nanoskalige Oberflächenbeschichtungen

1.4.2.1 Allgemeines

Unter Verwendung von plasmatechnischen Verfahren ist es möglich Oberflächenmodifizierungen im Nanometermaßstab auf Verpackungsmaterialien durchzuführen. Diese Prozesse laufen im Niederdruckverfahren oder im Atmosphärendruckverfahren.

1.4.2.2 Aufgedampfte nanoskalige Barrierschichten aus SiO_x bzw. AlO_x

(Flexible) Kunststofffolien besitzen häufig nur eine begrenzte Barriere Wirkung gegenüber der Permeation von Gasen und Dämpfen. Beschichtung mit anorganischen Materialien in Dicken von einigen zehn Nanometern stellen eine Möglichkeit dar diese Permeation um mehrere Größenordnungen zu reduzieren.

In vielen Fällen wird dazu eine Metallisierung genutzt („metallisierte Folien“). Benötigt man jedoch eine optisch transparente Folie bzw. Verpackung, besteht die Möglichkeit der Beschichtung mit einer keramischen Schicht, z. B. Siliziumoxid oder Aluminiumoxid.

Um die aufgedampfte Schicht vor mechanischen Einflüssen zu schützen, muss diese in jedem Fall beschichtet werden (z.B. durch eine Lackierung oder Kaschierung mit Polymerfolie). Bedampfte Folien können daher nur als Teil eines Laminates eingesetzt werden. Damit wird einerseits sichergestellt, dass die gewünscht niedrigen Barriereigenschaften erhalten bleiben, andererseits ist die nanoskalige Schicht eingebettet und steht bei Lebensmittelverpackungen nicht in direktem Kontakt mit dem Füllgut. Solche Multilayer-Folien mit aufgedampften Aluminium- oder Siliziumoxidschichten sind seit ca. 15 - 20 Jahren Stand der Technik (z.B. Chips- und Snackverpackungen, sterilisierbare Beutel für enterale Ernährung, Käseverpackungen). Typisches Trägermaterial für SiO_x -Barrierschichten ist PET (12 μm), in geringerem Umfang auch PA- und OPP-Filme.

Rechtliche Situation:

Mit Blick auf die am Markt befindlichen aufgedampften nanoskaligen Schichten ist von Bedeutung, dass diese stets zwischen zwei Materialien eingebettet wird (einerseits Trägermaterial z.B. PET und andererseits z.B. Lackierung, Extrusions-

beschichtung, Kaschierung). Die aufgedampfte nanoskalige Schicht hat daher keinen direkten Kontakt zum Lebensmittel.

Bei diesen aufgedampften Schichten handelt es sich nicht im engeren Sinn um Nanopartikel, da nur die Dimension der Schichtdicke im Nanometerbereich liegt. Die beiden anderen Dimensionen sind in makroskopischer Größe. Migrierfähige Nanopartikel, die sich aus dieser Schicht lösen, sind daher nicht zu erwarten. Zudem würden die darüberliegenden Schichten zusätzlich eine Barriere für den Übergang von Partikeln aus dieser Schicht in Lebensmittel darstellen. Ein Übergang von nanoskaligen Partikeln aus einer solchen Zwischenschicht einer Verpackung in das Füllgut kann daher ausgeschlossen werden.

1.4.2.3 Weitere Oberflächenmodifizierungen

Weitere Oberflächenmodifizierung von Packstoffen bzw. Verpackungen zielen darauf ab, die Grenzflächeneigenschaften gezielt zu ändern. So kann beispielsweise die Oberfläche von Lebensmittelverpackungen so modifiziert werden, dass Füllgüter an ihr nicht mehr so stark anhaften, was zu einer verbesserten Entleerbarkeit von Packungen führen soll und letztlich erhebliche Mengen Ressourcen einspart.

Solche Antihaftbeschichtungen für Lebensmittelverpackungen sollen auf hydrophoben Beschichtungen im Nanometerbereich basieren. Sie befinden sich derzeit noch in der Entwicklung und haben bisher noch keine Anwendung im Lebensmittelbereich.

1.4.2.4 Nanopartikeläre Beschichtungen aus Siliziumdioxid (SiO_x) auf der Innenseite von Kunststoffflaschen

Oberflächenbeschichtungen aus Siliziumdioxid (SiO_x) werden als Gasbarriere auf der Innenseite von Kunststoffflaschen (vorwiegend PET) aufgebracht. Die Siliziumdioxid-Schicht wird dabei *in situ* aus Hexamethyldisiloxan (CAS: 107-46-0) und Hexamethyldisilazan (CAS: 999-97-3) hergestellt und weist eine maximale Dicke von 100 nm auf.

Im Gegensatz zu oben beschriebenen Anwendung von aufgedampften Barrierschichten aus SiO_x bzw. AlO_x bei flexiblen Verpackungen, weisen solche Innenbeschichtungen von Kunststoffflaschen einen Direktkontakt zum Füllgut Lebensmittel auf.

Rechtliche Situation:

Die Anwendung von Siliziumdioxid als Nanobeschichtung für Kunststoffflaschen im Lebensmittelkontakt wurde durch die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) bewertet (EFSA 2007). Die EFSA schätzt diese Anwendung mit folgender Beschränkung „nur als Oberflächenbehandlungsagens für PET“ und einem Migrationsgrenzwert von 0,05 mg/kg Lebensmittel (gemessen als Hexamethyldisiloxan) als sicher ein.

Darüber hinaus wurde die Sicherheit dieser Beschichtung auch durch das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) geprüft. Gemäß der Empfehlung XVII „Polyterephthalsäurediolester“ (Stand vom 01.04.2004) dürfen Siliziumdioxidbeschichtungen, hergestellt unter Verwendung von Hexamethyldisiloxan und Hexamethyldisilazan als Monomere nach einem dem BfR bekannt gemachten Verfahren, für die Innenbeschichtung von Bedarfsgegenständen aus Polyterephthalsäuredioleestern verwendet werden.

1.4.3 Als Nanomaterialien spezifizierte anorganische Materialien in der Kunststoffverordnung

Nach dem aktuellen Wortlaut der EU-Kunststoffverordnung Nr. 10/2011, der sog. PIM (Plastics Implementation Measure) sind folgende Substanzen auch in Nanoform in der Positivliste enthalten:

- Siliziumdioxid (SiO_2) als synthetisches amorphes Siliziumdioxid (FCM Nr. 504)
- Kohlenstoffschwarz bzw. Ruß (Carbon black, FCM Nr. 411)
- Titanitrid (TiN , FCM Nr. 807)

Demnach gelten mit der neuen Verordnung auch die beiden Systeme synthetisch amorphes Siliziumdioxid und Kohlenstoffschwarz als in Nanoform bewertete Additive. Anzumerken ist, dass der neue nanobezogene Wortlaut bei beiden Substanzen, die bereits in den ersten Listen der Kunststoffrichtlinie (90/128/EWG) enthalten waren, neu in der Positivliste auftaucht. In der Vorgängerversion, der EU Richtlinie 2002/72/EG, war eine Spezifikation der Partikelgröße nicht enthalten.

1.4.3.1 Carbon Black / Kohlenstoffschwarz (PM Ref. Nr. 42 080)

Kohlenstoffschwarz wird weithin als Pigment und als Additiv für Polymere, (Druck-)Farben und Lacke für den Lebensmittelkontakt eingesetzt. Das Pigment „Kohlenstoffschwarz“ (carbon black) gehört zu den schon lange in großen Mengen hergestellten Nanomaterialien. Anwendung findet es als Additiv z.B. für Gummi. Außerdem

ist es ein gängiges Schwarzpigment für Tinten und Lacke sowie zur Einfärbung von Kunststoffen.

Die Anwendung von als nanoskalig spezifiziertem Kohlenstoffschwarz ist z. B. bei der Herstellung von PET-Flaschen beschrieben (United States Patent 4408004; Bikiarisa et al., 2006): Bei der Produktion von PET Flaschen, werden die PET Rohlinge ("Preforms") vor dem eigentlichen Blasen der Flaschen auf bis zu 125 °C erhitzt. Zum schnelleren Aufheizen der Preforms werden sogenannte Reheat-Additive, wie z.B. Kohlenstoffschwarz, Eisenoxid oder reduziertes Antimon, in das PET Material eingelagert und so die Wärmeaufnahme der Rohlinge erhöht. Für einen optimierten Aufheizvorgang werden Partikelgrößen im Bereich von < 100 nm, bevorzugt 15 – 30 nm, eingesetzt.

Abhängig vom Herstellungsprozess handelt es sich bei Kohlenstoffschwarz um sphärische Primärpartikel, die typischerweise einen Durchmesser von 10 – 40 nm aufweisen. Diese Primärpartikel bilden als „Baueinheiten“ jedoch bereits im Reaktionsreaktor Aggregate aus. Soweit bekannt, sind diese Aggregate (100 – 1000 nm) die kleinsten Kohlenstoffschwarz-Partikel, die sich isolieren lassen. Die Aggregate wiederum lagern sich zu größeren Agglomeraten zusammen, die bis zu mehreren Millimetern groß sind. Nach bisherigem Wissenstand treten in kommerziellen Kohlenstoffschwarz-Produkten nur Agglomerate auf, die nicht in kleinere Baueinheiten (Aggregate bzw. Primärpartikel) zerfallen, sofern keine ausreichenden (Scher-)Kräfte angewendet werden. In Endprodukten wie Lebensmittelverpackungsmaterialien aus Kunststoffen wird Kohlenstoffschwarz als Aggregate in die Polymermatrix eingebracht.

In der Positivliste der EU-Verordnung Nr. 10/2011 findet sich in Spalte 10 ‚Beschränkungen und Spezifikation‘ von Tabelle 1 folgender Wortlaut: „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.-%.“ Kohlenstoffschwarz war als Additiv für Kunststoffe in der EU Kunststoffrichtlinie 2002/72/EG zugelassen ohne Spezifikation bezüglich der Partikelgröße.

1.4.3.2 Siliziumdioxid (SiO₂) (PM Ref Nr. 86240)

Analog der Situation bei Kohlenstoffschwarz bilden sich bei der Herstellung von Siliziumdioxid (SiO₂) in Form von synthetisch amorphem Siliziumdioxid Primärpartikel in Nanogröße (ca. 5 – 30 nm), die sich jedoch zu größeren Einheiten (Aggregaten /

Partikelketten) von 100 bis 1000 nm zusammenlagern. Diese Aggregate bilden als Tertiärstruktur weiterhin flockige Agglomerate in der Größenordnung von ca. 1 bis 250 µm. Singuläre Primärpartikel in Endprodukten wie Lebensmittelverpackungsmaterialien aus Kunststoffen oder Silikonen, wo Siliziumdioxid als Füllstoff eingesetzt wird, treten nicht auf.

In der Positivliste der EU-Verordnung Nr. 10/2011 findet sich in Spalte 10 ‚Beschränkungen und Spezifikation‘ von Tabelle 1 folgender Wortlaut: „Bei synthetischem amorphem Siliciumdioxid: Primärpartikel von 1-100 nm, aggregiert zu 0,1-1 µm, die Agglomerate von 0,3 µm bis Millimetergröße bilden können.“

Eine Anwendungsbeschränkung im Polymer ist in der Verordnung nicht vorgesehen.

1.4.3.3 Titannitrid (TiN) (PM Ref. Nr. 93 485)

Nanoskaliges Titannitrid (TiN, CAS Reg. Nr. 25583-20-4) 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 Titannitrid weist eine Partikelgröße von < 20 nm (FDA: FCN 818 bzw. FCN 716⁴) auf und wird als Dispersion an PET Granulat-Hersteller verkauft, die diese Dispersion während der Polymerisation des PET zusetzen. In der Positivliste der EU-Verordnung Nr. 10/2011 findet sich in Spalte 10 ‚Beschränkungen und Spezifikation‘ von Tabelle 1 folgender Wortlaut: „Keine Migration von Titannitrid-Nanopartikeln. 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 Titannitrid-Nanopartikeln.“

Rechtliche Situation:

Titannitrid ist das erste und bisher einzige Additiv, das explizit in Form von Nanopartikeln für den Einsatz in Kunststoffen (PET) für den Lebensmittelkontakt zugelassen ist. Die Sicherheit der Anwendung von nanoskaligem Titanitrid in PET wurde durch die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) bewertet (EFSA 2008). Die EFSA empfahl die Zulassung von nanoskaligem Titannitrid für die Anwendung in PET Flaschen und die Aufnahme in die europäische Kunststoffrichtlinie 2002/72/EG mit der Beschränkung: „Nur zur Verwendung in Polyethylenterephthalat

⁴ FDA Inventory of Effective Food Contact Substance (FCS) Notifications
<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fcn/fcnNavigation.cfm?rpt=fcsListing&displayAll=true>

für Flaschen in Konzentrationen bis zu 20 mg/kg“. Titanitrid war zunächst auf europäischer Ebene nur in der sog. vorläufigen Liste für Additive („Provisional list of additives used in plastics“ vom 8.10.2009) unter Ref. Nr. 93485 aufgeführt und wurde lange nicht in die Gemeinschaftsliste aufgenommen. Erst 2011 wurde „Titanitrid, Nanopartikel“ (Ref No.: 93485) in der neuen Kunststoffverordnung (EU) Nr. 10/2011 vom 14. Januar 2011 für Kunststoffe für den Lebensmittelkontakt auch auf europäischer Ebene explizit mit dem oben genannten Wortlaut zugelassen.

Zuvor wurde „Titanitrid, Nanopartikel“ bereits mit der 17. Änderungsverordnung vom 23.10. 2009 in die deutsche Bedarfsgegenständeverordnung aufgenommen und war seitdem national als Additiv für PET Flaschen bis zu einer Konzentration von 20 mg/kg zugelassen.

Darüber hinaus ist die Anwendung von Titanitrid (mit der gleichen Spezifikation als Nanopartikel) in den USA in PET-Flaschen für den Lebensmittelkontakt durch die Food Contact Notifications FCN 818 bzw. FCN 716 zugelassen.

1.4.4 Antimikrobiell wirksame Nanopartikel

1.4.4.1 Silber

Silber(verbindungen) zeichnen sich durch eine bakterizide Wirkung aus. Als Wirkmechanismus wird die Blockade von O₂-Stoffwechsel-Enzymen, Störungen der Zellteilung sowie Schädigungen der Zellmembranen durch freigesetzte Silberionen diskutiert.

Silberverbindungen in makroskaliger Form werden als Oberflächenbiozid in Kunststoffen für den Lebensmittelkontakt eingesetzt (z.B. bei Küchenutensilien, Innenbeschichtung von Kühlschränken).

Eine Bewertung des Einsatzes von makroskaligen Silber / Silberverbindungen ist durch die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) erfolgt (EFSA 2004 und 2005). Bewertet wurden folgende Verbindungen:

- 20%(w/w) Silberchlorid, geschichtet auf 80 % (w/w) Titandioxid
- Silberhaltiges Glas (Silber-Magnesium-Calcium-Phosphat-Borat)
- Silberhaltiges Glas (Silber-Magnesium- Aluminium-Phosphat-Silikat), Silbergehalt weniger als 2 %
- Silberhaltiges Glas (Silber-Magnesium- Aluminium-Natrium-Phosphat-Silikat-Borat), Silbergehalt weniger als 0,5 %

- Silberhaltiges Glas (Silber-Magnesium-Natrium-Phosphat), Silbergehalt weniger als 3 %
- Silber-Natriumhydrogen-Zirconium-Phosphat
- Silber Zeolith A (Silber-Zink-Natrium-Ammonium-Aluminosilikat), Silbergehalt 2–5 %
- Silber-Zink-Aluminium-Bor-Phosphat-Glas, gemischt mit 5–20 % Bariumsulfat, Silbergehalt 0,35–0,6 %
- Silber-Zink Zeolith A (Silber-Zink-Natrium-Aluminosilikat-Calciummetaphosphat), Silbergehalt 1–1,6%
- Silber-Zink Zeolith A (Silber-Zink-Natrium-Magnesium-Aluminosilikat-Calciumphosphat), Silbergehalt 0,34–0,54 %

Silber-Nanopartikel

„Nano-Silber“ ist eines der am häufigsten verwendeten Nanomaterialien in Konsumprodukten, Lebensmittelverpackungen und Textilien, u.ä..

Für Silber-Nanopartikel ergibt sich das gleiche biozide Anwendungsspektrum wie für makroskaliges Silber. Da Nanopartikel ein größeres Oberflächen-Volumen-Verhältnis aufweisen, wird durch die Verwendung von Nano-Silber die Silberoberfläche, die mit der Umgebung in Kontakt steht, größer, so dass die benötigte Menge an Silber für den gleichen bakteriziden Effekt wesentlich kleiner ist. (Morones et al., 2007; Lok et al., 2007, Shirvastave et al., 2007, Sharma et al., 2009)

Tabelle 2: Übersicht: Beispiele für Produkte mit ausgelobten Einsatz von Nanosilber (BfR Stellungnahme 001/2009; ObservatoryNano 2009; Nanotechproject.org)

Kategorie	Hersteller	Handelsname
Lebensmittelbehälter	Sharper Image® (USA)	FresherLonger™ Miracle Food Storage Containers
		FresherLonger™ Plastic Storage Bags
	A-DO Global (Korea)	
	BlueMoonGoods, LLC (USA)	BlueMoonGoods™ Fresh Box
	Quan Zhou Hu Zheng Nano Technology Co., Ltd.® (China)	Nano-silver Storage Box
	Baby Dream® Co. Ltd. (South Korea)	Nano Silver Baby Milk Bottle
Kühlschränke	Daewoo® (Korea)	
	Hitachi, Ltd. (Japan)	
Küchenutensilien	NCT (China)	
	Changmin Chemicals (Korea)	Nano-silver Salad Bowl
	A-DO Global (Korea)	Schneidbretter

Anmerkung:

Für den Einsatz von Nanomaterialien besteht in Deutschland bzw. in anderen Mitgliedsstaaten der EU bzw. auf europäischer Ebene keine Kennzeichnungspflicht. Erkennbar ist der Einsatz von Nanotechnologie nur, wenn der Hersteller speziell mit der Verwendung von Nanotechnologie bzw. Nanomaterialien wirbt. Jedoch lässt sich allein aus den Werbeaussagen nicht ableiten, ob in einem Produkt tatsächlich Nanopartikel oder andere Nanomaterialien enthalten sind. Darüber hinaus wird der Begriff „Nano“ auch irreführend verwendet, wenn Materialien mit „kleiner Partikelgröße“ (meist im Mikrometerbereich oder größer) zum Einsatz kommen. Daher sind Zusammenstellungen von Produkten aus dem Bereich der Lebensmittelbedarfsgegenstände bzw. von Lebensmitteln selbst, in denen Nanomaterialien zum Einsatz kommen sollen, zu hinterfragen. Darüber hinaus werden bei einigen Anwendungen Nanomaterialien als Ausgangsmaterial verwendet, ohne dass im Endprodukt Nanomaterialien vorhanden sind. Dies ist z.B. der Fall, wenn Nanopartikel im Herstellungsprozess aggregieren (und nur unter hohem Energieaufwand wieder zerfallen würden) oder wenn Nanopartikel zu Beschichtungen verschmolzen werden (BfR Stellungnahme Nr. 001/2009).

1.4.4.2 Nanoskaliges Zinkoxid und Magnesiumoxid

Auch für nanoskaliges Zinkoxid und Magnesiumoxid wurden antimikrobielle Eigenschaften (Zhang et al., 2007) festgestellt, deren Einsatz für Lebensmittelverpackungen angestrebt wird. Vorteilhaft ist, dass bei ZnO keine Aktivierung durch UV-Licht notwendig ist. Folien auf Basis von Nano-Zinkoxid für die Verpackung von Lebensmitteln sind bereits kommerziell erhältlich z.B. Nano ZnO von Nano Technology Co., Ltd (Simon et al., 2008) bzw. SongSing Nano Technology Co., Ltd. (Taiwan).

1.4.4.3 Nanoskaliges Titandioxid

Die bakterizide Wirkung von Titandioxid-Nanopartikeln basiert auf photokatalytischen Effekten (Fujishima et al., 2000). Unter UV-Lichteinfluss wird in Gegenwart von Wasser und Sauerstoff zur Bildung von Wasserstoffperoxid als eigentlichem Desinfektionsmittel photokatalysiert.

1.4.5 Weitere nanoskalige Additive

1.4.5.1 Nanopigmente – „Nanocolorants“

Kohlenstoffschwarz ist in 1.4.3.1 bereits beschrieben.

Weiteres Beispiel für die Anwendung von nanoskaligen Farbpigmenten ist das Additiv „Light Stabilizer 210“ von Dupont, das als UV-Schutz eingesetzt wird. Laut Produktbeschreibung⁵ des Herstellers werden hier Titandioxid-Partikel verwendet, die eine mittlere Partikelgröße von 135 nm aufweisen. Ein Anteil von ca. 10 – 20 % weist eine Partikelgröße von kleiner 100 nm auf. Als Anwendungsgebiet von „Light Stabilizer 210“ wird der UV-Schutz von zahlreichen Polymeren und Beschichtungen ausgelobt. Nicht explizit genannt, aber vorstellbar, ist die Anwendung in Kunststofffolien für den Lebensmittelkontakt. Titandioxid in makroskaliger Form ist als Additiv für Kunststoffe in der EU Kunststoff-VO 10/2011 zugelassen.

Grundsätzlich fallen viele Pigmente unter die EU-Definition für Nanomaterialien.

1.4.6 Klebstoffe

1.4.6.1 Klebstoffe mit nanoskaliger Stärke

Die Firma EcoSynthetix Inc. vertreibt einen Klebstoff, der auf nanoskaliger Stärke basiert (EcoSphere® Biolatex) und insbesondere als Klebstoff für (beschichtete) Papiere und für Kartonagen eingesetzt werden kann. Laut Produktbeschreibung des Herstellers⁶ wird die Stärke zur Anwendung in Wasser dispergiert, wobei die Stärkepartikel im Größenbereich von 50 – 150 nm vorliegen, die jedoch Agglomerate von ca. 1 µm Größe ausbilden.

1.4.6.2 Klebstoffe auf Basis nanoskaliger Hybridpolymere und/oder neuer nanoskaliger Füllstoffe

Klebstoffe auf Basis nanoskaliger Hybridpolymere und/oder neuer nanoskaliger Füllstoffe sind Gegenstand von Forschungsprojekten⁷.

Die Fertigung von Folienverbunden mit Diffusionssperrschichten gegen Feuchtigkeit, Sauerstoff und Aromen verlangt bislang die Konstruktion komplexer, mehr-lagiger Lamine. Diese bestehen aus mehreren Folien und Barrierschichten, die mittels Kaschierkleber und/oder mittels Coextrusion kombiniert werden.

⁵

http://www2.dupont.com/Titanium_Technologies/en_US/products/dls_210/DLS_Push_Broch.pdf

⁶ <http://www.ecosynthetix.com/ecosphere.html>

⁷ http://www.nano.fraunhofer.de/de/institute/kompetenz_ivv.html

Ziel ist es, Klebstoffe auf Basis nanoskaliger Hybridpolymere und/oder neuer nanoskaliger Füllstoffe zu entwickeln, die selbst bereits eine Barrierewirkung ausüben. Diese könnten in mehrschichtigen Laminaten die bisher zusätzlich aufgetragenen Barrierschichten ersetzen und somit die Einsparung von Material-, Zeit- und Kosten ermöglichen.

Als Einsatzmöglichkeiten werden Lebensmittelverpackungen gesehen, wo diese Klebstoffe eine interessante Alternative zu anorganischen Aufdampfschichten oder EVOH sein könnten.

1.5 Experimentelle Arbeiten

1.5.1 Vorarbeiten zur Etablierung einer Methode zur Untersuchung von Nanopartikeln mittels asymmetrischer Fluss-Feldflussfraktionierung (AF4)

1.5.1.1 Einführung in die Feldflussfraktionierung

Die Prinzipien der Feldflussfraktionierung wurden von Moldenhauer und Klein (2008) in einer sehr übersichtlichen Art zusammengefasst⁸.

Die Feldflussfraktionierung (FFF) wurde 1966 von Prof. Calvin Giddings (1930-1996), einem Wissenschaftler der Universität Utah in Salt Lake City, USA, erfunden. Prof. Giddings gründete das FFF Research Center an der Universität Utah und entwickelte dort mit seinem Team die zugrunde liegende Theorie sowie verschiedene FFF-Varianten, wie z.B. die thermische FFF, die Sedimentations-FFF, die Fluss-FFF und die Splitt-FFF. In den Folgejahren wurde Giddings zweimal für den Nobelpreis vorgeschlagen. Im Jahre 1987 schließlich publizierte er zusammen mit Prof. Wahlund die Asymmetrische Fluss-FFF als eine weitere Variante der Fluss-FFF.

Die Feldflussfraktionierung stellt eine Familie Chromatographie-ähnlicher Separationstechniken dar. Allen FFF-Methoden gemeinsam ist die Verwendung eines speziellen, sehr flachen Trennkanals an Stelle der bei der Chromatographie verwendeten Säule. Dieser Trennkanal enthält keine stationäre Phase, sondern wird nur vom jeweiligen Lösungsmittel durchströmt. Aufgrund der geringen Kanalhöhe (ca. 350 µm) bildet sich bei den üblichen Flussraten von 1 mL/min ein laminarer Fluss mit einem parabolischen Strömungsprofil aus. Die eigentliche Auftrennung der Analyten erfolgt durch ein Kraftfeld, das senkrecht zu diesem parabolischen Fluss angelegt wird.

In der Fluss-FFF wird die Trennkraft durch einen Querfluss erzeugt. Die asymmetrische Fluss-FFF (AF4) besteht aus einem dünnen Kanal mit einer festen Wand als Oberseite und einer Membran als Unterseite. Der Querfluss wird als Teilströmung vom Hauptstrom der Trägerflüssigkeit im Kanal abgezweigt und durch die untere Membran hindurch abgeleitet. Unter dem Einfluss des von oben nach unten wirkenden Kraftfeldes und der von unten nach oben entgegenwirkenden Diffusion der Teil-

⁸ teilweise wörtliche Übernahme von Ausschnitten des Artikels

chen erfolgt eine Auftrennung der unterschiedlich großen Teilchen. Kleinere Partikel mit einer stärkeren Diffusion gelangen somit höher in den Kanal in Bereiche größerer Strömungsgeschwindigkeiten und eluieren zuerst. Größere Partikel mit einer schwächeren Diffusion gelangen dagegen nur in Bereiche mit geringeren Strömungsgeschwindigkeiten und eluieren dadurch erst später (Abbildung 3).

Im Allgemeinen können mittels AF4 nanoskalige Partikel in der Größenordnung von ca. 1 nm bis 100 µm aufgetrennt werden.

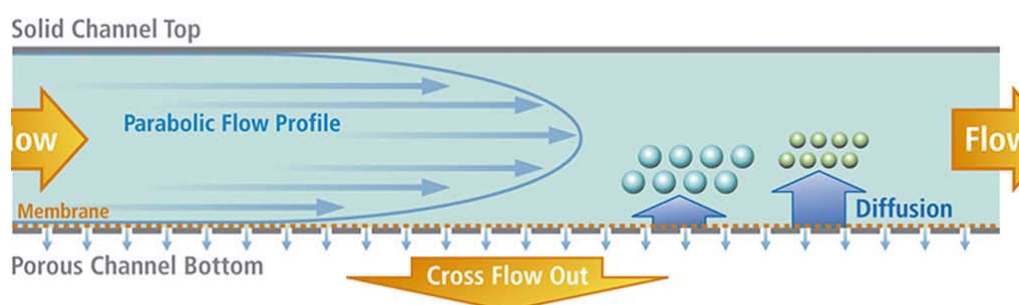


Abbildung 3: Querschnitt durch einen Asymmetrischen Fluss-FFF-Kanal (© Postnova)

1.5.1.2 Detektion mittels Mehrwinkel-Lichtstreuung (MALS)

Mittels Mehrwinkel-Lichtstreuungsdetektion (MALS, multi angle light scattering), können Molmassen absolut sowie Schwerpunktsradien (r_g , radius of gyration) allein aus den Messdaten ermittelt werden, ohne dass Massen- oder Größenstandards nötig sind. Das zugrunde liegende Prinzip ist dabei die statische Lichtstreuung. Laserlicht wird durch eine Detektionszelle gestrahlt, wobei die in der Probe enthaltenen Partikel das einfallende Licht in verschiedene Richtungen streuen. Das Ausmaß der Streuung des Lichts in verschiedene Richtungen lässt sich durch Interferenzen erklären, welche auftreten wenn das Licht von verschiedenen Stellen eines einzelnen Partikels gestreut wird. Das gestreute Licht hängt somit direkt von der Größe und der Form eines Partikels ab sowie von der Anzahl seiner Streuzentren. Durch die Verwendung von mehreren Detektoren in verschiedenen Streuwinkeln, wie es bei dem MALS-Detektor der Fall ist, können die gemittelten Streuintensitäten winkelabhängig gemessen werden. Aus der ermittelten Winkelabhängigkeit und der Intensität können Partikelgrößen berechnet werden.

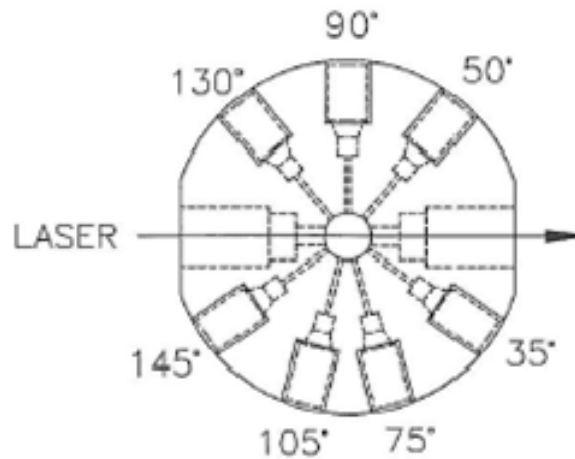


Abbildung 4: Schematische Darstellung eines Sieben-Winkel MALS Detektors

Die Theorie der winkelabhängigen Größenbestimmung wird durch die Gleichung der statischen Lichtstreuung beschrieben, die ein Polynom höheren Grades ist (Podzimek 2011). Dabei beschreibt das Rayleigh Verhältnis, $R(\theta)$, die winkelabhängige Intensität des Lichts, welches durch die Probe gestreut wurde. Dieses ist eine Funktion der Konzentration der Probe c , der molaren Masse M und des Partikelstrefaktors $P(\theta)$ am Winkel θ .

Bei den geringen Probekonzentrationen bei einer AF4-Messung können die höhere Terme der Gleichung der statischen Lichtstreuung vernachlässigt werden, wodurch diese in zwei Prinzipien zusammengefasst werden kann:

- Die Intensität des durch eine verdünnte Probe gestreuten Lichts ist direkt proportional zur Konzentration und molaren Masse der Probe.
- Die winkelabhängige Streuung des Lichts kann auf die Größe des streuenden Partikels zurückgeführt werden.

Der Schwerpunktsradius r_g eines Partikels kann aus dem Partikelstrefaktor extrapoliert zum Streuwinkel 0° bei der gegebenen Wellenlänge λ des Laserlichts berechnet werden (Gleichung 1)

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

Während eines AF4-Laufs wird das Rayleighverhältnis gemessen und daraus die molare Masse und der Schwerpunktsradius errechnet. Bei einem Streuwinkel von $\theta=0$ wäre dies eine sehr einfache Messung, dies ist jedoch physikalisch nicht mög-

lich. Daher werden die gemessenen Daten (R_θ/Kc) bzw. der Kehrwert gegen den jeweiligen Detektionswinkel ($\sin^2(\theta/2)$) aufgetragen und gegen $\theta=0$ extrapoliert. Dabei ist K eine optische konstante, die aus dem Brechungsindex der Lösung, der Wellenlänge des Lasers im Vakuum, der Avogadrozahl und dem Brechungsindexinkrement der Probe berechnet werden kann; c ist die Konzentration des Partikels in der Lösung. Allgemein gibt es drei Methoden die Daten gegen $\sin^2(\theta/2)$ aufzutragen, die Debye-, die Zimm- und die Berry-Methode. Im Debye-Plot lassen sich aus dem Achsenschnittpunkt mit der R_θ/Kc Achse die molare Masse ablesen und aus der Steigung des Graphen gegen $\theta=0$ der Schwerpunktsradius, r_g .

Debye-Methode: $\frac{R_\theta}{K \times c}$ gegen $\sin^2(\theta/2)$

Zimm-Methode: $\frac{K \times c}{R_\theta}$ gegen $\sin^2(\theta/2)$

Berry-Methode: $\sqrt{\frac{K \times c}{R_\theta}}$ gegen $\sin^2(\theta/2)$

Nachdem r_g durch die Extrapolation des Graphen gegen $\theta=0$ errechnet wird, ist es von entscheidender Bedeutung diejenige Methode auszuwählen, bei der die Messwerte am wenigsten von dem theoretischen Graphen abweichen. In der Praxis kann dies nur empirisch ermittelt werden.

Der Schwerpunktsradius r_g beschreibt, wie einzelne Massenelemente eines Partikels um seinen Schwerpunkt verteilt sind. Die Berechnung von r_g erfolgt dabei ausschließlich anhand der gemessenen winkelabhängigen Streuung des Laserstrahls. Der Schwerpunktsradius ist dabei jedoch nicht mit dem geometrischen Radius des Partikels gleichzusetzen. Wenn die Form des Partikels bekannt ist, kann der Schwerpunktsradius anhand folgender Gleichungen in einen geometrischen Radius umgerechnet werden. Diese Gleichungen sind dabei charakteristisch für bestimmte Partikelformen.

Knäuelstruktur: $r_g^2 = r^2/6$ **Gleichung 2**

Stab: $r_g^2 = L^2/12$ **Gleichung 3**

Kompakte Kugel: $r_g^2 = 0,6 r^2$ **Gleichung 4**

Hohlkugel: $r_g^2 = r^2$ **Gleichung 5**

1.5.1.3 Instrumentation

Für unsere Untersuchungen wurde die AF4 Anlage "AF2000 MT Series mid temperature" von Postnova Analytics in Kombination mit einem MALS (multi angle light scattering) Detektor (PN3607 Postnova Analytics) und einem Brechungsindexdetektor (PN 3140 Postnova Analytics) eingesetzt.

1.5.1.4 Fließmittel für die AF4

Die AF4 kann mit Ethanol oder einer Tensidlösung als Fließmittel betrieben werden. Als Tensidlösung wird entweder eine 0,2 %-Natriumlaurylsulfat-(SDS)-Lösung, oder ein von Postnova Analytics empfohlenes Tensidgemisch (Novachem®) als 0,2 %-ige-Lösung eingesetzt. Die genaue Zusammensetzung von Novachem ist nicht offengelegt. Es zeigte sich, dass Tensidlösungen zur Verkeimung neigen. Dies äußert sich im Auftreten von zusätzlichen Partikeln. Aus diesem Grund wurde das Fließmittel mit 200 ppm Natriumazid konserviert. Ethanol ist von Natur aus steril.

Die Fließmittel wurden vor der Verwendung über einen 100 nm Filter (Postnova Membrane Filter, Durchmesser 47 mm) filtriert. Am Beispiel einer 1000 µl Injektion von Ethanol in Tensidfließmittel wird gezeigt, wie wichtig die Aufreinigung des Ethanols ist (Abbildung 5). Die Filtration lieferte brauchbare Ergebnisse. Eine noch bessere Partikelfreiheit erhält man mittels Destillation über eine Kolonne. Migrationlösungen müssen entsprechend vor dem Migrationsansatz partikelfrei gemacht werden.

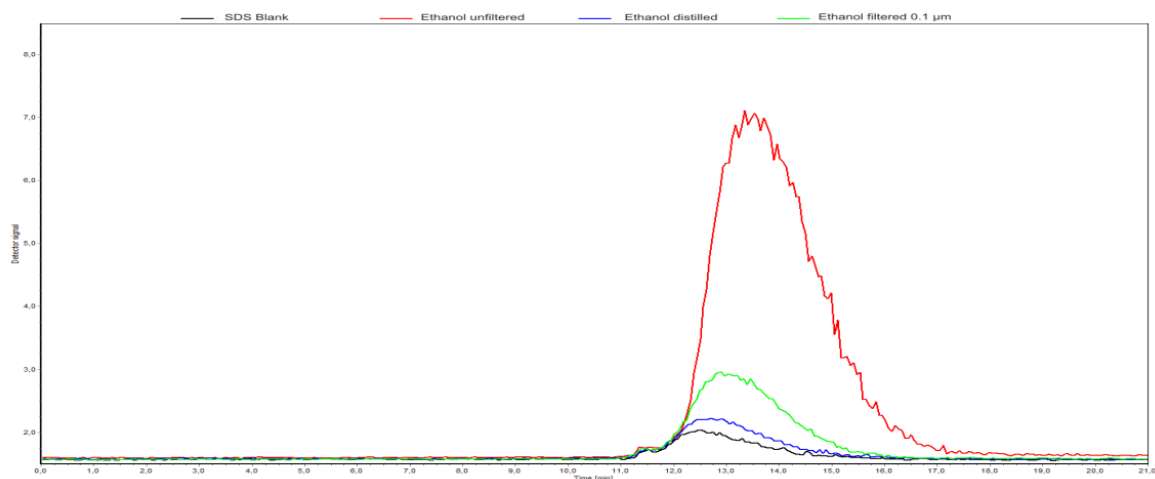


Abbildung 5: 95 % Ethanol-Blindwerte mit unterschiedlichen Vorbehandlungen zur Partikelentfernung (Schwarz: Fließmittel, blau Ethanol destilliert, grün Ethanol filtriert 100 nm, rot Ethanol direkt ohne Vorbehandlung).

1.5.1.5 Membranen für die AF4

Für AF4-Untersuchungen stehen eine Vielzahl an Membranen zu Verfügung, die sich über das verwendete Material und die Trenngrenzen unterscheiden. Bei Arbeiten mit wässrigen Tensidlösungen kamen folgende Membranen zum Einsatz:

- Regenerierte Cellulose (RC, Trenngrenze: 10 kDa; Postnova Analytics)
- Polyvinylidenfluorid (PVDF, Trenngrenze: 30 kDa, Postnova Analytics)
- Polyethersulfon (PES, Trenngrenze: 5 kDa; Microdyn-Nadir)
- Polyethersulfon (PES, Trenngrenze: 10 kDa; Microdyn-Nadir)
- Cellulose Triacetat (CTA, Trenngrenze: 5 kDa, Postnova Analytics)

1.5.1.6 Versuche mit unterschiedlichen Nanopartikeln

1.5.1.6.1 Nanosilber

Für die Untersuchungen mit Nanosilber wurde eine fertige Standardlösung von 0,1 mg/ml Silbernanopartikeln (Durchmesser: 10 nm) in wässriger Suspension eingesetzt (PlasmaChem GmbH, 12489 Berlin, Cat. Nr. PL-Ag-S10-1mg).

Silbernanopartikel haben eine nahezu ideale kugelige Form. Die Suspension ist stabil auch in Verdünnungen und neigt nicht zur Sedimentation von Partikeln. Diese Silber-Standardlösung erwies sich als sehr gut geeignet, um die Leistung der AF4-Anlage zu überprüfen.

Die kugeligen Partikel ergeben unter den verschiedenen Detektionswinkeln die gleiche Lichtstreuung. Dies zeigt sich an der gleichen Intensität des MALS-Signals bei den verschiedenen Streuwinkeln (Abbildung 6). Die Auswertung der MALS-Signale ergibt Partikelgrößen zwischen 20 und 120 nm. Dies ist größer als der Durchmesser von 10 nm gemäß der Spezifikation. Möglicherweise bildet sich jedoch eine Solvathülle, die über die Lichtstreuung erfasst wird.

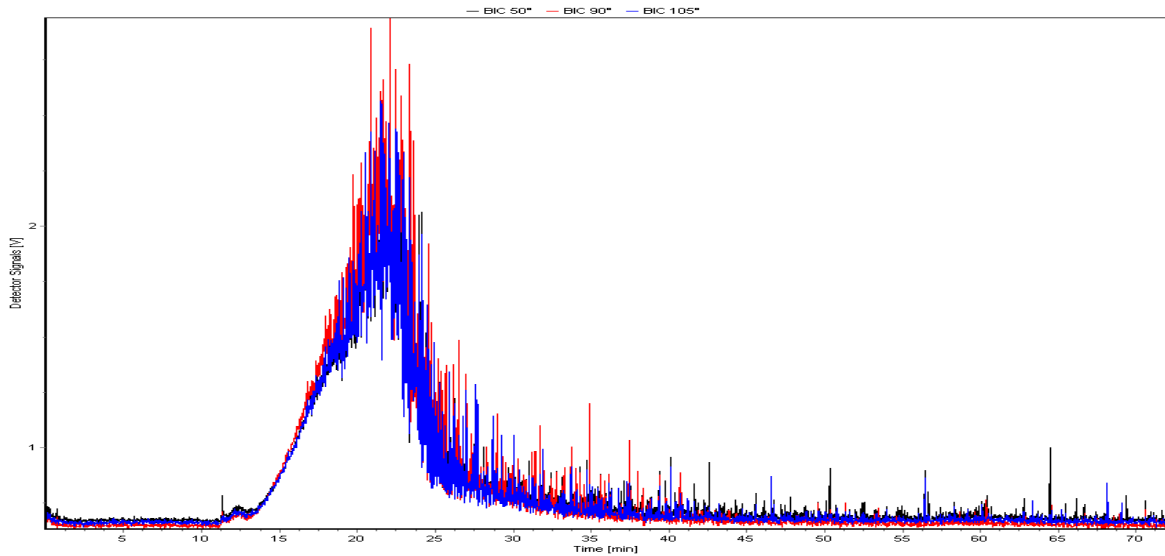


Abbildung 6: Fraktogramm einer Silberstandardlösung bei verschiedenen Lichtstreuwinkeln (50 ° schwarz, 90 ° rot, 105 ° blau).

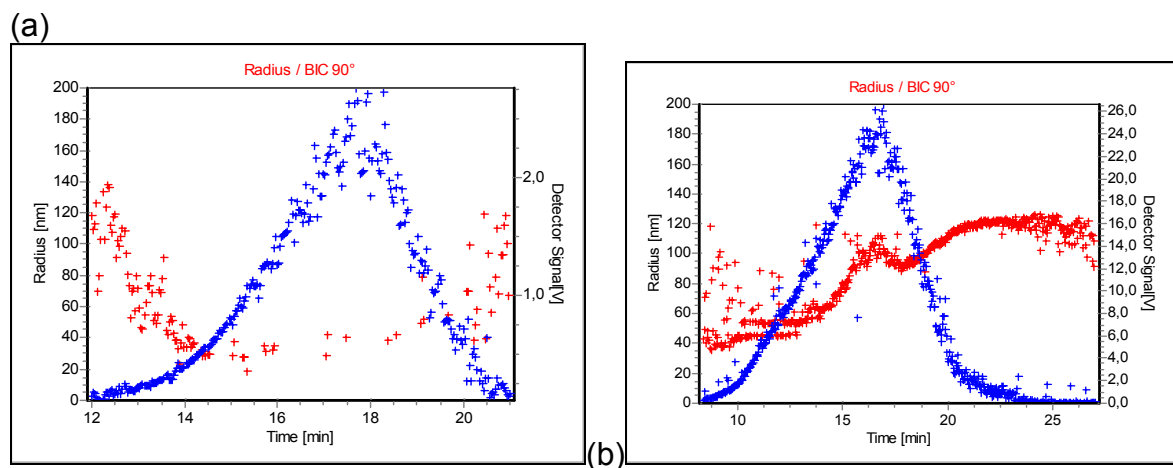


Abbildung 7: Partikelgrößenverteilung der Nanosilberstammllösung (rot) mit darüberegelegtem Fraktogramm bei 90 ° Lichtstreuwinkel (a) niedrig konzentrierte Lösung 1 ppm, 1000 µl; (b) höher konzentrierte Lösung 1000 ppm, 20,1 µl. Der Knick in der Partikelradiuskurve deutet auf Überladung des Kanals hin.

Die Nanosilberstandardlösung hat eine definierte Konzentration im Gegensatz zu vielen Proben, bei denen neben Nanopartikeln ein teilweise erheblicher Anteil an makroskopischen Partikeln vorhanden ist, die beim Zentrifugieren sedimentieren. So ist es möglich, bei diesem Standard eine Nachweisgrenze abzuschätzen. Bei einer Injektionsmenge von 10 ng ist noch ein deutlicher Peak im Fraktogramm zu erkennen (Abbildung 8: 0,1 ml einer 100 ng/ml-Lösung). Abbildung 9 und Abbildung 10 zeigen Fraktogramme unterschiedlicher Verdünnungen bei gleichem Injektionsvolumen. Hier ist die die niedrigste Injektionsmenge 25 ng Silber.

Das rauschige Signal kann auf die Rauigkeit der Partikeloberflächen hinweisen.

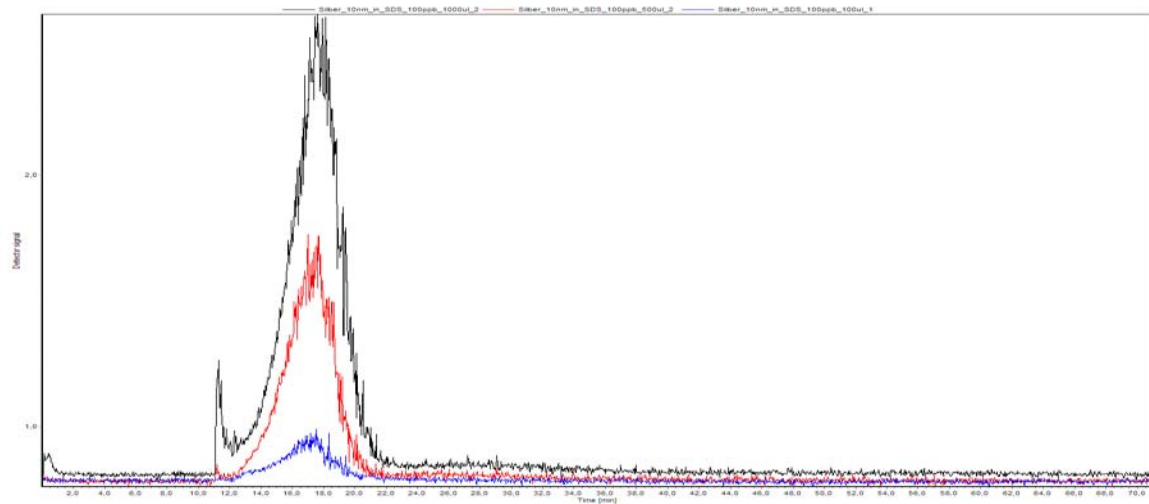


Abbildung 8: Injektion verschiedener Volumina (100 / 500 / 1000 µl) der gleichen Ag-Lösung c = 100 ppb. Fließmittel 0,05 % SDS mit 200 ppm NaAzid, 100 nm filtriert.

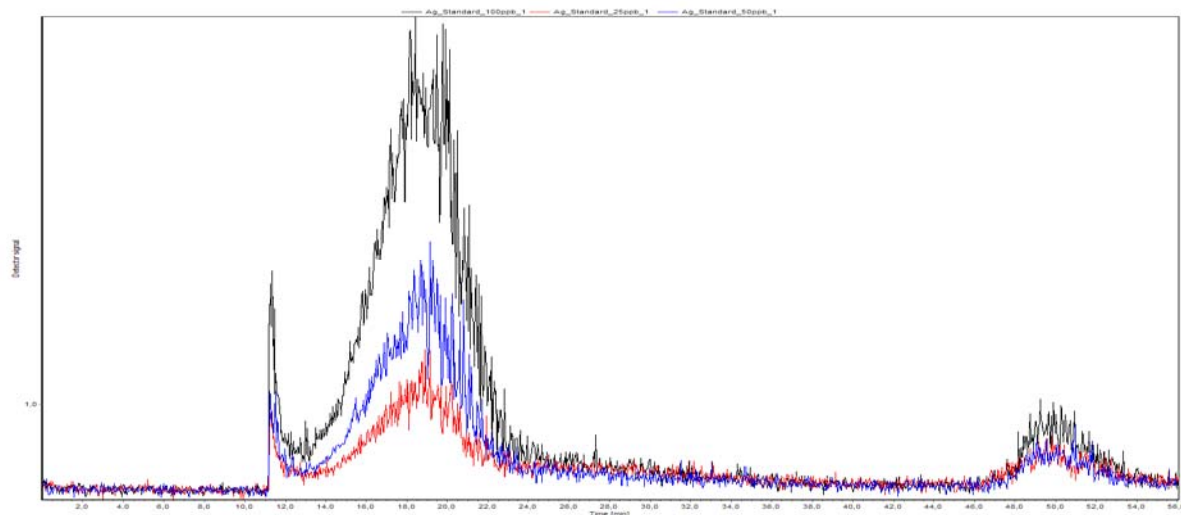


Abbildung 9: Injektion (je 1000 µl) verschiedener Konzentrationen (25 / 50 / 100 ppb) der gleichen Ag-Lösung. Fließmittel 0,05 % SDS mit 200 ppm NaAzid, 100 nm filtriert. Anmerkung: Der weitere Peak bei 46 min ff erscheint am Ende des Querflussgradienten bei einem Querfluss von 0 ml/min. Da Nano-Ag-Lösungen auf längere Zeit nicht stabil sind, kann dieser weitere Peak als das Herauswaschen größerer Partikel (Agglomerate) interpretiert werden.

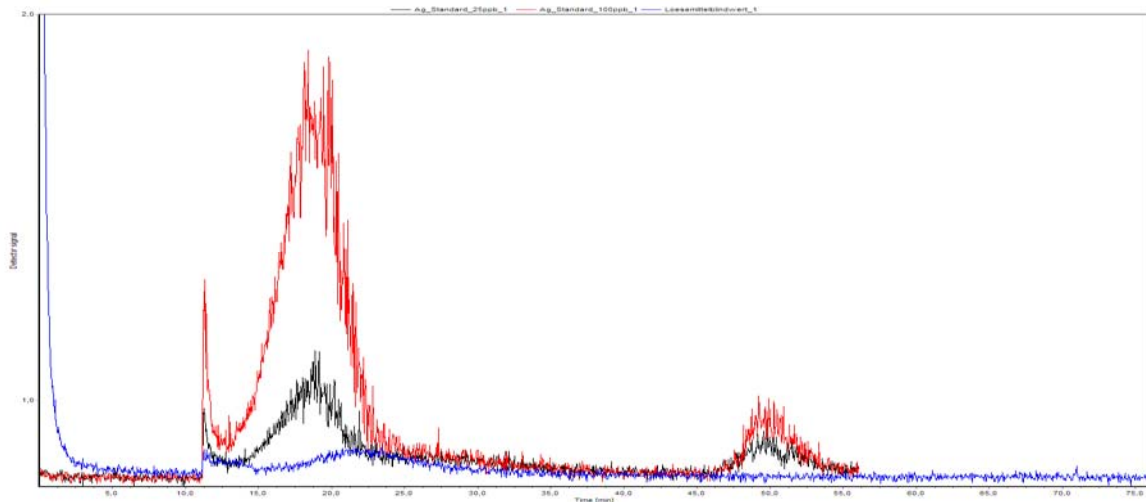


Abbildung 10: Vergleich Lösemittelblindwert (blau, 1000 µl) mit Standardkonzentrationen Ag (schwarz: 25 ppb / rot: 100 ppb, je 1000 µl)

1.5.1.6.2 Nanoadditiv für PET

Eine nanoscalige Additivmischung (Pulver) aus Bentonit, einem Kohlenwasserstoffpolymer, Kohlenstaub und Graphit für PET lag als Probe vor sowie eine PET-Folie mit eingearbeitetem Additiv. Das Fließmittel bzw. Lösemittel für die Probe war 0.02 % Novachem® (Tensidlösung). Das dispergierte Pulver wurde zentrifugiert bei 4500 RpM für 30 Minuten. (AF4-Parameter: RC 10 kDa, Injection Time = 8 min).

Das Fraktogramm dieser Mischung zeigt bei den verschiedenen Lichtstreuwinkeln Peaks unterschiedlicher Höhe und mit gegeneinander verschobenen Retentionszeiten (Abbildung 11). Aus der Verschiebung der Peaks gegeneinander bei den verschiedenen Lichtstreuwinkeln im Fraktogramm wird deutlich, dass es sich um eine Mischung verschiedener Partikel handelt. Die Signale der Lichtstreuwinkel 90 ° und 145 ° (rot und blau in Abbildung 11) erscheinen zur selben Zeit. Aus den unterschiedlichen Höhen der beiden Peaks könnte man ableiten, dass es sich um elliptische Partikel handelt. Bei kugeligen Partikeln müssten die Intensitäten gleich sein. Der Peak des Lichtstreuwinkels 35 ° ist zeitlich nach hinten verschoben. Hier handelt es sich wohl hauptsächlich um größere Partikel mit anderer Geometrie.

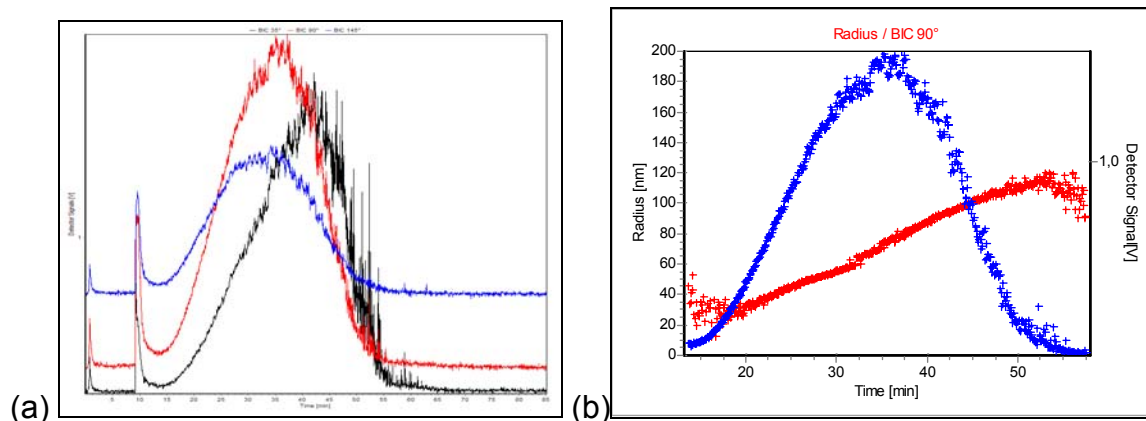


Abbildung 11: Probe Nanoadditiv für PET (Pulver in Tensidlösung) – (a) Vergleich verschiedener Lichtstreuwinkel (schwarz 35 °, rot 90 °, blau 145 °) und (b) Partikelradienverteilung (rot) in Abhängigkeit der Retentionszeit (blau Fraktogramm bei Lichtstreuwinkel 90 °).

Zur Untersuchung der Migration dieser Nanoadditivmischung wurden 0.5 dm² der PET Folie mit dem eingearbeiteten Additiv für ca. 3 Wochen in 20 ml Ethanol bei Raumtemperatur eingelegt. 1000 µl der Migrationslösung wurden in das Fließmittel (Ethanol) injiziert. Die AF4-Methode wurde in Anlehnung an die Parameter bei Schmidt et al., 2009 durchgeführt. Bei diesen Bedingungen waren keine Nanopartikel im Migrat nachweisbar (Abbildung 12).

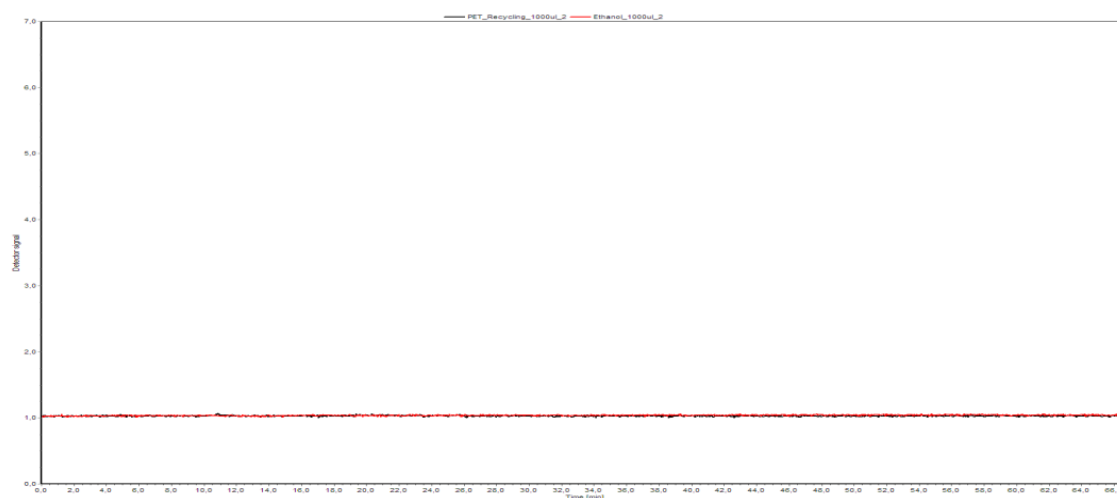


Abbildung 12: AF4-Fraktogramm der Migrationslösung aus der PET Folie mit Nanoadditiv (schwarz) im Vergleich zum Blindwert 95 % Ethanol (rot).

1.5.1.7 Nanoclay (organisch modifizierter Montmorillonit)

Schichtsilikate sind plattenförmige Partikel mit einer Höhe im Nanometer-Bereich, aber einer Ausdehnung in die anderen beiden Dimensionen von hundert oder mehreren Hundert Nanometern. Für die Versuche wurde ein Schichtsilikat verwendet, das

mit einem quaternären Ammoniumsalz modifiziert war (Organoclay). Der größere Teil des Schichtsilikates war unlöslich. Der lösliche Anteil zeigte jedoch eine eindeutige Abhängigkeit des Signals im Fraktogramm von der eingewogenen Menge des Schichtsilikates.

Es wurden jeweils 0, 20, 50, 101, 207, 397 und 632 mg Organoclay in 100 ml Erlenmeyerkolben eingewogen und mit 100 ml der Tensidlösung (0,05 % SDS + 200 ppm NaAzid, 100 nm filtriert) versetzt. Zusätzlich wurde 1 ml einer 25 %-igen Ammoniak-Lösung zugegeben. Anschließend wurden die Suspensionen bei Raumtemperatur über einen Zeitraum von 60 Stunden mit 300 Rpm am Magnetrührer gerührt. Danach wurden die Lösungen 60 Minuten bei einer relativen Zentrifugalbeschleunigung von 4000 g zentrifugiert. Der klare Überstand wurde abpipetiert und in 20 ml Vials abgefüllt. Von jeder Lösung wurde ein Volumen von 1000 µl injiziert (Methode in Anlehnung an Schmidt et al, 2009).

Die beiden niedrigsten Einwaagen (20 und 50 mg/100ml) zeigten keine nachweisbaren Partikelmengen im Vergleich zum Blindwert. Bei den drei höheren Einwaagen stieg die Intensität des Partikelsignals mit der zunehmenden Einwaage (Abbildung 13). Die Partikelgrößenverteilung ist in Abbildung 14 gezeigt.

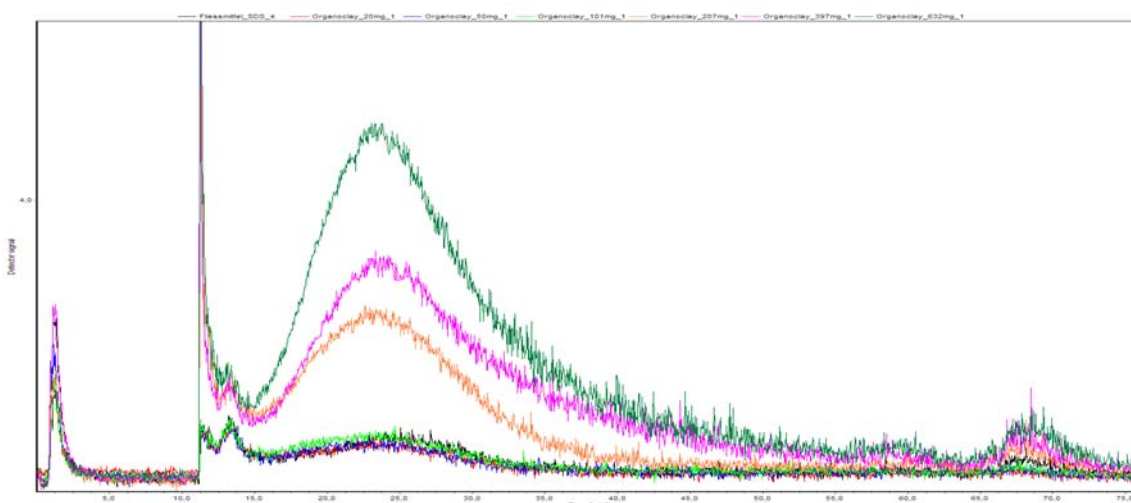


Abbildung 13: Übereinander gelegte Fraktogramme der Überstände verschiedener Einwaagen von Organoclay in Tensidlösung: 0 (schwarz), 20 (rot), 50 (blau), 101 (hellgrün), 207 (orange), 397 (weinrot) und 632 mg (dunkelgrün) Organoclay in 100 ml Tensidlösung

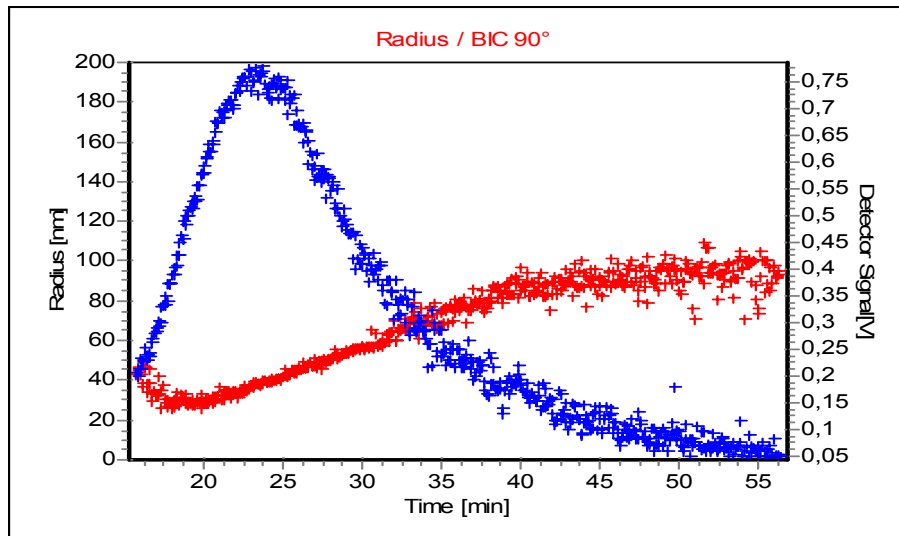


Abbildung 14: Partikelgrößenverteilung (Organoclay 632 mg Einwaage), überlagert durch Fraktogramm bei Lichtstreuwinkel 90 ° (blau).

1.5.1.8 Vorversuche zu Titanitrid

Nano-Titanitrid lag sowohl als Pulver als auch als Suspension in Polyethylenglykol vor. Titanitridpulver neigt in Ethanol zur Sedimentation. Eine 0,1 %ige Lösung zeigte keine Response im Fraktogramm (Abbildung 15), während Nanosilber in gleicher Konzentration im Vergleich einen deutlichen Partikelpeak zeigte (Abbildung 15).

Dispergiert man das Pulver jedoch in Novachem®-Tensidlösung, zeigt sich ein klares Partikelsignal (Abbildung 16 a). Dispergiert man die glykolische Titanitridsuspension in Ethanol und zentrifugiert anschließend, sind die Titanitridpartikel ebenso im Fraktogramm detektierbar (Abbildung 16 b). In diesem Fall dient das Polyethylenglykol aus der ursprünglichen Suspension als Dispergierhilfsmittel.

Allgemein kann aus diesen Beobachtungen geschlussfolgert werden, dass Nanopartikel je nach ihrer Struktur Dispergierhilfsmittel benötigen, um in Lösung zu bleiben. Für die Untersuchung von Migrationslösungen bedeutet das, dass möglicherweise migrierende Nanopartikel aus TiN-dotierten Materialien in 95 % Ethanol schon deswegen nicht nachweisbar wären, da die Partikel nicht in der Lösung stabil sind, sondern sedimentieren oder an der Gefäßwand anhaften. Dies könnte zu falsch negativen Ergebnissen führen. Ein geeignetes Simulanz für die Nanopartikelmigration wäre z. B. eine Tensidlösung. Als alternativer Ansatz wurden in diesem Projekt Ethanol- und auch 3% Essigsäuremigrationslösungen nahezu zur Trockene eingeblasen und dann in Tensidlösung aufgenommen und mittels Ultraschall dispergiert.

Mit niedrig konzentrierten Titanitriddispersionen (10 ppb, 100 ppb Titanitridpulver in ammoniakalkalischen Wasser (0,25% NH₃), 1000 µl Injektionsvolumen) wurde die Nachweisgrenze abgeschätzt. 100 ppb Titanitrid ergab ein gerade noch nachweisbares Signal im Vergleich zum Blindwert (Abbildung 17).

Auch in den Läufen mit Dispergierhilfsmittel bleibt ein Teil des Titanitrids auf der RC-Membran (Standardmembran) des AF4-Kanals hängen. Die Membran musste daher nach ca. zwei Läufen ausgebaut und gereinigt werden. Eine Erklärung wäre die Rauigkeit der RC-Membran.

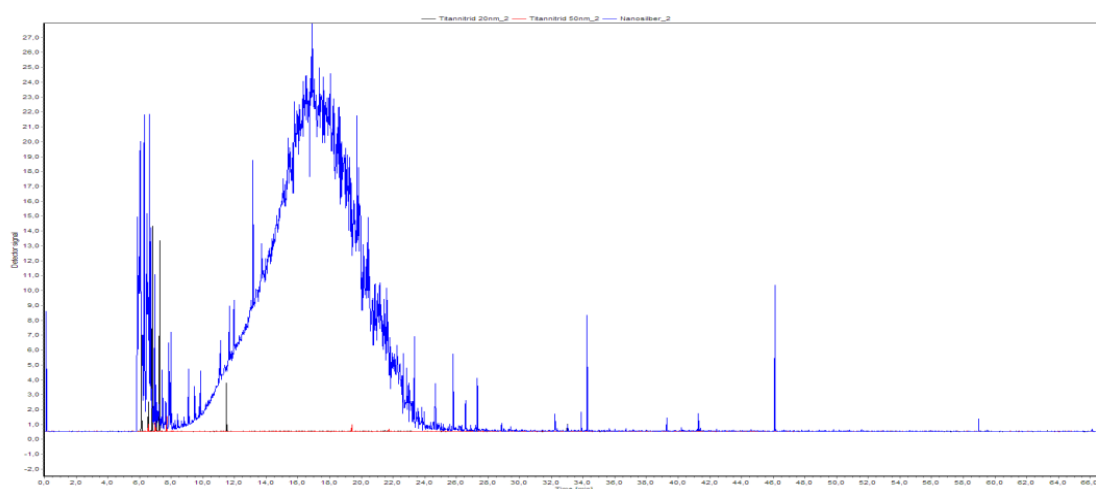


Abbildung 15: Vergleich der Fraktogramme einer Titanitridpulver-Suspension in Ethanol (rot, c = 0,1 %) und einer Nanosilber-Suspension (blau, c = 0,1 %). 20,1µl Injektionsvolumen mit Ethanol als Fließmittel

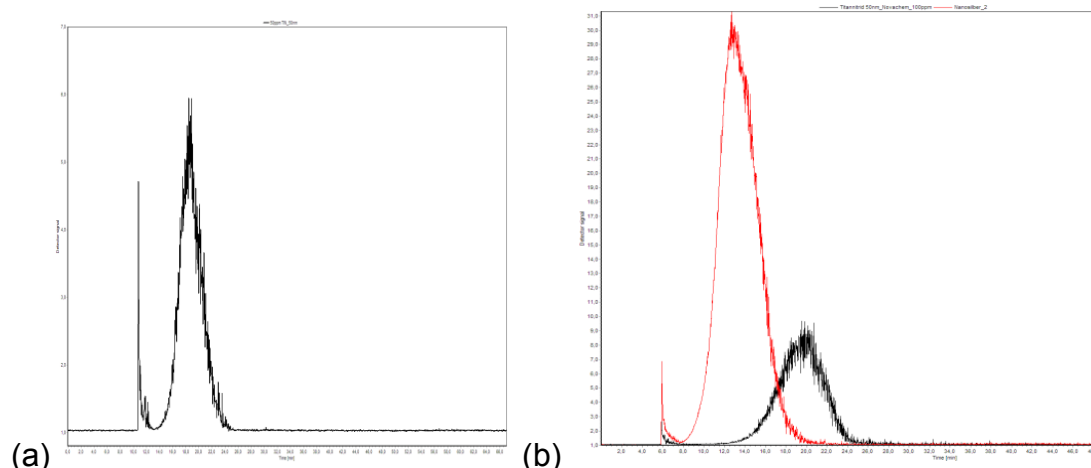


Abbildung 16: (a) Titanitridpulver (50 nm) in 0,2 % Novachem® dispergiert (20,1 µl Injektion einer 50 ppm Lösung, Fließmittel Ethanol). (b) Titanitridsuspension (100 ppm in Ethanol, 1 Stunde zentrifugiert bei 4500 U/min, Überstand abgenommen und 20 µl injiziert) im Vergleich mit Silberstandard (schwarz).

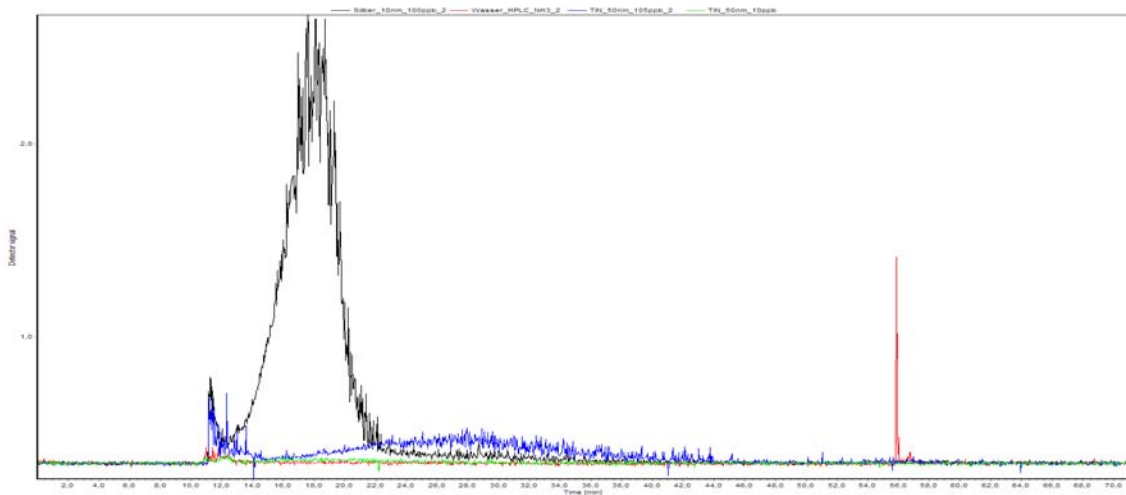


Abbildung 17: Titannitridpulver 0 ppb (rot), 10 ppb (grün), 100 ppb (blau) in ammoniakalischem Wasser (0,25 % NH₃), Injektionsvolumen 1000 µl. Im Vergleich zu Silber (100 ppb, schwarz)

Der Vergleich der Fraktogramme von Silbernanopartikeln und Titannitridnanopartikeln ist wieder ein schönes Beispiel für den Einfluss der Partikelgröße auf das Fraktogramm. Das kleinere Silber (nominaler Radius 10 nm) eluiert früher. Die Titannitridpartikel (nominaler Radius 50 nm) kommen später. Die absoluten Retentionszeiten für Silber und Titannitrid in den verschiedenen Abbildungen sind unterschiedlich, da sie mit verschiedenen Querflussprogrammen aufgenommen wurden.

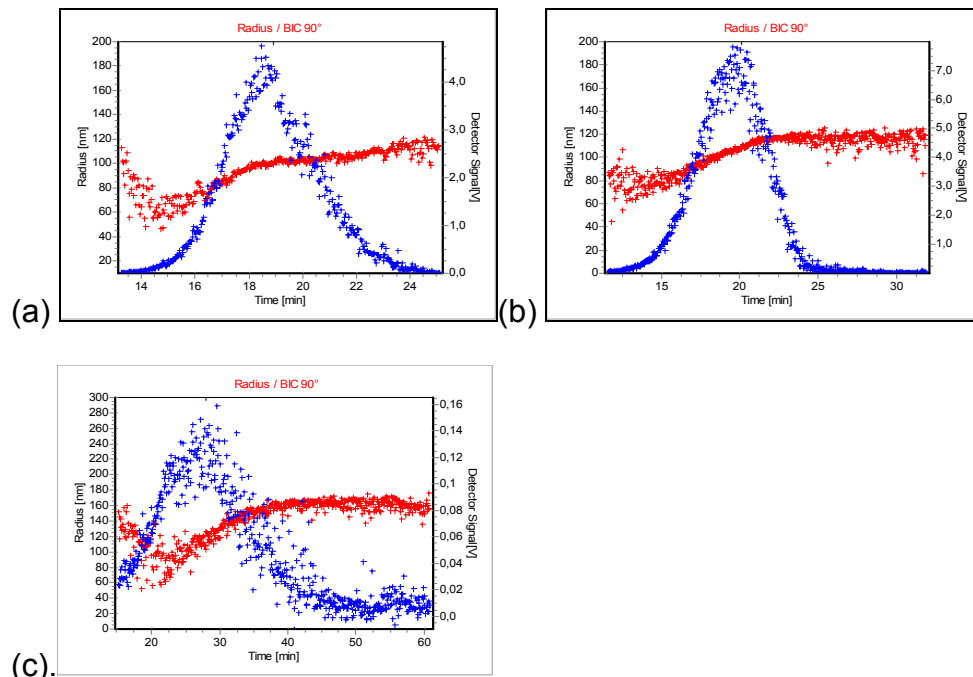


Abbildung 18: Partikelgrößenverteilungen in den Titannitrid-Fraktogrammen. (a) 50 ppm in Tensidlösung, 20,1 µl, vergl. Abbildung 16 a, (b) 100 ppm Suspension in Ethanol, 20,1 µl, vergl. Abbildung 16b, (c) 100 ppb in ammoniakalischem Wasser, 1000 µl, vergl. Abbildung 17.

Zur weiteren Optimierung der AF4-Läufe wurden Versuche mit weiteren Membranen durchgeführt. Sowohl die PES-Membran als auch PVDF-Membran weisen eine glattere Oberfläche auf als die RC-Membran. Erwartungsgemäß treten hier weniger Wechselwirkungen zwischen Probe und Membran auf, wodurch weniger Probe auf der Membran hängen bleibt. Bei Testläufen zeigten sich jedoch sowohl die 5 kDa PES-Membran, als auch die 10 kDa PES-Membran als ungeeignet. Bei beiden Membranen konnte keine Trennung zwischen der Probe und dem Fließmittel erzielt werden (Abbildung 19).

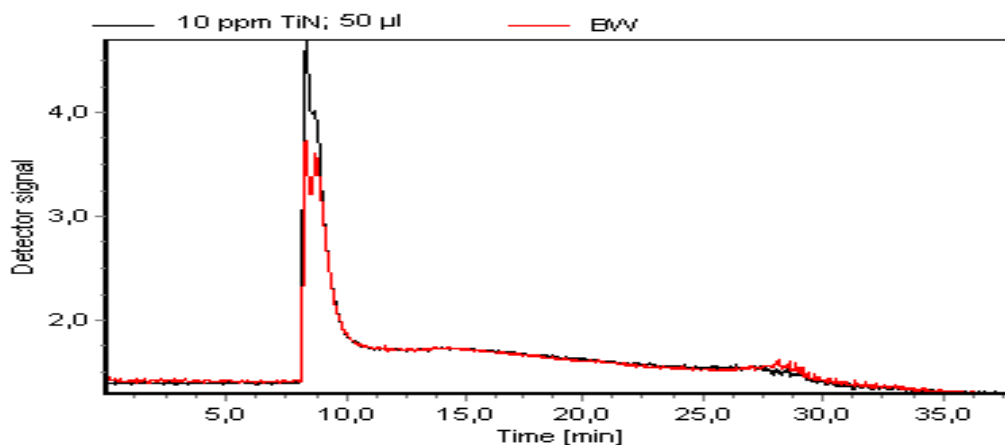


Abbildung 19: 10 kDa PES-Membran Fraktogramm des 90° Detektors: Blindwert (rot) und 10 ppm Titannitridpulver (schwarz); Als Fließ- und Dispergiermittel wurde eine 0,2 %ige Novachemlösung verwendet. Injektion: 20,1 µl.

Mittels einer PVDF-Membran konnten dagegen Probe und Fließmittel deutlich getrennt werden (Abbildung 20). Allerdings hat diese Membran eine Trenngrenze von 30 kDa. Die Trenngrenze gibt die Größe von Molekülen an, welche die Membran gerade noch effizient passieren können. Bei einer Trenngrenze von 30 kDa kann ein Teil des Titannitrids durch die Membran verloren gehen. Es muss daher eine Methode mit nur geringem Querfluss gewählt werden, um das Absaugen des Probenmaterials durch die Membran zu minimieren, was wiederum Einfluss auf die Trennleistung des Systems nimmt.

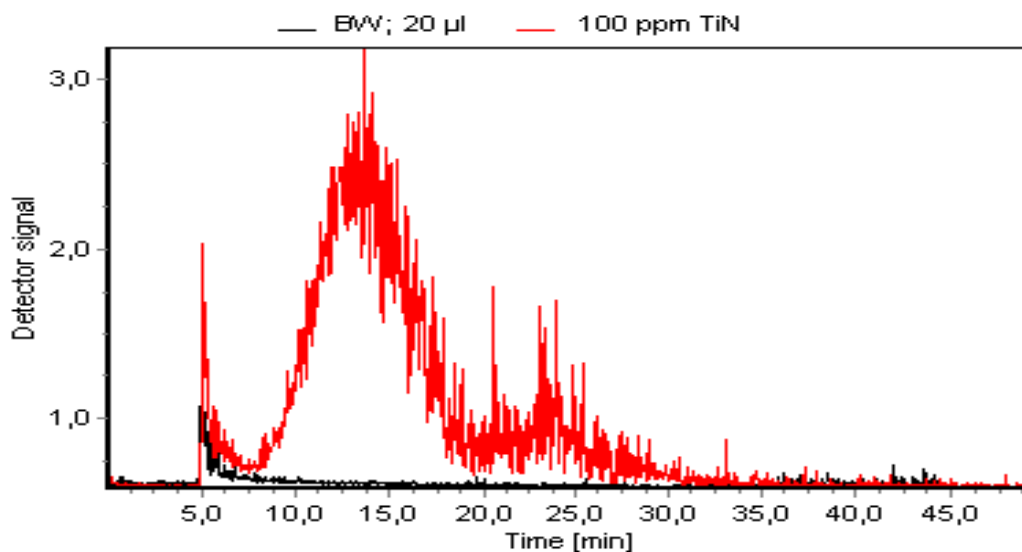


Abbildung 20: 30 kDa PVDF-Membran Fraktogramm des 90° Detektors: Blindwert (schwarz) und 100 ppm Titannitridpulver (rot); Als Fließ- und Dispergiermittel wurde eine 0,2 %ige Novachemlösung verwendet. Der zweite Peak nach 20 min stellt keine weitere Fraktion dar, sondern das verstärkte Herauswaschen von Partikeln bei einem Querfluss von 0 ml/min. Injektion: 20,1 µl.

Die Auswertung eines Testlaufs auf einer PVDF-Membran (Abbildung 21) zeigte anhand der ansteigenden Partikelgröße über die Elutionszeit, dass mit dieser Membran eine erfolgreiche Fraktionierung möglich war. Jedoch kam es auch bei Verwendung dieser Membran zu Wechselwirkungen zwischen Membran und Probe, sodass Probenmaterial auf der Membran verloren geht. Dies zeigt sich anhand des stark rauschigen Signals eines Blindwertes, welcher direkt nach einer TiN Probe injiziert wurde (Abbildung 22).

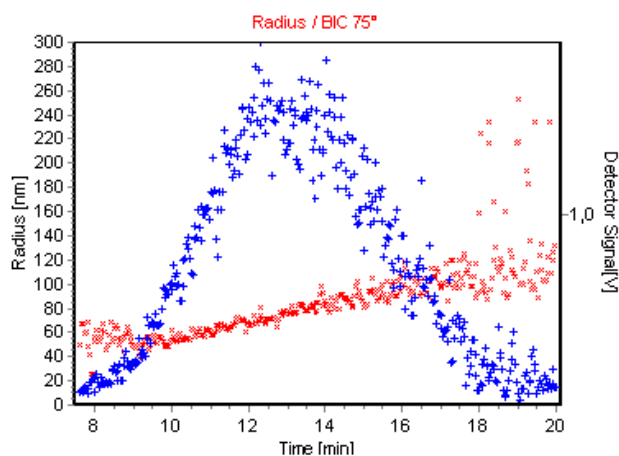


Abbildung 21: Partikelgrößenverteilung des 100 ppm Titannitridpulvers in 0,2 % Novachem; Trennung mittels einer 30 kDa PVDF-Membran.

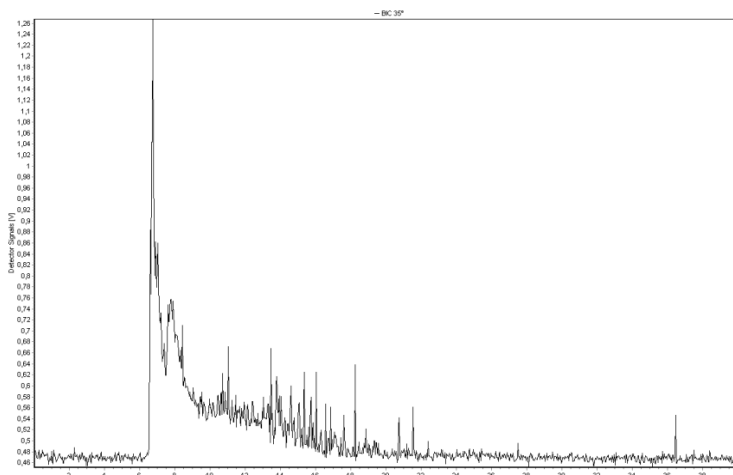


Abbildung 22: stark verrauschtes Signal eines Lösemittel-Blindwertes nach einem AF4-Run mit einer TiN-Probe.

1.5.1.9 Untersuchungen zur Reproduzierbarkeit von AF4-Messungen

Der MALS-Detektor ist für quantitative Messungen weniger geeignet, da er unspezifisch alle Partikel über ihre Lichtstreuung erfasst. Ein Werkzeug zur quantitativen Auswertung über die Integration der Peakflächen steht bei der vorliegenden Software-Version nicht zur Verfügung. Mit definierten Partikellösungen kann die Reproduzierbarkeit, die Abhängigkeit des Fraktogrammpeaks von Injektionsvolumen und –menge auch mit dem MALS-Detektor gezeigt werden. Für quantitative Auswertungen können spezifische Detektoren (z. B. ICP-MS oder ICP-OES) herangezogen werden, die direkt online angeschlossen werden können, oder Partikelfractionen können gesammelt werden und dann offline spezifisch untersucht werden.

Abbildung 23 zeigt die Korrelation verschiedener Injektionsvolumina der gleichen Lösung am Beispiel des Silberstandards mit MALS-Detektion. Am Beispiel der Nanofraktion eines Organoclays (mit quaternärem Ammoniumsalz modifizierter Montmorillonit) wurde gezeigt, dass das Signal nur von der eingespritzten Menge an Partikeln abhängt und unabhängig vom Injektionsvolumen ist (Abbildung 24).

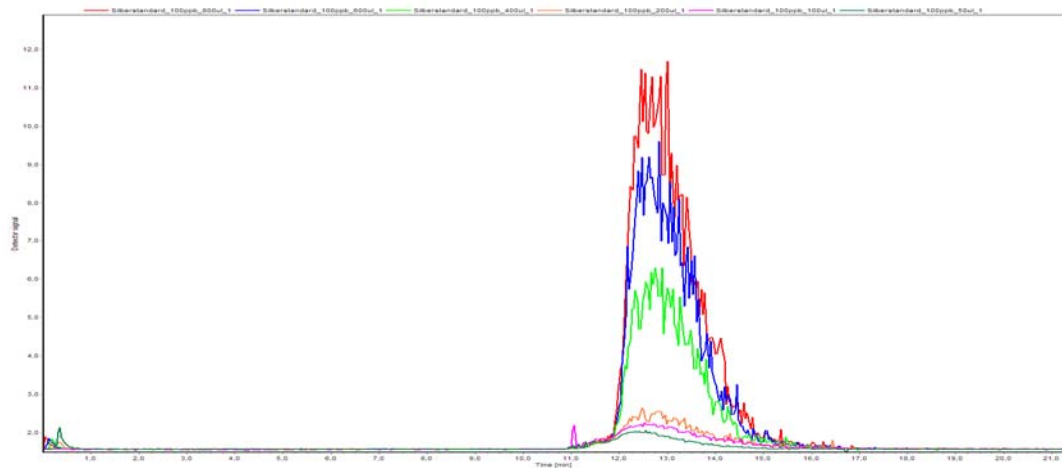


Abbildung 23: Injektion verschiedener Volumina der gleichen Silberstandardlösung (c = 100 ng/ml, d_{50} = 10nm): rot 800 µl, blau 600 µl, hellgrün 400 µl, orange 200 µl, weinrot 100 µl, dunkelgrün 50 µl.

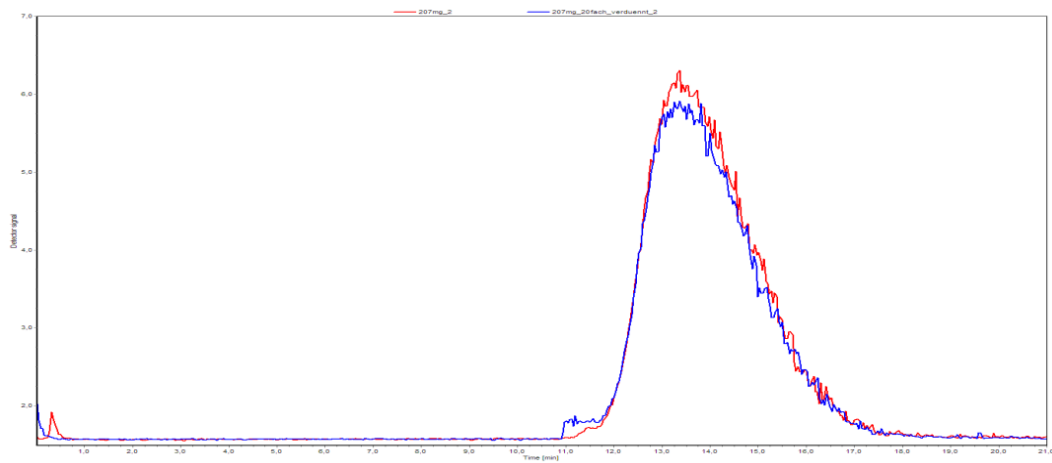


Abbildung 24: Reproduzierbarkeitsvergleich Injektionsvolumina (50 µl vs. 1000 µl einer 1:20 Verdünnung) Organoclay.

1.5.2 Nanoskaliges Titannitrid (TiN) in PET-Getränkeflaschen

1.5.2.1 Prüfmaterial

Nanoskaliges Titannitrid (TiN) ist gegenwärtig nur zur Verwendung in Polyethylen-terephthalat (PET) für Flaschen in Konzentrationen bis zu 20 mg/kg zugelassen (siehe Abschnitt 1.4.3.3).

Für nachfolgende Untersuchungen wurden dem Fraunhofer IVV vom Hersteller PET-Flaschen mit einer Konzentration von 50 ppm Titannitrid im PET-Material zur Verfügung gestellt. Diese werden im Folgenden „High Load“-PET-Flaschen genannt.

1.5.2.2 Bestimmung von Titan im Flaschenmaterial mittels ICP-MS

Das „High Load“-PET-Flaschenmaterial wurde einem mikrowellen-unterstützten Hochdruckaufschluss mit Salpetersäure unterzogen.

Anschließend erfolgte die quantitative Bestimmung von Titan in der verdünnten Säurelösung mittels ICP-MS gemäß der Norm DIN EN ISO 17294-2 mit Rhodium und Rhenium als interne Standards. Die Kalibrierung des ICP-MS erfolgte mittels Multi-elementstandards.

Die Messung erfolgte in einem akkreditierten Labor im Unterauftrag.

1.5.2.3 Migrationsuntersuchungen

Die „High Load“-PET-Flaschen sowie PET-Referenzflaschen wurden folgenden Migrationsbedingungen unterworfen:

Tabelle 3: Migrationsbedingungen für die PET-Flaschen

	Kontaktbedingungen (Zeit / Temperatur)	Prüfmaterial	Lebensmittelsimulanz	Prüfbed.
1	24 h / 60 °C	Probe	95 % Ethanol	Tauchen
2	2 Tage / 60 °C	Probe	95 % Ethanol	Tauchen
3	5 Tage / 60 °C	Probe	95 % Ethanol	Tauchen
4	10 Tage / 60 °C	Probe	95 % Ethanol	Tauchen
5	24 h / Rückfluß (78 °C)	Probe	95 % Ethanol	Tauchen
6	24 h / Rückfluß (78 °C)	Referenz	95 % Ethanol	Tauchen
7	24 h / 100 °C	Probe	3 % Essigsäure	Tauchen
8	24 h / 100 °C	Referenz	3 % Essigsäure	Tauchen

Dabei wurden Ausschnitte von 0,5 dm² aus der Flaschenwand in 30 ml Simulanz vollständig eingetaucht.

Anmerkung:

Die Prüfbedingungen wurden gewählt, um das PET-Material unter extremen Kontaktbedingungen zu „stressen“. Die gewählten Prüfbedingungen sind somit als „worst case“ Bedingungen einzuordnen, die wesentlich strenger als reale Anwendungsbedingungen für PET-Flaschen sind.

1.5.2.4 Bestimmung von Titan (Ti) in der Migrationslösung mittels ICP-MS

1.5.2.4.1 Probenaufarbeitung

Aufgrund des Auftretens von Interferenzen bei der Messung von ethanolischen Lösungen mittels ICP-MS (Instabilität des Plasmas) wurden die 95 % Ethanol Migrationslösungen sowie ein 95 % Ethanol Lösemittel-Blank vorsichtig eingedampft, in 3 % Essigsäure wieder aufgenommen und anschließend mittels ICP-MS analysiert.

1.5.2.4.2 Bestimmung von Titan mittels ICP-MS (Messmethode)

Titan wurde in den Migrationslösungen mittels ICP-MS gemäß der Norm DIN EN ISO 17294-2 quantitativ unter Verwendung von Rhodium und Rhenium als interne Standards bestimmt. Die Kalibrierung des ICP-MS erfolgte mittels Multielementstandards. Für die Messungen wurden die 3 % Essigsäure Migrationslösungen 1:5 verdünnt. Dieser Verdünnungsschritt ist in den aufgeführten Ergebnissen bereits berücksichtigt. Die Messung erfolgte in einem akkreditierten Labor im Unterauftrag.

1.5.2.5 Ergebnisse

1.5.2.5.1 Titan-Gehalt im PET-Material

Tabelle 4: Titangehalt der PET-Flaschen

Probenmaterial	Nomineller Titan-Gehalt [mg/kg]	gemessener Titan-Gehalt [mg/kg]	Wiederfindung [%]
“High-Load” PET Flasche mit 50 ppm TiN	39 mg Ti / kg PET	45	115
PET-Referenzflasche gelb	nicht bekannt	12	-
PET-Referenzflasche weiß		n.n.	
Nachweisgrenze	-	1	-

Die Referenzflasche (gelb eingefärbte PET-Flasche) enthielt bereits Titan in Form von Titanoxid im Farbmasterbatch).

Für die Nachuntersuchungen wurde dann eine nicht eingefärbte Flasche gewählt.

1.5.2.5.2 Bestimmung der spezifischen Migration von Titan in Lebensmittel-simulanzien

Der Mittelwert wurde aus drei Einzelergebnissen gebildet, die in der Tabelle mit Schrägstrichen getrennt angegeben sind. Wegen starker Streuung der Einzelwerte der verschiedenen Ansätze wurden die Migrationsversuche nochmals wiederholt.

Tabelle 5: Migration von Titan aus PET-Flaschen in 3 % Essigsäure

Migration in 3 % Essigsäure		
Proben-ID	Migration-bedingungen	Migration von Ti [mg/L]
7 abc (A) “High-Load” PET-Probe	24 h / Rückfluß (100 °C)	0,15 / 0,058 / 0,334 0,181
8 abc (A) PET-Referenz gelb	24 h / Rückfluß (100 °C)	0,21 / 0,29 / 0,032 0,177
3 % Essigsäure Blank	-	< 0,005
Nachweisgrenze	-	0,005

Tabelle 6: Migration von Titan aus PET-Flaschen in 95 % Ethanol

Migration in 95 % Ethanol *		
Proben-ID	Migration- bedingungen	Migration von Ti [µg/L]
1 abc (C) "High-Load" Probe	24 h / 60 °C	< 0,005 / < 0,005 / < 0,005 < 0,005
2 abc (C) "High-Load" Probe	2 Tage / 60 °C	< 0,005 / < 0,005 / < 0,005 < 0,005
3 abc (C) "High-Load" Probe	5 Tage / 60 °C	< 0,005 / < 0,005 / < 0,005 < 0,005
4 abc (C) "High-Load" Probe	10 Tage / 60 °C	< 0,005 / < 0,005 / < 0,005 < 0,005
5 abc (C) "High-Load" Probe	24 h / Rückfluß (78 °C)	0,011 / 0,050 / 0,007 0,023
6 abc (C) PET Referenz. gelb	24 h / Rückfluß (78 °C)	0,007 / < 0,005 / 0,006 < 0,005
Nachweisgrenze	-	0,005

Tabelle 7: Migration von Titan aus PET-Flaschen in 3 % Essigsäure (Wiederholungsversuch)

Wiederholung: Migration in 3 % Essigsäure; 28.01.2011			
Proben-ID	Migrations- bedingungen	Migration von Ti [mg/L]	Migration von Ti [µg/dm ²]
7 abc (A) "High-Load" PET-Probe	24 h / Rückfluß (100 °C)	0,009 / 0,009 / 0,019 0,012	0,036 / 0,036 / 0,076 0,049
8 ab (A) PET-Referenz weiß	24 h / Rückfluß (100 °C)	0,036 / 0,023 0,0295	0,144 / 0,092 0,118
3 % Essigsäure Blank	-	0	0
Nachweisgrenze	-	0,002	0,008

Tabelle 8: Titangehalt der 95 % Ethanol Migrationslösung (Wiederholungsversuch)

Wiederholung: Migration in 95 % Ethanol * 28.01.2011

Proben-ID	Migrationsbedingungen	Migration von Ti [mg/L]	Migration von Ti [mg/dm ²]
1 abc (B) "High-Load" Probe	24 h / 60 °C	0,003 / 0,004 / 0,003 0,003	0,012 / 0,016 / 0,012 0,013
5 abc (B) "High-Load" Probe	24 h / Rückfluß (78 °C)	0,002 / 0,003 / 0,004 0,003	0,008 / 0,012 / 0,016 0,012
PET Referenz weiß	24 h / 60 °C	0,003 / 0,003 0,003	0,012 / 0,012 0,012
PET Referenz weiß	24 h / Rückfluß (78 °C)	0,003 / 0,003 0,003	0,012 0,012
Nachweisgrenze	-	0,002	0,008

Jeweils nach entsprechender Probenaufarbeitung für ICP-MS (siehe 1.5.2.4.1).

1.5.2.5.3 Diskussion der Migrationsergebnisse

Die angewandten Prüfbedingungen wurden gewählt, um das PET-Material unter extremen Kontaktbedingungen zu „stressen“. Die gewählten Prüfbedingungen sind somit als „worst case“ Bedingungen einzuordnen, die wesentlich strenger als reale Anwendungsbedingungen für PET-Flaschen sind.

Bei Kontakt des Flaschenmaterials für 24 h unter Rückflussbedingungen (100 °C in Kontakt mit 3 % Essigsäure bzw. 78 °C in Kontakt mit 95 % Ethanol) konnten signifikante Mengen an Titan in den Migraten mittels ICP-MS detektiert werden.

Bei weniger drastischen Kontaktbedingungen (für 1 bis 10 Tage bei 60 °C), konnte bei einer Nachweisgrenze von 5 µg/L kein Übergang von Titan in die entsprechenden Lebensmittelsimulanzien 3 % Essigsäure bzw. 95 % Ethanol nachgewiesen werden. Anzumerken ist, dass die eingesetzten PET Referenzflaschen gelblich eingefärbt waren, so dass wahrscheinlich TiO₂ (Titandioxid) im Farbmasterbatch zum Einsatz kam, was das Auftreten von Titan in den entsprechenden Migrationslösungen erklärt.

Die Wiederholung der Migrationsmessungen mit einer nicht eingefärbten PET-Referenzflasche in 3 % Essigsäure lieferte einen höheren Titan-Gehalt als die „High Load“-Probe obwohl in der Referenzflasche kein Titan gefunden wurde. Die Konzentration liegt im Spurenbereich ($0,1 \mu\text{g}/\text{dm}^2$). Möglicherweise handelt es sich hierbei um eine Kontamination bei der Probenaufarbeitung. Auch in der PET Referenzflasche wurden Spuren an Titan gefunden, obwohl im Aufschluss kein Titan nachweisbar war (siehe 1.5.3).

1.5.2.6 Untersuchungen mittels AF4

1.5.2.6.1 Untersuchung einer Titannitrid Referenzdispersion mittels AF4

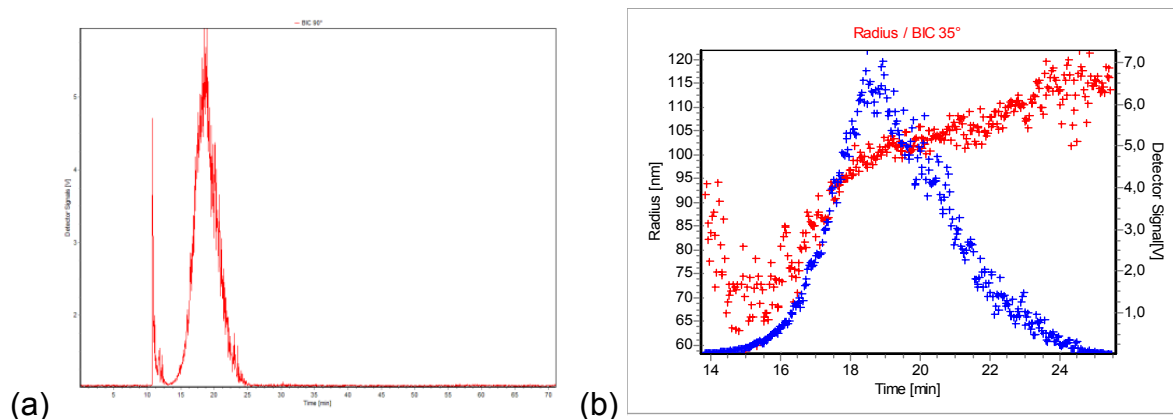


Abbildung 25: (a) Fraktogramm von 50 ppm TiN ($d_{50} = 50 \text{ nm}$) in 0,05 % Novachem®, Injektion $20 \mu\text{l}$, Fließmittel Ethanol. (b) Partikelgröße (rot = Radius) in Abhängigkeit von der Laufzeit (blau = Detektorsignal des 35° Lichtstreuwinkels).

Für die Berechnung der Partikelgröße auf Basis der Detektion mittels MALS wurde der Trägheitsradius („engl. Radius of Gyration“) angewandt. Dieses mathematische Modell erlaubt die Berechnung von Partikelgrößen anhand der Wurzel aus dem mittleren quadratischen Abstands des Partikels zu seinem Schwerpunkt.

Für die untersuchte Titannitrid-Dispersion ergaben sich die in

Tabelle 9 dargestellten, berechneten Partikelgrößen. Durch die Bildung von Mizellen (das Tensid lagert sich um das Partikel) ergibt sich ein von der spezifizierten Größe abweichendes Ergebnis.

Tabelle 9: Berechnung der mittleren Partikelradien der Titannitriddispersion

Rn = Radius of Gyration calculated of the number average [nm]	Rw = Radius of Gyration calculated of the weight average [nm]	Rz = Radius of Gyration calculated of the z-average [nm]
98,6	97,3	99,7

1.5.2.7 TEM-Messungen der Titannitridpartikel im Flaschenmaterial

Die PET-Flaschen wurden mittels Transmissions-Elektronenmikroskopie (TEM) untersucht bezüglich der Verteilung und Aggregation der TiN-Nanopartikel. Aus Flaschenwandausschnitten wurden Proben mittels Mikrotomschnitt gewonnen.

Es wurden Aggregate von Titannitrid gefunden, die vereinzelt im Abstand von mehreren μm in der Flaschenwand sichtbar waren. Die Aggregate hatten einen Durchmesser von ca. 100 nm bis 500 nm und bestanden aus Primärpartikeln von ca. 20 nm (Abbildung 26).

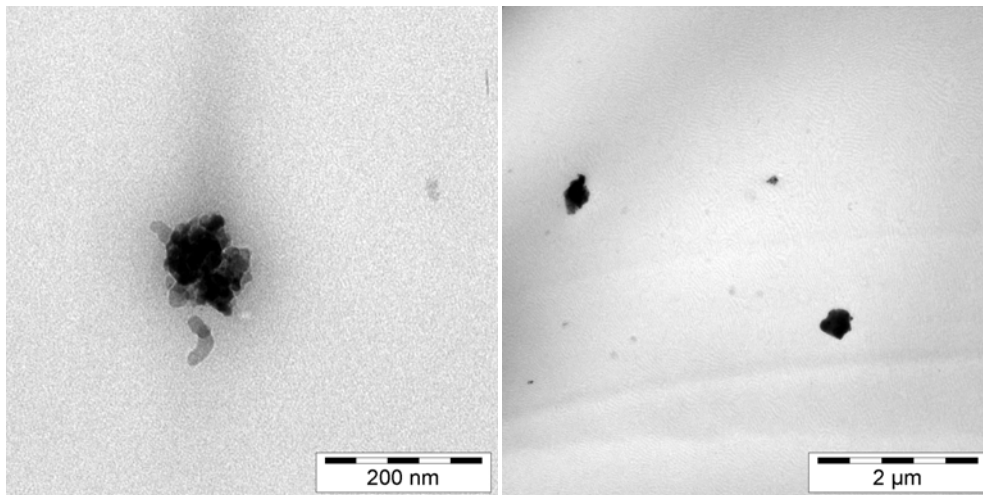


Abbildung 26: TEM-Aufnahmen von Mikrotomschnitten einer PET-Flasche mit 20 ppm Titannitrid

1.5.2.8 Oberflächenuntersuchungen von Flaschenwandausschnitten mit Rasterkraftmikroskopie

Bei der Rasterkraftmikroskopie (Atomkraftmikroskopie) wird eine Spitze rasterförmig, Zeile für Zeile über die Oberfläche einer Probe geführt. Die Spitze ist an einem Federbalken (Cantilever) angebracht, wird über ein Piezoelement gesteuert und steht in direktem Kontakt zur Oberfläche. Die Auslenkung der Spitze wird über die Reflektion eines Laserstrahls mittels einer Photodiode detektiert. Dadurch entsteht ein Falschfarbenbild, das das Höhenprofil der Probe zeigt.

Die Titannitrid-dotierten Flaschen wurden im Vergleich zu herkömmlichen PET-Flaschen untersucht. Ziel war, festzustellen, ob die Titannitridpartikel in größerer An-

zahl auf der Oberfläche sitzen oder ohne von Polymer umschlossen zu sein aus der Oberfläche herausragen.

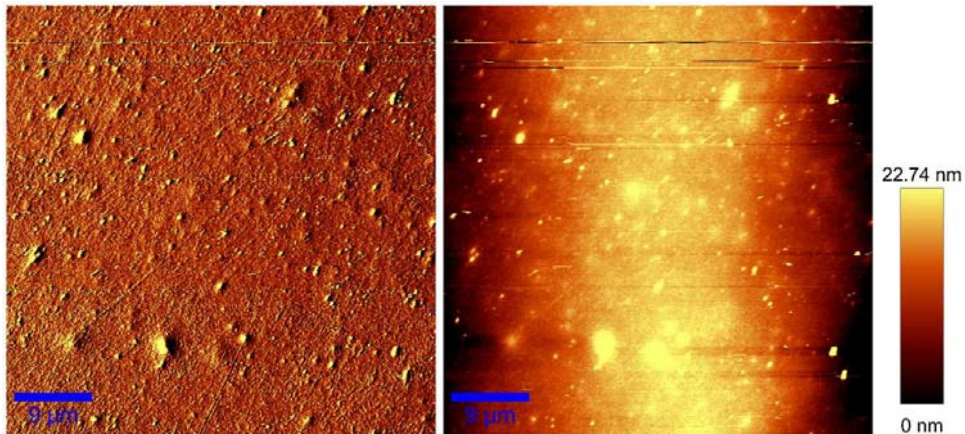


Abbildung 27: Ausschnitt 50x50 µm² der TiN-dotierten Flasche, links Fmax Scan, rechts Höhenprofil mit Farbscale

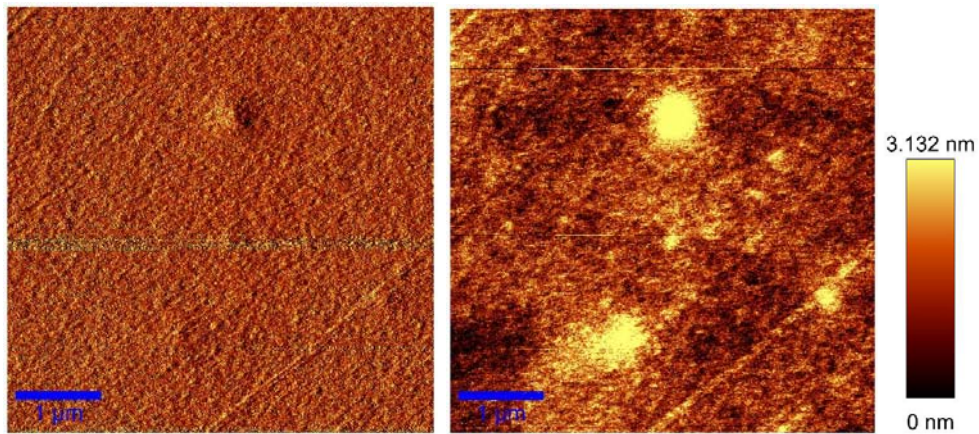


Abbildung 28: Ausschnitt 5x5 µm² der TiN-dotierten Flasche, links Fmax Scan, rechts Höhenprofil mit Farbscale

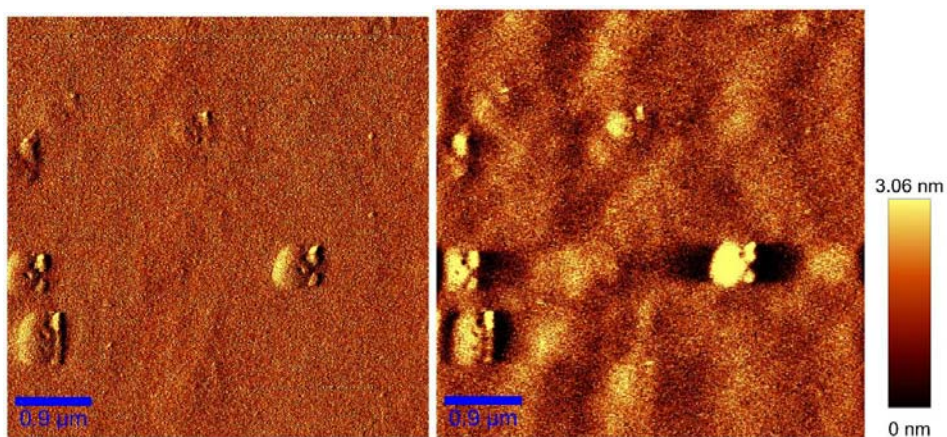


Abbildung 29: Ausschnitt 5x5 µm² der TiN-dotierten Flasche, links Fmax Scan, rechts Höhenprofil mit Farbscale

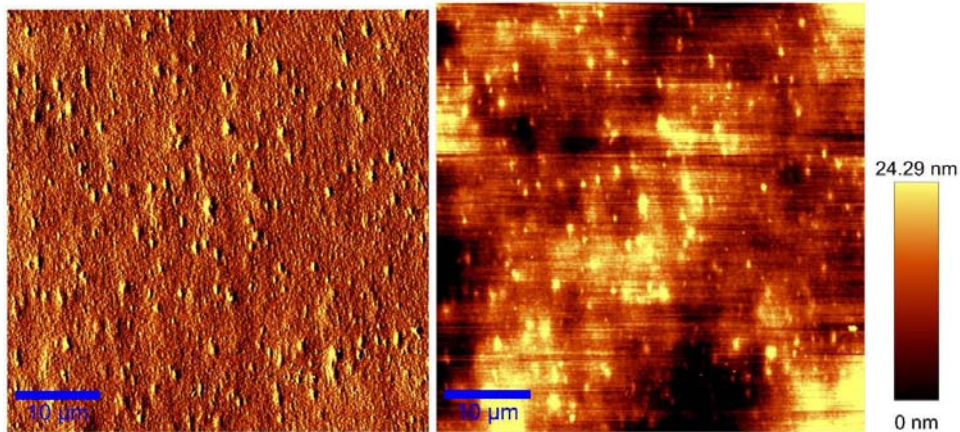


Abbildung 30: Ausschnitt 50x50 µm² der Referenzflasche, links Fmax Scan, rechts Höhenprofil mit Farbscale

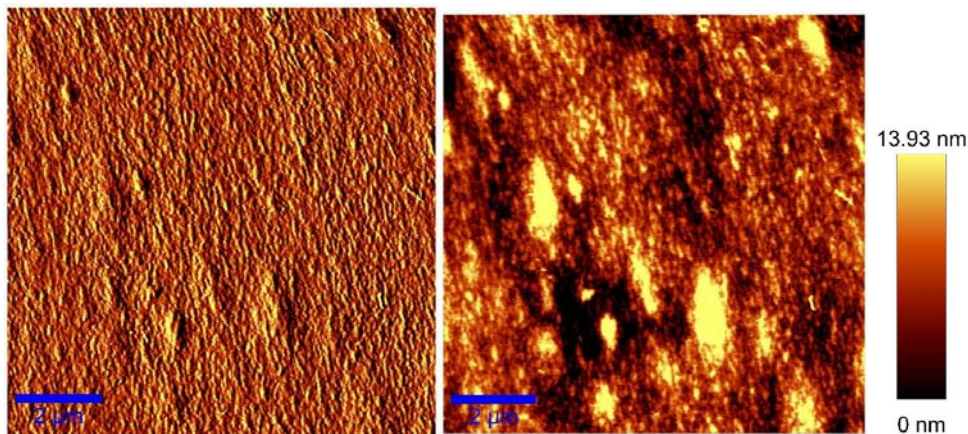


Abbildung 31: Ausschnitt 10x10 µm² der Referenzflasche, links Fmax Scan, rechts Höhenprofil mit Farbscale

Sowohl die mit 20 ppm TiN dotierte PET-Flasche als auch die Referenzflasche zeigen eine relative hohe Rauigkeit der Oberfläche mit „pickelartigen“ Erhöhungen. Ein Herausstehen von kristallinen Partikeln, die als TiN interpretiert werden könnten, oder ähnlichem konnte nicht beobachtet werden. Dementsprechend wurden keine TiN-Partikel auf der Oberfläche ohne Polymerumhüllung gefunden. Zwischen dotierter und Referenz-Flasche wurden keine Unterschiede gefunden.

1.5.3 Nanoskaliges Titannitrid (TiN) in LDPE-Flachfolien

1.5.3.1 Herstellung von mit nanoskaligem TiN dotierten LDPE-Folien

Der Hersteller des nanoskaligen Titannitrids (TiN) stellte dem Fraunhofer IVV eine Dispersion des Titannitrids in Weißöl zur Herstellung des LDPE-Probenmaterials zur

Verfügung. Die Partikelgröße des eingesetzten Titannitrids entsprach hierbei der Partikelgröße des Titannitrids in der Anwendung für PET.

Vorgehensweise:

a) Herstellung eines Masterbatch-Granulats von TiN in LDPE

Die Kompoundierung (Mischung / Einarbeitung) der Titannitrid-Dispersion in eine LDPE-Matrix erfolgte durch Fraunhofer IVV Mitarbeiter bei einem externen Partner.



Abbildung 32: Masterbatch-Granulat: nanoskaliges Titannitrid in LDPE

b) Einarbeitung verschiedener Masterbatch-Konzentrationen in LDPE - Herstellung von Flachfolien

Die homogene Einarbeitung verschiedener Masterbatch-Konzentrationen in LDPE und die Herstellung der Flachfolie durch Coextrusion erfolgte intern im Fraunhofer Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung.

Es wurden drei verschiedene LDPE-Flachfolien extrudiert, die nominal folgende Gehalte an TiN aufweisen:

Tabelle 10: nominelle Konzentration an Titannitrid in den LDPE-Folien

Proben ID	Beschreibung
26102010-1	LDPE Referenzfolie - ohne TiN
26102010-2	LDPE + 0,1 % TiN
26102010-3	LDPE + 0,05 % TiN
26102010-4	LDPE + 0,01 % TiN

Das erhaltene Folienmaterial weist eine Schichtdicke von 60 µm auf. Je Probe wurden ca. 30 m Rollenmaterial hergestellt.



Abbildung 33: LDPE-Flachfolien dotiert mit nanoskaligen TiN (von links nach rechts): Referenzfolie ohne TiN, Folie + 0,01 % TiN, Folie + 0,05 % TiN, Folie + 0,1 % TiN

1.5.3.2 Bestimmung des Gehalts an Titan (Ti) im Folienmaterial

Die drei mit nanoskaligen TiN dotierten LDPE-Folien sowie die Referenzfolie ohne TiN wurden einem mikrowellen-unterstützten Hochdruckaufschluss mit Salpetersäure unterzogen.

Anschließend erfolgte die quantitative Bestimmung von Titan in der verdünnten Säurelösung mittels ICP-MS gemäß der Norm DIN EN ISO 17294-2 mit Rhodium und Rhenium als interne Standards. Die Kalibrierung des ICP-MS erfolgte mittels Multi-elementstandards. Die Messung erfolgte in einem akkreditierten Labor im Unterauftrag.

1.5.3.3 TEM-Messungen der Titannitridpartikel im Folienmaterial

Die LDPE-Folien wurden mittels Transmissions-Elektronenmikroskopie (TEM) bezüglich der Verteilung und Aggregation der TiN-Nanopartikel untersucht. Aus der Folie wurden Proben mittels Mikrotomschnitt gewonnen.

Es wurden Aggregate von Titannitrid gefunden, die vereinzelt im Abstand von bis zu mehreren μm in der Folie sichtbar waren. Die Aggregate hatten einen Durchmesser von ca. 100 nm bis 500 nm und bestanden aus Primärpartikeln von ca. 20 nm. In keinem der untersuchten TEM-Bilder konnten isoliert vorliegende Primärpartikel gefunden werden.

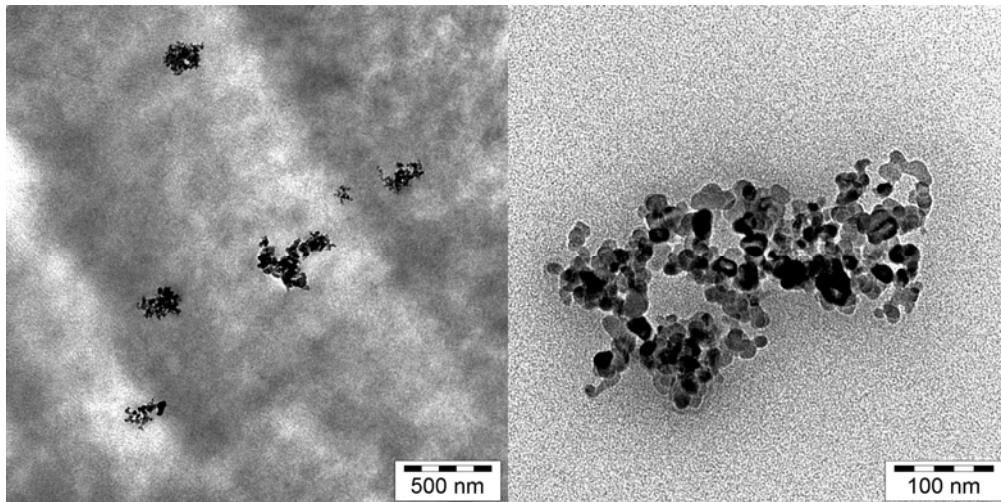


Abbildung 34: TEM-Aufnahmen von Mikrotomschnitten einer LDPE-Folie mit 1000 ppm Titan-nitrid

1.5.3.4 Migrationsuntersuchungen

Die drei mit nanoskaligen TiN dotierten LDPE-Folien sowie die Referenzfolie ohne TiN wurden folgenden Migrationsbedingungen unterworfen. Dabei wurden Ausschnitte von 1,0 dm² aus der Folie in 100 ml Simulanz vollständig eingetaucht.

Die Prüfbedingungen wurden gewählt, um das LDPE-Material unter verschiedenen Kontaktbedingungen zu „stressen“. Die 10 d bei 60 °C sind dabei als „worst case“ Bedingungen einzuordnen, die wesentlich strenger als reale Anwendungsbedingungen für LDPE-Folien sind.

Tabelle 11: Migrationsbedingungen für die LDPE-Folien

	Kontaktbedingungen (Zeit / Temperatur)	Prüfmaterial	Lebensmittelsimulanz	Prüfbed.
1	24 h / 40 °C	Referenz + 3 dotierte Folien	3 % Essigsäure	Tauchen
2	24 h / 40 °C	Referenz + 3 dotierte Folien	Isooktan	Tauchen
3	24 h / 40 °C	Referenz + 3 dotierte Folien	95 % Ethanol	Tauchen
4	10 Tage / 40 °C	Referenz + 2 dotierte Folien	3 % Essigsäure	Tauchen
5	10 Tage / 40 °C	Referenz + 2 dotierte Folien	95 % Ethanol	Tauchen
6	10 Tage / 60 °C	Referenz + 3 dotierte Folien	3 % Essigsäure	Tauchen
7	10 Tage / 60 °C	Referenz + 3 dotierte Folien	95 % Ethanol	Tauchen
8	10 Tage / 60 °C	Referenz + 3 dotierte Folien	0,2 % Novachem	Tauchen

1.5.3.5 Bestimmung von Titan in der Migrationslösung mittels ICP-MS

Titan wurde in den Migrationslösungen mittels ICP-MS bestimmt. Alle Migrationslösungen (jeweils 100 ml) sowie die entsprechenden Lösemittel-Blanks (jeweils 100 ml) wurden vorsichtig eingedampft, und in 15 ml einer angesäuerten Lösung (1 % Salpetersäure und 3 % Essigsäure) wieder aufgenommen. Dies ist notwendig, bei der Messung von organischen Lösungen mittels ICP-MS Interferenzen auftreten und diese zu einer Instabilität des Plasmas führen. Die sauren Lösungen wurden anschließend mittels ICP-MS analysiert. Migrationsproben bei denen eine 0,2 % Novachem Lösung verwendet wurde, wurden vor dem Messen ebenfalls auf 1 % Salpetersäure und 3 % Essigsäure angesäuert.

Die Kalibrierung des ICP-MS erfolgte mittels eines Multielementstandards (Certipur ICP multi-element standard, Merck KGaA, Darmstadt), welcher Titan enthielt. Für die Herstellung der Kalibrierstandards wurde angesäuertes Reinstwasser (1 % Salpetersäure und 3 % Essigsäure) verwendet.

Für die Versuche mit 0,2 % Novachem Migrationslösung wurden die Proben, ohne vorab eingedampft zu werden, auf insgesamt 1 % Salpetersäure und 3 % Essigsäure angesäuert. Die hierfür benötigten Kalibrierstandards wurden ebenfalls mit einer 0,2 % Novachemlösung hergestellt und wie die Proben angesäuert.

Die Messung erfolgte intern am Fraunhofer Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung.

1.5.3.6 Ergebnisse

1.5.3.6.1 Bestimmung der Titan- Nachweisgrenze und der Wiederfindung am ICP-MS

Mittels einer aus dem Multielementstandard hergestellten Verdünnungsreihe in 3 % Essigsäure und 1 % Salpetersäure, wurde die Nachweisgrenze des ICP-MS ermittelt (Abbildung 35: Kalibrierung des ICP-MS mittels Titan-Standard in angesäuerten Reinstwasser Abbildung 35). Es ergab sich eine Nachweisgrenze von 0,05 ppb in der angesäuerten Lösung.

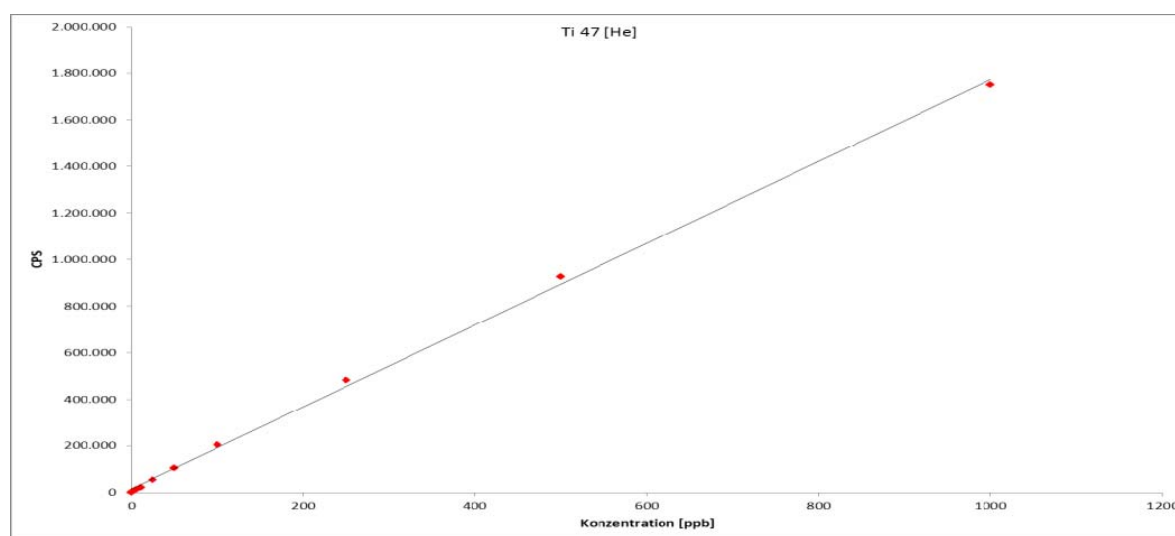


Abbildung 35: Kalibrierung des ICP-MS mittels Titan-Standard in angesäuerten Reinstwasser

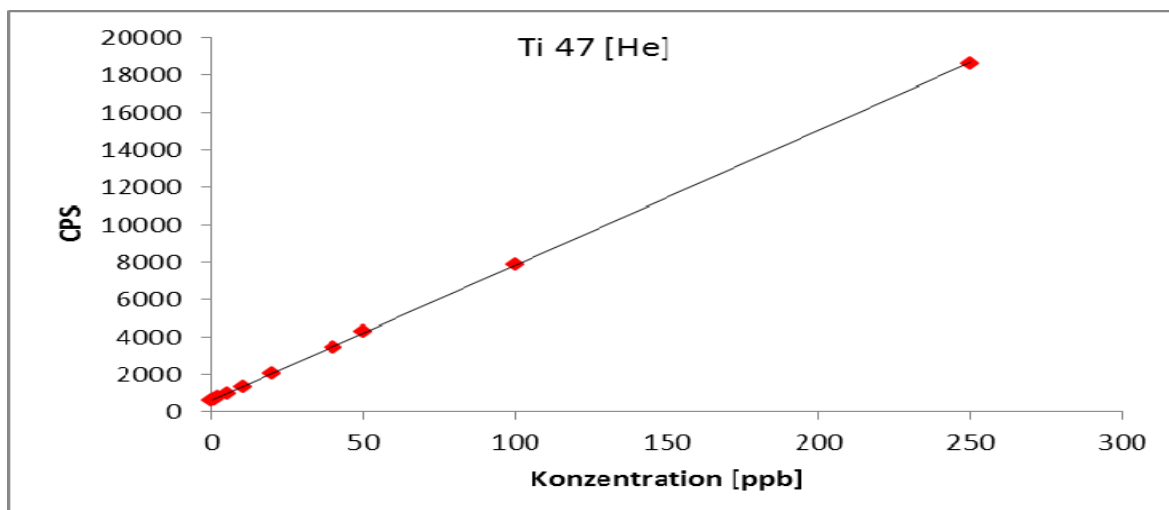


Abbildung 36: Kalibrierung des ICP-MS mittels Titan-Standard in angesäuerter Tensidlösung (0,2 % Novachem)

Ebenfalls wurden für die Kalibrierstandards in 0,2 % Novachem, 1 % Salpetersäure und 3 % Essigsäure die Nachweisgrenze ermittelt. Es ergab sich eine Nachweisgrenze von 0,7 ppb in der angesäuerten Tensidlösung.

Zur Validierung der Methode wurden Wiederfindungsversuche durchgeführt. Hierbei wurden jeweils 100 ml der Simulanzien 3 % Essigsäure, Isooktan, 95 % Ethanol und 0,2 % Novachem mittels TiN Standards auf 100 ppb Titan aufgestockt und am ICP-MS gemessen. Nach einer Lagerung von 10 Tagen bei 60 °C für die Proben in 3 % Essigsäure, 95 % Ethanol und 0,2 % Novachem, bzw. nach 24 Stunden bei 40 °C für die Proben in Isooktan, wurden die Messungen wiederholt. Bei der Lagerung unter Migrationsbedingungen treten keine Verluste des Analyten auf.

Tabelle 12: Wiederfindung Titannitrid nach Lagerung bei Migrationsbedingungen

Probe	Gemessene Konzentration [ppb]	Wiederfindung [%]
TiN in 3% Essigsäure Referenzprobe:	99	105
TiN in 3% Essigsäure nach 10d/60°C:	103	
TiN in 95% Ethanol Referenzprobe:	99	84
TiN in 95% Ethanol nach 10d/60°C:	83	
TiN in 0,2% Novachem Referenzprobe:	98	98
TiN in 0,2% Novachem nach 10d/60°C:	96	
TiN in Isooktan Referenzprobe:	100	87
TiN in Isooktan nach 24h/40°C:	87	

1.5.3.6.2 Bestimmung des Titan-Gehalts im LDPE-Material

Tabelle 13: Titan-Konzentrationen der LDPE-Folien

Probenmaterial	Nominelle Konzentration Titan im Probenmaterial [mg/kg]	Gemessene Konzentration Titan im Probenmaterial [mg/kg]
LDPE Referenzfolie - ohne TiN	0	< 10
LDPE + 0,01 % TiN	77,5	80
LDPE + 0,05 % TiN	387,5	350
LDPE + 0,1 % TiN	775	490
Nachweisgrenze	-	10

1.5.3.6.3 Bestimmung der spezifischen Migration von Titan in Lebensmittelisulanzien

Der Mittelwert wurde aus drei Einzelergebnissen gebildet, die kursiv wiedergegeben wurden.

Tabelle 14: Titangehalt der 3 % Essigsäure Migrationslösung nach 24 h bei 40 °C

Migration in 3 % Essigsäure [24 h / 40 °C]		
Probe	Migration von Ti [µg/L]	Migration von Ti [µg/dm ²]
LDPE mit 100 ppm TiN	9,266 / 8,963 / 5,984	0,139 / 0,134 / 0,090 0,121
LDPE mit 500 ppm TiN	5,863 / 11,181 / 10,199	0,088 / 0,168 / 0,153 0,136
LDPE mit 1000 ppm TiN	10,591 / 2,846 / 9,095	0,159 / 0,043 / 0,136 0,113
LDPE-Referenz	11,169 / 8,873 / 7,397	0,168 / 0,133 / 0,111 0,137
3 % Essigsäure Blank	3,170	-
Nachweisgrenze	0,050	-

Tabelle 15: Titangehalt der Isooktan Migrationslösung nach 24 h bei 40 °C

Migration in Isooktan [24 h / 40 °C]		
Probe	Migration von Ti [µg/L]	Migration von Ti [µg/dm ²]
LDPE mit 100 ppm TiN	0,974 / 2,1 / 2,741	0,015 / 0,032 / 0,041 0,029
LDPE mit 500 ppm TiN	1,537 / 2,225 / 2,555	0,023 / 0,033 / 0,038 0,032
LDPE mit 1000 ppm TiN	2,223 / 2,117 / 2,091	0,033 / 0,032 / 0,031 0,032
LDPE-Referenz	1,296 / 1,583 / 1,605	0,019 / 0,024 / 0,024 0,022
Isooktan Blank	1,280	-
Nachweisgrenze	0,050	-

Tabelle 16: Titangehalt der 95 % Ethanol Migrationslösung nach 24 h bei 40 °C

Migration in 95% Ethanol [24 h / 40 °C]		
Probe	Migration von Ti [µg/L]	Migration von Ti [µg/dm ²]
LDPE mit 100 ppm TiN	2,509 / 1,882 / 9,226	0,038 / 0,028 / 0,138 0,068
LDPE mit 500 ppm TiN	13,733 / 8,937 / 10,173	0,206 / 0,134 / 0,153 0,164
LDPE mit 1000 ppm TiN	12,563 / 11,151 / 10,482	0,188 / 0,167 / 0,157 0,171
LDPE-Referenz	2,079 / 3,408 / 2,438	0,031 / 0,051 / 0,037 0,040
95% Ethanol Blank	2,400	-
Nachweisgrenze	0,050	-

Tabelle 17: Titangehalt der 3 % Essigsäure Migrationslösung nach 10 d bei 40 °C

Migration in 3 % Essigsäure [10 d / 40 °C]		
Probe	Migration von Ti [µg/L]	Migration von Ti [µg/dm ²]
LDPE mit 100 ppm TiN	3,518 / 7,575 / 6,478	0,053 / 0,114 / 0,097 0,088
LDPE mit 1000 ppm TiN	2,106 / 3,189 / 7,909	0,032 / 0,048 / 0,119 0,066
LDPE-Referenz	3,175	0,048
3 % Essigsäure Blank	3,170	-
Nachweisgrenze	0,050	-

Tabelle 18: Titangehalt der 95 % Ethanol Migrationslösung nach 10 d bei 40 °C

Migration in 95% Ethanol [10 d / 40 °C]		
Probe	Migration von Ti [µg/L]	Migration von Ti [µg/dm ²]
LDPE mit 100 ppm TiN	1,949 / 1,835 / 1,097	0,016 / 0,028 / 0,029 0,024
LDPE mit 1000 ppm TiN	3,081 / 0,773 / 0,951	0,046 / 0,012 / 0,014 0,024
LDPE-Referenz	1,796	0,027
95% Ethanol Blank	2,400	-
Nachweisgrenze	0,050	-

Tabelle 19: Titangehalt der 3 % Essigsäure Migrationslösung nach 10 d bei 60 °C

Migration in 3 % Essigsäure [10 d / 60 °C]		
Probe	Migration von Ti [µg/L]	Migration von Ti [µg/dm ²]
LDPE mit 100 ppm TiN	1,268 / 0,800 / 0,681	0,019 / 0,012 / 0,010 0,014
LDPE mit 500 ppm TiN	n.n. / n.n. / 0,852	n.n. / n.n. / 0,013
LDPE mit 1000 ppm TiN	n.n. / n.n. / n.n.	n.n. / n.n. / n.n.
LDPE-Referenz	n.n.	n.n.
3 % Essigsäure Blank	3,170	-
Nachweisgrenze	0,050	-

Tabelle 20: Titangehalt der 95 % Ethanol Migrationslösung nach 10 d bei 60 °C

Migration in 95% Ethanol [10 d / 60 °C]		
Probe	Migration von Ti [µg/L]	Migration von Ti [µg/dm ²]
LDPE mit 100 ppm TiN	n.n. / n.n. / n.n.	n.n. / n.n. / n.n.
LDPE mit 500 ppm TiN	n.n. / n.n. / n.n.	n.n. / n.n. / n.n.
LDPE mit 1000 ppm TiN	n.n. / n.n. / n.n.	n.n. / n.n. / n.n.
LDPE-Referenz	n.n. / n.n. / n.n.	n.n. / n.n. / n.n.
95% Ethanol Blank	2,400	-
Nachweisgrenze	0,050	-

Tabelle 21: Titangehalt der 0,2 % Novachem Migrationslösung nach 10 d bei 60 °C

Migration in 0,2% Novachem [10 d / 60 °C]		
Probe	Migration von Ti [µg/L]	Migration von Ti [µg/dm ²]
LDPE mit 100 ppm TiN	5,73 / 6,21 / 6,30	0,086 / 0,093 / 0,095 0,091
LDPE mit 500 ppm TiN	6,19 / 6,32 / 6,46	0,093 / 0,095 / 0,097 0,095
LDPE mit 1000 ppm TiN	6,38 / 6,24 / 5,97	0,096 / 0,094 / 0,090 0,093
LDPE-Referenz	3,34	0,050
0,2 % Novachem Blank	4,940	-
Nachweisgrenze	0,050	-

Tabelle 22: Titangehalt der 95 % Ethanol Migrationslösung nach 24 h bei 40 °C (Wiederholungsversuch)

Migration in 95% Ethanol [24 h / 40 °C]		
Probe	Migration von Ti [µg/L]	Migration von Ti [µg/dm ²]
LDPE mit 100 ppm TiN	n.n. / n.n. / n.n.	n.n. / n.n. / n.n.
LDPE mit 500 ppm TiN	n.n. / n.n. / n.n.	n.n. / n.n. / n.n.
LDPE mit 1000 ppm TiN	n.n. / n.n. / n.n.	n.n. / n.n. / n.n.
LDPE-Referenz	n.n. / n.n. / n.n.	n.n. / n.n. / n.n.
95% Ethanol Blank	n.n.	-
Nachweisgrenze	0,050	-

Tabelle 23: Titangehalt der 0,2 % Novachem Migrationslösung nach 10 d bei 60 °C (Wiederholungsversuch)

Migration in 0,2% Novachem [10 d / 60 °C]		
Probe	Migration von Ti [µg/L]	Migration von Ti [µg/dm ²]
LDPE mit 1000 ppm TiN	n.n. / n.n. / n.n.	n.n. / n.n. / n.n.
LDPE-Referenz	n.n. / n.n. / n.n.	n.n. / n.n. / n.n.
0,2 % Novachem Blank	n.n. / 0,24 / 0,79 0,403	-
Nachweisgrenze	0,7	-

1.5.3.6.4 Diskussion der Migrationsergebnisse

Die Prüfbedingungen wurden gewählt, um das LDPE-Material unter verschiedenen Kontaktbedingungen zu „stressen“. Die 10 d bei 60 °C sind dabei als „worst case“ Bedingungen einzuordnen, die wesentlich strenger als reale Anwendungsbedingungen für LDPE-Folien sind.

Unter keinen der oben aufgeführten Bedingungen konnte eine signifikante Menge an Titan gefunden werden. Die leicht erhöhte Migration in 95 % Ethanol bei der Bedingung 24 h / 40 °C (Tabelle 16) zeigt keine Abhängigkeit von der Ausgangskonzentration und damit kein Fick'sches Diffusionsverhalten. Es muss sich um einen Oberflächeneffekt bei diesem Prüfstück oder ein Artefakt handeln. Eine Wiederholung dieses Versuchs unter identischen Bedingungen zeigte, dass bei einer Nachweisgrenze von 0,05 ppb weder in den LDPE-Folien mit TiN noch in der Referenzfolie ohne TiN, Titan gefunden werden konnte (Tabelle 22).

Die gefundenen Mengen an Titan in den 0,2 % Novachem-Ansätzen (Tabelle 21) deutet auf eine Kontamination der Proben hin. Die gefundenen Werte an Titan in mit Titannitrid dotierten LDPE-Folien liegen unterhalb der detektierten Werte des Referenzmaterials, weshalb hier nicht auf eine Migration des Titannitrids aus dem Folienmaterial geschlossen werden kann. Eine Wiederholung dieses Migrationsversuchs, bei dem nun die Kalibrierstandards ebenfalls mit einer 0,2 % Novachemlösung hergestellt wurden, zeigte dass lediglich im Blindwert der 0,2 % Novachemlösung Titan gefunden werden konnte. Bei einer Nachweisgrenze von 0,7 ppb konnte

weder in der Referenzfolie noch in der LDPE-Folie mit der höchsten Konzentration an TiN eine migrierte Titanmenge festgestellt werden.

1.5.3.6.5 Oberflächenuntersuchungen der Folien mit Rasterkraftmikroskopie

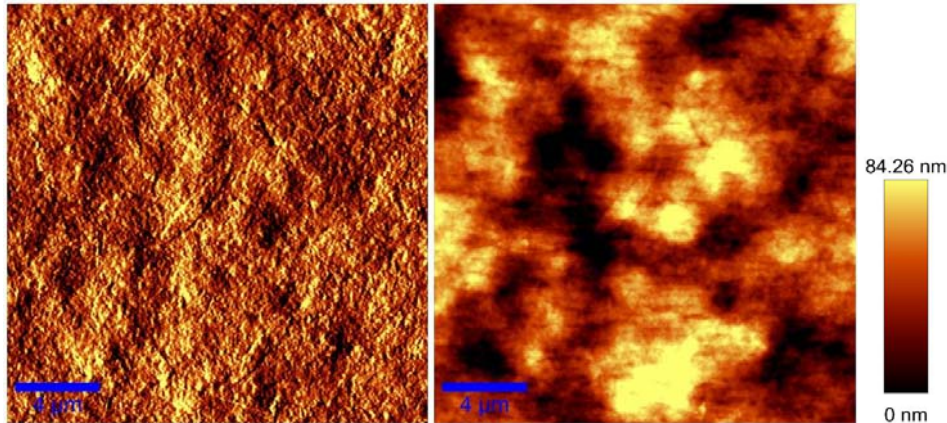


Abbildung 37: Ausschnitt 20x20 µm² der 0,1 % TiN-dotierten Folie, links Fmax Scan, rechts Höhenprofil mit Farbscale

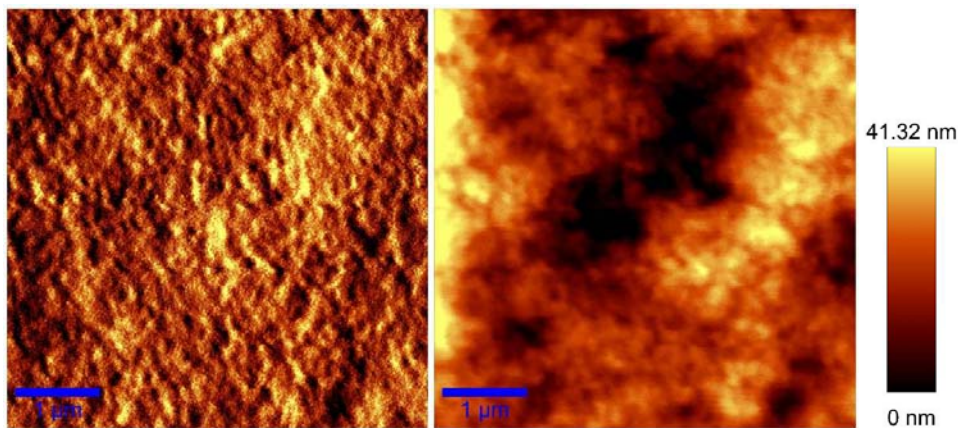


Abbildung 38: Ausschnitt 5x5 µm² der 0,1 % TiN-dotierten Folie, links Fmax Scan, rechts Höhenprofil mit Farbscale

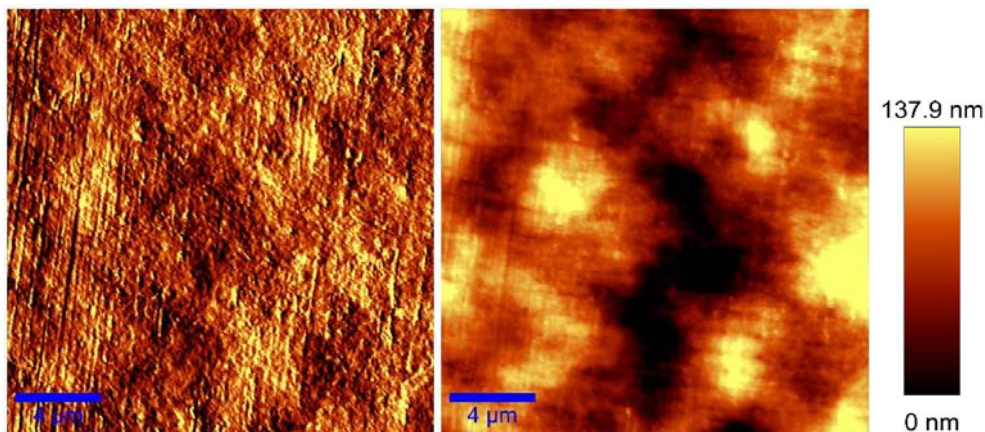


Abbildung 39: Ausschnitt 20x20 µm² der Referenz-Folie, links Fmax Scan, rechts Höhenprofil mit Farbscale

Mit den Rasterkraftuntersuchungen konnten keine Partikel auf der Oberfläche der Folien detektiert werden, jedoch war die Auflösung dieser Experimente bisher nicht befriedigend.

1.5.3.6.6 Screenings bezüglich non-intentionally added substances im Polymer

Manche Nanopartikel können mit ihrer großen spezifischen Oberfläche katalytisch wirken und möglicherweise Reaktionen im Polymer induzieren. Mit hochempfindlichen Screeningmethoden wurden die LDPE-Folien bezüglich der Bildung neuer Substanzen bzw. der Anwesenheit von non-intentionally added substances (NIAS) untersucht. Durch den Vergleich der reinen LDPE-Folie mit der LDPE-Folie mit dem höchsten Gehalt an TiN, wurde die Bildung von Substanzen überprüft, welche durch die Zugabe von TiN entstehen könnten.

Tests auf flüchtige Substanzen wurden mittels Headspace-GC durchgeführt. Hierfür wurden jeweils 2 dm² in kleine Streifen geschnitten und in Headspace-vials bei einer Gleichgewichtstemperatur von 120 °C gemessen. Die Nachweisgrenze für die Headspace-GC Messungen lag zwischen 100 µg/kg und 500 µg/kg Polymer, je nach Flüchtigkeit der entsprechenden Substanz.

Tabelle 24: Methode für das headspace-GC Screening

Gerät	Perkin Elmer AutoSystem XL
Säule	ZB1; Länge: 30 m, innerer Durchmesser: 0,25 mm, Schichtdicke: 0,25 µm
Temperatur-Programm	Starttemperatur: 50 °C (4 min konstant), Endtemperatur: 320 °C (5 min konstant), heizen: 13,5 min (20 K / min)
Autosampler	Perkin Elmer Turbo Matrix 40
Temperaturen	Ofen: 120 °C; Nadel: 200 °C, transfer line: 210 °C

Tests auf mittelflüchtige Substanzen wurden mittels GC-FID durchgeführt. Hierfür wurden 2 dm² kleingeschnittene Folie mit 10 ml Dichlormethan (DCM) für 24 Stunden bei 40 °C extrahiert. 1 ml dieser Extrakte wurden mit BHA (butylated hydroxyanisole) und Tinuvin 234 (2-(2H-benzotriazol-2-yl)-4, 6-bis (1-methyl-1-phenylethyl) phenol)

als interne Standards untersucht. Die Nachweisgrenze von 20 mg/kg Polymer stammt von der Fläche des kleinsten noch auswertbaren Peaks mit einem Verhältnis des Signals zum Grundrauschen von drei bis fünf.

Tabelle 25: Methode für das GC Screening

Gerät	Hewlett Packard 6890 mit Autosampler
Säule	DB1; Länge: 20 m, innerer Durchmesser: 0,18 mm, Schichtdicke: 0,18 µm
Temperatur-Programm	Starttemperatur: 50 °C, Endtemperatur: 340 °C, Dauer: 29 min (10 K / min)
Detektor	FID; Wasserstoff (40 ml / min), Luft (400 ml / min)
Trärgas	Helium (1,5 ml / min)

Tests auf nicht-flüchtige Substanzen wurden mittels HPLC Messungen durchgeführt. Hierfür wurden die DCM Extrakte wie sie für das GC Screening verwendet wurden vorsichtig unter Stickstoff eingedampft und mit 10 ml 95% Ethanol wieder aufgenommen. 1 ml dieser Extrakte wurden mit ITX D-7 (2-Isopropyl-D7-thioxanthen-9-one) als interner Standard untersucht.

Tabelle 26: Methode für das HPLC Screening

Gerät	Thermo Fisher Scientific Finnigan LTQ (linear ion trap mass analyser)
Säule	Phenomenex Luna C5; Länge: 150 mm, innerer Durchmesser: 3,2 mm, Schichtdicke: 5 µm
Ionisierung	APC-Ionisierung (positiv und negativ Modus)
Autosampler	Thermo Fisher Scientific Finnigan Surveyor Plus
Eluent-Programm	Start: Wasser (80 %) – Ethanol (20 %) 0 min - 35 min: Ethanol (100 %) 35min - 80 min: Wasser (80 %) – Ethanol (20 %) Flussrate: 0,5 ml/min
Ofentemperatur	45 °C

Die Ergebnisse der einzelnen Screenings sind in Abbildung 40 bis Abbildung 42 dargestellt. Bei allen Messungen konnten keine Unterschiede zwischen dem reinen Polymer und der mit TiN versehenen Folie festgestellt werden. Bei dem Headspace Screening konnte kein zusätzlicher Peak im Chromatogramm festgestellt werden (Abbildung 40). Die GC Messungen der LDPE-Extrakte (Abbildung 41) zeigten für das LDPE typische Cluster (Oligomere). Unterschiede zwischen den beiden Proben konnten jedoch nicht festgestellt werden. Ebenfalls zeigten die HPLC Messungen keine Unterschiede zwischen dem reinen Polymer und der mit TiN versehenen Folie.

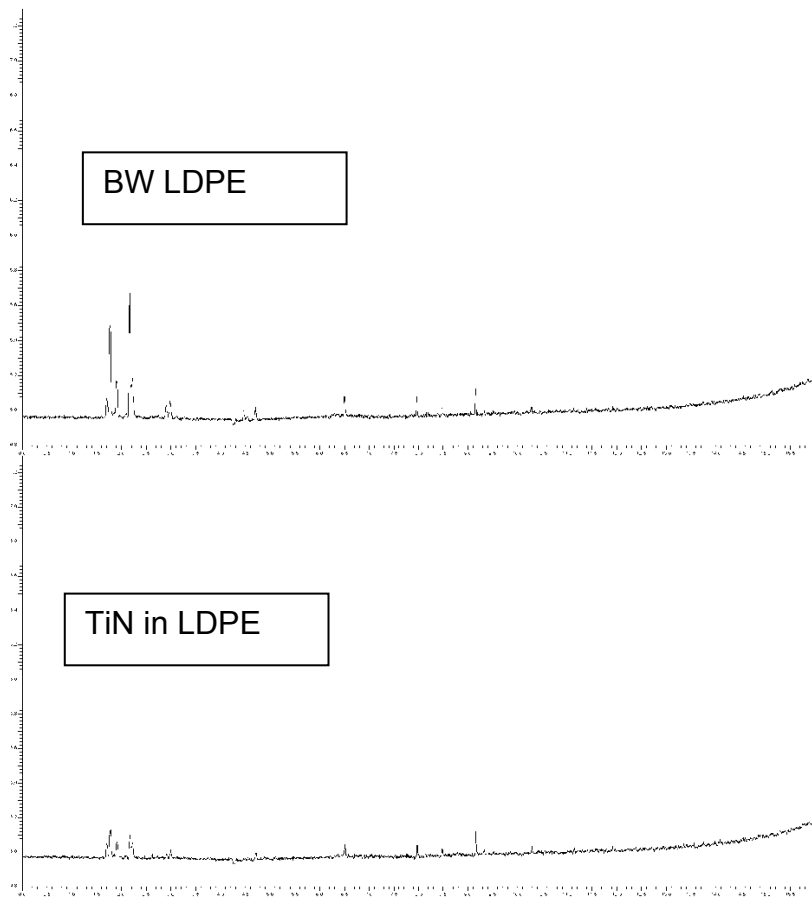


Abbildung 40: Headspace-GC Screening auf flüchtige Substanzen

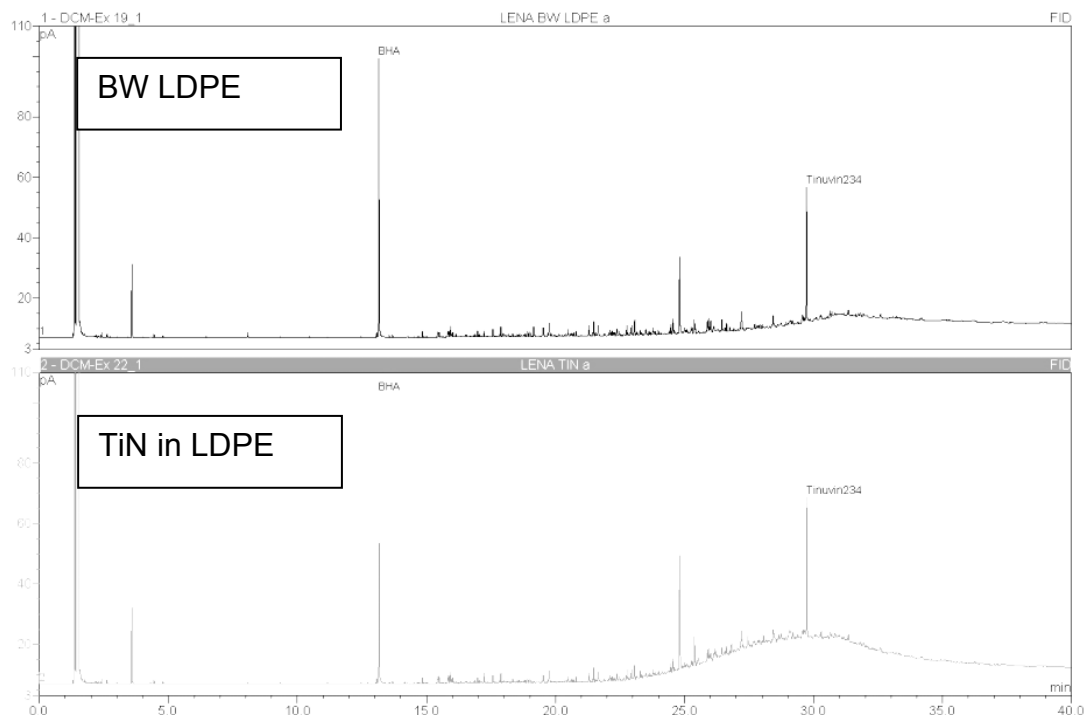


Abbildung 41: GC-FID Screening auf mittelflüchtige Substanzen

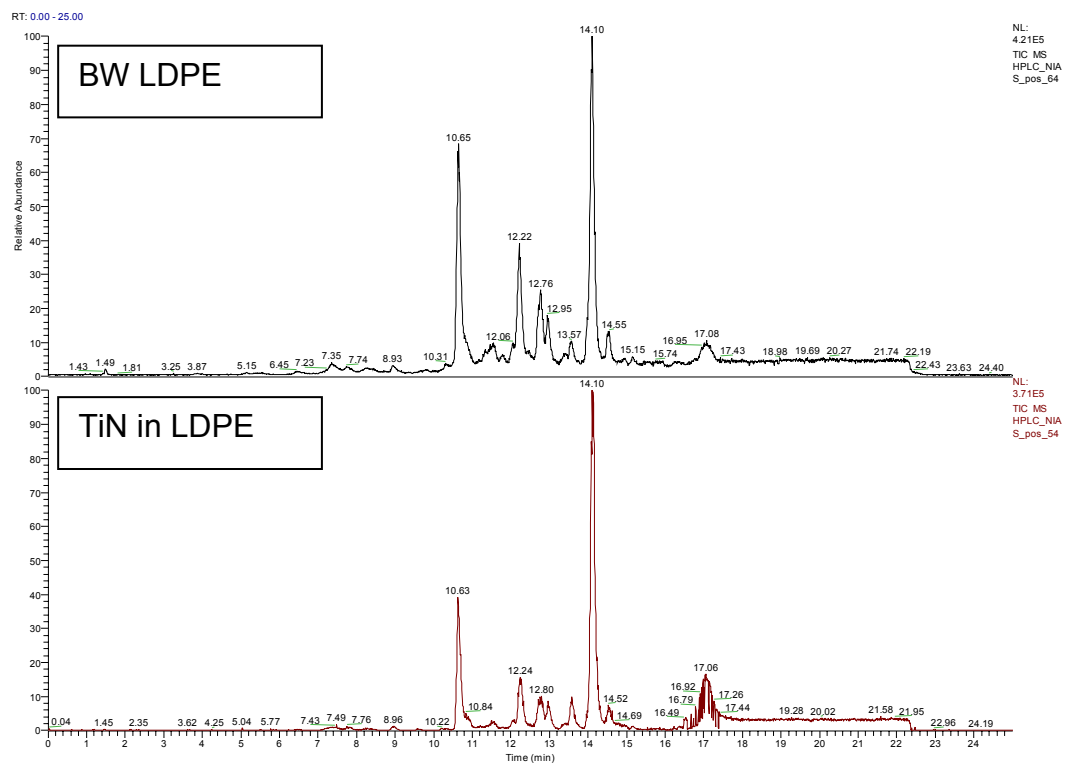


Abbildung 42: HPLC Screening auf nicht-flüchtige Substanzen

1.5.3.7 Theoretische Migrationsberechnungen - Migrationsmodell

Die Migration von organisch-chemischen Polymerinhaltsstoffen wie z.B. Monomeren oder Additiven erfolgt in der Regel nach den Fick'schen Gesetzen der Diffusion und kann heute mit allgemein anerkannten Migrationsmodellen abgeschätzt werden^{9, 10}. Die Anwendbarkeit solcher Modelle ist derzeit nur für den molekularen Bereich, d.h. für im Polymer gelöste Moleküle mit einem Molekulargewichtsbereich bis zu 1000 g/mol für eine Reihe von konventionellen Kunststoffen, vor allem für Polyolefine, belegt. Die entscheidende Größe, die hierfür benötigt wird, ist der Diffusionskoeffizient des Moleküls im Polymer, D_P , welcher sich nach dem anerkannten Migrationsmodell als Funktion des Molekulargewichts für ein gegebenes Polymer bei gegebener Temperatur errechnen lässt. Für die Diffusion bzw. für die Berechnung von Diffusionskoeffizienten von Nanopartikeln in Polymeren sind derzeit allerdings keine wissenschaftlich anerkannten Abschätzverfahren bekannt.

In diesem Projekt ergibt sich zwangsläufig die Frage der Anwendbarkeit von Migrationsmodellen auf in Polymere inkorporierte Nanopartikel. Daher werden nachstehend werden zwei Versuche unternommen, solche Migrationsberechnungen auf TiN in der LDPE-Modellfolie anzuwenden.

Ansatz (1):

Simon et al¹¹. haben sich in einer relativ jungen und oft zitierten Arbeit mit dieser Frage auseinandergesetzt und die Möglichkeit erörtert, Diffusionskoeffizienten für Nanopartikel über die Stokes-Einstein-Gleichung zu errechnen. Diese Gleichung ist allgemein anerkannt zur Beschreibung von Diffusionsvorgängen in Flüssigkeiten:

$$D_P = k_B T / 6\pi\eta r$$

wobei:

- k_B = Boltzmann-Konstante ($1,3807 \cdot 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$)
- T, η, r = Temperatur, dynamische Viskosität der Flüssigkeit und Partikelradius.

⁹ O.G. Piringer, A.L. Baner, (editors), Plastic packaging - Interactions with food and pharmaceuticals, Wiley-VCH, Weinheim, 2008, ISBN 978-3-527-31455-3.

¹⁰ C. Simoneau (editor), Applicability of generally recognised diffusion models for the estimation of specific migration in support of EU Directive 2002/72/EC. EU report 24514 EN, 2010, ISBN 978-92-79-16586-3.

¹¹ P. Simon, Q. Chaudhry, D. Bakos: Migration of engineered nanoparticles from polymer packaging to food – a physicochemical review; Journal of food and nutrition research, Vol. 47 (2008), No. 3, pp. 105 - 113

Nach diesem Modell wird das amorphe Polymer als sehr hochviskose Flüssigkeit angesehen, in der Partikel diffundieren können. Die Rate für die Partikelmobilität stellt für eine gegebene Viskosität und für einen definierten Partikelradius der Diffusionskoeffizient D_p dar.

Es soll nun die Migration aus der 60 µm dicken LDPE-Folie mit der höchsten TiN-Konzentration für Partikel mit 5 nm Radius und 100 nm Radius bei einer Temperatur von 60°C abgeschätzt werden. Dabei stellt der 5nm Radius einen irrealen Worst-case dar, weil die Primärpartikelgröße bei ca. 20 nm liegt, während der 100 nm Radius realitätsnäher ist, wie aus Abbildung 34 hervorgeht.

Rechnerisch ergeben sich aus der Stokes-Einstein-Gleichung nach Simon et al. folgende Werte für die Diffusionskoeffizienten von Partikeln mit Radien 5 nm bzw 100 nm in LDPE:

$$D_{5 \text{ nm}} = 2,5 \cdot 10^{-14} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$$

$$D_{100 \text{ nm}} = 1,25 \cdot 10^{-15} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$$

Mittels einer spezieller Software zur Berechnung der Migration nach den Fick'schen Gesetzen der Diffusion (Migratest[®] Lite 2001, Fabes München) wurde mit diesen beiden Diffusionsparametern die Migration unter Annahme Kontakt mit gut durchmischten Flüssigkeiten und guter ‚Löslichkeit‘ (bei Nanopartikeln besser ‚Dispergierbarkeit‘) im Lebensmittel bzw Simulanz berechnet. Die Migration der beiden Partikeltypen wurde über einen Zeitraum von 10 Tagen bei einer Prüftemperatur von 60°C berechnet. Für die Berechnungen wurde die mittels ICP-MS ermittelte Höchstkonzentration von 490 ppm TiN in LDPE eingesetzt.

Die so erhaltenen Berechnungen sind in Abbildung 43 und Abbildung 44 dargestellt. Die Ergebnisse zeigen, dass in einem 10 Tage/60°C Migrationstest unter der Annahme einer Fick'schen Diffusion Migrationswerte im Bereich von ca. 10 - 45 ppb (µg/kg) im Lebensmittel(simulanz) zu erwarten wären.

Gemessen wurden dagegen in den Simulantien keine nachweisbaren Konzentrationen bei einer Nachweisgrenze im Bereich 0,06 – 0,12 µg/kg Simulanz (oder Lebensmittel). Diese Diskrepanz von 2-3 Größenordnungen läßt starke Zweifel an der Realitätsnähe der Berechnung des Diffusionskoeffizienten nach der Stokes-Einstein-Gleichung aufkommen.

Zwei kugelförmige Nanopartikel mit Radien von 5 nm und 100 nm unterscheiden sich im Volumen und bei gleicher Dichte in der Masse um den Faktor 8000. Während sich

aus der Stokes-Einstein-Glg. für den Unterschied im Diffusionskoeffizienten (5 nm /100 nm) nur ein Faktor von 20 ergibt ($D_{5\text{ nm}} = 20 \times D_{100\text{ nm}}$), würden die heute anerkannten Migrationsmodelle für die Diffusion in Polymeren sehr viel größere (um viele Größenordnungen) Faktoren vorhersagen.

Dies wird illustriert durch den folgenden Vergleich von drei verschiedenen Substanzpaaren, die jeweils das gleiche Verhältnis von 3,5 bezüglich ihrer Molekulargewichte aufweisen, sich aber im Molekulargewichtsbereich unterscheiden.

In der nachstehenden Tabelle ist für jedes dieser 3 Substanzpaare das Verhältnis der Diffusionskoeffizienten bei 60°C in LDPE dargestellt.

Substanzpaar 1	Substanzpaar 2	Substanzpaar 3
Substanz 1A: 100 g/mol Substanz 1B: 350 g/mol	Substanz 2A: 500 g/mol Substanz 2B: 1750 g/mol	Substanz 3A: 1000 g/mol Substanz 3B: 3500 g/mol
Verhältnis Mol'gewichte B/A = 3,5	Verhältnis Mol'gewichte B/A = 3,5	Verhältnis Mol'gewichte B/A = 3,5
Verhältnis Diffusionskoeffizienten A/B = 21	Verhältnis Diffusionskoeffizienten A/B = 1570	Verhältnis Diffusionskoeffizienten A/B = 25160

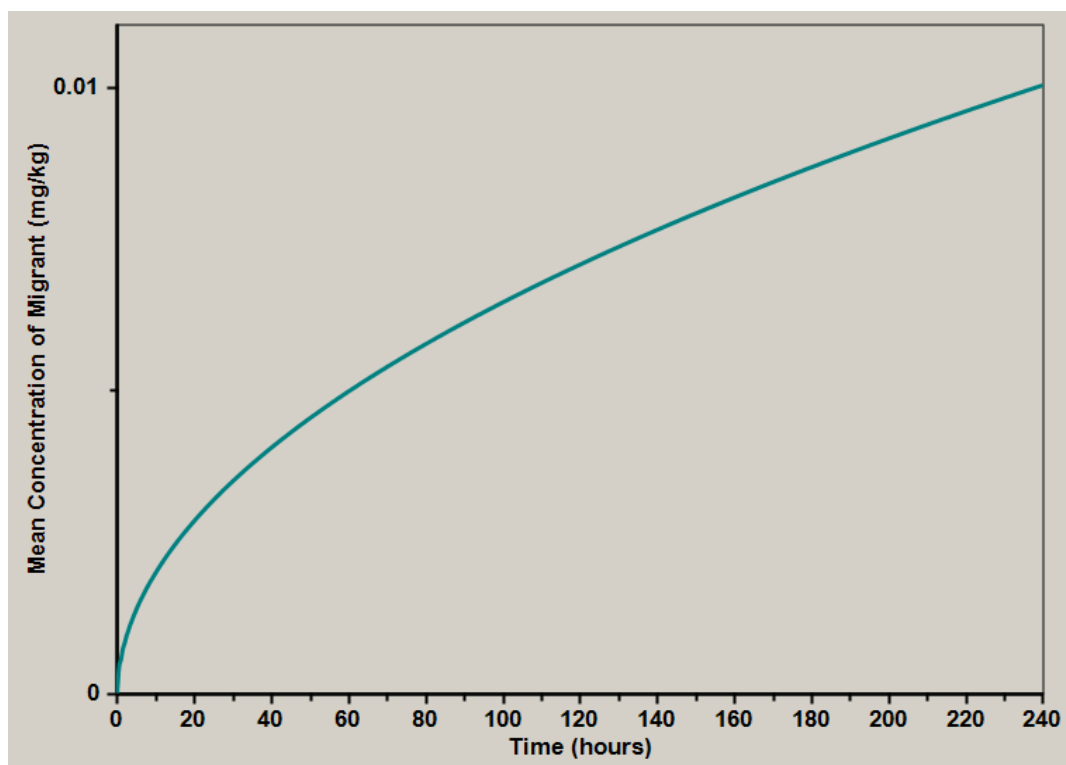


Abbildung 43: Berechnete Migration eines kugelförmigen 100 nm Radius Partikels für $D_{100\text{ nm}} = 1,25 \cdot 10^{-15} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ (nach Stokes-Einstein-Glg.) aus LDPE-Polymer in ein Lebensmittel nach 10 Tagen bei 60 °C

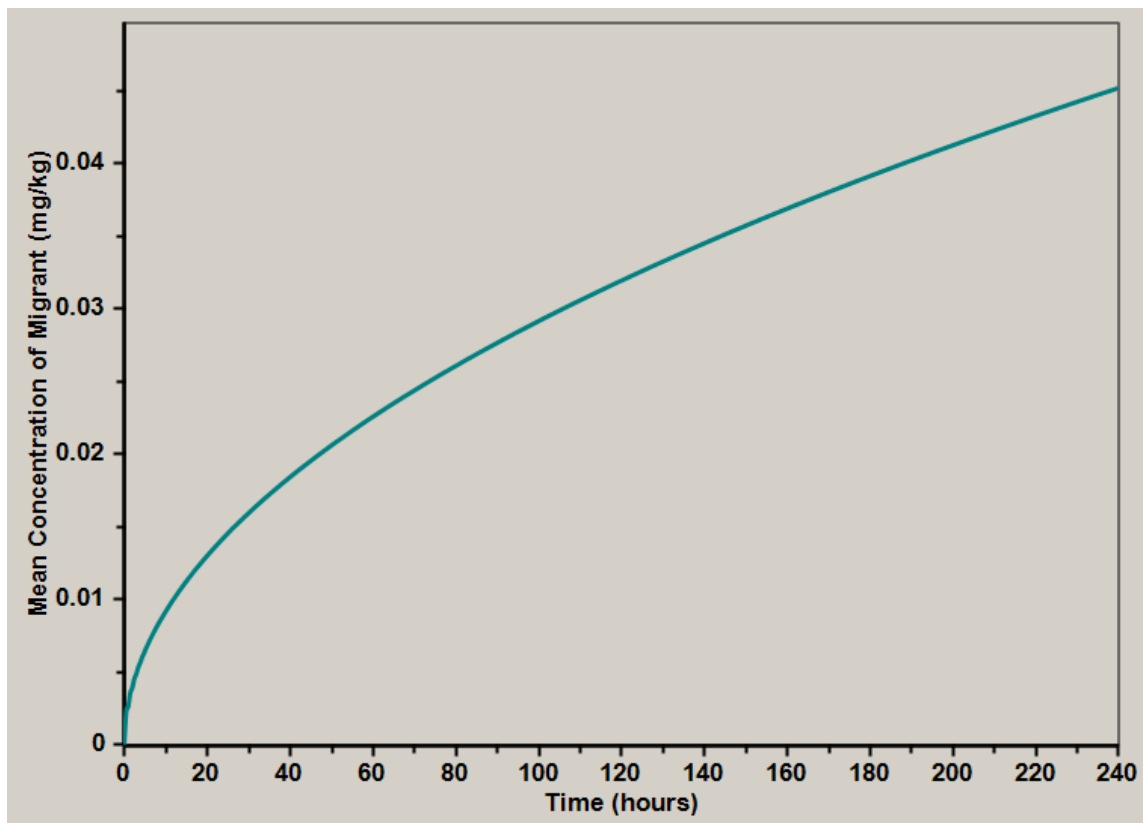


Abbildung 44: Berechnete Migration eines kugelförmigen 5 nm Radius Partikels für $D_{5\text{ nm}} = 2,5 \cdot 10^{-14} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ (nach Stokes-Einstein-Glg.) aus LDPE-Polymer in ein Lebensmittel nach 10 Tagen bei 60 °C

Aus diesen Daten wird ersichtlich, dass die nach Stokes-Einstein-Glg. ermittelten Diffusionskoeffizienten unrealistisch hoch sind und in großer Diskrepanz stehen mit dem derzeit für Polymer anerkannten (konservativen) Migrationsmodell. Damit wird auch der Grund für die enorme Überschätzung bei der Migrationsmodellierung ersichtlich. Diese Gleichung, die auf Flüssigkeiten anwendbar ist, erscheint nicht anwendbar zu sein auf Polyolefine und vermutlich auch nicht auf Polymere allgemein. Dies ist dadurch erklärbar, dass die Diffusionsmechanismen in Flüssigkeiten sich sehr stark unterscheiden von solchen in Polymeren, in denen sich Moleküle durch das Polymerkettennetzwerk von Lücke zu Lücke vorwärts bewegen müssen. Mit anderen Worten: In Polymeren müssen sehr viel höhere Aktivierungsenergien für die Diffusion aufgebracht werden als in Flüssigkeiten.

Ansatz (2) – realistischeres Migrationsmodell:

In Literatur⁹ ist auf S. 188 eine Gleichung (Glg. 6.28) abgeleitet, mit der sich Diffusionskoeffizienten von Additiven in Polyethylen unter Berücksichtigung der Polymerei-

genschaften und von Wechselwirkungen zwischen Additiv und Polymer berechnen lassen. Diese Gleichung von PIRINGER (auch publiziert in Lit¹²), die für den Temperaturbereich unter dem Schmelzpunkt des Polymers gültig ist, ist auch für große und sehr große Migranten anwendbar.

$$D_{P,i} = D_u \exp(w_{i,e} - w_{p,e} \cdot 0.14(14j+2)^{2/3} - w w_{j,e}^{2/3} T_{m,p} R/RT) \quad (6.28)$$

with $i = (M_{r,i} - 2)/14$

$$w_{i,e} = (1 + 2\pi/i)^{i/e}, j = (i^{1/3}), w_{j,e} = (1 + 2\pi/j)^{j/e}, p = (M_{r,p}/14)^{1/3}, w_{p,e} = (1 + 2\pi/p)^{p/e}$$

Nach dieser PIRINGER Glg. ergeben sich für Nanopartikel mit Radien 5 nm bzw 100 nm in LDPE folgende Diffusionskoeffizienten, wenn man modellhaft als worst-case Annahme davon ausgeht, dass es sich dabei um Kohlenstoffpartikel mit einer Dichte von 1 g/cm³ handelt:

$$D_{5 \text{ nm}} = 8,62 \cdot 10^{-30} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1} \quad (\text{nach Stokes-Einstein: } 2,5 \cdot 10^{-14} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1})$$

$$D_{100 \text{ nm}} = 6,45 \cdot 10^{-142} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1} \quad (\text{nach Stokes-Einstein: } 1,25 \cdot 10^{-15} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1})$$

Aus dem Diffusionskoeffizienten für das 5 nm Radius Partikel läßt sich mit Hilfe Migratest[®] Lite 2001 Software ein Migrationswert ermitteln, der im Bereich von 10⁻¹⁸ ppm, also im ppspt Bereich (parts per septillion) liegt. Für das 100 nm Radius Partikel ergibt sich ein absurder Wert für den Diffusionskoeffizienten, aus dem sich rein rechnerisch ein Migrationswert ermitteln ließ, der aber unsinnig niedrig und praktisch gleich Null wäre.

¹² Zlch A. and Piringer O.: Measurement and modelling of migration from paper and board into foodstuffs and dry food simulants. Food Additives and Contaminants 27(9), 1306-1324 (2012).

Migrationsmodell und Fazit:

Für die Migrationsmodellierung von Nanopartikeln bietet sich folgendes Modell an: Nach heutigem Stand des Wissens der Migrationsmodellierung entscheidet das Volumen bzw. der Querschnitt eines Moleküls oder eines Nanopartikels über die Aktivierungsenergie der Diffusion und damit über die Diffusionsgeschwindigkeit im Polymer. Nimmt man daher kugelförmige Kohlenstoff-Nanopartikel der Dichte 1 g/cm^3 als Modellkörper für andere Nanopartikel, die aus ganz anderen Materialien mit höherer Dichte bestehen und andere Geometrien besitzen können, an, lassen sich daraus allgemeingültige worst-case Diffusionskoeffizienten errechnen und daraus Migrationswerte abschätzen.

Die über dieses Modell erhaltenen Modellierungsergebnisse weisen darauf hin, dass Nanopartikel in einem Radiusbereich von 1 – 2 nm noch migrierfähig wären und bei entsprechend hohem Migrationspotenzial in Polymer zu meßbaren Migrationen führen könnten. Andererseits ist das Aggregierungsbestreben von Nanopartikeln so hoch, dass man praktisch keine vereinzelt Partikel mit solch kleinen Radien in Verpackungskunststoffen vorfindet.

1.6 Zusammenfassung und Schlussfolgerung

Der Einsatz der Nanotechnologie lässt sich in vielen Alltagsprodukten finden. Auch im Lebensmittelverpackungssektor verspricht man sich durch deren Anwendung eine Vielzahl positiver Eigenschaften, die darauf abzielen die Verpackung hinsichtlich Material- und Verarbeitungseigenschaften zu optimieren. Letztlich ist das Ziel, die Qualität des verpackten Lebensmittels länger zu erhalten. Andererseits muss diesem Trend eine Abwägung hinsichtlich möglicher gesundheitlicher und auch ökologischer Bedenken gegenüber gestellt werden. Nach wie vor ist über die toxikologischen Eigenschaften nanoskaliger Substanzen weniger bekannt als über deren mikroskopischen Erscheinungsformen. Das Wissen über die Aufnahme und Wechselwirkung von Nanopartikeln mit Mensch und Umwelt gerät daher immer stärker in den Fokus der Forschung und soll somit eine Risikobewertung eines Einsatzes von Nanomaterialien in Alltagsprodukten ermöglichen. Im Rahmen des LENA-Projekts wurde am Fraunhofer IVV eine umfangreiche Studie zu Nanomaterialien in Lebensmittelverpackungen durchgeführt.

In den folgenden vier Ergebnispunkten konnten im Modul 1 der LENA-Studie wichtige Erkenntnisse erzielt werden:

- (1) Es wurde ein Überblick über denkbare und bereits realisierte Einsatzmöglichkeiten von Nanomaterialien in Lebensmittelverpackungen erstellt werden.
- (2) Es konnte ein analytisches Vorgehen etabliert werden, mit dem ein möglicher Übergang von Nanomaterialien aus der Verpackung auf ein Lebensmittel nachweisbar ist.
- (3) Anhand von mit Nanomaterialien dotierten Kunststoffen wurden modellhaft Migrationsstudien durchgeführt, um der Frage der Migrierfähigkeit von Nanopartikeln aus Lebensmittelverpackungen nachzugehen.
- (4) Die Migrationsmeßergebnisse wurden durch migrationstheoretische Betrachtungen untermauert. Ein mathematisches Migrationsmodell für nanoskalige Migranten wurde etabliert.

(1) Eine umfangreiche Literaturrecherche zeigte, dass Nanomaterialien bei Verpackungen überwiegend als Nanokomposite Anwendung finden können. Hierbei handelt es sich um Materialien, bei denen das Nanomaterial (z.B. Schichtsilikate, Metalle

oder Metallverbindungen) direkt in die Verpackungsmatrix (Polymer) eingearbeitet wird. Nanokomposite können die physikalisch-chemischen Eigenschaften des Polymers verbessern und somit mechanisch und thermisch belastbarere Verpackungen ermöglichen, die zudem eine höhere Barriereeigenschaft als das reine Polymer aufweisen können. Als weitere Einsatzmöglichkeiten der Nanotechnologie bei Lebensmittelverpackungen lassen sich nanoskalige Oberflächenbeschichtungen, Nanopigmente und Nanoklebstoffe sowie Nanomaterialien mit antimikrobiellen Eigenschaften aufzählen. All diesen nanoskaligen Substanzen ist gemein, dass bei abnehmender Partikelgröße das Verhältnis von Oberfläche zu Volumen des eingesetzten Materials steigt, wodurch eine höhere Reaktivität, bzw. Effizienz im Vergleich zur mikroskopischen Substanz erzielt wird. Die bereits erwähnten Verbesserungen des Verpackungsmaterials lassen sich hierdurch mit einem geringeren Materialbedarf realisieren. Allerdings läßt sich der kommerzielle Einsatz dieser Substanzen nur schwer ermitteln. Einerseits sind die Hersteller solcher Verpackungen nicht dazu verpflichtet den Einsatz von Nanotechnologie bei ihren Produkten zu kennzeichnen, andererseits wird der Begriff „Nano“ oftmals fälschlicherweise für sehr kleine Substanzen verwendet, die per Definition gemäß EU-Empfehlung 2011/696/EU nicht nanoskalig sind. Die Verwendung von definitionsgemäßen Nanomaterialien ist bislang noch nicht in vollem Umfang durch entsprechende lebensmittelrechtliche Zulassungen abgedeckt, d.h. es wurden noch nicht alle unter die Nano-Definition fallenden Substanzen explizit in ihrer nanoskaligen Form bewertet. Als Ausnahmen hiervon gelten die in der EU-Kunststoffverordnung 10/2011 in der Positivliste als Nanoadditive aufgeführten Substanzen Kohlenstoffschwarz (Carbon Black; FCM Nr. 411), synthetisches amorphes Siliziumdioxid (FCM-Nr. 504) und Titannitrid, Nanopartikel (FCM Nr. 807) ,

(2), (3) Im analytischen Teil der Arbeit wurde im Kern die Frage untersucht, ob Nanopartikel von einer Lebensmittelverpackung auf ein Lebensmittel übergehen (migrieren) können. Als Nano-Modellsubstanz wurde hier nanoskaliges Titannitrid (TiN) mit einer durchschnittlichen Primärpartikelgröße von 20 nm Durchmesser eingesetzt. Ein Schwerpunkt dieser Arbeit lag dabei auf der analytischen Methodenerstellung für Nanopartikelmessungen anhand dieser nanoskaligen Modellsubstanz TiN. Ein zweiter Schwerpunkt lag in den umfangreichen Migrationsexperimenten an nano-TiN dotierten Kunststoffproben. Hierzu wurde in Flaschenmaterial aus Polyethylenterephthalat (PET) und Folien aus Polyethylen geringer Dichte (LDPE) na-

noskaliges TiN in verschiedenen Konzentrationen eingearbeitet. LDPE gilt aufgrund seiner rheologischen Eigenschaften als Polymer mit relativ geringem Diffusionswiderstand (hohe Flexibilität der Polymerketten) für seine Migranten und daher als „worse case“-Matrix bezüglich der Migration von organischen und anorganischen Substanzen. Migrationsexperimente wurden unter Verwendung verschiedener EU-offizieller Lebensmittelsimulanzien (3% Essigsäure, 95 % Ethanol, iso-Oktan) sowie in 0,2%iger NovaChem-Tensidlösung bei unterschiedlichen Lagerungsbedingungen durchgeführt, welche als strenger (10 Tage bei 60°C) im Vergleich zu einer Lagerung unter realistischen Bedingungen zu bewerten sind.

Die Charakterisierung des Nanomaterials im Polymer erfolgte mittels Transmissionselektronenmikroskopie (TEM). Hochauflösende TEM-Aufnahmen zeigten, dass das verwendete TiN im Polymer homogen dispergiert vorlag. Sowohl bei den PET-Flaschen als auch bei den LDPE-Folien wurden Aggregate mit einer durchschnittlichen Größe von 100 – 500 nm Durchmesser gefunden werden, welche aus Primärpartikeln von etwa 20 nm bestehen. Isoliert vorliegende Primärpartikel konnten in keiner der angefertigten TEM-Aufnahmen gefunden werden.

Asymmetrische Fluss Feld-Fluss Fraktionierung (AF4) in Kombination mit einem Vielwinkellichtstredetektor (MALS) wurde auf ihre Anwendbarkeit hinsichtlich der Charakterisierung und Identifizierung von nanoskaligen Substanzen getestet. Induktiv gekoppelte Plasma-Massenspektrometrie (ICP-MS) wurde eingesetzt, um TiN elementspezifisch in den Polymeren und in den Lebensmittelsimulanzien zu detektieren und quantifizieren. Darüber hinaus wurden auch aus verschiedenen anderen Nanomaterialien (wie z.B. Schichtsilikate und Silber) Dispersionen hergestellt und diese mittels AF4 (MALS) analysiert. Es konnte gezeigt werden, dass diese Methode bei stabilen Dispersionen geeignet ist, Nanopartikel hinsichtlich ihrer Größe aufzutrennen und über diese Größenverteilung zu charakterisieren. AF4 Messungen an TiN Partikeln erwiesen sich jedoch als schwierig. Bei keinem der verwendeten Dispersionsmedien und AF4-Einstellungen konnten reproduzierbare Messungen durchgeführt werden. Zwar gelang es, eine TiN-Dispersion mittels AF4 aufzutrennen und die Partikelgrößenverteilung der dispergierten Partikel zu bestimmen, jedoch wiesen alle Dispersionen eine nur unzureichende Dispersionsstabilität auf. Insbesondere bei niedrigen Konzentrationen konnte eine starke Wechselwirkung der TiN-Partikel mit der Kanalmembran beobachtet werden. Neben einer Kontamination des Systems mit

Probenmaterial bedeutet dies vor allem eine verschlechterte Empfindlichkeit dieser Methode, da nicht die gesamte injizierte Probe zum Detektor eluiert werden kann. Für die quantitative Erfassung von TiN in einer Migrationsprobe zeigte sich somit die AF4 als ungeeignet.

TiN wurde daher spezifisch mittels ICP-MS gemessen. Mit dieser Methode werden sowohl nanopartikuläres TiN als auch (sofern gegenwärtig) gelöstes Titan erfasst. Dabei konnte Titan mit einer Nachweisgrenze von 0,05 ppb - 0,7 ppb hochempfindlich gemessen werden. In keinem der umfassenden Migrationsexperimente in die Lebensmittelsimulanzien Isooktan, 95 % Ethanol und 3 % Essigsäure sowie in eine 0,2 % Novachem Tensidlösung konnte Titan in signifikanten Mengen gemessen werden. Titan war entweder nicht nachweisbar oder wurde in gleichen (sehr niedrigen) Konzentrationen wie auch in den Simulanzblindwerten bzw. in Migraten aus der TiN-freien Referenzprobe gefunden.

Als weitere analytische Fragestellung wurde untersucht, ob unter den thermischen Bedingungen der Extrusion der mit nano TiN-Partikeln dotierten LDPE-Folien durch katalytische Effekte organische Zersetzungsprodukte entstehen können und damit ein unerwünschtes Migrationspotenzial in der Verpackungsfolie gebildet werden kann. Mit hochempfindlichen Screening-Methoden wurden die dotierten Folien im Vergleich zur undotierten Probe auf ihre Zusammensetzung untersucht, um herauszufinden, ob neue Substanzen im nano-dotierten Polymer zu finden sind. Hierzu wurde sowohl auf flüchtige Substanzen mittels Headspace-GC sowie auf mittel- und schwerflüchtige Substanzen mittels GC-FID und HPLC Screening von Lösemittel-extrakten geprüft. Im Ergebnis konnten keine Unterschiede zur undotierten Folie festgestellt werden. Daraus lässt sich schließen, dass die Zugabe von TiN-Nanopartikeln zu keinen Änderungen in der Zusammensetzung des Folienmaterials im Sinn einer Bildung von unbeabsichtigten Substanzen im Polymer geführt hat.

(4) Zur Plausibilisierung und Untermauerung der experimentellen Befunde wurden migrationstheoretischen Betrachtungen und Berechnungen durchgeführt und daraus ein mathematisches Migrationsmodell zur Abschätzung der Migration von Nanopartikeln abgeleitet.

Zunächst wurde ein in der Literatur erwähntes Modell geprüft, das auf der Berechnung von Diffusionskoeffizienten von Nanopartikeln auf der Basis der Stokes-Einstein-Gleichung (SE-Glg.), eine für Flüssigkeiten anwendbare Gleichung, beruht.

Nach diesem Konzept stellt das Polymer eine hochviskose Flüssigkeit dar. Unter der Annahme, dass die Migration von Nanopartikeln wie bei konventionellen Polymeradditiven nach den Fick'schen Diffusionsgesetzen erfolgt, wurden beispielhaft für zwei kugelförmige Nanopartikel mit einem Radius von 5 nm und 100 nm die Diffusionskoeffizienten im Polymer bei 60°C berechnet. Auf diesem Weg lassen sich so hohe Diffusionskoeffizienten ($D_{5\text{ nm}} = 2,5 \cdot 10^{-14} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ bzw. $D_{100\text{ nm}} = 1,25 \cdot 10^{-15} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$) berechnen, dass sich daraus für den Migrationstest (10 d/60°C) relative hohe Migrationswerte ergeben würden. Damit wären gut messbare Migrationswerte von Nanopartikeln zu erwarten gewesen. Die erwarteten Werte liegen um 2-3 Größenordnungen über der Nachweisgrenze, bei der experimentell keine Migration gemessen werden konnte. Aus diesen Daten wird ersichtlich, dass die nach der SE-Glg. ermittelten Diffusionskoeffizienten unrealistisch hoch sind und in großer Diskrepanz stehen mit dem derzeit für Polymere anerkannten (konservativen) Migrationsmodell für konventionelle Polymeradditive. Dies ist dadurch erklärbar, dass die Diffusionsmechanismen in Flüssigkeiten sich sehr stark unterscheiden von solchen in Polymeren, in denen sich Moleküle durch das Polymerkettennetzwerk von Lücke zu Lücke vorwärts bewegen müssen. Mit anderen Worten: In Polymeren müssen sehr viel höhere Aktivierungsenergien für die Diffusion aufgebracht werden als in Flüssigkeiten.

Für die Nanomigrationsmodellierung wurde folgendes Modell etabliert: Kugelförmige Nanopartikel aus Kohlenstoff und mit der Dichte 1 g/cm^3 bilden Modell-Nanopartikel, die stellvertretend für andere Nanopartikel gleicher Größe stehen können. Damit hängt das Diffusionsverhalten nur vom Kugelvolumen und der damit verknüpften Aktivierungsenergie für den Diffusionsprozess ab. Aus der Kugelmasse lässt sich über die Materialzuweisung ‚Kohlenstoff‘ ein ‚Molekulargewicht‘ für einen gegebenen kugelförmigen Nanopartikel mit definiertem Radius ableiten (Annahme: 1 Nanopartikel = 1 Molekül). Aus dem so ermittelten Molekulargewicht lässt sich über eine in der Literatur publizierte Gleichung nach PIRINGER der Diffusionskoeffizient im Polymer errechnen. Damit kann über die Fick'schen Gesetzmäßigkeiten nach bekannten mathematischen Verfahren die Migration für gegebene Zeit-Temperatur-Bedingungen aus einem Polymer errechnet werden. Nach diesem Verfahren ergeben sich für ein Nanopartikel mit einem Radius von 5 nm in LDPE ein Diffusionskoeffizienten, der um viele Größenordnungen niedriger ist als der nach SE-Glg. ermittelte Wert:

$$D_{5\text{ nm}} = 8,62 \cdot 10^{-30} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1} \quad (\text{zum Vergleich: nach SE-Glg: } 2,5 \cdot 10^{-14} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1})$$

Daraus lässt sich ein Migrationswert errechnen, der im Bereich von 10^{-18} ppm, also im ppspt Bereich (parts per septillion) liegt.

Diese Modellierungsergebnisse weisen darauf hin, dass Nanopartikel in einem Radiusbereich von 1 – 2 nm noch migrierfähig wären und bei entsprechend hohem Migrationspotenzial in Polymer zu meßbaren Migrationen führen könnten. Andererseits ist das Aggregierungsbestreben von Nanopartikeln so hoch, dass keine vereinzelt Partikel mit solch kleinen Radien in Verpackungskunststoffen vorzufinden sind.

Schlussfolgernd lässt sich somit sagen, dass aufgrund der experimentellen Projektergebnisse für die Beispielsubstanz Titanitrid, eingebettet in PET- und LDPE-Polymer, und unter Berücksichtigung der durchgeführten Migrationsberechnungen keine Migration von Nanopartikeln aus Lebensmittelverpackungspolymeren nach den Gesetzen der Fick'schen Diffusion zu erwarten ist.

1.7 Literaturverzeichnis

- Alexandre, M., Dubois, P.: Polymerlayered silicate nanocomposites: preparation, properties and uses of a new class of materials, *Materials Science and Engineering*, 28, 1–63
- Ammala, A., Hill, A. J., Lawrence, K. A. und Tran, T. (2007) Poly(m-xylene adipamide)-kaolinite and poly(m-xylene adipamide)-montmorillonite nanocomposites. *Journal of Applied Polymer Science*, 104 (3), 1377 - 1381
- Auad, M. L., Mosiewicki, M. A., Richardson, T., Aranguren, M. I., Marcovich, N. E. (2009) Nanocomposites made from cellulose nanocrystals and tailored segmented polyurethanes. *Journal of Applied Polymer Science*, 115 (2), 1215 – 1225
- Azeredo, H. M. C. de (2009) Nanocomposites for food packaging applications. *Food Research International*, 42, 1240–1253
- Bikiarisa, D.N., Achilias, D.S., Giliopoulou, D.J. und Karayannidis, G.P. (2006) Effect of activated carbon black nanoparticles on solid state polymerization of poly(ethylene terephthalate). *European Polymer Journal*, 42 (12), 3190-3201
- Brody, A. L. (2007) Nanocomposite technology in food packaging. *Food Technology*, 61 (10), 80–83
- Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR): Ausgewählte Fragen und Antworten zur Nanotechnologie, Aktualisierte FAQ vom 9. September 2008
http://www.bfr.bund.de/cm/276/ausgewaehlte_fragen_und_antworten_zur_nanotechnologie.pdf
- Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR): Die Datenlage zur Bewertung der Anwendung der Nanotechnologie in Lebensmitteln und Lebensmittelbedarfsgegenständen ist derzeit noch unzureichend, Stellungnahme Nr. 001/2009 des BfR vom 3. Juli 2008
http://www.bfr.bund.de/cm/216/die_datenlage_zur_bewertung_der_anwendung_der_nanotechnologie_in_lebensmitteln.pdf
- Cabedo, L., Feijoo, J. L., Villanueva, M. P., Lagarón, J. M. und Giménez, E. (2006) Optimization of Biodegradable Nanocomposites Based on aPLA/PCL Blends for Food Packaging Applications. *Macromolecular Symposia*, 233 (1), 191 – 197
- Chaudhry, Q., Scotter, M., Blackburn, J., Ross, B., Boxall, A., Castle, L., Aitken, R. und Watkins, R. (2008) Applications and implications of nanotechnologies for the food sector. *Food Additives and Contaminants*, 25 (3), 241-258
- Daoud, W. A., John H. Xin, J. H. und Zhang, Y-H. (2005) Surface functionalization of cellulose fibers with titanium dioxide nanoparticles and their combined bactericidal activities. *Surface Science*, 599 (1-3), 69-75

- DIN CEN ISO/TS 27687 (2008) Nanotechnologien - Terminologie und Begriffe für Nanoobjekte - Nanopartikel, Nanofaser und Nanoplättchen (ISO/TS 27687:2008)
- EFSA (2004) Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food (AFC) on a request from the Commission related to a 4th list of substances for food contact materials. The EFSA Journal 65, 1-17
- EFSA (2005) Opinion of the Scientific Panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC) on a request from the Commission related to a 7th list of substances for food contact materials. The EFSA Journal 201, 1-28.
- EFSA (2007) Opinion of the Scientific Panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC) on a request related to a 14th list of substances for food contact materials. The EFSA Journal (2007) 452 – 454
- EFSA (2008) Scientific Opinion Scientific Opinion of the Panel on food contact materials, enzymes, flavourings and processing aids (CEF) on 21st list of substances for food contact materials. The EFSA Journal (2008) 888-890, 1-14
- EFSA (2009) Scientific Opinion of the Scientific Committee on a request from the European Commission on the Potential Risks Arising from Nanoscience and Nanotechnologies on Food and Feed Safety. The EFSA Journal (2009) 958, 1-39
- EFSA (2011) EFSA Scientific Committee; Draft Scientific Opinion on Guidance on risk assessment concerning potential risks arising from applications of nanoscience and nanotechnologies to food and feed. European Food Safety Authority. EFSA Journal 2011;9(5):2140
- EU (2011) Empfehlung der Kommission zur Definition von Nanomaterialien 2011/696/EU, Amtsblatt der Europäischen Union L 275/38 vom 20.10.2011
- FDA (Food and Drug Administration): Inventory of Effective Food Contact Substance (FCS) Notifications FCN 818 und 716
<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fcn/fcnNavigation.cfm?rpt=fcsListing&displayAll=true>
- Freire, C. S. R., Silvestre, A. J. D., Pascoal Neto, C., Gandini, A., Martin, L., und Mondragon, I. (2008). Composites based on acylated cellulose fibers and low-density polyethylene: effect of the fiber content, degree of substitution and fatty acid chain length on final properties. Composites Science and Technology, 68 (15–16), 3358–3364
- Fukuzumi, H., Saito, T., Iwata, T., Kumamoto, Y. und Isogai, A. (2009) Transparent and High Gas Barrier Films of Cellulose Nanofibers Prepared by TEMPO-Mediated Oxidation. Biomacromolecules, 10 (1), 162–165
- Fujishima, A., Rao, T. N. und Tryk, D. A. (2000) Titanium dioxide photocatalysis. Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews, 1 (1), 1–21
- Halley, P., Mcglashan, S. und Gralton, J. (2006): Biodegradable Polymer U.S. Patent 7094817

- Henriksson, M., Berglund, L. A., Isaksson, P., Lindström, T. und Nishino, T. (2008) Cellulose Nanopaper Structures of High Toughness. *Biomacromolecules*, 9 (6), 1579–1585
- Hubbe, M. A., Rojas, O. J., Lucia, L. A. und Sain, M. (2008) Cellulosic nanocomposites: a review. *Bioresources*, 3 (3), 929–980
- Jia, X., Li, Y., Cheng, Q., Zhang, S. und Zhang, B. (2007) Preparation and properties of poly(vinyl alcohol)/silica nanocomposites derived from copolymerization of vinyl silica nanoparticles and vinyl acetate. *European Polymer Journal*, 43, 1123–1131
- Kumar, R. und Münstedt, H. (2005) Silver ion release from antimicrobial polyamide/silver composites. *Biomaterials*, 26, 2081–2088
- Lange, J. and Wyser, Y. (2003) Recent innovations in barrier technologies for plastic packaging - a review. *Packaging Technol. and Sci.*, 16, 149-158
- Lok C.N., Ho, C.M., Chen, R., He, Q.Y., Yu, W.Y., Sun, H., Tam, P.K.H. und Chiu J.F. (2007) Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities. *J. Biol. Inorg. Chem.* 12 (4), 527-34
- Moldenhauer E, Klein T: Feldflussfraktionierung - Trennung und Charakterisierung von Proteinen, Polymeren und Partikeln.
<http://www.chemie.de/whitepaper/81965/feldflussfraktionierung-trennung-und-charakterisierung-von-proteinen-polymeren-und-partikeln.html> bzw. GIT Labor-Fachzeitschrift 6/2008, 595-598
- Morones, J. R., Elechiguerra, J. L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J. B., Ramirez, J. T., et al. (2005). The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 16 (10), 2346–2353
- NanoCare-Broschüre: Gesundheitsrelevante Aspekte synthetischer Nanomaterialien (Juni 2009)
http://www.nanopartikel.info/fileadmin/user_upload/Publikationen/NanoCare_Broschuere.pdf
- Nanotechproject: Project on Emerging Nanotechnologies of the Woodrow Wilson International Center for Scholars and the Pew Charitable Trusts.
<http://www.nanotechproject.org/inventories/>
- Nielsen, L. E. (1967) Models for the permeability of filled polymer systems. *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, 1 (5), 929–942
- ObservatoryNano: EU Projekt im Rahmen des 7. Rahmenprogramms (2009): Food packaging based on nanoclay composites: multilayer PET. In: *Nanotechnology in Agrifood sector - Market Report (Final version April 2009)*
<http://www.observatorynano.eu/project/document/2092/>
- Opinion of the Scientific Panel on food contact materials, enzymes, flavourings and processing aids (CEF) on 21st list of substances for food contact materials. *The EFSA Journal* (2008) 888-890, 1-14
- Opinion of the Scientific Panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC) on a request related to a 14th list of substances for food contact materials. *The EFSA Journal* (2007) 452 - 454

- Pavlidou, S. und Papaspyrides, C.D. (2008) A review on poly-layered silicate nanocomposites. *Progress in Polymer Science*, 33, 1119 - 1198
- Pfaff, K. und Tentschert, J. Vortrag im Rahmen des 6. BfR Forum Verbraucherschutz, 11.11.2008: Nanomaterialien in Lebensmittelverpackungen
http://www.bfr.bund.de/cm/232/nanomaterialien_in_lebensmittelverpackungen.pdf
- Piringer O.G., Baner A.L., (editors) 2008, *Plastic packaging - Interactions with food and pharmaceuticals*, Wiley-VCH, Weinheim, ISBN 978-3-527-31455-3.
- Podzimek S (2011): *Light Scattering, Size Exclusion Chromatography and Asymmetric Flow Field Flow Fractionation*, John Wiley & Sons, , ISBN: 978-0-470-38617-0
- Polymate Ltd. und Nanotech Industries, Inc (NTI): GreenCoat®
<http://www.nanotechindustriesinc.com/greencoat.php>
- Ray, S., Quek, S.Y., Easteal, A. und Chen, X.D. (2006) The Potential Use of Polymer-Clay Nanocomposites in Food Packaging. *International Journal of Food Engineering*, Vol. 6, 2, ohne Seitenangabe
- Rhim, J. W. und Ng, P.K. (2007) Natural Biopolymer-Based Nanocomposite Films for Packaging Applications. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 47 (4), 411-33
- SCENIHR 2009 (Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks), 19 January 2009, Risk assessment of products of nanotechnologies
http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_scenih/docs/scenih_r_023.pdf
- Schmidt, B., J. H. Petersen, et al. (2009). "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 Additives & Contaminants: Part A: Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment* 26(12): 1619 - 1627.
- Sharma, V. K., Yngard, R. A. und Lin, Y. (2009). Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities. *Advances in Colloid and Interface Science*, 145, 83–96
- Shrivastava S., Bera, T., Roy, A., Singh, G., Ramachandrarao, P. und Dash, D. (2007) Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles. *Nanotechnology* 18 (2007) 225103-12
- Simon, P. Chaudry, Q. Bakos, D. (2008) Migration of engineered nanoparticles from polymer packaging to food – a physicochemical view. *Journal of Food and Nutrition Research*, 47 (3), 105-113
- Simoneau C. (editor) 2010, *Applicability of generally recognised diffusion models for the estimation of specific migration in support of EU Directive 2002/72/EC*. EU report 24514 EN, 2010, ISBN 978-92-79-16586-3.
- Stramm, C., Goldhan, G., Bermannova, L. und Faltermayr, B. (2005) *Anwendungen der Nanotechnologie in Materialien für den Lebensmittelkontakt*

- Tang, S., Zou, P., Xiong, H. und Tang, H. (2008) Effect of nano-SiO₂ on the performance of starch/polyvinyl alcohol blend films. *Carbohydrate Polymers*, 72, 521–526
- Tankhiwalea, R. und Bajpai, S. K. (2009) Graft copolymerization onto cellulose-based filter paper and its further development as silver nanoparticles loaded antibacterial food-packaging material. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* Volume 69, (2), 164-168
- United States Patent 4408004: A high clarity, low haze polyester having improved heat-up rates contains very small amounts of an infrared absorbent material therein such as carbon black. Such polyesters are used in preforms as for making trays, etc., and especially in molding operations such as in the blow molding of beverage bottles.
- Vladimirov, V., Betchev, C., Vassiliou, A., Papageorgiou, G. und Bikiaris, D. (2006) Dynamic mechanical and morphological studies of isotactic polypropylene/fumed silica nanocomposites with enhanced gas barrier properties. *Composites Science and Technology*, 66, 2935–2944
- Weiss, J., Takhistov, P. und McClements, D.J. (2006) Functional Materials in Food Nanotechnology. *Journal of Food Science*, Vol. 71 (9), R107-R116
- Wu, Q., Henriksson, M., Liu, X. und Berglund, L. A. (2007) A High Strength Nanocomposite Based on Microcrystalline Cellulose and Polyurethane. *Biomacromolecules*, 8 (12), 3687–3692
- Wu, C. L., Zhang, M. Q., Rong, M. Z. und Friedrich, K. (2002) Tensile performance improvement of low nanoparticles filled-polypropylene composites. *Composites Science and Technology*, 62, 1327–1340
- Xiong, H. G., Tang, S. W., Tang, H. L. und Zou, P. (2008) The structure and properties of a starch-based biodegradable film. *Carbohydrate Polymers*, 71, 263–268
- Zhang, L. L., Jiang, Y. H., Ding, Y. L., Povey, M. und York, D. (2007) Investigation into the antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles (ZnO nanofluids). *Journal of Nanoparticle Research*, 9, 479–489
- Zimmermann, T. (2009) Cellulose Nanokomposite. *Bulletin. Schweizerische Arbeitsgemeinschaft für Holzforschung SAH*, 17. Jahrgang, Heft 1, 18-21

2 Modul 2 - Nanomaterialien in Lebensmitteln: Analytik und Charakterisierung der Produkte

2.1 Einleitung

Nanomaterialien finden sich bereits in zahlreichen Alltagsprodukten und sogenannten verbrauchernahen Produkten. Der Einsatz von Nanotechnologie verspricht auch im Lebensmittel- bzw. Verpackungssektor vielfältige Anwendungsmöglichkeiten. Im Bereich der Lebensmittelverpackungen und bei Lebensmittelbedarfsgegenständen werden Nanomaterialien bereits eingesetzt.

Einige Lebensmittelzusatzstoffe, die prinzipiell in nanoskaliger Form vorliegen können, werden bereits seit langem eingesetzt. Siliziumdioxid SiO_2 (E551), Magnesiumoxid MgO (E530) oder Titandioxid TiO_2 (E171) sind als Lebensmittelzusatzstoffe getestet und zugelassen. Bei der Herstellung entstehen Partikel in der Größe von ca. 5-50 nm. Diese agglomerieren allerdings meist bei der Weiterverarbeitung oder im Endprodukt zu größeren Einheiten. Als Agglomerate sind sie dann nicht mehr den Nanopartikeln zuzurechnen. Diese Lebensmittelzusatzstoffe werden als Rieselhilfen in Salz und Gewürzen oder als Fließhilfe z.B. in Ketchup eingesetzt.

In den USA hat die Firma Mars ein Patent zur nanometerdünnen Beschichtung von Schokoladeprodukten mit SiO_2 , MgO , CaO , ZnO , MnO und TiO_2 eingereicht (United States Patent 5741505, 1995). Diese Beschichtung soll Schokolade länger haltbar machen. Inwieweit diese Beschichtung tatsächlich eingesetzt wird, ist nicht bekannt. Ein weites Feld stellt die Technologie der Mizellen, Solubilisate, Mikroverkapselungen und Mikroemulsionen dar.

Im Bereich der Lebensmittelzutaten werden vor allem Vitamine und sekundäre Pflanzenstoffe verkapselt. Ein Beispiel für Lebensmittelzusätze ist synthetisches Lycopin in einer Partikelgröße von etwa 100 nm [1]. Ein deutscher Hersteller bietet flüssige Formulierungen (Solubilisate) von Vitaminen, Pflanzenextrakten, Konservierungsstoffen und anderem an, die in der Kosmetik- und Lebensmittelindustrie weiterverarbeitet werden [2] Aquanova Novasol.

Ziel der Verkapselung ist der effiziente zielgerichtete Einsatz als Lebensmittelzutat z.B. durch Verbesserung der Löslichkeitseigenschaften, der Wirkstofffreisetzung, Op-

timierung der Wirkungen (z.B. Antioxidantien) und der Bioverfügbarkeit (z.B. Vitamine).

Viele Nahrungsergänzungsmittel werden mit dem Zusatz „Nano“ beworben und versprechen eine bessere Aufnahme der verwendeten Stoffe. Neben gängigen Mineralstoffen wie Magnesium, Silizium und Kalzium werden auch kolloidales Gold und Silber angeboten, die einen angeblichen Anti-Ageing Effekt haben sollen. Diese Nahrungsergänzungsmittel werden vor allem im Internethandel und oftmals vom Ausland aus vertrieben. Bei vielen Angeboten ist nicht nachgewiesen bzw. fraglich, ob die Stoffe tatsächlich in Nanogröße vorliegen.

Auf dem internationalen Markt gibt es weitere Produkte wie Nano-Tee, Canolaöl mit Nanozusätzen und Diätprodukte mit nanoskaligem Kakao [2]. Da bislang geeignete Analysemethoden fehlen, Nanomaterialien direkt in Lebensmitteln nachzuweisen, ist nicht klar, ob sich in solchen Produkten nanoskalige Partikel befinden. In Tabelle 27 sind weitere im Internet zu beziehende Lebensmittel und Nahrungsergänzungsmittel aufgelistet.

Inwieweit Nanopartikel in Lebensmitteln eingesetzt werden ist nicht bekannt. Es muss bei der Definition und bei der Beurteilung von möglichen Risiken unterschieden werden zwischen Lebensmitteln, denen Nanomaterialien zugesetzt werden (z.B. als Rieselhilfen) und solchen, die mithilfe von Nanotechnologie hergestellt oder verfeinert werden, z.B. die Herstellung von feinsten Fettkristallen zur besseren Vermischung von Fett und Wasser. Auch bei herkömmlichen lebensmitteltechnologischen Verfahren wie z.B. dem Räuchern, können Nanomaterialien entstehen.

Das Inventory über Nano-Produkte des Woodrow Wilson International Center for Scholars [2] listet in der Kategorie „Food and Beverage“ 105 Produkte auf, darunter 4 Lebensmittel (Nano-Tee, Canolaöl, ein Diätprodukt und ein mit Silizium angereichertes Wasser), 12 Bedarfsgegenstände/Küchenutensilien, 21 Verpackungsmaterialien und 68 Nahrungsergänzungsmittel (Stand September 2012). Die meisten Nano-Produkte in dieser Kategorie stammen aus den USA und aus Ostasien; die Lebensmittel sind in Deutschland nicht erhältlich. Vier Produkte stammen aus Deutschland: zwei Nahrungsergänzungsmittel (Silizium-Kapseln und Mizellen zur Verkapselung von Nährstoffen), ein Schneidbrett mit Silberbeschichtung und eine beschichtete Aluminiumfolie. Die Europäische Verbraucherschutzorganisation BEUC listet 10 Produkte in der Kategorie Food and Drink auf [3]. Der BUND listet in seiner Studie 93

Produkte auf dem deutschen und internationalen Markt auf, wobei die Größendefinition von „Nano“ auf bis zu 300 nm erweitert wurde [4].

Diesen Meldungen steht gegenüber ein kürzlich aktualisierter Sachstands- und Positionspapier des BLL, wonach in Medien derzeit häufig kolportierte „Nano-Lebensmittel“ nur Fiktion wären. Es gebe demnach aktuell im EU-Markt keine Lebensmittel für Endverbraucher, die als Zutaten die typischen neuartigen, gezielt hergestellten Nanopartikel enthalten. Die gegenteiligen Annahmen würden möglicherweise auf einzelnen Patenterteilungen beruhen, die aber – wie bei vielen Patenten – nicht zwangsläufig in reale Produkte umgesetzt werden.

Tabelle 27: Nanopartikel in Lebensmitteln und Nahrungsergänzungsmitteln

Produkt	Hersteller	Inhaltsstoffe	website
NSSL (nano-structured self-assembled structured liquids)	Nutralease	Co-Enzym Q-10, Lycopene, Lutein, β -Carotin, Omega-3-Fettsäuren, Vitamin A, Vitamin D3 Vitamin E, Phytosterole, Isoflavone	www.nutralease.com
Novasol	Aquanova	Vitamine A, D, E, K Ascorbinsäure, Benzoesäure, Isoflavone, Curcumin,	www.aquanova.com
Lycovit	BASF	Synthetisches Lycopin	www.basf.com/group/corporate/de/brand/Lycovit
Levasil	AkzoNobel (vorher H.C.Starck)	SiO ₂	http://www.obermeier.de/ki eselsol.htm
Squeezy nano energised mineral gel	Squeezy	Nano-Mineralien	http://squeezy-nano.com/data/index.php
Fairvital Kolloidales Silber	Fairvital	Nanosilber	www.fairvital.com
Co-Enzym Q10 nano liquidNano	Fairvital	Co-Enzym Q10	www.fairvital.com
NANO Kolloide Vegi-Kapseln	HANNES PHARMA GMBH	Mineralkolloide in nanocolloidalen Kieselsäure	www.hannespharma.de
NANO LIFE by Carlo Thränhardt Kapseln	HEALTHY GENERATION GMBH	Siliziumsol, Naturzeolith, Traubenkernextrakt (Bioflavonol OPC)	z.B. www.eurapon.de/4016104/
NA-MenPower Kapseln	VitafoSan	SiO ₂ /Zeolith, Ascorbinsäure, Selen, Zinkgluconat, Muira-Puama-Pulver, Selleriewurzel-Pulver, D-Alpha-Tocopherol, Lycopin	https://shop.vitafoSan.de
NANOSAN Nanosilicium Kapseln	Life light Apozen Vertriebs GmbH	SiO ₂	www.vitalabo.de/life_light/nanosan_nanosilicium
CardioVital Kapseln	Per Nature GmbH, Lingen	Dynamisiertes Nano Silizium	
Dynamisiertes Nano Silizium	best nature wellness (bnw)	SiO ₂	www.bnw-mineral.com
Kolloidales Silber	best nature wellness (bnw)	Nanosilber	www.bnw-mineral.com
Kolloidales Gold	best nature wellness (bnw)	Nano-Gold	www.bnw-mineral.com
Nanovital-Silberwasser	Nanovital	Nanosilber (Nanodynamisiertes Wasser)	www.nanovital.de

Nanovital-Kieselwasser	Nanovital	SiO ₂	www.nanovital.de
Nanosiligma	Neosino	SiO ₂ , Mg, Ca	www.neosino.at
Nanosilicea	Neosino	SiO ₂ , Mg, Ca	www.neosino.at
Nano-Liquid	Neosino	SiO ₂ , Mg, Ca	www.neosino.at
Nano Caps	Neosino	SiO ₂ , Mg, Ca	www.neosino.at
MesoSilver	Purest Colloids	Nanosilber	www.purestcolloids.com
MesoGold	Purest Colloids	Nano-Gold	www.purestcolloids.com
MesoCopper	Purest Colloids	Nano-Kupfer	www.purestcolloids.com
MesoPlatinum	Purest Colloids	Nano-Platin	www.purestcolloids.com
MesoZinc	Purest Colloids	Nano-Zink	www.purestcolloids.com
MesoIridium	Purest Colloids	Nano-Iridium	www.purestcolloids.com
MesoSilica	Purest Colloids	Nano-SiO ₂	www.purestcolloids.com
Angstrom Minerals Sulfur	Naturalzing	Angebliche Größe 0,1 nm!	www.angstrom-mineral.com
Heavy Metal Nano-Detox	Naturalzing	Angebliche Größe 0,1 nm!	www.naturalzing.com
Living Vitamin B Nano-Plex	Naturalzing	Angebliche Größe 0,1 nm!	www.naturalzing.com
Nano-DHLA with Resveratrol	Naturalzing	Angebliche Größe 0,1 nm!	www.naturalzing.com
Spirulina, Microhydrin,	RBC Lifesciences	Kein Hinweis auf Nano mehr (vergl. BUND Bericht 2008)	www.rbclife.com
Nano Vapor	Muscletech	"Nanomolekulare gefäßerweiternde Stoffe"	www.muscletech.com
naNOX9	Muscletech	"Nanoskaliges NO"	www.muscletech.com

2.2 Toxikokinetik und Toxizität oral aufgenommener Nanopartikel

Eine orale von Nanopartikeln ist möglich durch den Verzehr von Lebensmitteln, die gezielt oder unabsichtlich (durch Verunreinigungen) derartige Partikel enthalten. Eine weitere Möglichkeit ist durch die Migration von Nanopartikeln aus Verpackungsmaterialien und Bedarfsgegenständen in das Lebensmittel gegeben. Aktuelle Daten dazu wurden bislang jedoch kaum erfasst. Bekannt ist, dass einige Nanomaterialien aus Verpackungsmaterialien migrieren können [5, 6]. Außerdem ist eine Kontamination von Lebensmitteln mit Nanopartikeln möglich, die aus Pestiziden stammen oder aus der Anwendung von Nanopartikeln (z.B. Zinkoxid, Silber) in der Abwasserreinigung oder Bodensanierung [7].

Der aktuelle Kenntnisstand zur Toxikokinetik und zu den Wirkungen oral aufgenommener synthetischer Nanopartikel ist äußerst begrenzt [5, 8, 9]. Dies steht in klarem Gegensatz zu den umfangreichen wissenschaftlichen Kenntnissen zur inhalativen Exposition und zu den lokalen (im Bereich der Atemwege) bzw. systemischen Effekten (z.B. auf das kardiovaskuläre System) für diesen Expositionspfad [10-12].

Zur Toxikokinetik von Nanopartikeln nach oraler Zufuhr gibt es derzeit nur einige Studien, die insbesondere die Aufnahme und Verteilung von Metallen, Metalloxiden und z.B. Polystyrolpartikel in Organismen untersucht haben [13-19]. Ziel dieser Studien war oft ihre Anwendungsmöglichkeiten im Rahmen therapeutischer Interventionen in der Medizin zu erforschen. Für eine Risikobewertung von Nanopartikeln in Lebensmitteln lassen sie sich nur begrenzt heranziehen.

Es ist seit langem bekannt, dass Partikel die Schleimhautbarriere des Gastrointestinaltraktes durch parazellulären und transzellulären Transport überwinden können und anschließend über die Pfortader oder das lymphatische System im Organismus verteilt werden [20-22]. Im Allgemeinen gilt, je kleiner die Partikel sind, desto leichter und schneller werden sie aufgenommen [17, 23-26]. Positiv geladene Partikel scheinen dabei leichter durch das Darmepithel dringen zu können, im Gegensatz zu neutralen oder negativ geladenen Teilchen, die eher in der Darmschleimhaut verbleiben [27]. So beschrieben Jani et al. (1990) Aufnahmeraten von 34 % für Partikel mit einem Durchmesser von 50 nm, während er bei Partikel mit einem Durchmesser von 300 nm nur noch 9 % betrug [17]. Studien an Ratten ergaben, dass eine Aufnahme

wesentlich über die sogenannten M-Zellen der Peyerschen-Plaques erfolgt. Es ist allerdings noch nicht geklärt, wie sich Nanopartikel im Gastrointestinaltrakt hinsichtlich Aggregation und Agglomeration verhalten, ob und wie stark sie sich an bestimmte Nahrungsbestandteile binden und wie dies die Resorptionsverfügbarkeit beeinflusst [28]. Ob sich die Resorption von Nanopartikeln aus dem Magen-Darm-Trakt beim Vorliegen einer gestörten intestinalen Schleimhaut, z.B. im Rahmen einer chronischen Darmerkrankung, verändert, ist nicht bekannt. Es gibt jedoch erste Hinweise, dass in diesen Fällen die Aufnahme im Gegensatz zu einer gesunden Darmschleimhaut erhöht ist [23]. Da Nanopartikel durch ihre aktive Oberfläche verschiedene Stoffe, auch Proteine adsorbieren können ist es auch denkbar, dass sie diese durch die Darmschleimhaut in den Blutkreislauf transportieren könnten [29].

In Tierversuchen konnten z.B. Metall oder Metalloxid-Partikel nach oraler Gabe in verschiedenen Organen wie Magen, Leber, Nieren, Lunge, Blut und im Gehirn gefunden werden [30]. Bei langfristiger Einnahme von kolloidalem Silber wurde auch eine Anreicherung von Silber in der Haut beobachtet, die sich in einer bläulichen Verfärbung der Haut (Argyrie) zeigen kann. Auch die Verteilung der Partikel ist stark abhängig von der Größe der Partikel und ihrer Oberflächenstruktur und -chemie [26]. Speziell beschichtete Partikel können z.B. länger im Blutkreislauf verbleiben, während nicht beschichtete sehr schnell an Blutproteine (z.B. Albumin) gebunden werden [31]. Dies hat erheblichen Einfluss auf ihre weitere Verteilung und Ausscheidung [28]. Zur Metabolisierung und Ausscheidung von oral aufgenommenen Nanopartikeln liegen derzeit kaum Erkenntnisse vor. Bei der Ausscheidung zeigt sich eine Abhängigkeit von Größe, Struktur und chemischer Zusammensetzung der Partikel. So beschreiben Choi et al. die Ausscheidungsvorgänge nach intravenöse Injektion von anorganischen, metallhaltigen Nanopartikel (sogenannten Quantum dots) [32]. Hierbei zeigte sich eine schnelle und effiziente Ausscheidung der kleinen Partikel (< 5,5 nm). Auch hinsichtlich der Toxizität oral aufgenommener Nanopartikel liegen nur wenige Studien vor, die sich vor allem auf Metalle und Metalloxide beziehen. Verschiedene Mechanismen, wie Nanopartikel wirken können, sind denkbar und aus der Forschung zum Ultrafeinstaub und inhalativ aufgenommener Nanopartikel bekannt [5]. Insbesondere die Endpunkte oxidativer Stress, Genotoxizität und Entzündungsreaktionen standen hierbei im Fokus [26, 31]. Es gibt auch Hypothesen, dass Nanopartikel an der Entwicklung chronisch entzündlicher Darmerkrankungen wie dem Morbus Crohn

beteiligt sein könnten [33]. Akute toxische Wirkungen wurden nach oraler Gabe von Nanopartikeln in Mäusen beobachtet. In hohen Dosen scheinen TiO₂ Partikel sich in der Leber und Nieren anzureichern und zu nekrotischen Veränderungen des Gewebes zu führen [34]. Auch Zinkpartikel in Nanogröße können sich in der Niere anreichern und zu Läsionen in der Niere, sowie zur Veränderung verschiedener Blutparameter führen [35]. Allerdings fanden die Autoren, dass mikroskalige Zinkpartikel die Leber schwerer schädigen könnten als entsprechende Nanopartikel. Auch Silber-Nanopartikel scheinen sich in verschiedenen Organen wie Nieren, Leber, Gehirn, Lunge und Hoden anzureichern [30]. Bei Verabreichung hoher Dosen wurde eine Hemmung der Blutgerinnung, erhöhter Cholesterinspiegel und Wucherungen in der Leber festgestellt. Die verschiedenen tierexperimentellen Untersuchungen ergaben dabei ein uneinheitliches Bild. Da Partikel in Nanogröße über eine relativ größere Oberfläche verfügen als mikroskalige Partikel, sind sie auch reaktiver und können eine stärkere toxische Wirkung entfalten. Allerdings gibt es für bestimmte Partikel auch gegenteilige Ergebnisse, so wurden in in-vitro-Studien stärkere Effekte für Kupfer-Nanopartikel als für gleichartige mikroskalige Partikel gefunden, was auf die höhere chemische Reaktivität von Nano-Kupfer zurückgeführt wird [36, 37]. Andererseits fanden Karlsson et al. (2009) für mikroskaliges TiO₂ und Eisenpartikel eine höhere Rate an DNA-Schäden als für entsprechende nanoskalige Partikel. Je nach Größe der Partikel sind verschiedene Organe betroffen, aber es lässt sich nicht unbedingt schlussfolgern, dass kleinere Partikel toxischer wirken als größere [38]. Ein Problem bei Toxizitätsstudien ist auch, dass die Partikel oft nicht genauer charakterisiert wurden, so dass keine weitergehenden Schlüsse zu einem möglichen Zusammenhang der physikalisch-chemischen Eigenschaften der Partikel und ihren Wirkungen getroffen werden können. Insgesamt fehlen Langzeitstudien zur chronischen Toxizität von Nanopartikeln, unabhängig vom Aufnahmeweg [29].

Eine Aussage zu gesundheitlichen Wirkungen von oral aufgenommenen Nanopartikeln ist bisher nicht möglich. Da die Verteilung, Metabolisierung und Ausscheidung von oral aufgenommenen Nanopartikeln sehr stark von den physikalisch-chemischen Eigenschaften der Materialien abhängt, können in toxikologischen Studien immer nur einzelne, definierte Partikel untersucht werden. Von diesen Partikeln auf das Verhalten und die Toxizität von anderen Partikeln zu schließen, ist nicht möglich [5]. In tierexperimentellen Studien werden außerdem sehr hohen Konzentrationen eingesetzt,

so dass die Ergebnisse nur eingeschränkt auf den Menschen übertragbar sind. Bislang wurden nur wenige Stoffe in nanoskaliger Form auf ihre Toxizität hin getestet, oft fehlt eine Bestätigung der Ergebnisse.

Vor dem Hintergrund der derzeitigen Datenlage kommt die EFSA zu dem Ergebnis, dass ein enormer Forschungsbedarf besteht, um die Risiken für Verbraucher abschätzen zu können. Schwerpunkte sollen dabei künftig auf der Charakterisierung der physikalischen und chemischen Eigenschaften der Nanopartikel, deren Exposition über die Nahrungsmittel und der systematischen Untersuchung ihrer Toxikologie liegen [29].

2.3 Fragestellung und Aufgaben in Modul 2

Im Modul 2 des Projekts „LENA – Lebensmittelsicherheit und Nanotechnologie“ werden folgende Teilaspekte bearbeitet:

- Sind in Nahrungsergänzungsmitteln, die auf dem deutschen Markt oder im Internethandel erhältlich sind, Nanomaterialien enthalten?
- Wie können diese Partikel, die in Pulverform, aber auch in Suspensionen vorliegen, analysiert werden?
- Evaluierung geeigneter Homogenisierungsverfahren für feste Nahrungsergänzungsmittel
- Ermittlung geeigneter Laufmittel und analytischer Parameter zur Bestimmung der Größenverteilung von Nanopartikeln in Nahrungsergänzungsmitteln mittels AF⁴

2.4 Größenbestimmung von Nanopartikeln mit Asymmetrischer Fluss-Feldflussfraktionierung (AF⁴)

2.4.1 Funktionsweise der Feldflussfraktionierung

Bei der Feldflussfraktionierung (FFF) erfolgt die Trennung von Nanopartikeln in einem sehr flachen Trennkanal (350 bis 500 µm) mit Hilfe eines laminaren Flusses (Transportfluss), der durch ein parabolisches Strömungsprofil gekennzeichnet ist. Durch ein senkrecht zur Flussrichtung wirkendes Kraftfeld ist es möglich Nanopartikel in langsamere Bereiche des Trägerstroms zu drängen und somit ihren Austritt aus dem Kanal zu verzögern. Das senkrechte Kraftfeld wird durch eine Querströmung (Fluss-FFF) erzeugt werden

Bei der asymmetrischen Fluss-Feldflussfraktionierung (AFFFF, A4F, AF⁴) wird das senkrechte Kraftfeld durch einen Querstrom erzeugt, der durch Abpumpen der Trägerflüssigkeit über eine semipermeable Membran am Kanalboden entsteht. Die Porengröße der Membran ist so gewählt, dass Nanopartikel ab einer gewissen Größe diese nicht durchdringen können. Durch den Querfluss werden die Nanopartikel zur Kanalunterseite gelenkt. Da die Nanopartikel nicht durch die Membran dringen können, diffundieren sie von dort zurück in Richtung des Kanalmittelpunktes und somit in Bereiche mit erhöhter Strömungsgeschwindigkeit.

Die dem Querfluss entgegengerichtete Kraft ist die Diffusion der Nanopartikel. Diese durch die Brownsche Molekularbewegung verursachte ungerichtete, statistische Bewegung der Teilchen bewirkt, dass die Teilchen sich auch wieder von der Kanalunterseite weg bewegen. Je kleiner ein Partikel desto größer ist sein Diffusionskoeffizient (gleichbedeutend mit einer größeren Beweglichkeit). Dadurch erhöht sich die mittlere Entfernung der Partikel von der Kanalunterseite und sie gelangen somit in schnellere Bereiche der laminaren Strömung mit der sie aus dem Kanal gespült werden. Da größere Partikel einen kleineren Diffusionskoeffizienten besitzen, entfernen sie sich nicht so weit von der Kanalunterseite und bleiben im Vergleich zu kleineren Partikeln in langsameren Strömungsbereichen und werden später aus dem Kanal gespült. Auf dieser Unterscheidung anhand der Beweglichkeit der Partikel (hydrodynamischer Durchmesser, Diffusionskoeffizient) beruht das Trennprinzip der Feldflussfraktionierung.

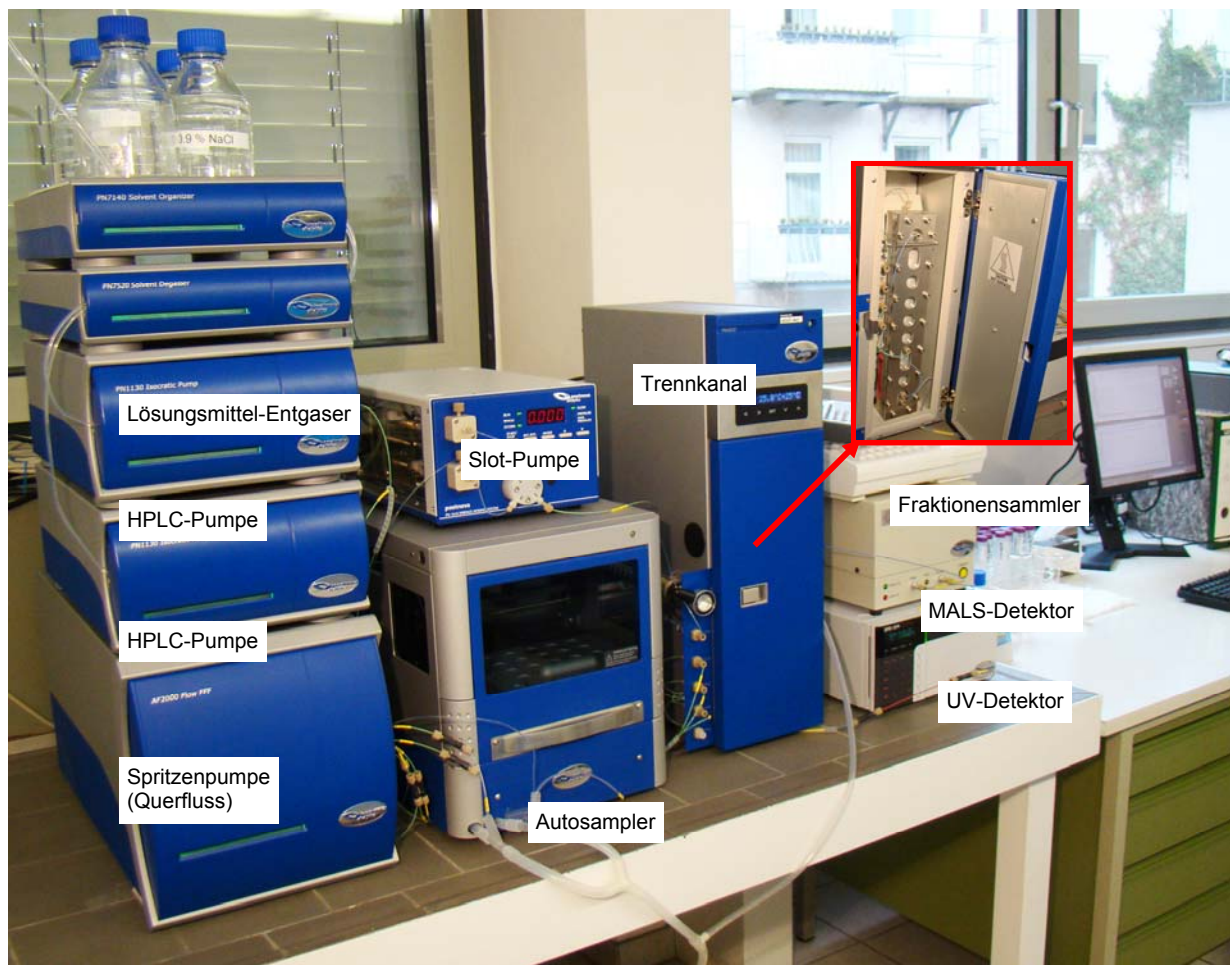


Abbildung 45: AF⁴-Einheit mit senkrecht stehendem Trennkanal

Die Trennung erfolgt durch langsame Injektion der Partikel, wobei eine gleichzeitige Fokussierung der Partikel in einem kleinen Bereich des Kanals durch einen zusätzlichen Fluss (Fokussierfluss) erzielt wird. Das überschüssige Laufmittel wird dabei über die Membran abgepumpt. Bei diesem Schritt werden auch gelöste Verbindungen und Verunreinigungen entfernt. Anschließend wird der Fokussierfluss abgeschaltet und durch graduelle Reduzierung des Querflusses werden zuerst die kleinsten Partikel und dann die größeren aus dem Kanal gespült und gelangen schließlich zu den Detektoren (siehe Abbildung 45).

Die Detektion der Partikel erfolgt bei dem hier verwendeten experimentellen Aufbau über die Messung der UV-Absorption bei 280 nm zur Bestimmung der Konzentration, falls der Extinktionskoeffizient der Partikel (bzw. der chemischen Komponenten der Partikel) bekannt ist. Die Bestimmung der Partikelradien erfolgt durch statische Lichtstreuung. Bei der Lichtstreuung werden die von den Partikeln gestreuten Signale in

verschiedenen Raumwinkeln aufgezeichnet und daraus der Partikelradius berechnet. Kleine Partikel im Bereich von 10 nm streuen das Laserlicht mit annähernd gleicher Intensität in alle Raumrichtungen. Bei großen Partikeln dagegen überwiegt die Vorwärtsstreuung. Abhängig von der Wellenlänge des Lichts und der Partikelgröße kommt es zu Interferenzeffekten, was zu unterschiedlichen Intensitäten des gestreuten Signals in Abhängigkeit des Streuwinkels führt. Die gesamte Streu-Intensität hängt von Molekulargewicht bzw. Masse der Partikel ab.

2.4.2 Kalibrierung des Messgerätes

Die beiden Detektoren werden mit Partikeln bekannter Größe und Eigenschaften kalibriert. Die Kalibrierung des UV-Detektors geschieht mit wässrigen Lösungen (mit 0,9% NaCl) von Rinderserum Albumin (bovine serum albumine, BSA) bekannter Konzentration anhand des bekannten Extinktionskoeffizienten des BSA. Die Verwendung von Proteinen hat den Vorteil, dass es sich um monodisperse Partikel handelt, d.h. um Partikel mit einheitlicher Größe und einem bestimmten Molekulargewicht. Abbildung 46 zeigt ein Fraktogramm von BSA und die zugehörige Molekulargewichtsverteilung. Neben dem Monomer des Proteins sind in geringerer Konzentration Dimere und Trimere des BSA zu erkennen.

Anschließend wird der Lichtstreu-Detektor ebenfalls mit BSA kalibriert hinsichtlich der Konzentrationsbestimmung anhand eines Raumwinkels (gewöhnlich der 90°-Winkel) des gestreuten Lichts. Um die anderen Detektoren der verschiedenen Raumwinkel zu kalibrieren werden monodisperse Polystyrolpartikel verwendet mit Radien unter 10 nm. Bei diesen kleinen Partikeln handelt es sich um so genannte isotrope Streuzentren, deren Lichtstreuintensität in allen Raumrichtungen gleich ist, und die deshalb zur Normierung der anderen Detektoren benutzt werden können. Ein Fraktogramm und die daraus berechnete Größenverteilung der Polystyrolpartikel ist in den Abbildungen 47 und 48 dargestellt.

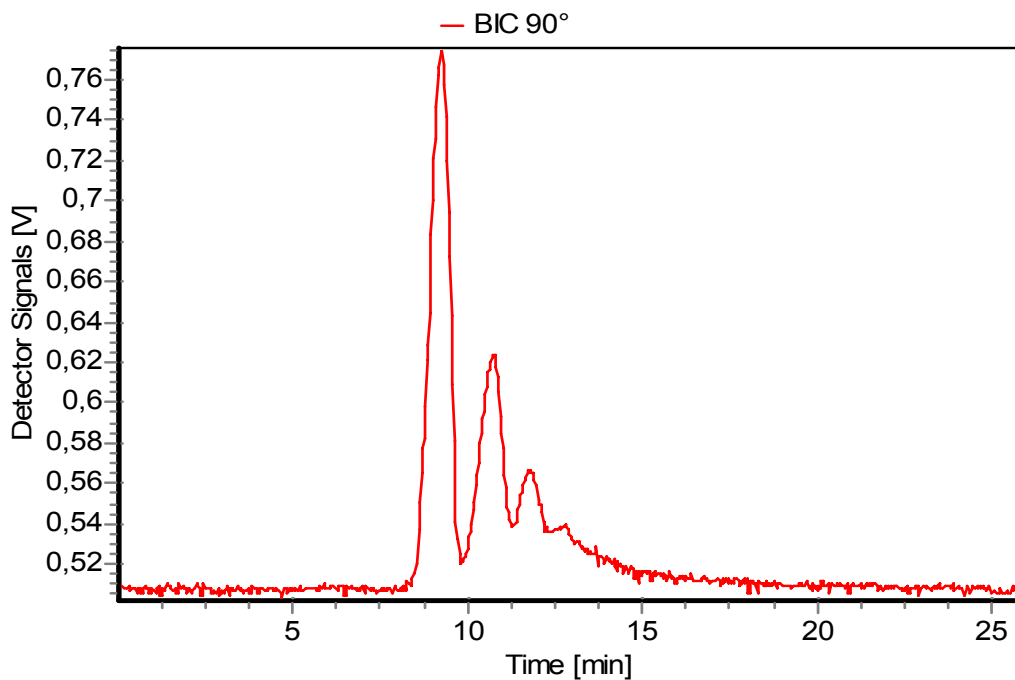


Abbildung 46: Fraktogramm von BSA (Mw 66 kDa). Aufgetragen ist die Lichtstreuung im Winkel von 90° zur Eintrittsrichtung des Laserstrahls. Der intensivste Peak stammt von den Monomeren des Proteins. Die zwei weiteren Peaks stammen von Dimeren und Trimeren des Proteins.

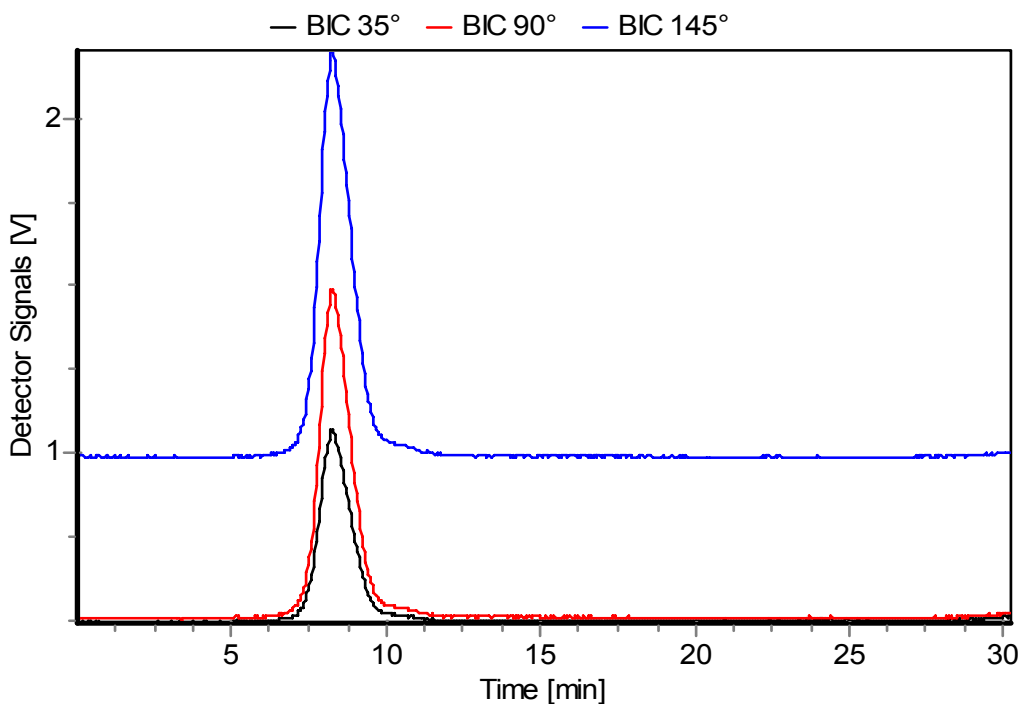


Abbildung 47: Fraktogramm von Polystyrolpartikeln mit einem mittleren Molekulargewicht von 63,9 kDa. Aufgetragen ist die Lichtstreuung im Winkel von 35°, 90° und 145° zur Eintrittsrichtung des Laserstrahls.

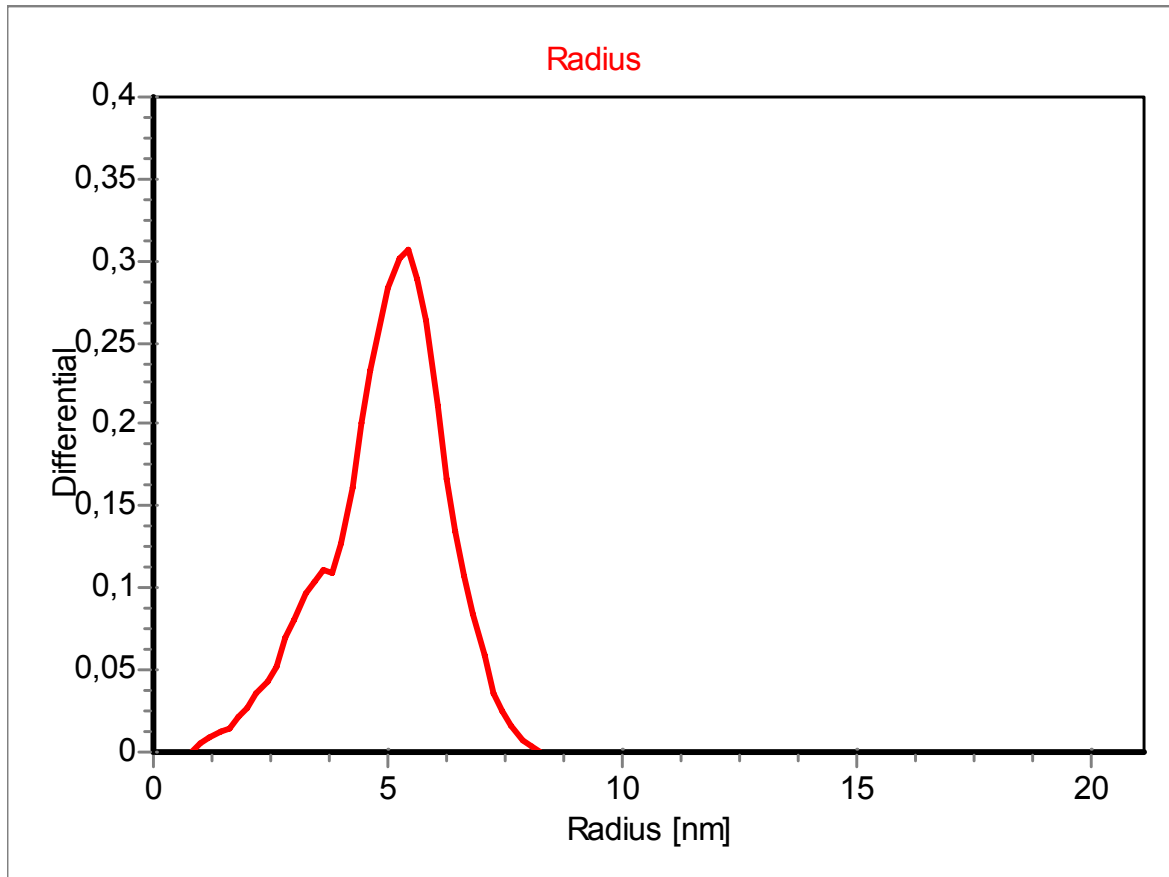


Abbildung 48: Anzahlgrößenverteilung von Polystyrolpartikeln mit einem mittleren Molekulargewicht von 63,9 kDa.

2.4.3 Übersicht der benutzten Nanopartikel-Standards

2.4.3.1 Kieselsole (amorphe Kieselsäure, SiO₂)

Kieselsole sind wässrige, kolloidale Lösungen von amorphem Siliziumdioxid (SiO₂) mit Teilchengrößen von 3 bis ca. 80 nm. Aufgrund des speziellen Herstellprozesses liegt das Siliziumdioxid in Form freier, unverbundener, sphärischer Einzelpartikel vor, die an der Oberfläche hydroxyliert sind, d.h. freie OH-Gruppen besitzen. Typischerweise zeigen diese Zubereitungen eine enge Teilchengrößenverteilung, eine hohe Dichte, eine niedrige Viskosität und keine erkennbare Entmischungstendenz. Im Gegensatz zu dispergierten Feststoffen wie die pyrogene Kieselsäure (siehe nächsten Abschnitt) kommen die Kieselsole ohne die Verwendung von Hilfsmitteln wie Emulgatoren aus. Während die grobteiligen Kieselsole milchig trüber Flüssigkeiten darstellen, sind die feinteiligen Kieselsole ab ca. 200 m²/g BET-Oberfläche relativ klare, opaleszierende Flüssigkeiten.

Hier wurde Levasil (300/30, Hersteller H.C. Starck) benutzt, das als wässrige Suspension (30%) im Handel erhältlich ist. Die spezifische Oberfläche (BET-Oberfläche) beträgt ca. 300 m²/g, die mittlere Teilchengröße 9 nm laut Hersteller.

Erste Trennversuche wurden in 0,9% NaCl (Abbildung 49) oder in 15% Methanol (Abbildung 50) durchgeführt. Wie deutlich zu erkennen ist führten die Versuche in Methanol zu keiner Trennung der Partikel (Abbildung 6), was darauf hindeutet, dass sich unter diesen Bedingungen vorwiegend größere Agglomerate von SiO₂-Nanopartikeln bilden und im so genannten sterischen Modus (d.h. ohne Retention im Trennkanal) nach 6 min. eluieren. Die kleineren Agglomerate und freie Nanopartikel sind zwar erkennbar im Bereich von 20 – 50 min., jedoch ist eine Größenbestimmung aufgrund des schwachen Signal und der ungenügenden Trennung nicht möglich. In 0,9% NaCl dagegen konnte eine gute Retention der Partikel erreicht werden. Die zugehörige Anzahlgrößenverteilung ist in Abbildung 51 dargestellt.

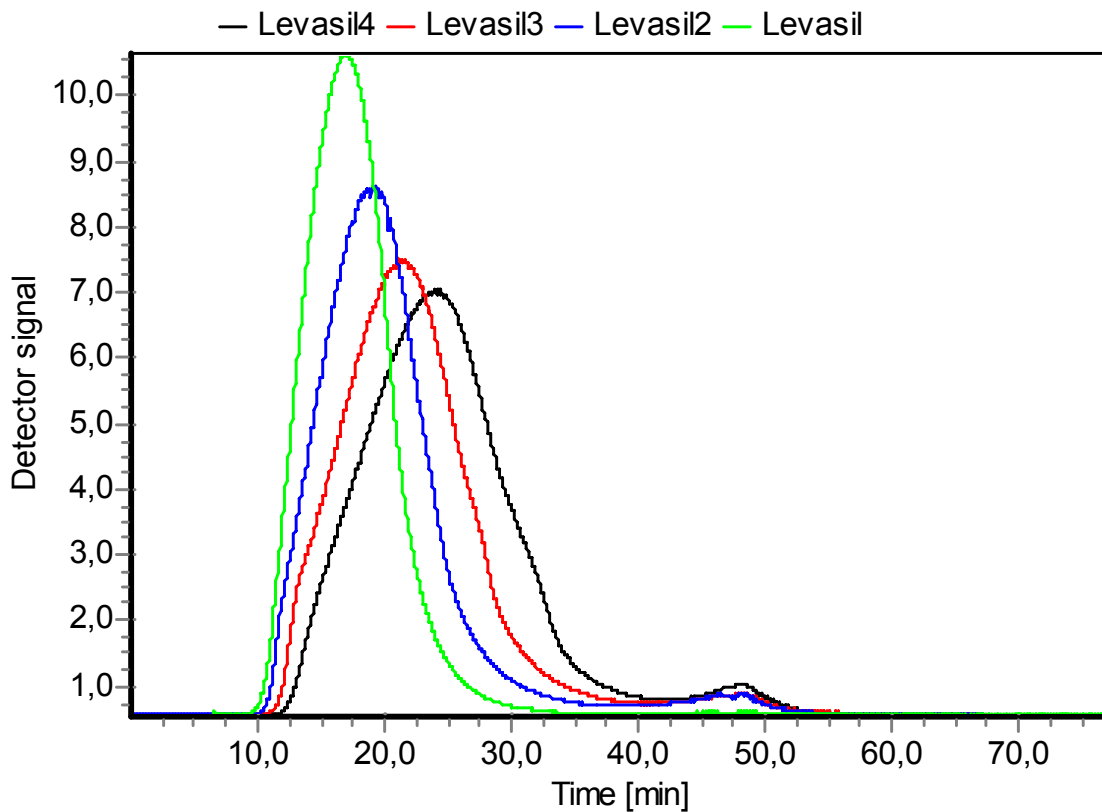


Abbildung 49: Methodenentwicklung zur Trennung von SiO_2 -Partikeln (Levasil 30/300). Eluent 0,9 % NaCl. Dargestellt ist das das Lichtstreuungssignal im 90° Winkel. Die verschiedenen Farben der Fraktogramme repräsentieren die unterschiedlichen Querflussprofile, mit denen versucht wurde die Trennung zu optimieren.

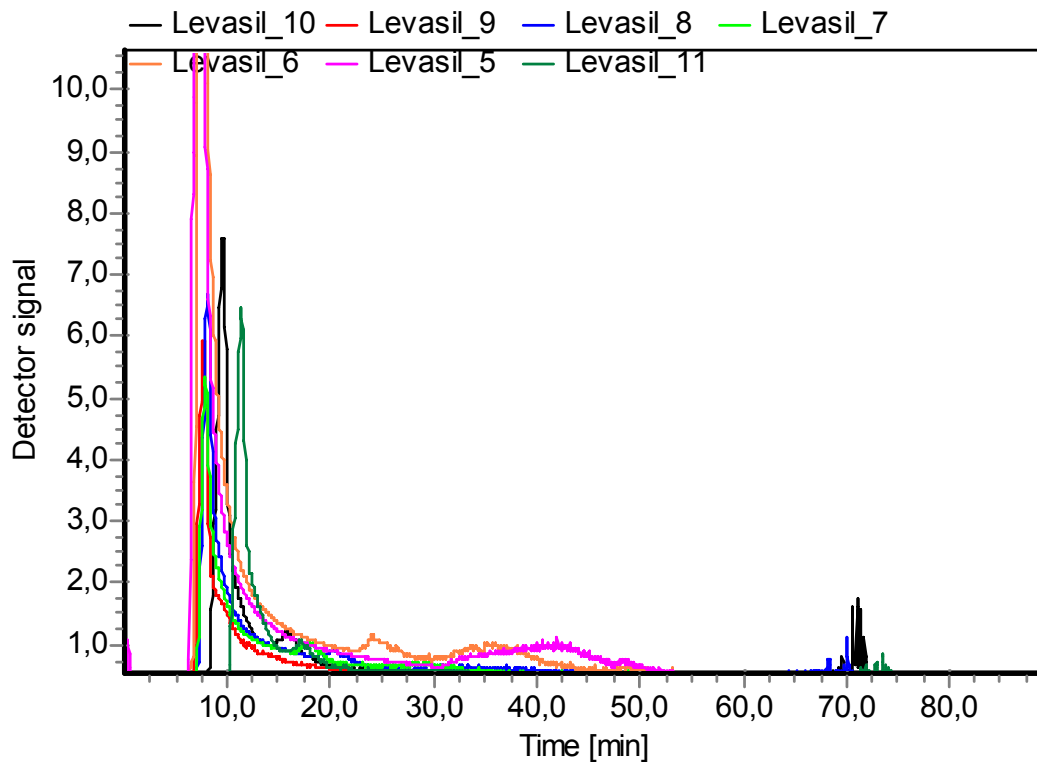


Abbildung 50: Methodenentwicklung zur Trennung von SiO_2 -Partikeln (Levasil 30/300). Eluent 15% Methanol. Dargestellt ist das das Lichtstreuungssignal im 90° Winkel. Die verschiedenen Farben der Fraktogramme repräsentieren die unterschiedlichen Querflussprofile, mit denen versucht wurde die Trennung zu optimieren.

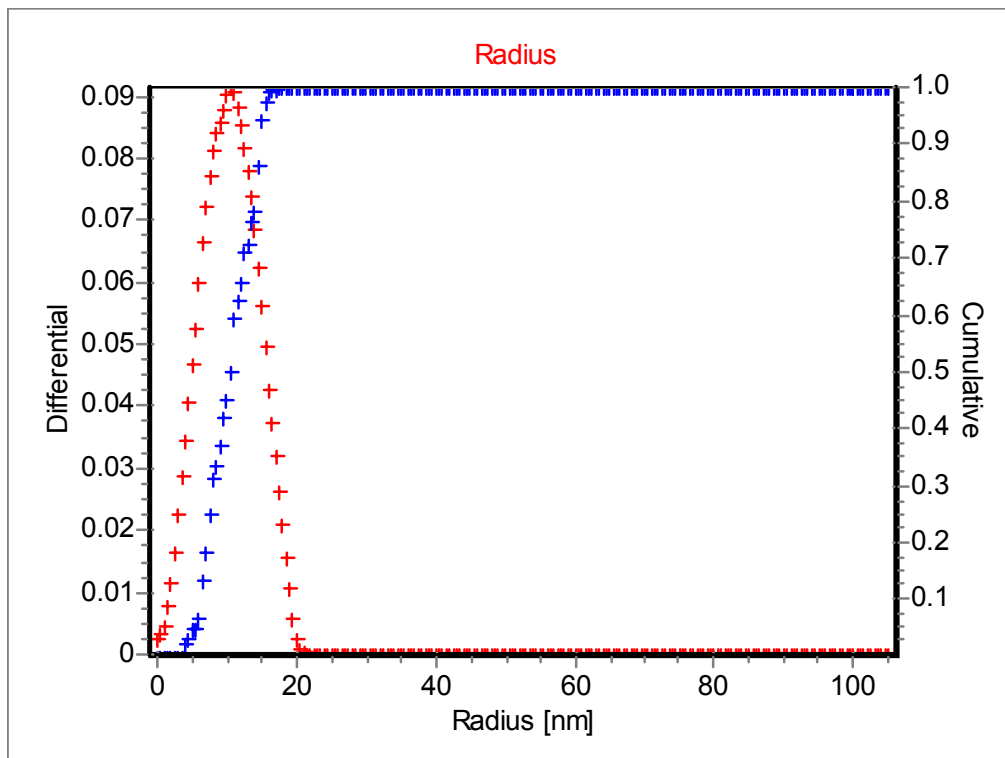


Abbildung 51: Größenverteilung von SiO_2 -Partikeln (Levasil 30/300). Eluent 0,9% NaCl.

Als weitere Eluenten wurden 0,2% NovaChem und 5 mM Pyrophosphat-Lösung untersucht. Bei Verwendung von Novachem ergab sich ein hoher Void-Peak, der nicht vollständig vom eigentlichen Peak getrennt ist (Abbildung 52) und somit nicht geeignet für die Analyse von hydrophilem Kieselisol ist. Mit Pyrophosphat (Abbildung 53) konnte eine ähnlich gute Trennung wie mit NaCl (Abbildung 54) erreicht werden.

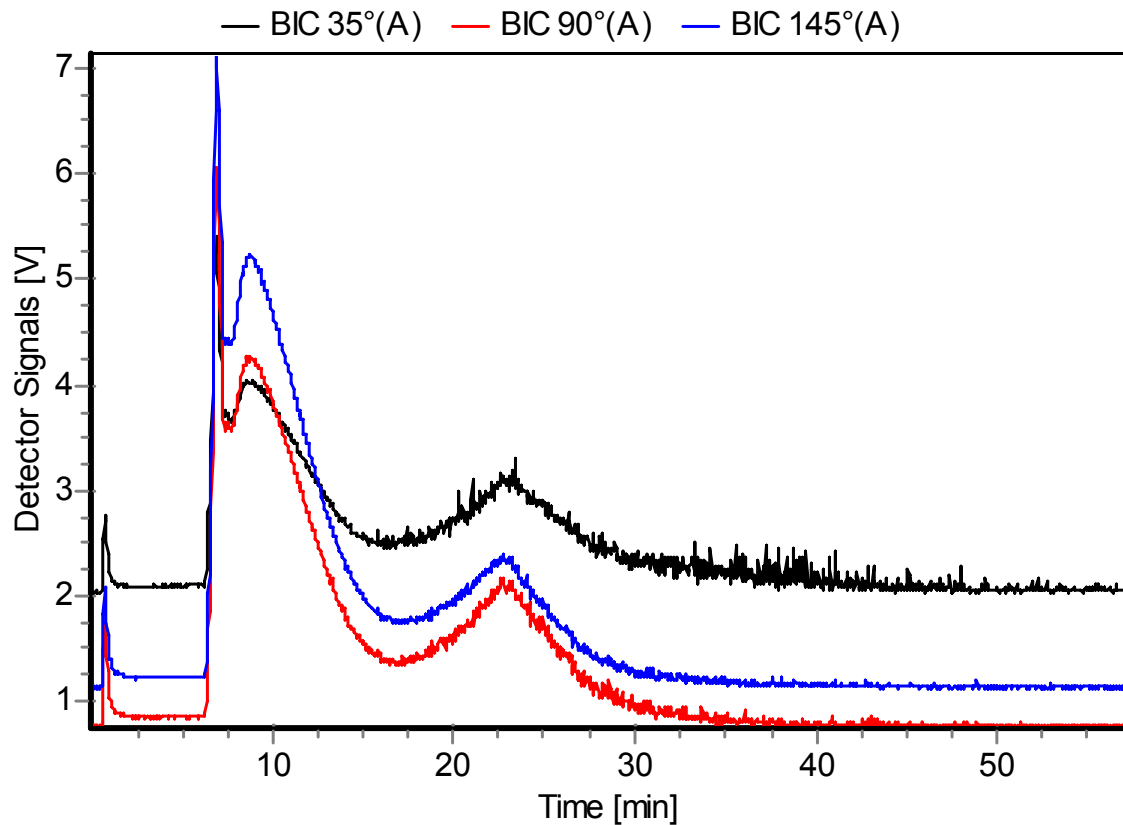


Abbildung 52: Fraktogramm von SiO₂-Partikeln (Levasil 30/300). Eluent 0,2% NovaChem

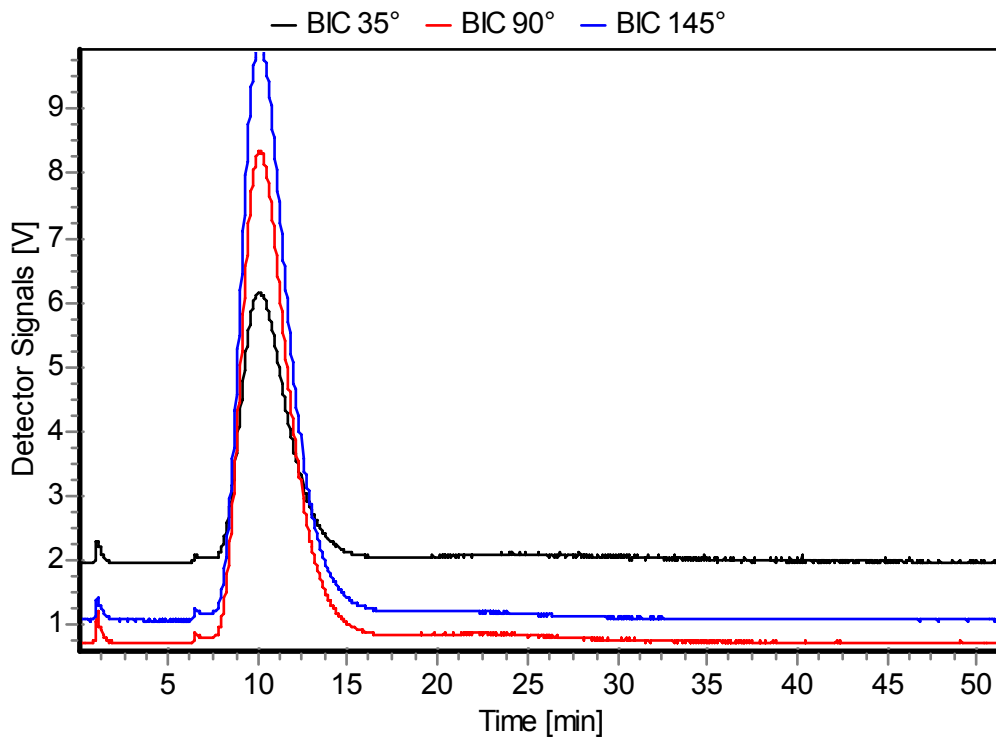


Abbildung 53: Fraktogramm von SiO₂-Partikeln (Levasil 30/300). Eluent 5 mM Pyrophosphat.

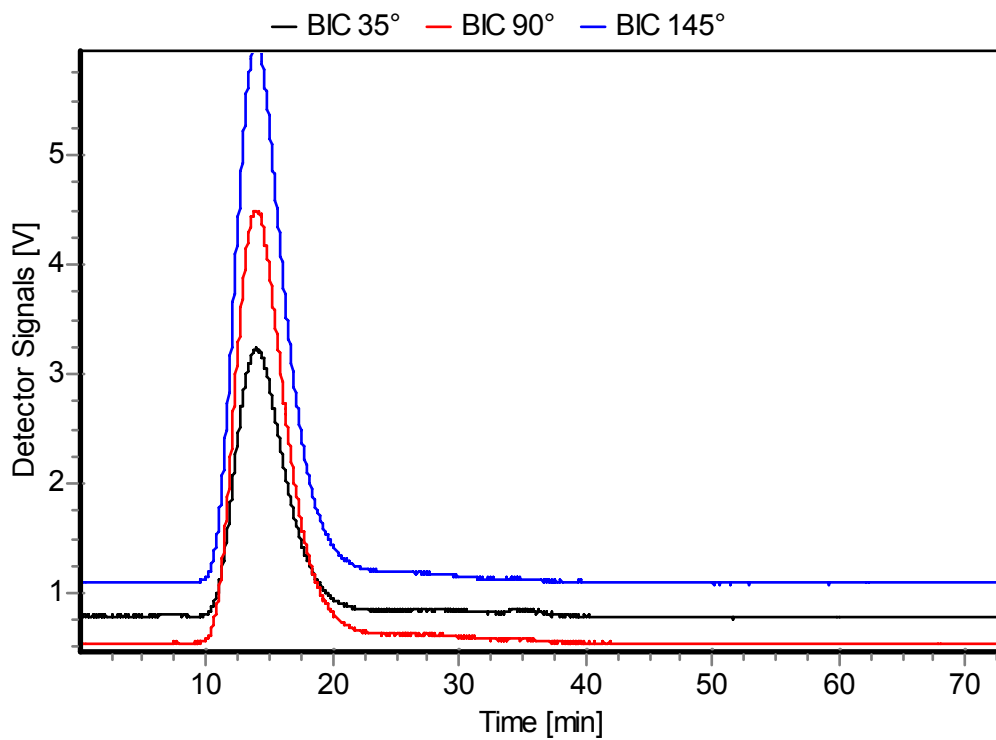


Abbildung 54: Fraktogramm von SiO₂-Partikeln (Levasil 30/300). Eluent: 0,9% NaCl

2.4.3.2 Pyrogene Kieselsäure

Aerosil 300 (hydrophil) und Aerosil R 8200 (hydrophob) von der Fa. Evonik wurden als Referenzen für pyrogene Kieselsäure benutzt. Pyrogene Kieselsäuren sind amorphe SiO_2 -Pulver von 5 bis 50 nm Durchmesser der Primärpartikel mit einer spezifischen Oberfläche von 50–600 m^2/g . Der Name verweist auf das häufig angewandte Herstellungsverfahren durch Flammenhydrolyse. Bei dem Prozess der Hochtemperaturhydrolyse wird ein homogenes Gemisch aus dampfförmigem Siliziumtetrachlorid, Wasserstoff, Sauerstoff und einem Inertgas mit einem Brenner in einem gekühlten Verbrennungsraum verbrannt. Dabei bilden sich zunächst Primärpartikel von einigen Nanometern, die aber zu größeren Partikelaggregaten in kälteren Bereichen der Flamme anwachsen.

Um die pulvrigen Partikel zu dispergieren, d.h. eine stabile Suspension für die Analyse zu erzeugen, wurden drei verschiedene Homogenisierungsverfahren (Ultraturrax, Ultraschallbad und Ultraschallsonotrode) getestet.

Der Ultra-Turrax[®] (Modell TP 18/10, Fa. Jank und Kunkel KG) ist eine Hochleistungs-Dispergiermaschine zur Herstellung jeglicher Art von Emulsionen und Suspensionen. Sie funktioniert nach dem Rotor-Stator-Prinzip bei dem große Scherkräfte auftreten, die die Partikelagglomerate auseinanderreißen.

Mit dem Ultraschallbad (Bandelin Sonorex RK 102) können Partikel ebenfalls dispergiert werden, wobei der Energieübertrag nicht direkt auf die Probe erfolgt sondern über ein Wasserbad.

Die Ultraschallbehandlung mit der Sonotrode (Bandelin Sonoplus UW3100) liefert den stärksten Energieübertrag auf das zu dispergierende Medium, da die Ultraschallquelle direkt in die Probe eintaucht (Abbildung 55).



Abbildung 55: Sonotrode zur direkten Ultraschallbehandlung der Proben.

Nachteil dieser Methode ist die Freisetzung von Titanpartikeln durch die Abnutzung der Titansonotrode während der Ultraschallanwendung (Abbildung 56), erkennbar an der Sedimentation grauer Partikel nach einiger Zeit in den Proben wie auch im reinen Lösungsmittel.

Die Lichtstreuensignale des reinen Lösungsmittels nach Ultraschallbehandlung und einer Aerosilprobe sind in Abbildung 57 dargestellt. Der Anteil an Titanpartikeln im reinen Lösungsmittel ist vernachlässigbar im Vergleich zur Aerosilprobe. Eine Partikelgrößenverteilung der Titan-Nanopartikel konnte nicht berechnet werden, da die gebildete Menge zu gering ist und somit auch das Lichtstreu-Signal zu schwach ist für eine sinnvolle Auswertung.



Abbildung 56: Neue (oben) und gebrauchte (unten) Sonotrode. Deutlich zu erkennen sind die Abnutzungen an der Spitze der gebrauchten Sonotrode.

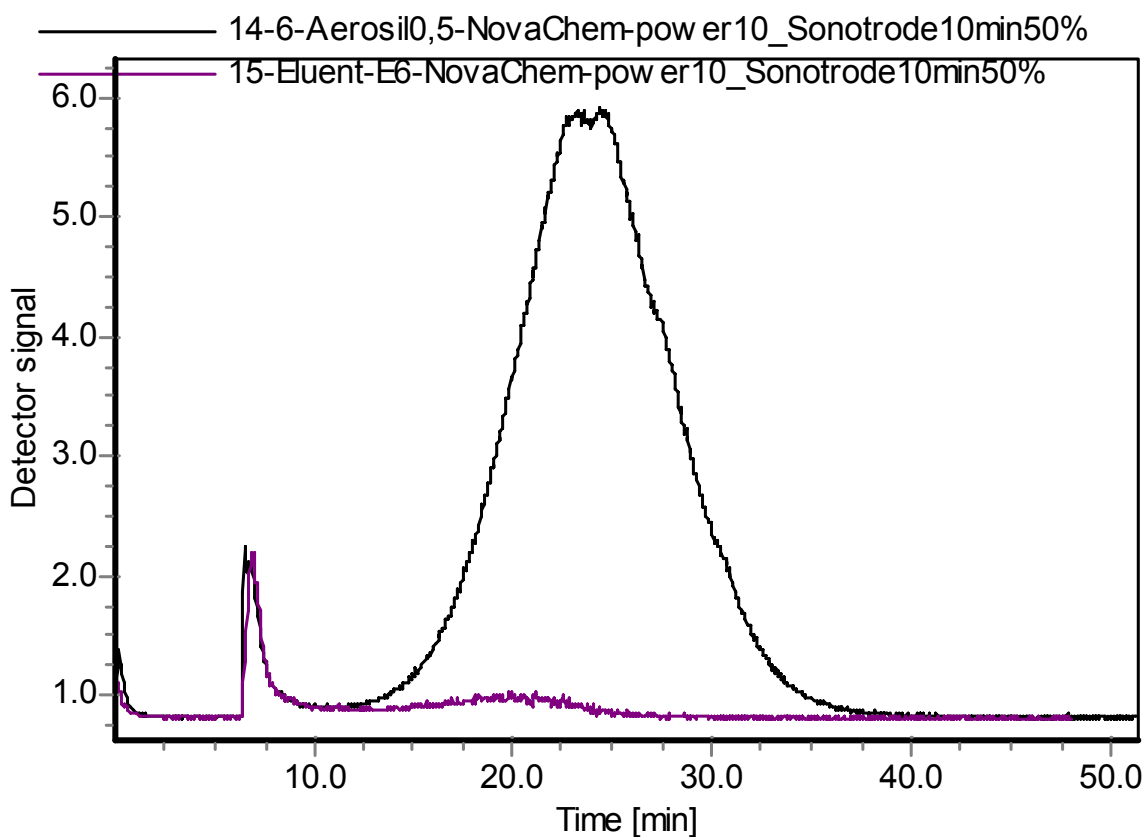


Abbildung 57: Vergleich der Lichtstreuensignale (90°) einer Aerosilprobe (schwarz) und des reinen Lösungsmittels (violett). Das schwache Signal im reinen Lösungsmittel stammt von Titanpartikeln durch Abnutzung der Sonotrode.

In Abbildung 58 sind die Größenverteilungen von Aerosil 300 in 0,2% NovaChem nach Anwendung der unterschiedlichen Dispergiermethoden und verschiedenen Zeiten dargestellt. Die fett dargestellten Kurven sind die korrespondierenden Größenverteilungen nach Behandlung mit der Sonotrode. Man erkennt deutlich den Effekt der verschiedenen Methoden und der Zeitdauer auf die Partikelgrößen. Der Ultra-Turrax® liefert die geringste Dispergierung wie an den verbleibenden Partikeln im Bereich von 150 bis 200 nm zu sehen ist. Das Ultraschallbad liefert Partikelgrößen im Bereich von 100 nm und die Sonotrode (Intensität 50%) ergibt die kleinsten Partikel mit einem Maximum der Größenverteilung bei 90 nm.

Der Einfluss der Intensität des Ultraschalls und der Dauer der Homogenisierung mit der Sonotrode ist in Abbildung 59 zu sehen. Mit zunehmender Intensität und längerer Beschallungsdauer lassen sich noch kleinere Partikel erzeugen, wobei das Maximum der Größenverteilung ca. 50 nm liegt.

Der große Einfluss der Dispergiermethode auf die Partikelgrößenverteilung muss bei der Homogenisierung pulvriger Nanopartikel berücksichtigt werden. Durch Steigerung der Intensität und/oder der Dauer der Beschallung kann die optimale Methode ermittelt werden bis sich die Partikelgrößenverteilung nicht mehr ändert. Die Sonotrode ist auf jeden Fall die bessere Methode im Vergleich zu Ultraschallbad und Ultraturrax. Die Kontamination der Probe durch freigesetzte Titan-Nanopartikel aus der Sonotrode muss aber stets durch einen Vergleich mit dem reinen Lösungsmittel unter identischen Bedingungen geprüft werden.

Versuche das hydrophobe Aerosil R 8300 in wässrigen Lösungsmitteln zu dispergieren scheiterten, da die Partikelagglomerate nicht benetzt werden und die Partikel auf der Oberfläche schwimmen. Weitere Versuche in organischen Lösungsmitteln wurden nicht unternommen.

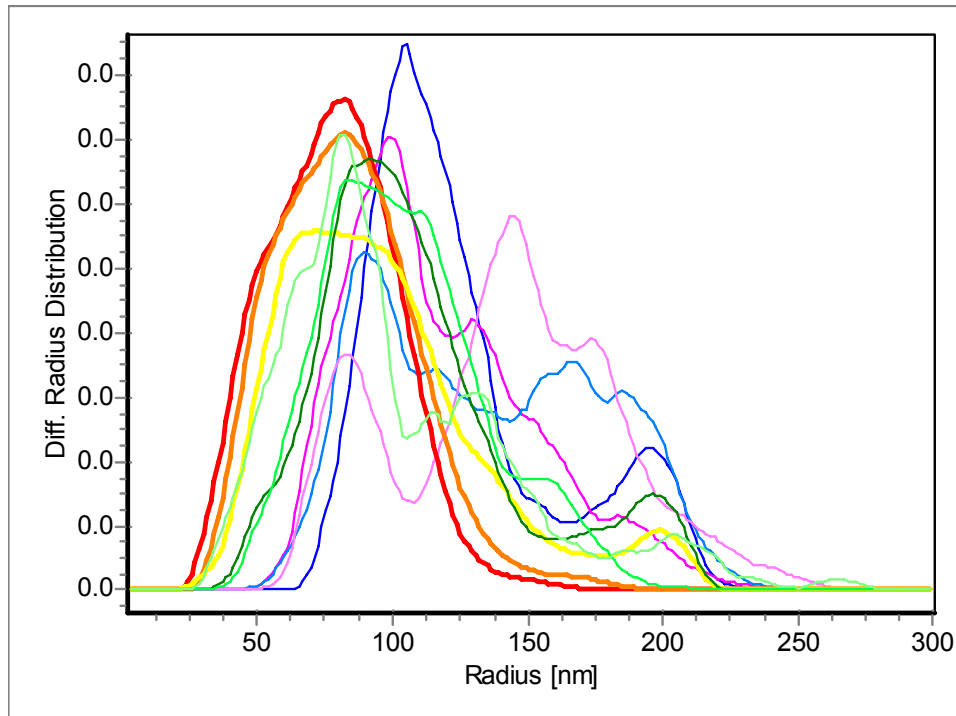


Abbildung 58: Einfluss der Dispergiermethode auf die Größenverteilung von SiO₂-Partikeln (Aerosil R300). Sonotrode 50% (fett): gelb (1), orange (5), rot (10). Ultraschallbad: Hellgrün (1), mittelgrün (5) dunkelgrün (10). Ultraturrax: 50% - rosa (1) 50% - violett (5) 100% - hellblau (1) 100% dunkelblau (5). Die Zahlen in Klammern geben die Dauer der Behandlung in Minuten an.

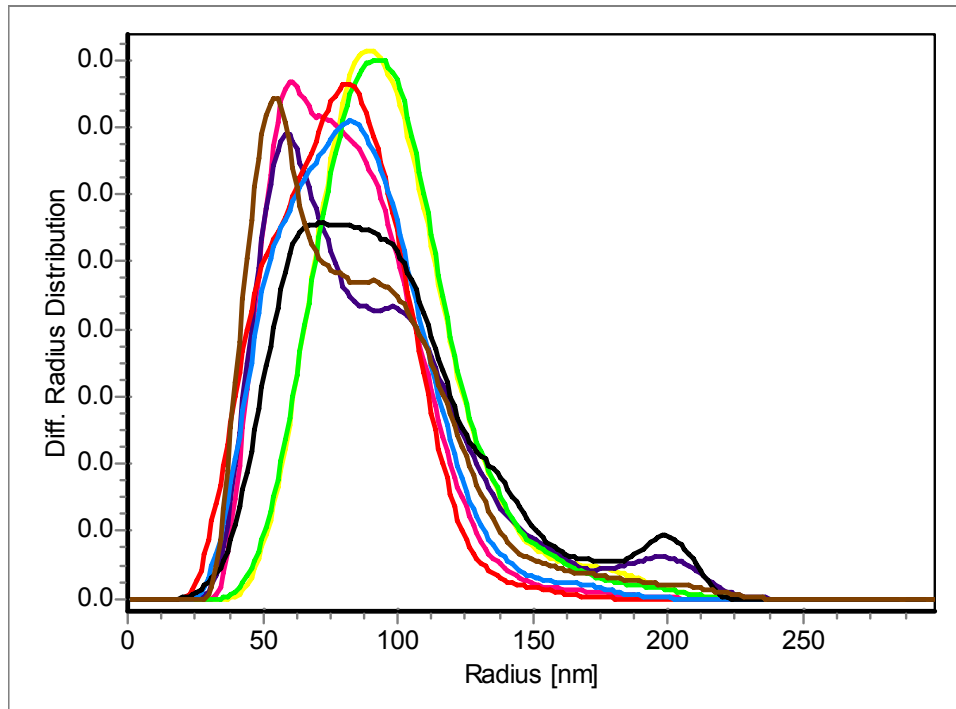


Abbildung 59: Einfluss der Dauer der Dispergierung mittels Sonotrode auf die Größenverteilung von SiO₂-Partikeln (Aerosil R300). schwarz 50% (1); blau 50% (5); rot 50% (10); grün 50% (10, gepulst), violett 90% (1); rosa 90% (5); braun 90% (5, gepulst); gelb 50% (5), danach zentrifugiert. Die Prozentzahlen geben die Intensität an, die Zahlen in Klammern die Dauer der Behandlung in Minuten.

Um den Einfluss verschiedener, in der AF⁴-Analytik häufig benutzter Eluenten zu testen wurden die Aerosilproben in 0,9% NaCl, 0,2% NovaChem, 5 mM Pyrosphosphat und 15% Methanol dispergiert und jeweils mit der AF⁴ untersucht. In den Abbildungen 60 und 61 sind die Fraktogramme, das jeweilige Querflussprofil und die ermittelte Größenverteilung für 15% Methanol und 0,2% NovaChem gezeigt. Die Fraktogramme unterscheiden sich auf Grund unterschiedlicher Querflußprofile. Beide Eluenten wie auch Pyrophosphat sind geeignet die Nanopartikel zu trennen. Bei Verwendung von 0,9% NaCl konnte hingegen keine Trennung der Partikel vom Void-Peak erreicht werden, da unter diesen Bedingungen keine stabile Dispergierung der Nanopartikel erfolgt (Abbildung 62).

Dieses Verhalten von Aerosil steht im Gegensatz zu Levasil bei dem mit NaCl eine gute Trennung erfolgte, mit Methanol hingegen nicht. Bei beiden Substanzen handelt es sich chemisch gesehen um SiO₂, doch die unterschiedlichen Oberflächen der Partikel bewirken völlig unterschiedliches Verhalten hinsichtlich der Stabilität der Kolloide in Methanol und NaCl-Lösung.

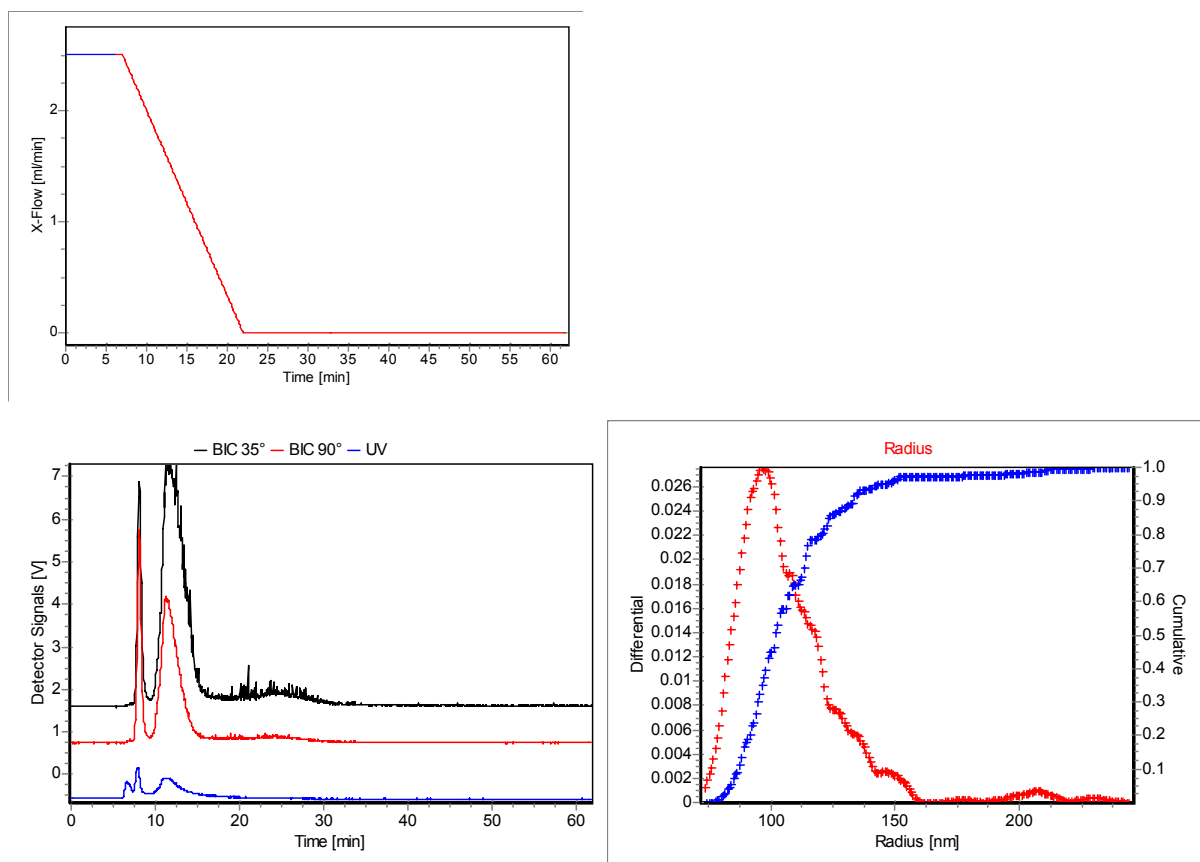


Abbildung 60: Oben: Querflussprofil. Unten: Fraktogramm und Größenverteilung von SiO₂-Partikeln (Aerosil R300). Eluent: 15% Methanol. Homogenisierung 15 min. bei 100%

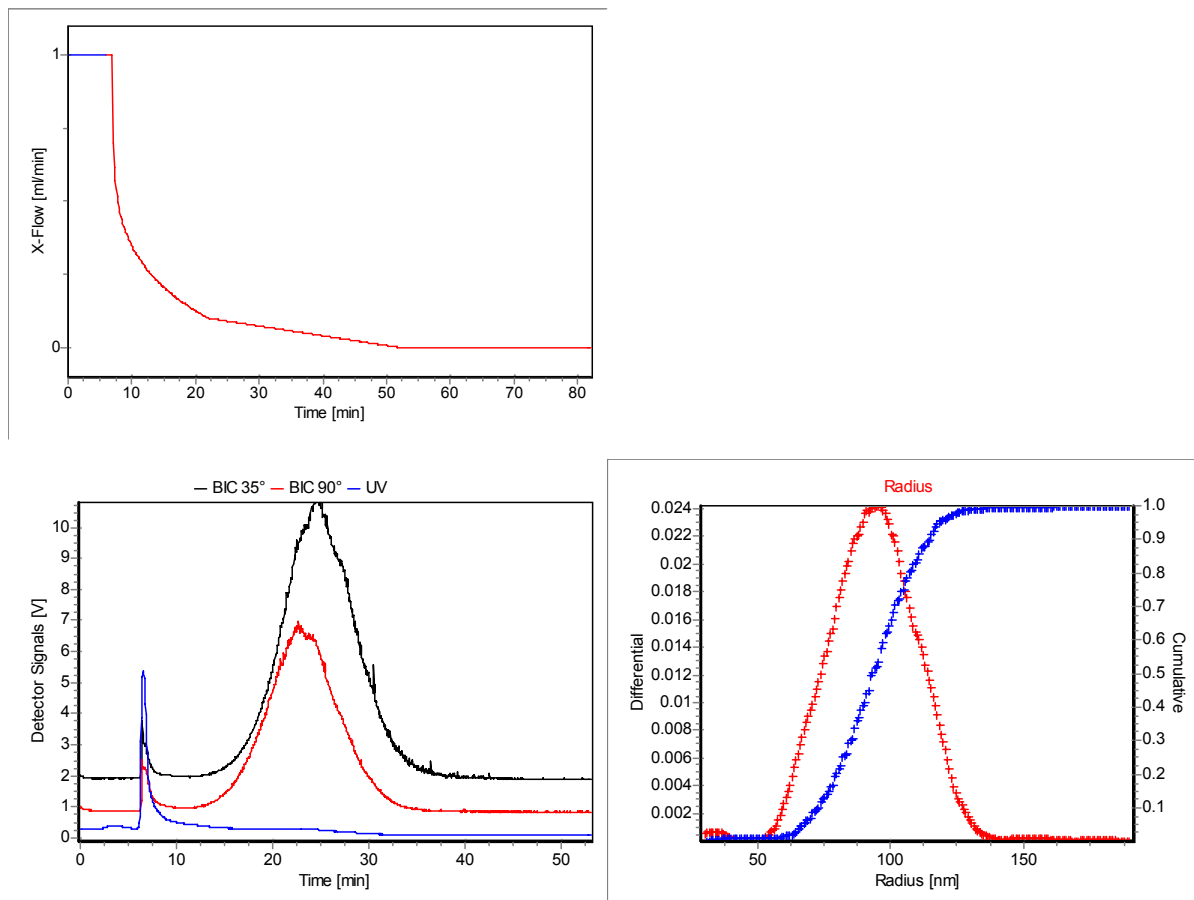


Abbildung 61: Oben: Querflussprofil. Unten Fraktogramm und Größenverteilung von SiO₂-Partikeln (Aerosil R300). Eluent: 0,2% NovaChem. Homogenisierung 10 min. bei 95%

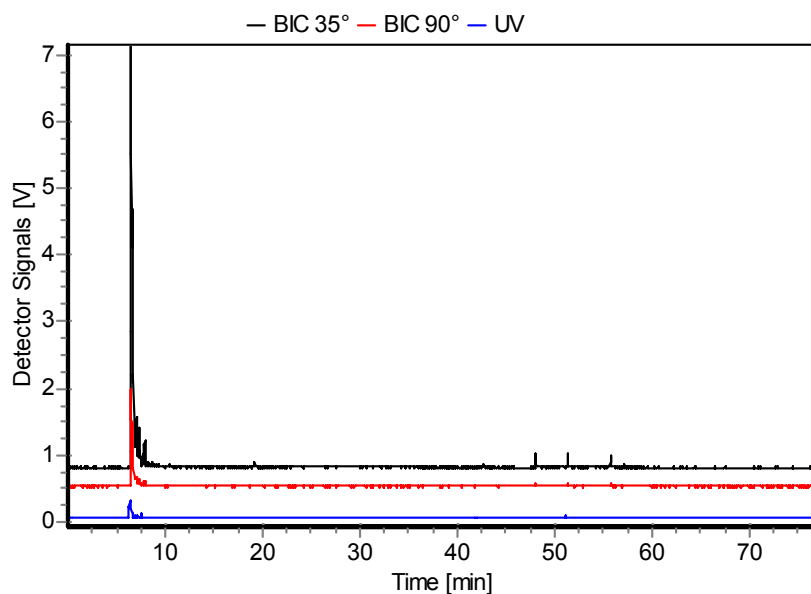


Abbildung 62: Fraktogramm von SiO₂-Partikeln (Aerosil R300). Eluent: 0,9% NaCl. Homogenisierung 15 min. bei 100%.

2.4.3.3 Nanosilber

Als Referenz für Silber-Nanopartikel wurde ein Standard der OECD working party on manufactured nanomaterials (WPMN) verwendet. Masterbatches dieser Referenzsubstanz werden bei der gemeinsamen Forschungsstelle der EU vorgehalten und über verschiedene Firmen vertrieben. In dieser Studie wurde NM-300 K von LGC Standards verwendet. Der Standard besteht aus einer wässrigen Suspension von Nanosilber, Feststoffgehalt 10,16 Gew. %, mittlerer nomineller Partikeldurchmesser 15 nm ($D_{90} < 20$ nm). Die Suspension ist stabilisiert mit je 4% Polyoxyethylen-Glycerol Trioleat (4%) und Polyoxyethylen-Sorbitan mono-Laurat (Tween 20). Aus dieser Suspension wurde eine Verdünnungsreihe in Wasser hergestellt (Abbildung 63). Die gelblich-grüne Farbe stammt von der sogenannten Oberflächen-Plasmonresonanz, die charakteristisch für metallische Nanopartikel ist. Goldnanopartikel sind z.B. rot.

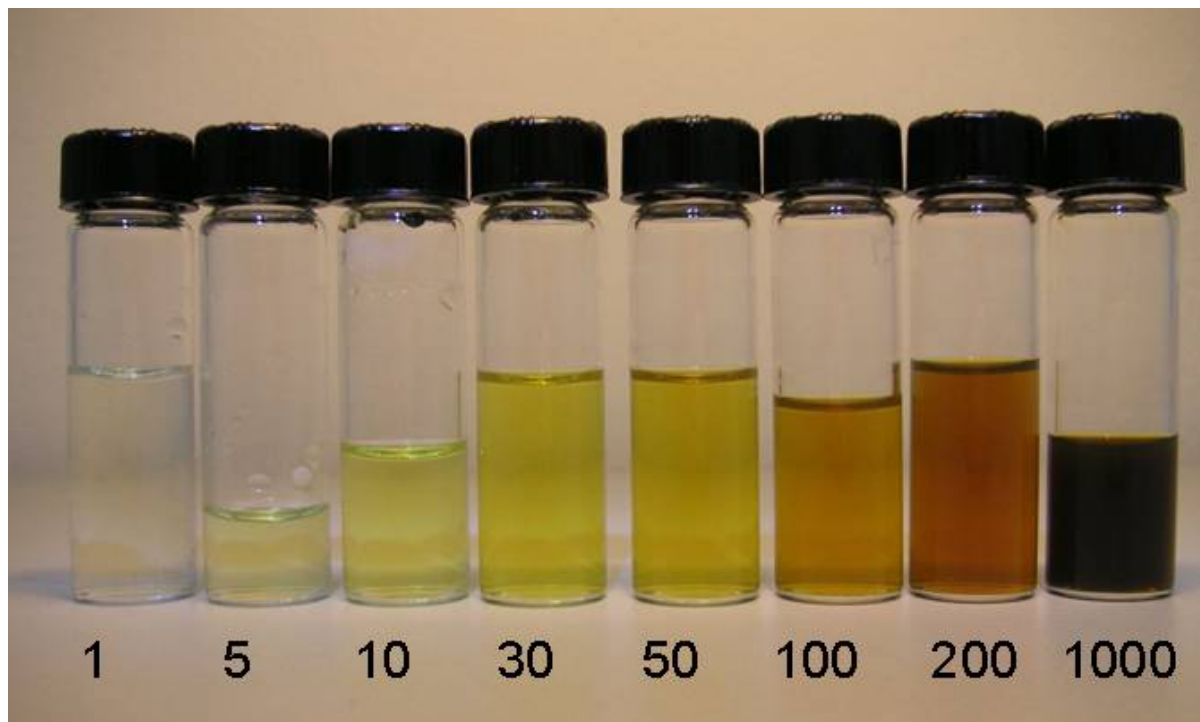


Abbildung 63: Verdünnungsreihe von Nanosilber NM-300K in Wasser. Die Zahlen geben die Konzentration in ppm (parts per million, bezogen auf die Masse) an.

Fraktogramme der unterschiedlichen Verdünnungen des Nanosilberstandards bei einem Querfluss von 0,5 ml/min sind in Abbildung 64 zu sehen. Dargestellt sind die jeweiligen UV-Signale bei 280 nm. Die zugehörige Kalibrierkurve ist in Abbildung 65 dargestellt.

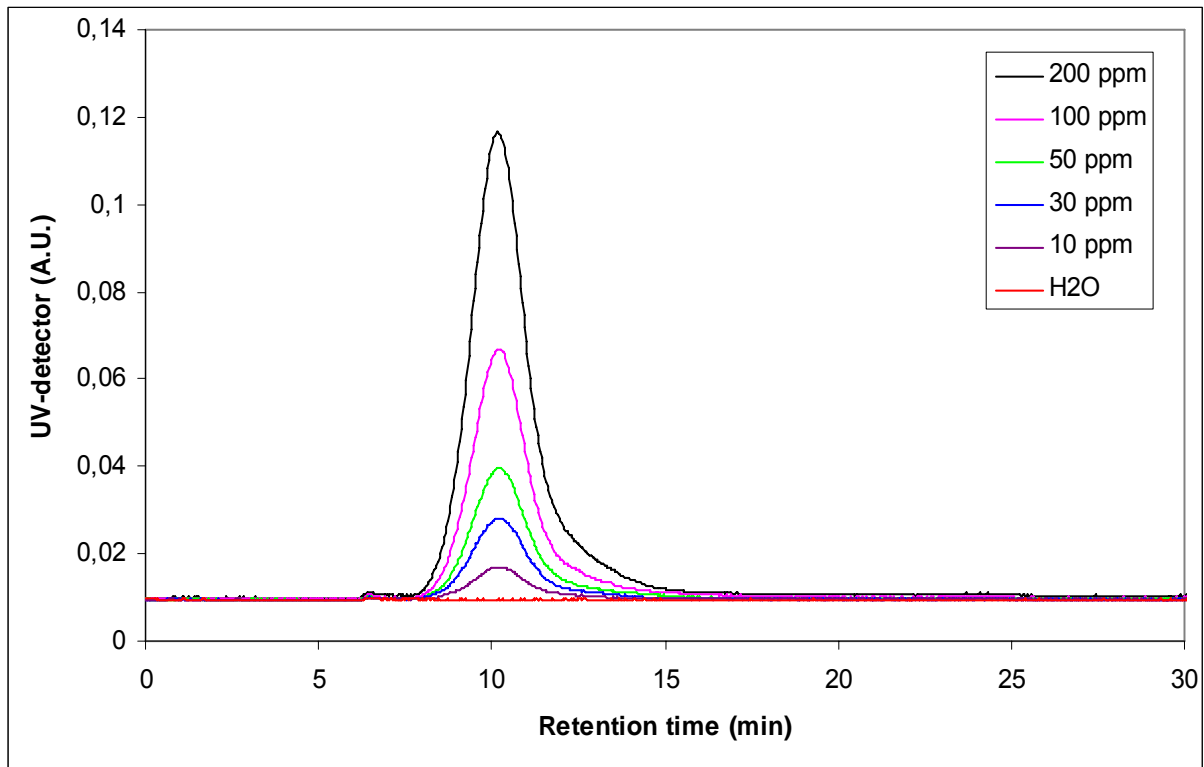


Abbildung 64: Fraktogramm (UV-Detektor) von Nanosilber-Standard-Partikeln (NM-300K). Eluent H₂O, Querfluss 0,5 ml/min.

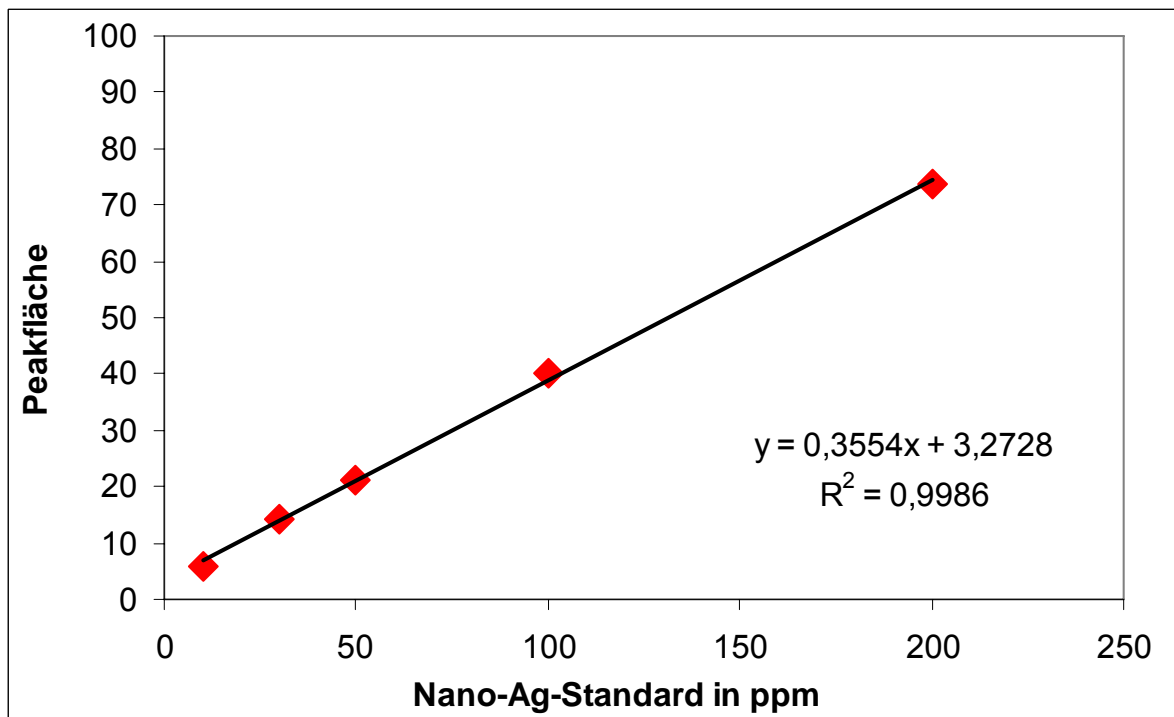


Abbildung 65: Kalibrierkurve von Nanosilber-Standard-Partikeln (NM-300K). Eluent H₂O, Querfluss 0,5 ml/min.

Betrachtet man allerdings die Lichtstreu-Signale, so erkennt man weitere Partikel bei längeren Retentionszeiten, die allerdings nur ein schwaches UV-Signal liefern. Da diese im Lichtstreu-Detektor sichtbaren Partikel nicht vollständig von dem ersten Peak getrennt sind, wurde versucht durch Erhöhung des Querflusses von 1 bis 4 ml/min, eine bessere Trennung zu erreichen (Abbildungen 66 und 67).

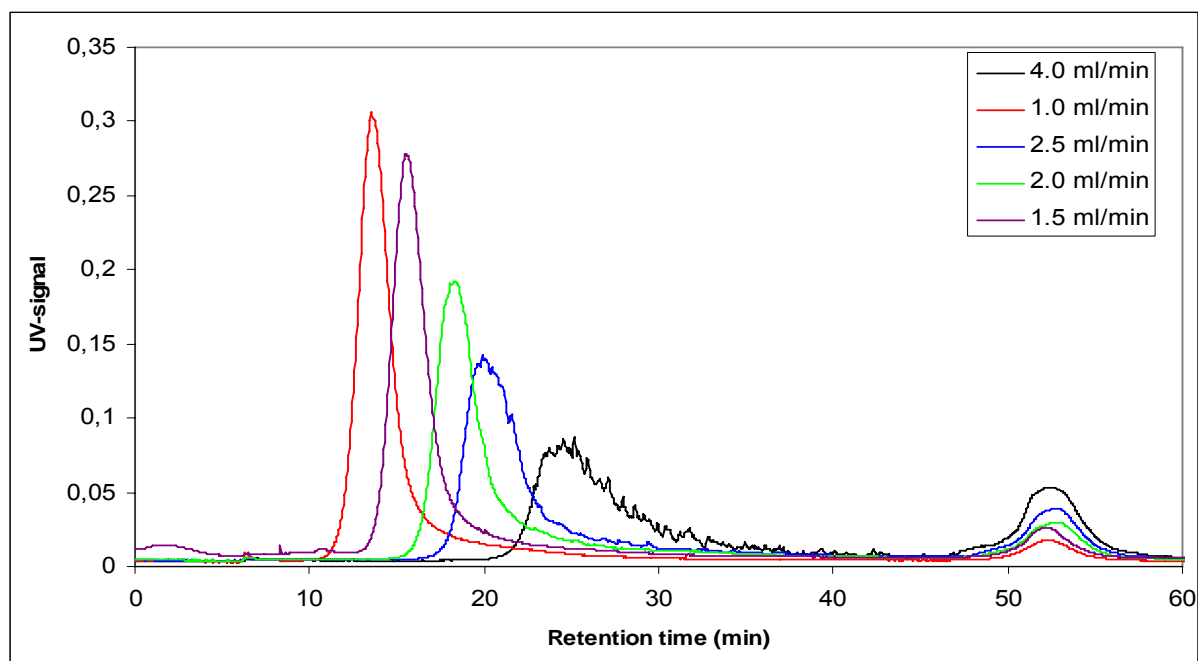


Abbildung 66: Fraktogramme (UV-Detektor) von Nanosilber-Partikeln (NM-300K) bei verschiedenen Querflüssen. Eluent H₂O.

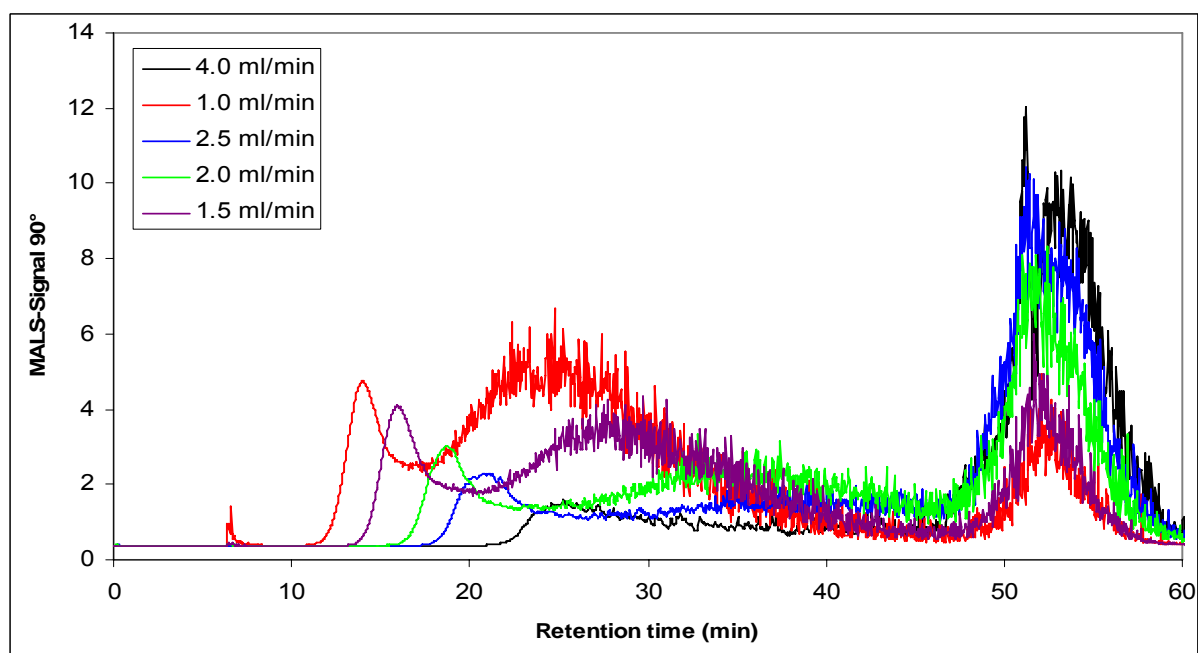


Abbildung 67: Fraktogramm (Lichtstreu-Detektor bei 90°) von Nanosilber-Partikeln (NM-300K) bei verschiedenen Querflüssen. Eluent H₂O.

Abgesehen von unterschiedlichen Querflüssen ist die Methode derart gewählt, dass der Querfluss nach 50 min abgeschaltet wird. Nach dieser Zeit ist ein Anstieg des UV-Signals zu erkennen (Abbildung 66), was daraufhin deutet, dass ein Teil der Nanopartikel eine stärkere Wechselwirkung mit der Membran erfährt und erst nach Abschalten des Querflusses aus dem Trennkanal tritt.

Eine bessere Trennung der Partikelfractionen konnte durch Erhöhung des Querflusses nicht erreicht werden, lediglich eine unerwünschte Peakverbreiterung. Aus diesem Grund wurde der ursprüngliche Querfluss von 1 ml/min beibehalten. Über die zweite Partikelfraktion, die nur mit dem Lichtstreu-Detektor deutlich sichtbar ist, mit dem UV-Detektor hingegen kaum detektierbar ist, kann bisher nur spekuliert werden. Vermutlich handelt es sich um größere Agglomerate von Nanosilber, die nur noch eine schwache Oberflächenplasmonresonanz zeigen und daher im UV-Detektor kaum erkennbar sind.

Das UV-Signal und die mittels MALS berechneten Partikelradien des Nanosilberstandards NM-300 K sind in Abbildung 68 zu sehen. In Abbildung 69 ist die Größenverteilung des Nanosilberstandards NM-300 K gezeigt. Der mittlere Partikelradius liegt bei 8 nm, der hydrodynamische Durchmesser somit bei 16 nm, was gut mit dem nominellen Durchmesser von 15 nm laut Hersteller übereinstimmt.

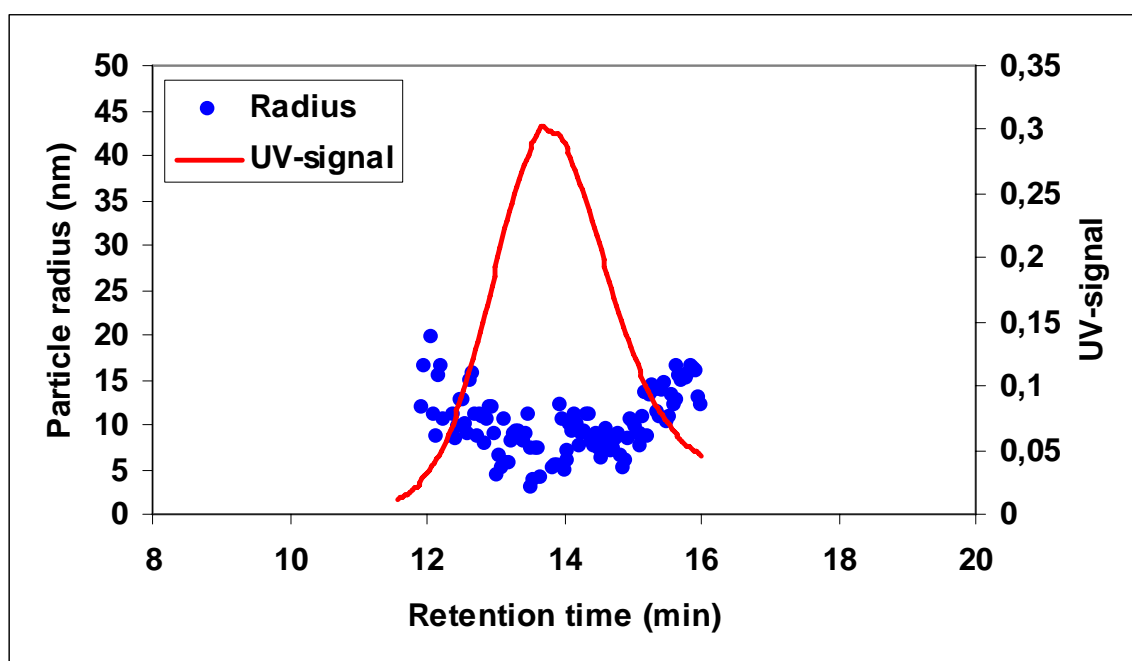


Abbildung 68: Fraktogramm (UV-Detektor) von Nanosilber-Partikeln (NM-300K) und mittels Lichtstreuung gemessene Partikelradien. Eluent H₂O.

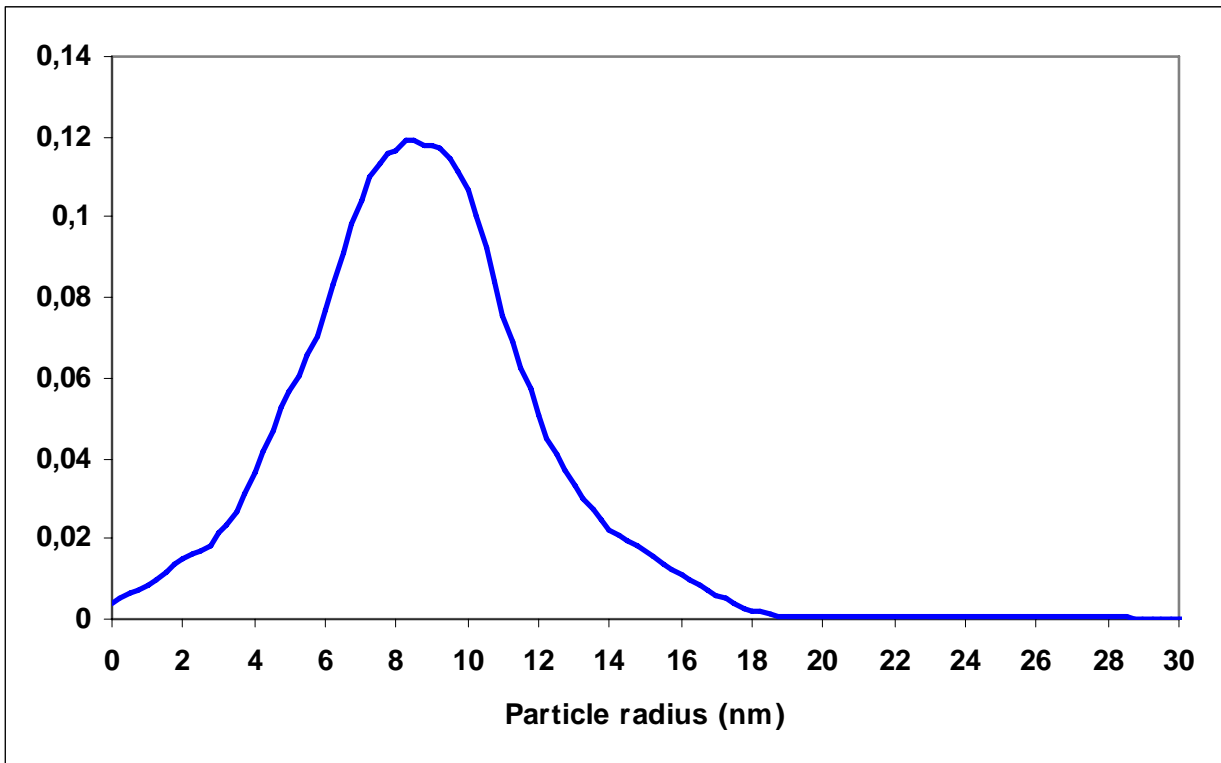


Abbildung 69: Größenverteilung von Nanosilber-Partikeln (NM-300K).

2.5 Bestimmung von Nanopartikeln in Nahrungsergänzungsmitteln mittels AF⁴

Einige Nahrungsergänzungsmittel werden mit dem Zusatz „Nano“ beworben und versprechen eine bessere Aufnahme der verwendeten Stoffe. Neben gängigen Mineralstoffen wie Magnesium, Silizium und Kalzium werden auch kolloidales Gold und Silber (Nanosilber) angeboten. Diese Nahrungsergänzungsmittel werden vor allem im Internethandel und oftmals vom Ausland aus vertrieben (siehe Tabelle 28). Bei vielen Angeboten ist nicht nachgewiesen bzw. fraglich, ob die Stoffe tatsächlich in Nanogröße vorliegen.

In dieser Studie wurden feste Nahrungsergänzungsmittel, die entweder SiO₂ oder Mineralien in nanoskaliger Form enthalten sollen, untersucht. Zum Vergleich wurden auch konventionelle (ohne „nano“-Beschreibung) Nahrungsergänzungsmittel untersucht, die mögliche nanoskalige Substanzen wie SiO₂ und TiO₂ als Füll- und Hilfsstoffe enthalten.

Zusätzlich wurden flüssige Nahrungsergänzungsmittel mit Nanosilber (Silberwasser, kolloidales Silber) untersucht. Aufgrund seiner antibiotischen Wirkungen wird Nanosilber in vielfältiger Weise sowohl in medizinischen wie auch Haushaltsanwendungen benutzt. Zusätzlich wird es aber auch in der alternativen Medizin in Form von Silberwasser (kolloidales Silber) empfohlen und teils über Apotheken, überwiegend aber über den Internethandel vertrieben. Eine Suche bei Google z.B. zum Stichwort „kolloidales Silber“ liefert über 3 Millionen Einträge. Das „kolloidale Silber“ wird dabei oft als natürliches Antibiotikum und zur Stärkung des Immunsystems angepriesen. Da die Anwendung von Nanosilber am Menschen in Deutschland eigentlich unter das Arzneimittelgesetz fällt und somit nicht im Internet zur Anwendung am Menschen vertrieben werden darf, wird das Nanosilber z.B. mit dem Hinweis „nur für Forschungszwecke“ vertrieben.

Tabelle 28: Übersicht der untersuchten Nahrungsergänzungsmittel

Nr.	Produkt	Hersteller	Inhaltsstoffe	„Nano“-NEM	Produktbeschreibung
1	CardioVital Kapseln	Per Nature GmbH, Lingen	Dynamisiertes Nano Silizium OPC (Oligomere Proanthocyanidine), Acerola/Vitamin C, Coenzym Q 10, Cellulose	Ja	„Dynamisiertes Silizium in Verbindung mit OPC und Vitamin C ist die derzeit stärkste bekannte Kombination von Radikalfängern. Diese Kombination plus Q 10 stärkt die Abwehrkräfte, macht die Gefäßwände elastisch, wirkt Alterungsprozessen entgegen, ist hilfreich bei Herzschwäche, Rhythmusstörungen und kann zur Minderung von Stressfolgen im Körper eingesetzt werden.“
2	Nanosilicea	Neosino www.neosino.at	Aluminiumsilikat (Zeolith), Calciumcarbonat (Dolomit), Magnesiumcarbonat (Dolomit), Safloröl (Distelöl), Siliziumdioxid, Cellulose	Ja	„Silizium ist das zweithäufigste chemische Element der Erde nach Sauerstoff, was seine Bedeutung für das Leben betont. Es kann ein Aktivator von Stoffwechsel und Immunsystem sein, zur Festigkeit des Bindegewebes, Knochen, Knorpel und Gelenken beitragen, die Haut polstern und frei von Falten sein lassen. Weiters unterstützt es gesundes Wachstum von Haut, Haaren und Nägeln.“
3	Dynamisiertes Nano Silizium	best nature wellness (bnw) www.bnw-mineral.com	SiO ₂ 7 g in 100 ml dynamisiertem („belebtem“) Wasser	Ja	„Kolloidale Mineralien haben Eigenschaften, die sie befähigen, direkt in die Zellen zu gelangen. Kolloide Mineralien entgiften den Körper. Die Wirkung ist dabei teilweise durch elektrische Impulse zu erklären. Kranke und abgestorbene Zellen werden von den Kolloiden durch elektromagnetische Kräfte angezogen wie Eisenspäne von einem Magneten. Die Kolloide tragen diese zerfallenen oder giftigen Substanzen in den Blutstrom und sie werden dann durch den Körper ausgeschieden“
4	NANOSAN Nanosilicium Kapseln	Life light Apozen Vertriebs GmbH www.vitalabo.de/life_light/nanosan_nanosilicium	Naturzeolith (295 mg), Calcium (27,2 mg), Magnesium (15,05 mg), Silizium Sol (25 mg)	Ja	„Silizium erfüllt wichtige Funktionen, die für die Gesundheit, Schönheit und Jugendlichkeit gleichermaßen von Bedeutung sind. Silizium hat wesentlichen Anteil bei sämtlichen Körperabläufen und an unserem Aussehen. Knochen, Haare, Nägel, Haut und Hautpolsterung (Bindegewebe) benötigen unbedingt Silizium.“
5	Kieselerde	Abtei	Kieselerde (enthält Silizium), Titandioxid	Nein	Nahrungsergänzung, Kieselerde in Hartkapsel
6	Kieselerde plus Calcium	Altapharma	Kieselerde (enthält Silizium), Calcium	Nein	Nahrungsergänzung, Kieselerde in Kapsel
7	Kieselerde mit Vitaminen	St. Matthäus	Kieselerde (enthält Silizium), Titandioxid	Nein	Nahrungsergänzung, Kieselerde aus Meeresablagerungen in Kapsel
8	Zink plus	dm-Markt	Titandioxid, Siliciumdioxid	Nein	Nahrungsergänzung, u.a. Zink und Vitamine in Kapsel
9	Heilerde ultrafein	Bullsichs	fein vermahlene Mineralpulver	Nein	Medizinprodukt bei Magen-Darm-Beschwerden; Kapsel mit Heilerde, gewonnen aus Lössablagerungen
10	Lentaya	Hermes	Rosenwurzpulver, Titandioxid, Eisenoxid	Nein	Nahrungsergänzung, u.a. Rosenwurzpulver in Kapsel

11	Litozin	Dansk Droge	Hagebuttenpulver, Titandioxid, Eisenoxid	Nein	Nahrungsergänzung, u.a. Hagebuttenpulver in Kapsel
12	Magnesium forte	Räsch	Magnesiumoxid	Nein	Nahrungsergänzung, Magnesium in Kapsel
13	Vitamin B-Komplex	ratiopharm	Titandioxid, Eisenoxid	Nein	Nahrungsergänzung, u.a. Vitamine in Kapsel
14	Vitamin C + Zink	St. Matthäus	Titandioxid, Eisenoxid	Nein	Nahrungsergänzung, u.a. Zink und Vitamin C in Kapsel
15	Augengut	Bio-Diät	Titandioxid	Nein	Arzneimittel zur Vorbeugung von Nachtblindheit, Weichkapsel mit u.a. Heilbuttleberöl
16	Diclo-Divido	Alpharma	Titandioxid	Nein	Arzneimittel zur Behandlung von Schmerz und Entzündung, Hartkapsel mit u.a. Diclofenac-Natrium
Ag1	Kolloidales Silber	Fairvital www.fairvital.com	Nanosilber (500 ppm)	Ja	„Diese kleinen Partikel des echten kolloidalen Silbers werden meist schon in Mund, Magen und Darm resorbiert. Daher ist es wichtig, hochkonzentriertes kolloidales Silber zu verwenden, um zu gewährleisten, daß es auch in den unteren Darmtrakt gelangt und dort unerwünschte Bakterien vernichtet.“
Ag2	Kolloidales Silber	Silberstab Versandhandel www.silberstab.de	Nanosilber (100 ppm)	Ja	„Hochreines kolloidales Silber in der Konzentration von 100 ppm Herstellungsart: Ionic-Pulser® System, ohne Zuschlagstoffe“
Ag3	Kolloidales Silber	Silberengel www.silberengel.com	Nanosilber (1000 ppm) Nanosilber (500 ppm) Nanosilber (25 ppm)	Ja	Nur Hinweis auf weiterführende Literatur. z.B.: Werner Kühni, Walter von Holst: „Kolloidales Silber als Medizin: Das gesunde Antibiotikum“ Josef Pies : „Immun mit kolloidalem Silber: Wirkung, Anwendung, Erfahrungen“ Eva Marbach: „Heilen mit kolloidalem Silber: Das Edelmetall Silber als natürliches Antibiotikum“

2.5.1 Feste Nahrungsergänzungsmittel (SiO₂, TiO₂, Eisenoxid)

2.5.1.1 Dispergiermethoden für pulverförmige Nahrungsergänzungsmittel

Wie bei den SiO₂-Standards wurden verschiedene Homogenisierungsverfahren für die festen Nahrungsergänzungsmittel getestet: Ultraschallbad, Ultraschallsonotrode und Ultraturrax. In der Abbildung 70 sind jeweils die Größenverteilungen eines Nahrungsergänzungsmittels (Produkt Nr. 1, Tabelle 28) nach einer Ultraschallbehandlung mit der Sonotrode von 30 s, 300 s, 900 s und 1800 s Dauer dargestellt. Bei dieser Messreihe wurde als Laufmittel 15% Methanol benutzt.

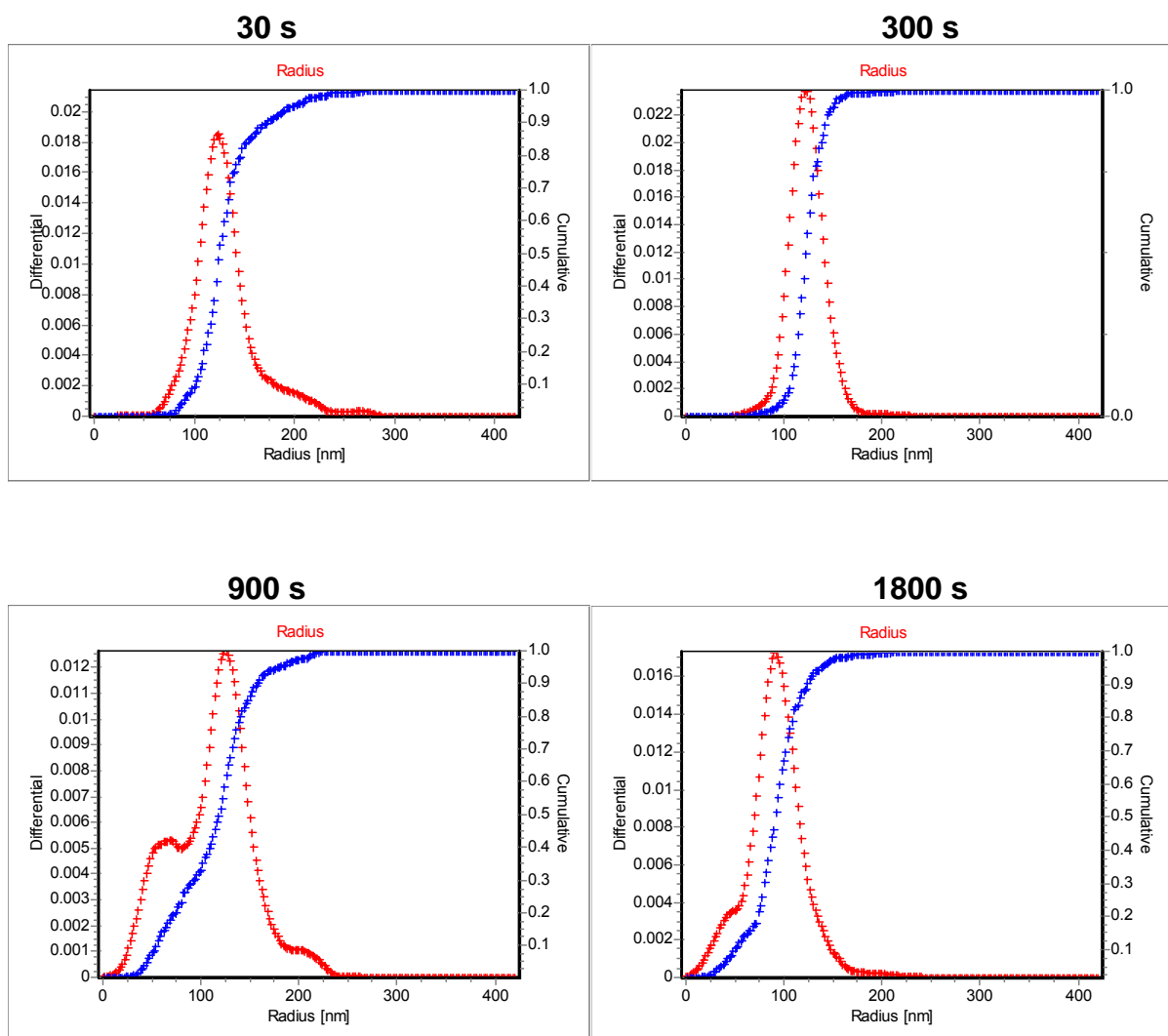


Abbildung 70: Einfluss der Ultraschalldauer auf die Größenverteilung von SiO₂-haltigen Nahrungsergänzungsmittel (Produkt Nr. 1).

Nach 30 und 300 s liegen die Maxima der Verteilung bei 120 nm, nach 900 s erkennt man eine Partikelfraktion bei 50 nm, doch das Maximum liegt immer noch bei 120 nm. Erst bei einer Beschallungsdauer von 1800 s liegt das Maximum unter 100 nm. Zur besseren Übersicht sind die Ergebnisse der unterschiedlichen Beschallungsdauern für Produkt Nr. 1 in Abbildung 71 aufgetragen. Die roten Symbole und Striche repräsentieren die Größenverteilung der Nanopartikel und die blauen Balken die relative Konzentration suspendierter Nanopartikel. Man erkennt, dass bis 450 s Beschallungsdauer das Maximum der Partikelverteilung noch über 100 nm liegt und nur ein Bruchteil des Pulvers homogenisiert wurde. Erst ab 900 s Beschallungsdauer liegt das Maximum unter 100 nm.

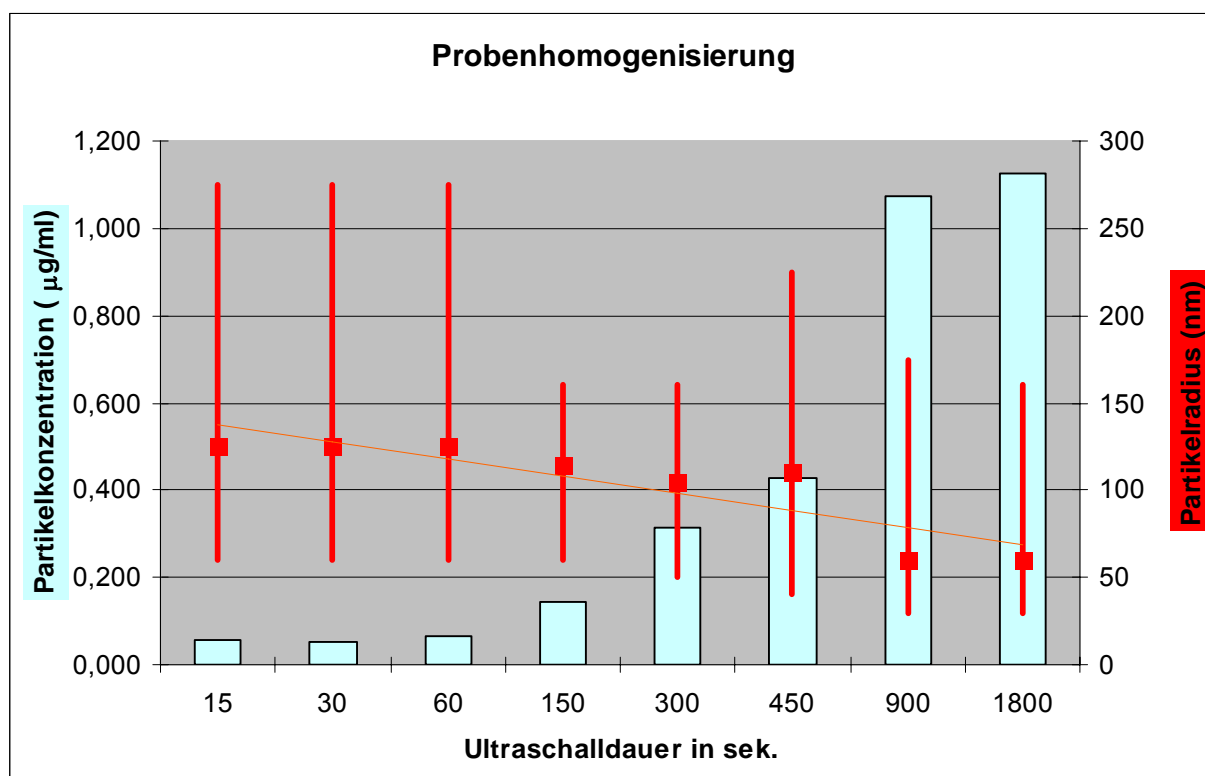


Abbildung 71: Darstellung des Einflusses der Ultraschalldauer (Sonotrode) auf die Größenverteilung eines SiO₂-haltigen Nahrungsergänzungsmittels (Produkt Nr. 1, Tabelle 1). Die hellblauen Balken stellen die relative Nanopartikel-Konzentration dar (linke Achse). Die roten Quadrate repräsentieren das Maximum der Größenverteilung, die roten Striche den gesamten Bereich der Größenverteilung (rechte Achse).

2.5.1.2 Einfluss des Eluenten auf die Homogenisierung

Um den Einfluss weiterer Eluenten zu testen wurden die Proben in 0,9% NaCl, 0,2% NovaChem, 5 mM Pyrosphosphat und 15% Methanol dispergiert und jeweils mit der AF⁴ untersucht. Die experimentellen Bedingungen und die Ergebnisse sind in Tabelle 29 zusammengetragen.

Als nicht geeignet erwies sich 0,9% NaCl zur Homogenisierung der der festen Nahrungsergänzungsmittel, es konnte keine Trennung der Nanopartikel erzielt werden, da durch die Anwesenheit von NaCl wahrscheinlich die Partikelagglomeration gefördert wird.

Mit 0,2% NovaChem oder 5 mM Pyrosphosphat konnten in der Regel zufriedenstellende Trennungen erhalten werden, vergleichbar mit 15% Methanol.

Tabelle 29: Experimentelle Bedingungen und Ergebnisse der AF⁴-Analyse von festen Nahrungsergänzungsmitteln (rote Zahlen deuten Bereiche unter 50 nm Radius bzw. 100 nm Durchmesser an)

Produkt Nr.	Produkt/ Hersteller	mögliche Nanopartikel	Laufmittel (Detektorfluss 0,5 ml/min)	Querfluss (ml/min)	Sonotrode ^a Dauer (min.) Intensität (%)	Bereich der Größenverteilung (Radius in nm)	Maximum der Größenverteilung (Radius in nm)	
S_1	Levasil 300/30 SiO ₂ / H.C. Stark	SiO ₂	0,9% NaCl	10	ohne	0-14,8	4+7,5+10	
			0,9% NaCl	10	ohne	0-33	10	
			15% Methanol	2,5	10	15 min, 100%		
			50% Methanol	10	10	ohne	keine	Suspension
			0,2% NovaChem	1,0	10	ohne	10,5-76,9	15
			5mM Pyrophosphat	1,0	10	5 min, 50%	0-34,1	4+12
S_2	Aerosil 300 hydrophil / Evonik	SiO ₂	0,9% NaCl	0,10	Ultraschallbad	keine	Peaks	
			15% Methanol	2,5	0,15	15 min, 100%	59,6-129,9	65
			0,2% NovaChem	1,0	0,50	5 min, 50%	39,9-206,5	100
			5mM Pyrophosphat	1,0	0,50	5 min, 50%	50,2-209,2	105
S_3	Aerosil R8200 Evonik	SiO ₂	0,9% NaCl	1%	15 min US-Bad	keine	Suspension	
			0,2% NovaChem	1,0	0,15	5 min, 50%	keine	Suspension
1	CardioVital /Per Nature	„dynamisiertes Silicium“ SiO ₂	0,9% NaCl	1,0	Ultraschallbad	keine	Peaks	
			15% Methanol	2,5	0,15	15 min, 100%	51,9-287,1	100
			0,2% NovaChem	1,0	0,50	5 min, 50%	29,6-265,0	50
			0,2% NovaChem	1,0	0,50	5 min, 50%	30,3-119,6	43
			5mM Pyrophosphat	1,0	0,50	5 min, 50%	73,1-124,5	81
2	Nanosilicea / Neosino	SiO ₂	0,9% NaCl	1,85	10 min, 40%	keine	Peaks	
			15% Methanol	2,5	0,15	15 min, 100%	30,9-288,5	100
			0,2% NovaChem	1,0	0,50	5 min, 50%	34,9-286,0	150
			5mM Pyrophosphat	1,0	0,50	5 min, 50%	keine	Peaks
3	DynamSi / BNW	SiO ₂	0,9% NaCl	1,0	5 min, 100%	keine	Peaks	
			15% Methanol	2,5	0,15	15 min, 100%	30-150	80
			50% Methanol	0,25	0,25	5 min, 100%	56,1-119,7	60
			0,2% NovaChem	1,0	0,50	5 min, 50%	27,1-283,2	80
			5mM Pyrophosphat	1,0	0,50	5 min, 50%	31,2-151,6	79
4	Nanosan Nanosilicium / Life Light	SiO ₂	0,2% NovaChem	1,0	0,50	5 min, 50%	44,9-314,5	80
			5mM Pyrophosphat	1,0	0,50	5 min, 50%	31,0-148,8	55
5	Kieselerde / Abtei	Kieselerde (SiO ₂), TiO ₂	15% Methanol	2,5	0,15	15 min, 100%	70-160	110
			0,2% NovaChem	1,0	0,50	5 min, 50%	26,8-296,9	130
6	Kieselerde plus Calcium / Al-tapharma	Kieselerde (SiO ₂), Calcium	15% Methanol	2,5	0,15		50-310	250
			0,2% NovaChem	1,0	0,50		72,1-274,5	110

Produkt Nr.	Produkt/ Hersteller	mögliche Nanopartikel	Laufmittel (Detektorfluss 0,5 ml/min)	Querfluss (ml/min)		Sonotrode ^a Dauer (min.) Intensität (%)	Bereich der Größenverteilung (Radius in nm)	Maximum der Größenverteilung (Radius in nm)
7	Kieselerde, Vitamine / St. Matthäus	Kieselerde (SiO ₂), TiO ₂	15% Methanol 0,2% NovaChem	2,5 1,0	0,15 0,50		70-300 32,7 -293,8	100 150
8	Zink plus / dm-Markt	SiO ₂ , TiO ₂	15% Methanol 0,2% NovaChem	2,5 1,0	0,15 0,50		50-300 56,9-309,9	100 120
9	Heilerde ultrafein Bullsichs	Mineralpulver	15% Methanol 0,2% NovaChem	2,5 1,0	0,15 0,50			110 60
10	Lentaya / Hermes	TiO ₂ , Eisenoxid	15% Methanol	2,5	0,15	15 min, 100%	50-300	105
11	Litozin / Dansk Droge	TiO ₂ , Eisenoxid	15% Methanol	2,5	0,15	15 min, 100%	50-300	250
12	Magnesium forte räsch	Magnesiumoxid	15% Methanol	2,5	0,15	15 min, 100%	25 -300	100
13	Vitamin B-Komplex / ratiopharm	TiO ₂ , Eisenoxid	15% Methanol	2,5	0,15	15 min, 100%	70-275	105
14	Vitamin C + Zink / St. Matthäus	TiO ₂ , Eisenoxid	15% Methanol	2,5	0,15	15 min, 100%	40 -325	100
15	Augengut / Bio-Diät	TiO ₂	15% Methanol	2,5	o.A.	15 min, 100%	50-150	100
16	Diclo-Divido / Alpha	TiO ₂	15% Methanol	2,5	0,15	15 min, 100%	75-280	110
S_4	Aeroxide TiO ₂ P25 / Evonik	TiO ₂	0,9% NaCl 15% Methanol 0,2% NovaChem	2,5 1,0	0,15 0,025	15 min, 100% 5 min, 50%	schwache 32,0 -82,8	Peaks 43
S_5	Aeroxide TiO ₂ P90 / Evonik	TiO ₂	0,9% NaCl 15% Methanol 0,2% NovaChem	2,5 1,0	0,15 0,05	15 min, 100% 5 min, 50%	schwache 24,3 -140,1	Peaks 37
S_6	Zircox 15 / IBU-tec	Zirkoniumdioxid	0,9% NaCl 0,2% NovaChem	1,0	0,1% 0,05	15 min US-Bad 5 min, 50%	38,3 -221,6	70

^a Dispergiermethode: in der Regel Sonotrode, falls nicht anders erwähnt

2.5.2 Vergleich von „Nano“ und konventionellen SiO₂-haltigen Nahrungsergänzungsmitteln

Im Folgenden sind die Größenverteilungen verschiedener SiO₂-haltiger Nahrungsergänzungsmittel dargestellt. Den mit „Nano“ beworbenen Nahrungsergänzungsmitteln (Abbildungen 72 - 74) werden konventionelle Nahrungsergänzungsmittel (d.h. ohne explizite Hinweise auf Nanoskaligkeit) gegenüber gestellt (Abbildungen 75 - 77). Es ist zu beachten, dass in den Abbildungen der Radius der Nanopartikel und nicht der Durchmesser auf der x-Achse aufgetragen ist. Die roten Kurven stellen die Verteilungsdichte dar, die blauen Kurven die kumulative Verteilung, an der der relative Anteil an Partikeln unterhalb eines bestimmten Radius leicht abgelesen werden kann. Die experimentellen Bedingungen für diesen Vergleich waren wie folgt: Von den Nahrungsergänzungsmitteln wurden jeweils 1,5 mg in 10 ml 15% Methanol eingebracht. Nach einer 15-minütigen Homogenisierung mit der Ultraschallsonde (100%) wurden die Proben 24 Stunden stehen gelassen damit sich größere Partikel durch Sedimentation absetzen konnten. Anschließend wurde der Überstand in neue Probengefäße umgefüllt und analysiert. Die AF⁴-Analyse erfolgte mit einem linear abfallenden Querflussgradienten beginnend bei 2,5 ml/min.

Bei einigen untersuchten Nahrungsergänzungsmitteln ist die Verteilung durch zwei Maxima gekennzeichnet (bimodale Verteilung), wobei das erste Maximum in der Regel bei 100 nm oder darunter liegt das das zweite bei ca. 250 nm. Dies wurde auch bei zwei „Nano“-Nahrungsergänzungsmitteln beobachtet (Abbildung 72 und 73). Bei Produkt Nr. 2 liegt das zweite Maximum bei ca. 150 nm (Abbildung 73).

Monomodale Verteilungen wurden bei den „Nano“-Produkten Nr. 3 und 4 beobachtet, wobei der Mittelwert des Radius bei 80 nm liegt. Betrachtet man den Bereich der Verteilung so fällt auf, dass bei den „Nano“-Nahrungsergänzungsmitteln nur ein geringer Anteil im Bereich unter 50 nm (Radius) liegt. Den größten Anteil hat hier „Nano“-Produkt Nr. 2 mit 10% der Partikel unterhalb eines Radius von 50 nm. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass bei allen Nahrungsergänzungsmitteln die Verteilung durch Partikel mit Radien über 50 nm dominiert wird. Bei den gewöhnlichen Nahrungsergänzungsmitteln hingegen ist der Anteil von Partikeln unterhalb eines Radius von 50 nm deutlich kleiner und liegt immer unter 1%.

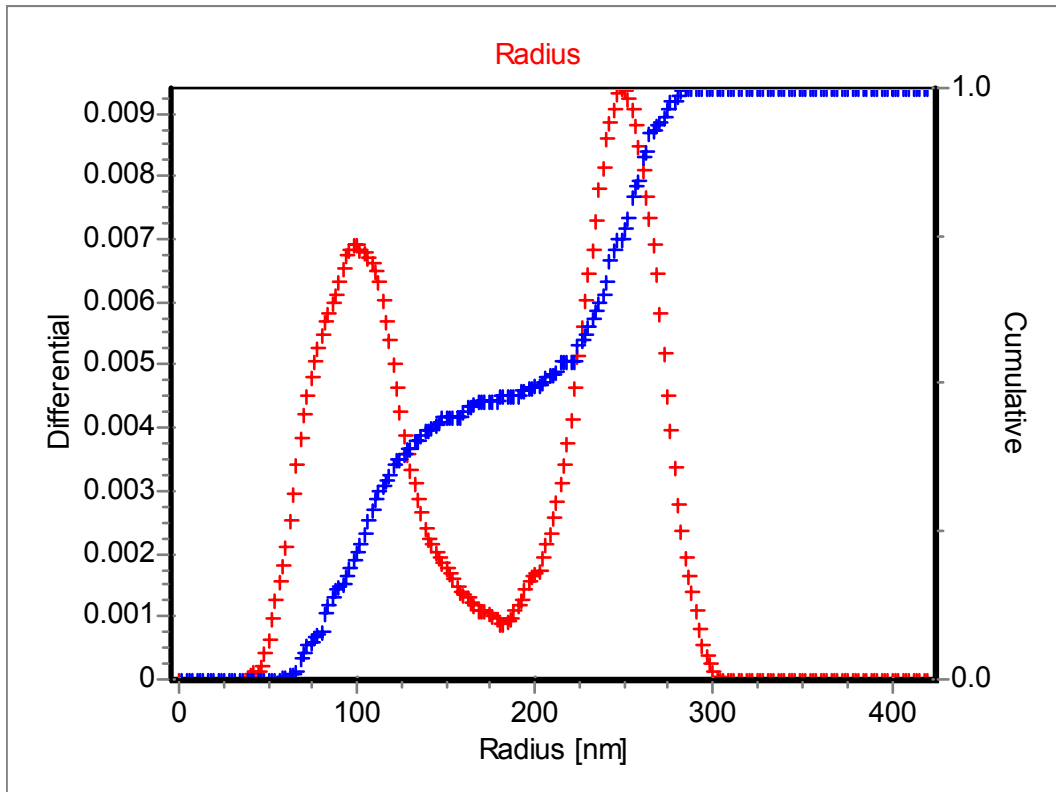


Abbildung 72: Größenverteilung eines SiO₂-Nahrungsergänzungsmittels („Nano“ Produkt Nr. 1). rot: Verteilungsdichte, blau: kumulative Verteilung.

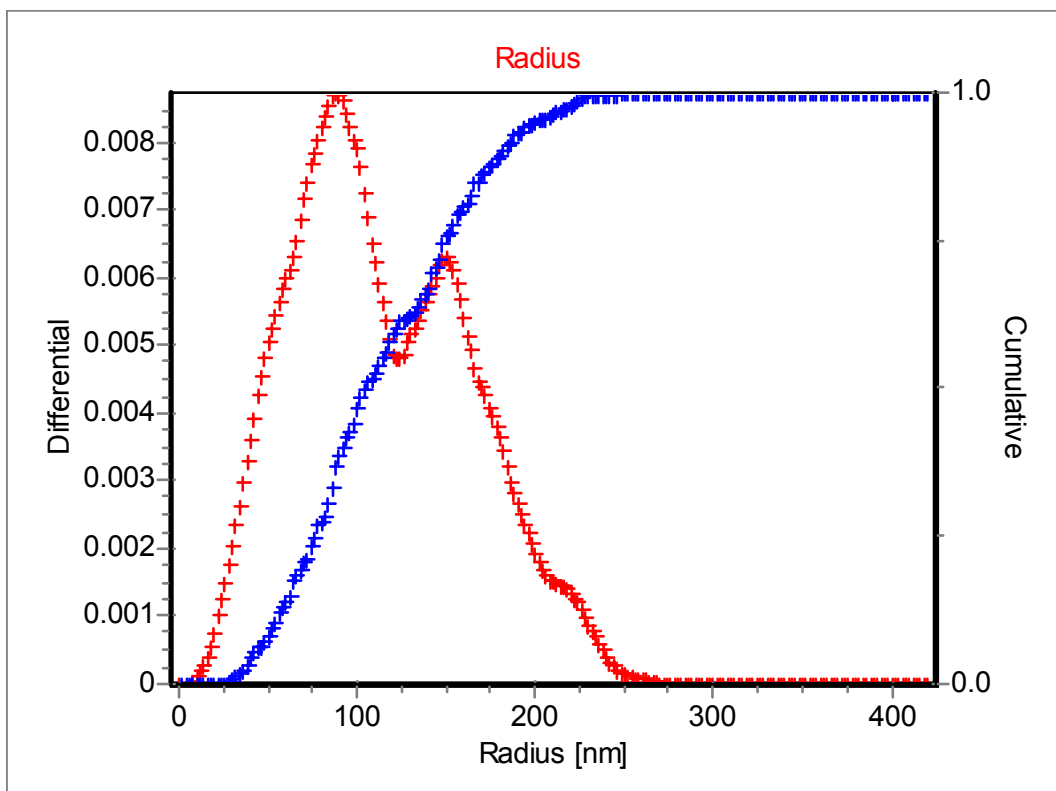


Abbildung 73: Größenverteilung eines SiO₂-Nahrungsergänzungsmittels („Nano“ Produkt Nr. 2). rot: Verteilungsdichte, blau: kumulative Verteilung.

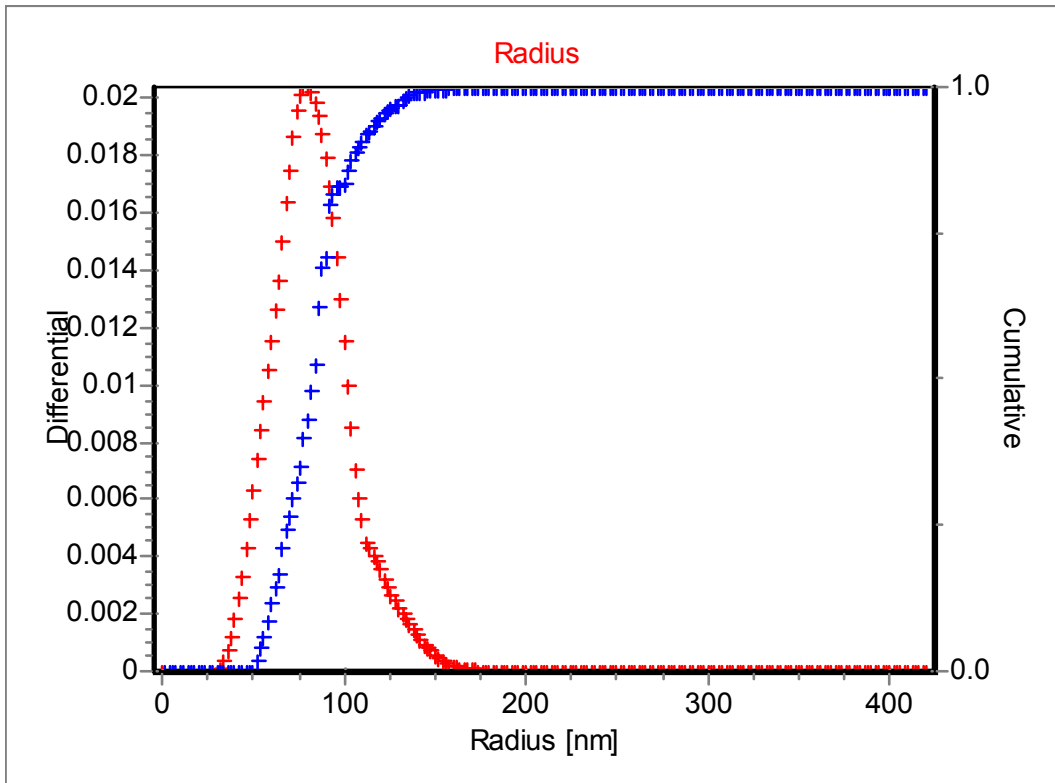


Abbildung 74: Größenverteilung eines SiO₂-Nahrungsergänzungsmittels („Nano“ Produkt Nr. 3). rot: Verteilungsdichte, blau: kumulative Verteilung.

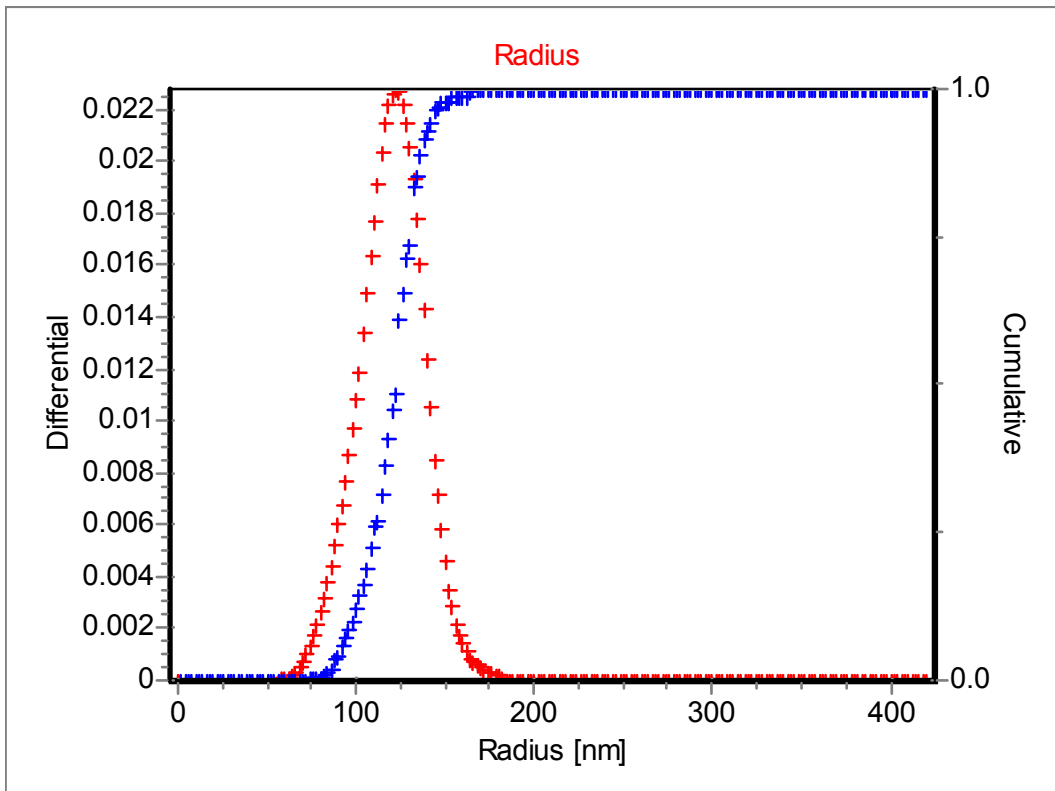


Abbildung 75: Größenverteilung eines SiO₂-haltigen Nahrungsergänzungsmittels (Produkt Nr. 5). rot: Verteilungsdichte, blau: kumulative Verteilung.

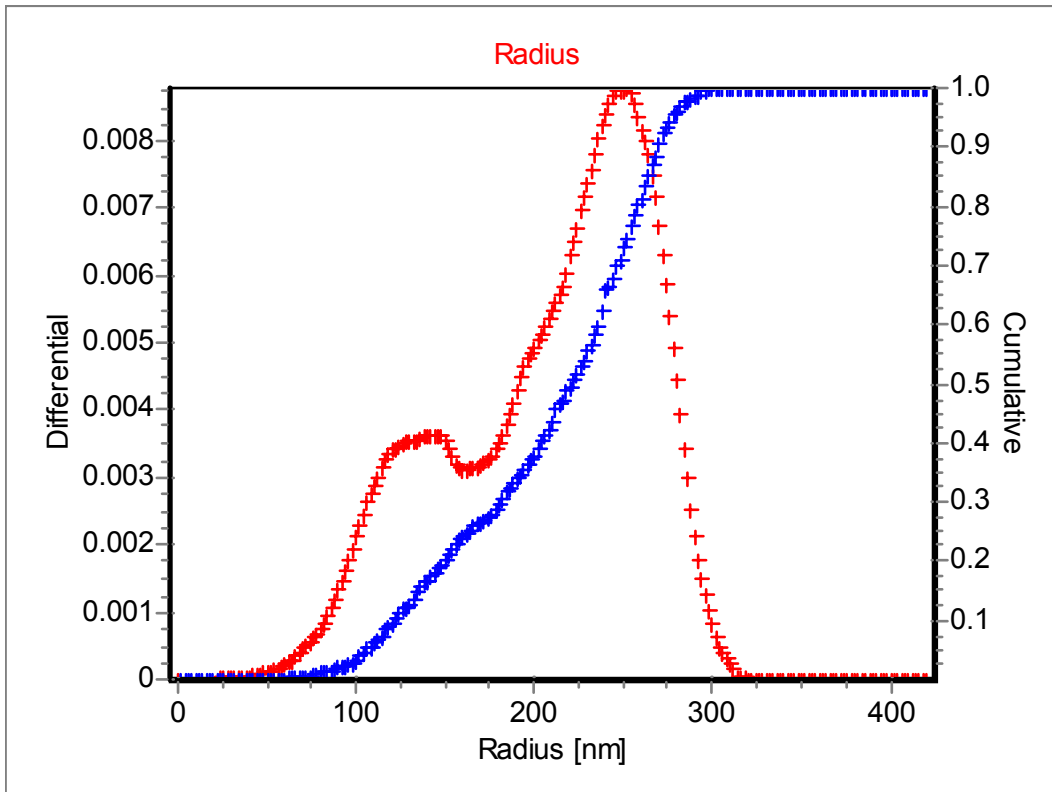


Abbildung 76: Größenverteilung eines SiO₂-haltigen Nahrungsergänzungsmittels (Produkt Nr. 6). rot: Verteilungsdichte, blau: kumulative Verteilung.

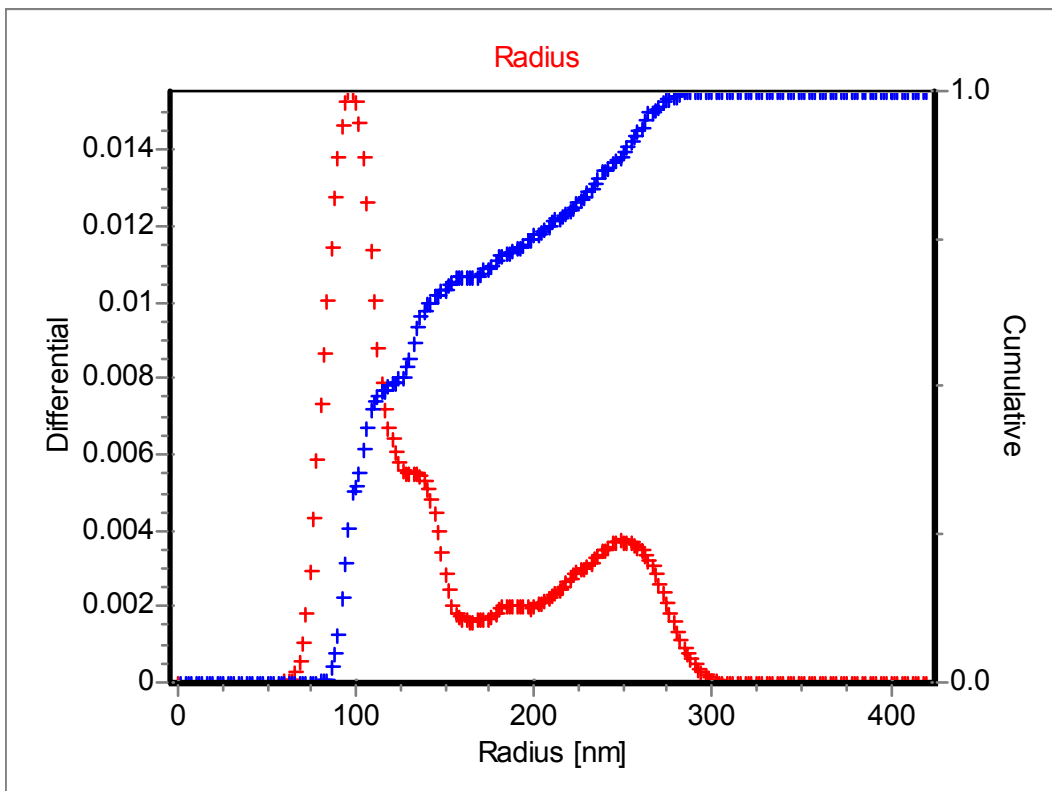


Abbildung 77: Größenverteilung eines SiO₂-haltigen Nahrungsergänzungsmittels (Produkt Nr. 7). rot: Verteilungsdichte, blau: kumulative Verteilung.

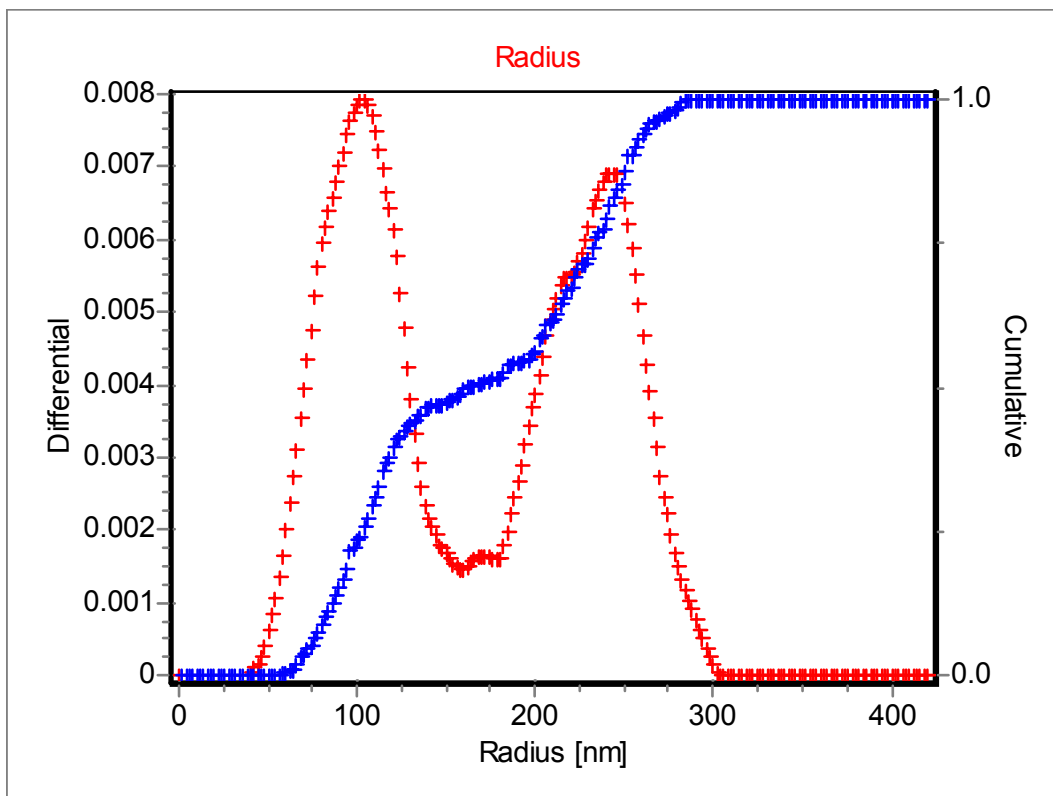


Abbildung 78: Größenverteilung eines SiO₂-Nahrungsergänzungsmittels (Produkt Nr. 8). rot: Verteilungsdichte, blau: kumulative Verteilung.

Tabelle 30: Vergleich der Partikeldurchmesser von SiO₂-Standards und festen Nahrungsergänzungsmitteln mit SiO₂ unter den jeweils optimierten analytischen Bedingungen.

Nr. Produkt	Eluent	Mittlerer Partikeldurchmesser (nm)	Bereich der Größenverteilung (Durchmesser in nm)
S_1 Levasil 30/300 hydrophiles Kieselsol	0,9% NaCl	20	10 – 70
S_2 Aerosil 300 hydrophile pyrogene Kieselsäure	0,2% Nova- Chem	200	80 – 400
1 „Nano“-Siliziumpulver	0,2% Nova- Chem	86	66 – 220
2 „Nano“-Siliziumpulver	0,2% Nova- Chem	130	70 – 570
3 „Nano“-Siliziumpulver	5 mM Na ₄ P ₂ O ₇	160	60 – 300
4 „Nano“-Siliziumsol	5 mM Na ₄ P ₂ O ₇	110	60 – 300
5 Siliziumpulver	0,2% Nova- Chem	260	54 – 590
6 Siliziumpulver mit Calcium	0,2% Nova- Chem	220	150 – 550
7 Siliziumpulver mit Vi- taminen	0,2% Nova- Chem	300	66 – 588
8 Mineralpulver	0,2% Nova- Chem	240	114 – 620

2.5.3 Kolloidales Silber (Silberwasser)

Kolloidales Silber wurde von drei Herstellern über das Internet bezogen. Von einem Hersteller wurde das kolloidale Silber in drei verschiedene Konzentrationen (25 ppm, 500 ppm und 1000 ppm) bezogen. Der Silbergehalt der im Internethandel vertriebenen Silberwasser wird in ppm (parts per million, ein sogenanntes Mischungsverhältnis, das ohne Angabe des Bezugs (Masse, Moleküle etc.) unvollständig ist) angegeben und bezieht sich vermutlich auf den Massenanteil von Silber im Verhältnis zu Wasser. In Abbildung 79 sind die unverdünnten Silberwasser der drei Hersteller abgebildet. Man erkennt allein an der Farbe und Intensität der Lösungen, dass es sich nicht um einheitliche Lösungen mit definierten Konzentrationen handelt. Probe Nr. 5, nominell 500 ppm Silber, zeigt eine viel intensivere Farbe als Probe Nr. 4 (1000 ppm Silber) was aber auf eine höhere Konzentration hinweist. Probe Nr. 1 (100 ppm) dagegen hat eine schwächere Farbe als Probe Nr. 2 (25 ppm). Selbst bei den drei Proben eines Herstellers (Nr. 2, 3, 4) spiegelt der optische Eindruck nicht die nominellen Konzentrationen wieder.

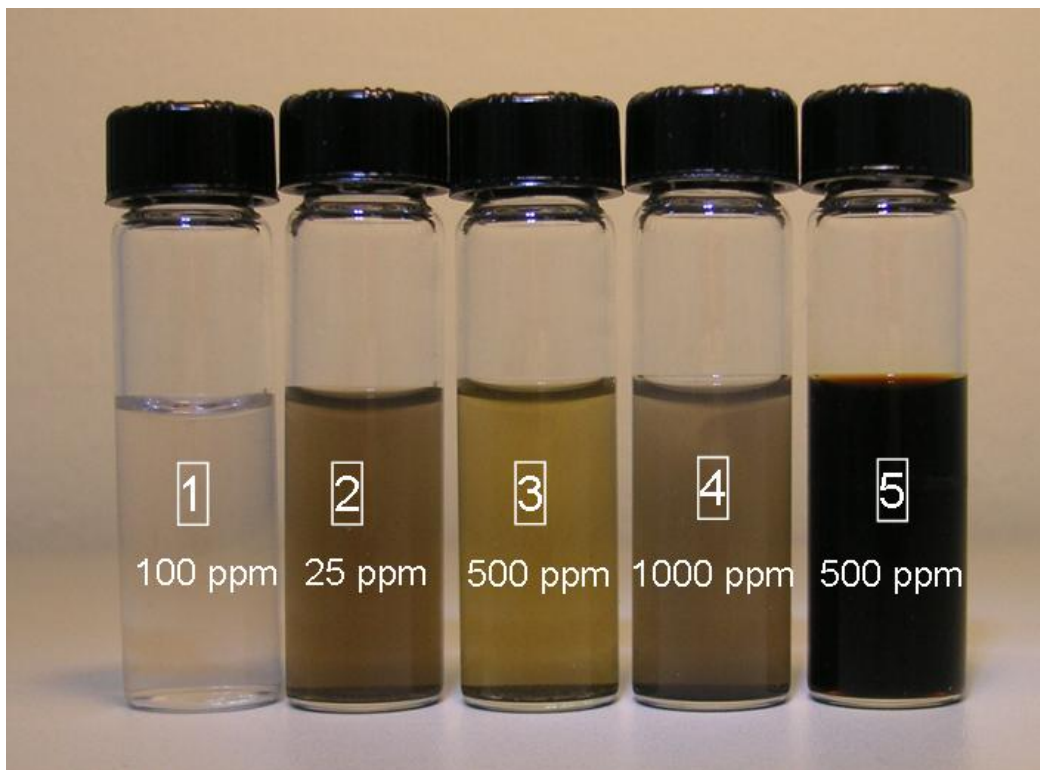


Abbildung 79: Untersuchte Nanosilber-Proben (kolloidales Silber). Die Zahlen geben die nominellen Konzentrationen in ppm laut Hersteller an.

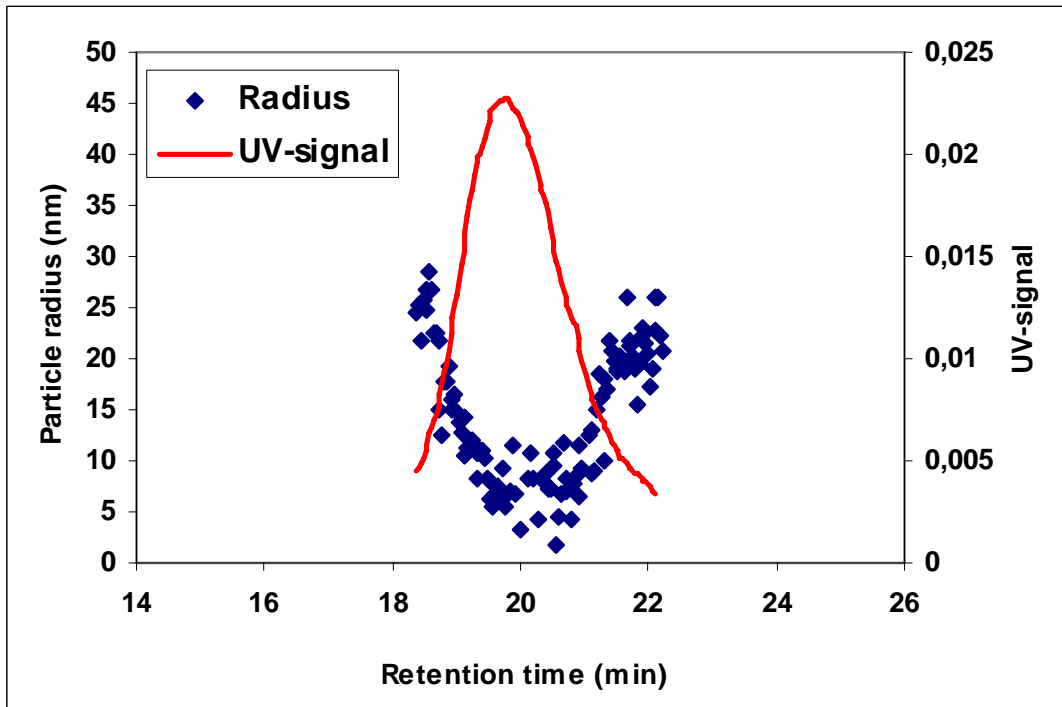


Abbildung 80: Fraktogramm (UV-Detektor) von Nanosilber-Partikeln (Probe Nr.2) und mittels Lichtstreuung gemessene Partikelradien. Eluent H₂O.

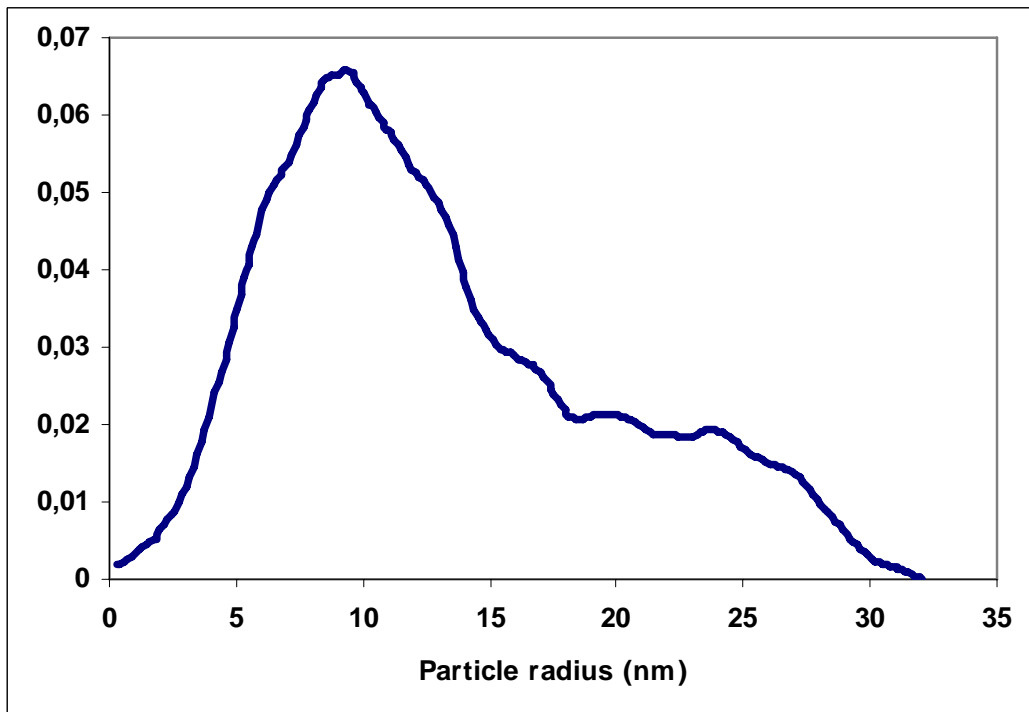


Abbildung 81: Größenverteilung von Nanosilber-Partikeln (Probe Nr. 2).

In Tabelle 31 sind die Ergebnisse der Nanosilber-Untersuchung aufgelistet. Die von den Herstellern angegebenen Konzentrationen sind um ein Vielfaches höher als in dieser Studie mit AF4-UV-Detektor bestimmt wurde. Ein Grund dieser Diskrepanz könnte durch größere Aggregate und Agglomerate mit Partikeldurchmessern größer als 1 µm verursacht sein, die mit AF4 unter den gegebenen experimentellen Bedingungen nicht erfasst werden.

Die mittleren Partikeldurchmesser liegen bei den Proben Nr. 2, 3 und 4 zwischen 20 und 30 nm, bei Produkt Nr.1 dagegen bei 130 nm. Probe Nr. reicherte sich in der Membran an und konnte mit dieser Methode nicht getrennt.

Tabelle 31: Partikeldurchmesser und Konzentrationen von kolloidalem Silber (Silberwasser)

Probe	Partikeldurchmesser (nm)	Gemessene Konzentration (ppm*)	Nominelle Konzentration laut Hersteller (ppm*)
Nr. 1	130	2	100
Nr. 2	20	10	25
Nr. 3	30	11	500
Nr. 4	24	6	1000
Nr. 5	Keine Messergebnisse, da Wechselwirkung der Silberpartikel mit AF ⁴ -Membran		500

* Die Einheit ppm gibt ein Mischungsverhältnis an. Von den Herstellern wird keine Angabe zum Bezug gemacht. Die gemessene Konzentration bezieht sich auf Masse-Anteile, Kalibrierstandard Nanosilber NM-300.

2.6 Zusammenfassung

In ersten Vorversuchen mit Lebensmitteln (Kaffee, Milch und Ketchup) zeigte sich, dass hier eine Vielzahl natürlicher Nanopartikel (Proteine, Kohlenhydrate, Mizellen etc.) mit der AF⁴ (asymmetrischer Fluss-Feld-Fluss-Fraktionierung) zu beobachten sind und es daher nicht sinnvoll erscheint die AF⁴-Methodenentwicklung zur Größenbestimmung und Charakterisierung von Nanopartikeln an diesen komplexen Matrices zu beginnen. Dazu sind weitere Vorbehandlungen wie eine künstliche Verdauung der natürlichen, organischen Nanopartikel notwendig, um diese von synthetischen (in der Regel anorganischen Nanopartikeln) unterscheiden zu können. Diese Arbeiten sind in einer zweiten Phase des Projektes geplant, zunächst galt es geeignete Methoden zur Messung von Nanopartikeln in relativ einfachen Matrices zu entwickeln. Hier bieten sich flüssige und feste Nahrungsergänzungsmittel an, von denen die Hersteller und Vertreiber behaupten, dass Nanopartikel enthalten sind.

In der ersten Phase des Projektes wurden daher ausführliche Untersuchungen an flüssigen und festen Nahrungsergänzungsmitteln durchgeführt. Bei den festen Nahrungsergänzungsmitteln wurden sowohl mit „Nano“ beworbene wie auch herkömmliche (d.h. ohne Hinweis auf Nanoskaligkeit) hinsichtlich ihrer Größenverteilung untersucht. Bei den herkömmlichen Nahrungsergänzungsmitteln wurden solche ausgewählt in denen Inhaltsstoffe wie SiO₂, TiO₂ und Eisenoxide (in der Regel als Füll- und Hilfsstoffe) angegeben sind. Diese Verbindungen sind von Interesse, da sie sowohl in mikro- wie auch nanoskaliger Form vorkommen können, und als Vergleich zu den mit „Nano“ beworbenen dienen.

Unter den flüssigen Nahrungsergänzungsmitteln ist das „kolloidale Silber“ oder „Silberwasser“ hervorzuheben. Aufgrund seiner antibiotischen Wirkungen wird Nanosilber in vielfältiger Weise sowohl in medizinischen wie auch Haushaltsanwendungen benutzt. Zusätzlich wird es aber auch in der alternativen Medizin in Form von Silberwasser (kolloidales Silber) empfohlen und teils über Apotheken, überwiegend aber über den Internethandel vertrieben. Eine Suche bei Google z.B. zum Stichwort „kolloidales Silber“ liefert über 3 Millionen Einträge. Das „kolloidale Silber“ wird dabei oft als natürliches Antibiotikum und zur Stärkung des Immunsystems angepriesen.

Die Methodenentwicklung zur Untersuchung unterschiedlicher Nanopartikel mit AF⁴ konzentrierte sich hauptsächlich auf Nanopartikel, bei denen auch zertifizierte Referenzverbindungen erhältlich sind: Nanosilber, SiO₂ und TiO₂.

Der erste Schritt bei der Analyse pulverförmiger Nanopartikel ist eine geeignete Homogenisierungsmethode (Dispergiermethode) zu finden mit der die freien Nanopartikel erzeugt werden können, da die Partikel als Aggregate und Agglomerate vorliegen. Hierzu wurden Tests mit drei unterschiedlichen Homogenisierungsverfahren durchgeführt: Ultraschallbad, Ultraschallsonotrode und Ultraturrax. Als geeignete Methode erwies sich die Ultraschallsonotrode, da hierbei die Schallenergie direkt in die Probe abgegeben wird, im Gegensatz zum Ultraschallbad. Durch die Variation der Beschallungsdauer konnte ermittelt werden ab welchem Zeitpunkt eine hinreichende Homogenisierung erreicht wurde. Bei all diesen Versuchen wurde die Größenverteilung mit AF⁴ gemessen und durch Vergleich der Ergebnisse konnte die optimale Dauer der Beschallung ermittelt werden.

Neben der geeigneten Dispergiermethode ist die Wahl des Lösungsmittels von zentraler Bedeutung um die freien Nanopartikel in kolloidaler Form zu erhalten. Hierzu wurde eine Reihe verschiedener Eluenten und Dispergiermittel wie 15% Methanol, 0,2% Novachem (Mischung ionischer und nichtionischer Tenside), 0,9% NaCl, 5 mM Pyrophosphat (Na₄P₂O₇) und reines Wasser untersucht. Je nach Art der zu untersuchenden Nanopartikel muss im Einzelfall ein geeignetes Lösungsmittel gefunden werden. Selbst für chemisch ähnliche Nanopartikel aus SiO₂ hängt es von der Oberflächenbeschichtung der Nanopartikel ab, ob ein Lösungsmittel zur Dispergierung geeignet ist.

2.7 Literaturverzeichnis

1. Chaudhry, Q., et al., *Applications and implications of nanotechnologies for the food sector*. Food Addit Contam, 2008. **25**(3): p. 241-258.
2. Scholars, W.W.I.C.f. *Woodrow Wilson International Center for Scholars. Project on Emerging Nanotechnologies Inventory*. [cited 2010 23.06.2010]; Available from: <http://www.nanotechproject.org/inventories/consumer/>.
3. BEUC. *The European Consumer's Organization*. 2009 [cited 2010 23.06.2010]; Available from: <http://www.beuc.org>.
4. BUND, *Aus dem Labor auf den Teller: die Nutzung der Nanotechnologie im-Lebensmittelsektor*. 2008.
5. Oberdörster, G., E. Oberdörster, and J. Oberdörster, *Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles*. Environ Health Perspect, 2005. **113**(7): p. 823-839.
6. Lagaron, J.M., et al., *Improving packaged food quality and safety. Part 2: nanocomposites*. Food Addit Contam, 2005. **22**(10): p. 994-8.
7. Bouwmeester, H., et al., *Health impact of nanotechnologies in food production*. 2007, RIKILT – Institute of Food Safety, Wageningen UR, National Institute of Public Health & the Environment; Center for Substances and Integrated Risk Assessment.
8. Borm, P.J., et al., *The potential risks of nanomaterials: a review carried out for ECETOC*. Part Fibre Toxicol, 2006. **3**: p. 11.
9. EFSA, *The Potential Risks Arising from Nanoscience and Nanotechnologies on Food and Feed Safety*. The EFSA Journal, 2009. **958**: p. 1-39.
10. Oberdörster, G., V. Stone, and K. Donaldson, *Toxicology of nanoparticles: A historical perspective*. Nanotoxicology, 2007. **1**(1): p. 2-25.
11. Kreyling, W.G., et al., *Translocation of ultrafine insoluble iridium particles from lung epithelium to extrapulmonary organs is size dependent but very low*. J Toxicol Environ Health A, 2002. **65**(20): p. 1513-30.
12. Donaldson, K., et al., *Combustion-derived nanoparticles: a review of their toxicology following inhalation exposure*. Part Fibre Toxicol, 2005. **2**: p. 10.
13. Aprahamian, M., et al., *Transmucosal passage of polyalkylcyanoacrylate nanocapsules as a new drug carrier in the small intestine*. Biol Cell, 1987. **61**(1-2): p. 69-76.
14. Damge, C., et al., *Ileal uptake of polyalkylcyanoacrylate nanocapsules in the rat*. J Pharm Pharmacol, 2000. **52**(9): p. 1049-56.
15. Damge, C., et al., *Intestinal absorption of PLAGA microspheres in the rat*. J Anat, 1996. **189 (Pt 3)**: p. 491-501.
16. Jani, P., et al., *The uptake and translocation of latex nanospheres and microspheres after oral administration to rats*. J Pharm Pharmacol, 1989. **41**(12): p. 809-12.
17. Jani, P., et al., *Nanoparticle uptake by the rat gastrointestinal mucosa: quantitation and particle size dependency*. J Pharm Pharmacol, 1990. **42**(12): p. 821-6.
18. Hillery, A.M., P.U. Jani, and A.T. Florence, *Comparative, quantitative study of lymphoid and non-lymphoid uptake of 60 nm polystyrene particles*. J Drug Target, 1994. **2**(2): p. 151-6.

19. Hussain, N., V. Jaitley, and A.T. Florence, *Recent advances in the understanding of uptake of microparticulates across the gastrointestinal lymphatics*. *Adv Drug Deliv Rev*, 2001. **50**(1-2): p. 107-42.
20. Hagens, W.I., et al., *What do we (need to) know about the kinetic properties of nanoparticles in the body?* *Regul Toxicol Pharmacol*, 2007. **49**(3): p. 217-29.
21. Volkheimer, G., *Passage of particles through the wall of the gastrointestinal tract*. *Environ Health Perspect*, 1974. **9**: p. 215-25.
22. McCullough, J.S., et al., *A morphological and microanalytical investigation into the uptake of particulate iron across the gastrointestinal tract of rats*. *J Submicrosc Cytol Pathol*, 1995. **27**(1): p. 119-24.
23. des Rieux, A., et al., *Nanoparticles as potential oral delivery systems of proteins and vaccines: a mechanistic approach*. *J Control Release*, 2006. **116**(1): p. 1-27.
24. Desai, M.P., et al., *Gastrointestinal uptake of biodegradable microparticles: effect of particle size*. *Pharm Res*, 1996. **13**(12): p. 1838-45.
25. Hillyer, J.F. and R.M. Albrecht, *Gastrointestinal persorption and tissue distribution of differently sized colloidal gold nanoparticles*. *J Pharm Sci*, 2001. **90**(12): p. 1927-36.
26. Hoet, P.H., I. Bruske-Hohlfeld, and O.V. Salata, *Nanoparticles - known and unknown health risks*. *J Nanobiotechnology*, 2004. **2**(1): p. 12.
27. Bouwmeester, H., et al., *Review of health safety aspects of nanotechnologies in food production*. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2009. **53**(1): p. 52-62.
28. Lynch, I., A. Salvati, and K.A. Dawson, *Protein-nanoparticle interactions: What does the cell see?* *Nat Nanotechnol*, 2009. **4**(9): p. 546-7.
29. Avella, M., et al., *Biodegradable starch/clay nanocomposite films for food packaging applications*. *Food Chemistry*, 2005. **93**(3): p. 467-474.
30. Kim, Y.S., et al., *Twenty-Eight-Day Oral Toxicity, Genotoxicity, and Gender-Related Tissue Distribution of Silver Nanoparticles in Sprague-Dawley Rats*. *Inhalation Toxicology*, 2008. **20**(6): p. 575-583.
31. De Jong, W.H. and P.J. Borm, *Drug delivery and nanoparticles: applications and hazards*. *Int J Nanomedicine*, 2008. **3**(2): p. 133-49.
32. Choi, H.S., et al., *Renal clearance of quantum dots*. *Nat Biotechnol*, 2007. **25**(10): p. 1165-70.
33. Lomer, M.C.E., R.P.H. Thompson, and J.J. Powell, *Fine and ultrafine particles of the diet: influence on the mucosal immune response and association with Crohn's disease*. *Proc Nutr Soc*, 2002. **61**(01): p. 123-130.
34. Wang, J., et al., *Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration*. *Toxicol Lett*, 2007. **168**(2): p. 176-85.
35. Wang, B., et al., *Acute toxicity of nano- and micro-scale zinc powder in healthy adult mice*. *Toxicol Lett*, 2006. **161**(2): p. 115-23.
36. Karlsson, H.L., et al., *Size-dependent toxicity of metal oxide particles--a comparison between nano- and micrometer size*. *Toxicol Lett*, 2009. **188**(2): p. 112-8.
37. Meng, H., et al., *Ultrahigh reactivity provokes nanotoxicity: explanation of oral toxicity of nano-copper particles*. *Toxicol Lett*, 2007. **175**(1-3): p. 102-10.
38. Wang, J., et al., *Acute toxicological impact of nano- and submicro-scaled zinc oxide powder on healthy adult mice*. *J Nanopart Res*, 2008. **10**(2): p. 263-276.

2.8 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Übersicht kommerziell erhältlicher / eingesetzter Nanokomposit-Systeme basierend auf Polyamid (Pavlidou und Papaspyrides, 2008; Chaundry et al., 2008; ObservatoryNano 2009).	14
Tabelle 2:	Übersicht: Beispiele für Produkte mit ausgelobten Einsatz von Nanosilber (BfR Stellungnahme 001/2009; ObservatoryNano 2009; Nanotechproject.org)	23
Tabelle 3:	Migrationsbedingungen für die PET-Flaschen	45
Tabelle 4:	Titangehalt der PET-Flaschen	47
Tabelle 5:	Migration von Titan aus PET-Flaschen in 3 % Essigsäure	47
Tabelle 6:	Migration von Titan aus PET-Flaschen in 95 % Ethanol	48
Tabelle 7:	Migration von Titan aus PET-Flaschen in 3 % Essigsäure (Wiederholungsversuch)	48
Tabelle 8:	Titangehalt der 95 % Ethanol Migrationslösung (Wiederholungsversuch)	49
Tabelle 9:	Berechnung der mittleren Partikelradien der Titannitriddispersion	50
Tabelle 10:	nomielle Konzentration an Titannitrid in den LDPE-Folien	55
Tabelle 11:	Migrationsbedingungen für die LDPE-Folien	58
Tabelle 12:	Wiederfindung Titannitrid nach Lagerung bei Migrationsbedingungen ..	60
Tabelle 13:	Titan-Konzentrationen der LDPE-Folien	61
Tabelle 14:	Titangehalt der 3 % Essigsäure Migrationslösung nach 24 h bei 40 °C ..	61
Tabelle 15:	Titangehalt der Isooktan Migrationslösung nach 24 h bei 40 °C	62
Tabelle 16:	Titangehalt der 95 % Ethanol Migrationslösung nach 24 h bei 40 °C	62
Tabelle 17:	Titangehalt der 3 % Essigsäure Migrationslösung nach 10 d bei 40 °C ..	63
Tabelle 18:	Titangehalt der 95 % Ethanol Migrationslösung nach 10 d bei 40 °C	63
Tabelle 19:	Titangehalt der 3 % Essigsäure Migrationslösung nach 10 d bei 60 °C ..	64
Tabelle 20:	Titangehalt der 95 % Ethanol Migrationslösung nach 10 d bei 60 °C	64
Tabelle 21:	Titangehalt der 0,2 % Novachem Migrationslösung nach 10 d bei 60 °C	65
Tabelle 22:	Titangehalt der 95 % Ethanol Migrationslösung nach 24 h bei 40 °C (Wiederholungsversuch)	65
Tabelle 23:	Titangehalt der 0,2 % Novachem Migrationslösung nach 10 d bei 60 °C (Wiederholungsversuch)	66
Tabelle 24:	Methode für das headspace-GC Screening	68
Tabelle 25:	Methode für das GC Screening	69
Tabelle 26:	Methode für das HPLC Screening	69

Tabelle 27: Übersicht der untersuchten Nahrungsergänzungsmittel	120
Tabelle 28: Experimentelle Bedingungen und Ergebnisse der AF ⁴ -Analyse von festen Nahrungsergänzungsmitteln (rote Zahlen deuten Bereiche unter 50 nm Radius bzw. 100 nm Durchmesser an).....	125
Tabelle 29: Vergleich der Partikeldurchmesser von SiO ₂ -Standards und festen Nahrungsergänzungsmitteln mit SiO ₂ unter den jeweils optimierten analytischen Bedingungen.....	132
Tabelle 30: Partikeldurchmesser und Konzentrationen von kolloidalem Silber (Silberwasser).....	135

2.9 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Kompositstypen abgeleitet aus der Interaktion von Tonsilikaten und Polymeren: (a) phasenetrennte Mikrokomposite, (b) „intercalated“ Nanokomposite und (c) „exfoliated“ Nanokomposite (Alexandre und Dubois, 2000; Azeredo, 2009)	11
Abbildung 2: Vorgeschlagenes Modell für den gewundenen Zickzack-Diffusionspfad in einen exfoliated PCN, das als Gasbarriere fungiert (Pavlidou und Paspaspyrides, 2008)	12
Abbildung 3: Querschnitt durch einen Asymmetrischen Fluss-FFF-Kanal (© Postnova)	28
Abbildung 4: Schematische Darstellung eines Sieben-Winkel MALS Detektors	29
Abbildung 5: 95 % Ethanol-Blindwerte mit unterschiedlichen Vorbehandlungen zur Partikelentfernung (Schwarz: Fließmittel, blau Ethanol destilliert, grün Ethanol filtriert 100 nm, rot Ethanol direkt ohne Vorbehandlung).	31
Abbildung 6: Fraktogramm einer Silberstandardlösung bei verschiedenen Lichtstreuwinkeln (50 ° schwarz, 90 ° rot, 105 ° blau).	33
Abbildung 7: Partikelgrößenverteilung der Nanosilberstammmlösung (rot) mit darübergelegtem Fraktogramm bei 90 ° Lichtstreuwinkel (a) niedrig konzentrierte Lösung 1 ppm, 1000 µl; (b) höher konzentrierte Lösung 1000 ppm, 20,1 µl. Der Knick in der Partikelradiuskurve deutet auf Überladung des Kanals hin.	33
Abbildung 8: Injektion verschiedener Volumina (100 / 500 / 1000 µl) der gleichen Ag-Lösung c = 100 ppb. Fließmittel 0,05 % SDS mit 200 ppm NaAzid, 100 nm filtriert.	34
Abbildung 9: Injektion (je 1000 µl) verschiedener Konzentrationen (25 / 50 / 100 ppb) der gleichen Ag-Lösung. Fließmittel 0,05 % SDS mit 200 ppm NaAzid, 100 nm filtriert. Anmerkung: Der weitere Peak bei 46 min ff erscheint am Ende des Querflussgradienten bei einem Querfluss von 0 ml/min. Da Nano-Ag-Lösungen auf längere Zeit nicht stabil sind, kann dieser weitere Peak als das Herauswaschen größerer Partikel (Agglomerate) interpretiert werden.	34
Abbildung 10: Vergleich Lösemittelblindwert (blau, 1000 µl) mit Standardkonzentrationen Ag (schwarz: 25 ppb / rot: 100 ppb, je 1000 µl)	35
Abbildung 11: Probe Nanoadditiv für PET (Pulver in Tensidlösung) – (a) Vergleich verschiedener Lichtstreuwinkel (schwarz 35 °, rot 90 °, blau 145 °) und (b) Partikelradienverteilung (rot) in Abhängigkeit der Retentionszeit (blau Fraktogramm bei Lichtstreuwinkel 90 °).	36
Abbildung 12: AF4-Fraktogramm der Migrationslösung aus der PET Folie mit Nanoadditiv (schwarz) im Vergleich zum Blindwert 95 % Ethanol (rot).	36
Abbildung 13: Übereinander gelegte Fraktogramme der Überstände verschiedener Einwaagen von Organoclay in Tensidlösung: 0 (schwarz), 20 (rot), 50 (blau), 101 (hellgrün), 207 (orange), 397 (weinrot) und 632 mg (dunkelgrün) Organoclay in 100 ml Tensidlösung	37

Abbildung 14: Partikelgrößenverteilung (Organoclay 632 mg Einwaage), überlagert durch Fraktogramm bei Lichtstreuwinkel 90 ° (blau).	38
Abbildung 15: Vergleich der Fraktogramme einer Titannitridpulver-Suspension in Ethanol (rot, c = 0,1 %) und einer Nanosilber-Suspension (blau, c = 0,1 %). 20,1µl Injektionsvolumen mit Ethanol als Fließmittel	39
Abbildung 16: (a) Titannitridpulver (50 nm) in 0,2 % Novachem® dispergiert (20,1 µl Injektion einer 50 ppm Lösung, Fließmittel Ethanol). (b) Titannitridsuspension (100 ppm in Ethanol, 1 Stunde zentrifugiert bei 4500 U/min, Überstand abgenommen und 20 µl injiziert) im Vergleich mit Silberstandard (schwarz).	39
Abbildung 17: Titannitridpulver 0 ppb (rot), 10 ppb (grün), 100 ppb (blau) in ammoniakalischem Wasser (0,25 % NH ₃), Injektionsvolumen 1000 µl. Im Vergleich zu Silber (100 ppb, schwarz)	40
Abbildung 18: Partikelgrößenverteilungen in den Titannitrid-Fraktogrammen. (a) 50 ppm in Tensidlösung, 20,1 µl, vergl. Abbildung 16 a, (b) 100 ppm Suspension in Ethanol, 20,1 µl, vergl. Abbildung 16b, (c) 100 ppb in ammoniakalischem Wasser, 1000 µl, vergl. Abbildung 17.	40
Abbildung 19: 10 kDa PES-Membran Fraktogramm des 90° Detektors: Blindwert (rot) und 10 ppm Titannitridpulver (schwarz); Als Fließ- und Dispergiermittel wurde eine 0,2 %ige Novachemlösung verwendet. Injektion: 20,1 µl.	41
Abbildung 20: 30 kDa PVDF-Membran Fraktogramm des 90° Detektors: Blindwert (schwarz) und 100 ppm Titannitridpulver (rot); Als Fließ- und Dispergiermittel wurde eine 0,2 %ige Novachemlösung verwendet. Der zweite Peak nach 20 min stellt keine weitere Fraktion dar, sondern das verstärkte Herauswaschen von Partikeln bei einem Querfluss von 0 ml/min. Injektion: 20,1 µl.	42
Abbildung 21: Partikelgrößenverteilung des 100 ppm Titannitridpulvers in 0,2 % Novachem; Trennung mittels einer 30 kDa PVDF-Membran.	42
Abbildung 22: stark verrauschtes Signal eines Lösemittel-Blindwertes nach einem AF4-Run mit einer TiN-Probe.	43
Abbildung 23: Injektion verschiedener Volumina der gleichen Silberstandardlösung (c = 100 ng/ml, d ₅₀ = 10nm): rot 800 µl, blau 600 µl, hellgrün 400 µl, orange 200 µl, weinrot 100 µl, dunkelgrün 50 µl.	44
Abbildung 24: Reproduzierbarkeitsvergleich Injektionsvolumina (50 µl vs. 1000 µl einer 1:20 Verdünnung) Organoclay.	44
Abbildung 25: (a) Fraktogramm von 50 ppm TiN (d ₅₀ = 50 nm) in 0,05 % Novachem®, Injektion 20 µl, Fließmittel Ethanol. (b) Partikelgröße (rot = Radius) in Abhängigkeit von der Laufzeit (blau = Detektorsignal des 35° Lichtstreuwinkels).	50
Abbildung 26: TEM-Aufnahmen von Mikrotomschnitten einer PET-Flasche mit 20 ppm Titannitrid	51
Abbildung 27: Ausschnitt 50x50 µm ² der TiN-dotierten Flasche, links Fmax Scan, rechts Höhenprofil mit Farbscale	53
Abbildung 28: Ausschnitt 5x5 µm ² der TiN-dotierten Flasche, links Fmax Scan, rechts Höhenprofil mit Farbscale	53

Abbildung 29: Ausschnitt 5x5 μm^2 der TiN-dotierten Flasche, links Fmax Scan, rechts Höhenprofil mit Farbscale	53
Abbildung 30: Ausschnitt 50x50 μm^2 der Referenzflasche, links Fmax Scan, rechts Höhenprofil mit Farbscale	54
Abbildung 31: Ausschnitt 10x10 μm^2 der Referenzflasche, links Fmax Scan, rechts Höhenprofil mit Farbscale	54
Abbildung 32: Masterbatch-Granulat: nanoskaliges Titannitrid in LDPE	55
Abbildung 33: LDPE-Flachfolien dotiert mit nanoskaligen TiN (von links nach rechts): Referenzfolie ohne TiN, Folie + 0,01 % TiN, Folie + 0,05 % TiN, Folie + 0,1 % TiN	56
Abbildung 34: TEM-Aufnahmen von Mikrotomschnitten einer LDPE-Folie mit 1000 ppm Titannitrid	57
Abbildung 35: Kalibrierung des ICP-MS mittels Titan-Standard in angesäuerten Reinstwasser	59
Abbildung 36: Kalibrierung des ICP-MS mittels Titan-Standard in angesäuertes Tensidlösung (0,2 % Novachem)	60
Abbildung 37: Ausschnitt 20x20 μm^2 der 0,1 % TiN-dotierten Folie, links Fmax Scan, rechts Höhenprofil mit Farbscale	67
Abbildung 38: Ausschnitt 5x5 μm^2 der 0,1 % TiN-dotierten Folie, links Fmax Scan, rechts Höhenprofil mit Farbscale	67
Abbildung 39: Ausschnitt 20x20 μm^2 der Referenz-Folie, links Fmax Scan, rechts Höhenprofil mit Farbscale	67
Abbildung 40: Headspace-GC Screening auf flüchtige Substanzen	70
Abbildung 41: GC-FID Screening auf mittelflüchtige Substanzen	71
Abbildung 42: HPLC Screening auf nicht-flüchtige Substanzen	71
Abbildung 43: Berechnete Migration eines kugelförmigen 100 nm Radius Partikels für $D_{100\text{ nm}} = 1,25 \cdot 10^{-15} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ (nach Stokes-Einstein-Glg.) aus LDPE-Polymer in ein Lebensmittel nach 10 Tagen bei 60 °C	74
Abbildung 44: Berechnete Migration eines kugelförmigen 5 nm Radius Partikels für $D_{5\text{ nm}} = 2,5 \cdot 10^{-14} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ (nach Stokes-Einstein-Glg.) aus LDPE-Polymer in ein Lebensmittel nach 10 Tagen bei 60 °C	75
Abbildung 45: AF ⁴ -Einheit mit senkrecht stehendem Trennkanal	98
Abbildung 46: Fraktogramm von BSA (Mw 66 kDa). Aufgetragen ist die Lichtstreuung im Winkel von 90° zur Eintrittsrichtung des Laserstrahls. Der intensivste Peak stammt von den Monomeren des Proteins. Die zwei weiteren Peaks stammen von Dimeren und Trimeren des Proteins.	100
Abbildung 47: Fraktogramm von Polystyrolpartikeln mit einem mittleren Molekulargewicht von 63,9 kDa. Aufgetragen ist die Lichtstreuung im Winkel von 35°, 90° und 145° zur Eintrittsrichtung des Laserstrahls.	100
Abbildung 48: Anzahlgrößenverteilung von Polystyrolpartikeln mit einem mittleren Molekulargewicht von 63,9 kDa.	101

Abbildung 49: Methodenentwicklung zur Trennung von SiO ₂ -Partikeln (Levasil 30/300). Eluent 0,9 % NaCl. Dargestellt ist das das Lichtstreusignal im 90° Winkel. Die verschiedenen Farben der Fraktogramme repräsentieren die unterschiedlichen Querflussprofile, mit denen versucht wurde die Trennung zu optimieren.	103
Abbildung 50: Methodenentwicklung zur Trennung von SiO ₂ -Partikeln (Levasil 30/300). Eluent 15% Methanol. Dargestellt ist das das Lichtstreusignal im 90° Winkel. Die verschiedenen Farben der Fraktogramme repräsentieren die unterschiedlichen Querflussprofile, mit denen versucht wurde die Trennung zu optimieren.	104
Abbildung 51: Größenverteilung von SiO ₂ -Partikeln (Levasil 30/300). Eluent 0,9% NaCl.	104
Abbildung 52: Fraktogramm von SiO ₂ -Partikeln (Levasil 30/300). Eluent 0,2% NovaChem	105
Abbildung 53: Fraktogramm von SiO ₂ -Partikeln (Levasil 30/300). Eluent 5 mM Pyrophosphat.	106
Abbildung 54: Fraktogramm von SiO ₂ -Partikeln (Levasil 30/300). Eluent: 0,9% NaCl	106
Abbildung 55: Sonotrode zur direkten Ultraschallbehandlung der Proben.	108
Abbildung 56: Neue (oben)und gebrauchte (unten) Sonotrode. Deutlich zu erkennen sind die Abnutzungen an der Spitze der gebrauchten Sonotrode.	109
Abbildung 57: Vergleich der Lichtstreusignale (90°) einer Aerosilprobe (schwarz) und des reinen Lösungsmittels (violett). Das schwache Signal im reinen Lösungsmittel stammt von Titanpartikeln durch Abnutzung der Sonotrode.	109
Abbildung 58: Einfluss der Dispergiermethode auf die Größenverteilung von SiO ₂ -Partikeln (Aerosil R300). Sonotrode 50% (fett): gelb (1), orange (5), rot (10). Ultraschallbad: Hellgrün (1), mittelgrün (5) dunkelgrün (10). Ultraturrax: 50% - rosa (1) 50% - violett (5) 100% - hellblau (1) 100% dunkelblau (5). Die Zahlen in Klammern geben die Dauer der Behandlung in Minuten an.	111
Abbildung 59: Einfluss der Dauer der Dispergierung mittels Sonotrode auf die Größenverteilung von SiO ₂ -Partikeln (Aerosil R300). schwarz 50% (1); blau 50% (5); rot 50% (10); grün 50% (10, gepulst), violett 90% (1); rosa 90% (5); braun 90% (5, gepulst); gelb 50% (5), danach zentrifugiert. Die Prozentzahlen geben die Intensität an, die Zahlen in Klammern die Dauer der Behandlung in Minuten.	111
Abbildung 60: Oben: Querflussprofil. Unten: Fraktogramm und Größenverteilung von SiO ₂ -Partikeln (Aerosil R300). Eluent: 15% Methanol. Homogenisierung 15 min. bei 100%	112
Abbildung 61: Oben: Querflussprofil. Unten Fraktogramm und Größenverteilung von SiO ₂ -Partikeln (Aerosil R300). Eluent: 0,2% NovaChem. Homogenisierung 10 min. bei 95%	113
Abbildung 62: Fraktogramm von SiO ₂ -Partikeln (Aerosil R300). Eluent: 0,9% NaCl. Homogenisierung 15 min. bei 100%.	113

Abbildung 63: Verdünnungsreihe von Nanosilber NM-300K in Wasser. Die Zahlen geben die Konzentration in ppm (parts per million, bezogen auf die Masse) an.	114
Abbildung 64: Fraktogramm (UV-Detektor) von Nanosilber-Standard-Partikeln (NM-300K). Eluent H ₂ O, Querfluss 0,5 ml/min.	115
Abbildung 65: Kalibrierkurve von Nanosilber-Standard-Partikeln (NM-300K). Eluent H ₂ O, Querfluss 0,5 ml/min.	115
Abbildung 66: Fraktogramme (UV-Detektor) von Nanosilber-Partikeln (NM-300K) bei verschiedenen Querflüssen. Eluent H ₂ O.	116
Abbildung 67: Fraktogramm (Lichtstreu-Detektor bei 90°) von Nanosilber-Partikeln (NM-300K) bei verschiedenen Querflüssen. Eluent H ₂ O.	116
Abbildung 68: Fraktogramm (UV-Detektor) von Nanosilber-Partikeln (NM-300K) und mittels Lichtstreuung gemessene Partikelradien. Eluent H ₂ O.	117
Abbildung 69: Größenverteilung von Nanosilber-Partikeln (NM-300K).	118
Abbildung 70: Einfluss der Ultraschalldauer auf die Größenverteilung von SiO ₂ -haltigen Nahrungsergänzungsmittel (Produkt Nr. 1).	122
Abbildung 71: Darstellung des Einflusses der Ultraschalldauer (Sonotrode) auf die Größenverteilung eines SiO ₂ -haltigen Nahrungsergänzungsmittels (Produkt Nr. 1, Tabelle 1). Die hellblauen Balken stellen die relative Nanopartikel-Konzentration dar (linke Achse). Die roten Quadrate repräsentieren das Maximum der Größenverteilung, die roten Striche den gesamten Bereich der Größenverteilung (rechte Achse).	123
Abbildung 72: Größenverteilung eines SiO ₂ -Nahrungsergänzungsmittels („Nano“ Produkt Nr. 1). rot: Verteilungsdichte, blau: kumulative Verteilung.	128
Abbildung 73: Größenverteilung eines SiO ₂ -Nahrungsergänzungsmittels („Nano“ Produkt Nr. 2). rot: Verteilungsdichte, blau: kumulative Verteilung.	128
Abbildung 74: Größenverteilung eines SiO ₂ -Nahrungsergänzungsmittels („Nano“ Produkt Nr. 3). rot: Verteilungsdichte, blau: kumulative Verteilung.	129
Abbildung 75: Größenverteilung eines SiO ₂ -haltigen Nahrungsergänzungsmittels (Produkt Nr. 5). rot: Verteilungsdichte, blau: kumulative Verteilung.	129
Abbildung 76: Größenverteilung eines SiO ₂ -haltigen Nahrungsergänzungsmittels (Produkt Nr. 6). rot: Verteilungsdichte, blau: kumulative Verteilung.	130
Abbildung 77: Größenverteilung eines SiO ₂ -haltigen Nahrungsergänzungsmittels (Produkt Nr. 7). rot: Verteilungsdichte, blau: kumulative Verteilung.	130
Abbildung 78: Größenverteilung eines SiO ₂ -Nahrungsergänzungsmittels (Produkt Nr. 8). rot: Verteilungsdichte, blau: kumulative Verteilung.	131
Abbildung 79: Untersuchte Nanosilber-Proben (kolloidales Silber). Die Zahlen geben die nominellen Konzentrationen in ppm laut Hersteller an.	133
Abbildung 80: Fraktogramm (UV-Detektor) von Nanosilber-Partikeln (Probe Nr.2) und mittels Lichtstreuung gemessene Partikelradien. Eluent H ₂ O.	134
Abbildung 81: Größenverteilung von Nanosilber-Partikeln (Probe Nr. 2).	134