

# Methoden zur Untersuchung von Papier, Karton und Pappe für Lebensmittelverpackungen und sonstige Bedarfsgegenstände

## 7. Multimethoden-Methoden für einzelne Stoffgruppen, die in mehreren Laboratorien erprobt wurden

### 7.5 Aldehyde

#### 1. Allgemeine Angaben

Bei der angeführten Methode handelt es sich um ein erprobtes Verfahren, das vom *LAVES • Institut für Bedarfsgegenstände Lüneburg* entwickelt wurde.

Diese Prüfvorschrift beschreibt ein modifiziertes Verfahren mittels HPLC/DAD zur Bestimmung von Aldehyden in Papier, Pappe für den Lebensmittelkontakt.

#### Normative Verweisungen

**DIN 54603 von 2008-08** - Bestimmung von Glyoxal in Papier, Punkt 10.1.1 Bestimmung Massenanteil Glyoxal

**DIN EN 645:1994-01**- Papier und Pappe vorgesehen für den Kontakt mit Lebensmitteln, Herstellung eines Kaltwasserextrakt (Jan 1994)

**DIN EN 647:1994-01**- Papier und Pappe vorgesehen für den Kontakt mit Lebensmitteln, Herstellung eines Heißwasserextrakt (Jan 1994)

**DIN EN 1541:2001-07**- Papier und Pappen vorgesehen für den Kontakt mit Lebensmitteln, Bestimmung von Formaldehyd in einem wässrigen Extrakt

**EN ISO 17226-1:2008-11** –Leder – Chemische Prüfung – Teil 1: Bestimmung des Formaldehydgehaltes in Leder durch Hochleistungs-Flüssigkeitschromatografie

**DIN ISO 536:2012** – Papier und Pappe, Bestimmung der flächenbezogenen Masse

#### 2. Grundlagen des Verfahrens

Je nach Anwendungsbereich und Probenart wird ein Kalt-/ Heißwasserextrakt gem. EN 645 bzw. 647 verwendet. Ein aliquoter Teil des Probenextraktes wird mit Acetonitril und 2,4-Dinitrophenylhydrazin versetzt, wobei Aldehyde und Ketone zu den entsprechenden Hydrazonen reagieren. Diese werden mit Hilfe der LC getrennt und bei der Wellenlänge 354 nm bzw. 384 nm mittels DAD detektiert und quantifiziert.

#### 3. Chemikalien und Lösungen

Es wird bi-destilliertes Wasser verwendet.

| Chemikalie   | Konzentration        | Sonstige Angaben                                       |
|--|----------------------|--|
| o-Phosphorsäure                                    | w = 85%ig (konz)     | k. A.  |
| 2,4-Dinitrophenylhydrazin-<br>Phosphorsäure-Lösung | 0,2 M<br>(ca. 3 %ig) | DNHP   |
| DNPH-Reagenz                                       | c ~ 0,1%ig           | 3,5 g DNPH (4.2)/100<br>mL o-Phosphorsäure<br>für HPLC |
| Acetonitril  | k. A.                |  |
| Formaldehyd  | 37 %                 | 1,090 g/ml   |
| Glutardialdehyd                                    | 50 %                 | 1,060 g/ml   |
| Valeraldehyd                                       | 98 %                 | 0,810 g/ml   |
| Hexanal  | 98 %                 | 0,815 g/ml   |
| o-Tolualdehyd                                      | 98 %                 | 1,035 g/ml   |
| m-Tolualdehyd                                      | 97 %                 | 1,019 g/ml   |
| p-Tolualdehyd                                      | 97 %                 | 1,019 g/ml   |

**Tabelle 1** Chemikalien und Lösungen

- 3.1 Aus der Formaldehyd Lösung wird eine Stammlösung A der Konzentration **0,8 g/L (815 mg/L)** hergestellt.
- 3.2 Aus der Glutardialdehyd Lösung wird eine Stammlösung A der Konzentration **1130 mg/L** hergestellt.
- 3.3 Um eine Stammlösung A von Hexanal, Valer- und Tolualdehyd herzustellen, wird in einzelne 100 mL Messkolben Acetonitril (siehe Tabelle 1) vorgelegt und 100 µL der jeweiligen Handelslösung (Hexanal, Valer- und Tolualdehyd) pipettiert und mit Acetonitril aufgefüllt.  
 Valeraldehyd → c = **810 mg/L**// Hexanal → c = **815 mg/L**// Tolualdehyd → c = **1035 mg/L**
- 3.4 Standard-B-Mix: In einem 50 mL Messkolben wird Wasser vorgelegt und jeweils 1 mL Stammlösung A (3.1/ 3.2/ 3.3) pipettiert und mit Wasser aufgefüllt. Daraus resultieren folgende Konzentrationen:  
 Formaldehyd → c ~ 16 µg/mL                      Glutardialdehyd → c ~ 23 µg/mL  
 Valeraldehyd → c = 16,2 µg/mL                      Hexanal → c = 16,3 µg/mL  
 Hinweis: Von Formaldehyd und Glutardialdehyd müssen die genauen Konzentrationen c ermittelt werden.
- 3.5 Tolualdehyd Standardlösung B: In einen 50 mL Messkolben wird Wasser vorgelegt und 1 mL Stammlösung A (3.3) pipettiert. Anschließend wird mit Wasser aufgefüllt. Daraus resultiert folgende Konzentration: **c = 20,7 µg/mL**

#### 4. Geräte

- 4.1 2 Jodzahlkolben, 300mL mit Stopfen  
 4.2 Wärmeschrank bei 40°C  
 4.3 Wasserbad  
 4.4 Druckfiltrationsgerät  
 4.5 Messkolben, diverse Volumina  
 4.6 Pipetten, variabel  
 4.7 Spritzen mit Membranfilter, 0,25 µm Celluloseacetat

- 4.8 HPLC-DAD mit den Wellenlängen 354 und 384 nm
- 4.9 Membranfiltration

## 5. Probenvorbereitung

- 5.1 Die Probe wird bis zur Analyse in Alufolie eingeschlagen
- 5.2 Eine repräsentative Probenmenge wird in 1 cm<sup>2</sup> große Stücke geschnitten.

## 6. Durchführung

### 6.1 Extraktion Papier und Pappe

- 6.1.1 Herstellung des Kaltwasserextraktes gemäß EN 645
- 6.1.2 Herstellung des Heißwasserextraktes gemäß EN 647
- 6.1.3 Die Wasserextrakte sollen für die weitere Analyse zeitnah weiterverwendet werden.

### 6.2 Herstellung der Messlösungen

#### 6.2.1 Probenmesslösung

In einen 10 mL Messkolben 4 mL Acetonitril (siehe Tabelle 1) und 0,5 mL DNPH-Reagenz (siehe Tabelle 1) vorlegen, durch leichtes Schwenken mischen. 5 mL Aliquot vom Probenextrakt (6.1.1 bzw. 6.1.2) dazugeben, mit Wasser bis zur Marke auffüllen und gut mischen.

#### 6.2.2 Reagenzien-Blindwerte

In einen 10 mL Messkolben 4 mL Acetonitril (siehe Tabelle 1) und 0,5 mL DNPH-Reagenz (siehe Tabelle 1) vorlegen und mit Wasser bis zur Marke auffüllen und gut mischen.

### 6.3 Kalibrierung

In 10 mL Messkolben 4 mL Acetonitril (siehe Tabelle 1) und 0,5 mL DNPH-Reagenz (siehe Tabelle 1) vorlegen, mit etwas Wasser versetzen und durch leichtes Schwenken mischen. Für eine Standardreihe von 1-10 werden 10 µl, 25µl, 50 µl, 75 µl, 100 µl, 250 µl, 500 µl, 1 mL, 1,5 mL, 2,5 mL des **Standard-A-Mixes** (3.4) und der **Standardlösung B** (3.5) dazu pipettiert: Die Messkolben werden sofort mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt und gut gemischt.

### 6.4 Messung mittels LC

#### 6.4.1 LC-Bedingungen

|              |   |
|--------------|---|
| Trennsäule   | RP-18, L: 125 mm, D: 4, 5µm,  |
| Eluent 1     | Wasser  |
| Eluent 2     | Acetonitril   |
| mit Gradient | 0,00 min 60 B →1,00 min 90 B →4,00 min 90 B →5,00 min 60 B<br>→Laufzeit 6 min |
| Fluss        | 1 mL/min  |
| Injektion    | 60 µL   |
| Säulenofen   | 40°C  |
| DAD          | 354 und 384 nm  |

## 6.4.2 Durchführung der LC-Messung

Die Lösungen von 6.3 mindestens 60 min stehen lassen, jedoch nicht länger als 180 min, dann abfüllen und messen.

## 7. Erläuterungen

- 7.1 Bei höheren Konzentrationen des DNPH-Reagenzes (>0,1 %ig) kommt es zur Ausfällung im Messansatz. Bei niedriger Konzentration (z.B. 0,03 %ig) reicht das Reagenz nicht aus. Die in dieser Vorschrift genannte Konzentration (4.2.1) reicht für den Kalibrierbereich von 6.3 aus
- 7.2 Hinweis: Falls die Lösungen leicht trübe sind, werden sie kurz vor der Messung mittels Membranfilter (4.9) filtriert.
- 7.3 Das DNPH-Reagenz wird ebenfalls bei 354 bzw. 384 nm detektiert. Der Peak des Reagenzes ist deutlich getrennt von den Aldehyd-Peaks.
- 7.4 Die Toluualdehyde (o, m, p) haben bei den oben genannten LC-Bedingungen die gleiche Retentionszeit, so dass hier keine Unterscheidung möglich ist. Toluualdehyde lassen sich empfindlicher bei 384 nm und Valeraldehyd bei 354 nm detektieren.
- 7.5. LC-Chromatogramme:

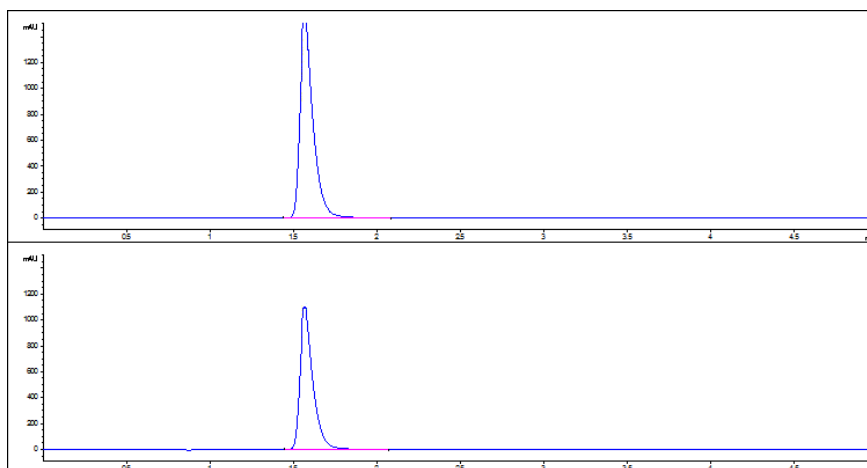


Abb.1: LC-Chromatogramm Blindwert

DNPH:

1,55 min.

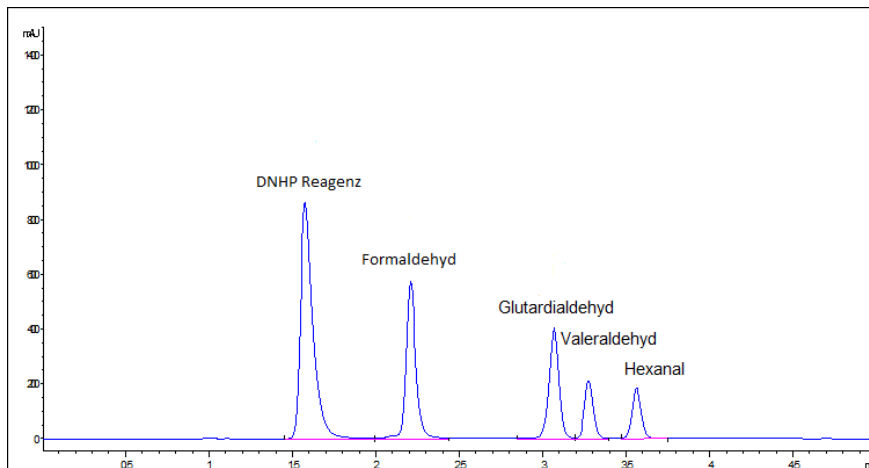


Abb. 2: LC-Chromatogramm B-Mix-Standards bei 354 nm

|                 |          |
|-----------------|----------|
| DNPH-Reagenz    | 1,55 min |
| Formaldehyd     | 2,21 min |
| Glutardialdehyd | 3,07 min |
| Valeraldehyd    | 3,28 min |
| Hexanal         | 3,56 min |

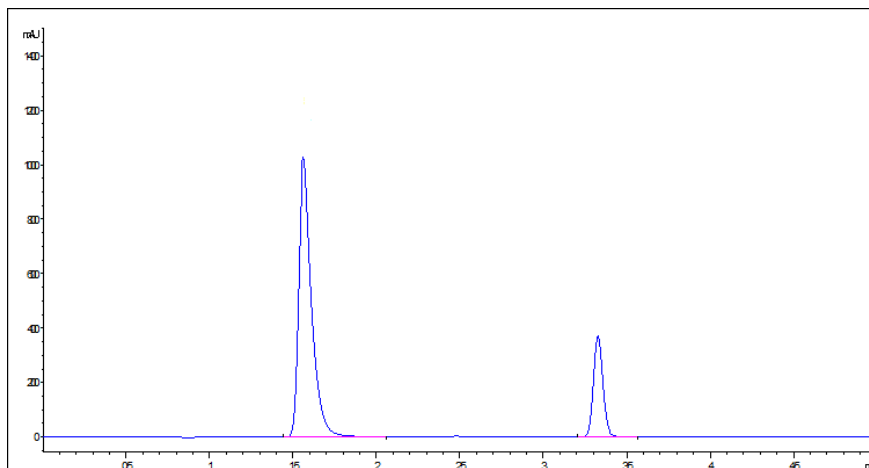


Abb. 3: LC-Chromatogramme der Toluualdehyde bei 384 nm

|               |          |
|---------------|----------|
| Toluualdehyd: | 3,35 min |
|---------------|----------|

## 8 Auswertung

### 8.1 Berechnung in mg/kg Probe

Der Gehalt des jeweiligen Aldehydes wird als  $w$  in mg/kg Probe berechnet.

$$w = \frac{c \cdot V_1 \cdot V_0}{A \cdot m}$$

|                |  |
|----------------|--|
| w              | = Gehalt des jeweiligen Aldehydes in mg/kg   |
| c              | = Konzentration des jeweiligen Aldehydes aus dem Report in µg/mL   |
| V <sub>0</sub> | = Extraktionsvolumen   |
| V <sub>1</sub> | = Messansatz in mL (hier 10 mL)  |
| A              | = Aliquot des Probenextraktes (hier 5 mL)  |
| m              | = Probeneinwaage in g Umrechnung von µg in g und g in kg = $\frac{\text{mg} \cdot 1000 \text{ g}}{1000 \mu\text{g} \cdot \text{kg}}$ |

## 8.2 Berechnung des Gehaltes w<sub>2</sub> in mg/dm<sup>2</sup> Flächenmasse berechnet

$$w_2 = \frac{w_1 \cdot F_m}{1000}$$

|                |   |
|----------------|---|
| w <sub>2</sub> | = Formaldehyd Gehalt in mg/dm <sup>2</sup>        |
| F <sub>m</sub> | = Flächenmasse in g/dm <sup>2</sup>               |
| 1000           | = Umrechnung w <sub>1</sub> von mg/kg zu mg/1000g |

## 9 Zuverlässigkeit des Verfahrens

| Aldehyd         | c [µg/mL] | NG [mg/kg] | NG [µg/dm <sup>2</sup> ] | x     | n | Sr    | RSD  |
|-----------------|-----------|------------|--------------------------|-------|---|-------|------|
| Formaldehyd     | 0,001     | 0,05       | 0,15                     | 0,852 | 8 | 0,011 | 1,33 |
| Hexanal         | 0,008     | 0,40       | 1,20                     | 0,887 | 8 | 0,013 | 1,42 |
| Glutardialdehyd | 0,010     | 0,50       | 1,50                     | 1,195 | 8 | 0,015 | 1,23 |
| Valeraldehyd    | 0,010     | 0,50       | 1,50                     | 0,894 | 8 | 0,012 | 1,34 |
| o-Tolualdehyd   | 0,010     | 0,50       | 1,50                     | 1,195 | 8 | 0,007 | 0,62 |

Tabelle 2 Aldehyde (LC/DAD)

NG: Nachweisgrenze (µg/dm<sup>2</sup> ausgehend von einer FM von 300 g/m<sup>2</sup>)

X: Mittelwert µg/ml

n: Anzahl der Bestimmungen

Sr: Wiederholstandardabweichung [µg/ml]

RSD: Reststandardabweichung [%]

## 10 Prüfbericht

Art und Bezeichnung der Probe

Flächenmasse in g/m<sup>2</sup> bzw. dm<sup>2</sup>

Gehalt an Aldehyd in mg/kg bzw. mg/dm<sup>2</sup>

Gegebenenfalls Änderungen in der Vorschrift.

## 11 Literatur

[1] California Environmental Protection Agency –Air Resources Board-, SOP MLD 104, Standard Operating Procedure for the Determination of Aldehyde and Ketone Compounds in automotive Source samples by HPLC, April 2006,