

FÓKUSZBAN

**ÉLELMISZEREK CSOMAGOLÓANYAGAINAK
VIZSGÁLATA**



Szigeti Tamás János¹, Szekeres Zoltán¹, Kovács Ágnes¹

Érkezett/Received: 2014. február/February – Elfogadva/Accepted: 2014. március/March

Csomagolóanyagok szerves migránsai és a kioldódott vegyületek vizsgálati lehetőségei

1. Összefoglalás

A világon az élelmiszerekkel rendeltetésszerűen érintkezésbe kerülő anyagok száma eléri a négyezret [1], ezek között a leggyakrabban valamilyen élelmiszer-csomagolóanyagot találunk. Az ezekből az anyagokból való kioldódás révén az élelmiszereinkbe kerülő vegyületek hátrányos hatást gyakorolhatnak az élelmiszert fogyasztó ember egészségére, ezért fontos, hogy az élelmiszerek csomagolóanyagait az arra alkalmas laboratóriumokban rendszeresen vizsgálják.

Laboratóriumainkban célul tűztük ki az élelmiszerek csomagolóanyagainak ellenőrzésére alkalmas vizsgálati módszerek adaptálását, illetve új vizsgálati módszerek kidolgozását. Az Európai Unió hatályos, vonatkozó jogszabályainak megfelelően három részterületen dolgoztunk: vizsgáltuk az élelmiszerekkel kapcsolatba kerülő anyagok érzékszervi hatásait, összes és specifikus kioldódási jellemzőit. Az élelmiszerekkel érintkező anyagok érzékszervi tulajdonságokat befolyásoló hatásait szabványos háromszög-próba vizsgálati módszerrel vizsgáltuk [2]. A csomagolóanyagok fémtartalmát ICP-OES és ICP-MS technikával határoztuk meg [3], [4].

Jelen dolgozatunk „Anyag és módszer” c. szakaszában néhány, az élelmiszerekkel rendeltetésszerűen kapcsolatba kerülő anyagból kioldódó vegyület azonosításának és mennyiségi meghatározásának módszereiről fogunk írni. Az érzékszervi vizsgálatok és a csomagolóanyagokból kioldódó fémek vizsgálati módszereit nem tárgyaljuk.

A kioldódási kísérleteket modelloldatok használatával végeztük. Az élelmiszerekkel érintkező anyagokat ioncserélt vízzel, 3%-os ecetsavval, 20, 50, illetve 96%-os etanol modelloldatokkal kezeltük. A kioldódott összes anyag mennyiségét gravimetriásan határoztuk meg. Az egyedileg azonosítandó kioldódott molekulák közül a butil-hidroxi-toluol (BHT), dibutil-ftalát, benzil-butyl-ftalát, bis-(2-etilhexil)-ftalát, diizononil-ftalát, diizodecil-ftalát, Irganox 1076 (octadecyl-3-(3,5-di-tert-butyl-4-hidroxyphenyl)-propionate) vizsgálatát tűztük ki célul, diciklohexil-ftalát kísérő standard és 2-fluoro-bifenil belső standard használata mellett. E célból származékképzés nélküli GC/MS technikán alapuló módszert dolgoztunk ki, illetve a biszfenol-A (2,2-Bisz-(4-hidroxifenil)-propán) mennyiségének meghatározására szintén származékképzés nélküli HPLC-FLD technikával végezhető, szabványos módszert honosítottunk meg.

Kulcsszavak: kioldódási vizsgálat, migrációs teszt, csomagolóanyagok vizsgálata, butil-hidroxi-toluol (BHT), dibutil-ftalát, benzil-butyl-ftalát, bisz-(2-etilhexil)-ftalát, dii-

zononil-ftalát, diizooktil-ftalát, Irganox 1076 (octadecyl-3-(3,5-di-tert-butyl-4-hidroxifenil)-propionát), biszfenol-A (2,2-Bisz-(4-hidroxifenil)-propán);

¹ WESSLING Hungary Kft.

2. Bevezetés és irodalmi áttekintés

Az egyes országok szakhatóságainak és tudományos intézményeinek az élelmiszereket fogyasztó ember biztonságának szavatolása az egyik legfontosabb feladata. Az élelmiszerbiztonság fenntartása Magyarország EU-csatlakozását követően közösségi kötelezettségünké is vált, aminek átfogó vázát 2002 óta egy közösségi keretrendelet képezi. E rendeletet a témában érintett szakemberek az Európai Unió „élelmiszer törvénye” megjelöléssel is emlegetik [5].

Az élelmiszereket előállító üzemek termékeiket általában csomagolt állapotban hozzák forgalomba. A csomagolás hordozza az élelmiszerek kötelező jelölési adatait, a marketing célú üzeneteket, lehetővé teszi az eladásra szánt mennyiség kellő pontosságú bemérését, valamint elszigeteli az élelmiszert a környezettől, de a környezetet is védi az élelmiszer esetleges szennyező hatásaitól. Az élelmiszerek és csomagolóanyagok folyamatos kölcsönhatásban állnak egymással. Az élelmiszerek biztonságát így nemcsak az élelmiszer és alapanyagainak fizikai, kémiai, mikrobiológiai, molekuláris biológiai minősége befolyásolja, hanem csomagolt termékek esetén a csomagolóanyagok minősége is. Az *élelmiszerekkel közvetlenül érintkező anyagok* jelölésére a nemzetközi szakirodalom az **FCM** (*Food Contact Materials*) rövidítést használja.

A csomagolóanyagokból az élelmiszerekbe kerülő vegyületek kimutatása, mennyiségi meghatározása nagy kihívást jelent az élelmiszerek toxikológiai vizsgálatát folytató laboratóriumi szakemberek számára. Koni Grob becslése szerint élelmiszereinkbe $1 \mu\text{g/kg}$ szint alatt több mint 50.000 molekula vándorolhat át, de a $100 \mu\text{g/kg}$ koncentráció feletti migráns vegyületeknek a száma is tekintélyes. A migránsok közül számos szennyező vegyület ellenőrzését még nem oldották meg a gyakorlatban. Ennek oka az e vegyületekről szerzett ismeretek hiánya, az élelmiszeripari szektor laza ellenőrzöttsége, valamint a jogi szabályozás elégtelen volta [6].

A műanyag termékek előállítása során nagyszámú alapanyagot, segédanyagot, stabilizátort, antioxidánst, csúszást elősegítő anyagot, lágyítót és színezéket használnak. A műanyagokat is tartalmazó csomagolóanyagokból ennél fogva számos nem-kívánt vegyület kerülhet át az élelmiszerekbe, amelyek között szép számmal akadnak az ember egészségét bizonyítottan veszélyeztető vegyületek [7]. Az élelmiszerekkel közvetlenül érintkező anyagokkal szembeni minőségi követelményeket az Európai Parlament és Tanács 2014-ben kiadott rendelete szabályozza. A rendelet szövege szerint *“minden olyan anyagnak vagy tárgynak, amelyet arra szántak, hogy közvetlenül vagy közvetve érintkezésbe kerüljön élelmiszerekkel, megfelelő mértékben közömbösnek kell lennie annak megakadályozására, hogy olyan mennyiségű anyag kerüljön át belőle az élelmiszerbe, amely veszélyezteti az emberi egészséget, elfogadhatatlan változást idézhet elő az élelmiszer összetételében, vagy az élelmiszer érzékszervi tulajdonságainak rosszabbodását idézheti elő”* [8].

A hagyományos csomagolóanyagokat, mint a porcelánt, a különböző üvegeket, a bádogot, a papírt, a fémekeket évszázadok óta alkalmazzák. Talán az egyik legkorábbi ipari csomagolási technológia egy francia cukrász, Nicolas Appert nevéhez, a konzerv feltatá-lójához köthető. Appert 1795-ben a francia hadsereg élelmezésének biztosításához vastagfalú üvegedényekbe töltött élelmiszereket, az edényeket lezárta és forró vízzel hőkezelt. Az ilyen módon tartósított élelmiszerek hónapokig megtartották frissességüket, fogyaszthatóak maradtak [9].

Az egyes anyagok alkalmasságát élelmiszerek csomagolásának céljaira nem régóta vizsgálják. A csomagolóanyag és az élelmiszer kedvezőtlen kölcsönhatásának emlékezetes példája a Sir John Franklin kapitány felfedező útján (1845–1848) bekövetkezett tragédia az Északnyugati Átjáró keresése közben. Az expedíció legénységének ellátására több évre elegendő, az akkori technológia szerint ólomforrasszal lezárt konzervet hajóztak be. [10]. A gondos előkészítés ellenére a balszerencsés expedíciót a 129 fős legénység egyik tagja sem élte túl. A jég fogságába került áldozatok exhumálása utáni vizsgálatok során csontmaradványaikban elektrotermikus atomabszorpciós spektrometriás technikával 110 és 151 mg/kg közé eső mennyiségű ólomot mutattak ki a csontok szárazanyag-tartalmára vonatkoztatva (a csontok ólomtartalma normális körülmények között 5 és 14 mg/kg közé esik) [11]. Az áldozatok csontjaiban talált, mintegy 10-20-szoros ólom mennyiség alapján feltételezhető, hogy a mostoha körülmények közé került legénység tragédiáját többek között a konzervekből a testükbe kerülő nagy mennyiségű ólom is okozhatta. E tragikus történet az intő példa arra nézve, hogy az emberi fogyasztás céljára szánt termékek csomagolóanyagainak alkalmasságát azok felhasználása előtt alaposan meg kellett volna vizsgálni.

Az élelmiszerek csomagolására használt anyagok és az élelmiszerek között anyagátadási folyamatok zajlanak, amelyeknek során a csomagolóanyag komponensei az élelmiszerbe, az élelmiszer bizonyos összetevői pedig a csomagolóanyagba diffundálnak.

Az csomagolóanyagokból az élelmiszerekbe difundáló vegyületek kimutatása, mennyiségi meghatározása és epidemiológiai vizsgálata új kihívást jelent az élelmiszerlánc-biztonsággal foglalkozó szakemberek és intézmények számára. Leszögezhetjük, hogy a csomagolóanyagok migránsai az élelmiszerek egyik legfontosabb szennyezői közé sorolhatóak. A közfelfogásban azonban nem mindig tekintik e vegyületeket illegális szennyezőknek, annak ellenére, hogy veszélyük abban áll, hogy alacsony dózisban ugyan, de tartósan szennyeznek élelmiszereinket. Ha csak a karcinogén hatású formaldehid migrációját tekintjük a polietilén-tereftalát (PET) anyagú palackokból, illetve a melaminból készült étkezészetekből, érzékelhetjük, hogy milyen sok embert érint a toxikus expozíció a műanyag edények és eszközök rendkívül széleskörű elterjedése miatt. Ne feledkezzünk meg az USA-ban és Európában legálisan használt endokrin diszrup-

Organic migrants of food contact materials and analytical possibilities of the compounds leached

Tamás János Szigeti, Zoltán Szekeres, Ágnes Kovács

Keywords: leaching test, migration testing, analysis of food contact (packaging) materials, butylhydroxytoluene (BHT), dibutyl phthalate, benzyl butyl phthalate, bis(2-ethylhexyl) phthalate, diisononyl phthalate, diisooctyl phthalate, irganox 1076 (octadecyl 3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)-propionate), bisphenol-A;

1. Summary

There are four thousand materials in the world regularly coming into contact with foods [1], most of them some kind of packaging materials. Compounds leaching from these materials and entering our foods can have a detrimental effect on the health of the person consuming the food, so it is very important to have food contact materials tested in suitable laboratories.

It was a goal of our laboratory to adapt analytical methods suitable for the inspection of food packaging materials, and to develop new analytical methods. We have been active in the three specific areas covered by relevant European Union regulations: organoleptic effects of the materials coming into contact with foods, and their overall and specific leaching characteristics have been investigated. Effects of materials coming into contact with foods, influencing organoleptic properties, were investigated using a standard triangle test [2]. Metal content of packaging materials was determined by ICP-OES and ICP-MS techniques [3], [4].

In the „Materials and methods” section of this paper, methods are described for the identification and quantitative determination of compounds leaching from certain substances regularly coming into contact with foods. Organoleptic testing and analytical methods of metals leaching from packaging materials are not discussed.

Leaching tests were performed using model solutions. Materials coming into contact with foods were treated with deionized water, 3% acetic acid, 20, 50 or 96% ethanol model solutions. Total dissolved solids were determined by gravimetry. Individual components to be analyzed were butylhydroxytoluene (BHT), dibutyl phthalate, benzyl butyl phthalate, bis(2-ethylhexyl) phthalate, diisononyl phthalate, diisodecyl phthalate, irganox 1076 (octadecyl 3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propionate), using dicyclohexyl phthalate surrogate standard and 2-fluorobiphenyl internal standard. To this end, a GC/MS method without derivatization was developed, while for the determination of bisphenol-A (4,4'-(propane-2,2-diyl)-diphenol), a standard HPLC-FLD method without derivatization was adapted.

2. Introduction and literature overview

It is one of the most important tasks of the special authorities and scientific institutes of individual countries to guarantee the food safety for the people consuming foods. Following Hungary's joining the EU, maintaining food safety became our community responsibility, based on the general principles set forth in a community

regulation since 2002. This regulation is referred to by expert of the topic as the „food law” of the European Union [5].

Products of food manufacturing plants are usually distributed in a packaged state. The surface of packaging is wearing the mandatory labeling data and marketing messages, it facilitates exact measurement of the food amount to be sold, separates the food from the environment, and also protects the environment from possible contaminating effects of the food. Foods and their packaging materials are constantly interacting with each other. Therefore, food safety is not only influenced by physical, chemical, microbiological and molecular biological quality of the foods and their raw materials, but, in the case of packaged foods, also by the quality of packaging materials. Materials coming into direct contact with foods are designated in international scientific literature as **FCM** (*Food Contact Materials*).

Detection and quantitative determination of compounds transferred from packaging materials into foods poses a great challenge to laboratory experts performing toxicological analyses of foods. According to the estimation of Koni Grob, there could be more than 50,000 migrants into our foods below the 1 µg/kg level, but even the number of migrant compounds above the 100 µg/kg concentration is substantial. Control of many migrants have not been solved yet in practice. This is due to a lack of knowledge of these compounds, loose regulation of the food sector, and also insufficient legal regulation [6].

When manufacturing plastic products, many raw materials, processing aids, stabilizers, antioxidants, lubricants, plasticizers and dyes are used. Therefore, many unwanted compounds can migrate from packaging materials containing plastics into foods, several of which are proven to be hazardous to human health [7]. Quality requirements of materials intended to come into contact with foods are regulated by Regulation (EC) No. 1935/2004 of the European Parliament and the Council. According to the regulation “*any material or article intended to come into contact directly or indirectly with food must be sufficiently inert to preclude substances from being transferred to food in quantities large enough to endanger human health or to bring about an unacceptable change in the composition of the food or a deterioration in its organoleptic properties*” [8].

Traditional packaging materials such as china, different glasses, tin, paper and metals have been used for centuries. One of the earliest industrial packaging techniques was developed by a French confectioner, Nicolas Appert, inventor of canned food. In 1795, to provide food to the French army, foods were placed in thick-walled glass vessels by Appert, the vessels were closed and treated by hot water. Foods conserved this way remained fresh and consumable for months [9].

It has not been long since testing of the suitability of certain materials for packaging foods have been investigated. A memorable example of the unfavorable interaction between the food and its packaging material was the tragedy during the expedition of Captain Sir John Franklin (1845–1848) when searching for the Northwest Passage. Their cargo included several years' worth of tinned food supplies that had lead soldering [10]. Despite careful preparations, none of the crew of 129 survived the fateful expedition. During the analysis after exhumation of the victims that were trapped in ice, lead concentrations between 110 and 151 mg/kg dry matter were detected in the bone residues by electrothermal atomic absorption spectrometry (normal lead content of bones is between 5

tor vegyületekről, a nonilfenolról, a biszfenol-A-ról, a triklózanról és egyéb ftalát típusú lágyító szerekről sem! A világon az élelmiszerekkel érintkező anyagok száma eléri a négyezret, ezek számos olyan polimerizációs mellékterméket, szennyeződést, bomlásterméket tartalmazhatnak, amelyeket nem szándékosan kevernek az élelmi láncba [1].

Koni Grob egy előadásában arra figyelmeztetett, hogy az élelmiszerekkel érintkező műanyagok lágyító szereit között a jövőben többek között a poliadipátok széleskörű használata várható, amelyeknek migránsait folyamatosan ellenőrizni kellene. Az európai előírások szerint e vegyületcsoportból legfeljebb 30 mg/kg szennyeződés engedhető meg az élelmiszerekben dibutil-adipátra átszámítva [12].

Fontos feladat lehet a csomagolószerek foto-iniciátorok migrációjának nyomkövetése is az élelmiszerek jelölésére használt tintákból. Egy vizsgálat-sorozatban az Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság (EFSA) a 4-methylbenzophenone (4MBP) megjelenését észlelte cerealia készítményekben. Esetünkben különösen érdekes, hogy a „kioldódási” folyamat szilárd felületek érintkezése révén ment végbe műzlikészítmények és azok papírból készült csomagolóanyaga között [13].

E fejezet végén hadd foglaljam össze azon vegyületek néhány jellemzőjét, amelyekhez laboratóriumunkban analitikai módszert dolgoztunk ki és honosítottunk meg. Az antioxidáns hatású butilhidroxi-toluol LD₅₀-értéke patkányokon 3550 mg/kg [14]. A ftalátok toxicitása jóval kisebb, mint a BHT mérgezősége. A butil-benzil-ftalát 23.000 mg/kg [15], vagy a a bisz-(2-etilhexil)-ftalát toxicitása 30.000 LD₅₀-értékkel [16] jellemezhető. A kedvezőnek tűnő toxicitási adatok ellenére e vegyületek biológiai hatása mégis jelentős. A ftalátok vegyületcsoportjának tagjai krónikus expozíció esetén zavart okozhatnak a melegvérűek reprodukciós szervei kialakulása során [17]. Az antioxidáns Irganox 1076 a máj mikroszomális rendszerében válthat ki zavarokat [18]. A biszfenol-A-t fentebb már mint endokín diszruptort említettük. Mivel ez a vegyület napi gyakorisággal kerülhet a tápcsatornába, Pant és munkatársai megmérték az LD₅₀-értékét. Nos, e vegyület letális dózisát 35 mg/kg értéknek találták felnőtt, nőivarú albínó patkányokon intravénás adagolással [19].

A következőkben azt tekintjük át, hogy milyen fizikai törvényszerűségek határozzák meg e folyamatokat, amelyeket az élelmiszerbiztonság szaknyelvén *kioldódási*, vagy *migrációs jelenségek* néven ismer a szakirodalom.

3. Kölcsönhatások a csomagolóanyag és az élelmiszerek között

A csomagolóanyag és az azzal érintkező élelmiszer között lejátszódó anyagátadási jelenségeket egy általános érvényű fizikai törvény, az érintkező felületek közötti koncentrációkülönbség kémiai potenciáljából

táplálkozó jelenség, a diffúzió okozza. A kioldódási folyamatok könnyebb megértése végett a következőkben vázlatosan áttekintjük azok fizikai-kémiai törvényszerűségeit.

A koncentrációgrádiens révén végbemenő diffúzió szabályait Adolf Eugen Fick (1829-1901) német fizikus és fiziológus fogalmazta meg [20]. Egy q [cm²] keresztmetszetű felületen dt [sec] idő alatt áthaladó molekulák száma legyen dn . Ha δc [mól] a két felület közötti koncentrációgrádiens és δx [cm] a két felület közötti távolság, akkor a fázisok között diffundáló molekulák számára, azaz dn -re az alábbi összefüggés írható fel:

$$dn = -Dq \frac{\delta c}{\delta x} dt, \text{ diffúzióállandó } D = \frac{kT}{K} [\text{cm}^2/\text{sec}] \quad (1)$$

A diffúzióállandó egyenletében k a Boltzmann-állandó, K a sűrűlási tényező és T az abszolút hőmérséklet.

Az (1) összefüggés **Fick I. törvénye**, amelynek értelmében a diffúzió sebességét az érintkező felületek nagyságán kívül a diffúzióállandó és a koncentrációgrádiens határozza meg. A fenti összefüggésekből következik, hogy a nagyobb koncentrációkülönbség, a kisebb diffúziós távolság, a magasabb hőmérséklet, illetve a kisebb sűrűlási tényező a diffúzió sebességét növeli.

Fick II. törvénye a (2) egyenlet értelmében azt fogalmazza meg, hogy adott helyen a koncentráció változása az időben a koncentrációgrádiens helyi való megváltozásával arányos. Az alábbi egyenletben a jelölések a már ismerteket szimbolizálják:

$$\left(\frac{\delta c}{\delta t} \right)_x = D \left(\frac{\delta^2 c}{\delta x^2} \right)_t \quad (2)$$

A diffúziókoeficiens a hőmérséklet emelésével vizes oldatokban C°-onként kb. 2%-kal nő, a viszkozitás pedig ezzel arányosan csökken [20].

A Fick által leírt diffúziós törvényszerűségek alapján könnyen érthető, hogy egy, a napon felejtett műanyag flakonban tárolt italba miért diffundálnak át a szokottnál nagyobb mennyiségben a palackot alkotó műanyag monomerjei, stabilizátorai és egyéb adalékanyagai. Ugyancsak a Fick törvények képezik az alapját a szabványos kioldódási vizsgálatoknak is, amelyek során szigorúan előírt modelloldat-koncentrációk és stabil kísérleti hőmérséklet biztosítása mellett kell elvégezni az ellenőrzéseket.

A továbbiakban áttekintjük, hogy a Fick törvények miként érvényesülnek a vizsgálat során biztosított kísérleti körülmények között. Az **1. ábra** a 3,5-di(terc-butil)-4-hidroxi-benzoészav-[2,4-di(terc-butil)-fenil]-észter migrációs mennyiségének relatív egységben

and 14 mg/kg) [11]. Based on the 10 to 20-fold amounts of lead found in the bones of the victims, it is assumed that the tragedy of the crew under harsh circumstances was caused by the large amount of lead ingested with the tinned, among other things. This tragic story should serve as an object lesson that suitability of packaging materials of products intended for human consumption should be investigated thoroughly before use.

There are material transfer processes going on between food packaging materials and foods, during which certain components of the packaging material migrate into the food and vice versa.

Detection, quantitative determination and epidemiological study of compounds migrating from packaging materials into foods poses a new challenge to experts and institutions dealing with food chain safety. It can be stated that packaging material migrants are among the most important contaminants of foods. However, these compounds are not always considered illegal contaminants, even though their danger lies in the fact that they contaminate foods persistently, albeit in low doses. If one only thinks of the migration of carcinogenic formaldehyde from bottles made from polyethylene terephthalate (PET), or from tableware made of melamine, it should be recognized how many people are affected by toxic exposure because of the widespread use of plastic dishes and utensils. We cannot forget about endocrine disruptors legally used in the USA and Europe, nonylphenol, bisphenol-A, triclosan and other phthalate plasticizers either! There are over four thousands materials in the world coming into contact with foods and they can contain several polymerization byproducts, contaminants and decomposition products that are not entering the food chain on purpose [1].

Koni Grob in one of his lecture warned that, in plastics coming into contact with foods, the widespread use of polyadipates as plasticizers is expected in the future, whose migrants should be monitored continuously. According to European regulations, a contamination of not more than 30 mg/kg is allowed of this group in foods in dibutyl adipate equivalent [12].

It can also be an important task to trace the migration of photoinitiators of packaging materials from dyes used for food labeling. In a series of analyses the presence of 4-methylbenzophenone (4MBP) was observed in cereals by the European Food Safety Authority (EFSA). What is especially interesting in this case is that „leaching” was observed at the contact of solid surfaces, between muesli products and their packaging material made of paper [13].

At the end of this section, let I summarise a few characteristics of the compounds for which analytical method have been developed and adapted at our laboratory. The LD₅₀ value of the antioxidant butyl hydroxytoluene (BHT) in rats is 3550 mg/kg [14]. The acute toxicity of phthalates are more lower than the BHT. For example the LD₅₀ value of butyl benzyl phthalate is 23.000 mg/kg [15], or the bis-(2-ethylhexyl)-phthalate is 30.000 mg/kg also in rats [16]. Despite of these favorable-like toxicity data, the biological effect of this compounds are significant. Several members of phthalate group, may induce male reproductive tract abnormalities in the case of long term exposition [17]. The antioxidant Irganox 1076 can be adverse effect on hepatic microsomal system [18]. The bisphenol-A mentioned above already as an endocrine disruptor. While this compound can be ingested day-to-day, Pant et al have investigated the lethal dose of it. So the LD₅₀ value was found to 35 mg/kg using intravenous administration adult female albino rats [19].

In the next section, physical laws governing those processes, which commonly known as *leaching* or *migration* by the terminology of food safety, are reviewed.

3. Interactions between packaging materials and foods

Material transfer occurring between the packaging material and the food in contact with it are the result of a general phenomenon of physics called diffusion, caused by the different chemical potentials of touching surfaces due to their different concentrations. To understand leaching processes more easily, their physico-chemical laws are reviewed roughly next.

Rules of diffusion due to a concentration gradient were formulated by Adolf Eugen Fick (1829-1901), a German physicist and physiologist [20]. The number of molecules traveling through a surface with cross section q [cm²] over time dt [sec] is dn . If the concentration gradient between the two surfaces is δc [mole] and the distance between the surfaces is δx [cm], then the number of molecules diffusing between the phases, dn can be expressed as follows:

$$dn = -Dq \frac{\delta c}{\delta x} dt, \text{ diffusion coefficient is } D = \frac{kT}{K} \text{ [cm}^2\text{/sec]} \quad (1)$$

In the formula for the diffusion coefficient k is the Boltzmann constant, K is the coefficient of friction and T is the absolute temperature.

Equation (1) is **Fick's first law**, according to which the rate of diffusion is determined by the diffusion coefficient and the concentration gradient, in addition to the size of the touching surfaces. It follows from the above equations that the rate of diffusion is increased by larger concentration difference, smaller diffusion distance, higher temperature or lower coefficient of friction.

Fick's second law, according to equation (2), describes that changes in concentration over time at a given place are proportional to the change in concentration gradient over space. In the equation below, symbols represent previously introduced quantities:

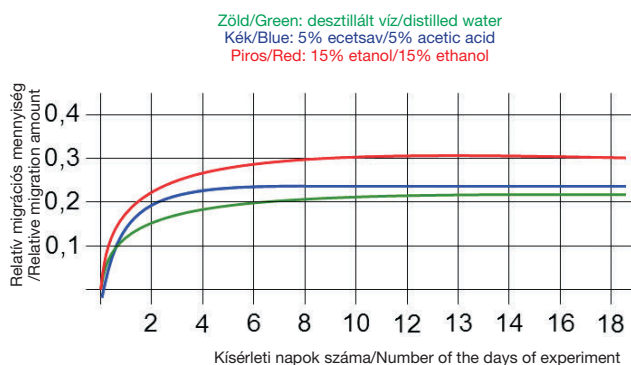
$$\left(\frac{\delta c}{\delta t} \right)_x = D \left(\frac{\delta^2 c}{\delta x^2} \right)_t \quad (2)$$

The diffusion coefficient in aqueous solutions increases by roughly 2% with each C°, while viscosity decreases proportionally [20].

Based on Fick's laws of diffusion, it is easily understandable why plastic monomers, stabilizers and other additives will diffuse in higher amounts into a drink stored in a plastic bottle that is left in the sun. Standard leaching tests are also based on Fick's laws, where analyses are performed with strictly prescribed model solution concentrations and at steady experimental temperatures.

Next, we will review how Fick's laws are in effect under the given experimental conditions during the analysis. Relative migration quantities of 3,5-di-(tert-butyl)-4-hydroxybenzoic acid 2,4-di-(tert-butyl)phenyl ester as a function of time at constant temperature (49 °C) are shown in **Figure 1**, using a polypropylene test specimen with two contact surfaces and three model solutions.

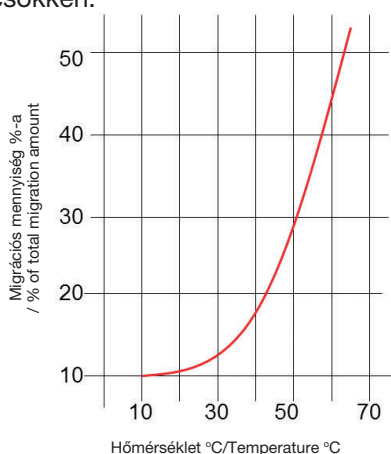
való alakulását mutatja be az idő függvényében állandó hőmérsékleten (49°C-on), kétoldalt érintkező polipropilén próbatesttel háromféle modelloldat használata mellett.



1. ábra. A 3,5-di(terc-butil)-4-hidroxi-benzoészter migrációs mennyiségének relatív egységben való alakulása 49 °C-on az idő függvényében polipropilén próbatesttel [21].

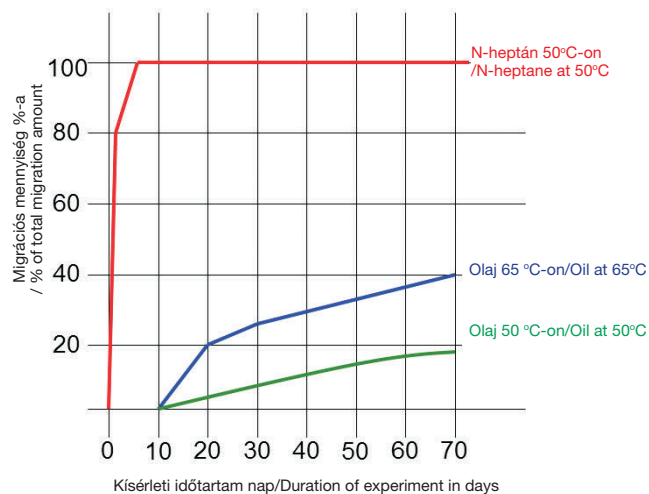
Figure 1 Relative migration quantities of 3,5-di-(tert-butyl)-4-hydroxybenzoic acid 2,4-di-(tert-butyl)phenyl ester at 49 °C as a function of time using a polypropylene test specimen [21].

Az 1. ábra jól mutatja, hogy a nem poláros tulajdonságú propilén polimere adalékanyagának kioldódási dinamikája a modelloldat polárosságától is függ. A legnagyobb ütemű kioldódás a 15%-os etanol tartalmú modelloldattal ment végbe. A koncentrációgradiens időbeni változása eredményeként a kioldódás sebessége csökken, majd a kísérleti idő végére, kb. a 12. naptól megszűnik a polipropilén adalékanyagának migrációja a modelloldat felé. A 2. ábrán a kísérleti hőmérséklet hatását tanulmányozhatjuk. Fick 1. törvénye alapján az (1) egyenletben leírtak szerint a kioldódás a D diffúziókoeficiens a hőmérséklettel nő, ugyanakkor a részecskék között ható K súrlódási tényező csökken.



2. ábra. A hőmérséklet hatása a polipropilénből kioldódó antioxidáns migrációjára [21].

Figure 2 Effect of temperature on the migration of antioxidant leaching from polypropylene [21].



3. ábra. A hőmérséklet hatása a polipropilénből kioldódó antioxidáns migrációjára apoláros modelloldatok használata esetén [21].

Figure 3 Effect of temperature on the migration of antioxidant leaching from polypropylene when using apolar model solutions [21].

A 3. ábrán apoláros modelloldatokkal végzett kioldódási kísérlet görbéi láthatóak. A három kísérlet közül a n-heptánnal folytatott vizsgálat eredményezte a legmeredekebben induló kioldódási görbét, ezért a normál alkánnal végzett kioldódási teszt a valóságos élelmiszerekkel való kölcsönhatáshoz képest sokkal kedvezőtlenebb eredményt adna. Az olajos modelloldatok esetében a 15 °C hőmérséklet-különbség markáns különbséget eredményezett a kísérletben. A 70. napon a 65 °C-os kioldódási vizsgálatban kétszer annyi vegyület került oldatba, mint 50 °C-on.

4. Migrációs vizsgálatok

Az 1., 2. és 3. ábrán látható diagramok alapján könnyen belátható, hogy egy élelmiszer csomagolására szolgáló műanyag fólia, doboz, palack, vagy kupak kioldódási vizsgálatát rendkívül körültekintő módon kell megtervezni annak érdekében, hogy az alkalmazott modelloldatok a lehető legkisebb hibával közelítsék meg a vizsgált anyaggal érintkező élelmiszer oldási agresszivitását. Az Európai Unió területén érvényes kioldódási határértékeket az élelmiszerekkel rendeltetésszerűen érintkező anyagokra vonatkoztatva a Bizottság 10/2011/EK rendeletében határozta meg. A specifikus kioldódási határértékek a vizsgálatokhoz használt modelloldatokban mérhető nem-kívánatos komponensekre vonatkoznak [22].

Mielőtt továbblépnénk az Európai Unióban érvényes ajánlások, előírások rövid ismertetésére, tisztáznunk kell az élelmiszerekkel rendeltetésszerűen érintkező anyagok vizsgálati módszereinek általános jellemzőit.

A vizsgálatokat alapvetően három csoportba sorolhatjuk:

1. Összes kioldódás vizsgálata (az angolszász terminológiában overall migration):

A vizsgálatok során az élelmiszerekkel érintkező anyagot az élelmiszer típusához és a várható al-

It is evident from **Figure 1** that leaching dynamics of the additive of the apolar polypropylene polymer depends on the polarity of the model solution. The highest dissolution rate was observed with a model solution containing 15% ethanol. As a result of the change in concentration gradient over time, the rate of dissolution decreases, and towards the end of the experiment, approximately from day 12, migration of the polypropylene additive toward the model solution stops. The effect of experimental temperature is shown in **Figure 2**. Based on Fick's first law, according to equation (1), the diffusion coefficient **D** increases with increasing temperature, while the coefficient of friction **K** among particles decreases.

Diagrams for leaching tests performed with apolar model solutions are shown in **Figure 3**. Of the three experiments, the one using n-heptane resulted in the steepest leaching curve, therefore, a leaching test performed with a normal alkane would provide results that would be much more unfavorable than real-life interactions with foods. In the case of oily model solutions, a 15 °C difference in temperature resulted in marked differences. After 70 days at 65 °C, the concentration in the solution was twice as high as in a parallel test conducted at 50 °C.

4. Migration tests

Based on the diagrams shown in **Figures 1, 2 and 3**, it is evident that leaching tests of plastic foils, boxes, bottles or caps used for packaging of foods have to be planned very carefully in order for the model solutions to approximate the dissolution aggressivity of the food to come into contact with the material investigated with as little error as possible. Leaching limit values, valid for the European Union, for plastic materials and articles intended to come into contact with food are set forth in Commission Regulation (EU) No 10/2011. Specific leaching limit values are listed for unwanted components measured in the model solutions used for the tests [22].

Before moving on to a short description of guidelines and regulations valid for the European Union, general characteristics of analytical methods of materials regularly coming into contact with foods should be clarified.

There are three basic groups of analyses:

1. Overall migration:

During the test, the material coming into contact with food is immersed at a given temperature for a certain time in a model solution most suited to the type of food and the expected application, and then the amount of dissolved solids is determined gravimetrically. In the overall migration test, chemical characteristics of the substances leached are not determined. Results of the overall migration test are given relative to the surface of the material coming into contact with food (e.g. mg/dm²).

2. Specific migration:

During the test, the material coming into contact with food is immersed at a given temperature for a certain time in a model solution most suited to the type of food and the expected application. Then the quality and quantity of the substances leached from the test object are determined using a suitable instrumental analytical technique (UV-VIS spectrophotometry, ICP-OES, ICP-AES, GC-MS, HPLC-MS/MS etc.). Results of the specific migration test are given as the concentrations measured in the model solutions used (usually mg/l).

3. Residual substance:

In this analytical group it is not the amount of monomers, plasticizers, stabilizers or lubricants transferred to the food that is determined, but the quantity of possibly unwanted substance remaining in the material coming into contact with food.

Next, regulations for migration test prescribed in the European Union are reviewed. Model solutions of migration tests, a model substance, and their abbreviations effective according to current regulation are summarized in **Table 1**.

According to the regulation: „Food simulants A, B and C are assigned for foods that have a hydrophilic character and are able to extract hydrophilic substances. Food simulant B shall be used for those foods which have a pH below 4.5. Food simulant C shall be used for alcoholic foods with an alcohol content of up to 20% and those foods which contain a relevant amount of organic ingredients that render the food more lipophilic. Food simulants D₁ and D₂ are assigned for foods that have a lipophilic character and are able to extract lipophilic substances. Food simulant D₁ shall be used for alcoholic foods with an alcohol content of above 20% and for oil in water emulsions. Food simulant D₂ shall be used for foods which contain free fats at the surface. Food simulant E is assigned for testing specific migration into dry foods.” [22].

Food category specific assignments of food simulants are listed in Table 2 of Annex III on page 76 of the regulation, which is not reproduced here due to limitations of the content of this paper. However, we would like to point out that the table in the regulation mentioned above does not list water as a food simulant. Nevertheless, in Section 4 of Annex III, under the heading „Food simulant assignment for testing overall migration”, in addition to food simulants A, B and D₂, distilled water is also listed [22].

Conditions prescribed by the regulation for specific migration tests are listed in **Tables 2 and 3**. Overall migration tests are regulated in the EU otherwise (**Tables 4 and 5**).

* For contact times above 30 days at room temperature and below the specimen shall be tested in an accelerated test at elevated temperature for a maximum of 10 days at 60 °C. Testing time and temperature conditions shall be based on the following formula [22].

$$t_2 = t_1 \cdot \frac{-E_a}{R} \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right) = t_1 \cdot e^{-9627 \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right)} \quad (3)$$

Where

- **E_a** is the worst case activation energy, 80 kJ/mol
- **R** is a factor, 8.31 J/Kelvin/mol (universal gas constant)
- **t₁** is the contact time
- **t₂** is the testing time
- **T₁** is the contact temperature in Kelvin. For room temperature storage this is set at 298 K (25 °C). For refrigerated and frozen conditions it is set at 278 K (5 °C).
- **T₂**: testing temperature in kelvin, this is 333°K in the case of the prescribed 60°C

kalmazáshoz lehetőleg jobban illeszthető modelloldatokba merítve adott hőmérsékleten és meghatározott ideig állni hagyják, majd a vizsgálati tárgyól kioldódó anyagok tömegét gravimetriás módszerrel meghatározzák. Az összes kioldódás vizsgálatánál a kioldódó anyagok kémiai jellemzőit nem határozzák meg. Az összes kioldódási vizsgálatok mérési eredményeit az élelmiszerral érintkező anyag felületére vonatkoztatva adják meg (pl. mg/dm²).

2. Specifikus kioldódás vizsgálata (az angolszász terminológiában specific migration)

A specifikus migrációs vizsgálatok során az élelmiszerral érintkező anyagot az élelmiszer típusához és a várható alkalmazáshoz lehetőleg jobban illeszthető modelloldatokba merítve adott hőmérsékleten és meghatározott ideig állni hagyják. Ezt követően a vizsgálati tárgyól kioldódó anyagok minőségét és mennyiségét is meghatározzák valamilyen, a célnak megfelelő műszeres analitikai technika alkalmazásával (UV-VIS spektrofotometria, ICP-OES, ICP-AES, GC-MS, HPLC-MS/MS stb.). A specifikus kioldódási vizsgálatok eredményeit a vizsgálathoz alkalmazott modelloldatban mérhető koncentrációban kell megadni (általában mg/l).

3. Maradékanyagok vizsgálata (az angolszász terminológiában residual substance)

Ebben a vizsgálati csoportban nem az élelmiszerekbe kerülő monomerek, lágyítók, stabilizátorok, csúszást segítő anyagok vizsgálatát végzik, hanem az élelmiszerekkel rendelteteésszerűen érintkező anyagokban maradó, esetenként nem-kívánatos komponensek mennyiségét határozzák meg.

A továbbiakban az Európai Unióban előírt kioldódási vizsgálatok előírásait fogjuk vázlatosan áttekinteni. Az érvényben lévő közösségi előírás szerinti kioldódási vizsgálatok modelloldatait és egy modellanyagát azok rövidítését a **1. táblázat** foglalja össze.

1. táblázat. Az Európai Unióban rendeletileg előírt modelloldatok és -anyag összetétele, valamint jelölése [22].

Table 1 Composition of model solutions and substance according to European Union regulation, and their abbreviations [22].

Élelmiszer-utánzó modelloldatok* és modellanyag** <i>Food simulating model solutions* and model substance**</i>	Rövidítés <i>Abbreviation</i>
Etil-alkohol, 10 % (V/V)* Ethanol, 10% (v/v)*	„A” élelmiszer-utánzó anyag <i>Food simulant A</i>
Ecetsav, 3 % (m/V)* Acetic acid, 3% (w/v)*	„B” élelmiszer-utánzó anyag <i>Food simulant B</i>

Etil-alkohol, 20 % (V/V)* Ethanol, 20% (v/v)*	„C” élelmiszer-utánzó anyag <i>Food simulant C</i>
Etil-alkohol, 50 % (V/V)* Ethanol, 50% (v/v)*	„D ₁ ” élelmiszer-utánzó anyag <i>Food simulant D₁</i>
Növényi olaj (6-12, 14, 16 és 18 szénatomos zsírsavak észterei)* Vegetable oil (esters of 6-12, 14, 16 and 18 carbon atom fatty acids)*	„D ₂ ” élelmiszer-utánzó anyag <i>Food simulant D₂</i>
Poli(2,6-difenil-p-fenilén-oxid), szemcseméret: 60–80 mesh, pórusméret: 200 nm** Poly-(2,6-diphenyl-p-phenylene oxide), particle size: 60–80 mesh, pore size: 200 nm**	„E” élelmiszer-utánzó anyag <i>Food simulant E</i>
Ioncserélt víz (az összkivoldódás vizsgálatához) Deionized water (for overall migration tests)	A rendeletben nincs rövidítése <i>No abbreviation in the regulation</i>

A rendelet szövege szerint: „Az „A”, „B” és „C” élelmiszer-utánzó modellanyagok a hidrofil karakterű élelmiszerekhez vannak hozzárendelve, és hidrofil anyagok extrakciójára alkalmasak. A „B” élelmiszer-utánzó modellanyagot a 4,5 alatti pH-értékű élelmiszerek esetében kell használni. A „C” élelmiszer-utánzó modellanyagot a legfeljebb 20 % alkoholtartalmú alkoholos élelmiszerek, valamint az olyan élelmiszerek esetében kell alkalmazni, amelyek megfelelő mennyiségű szerves összetevőt tartalmaznak ahhoz, hogy az élelmiszer lipofílebbé váljon. A „D₁” és „D₂” élelmiszer-utánzó modellanyagok a lipofil karakterű élelmiszerekhez vannak hozzárendelve, és lipofil anyagok extrakciójára alkalmasak. A „D₁” élelmiszer-utánzó modellanyagot a 20 %-ot meghaladó alkoholtartalmú alkoholos élelmiszerek, valamint az „olaj a vízben” típusú emulziók esetében kell alkalmazni. A „D₂” élelmiszer-utánzó modellanyagot a felületükön szabad zsírokat tartalmazó élelmiszereken esetében kell alkalmazni. Az „E” élelmiszer-utánzó modellanyag a száraz élelmiszerek be való specifikus kioldódás vizsgálatára van kijelölve.” [22].

Az egyes élelmiszer-alapanyag- és élelmiszer-típusokhoz előírt modellanyag-hozzárendeléseket a rendelet 76. oldalán található III. melléklet 2. táblázata tartalmazza, amelyet a cikk terjedelmi korlátai miatt itt nem közölhetünk. Arra azonban szeretnénk felhívni a figyelmet, hogy az idézett táblázat nem tartalmazza a vizet, mint élelmiszer-utánzó modellanyagot. Ugyanakkor a III. melléklet 4. szakaszában „Az összkivoldódás vizsgálatára kijelölt élelmiszer-utánzó modellanyagok” címszó alatt az A, B és D₂ modelloldatok mellett a desztillált vizet is felsorolják [22].

A rendelet által a specifikus kioldódási kísérletekhez előírt körülményeket a **2. és 3. táblázat** tartalmazza. A globális kioldódási vizsgálatokra az EU-ban más előírások szabályozzák (**4. és 5. táblázat**).

(*) This temperature shall be used only for food simulants D_2 and E. For applications heated under pressure migration testing under pressure at the relevant temperature may be performed. For food simulants A, B, C or D_1 , the test may be replaced by a test at 100 °C or at reflux temperature for duration of four times the time selected according to the conditions in Table 1.

Qualitative and quantitative analyses of the substances leached should be performed using methods satisfying the requirements set forth in Article 11 of Regulation (EC) No 882/2004 of the European Parliament and of the Council [23]. It is important to note that testing should be performed assuming the worst foreseeable use (most unfavorable leaching process between the material coming into contact with food and the model solutions). So, for example, migration testing of a packaging material of a food with a shelf-life of 100 days at 25 °C should be performed after immersion in the model solution at 60 °C for 80.5 hours, according to equation (3).

4.1. Regulations for overall migration testing according to the EU Commission

Regulations for overall migration testing in effect within the European Union are summarized in **Tables 4 and 5**.

Overall migration tests of **Table 4** should be performed with the model solutions of **Table 1** assigned to different food groups. If testing of the material coming into contact with food cannot be performed using simulant D_2 (vegetable oil), then it should be done experimental under conditions listed in **Table 5**.

In the case of multiple use objects, if a material of article comes into contact with foods repeatedly, migration tests should be performed three times with the same sample, using a different sample of food simulant each time. Suitability is determined using leaching values obtained from the third test. If there is convincing evidence that the degree of leaching does not increase during the second and third tests, and it did not exceed the overall migration limit value in the first test, then further tests are not necessary.

Food simulant E of **Table 5** is 60–80 mesh particle size solid model substance poly-(2,6-diphenyl-p-phenylene oxide), with a pore size of 200 nm (**from Table 1**).

From here on, during discussion of migration tests, the technical term „model solution” will be used, because in Section 5, in connection with our own work, only method developments and laboratory adaptations of testing of samples in contact with aqueous, liquid materials (deionized water, acetic acid and ethanol solutions) will be discussed.

5. Materials and methods

Analytical methods for the model solution extraction of food packaging materials were developed and validated in the Food Testing Laboratory of WESSLING Hungary Kft., and a standard method was adapted.

Schematic description of our migration tests is shown in **Figure 4**. The material to be tested – a few drinking bottle caps – were immersed in a food simulating model solution at a certain temperature for a certain amount of time (extraction), the solution of leached substances was filtered and concentrated to the extent necessary for analysis (clean-up and concentration), and overall migration was determined gravimetrically, specific migration was determined using suitable separation techniques (GC-MS, HPLC-FLD).

Model solutions used for migration tests were the following: analytically purest deionized water, 3% acetic acid, 20% ethanol, 50% ethanol and 96% ethanol solution. To identify and quantify butyl-hydroxytoluene (BHT), dibutyl phthalate, benzyl butyl phthalate, bis(2-ethylhexyl) phthalate, diisononyl phthalate, diisodecyl phthalate and irganox 1076 (octadecyl 3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propionate) dissolving from materials coming into contact with foods, a proprietary analytical method was developed [24], which was validated before routine use [25]. The standard method for the determination of bisphenol-A was adapted and applied [26]. Dicyclohexyl phthalate surrogate standard and 2-fluorobiphenyl internal standard was used for instrumental analyses.

5.1. Non-standard migration tests and their validation

Materials coming into contact with foods (from here on „plastics”) were immersed in model solutions under given conditions according to the prescriptions of standard MSZ EN 13130-1:2004 [27] and Commission Regulation (EU) No 10/2011. Leached additives were extracted from model solutions using hexane, and were analyzed by GC-MS technique. Analytically purest and GC/HPLC grade solvents and chemicals were used for our tests.

5.1.1. Calibration

Methanolic stock solutions with concentrations of 10,000 µg/ml were used for the analyses, and they were stored refrigerated, at -20°C, until use – but for no more than one year. Surrogate standard (SSTD) and internal standard (ISTD) solutions were stored at +4°C for no more than 6 months. 6 calibration solutions were prepared from the stock solutions per component. Calibration points were determined so that the middle sections of the calibration curves were close to the concentration limit values of migrating compounds. Calibration curves fitted to the calibration points can be seen in **Figure 8** in Section 5.1.4.4 on method validation.

5.1.2. Sample preparation

5.1.2.1. Sample preparation for overall migration tests

When performing sample preparation for the testing of packaging materials, immersion was performed according to standard MSZ EN 1186-3:2002 [28], preparation of sample bags was performed according to standard MSZ EN 1186-7:2002 [29] and filling of the product to be analyzed with the model solution was performed according to standard MSZ EN 1186-9:2002 [30]. For migration tests to be performed using oil, isooctane or 95% ethanol was used according to standard MSZ EN 1186-14:2003 [31]. Overall migration test was simulated by storage for 10 days at 40 °C.

5.1.2.2. Sample preparation for specific migration tests

Analytical samples were extracted by immersion in the appropriate model solution or by filling with the model solution, according to Commission Regulation (EU) No 10/2011 [27]. Long term, room temperature contact for specific migration tests was performed for 10 days at 60 °C.

At the end of the immersion or contact time, aliquots of the model solutions were taken. Surrogate standard was added to the solution, and then plastic additives were extracted by three portions of analytically measured n-hexane. The extracts were combined and internal standard solution was added.

2. táblázat. Az Európai Unióban a specifikus kioldódási vizsgálatokhoz rendszerileg előírt érintkezési idők [22].

Table 2 Contact times prescribed in the European Union for specific migration tests [22].

Érintkezési idők (t) a várható legkedvezőtlenebb felhasználási körülmények között Contact time in worst foreseeable use	Vizsgálati idő Test time
$t \leq 5$ perc $t \leq 5$ min	5 perc 5 min
$5 \text{ perc} < t \leq 0,5$ óra $5 \text{ min} < t \leq 0.5$ hour	0,5 óra 0.5 hour
$0,5$ óra $< t \leq 1$ óra $0.5 \text{ hour} < t \leq 1$ hour	1 óra 1 hour
1 óra $< t \leq 2$ óra $1 \text{ hour} < t \leq 2$ hours	2 óra 2 hours
2 óra $< t \leq 6$ óra $2 \text{ hours} < t \leq 6$ hours	6 óra 6 hours
6 óra $< t \leq 24$ óra $6 \text{ hours} < t \leq 24$ hours	24 óra 24 hours
1 nap $< t \leq 3$ nap $1 \text{ day} < t \leq 3$ days	3 nap 3 days
3 nap $< t \leq 30$ nap $3 \text{ days} < t \leq 30$ days	10 nap 10 days
Több mint 30 nap Above 30 days	Lásd a (3) egyenletet és a hozzá tartozó magyarázatot! See specific conditions*

A 30 napot meghaladó, legfeljebb szobahőmérséklet melletti érintkezési idő esetében a mintát megemelt hőmérsékleten végzett, gyorsított vizsgálat alá kell vetni, legfeljebb 10 napon keresztül és 60°C hőmérsékleten. A vizsgálati idő és vizsgálati hőmérséklet összefüggéseit a (3) egyenlet adja meg [22].

$$t_2 = t_1 \frac{-E_a}{R} \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right) = t_1 e^{-9627 \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right)} \quad (3)$$

A (3) egyenletben:

- E_a : a legszélsőségesebb körülmények szerinti, 80kJ/mol aktiválási energia,
- R : 8,31 J/kelvin/mol értékű tényező (univerzális gázállandó),
- t_1 : érintkezési idő,
- t_2 : vizsgálati idő,
- T_1 : az érintkezési hőmérséklet kelvinben. Ennek értéke 25°C szobahőmérsékleten történő tárolás esetében 298°K, 5°C-on végzett hűtés esetén pedig 278°K;
- T_2 : a vizsgálati hőmérséklet kelvinben, ez az előírt 60°C esetén 333°K;

3. táblázat. Az Európai Unióban a specifikus kioldódási vizsgálatokhoz rendszerileg előírt hőmérsékletek [22].

Table 3 Contact temperatures prescribed in the European Union for specific migration tests [22].

Érintkezési hőmérsékletek a várható legkedvezőtlenebb felhasználási körülmények között Contact temperatures in worst foreseeable use	Vizsgálati hőmérséklet Test temperature
$T \leq 5$ °C	5 °C
5 °C $< T \leq 20$ °C	20 °C
20 °C $< T \leq 40$ °C	40 °C
40 °C $< T \leq 70$ °C	70 °C
70 °C $< T \leq 100$ °C	100 °C vagy reflux hőmérséklet 100 °C or reflux temperature
100 °C $< T \leq 121$ °C	121 °C (*)
121 °C $< T \leq 130$ °C	130 °C (*)
130 °C $< T \leq 150$ °C	150 °C (*)
150 °C $< T \leq 175$ °C	175 °C (*)
175 °C $< T$	A hőmérséklet a valós hőmérsékletre történő állítása az élelmiszerekkel érintkező felületen Adjust the temperature to the real temperature at the interface with the food (*)

(*) Ez a hőmérséklet csak a „D₂” és az „E” élelmiszer-utánzó modellanyag esetében használandó. A nyomás alatt hevített készítmények esetében elvégezhető a nyomás alatti kioldódás megfelelő hőmérsékleten végrehajtott vizsgálata. Az „A”, „B”, „C” vagy „D₁” élelmiszer-utánzó modellanyagok esetében a vizsgálat a 100 °C hőmérsékleten vagy a reflux hőmérsékleten végzett, a (rendelet) 1. táblázatában szereplő körülményeknek megfelelően kiválasztott idő négy-szeres tartamáig tartó vizsgálatot helyettesíthető.

A vizsgálatok során kioldódott anyagok minőségi és mennyiségi analitikai vizsgálatát a 882/2004 EK rendelet 11. cikkében előírt követelményeknek megfelelő módszerrel kell elvégezni [23]. Fontos megjegyeznünk, hogy a vizsgálatokat az érintett, élelmiszerekkel rendeltetése szerint érintkező tárgy és a modelloldat között lezajló legkedvezőtlenebb kioldódási folyamatot feltételezve kell végrehajtani. Így például egy 100 napig, 25°C-on tárolható élelmiszer csomagolóanyagának kioldódási vizsgálatát a (3) egyenlet alapján számítva a modelloldatban 60°C-on, 80,5 órán keresztül végzett áztatás után kell végezni.

5.1.3. Measurement

Separation of components leaching from plastics was performed by an Agilent 6890N gas chromatograph, using a Restek Rxi-XLB 20 cm * 0.18 mm * 0.18 μ m column and an Agilent 5973 mass selective detector. Components coming off the column were detected in selective ion monitoring (SIM) mode. To remove solvent vapors, a 6 minute solvent delay was applied. The injector was operated in pulsed splitless mode with a 1.5 minute splitless time and 147 kPa pressure pulse. Carrier gas was He with a flow rate of 1 ml/min. Injection volume was 1 μ l. Separation was performed using an appropriate temperature program. Chromatograms of a standard solution and an actual sample are shown in **Figures 5/a** and **5/b**, respectively.

Retention times of detected components are found in **Table 6**.

In each analytical series, method blank and spiked samples were also measured. Method blank samples were prepared from model solutions not containing the components leaching from the plastics to be analyzed. Spiking was performed by the addition of limit value concentration of the components according to the regulation [22].

5.1.4. validation of the analytical method (rough overview)

Our multicomponent migration test method was validated by checking its specificity, the matrix effect, the limit of quantification, linearity of the calibration curve, repeatability, recovery and accuracy, in order to prove the method's suitability for the identification and quantitative determination of plastic additives listed in Section 5.

5.1.4.1. Testing specificity

When testing specificity, it was checked whether any of the chemicals and instruments used for sample preparation and measurement contains contaminants that interfere with the evaluation of the samples. During this, method blank solutions (solutions that contain every component except the one to be analyzed) were prepared of the five types of model solutions listed in the regulation [22]. Chromatograms of method blank solutions were compared to those of model solutions containing concentrations of the individual components close to their limit values.

One of these comparisons is shown in **Figure 6**. The chromatogram in dark blue is the method blank, and the one in black is the one recorded after spiking to a concentration close to the limit value.

Method specificity was considered satisfactory if there are no interfering peaks in the method blank chromatograms close to the retention times of the components in amounts exceeding 20% of the limit value. According to **Figure 6**, this criterion was met for all model solutions. The method developed by us was specific for the components to be analyzed.

5.1.4.2. Testing the matrix effect

To test the matrix effect, different plastic articles (plastic cup, straw, plastic bottle cap) were immersed in the five model solutions for the length of time prescribed in the regulation [22], then the model solutions were spiked to the limit value concentrations and recovery of the components was investigated. There was no adverse matrix effect if recovery values for the solutions of different plastic types were between 70 and 130%.

Due to length limitations, only the results of tests performed with plastic cups, giving the most unfavorable results, are shown in **Figure 7**, where recovery values were between 83% (bis(2-ethylhexyl) phthalate in deionized water solution) and 119% (dibutyl phthalate in deionized water solution). Results of the other two test series were even more favorable. So the recovery requirement set forth by us was met, values were between 70% and 130%. Interfering effect of the matrices did not exceed the acceptable values in any of our analytical series.

5.1.4.3. Determination of the limit of quantification (LOQ)

Our goal was to reach limits of quantification that are not higher than 30% of limit value concentrations. Our plan was to consider a compounds measurable, if the signal-to-noise ratio at the LOQ value is above 10. Signal-to-noise ratio data are summarized in **Table 7**.

Data listed in **Table 7** show that signal-to-noise ratios for all components were well above ten even at 8% of the limit values. So the limit of quantification (LOQ) of each component analyzed by our method was significantly lower than 30% of the limit value set forth in the regulation. However, to be on the safe side, the limits of quantification (LOQ) of the analyses were designated as 17% of the relevant limit values.

5.1.4.4. Testing the calibration

Quantitative determination of the compounds leached into the model solutions was performed using an internal standard calibration method, applying linear regression. Component concentrations were calculated by the data collecting and processing software from the peak areas of the analyzed samples, using the calibration curve. Calibration curves of the analyzed compounds are shown in **Figure 8**.

Calibration was performed by measuring each component in triplicate. Calibration points were set to concentration ranges between 10 and 200% of the limit values for the individual components. Suitable calibration curves could be fitted for all components in the measurement range set by us, with R^2 values above 0.996 in all cases. **Figure 8** shows that repeatability of the calibration was satisfactory.

5.1.4.5. Testing recovery and repeatability

Recovery data were determined by analyzing 5 parallels for each compound, based on the analytical results of the spiked samples. Recovery percentages calculated for each compound and model solution are summarized in **Table 8**.

Of recovery data, average values of 5 parallel analyses using model solutions are shown in **Figure 9**.

Figure 9 shows that recovery data for all components were between 90% and 120%, thus satisfying the requirement deemed acceptable by us (70% - 130%). The acceptance range is the framed part in the figure.

Relative standard deviations (RSD) of the recovery values were also favorable: analytical results of spiked samples for all model solutions were below our validation target of 20%. Based on our analytical results, recovery values and repeatability of our method were deemed satisfactory.

5.1.4.6. Testing accuracy

The aim of testing the accuracy was to determine how the recoveries of certain components depend on their concentrations. For this test, two analytical series were

4.1. A teljes kioldódás vizsgálatának fontosabb szabályai az EU Bizottság előírásai szerint

Az Európai Unióban érvényes rendelet szerinti globális kioldódási vizsgálatokra vonatkozó szabályokat a **4. és 5. táblázat** foglalja össze.

4. táblázat. Az Európai Unióban az teljes kioldódási vizsgálatokhoz rendeletileg előírt hőmérsékletek és kísérleti időtartamok [17].

Table 4 Standardized testing conditions for overall migration testing as prescribed by the European Union [22].

Vizsgálat jelzése Test number	Érintkezési idő adott érintkezési hőmérsékleteken Contact time at contact temperature	Az élelmiszerekkel való rendeltetésszerű érintkezés körülményei Intended food contact conditions
OM ₁	10 nap 20°C-on 10 days at 20°C	Az élelmiszerekkel bármilyen módon történő érintkezés fagyasztott vagy hűtött állapotban. <i>Any food contact at frozen and refrigerated conditions.</i>
OM ₂	10 nap 40°C-on 10 days at 40°C	Bármilyen hosszú távú tárolás legfeljebb szobahőmérsékleten, ideértve a legfeljebb 2 órán keresztül, 70°C hőmérsékletre történő hevítést vagy a legfeljebb 15 percen keresztül, 100°C hőmérsékletre történő hevítést. <i>Any long term storage at room temperature or below, including heating up to 70°C for up to 2 hours, or heating up to 100°C for up to 15 minutes.</i>
OM ₃	2 óra 70°C-on 2 hours at 70°C	Az élelmiszerekkel való érintkezés valamennyi olyan körülménye, amely magában foglalja a legfeljebb 2 órán keresztül 70°C hőmérsékletre való hevítést vagy a legfeljebb 15 percen keresztül 100°C hőmérsékletre való hevítést, amelyet nem követ hosszú távú, szobahőmérsékleten vagy hűtött állapotban való tárolás. <i>Any contact conditions that include heating up to 70°C for up to 2 hours, or up to 100°C for up to 15 minutes, which are not followed by long term room or refrigerated temperature storage.</i>

OM ₄	1 óra 100°C-on 1 hour at 100°C	Magas hőmérsékletű alkalmazások valamennyi élelmiszer-utánzó modellanyag vonatkozásában, legfeljebb 100°C hőmérsékleten. <i>High temperature applications for all food simulants at temperature up to 100°C.</i>
OM ₅	2 óra 100°C-on vagy reflux hőmérsékleten, vagy e helyett 1 óra 121°C-on 2 hours at 100°C or at reflux or alternatively 1 hour at 121°C	Magas hőmérsékletű alkalmazások legfeljebb 121°C-ig. <i>High temperature applications up to 121°C.</i>
OM ₆	4 óra 100°C-on vagy reflux hőmérsékleten 4 hours at 100°C or at reflux	Az élelmiszerekkel való érintkezés bármely körülménye „A”, „B” vagy „C” élelmiszer-utánzó modellanyaggal, 40°C feletti hőmérsékleten. <i>Any food contact conditions with food simulants A, B or C, at temperature exceeding 40°C.</i>
OM ₇	2 óra 175°C-on 2 hours at 175°C	Magas hőmérsékletű alkalmazások zsíros élelmiszerek esetében, az OM ₅ körülményeinél meghatározott értékeket meghaladó körülmények mellett. <i>High temperature applications with fatty foods exceeding the conditions of OM5.</i>

A **4. táblázat** teljes kioldódási vizsgálatait az **1. táblázatban** összefoglalt, az egyes élelmiszer-csoportokhoz rendelt modelloldatokkal kell végezni. Ha a vizsgálandó, élelmiszerral rendeltetésszerűen érintkező anyag vizsgálatát a D₂ jelzésű (növényi olaj) modell-oldattal nem lehet elvégezni, akkor a **5. táblázatban** részletezett kísérleti körülmények mellett kell a tesztek kivitelezni.

Többször használatos tárgyak esetében, ha valamely anyag vagy tárgy a használat során ismételt érintkezésbe kerül élelmiszerekkel, a kioldódási vizsgálatot háromszor kell elvégezni ugyanazzal a mintával, minden esetben az élelmiszer-utánzó modellanyag egy másik mintáját használva. A megfelelőséget a harmadik vizsgálatban kapott kioldódási érték alapján kell meghatározni. Ha azonban meggyőző bizonyíték van arra, hogy a kioldódás mértéke a második és a harmadik vizsgálat során nem emelkedik, valamint az teljes kioldódási határértéket már az első vizsgálatban sem haladja meg, további vizsgálat nem szükséges.

run in triplicate. In one of the series, concentrations of the compounds to be analyzed were spiked to 50% of the limit value, while in the other, to 200% of the limit value. Accuracy testing data are summarized graphically in **Figure 10**.

In the legend of **Figure 10**, the percentage values in parentheses indicate the spike concentrations of the individual components relative to their limit values. So, for example, „deionized water (50%)” means a model solution made with deionized water in which concentrations of the components to be analyzed were set to 50% of their limit values for the recovery analyses.

The diagram shows that recovery data for all components were between 70% and 130%, thus analytical results were deemed accurate. The acceptance range is the framed part of **Figure 10**.

5.2. Standard analysis of bisphenol-A (2,2-bis-(4-hydroxyphenyl)-propane)

5.2.1. Sample preparation

Determination of bisphenol-A leaching from materials coming into contact with foods was performed according to standard CEN/TS 13130-13:2005 [26]. Since prescriptions of the standard were followed exactly, detailed description of the analyses is not included here. Leaching tests were performed using analytically purest deionized water, 3% acetic acid and 20% ethanol, in accordance with the regulation.

5.2.2. Calibration and measurement

A stock solution was prepared for the analyses from a known amount of bisphenol-A using analytically purest methanol, and the solution was stored refrigerated for no more than 3 months. For calibration, the calibration solutions prepared with the model solutions for the analysis of unknown samples were used. Quantitative determination was performed using an external standard calibration method, applying linear regression. Bisphenol-A concentrations were calculated by the data collecting and processing software from the peak areas of the analyzed samples, using the calibration curve. Aqueous calibration solutions made of the stock solution are listed in **Table 9**.

Analyses were performed by an Agilent 1100 series liquid chromatograph on a Zorbax Eclipse XDB-C18, 150 mm × 4.6 mm × 3.5 μm (Agilent) column. Column thermostat temperature was 25 °C. Isocratic elution was performed using 30% water and 70% methanol with a flow rate of 1 ml/min.

Injection volumes for calibration solutions and model solutions were 20 μl. UV detection of bisphenol-A is possible at λ=280, but fluorescence detection has a higher sensitivity, therefore, a fluorescence detector was chosen. The excitation wavelength was λ_{exc}=280 nm, while emission wavelength was λ_{em}=314 nm. Retention time of bisphenol-A was 2.7 min.

Calibration curve of bisphenol-A is shown in **Figure 11**, while a typical bisphenol-A chromatogram is shown in **Figure 12**.

5.2.3. Quality management of analytical results

Since bisphenol-A was analyzed using an adapted standard method, validation was not performed, but analytical performance characteristics of the method were checked. For this purpose, several fundamental

requirements were formulated:

Sensitivity of liquid chromatographic separation and detection was acceptable if the signal-to-noise ratio using a UV detector was larger than 3 for calibration solution K₁, listed in **Table 13** (6 ng bisphenol-A).

Five calibration points were analyzed together with the unknown samples. Calibration was accepted if for the coefficient of determination it was true that R² ≥ 0,996. As shown in **Figure 11**, our coefficient of determination was above this value.

Interferences (specificity) were also checked. Results of an analytical series were accepted only if there was no signal larger than that for a 0.01 mg/kg solution of bisphenol-A at the retention time of bisphenol-A. If it was necessary, peak areas of the calibration standards and the unknown sample solution were corrected by this blank value.

If the above requirement was not met, sample preparations of the calibration solutions and the samples were repeated using freshly prepared, clean reagent solutions. If elimination or reduction of the interference had been unsuccessful, unknown samples would have been analyzed by a standard addition method, but this correction was not necessary, because the standard method proved to be specific.

For qualitative analysis, a variation of no more than 2.5% in the retention time of bisphenol-A was acceptable. This condition was met during our measurements.

If specific migration exceeds the SML value of 0.6 mg/kg (SML = Specific Migration Limit) set forth in Commission Regulation (EU) No 20/2011, then the presence of bisphenol-A has to be confirmed by comparing the DAD UV spectra of the sample solution and a calibration solution of similar concentration, between 210 and 350. Characteristic absorption maximums of bisphenol-A are at 220, 230 and 280 nm.

6. Results

Planning and validation of non-standard analytical methods were performed, and the standard analytical method for bisphenol-A was adapted. Our work has made it possible to perform the analysis of components migrating from materials coming into contact with foods into foods with performance characteristics satisfying current European legislation, while also satisfying the relevant requirements of standard MSZ EN ISO/IEC 17025:2005 [32] regarding the accreditation of testing laboratories.

Analytical methods developed and adapted have the following limits of quantification (LOQ):

- butyl-hydroxytoluene (BHT): 0.5 mg/kg (GC-MS)
- dibutyl phthalate: 0.05 mg/kg (GC-MS)
- benzyl butyl phthalate: 5 mg/kg (GC-MS)
- bis-(2-ethylhexyl)- phthalate: 0.25 mg/kg (GC-MS)
- diisononyl phthalate: 1.5 mg/kg (GC-MS)
- diisooctyl phthalate: 1.5 mg/kg (GC-MS)
- irganox 1076 octadecyl 3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)-propionate: 1 mg/kg (GC-MS)
- bisphenol-A (4,4'-(propane-2,2-diyl)-diphenol): 0.03 mg/kg (HPLC-FLD)

5. táblázat. A „D2” élelmiszer-utánzó modellanyaggal végzett OM7 vizsgálatot helyettesítő vizsgálat [22].

Table 5 Substitute test for OM7 with food simulant D2 [22].

Vizsgálat jelzése Test number	Vizsgálati körülmények Test conditions	Az élelmiszerekkel való rendeltetészerű érintkezés körülményei Intended food contact conditions	Az élelmiszerekkel való rendeltetészerű érintkezésnek az alábbi vizsgálatoknál ismertetett körülményeit foglalja magában Covers the intended food contact conditions described in
OM ₈	„E” élelmiszer-utánzó modellanyag esetében 2 órán keresztül 175 °C-on és „D ₂ ” élelmiszer-utánzó modellanyag esetében 2 órán keresztül, 100°C-on <i>Food simulant E for 2 hours at 175°C and food simulant D2 for 2 hours at 100 °C</i>	Kizárólag magas hőmérsékletű alkalmazások <i>High temperature applications only</i>	OM ₁ , OM ₃ , OM ₄ , OM ₅ és OM ₆ OM ₁ , OM ₃ , OM ₄ , OM ₅ and OM ₆

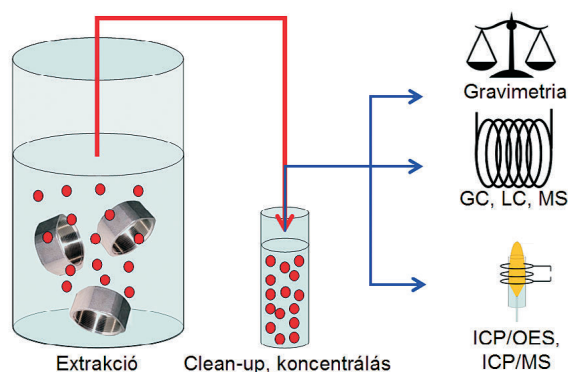
OM ₉	„E” élelmiszer-utánzó modellanyag esetében 2 órán keresztül 175 °C-on és „D ₂ ” élelmiszer-utánzó modellanyag esetében 10 napon keresztül és 40°C-on <i>Food simulant E for 2 hours at 175°C and food simulant D2 for 10 days at 40°C</i>	Magas hőmérsékletű alkalmazások, ideértve a szobahőmérsékleten való hosszú távú tárolást <i>High temperature applications including long term storage at room temperature</i>	OM ₁ , OM ₂ , OM ₃ , OM ₄ , OM ₅ és OM ₆ OM ₁ , OM ₂ , OM ₃ , OM ₄ , OM ₅ és OM ₆
-----------------	---	--	--

A 5. táblázatban feltüntetett „E” élelmiszert utánzó anyag a 60–80 mesh szemcseméretű, szilárd modellanyag, a poli-(2,6-difenil-p-fenilén-oxid), amelynek pórusmérete 200 nm (1. táblázatból).

Itt jegyezzük meg, hogy a kioldódási vizsgálatok tárgyalása során a továbbiakban a „modelloldat” szak kifejezést fogjuk használni azért, mert az 5. szakaszban ismertetett saját munkánkkal kapcsolatban csak vizes közegű, folyékony anyagokkal (ioncserélt víz, ecetsav és etanol oldatok) érintkező minták vizsgálatának módszerfejlesztéséről és laboratóriumi honosításáról számolunk be.

5. Anyag és módszer

A WESSLING Hungary Kft. Élelmiszerbiztonsági Üzletágának laboratóriumában élelmiszer-csomagolóanyagok modelloldatos extrakciójának vizsgálati módszereit dolgoztuk ki, majd validáltuk, ezen felül pedig egy szabványos módszert honosítottunk.



4. ábra. Az élelmiszerekkel rendeltetészerűen érintkező anyagok kioldódási vizsgálatainak vázlatos bemutatása

Figure 4 Schematic description of migration testing of materials coming into contact with foods

By the time this paper is published, other analytical methods for the analysis of compounds migrating into foods will have been adapted. It is our intention to report the analytical results obtained using the available methodologies in our next article.

Acknowledgement

We would like to thank **Dr. Bálint Berente** of WESSLING Beneficial Nonprofit Ltd., and all the employees of the laboratories of WESSLING Hungary Ltd. who supported, with their work, the analysis of materials coming into contact with foods and the adaptation of analytical methods.

References

[1] Muncke1, J., Peterson Myers, J., Scheringer, M., Porta, M. (2014): Food packaging and migration of food contact materials: will epidemiologists rise to the neotoxic challenge? *Journal of Epidemiology and Community Health*. Online published: <http://jech.bmj.com/content/early/2014/01/28/jech-2013-202593> Letöltve: 2014.02.21.

[2] Sensorische Prüfung – Prüfung von Packstoffen und Packmitteln für Lebensmittel (nach DIN 10955). Amtl. Sammlung § 64 LFBG B 80.00–4 2008-10.

[3] Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry EPA Method 6010C - 1 Revision 3, (2007).

[4] Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry EPA Method 6020A (2007).

[5] Regulation (EC) No 178/2002 of the European Parliament and of the Council of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety.

[6] Grob, K. (2005): Migration from food packaging materials a major challenge for analysts and regulators. Oral lecture and personal communication.

[7] Domoki J. (2007): Migrating pollutants leaching from packaging materials and transport equipments. In *Food Safety And Quality III. Mezőgazda Kiadó Budapest, 2007.* pp. 130. Editors: Balla Cs., Siró I.

[8] Regulation (EC) No 1935/2004 of the European Parliament and of the Council of 27 October 2004 On materials and articles intended to come into contact with food and repealing Directives 80/590/EEC and 89/109/EEC.

[9] Farkas, J. (1996): The Past And Present Of Thermal Food Preservation. *Konzervújság* 4. 89-92.

[10] Sadler, M. (2006): The Epic Search for the Northwest Passage and John Franklin, and the Discovery of the Queen's Ghost Ship. New York: Sterling Publishing Co. pp. 71-73.

[11] Amy, R., Bhatnagar, R., Damkjar, E., Beattie, O. (1986): The last Franklin Expedition: report of a postmortem examination of a crew member. *Canadian Medical Association Journal* 135 (2), 115–117.

[12] Grob, K. (2007): Advances In Chromatography: Towards More Complex And Sophisticated Methods. 3rd International Symposium on Recent Advances In Food Analysis, Prague. November 7–9, 2007. L-41. Oral lecture.

[13] European Food Safety Authority EFSA (2009): Statements on the presence of 4-methylbenzophenone found in breakfast cereals. *The EFSA Journal* RN-243: 1-19.

[14] Yamamoto K, Tajima K, Mizutani T. (1980): The acute toxicity of butylated hydroxytoluene and its metabolites in mice. *Toxicol Lett.* (3). pp. 173-175.

[15] Hammond, B.G., Levinskas, G.J., Robinson, E.C., Johannsen, F.R. (1987): A review of the subchronic toxicity of butyl benzyl

phthalate. *Toxicol. Ind. Health* (3). 79-97.

[16] Lorz, P.M., Towae, F.K., Enke, W., Jäckh, R., Bhargava, N., Hillesheim, W. (2007): Phthalic Acid and Derivatives. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Copyright © 1999-2014 by John Wiley and Sons, Inc.

[17] Gray, L.E. Jr, Ostby, J., Furr, J., Price, M., Veeramachaneni, D.N., Parks, L. (2000): Perinatal exposure to the phthalates DEHP, BBP, and DINP, but not DEP, DMP, or DOTP, alters sexual differentiation of the male rat. *Toxicological Sciences* 58 pp. 350–365.

[18] Lake, B.G., Gangolli, S.D., Schmid, K., Schweizer, W., Stäubli, W., Waechter, F. (1980): The induction of rat hepatic microsomal xenobiotic metabolism by n-octadecyl beta-(3',5'-di-tert-butyl-4'-hydroxyphenyl)-propionate. *Food Cosmet Toxicol.* (1) pp. 47-54.

[19] Pant, J., Deshpande, S.B. (2012): Acute toxicity of bisphenol A in rats. *Indian J. Exp. Biol.* 50 (6): 425-9.

[20] Erdey-Grúz T. (1969): *Fundamentals of Physical Chemistry*. Műszaki Könyvkiadó, Budapest. pp. 323-325.

[21] Marosi Gy. (2003): Non published result of Ciba Geigi AG. In: *Packaging Technics*. Budapest Technical University Lecture Notes 2003. p. 28.

[22] Commission Regulation (EU) No 10/2011 of 14 January 2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food.

[23] Regulation (EC) No 882/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 on official controls performed to ensure the verification of compliance with feed and food law, animal health and animal welfare rules.

[24] WESSLING Internal Standard Procedure (2012): Investigation Of Plastics Additives From Food Simulant Solutions Using GC-MS Method. WBSE-89. WESSLING Hungary Ltd.

[25] Validation Od Analytical Method (2012): Investigation Of Plastics Additives From Food Simulant Solutions. AMVR-WESSLING-019-2012-01.

[26] CEN/TS 13130-13:2005. Technical Specification. Materials and articles in contact with foodstuffs – Plastics substances subject to limitation – Part 13: Determination of 2,2-bis-(4-hydroxyphenyl)-propane (Bisphenol-A) in food simulants.

[27] MSZ EN 13130-1:2004. Materials and articles in contacts with food staffs. Plastics substances subject to limitation. Part 1: Guide to test methods for the specific migration of substances from plastics to foods and food simulants and the determination of substances in plastics and the selection of conditions of exposure to food simulants.

[28] MSZ EN 1186-3:2002. Materials and articles in contact with foodstuffs – Plastics – part 3: Test method t overall migration into aqueous food simulants by total immersion.

[29] MSZ EN 1186-7:2002. Materials and articles in contact with foodstuffs. Plastics Test methods for overall migration into aqueous food simulants using a pouch.

[30] MSZ EN 1186-9:2002. Materials and articles in contact with foodstuffs. Plastics Test methods for overall migration into aqueous food simulants by article filling.

[31] MSZ EN 1186-14:2003. Materials and articles in contact with foodstuffs. Plastics. Part 14: Test methods for „substitute tests” for overall migration from plastics intended to come into contact with fatty foodstuffs using test media iso-octane and 95% ethanol.

[32] MSZ EN ISO/IEC 17025:2005. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.

Kioldódási vizsgálataink folyamatát vázlatosan a **4. ábrán** mutatjuk be. A vizsgálandó mintákat – az ábrán néhány italtároló palack kupakja látható – meghatározott hőmérsékleten és időtartamon át egy, az élelmiszereket utánó modelloldatba merítettük (extrakció), a kioldódott anyagok oldatát szűrtük, s a meghatározáshoz szükséges koncentrációra állítottuk be (clean-up és koncentráció), majd a teljes kioldódást gravimetriásan, a specifikus kioldódást pedig elválasztástechnikai eljárásokkal (GC-MS, HPLC-FLD) határoztuk meg.

A kioldódási kísérletekhez használt modelloldatok a következő összetételűek voltak: analitikailag legtisztább ioncserélt víz, 3%-os ecetsav, 20%-os etanol, 50%-os etanol és 96%-os etanol oldat. Az élelmiszereket rendeltetésszerűen érintkező anyagokból kioldódó butil-hidroxi-toluol (BHT), dibutil-ftalát, benzil-butyl-ftalát, bis-(2-etilhexil)-ftalát, diizononil-ftalát, diizodecil-ftalát, Irganox 1076 (octadecyl-3-(3,5-di-tert-butyl-4-hidroxyphenyl)-propionate) azonosításához és mennyiségi meghatározásához saját vizsgálati módszert dolgoztunk ki [24], amelyet a szolgáltatásszerű alkalmazásba vétel előtt validáltunk [25]. A biszfenol-A meghatározására szabványos módszert honosítottunk és alkalmaztunk [26]. A műszeres mérésekhez diciklohexil-ftalát kísérő standardet és 2-fluoro-bifenil belső standardet használtunk.

5.1. Nem szabványos kioldódási vizsgálatok és azok validálása

A vizsgált, az élelmiszerekkel rendeltetésszerűen érintkező anyagokat (a továbbiakban műanyagok) adott körülmények között modelloldatokba áztattuk az MSZ EN 13130-1:2004 szabvány [27], valamint a 10/2011/EK rendelet előírásai szerint. A modelloldatokból az azokba kioldódott adalékanyagokat hexánal extraháltuk és mennyiségüket GC-MS technikával mértük. Vizsgálatainkhoz analitikailag legtisztább, illetve GC- HPLC-vizsgálatokra alkalmas oldószereket és vegyszereket használtunk.

5.1.1. Kalibráció

A mérésekhez metanolban oldva 10.000 µg/ml koncentrációjú törzsoldatokat használtunk, amelyeket felhasználásig – legfeljebb 1 évig – mélyhűtve, -20°C-on tároltunk. A kísérő standard (SSTD) és belső standard (ISTD) oldatokat +4°C-on, legfeljebb 6 hónapig tároltuk. A törzsoldatokból komponensenként 6 kalibráló oldatot készítettünk. A kalibrációs pontokat úgy határoztuk meg, hogy az egyes kalibrációs görbék középső szakaszai a kioldódó vegyületekre vonatkozó határértékek koncentrációjához essenek közel. A kalibrációs pontokra illesztett kalibrációs görbék alakja az **8. ábrán** tanulmányozható a módszer validálásáról szóló 5.1.4.4. szakaszban.

5.1.2. Mintaelőkészítés

5.1.2.1. Mintaelőkészítés az összkiloldódás vizsgálatához

A csomagolóanyagok vizsgálatának mintaelőkészítésénél a bemerítést az MSZ EN 1186-3:2002 [28],

a mintazacskók készítését az MSZ EN 1186-7:2002 [29] és a vizsgálandó termék modelloldattal való megtöltését az MSZ EN 1186-9:2002 [30] szabványok előírásai szerint végeztük. Az olajjal végzendő kioldódási vizsgálatoknál az olajat az MSZ EN 1186-14:2003 [31] szabvány alapján izooktánnal, illetve 95%-os etanollal helyettesítettük. A teljes kioldódást 10 napig, 40°C-on való tárolással szimuláltuk.

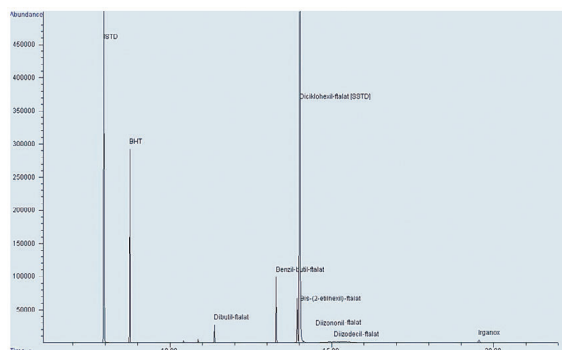
5.1.2.2. Mintaelőkészítés a specifikus kioldódás vizsgálatához

A vizsgálati mintákat a Bizottság 10/2011/EK rendeletében [22] foglaltak szerint extraháltuk a megfelelő modelloldatokba való merítéssel, illetve a modelloldattal való megtöltéssel. A speciális kioldódási vizsgálatokhoz a hosszú idejű, szobahőmérsékleten való érintkeztetést 10 napig, 60°C-on végeztük.

A bemerítési, illetve érintkeztetési idő lejártá után a modelloldatokból alikvot mennyiségeket vettünk ki. A modelloldatokhoz kísérő standardet adtunk, majd a kioldódott műanyag adalékokat analitikai pontossággal bemért n-hexánnal három részletben extraháltuk. A n-hexános fázisokat egyesítettük, majd belső standard oldatot adtunk hozzájuk.

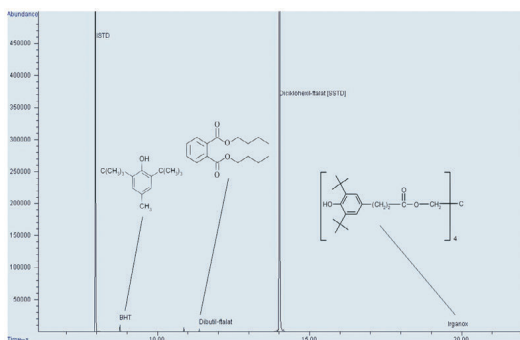
5.1.3. Mérés

A GC-MS készülékbe a hexános fázisokat injektáltuk. A műanyagokból kioldódó komponensek elválasztását Agilent 6890N típusú gázkromatográfval végeztük, amely Restek Rx-ILB 20 cm * 0.18 mm * 0.18 µm oszloppal és Agilent 5973 típusú tömegszelektív detektorral volt felszerelve. Az oszlopról eluálódó komponenseket SIM (szelektív ionkövetés) üzemmódban detektáltuk. Az oszlopról eluálódó felesleges oldószert gőzöket 6 perces solvent delay beállításával távolítottuk el. Az injektort pulsed splitless üzemmódban működtettük 1,5 perc splitless idővel és 147 kPa pulzusnyomással. A vivőgáz 1 ml/perc áramlási sebességű He volt. Az injektorba 1 µl n-hexános oldatot adagoltunk. Az elválasztást programozott hőmérsékleten folytattuk le. A **5/a.** és a **5/b. ábrán** egy standard oldat és egy valós minta kromatogramját mutatjuk be.



5/a. ábra. A modelloldatokba kioldódó műanyagkomponensek standard kromatogramja az egyes komponensek határértékénél

Figure 5/a Standard chromatogram of plastic components migrating into model solutions at the individual limit values



5/b. ábra. A modelloldatokba kioldódó műanyag-komponensek valós mintájának kromatogramja

Figure 5/b Chromatogram of an actual sample of plastic components migrating into model solutions

A vizsgálatoknál detektált vegyületek retenciósi adatait a 6. táblázat tartalmazza.

6. táblázat. A műanyagokból a modelloldatokba migráló komponensek, a belső standard és a kísérő standard retenciósi adatai

Table 6 Retention times of components migrating from plastics into model solutions, of internal and surrogate standards

Komponensek Component	RT (perc) RT (min)
2-fluoro-bifenil (ISTD) 2-Fluorobiphenyl (ISTD)	7,95
Butil-hidroxi-toluol (BHT) Butyl-hydroxytoluene (BHT)	8,76
Dibutil-ftalát Dibutyl phthalate	11,37
Benzil-butyl-ftalát Benzyl butyl phthalate	13,26
Bis-(2-etilhexil)-ftalát Bis(2-ethylhexyl) phthalate	13,92
Diciklohexil-ftalát (SSTD) Dicyclohexyl phthalate (SSTD)	13,99
Diizononil-ftalát Diisononyl phthalate	14,89
Diizooktil-ftalát Diisooctyl phthalate	15,40
Irganox 1076 (octadecil-3-(3,5-di-tert-butil-4-hidroxifenil)-propionát) Irganox 1076 (octadecyl 3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propionate)	19,53

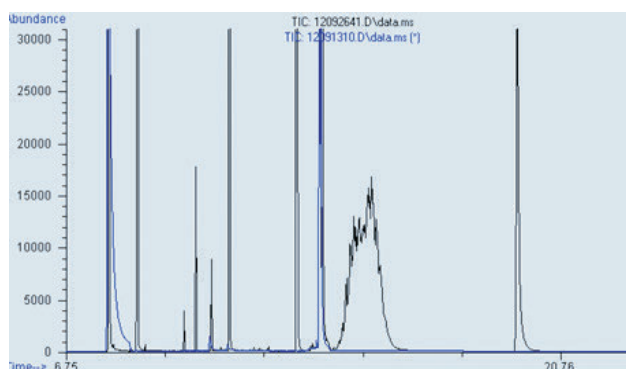
Minden mérési sorozatban módszervak mintákat és adalékolt mintákat is mértünk. A módszervak mintákat olyan modelloldatokból készítettük, amelyek nem tartalmazták a vizsgálandó műanyagokból kioldódó komponenseket. Az adalékolást a rendelet szerinti határértékeknek megfelelő [22] koncentrációjú komponenseket hozzákeverésével végeztük.

5.1.4. A mérési módszer validálása (vázlatos áttekintés)

Többkomponenses kioldódási vizsgálati módszerünket a specifikusság és mátrixhatás, a kimutatási határ, a kalibrációs görbe linearitás, az ismételhőtség és visszanyerés, valamint a torzítatlanság, ellenőrzésével validáltuk, abból a célból, hogy igazolni tudjuk az 5. szakaszban felsorolt műanyag adalékok azonosítására és mennyiségi meghatározására való alkalmasságát.

5.1.4.1. A specifikusság ellenőrzése

A specifikusság vizsgálata során azt ellenőriztük, hogy a mintaelőkészítéshez és méréshez használt vegyszerek és eszközök egyike sem tartalmaz-e olyan szennyezőt, ami a minták kiértékelését zavarja. A vizsgálatnál módszervak oldatokat készítettünk (olyan oldatok, amelyek minden komponenst tartalmaznak a vizsgálandó vegyületek kivételével) a rendeletben előírt ötféle modelloldatból [22]. A módszervak oldatok kromatogramjait az egyes komponensek határértékéhez közeli koncentrációkat tartalmazó modelloldatok kromatogramjaival hasonlítottuk össze.



6. ábra. A specifikusságot ellenőrző mérések egyik kromatogramja, amelyet 50%-os etanol oldattal vettünk fel

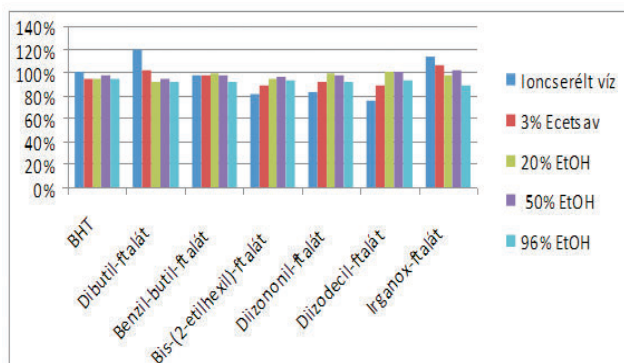
Figure 6 One of the chromatograms for testing specificity, recorded with a 50% ethanol solution

Ezekből az összehasonlításokból mutatunk egyet a **6. ábrán**. Az ábrán a sötétkék színnel jelölt kromatogram jelenti a módszervak, a fekete kromatogram pedig a határértékekhez közel eső adalékolással felvett analitikai eredményt.

A módszer specifikusát akkor tekintettük megfelelőnek, amikor a módszervak kromatogramokon a komponensek retenciósi idejének közelében nem jelentkezik zavaró csúcs a határérték 20%-át meghaladó mértékben. A **6. ábra** tanúsága szerint ez a kritérium valamennyi modelloldat alkalmazása mellett teljesült. Kidolgozott módszerünk specifikus volt a vizsgált komponensekre nézve.

5.1.4.2. A mátrixhatás ellenőrzése

A mátrixhatás ellenőrzése során a rendeletben előírt ideig különböző műanyag tárgyakat (műanyag poharat, szívószálat és műanyag palack kupakját) áztatunk a rendelet által előírt ötféle modelloldatba [22], majd a modelloldatokat az egyes határértékek koncentrációjára adalékoltuk és megvizsgáltuk a komponensek visszanyerését. A mátrixhatást akkor nem tekintettük zavarónak, ha az egyes műanyag-típusok kivonataiban a visszanyerési értékek a 70 és 130% közötti tartományba esnek.



7. ábra. A mátrixhatás ellenőrzésénél kapott visszanyerési adatok műanyag poharak vizsgálata esetén

Figure 7 Recovery data when testing the matrix effect in case of plastic cups

Terjedelmi okokból a **8. ábrán** csak a legkedvezőtlenebb eredményt adó, a műanyag porakkal végzett ellenőrzés adatait közöljük, ahol a visszanyerések értékei a 83% (bis(2-ethylhexil)-ftalát ioncserélt vizes oldata) és 119% (dibutil-ftalát ioncserélt vizes oldata) közötti tartományba estek. Az eredmények a másik két kísérlet sorozatban ennél még kedvezőbben alakultak. Így tehát teljesült az általunk megfogalmazott visszanyerési követelmény, hogy az értékek 70% és 130% közé essenek. A mátrixok zavaró hatása egyik vizsgálati sorozatunkban sem haladta meg az általunk kitűzött elfogadható értékeket.

5.1.4.3. A kimutatási határ (LOQ) meghatározása

Célul tűztük ki, hogy legalább olyan alsó mérési határokat érjünk el, amelyek a határértékekhez tartozó koncentrációnak legfeljebb 30%-át teszi ki. Azt terveztük, hogy egy vegyületet akkor tekintettünk számszerűen mérhetőnek, ha a szóban forgó komponenshez tartozó jel/zaj arány az LOQ-értéken meghaladja a 10-et. A jel és zaj arányok adatait a **7. táblázatban** foglaltuk össze.

7. táblázat. A műanyagokból kioldódó komponensek jel/zaj arányának és az egyes jel/zaj arányokhoz tartozó koncentrációk értékei a kioldódó anyagok határértékeinek 17%- és 8%-ánál

Table 7 Signal-to-noise and concentration values of components leaching from plastics at 17% and 8% of the limit

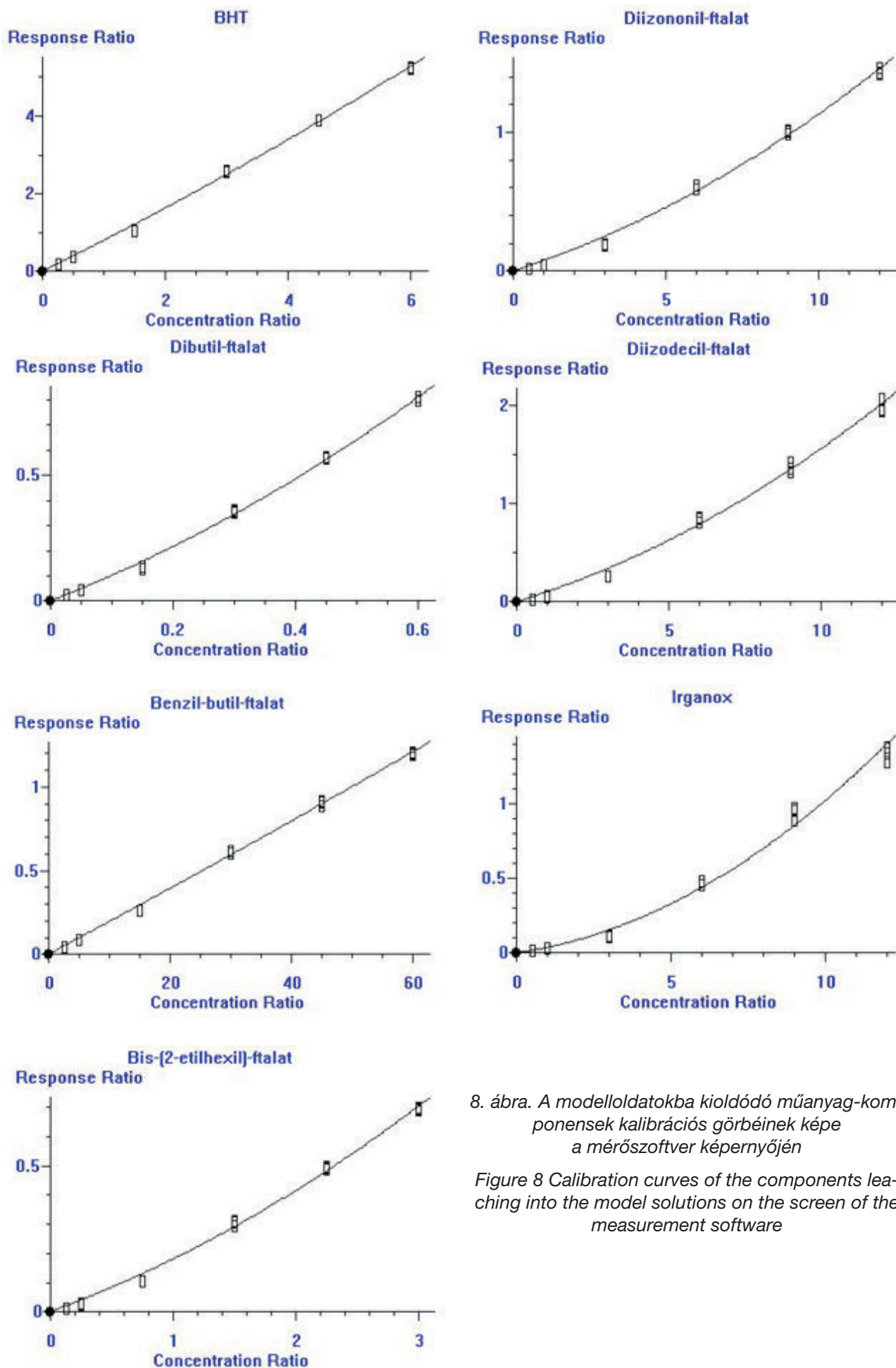
Komponens Component	Jel/zaj arányok Signal-to-noise ratio		Koncentrációk ng/ml	
	17%-nál at 17%	8%-nál at 8%	17%-nál	8%-nál
Butil-hidroxi-toluol (BHT) Butyl-hydroxytoluene (BHT)	1720	1255	510	240
Dibutil-ftalát Dibutyl phthalate	93	62	51	24
Benzil-butil-ftalát Benzyl butyl phthalate	2410	950	5100	2400
Bis(2-ethylhexil)-ftalát Bis(2-ethylhexyl) phthalate	480	275	255	120
Diizononil-ftalát Diisononyl phthalate	36	22	1020	480
Diizooktil-ftalát Diisooctyl phthalate	78	39	1200	480
Irganox 1076 (octadecyl-3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propionate)	470	236	1200	480

A **7. táblázatban** részletezett adatok azt mutatják, hogy a jel/zaj arányok valamennyi komponens esetében, még a határértékek 8%-ánál messze meghaladták a tízet. Így tehát beállított módszerünkönél minden vizsgált komponensünk mérési alsó határa (LOQ) számottevően kisebbnek bizonyult a jogszabályban megadott határértékek 30%-ánál. Biztonsági megfontolásokból mindezek ellenére az elemzések alsó méréshatárát (LOQ) a mindenkori határértékek 17%-ánál jelöltük ki.

5.1.4.4. A kalibráció ellenőrzése

A modelloldatokba oldódott vegyületek mennyiségi meghatározását belső standard kalibrációs módszerrel végeztük, lineáris regressziót alkalmazva. A vizsgálandó mintákra kapott csúcsterület-arányokból a kalibrációs görbe ismeretében a komponensek koncentrációját az adatgyűjtő és feldolgozó szoftver

számította ki. A vizsgált vegyületek kalibrációs görbéi az 5. ábrán láthatók.



8. ábra. A modelloldatokba kioldódó műanyag-komponensek kalibrációs görbéinek képe a mérőszoftver képernyőjén

Figure 8 Calibration curves of the components leaching into the model solutions on the screen of the measurement software

A kalibrációt minden komponensre három-három párhuzamos méréssel végeztük el. A kalibrációs pontokat az egyes komponensekre érvényes határértékek 10 és 200%-a közötti koncentráció-tartományokra állítottuk be. Az általunk beállított mérési tartományban valamennyi komponensre megfelelő kalibrációs görbét lehetett illeszteni, amelyek R²-értéke minden esetben nagyobb volt, mint 0,996. Az **5. ábráról** leolvasható, hogy a kalibráció ismételhetősége megfelelő.

5.1.4.5. A visszanyerés és ismételhetőség ellenőrzése

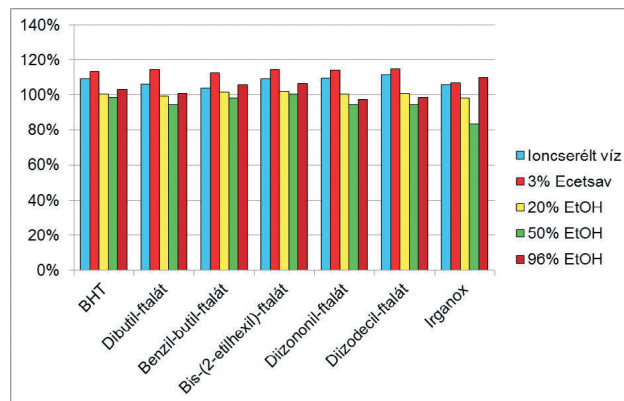
Az adalékolt minták vizsgálati eredményei alapján vegyületenként 5-5 párhuzamos elemzéssel határoztuk meg a visszanyerési adatokat. A **8. táblázatban** a visszanyerési százalékok vegyületenként és modelloldatonként számított átlagértékeit foglaltuk össze.

8. táblázat. A műanyagokból kioldódó komponensek átlagos visszanyerési adatai 5 párhuzamos elemzésből számítva

Modell-oldat Model solution	BHT	Dibutil-ftalát Dibutyl phthalate	Ben-zil-but-til-ftalát Benzyl butyl phthalate	Bisz-(2-etil-hexil)-ftalát Bis(2-ethyl-hexyl) phthalate
Ioncserélt víz Deionized water	109%	106%	104%	109%
Ecetsav 3% Acetic acid 3%	113%	115%	113%	115%
Etanol 20% Ethanol 20%	100%	99%	102%	102%
Etanol 50% Ethanol 50%	99%	95%	98%	100%
Etanol 96% Ethanol 96%	103%	101%	106%	106%

Modell-oldat Model solution	Diizononil-ftalát Diisononyl phthalate	Diizononil-ftalát Diisononyl phthalate	Irganox 1076 Irganox 1076
Ioncserélt víz Deionized water	110%	111%	106%
Ecetsav 3% Acetic acid 3%	114%	115%	107%
Etanol 20% Ethanol 20%	100%	101%	98%
Etanol 50% Ethanol 50%	94%	94%	84%
Etanol 96% Ethanol 96%	97%	99%	110%

A visszanyerési adatok közül a **9. ábrán** az egyes modelloldatok használatával 5 párhuzamos vizsgálat átlagos visszanyerési adatait mutatjuk be.



9. ábra. A modelloldatokkal készített adalékolt minták visszanyerési adatai

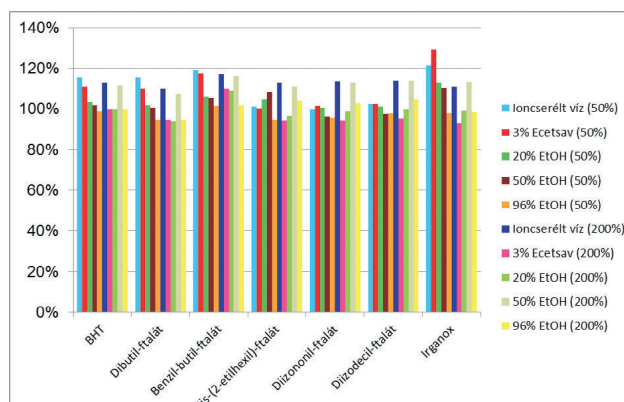
Figure 9 Recovery data for spiked samples made with model solutions

A **9. ábráról** leolvasható, hogy visszanyerési adatok valamennyi komponensnél a 90% és 120% közé estek, így kielégítették az általunk elfogadhatónak ítélt követelményt (70% - 130%). Az ábrán keretezett rész mutatja az elfogadási tartományt.

Hasonló módon kedvezően alakult a visszanyerési eredmények szórása (RSD) is: az adalékolt minták vizsgálati eredményei valamennyi modelloldat használata esetén kisebb volt, mint a validálási célként kitűzött 20%. Így mérési eredményeink alapján módszerünk visszanyerési jellemzőit és ismételhetőségét megfelelőnek fogadtuk el.

5.1.4.6. A torzítatlanság vizsgálata

A torzítatlanság vizsgálatának célja az volt, hogy megállapítsuk, milyen mértékben függ az egyes komponensek visszanyerése azok koncentrációjától. A torzítatlanság vizsgálatához 3-3 párhuzamosban két sorozat mérést végeztünk. Az egyik sorozatban adalékolással a határérték-koncentrációk 50%-ára, a másik sorozatban pedig a határérték 200%-ára állítottuk a vizsgálandó vegyületek mennyiségét. A torzítatlansági vizsgálati adatokat grafikusán a **10. ábrán** foglaltuk össze.



10. ábra. A modelloldatokkal készített adalékolt minták három párhuzamosból mért adatainak átlaga

Figure 10 Average values of three measurements of spiked samples made of model solutions

A **10. ábra** jelmagyarázatában a zárójelek közötti %-értékek az egyes komponensek határértékeihez viszonyított addíciós koncentrációkat jelentik. Így pl. az „ioncserélt víz (50%)” olyan ioncserélt vizes modelloldatot jelöl, amelyben a vizsgálandó komponensek koncentrációját azok határértékeinek 50%-ára állítottunk be a visszanyerési vizsgálatokhoz.

A digramokról leolvasható, hogy a visszanyerés valamennyi kísérletben az általunk elvárt 70 és 130% közé esett, így a módszerrel kapott vizsgálati eredmények torzítatlanoknak fogadhatók el. A **10. ábrán** keretezett rész mutatja az elfogadási tartományt.

5.2. A biszfenol-A (2,2-Bisz-(4-hidroxifenil)-propán) vizsgálata szabvány szerint

5.2.1. Mintaelőkészítés

Az élelmiszerekkel rendeltetésszerűen érintkező anyagokból kioldódó biszfenol-A meghatározását a CEN/TS 13130-13:2005 számú szabvány alapján végeztük el [26]. Mivel az eljárásnál teljes mértékben a szabvány utasításai szerint jártunk el, a vizsgálatok részletes ismertetésétől eltekintünk. A kioldódási vizsgálatokat a rendeletben előírt analitikailag legtisztább ionmentes vízzel, 3% os ecetsavval, illetve 20% etanollal végeztük el.

5.2.2. Kalibrálás és mérés

A mérésekhez az analitikai pontossággal bemért biszfenol-A-ból analitikailag legtisztább metanolos törzsoldatot készítettünk, amelyet hűtött állapotban legfeljebb 3 hónapig tároltunk. A kalibrációhoz az ismeretlen minták vizsgálatához használt modelloldatokkal készített kalibráló oldatsorozatot használtunk. A mennyiségi meghatározást külső standard kalibrációs módszerrel végezzük, lineáris regressziót alkalmazva. A vizsgálandó mintákra kapott csúcsterületekből a kalibrációs egyenes ismeretében az adatgyűjtő és feldolgozó szoftver számította ki a minták biszfenol-A koncentrációját. A törzsoldatból a **9. táblázatban** összefoglalt vizes kalibrálóoldatokat készítettük el.

9. táblázat. A biszfenol-A (2,2-Bisz-(4-hidroxifenil)-propán) vizes közegű kalibráló oldatainak koncentrációi

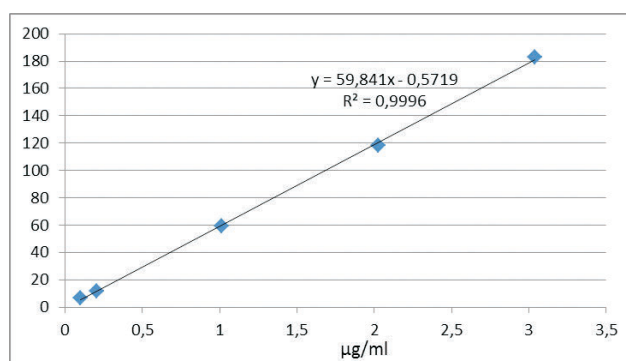
Table 9 Concentrations of the aqueous calibration solutions of bisphenol-A (2,2-bis-(4-hydroxyphenyl)-propane)

Kalibráló oldat jelzése Calibration solution	Névleges koncentráció µg/ml Nominal concentration µg/ml
K ₁	0,1
K ₂	0,2
K ₃	1,0
K ₄	2,0
K ₅	3,0

A méréseket Agilent 1100 series típusú folyadékkromatográfival Zorbax Eclipse XDB-C18, 150 mm × 4,6 mm × 3,5 µm (Agilent) oszlopon végeztük. Az oszlop-termosztát hőmérséklete 25°C. Eluensként 30% vizet és 70% metanol tartalmazó oldatot használtunk izokratikus körülmények között, amelynek áramlási sebessége 1 ml/perc volt.

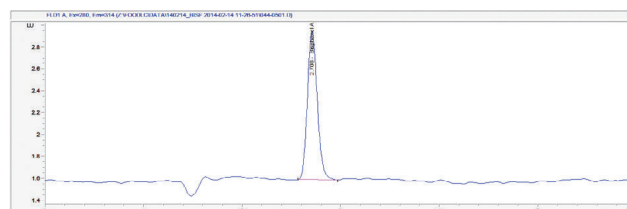
A kalibráló oldatokból és a modelloldatokból 20 µl térfogatokat injektáltunk a készülékbe. A biszfenol-A UV-detektálása λ=280 nm-en lehetséges, de fluoreszcenciás detektálással jobb érzékenységet lehet elérni, ezért választottuk a fluoreszcenciás detektort. Az alkalmazott gerjesztési hullámhossz, λ_{exc}=280 nm, az emissziós hullámhossz pedig λ_{em}=314 nm volt. A biszfenol-A retenciósideje 2,7 perc.

A mérés során alkalmazott kalibráció görbáját a **11. ábrán**, a biszfenol-A jellemző kromatogramja pedig a **12. ábrán** látható.



11. ábra. A biszfenol-A kalibrációs görbéje

Figure 11 Calibration curve of bisphenol-A



12. ábra. A biszfenol-A kromatogramja (HPLC-DAD) 0,19 µg/ml

(10/2011/EK határérték: 0,6 mg/kg, kivéve cumisüvegek) [22]

Figure 12 Chromatogram of bisphenol-A (HPLC-DAD) 0.19 µg/ml

(10/2011/EC limit value: 0.6 mg/kg, except nursing bottles) [22]

5.2.3. A mérési eredmények minőségbiztosítása

Mivel a biszfenol-A vizsgálatát szabványos módszerből honosítottuk, a mérés beállítása során nem végeztünk validálást, de a módszer analitikai teljesítményjellemzőit ellenőriztük. E célból néhány sarkalatos követelményt fogalmaztunk meg:

A folyadékkromatográfias elválasztás és detektálás érzékenységét akkor fogadtuk el, ha a **13. táblázatban** megadott K_f koncentrációjú kalibrálóoldatra (6 ng biszfenol-A) az UV-detektorral kapott jel/zaj arány nagyobb lett, mint 3.

Az ismeretlen minták mérésével párhuzamosan öt kalibrációs pont analizését végeztük el. A kalibrációt akkor fogadtuk el, ha a görbére regressziós állandójára teljesül, hogy $R^2 \geq 0,996$. Amint az a 12. ábrán is látható, a regressziós állandó értéke e kritériumnál kedvezőbb lett.

Ellenőriztük a mérést zavaró hatásokat (specifitás) is. Csak akkor fogadtuk el egy mérési sorozat eredményeit, ha a biszfenol-A-t nem tartalmazó oldatban a biszfenol-A retenciós idejénél legfeljebb 0,01 mg/kg-os oldatnak megfeleltethető nagyságú jel keletkezett. Szükség esetén ezzel a vakértékkel minden kalibrálóoldat és ismeretlen mintaoldat csúcsterületét korrigáltuk.

Ha a fenti követelmény nem teljesült, akkor frissen készített, tiszta reagensoldatokkal megismételtük a kalibrálóoldatok és a minták előkészítését. Ha a zavarás megszüntetése, illetve csökkentése nem járt volna elfogadható eredménnyel, az ismeretlen mintákat standard addíciós módszerrel mértük vona meg, de erre a korrekcióra nem volt szükség, mert a szabványos módszer specifikusnak bizonyult.

A biszfenol-A kromatográfias retenciós idejének $\pm 2,5\%$ határon belüli ingadozását fogadtuk el a vegyület minőségi azonosítása céljából. Méréseink során ez a feltétel is teljesült.

Amennyiben a specifikus migráció meghaladja az a 10/2011 EK rendeletben megadott SML = 0,6 mg/kg-os értéket (SML = specifikus migrációs limit), akkor a biszfenol-A jelenlétét meg kell erősíteni a mintaoldat, illetve egy hasonló koncentrációjú kalibrálóoldat mérésekor felvett DAD UV spektrum összehasonlításával 210 és 350 nm között. A biszfenol jellegzetes abszorpciós maximumai 220, 230, illetve 280 nm-nél jelentkeznek.

6. Eredmények

Nem szabványos vizsgálati módszerek tervezését, validálását végeztük el, valamint adaptáltuk a biszfenol-A szabványos vizsgálati módszerét. Munkánkkal megteremtettük annak a lehetőségét, hogy az élelmiszerekkel rendeltetésszerűen kapcsolatba kerülő anyagokból az élelmiszerekbe migráló komponensek vizsgálatát a jelenleg érvényben lévő európai jogszabályokban foglalt analitikai teljesítményjellemzők mellett el tudjuk végezni olyan módon, hogy a vizsgálólaboratóriumok akkreditálására vonatkozó MSZ EN ISO/IEC 17025:2005 számú szabvány [32] követelményeinek is megfeleljenek.

A laboratóriumban kidolgozott, illetve átvett vizsgálati módszereinkkel a következő alsó méréshatárokat (LOQ = Limit Of Quantification) állítottuk be:

- butil-hidroxi-toluol (BHT): 0,5 mg/kg (GC-MS)
- dibutil-ftalát: 0,05 mg/kg (GC-MS)
- benzil-butyl-ftalát: 5 mg/kg (GC-MS)
- bisz-(2-etilhexil)-ftalát: 0,25 mg/kg (GC-MS)

- diizononil-ftalát: 1,5 mg/kg (GC-MS)
- diizooktil-ftalát: 1,5 mg/kg (GC-MS)
- Irganox 1076 (octadecil-3-(3,5-di-tert-butil-4-hidroxifenil)-propionát): 1 mg/kg (GC-MS)
- biszfenol-A (2,2-Bisz-(4-hidroxifenil)-propán): 0,03 mg/kg (HPLC-FLD)

Dolgozatunk megjelenési idejére laboratóriumunkban további, az élelmiszerekbe migráló vegyület analitikai eljárását is meghonosítjuk. Szándékunk szerint következő cikkünkben a rendelkezésünkre álló metodikák alkalmazásával nyert vizsgálati eredményeinkről is be fogunk számolni.

Köszönetnyilvánítás

Köszönetünket fejezzük ki, a WESSLING Közhasznú Nonprofit Kft. munkatársának, **Dr. Berente Bálintnak**, valamint a WESSLING Hungary Kft. laboratóriumi azon munkatársainak, akik élelmiszerekkel közvetlenül érintkező anyagok vizsgálatának előkészítését, a vizsgálati módszerek adaptálását gyakorlati munkájukkal támogatták.

Irodalom/References

- [1] Muncke, J, Peterson Myers, J., Scheringer, M., Porta, M. (2014): Food packaging and migration of food contact materials: will epidemiologists rise to the neotoxic challenge? Journal of Epidemiology and Community Health. Online published: <http://jech.bmj.com/content/early/2014/01/28/jech-2013-202593> Letöltve: 2014.02.21.
- [2] Sensorische Prüfung – Prüfung von Packstoffen und Packmitteln für Lebensmittel (nach DIN 10955). Amtl. Sammlung § 64 LFGB B 80.00-4 2008-10.
- [3] Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry EPA Method 6010C - 1 Revision 3, (2007).
- [4] Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry EPA Method 6020A (2007).
- [5] Európai Parlament és a Tanács 178/2002/EK rendelete (2002. január 28.) az élelmiszerjog általános elveiről és követelményeiről, az Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság létrehozásáról és az élelmiszerbiztonságra vonatkozó eljárások megállapításáról.
- [6] Grob, K. (2005): Migration from food packaging materials a major challenge for analysts and regulators. Prezentációs anyag és személyes közlés.
- [7] Domoki J. (2007): Csomagolóanyagokból, tároló- és szállítóberendezésekből kioldódó szennyezőanyagok. In: Élelmiszer-biztonság és -minőség III. Mezőgazda Kiadó Budapest, 2007. pp. 130. Szerk. Balla Cs., Siró I.
- [8] Az európai parlament és a tanács 1935/04/EK rendelete (2004. október 27.) az élelmiszerekkel rendeltetésszerűen érintkezésbe kerülő anyagokról és tárgyokról, valamint a 80/590/EGK és a 89/109/EGK irányelv hatályon kívül helyezéséről.
- [9] Farkas József (1996): A hőkezeléses élelmiszer-tartósítás múltja és jelene. Konzervújság 4. 89-92.
- [10] Sadler, M. (2006): The Epic Search for the Northwest Passage and John Franklin, and the Discovery of the Queen's Ghost Ship. New York: Sterling Publishing Co. pp. 71-73.
- [11] Amy, R., Bhatnagar, R., Damkjar, E., Beattie, O. (1986): The last Franklin Expedition: report of a postmortem examination of a crew member. Canadian Medical Association Journal 135 (2), 115-117.
- [12] Grob, K. (2007): Advances In Chromatography: Towards More Complex And Sophisticated Methods. 3rd International Symposium on Recent Advances In Food Analysis, Prague. November 7-9, 2007. L-41. Oral lecture.

- [13] European Food Safety Authority EFSA (2009): Statements on the presence of 4-methylbenzophenone found in breakfast cereals. The EFSA Journal RN-243: 1-19.
- [14] Yamamoto K, Tajima K, Mizutani T. (1980): The acute toxicity of butylated hydroxytoluene and its metabolites in mice. Toxicol Lett. (3). pp. 173-175.
- [15] Hammond, B.G., Levinskas, G.J., Robinson, E.C., Johannsen, F.R. (1987): A review of the subchronic toxicity of butyl benzyl phthalate. Toxicol. Ind. Health (3). 79-97.
- [16] Lorz, P.M., Towae, F.K., Enke, W., Jäckh, R., Bhargava, N., Hillesheim, W. (2007): Phthalic Acid and Derivatives. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. Copyright © 1999-2014 by John Wiley and Sons, Inc.
- [17] Gray, L.E. Jr, Ostby, J., Furr, J., Price, M., Veeramachaneni, D.N., Parks, L. (2000): Perinatal exposure to the phthalates DEHP, BBP, and DINP, but not DEP, DMP, or DOTP, alters sexual differentiation of the male rat. Toxicological Sciences 58 pp. 350-365.
- [18] Lake, B.G., Gangolli, S.D., Schmid, K., Schweizer, W., Stäubli, W., Waechter, F. (1980): The induction of rat hepatic microsomal xenobiotic metabolism by n-octadecyl beta-(3',5'-di-tert-butyl-4'-hydroxyphenyl)-propionate. Food Cosmet Toxicol. (1) pp. 47-54.
- [19] Pant, J., Deshpande, S.B. (2012): Acute toxicity of bisphenol A in rats. Indian J. Exp. Biol. 50 (6): 425-9.
- [20] Erdey-Grúz T. (1969): A fizikai kémia alapjai. Műszaki Könyvkiadó, Budapest. pp. 323-325.
- [21] Marosi Gy. (2003): A Ciba-Geigy AG. nem publikált eredménye. In: Csomagolás-technika. Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Jegyzete 2003. p. 28.
- [22] A Bizottság 10/2011/EK rendelete (2011. január 14.) az élelmiszerekkel rendeltetésszerűen érintkezésbe kerülő műanyagokról és műanyagtárgyakról.
- [23] Az Európai Parlament és a Tanács 882/2004/EK rendelete (2004. április 29.) a takarmány- és élelmiszerjog, valamint az állat-egészségügyi és az állatok kíméletére vonatkozó szabályok követelményeinek történő megfelelés ellenőrzésének biztosítása céljából végrehajtott hatósági ellenőrzésekről.
- [24] WESSLING Belső standard eljárás (2012): Műanyag adalékanyagok meghatározása modelloldatokból GC-MS módszerrel. WBSE-89. WESSLING Hungary Kft.
- [25] Analitikai módszer validálása (2012): Műanyag adalékok vizsgálata modelloldatokból. AMVR-WESSLING-019-2012-01.
- [26] CEN/TS 13130-13:2005. Technical Specification. Materials and articles in contact with foodstuffs – Plastics substances subject to limitation – Part 13: Determination of 2,2-bis(4-hydroxyphenyl)propane (Bisphenol-A) in food simulants.
- [27] MSZ EN 13130-1:2004. Élelmiszerekkel érintkező anyagok és termékek. Korlátozott felhasználású műanyag-alkotórészek. 1. rész: Útmutató az alkotórészek műanyagokból élelmiszerekbe és élelmiszer-utánzó modellanyagokba való fajlagos migrációjának vizsgálati módszereihez, a műanyagokban lévő alkotórészek meghatározása és az élelmiszer-utánzó modellanyagok expozíciós körülményeinek kiválasztása.
- [28] MSZ EN 1186-3:2002. Élelmiszerekkel érintkezésbe kerülő anyagok és termékek. Műanyagok. 3. rész: A vizes élelmiszer-szimulátorokba való teljes migráció vizsgálati módszerei teljes bemelegítéssel.
- [29] MSZ EN 1186-7:2002. Élelmiszerekkel érintkezésbe kerülő anyagok és termékek. Műanyagok. 7. rész: A vizes élelmiszer-szimulátorokba való teljes migráció vizsgálati módszerei zacskó felhasználásával.
- [30] MSZ EN 1186-9:2002. Élelmiszerekkel érintkezésbe kerülő anyagok és termékek. Műanyagok. 9. rész: A vizes élelmiszer-szimulátorokba való teljes migráció vizsgálati módszerei terméktöltéssel.
- [31] MSZ EN 1186-14:2003. Élelmiszerekkel érintkezésbe kerülő anyagok és termékek. Műanyagok. 14. rész: A zsíros élelmiszerekkel érintkező műanyagok teljes migrációjának vizsgálati módszerei (helyettesítéssel vizsgálatok) izooktánt és 95%-os etanolt használva.
- [32] MSZ EN ISO/IEC 17025:2005. Vizsgáló- és kalibrálólaboratóriumok felkészültségének általános követelményei.

