



FFG



MINISTERIUM
FÜR EIN
LEBENSWERTES
ÖSTERREICH

Nano-Metalle in Lebensmittelkontaktprodukten: Anwendung, Untersuchung von Lebensmittelsimulanzien und Bewertung

Endbericht

April 2014

Projektteam

AGES GmbH: Christa Hametner, Angelika Keckeis, Markus Polz, Johann Steinwider

Universität Wien, Dept. für Umweltgeowissenschaften: Frank von der Kammer, Stephan Wagner

Attophotonics Biosciences GmbH: Thomas Schalkhammer, Marlies Schlauf

Polymer Competence Center Leoben GmbH (PCCL): Sonja Feldbacher

Projektlaufzeit

Mai 2012 – April 2014

Finanzierung

1. Ausschreibung des NANO Environment Health and Safety-Programms der FFG

Bundesministerium für Verkehr, Innovation und Technologie (BMVIT)

Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft (BMLFUW)

Bundesministerium für Arbeit, Soziales und Konsumentenschutz (BMASK)

Bundesministerium für Gesundheit (BMG)

Zusammenfassung

Dem Einsatz von Nanomaterialien in Verpackungsmaterialien wird auf Grund von „intelligenten Eigenschaften“ wie verbesserten mechanischen und thermischen sowie optimierten Barriere- und mikrobiozider Eigenschaften ein hohes Potential vorhergesagt. Bei der Verwendung von Nanomaterialien in verbrauchernahen Produkten wie Lebensmittelkontaktmaterialien sind jedoch noch Fragen bezüglich Einsatz, analytischen Nachweismethoden, einem möglichen Übergang in das Lebensmittel und einer daraus resultierenden Exposition für VerbraucherInnen offen.

Das zentrale Ziel des Projektes „Nano-Metalle in Lebensmittelkontaktprodukten: Anwendung, Untersuchung von Lebensmittelsimulanzien und Bewertung“ (kurz: „Nano-Metalle in FCM – Food Contact Material“) ist die Entwicklung einer Detektions- und Quantifizierungsmethode von nanopartikulärem Silber und Palladium in Lebensmittelsimulanzien, die zur gesundheitlichen Beurteilung und Bewertung der Sicherheit von Verpackungsmaterialien herangezogen werden.

Dazu wurde das zukünftige Potential der Verwendung von Silber und Palladium im Bereich der Lebensmittelkontaktmaterialien und in Oberflächenbedruckungen erhoben. Verschiedene Muster von Kunststoffen (Polyethylen und Polypropylen) mit variierenden Parametern (Partikelgröße, mechanische und thermische Belastungsszenarien, Art der Einbringung) von Silber und Palladium wurden beschaffen. Mit diesen Mustern an Verpackungsmaterialien wurde die Migrationsprüfung mittels der Lebensmittelsimulanzien MilliQ Wasser und 20 Vol.-% Ethanol basierend auf den bestehenden gesetzlichen Vorgaben zur Migrationsprüfung der Verordnung (EU) Nr. 10/2011 durchgeführt.

Diese Lebensmittelsimulanzien wurden für die Entwicklung einer Methode zur Quantifizierung von Silber- und Palladium-Migrationsraten mittels sp-ICPMS herangezogen. Mit dieser Methode ist nun die Bestimmung der Gesamt- sowie der spezifischen Migrationsrate (Gesamt-, Gelöst-, und partikuläre Konzentration) möglich.

Auf Basis der Analyseergebnisse können folgende Rückschlüsse auf das Produktdesign geschlossen werden: je kleiner die Größe der verwendeten Partikel, desto höher die Konzentration im Lebensmittelsimulanz. Der verwendete Kunststofftyp (PE bzw. PP) sowie eine thermische und mechanische Behandlung der Kunststoffmuster hat bei den im Projekt untersuchten Bedingungen keinen signifikanten Einfluss auf die Konzentration im Lebensmittelsimulanz. Allgemein ist die partikuläre Konzentration von Silber und Palladium sehr gering. Silber migrierte im Gegensatz zu Palladium hauptsächlich in seiner gelösten Form, während Palladium kaum nachzuweisen war. Einzelne Partikel waren jedoch in allen Fällen im Simulanzmedium nachweisbar.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Migration bzw. Ablösung von nanoskaligen Silber- und Palladiumpartikeln bei allen im Projekt vorliegenden Proben unter den beschriebenen Versuchsbedingungen sehr gering ist. Gemäß dem Leitfaden der EFSA (2011) zur Bewertung von nanotechnologischen Anwendungen in Lebens- und Futtermitteln, soll als erster Schritt die Exposition mit der nanoskaligen Substanz abgeschätzt werden.

Eine Exposition mit nanoskaligen Silber- und Palladiumpartikeln ist in Folge der sehr geringen Konzentration im Lebensmittelsimulanz kaum gegeben. Gesundheitliche Beeinträchtigungen der Verbraucher sind deshalb unwahrscheinlich, können nach derzeitigem Wissensstand auf Grund der Unsicherheiten und Wissenslücken bei der Bewertung der Toxikologie von Nanopartikeln nicht gänzlich ausgeschlossen werden.

Inhalt

Hintergrund des Projekts	6
Ziele des Projekts.....	7
Projektablauf.....	8
Beschreibung der Arbeitspakete und deren Ergebnisse.....	9
Erhebung und Beschaffung von relevanten Nanomaterialien	10
Migration/Simulation.....	13
Entwicklung von Untersuchungsmethoden	14
Analyse der Relevanz von Produktdesign.....	18
Darstellung und Bewertung der Ergebnisse.....	19
Berechnung der Exposition.....	21
Zeit- und Arbeitsplan	24
Literatur	25

Abbildungen

Abbildung 1: Ablauf des Projekts	8
Abbildung 2: verschiedene Kunststoffmuster	12
Abbildung 3: Darstellung der Prü fzellen für die Migration: Verfahren A (einseitige Beaufschlagung), Verfahren B (beidseitige Beaufschlagung)	14
Abbildung 4: Probenaufbereitung sowie Ag- und Pd-Analytik (ICP-MS)	15
Abbildung 5: Detektorsignal (links) und Partikelgrößenverteilung (rechts) für a) künstlich hergestellte AgNP Suspension und b) Migrationslösung nach 10 d, PE mit 100 nm AgNP	17
Abbildung 6: Exposition ($\mu\text{g}/\text{kg}$ Körpergewicht) von Ag aus Kunststoffmuster, mechanisch und thermisch behandelt (Simulanz: 20% Ethanol).....	21
Abbildung 7: Exposition ($\mu\text{g}/\text{kg}$ Körpergewicht) von Ag und Pd - besputterte Proben.....	22

Tabellen

Tabelle 1: Beschreibung der Arbeitspakete	9
Tabelle 2: Im Projekt verwendete Muster von Verpackungsmaterialien	11
Tabelle 3: Zeit- und Arbeitsplan	24

Hintergrund des Projekts

Dem Einsatz von Nanomaterialien in Verpackungsmaterialien wird auf Grund von „intelligenten Eigenschaften“ wie verbesserten mechanischen und thermischen sowie optimierten Barriere- und mikrobiozider Eigenschaften ein hohes Potential vorhergesagt (Helmut Kaiser Consultancy Group. 2007).

Die Nanopartikel oder –schichten sind entweder in einer Polymermatrix eingebunden oder durch zusätzliche Sperrschichten, sogenannte funktionelle Barrieren, nicht in direktem Kontakt mit dem Lebensmittel. Trotzdem kann mit dem heutigen Wissensstand nicht ausgeschlossen werden, dass unter bestimmten Bedingungen eine Verunreinigung des mit Lebensmittels durch Nanopartikel erfolgen kann. Insbesondere stellt sich die Frage, ob die vorhersehbare und bestimmungsgemäße Nutzung und die damit verbundene mechanische Beanspruchung des Verpackungsmaterials durch beispielsweise Dehnung und Kratzen zu einem kritischen Ablösen solcher Partikel führt. Weiters muss auch geklärt werden, ob und unter welchen Umständen solche Produkte am Ende ihres Lebenszyklus zum Problem werden können. So ist im Zuge der stofflichen Wiederverwertung, dem Materialrecycling, ein erneuter Kontakt mit Lebensmittel möglich.

Die Mechanismen und Umgebungsbedingungen, die die Freisetzung solcher Partikel ermöglichen, sind bisher nicht anhand konkreter Versuche systematisch untersucht worden. Das liegt auch daran, dass es für die Partikelanalyse als solche noch keine verlässlichen Routineverfahren gibt und selbst die zur Verfügung stehende Gerätetechnik hierfür nicht ausreicht.

Inwiefern die bestehenden gesetzlichen Vorgaben für die Prüfung von Lebensmittelkontaktmaterialien mit Lebensmittelsimulanzien auch für die Beurteilung des Ablöseverhaltens von Nanoteilchen anwendbar sind, ist ebenfalls zu überprüfen.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass bei der Verwendung von Nanomaterialien in verbrauchernahen Produkten wie Lebensmittelkontaktmaterialien Fragen bezüglich Einsatz, analytischen Nachweismethoden, einem möglichen Übergang in das Lebensmittel und einer daraus resultierenden Exposition für VerbraucherInnen offen sind.

Ziele des Projekts

Für die gesundheitliche Beurteilung von Nanomaterialien in Lebensmittelverpackungen sind adäquate Mess- und Nachweismethoden von zentraler Bedeutung. Das zentrale Ziel des Projektes „Nano-Metalle in FCM“ (FCM: Food Contact Material) ist die Entwicklung einer Detektions- und Quantifizierungsmethode von bestimmten Nanomaterialien in Lebensmittelsimulanzien, die zur gesundheitlichen Beurteilung und Bewertung der Sicherheit von Verpackungsmaterialien herangezogen werden.

Dazu werden folgende Projektziele abgeleitet:

- Erhebung der für Verpackungsmaterialien relevanten Nanomaterialien (insbesondere Metalle), die Potential für zukünftige marktreife Anwendungen haben
- Entwicklung einer Mess- und Nachweismethode für ausgewählte Nanometalle in Lebensmittelsimulanzien
- Erarbeitung der Übertragbarkeit der Methodik auf andere Arten von Nanomaterialien und Probenarten
- Untersuchung des Übergangs bzw. einer Freisetzung der ausgewählten Nanometalle aus dem Verpackungsmaterial in das Lebensmittel
- Analyse der Bedingungen, die eine Herauslösung der Nanometalle aus der Verpackung fördern
- Auswertung des Einflusses auf die Exposition von VerbraucherInnen der untersuchten Parameter (unterschiedliche Nano-Edelmetalle auf verschiedenen Trägermaterialien, Partikelgröße, -größenverteilung, Art der Einbringung, verschiedene Lagerungs-, Verwendungsbedingungen und Belastungsszenarien) sowie Beurteilung dieser Parameter
- Ermittlung der Möglichkeit einer Ableitung für ähnliche Nanometalle auf Basis der Beurteilung der Parameter
- Ermittlung des Beitrags des Produktdesigns zur Exposition und daraus Ableitung für die Sicherheit der VerbraucherInnen

Nicht-Ziel ist die systematische Untersuchung von Nanomaterialien in Verpackungsmaterialien.

Projekttablauf

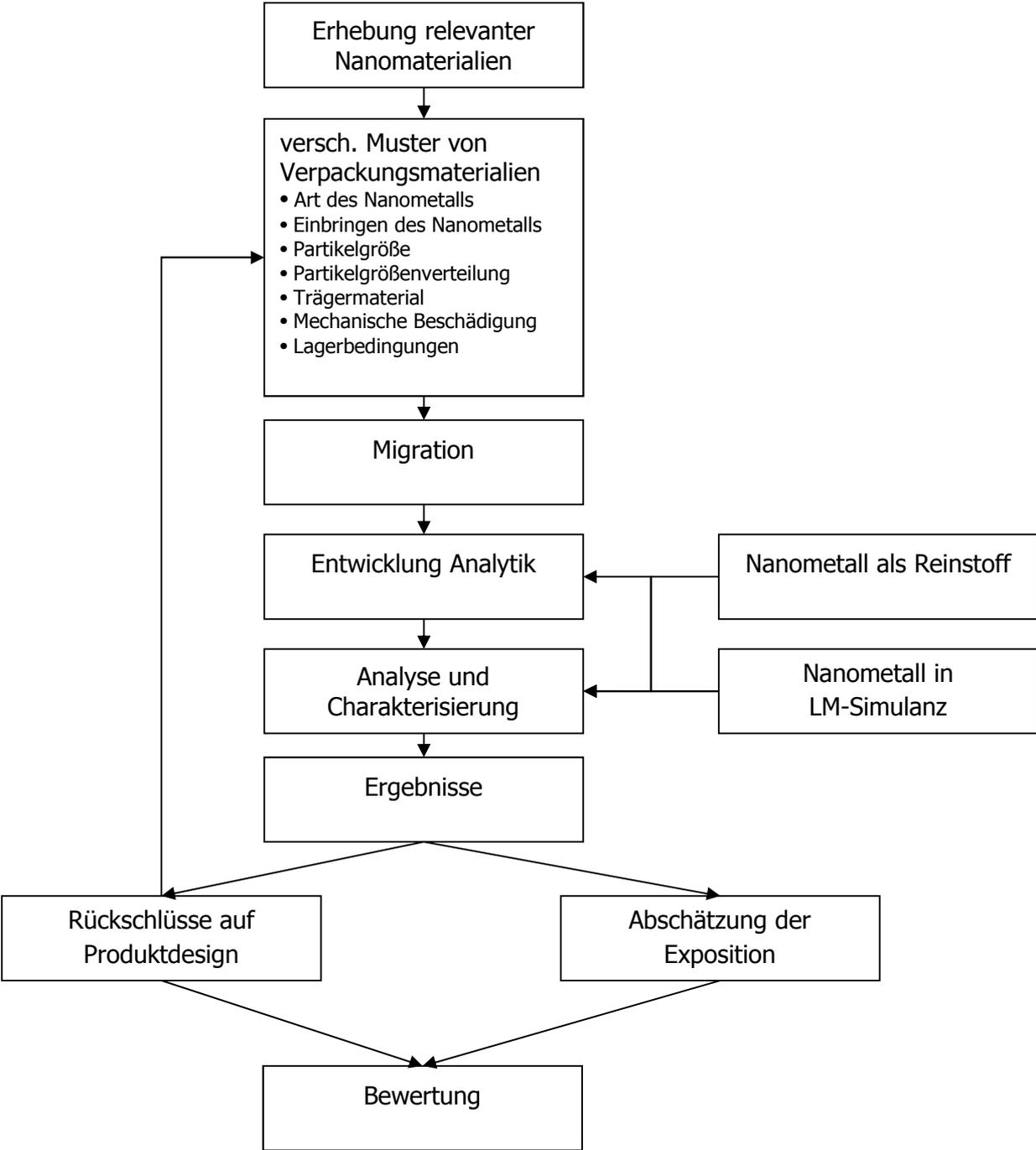


Abbildung 1: Ablauf des Projekts

Beschreibung der Arbeitspakete und deren Ergebnisse

Tabelle 1: Beschreibung der Arbeitspakete

AP Nr.	Arbeitspaket-Bezeichnung	Start MM/JJ	Ende MM/JJ	Ergebnis
1	Erhebung und Beschaffung von relevanten Nanomaterialien	05/12	08/13	<ul style="list-style-type: none"> • Relevante Nanometalle, die in Verpackungsmaterialien eingesetzt werden, sind bekannt • Reinstoffe der Nanometalle stehen für die Untersuchung zur Verfügung • Muster mit ausgewählten Nanometallen stehen mit variierenden Parametern für die Untersuchung zur Verfügung • Herstellung von neuen Mustern in Abhängigkeit von AP 4
2	Migration/Simulation	01/13	11/13	<ul style="list-style-type: none"> • Migrationslösungen liegen zur weiteren Untersuchung vor
3	Entwicklung von Untersuchungsmethoden	07/12	12/13	<ul style="list-style-type: none"> • Entwicklung Detektions- und Quantifizierungsmethode für Nanometalle in idealer Dispersion • Entwicklung Detektions- und Quantifizierungsmethode für Nanometalle in reinen Simulanzien
4	Analyse der Relevanz von Produktdesign	05/13	12/14	<ul style="list-style-type: none"> • Schlussfolgerungen bezüglich Produktdesign
5	Darstellung und Bewertung der Ergebnisse	01/14	04/14	<ul style="list-style-type: none"> • Bewertung und Abschätzung des Risikos • Schlussfolgerungen bezüglich des Gefährdungspotentials von ausgewählten Nanometallen
6	Projektleitung und Koordination	05/12	04/14	<ul style="list-style-type: none"> • Erstellung des Zwischen- und Endbericht

Erhebung und Beschaffung von relevanten Nanomaterialien

Erhebung relevanter Nanomaterialien

Die Recherche hinsichtlich des Einsatzes von Nano-Metallen, die in Lebensmittelverpackungen und Oberflächenbedruckungen eingesetzt werden, wurde an Hand von Publikationen, Durchsuchen von Patentdatenbanken, Informationen von Herstellern/Anbietern und Veröffentlichungen von Organisationen durchgeführt.

Die Recherche gestaltet sich als nicht einfach. Hersteller gehen mit ihrer Information spärlich um, oft ist aus den Angaben nicht klar, ob es sich tatsächlich um nanostrukturiertes Material oder Bestandteile handelt. Zusätzlich wird es erschwert, dass der Nachweis oft nicht durchführbar ist. Weiters ändern sich die Auslobungen der Hersteller schnell.

Informationen zur Größenverteilung, Struktur, Herstellungsverfahren und Trägermaterialien der eingesetzten Nanomaterialien von Produkten, die sich auf dem Markt befinden, können nicht aufgefunden werden. Hersteller von Nanopartikeln bieten ihre Produkte in vielen Größen und Modifikationen an, sodass hier nur schwer ein Rückschluss getroffen werden kann, welche Nanopartikel in Verbraucherprodukten eingesetzt werden.

In den veröffentlichten, zugänglichen wissenschaftlichen Arbeiten überwiegt das Themengebiet der Toxikologie von Nanomaterialien. Es liegen zwar Arbeiten zur prinzipiellen Herstellung von Nanomaterialien vor, es ist jedoch unklar, ob diese Produktionsverfahren für die Forschung verwendet werden oder auch für die routinemäßige Herstellung von Produkten.

Als Mustermaterialien für das Projekt wurden Silber und Palladium ausgewählt.

Silber ist ein Nanomaterial, für das es sehr viele Anbieter gibt, die das Material in den verschiedensten Größen, Lösungen, Coatings etc. anbieten. Daraus lässt sich schließen, dass mit Silber sehr viel gearbeitet werden, sei es für toxikologische Studien, Forschungszwecke oder für den tatsächlichen Einsatz in Produkten. Die Anzahl der Hersteller für Palladium-Nanopartikel ist sehr viel kleiner, auch wenn das Angebot hinsichtlich Lösungsmittel und Größe variantenreich ist.

Beschaffung relevanter Nanomaterialien

Im Rahmen des Projekts wurden sowohl Suspensionen von Silber- (Ag) und Palladium-Nanopartikel (PdNP) als auch AgNP in Pulverform verwendet.

Folgende Muster von Verpackungsmaterialien wurden hergestellt (

Tabelle 2):

Tabelle 2: Im Projekt verwendete Muster von Verpackungsmaterialien

Kunststoffmuster mit eingearbeiteten AgNP		
PE-Material	50 nm Ag	Nicht behandelt
		Mechanisch behandelt
		Thermisch behandelt
	100 nm Ag	Nicht behandelt
		Mechanisch behandelt
		Thermisch behandelt
PP-Material	50 nm Ag	Nicht behandelt
		Mechanisch behandelt
	100 nm Ag	Nicht behandelt
		Mechanisch behandelt
Kunststoffmuster mit AgNP und PdNP besputtert		
PE-Folie	Ag	Nicht behandelt
		Zusätzliche Haftverbesserung
	Pd	Nicht behandelt
		Zusätzliche Haftverbesserung

1. Herstellung der Kunststoffmuster mit eingearbeiteten AgNP (PCCL GmbH)

Polymere mit definiertem Gehalt an AgNPs wurden von Seite der PCCL GmbH zur Verfügung gestellt. Da vorzugsweise Füllstoffe in pulvriger Form in Polymere eingearbeitet werden,

wurden AgNPs von dem US-Unternehmen SkySpringNano AgNPs (spherical) in verschiedenen Partikelgrößen bestellt (100 nm, 50–60 nm, 20-30 nm).

Zur Herstellung der Polymerproben mit AgNPs wurden als Basispolymer zwei für Lebensmittelverpackungen zugelassene Matrixpolymere ausgewählt. Ein Polyethylen (PE, FT5230) der Firma Borealis, (ein sogenanntes low density polyethylene) mit einem Schmelzbereich von 160-190°C. Weiters ein Polypropylen (PP Mosten, GB 005) der Firma Unipetrol. Dieses Polymer weist eine Erweichungstemperatur von 155°C auf.

Die AgNPs der unterschiedlichen Größen wurden zu einem Anteil von 5w% in das jeweilige Polymer eingearbeitet. Hierfür wurde das Granulat des Matrixpolymers in einem Knetter (Haake, PolyLab) bei 175°C und einer Walzenrotation von 60rpm geschmolzen und die entsprechende Menge an Nanofüllstoff beigemischt. Nach 12 minütigen Kneten wurde das Material in einer Presse (Collin, P 200 PV) in fünf Phasen (1.Phase: 190°C, 1bar, 10min, 2.Phase: 190°C, 60 bar, 5min, 3.Phase: 190°C, 100bar, 5min, 4.Phase: 190°C, 100bar, 5min und 5. Phase: 30°C, 100bar, 10min) zu 16x16x0,08 cm großen Platten verpresst.

Zur Simulation von Beschädigungen und mechanischer Belastung der Materialien wurden die vom PCCL hergestellten Proben mittels eines Präzisionstribometer UMT-2 von CETR behandelt. Hierfür wurden die in Platten gepressten Proben in das Gerät eingespannt und die halbe Fläche der Probe mittels einem Kugelaufsatzes (Körnung 600) und einem Druck von 2N in mehreren Reihen zweifach abgeschliffen (um eine raue Oberfläche zu erhalten und eventuell Partikel aus den unteren Schichten freizusetzen) und die zweite Hälfte mit einem Diamantaufsatz in mehreren Reihen gefurcht (um Rillen zu erhalten, und die Oberfläche zu vergrößern und somit mehr Partikel freizusetzen).

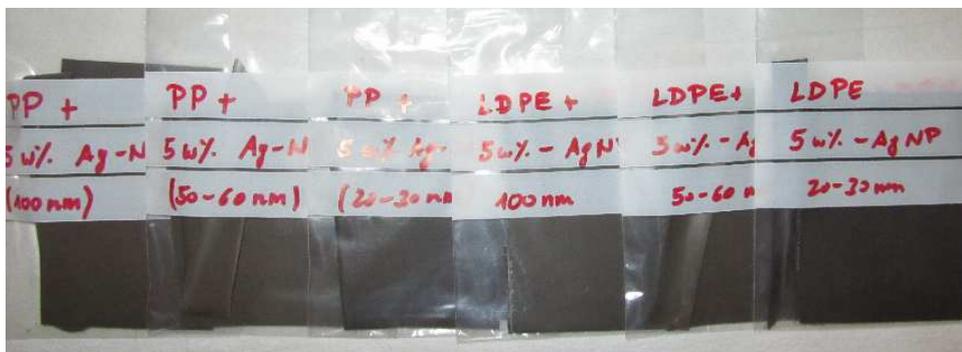


Abbildung 2: verschiedene Kunststoffmuster

2. Herstellung von Nanopartikel-Suspensionen & besputterten Kunststofffolien (Attophotonics Biosciences GmbH)

Ag und PdNP –Suspensionen wurden von Attophotonic Biosciences GmbH durch kontrollierte Reduktion entsprechender Metallsalze in wässriger Lösung hergestellt. Eine besondere Herausforderung stellte dabei die erwünschte Größe der AgNP dar. Da AgNP mit einem Durchmesser <30 nm mit dem im Projekt eingesetzten Messsystem nicht detektiert werden können, sollten Partikel mit einer mittleren Größe von ~ 70 nm hergestellt werden. Mittels etablierter Protokolle lassen sich gemeinhin sphärische Ag-Partikel ≤ 40 nm erzeugen. Bei der Synthese größerer Partikel kommt es häufig zu Aggregationsphänomenen bzw. weisen die

hergestellten Partikel weniger sphärische, sondern eher polyedrische Formen auf. Bei der Herstellung der Pd- und AgNP wurde nach publizierten Protokollen vorgegangen, die entsprechend der speziellen Anforderungen des Projekts hinsichtlich der Größe der Nanopartikel modifiziert wurden. Ungeladene bzw. geladene hydrophile Polymere wurden den Reaktionen zugegeben, um die NP nach ihrer Bildung zu verkapseln und dadurch deren Aggregation bzw. Ausfallen zu verhindern.

Es sollte im Zuge des Projekts außerdem festgestellt werden, ob infolge eines Kontakts mit wässrigen Simulanzien Nanopartikel aus vakuumtechnisch hergestellten Metall-Dünnschichten freigesetzt werden können. Zu diesem Zweck wurden vom PCCL PE-Folien zur Verfügung gestellt. Diese bestanden aus demselben PE-Basismaterial, das auch für die vom PCCL hergestellten, mit NP-Füllung ausgestatteten PE-Folien eingesetzt wurde. Die PE-Folien wurden sorgfältig gereinigt und entfettet und anschließend mittels Magnetronspütern mit Ag- bzw. Pd-Nanoschichten beschichtet (Beschichtungsparameter: Druck: $2,5 \times 10^{-5}$ bar, Sputterdauer: 35 sec). Zur Modifikation der Haftung der Metallschichten auf dem Substrat wurde auf einen Teil der PE-Folien vor dem Besputtern aus wässriger Lösung ein hochmolekulares hydrophiles kationisches Polymer adsorbiert. Die Auswirkung dieser Zwischenschicht auf die Haftungseigenschaften der Metallschichten unterschied sich stark in rein wässrigem bzw. ethanolhaltigem Simulanz, wie festgestellt werden konnte.

Migration/Simulation

Für die Simulation der Abgabe von Nanopartikeln sowie der Migration der Elemente in gelöster Form wurden die bestehenden gesetzlichen Vorgaben zur Migrationsprüfung der Verordnung (EU) Nr. 10/2011 herangezogen. Diese regelt unter anderem auch die Prüfung und Bewertung von Kunststoffmaterialien und –gegenständen hinsichtlich der Abgabe von unerwünschten Stoffen ins Lebensmittel.

Da nicht nur homogene, einschichtige Platten, sondern auch einseitig beschichtete Proben untersucht werden sollten, wurde für alle Untersuchungen den Anforderungen der Norm EN 1186-5:2002 entsprechende Prü fzellen verwendet (siehe Abbildung 3), wobei ausschließlich das Verfahren A (einseitige Beaufschlagung) zur Anwendung kam. Abweichend zur Norm wurden die Migrationszellen auf einem Schüttler mit einer Frequenz von 40 upm kontinuierlich bewegt, um Sedimentationsvorgänge und Agglomerationen zu vermeiden.

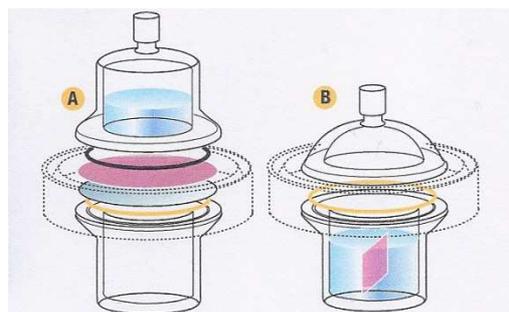


Abbildung 3: Darstellung der Prüfcellen für die Migration: Verfahren A (einseitige Beaufschlagung), Verfahren B (beidseitige Beaufschlagung)

Als Worst Case gilt für Lebensmittelkontaktmaterialien die Prüfung bei 60 °C und 10 Tagen Dauer. Sie deckt eine Langzeitlagerung von mehr als 6 Monaten bei Raumtemperatur und darunter ab, einschließlich Erhitzung auf 70 °C für eine Dauer von bis zu 2 Stunden oder Erhitzung auf 100 °C für eine Dauer von bis zu 15 Minuten. Die Übertragbarkeit für die Simulation der Abgabe von Nanopartikeln aus einer Kunststoffmatrix unter Berücksichtigung möglicher Stabilitätsprobleme wurde untersucht. Basierend auf der Verordnung (EU) Nr. 10/2011 wurden folgende Simulanzien gewählt:

- MilliQ Wasser (Simulanz für Trinkwasser und generell Wasser)
- Ethanol 20 Vol.-% (Lebensmittelsimulanz C lt. Anhang III)

Essigsäure 3 Gew.% (Lebensmittelsimulanz B lt. Anhang III) zeigte sich für die Simulation der Abgabe von Silbernanopartikel als ungeeignet, da sich diese unter diesen Bedingungen rasch auflösen. Pflanzliches Öl (Lebensmittelsimulanz D2) ist für die anschließende Partikelmessung kaum geeignet und auch aus chemischer Sicht kein aggressives Medium für Metalle und wurde daher nicht untersucht.

Testreihen mit Temperaturen von 25°C und 60°C und Lagerzeiten zwischen 1 Stunde, 1 Tag, 3 und schließlich 10 Tagen zeigten, dass der Worst Case Ansatz bei 60°C und 10 Tagen auch für die Simulation der Abgabe von Nanometallpartikeln anwendbar ist.

Entwicklung von Untersuchungsmethoden

Die Methodenentwicklung auf Basis der Massenspektroskopie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS) zur Quantifizierung von (a) der Gesamtkonzentration, (b) der Gelöst-Konzentration, (c) der Partikelkonzentration und (d) der Partikelgröße wurde erfolgreich abgeschlossen. Die entwickelte Methode wurde anschließend für die Ermittlung des Migrationsverhaltens der beiden Metalle Silber und Palladium aus den Kunststoffen Polypropylen (PP) und Polyethylen (PE) angewendet. Ziel der Untersuchungen war es, die spezifischen Migrationsraten (partikulär- und gelöst) und die Gesamtmigrationsrate von Ag und Pd zu ermitteln. Der Vorteil der entwickelten und getesteten Analysenmethode gegenüber bereits Verfügbaren besteht darin, dass neben Konzentrationsdaten gleichzeitig auch Daten zur Partikelgröße ermittelt werden. Sowohl die Methodenentwicklung als auch die Migrationsversuche fanden an der Universität Wien, Department für Umweltgeowissenschaften statt. Die unzureichende Stabilität des nanopartikulären Anteils in den Proben legt eine Durchführung von Migrationsexperimenten und Analytik im selben Gebäude nahe.

Die nötige **Probenvorbereitung** zur Bestimmung der Gesamt-, der Gelöst- und der partikulären-Konzentration ist in Abbildung 4 zusammengefasst. Die Gesamtkonzentration (a) wurde nach Ansäuerung der Proben mit 1 M HNO₃ ermittelt. Zur Bestimmung der Gelöst-Konzentrationen (b) erfolgte die Messung nach Filtration der wässrigen Probe < 50 kDa (PES, VivaSpin, Sartorius, USA), was einer Partikelgröße von ca. 5 nm entspricht. Aufgrund der geringen Massenkonzentrationen mussten die verwendeten Zentrifugenfilter (VivaSpin, Sartorius, USA) vor der Probenaufbereitung konditioniert werden, um einen Ag- bzw. Pd-Verlust durch Anhaftung an der Filteroberfläche zu minimieren. Dazu erfolgte vor der Analyse eine Spülung mit Ag- bzw. Pd-Lösung (Konzentration von 5 µg/L).

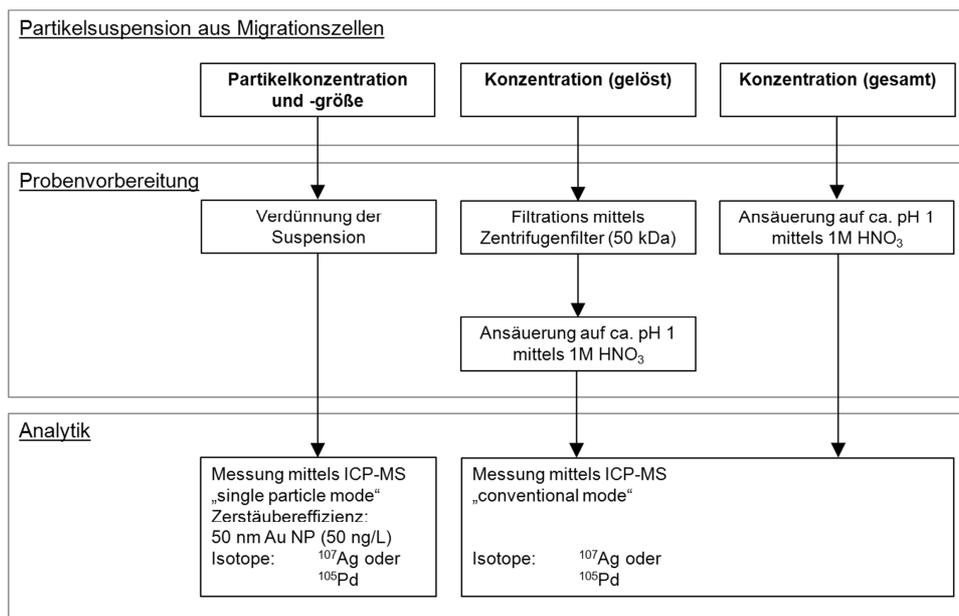


Abbildung 4: Probenaufbereitung sowie Ag- und Pd-Analytik (ICP-MS)

Die Partikelkonzentration und die Partikelgröße (c) wurden mittels des Einzelpartikel-ICP-MS- (sp-ICP-MS)-Messprinzips quantifiziert. Für eine detaillierte Beschreibung dieses Prinzips und der sp-ICP-MS Methodenentwicklung wird auf Laborda et al. 2011 und Mitrano et al. (2012) verwiesen. Durch Verdünnung der Suspensionen mit Milli-Q Wasser wurde angestrebt, dass die Anzahl der Partikelereignisse zwischen 2 und max. 12% von der gesamt Anzahl an Messungen nach Verdünnung lag. Um die Abwesenheit von Carry-over Effekten zu dokumentieren, wurden zwischen zwei Partikelproben mindestens eine Nullprobe (Milli-Q Wasser) vermessen.

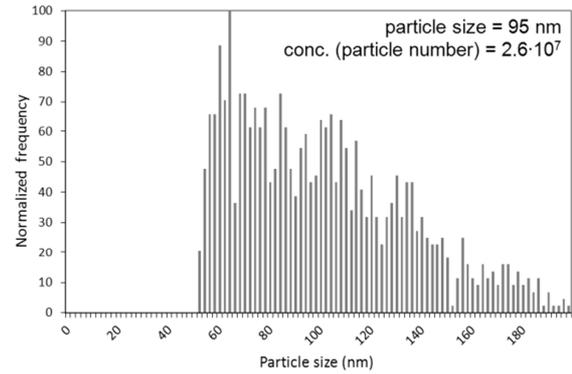
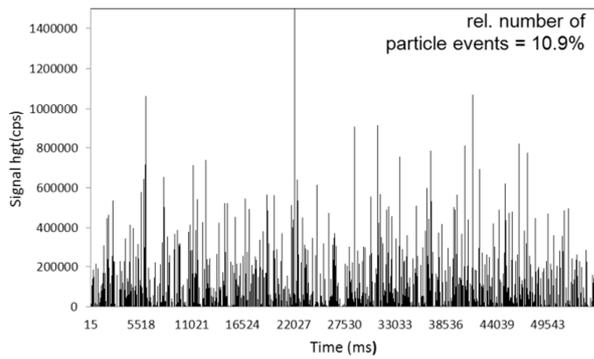
Die **Methodenentwicklung für die Bestimmung der spezifischen Migrationsraten** mittels ICP-MS erfolgte schrittweise. Zur Einzelpartikelanalytik und zu Bestimmung der Gesamt- und Gelöst-Konzentrationen wurde ein Agilent System 8800 (Agilent, USA) eingesetzt. Künstlich hergestellte AgNP- und PdNP-Suspensionen (Attophotonics GmbH) wurden für die Methodenentwicklung verwendet. Im ersten Schritt wurden die

Geräteparameter für die Einzelpartikelmessung von Ag- und Pd-NP mittels ICP-MS optimiert. Dazu gehören **(I)** die Integrationszeit der Messintervalle („dwell time“; 10, 5, 3 ms), **(II)** der Volumenstrom des Zerstäubergases, **(III)** die Anwendung eines Kollisions-/Reaktionsgases zur Unterdrückung von Interferenzen (He/O₂) und **(IV)** die Zerstäuber- und Transporteffizienz mittels Größenstandards. Im dritten Schritt wurden die ermittelten Konzentrationsdaten aus den sp-ICP-MS Analysen mit den Konzentrationsdaten aus der konventionellen ICP-MS-Analytik verglichen. Die Gegenüberstellung beider Messverfahren zeigte, dass die gesamt und die spezifischen Konzentrationen vergleichbar sind und die Unterschiede im Bereich der Messwertschwankungen lagen.

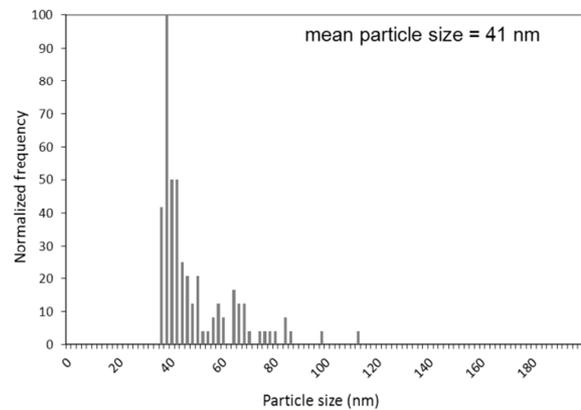
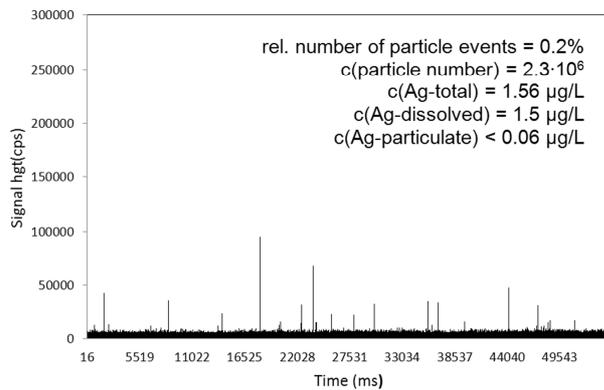
Im Ergebnis der Methodenentwicklung waren folgende Schritte für die Massenquantifizierung von Ag und Pd mittels sp-ICP-MS-Analytik erforderlich:

1. Kalibrierung des Massendetektors mit gelöst-Standards (Ag- bzw. Pd-Standards mit 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50, 100 µg/L)
2. Ermittlung der Zerstäuber- und Transporteffizienz mit einem Partikelgrößenstandard bekannter Konzentration und Größe (z.B. Au-Nanopartikelstandard, Partikelgröße: 60 nm, c(Au) = 50 ng/L, BBI International) und
3. Messung der verdünnten Suspensionen mit den ermittelten sp-ICP-MS Geräteparametern.

Die Analysenmethode wurde an hergestellten Partikelsuspensionen (A) und an wässrigen Proben aus den Migrationsversuchen (B) getestet. Die hergestellten Partikelsuspensionen wurden zunächst verdünnt, wohingegen die wässrigen Proben aus den Migrationsansätzen (B) i.d.R. direkt mittels sp-ICP-MS analysiert wurden. In beiden Probentypen (A) und (B) wurden sowohl der partikuläre- und gelöst-Ag-Anteil als auch die Partikelgrößenverteilung bestimmt. Abbildung 5 zeigt typische Messdatenreihen von den Proben (A) und (B). Die für (A) errechnete Partikelgrößenverteilungen (Abbildung 5) reicht von 50 bis 200 nm. Die Häufigkeit der Partikelereignisse lag bei 10.9% was im oberen Feld des zulässigen Bereichs lag. Mit steigender Partikelanzahl nimmt auch die Wahrscheinlichkeit von Doppelereignissen während eines Messintervalls zu. Dieser Effekt führt zu Überbestimmung der Partikelgröße. Die Ereignishäufigkeit in der Migrationssuspension war wesentlich geringer und erreicht im Beispiel 0.2 %. Es wurden also wesentlich weniger Partikel in der Lösung detektiert. Entsprechend niedriger war auch die Partikelanzahlkonzentration ($2.3 \cdot 10^6$ Partikel / mL). Ca. 90 % der Ag-Gesamtmenge in der Migrationslösung lagen in gelöster Form vor. Dieser vergleichsweise hohe gelöst-Anteil erschwerte die Quantifizierung von Partikeln mit geringer Größe. Im hier gezeigten Beispiel lag die minimale Partikelgröße bei 36 nm. In AgNP-Suspensionen mit geringen Ag-Ionen Konzentrationen (<0.1 µg/L) können minimale Partikelgrößen bis ca. 18 nm quantifiziert werden.



a)



b)

Abbildung 5: Detekorsignal (links) und Partikelgrößenverteilung (rechts) für a) künstlich hergestellte AgNP Suspension und b) Migrationslösung nach 10 d, PE mit 100 nm AgNP

Entwicklungsbedarf, der über die Zielstellung des Projektes hinausgeht, besteht weiterhin in der Quantifizierung von gelösten und partikulären Konzentrationsanteilen. Die Ergebnisse der Methodenentwicklung und der Migrationsversuche unterstreichen die Notwendigkeit für Aufbereitungsmethoden zur Abtrennung von Gelöst-Anteilen. Ist die Unterscheidung beider Anteile möglich, können generell geringere Nachweisgrenzen der Minimum-Partikelgröße erreicht werden. Eine Unterscheidung kann (a) durch Abtrennung des Gelöst-Anteils während der Probenaufbereitung oder (b) während der Datenauswertung erfolgen. Für die technische Umsetzung von (a) existiert eine Reihe von Konzepten, die unter anderen Hohlfasermembranen zur Aufreinigung der Suspension verwenden. Zur Unterscheidung von gelösten- und partikulären Massenanteile auf Basis der ICP-MS Daten sind unterschiedliche Ansätze verfügbar (Cornelis & Hassellöv 2014). Deren Anwendbarkeit auf Partikelsuspensionen mit einem relevanten gelösten Hintergrund ist bisher allerdings unzureichend nachgewiesen.

Analyse der Relevanz von Produktdesign

Polyethylen und Polypropylen sind die mit Abstand am häufigsten verwendeten Kunststoffe für Verpackungen, Behälter und Verschlüsse. Daher wurde je eine Polyethylen- und eine Polypropylentype, die für Lebensmittelverpackungen angeboten wird, ausgewählt:

- Polyethylene FT5230 (Borealis), Low Density Polyethylene (LDPE)
- Polypropylen (PP) Mosten GB 005 (Unipetrol)

Diese stellten die Polymermatrix dar, in welche im Handel erhältliche, kugelförmige Silbernanopartikel (ssnano) mit verschiedenen Partikelgrößen (Spherical: 20-30 nm, Spherical: 50-60 nm und Spherical: 100 nm) in einer Konzentration von 5 Gew.% mittels Knetter mit Doppelschnecke eingearbeitet und anschließend in einer Heizpresse mit Vakuumkammer zu Platten verarbeitet wurden. Durch das Nanosilber verfärbten sich alle Proben schwarz, wobei teilweise auch Inhomogenitäten erkennbar waren. Die Verarbeitungsqualität bzw. Homogenität des eingearbeiteten Nanomaterials könnte durch vorherige Herstellung eines sogenannten Masterbatches gesteigert werden, allerdings würde dafür noch deutlich mehr Füllstoff benötigt werden. Aufgrund des Preises und auch der Verarbeitbarkeit selbst, ist davon auszugehen, dass in der Praxis deutlich niedrigere Konzentrationen verarbeitet werden. Handelsübliche Produkte mit biozider Wirkung enthalten maximal 3 Gew.% silberhaltigen Wirkstoffes, der reine Silbergehalt ist somit noch geringer. Da die Nanoform wesentlich wirksamer sein sollte, sind tatsächliche Gehalte von weniger als 1 % realistisch.

Die durchgeführten Versuche zeigen keine großen Unterschiede zwischen den beiden Polyolefinen. Die Migrationsrate war erwartungsgemäß bei den kleineren 50-60 nm Partikeln größer als bei den 100 nm. Dieser Effekt zeigte sich bei beiden Polymertypen. Die Proben mit 20-30 nm Silber wurden nicht untersucht, da die Nachweisgrenze für Silberpartikel bei etwa 25 nm liegt. Zusätzlich zu den gewählten Worst Case Migrationsbedingungen (10 Tage Kontakt mit 60°C warmen Prüfsimulanz) wurden einige Proben zusätzlichen Stressbedingungen ausgesetzt. Für die thermische Belastung wurden die Prüfkörper zuerst eine Woche bei -20°C und anschließend 30 Minuten bei 100°C gelagert. Für die mechanische Belastung wurde ein Scratch Test ausgearbeitet, wobei mittels Tribometer und Diamantnadel tiefe Furchen in das Material gezogen werden. Die an den Proben durchgeführten Stresstests führten jedoch zu keiner signifikanten Erhöhung der Migrationsraten bzw. Veränderung des Migrationsverhaltens der Silbernanopartikel.

Eine weitere interessante Anwendungsform stellt die Aufbringung von Nanoschichten oder Nanoinseln dar. Hiermit können spezifische Eigenschaften von Nanometallen wesentlich umfangreicher technologisch genutzt werden. Die möglichen Trägermaterialien sind vielfältig und reichen von Kunststoff bis Glas. Zur besseren Vergleichbarkeit wurden nanodünne Schichten von Silber und Palladium auf in gleicher Weise hergestellte LDPE-Platten der Type FT5230 (Borealis) durch eine Besputterungstechnik aufgebracht. Um den Einfluss der Verarbeitungsqualität zu simulieren, wurden speziell fixierte und nicht behandelte Beschichtungen hinsichtlich ihres Migrations- bzw. Ablösungsverhaltens untersucht und zeigten auch tatsächlich die zu erwartenden Unterschiede. Gänzlich unterschiedlich war das Migrationsverhalten zwischen Silber- und Palladiumpartikel. Während Silber hauptsächlich in

gelöster Form migrierte, blieben die Migrationsraten im Fall von Palladium sehr niedrig. Die Anzahl nachweisbarer Nanopartikel im Lebensmittelsimulanz war generell sehr gering.

Die ebenfalls an nanobeschichteten Proben durchgeführte thermische Stressbeaufschlagung (1 Woche Tiefkühlung bei -20°C und anschließende Wärmebehandlung 30 Minuten bei 100°C) zeigte keine messbaren Auswirkungen auf das Migrationsverhalten. Eine mechanische Belastung mittels Scratch Test war bei den besputterten Proben nicht möglich, da dieser eine Zerstörung der Beschichtung zur Folge hätte.

Zusammenfassend zeigt sich, dass Nanosilber bei homogener Einbettung in eine Polyolefinmatrix in wässriger Umgebung hauptsächlich in Form von Silberionen migriert, wobei vor allem die tiefer liegenden Partikel in der Matrix verankert bleiben. Auch die untersuchten nanodünnen Beschichtungen vermögen bei Anwendung entsprechender Fixierungstechniken die Partikel (Silber und Palladium) effektiv in der Matrix zu binden. Allerdings ist auch bei dieser Applikation die Migration von gelöstem bzw. ionischem Silber beobachtbar. Palladium, ein sehr korrosionsbeständiges Edelmetall, löst sich in den getesteten Lebensmittelsimulanzien kaum. Einzelne Partikel sind jedoch in allen Fällen im Simulanzmedium nachweisbar.

Bei der Beurteilung der Eignung des Produktdesigns für den Lebensmittelkontakt sind daher folgende Punkte zu berücksichtigen:

- Verankerung des Nanometalls im bzw. am Polymer: einige mm starke Polyolefinschichten sollten ausreichen. Im Falle von Nano-Beschichtungen ist auf eine ausreichende Fixierung zu achten.
- Korrosionsbeständigkeit des Nanometalls bzw. Löslichkeit in wässrigen Medien bzw. Lebensmitteln
- Größe und Form der Partikel: kleinere Partikel führen zu höheren Migrationsraten

Die Prüfbedingungen sollten den Worst Case abdecken, also eine Migrationsprüfung 10 Tage bei 60°C. Diese sind auch für die Beurteilung von Nanomaterialien anwendbar.

Migrationzellen aus Glas sind aufgrund der Adsorptionseigenschaften für die Untersuchung der Metallmigration nur bedingt geeignet.

Darstellung und Bewertung der Ergebnisse

Palladium

Palladium (Pd) ist ein silberweißes Übergangsmetall, das sich auf Grund seines relativ niedrigen Schmelzpunktes von 1555 °C und einer Dichte von 12,02 g/cm³ gut verarbeiten sowie leicht und gut mit vielen anderen Metallen legieren lässt.

Die häufigste Ursache der regelmäßigen Palladiumexposition für den Menschen stellt die Zahnindustrie (u.a. für Kronen und Brücken) dar. Die Exposition über Lebensmittel beträgt für Erwachsene durchschnittlich etwa 0,009 µg/kg Körpergewicht/Tag auf (Rose, 2010). In Arzneimitteln kann Palladium als Rückstand aus dem Produktionsprozess vorliegen (EMEA, 2008).

Die EFSA bewertete 2012 und 2014 Anwendungen von Palladium und seinen Verbindungen als Sauerstofffänger in Verpackungen. Das Gremium kam zum Schluss, dass eine geringe Exposition von Palladium bis zu einer Konzentration von 0,05 mg/kg Lebensmittel toxikologisch unbedenklich ist. Die EMEA (2008) setzt aus pragmatischen Gründen einen PDE (permitted daily exposure; ein pharmazeutische maximal akzeptable Aufnahme für ein Metall, die bei regelmäßiger Aufnahme wahrscheinlich keine nachteiligen Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit hat) von 100 µg/Tag fest.

Die verfügbaren toxikologischen Daten hinsichtlich Palladium sind limitiert (EMEA, 2008; WHO, 2002; EFSA, 2012). Die Absorption aus dem gastrointestinalen Trakt von Palladiumionen ist sehr gering (< 0,5% der Anfangsdosis). Auf Grund dessen wird eine sehr geringe akute Toxizität erreicht. Mutagenitätstest ergaben keine Anzeichen von Genotoxizität. Studien zur Kanzerogenität sowie Reproduktions- und Entwicklungstoxizität werden als nicht ausreichend zur Bewertung angesehen. Einige Palladiumverbindungen können möglicherweise die Haut sensibilisieren und Augenirritationen auslösen. Die meisten dokumentierten Fälle werden mit palladiumhaltigen Zahnersätzen in Verbindungen gebracht. Zu nanopartikulärem Palladium sind keine toxikologischen Daten verfügbar.

Silber

Silber (Ag) wird auf Grund seiner bakteriziden Wirkung von Silber seit Jahren im Bereich der Medizin verwendet. Die antimikrobielle Wirksamkeit von Silber wird auf die Freisetzung von Silberionen zurückgeführt.

Die Bevölkerung nimmt Silber hauptsächlich über Lebensmittel und Trinkwasser auf. Die durchschnittliche Aufnahme von Silber bei Erwachsenen beträgt 1,29 µg/kg Körpergewicht (ANSES, 2011).

Von der EFSA wurde 2006 auf Grund toxikologischer Aspekte für Silber in Übereinstimmung mit anderen Silberbioziden ein spezifischer Migrationsgrenzwert (SML) von 50 ppb (0,05 mg/kg) festgelegt. Die WHO (1996) legt einen lebenslänglichen, oralen NOAEL-Wert von 10 g für den Menschen fest.

Silber wurde von der WHO (1997) als eine „toxische Substanz“ und von der EPA (1977) als prioritärer Umweltschadstoff eingestuft. Beim Menschen wird Silber nach oraler Gabe im Körper akkumuliert und in Hautschichten sowie Milz und Leber abgelagert. Die häufigste gesundheitliche Auswirkung beim Menschen, die mit einer chronischen Exposition gegenüber Silber verbunden sind, ist die Argyria, eine graue oder blau-graue Verfärbung der Haut.

In Wijnhoven et al. (2009) werden verschiedene Toxizitätsstudien zu Nanosilber beschrieben, unter bestimmten Studienbedingungen werden in in-vitro und in-vivo-Versuchen eine

erhöhte Wirksamkeit und einer erkennbaren höheren toxischen Wirkung festgestellt. Für eine umfassende Bewertung von Nanosilber fehlt jedoch adäquates Datenmaterial.

Berechnung der Exposition

Die Berechnung der Exposition wurde gemäß der Verordnung (EU) Nr. 10/2011 durchgeführt. Folgende Annahmen wurden getroffen: eine Person mit 60 kg verzehrt 1 kg Lebensmittel, das in den Kunststoff verpackt ist.

Kunststoffmuster mit eingearbeiteten AgNP, thermisch und mechanisch behandelt

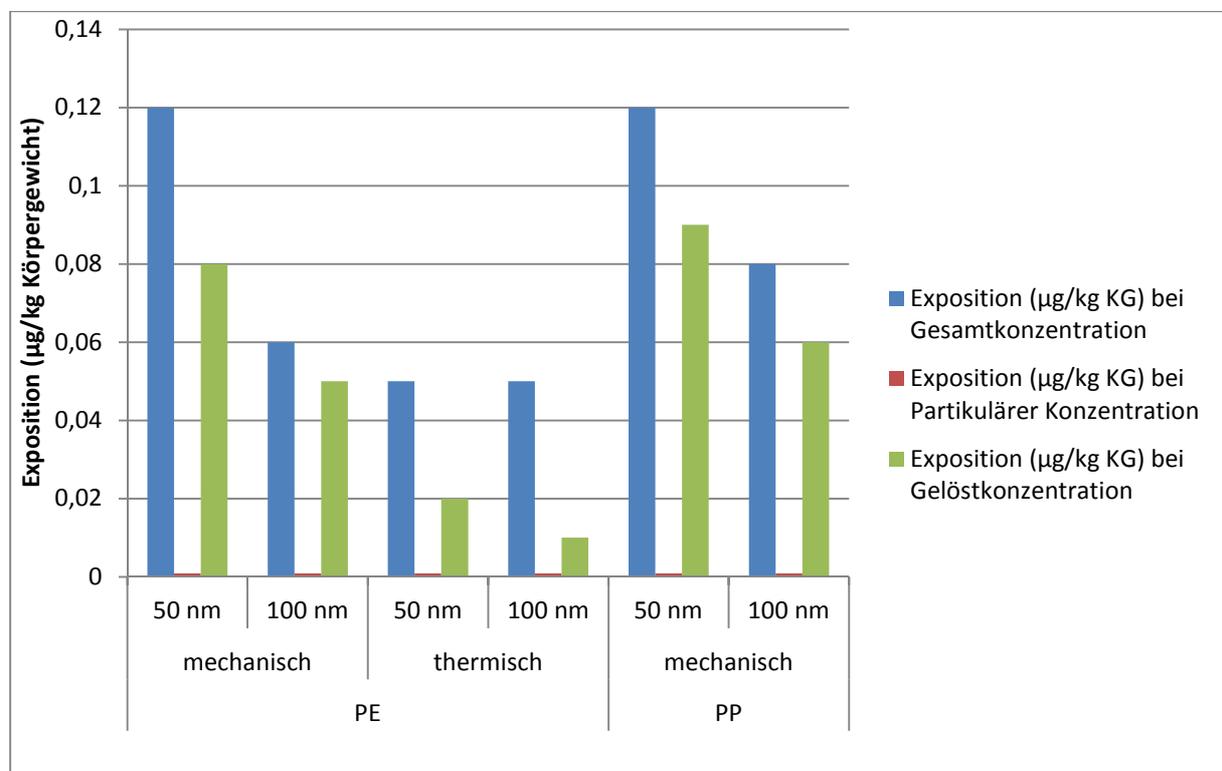


Abbildung 6: Exposition (µg/kg Körpergewicht) von Ag aus Kunststoffmuster, mechanisch und thermisch behandelt (Simulanz: 20% Ethanol)

Aus Abbildung 6: Exposition (µg/kg Körpergewicht) von Ag aus Kunststoffmuster, mechanisch und thermisch behandelt (Simulanz: 20% Ethanol)

ist ersichtlich, dass eine Exposition gegenüber partikulärem Silber kaum vorhanden ist (< 0,0008 µg/kg KG). Gelöstes Silber wird in höherer Menge aufgenommen. Es ist zu sehen, dass die Größe der eingesetzten Partikel Einfluss auf die Migration und in weiterer Folge auf die Aufnahme der VerbraucherInnen hat. Bei den kleineren Partikeln (50 nm) ist die Aufnahme der Gelöstkonzentration höher (0,01 – 0,09 µg/kg KG). Die Aufnahme aus den thermisch bzw. mechanisch behandelten Kunststoffmustern ist nicht signifikant höher als bei

den unbehandelten Proben. Auch der Kunststofftyp hat keinen signifikanten Einfluss auf die Migrationsrate und daraus resultierende Exposition der VerbraucherInnen.

Besputterte Proben

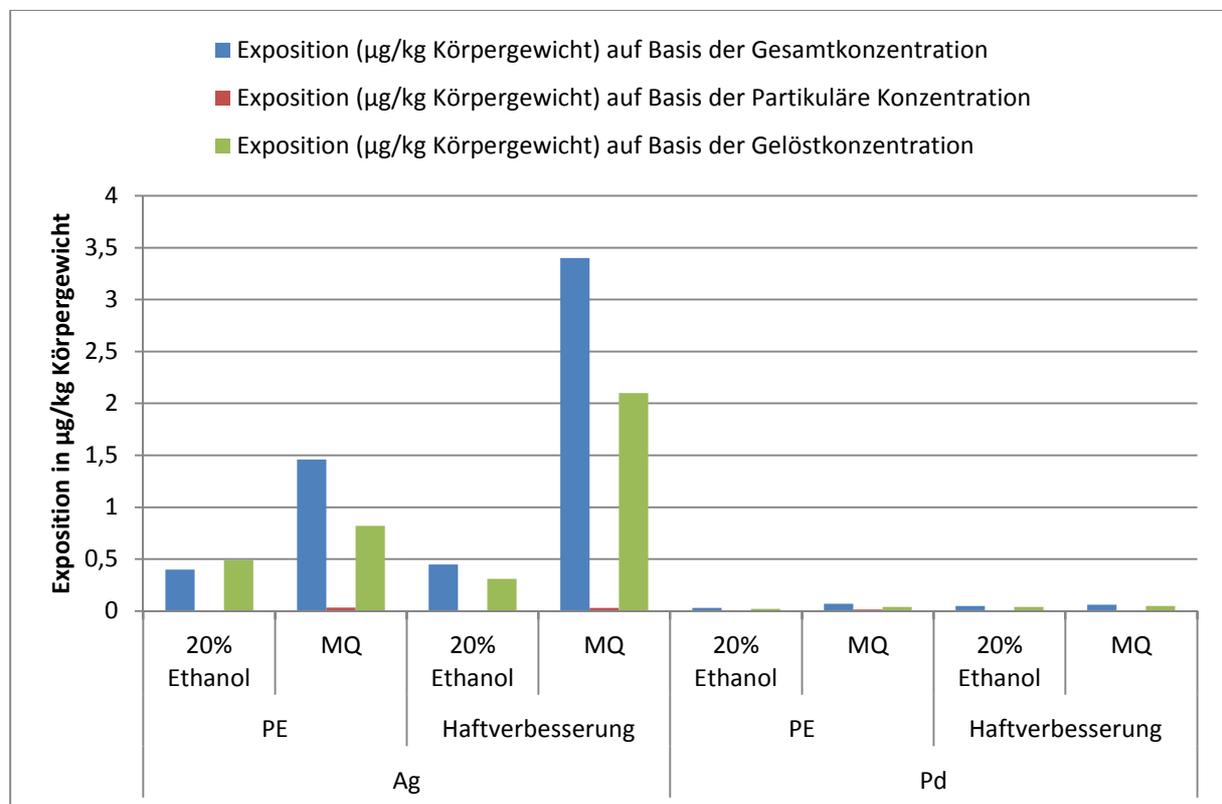


Abbildung 7: Exposition (µg/kg Körpergewicht) von Ag und Pd - besputterte Proben

In Abbildung 7: Exposition (µg/kg Körpergewicht) von Ag und Pd - besputterte Proben

ist die berechnete Exposition (µg/kg Körpergewicht) gegenüber Ag und Pd aus den besputterten Kunststofffolien zu sehen. Es ist deutlich zu sehen, dass auf Grund der höheren Migrations- bzw. Ablösungsrate von Silber mehr Silber im Vergleich zu Palladium aufgenommen wird.

Silber ist im Lebensmittelsimulanz hauptsächlich als ionisches Silber nachzuweisen, auf Grund dessen ist auch die Aufnahme von ionischem Silber höher als die kaum vorhandene Aufnahme von partikulärem Silber. Partikuläres Silber wird zwischen 0,0008 – 0,03 µg/kg KG aufgenommen. Die Aufnahme von gelöstem Silber liegt im Bereich von 0,21 -2,1 µg/kg KG.

Die EFSA schlussfolgerte 2012, dass eine Konzentration von Palladium bis zu 0,05 mg/kg Lebensmittel toxikologisch unbedenklich ist. Verglichen mit diesem Wert, ist die Migration in den untersuchten Proben um einiges geringer. Es muss jedoch festgehalten werden, dass dieser Wert nicht für nanoskalige Palladiumpartikel festgelegt wurde. Verglichen mit der durchschnittlichen Aufnahme von Palladium von 0,009 µg/kg Körpergewicht/Tag (Rose,

2010) ist die Aufnahme aus den Kunststofffolien etwas höher, aber noch weit unter dem PDE-Wert von 100 µg/Tag (EMA, 2008). Partikuläres Palladium wird in der Größenordnung von < 0,0008 µg/kg KG aufgenommen.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Migration bzw. Ablösung von nanoskaligen Silber- und Palladiumpartikeln bei allen im Projekt vorliegenden Proben unter den beschriebenen Versuchsbedingungen sehr gering ist. Gemäß dem Leitfaden der EFSA (2011) zur Bewertung von nanotechnologischen Anwendungen in Lebens- und Futtermitteln, soll als erster Schritt die Exposition mit der nanoskaligen Substanz abgeschätzt werden.

Eine Exposition mit nanoskaligen Silber- und Palladiumpartikeln ist in Folge der sehr geringen Konzentration im Lebensmittelsimulanz kaum gegeben. Gesundheitliche Beeinträchtigungen der Verbraucher sind deshalb unwahrscheinlich, können nach derzeitigem Wissensstand auf Grund der Unsicherheiten und Wissenslücken bei der Bewertung der Toxikologie von Nanopartikeln nicht gänzlich ausgeschlossen werden.

Zeit- und Arbeitsplan

Tabelle 3: Zeit- und Arbeitsplan

		2012										2013										2014				
	Arbeitspaket	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	
1	Erhebung und Herstellung von relevanten Nanomaterialien	x	X	x	x	x	X																			
1.1	Erhebung von relevanten Nanomaterialien	x	X																							
1.2	Herstellung von relevanten Nanomaterialien			x	x	x	X																			
1.3	Beschaffung von Produktdesign-Mustern														x	x	X									
2	Migration/Simulation									x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	X					
3	Entwicklung von Untersuchungsmethoden			x	x	x	x	x	x	X	x	x	x	X	x	x	X	x	x	x	X					
3.1	Methode zur Detektion in idealer Dispersion			x	x	x	x	x	x	X																
3.2	Methode zur Detektion in reinen Simulanzen								x	x	x	x	x	X												
3.3	Methode zur Quantifizierung in idealer Dispersion												x	x	x	x	X									
3.4	Methode zur Quantifizierung in reinen Simulanzen																x	x	x	x	X					
4	Analyse der Relevanz von Produktdesign													X	X	x	x	x	x	x	X					
5	Darstellung und Bewertung der Ergebnisse																					X	x	x	X	
6	Projektleitung und Koordination	X	X	x	x	X	X	x	x	x	X	x	X	X	X	X	X	x	x	X	X	X	x	X		
6.1	Projektmeetings	x					x					x			x							x		x		
6.2	Zwischenbericht									x	x	x	X													
6.3	Endbericht																					x	x	x	X	

Laufzeit für Arbeitspakete	x
Teilprojekte	x
Meilensteine	X

Literatur

ANSES (French agency for food, environmental and occupational health & safety): Second French Total Diet Study (TDS 2). Report 1: Inorganic contaminants, minerals, persistent organic pollutants, mycotoxins and phytoestrogens. June 2011. <http://www.tds-exposure.eu/sites/default/files/WP1/RapportEAT2EN1.pdf>

Cornelis, G, Hassellöv, M. (2014). A signal deconvolution method to discriminate smaller nanoparticles in single particle ICP-MS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 29, 134-144

EFSA Panel on food contact materials, enzymes, flavourings and processing aids (CEF); Scientific Opinion on the safety evaluation of the active substances, sodium borohydride and palladium acetate for use in active food contact materials. *EFSA Journal* 2012;10(3):2642. [15 pp.] doi:10.2903/j.efsa.2012.2642

EMA committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) (2008): Guideline on the specification limits for residues of metal catalysts or metal reagents. Doc Ref. EMA/CHMP/SWP/4446/2000

Helmut Kaiser Consultancy Group (2007). Nanopackaging Is Intelligent, Smart And Safe Life. New World Study By Hkc22.com/beijingOffice. Press Release 14.05.07 Online verfügbar unter <http://www.prlog.org/10016688-nanopackaging-is-intelligent-smart-and-safe-life-new-world-study-by-hkc22-combeijing-office.pdf> (13.12.2011).

Laborda, F., J. Jimenez-Lamana, et al. (2011). Selective identification, characterization and determination of dissolved silver(I) and silver nanoparticles based on single particle detection by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 26(7): 1362-1371.

Mitrano, D. M., A. Barber, et al. (2012). Silver nanoparticle characterization using single particle ICP-MS (SP-ICP-MS) and asymmetrical flow field flow fractionation ICP-MS (AF4-ICP-MS). *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 27(7): 1131-1142.

Rose, M., Baxter, M., Brereton N. and C Baskaran: Dietary exposure to metals and other elements in the 2006 UK Total Diet Study and some trends over the last 30 years. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess.* 2010 Oct;27(10):1380-404

VERORDNUNG (EU) Nr. 10/2011 DER KOMMISSION vom 14. Januar 2011 über Materialien und Gegenstände aus Kunststoff, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen

WHO (2002): Environmental Health Criteria 226. Palladium

Wijnhoven SWP, Peijnenburg WJGM, Herberts CA, Hagens WI, Oomen AG, Heugens EHW, Roszek B, Bishops J, Gosens I, Van de Meent D, Dekkers S, De Jong WH, van Zijverden M, Sips AJAM, Geertsma RE (2009): Nano-silver – a review of available data and knowledge gaps in human and environment risk assessment. *Nanotoxicology* 3:2,109-138