Methodenentwicklung und Untersuchungen von Bisphenol A und ausgewählten Strukturanaloga

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
DOCTOR RERUM NATURALIUM (Dr. rer. nat.)

der
Naturwissenschaftlichen Fakultät II
Chemie, Physik und Mathematik

der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

vorgelegt von

Herrn Diplomchemiker (Umweltchemie) Daniel Goldmann
geb. am 29.09.1988 in Mühlhausen/Thür.

erster Gutachter:	Prof. Dr. W. Lorenz
zweiter Gutachter:	Prof. Dr. G. Schüürmann
Verteidigungsdatum:	11.02.2021

Diese Arbeit wurde im Zeitraum von Oktober 2015 bis Juli 2019 unter der Leitung von Prof. Dr. W. Lorenz am Institut für Lebensmittel- und Umweltchemie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg in Halle (Saale) angefertigt.

Danksagung

An erster Stelle gilt mein Dank meinem Doktorvater Herr Prof. Dr. W. Lorenz für die Möglichkeit, dieses interessante Thema in seinem Arbeitskreis durchführen zu können und für die methodische Unterstützung während der gesamten Bearbeitungsphase meiner Dissertation.

Herrn Prof. Dr. G. Schüürmann danke ich für die Erstellung des Zweitgutachtens.

Darüber hinaus danke ich allen Mitarbeitern des Arbeitskreises von Prof. Dr. W. Lorenz für die Unterstützung und die Fachdiskussionen rund um die Arbeit. Ein besonderer Dank gilt dabei Frau Dr. Mandy Koch für die zahlreichen Gespräche und Anregungen. Sie stand mir jederzeit tatkräftig zur Seite, sei es bei der Aufarbeitung als Unterstützung im Labor, oder auch als Motivator während schwierigeren Phasen. Zahlreiche fachliche Gespräche, Ratschläge und Anmerkungen ließen mich auf dem Weg zur fertigen Arbeit immer wieder neue Aspekte und Ansätze entdecken.

Bei meinen Freunden bedanke ich mich für die Ablenkung vom Alltagsstress. Die Dissertationsphase mit allen Höhen und Tiefen war dadurch etwas ertragbarer. Durststrecken konnten so leichter überwunden werden. Darüber hinaus danke ich allen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, in welcher Form auch immer (motivierende Worte, Schokolade und andere Nervennahrung, etc.).

Abschließend danke ich den wichtigsten Menschen in meinem Leben: meinen Eltern, meiner Schwester und vor allem meiner Frau Katharina. Durch euch wäre diese Arbeit in dieser Form nicht möglich gewesen. Katharina hat meine Launen stets ertragen und mich in jeder Phase unterstützt und gestärkt.

Kurzfassung

Bisphenol A ist seit langer Zeit als endokrin wirksame Substanz bekannt, aber auch Strukturanaloga zeigen adverse Effekte, wie neuere Studien zeigen. Durch immer stärkere Regulierungen von Bisphenol A treten so dessen Ersatzstoffe immer mehr in den Vordergrund. In dieser Dissertation wurden deshalb Methoden zum Nachweis von 17 Bisphenolen in verschiedenen Probenmatrices entwickelt, welche die Belastung für den menschlichen Organismus aufzeigen. Die Messungen von Hausstaubproben aus Deutschland und dem EU-Ausland zeigen, dass sowohl Bisphenol A (Medianwert 3468 ng/g), als auch die Ersatzstoffe Bisphenol F (Medianwert 122 ng/g) und Bisphenol S (197 ng/g) in allen Proben nachgewiesen werden konnten.

In Migrationsuntersuchungen von Trinkflaschen konnte eine Migration von Bisphenol A aus Polycarbonat bestätigt werden. Bisphenol S migrierte aus einer Trinkflasche, die aus Polyethersulfon hergestellt wurde.

Abstract

Bisphenol A has long been known as an endocrine disruptor, but also structural analogues show adverse effects, as recent studies show. Due to an increasing regulation of bisphenol A, its substitutes are strongly coming to the fore. In the present dissertation methods for the verification of 17 bisphenols in different sample matrices have been developed, which demonstrate the direct pollution of the human organism. The measurements of house dust samples from Germany and the EU foreign countries show that both bisphenol A (median value 3468 ng/g) and the substitutes bisphenol F (median 122 ng/g) as well as bisphenol S (197 ng/g) could be detected in all samples.

In migration studies of drinking bottles, a transition of bisphenol A from polycarbonate could be confirmed. Bisphenol S migrated from a drinking bottle made from polyethersulfone.

Abkürzungsverzeichnis

Neben den gängigen Abkürzungen laut Duden, Internationalen Einheiten und Formelzeichen sowie den Symbolen des Periodensystems der Elemente wurden folgende Abkürzungen in dieser Arbeit verwendet:

BAF	Bioakkumulationsfaktor
BCF	Biokonzentrationsfaktor
BPA	Bisphenol A (CAS-Nummer: 80-05-7)
BPAF	Bisphenol AF (CAS-Nummer: 1478-61-1)
BPAP	Bisphenol AP (CAS-Nummer: 1571-75-1)
BPB	Bisphenol B (CAS-Nummer: 77-40-7)
BPBP	Bisphenol BP (CAS-Nummer: 1844-01-5)
BPC	Bisphenol C (CAS-Nummer: 14868-03-2)
BPC2	Bisphenol C2 (CAS-Nummer: 79-97-0)
BPE	Bisphenol E (CAS-Nummer: 2081-08-5)
BPF	Bisphenol F (CAS-Nummer: 620-92-8)
BPFL	Bisphenol FL (CAS-Nummer: 3236-71-3)
BPG	Bisphenol G (CAS-Nummer: 127-54-8)
BPM	Bisphenol M (CAS-Nummer: 13595-25-0)
BPP	Bisphenol P (CAS-Nummer: 2167-51-3)
BPPH	Bisphenol PH (CAS-Nummer: 24038-68-4)
BPS	Bisphenol S (CAS-Nummer: 80-09-1)
BPTMC	Bisphenol TMC (CAS-Nummer: 129188-99-4)
BPZ	Bisphenol Z (CAS-Nummer: 843-55-0)
CAS	*Chemical Abstracts Service*
CD	*compact disc*
DES	Diethylstilbestrol
DVD	*digital versatile disc*
EC_{50}	mittlere effektive Konzentration mit halbmaximalem Effekt
ECHA	Europäische Chemikalien-Agentur
EDC	endokrin wirksame Chemikalien
EFSA	Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit

EG	Europäische Gemeinschaft
EI	Elektronenstoßionisation (*electron impact*)
ER_{α}	Estrogenrezeptor-α (NR3A1)
ER_{β}	Estrogenrezeptor-β (NR3A2)
ES	Endokrines System
est.	*estimated* (geschätzt)
EU	Europäische Union
GC	Gaschromatographie / Gaschromatograph
GC-MS/MS	Gaschromatographie gekoppelt mit Tandem-Massenspektrometrie
Gew.-%	Gewichtsprozent
K_a	Gleichgewichtskonstante der Säureform
log K_{OW}	dekadischer Logarithmus des Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten
LM	Lebensmittel
m/z	Masse/Ladungs-Verhältnis
MBP	4-Methyl-2,4-bis(4-hydroxyphenyl)pent-1-en
MS	Massenspektrometer / Massenspektrometrie
MW	Molekülmasse (in g/mol)
PFV	Peakflächenverhältnis
REACh	*Registration, Evaluation and Authorisation of Chemicals*
RSD	relative Standardabweichung (in %)
SIM	Einzelionen-Aufzeichnung (*selected ion monitoring*)
SPE	Festphasenextraktion (*solid phase extraction*)
TDI	tolerierbare tägliche Aufnahmemenge (*Tolerable Daily Intake*)
TMSH	Trimethylsulfoniumhydroxid
UBA	Umweltbundesamt
VO	Verordnung
z. B.	zum Beispiel

Inhaltsverzeichnis

Danksagung i

Kurzfassung ii

Abstract ii

Abkürzungsverzeichnis iii

1 Einleitung 1

2 Grundlagen 3

2.1 Bisphenol A und Strukturanaloga 3

2.1.1 Eigenschaften und Verwendung 3

2.1.2 Gesundheitsrisiko von Bisphenolen 8

2.1.3 Rechtliche Regelungen der Bisphenole 10

2.1.4 Produktionsmengen 11

2.2 Extraktionstechniken 12

2.2.1 Extraktionen von festen Proben 12

2.2.2 Extraktionen von flüssigen Proben 13

2.3 Probenkompartimente 14

2.3.1 Hausstaub 14

2.3.2 Thermopapier 15

2.3.3 Kunststofftrinkflaschen als Lebensmittelbedarfsgegenstände 17

2.4 Grundlagen GC-MS/MS 19

2.4.1 Gaschromatographie 19

2.4.2 Quadrupol-Massenspektrometrie 23

2.4.3 Tandem-Massenspektrometrie 26

2.5 Derivatisierungsmöglichkeiten 28

2.5.1 Alkylierung mit TMSH 29

2.6 Grundlagen der HPLC 30

3 Geräte und Chemikalien 36

3.1 Verwendete Standards 36

3.2 Verwendete Lösungsmittel 37

3.3 Verwendete Geräte und Materialien 37
4 Ergebnisse 40
4.1 Nachweis- und Bestimmungsgrenzen 40
4.2 GC-MS/MS-Methode 43
4.2.1 Entwicklung eines Temperaturprogramms 43
4.2.2 Ermittlung von analytspezifischen Übergängen mittels Auto-SRM 43
4.2.3. Optimierte GC-MS/MS-Methode 44
4.2.4 Wahl und Optimierung des Injektorsystems 47
4.2.5 Optimierung der Derivatisierung 50
4.3 HPLC-Methode 55
4.3.1 Entwicklung und Optimierung des Gradientenprogramms 55
4.3.2 Einstellung des DAD- und FLD-Signals 56
4.3.3 optimierte HPLC-DAD/FLD-Methode 57
4.4 Methodenentwicklung der Hausstaubproben 60
4.4.1 Probenvorbereitung 61
4.4.2 Optimierung Extraktion und Clean up 62
4.4.3 Einsatz eines *Keepers* bei der Aufarbeitung 71
4.4.4 "Sonderfall Bisphenol C": Diskussion um "selektive" Übergänge 72
4.4.5 Wiederfindungsrate, Mess- und Methodenpräzision in Hausstaub 73
4.5 Methodenentwicklung für die Thermopapiere 77
4.5.1 Methodenoptimierung 77
4.6 Migrationsuntersuchungen an Trinkflaschen 82
4.6.1 SPE-Methodenentwicklung 82
4.6.2 Methodenentwicklung für Simulanzlösungen 84
4.7 Ergebnisse der Hausstaubproben 87
4.8 Ergebnisse der Thermopapierproben 96
4.9 Ergebnisse der Trinkflaschen 103
4.9.1 Migrationuntersuchungen nach VO 2011 103
4.9.2 Ergebnisse der 10-stündigen Migrationsuntersuchungen 107
5 Zusammenfassung und Ausblick 110
6 Summary and Outlook 113

I Literaturangaben I

II Abbildungsverzeichnis X

III Tabellenverzeichnis XIII

IV Anhang XV

V Tagungsbeiträge/ Präsentationen XLVII

VI Eidesstattliche Erklärung XLVIII

VII Lebenslauf XLIX

1 Einleitung

Bisphenol A dient als Ausgangsstoff für zahlreiche Produkte. Beispielsweise werden aus Bisphenol A Polycarbonate und Epoxidharze hergestellt, die als Beschichtungen und Kunststoff in zahlreichen Produkten des täglichen Bedarfs aufgrund ihrer positiven Eigenschaften eingesetzt werden [1]. So findet man Bisphenol A sowohl als Beschichtung von Konservendosen, als auch auf Thermopapier von Kassenzetteln [2 - 7]. Der tägliche Kontakt mit dieser Substanz ist deshalb schwer vermeidbar. Untersuchungen haben gezeigt, dass Bisphenol A endokrin wirksam ist und somit den Hormonhaushalt stören kann. Aus diesem Grund ist die Verwendung der Substanz in Babyflaschen bereits seit 2011 in der EU verboten [8].

Um Bisphenol A als Inhaltsstoff zu ersetzen, werden zunehmend alternative Substanzen verwendet. Somit wird der Eintrag verringert und das Produkt genügt dem Gebot der BPA-Freiheit. Alternativsubstanzen können unter anderem Strukturanaloga sein, die unterschiedliche Seitenketten am mittelständigen Kohlenstoffatom aufweisen. Gleichermaßen ist eine Variation an den Phenylresten möglich oder der Ersatz des zentralen Kohlenstoffatoms durch Heteroatome. Beispiele für solche bereits eingesetzten Substanzen sind Bisphenol S, Bisphenol AF und Bisphenol F. Darüber hinaus existieren noch zahlreiche weitere Strukturanaloga, die als potentieller Ersatz für Bisphenol A dienen könnten.

Entsprechend der Fachliteratur gibt es aktuell wenige Daten zu diesen Analoga. Allerdings ist bekannt, dass sie mitunter eine ähnliche endokrine Wirkung wie BPA besitzen können. Des Weiteren besitzen einige der Verbindungen höhere log K_{OW}-Werte, was für eine stärkere Akkumulation in fettreichem Gewebe spricht. Die unbedenkliche Substitution von Bisphenol A durch Strukturanaloga ist also nicht ohne weitere Untersuchungen ratsam [9 - 12].

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Erstellung einer analytischen Methode zur qualitativen und quantitativen Bestimmung von Bisphenol A und ausgewählten Strukturanaloga. Bisher existiert keine umfassende Methode, um alle wichtigen Ersatzsubstanzen zusammen erfassen zu können. Diese Methode soll für zukünftige Bestimmungen der Bisphenole in verschiedenen Matrices anwendbar sein. Ziel ist es, nicht nur eine BPA-Freiheit zu gewährleisten, sondern auch den Einsatz anderer Bisphenol ermitteln zu können. Durch die Untersuchung von verbrauchernahen Eintragsquellen kann somit eine konkrete Belastung durch Produkte ermittelt werden. Durch die Übertragung der Messmethode auf Hausstaubproben ist eine aktuelle Belastungssituation von Bisphenol A und dessen Strukturanaloga erkennbar. Zudem kann der zeitliche Verlauf der Belastung durch Bisphenole beobachtet wer-

den. Somit erhält man einen Überblick über die Verwendung der Bisphenole in der Umwelt. Eine besondere Stellung nimmt die Anwendung von Bisphenolen in Thermopapieren ein. Hier wird Bisphenol A in freier Form als Entwicklersubstanz für Thermopapiere verwendet und ist somit leicht verfügbar für den Organismus. Durch den Verbot von BPA in Thermopapieren bis 2020 ist durch die ermittelte Methode eine zeitliche Veränderung der eingesetzten Entwicklersubstanzen möglich [13].

2 Grundlagen

2.1 Bisphenol A und Strukturanaloga

2.1.1 Eigenschaften und Verwendung

Die Bisphenole stellen eine Stoffgruppe aus 17 untersuchten Verbindungen dar. Sie weisen alle eine ähnliche Grundstruktur auf. Diese besteht aus einer variablen chemischen Gruppe zwischen zwei Phenolringen, daher stammt auch der Trivialname Bisphenole. Die Varianz der chemischen Gruppe wird durch Variation der Edukte erreicht, indem formal zwei Phenole mit einem Aceton für beispielsweise Bisphenol A reagieren. So entsteht der Trivialname durch die verwendeten Edukte. Für Bisphenol A ist das Aceton, für Bisphenol B wird Butanon verwendet und analog werden die anderen Bisphenole benannt.

Die Bisphenole A, F und S sind wichtige Ausgangsstoffe in der Kunststoffindustrie. Aus ihnen werden zum Großteil Polycarbonate und Epoxidharze hergestellt, die zahlreiche Vorzüge für ihre Verwendung aufweisen. Ein kleinerer Teil der produzierten Bisphenole wird als Zusatz zu Vinylböden oder als Farbentwickler in Thermopapier benutzt. Dabei werden sie als Additiv nicht chemisch gebunden eingesetzt, wodurch eine andere Gefährdung und Mobilität für Umwelt und Mensch ausgeht [14].

Epoxidharze entstehen durch die Reaktion von Bisphenolen mit Epichlorhydrin. Hierbei entstehen flüssige Kleb-, Lack- und Gießharze. Durch Zugabe von Härtern dienen diese strapazierfähigen und hitzebeständigen Kunststoffe als Beschichtung in Weißblechdosen oder Innenflächen von Wasserrohren. Dadurch ist kein Angriff der Metalloberfläche möglich und Metallionen können sich nicht mehr aus dem Material herauslösen.

Polycarbonat-Kunststoffe bieten eine Reihe von Vorzügen als Material. Hierbei seien besonders das geringe Gewicht, die Durchsichtigkeit und Robustheit zu erwähnen. Des Weiteren besitzen sie eine hohe Steifheit und Festigkeit. Durch ihr elektrisches Isolationsvermögen sind sie besonders im Bereich der Elektrotechnik interessant. Bisphenol A ist als Ausgangsstoff in vielen Alltagsprodukten zu finden. Hier seien CDs und DVDs zu erwähnen, als auch Kassenzettel, Kunststoffschüsseln und auch Bodenbeläge [14].

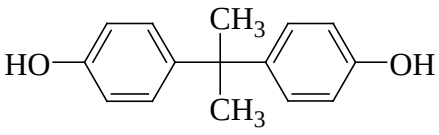
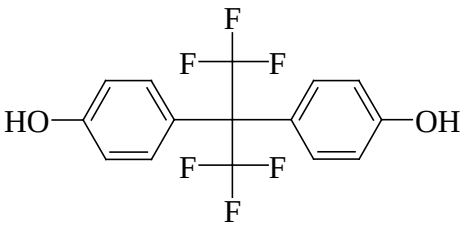
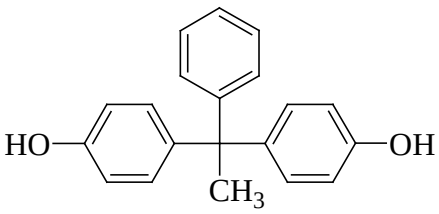
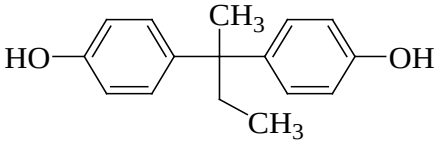
Im Allgemeinen weisen Phenole erhöhte Schmelz- und Siedepunkte im Vergleich zu Aromaten ohne Hydroxyl-Gruppe auf. Durch die intermolekularen Wasserstoff-Assoziationen weisen Phenole eine gewisse Wasserlöslichkeit und Polarität auf, sodass sie auch in geringen Konzentrationen in Wasser nachweisbar sind. Des Weiteren besitzen sie die Möglichkeit, über Mesomerie Ladungen zu stabilisieren. Phenolat-Anionen sind stärker mesomeriestabilisiert

als das Phenol. Die bewirkt, dass Phenole bereits mit Alkalihydroxiden Phenolate bilden, was Alkohole nicht tun. Sie sind insgesamt mit Säurekonstanten von circa 10^{-10} schwächer sauer als Carbonsäuren mit $K_a \approx 10^{-5}$ [15].

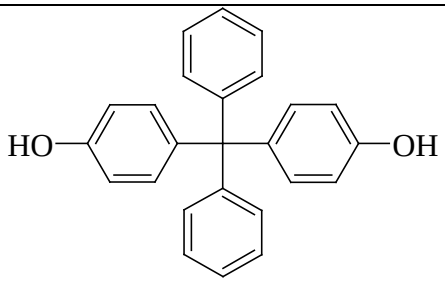
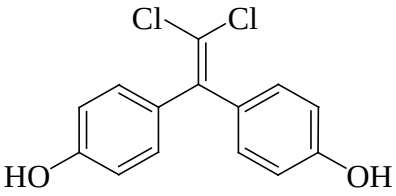
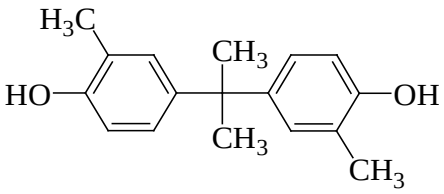
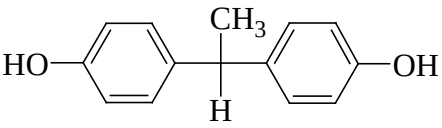
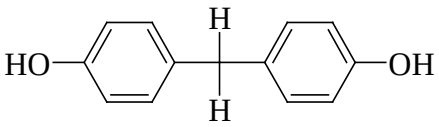
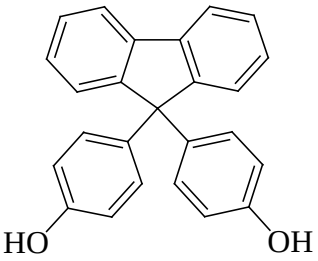
Nachfolgend sind in Tab. 1 (vgl. S. 4 ff.) die untersuchten Analytsubstanzen mit physikochemischen Eigenschaften aufgeführt, welche rechnerisch ermittelt wurden [16].

Gemäß der REACh-Einstufung gilt ein Stoff als persistent, wenn er einen Biokonzentrationsfaktor (BCF) von über 2000 besitzt. Für Bisphenol A wird dieses Kriterium nicht erfüllt. Aufgrund der hohen Produktionsmenge und den damit verbundenen hohen Konzentrationen in der Umwelt ist dennoch ein Gefahrenpotential vorhanden.

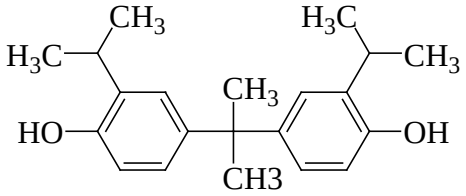
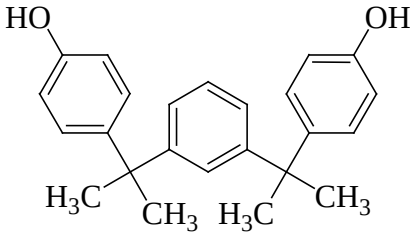
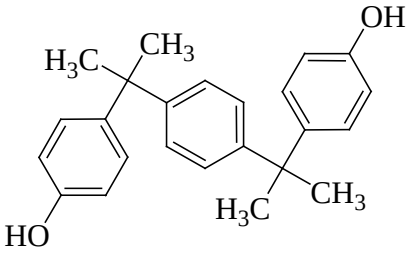
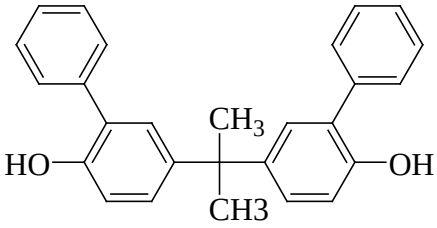
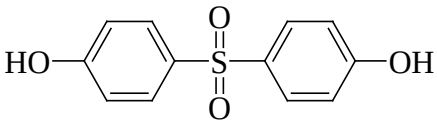
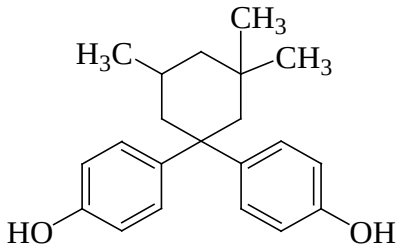
Tab. 1: Berechnete Eigenschaften der Bisphenol Analoga (EPIWEB 4.1) [16, 17]

			
Name	Bisphenol A (BPA)	**Name**	Bisphenol AF (BPAF)
CAS	80-05-7	**CAS**	1478-61-1
log K_{OW}	3,32	**log K_{OW}**	4,47 (est.)
MW (g/mol)	228,29	**MW (g/mol)**	336,23
BCF	172,7	**BCF**	639,3
BAF	172,8	**BAF**	643
			
Name	Bisphenol AP (BPAP)	**Name**	Bisphenol B (BPB)
CAS	1571-75-1	**CAS**	77-40-7
log K_{OW}	4,86	**log K_{OW}**	4,13
MW (g/mol)	290,36	**MW (g/mol)**	242,31
BCF	249,7	**BCF**	170,2
BAF	250,1	**BAF**	170,3

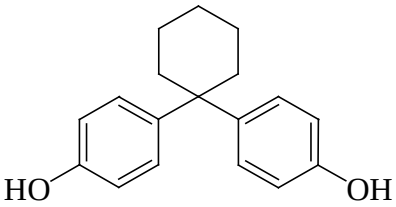
Fortsetzung Tab. 1: Eigenschaften der Bisphenol Analoga basierend auf EPIWEB 4.1

			
Name	Bisphenol BP (BPBP)	**Name**	Bisphenol C (BPC)
CAS	1844,01-5	**CAS**	14868-03-2
log K_{OW}	6,08	**log K_{OW}**	3,75
MW (g/mol)	352,43	**MW (g/mol)**	281,13
BCF	385,1	**BCF**	227,5
BAF	416,4	**BAF**	227,6
			
Name	Bisphenol C2 (BPC2)	**Name**	Bisphenol E (BPE)
CAS	79-97-0	**CAS**	2081-08-5
log K_{OW}	4,74	**log K_{OW}**	3,19
MW (g/mol)	256,34	**MW (g/mol)**	214,26
BCF	112,6	**BCF**	45,61
BAF	112,6	**BAF**	45,61
			
Name	Bisphenol F (BPF)	**Name**	Bisphenol FL (BPFL)
CAS	620-92-8	**CAS**	3236-71-3
log K_{OW}	2,91	**log K_{OW}**	k.A.
MW (g/mol)	200,23	**MW (g/mol)**	350,42
BCF	28,02	**BCF**	k.A.
BAF	28,02	**BAF**	k.A.

Fortsetzung Tab. 1: Eigenschaften der Bisphenol Analoga basierend auf EPIWEB 4.1

			
Name	Bisphenol G (BPG)	**Name**	Bisphenol M (BPM)
CAS	127-54-8	**CAS**	13595-25-0
log K_{OW}	6,55	**log K_{OW}**	6,25
MW (g/mol)	312,45	**MW (g/mol)**	346,46
BCF	284,2	**BCF**	1970
BAF	354,7	**BAF**	9079
			
Name	Bisphenol P (BPP)	**Name**	Bisphenol PH (BPPH)
CAS	2167-51-3	**CAS**	24038-68-4
log K_{OW}	6,25	**log K_{OW}**	7,17
MW (g/mol)	346,46	**MW (g/mol)**	380,48
BCF	1970	**BCF**	192,8
BAF	9079	**BAF**	585,9
			
Name	Bisphenol S (BPS)	**Name**	Bisphenol TMC (BPTMC)
CAS	80-09-1	**CAS**	129188-99-4
log K_{OW}	1,65	**log K_{OW}**	6,29
MW (g/mol)	250,27	**MW (g/mol)**	310,43
BCF	3,535	**BCF**	684,2
BAF	3,535	**BAF**	1042

Fortsetzung Tab. 1: Eigenschaften der Bisphenol Analoga basierend auf EPIWEB 4.1



Name	Bisphenol Z (BPZ)
CAS	843-55-0
log K_{OW}	5,00
MW (g/mol)	268,35
BCF	271,4
BAF	272,1

Betrachtet man die Strukturanaloge, so besitzen diese deutlich höhere log K_{OW}-Werte im Vergleich zu Bisphenol A. Dadurch sind auch die BCF deutlich höher. Hierbei sind Bisphenol M und Bisphenol P zu erwähnen, die mit berechneten BCF von 1970 im Bereich der Einstufung als persistenter Stoff liegen. Somit ist bei Erhöhung der Produktionsmengen für diese Stoffe von erhöhtem Gefahrenpotential auszugehen.

2.1.2 Gesundheitsrisiko von Bisphenolen

Zahlreiche toxische Effekte wurden in Studien dargelegt. Diese reichen von endokriner Disruption über Zytotoxizität und Genotoxizität bis hin zu Neurotoxizität [16]. In Tab. 2 sind die toxischen Effekte von einigen Bisphenolen, die bereits in früheren Studien ermittelt wurden, tabellarisch aufgeführt. Ein Plus-Zeichen erhalten demnach Substanzen, bei denen toxische Effekte im jeweiligen Test ermittelt wurden.

Tab. 2: Toxische Effekte der Bisphenol-Analoga [16]

	BPAF	BPAP	BPB	BPC	BPE	BPF	BPP	BPS	BPZ
Östrogen	+	+	+	+	+	+		+	+
Androgen						+		+	
Anti-östrogen	+	+	+	+		+		+	+
Anti-androgen	+		+		+	+		+	
Zytotoxisch	+					+		+	
Genotoxisch	+	+				+	+	+	
Reproduzierbarkeit						+		+	
Neurotoxisch						+		+	
Dioxin-ähnliche Effekte					+	+		+	
Akuttoxizität			+		+	+	+	+	

Die meist diskutierte Gesundheitsgefahr von Bisphenolen ist die hormonell-ähnliche Wirksamkeit. Bei einer wirksamen Dosis im Körper wird das empfindliche Hormonsystem gestört. Dadurch entstehen Probleme beim Sexualsystem und der Fortpflanzung. Das jeweilige Bisphenol bindet dabei reversibel an den Östrogenrezeptor aufgrund seiner chemischen Struktur und wirkt deshalb als endokriner Disruptor (EDC).

In der Literatur wird aktuell diskutiert, dass endokrine Disruptoren bei geringeren Konzentrationen einen stärkeren Einfluss auf das Hormonsystem besitzen als höhere Konzentrationen und sie somit eine nicht-lineare Dosis-Wirkungs-Kurve aufweisen. Der negative Gesundheitseffekt nimmt somit bei geringer Konzentration wieder zu, da das Hormonsystem sehr empfindlich auf geringe Konzentrationen reagiert [18, 19].

Die östrogene Wirkung von Bisphenol A ist schon seit 1936 bekannt [20]. Dabei bindet Bisphenol A in in vitro und in vivo Tests sowohl an den ERα-Rezeptor, als auch an den ERβ-Rezeptor. Im Vergleich zu 17β-Estradiol, welches das natürliche Östrogen im Körper darstellt, ist die Bindung aber um den Faktor 10 000 bis 100 000 schwächer. In vivo-Studien zeigen allerdings eine ähnliche Östrogenität wie das 17β-Estradiol [21]. Metabolisierte Formen von Bisphenol A zeigen dagegen keinerlei östrogene Wirksamkeit. Einzige Ausnahme stellt hierbei das 4-Methyl-2,4-bis(4-hydroxyphenyl)pent-1-en (MBP) dar, das durch die Variation am zentralen Kohlenstoffatom strukturell besser an die Östrogenrezeptoren binden kann. Dieses wird in sehr geringem Maße beim Abbau von Bisphenol A im Körper gebildet [22, 23]. Entscheidend für die östrogene Wirkung ist der Abstand der Hydroxyl-Funktionen, die an den Östrogenrezeptor binden. Dies ist für das potentere Mittel Diethylstilbestrol (DES) der Fall, sowie für das bereits genannte MBP.

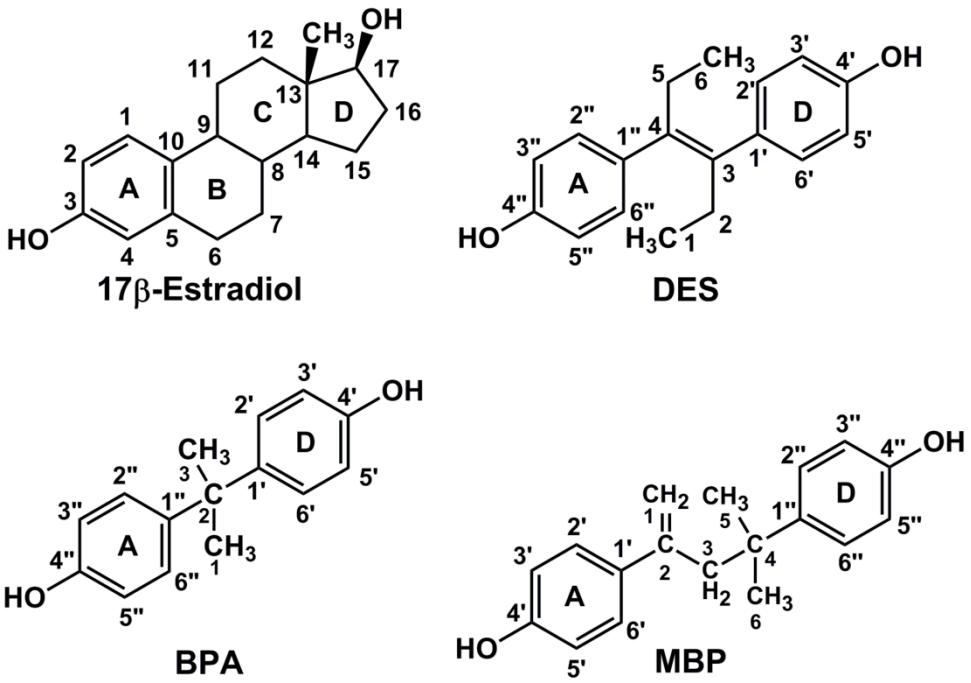


Abb. 1: Strukturvergleich öströgen wirksamer Substanzen (ES, MBP, DES und BPA) [22]

Entscheidend für die Wirkung im menschlichen Körper ist auch der Aufnahmeweg. Hierbei wird bei oraler Aufnahme von Bisphenol A durch den sogenannten *First-Pass*-Effekt das Bisphenol A rasch in der Leber zu seinen ungefährlichen Metaboliten abgebaut. Für dermal aufgenommenes Bisphenol A, wie es bei Thermopapier der Fall ist, gilt der First-Pass-Effekt nicht, sodass eine höhere Konzentration von nicht-konjugiertem Bisphenol A im Körper vorhanden sein kann [24].

Der Haupteintragsweg von Bisphenol A in den menschlichen Organismus wird durch Lebensmittel verursacht. Zu diesem Ergebnis ist die EFSA bei einem Risikoeinschätzungsreport im Jahr 2008 gekommen. Es kann unter anderem durch Hydrolyse mit Wasser aus dem Polymer von Innenbeschichtungen freigesetzt werden [14].
Studien über die Toxizität von Bisphenol S zeigen, dass auch hier adverse Effekte für den Organismus feststellbar sind. Dabei zeigen Publikationen, dass Bisphenol S eine vergleichbare östrogene Wirksamkeit wie Bisphenol A besitzt und damit toxikologisch nicht als Ersatzsubstanz dienen sollte [25]. Die effektive Konzentration für einen halbmaximalen Effekt (EC_{50}) ist für Bisphenol A höher als es für Bisphenol S der Fall ist. Dabei ist bei einer Exposition von Zebrafischen mit Bisphenol S die Konzentration von 17β-Estradiol sowohl in männlichen, als auch in weiblichen Fischen erhöht, während die männlichen Zebrafische eine geringere Testosteron-Konzentration besitzen [26]. In einem in vitro-Test reduzieren sowohl Bisphenol S und F in gleicher Größenordnung die basale Testosteron-Konzentration [27], was letztendlich zu Verweiblichung und Unfruchtbarkeit der männlichen Zebrafische führt.

2.1.3 Rechtliche Regelungen der Bisphenole

Aufgrund der Gesundheitsrisiken, die von Bisphenol A als produzierte Chemikalie im millionen Tonnen-Maßstab ausgehen, gelten europaweite Regelungen zum vorsorgenden Verbraucherschutz.
In der Kosmetikverordnung ist Bisphenol A als Stoff eingestuft, der bei der Herstellung oder Behandlung von Kosmetika nicht verwendet werden darf. Seit dem 01. Juni 2011 ist zudem die Verwendung und Einfuhr von Säuglingsflaschen aus Polycarbonat, bei denen Bisphenol A verwendet wurde, verboten.
Im Zuge der Neubewertung von Bisphenol A ist ab dem 06. September 2018 die VO (EU) 2018/213 in Kraft getreten, die eine Veränderungsverordnung zur VO (EU) 10/2011 darstellt. In dieser Verordnung wird der spezifische Migrationsgrenzwert von Bisphenol A für Lebensmittelkontaktmaterialien auf 0,05 mg/kg Lebensmittel herabgesetzt. Vorher galt ein Grenzwert von 0,6 mg/kg Lebensmittel [28].
Durch neuere Untersuchungen wurde im Jahr 2015 ein TDI-Wert von 4 µg/kg Körpergewicht an Bisphenol A festgelegt. Auf dieser Grundlage hat das Umweltbundesamt (UBA) den Trinkwasserhöchstwert für die Freisetzung von Bisphenol A aus Materialien mit Trinkwasserkontakt auf 2,5 µg/L herabgesetzt. Dieser Wert gilt nun in der UBA-Leitlinie für organische Materialien bei Trinkwasserkontakt. Für die Berechnung wird von einer Aufnahme bei 2 L Trinkwasser pro Tag ausgegangen.

Ab Januar 2020 ist die Verwendung von BPA in Gehalten von mehr als 0,02 % in Thermopapier verboten [13].

Für alle anderen Bisphenole, die in der vorliegenden Arbeit untersucht wurden, gibt es zurzeit keine gesetzlichen Regelungen. Interessant ist deshalb, wie sich die Regulierungen von Bisphenol A auf den Einsatz von Strukturanaloga in diesen Bereichen auswirken. Ein einfacher Ersatz von Bisphenol A innerhalb der Stoffgruppe mit ähnlichen Eigenschaften ist also denkbar.

2.1.4 Produktionsmengen

Bisphenol A wird in vielen Bereichen verwendet. Es dient vor allem als Monomer für die Polycarbonatsynthese und Epoxidharzherstellung. In freier Form wird es als Stabilisator und Farbentwicklungskomponente benutzt [14]. Daher wird es jährlich im großen Maßstab weltweit produziert. Im Jahr 2006 wurden durch die chemische Industrie weltweit 3,8 Millionen Tonnen Bisphenol A produziert, davon entfielen 15 Millionen Tonnen auf die Europäische Union. Ein Großteil der europäischen Produktion wird auf deutschem Boden durchgeführt (ca. 70 %) [14]. Die in der EU produzierten und importierten Mengen ab einer Tonne pro Chemikalie sind seit 01. Juni 2018 durch REACh registrierungspflichtig. Betrachtet man die von der ECHA erstellten Infocards zu den Bisphenolen, so erkennt man deutliche Unterschiede in den Produktionsmengen. Den größten Anteil nimmt das Bisphenol A mit über 90 % der EU-Produktion von Bisphenolen ein. Danach folgt das Bisphenol S mit 10 000 - 100 000 Tonnen pro Jahr und das Bisphenol AF mit 100 - 1000 Tonnen pro Jahr. Des Weiteren wird eine Produktion von Bisphenol C2 von 1 - 10 Tonnen pro Jahr angegeben. Weitere Produktionen von maximal einer Tonne pro Jahr sind für Bisphenol AP, Bisphenol FL und Bisphenol M registriert. Alle anderen Bisphenole werden nicht oder unter einer Tonne pro Jahr in der EU produziert und sind somit nicht registrierungspflichtig [29 - 46].

2.2 Extraktionstechniken

Der Begriff Extraktion stammt aus dem Lateinischen und bedeutet so viel wie "herausziehen". Dabei handelt es sich um ein physikalisches Stofftrennverfahren, bei dem mit Hilfe eines Extrationsmittels ein Stoff oder mehrere Komponenten aus einem Gemisch gelöst werden. Durch die Wahl eines geeigneten Extraktionsmittels können unter Energieeintrag nicht nur störende Matrixbestandteile abgetrennt werden, sondern auch die Analyten quantitativ gewonnen werden. Gleichermaßen ist eine Aufkonzentrierung von Spuren- und Ultraspuren der Analyte möglich. Nachfolgend sollen deshalb einige Extraktionsmöglichkeiten, welche in der vorliegenden Arbeit verwendet wurden, näher erläutert werden.

2.2.1 Extraktionen von festen Proben

Um eine oder mehrere Substanzen aus einem Feststoff zu extrahieren, muss der Feststoff unter Zugabe eines Lösungsmittels erhitzt werden. Für eine vollständige Extraktion der Analyte sollte diese möglichst erschöpfend durchgeführt werden, was durch Wiederholung erreicht wird. Zweckmäßig werden dabei automatisch arbeitende Apparaturen verwendet. Klassisch benutzt man dabei einen Soxleth-Extraktor. Dieser besteht aus einem Kolben, einem Extraktionsaufsatz mit seitlich angebrachtem Heberohr und einem Rückflusskühler. Durch Hitze steigt das Extraktionsmittel auf, rekondensiert am Rückflusskühler und fließt in die Extraktionshülse, in der sich die Probe befindet. Ist der Extraktionsaufsatz bis zum Auslass des Heberohrs gefüllt, fließt das Extraktionsmittel zurück in den Kolben und der Zyklus beginnt von vorn [47].

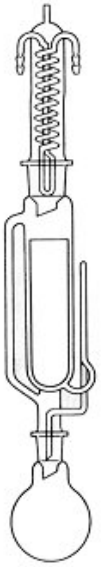


Abb. 2: Schematischer Aufbau des Soxleth-Extraktors [47]

Nachteil der Soxleth-Extraktion ist die Zeit, die zur vollständigen Extraktion benötigt wird sowie der enorme Energieeintrag. Zudem wird eine größere Menge an Lösungsmittel benötigt. Eine mögliche Alternative zur klassischen Soxleth-Extraktion stellt die energetisch günstigere und ressourcenschonendere Ultraschallextraktion dar. Hierbei werden hohe Scherkräfte in das Medium eingetragen, wodurch eine hohe Extraktionseffizienz bei kurzer Extraktionszeit erreicht wird. Durch Schallwellen im Ultraschallbereich entstehen im Lösungsmittel Bereiche mit hohem und niedrigem Druck. Die Schallwellen im Ultraschallbereich führen im Lösungsmittel zur Bildung von dampfgefüllten Hohlräumen, die unter Einwirkung des äußeren Drucks kollabieren. Dieser als Kavitation bekannte Effekt führt zum Aufbrechen von größeren Matrixstrukturen, wodurch eine bessere Benetzung des Probenmaterials mit dem Extraktionsmittel und damit eine effizientere Extraktion erzielt werden kann. Gleichzeitig ist die ultraschallgestützte Extraktion bei geringen Temperaturen möglich, sodass auch thermolabile Substanzen schonend extrahiert werden können.

2.2.2 Extraktionen von flüssigen Proben

Die Festphasenextraktion dient der Probenvorbereitung und -aufarbeitung und erfüllt gleich mehrere Aufgaben: Die Analytsubstanzen werden aufkonzentriert, problematische Matrix wird entfernt und es erfolgt eine Isolierung der Analyten von der restlichen Probe. Im Vergleich zur Flüssig-Flüssig-Extraktion als weitere Aufarbeitungsmethode wird deutlich weniger Lösungsmittel benötigt, was zum einen umweltschonend ist, zum anderen auch zu einer Kostenreduzierung führt.

Unterschieden wird die Festphasenextraktion nach der Art des verwendeten Materials. Normalphasen bestehen aus anorganischen Oxiden (Kieselgel, Kieselgur, Florisil). Dagegen stehen die Umkehrphasen, die meist aus organisch modifiziertem Kieselgel bestehen. Hier bestimmt die Art der Modifikation die Wechselwirkungen mit der Probe. Von aktueller Bedeutung sind Sorbentien auf Basis poröser Polymermaterialien. Diese weisen durch die hohe Quervernetzung eine sehr große Oberfläche für Interaktionen mit der Probe auf. Durch Variation von funktionellen Gruppen an der Oberfläche können die Eigenschaften und die Spezifität für die jeweilige Problemstellung verändert werden.

Ein Beispiel für eine solche Festphase ist die Verwendung eines Copolymers aus Styrol und Divinylbenzen mit einer unpolar modifizierten Oberfläche, das nach Herstellerangaben für die Analytik von mittelpolaren Substanzen geeignet ist. Die große Partikelgröße ermöglicht relativ hohe Durchflusszeiten.

2.3 Probenkompartimente

2.3.1 Hausstaub

Hausstaub ist eine Sammelbezeichnung für partikel- und faserförmige Imissionen in geschlossenen Räumen. Es bilden sich Mischungen unterschiedlichster organischer und anorganischer Stoffe, welche von den jeweiligen Lebensbedingungen abhängen. Dies bedingt eine große Inhomogenität und erhöhte Anforderungen an die analytische Methode. Aus der Literatur ist bekannt, dass erst ab einer Korngrößenverteilung von < 100 µm eine Probenhomogenität und damit eine Vergleichbarkeit der Probenergebnisse gewährleistet werden kann [48].
Bestandteile des Hausstaubes sind im Allgemeinen:

- Hautschuppen
- Fasern (z. B. von Kleidung, Teppichen, Möbeln)
- Haare
- Gesteinskörnchen (z. B. Straßenabrieb)
- Pflanzenteile
- tote und lebende Hausstaubmilben und deren Kot
- Bakterien, Viren, Schimmelpilze
- Schadstoffe (z. B. Weichmacher aus Teppichböden)

Durch den zunehmenden Ersatz von mineralischen, metallischen Materialien sowie Holz- und Faserwerkstoffen natürlicher Basis durch Kunststoffe, steigt auch die Belastung durch Schadstoffe aus Kunststoffmaterialien im Hausstaub an. Durchschnittlich verbringen wir 90 % unserer Lebenszeit in Innenräumen. Hausstaub dient deshalb als Indikator für Innenraumchemikalien und kann als Belastungsabschätzung von Schadstoffen für den Menschen angesehen werden. Mittel- und schwerflüchtige Substanzen lagern sich aufgrund ihrer chemischen Eigenschaften an Staubpartikeln an, daher dient Hausstaub als Senke für viele Chemikalien in Innenräumen [49].
Kleinkinder sind bei der Schadstoffbelastung durch Hausstaub in besonderem Maße betroffen. Dies ist durch mehre Aspekte begründet. Zum einen ist die Aufnahmemenge in Bezug auf ihr Körpergewicht größer als bei Erwachsenen, denn sie befinden sich näher am Boden und abgelagerten Stäuben. Zum anderen wird durch das kindliche Verhalten (Spielen auf dem Boden, höhere Aufnahme durch orale Exposition) mehr Hausstaub aufgenommen, als es bei erwachsenen Personen der Fall ist [49].

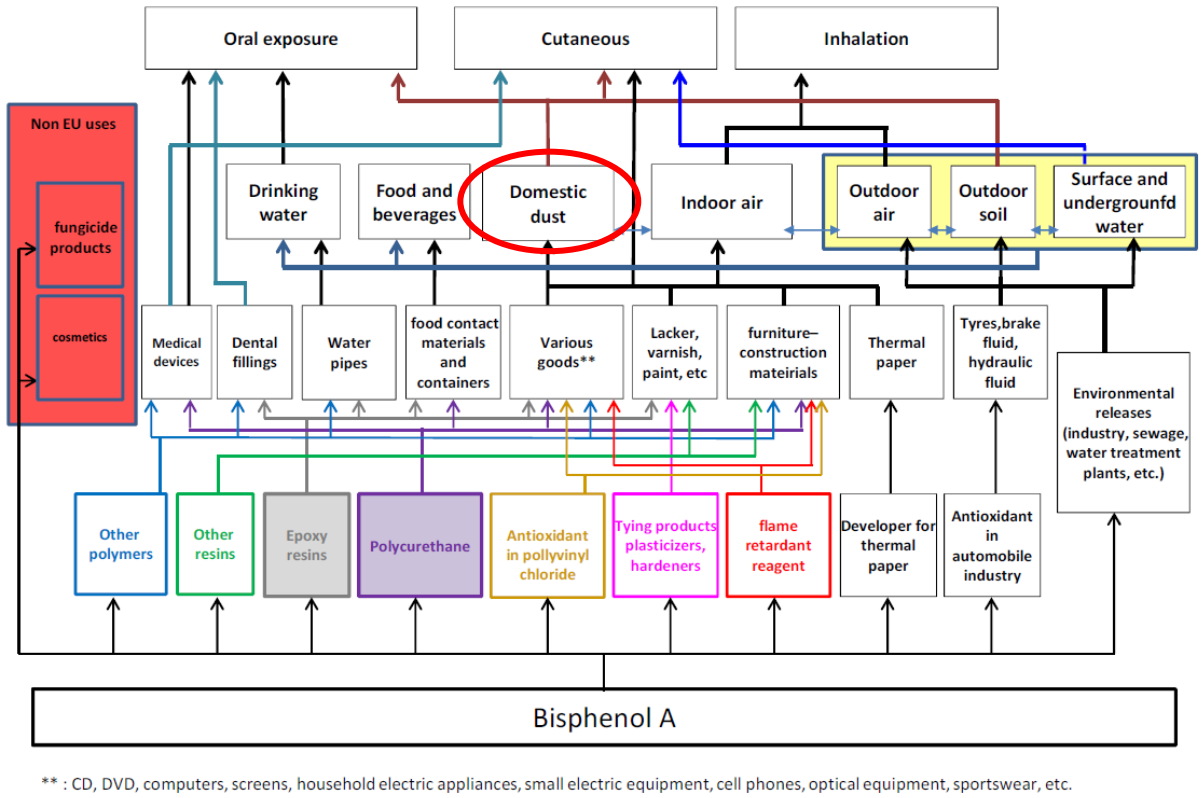


Abb. 3: Eintrag von BPA in menschl. Organismus (nach REACH Anhang XV) [50]

In Abb. 3 ist der Eintrag von Bisphenol A in den menschlichen Körper ersichtlich. Durch den Einsatz von Bisphenolen in zahlreichen Alltagsprodukten dient der Hausstaub somit als Einschätzung der aktuellen Bisphenol-Belastung für den menschlichen Organismus. Bisphenole gelangen durch Abrieb von epoxidhaltigen Bodenbelägen, Klebstoffen, Lacken, elektronischen Geräten und Leiterplatten in den Hausstaub. Bei oraler Einnahme von Hausstaub durch Verschlucken oder Einatmen kann so Bisphenol A und dessen Strukturanaloga in den Körper gelangen und zu adversen Effekten führen.

2.3.2 Thermopapier

Eine weitere Expositionsquelle des Menschen stellt die Verwendung von Bisphenolen in Thermopapieren dar. Im Gegensatz zu Polycarbonat-Polymeren werden die Bisphenole hier ungebunden eingesetzt, sodass sie über die Haut aufgenommen werden können.

Beim Thermodruck wird zwischen dem direkten Thermodruck und dem Thermotransferdruck unterschieden. Im ersten Fall wird der Druck durch direkte Einwirkung von Wärmerstrahlen auf das Papier erreicht. Die Wärmeübertragung wird durch Silikonnadeln im Druckerkopf ermöglicht. Der Druck entsteht durch die Reaktion von im Papier befindlichen

Leukofarbstoffen und Entwicklersubstanzen, wofür wärmesensitiv beschichtetes Papier notwendig ist. Der schematische Aufbau eines solchen Spezialpapieres ist in Abb. 4 dargestellt.

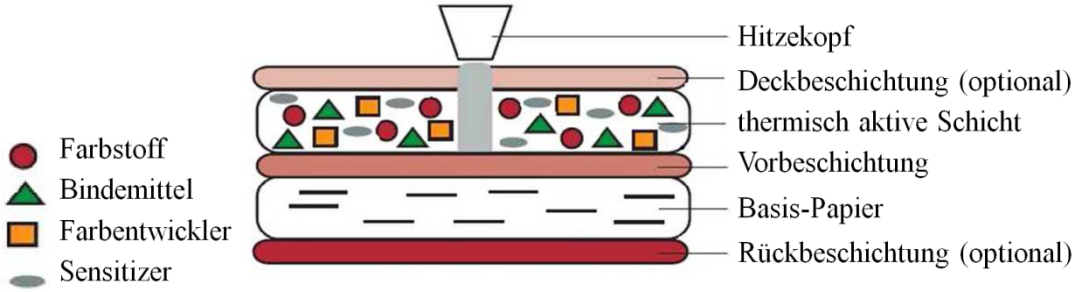


Abb. 4: Struktur und Funktion des Thermopapiers [51]

Vorteile dieser Methode sind das fast geräuschlose Arbeiten der Drucker und der Preis eines solchen Gerätes. Zudem wird kein extra Tonermaterial benötigt, sondern lediglich das speziell beschichtete Thermopapier. Die Bisphenole befinden sich in der etwa 5 µm starken, thermisch aktiven Schicht. Ihr Gehalt liegt dort im Prozent-Bereich. In den anderen Schichten wird kein Bisphenol benötigt, deshalb sind diese bisphenol-frei.

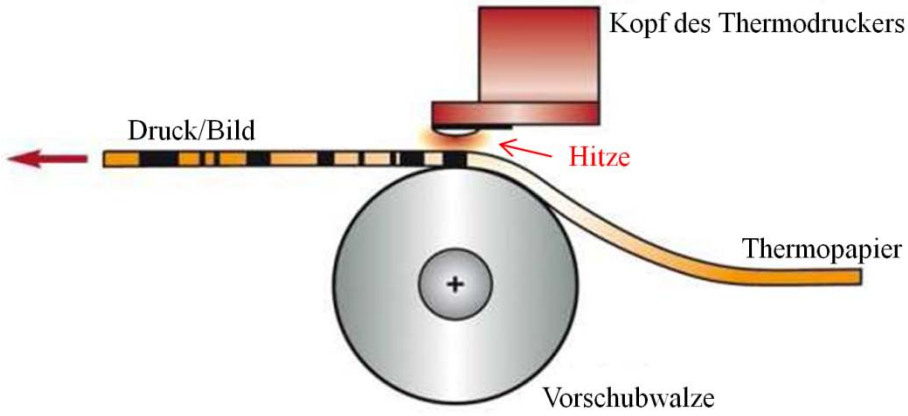


Abb. 5: Thermoprint-Schema [51]

Die verwendeten Bisphenole werden als Farbentwickler eingesetzt. Sie dienen als Protonendonator für den enthaltenen Leukofarbstoff. Sie überführen den Farbstoffvorläufer, der ebenfalls in der thermisch aktiven Schicht vorhanden ist und meist aus der Gruppe der Triphenylmethane stammt, in seine protonierte Form. Dadurch entsteht ein großes delokalisiertes π-System, welches Licht im sichtbaren Wellenlängenbereich absorbiert und somit sichtbar wird. Diese Reaktion kann sehr präzise durch Temperatur ausgelöst werden. Dazu wird eine Heizeinheit im Kopf des Thermodruckers verbaut.

Zusätzlich sind noch Füllstoffe enthalten, ein Bindemittel und eventuell ein Sensibilisator, um die Reaktionstemperatur auf etwa 70 - 80 °C zu setzen. Eine thermoaktive Schicht besitzt folgende durchschnittliche Zusammensetzung [52]:

- 5 - 10 % Farbbildner
- 15 - 35 % Entwickler
- 25 - 35 % wärmeschmelzbare Mittel (Sensibilisatoren)
- unter 1 % Schutzkolloid (Polyvinylalkohol)
- 10 - 15 % Bindemittel
- 15 - 25 % Füllstoffe

Aufgrund des erhöhten Risikos für schwangere Arbeitnehmerinnen, die erhöhten Kontakt mit Kassenzetteln haben, wurde Bisphenol A (über 0,02 Gew.-%) in Thermopapier ab dem 2. Januar 2020 verboten [13]. Eine Marktübersicht der ECHA zeigt einen aktuellen Überblick über die Verwendung von Bisphenolen in Thermopapier von 2014 bis 2017 [53]. Anhand dieser Marktanalyse zeigt sich, dass sich 2017 die Einsatzmenge von Bisphenol S nahezu verdoppelt hat. Während 2016 ca. 5 % aller verwendeten Thermopapiere Bisphenol S enthielten, sind es 2017 bereits 9 %. Gleichermaßen wurde aber auch die Absatzmenge an Thermopapier um 7 % gegenüber dem Vorjahr gesteigert, wodurch ein höherer Bisphenol-Eintrag resultieren kann. Dennoch lässt sich ein erster Trend für den Ersatz von BPA als Farbentwickler erkennen [53].

2.3.3 Kunststofftrinkflaschen als Lebensmittelbedarfsgegenstände

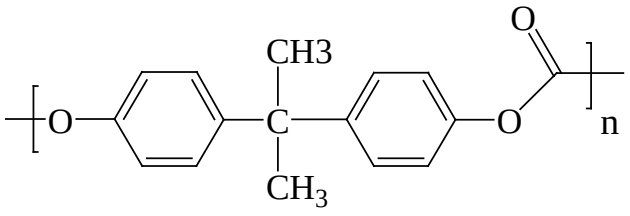
Kunststoffflaschen zur Aufbewahrung von Flüssigkeiten bieten im Vergleich zu anderen Materialien einige Vorteile. Sie sind extrem leicht und bruchsicher, sodass der Einsatz im Vergleich zu Alternativmaterialien aus Nicht-Plastik deutlich angenehmer ist. Durch Kontakt mit Lebensmitteln gilt für Trinkflaschen die Rahmen-Verordnung 1935/2004/EG. Diese regelt "Materialien und Gegenstände, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen". Nach Guter Herstellungspraxis sind Materialien so herzustellen, dass unter vorhersehbaren Bedingungen keine Bestandteile migrieren können, die die menschliche Gesundheit gefährden, unvertretbare Veränderungen der Lebensmittelzusammensetzung herbeiführen und / oder zur Beeinträchtigung der organoleptischen Eigenschaften führen [54].

Die Migration von Schadstoffen aus dem Material in das Lebensmittel ist somit nicht erwünscht und durch Positivlisten, die die verwendbaren Materialien zu Herstellung beinhaltet, geregelt.

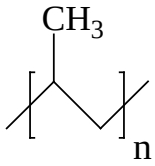
Schadstoffe können zum einen als Produktionsrückstände aus dem Kunststoffmaterial in das Lebensmittel abgegeben werden. Hierzu empfehlen die Hersteller eine Reinigung vor Erstgebrauch mit heißem Wasser und / oder einem milden Reinigungsmitteln. Zum anderen können durch Abnutzung oder Alterung der Trinkflasche Monomereinheiten wieder freigesetzt werden und in das Lebensmittel migrieren. Am Beispiel von Polycarbonaterzeugnissen, die durch die Polymerisation von monomeren Bisphenol A erzeugt werden, ist eine Freisetzung von Bisphenol A nicht nur bei der Alterung des Kunststoffes, sondern auch durch eine mechanische und thermische Belastung möglich [55, 56]. Daher gilt seit 2011 ein Vorsorgeverbot, das den Einsatz von Polycarbonat in Säuglingsflaschen nicht mehr erlaubt [8].

Als Ersatz von Polycarbonat sind mittlerweile Alternativmaterialien erhältlich. Es werden wieder vermehrt anorganische Materialien wie Edelstahl oder Glas eingesetzt, die aber die Vorteile von Polycarbonat und Kunststoffen allgemein nicht adäquat aufweisen. Auch neue Polymere mit ähnlichen Eigenschaften wie Polycarbonat sind zunehmend erhältlich. Dabei wird hauptsächlich Tritan® oder Polypropylen eingesetzt.

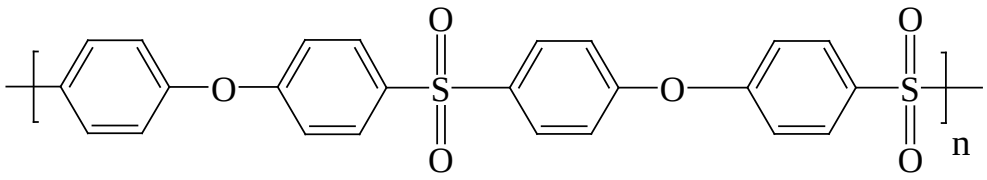
In Abb. 6 sind die konstitutionellen Repetiereinheiten der drei eingesetzten Polymere Polycarbonat, Polypropylen und Polyethersulfon dargestellt. Dabei ist für Polycarbonat die Monomereinheit von Bisphenol A erkennbar. Bei Zerstörung der Polymereinheit kann so freies Monomer entstehen. Polyethersulfon wird als Alternativmaterial bei der Produktion von Babyflaschen eingesetzt. In der Abbildung ist als Monomereinheit Bisphenol S erkennbar, welches bei Alterung des Polymers freigesetzt werden kann. Derzeit existiert kein Anwendungsverbot für dieses Polymer bei der Herstellung von Säuglingsflaschen. Polypropylen dagegen enthält kein Bisphenol als Monomereinheit. Somit ist bei der Zersetzung des Materials von keiner erhöhten Bisphenol-Belastung auszugehen.



Polycarbonat aus Bisphenol A



Polypropylen



Polyethersulfon

Abb. 6: Konstitutionelle Repetiereinheiten der Polymere PC, PP und PES

Tritan® ist ein Copolymer des Herstellers Eastman Chemical Company. Dabei werden die drei Monomereinheiten Dimethylterephthalat (DMT), 1,4-Cyclohexandimethanol (CHDM) und 2,2,4,4-Tetramethyl-1,3-Cyclobutandiol (TMCD) in unterschiedlichen Verhältnissen zur Polymerisierung gebracht. Diese Verhältnisse sind Firmengeheimnis und nicht öffentlich zugänglich [57]. Aufgrund der verwendeten Monomereinheiten sollte aber auch für Tritan® kein Bisphenol aus dem Material migrieren können.

2.4 Grundlagen GC-MS/MS

Die Kopplung von Gaschromatographie (GC) und Massenspektrometrie (MS) gehört zu den am weitesten verbreiteten Methoden in der instrumentellen Analytik. Ein an den Gaschromatographen gekoppeltes Massenspektrometer als Detektor zu verwenden hat einige Vorteile gegenüber den "einfachen" Detektoren wie dem Flammenionisations- oder dem Wärmeleitfähigkeitsdetektor. Ein GC-MS-System vereint die hohe Trennleistung einer Kapillarsäule mit der hohen Empfindlichkeit und dem breiten Anwendungsspektrum eines MS [58].

2.4.1 Gaschromatographie

Unter Chromatographie wird im Allgemeinen ein Verfahren zur Trennung von Stoffgemischen verstanden. Dabei beruhen die Trennverfahren auf spezifischen Wechselwirkungen der zu trennenden Komponenten zwischen zwei nicht mischbaren Phasen. In der mobilen Phase ist die Probe enthalten, die eine stationäre Phase umströmt. Durch verschieden starke Affinitäten zur stationären Phase retardieren die Probenmoleküle unterschiedlich lange und eine Trennung des Gemisches wird erreicht. Der Begriff der "Gaschromatographie" schließt alle chromatographischen Methoden ein, in der die mobile Phase ein Gas ist. Dieses dient zum Transport der Analytsubstanzen vom Injektor durch die Säule zum Detektor hin. Grundbedingung ist hierbei, dass auch die Analyten gasförmig vorliegen müssen. Prinzipiell lassen sich so alle Verbindungen analysieren, die in einem möglichen Temperaturbereich einen ausreichenden Dampfdruck vorweisen und nicht zersetzt werden. Möglichkeiten Substanzen mit geringerem Dampfdruck in die Gasphase zu überführen ergeben sich durch Reaktion zu einem Produkt mit höherer Flüchtigkeit (siehe Abschnitt 2.5 Derivatisierungsmöglichkeiten, S. 28 f.) [59].

Ein Gaschromatograph besteht aus mehreren Einzelteilen. Das Herzstück bildet hierbei die chromatographische Säule, da hier der eigentliche Trennprozess stattfindet. Die grundlegenden Einzelteile sind in einer Grafik schematisch veranschaulicht.

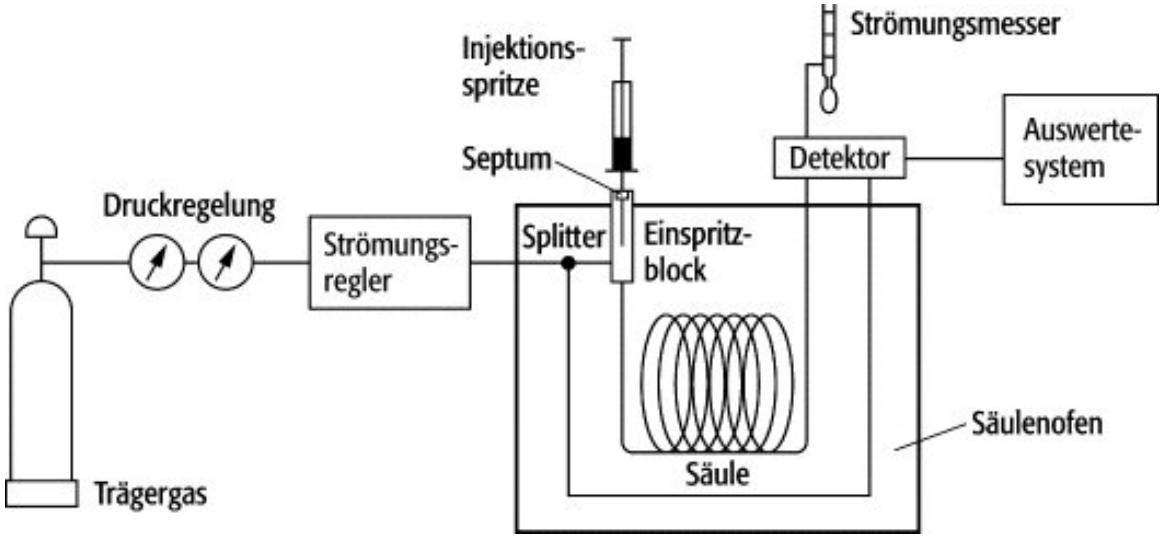


Abb. 7: Schematische Darstellung Gaschromatograph nach [60]

Die mobile Phase ist ein Trägergas, welches keine Wechselwirkungen mit dem Analyten zeigen soll, sondern nur zum Transport dient. Dafür ist eine hohe Reinheit erforderlich. Ein Trägergas soll möglichst inert, nicht korrosiv und frei von Wasser und Sauerstoff sein. Weiterhin wäre wünschenswert, dass das Gas ungiftig ist und relativ preisgünstig. Gängige eingesetzte Gase sind Stickstoff, Helium und Wasserstoff. Die Trägergasgeschwindigkeit wird über den Vordruck am Anfang der Säule reguliert.

Der Injektor stellt die Schnittstelle zwischen den äußeren Bedingungen und der Trennsäule dar. Er dient der Überführung der Probe in den gasförmigen Zustand und anschließenden Weiterleitung auf die Säule. Die chemisch unveränderte und reproduzierbare Aufgabe der Probe auf die Säule ist aber nicht ganz trivial und damit Ursprung vieler Fehler in der Gaschromatographie. Für verschiedene Problemstellungen sind unterschiedliche Injektoren möglich. Dabei kann die Probe sowohl in flüssiger, als auch in fester und gasförmiger Form aufgegeben werden. Bei klassischen Aufgabetechniken für flüssige Proben wird ein konstant beheizter Injektor benutzt. Darin ist ein Verdampferrohr (*Liner*) vorhanden, in dem das Lösungsmittel sowie die gelöste Probe verdampfen und sich mit dem eingeführten Trägergas vermischen. Typische Temperaturen liegen zwischen 200 °C und 300 °C. Unterschieden wird dabei, ob die verdampfte Probe vollständig oder nur teilweise auf die Trennsäule gelangt. Die Totalaufgabe wird als splitlos (engl. *splitless*) bezeichnet. Dabei gelangt das gesamte eingespritzte Volumen auf die Säule. Im Gegensatz dazu kann auch mit *split* injiziert werden, bei dem nur ein Teil des Volumens auf die Säule gelangt. Übliche Splitverhältnisse liegen zwischen 1:20 und 1:100. Dabei wird das Risiko einer Überbeladung der Säule verringert und

man erhält eine schmalere Aufgabenbande. Eine weitere Injektorart ist der PTV (*programmed temperature vaporising injector*). Dieser vereint die Vorteile einer *split/splitless*-Aufgabe mit einer gezielten Verdampfung der Analyten entsprechend der Siedetemperaturen durch ein einstellbares Temperaturprogramm. Die Probenaufgabe erfolgt in den kalten Injektor, der durch eine programmierbare Temperaturregelung ein Abdampfen des Lösungsmittels durch ein geöffnetes *split*-Ventil ermöglicht. Danach werden durch ein methodisches Aufheizen neben den Leichtsiedern auch die höher siedenden Analyten gezielt der chromatographischen Trennsäule zugeführt. Eine thermische Zersetzung von temperaturlabilen Substanzen oder eine Diskriminierung von Analyten aufgrund ihrer Siedetemperatur kann somit vermieden werden. Eine früher oft genutzte Injektion ist die *on column*-Technik. Dabei wird die Probe mit Hilfe von Edelstahl- oder Quarzglaskapillaren ohne einen beheizten Injektorblock direkt auf die Säule übertragen. Eine Diskriminierung von Analyten oder eine thermische Zersetzung ist daher praktisch ausgeschlossen [59].

Die heutzutage meist verwendete Variante der GC ist die Kapillar-Gaschromatographie. Hier dient ein dünner Film einer polymeren Flüssigkeit auf inertem Trägermaterial als stationäre Phase. Im Folgenden wird verstärkt auf diese Variante eingegangen, da sie in dieser Arbeit verwendet wurde. Die Kapillarsäule besitzt einen Innendurchmesser, der etwa 10-mal kleiner als bei gepackten Säulen ist. Dadurch kann Sie wesentlich länger sein, ohne einen übermäßig hohen Trägergasvordruck anlegen zu müssen. Dies ist möglich, da der Rückdruck bei Kapillaren aufgrund von fehlenden Packungspartikeln deutlich geringer ist. Durch eine längere stationäre Phase kann die Trennleistung des chromatographischen Systems maßgeblich verbessert werden. Die Säule befindet sich in einem thermostatierbarem Ofen, an dem ein Temperaturprogramm erstellt werden kann, um die Analyten optimal voneinander trennen zu können. Für die Kopplung mit einem Massenspektrometer gehen dabei zusätzliche Überlegungen in der Wahl der Kapillare mit ein. Hier sind der Trägergasfluss und das mögliche Auftreten von Säulenbluten für die Auswahl wichtig, da die Belastbarkeit des Massenspektrometers unter anderem den Säulendurchmesser limitiert [61].

Die Säule ist prinzipiell ein Rohr, in dem die Gleichgewichtseinstellung zwischen der mobilen Phase und der stationären Phase stattfindet. Für eine vielfach wiederholte Gleichgewichtseinstellung und damit gute Trennung des Stoffgemisches müssen sich die beiden nicht mischbaren Phasen über eine große Fläche berühren.

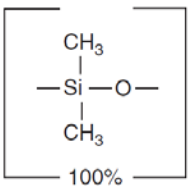
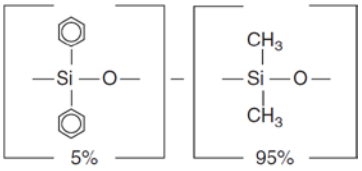
Als stationäre Phase in Kapillarsäulen sind Polysiloxane mit organischen Seitengruppen am weitesten verbreitet. Sie sind bei Raumtemperatur teilweise fest oder halbfest, im chromatographischen Arbeitsbereich sind sie dagegen flüssig. Der Flüssigkeitsfilm ist auf der

Innenwand aufgetragen und meist chemisch an die Wand gebunden. Die Polarität der stationären Phase ist das zentrale Merkmal. Bei unpolaren Säulen, die aus Siloxanen mit 95 - 100 % Dimethyl-Seitengruppen bestehen, sind ausschließlich van-der-Waals-Wechselwirkungen für die Trennung verantwortlich. In der vorliegenden Arbeit wurde mit einer VF-5ms-GC-Säule mit integrierter 5m EZ-*Guard*-Säule gearbeitet. Diese besitzt 5 m einer Schutzsäule, die keine stationäre Phase enthält und somit bei Veränderungen am Säulenanfang aufgrund von Matrixbelastung gekürzt werden kann, ohne die Retentionszeiten der Analyten nennenswert zu beeinflussen. Bei der eigentlichen Trennsäule handelt sich um eine Dünnfilmkapillare, bei der die stationäre Phase die Kapillarinnenwand ohne Träger als dünner Film überzieht. Diese enthält 5 % Diphenyl- und 95 % Dimethyl-Polysiloxan-Phase und eignet sich zum Trennen von unpolaren und aromatischen Verbindungen. Die Trennung erreicht man vorzugsweise anhand der Siedepunkte. Ein Phenylgruppenanteil von 50 % führt zu einer deutlichen Steigerung der Polarität. Sehr polare Phasen können beispielsweise durch die Einführung von Cyanogruppen erhalten werden.

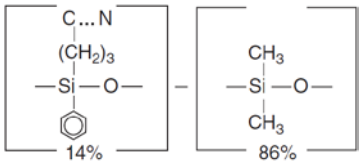
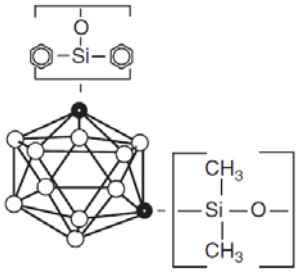
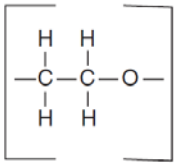
Allgemein werden folgende Anforderungen an eine ideale Phase gestellt:

- gleichmäßige Benetzung
- thermische Stabilität über den gegebenen Temperaturbereich
- chemische Homogenität
- niedrige Viskosität
- niedrige Flüchtigkeit

Tab. 3: Häufig verwendete stationäre Phasen in der Kapillar-GC, in Anlehnung an [59, 61]

Struktur	**Polarität**	**Temp.-Bereich**	**Anwendungsbeispiele**
	unpolar	-60 °C - 340 °C	Lösungsmittel, Raffinerie-Produkte, Pharmazeutika, Trennung nach Siedepunkten
100 % Dimethyl-Polysiloxan			
	unpolar	-60 °C - 340 °C	aromatische Verbindungen, Umweltproben, Trennung nach Siedepunkten
5 % Diphenyl-95 % Dimethyl-Polysiloxan			

Fortsetzung Tab. 3: Häufig verwendete stationäre Phasen, in Anlehnung an [59, 61]

Struktur	Polarität	Temp.-Bereich	Anwendungsbeispiele
	mittel polar	-20 °C - 280 °C	Pestizide, PCBs, Alkohole, Oxygenate
14 % Cyanopropylphenyl-86 % Dimethyl-Polysiloxan			
	schwach polar	-10 °C - 480 °C	Hochtemperaturanalysen, alle Umweltproben, PAKs, PCBs, Triglyceride
Siloxan-Carboran, vergleichbar mit 5 % Phenyl			
	polar	40 °C - 280 °C	Fettsäuremethylester, Terpensäuren, Amine
100 % Carbowax Polyethylenglycol 20M			

2.4.2 Quadrupol-Massenspektrometrie

Allgemein bezeichnet die Massenspektometrie ein physikalisches Verfahren, bei dem Ionen, die in einem Vakuum stabil sind, nach dem Verhältnis Masse/Ladung (m/z) getrennt werden. Die massenspektrometrische Analyse erfolgt dabei meist unter Molekül-Fragmentierung bzw. Atomisierung und Ionisierung der in ein Vakuum eingeschleusten Probe.

Quadrupol-Massenspektrometer werden bevorzugt in GC/MS-Systemen verwendet, da sie einen breiten Anwendungsbereich abdecken. Sie zeichnen sich vor allem durch eine kompakte Bauweise und hohe Empfindlichkeit aus. Es können Ionen mit einem Masse-Ladungs-Verhältnis von maximal 1000 - 1200 m/z bei einer Auflösung von ± 1m/z erfasst werden, was für die meisten Anwendungen auf dem Gebiet der organischen (Spuren)- Analytik völlig ausreichend ist. Da Fremdatome und -ionen die Massenspektrometrie empfindlich stören, müssen sich die Bauteile für Ionisation, Massentrennung und Detektion in einem Hochvakuum (< 10^{-5} mbar) befinden. Ein solches Vakuum kann mit Hilfe von Turbomolekukarpumpen oder Öldif-

fusionspumpen erreicht werden und gewährleistet eine bleibende Ionisierung sowie die ungestörte Fokussierung des Ionenstrahls.

Unterschieden werden Massenanalysatoren in der Regel durch die Bauart des Analysators, welche die Ionen nach ihrem m/z-Verhältnis auftrennt. Die Leistungsfähigkeit eines Massenspektrometers wird durch das Auflösungsvermögen, wie gut die Unterscheidung von geringen Massendifferenzen erfolgen kann, beurteilt.

Ein Massenspektrometer besteht prinzipiell aus dem Einlasssystem, der Ionisationseinheit, einem Trennsystem, welches nach m/z-Verhältnis trennt, und einer Detektionseinheit. In Kombination mit einer vorgeschalteten Gaschromatographie dient die Massenspektrometrie als Detektor bei der Substanzidentifizierung. Dabei ist der Trägergasstrom über eine Transferline direkt an ein MS-System angeschlossen. Nachfolgend ist der Aufbau eines Quadrupol-Massenspektrometers schematisch dargestellt.

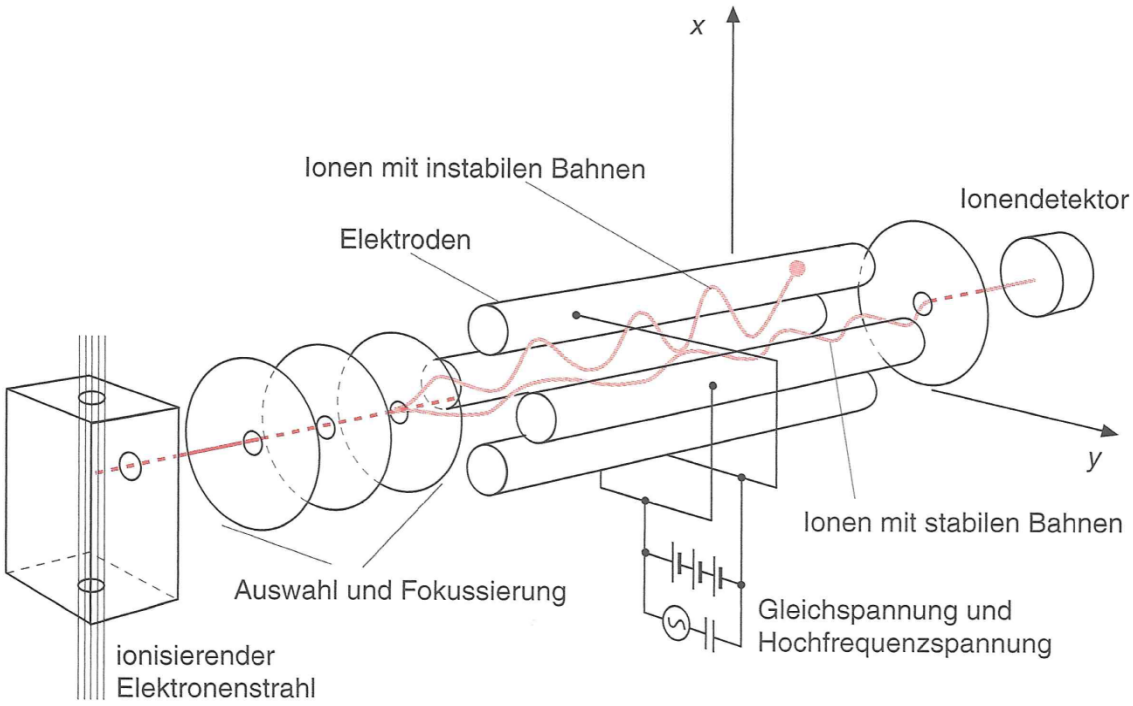


Abb. 8: Schema eines Quadrupolmassenfilters mit Ionenbahnen [59]

Als Ionisation wird bei GC-MS-Kopplungen vorwiegend eine Elektronenstoßionisation (*electron impact*, EI) verwendet. Hierbei wird der Gasstrom inklusive der enthaltenen Analyten mit einem Elektronenstrahl beschossen. Dieser Elektronenstrahl hat standardmäßig eine Energie von 70 eV und zählt damit zu den harten Ionisationsmethoden. Dem gegenüber stehen weiche Ionisationsmethoden wie die chemische Ionisation, die Elektrosprayionisation und zahlreiche weitere. Die Elektronen emittieren aus einer Glühkathode (Filament) und werden durch eine angelegte Spannung zwischen dem Filament und der gegenüberliegenden

Anode beschleunigt (70 eV). Sie treffen senkrecht auf den Molekülstrahl und wechselwirken mit den äußeren Elektronen eines Moleküls. Dadurch sind zahlreiche Bindungsbrüche im Molekül möglich. Durch diese Stoßionisation entstehen hauptsächlich Radikalkationen, die durch ein angelegtes Feld in die gewünschte Flugrichtung beschleunigt werden. Mit einer Ionenoptik wird der aufgeweitete Ionenstrahl fokussiert und dem Massenseparationssystem zugeführt.
In der Massenseparation werden die Analytsubstanzen nach ihrem m/z-Verhältnis getrennt. Dabei werden verschiedene Techniken, wie beispielsweise Sektorfeld, Quadrupol, Ionenfalle, *Time-of-flight*, verwendet. Quadrupole weisen eine hohe dynamische Empfindlichkeit auf und sind sehr robust, des Weiteren besitzen sie eine kompakte Bauweise bei geringen Anschaffungskosten. Nachfolgend soll die verwendete Trennung mittels Quadrupol-Geräten kurz erläutert werden.
Ein Quadrupol besteht aus vier konzentrisch parallel angeordneten Stabelektroden. Die gegenüberliegende Elektroden sind dabei paarweise an eine variable jeweils entgegengesetzt gepolte Gleichspannungsquelle angeschlossen. Zusätzlich ist eine modulierbare Hochspannungsfrequenz angelegt. Je nach Modulation dieser Frequenz können nur Ionen mit gleichem Masse/Ladungsverhältnis (m/z) auf stabilen Wellenbahnen den Massenseparator passieren und gelangen zum Detektor. Ein Wechsel der angelegten Spannungen führt zu einem schnellen Massenscan über einen gegebenen m/z-Arbeitsbereich. Höhere Verweilzeiten führen zu höheren Signalintensitäten. Für quantitative Analysen werden zur Erhöhung der Empfindlichkeit einzelne m/z-Verhältnisse der Analyten ausgewählt, um das Nachweisvermögen zu steigern.
Die letzte Einheit bei Massenanalysatoren stellt der Detektor dar. Dieser wandelt den aufgetrennten Ionenstrom in ein elektrisch messbares Signal um. Für GC-Kopplungen werden Detektoren benötigt, die schnell aufeinander folgende Signale registrieren können. Einen breiten Einsatz findet der Faraday-Detektor. Dieser besteht aus einem kleinen, einseitig offenen Becher aus Edelstahl, der über einen hochohmigen Widerstand an die Masse angelegt ist. Bei der Neutralisation der Ionen wird ein messbarer Spannungsabfall detektiert. Nachweisempfindlich ist der im verwendeten Gerät eingebaute Sekundärelektronenvervielfacher. Hier trifft ein Ion auf die erste Konversionsdynode und löst damit zwei bis drei Elektronen heraus. Über eine nachgeschaltete Dynodenkaskade wird dann eine Elektronenvervielfachung erreicht. Dadurch verstärkt sich das Signal und selbst geringe Spuren sind messbar. In ähnlicher Weise funktioniert der Kanalelektronenvervielfacher. Er stellt ein nach innen offenes, sich verjüngendes Glas- oder Keramikhörnchen dar, bei dem ebenfalls durch eine Elektronenverstärkung ein hohes Signal erzeugt wird [59, 61].

2.4.3 Tandem-Massenspektrometrie

Die Weiterentwicklung zur klassischen GC-MS stellt die Tandem-Massenspektrometrie dar. Dabei ist die MS/MS-Analytik zur Methode der Wahl in der Spurenanalytik bei komplexen Matrizes geworden. Unter der Tandem-Massenspektrometrie versteht man zahlreiche Techniken, in denen zuvor massenselektierte Ionen einer erneuten massenspektrometrischen Analyse unterzogen werden.

Die Mehrzahl der heutigen Anwendungen betrifft die Bestimmung von Stoffen im ppb- und ppt-Bereich bei Urin-, Blut-, tierischen und pflanzlichen Gewebeprobe sowie zahlreicher umweltanalytischer Fragestellungen. Der Vorteil der Nutzung der GC-MS/MS-Technik in der Rückstandsanalytik liegt in der Verbesserung des Signal/Rausch-Verhältnisses mit der Anzahl der analytischen Stufen. Aufreinigungsschritte verringern dabei aber die potentielle Signalintensität. Aus dieser Überlegung heraus kann in der GC-MS/MS die erste Trennstufe (MS1) als massenspezifisches "Clean-up" gewertet werden. Nach einer sich anschließenden induzierten Fragmentierung von ausgewählten Ionen erfolgt die Bestimmung eines Analyten über das charakteristische Massenspektrum von Produkt-Ionen bzw. dessen Quantifizierung über substanzspezifische Signale [58].

Grundsätzlich wird in der MS/MS-Analytik zwischen *Tandem-in-Space* und *Tandem-in-Time* unterschieden. Für die Analysen sind zwei aufeinander folgende Massenanalysen notwendig, die zwei Massenanalysatoren erfordern. Bei *Tandem-in-Space* werden die Spektren mithilfe zweier räumlich getrennter m/z-Analysatoren aufgenommen. Dies ist bei Quadrupol- oder Sektorfeld-Geräten der Fall. Hier erfolgen die einzelnen Schritte an unterschiedlichen Orten im Strahlengang des Gerätes. Dem gegenüber steht das *Tandem-in-Time*, wo ein einziger Analysator eingesetzt wird, bei dem alle Schritte am gleichen Ort stattfinden. Sie sind aber zeitlich nacheinander angeordnet. Ein typisches Beispiel sind hier die Ionenfalle-Analysatoren (*ion trap*).

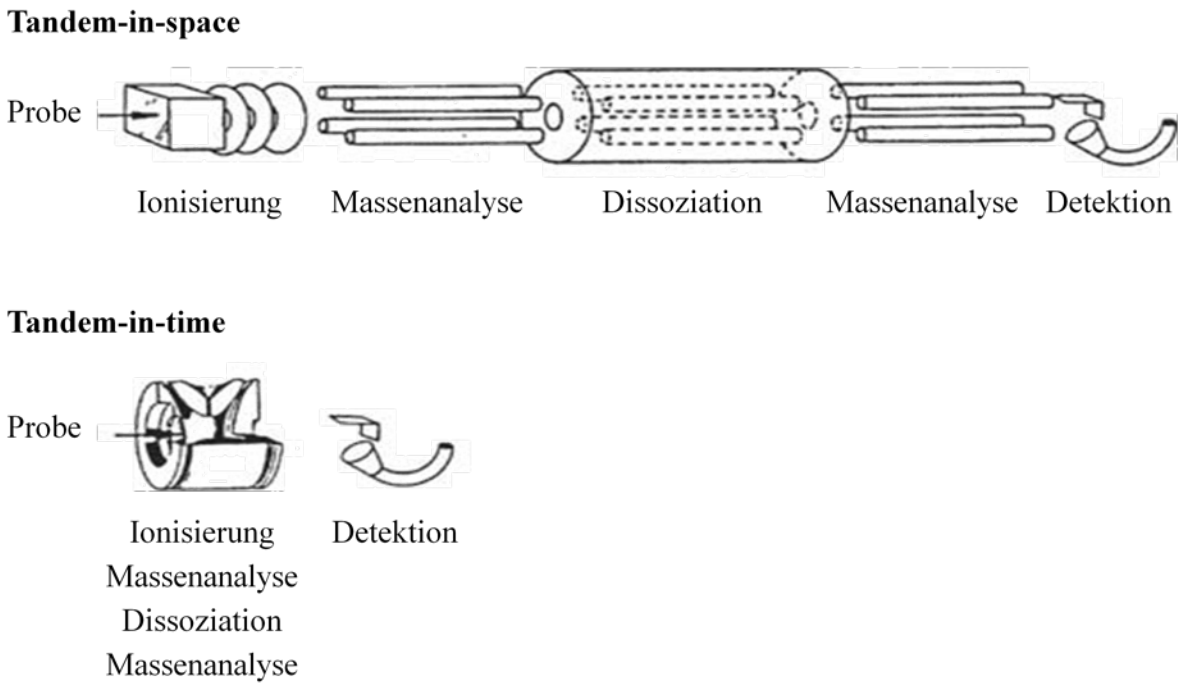


Abb. 9: Schematische Darstellung der verschiedenen GC-MS/MS-Techniken, nach [61]

Ein Triple-Quadrupol-Massenspektrometer ist ein System aus zwei Quadrupol-Analysatoren, die durch eine Kollisionszelle voneinander getrennt sind. Dabei wird im Vergleich zum einfachen Quadrupol-Gerät ein zweiter Quadrupol und ein RF-Quadrupol als Stoßzelle hinzugefügt, der neue Möglichkeiten bietet. Selektierte Fragmente des ersten Quadrupols kollidieren mit Molekülgas in der Kollisionszelle und werden ein weiteres Mal fragmentiert. Diese Fragmente werden anschließend vom letzten Quadrupol aufgelöst und/oder selektiert [62]. Q1 und Q3 werden immer unabhängig voneinander betrieben, sodass eine Vielzahl von MS/MS-Experimenten möglich sind. Die unten dargestellte Tab.4 veranschaulicht dabei die verschiedenen Aufnahme-Techniken, die in der Tandem-Massenspektrometrie durchgeführt werden können:

Tab. 4: Verschiedene Messtechniken bei Triple-Quadrupol-Massenspektrometern [61]

Aufnahme-Modus		**Ergebnis**	**Anwendung**
MS_1	**MS_2**		
SIM	Scan	Produkt-Ionen-Spektrum	Identifizierung und Bestätigung von Verbindungen, Strukturaufklärung

Fortsetzung Tab. 4: Verschiedene Messtechniken [61]

Aufnahme-Modus		**Ergebnis**	**Anwendung**
MS_1	**MS_2**		
SIM	SIM	Einzelintensitäten von Produkt-Ionen	hochspezifische und hochempfindliche Quantifizierungen bei komplexen Matrizes
Scan	SIM	Vorläufer-Ionen von bestimmten Fragmenten (*precursor ion scan*)	spezifische Analyse von Verbindungen (Substanzklassen) mit gemeinsamen Strukturmerkmalen, Screening
Scan	Scan-NL	Vorläufer-Ionen, die eine Abspaltung von Neutralteilchen mit NL durchführen (*neutral loss scan*)	spezifische Analyse von Verbindungen (Substanzklassen) mit gemeinsamen funktionellen Gruppen/Strukturmerkmalen, z.B. COCl-Abspaltung aus PCDD/PCDF

Durch eine *Full-Scan*-Aufnahme von Standardverbindungen kann man die Vorläufer-Ionen ermitteln. Anschließend können diese Ionen in der Stoßzelle fragmentiert werden, um so geeignete Produkt-Ionen zu detektieren. Im letzten Schritt ermittelt man die optimale Stoßzellenenergie, welche für den Massenübergang notwendig ist. Hat man einen selektiven Übergang gefunden, so führt dieser im Vergleich zur einfachen Quadrupol-Massenspektrometrie zu einer erhöhten Selektivität. Die eventuell vorhandene Matrix müsste also zusätzlich zum isobaren m/z-Verhältnis auch zur gleichen Fragmentierung führen, was unwahrscheinlich ist. Dadurch kann eine nachweisstarke und selektive Messmethode erstellt werden.

2.5 Derivatisierungsmöglichkeiten

Die zu untersuchenden Bisphenole enthalten zwei phenolische Strukturen. Die Hydroxylgruppe ist eine polare Funktion, die die Verdampfung für die gaschromatographische Untersuchung erschwert. Durch eine gezielte Derivatisierung der Hydroxylfunktion werden die Analyten in weniger polare Komponenten überführt, die eine höhere Flüchtigkeit aufweisen und besser gaschromatographierbar sind. Ein zweiter wichtiger Aspekt ist die Erhöhung der molekularen Masse. Dadurch wird das Signal-Rausch-Verhältnis bei massenspektrometrischer Detektion verbessert. Zusätzlich führt die Reaktion zu einer Selekti-

on der Analyten von störenden Matrixbestandteilen. Strukturell unterschiedliche Bestandteile können nicht mit dem Derivatisierungsmittel reagieren und stören in der Analyse nicht.
Gängige Derivatisierungen sind die Silylierung, die Acetylierung und die Alkylierung. Für diese Reaktionen sind unterschiedliche Reagenzien im Handel erhältlich, von denen die üblicherweise verwendeten Substanzen im Rahmen der Methodenentwicklung getestet wurden. Die Wahl des optimalen Dervatisierungsmittels orientierte sich dabei an der Peakfläche sowie an der Handhabbarkeit und Bedienbarkeit der Derivatisierung. Ziel ist es, einen möglichst quantitativen Umsatz der Analytsubstanzen bei geringer Reaktionszeit und einfacher Handhabbarkeit zu erreichen.

2.5.1 Alkylierung mit TMSH

Die phenolischen OH-Funktionen der Bisphenole sind leicht acide, so dass sie durch die Reaktion mit Trimethylsulfoniumhydroxid (TMSH) zunächst deprotoniert werden und anschließend leicht methyliert werden können. Die Vorteile der Methylierung mit TMSH als Derivatisierungsreagenz sind nachfolgend kurz angeführt:
TMSH ist im Vergleich zu Diazomethan als Methylierungsmittel nicht so toxisch und nicht explosiv. Demzufolge ist die Handhabbarkeit deutlich einfacher. Ein weiterer Vorteil sind die deutlich verkürzten Reaktionszeiten der Derivatisierung bzw. das Wegfallen von Offline-Vorbehandlungen, da der Probe lediglich eine definierte Menge an TMSH zugesetzt werden muss. Dieses reagiert zunächst zu einem Sulfoniumsalz als Zwischenprodukt, welches anschließend im Injektor bei mindestens 250 °C unter Pyrolyse zum methylierten Analyten und Dimethylsulfid als flüchtiges Nebenprodukt reagiert. Die Reaktion ist schematisch in Abb. 10 dargestellt.

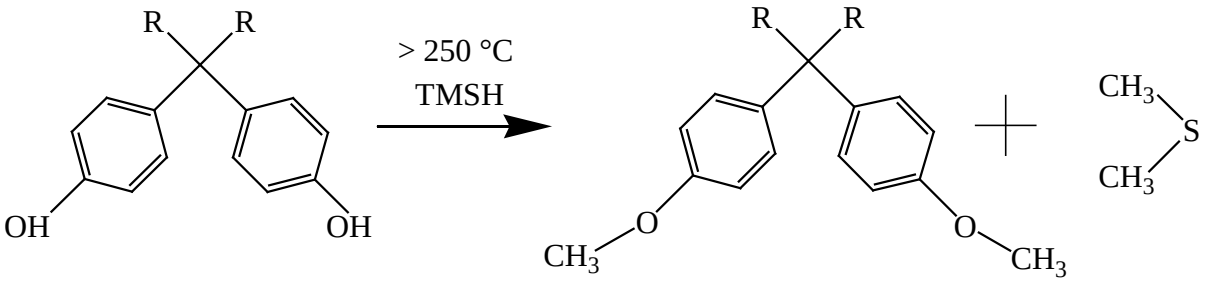


Abb. 10: Reaktion von TMSH mit Bisphenolen (nicht stöchiometrisch)

2.6 Grundlagen der HPLC

HPLC ist die Abkürzung für *High Performance Liquid Chromatography* und bezeichnet ein chromatographisches Trennverfahren, bei dem die Analyten zusammen mit einer flüssigen mobilen Phase durch eine stationäre Phase geleitet werden. Hierbei wird der Eluent mit einem Druck von 10 - 300 bar durch das Trennsystem mit der stationären Phase gepresst [63]. Durch unterschiedliche Wechselwirkungen mit der mobilen und stationären Phase wird eine Auftrennung der Analyten ermöglicht. Im Gegensatz zu Gaschromatographie können mit der HPLC auch nichtflüchtige und thermisch labile Substanzen analysiert werden [64]. Sie stellt somit die ideale Ergänzung zur GC dar, da die Anforderungen, welche den GC-Einsatz beschränken, auf die HPLC entfallen. Hier sei beispielsweise die unzersetzbare Verdampfung genannt. Trotz schonender Probenaufgabetechniken und Derivatisierungsmöglichkeiten ist nur ein Bruchteil aller Verbindungen überhaupt GC-gängig. Besonders große Vorteile weist die HPLC im Rahmen der Bioanalytik auf. Je nach Einsatz des Detektors kann so eine Vielzahl von funktionellen Gruppen analysiert werden.

Ein Lösungsmittelgemisch wird meist nach einer Entgasung mithilfe einer Pumpe zur stationären Phase gefördert. Mit einem Ventil erfolgt die Probenaufgabe. Hier wird die Lösung einer Probe in die mobile Phase injiziert, welche anschließend das Probengemisch zur stationären Phase führt. In der chromatographischen Säule findet der Trennvorgang statt. Die Säule kann sich in einem Ofen zur Temperierung befinden. Die getrennten Probenbestandteile werden zum Schluss mithilfe eines geeigneten Detektors nachgewiesen und das Chromatogramm kann mittels geeigneter EDV-Software ausgewertet werden. Im Nachfolgenden ist der prinzipielle Aufbau in Abb. 11 schematisch dargestellt.

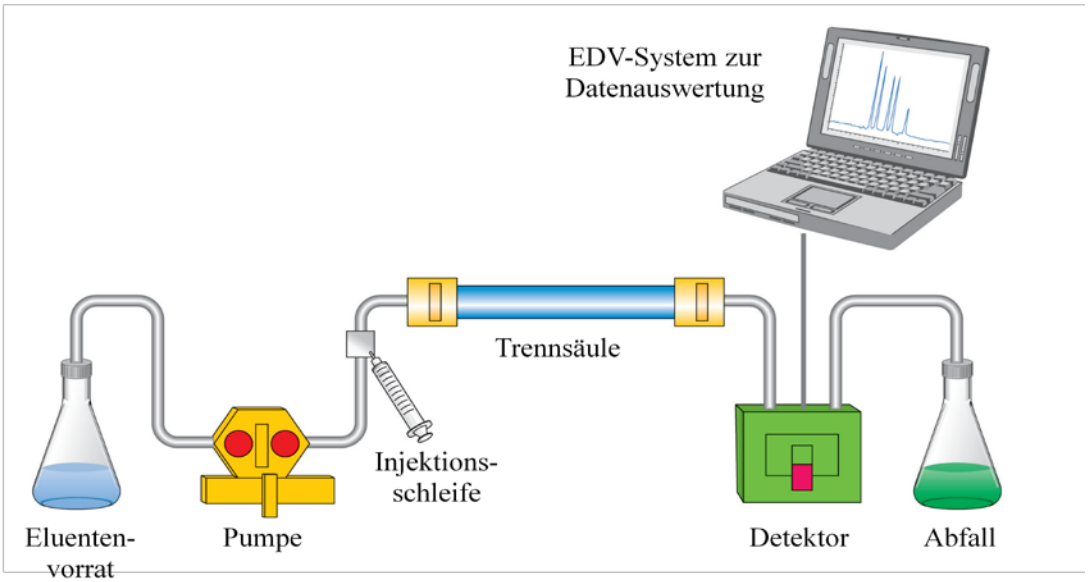


Abb. 11: schematischer Aufbau HPLC-System nach [65]

Innerhalb der Flüssigkeitschromatographie wird zwischen zwei Klassen der stationären Phasen unterschieden: die Normalphasen- und die Umkehrphasenchromatographie. In heutigen analytischen Anwendungen dominiert die Umkehrphasentechnik, die auch in dieser Arbeit verwendet wurde. Die stationäre Phase befindet sich meist in Edelstahlzylindern, die mit porösen Materialien gefüllt sind. Die Mehrheit der Umkehrphasen basiert auf einem Kieselgel-Grundgerüst, dessen Oberfläche je nach Trennproblem modifiziert wurde. Ein unpolarer Charakter der stationären Phase wird beispielsweise durch chemische Modifikation der Silanolfunktionen mit Alkylketten erreicht. Durch die beliebige Alkylkettenvariation ist so eine große Zahl an verschiedensten Umkehrphasen möglich.

Moderne Packungsmaterialien für stationäre Phasen sind in unterschiedlicher Form und Größe erhältlich. Die Mehrzahl der eingesetzten Materialien sind poröse, sphärische Mikropartikel ≤ 5 µm. Meist sind sie auf Basis modifizierter Kieselgele aufgebaut (RP-HPLC) und werden in Edelstahlzylinder mit unterschiedlichen Dimensionen gefüllt. Für analytische Zwecke werden Säulendurchmesser von 2 bis 5 mm verwendet. Die Länge variiert zwischen 5 und 25 cm, je nach analytischem Trennproblem. Aktuelle Entwicklungen führen zu immer kleineren Durchmessern und Partikelgrößen, da die Trenneffizienz verbessert wird. Dies ist aber mit einer Erhöhung des Säulenrückdrucks verbunden und stellt eine Herausforderung an die Gerätetechnik dar.

Die modifizierten Kieselgele entstehen durch Umsetzung der Oberfläche mit Alkyldimethylchlorsilanen (Organohalogensilane). Kieselgele sind sehr druckresistent und chemisch einfach modifizierbar. Die freien Sinalolfunktionen auf der Kieselgeloberfläche werden bei der Umsetzung alkyliert, wodurch sich die Polarität umkehrt und die Phase hydrophobe Eigenschaften erhält. Durch die Wahl der Organochlorsilane lassen sich die Eigenschaften des modifizierten Kieselgels beeinflussen (gängige Reste sind Octyl-, Octadecyl-, Cyanopropyl- und Phenylgruppen). Die restlichen Si-OH-Gruppen können anschließend noch mit Trimethylchlorsilan reagieren, was als *endcapping* bezeichnet wird und die unpolaren Eigenschaften der Phase noch erhöht. Weitere Materialien sind Aluminiumoxid, Zirkonia, Titandioxid und Magnesiumsilicat. Diese werden aber aktuell eher selten verwendet. Auch Materialien auf Polymerbasis existieren bereits. Dabei seien Co-Polymere wie Polystyrol-Divinylbenzen (PS-DVB) erwähnenswert. Diese Harze besitzen im Vergleich zu Kieselgelen eine höhere pH-Stabilität und sind daher für solche Problemstellungen interessant. Allerdings sind diese Co-Polymere druckempfindlicher, sodass sie eher eine Anwendung in der Niederdruckflüssigchromatographie (z.B. Gelpermeationschromatographie) finden.

Aus wirtschaftlichen Gründen ist der analytischen Trennsäule eine kleine Vorsäule vorgeschalten. Diese ist meist aus dem gleichen Material wie die Trennsäule und soll diese vor Partikeln und Verunreinigung gegen ein Verstopfen schützen. Bei beginnender Verstopfung kann so lediglich die Vorsäule einfach ausgetauscht werden [66].

Als mobile Phase werden hauptsächlich Wasser, Acetonitril, Methanol und Tetrahydrofuran als Elutionsmittel eingesetzt. Somit ist die Umkehrphasen-HPLC eine weitverbreitete Methode zur Trennung neutraler Verbindungen, die sich in Wasser oder anderen polaren Solvenzien lösen. Die herausragende Eigenschaft stellt dabei die Möglichkeit dar, Homologe einer Verbindungsklasse nach der Anzahl der Methylgruppen trennen zu können.

Gase aus der Luft können in die flüssige mobile Phase diffundieren. Sie können in der Pumpe und der Mischkammer zur Ausgasung führen, wodurch Flussschwankungen entstehen und die Reproduzierbarkeit mitunter stark verschlechtert wird. Diese Problematik ist von der Geometrie der Pumpe und dem Detektor abhängig, deshalb sind unterschiedliche Geräte auch unterschiedlich anfällig. Eine Entgasung entweder vor der Benutzung der HPLC-Anlage oder online ist deshalb sinnvoll. Einfach und effizient ist dies mit Hilfe von Ultraschallbädern möglich. Online kann die Entgasung mittels Vakuumentgaser oder einer Entgasung mit Helium erfolgen.

Die Pumpe nimmt eine wichtige Rolle in der HPLC ein. Sie muss die mobile Phase mit einer Flusskonstanz durch die stationäre Phase bewegen. Eine ideale Pumpe sollte einen möglichst groß wählbaren Flussratenbereich haben. Zudem muss ein schneller Wechsel zu anderen Eluenten möglich sein. Beständigkeit und Wartungsfreundlichkeit runden die optimalen Eigenschaften einer idealen Pumpe ab. Alle Materialien, die in Kontakt mit dem Lösungsmittel sind, bestehen deshalb aus hochwertigen und beständigen Materialien. So sind die Gehäuse der Pumpe aus Edelstahl, die Kolben aus Saphir und Ventile bestehen aus Rubin- oder Saphirkugeln. Für ein sehr pulsationsarmes Pumpen und eine hohe Flusskonstanz werden heutzutage meist Doppelkolbenpumpen verwendet, bei denen abwechselnd je ein Kolben das Lösungsmittel fördert.

Für die Elution der Substanzen stehen zwei verschiedene Arbeitsweisen zur Verfügung. Bei der isokratischen Arbeitsweise ändert sich das Mischungsverhältnis der mobilen Phase während der Messung nicht. Im Gegensatz dazu kann auch die Gradientenelution verwendet werden. Hierbei wird die Elutionskraft der mobilen Phase während der Laufzeit des Chromatogramms verändert. Meist wird zu Anfasng mit einem wässrigen Überschuss gearbeitet. Danach wird die Elutionskraft der mobilen Phase durch Erhöhung des Anteils an Lösungsmitteln verstärkt. Dies führt zu schärferen Peaks und einer kürzeren Laufzeit, besonders

bei komplexen Gemischen mit unterschiedlich stark polaren Substanzen. Eine Mischung verschiedener Lösungsmittel ist mittels Hochdruck- oder Niederdruckgradientensystemen möglich. Der Unterschied liegt darin, ob die Lösungsmittel vor oder nach der Pumpe miteinander vermischt werden. Dies führt bei beiden Systemen zu unterschiedlichen Vorteilen. Der Niederdruck-Gradient ist mit geringem apparativem Aufwand durchführbar, zudem sind beliebig viele Vorratssysteme anschließbar. Der Hochdruck-Gradient liefert dagegen exaktere Mischungsverhältnisse und ist gut automatisierbar bei kurzen Ansprechzeiten.
Die Probenaufgabe erfolgt klassisch über ein Sechswegeventil. In der Füllposition wird die Probenlösung in die Schleife gefüllt. Durch das Umschalten in die Injektionsposition überführt man den Inhalt der Schleife auf die Säule, in der dann der Trennvorgang stattfindet. Dies führt zu einer sehr guten Reproduzierbarkeit und Standardabweichung. Das Sechswegeventil ist in Abb. 12 schematisch dargestellt und kann manuell oder automatisch (elektrisch oder durch Druckluft) betrieben werden [59].

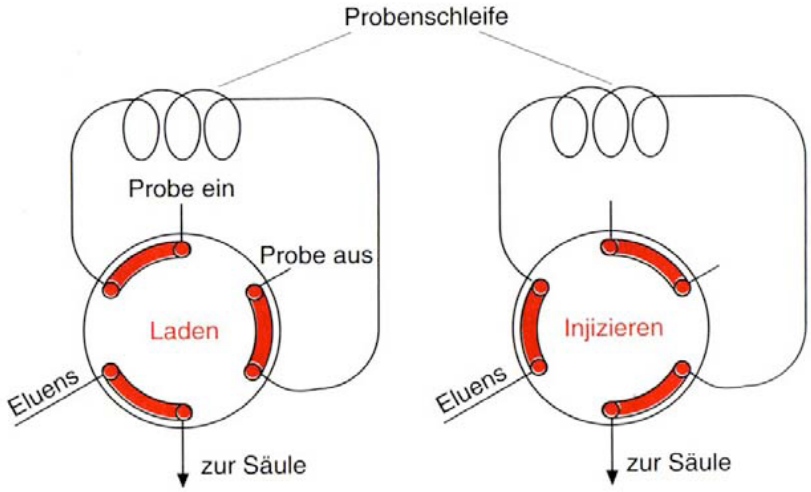


Abb. 12: Probenaufgabe mit dem Sechswegeventil [59]

Detektoren werden in der HPLC danach eingeteilt, ob spezielle Eigenschaften des Analyten oder Bulk-Eigenschaften nachgewiesen werden. Zu beachten ist hierbei, dass es einen fließenden Übergang gibt. UV/Vis-Detektoren beispielsweise liefern bei bestimmter Wellenlänge spezifische Absorptionen von Analytsubstanzen. Unterhalb von 200 nm werden aber auch die verwendeten Lösungsmittel selber absorbieren. An der HPLC können auch mehrere Detektoren in Reihe geschalten werden, welche die Analyten zerstörungsfrei detektieren.
Der am häufigsten in der HPLC verwendete Detektor ist der UV/Vis-Detektor. Dabei wird die Absorption von Licht der Wellenlänge im Bereich von ca. 200 bis 800 nm gemessen (UV-Bereich: 200 bis 400 nm, Vis-Bereich: 400 bis 800 nm). Wichtig ist, dass die Grundabsorpti-

on des Eluenten im absorbierten Bereich möglichst klein ist. Nach dem Lambert-Beer`schen Gesetz (siehe Gleichung 1) ist die Lichtabsorption eines Analyten proportional zur Schichtdicke der Küvette.

$$E_\lambda = -lg\left(\frac{I}{I_0}\right) = c \cdot d \cdot \epsilon_\lambda \quad (1)$$

I = Intensität des transmittierten Lichtes

I_0 = Intensität des einfallenden (eingestrahlten) Lichtes

c = Konzentration der absorbierenden Substanz in der Flüssigkeit in $mol \cdot l^{-1}$

ε_λ = natürlicher molarer Extinktionskoeffizient bei der Wellenlänge λ in $l \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$

d = Weglänge des Lichtes im Material in cm

UV/Vis-Detektoren sind in drei verschiedenen kommerziellen Varianten erhältlich. Technisch einfach und preisgünstig ist der Festwellenlängendetektion. Hier sorgt eine Quecksilber-Niederdrucklampe für eine Emission von 254 nm, bei der die Absorption gemessen werden kann. Die Weiterentwicklung dazu stellt der variable Wellenlängendetektor (VWD) dar. Hierbei wird eine Lichtquelle mit einem kontinuierlichen Spektrum eingesetzt. Ein Monochromator selektiert anschließend die gewünschte Wellenlänge heraus, bei der gemessen werden soll. Die Wellenlänge ist somit frei wählbar und kann auch innerhalb eines Chromatogramms gewechselt werden. Noch leistungsstärker ist der Diodenarray-Detektor als dritte Gruppe der UV/Vis-Detektoren. Es wird die gleiche Lichtquelle wie beim VWD verwendet. Bei diesem trennt ein Polychromator das Licht erst nach der Küvette spektral auf. Die einzelnen Wellenlängen treffen dabei auf Dioden, die die Absorptionen von unterschiedlichen Wellenlängen simultan detektieren können.

Ein weiterer in der Arbeit verwendeter Detektor ist der Fluoreszenzdetektor (FLD). Größter Vorteil des FLD ist die hohe Empfindlichkeit, da nicht wie beim DAD die Differenz der Lichtintensität gemessen wird, sondern die spezifisch emittierte Strahlung. Zusätzlich zeigen die meisten Substanzen (auch das Elutionsmittel) keine Fluoreszenz, sodass auch kein Grundrauschen vorhanden ist. Die Fluoreszenzmessung findet quasi ohne störendes Hintergrundsignal statt. Ein Nachteil ist, dass diese Art der Detektion nur für fluoreszierende Substanzen geeignet ist. Somit ist der Einsatz limitiert und nicht für alle Analyten möglich. Im Vergleich zur UV/Vis-Detektion können für registrierbare Substanzen oft niedrigere Nachweisgrenzen erzielt werden. Durch eine Derivatisierung mit einem fluoreszenzfähigem Chromophor könnten auch diese Substanzen der Fluoreszenzdetektion zugänglich gemacht werden. Gemessen wird letztendlich die Fluoreszenz, die von einer Analytsubstanz nach Anregung emittiert wird.

Das Elektronensystem des Analyten wird bei einer Anregungswellenlänge durch Absorption von Photonen in einen angeregten Zustand überführt. Beim Übergang vom angeregten Zustand auf den Grundzustand wird Licht einer größeren Wellenlänge emittiert, welches detektiert wird [59].

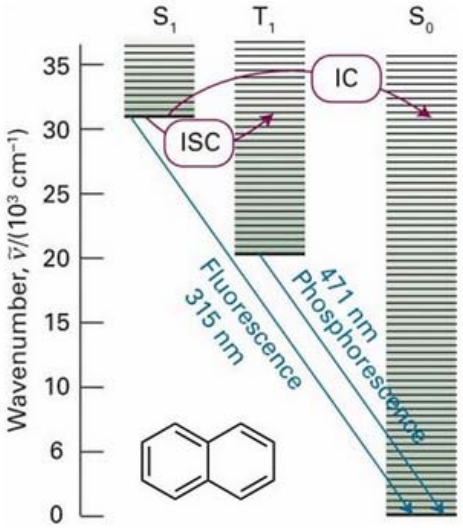


Abb. 13: Jablonski-Diagramm für Naphthalin (IC = Innere Umwandlung, ISC = *Intersystem Crossing*) [67]

Nach Franck-Condon-Prinzip verläuft der intensivste Übergang vom Schwingungsgrundzustand zu einem Schwingungszustand des angeregten Niveaus mit unverändertem Bindungsabstand. Dadurch werden Schwingungen angeregt. Durch Stöße mit seiner Umgebung gelangt das Molekül auf einen Schwingungsgrundzustand des elektronisch angeregten Zustandes. Dieser Umstand wird als Schwingungsrelaxation bezeichnet. Da die Umwelt den noch vorhandenen Energiebetrag ohne Weiteres aufnehmen kann, wird der angeregte Zustand eine gewisse Zeit aufrecht erhalten. Die verbleidende Anregungsenergie wird anschließend durch spontane Emission wieder abgegeben. Der elektronische Übergang erfolgt dabei im Einklang mit dem Franck-Condon-Prinzip vertikal. Die Fluoreszenz erfolgt bei einer kleineren Frequenz als die Absorption, da bereits Energie aufgrund der Schwingungsrelaxation verloren gegangen ist. Die Emission erfolgt erst nach dem Energieverlust, somit ist die gemessene Strahlung in den längeren Wellenlängenbereich verschoben. Die Intensität der Fluoreszenz ist abhängig davon, wie gut die Solvensmoleküle die abgegebene Energie des angeregten Moleküls aufnehmen können. Besitzen die Solvensmoleküle weit auseinander liegende Schwingungsniveaus wie beispielsweise Wasser, können Sie einen großen Energiebetrag aufnehmen und so auch zu einer Fluoreszenzauslöschung führen [67].

3 Geräte und Chemikalien

3.1 Verwendete Standards

Die nachfolgenden Standards wurden in der vorliegenden Arbeit zur Quantifizierung der Analytsubstanzen benutzt:

Tab. 5: Verwendete Analytsubstanzen

Verbindung	Reinheit	Hersteller
Fluoranthen d10	99,1 % d10	CDN Isotopes, Quebec (Kanada)
Bisphenol A d16	99,1 % D	CDN Isotopes, Quebec (Kanada)
Bisphenol AF d4	99,4 % D	CDN Isotopes, Quebec (Kanada)
Bisphenol A	> 99,0 %	TCI Co., LTD, Tokyo (Japan)
Bisphenol AF	99 %	abcr GmbH & Co. KG, Karlsruhe (Deutschland)
Bisphenol AP	> 98,0 %	TCI Co., LTD, Tokyo (Japan)
Bisphenol B	> 98,0 %	TCI Co., LTD, Tokyo (Japan)
Bisphenol BP	> 98,0 %	TCI Co., LTD, Tokyo (Japan)
Bisphenol C	> 98,0 %	TCI Co., LTD, Tokyo (Japan)
Bisphenol C2	≥ 99,0 %	Sigma-Aldrich Co. LLC, St. Louis (USA)
Bisphenol E	> 98,0 %	TCI Co., LTD, Tokyo (Japan)
Bisphenol F	> 99.0 %	TCI Co., LTD, Tokyo (Japan)
Bisphenol FL	> 98,0 %	TCI Co., LTD, Tokyo (Japan)
Bisphenol G	≥ 98,0 %	Sigma-Aldrich Co. LLC, St. Louis (USA)
Bisphenol M	> 98,0 %	TCI Co., LTD, Tokyo (Japan)
Bisphenol P	> 98 %	TCI Europe NV, Zwijndrecht (Belgien)
Bisphenol PH	> 98,0 %	TCI Co., LTD, Tokyo (Japan)
Bisphenol S	> 98,0 %	TCI Co., LTD, Tokyo (Japan)
Bisphenol TMC	≥ 97,0 %	Sigma-Aldrich Co. LLC, St. Louis (USA)
Bisphenol Z	> 98 %	TCI Europe NV, Zwijndrecht (Belgien)

3.2 Verwendete Lösungsmittel

Für die Aufarbeitung und sonstige Arbeiten während der Promotionsarbeit wurden folgende Lösemittel verwendet:

Tab. 6: Verwendete Lösungsmittel und Reinheitsgrad

Verbindung	Reinheit	Hersteller
Aceton	99,7 % (Pestilyse)	VWR International GmbH, Darmstadt (D)
Acetonitril	99,95 % (HPLC)	VWR International GmbH, Darmstadt (D)
Ethanol	99,7 % absolut	VWR International GmbH, Darmstadt (D)
Methanol	99,9 % (HPLC)	VWR International GmbH, Darmstadt (D)
Methanol	99,70 % (Pestilyse)	VWR International GmbH, Darmstadt (D)
n-Hexan	≥ 99,0 % (Pestilyse)	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe (D)
n-Hexan	≥ 95 % (Pestilyse)	VWR International GmbH, Darmstadt (D)
Toluol	≥ 99,8 % (Pestilyse)	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe (D)
Ethanol reinst	99,7 %	VWR International GmbH, Darmstadt (D)

3.3 Verwendete Geräte und Materialien

Tab. 7: Verwendete Geräte/Materialien

Gerät/ Material	Hersteller
GC-MS/MS System: Trace 1310 mit TSQ Duo Triple Quad	Thermo Scientific
GC-Kapillarsäule VF-5ms + EZ-Guard	Agilent Technologies, Inc., Santa Clara (USA)
HPLC 1100 series mit DAD und FLD	Agilent Technologies, Inc., Santa Clara (USA)
HPLC-Säule MN EC150/3 Nucleodur C18 Gravity, 5µm mit Vorsäule	Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren (D)
SPE-Vakuumkammer und -säulen	Mallinckrodt Baker B.V., Deventer (NL)
Ultraschallbad SONOREX Digital 10P	BANDELIN GmbH & Co. KG, Berlin (D)
Analysenwaage Mettler AT 261	Mettler Toledo
Zentrifuge Universal 320	Hettich Zentrifugen Andreas Hettich GmbH & Co. KG
Vibramax 100	Heidolph Instruments
Schüttelplatte GFL 3017	GFL
SSL-Liner 4 mm ID x 78,5 mm	Thermo Scientific

Fortsetzung Tab. 7: Verwendete Geräte/Materialien

Gerät/ Material	**Hersteller**
PTV Liner Deaktiviert, 2mm ID x 2,75 mm OD x 120 mm Länge, mit Quarzwolle	Thermo Scientific
Rotationsverdampfer Laborota 4002-digital	Heidolph
Analysenwaage MC1 Analytic AC210S	Sartorius AG, Göttingen (D)
Muffelofen LE4/11/R6	Nabertherm GmbH Lilienthal/Bremen (D)
SPE-Material: Chromabond® C18 ec	Macherey Nagel
SPE-Material: Bond Elut C18	Agilent
SPE-Material: Chromabond® C_6H_5	Macherey Nagel
SPE-Material: Chromabond® HR-P	Macherey Nagel
SPE-Material: Chromabond® Easy	Macherey Nagel
SPE-Material: Bondesil PPL	Agilent
SPE-Material: Bond Elut PLEXA	Agilent
Kieselgel 60 Å, 35-75 µm Korngröße	Sigma Aldrich Co, LLC, St. Louis (USA)
Supelclean® Envi-Carb®, graphitierter Ruß	Sigma Aldrich Co, LLC, St. Louis (USA)
Natriumsulfat, wasserfrei	POCH S.A., Gliwice, (Polen)
Chromabond® Filter, Glasfaser-Filterelemente	Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren (D)
Mikroliterdosierspritzen	ILS GmbH, Stützerbach (D)
10 mL Vollpipette	Brand GmbH
Retsch Analysensieb 63 µm, 200 mm ø	Retsch GmbH, Haan (D)
Prüfsieb 2mm	
Wasserfilter RC 0,45 µm	Millipore
Headspace-Vials 20 mL	Perkin Elmer
Bördelkappen N20, Dichtscheiben Silikon weiß, PTFE beige	Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren (D)
Schraubkappen N9 Silikon weiß, PTFE rot	Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren (D)
Schraubvials N9 flach, Gewinde, 1,5 mL	Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren (D)
Inserts 15 mm Spitze, 0,2 mL	Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren (D)
Pasteurpipetten 150mm ohne Wattestopfen	Carl Roth GmbH

Zusätzlich wurden noch verwendet:

- technische Lösemittel (Aceton, Methanol)
- Exsikkatoren
- Nitrilhandschuhe
- Aluminiumfolie
- destilliertes Wasser, bidestilliertes Wasser
- ausgeglühter Seesand
- Salpetersäure 68 %

4 Ergebnisse

4.1 Nachweis- und Bestimmungsgrenzen

Die Nachweisgrenze stellt den Messwert eines Analyten dar, bei dem dieser mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 50 % von einem Leerwert unterschieden werden kann. Sie kann einmal nach DIN 32645 mithilfe der Leewertmethode bestimmt werden. Oder wenn, wie im vorliegenden Fall, kein Leerwert zur Verfügung steht, kann die Nachweisgrenze nach dem Kalibriergeradenmodell ermittelt werden. Hierbei wird eine Kalibrierung in der Nähe der Nachweisgrenze erstellt und durch Extrapolation bei einseitiger Fragestellung erhalten.

$$x_{NG} = s_{x0} \cdot t_{f;a} \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{\bar{x}^2}{Q_x}} \tag{2}$$

mit $t_{f,\alpha}$ = t-Quantil (einseitige Fragestellung) mit f = n-2 Freiheitsgraden und α = 0,05
s_{x0} = Verfahrensstandardabweichung
m = Anzahl der Parallelmessungen der Proben
n = Anzahl der Kalibrierstufen
Q_x = Summe der Fehlerquadrate von x
$\bar{x}$ = Mittelwert der Konzentrationen im Kalibrierbereich

Die Bestimmungsgrenze stellt den Wert dar, bei der ein Analyt mit einer geforderten Irrtumswahrscheinlickeit quantitativ erfasst werden kann. Sie ergibt sich als Iterationsvorschrift aus einer relativen Ergebnisunsicherheit, die in der Regel den Wert 3 annimmt. Dadurch erhält man eine gute Näherung für die Bestimmungsgrenze, wenn x_{BG} durch $3 \cdot x_{NG}$ ersetzt wird.

$$x_{BG} = k \cdot s_{x0} \cdot t_{f;\frac{\alpha}{2}} \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(k \cdot x_{NG} - \bar{x})^2}{Q_x}} \tag{3}$$

Die Ermittlung der Nachweis- und Bestimmungsgrenzen erfolgten mithilfe des Kalibriergeradenmodells. Dazu wurden neun Kalibrierpunkte in äquidistanten Abstand aufgenommen und vermessen. Nachfolgend sind die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen für die GC-MS/MS-Methode in Tab. 8 auf Seite 41 aufgelistet. Bisphenol A ist bereits im Blindwert als ubiquitäre Substanz enthalten. Dieser Fakt spielt vor allem im Bereich der Spurenanalytik

für die Hausstaubproben eine zentrale Rolle. Daher ist die Bestimmungsgrenze für Bisphenol A höher als bei den restlichen Bisphenolen. Die Einwaage für die Hausstaubproben beträgt 1 g und das Endvolumen im GC-Vial 1000 µl. Für Bisphenol A wurden zehn Kalibrierstufen in 3-fach Bestimmung gemessen von 10 bis 100 pg/µl in äquidistanten Abständen (Irrtumswahrscheinlichkeit = 5 %, reziproke relative Ergebnisunsicherheit k = 3). Alle anderen Bisphenole wurden von 1 bis 8 pg/µl gemessen bei sonst gleichen Parametern.

Tab. 8: Nachweis- und Bestimmungrenzen nach Kalibriergeradenmodell für Hausstaub

	Messlösung NG in pg/µl	**Messlösung BG in pg/µl**	**Hausstaub BG in ng/g**
Bisphenol A	0,88	3,19	6,38
Bisphenol AF	0,28	0,94	1,88
Bisphenol AP	0,21	0,73	1,45
Bisphenol B	0,43	1,37	2,74
Bisphenol BP	0,18	0,64	1,28
Bisphenol C	0,43	1,37	2,74
Bisphenol C2	0,43	1,38	2,75
Bisphenol E	0,28	0,96	1,92
Bisphenol F	0,23	0,81	1,61
Bisphenol FL	0,26	0,89	1,77
Bisphenol G	0,38	1,23	2,47
Bisphenol M	0,27	0,92	1,85
Bisphenol P	0,24	0,82	1,65
Bisphenol PH	0,51	1,57	3,14
Bisphenol S	0,25	0,86	1,73
Bisphenol TMC	0,32	1,05	2,09
Bisphenol Z	0,26	0,88	1,75

Die Ermittlung der Nachweis- und Bestimmungsgrenzen der Migrationslösungen wurden analog zur bereits genannten Methode ermittelt. Hier wurde eine Kalibrierung für alle Bisphenole von 10 bis 100 pg/µl aufgenommen mit sonst gleichen Parametern wie auch für die Hausstaubproben. Durch unterschiedliche Volumina der einzelnen Trinkflaschen ergeben sich unterschiedliche Anreicherungsfaktoren an der SPE-Phase. Dadurch sind die Nachweis- und

Bestimmungsgrenzen für Trinkflaschen mit großem Volumen niedriger als für kleinere Trinkflaschen. Diese sind im Anhang Tab. 31 tabellarisch aufgeführt.

Auch die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen für die Messung von Thermopapierproben mittels HPLC wurden nach dem Kalibriergeradenmodell ermittelt. Dazu wurde das jeweilige DAD-Signal der Analytsubstanz verwendet, da das FLD-Signal nur zur qualitativen Bestätigung diente. Die Werte sind in Tab. 9 aufgeführt. Hierfür wurden sieben Kalibrierstufen in äquidistanten Schritten von 100 bis 1000 pg/µl 3-fach gemessen. Das Endvolumen im Vial beträgt 1 ml und 50 mg des Thermopapiers werden eingewogen.

Tab. 9: Nachweis- und Bestimmungrenzen nach Kalibriergeradenmodell für Thermopapier mittels HPLC

	Messlösung NG in pg/µl	**Messlösung BG in pg/µl**	**Thermopapier BG in mg/g**
Bisphenol S	9,25	35,12	0,70
Bisphenol F	24,09	90,29	1,81
Bisphenol E	26,39	98,64	1,97
Bisphenol A	14,65	55,31	1,11
Bisphenol B	9,98	37,86	0,76
Bisphenol C	16,30	61,45	1,23
Bisphenol AP	17,53	66,07	1,32
Bisphenol AF/C2	35,91	135,49	2,71
Bisphenol Z	8,76	33,26	0,67
Bisphenol FL	14,24	53,82	1,08
Bisphenol BP	24,13	90,36	1,81
Bisphenol M/P	21,86	82,85	1,66
Bisphenol TMC	13,99	52,83	1,06
Bisphenol G	16,79	63,35	1,27
Bisphenol PH	13,29	50,29	1,01

4.2 GC-MS/MS-Methode

4.2.1 Entwicklung eines Temperaturprogramms

Das Temperaturprogramm dient der optimalen Trennung der Analytsubstanzen auf einer GC-Säule. Dabei spielen sowohl die Wahl des Temperaturbereichs der Säule, als auch des verwendeten Lösungsmittels eine Rolle. Einige Grundgedanken waren für die Optimierung des Temperaturprogramms wichtig. Zum einen wurde die Temperatur am Anfang auf 10 °C unterhalb des verwendeten Lösungsmittels gesetzt. Dies dient zur Refokussierung der injizierten Probe und führt zu schärferen Peaks. Für Toluol wurde deshalb eine Starttemperatur von 100 °C gewählt und für 2 Minuten gehalten wurde. Anschließend wird der Ofen mit 10 K/min beheizt bis zu der maximalen Arbeitstemperatur. Zur Schonung der GC-Säule sollte diese Temperatur unbedingt eingehalten werden. Das Säulenbluten nimmt andernfalls stark zu, was zu einer verminderten Lebensdauer der Säule führt. Ein Ausheizschritt im Temperaturprogramm dient dazu, auch schwersiedende Substanzen und Matrixbestandteile von der Säule zu bekommen, damit kein Memory-Effekt auftritt. Die Optimierung des Temperaturprogramms erfolgt anschließend empirisch durch Variation der Heizrate oder durch Einführen von Temperaturplateaus, um eine besser Trennung zu erreichen. Somit erreicht man zum einen eine bestmögliche Trennung der Analytsubstanzen, zum anderen kann die Methode durch höhere Heizraten verkürzt werden, was zu einer Zeitersparnis und Erhöhung der Effektivität führt. Im Abschnitt 4.2.3 auf Seite 44 ist das empirisch optimale Temperaturprogramm für das Trennproblem aufgeführt.

4.2.2 Ermittlung von analytspezifischen Übergängen mittels Auto-SRM

Die Ermittlung der Massenübergänge aller Analytsubstanzen erfolgte mithilfe des integrierten AutoSRM-Programmes von Thermo Scientific. Dabei wurde im ersten Schritt ein Full Scan-Chromatogramm gemessen. Nach Zuordnung der Analytsubstanzen zu den Retentionszeiten, erfolgte die Auswahl von geeigneten Vorläufer-Ionen. Die Auswahl erfolgte hierbei nach den Kriterien der Intensität und des Signal-Rausch-Verhältnisses. Für die weiteren Untersuchungen wurden jeweils zwei Vorläufer-Ionen pro Analyten ausgewählt. Im nächsten Schritt erfolgt ein Produkt-Ionen-Scan. Hierfür werden die Vorläufer-Ionen mit dem in der Kollisionszelle enthaltenen Argongas kollidiert und im 3. Quadrupol gescannt. Somit kann für jedes Vorläufer-Ion ein Produkt-Ion nach den gleichen Kriterien wie zuvor ermittelt werden. Für den Übergang wurde nachfolgend noch die Kollisionsenergie ermittelt. Dafür wird die am

Anfang grob ermittelte Energie (Variierung erfolgt in 10 eV-Schritten) noch einmal in 2 eV-Schritten variiert. Letztendlich können so die optimalen Bedingungen für eine hohe Intensitätsausbeute ermittelt werden. Diese Verfahrensweise wurde auf alle Analytsubstanzen angewendet. Beispielhaft ist nachfolgend die Kollisionsenergieoptimierung für den Bisphenol A-Übergang m/z 241.1 zu m/z 133.1 dargestellt.

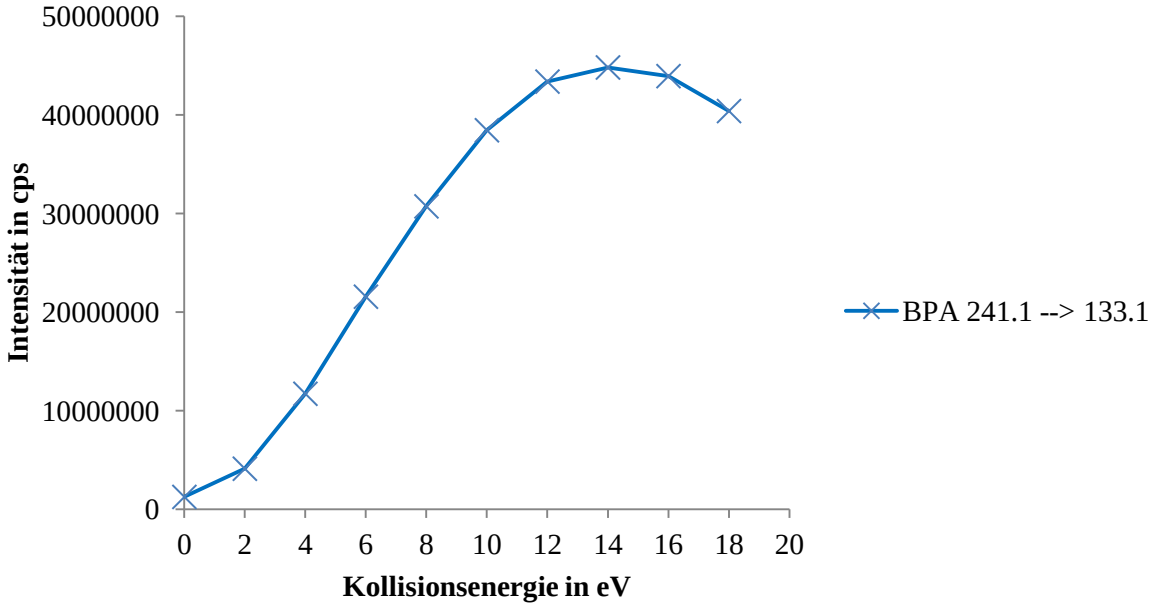


Abb. 14: Optimierung der Kollisionsenergie für Bisphenol A (241.1 zu 133.1) mit AutoSRM

Wie in der Abb. 14 zu erkennen ist, wurde für den Übergang 241,1 → 133,1 die höchsten Signalintensitäten bei einer Kollisionsenergie von 14 eV erzielt. Die ermittelten optimalen Kollisionsenergien der anderen Bisphenol-Methylester sind in Tab. 12 auf Seite 46 ff. tabellarisch zusammengefasst.

4.2.3. Optimierte GC-MS/MS-Methode

Nachfolgend ist die optimierte GC-MS/MS-Methode zusammenfassend dargestellt, mit der die Messung der Hausstaubproben, der Thermopapierproben und der Migrationslösungen quantifiziert wurden. Die Messungen der jeweiligen Extrakte erfolgten mittels GC-MS/MS aufgrund von Nachweisstärke und Trennleistung des Systems im Vergleich zur LC-MS/MS. Für die Messungen wurde ein *Tandem-in-Space*-Gerät von Thermo Scientific verwendet. Hierbei handelt es sich um einen GC-Ofen *Trace* 1310 und ein TSQ Duo MS/MS-System. Als Kapillarsäule wurde eine *FactorFour* VF-5ms (Agilent Technologies) mit integrierter 5m

EZ-*Guard* Schutzsäule verwendet. Die Dimensionen betrugen 30 m x 0,25 mm ID x 0,25 µm D_F.

Tab. 10: Injektoreinstellungen des GC-Messprogramms

Verwendeter Injektor	Split-Splitless-Injektor (SSL)
Injektionsvolumen	1 µl
Art der Injektion	Splitless (2 min, dann 50 ml/min split)
Trägergas/Flussrate	Helium, 1 ml/min
Injektortemperatur	300 °C

Tab. 11: Temperaturprogramm des Gaschromatographen

	Rate in °C/min	**Temperatur in °C**	**Haltezeit in min**
Initial		100	2,00
1	15	240	5,00
2	20	300	13,00

Als Detektor wurde die bereits genannten Tandem-Massenspektrometrie verwendet. Die einzelnen Übergänge der Methylether-Derivate wurden, wie im Abschnitt 4.2.2 auf Seite 43 ff. erläutert, optimiert und sind tabellarisch aufgeführt. Für die Quantifizierung wurde der fett markierte Übergang benutzt. Als zusätzliche Bestätigung diente der zweite Übergang. Nur wenn beide Übergänge bei der richtigen Retentionszeit ein Signal ergaben, wurde der Quantifizierungsübergang integriert. Die Integration erfolgte mithilfe des Genesis-Algorithmus der Software *Trace-Finder* von Thermo Scientific.

Tab. 12: Ausgewählte Massenübergänge der GC-MS/MS-Methode

Zeit [min]	Analyt-substanz	*Precursor*-Ion	*Product*-Ion	Kollisionsenergie [eV]	Scanzeit [s]
11,00	Bisphenol AF	**296,1**	**261,1**	**12**	**0,04**
		364,1	295,1	8	0,04
	Bisphenol AF d4	**299,1**	**215,1**	**16**	**0,04**
		368,1	299,1	10	0,04
11,90	Bisphenol F	**197,1**	**165,1**	**14**	**0,04**
		228,2	197,2	10	0,04
	Bisphenol E	**227,1**	**169,1**	**22**	**0,04**
		242,2	227,1	8	0,04
12,75	Bisphenol A	**241,2**	**133,1**	**14**	**0,04**
		256,2	241,2	8	0,04
	Bisphenol A d16	**252,2**	**139,1**	**16**	**0,04**
		270,3	252,2	8	0,04
13,15	Fluoranthen d10 (IST)	**212,2**	**206,2**	**20**	**0,05**
		212,2	208,2	34	0,05
13,60	Bisphenol B	**241,2**	**77,1**	**36**	**0,03**
		241,2	133,1	14	0,03
	Bisphenol C2	**269,2**	**147,1**	**14**	**0,03**
		284,2	269,2	8	0,03
14,20	Bisphenol G	**325,2**	**175,2**	**16**	**0,05**
		340,3	325,3	10	0,05
16,00	Bisphenol C	**308,1**	**223,1**	**26**	**0,05**
		308,1	238,1	14	0,05
16,50	Bisphenol Z	**145,1**	**115,1**	**12**	**0,05**
		296,2	253,2	10	0,05
18,40	Bisphenol S	**123,1**	**95,1**	**8**	**0,04**
		278,1	155,1	12	0,04
	Bisphenol TMC	**159,1**	**144,1**	**8**	**0,04**
		338,3	267,2	8	0,04
19,00	Bisphenol AP	**303,2**	**152,1**	**38**	**0,05**
		303,2	195,1	16	0,05

Fortsetzung Tab. 12: Ausgewählte Massenübergänge der GC-MS/MS-Methode

Zeit [min]	Analytsubstanz	Precursor-Ion	Product-Ion	Kollisionsenergie [eV]	Scanzeit [s]
20,10	Bisphenol M	**360,2**	**149,2**	**16**	**0,05**
		374,3	359,2	10	0,05
21,80	Bisphenol P	**360,2**	**345,2**	**12**	**0,04**
		374,2	359,2	8	0,04
22,90	Bisphenol BP	**380,2**	**195,1**	**34**	**0,05**
		380,2	303,2	8	0,05
24,20	Bisphenol FL	**378,2**	**347,1**	**14**	**0,04**
		378,2	363,2	12	0,04
	Bisphenol PH	**393,2**	**209,2**	**18**	**0,04**
		408,2	393,2	10	0,04

(Der fett markierte Übergang ist für die Quantifizierung genutzt worden.)

Tab. 13: Einstellungen des Massenspektrometers

MS-Transferline-Temperatur	280 °C
Ionenquellen-Temperatur	300 °C
Ionisierungsmodus	Elektronenstoßionisation (EI)

Die erhaltenen Peakflächen vom ausgewählten SRM-Übergang eines Analyten wurden auf die Peakfläche des internen Standard (ISTD) Fluoranthen d-10 bezogen. Dieser wurde in einer Konzentration von 50 pg/µl beim Derivatisierungsschritt hinzugegeben. Alle weiteren Berechnungen wurden mit den erhaltenen Peakflächenverhältnissen (PFV) durchgeführt. Ein Beispielchromatogramm eines Analytsubtanzstandards ist in Abb. 20 auf Seite 54 dargestellt.

4.2.4 Wahl und Optimierung des Injektorsystems

Das Injektionssystem stellt in der Gaschromatographie die häufigste Fehlerquelle dar. Wird eine Probe nicht reproduzierbar auf die Säule gebracht, kann der Fehler durch die weiteren messtechnischen Schritte nicht mehr rückgängig gemacht werden. Dabei sollte das Injektionssystem die Analyten möglichst vollständig und wiederholbar überführen. Matrixbestandteile sollen zudem zurückgehalten werden. Bei der Aufgabe von flüssigen Proben standen am Gerät grundsätzlich ein PTV- und ein SSL-Injektor zur Verfügung. Die Injektion wurde dabei hinsichtlich maximaler

Flächen und möglichst kleiner relativer Fehler optimiert. Beim PTV wurden verschiedene Aufheizraten untersucht. Durch eine schnelle Aufheizrate können Substanzen mit sehr unterschiedlichen Flüchtigkeiten undiskriminiert auf die Säule überführt werden. In Abb. 15 sind die getesteten Temperaturprogramme und Liner aufgeführt. Eine hohe Heizrate führte bei den Bisphenolen zu hohen Messpräzisionen sowohl für den Liner mit Restriktionen, als auch für den Liner mit Glaswolle. Leider konnten dadurch die Bisphenole nicht vollständig auf die Säule überführt werden, was zu geringeren Intensitäten führte. Gute Ergebnisse wurden bei Verwendung des Glaswolle-Liners und geringen Aufheizraten in Form von größtmöglichen Analytflächen mit hohen Messpräzisionen erhalten.

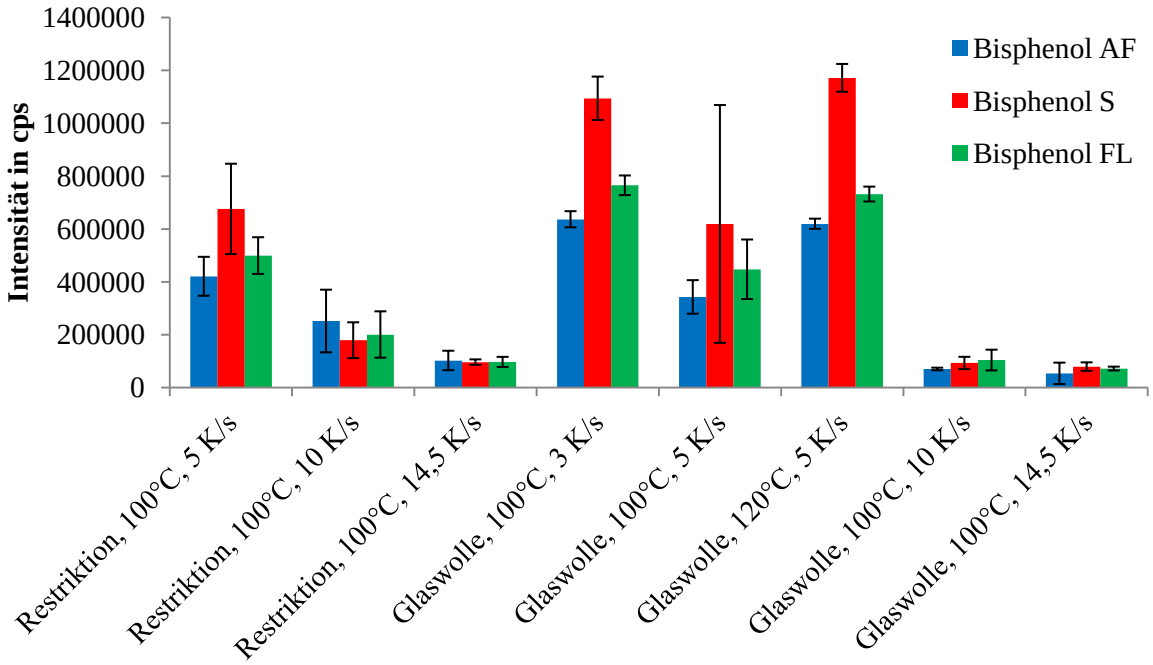


Abb. 15: Variation des PTV-Programms (50 pg/µl)

Im Verlauf sind Memory-Effekte bei nachfolgenden Untersuchungen festgestellt worden. Benutzt man einen Liner mit Glaswolle, so adsorbieren die Analytsubstanzen und schwerflüchtige Komponenten an der Glaswolle. Bei nachfolgenden Lösungsmittel-Messungen waren dann Analytsubstanzen nachweisbar. Auch durch eine kurze Ausheizphase auf 330 °C ließ sich der Effekt nicht beheben. Daher wurde für die weiteren Messungen der SSL-Injektor benutzt, bei dem dieses Problem nicht auftrat. Das Liner-Volumen des PTV-Injektors ist durch die geringeren Durchmesser deutlich geringer als bei einem SSL-Injektor. In Abhängigkeit vom verwendeten Lösungsmittel ist die Gefahr einer Überfrachtung aufgrund des zu großen Gasvolumens für den PTV-Injektor größer. Dies würde nicht zuletzt auch zu Verschleppungen und Minderbefunden führen.

Die Verwendung eines SSL-Injektors ist im Vergleich zum PTV deutlich einfacher. Hier kann lediglich die Injektortemperatur variiert werden. Weitere Parameter und die Erstellung eines Temperaturprogramms sind nicht notwendig. Für die Bisphenole wurde die Temperatur des Injektors von 250 bis 320 °C variiert. Die Ergebnisse sind in Abb. 16 dargestellt.

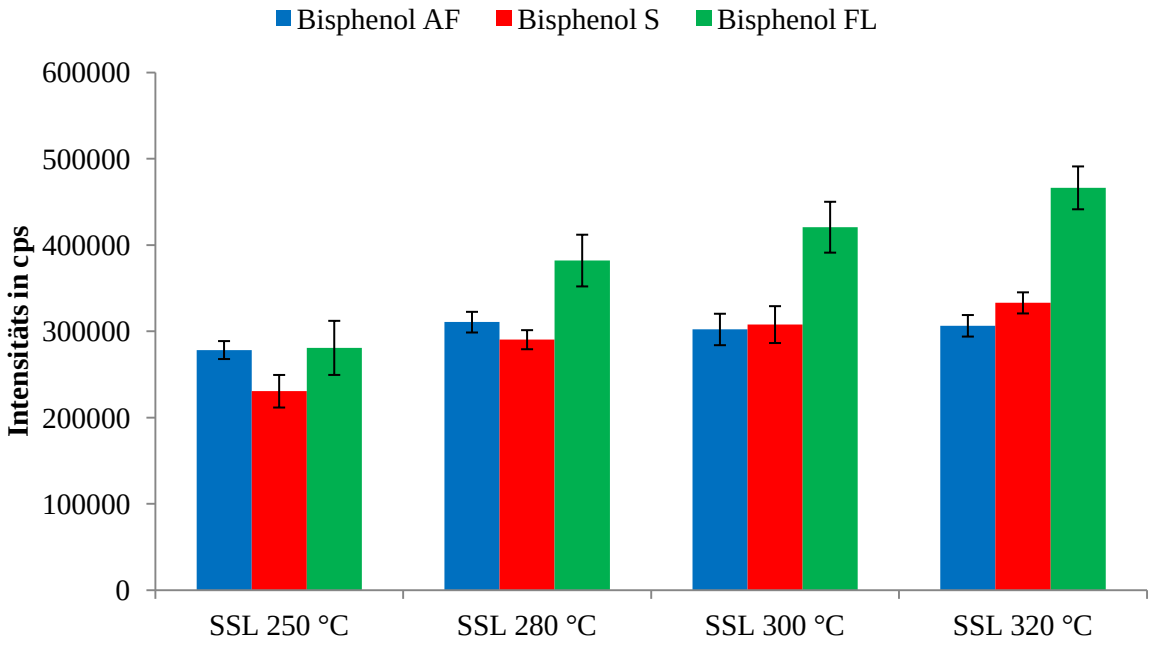


Abb. 16: Variation der Injektortemperatur beim SSL (30 pg/µl)

Zur einfachen Veranschaulichung wurden nur drei Analytsubstanzen betrachtet. Bisphenol AF retardiert im Chromatogramm als Erstes, Bisphenol S in der Mitte des Chromatogramms und Bisphenol FL stellt die am schwersten siedende Analysubstanz dar. Bei allen Bisphenolen war ein ähnliches Bild erkennbar. Die größten Flächen waren bei der höchsten Temperatur von 320 °C erkennbar. Dies zeigt, dass kein Analyt thermisch labil ist. Die Messpräzision war bei allen Temperaturen ähnlich groß, sodass 320 °C die beste Injektionstemperatur darstellt. Problematisch ist hierbei, dass der Arbeitsbereich der GC-Säule bei maximal 325 °C liegt. Da der SSL-Injektor permanent heiß ist, liegt diese Temperatur auch konstant am Säuleneingang an. Dadurch wäre mit einer verkürzten Lebensdauer der Säule zu rechnen. Als Injektortemperatur für die nachfolgenden Messungen wurde eine Temperatur von 300 °C gewählt.

4.2.5 Optimierung der Derivatisierung

Um die Bisphenole mittels Gaschromatographie messen zu können, ist eine Derivatisierung notwendig. Bisphenole besitzen durch die Hydroxyl-Funktion polare Eigenschaften und können Wasserstoffbrücken ausbilden. Dadurch sind sie schwerer in die Dampfphase überführbar. Für die Derivatisierung stehen verschiedene Möglichkeiten zur Auswahl: Acylierung, Alkylierung und Silylierung. Für Vortests wurden Test-Kits verwendet, die verschiedene Reagenzien für die jeweilige Derivatisierung bieten.

Dafür wurden 100 µl des Bisphenol-Standardmixes (10 ng/µl) in ein Vial dotiert. Genauso wurde mit dem internen Standard Fluoranthen d10 verfahren (100 µl einer 10 ng/µl-Lösung). Anschließend wurde das Lösungsmittel im Argonstrom entfernt. Auf die dotierten Vials wurden 900 µl Toluol und 100 µl des jeweiligen Derivatisierungsreagenz pipettiert. Die Silylierungsderivatisierung (Silyl-991) und die Methylierungsraktionen (TMSH, DMF-DMA) wurden zur Reaktion bei 70 °C für 30 min in den Trockenschrank gestellt. Bei den Derivatisierungen mit Acylierungsreagenzien (TFAA, MBHFBA, MBTFA) wurden die Vials für eine Stunde bei 110 °C in den Trockenschrank gestellt. Diese Konditionen wurden nach Standardarbeitsanweisungen der Hersteller gewählt. In der nachfolgenden Abb. 17 sind die Intensitätsverhältnisse (Analytsubstanz/interner Standard) der jeweiligen Standards grafisch dargestellt.

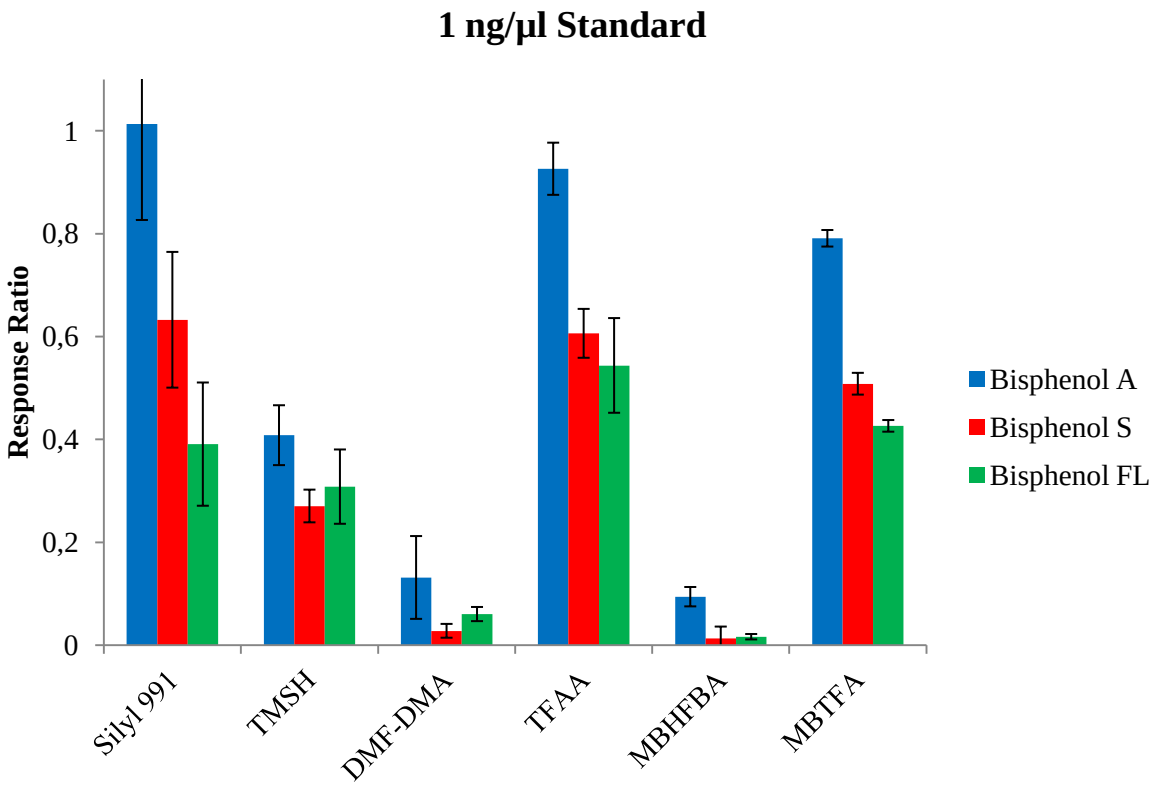


Abb. 17: Auswahl der Derivatisierung anhand vom jeweiligen *Response Ratio*

Die Verhältnisse der Flächen für die Art der Derivatisierung sind für alle Bisphenole ähnlich und besitzen die gleiche Aussagekraft. Deshalb sind zur besseren Veranschaulichung nur die Bisphenole A, S und FL dargestellt. Sie repräsentieren das gesamte Chromatogramm und sind damit als Leitsubstanzen geeignet. Hier wird deutlich, dass die Wahl des Derivatisierungsreagenz entscheidend für die Intensität des Reaktionsproduktes ist. Die Auswertung erfolgte dabei in *Full Scan*-Aufnahmen von Standardsubstanzen. Eine Acylierung ist unter den getesteten Bedingungen nur mit MBTFA und TFAA möglich, MBHFBA lieferte hingegen unzureichende Ergebnisse. Bei der Methylierung unter den untersuchten Bedingungen ist nur TMSH geeignet. Die höchsten Flächen wurden bei der Silylierung mit Silyl 991 erreicht. Nachfolgende Analysen machten aber deutlich, dass bei weiteren Mehrfachmessungen ein Trend zu abnehmenden Flächen erkennbar ist. Das GC-MS/MS-System benötigte bis zu sieben Messungen, bis kein Trend mehr erkennbar war und die Werte eine hinreichend gute Messpräzision lieferten. Eine Acylierung wäre anhand der *Response Ratios* der Methylierung mit TMSH zu bevorzugen. Hier ist aber eine Reaktion bei 110 °C für 1 Stunde im Trockenschrank notwendig.

Die Wahl fiel letztendlich auf TMSH als Methylierungsmittel. Dies hatte mehrere Gründe. TMSH reagiert mit Bisphenolen schon bei Raumtemperatur und benötigt keine zusätzliche Reaktionszeit. Die Zersetzungsreaktion findet bei 250 °C im Liner statt. Zudem sind das Nebenprodukt bei der Reaktion und auch die Zersetzungsprodukte des überschüssigen TMSH leichtflüchtig und stören die Chromatographie nicht. Bei der Zersetzung von TMSH entsteht Methanol und Dimethylsulfid. Dies ist zusätzlich von Vorteil, da keine Nebenprodukte im Nachschritt entfernt werden müssen, wie es beispielsweise bei Pentafluorbenzylbromid der Fall ist. Die Reaktion mit TMSH lieferte im Vergleich zur Silylierung eine geringere Standardabweichung, aber auch geringere Intensitäten der derivatisierten Analytsubstanzen.

Auf der nachfolgenden Seite ist in Abb. 18 die Variation des Methylierungsmittels dargestellt. Hierbei wurde TMSH und Dimethylformamid-dimethylacetal unter verschiedenen Bedingungen (Zugabe von leichten Basen zur Erhöhung der Produktausbeute) getestet.

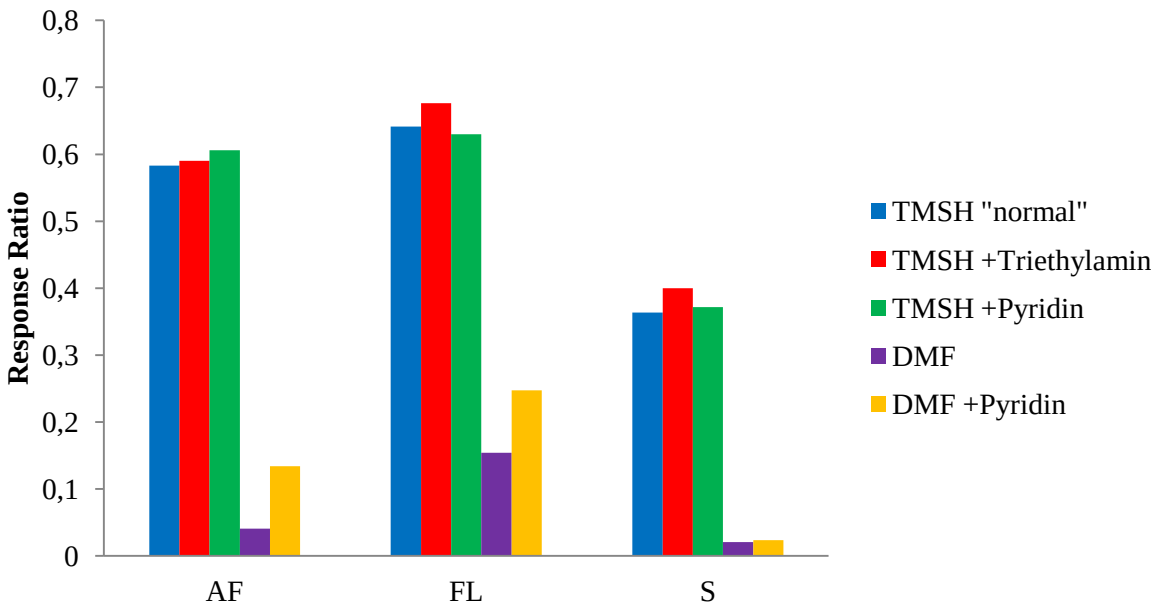


Abb. 18: Flächenverhältnis bei Variation des Methylierungsmittels

Hierbei ist erkennbar, dass DMF-DMA im Vergleich zum TMSH bei ähnlichen Reaktionsbedingungen deutlich geringere Flächen liefert. Das lässt vermuten, dass die Reaktion nicht vollständig abgelaufen ist. Dadurch entstehen Reproduzierbarkeitsprobleme und auch die Empfindlichkeit der Methode würde sinken. Die Zugabe von Basen zur Reaktion liefert nur geringfügig größere Flächen im Fall von Triethylamin. Gleichzeitig wird aber eine zusätzliche Fehlerquelle durch die Zugabe erzeugt, welche nicht im Verhältnis zur gering erhöhten Intensität steht. Deshalb wurde TMSH ohne weitere Zugaben für die weiteren Untersuchungen benutzt.

Im nächsten Schritt wurde noch einmal die Methylierung mit TMSH näher betrachtet und die Reaktionsparameter variiert. Dafür wurden Standardlösungen unter unterschiedlichen Bedingungen derivatisiert, um die optimalen Bedingungen für eine vollständige Reaktion zu ermitteln.

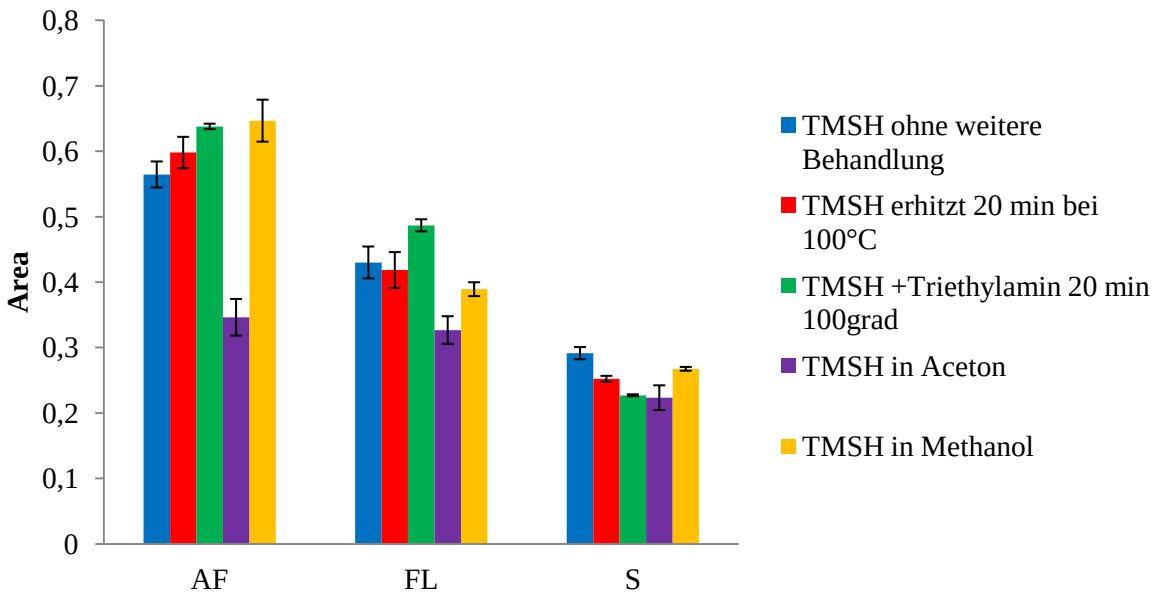


Abb. 19: Flächenverhältnis bei Variation der TMSH-Methylierung

Als Parameter wurden die Temperatur, das Lösungsmittel und die Zugabe von Triethylamin variiert. In der oben dargestellten Abb. 19 sind die Ergebnisse der Tests ersichtlich. Als Bewertungskriterium für die chemische Reaktion der Analyten bei der Derivatisierung wurde das Peak-Flächenverhältnis zwischen Analytsubstanz und internem Standard heran gezogen. Je größer dieses Verhältnis ist, desto vollständiger/effektiver verlief die Umsetzung. Erkennbar ist, dass Aceton für die Derivatisierung schlechter geeignet ist, als Toluol und Methanol. Keine Unterschiede sind bei der Behandlung unter Hitze zu erkennen. Lediglich die Reakion mit Zugabe von Triethylamin und einer Temperierung von 100 °C für 20 min liefert für den Großteil der Analytsubstanzen höhere Flächen. Aufgrund des zusätzlichen Zeitaufwandes und dem möglichen Eintrag von zusätzlichen Fehlern wurde die Methylierung aber letztendlich bei Raumtemperatur und alleiniger Zugabe von TMSH in Toluol durchgeführt.

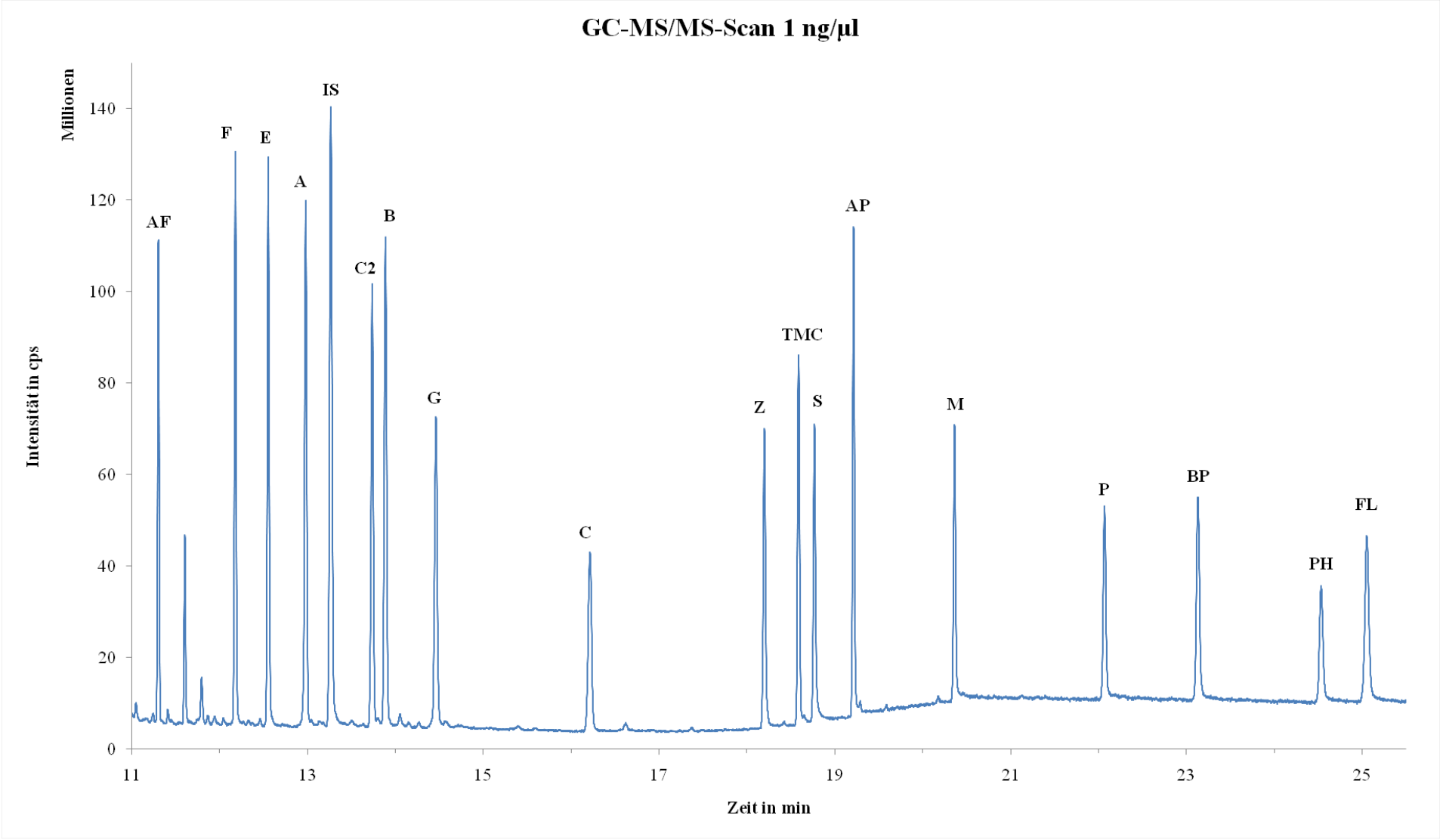


Abb. 20: *Full Scan*-Aufnahme einer 1 ng/µl Standardlösung mit GC-MS/MS

4.3 HPLC-Methode

4.3.1 Entwicklung und Optimierung des Gradientenprogramms

Die Methodenentwicklung und Optimierung wurde anhand von Mischstandardlösungen in Methanol durchgeführt. Erste Untersuchungen der mobilen Phase mit Methanol und Acetonitril in verschiedenen Mischungsverhältnissen mit bidestilliertem Wasser zeigten, dass eine isokratische Arbeitsweise nicht möglich ist. Hierbei werden nicht alle Analytsubstanzen voneinander getrennt. Zudem steigt die Analysenzeit enorm an. Deshalb musste in systematischen Untersuchungen ein geeignetes Gradientenprogramm erstellt werden. Die beste Trennung wurde mit dem in Tab. 14 aufgeführten Gradientenprogramm erreicht.

Die Wahl der mobilen Phase fiel auf Acetonitril, da hier verglichen mit Methanol schärfere Peaks und eine bessere Trennung erreicht wurden. Eine Zugabe von Säuren als *Modifier* zur mobilen Phase ergab nur für Bisphenol F, E und A eine leichte Verbesserung. Hierfür wurde der pH-Wert des bidestillierten Wassers mit 0,1 %-iger Schwefelsäure auf 5 eingestellt, um die Bisphenole in der protonierten Form zu erhalten. Die restlichen Bisphenole konnten aber entweder bei neutralen Bedingungen besser detektiert werden, beziehungsweise konnten keine deutlichen Unterschiede festgestellt werden. Daher wurde auf die Zugabe von *Modifiern* im weiteren Verlauf der Methodenentwicklung verzichtet.

Der nächste Schritt bestand in der Optimierung der Ofentemperatur. Hierfür wurde, wie auch in den vorherigen Optimierungen, ein 500 pg/µl Stammmix verwendet. Dieser stellt den Mittelpunkt der Kalibrierung in den späteren Analysen dar. Getestet wurden dabei die Temperaturen von 25 bis 40 °C in 5 °C-Schritten. Betrachtet wurden dabei die Peakflächen, welche maximiert werden sollten, sowie die Standardabweichungen, welche möglichst gering sein sollten. Erkennbar war, dass durch die verschiedenen Ofentemperaturen auch eine Veränderung der Trennleistung erzielt wird. Bei 25 °C ist eine schlechtere Trennung der Peaks erkennbar, wahrscheinlich durch die höhere Viskosität der mobilen Phase begründet. Dadurch leidet auch die Standardabweichung der Wiederholbestimmungen. Das optimale Trennergebnis bei geringen Standardabweichungen und Peakflächen wurde durch eine Ofentemperatur von 35 °C erreicht. Diese wurde für die weiteren Messungen eingestellt.

4.3.2 Einstellung des DAD- und FLD-Signals

Die Optimierung der Detektionsparameter erfolgte mithilfe von Absorptions- und Emissionsmessungen. Dabei wurde die beste Detektionswellenlänge jedes Analyten festgelegt, sowohl für die DAD-Detektion, als auch für die simultane FLD-Messung.

Für die Quantifizierung aller Bisphenole wurde die Absorption des DAD-Signals der Wellenlänge 230 nm genutzt. Ausnahmen sind aufgrund der Intensität Bisphenol S, welches bei 254 nm detektiert wurde, und Bisphenol FL, das bei 218 nm bestimmt wurde. Die Ermittlung der besten Absorptionswellenlängen erfolgten aus Erfahrungswerten von standardisierten Messungen innerhalb der Routineanalytik und aus Absorptionsmessungen mit dem DAD über einen Wellenlängenbereich von 210 bis 400 nm. In Abb. 21 ist das Chromatogramm mit Scan des DAD dargestellt.

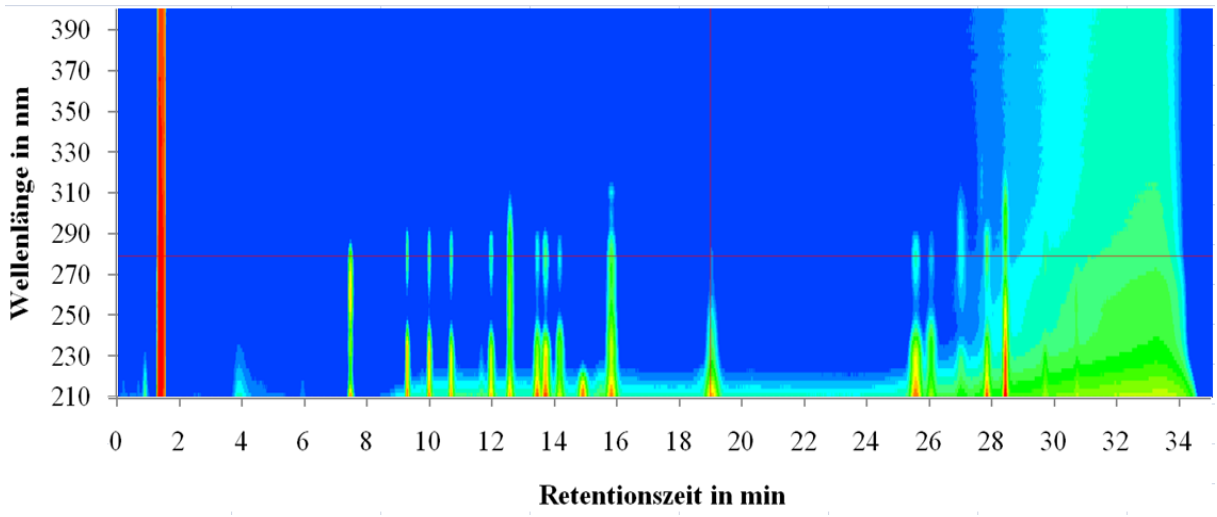


Abb. 21: DAD-Scannmessung von 210 bis 400 nm (1 ng/µl Stammlösung)

Durch einen Wellenlängenscan konnten Absorptionsmaxima der einzelnen Analytsubstanzen festgelegt werden. Diese Untersuchungen führten letztendlich zu den ausgewählten Wellenlängen, bei denen die Absorption detektiert wurde.

Der FLD liefert für viele der Bisphenole eine zusätzliche Absicherung, da diese über die Emissionwellenlänge von 315 nm detektiert werden können (Anregung erfolgte bei 275 nm). Die Ermittlung der optimalen Anregungs- und Emissionswellenlänge erfolgte dabei ebenfalls mit der Agilent-Software. Dabei wurde ein Spektrum mit dem FLD-Detektor aufgenommen, welches durch Anregung der Bisphenole mit 230 nm erfolgte. Diese Wellenlänge wurde ausgewählt, um in einem Lauf alle Bisphenole gleichzeitig anregen zu können. Für spätere Messungen diente die Wellenlänge 275 nm als die Anregungswellenlänge aufgrund der höheren

Selektivität. Der Mittelpunkt der Emission wurde anschließend als Detektionswellenlänge festgelegt. Nachfolgend ist in Abb. 22 der FLD-Scan abgebildet.

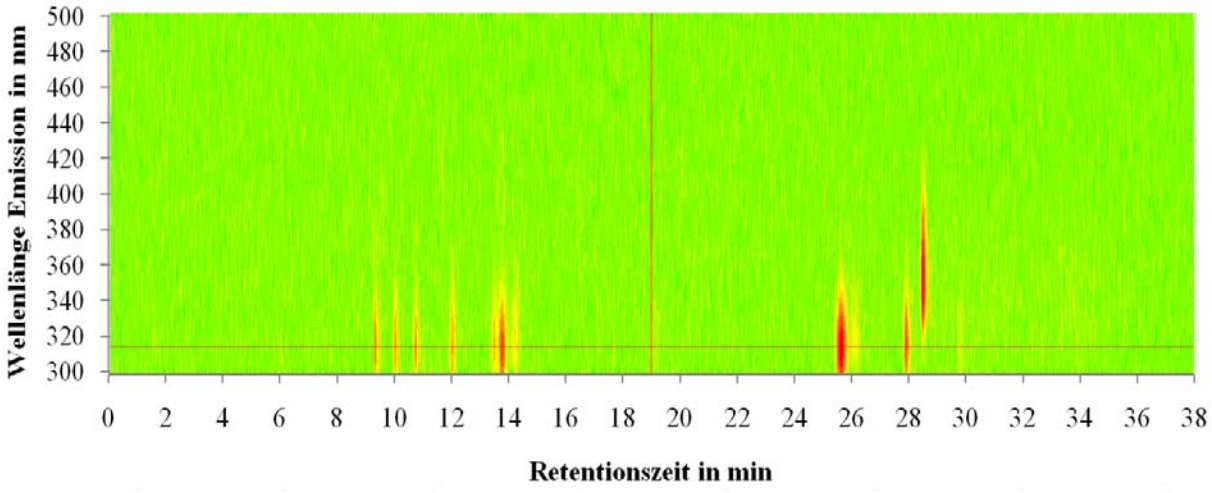


Abb. 22: FLD-Scannmessung von 300 bis 500 nm Emission (1 ng/µl Stammlösung)

Einige Bisphenole wie Bisphenol S und Bisphenol FL können nicht über den FLD-Detektor bestimmt werden. Sie sind nicht mithilfe der Fluoreszenzmessungen detektierbar. Die messbaren Bisphenole emittieren bei einer Wellenlänge von 315 nm. Bisphenol PH stellt hier einen Sonderfall dar. Dieses Molekül besitzt am zentralen Kohlenstoffatom vier Phenylreste, die ein konjugiertes π-System bilden. Die Emission wird dadurch, im Vergleich zu anderen Bisphenolen, allerdings auf 350 nm verschoben. Das Fluoreszenz-Signal wurde für alle Messungen zur zusätzlichen Qualifizierung genutzt, die Quantifizierung erfolgte aber über das DAD-Signal.

4.3.3 Optimierte HPLC-DAD/FLD-Methode

Erste Tests mit LC-MS/MS zeigten, dass die Bisphenole mit negativer Ionisierung messbar sind. Es zeigte sich jedoch, dass die Ionisierungseffizienz sehr schlecht ist und die Nachweisgrenzen der GC-Methodik nicht erreicht werden können. Zudem ließen sich die Bisphenole vollständig oder nur sehr schlecht ionisieren. Eine komplette LC-MS/MS-Methode konnte daher nicht erstellt werden. Deshalb wurde versucht, die HPLC-Parameter auf eine HPLC-DAD-Anlage zu übertragen, um hier Messungen durchführen zu können. Dabei wurden verschiedene Säulen getestet. Die unten aufgeführte C18-Säule zeigte die besten Trennergebnisse. Auf die Verwendung von *Modifiern* wurde verzichtet. Mit den vorliegenden Einstellungen, die in Tab. 14 aufgeführt sind, wurde die beste Trennung der Analytsubstanzen erreicht.

Tab. 14: Parameter der HPLC-Methode

Injektionsvolumen:	5 µl		
Säule:	Macherey-Nagel, Nucleodur C18 Gravity, 5 µm, 150 mm x 3 mm		
mobile Phase	Gradientenprogramm		
	Zeit	Acetonitril	Wasser
	0 min	30 %	70 %
	1,5 min	30 %	70 %
	5 min	48 %	52 %
	20 min	48 %	52 %
	30 min	90 %	10 %
	32 min	30 %	70 %
	35 min	30 %	70%
Flussrate	0,4 mL/min		
Ofentemperatur	35 °C		
Detektion	DAD: 254 nm, 230 nm, 218 nm		
	FLD: Anregung: 275 nm, Emission: 315 nm, 350 nm		

Bisphenol P und Bisphenol M können chromatographisch nicht voneinander getrennt werden. Sie sind Konstitutionsisomere und retardieren bei der verwendeten Säule zur gleichen Zeit. Bisphenol AF und Bisphenol C2 werden ebenfalls nicht getrennt. Für weitere Untersuchungen von Thermopapier soll diese Methode als Qualifizierung und halbquantitative Auswertung der Bisphenole dienen, um die richtige Verdünnung für die Messung mittels GC-MS/MS zu wählen. Hier erfolgt anschließend die Bestätigung und quantitative Auswertung der Analyten.

Am Beispielchromatogramm in Abb. 23 auf Seite 59 ist ersichtlich, dass fast alle Bisphenole basisliniengetrennt wurden. Lediglich Bisphenol AF/C2, sowie Bisphenol P und M, konnten chromatographisch nicht voneinander getrennt werden. Bisphenol M und P sind Konstitutionsisomere und retardieren zur gleichen Zeit bei der verwendeten Säule. Anwendung fand diese Methode für die qualitative und halbquantitative Auswertung der Bisphenole in Thermopapieren. Sie diente dabei zur Abschätzung der notwendigen Verdünnung für die GC-MS/MS-Analyse.

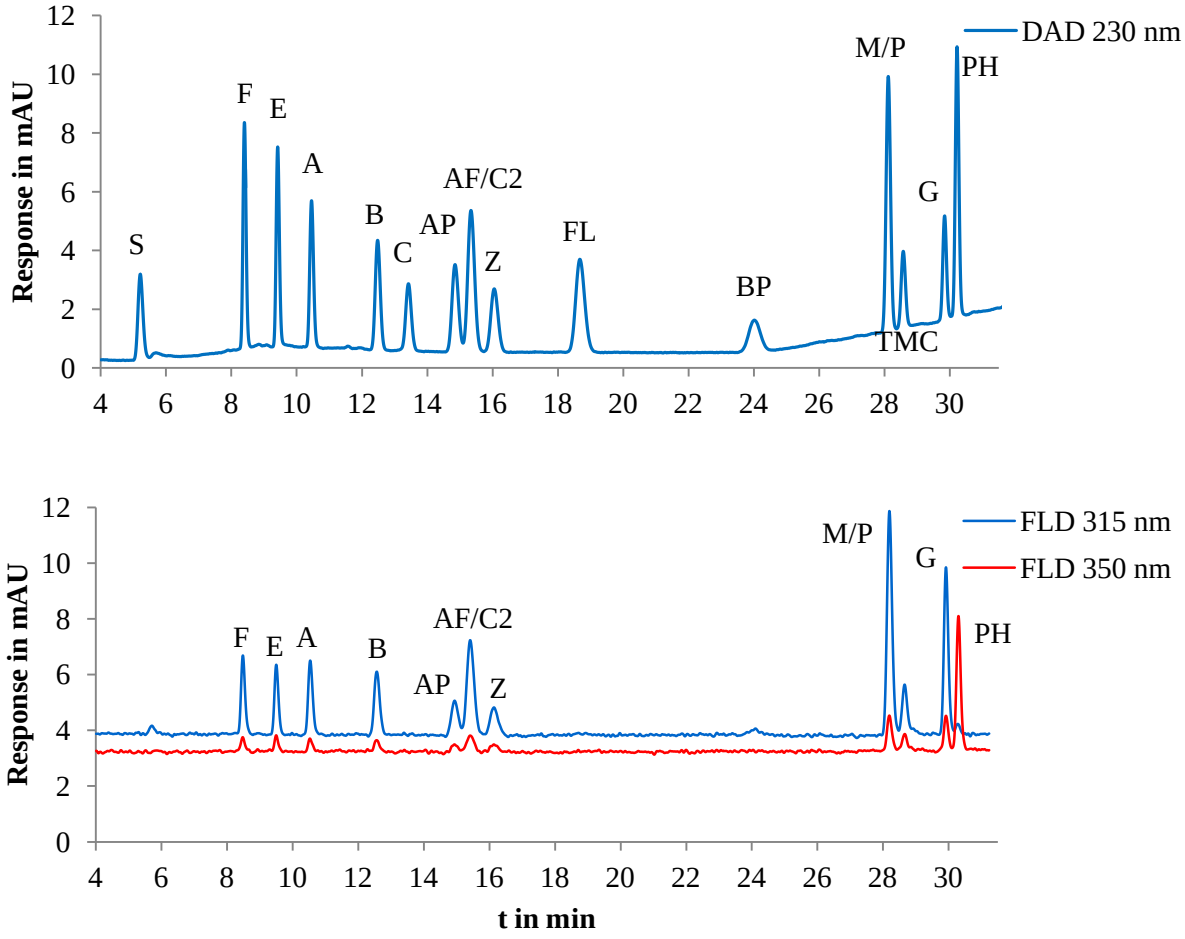


Abb. 23: Chromatogramm HPLC (1 ng/µl Stammlösung)

Mit der optimierten HPLC-Methode wurde eine Kalibrierung von 100 bis 1000 pg/µl erstellt. Diese ist im Anhang aufgeführt. Die Messpräzisionen der Bisphenole wurden im Schwerpunkt der Kalibrierung bei 550 pg/µl ermittelt und sind in Tab. 15 auf Seite 60 aufgeführt. Die relativen Standardabweichungen liegen zwischen 0,64 % für Bisphenol S und 2,54 % für Bisphenol E. Die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen für diese Methode sind in Tab. 9 auf Seite 42 aufgeführt.

Tab. 15: Messpräzisionen für die Messung mittels HPLC (in %)

Bisphenol	RSD	Bisphenol	RSD
Bisphenol S	0,64	Bisphenol Z	1,38
Bisphenol F	1,40	Bisphenol FL	0,94
Bisphenol E	2,54	Bisphenol BP	1,06
Bisphenol A	1,01	Bisphenol M/ Bisphenol P	0,46
Bisphenol B	0,96	Bisphenol TMC	1,08
Bisphenol C	1,23	Bisphenol G	1,14
Bisphenol AP	0,92	Bisphenol PH	0,44
Bisphenol AF/ Bisphenol C2	0,74		

4.4 Methodenentwicklung der Hausstaubproben

Der Mensch verbringt bis zu 90 % seines Tages in Innenräumen, bei älteren Menschen oder körperlich beeinträchtigten Personen steigt der Aufenthalt in Räumen auf bis zu 100 %. Hausstaub adsorbiert mittel- bis unpolare Chemikalien aus der Innenraumluft. Er ist somit ein weiterer Eintragsweg für Chemikalien in den menschlichen Organismus und kann als Indikator für eine Belastung des Innenraums durch Chemikalien herangezogen werden.

Somit kann man Hausstaub neben der Raumluft als Haupteintragsweg von Chemikalien auf den menschlichen Organismus bezeichnen. Um nun die Belastung von Bisphenol A und ausgewählten Strukturanaloga durch Hausstaub zu quantifizieren, ist eine analytische Methode zur Erfassung möglichst aller relevanten Bisphenole notwendig.

Es soll eine Methode entwickelt werden, mit der die Bisphenole in der schwierigen Matrix Hausstaub quantifiziert werden können. Dabei muss eine optimale Extraktion gefunden werden, um die Analyten aus der Matrix zu lösen. Des Weiteren ist ein *clean-up*-Schritt notwendig, um mitextrahierte Matrix von den Analytsubstanzen zu entfernen. Diese Matrix würde unter Umständen eine Quantifizierung erschweren.

Die Optimierung erfolgte im vorliegenden Fall mit dotiertem Seesand. Hierfür wurde Seesand bei 450 °C für mindestens 4 Stunden ausgeglüht und anschließend mit der nötigen Menge an Stammlösung dotiert. Der Seesand besitzt eine große Oberfläche ähnlich den späteren Haus-

staubproben. Durch das Ausglühen erhält man eine blindwertfreie Modellprobe, mit der lediglich die Extraktionseffizienz überprüft werden kann. Die Proben wurden anschließend mit 50 µl einer 1 ng/µl Stammlösung der Bisphenole in Methanol dotiert. Die Ermittlung der besten Ergebnisse erfolgten an der Beurteilung der jeweiligen Wiederfindungsrate. Anschließend wurden diese Ergebnisse auf eine Hausstaubprobe angewandt, um eventuelle Probleme durch die Hausstaubmatrix zu eruieren.

Die Ultraschallextraktion wurde aufgrund der in den theoretischen Grundlagen Kapitel 2.2.1 auf Seite 12 ff. erläuterten Vorteile als Extraktionstechnik verwendet. Dabei wurden verschiedene Extraktionszeiten, Lösemittelvolumen und Extraktionsmittel getestet, welche letztendlich zur optimierten Methode führten. Diese ist im nachfolgenden Kapitel 4.4.1 beschrieben.

4.4.1 Probenvorbereitung

Da besonders Bisphenol A im großen Maßstab in Artikeln des täglichen Bedarfs eingesetzt wird, kommt es zu einer ubiquitären Verteilung. Dies führt nicht nur zu Blindwertproblemen in der Analyse, sondern verhindert auch den Einsatz von nativem, bisphenolfreiem Hausstaub als Modellprobe. Zur Beurteilung des Einflusses von Matrixeffekten wurde die mit Seesand optimierte Aufarbeitungsmethode auf eine zuvor dotierte Hausstaubprobe der eigenen Wohnung angewendet. Diese wurde zunächst von vorhandenen Haaren befreit und unter Zuhilfenahme von Siebhilfen (Achatperlen) zunächst auf 2 mm und anschließend mit einem weiteren Retsch-Sieb auf 63 µm (20 min, 120 Schwingungen pro Minute) gesiebt. Die einzelnen Fraktionen sind in der nachfolgenden Abb. 24 erkennbar:

Abb. 24: Hausstaubfraktionen in Retsch-Sieben (v.l.: > 2 mm, 2 mm - 63 µm, < 63 µm)

Die < 63 µm-Fraktion wird für die Untersuchungen gewählt, da sie eine hinreichend gute Homogenität gewährleistet und zudem vergleichbar mit anderen Studien ist [68]. Von dieser Fraktion wurde jeweils 1 g eingewogen, diese mit einem Surrogatstandard (Bisphenol AF-d4; Endkonzentration 50 pg/µL) dotiert und anschließend mit einem geeigneten Lösungsmittel mittels Ultraschallextraktion extrahiert. Nach Zentrifugation (5 min, 4000 rpm) und Abnahme des Überstandes musste ein geeignetes *Clean up* gefunden werden, um störende Matrixbestandteile zu entfernen. Die Messungen erfolgten mithilfe der in Abschnitt 4.2.3 auf Seite 44 ff. optimierten GC-MS/MS-Methode gemessen und quantifiziert.

4.4.2 Optimierung Extraktion und *Clean up*

Für die Extraktion der Bisphenole aus Hausstaubproben muss ein geeignetes Extraktionsmittel gefunden und das nachfolgende *Clean up* optimiert werden. Vortests zeigten, dass die Bisphenole nicht hinreichend gut mit Hexan als unpolares Lösungsmittel extrahiert werden konnten. Aufgrund der chemischen Eigenschaften wurden deshalb im nächsten Schritt Toluol und Methanol getestet. Toluol ist ein aromatisches Lösungsmittel, weshalb es als geeignet bewertet wurde. Methanol könnte als polares Lösungsmittel und Alkohol gut geeignet sein, da auch die Bisphenole zwei Hydroxyl-Funktionen enthalten.

Als Grundlage für die Optimierung wurde im ersten Ansatz auch hier wieder Seesand mit einem Stammmix dotiert, sodass die Analytsubstanzen in einer Endkonzentration von 50 pg/µl vorlagen. Danach wurden verschiedene Festphasenmaterialien getestet, um die Nutzbarkeit und das Rückhaltevermögen für die Bisphenole festzustellen.

Nach der Extraktion mit Toluol wurde das Lösungsmittel abrotiert und der erhaltene Extrakt auf ein definiertes Volumen (1 mL) eingestellt. 500 µl des Extraktes wurden für das *Clean up* mit einer Minikieselgelsäule benutzt (500 mg Kieselgel aktiviert, desaktiviert oder Bondesil PPL-Material). Die Analyten wurden anschließend mit 6 ml Methanol wieder eluiert. Die Ergebnisse sind in der nachfolgenden Abb. 25 auf Seite 63 dargestellt.

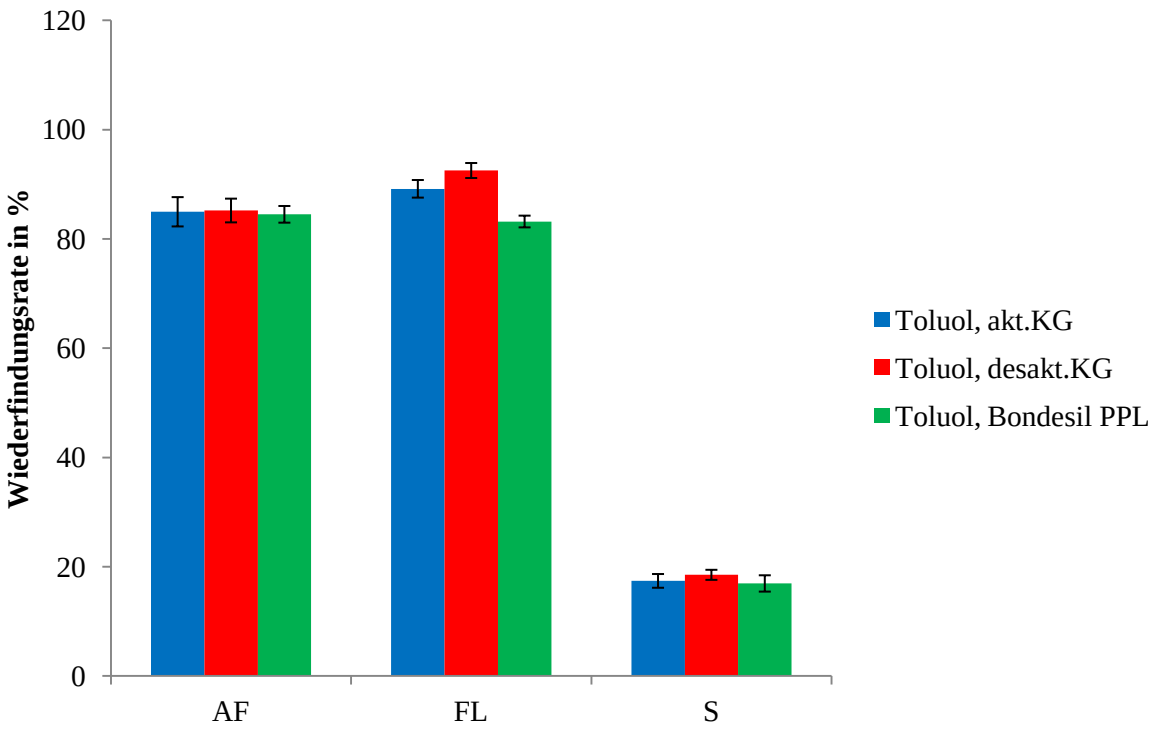


Abb. 25: US-Extraktion Toluol, *Clean up* Kieselgel

Für Toluol als Extraktionsmittel scheint die Wahl des Festphasenmaterials nicht so entscheidend zu sein. Es liefert unabhängig davon für Bisphenol AF und Bisphenol FL eine Wiederfindungsrate von ca. 80 bis 90 %. Diese Substanzen stellen gaschromatographisch den Leicht- und Schwersieder aller untersuchten Bisphenole dar. Das Extraktionsvermögen von Toluol reicht allerdings nicht, um 100 % der Bisphenole zu detektieren. Besonders Bisphenol S konnte lediglich eine Wiederfindungsrate von 20 % erzielen, was auf eine verminderte Extraktionsausbeute oder fehlende Wechselwirkung mit der Festphase schließen ließ. Unpolare Substanzen lassen sich somit hinreichend gut, aber nicht vollständig mit Toluol extrahieren. Beim weiteren Aufreinigungsschritt ist das Festphasenmaterial nicht entscheidend. Allerdings kann mit Toluol keine Methode für alle Bisphenole erstellt werden, da im vorliegenden Fall Bisphenol S als polarste Analytsubstanz durch die Wahl des Lösungsmittels diskriminiert und so nicht mit Toluol extrahiert werden kann.

Ein weiterer Test wurde auf gleiche Art und Weise durchgeführt, allerdings mit Methanol als polares Lösungsmittel. Zur Vergleichbarkeit der Ergebnisse wurde lediglich das Lösungsmittel gewechselt, das *Clean up* ist wie zuvor beschrieben gleich geblieben. Die Ergebnisse von Methanol als Extraktionsmittel sind in Abb. 26 auf Seite 64 dargestellt.

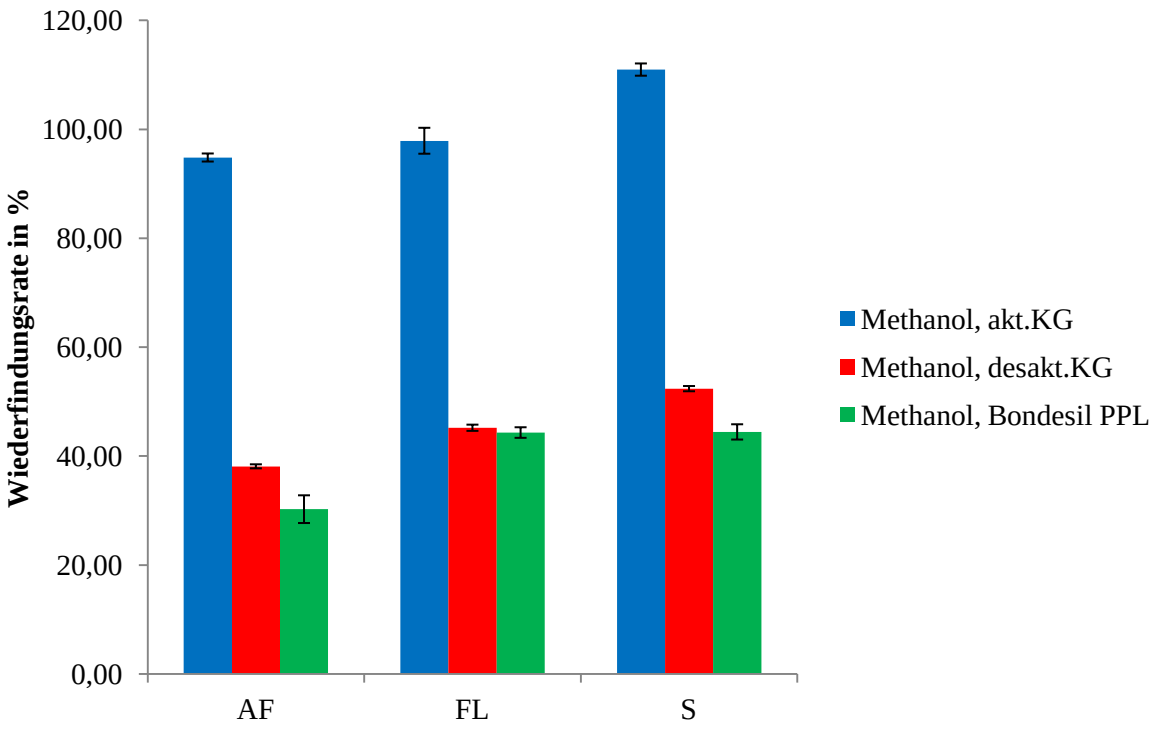


Abb. 26: US-Extraktion Methanol, *Clean up* Kieselgel

Erkennbar ist, dass die Vorgehensweise für das *Clean up* mit der aktivierten Kieselgelphase gut funktioniert. Hier ergeben sich Wiederfindungsraten von ca. 78 bis 110 %. Bei der Verwendung von desaktiviertem Kieselgel und dem Bondesil PPL-Material dagegen sind die Wiederfindungsraten mit 40 % unzureichend. Auffällig ist, dass für Analytsubstanzen (z.B. Bisphenol PH, M etc.) mit einem log K_{OW}-Wert von 6,2 oder höher, schlechtere Wiederfindungsraten beobachtet wurden. Bisphenol S als polarste Substanz lieferte dagegen mit Methanol die besten Wiederfindungsraten. Die unpolaren Analyten, die verminderte Wiederfindungsraten mit Methanol als Extraktionsmittel zeigten, erreichten mit Toluol eine (geringe) Verbesserung. Als Ergebnis dieses Experimentes konnte gezeigt werden, dass Toluol als alleiniges Extraktionsmittel ungeeignet ist.

Die Analyten sind von Ihrer Extraktionseffizienz in unterschiedlichen Lösungsmitteln sehr differenziert zu betrachten. Bisphenol S besitzt hierbei den niedrigsten log K_{OW} -Wert von 1,65 und ist sehr gut mit Methanol zu extrahieren. Mithilfe von Toluol wird es sehr schlecht extrahiert. Durch die einfache Extraktion mit Methanol wird deshalb eine schlechtere Wiederfindungsrate erzielt, als bei doppelter Methanolextraktion. Alle anderen Analyten mit einem log K_{OW} -Wert unter 6,5 lassen sich mit Methanol sehr gut extrahieren. Lediglich die Analyten Bisphenol G, M, P, PH und TMC haben tendenziell eher schlechtere Wiederfindungsraten. Diese sind die unpolarsten Analyten und eher mit Toluol extrahierbar.

In einem weiterführenden Schritt sollte deshalb eine kombinierte Ultraschallextraktion mit Methanol und Toluol getestet werden, um die Vorteile der Lösungsmittel in einer Methode zu verbinden. Dabei fand ein Wechsel des Lösungsmittels in der zweiten Extraktion statt. So wurde im ersten Schritt Methanol benutzt, die zweite Extraktion wurde anschließend mit Toluol durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Abb. 27 dargestellt. Auf die Verwendung von Bondesil PPL wurde verzichtet, da hier nur unzureichende Ergebnisse bei der Methanol-Extraktion erreicht werden konnten.

Hierzu wurde die gleiche Extraktion wie zuvor benutzt, jedoch wurde zuerst 10 min mit 10 ml Methanol extrahiert, anschließend wurde das Lösemittel abgenommen und 10 ml Toluol für eine weitere 10 minütige Ultraschall-Extraktion verwendet. Die Lösungsmittel wurden in einem Zentrifugenröhrchen vereinigt und der Feststoff für 5 min bei 4000 rpm abzentrifugiert. Anschließend wurde das Lösungsmittel auf ca. 500 µl abdestilliert (1 mL definiertes Endvolumen). Für das *Clean up* wurden 500 µl dieses Extraktes auf eine 0,5 g Kieselgelsäule gegeben. Dieses Kieselgel wurde einmal aktiviert verwendet (mind. 4 Stunden bei 130 °C), im zweiten Versuch wurde es mittels destilliertem Wasser auf 1,5 % desaktivierten Zustand gebracht. Für eine Kombination wurden 0,25 g desaktiviertes Kieselgel und 0,25 g aktiviertes Kieselgel geschichtet verwendet.

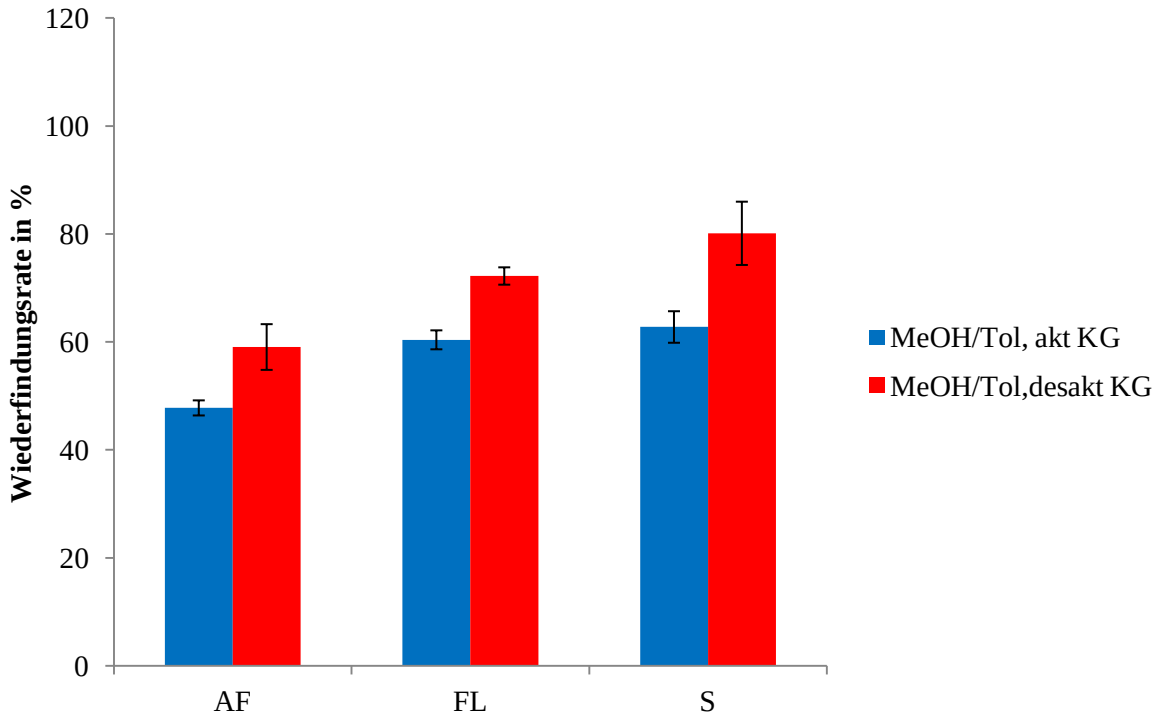


Abb. 27: Ultraschall-Extraktion mit Methanol/Toluol, *Clean up* Kieselgel

Es konnte mit dieser Verfahrensweise keine Verbesserung der Wiederfindungsraten erzielt werden. Die besten Ergebnisse wurden hier mit dem desaktivierten Kieselgel erzielt. Jedoch lagen die Wiederfindungsraten unterhalb von 60 %, was nicht zufriedenstellend ist.

Die Extraktion von Bisphenol S ist im Vergleich zur alleinigen Verwendung von Toluol deutlich verbessert. Hier kommt die Nutzung von Methanol bei der ersten Extraktion zum Tragen. Toluol scheint aber für die Extraktion von unpolaren Substanzen nicht in vollem Maße zu genügen. Sie lieferten bei der Extraktion nur durch Toluol lediglich Wiederfindungsraten von ca. 80 %. Eine weitere Erklärung könnte in der schlechten Flüchtigkeit von Toluol liegen. Beim Abdestillieren mit dem Rotationsverdampfer ist ein hohes Vakuum notwendig. Daher dauert das Entfernen von Toluol sehr lange. Die Bisphenole könnten also bei der Entfernung des Lösungsmittels teilweise mit verloren gehen. Daher sollte ein unpolares Lösungsmittel getestet werden, welches bessere Extraktionseffizienzen für unpolare Bisphenole besitzt und eine höhere Flüchtigkeit als Toluol aufweist.

Ein weiterer Versuch zur Verbesserung der Wiederfindungsraten ist der Einsatz von Aceton als zweites Extraktionsmittel. Damit sollen die Wiederfindungsraten der unpolaren Bisphenole erhöht werden. Aceton ist im Gegensatz zu Hexan mit Methanol mischbar und weist eine hohe Flüchtigkeit auf. Die Ergebnisse der kombinierten Ultraschallextraktion sind in Abb. 28 dargestellt.

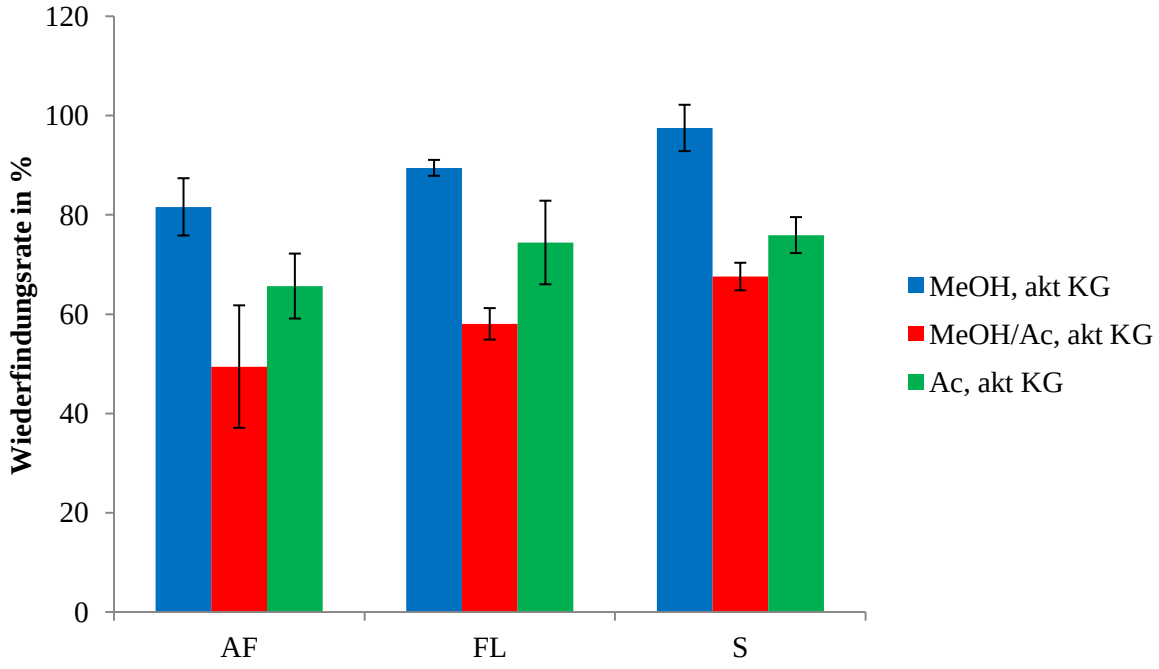


Abb. 28: US-Extraktion Methanol und Aceton, *Clean up*: aktiviertes Kieselgel

Zum Vergleich wurden die bisher besten Ergebnisse bei zweifacher Extraktion mit Methanol wiederholt. Aceton liefert sowohl als alleiniges Extraktionsmittel, als auch in Verbindung mit Methanol (10 ml Methanol, zweite Extraktion mit 10 ml Aceton) keine höheren Wiederfindungsraten im Vergleich zu Methanol als Lösungsmittel. Die Analyten mit einem log K_{OW}-Wert über 6,5 liefern erneut schlechtere Wiederfindungsraten, auch bei Verwendung von Aceton als zweites Extraktionsmittel. Die Bisphenole werden daher vorrangig aufgrund ihrer polaren Hydroxyl-Funktionen mit ähnlichen Lösungsmitteln extrahiert. Selbst die unpolaren Bisphenole scheinen nicht aufgrund der unpolaren Eigenschaft extrahiert zu werden, sondern eher durch alkoholische Lösungsmittel.

Fazit und Endergebnisse der Methodik sind also die Ultraschallextraktion mit Methanol als Lösungsmittel. Die Analyten werden durch Methanol aus der Probe am besten extrahiert. Durch Toluol kann Bisphenol S nur sehr schlecht extrahiert werden und auch die restlichen Bisphenole haben eine schlechtere Extraktionseffizienz durch andere verwendete Lösungsmittel als Methanol.

Um die Vollständigkeit der doppelt-fraktionierten Extraktion zu überprüfen, wurde an einer Testprobe in einem weiteren Experiment nach der oben beschriebenen Methode extrahiert, aber nach Abtrennung des 2. Extraktes zwei weitere Extraktionszyklen mit jeweils 10 mL Methanol durchgeführt. Die gewonnenen Extrakte wurden dabei nicht vereinigt, sondern separat voneinander aufgearbeitet. In den untersuchten Extrakten konnte Bisphenol A, F und S detektiert werden. Die nachstehende Abb. 29 zeigt die Verteilung der detektierten Bisphenole in den einzelnen Fraktionen.

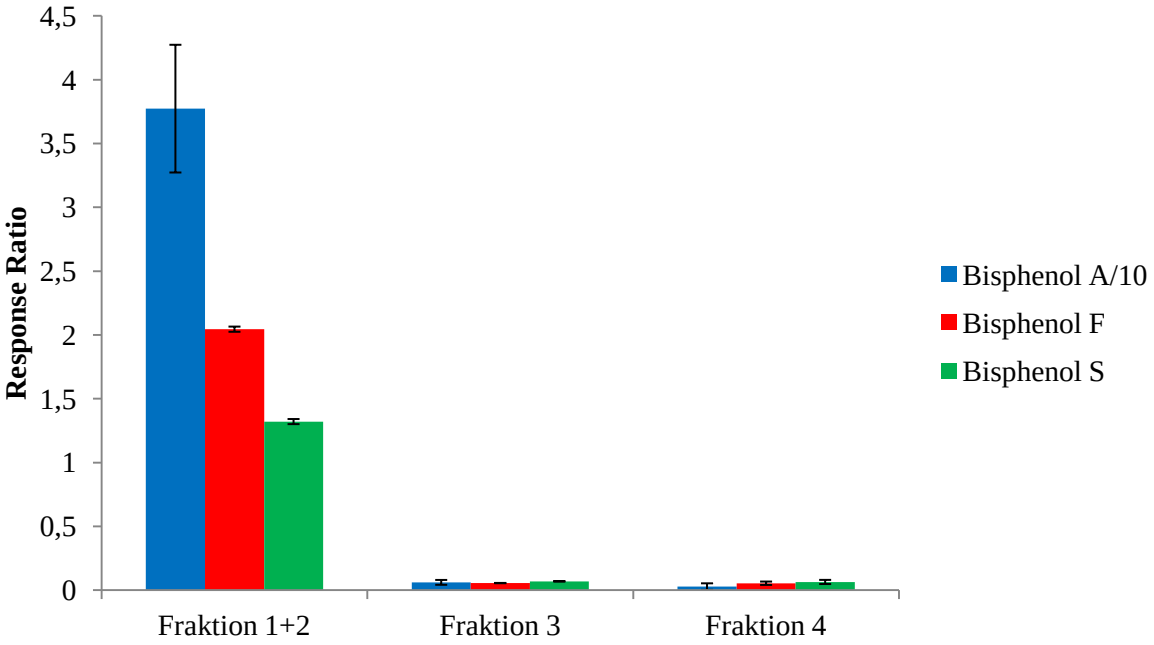


Abb. 29: Verteilung der detektierten Bisphenole in den Extraktionsfraktionen

Da geringe Flächen auch noch innerhalb der 3. Fraktion nachweisbar waren, wurde zur Sicherheit für die Extraktion der Realproben die Extraktion 3-fach wiederholt, um eine erschöpfende Extraktion zu gewährleisten.

Neben der Extraktion sollte ein geeignetes *Clean up* entwickelt werden, um die Analytsubstanzen von störender Matrix abzutrennen, die durch das verwendete Methanol mitextrahiert wurde. Dies ist zum einen an der meist grünlichen Verfärbung und zum anderen auch an der dickflüssigen Konsistenz des Extraktes erkennbar. Durch die verschiedenen Lebensumstände stellt der Hausstaub eine sehr inhomogene Matrix dar. So variieren beispielsweise die Störungen durch Chlorophyll und andere pflanzliche Komponenten nach Anzahl und Art der Zimmerpflanzen. Das verwendete *Clean up* sollte dementsprechend nicht nur selektiv für die nachzuweisenden Analytsubstanzen sein, sondern auch bei sich ändernder Matrixzusammensetzung reproduzierbare Ergebnisse liefern.

Vorraussetzungen für das *Clean up* war, dass es möglichst ressourcenschonend und kostengünstig ist. Daher wurden bei weiteren Tests die Menge des Lösungsmittels und die Menge des Kieselgels für das *Clean up* untersucht. Hier zeigten sich für 1 g aktiviertes Kieselgel die besten Ergebnisse (die Wiederfindungsraten lagen zwischen 80 und 120%). Problematisch sind die Analytsubstanzen Bisphenol C2, G und PH. Sie lieferten lediglich Wiederfindungsraten von 55 bis 70 %. Die Gemeinsamkeit der drei Analyten mit niedriger Wiederfindung liegt in der Substitution am Phenylring in ortho-Stellung zur Hydroxylfunktion. Somit ist mitunter eine sterische Hinderung dieser Hydroxyl-Funktion möglich, sodass die Wechselwirkungen mit der Kieselgelphase geringer werden als für die anderen Analyten.

Nach dem Abrotieren des Methanols wird das Extrakt in einen 1 mL Maßkolben überführt. Davon werden 500 µl für das *Clean up* verwendet. Dieser wird auf eine Kieselgelphase aufgetragen, welche vorher mit 10 mL Hexan (Entfernung von unpolaren Störsubstanzen und Benetzen der Festphase) konditioniert wurde. Nach der Aufgabe des Extraktes wird die Säule mit 10 mL Hexan gewaschen, um unpolare Matrixbestandteile zu entfernen. Die Elution erfolgt dabei mit Hilfe von Methanol. Durch Hexan sind andere polare Matrixbestandteile nicht entfernbar. Die Mobilisierung erfolgt gleichzeitig mit den Analytsubstanzen bei Elution mit Methanol. Die Elution mit Methanol an einem Hausstaub ist in Abb. 30 auf der nachfolgenden Seite erkennbar. Durch das Methanol wird auch polare Matrix mobilisiert. Dies ist an den verschiedenen Fronten ersichtlich.

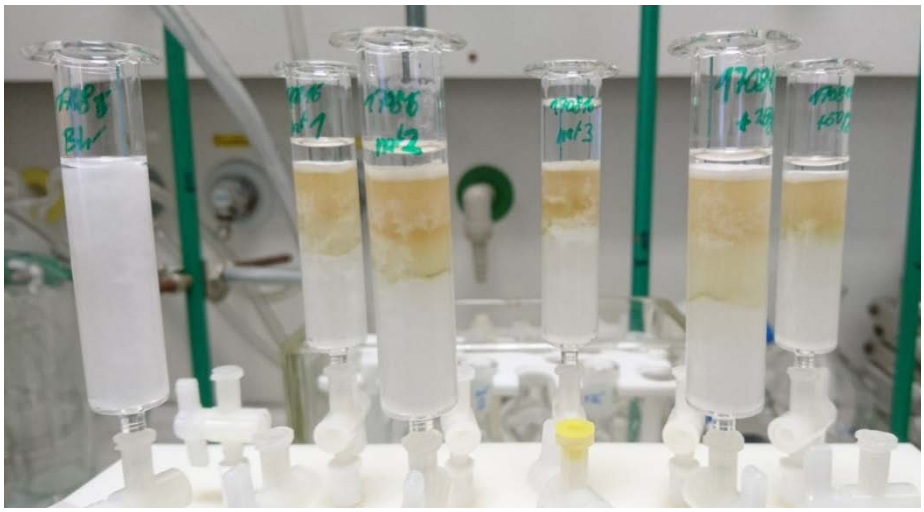


Abb. 30: SPE-*Clean up* mittels aktiviertem Kieselgel, Elution mit Methanol

Es muss entweder die Extraktion so gewählt werden, dass die Matrix diskriminiert werden kann, oder das *Clean up* muss variiert werden. Die Extraktion ist mit Methanol als Lösungsmittel nach den oben genannten Schritten festgelegt. Andernfalls wäre hier schon mit einem Verlust und keiner erschöpfenden Extraktion der Analytsubstanzen zu rechnen. Beim *Clean up* muss also im ersten Schritt die unpolare Matrix entfernt werden. Danach muss die Elution so polar gewählt werden, dass gerade die Bisphenole wieder eluieren, die polare Matrix aber an der Kieselgelphase adsorbiert bleibt.

Methanol als Elutionsmittel ist nicht geeignet, da polare Matrixbestandteile ebenfalls mit den Analytsubstanzen eluiert werden. Aceton als Elutionsmittel lieferte keine vollständige Elution aller Bisphenole. Durch ein 1:1-Gemisch aus Aceton/Hexan als Elutionsmittel konnte in Vorversuchen gezeigt werden, dass eine Elution der Analyten möglich ist. Gleichzeitig bleiben Matrixbestandteile in der Festphase zurück, da sie polarere Elutionsmittel benötigen.

Weitere Tests wurden mit Aceton/Hexan als Elutionsmittel durchgeführt. Hierbei zeigte sich, dass die Analytsubstanzen auch durch dieses Methode eluiert wurden, dennoch konnte auch hiermit die störende Matrix größtenteils nicht entfernt werden. Besonders das Chlorophyll war auch in den *Clean up*-Extrakten noch an der grünen Farbe erkennbar. *Scan*-Messungen mit der GC-MS/MS lieferten die in Tab. 16 (S. 70) aufgelisteten Störsubstanzen, die noch vorhanden waren und mittels Massenspektrum und Vergleich der NIST-Datenbank identifiziert werden konnten.

Tab. 16: Detektierte Substanzen nach NIST-Datenbank-Vergleich

Verbindung	**CAS-Nummer**
Ölsäure (methyliert)	112-80-1
Dehydroabietinsäure (methyliert)	1740-19-8
Abietinsäure (methyliert)	514-10-3
Cholesterol (methyliert)	57-88-5

Zur Entfernung von Farbstoffen wie Chlorophyll konnte graphitierter Ruß verwendet werden. An diesem Material adsorbieren die Farbstoffe und können so zurück gehalten werden. In Kombination mit Natriumsulfat als Trocknungsmittel entstand so eine geschichtete Kartusche [69]. In nachfolgender Abb. 31 ist die verwendete geschichtete SPE während der Elution dargestellt.

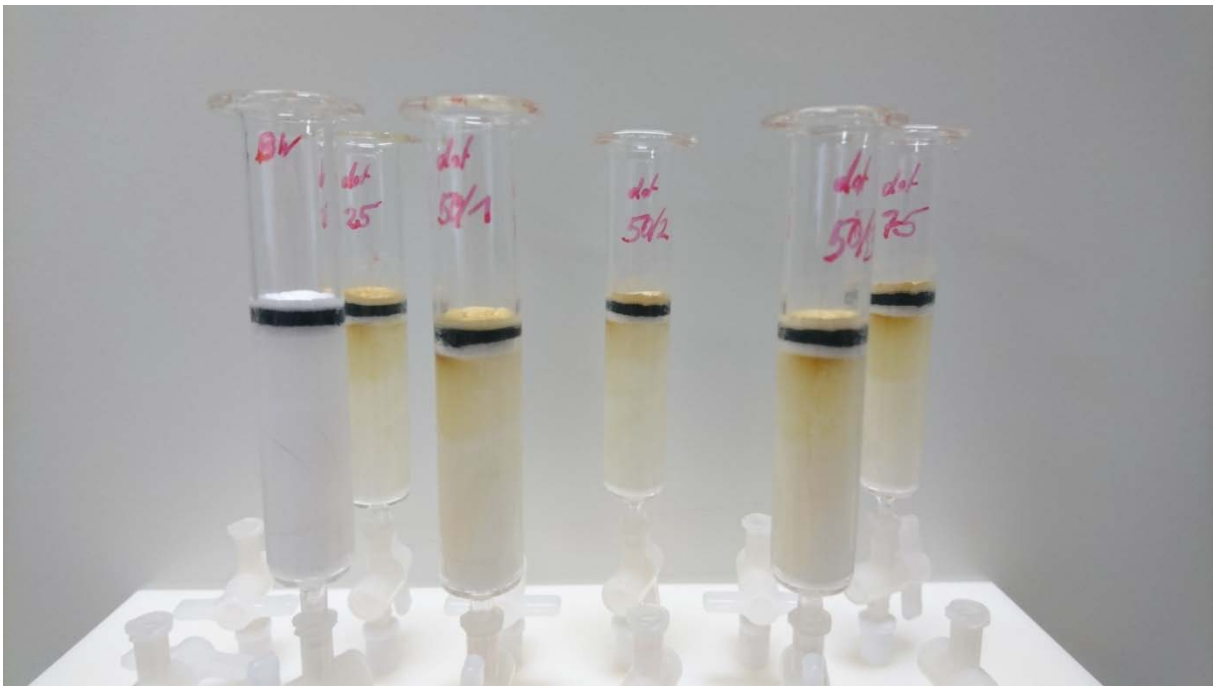


Abb. 31: SPE-*Clean up* mittels aktiviertem Kieselgel und GCB

Graphitierter Ruß ist ähnlich der Graphitstruktur in Schichten aufgebaut. Dieser wird technisch aus Öl oder Ethin durch unvollständige Verbrennung hergestellt. Durch eine anschließende Wärmebehandlung wird dann daraus graphitierter Ruß hergestellt [70]. Dadurch entsteht eine hochreine Oberfläche, an der Matrix durch vorrangig van-der-Waals-Wechselwirkungen adsorbieren können. Durch die geschichtete Struktur adsorbieren planare Bestandteile. Dadurch können Farbstoffe und pflanzliche Matrixkomponenten entfernt werden. In der vorliegenden Arbeit wurde das GCB eingesetzt, um das im *Full Scan* ermittelte

Chlorophyll entfernen zu können. In Abb. 30 auf Seite 69 ist ersichtlich, dass ohne Verwendung von GCB der grüne Pflanzenfarbstoff an der ersten Front miteluiert wurde. Dies konnte durch die Verwendung von GCB in Abb. 31 auf Seite 70 vermieden werden. Die optimierten Parameter sind im Aufarbeitungsschema in Abb. 35auf Seite 76 aufgeführt.

4.4.3 Einsatz eines *Keepers* bei der Aufarbeitung

Eine weitere Unsicherheit in der Methodenentwicklung ist die Entfernung des Lösungsmittels vor den weiteren Aufreinigungsschritten. Durch den Dampfdruck jeder Analytsubstanz besteht die Möglichkeit, dass bei der Vakuumdestillation vom Lösungsmittel Verluste durch Verschleppen entstehen können. Die Zugabe eines *Keepers* könnte diese Verluste verhindern bzw. minimieren. Ein *Keeper* besitzt eine höhere Siedetemperatur als das verwendete Lösungsmittel, aber ähnliche Lösemitteleigenschaften. Somit können sich die Analytsubstanzen im *Keeper* lösen und werden nicht fälschlicherweise mit dem Lösemittel "mitgeschleppt", was zu verminderter Wiederfindung führen kann. Da das Extraktionsmittel Methanol ist, sollte es sich bei dem *Keeper* also um einen Alkohol mit ähnlichen Lösungseigenschaften handeln. Die Wahl fiel deshalb auf n-Propanol und iso-Propanol. Die Versuche sind nachfolgend dargestellt.

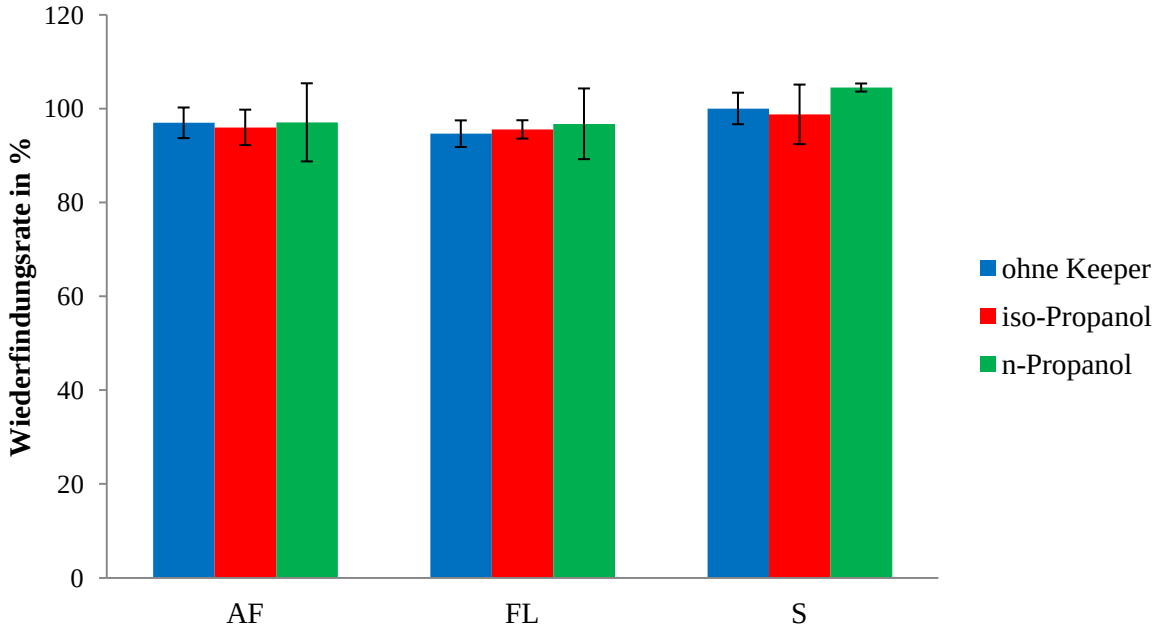


Abb. 32: Wiederfindungsraten beim Abrotieren mit und ohne Einsatz eines *Keepers*

Beim Abrotieren des Lösungsmittels wurden keine Verluste im inakzeptablen Bereich festgestellt. Im Vergleich mit iso-Propanol ergeben sich keine Verbesserungen oder Verschlechte-

rungen der Wiederfindung. n-Propanol liefert tendenziell leicht höhere Wiederfindungen, diese stehen aber in keinem Verhältnis zum Aufwand. Deshalb wurde bei der weiteren Methodenentwicklung auf Zusätze von *Keepern* verzichtet.
Für weitere Versuche wird also die bisher ermittelte Methodik genutzt, um diese auf Realproben anzuwenden und die Nutzbarkeit zu untersuchen.

4.4.4 "Sonderfall Bisphenol C": Diskussion um "selektive" Übergänge

Wie wichtig die Abtrennung störender Matrixkomponenten und die Wahl von spezifischen Übergängen der einzelnen Analyten ist, zeigte sich bei der Anwendung der optimierten Methode auf reale Hausstaubproben. Die Erstellung einer MRM-Methode erfolgte mit der Auto-SRM-Möglichkeit, welche von der Thermo Scientific-Methode zur Verfügung gestellt wurde. Dabei wurde im ersten Schritt ein *Full Scan* der Standardsubstanz von Bisphenol C durchgeführt. Das Programm zeigt die intensivsten Massenfragmente an. Für Bisphenol C ergab sich das Masse-zu-Ladungsverhältnis von 238,1 als intensivstes Precursor-Ion. Im nächsten Schritt wurde dieses Ion fragmentiert. Dabei entstanden Produkt-Ionen-Fragmente, welche wiederum nach der Intensität geordnet aufgezeigt werden. Den Schluss bildet die Optimierung der Kollisionsenergie, um die größtmögliche Ausbeute für den gewählten Übergang zu erzielen.
Das Precursor-Ion muss nicht zwangsweise das Molekülradikalkation sein, da in der ersten Ionisierung standardisiert 70 eV in der GC-MS eingesetzt werden. Dadurch ist das Molekülradikalkation mitunter nicht das intensitätsstärkste Ion im Massenspektrum. Für das konkrete Beispiel von Bisphenol C soll die Wahl des Übergangs deutlich werden:
Zur Ermittlung des SRM-Übergangs wurde eine Standardlösung von Bisphenol C vermessen. Nach der Derivatisierung mit TMSH ergab sich der Übergang von m/z 238,1 zum m/z 152,1 und m/z 238,1 zum m/z 223,1. Dabei ist das Masse-zu-Ladungsverhältnis von 238,1 durch zwei i-Spaltungen von Chlor aus dem Molekülradikalkation entstanden. Bei der Messung von aufgearbeiteten Hausstaubproben wurden hier Matrixeffekte deutlich, welche eine Quantifizierung nicht möglich machten. Somit ist zu sagen, dass die Masse-zu-Ladung 238 auch als Interferenz in der Matrix vorhanden ist. Der Selektivitätsgewinn bei einem SRM-Übergang ist damit hinfällig, weil das Precursor-Ion auch als Interferenz vorhanden ist.
Die nachfolgende Abb. 33 soll dies verdeutlichen. Hier wurde eine aufgearbeitete Hausstaubprobe dotiert. Die störende Matrixkomponente unterscheidet sich nur marginal von der des Analyten, somit wäre eine eindeutige Quantifizierung nicht mehr gewährleistet.

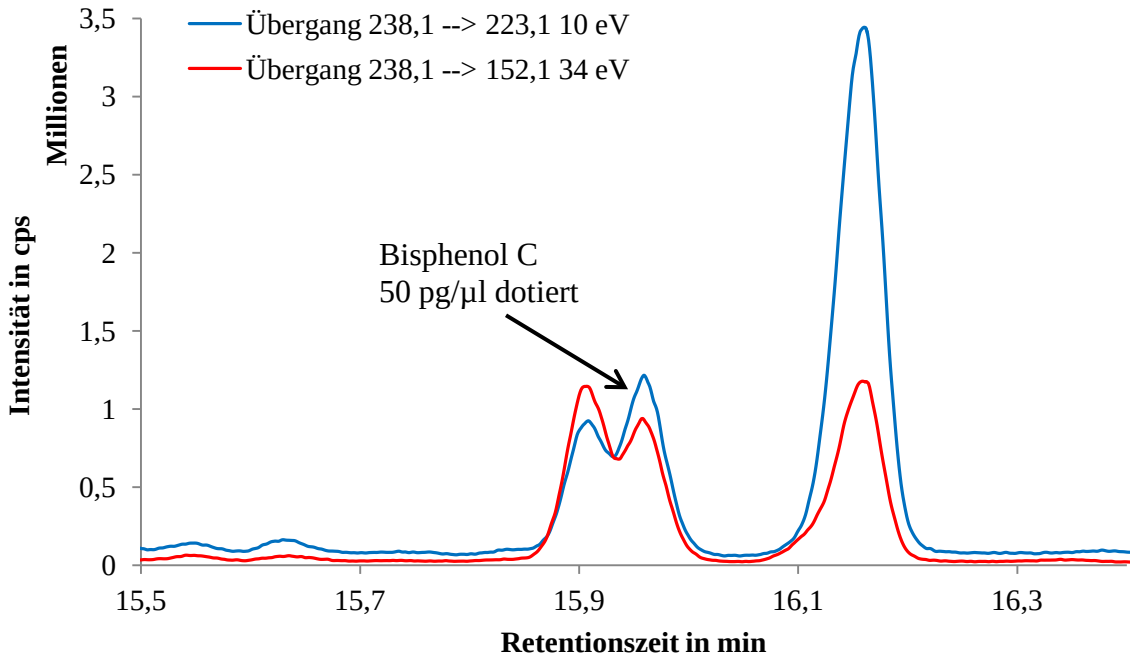


Abb. 33: Interferenzprobleme bei ausgewählten Übergängen für Bisphenol C

Die Wahl eines selektiveren Übergangs war somit notwendig. Es wurde daher das Molekülion als Precursor gewählt, obwohl die Intensität geringer ist, als das zuvor ausgewählte Massenfragment. Die Übergänge ergaben sich zu m/z 308,1 zum m/z 223,1 und m/z 308,1 zum m/z 238,1. Hierbei ist deutlich gezeigt, dass ein intensiver Übergang in der Standardlösung noch nicht für die endgültige Methode geeignet sein kann. Wählt man das falsche *Precursor*-Ion aus, so wird der Übergang nicht selektiv genug sein, um eine matrixfreie Quantifizierung durchführen zu können und man erhält falsch-positive Ergebnisse. Durch die Nutzung des Molekülions als *Precursor* wird der Übergang wieder selektiv und das Problem tritt nicht mehr auf. Bei den anderen untersuchten Bisphenolen wurden ebenfalls die jeweiligen Molekülionen als *Precursor* für einen selektiven Übergang ausgewählt.

4.4.5 Wiederfindungsrate, Mess- und Methodenpräzision in Hausstaub

Die Wiederfindungsraten wurden an einer originalen Hausstaubprobe durchgeführt, welche mit 20 pg/µl des Mischstandards dotiert wurde. Diese Probe wurde sechs Mal eingewogen und nach der optimierten Hausstaubmethode aufgearbeitet. Nachfolgend sind in Abb. 34 auf Seite 74 die Wiederfindungen grafisch mit der ermittelten Methodenpräzision dargestellt.

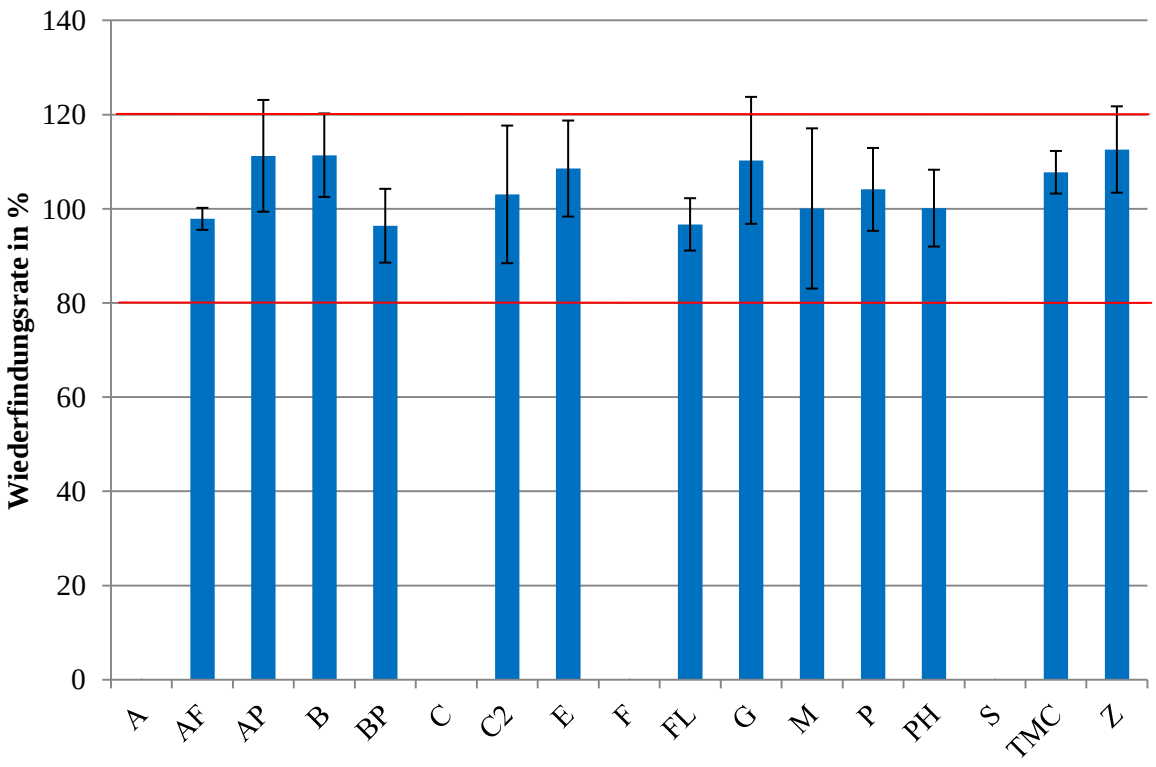


Abb. 34: Wiederfindungsrate der dotierten Hausstaubproben mit Methodenpräzision

Bisphenol A, Bisphenol F und Bisphenol S sind in der Bestimmung der Wiederfindungsrate nicht mit aufgeführt, da sie sich in der Hausstaubprobe befunden haben und somit ein verfälschtes Ergebnis ermittelt werden würde. Auch Bisphenol C wurde in der Hausstaubprobe detektiert und liefert somit leicht erhöhte Wiederfindungsraten und ist deshalb nicht aufgeführt. Alle Wiederfindungsraten befinden sich im akzeptablen Bereich von 80 bis 120 %. Somit ist die optimierte Hausstaubmethode gut für die Qualifizierung und Quantifizierung von Bisphenolen in Hausstaubproben geeignet. In der folgenden Tab. 17 auf der nachfolgenden Seite sind die Methodenpräzisionen noch einmal tabellarisch dargestellt. Hierbei werden alle Schwankungen innerhalb der gesamten Methode berücksichtigt. Da hier alle Präzisionen unterhalb von 20 % liegen, kann von einer präzisen Methode gesprochen werden.

Bisphenol A, S und F waren bereits in der untersuchten Probe vorhanden, deshalb war für die Quantifizierung im gewählten Kalibrationsbereich ein zusätzlicher Verdünnungsschritt notwendig, der zu einer geringen Verschlechterung der Präzision führte.

Tab. 17: Methodenpräzision für die Aufarbeitung von Hausstaub (in %)

A	AF	AP	B	BP	C	C2	E	F	FL
13,9	2,3	11,9	8,9	7,8	9,5	14,6	10,2	*17,8*	5,6
G	**M**	**P**	**PH**	**S**	**TMC**	**Z**			
13,5	17,0	8,8	8,2	*18,0*	4,5	9,2			

Die Messpräzisionen zeigen nur die Schwankungen innerhalb der Messung einer Probe an, dabei werden Aufarbeitungsschritte und die Extraktion nicht berücksichtigt. Es kommen nur die messtechnischen Unsicherheiten zum Tragen.

Tab. 18: Messpräzision für die Aufarbeitung von Hausstaub (in %)

A	AF	AP	B	BP	C	C2	E	F	FL
2,5	4,2	3,6	2,0	3,1	2,5	2,2	2,1	1,5	4,2
G	**M**	**P**	**PH**	**S**	**TMC**	**Z**			
2,5	4,1	4,8	6,7	4,0	3,1	3,4			

Der Erwartungswert der Bisphenole in Hausstaubproben ist sehr unterschiedlich. Bisphenol A ist bereits in einigen Studien untersucht wurden. Hier ergeben sich Gehalte von 50 bis 3870 ng/g. Für alle anderen Bisphenole existieren keine Erwartungswerte. Anhand der Produktionsmengen sind Bisphenol S und F in deutlich geringeren Gehalten vermutbar. Die restlichen Bisphenole sind nur im Ultraspuren- bis Spurenbereich zu erwarten. Somit ist eine hohe Anforderung an die Aufarbeitung sowie an die Messapparaturen gegeben. Des Weiteren wird es nötig sein, verschiedene Kalibrationsbereiche für die unterschiedlichen Erwartungswerte zu erstellen. Die Hauptbelastung sollte hier Bisphenol A darstellen, dennoch soll die Methode auch für Spurenbereiche der restlichen Bisphenole entwickelt werden. Die optimierte Methode für die Hausstaubaufarbeitung ist in Abb. 35 auf der nachfolgenden Seite abgebildet.

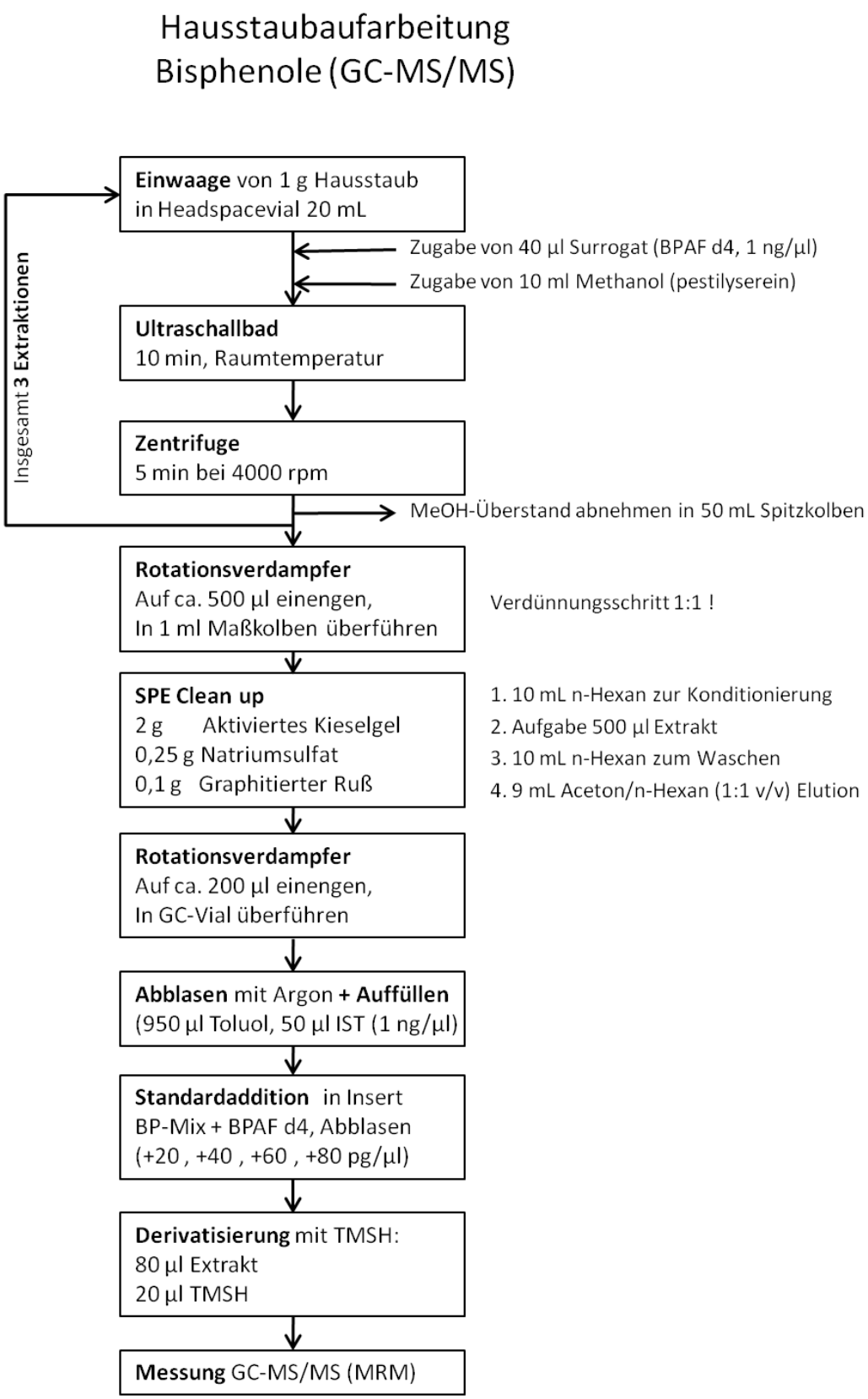


Abb. 35: Aufarbeitungsschema der Hausstaubproben

4.5 Methodenentwicklung für die Thermopapiere

4.5.1 Methodenoptimierung

Die Methodenentwicklung zur Quantifizierung von Bisphenolen in Thermopapier erfolgte aus den Betrachtungen und Entwicklungen für die Hausstaubmethode. Da eine 10-minütige Ultraschallextraktion für die Hausstaubproben ausreichend war, wurden die Thermopapierproben auch mit dieser Methode extrahiert. Dabei konnte auf eine wiederholte Extraktion verzichtet werden. Die Bisphenole liegen als Entwicklersubstanz innerhalb der thermoaktiven Schicht des Thermopapieres ungebunden vor. Somit sind die Analytsubstanzen im Vergleich zu anderen Matrices deutlich leichter zugänglich.

Ein *Clean up* war aber auch für die Thermopapierproben notwendig, da bei der Extraktion mit Methanol auch der Farbstoff extrahiert wird, welcher anschließend in der chromatographischen Auswertung stört. Durch das Methanol wird der Farbstoff in seine protonierte Form überführt. Dies war an der violetten Färbung des Methanol-Extrakts erkennbar. Die Notwendigkeit eines *Clean ups* ist in Abb. 36 erkennbar. Hier wurde ein Chromatogramm des Extraktes ohne weitere Aufreinigungsschritte aufgenommen (blaues Chromatogramm). Unter diesen Bedingungen ist keine Quantifizierung möglich, da der Farbstoff und andere Matrixbestandteile stören, die ebenfalls eine Absorbanz bei der Wellenlänge von 230 nm aufzeigen. Im Vergleich dazu ist ein Chromatogramm mit Kieselgel als Aufreinigungsschritt aufgenommen (rotes Chromatogramm). Dadurch ist eine Quantifizierung der einzelnen Bisphenole möglich.

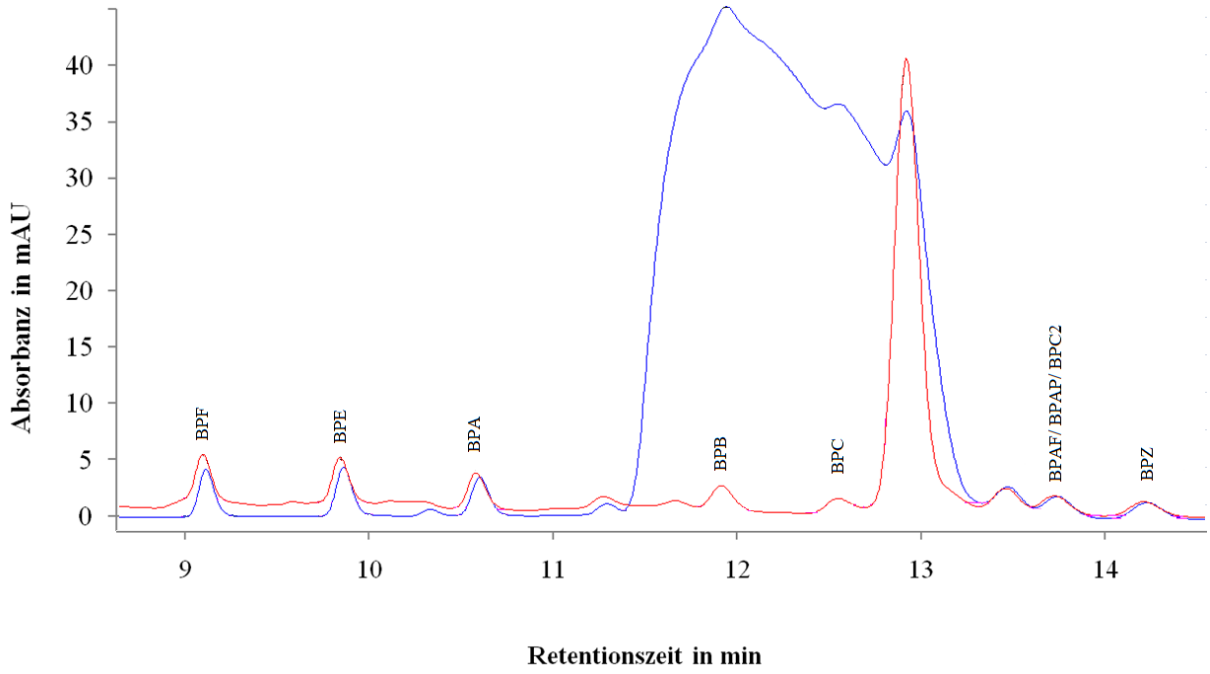


Abb. 36: Chromatogramm mit und ohne Kieselgel-*Clean up* (230 nm)

Die Entwicklung einer Kieselgelaufreinigung geht von der optimierten Aufreinigung für die Hausstaubproben aus. Dabei zeigten sich gute Ergebnisse mit aktviertem Kieselgel als Festphasenmaterial. Das GCB sollte den verwendeten Farbstoff zurück halten, da dieser das Chromatogramm störte. Der Einsatz von 1 g Kieselgel wegen der vermuteten geringeren Matrixbelastung und zur Reduzierung des Materialverbrauchs war nicht möglich. Hier gab es bei der Auswertung des Chromatogramms Interferenzen, welche eine Integration nicht möglich machten. Auf Natriumsulfat wurde verzichtet, da nicht von einer Wasserbelastung der Thermopapiere ausgegangen wird.

Bei ersten Testversuchen mit einer Aufreinigung nach dem Schema der Hausstaubproben konnten nur geringe Wiederfindungsraten der Analytsubstanzen festgestellt werden. Besonders Bisphenol S stellte sich als schwierig heraus. Hier wurden die größten Verluste innerhalb der Aufarbeitung festgestellt. Deshalb ist der Einfluss vom graphitiertem Ruß getestet worden. Ein Verzicht des GCB war aufgrund des Farbstoffes nicht möglich. Dieser eluierte ohne GCB-Einsatz mit den Analytsubstanzen und konnte so nicht entfernt werden. Der Einfluss von GCB auf die Wiederfindungsraten ist in Abb. 37 gezeigt. Die Ergebnisse stammen dabei aus Tests ohne Mehrfachbestimmung.

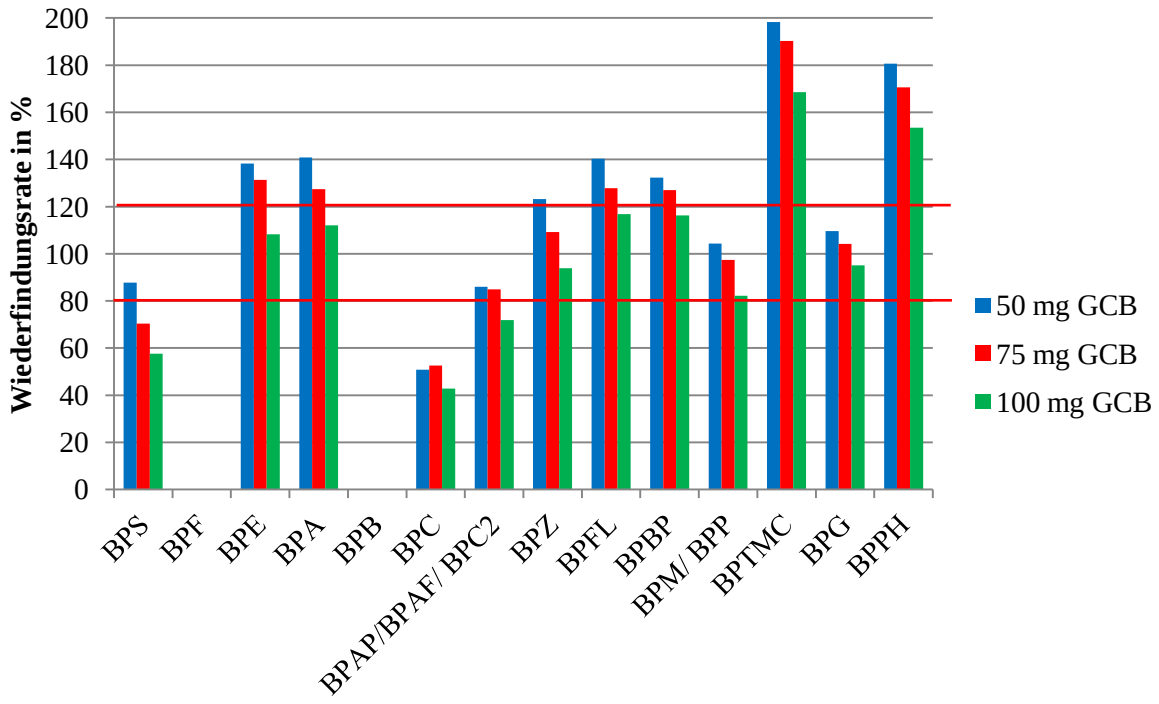


Abb. 37: Wiederfindungsrate bei Variation der Menge an graphitiertem Ruß

Bisphenol F und Bisphenol B befinden sich genau im Bereich der Störungen durch die Matrix, daher konnten sie bei der Betrachtung nicht berücksichtigt werden. Die Überbefunde von

Bisphenol TMC und Bisphenol können nur durch Matrixprobleme erklärt werden. Durch das GCB werden auch die Bisphenole teilweise zurück gehalten und adsorbieren am Material. Dadurch sind geringere Wiederfindungsraten feststellbar. Dieser Effekt steigt mit dem Einsatz des GCB. So sind bei Einsatz von 100 mg Ruß bis zu 40 % geringere Wiederfindungsraten als bei halber GCB-Einwaage feststellbar. Es ist somit ein möglichst geringer Einsatz dieses Materials gefordert, um die Verluste bei der Aufarbeitung so gering wie möglich zu halten. Trotzdem muss der Farbstoff komplett entfernt werden, da er sonst die Quantifizierung stören würde. Für weitere Untersuchungen wurde mit einer Einwaage von 50 mg GCB gearbeitet.
Die Elution mit einem 1:1-Gemisch von Aceton/Hexan führte für Bisphenol S ebenfalls zur Verringerung der Wiederfindungsrate. Für alle anderen Bisphenole reicht die Elutionskraft dieses Gemisches aus, um zu zufriedenstellenden Ergebnissen zu führen. Bisphenol S konnte wie in Abb. 38 gezeigt, nur mit schlechten Wiederfindungsraten von 40 bis 50 % wiedergefunden werden. Hier ist also ein stärkeres Elutionsmittel notwendig, um auch Bisphenol S quantifizieren zu können.

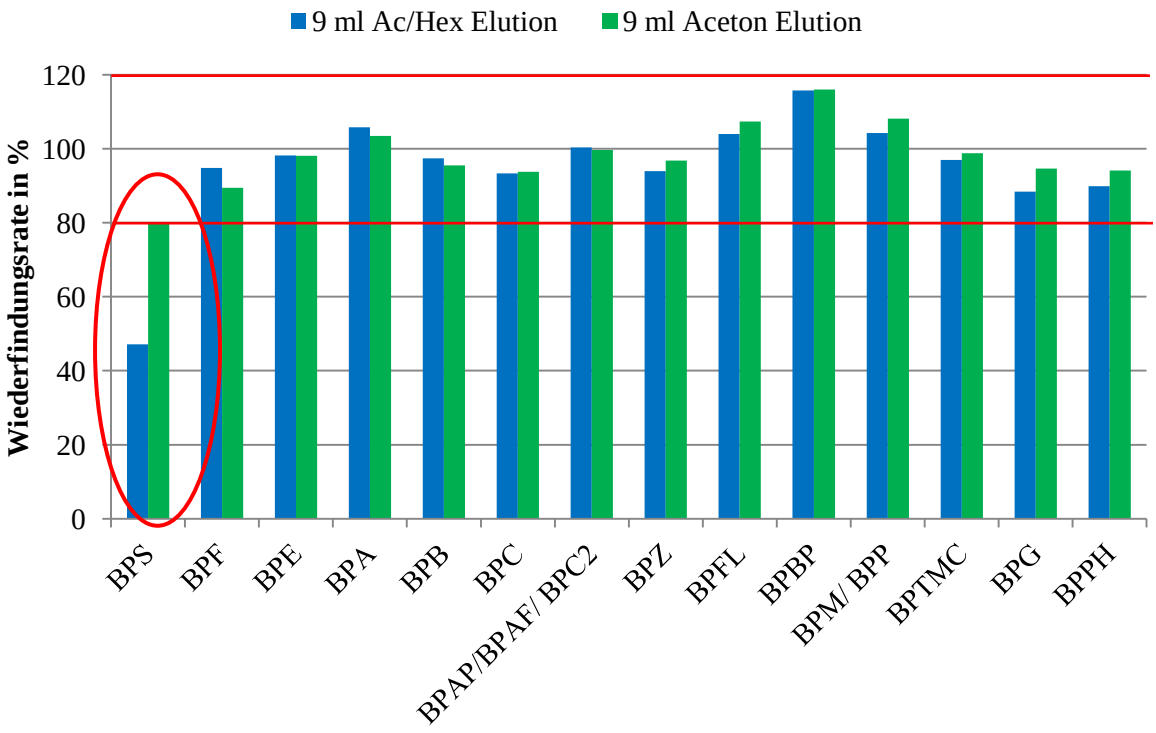


Abb. 38: Wiederfindungsrate bei Variation der Elutionsmittelstärke

Durch den Einsatz von reinem Aceton konnte die Wiederfindungsrate von Bisphenol S auf circa 80 % gesteigert werden und liegt somit im akzeptablen Bereich.

Diese Variation ergibt eine optimierte Aufreinigung für Bisphenole in Thermopapier. Die Wiederfindungsraten der optimierten Methode sind nachfolgend in Abb. 39 aufgeführt. Hierzu wurde Thermopapier, welches keine Bisphenole enthielt, mit einem Bisphenol-Stammmix dotiert und aufgearbeitet. Die Wiederfindungen befinden sich im akzeptablen Bereich von 80 bis 120 %.

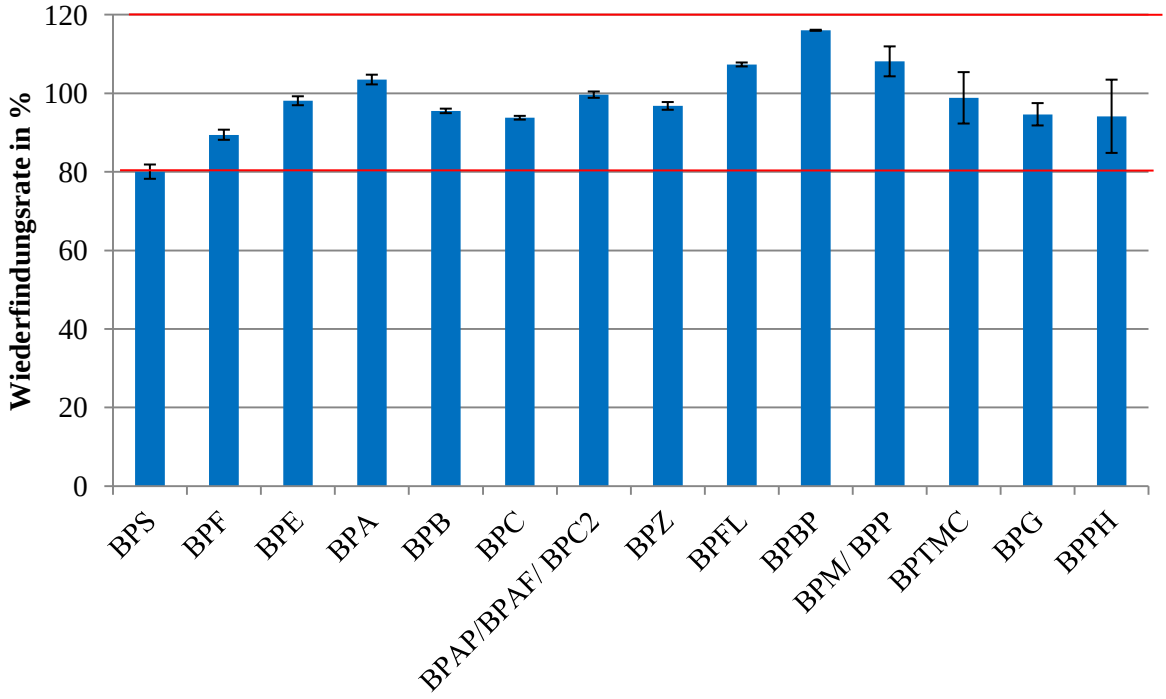


Abb. 39: Wiederfindungsrate der dotierten Thermopapierproben mit Standardabweichung

Die im Rahmen der Dissertation erstellte Methode zur Extraktion und Aufreinigung der Bisphenole in Thermopapier ist in Abb. 40 auf Seite 81 schematisch dargestellt. Die Extraktion der zerkleinerten Thermopapierproben erfolgte dabei unter Zugabe von 10 mL Methanol in einem Headspace-Vial mittels Ultraschall. Um störende Schwebstoffe, den Farbstoff und weitere Matrixbestandteile abzutrennen, wurde der Extraktionsansatz zunächst zentrifugiert und anschließend ein Aliquot von 100 µL dem Clean up mittels Minikieselgelkartusche zugeführt. Nach Elution der Bisphenole wurde der gereinigte Extrakt am Rotationsverdampfer aufkonzentriert, danach mit Methanol auf ein definiertes Volumen eingestellt und abschließend mittels HPLC-DAD/FLD vermessen.

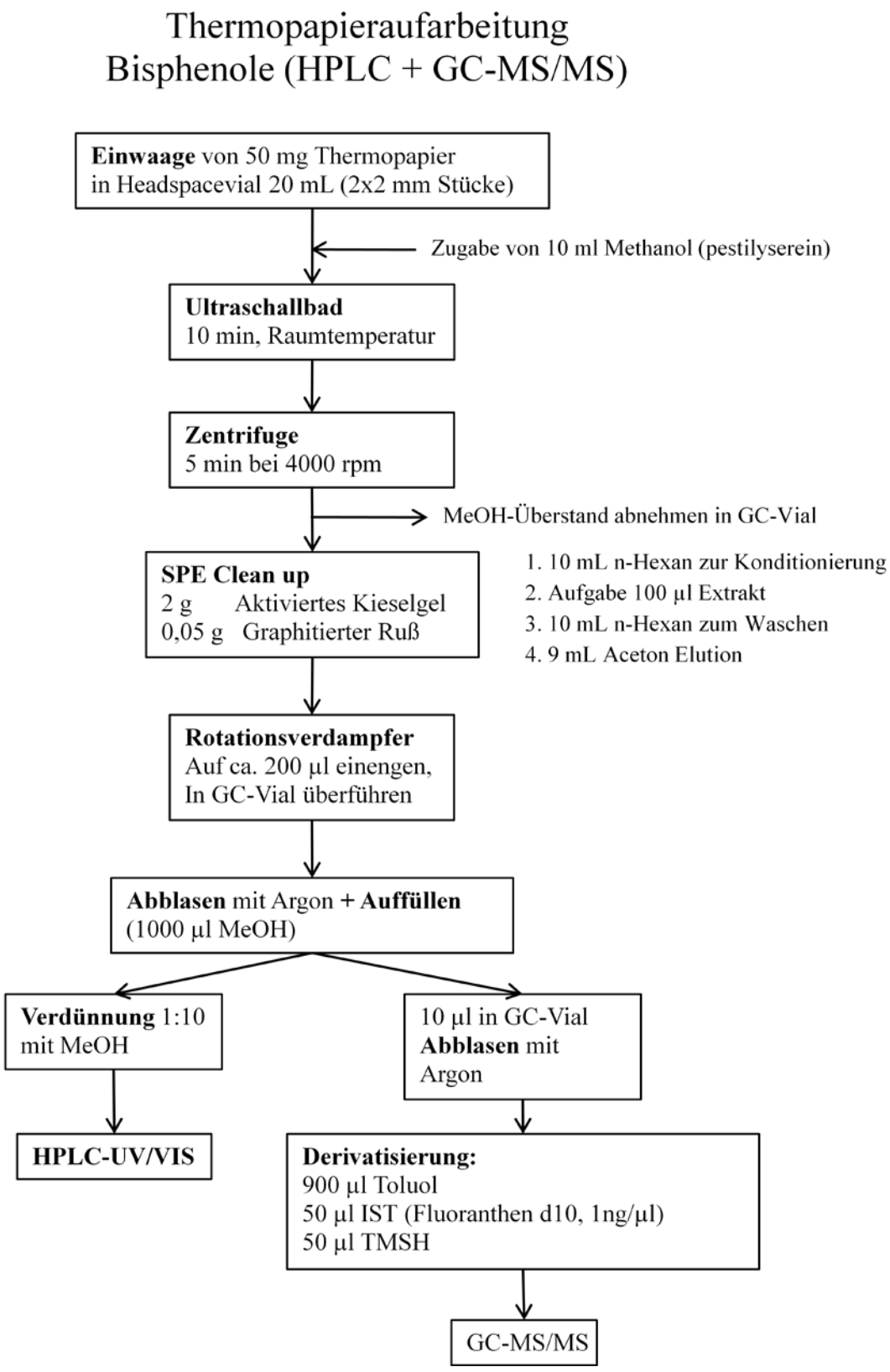


Abb. 40: Aufarbeitungsschema für die Messung von Bisphenolen in Thermopapier

Für eine weiterführende Analyse mit der entwickelten und empfindlicheren GC-MS/MS-Methode mussten die Lösungen um einen Faktor 10 verdünnt und anschließend derivatisiert werden.

4.6 Migrationsuntersuchungen an Trinkflaschen

4.6.1 SPE-Methodenentwicklung

Die SPE (*solid phase extraktion*) ist eine geeignete Extraktionsmethode für Analyten aus flüssigen Matrices. Hierbei adsorbieren die Analytsubstanzen an dem gewählten SPE-Material und können so von störenden Matrixinterferenzen und dem flüssigen Kompartiment getrennt werden. Dadurch ist eine Anreicherung des Analyten möglich. Im konkreten Fall wurde die SPE benutzt, um die Analytsubstanzen aus den Migrationslösungen anreichern zu können und somit niedrigere Nachweis- und Bestimmungsgrenzen zu erreichen. Durch den sukzessiven Ersatz und Vorsorgeverbote von Bisphenol A in Säuglingsflaschen drängen neue BPA-freie Produkte auf den Markt. Um die Bisphenole in geringen Konzentrationen bei Migrationslösungen untersuchen zu können, ist die Festphasenextraktion als Anreicherungsmethode optimal geeignet.

Für eine erfolgreiche SPE sollte die Wiederfindungsrate der Analyten etwa 80 bis 120 % betragen. Dafür müssen die vier Schritte der SPE optimiert werden. Diese bestehen im Wesentlichen aus der Konditionierung der SPE-Phase, der Beladung des Materials mit den zu untersuchenden Substanzen, anschließend eventuell einem Waschschritt und zum Abschluss dem Eluieren der Analytsubstanzen vom SPE-Material. Als Erstes sollte in Vorversuchen ermittelt werden, welches Material am besten für die Extraktion von Bisphenolen aus wässrigen Matrices geeignet ist. Des Weiteren ist wichtig, ob die Analyten an dem Material adsorbieren und anschließend wieder mit einem Lösemittel vom SPE-Material eluiert werden können.

Die in Tab. 19 ersichtlichen SPE-Materialien wurden zur Testung benutzt.

Tab. 19: Verwendete SPE-Materialien zur Methodenentwicklung

Hersteller	**Bezeichnung**	**Materialart**
Macherey Nagel	Chromabond® C18 ec	C18 Material, Kieselgel
Macherey Nagel	Chromabond® C_6H_5	Phenyl-Phase
Macherey Nagel	Chromabond® HR-P	Polystyrol-Divinylbenzol Copolymer
Macherey Nagel	Chromabond® Easy	Polystyrol-Divinylbenzol Copolymer
Agilent	Bondesil PPL	Polystyrol-Divinylbenzol Copolymer
Agilent	Bond Elut PLEXA	Polymer-Material

Bei der Konditionierung wurde für alle Materialien gleich verfahren. Um die hydrophobe Barriere zu durchbrechen, wurde von einem unpolaren Lösemittel bis hin zu Wasser, welches mit Salzsäure auf einen pH-Wert von 2 angesäuert wurde, benutzt. Die Reihenfolge ist hierbei:
5 mL n-Hexan → 5 mL Ethylacetat → 10 mL Methanol → 10 mL bidest. Wasser (pH = 2).
Zur Untersuchung des Elutionsverhaltens wurden die Säulen jeweils konditioniert und die Mischstammlösung (Endkonzentration: 50 pg/µl) direkt auf die konditionierte Säule pipettiert. Anschließend wurden Fraktionen von 1,5 ml in jedes GC-Vial genommen, bis ins Trockene abgeblasen und mit TMSH derivatisiert. Es zeigte sich, dass die besten Ergebnisse mit Methanol und Aceton erzielt wurden. Die Elution erfolgt mit 4 ml Methanol/Aceton-Gemisch im Volumenverhältnis 1:1. Die Festphasenmaterialien Bondesil PPL und Bond Elut PLEXA der Firma Agilent lieferten die besten Wiederfindungsraten. Das PPL-Material liefert sowohl für die polaren, als auch für unpolare Analyten gute Wiederfindungsraten. Dies gelang bei den "klassischen" Materialien wie C18 *endcapped* und Phenylphase nicht in vollem Maße. Hierbei werden polare oder unpolare Analytsubstanzen diskriminiert und so ist keine Analytanreicherung für die komplette Bandbreite möglich. Die Endergebnisse sind in Tab. 20 dargestellt.

Tab. 20: Wiederfindungsraten der SPE-Materialien mit dotiertem Wasser (in %)

	C18ec	C_6H_5	HR-P	*Easy*	Plexa	PPL
Bisphenol A	124	122	132	123	100	105
Bisphenol AF	95	95	109	107	99	99
Bisphenol AP	132	132	71	93	117	117
Bisphenol B	103	101	96	98	101	101
Bisphenol BP	125	127	43	71	101	101
Bisphenol C2	102	93	92	88	97	95
Bisphenol C	118	110	95	97	118	118
Bisphenol E	100	92	98	94	96	96
Bisphenol F	103	45	109	99	103	101
Bisphenol FL	112	132	38	64	102	105
Bisphenol G	95	77	78	82	85	81
Bisphenol M	123	132	65	83	94	94
Bisphenol P	115	122	32	60	88	91
Bisphenol PH	89	95	14	35	84	60
Bisphenol S	119	43	117	135	106	107

Fortsetzung Tab.20: Wiederfindungsraten der SPE-Materialien mit dotiertem Wasser (in %)

Bisphenol TMC	123	113	74	92	91	90
Bisphenol Z	123	122	72	83	113	111

4.6.2 Methodenentwicklung für Simulanzlösungen

Für die Migrationsuntersuchungen von Lebensmittelkontaktmaterialien aus Kunststoff findet die Verordnung (EU) Nr. 10/2011 Anwendung. ("über Materialien und Gegenstände aus Kunststoff, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen"). In dieser Verordnung sind sowohl die Standardbedingungen, als auch die Simulanzlösungen für verschiedene Lebensmittelarten festgehalten und standardisiert. Bei der Untersuchung der nachfolgenden Trinkflaschen wurden deshalb diese Vorgaben angewendet. Für die Untersuchungen wurden deshalb wässrige Getränke sowie Säfte und Milchprodukte ausgewählt, um eine breite Aussagekraft zu erhalten. Diese Auswahl führte zu den verwendeten Simulanzlösungen. Dabei werden fettige Getränke, wässrige Getränke und auch Flüssigkeiten mit Säure berücksichtigt. Auch die Migrationsbedingungen sind hier vorgegeben. Als Mischkalkulation für eine tägliche Benutzung wurde eine Migration von 2 Stunden bei 70 °C durchgeführt. Hierbei werden "jegliche Kontaktbedingungen berücksichtigt, die eine Erhitzung auf 70 °C bis zu 2 Stunden lang oder auf 100 °C bis zu 15 Minuten lang umfassen und denen keine Langzeitlagerung bei Raumtemperatur oder unter Kühlung folgen." [71].
Hierbei wurden Simulanzlösungen mit 50 pg/µl Endkonzentration dotiert und genauso wie die späteren Migrationslösungen aufgearbeitet. Dabei wurden die nachfolgenden Wiederfindungsraten in einer Dreifachbestimmung ermittelt (siehe Abb. 41).

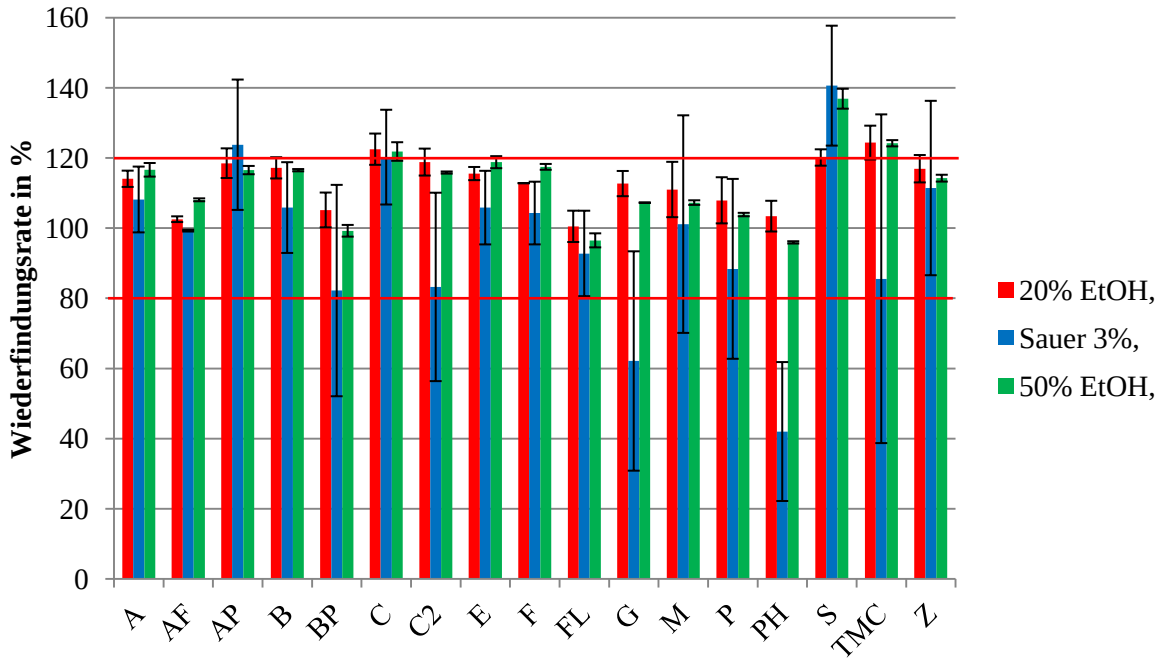


Abb. 41: Wiederfindungsraten der Methode mit dotierten Proben (Surrogat berücksichtigt)

Die untersuchten Trinkflaschen werden für Getränke und Milcherzeugnisse im Fall der Säuglingsflaschen genutzt. Die VO (EU) 10/2011 definiert für jeden Verwendungszweck Simulanzlösungen, die für den jeweiligen Bereich zur Simulation benutzt werden sollen. Für klare Getränke mit einem Alkoholgehalt von weniger als 6 Vol.-% werden daher Lösungen mit 20 Vol.-% Ethanol und 3 Gew.-% Essigsäure verwendet. Trübe Getränke, wie Säfte und Softdrinks mit Fruchtfleisch, werden mit 3 Gew.-% Essigsäurelösung und 50 Vol.-% Ethanollösung simuliert. Für Milcherzeugnisse, wie sie Säuglingsflaschen beinhalten, werden 50 Vol.-% Ethanollösung verwendet [8].

Die Zugabe von Salpetersäure auf einen pH-Wert von ca. 2 soll die Bisphenole in ihrer protonierten Form behalten und einen Durchbruch der Analytsubstanzen vermeiden. Hierbei zeigten sich jedoch erhöhte Standardabweichungen im Vergleich zu nicht angesäuerten Proben, sodass auf eine pH-Wert Einstellung im Vorfeld der SPE verzichtet wurde. Ein Ansäuern der Proben im Vorfeld war daher nicht notwendig.

Die Simulanzlösung mit 50 Vol.-% Ethanol muss vorher abrotiert werden, da der hohe Anteil an Ethanol in der Lösung zu einer Elution der Analytsubstanzen führt und somit die Wiederfindung stark sinkt. Für Simulanzlösungen mit 20 Vol.-% Ethanol ist dies nicht der Fall, hier kann eine SPE ohne vorheriges Abrotieren des Ethanols durchgeführt werden. Das Aufarbeitungsschema für die Migrationsuntersuchungen ist nachfolgend in Abb. 42 auf Seite 86 dargestellt.

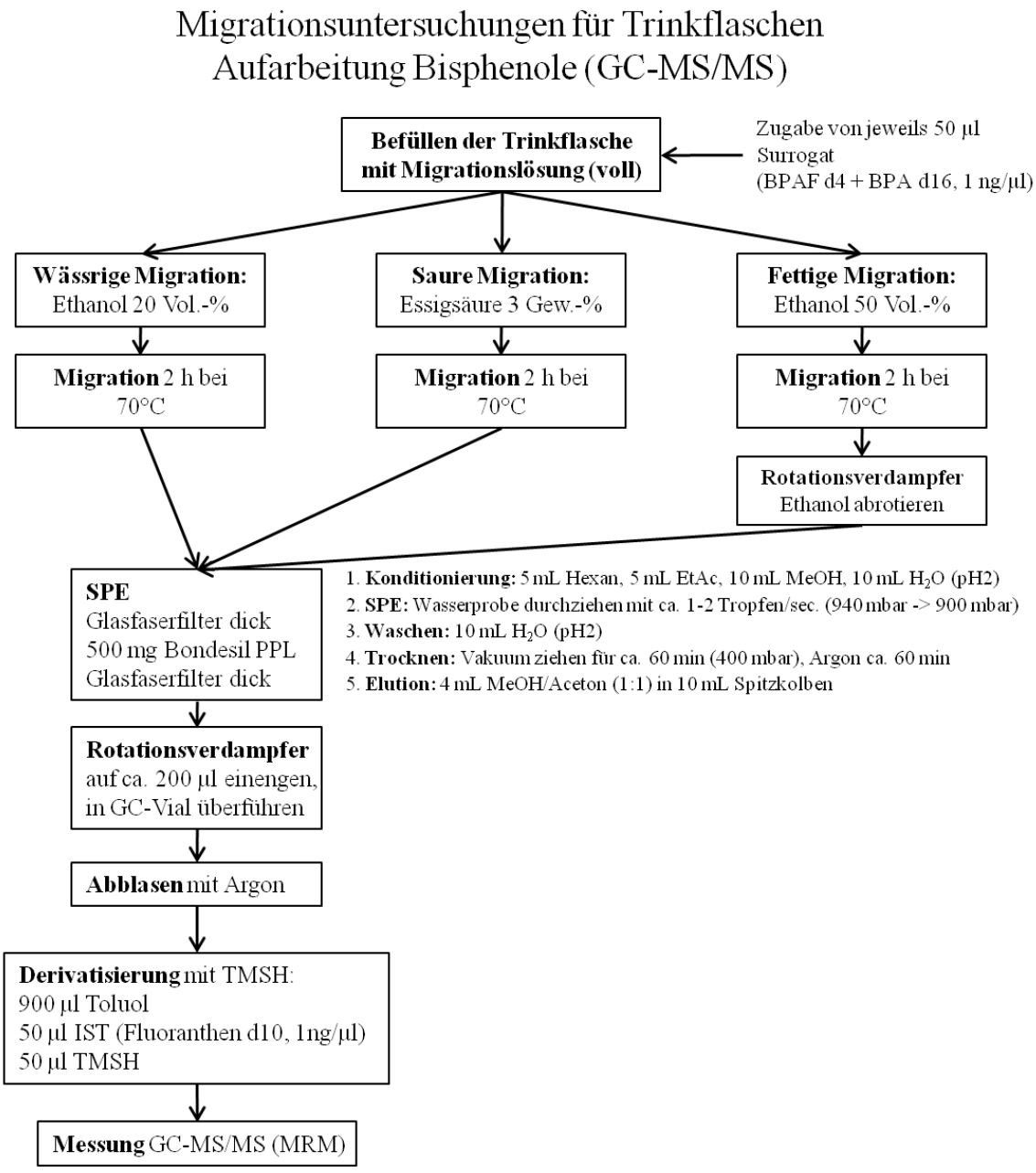


Abb. 42: Aufarbeitungsschema für die Migrationsuntersuchungen in Trinkflaschen

4.7 Ergebnisse der Hausstaubproben

Untersucht wurden insgesamt 19 Hausstaubproben aus Wohnungen und Häusern, welche in den Jahren 2017 und 2018 genommen wurden. Die Proben stammten aus handelsüblichen Staubsaugern und wurden entweder im Staubsaugerbeutel oder in einer PE-Tüte zugeschickt. Zu jeder Hausstaubprobe wurde ein Fragebogen ausgefüllt, der die aktuelle Wohnungssituation ermitteln sollte. Dabei wurden die Personen nach den in der Wohnung verwendeten Bodenbelägen und durchgeführten Sanierungsmaßnahmen befragt. Zur Ermittlung eventueller Punktquellen von Bisphenolen wurden auch spezifische Fragen gestellt. So könnte die Aufbewahrung von Thermopapier zu höheren Bisphenol-Gehalten im Hausstaub führen. Auch der Einsatz von PVC-Material als Bodenbelag kann so zu einem erhöhten Eintrag von Bisphenolen führen. Ein Musterfragebogen ist im Anhang (Abb. 54) auf Seite XVI ff. angefügt.

Von den ursprünglich gelieferten Proben konnten einige nicht zur weiteren Untersuchung verwendet werden, da hier keine ausreichende Menge der < 63 µm-Fraktion zur Verfügung stand. Zur Probenvorbereitung wurden die Proben zuerst durch ein 2 mm Retsch-Sieb und anschließend durch ein 63 µm Retsch-Sieb gesiebt und die ≤ 63µm-Fraktion für die weiteren Analysen verwendet, da hier der Hausstaub als homogen zu betrachten ist, wie aus Studien hervorgeht.

1 g des jeweiligen Hausstaubes wurde in ein Headspace-Vial eingewogen und 3-fach mit 10 ml Methanol im Ultraschallbad extrahiert. Die Ergebnisse sind in Abb. 43 auf der nachfolgenden Seite übersichtlich als Balkendiagramm dargestellt.

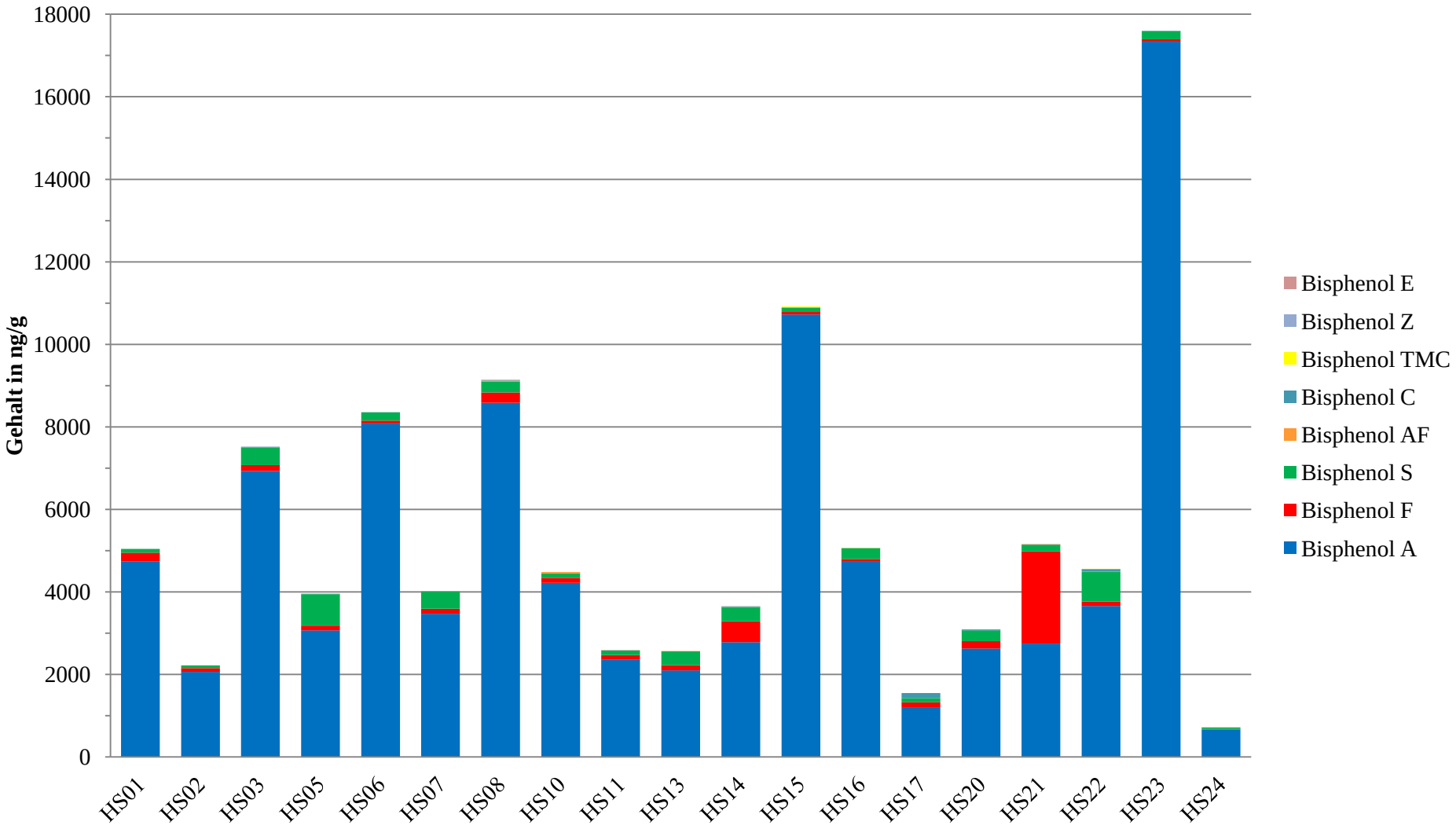
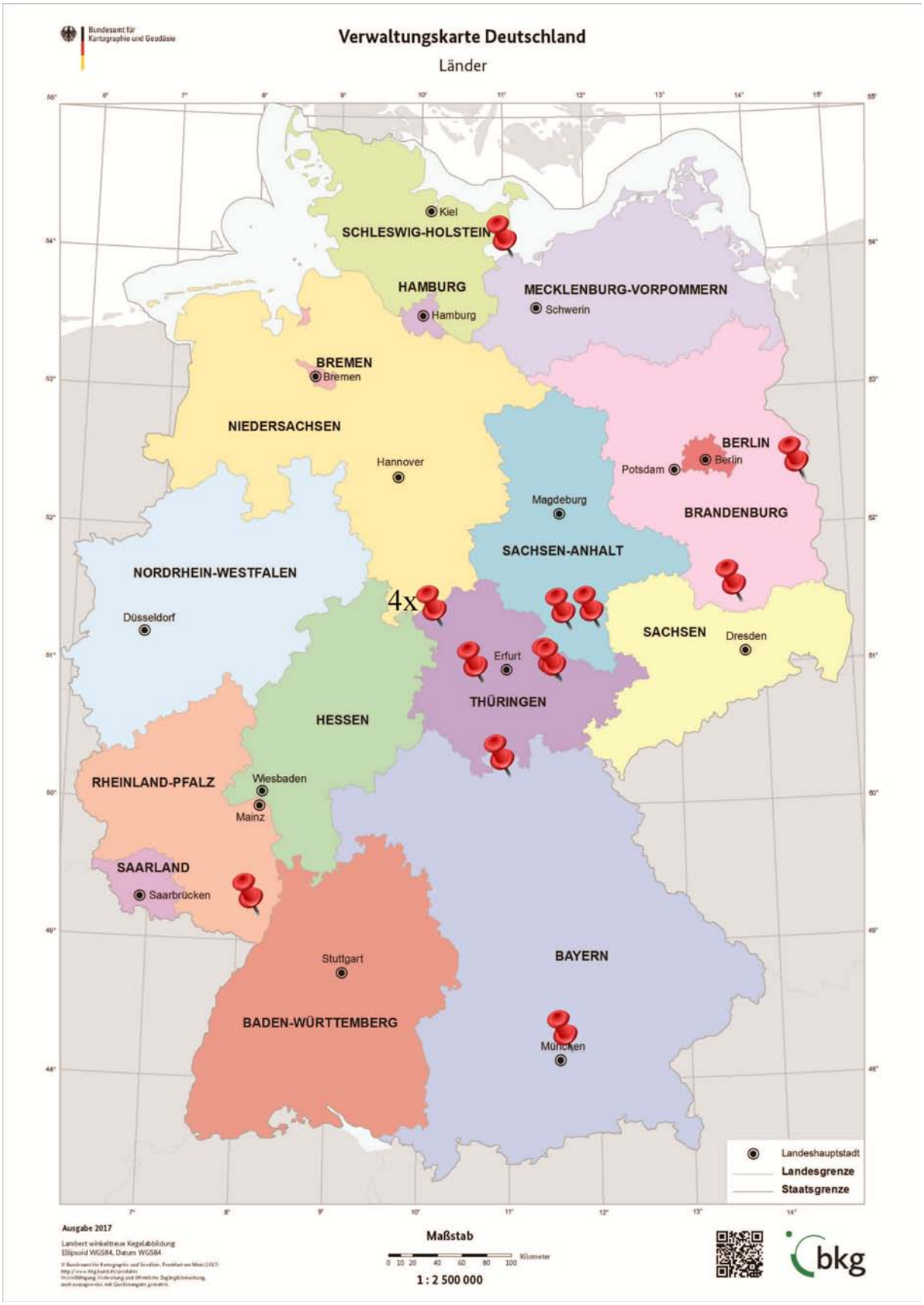


Abb. 43: Übersicht aller Bisphenole in Hausstaubproben

Erkennbar ist, dass die Bisphenol A-Belastung verglichen mit den anderen untersuchten Bisphenolen den Hauptanteil einnimmt. Durch seine hohen Produktionsmengen weltweit ist es mittlerweile zu einer ubiquitären Belastung geworden. Bisphenol A wurde in allen untersuchten Hausstaubproben detektiert. Die Gehalte variierten dabei von 660 bis zu 17340 ng/g. Der Median aller untersuchten Proben beträgt 3470 ng/g. Im Median bildet über 90% der Bisphenol-Belastung das Bisphenol A. Allerdings zeigt die Probe HS21 aus einem frisch renovierten Haus, dass Bisphenol A scheinbar durch andere Strukturanaloga wie Bisphenol F ersetzt wird. Hier war mit Abstand die größte Belastung durch Bisphenol F in allen Hausstaubproben feststellbar.

Durch den Fragebogen konnten keine Punktquellen in Verbindung mit Bisphenol A-belasteten Materialien wie PVC, Thermopapier oder Ähnlichem erkannt werden. Hierbei scheinen eine Reihe verschiedener Faktoren eine Rolle zu spielen, sodass keine direkte Korrelation zu einer bestimmten Lebensweise einem erhöhten Gehalt an Bisphenolen in Hausstaub bedingt. Um dies weiter zu untersuchen, bedarf es einem größeren Probenpool und Lokalisierung möglicher Punktquellen (Verwendung von Thermopapier, Einsatz von PVC-Material), die einen erhöhten Gehalt an Bisphenolen erklären. Die untersuchten Hausstaubproben stellen also eine stichpunktartige Belastungssituation in Deutschland und angrenzenden EU-Ländern dar. Eine Übersichtskarte in Abb. 44 auf der nachfolgenden Seite zeigt die Herkunft der untersuchten Hausstaubproben innerhalb von Deutschland.



(Eine Probe stammte aus Espoo in Finnland und eine Probe aus Wien in Österreich.)

Abb. 44: Herkunft der Hausstaubproben nach [72]

Zwischen den untersuchten Proben aus dem Ausland und Deutschland können keine gravierenden Unterschiede festgestellt werden. Dies lässt den Schluss zu, dass hier vorrangig die Lebensweise der Bewohner zur Bisphenol-Belastung führt und weniger Länderunterschiede eine Rolle spielen. Interessant ist der Vergleich mit dem Nicht-EU-Ausland. In einer Studie wurden acht Bisphenole in 12 unterschiedlichen Ländern miteinander verglichen [73]. Hier ist erkennbar, dass zwischen den Ländern deutliche Unterschiede feststellbar waren. Die Ergebnisse sind in Tab. 21 auszugsweise zusammen mit den Mittelwerten der eigenen Untersuchungen aufgeführt.

Tab. 21: Bisphenol-Konzentrationen in Hausstaub (ng/g) nach [73]

	BPF	BPA	BPB	BPS	BPZ	BPAP	BPAF	BPP
China	1,9	670	< 1	< 2	< 0,5	< 0,5	4,4	< 2
Kolumbien	69	420	< 1	3,7	< 0,5	< 0,5	4,3	< 2
Griechenland	5500	1700	< 1	1500	< 0,5	< 0,5	4,6	< 2
Indien	29	360	< 1	12	< 0,5	< 0,5	1,7	< 2
Japan	650	2800	< 1	440	< 0,5	< 0,5	4,8	< 2
Südkorea	1300	1100	< 1	8,8	< 0,5	< 0,5	2,6	< 2
Kuwait	78	390	< 1	38	< 0,5	< 0,5	3,2	< 2
Pakistan	56	100	< 1	10	< 0,5	< 0,5	1,3	< 2
Rumänien	41	680	< 1	380	< 0,5	< 0,5	0,88	< 2
Saudi Arabien	160	1100	< 1	110	< 0,5	< 0,5	2,5	< 2
USA	4400	3800	1,1	2,1	< 0,5	0,5	4,7	< 2
Vietnam	200	330	< 1	28	< 0,5	0,7	1,3	< 2
Eigene Ergebnisse	**249**	**4850**	**< 3**	**262**	**6,9**	**< 2**	**10**	**< 2**

(Die Ergebnisse sind die ermittelten arithmetischen Mittel.)

Innerhalb der Europäischen Union bzw. zwischen Industrienationen sind die Werte aber miteinander vergleichbar. Unterschiede ergeben sich besonders zwischen Industrie- und Entwicklungsländern. Hier ist zum einen die Lebensweise deutlich unterschiedlich. Zum anderen existieren in einigen Ländern keine Verbote von Bisphenol A, sodass hier auch keine Regulierung dieser Materialien stattfindet. Somit ist der Aspekt des sukzessiven Ersatzes von Bisphenol A gar nicht gegeben und es treten Strukturanaloga nicht oder nur in geringer Weise auf. Durch

eine geringere Verwendung von Polycarbonaten könnte auch die Bisphenol-Belastung deutlich geringer ausfallen.
Auch innerhalb eines Landes ist die Verteilung von Bisphenol A in den Hausstaubproben sehr inhomogen, wie beispielhaft die Werte in Tab. 22 zeigen.

Tab. 22: Bisphenol A-Gehalte in Hausstaub aus östlichen Staaten der USA nach [74]

Ort	Jahr	Mittelwert	Median	Bereich
Murray, KY (12)	2010	837	420	172-2950
Hausstaub (7)	2010	520	242	172-2130
Laborstaub (5)	2010	1280	1140	445-2950
Albany, NY (28)	2006	620	701	< 0,5-1690
Hausstaub (28)	2006	620	701	< 0,5-1690
Albany, NY (16)	2010	1240	452	< 0,5-10200
Hausstaub (9)	2010	836	881	135-2320
Laborstaub (1)	2010	10200		
Gesamt (56)	2006 + 2010	843	422	< 0,5-10200

(Die Werte in Klammern stellen die Anzahl der untersuchten Proben dar. NY = New York, KY = Kentucky)

Vergleicht man Gehalte innerhalb der Vereinigten Staaten von Amerika, so schwanken die Mediane innerhalb einer Größenordnung. In einer Publikation wurden Hausstaubproben in östlichen Regionen von Amerika untersucht. Hier ergeben sich deutlich geringere Bisphenol A-Gehalte als in anderen amerikanischen Hausstaubproben [74, 75]. Im Vergleich mit dem globalen Median aus Studien (440 ng/g) liegt der in der Arbeit ermittelte Median um eine Größenordnung höher (3470 ng/g) [73]. Hierbei ist zu beachten, dass bei der Untersuchung auch weniger starke Wirtschafts-Nationen einbezogen wurden. Bei diesen Ländern ist der Einsatz und die Produktionsmenge von Bisphenol A nicht so hoch, folglich sollte auch die Innenraumbelastung mit Bisphenol A nicht so groß sein. Die höchsten Bisphenol A-Gehalte sind für Japan mit einem Median von 1700 ng/g sowie von Griechenland mit 1500 ng/g angegeben. Im Vergleich zu diesen Gehalten ist der ermittelte Wert etwa doppelt so hoch. Dies kann zum einen in der verwendeten Menge an Bisphenol A in Deutschland im Vergleich zu anderen Ländern und zum anderen an der Verwendung von Alternativsubstanzen zu Bisphenol A ufgrund von gesetzlichen Regulierungen und Vorsorgeprinzipien liegen. Die Medianwerte von Bisphenol F und S in Japan sind mit den ermittelten Werten aus Deutsch-

land vergleichbar. Bisphenol A könnte also durch Alternativen von Nicht-Bisphenolen ersetzt worden sein, sodass insgesamt die Belastung durch Bisphenole sinkt.

Vergleicht man Proben aus ländlichen Gebieten mit städtischen Hausstaubproben, so ist kein deutlicher Unterschied erkennbar. Tendenziell lässt sich vermuten, dass Proben mit hohem Menschenaufkommen auch zu einer höheren Bisphenol-Belastung führen. Dennoch ist hier kein Zusammenhang erkennbar, da die ländlichen Proben ebenfalls teilweise Belastungen in der gleichen Größenordnung wie die Proben aus der Stadt haben.

Letztendlich ist also die Einrichtung der Wohnung und somit der Lebensstil der Bewohner entscheidend für die Belastungssituation. Der Eintrag durch Straßenstaub und hohes Verkehrsaufkommen ist nicht belegbar. Eine Bestätigung für diese These bilden die Hausstaubproben HS05 und HS22. Hierbei handelt es sich um Proben unterschiedlicher Regionen. Die Gemeinsamkeit stellt hier das Verwandtschaftsverhältnis dar, denn es handelt sich um Geschwister, welche ähnliche Lebensstile aufweisen. Folglich sind die Gehalte der Bisphenole miteinander vergleichbar und ähneln sich in der Belastung durch die Bisphenole A, F und S sehr. Für die restlichen detektierten Bisphenole gilt dieser Zusammenhang nicht. Hier sind weitere Einflüsse möglich, die zur unterschiedlichen Belastung führen.

Tab. 23: Vergleich der Hausstaubproben HS05 und HS22

	HS05	HS22
	Gehalt in ng/g	Gehalt in ng/g
Bisphenol A	**3066**	**3659**
Bisphenol F	**119,2**	**108,7**
Bisphenol S	**761,1**	**716,5**
Bisphenol AF	< 2	3,8
Bisphenol C	9,2	68,8
Bisphenol TMC	4,6	4,8
Bisphenol Z	< 2	< 2
Bisphenol E	< 2	< 2
Gesamtgehalt Bisphenole	**3960**	**4562**

In Abb. 45 auf der nachfolgenden Seite sind die Bisphenol-Gehalte ohne Bisphenol A dargestellt. Da Bisphenol A einen um bis zu zehnfach höheren Gehalt als die restlichen Analytsubstanzen aufweisen, sind die Betrachtung aller Strukturanaloga zur Übersichtlichkeit extra aufgeführt.

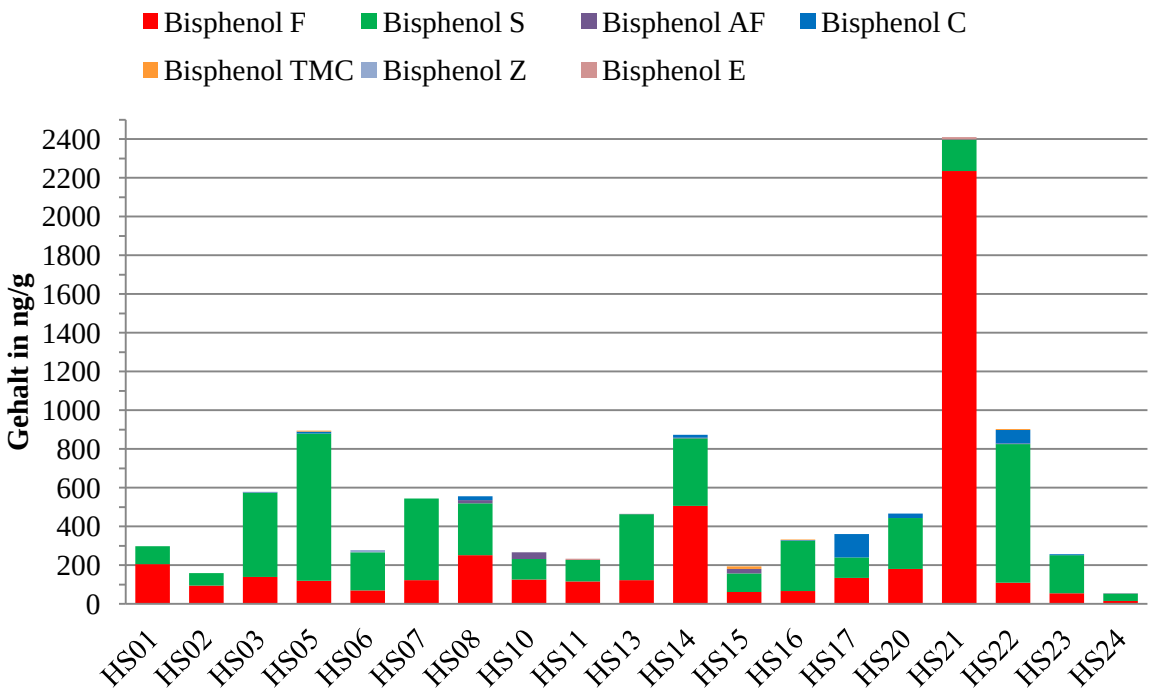


Abb. 45: Bisphenol-Gehalte ohne Bisphenol A in Hausstaubproben

Bisphenol S ist in allen Hausstaubproben nachweisbar gewesen. Auch Bisphenol F wurde in allen Proben gefunden. Die restlichen Analyten sind nur vereinzelt und in Gehalten nahe der Bestimmungsgrenze aufgetreten. Diese Werte sind in Übereinstimmungen zu anderen Publikationen, welche ebenfalls Bisphenol F und S in nahezu allen Hausstaubproben nachweisen konnten. Auch die ermittelten Gehalte sind mit den Werten der Publikation vergleichbar [73]. Bisphenol S trat dabei in Gehalten von 38 bis zu 761 ng/g auf. Bisphenol F wurde von 15 bis 2240 ng/g nachgewiesen. Allgemein sind die hier bestimmten Gehalte von Bisphenol F etwas geringer, Ausnahme ist hier HS21. Diese Probe enthält im Vergleich zu den anderen Hausstaubproben etwa 100-mal mehr Bisphenol F. Auf Nachfrage wurde bekannt, dass es sich hierbei um eine Probe in einem neu renovierten Haus mit ca. 60 % Vinylboden handelt. Hier lässt sich vermuten, dass als Weichmacher statt dem Bisphenol A für alte PVC-Böden mittlerweile Bisphenol F eingesetzt wird. Die Gehalte der Bisphenole decken sich weitestgehend mit den Messungen anderer Arbeiten [73, 75]. Tendenziell sind die Bisphenol F-Gehalte in dieser Arbeit aber etwas höher. Dies könnte an einem sukzessiven Ersatz von Bisphenol A durch Strukturanaloga liegen.

Ein direkter Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Strukturanaloga in Verbindung mit den ermittelten Bisphenol A-Gehalten und möglichen Eintragsquellen konnte nicht festgestellt werden, allerdings ist bei den untersuchten Hausstaubproben ein gegenläufiger Zusammenhang zwischen Bisphenol A und F zu erkennen. Bei einem hohen Gehalt von BPA sind

die anderen Bisphenole nur in geringen Maßen vertreten. Zeigt sich hingegen ein erhöhter Strukturanaloga-Gehalt, weisen die Proben einen verminderten Gehalt von BPA auf.
Hier sind vor allem die Proben HS03 und HS05 zu erwähnen. Dort ist der Bisphenol S-Anteil sehr hoch, dafür wird Bisphenol A in geringen Gehalten gefunden, gleiches gilt für die Proben HS14 und HS21. Probe HS23 weist dagegen einen hohen Bisphenol A-Gehalt auf, Bisphenol S und F sind allerdings in geringen Mengen zu finden.
Die Proben HS2, HS11, HS13, HS17 und HS24 zeigen geringere Gesamtgehalte, als die anderen untersuchten Proben. Alle diese Proben stammen aus Einfamilienhäusern mit wenigen Bewohnern (zwei bis drei) und aus ländlicher Gegend, entweder am Ortskern oder Ortsrand. Deshalb liegt die Vermutung nahe, dass die Personenanzahl und die Lage der Immobilie einen Einfluss auf die Bisphenol-Gehalte im Hausstaub haben.

4.8 Ergebnisse der Thermopapierproben

Die Produktion von Bisphenol A für die Herstellung von Thermopapier stellt nur ca. 0,2 % der Gesamtproduktion dar. Rund 96 % der Produktion werden für die Herstellung von Polycarbonat benötigt [4]. Dennoch stellen die Thermopapiere im Bezug auf die Kontamination von Bisphenolen eine besondere Gruppe dar, da im Gegensatz zu Polycarbonat-Produkten das Bisphenol direkt und ungebunden vorliegt. Bei Kontakt kann das Bisphenol also dermal migrieren und muss nicht zuerst aus dem Polycarbonat heraus gelöst werden. In Urinproben von Kassiererinnen, die täglichen Kontakt mit Thermopapier haben, wurden erhöhte Bisphenol A-Konzentrationen festgestellt [76].

Aufgrund der Erkenntnisse wurde deshalb eine Beschränkung von Bisphenol A für Thermopapier ab 2020 durch die Europäische Kommission beschlossen [77]. Der Ersatz von Bisphenol A als Entwicklersubstanz für diese Papiere ist deshalb notwendig. Interessant ist die Frage, ob auf andere Alternativsubstanzen zurückgegriffen wird, oder die Bisphenolfamilie als Ersatz dient. Auf diesem Hintergrund ist die Untersuchung der Bisphenole in Thermopapieren besonders interessant und aktuell.

Insgesamt wurden 49 Thermopapierproben aus Deutschland und dem europäischen Ausland untersucht. Diese sind bedruckt und wurden bei Kaufabwicklungen innerhalb des tagtäglichen Einkaufsgeschäftes erhalten. Die Kassenzettel stammen dabei aus den Jahren 2011 bis 2018 und die Proben kommen vorrangig von Supermärkten und Tankstellen.

Tab. 24: Übersicht jährliche Zuordnung der Proben

Jahr	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Anzahl	7	6	7	6	8	11	3	1

Tab. 25: Untersuchte Thermopapierproben

Probenbezeichnung	Jahr	Art
TP01	2011	Discounter 1
TP02	2013	Discounter 1
TP03	2014	Discounter 1
TP04	2015	Discounter 1
TP05	2011	Tankstelle Kette 1
TP06	2015	Tankstelle Kette 1
TP07	2013	Tankstelle Kette 1
TP08	2017	Discounter 1
TP09	2015	Tankstelle Kette 1
TP10	2016	Tankstelle Kette 1
TP11	2018	Discounter 1
TP12	2011	Tankstelle Kette 2
TP13	2012	Tankstelle Kette 2
TP14	2013	Tankstelle Kette 2
TP15	2014	Tankstelle Kette 2
TP16	2015	Tankstelle Kette 2
TP17	2016	Tankstelle Kette 2
TP18	2017	Tankstelle Kette 2
TP19	2014	Tankstelle Kette 1 (Österreich)
TP20	2015	Tankstelle Kette 1 (Österreich)
TP21	2016	Tankstelle Kette 2 (Österreich)
TP22	2015	Geldautomat 1 (Italien)
TP23	2016	Tankstelle Kette 3 (Italien)
TP24	2016	Geldautomat 2 (Italien)
TP25	2011	Tankstelle Kette 3
TP26	2011	Tankstelle Kette 4
TP27	2011	Tankstelle Kette 5
TP28	2011	Tankstelle Kette 6
TP29	2012	Tankstelle Kette 4
TP30	2012	Tankstelle Kette 7
TP31	2012	Tankstelle Kette 8
TP32	2012	Tankstelle Kette 9
TP33	2013	Tankstelle Kette 5
TP34	2013	Tankstelle Kette 10
TP35	2013	Tankstelle Kette 6
TP36	2013	Tankstelle Kette 8
TP37	2014	Tankstelle Kette 10
TP38	2014	Tankstelle Kette 7
TP39	2014	Tankstelle Kette 8
TP40	2015	Tankstelle Kette 8
TP41	2015	Tankstelle Kette 11
TP42	2015	Tankstelle Kette 5
TP43	2016	Tankstelle Kette 6
TP44	2016	Tankstelle Kette 6
TP45	2016	Tankstelle Kette 7
TP46	2016	Tankstelle Kette 7
TP47	2016	Tankstelle Kette 7
TP48	2016	Tankstelle Kette 12
TP49	2017	Tankstelle Kette 6

Für die Untersuchungen wurde eine repräsentative Fläche aus nichtbedruckten und bedruckten Flächen verwendet, um so eine vergleichbare Probe zu erhalten, wie sie auch bei Hautkontakt entstehen würde. Jeweils 50 mg des Thermopapieres wurden mit einer Schere in ca. 2 x 2 mm große Teile geschnitten und in ein 20 mL Headspace-Vial eingewogen. Anschließend wurde die Probe mit 10 mL Methanol im Ultraschallbad extrahiert. Zur Entfernung von Matrixverunreinigungen, besonders dem Farbstoff, erfolgte ein Kieselgel-*Clean up*. Dabei wurde mit einer modifizierten Minikieselgelsäule gearbeitet. Der gereinigte Extrakt wurde noch einmal abrotiert und nach dem Abblasen ins Trockene mit Methanol auf ein definiertes Volumen von 1 mL aufgefüllt. Für die GC-MS/MS-Messungen wird die Lösung noch einmal 1:10 verdünnt und nach Abblasen mit TMSH derivatisiert. Ein Vergleich der ermittelten Gehalte mittels HPLC-UV/VIS und GC-MS/MS ist in Abb. 46 auf der nachfolgenden Seite dargestellt.

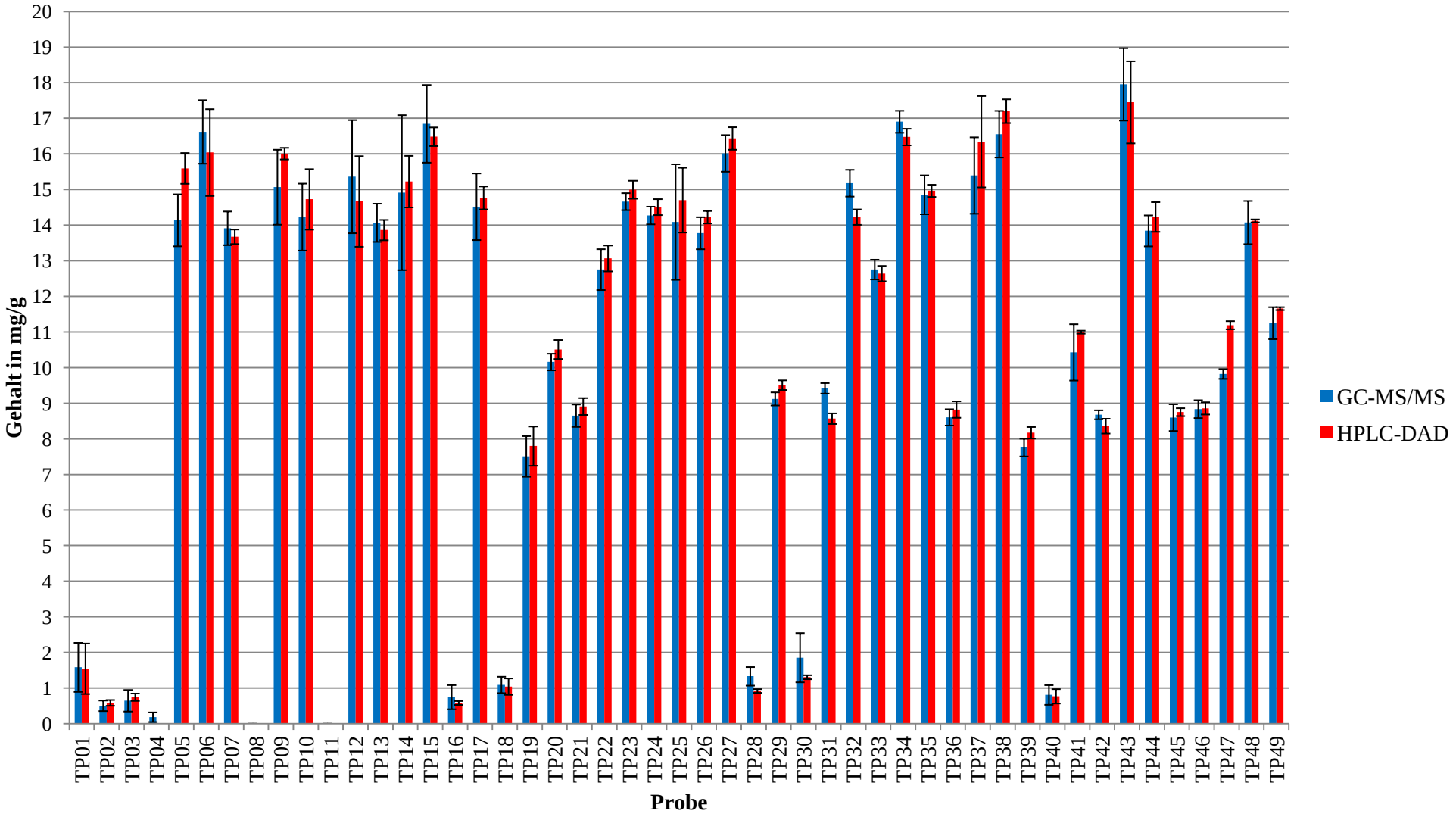


Abb. 46: Methodenvergleich Bisphenol A-Gehalte in Thermopapier mit HPLC und GC-MS/MS

Die Bisphenol A-Gehalte schwanken in einem Bereich von 7,8 bis 1,75 mg/g. Für Bisphenol S wurden Gehalte zwischen 9,4 und 13,5 mg/g ermittelt. Somit sind die jeweiligen Bisphenol-Gehalte im gleichen Gehaltsbereich. Diese Werte decken sich auch mit anderen Publikationen [2, 3].

Vergleicht man die ermittelten Gehalte über die HPLC mit den Werten der GC-MS/MS so kann man erkennen, dass diese miteinander vergleichbar sind. Die mittels GC-MS/MS ermittelten Gehalte sind meist etwas geringer, hier kommt der Selektivitätsgewinn der Tandem-Massenspektrometrie zum Tragen. Die HPLC-Ergebnisse wurden über DAD bestimmt. Hier spielen Matrixprobleme, die auch im verwendeten Wellenlängenbereich absorbieren, eine größere Rolle und führen zu falsch-positiven Ergebnissen. In der Tandem-Massenspektrometrie werden zwei sehr selektive Übergänge zur Bestimmung ausgewählt. Durch diese Selektivität sind Fehler aufgrund von Matrixproblemen deutlich reduziert. Messpräzisionen der unterschiedlichen Messmethoden sind ebenfalls miteinander vergleichbar, wenngleich sie bei der GC-MS/MS etwas höher ausfallen, was mit dem zusätzlichen Verdünnungsfehler und Derivatisierungsschritt zu begründen ist. Für die gaschromatographische Messung müssen die Analytsubstanzen in die leichter flüchtigen Dimethylether überführt und die Lösung um den Faktor 10 im Vergleich zu den HPLC-Messungen verdünnt werden.

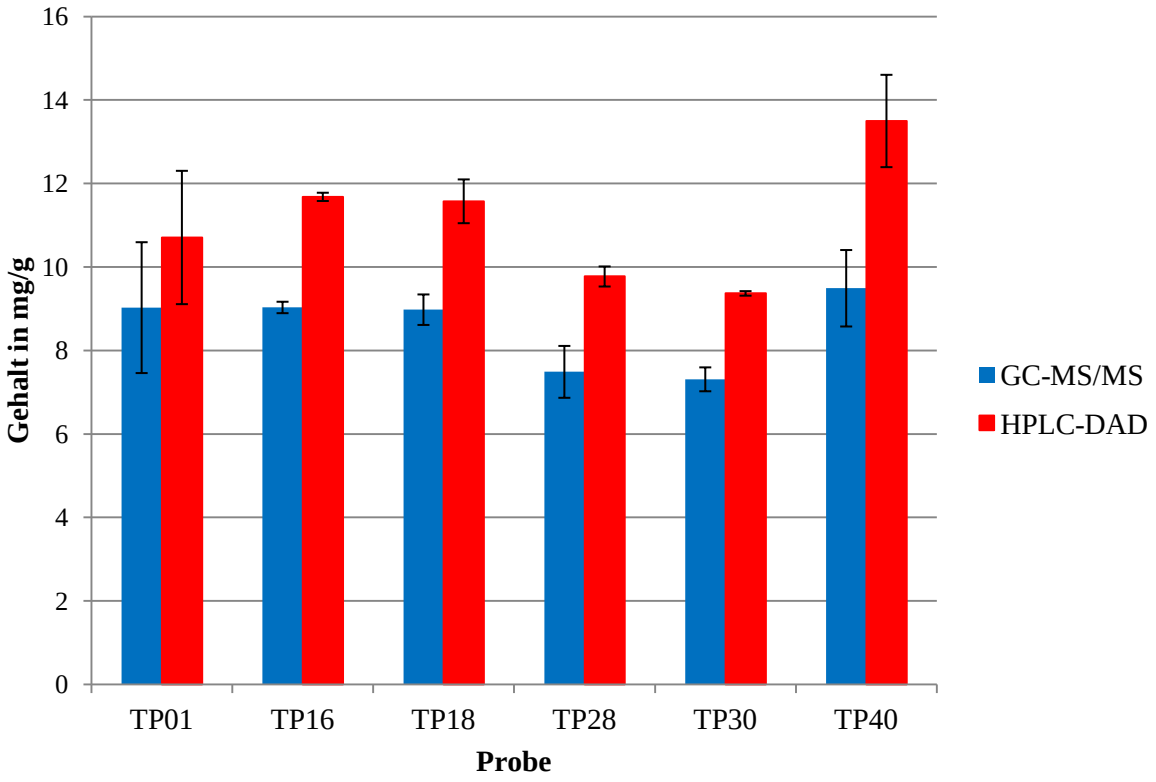


Abb. 47: Methodenvergleich BPS-Gehalte Thermopapier

Die Bisphenol S-Gehalte, welche mittels GC-MS/MS ermittelt wurden, sind zwischen 15 und 30 % geringer als die HPLC-Messergebnisse (erkennbar in Abb. 47 auf Seite 100). Durch den Selektivitätsgewinn der Tandem-Massenspektrometrie sind diese Werte aber als "richtiger" zu bewerten. Die Gehalte stimmen mit den Ergebnissen einer Schweizer Publikation überein, bei der eine LC-HRMS als Messmethode gewählt wurde [2]. Aber auch die HPLC-Messung ohne Massenspektrometer als Detektionseinheit ist für die Bestimmung von Bisphenolen in Thermopapierproben gut geeignet, da sie eine ausreichend gute Empfindlichkeit aufweist. Die Messungen mittels GC-MS/MS bieten eine zusätzliche Absicherung. Hier könnte überlegt werden, ob auf die Matrixentfernung mittels Kieselgel-*Clean up* verzichtet werden kann, da diese bei der Messung als weniger problematisch anzusehen ist.

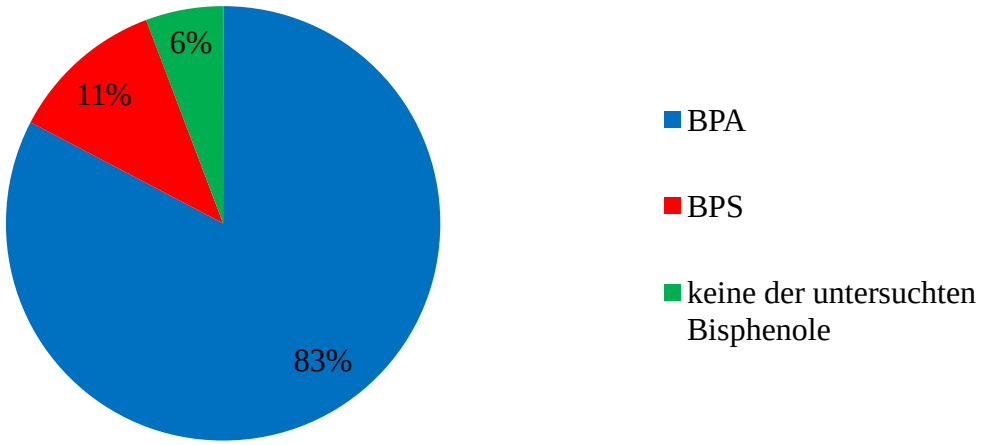


Abb. 48: Übersicht Anteile der Bisphenole in untersuchten Thermopapieren

Betrachtet man den Einsatz der Bisphenole innerhalb der untersuchten Thermopapierproben (Abb. 48), so wird deutlich, dass Bisphenol A als Entwicklersubstanz dominierend ist. In 83 % der untersuchten Kassenzettel wurde Bisphenol A, in lediglich 6 % wurden Alternativsubstanzen verwendet. 11 % der untersuchten Thermopapiere enthielten Bisphenol S als Protonendonor. Aufgrund der Verordnung (EU) 2016/2235 sollte sich dieser Zusammenhang aber deutlich ändern, da die Verwendung von Bisphenol A ab 2020 in Thermopapieren verboten ist [77]. Demnach sollte entweder der Anteil an Kassenzetteln steigen, die Bisphenol S verwenden, oder es wird auf andere Alternativen zurückgegriffen. Nach einem Bericht der US EPA aus dem Jahr 2014 existieren neben den Bisphenolen zahlreiche Möglichkeiten für Alternativstoffe, welche in Thermopapieren eingesetzt werden können [4]. Die am meisten ver-

wendeten Alternativen sind Pergafast 201® (ein Harnstoffderivat) und D-8, das ein Ether des Bisphenol S darstellt.

Tab. 26: Zusammenhang zwischen Verwendungsjahr und Bisphenol A-Gehalt

Jahr	Bisphenol A in mg/g Discounter	Bisphenol A in mg/g Tankstelle 1	Bisphenol A in mg/g Tankstelle 2
2011	1,54	15,60	14,67
2012	keine Probe	16,04	13,86
2013	(0,59)	13,68	15,22
2014	(0,74)	keine Probe	16,49
2015	< NG	16,01	(0,58)
2016	keine Probe	14,73	14,77
2017	< NG	keine Probe	(1,04)
2018	< NG	keine Probe	keine Probe

(Die Werte in Klammern befinden sich zwischen der Nachweis- und Bestimmungsgrenze.)

Im Hinblick auf sukzessiven Ersatz von Bisphenol A sind einige Proben interessant, welche vom gleichen Verwender stammen, aber in unterschiedlichen Jahren ausgegeben wurden. Dieser Aspekt ist in Tab. 26 zusammenfassend dargestellt. So sind Proben eines Discounters untersucht worden, die von 2011 bis 2018 bei täglichen Einkäufen gesammelt wurden. Ebenso wurden gleiche Thermopapiere aus unterschiedlichen Jahren von zwei Tankstellen erhalten.

Anhand der Bisphenol A-Gehalte der Discounterproben ist erkennbar, dass bis 2014 kein Ersatz des Papieres stattfand. Hier schwanken die Gehalte leicht. Ab 2015 ist kein Bisphenol A mehr detektierbar. Dies lässt vermuten, dass der Discounter bereits vor der Verordnung zur Beschränkung von Bisphenol A in Thermopapier auf alternatives Papier zurückgegriffen hat, welches kein BPA mehr enthält und stattdessen bisphenolfreie Alternativen benutzt. Für Bisphenol S kann diese Beobachtung nicht übertragen werden. Hier ist kein Ersatz durch Alternativen anhand der ausgewählten Proben erkennbar.

Für die Tankstellen ist das Bild etwas anders. Hier wurde Thermopapier auf Bisphenol A-Basis benutzt. Für Tankstelle 1 können ab dem Jahr 2017 keine weiteren Aussagen getroffen werden, da hier kein Probenmaterial mehr zur Verfügung stand. Bei Tankstelle 2 war Bisphenol A im Jahr 2015 und 2018 unterhalb der Bestimmungrenze nachweisbar. Hier wurde eine andere Thermopapier-Sorte verwendet, als in den restlichen Jahren.

4.9 Ergebnisse der Trinkflaschen

4.9.1 Migrationuntersuchungen nach VO 2011

Die Trinkflaschen wurden nach ihrem verwendeten Material ausgewählt. Hierbei wurde von jedem derzeit eingesetzten Alternativmaterial zu Polycarbonat mindestens eine Flasche ausgewählt. Getränkebehälter aus Polycarbonat waren zum Zeitpunkt der Untersuchungen bereits nicht mehr am Markt erhältlich. Daher wurden dafür Flaschen verwendet, die als Behälter im Laborbereich verwendet werden. Da es sich bei den Trinkflaschen um Mehrwegartikel handelt, muss die Migration drei Mal an demselben Artikel erfolgen. Damit ist für Mehrwegartikel eine realistische Betrachtung bei Langzeitgebrauch möglich. Um alle nichtalkoholischen Getränke für die Untersuchungen in Betracht zu ziehen, die standardmäßig in die getesteten Flaschen gefüllt werden, wurden drei verschiedene Simulanzlösungen verwendet. Diese sind bereits in Kapitel 4.6.2 näher erläutert worden. Für klare und trübe Getränke werden die Lösungen mit 3 Gew.-% Essigsäure und 20 Vol.-% Ethanol verwendet. Bei Milchgetränken wird die Lösung bestehend aus 50 Vol.-% Ethanol verwendet. Für jede Migration wurde eine Doppelbestimmung durchgeführt (außer Trinkflasche 01, diese war nur fünf Mal vorhanden), sodass sich eine Gesamtanzahl von 117 Proben ergab. Zusätzlich wurde ein Langzeitkontakt von 10 Stunden bei 70 °C durchgeführt. Hierbei ergaben sich zusätzlich 14 Probenuntersuchungen. In der nachfolgenden Tab. 27 auf der folgenden Seite sind die untersuchten Artikel detailliert mit der Art des Materials zusammengefasst.

Tab. 27: Übersicht über die untersuchten Trinkflaschenproben

Proben-bez.	Simulanz	Produktbezeichnung	Material	Volumen	Anzahl	Liefer-datum
TF01N	20 Vol.-% Ethanol	Discounter, Trinkflasche BPA-frei, grün	Tritan	0,7 L	5	04.05.2018
TF01S	3 Gew.-% Essigsäure					
TF01F	50 Vol.-% Ethanol					
TF02N	20 Vol.-% Ethanol	Tritan-Trinkflasche blau	Tritan Deckel: PE	0,5 L	10	22.10.2018
TF02S	3 Gew.-% Essigsäure					
TF02F	50 Vol.-% Ethanol					
TF03N	20 Vol.-% Ethanol	Trinkflasche OTF Clear w/Seaport Blue/White Cap, BPA/BPS free	Tritan	0,65 L	10	24.10.2018
TF03S	3 Gew.-% Essigsäure					
TF03F	50 Vol.-% Ethanol					
TF04N	20 Vol.-% Ethanol	Trinkflasche Red 0,75 L aus PP 100 % frei von EDC	PP	0,75 L	10	30.10.2018
TF04S	3 Gew.-% Essigsäure					
TF04F	50 Vol.-% Ethanol					
TF05N	20 Vol.-% Ethanol	Babysaugflasche, 300 mL PA Flasche mit Silikonsauger	PA Abdeckung: PP	0,3 L	10	01.11.2018
TF05S	3 Gew.-% Essigsäure					
TF05F	50 Vol.-% Ethanol					
TF06N	20 Vol.-% Ethanol	Baby Flasche Size 2 Medium Flow, BPA-frei	PES Silikonsauger	0,26 L	12	08.11.2018
TF06S	3 Gew.-% Essigsäure					
TF06F	50 Vol.-% Ethanol					
TF07N	20 Vol.-% Ethanol	Polycarbonat-Flaschen, 250 mL Fassungsvermögen mit Graduierung, Schraubkappe und Silikondichtung	PC	0,25 L	24	15.11.2018
TF07S	3 Gew.-% Essigsäure					
TF07F	50 Vol.-% Ethanol					

Für die Migrationsuntersuchungen wurden die Trinkflaschen zuvor einheitlich behandelt. Sie wurden mit dem jeweiligen Füllvolumen mit siedendem Wasser gefüllt und 5 min stehen gelassen. Dabei wurden die Flaschen jeweils zum Anfang, danach in der Mitte der Zeit und schließlich vor dem Entleeren einmal geschwenkt. Für eine Untersuchung der Migration beim ersten Ausspülen wurde jeweils eine Doppelbestimmung durchgeführt. Nach dem Entleeren in Braunglasflaschen wurde 50 µl des Surrogats dotiert (Bisphenol AF d-4, 1 ng/µl), bevor die Proben über die SPE angereichert wurden. Das Ergebnis für Trinkflasche 07 ist anschließend als Vergleich in der Abb. 49 dargestellt.

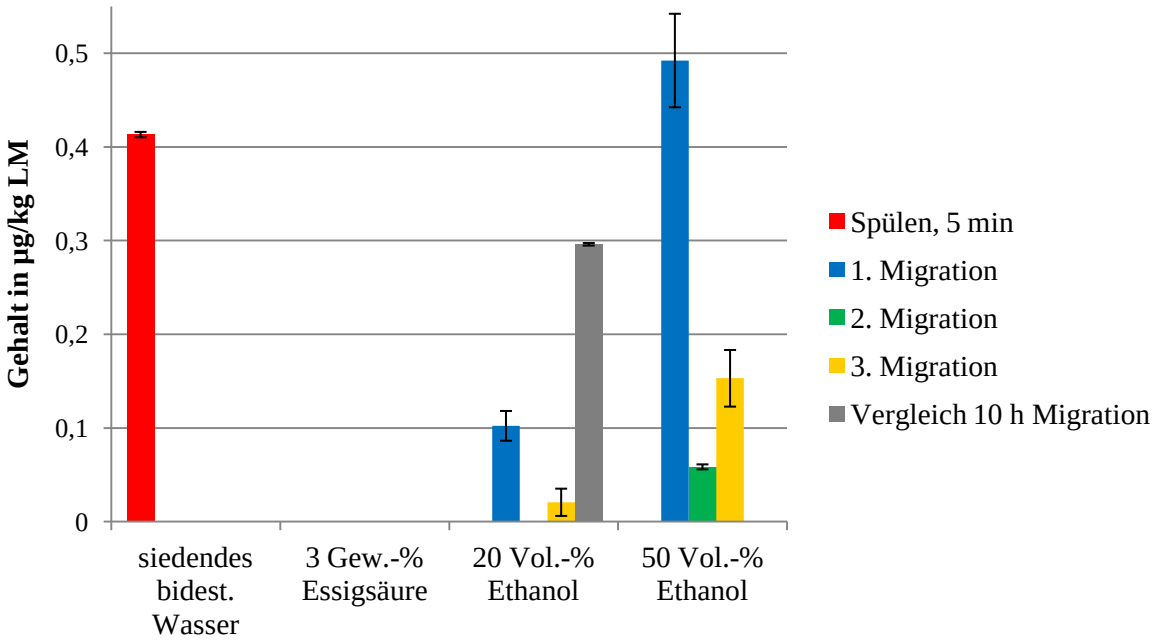


Abb. 49: Migrationsgehalte von Bisphenol A in TF07

Die Probe TF07 besteht aus Polycarbonat und diente als "Positiv"-Probe, dass heißt, hierbei wurde von einer Migration von Bisphenol A ausgegangen. Polycarbonat besitzt Bisphenol A als Monomereinheit. Deshalb konnte hier von einem Übertrag in die Simulanzlösungen ausgegangen werden. Bei der untersuchten Flasche handelt es sich um eine Inkubationsflasche für Laborarbeiten.

Anhand der Abb. 49 sind die ermittelten Migrationsgehalte ersichtlich. Durch das "Spülen" mit siedendem Wasser migriert ein Hauptteil des Bisphenol A aus dem Material in das Wasser. Hierbei kann es sich sowohl um Monomerrückstände aus der Produktion, als auch um zersetztes Polymermaterial aus der Flasche selbst handeln. Die höchsten Migrationsgehalte werden anschließend bei der fettigen Migration mit 50 Vol.-% Ethanol erhalten. Hier ist der Gehalt der ersten Migration noch höher als beim heißen Ausspülen. Für die zweite und dritte

Migration sind die Werte dann deutlich geringer. Für die dritten Migrationsuntersuchungen steigen die Gehalte wieder an. Dies könnte durch eine Nachlieferung von Monomereinheiten aus tieferen Schichten der Trinkflasche, oder auch durch beginnenden Materialverschleiß erklärt werden. In der sauren Migrationslösung konnte dagegen kein Bisphenol A nachgewiesen werden. Durch das saure Wasser wird Bisphenol A in der protonierten Form gehalten und migriert wenig bis gar nicht in wässriges Medium. Zudem besitzen alle Bisphenole eine eher mäßige Wasserlöslichkeit. Der Effekt sollte daher eher in basischem Milieu auftreten, da die deprotonierte Form besser in Wasser löslich ist. In 20 Vol-% Ethanol migriert BPA ebenfalls in die Simulanzlösung, allerdings ist der ermittelte Gehalt durch den höheren Wasseranteil um den Faktor 5 geringer als bei der Inkubation mit 50 Vol.-% Ethanol. Hier ist der Zusammenhang zwischen erster und letzter Migration von den Verhältnissen aber ähnlich, das heißt, in der ersten Migration sind die Gehalte deutlich höher als in den nachfolgenden Migrationen.
Betrachtet man den aktuell gesenkten Migrationsgrenzwert von Bisphenol A für Lebensmittelkontaktmaterialien von 50 µg/kg [28], so bewegen wir uns mit den detektierten Gehalten um einen Faktor 100 unterhalb dieses Grenzwertes. Somit sind die gefundenen Gehalte deutlich unterhalb einer gefährlichen Situation für den Benutzer der Trinkflaschen einzustufen. Die untersuchte "Positiv"-Probe aus Polycarbonat wäre demnach als Trinkflasche geeignet, da hier der Migrationsgrenzwert wird in keiner der durchgeführten Untersuchungen überschritten wird.

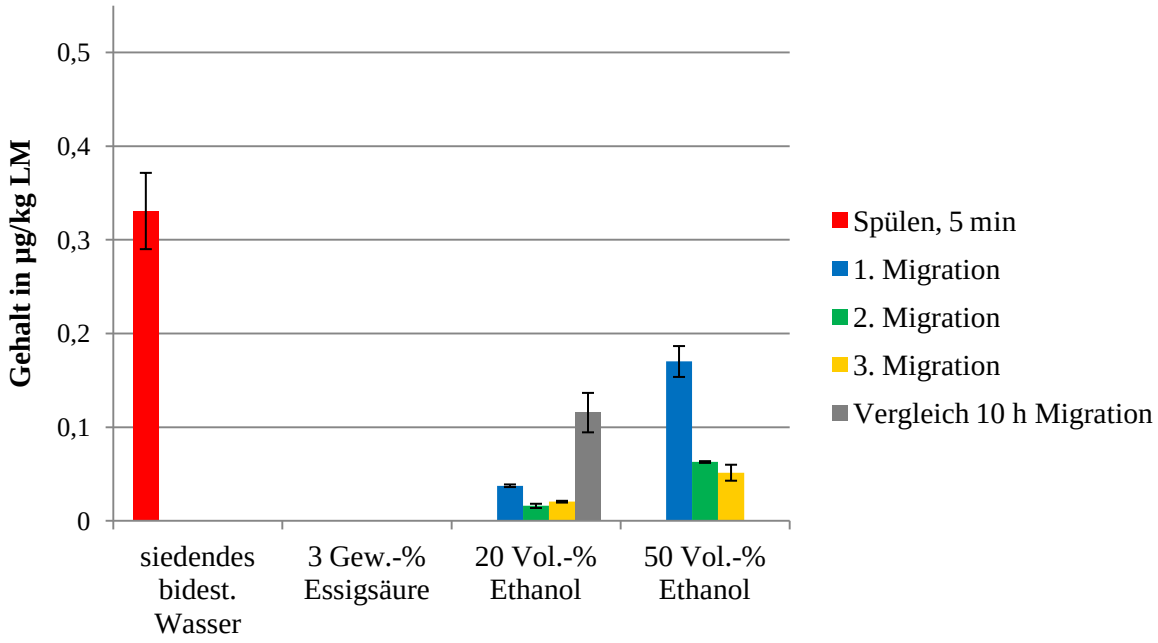


Abb. 50: Migrationsgehalte von Bisphenol S in TF06

Für Bisphenol S stellt sich eine ähnliche Verteilung bei den Migrationsdurchläufen für die untersuchte Probe TF06 dar, wie oben bereits für Bisphenol A in TF07. TF06 besteht aus Polyethersulfat, einem aus Bisphenol S-Monomeren aufgebauten Kunststoff. Ähnlich wie bei der Polycarbonatflasche ist hier eine Migration von Monomereinheiten, oder Auswaschung von Produktionsrückständen bei der Migration denkbar. Wie Abb. 50 verdeutlicht, konnte Bisphenol S nachgewiesen werden, wenn auch in einem geringerem Ausmaß als Bisphenol A in TF07. Der höchste Gehalt ist in siedendem Wasser beim Ausspülen detektierbar. Bisphenol S ist mit einem log K_{OW}-Wert von 1,65 der polarste Analyt der untersuchten Substanzen [16]. Erwartungsgemäß sind die Gehalte bei der fettigen Migration auch geringer als bei BPA in TF07. Auch in dieser Probe wurde bei der sauren Migration kein Analyt nachgewiesen. Auch für die TF06-Probe sind keine Migrationen in essigsaurer Lösung messbar. Die Ursache ist analog wie für TF07 zu begründen. Wendet man den aktuellen Migrationsgrenzwert für Bisphenol A an, so bewegen sich die Gehalte um etwa einen Faktor 150 unterhalb dieses Wertes. Somit ist auch hier von keiner Gefahr für den Benutzer der Trinkflasche auszugehen.

Interessant ist die Tatsache, dass es sich bei TF06 um eine Trinkflasche für Säuglinge handelt. Aufgrund des Vorsorgeprinzips wurde Polycarbonat im Jahre 2011 durch eine Verordnung bei der Herstellung von Säuglingsflaschen verboten. Beim Ersatz dieses Polycarbonats wird nun Polyethersulfon verwendet. Somit wird Bisphenol A durch Bisphenol S ersetzt, was als kritisch zu betrachten ist. Bisphenol S weist eine ähnliche Größenordnung in Tests zur östrogenen Wirksamkeit auf, wird aber bei aktuellen Beschränkungen nicht berücksichtigt [25, 27, 78]. Ein Verbot von Bisphenol A führt also nur zum Ersatz durch nicht weniger bedenkliche Materialien.

Für alle anderen Materialien konnten solche Ergebnisse wie in TF06 und TF07 nicht gefunden werden. Hier migrierten keine Bisphenole oder lediglich Spuren im Bereich der jeweiligen Bestimmungsgrenze in die Simulanzlösungen. Die Wahl der Simulanz war dabei unerheblich. Somit sind die anderen Materialien der Trinkflaschen im Hinblick auf die Bisphenol-Belastung als unkritisch zu bewerten.

4.9.2 Ergebnisse der 10-stündigen Migrationsuntersuchungen

Da keine Migrationen außer Bisphenol A und S bei den gewählten Bedingungen feststellbar waren, sollte der Extremfall getestet werden. Dafür wurde zusätzlich eine 10-stündige Migration durchgeführt. Füllt man beispielsweise ein Getränk für einen ganzen Tag in die Flasche, so ergibt sich ein deutlich längerer Kontakt des Materials der Flasche mit der Flüssigkeit. Es

kann also ausgeschlossen werden, dass die Migrationszeit der Grund für das Fehlen von weiteren Analytgehalten ist. Eine Arbeitsgruppe detektierte Bisphenol FL in 11 von 18 Polycarbonat-Flaschen und in zwei Flaschen, die aus dem Material Tritan (ein Copolyester) bestehen [79]. Hier wurde 60 °C warmes bidestilliertes Wasser in die Flaschen gefüllt und für 6 Stunden stehen gelassen. Für die vorliegende Arbeit wurden Bedingungen gewählt, die in der VO (EU) 10/2011 festgelegt wurden [8]. Die in der Publikation gewählten Bedingungen sind deutlich höher gewählt. Eine Migration bei den Maximalbedingungen von 10 Stunden und 70 °C sollte die in der Publikation gewählten Bedingungen mit einschließen. Die detektierbaren Gehalte sind in Abb. 51 dargestellt:

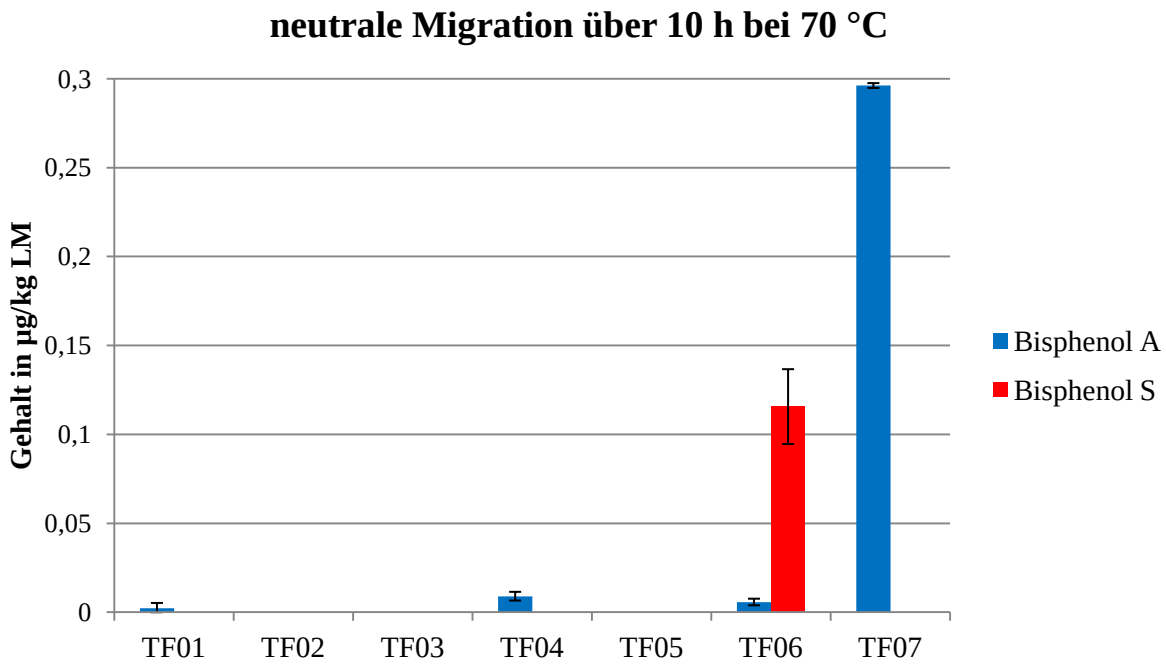


Abb. 51: Migrationsgehalte der Trinkflaschen bei Langzeitkontakt

Lediglich die Analytsubstanzen Bisphenol A und Bisphenol S migrierten aus den untersuchten Trinkflaschen in die Simulanzlösung (20 Vol.-% Ethanol). Es wurde lediglich diese Lösung gewählt, um mit den neutralen Bedingungen der Publikation vergleichbar zu bleiben. Alle anderen Analytsubstanzen, insbesondere auch das Bisphenol FL, konnten nicht nachgewiesen werden. Hier befinden sich alle Gehalte unterhalb der Bestimmungsgrenze. Wie zu erwarten war, migriert Bisphenol A aus Trinkflasche 07 bei den gewählten Bedingungen in die Simulanzlösung. Die Gehalte sind dabei etwa drei Mal so groß wie die erste Migration mit der gleichen Simulanzlösung. Summiert man die Gehalte der ersten drei Migrationen auf, so ist die 10-stündige Migration im Vergleich immer noch mehr als doppelt so groß. Somit ist

hier davon auszugehen, dass auch im Laufe von vielen Migrationen noch weiteres Bisphenol A aus der Trinkflasche heraus migrieren wird. Bei kurzen Kontaktzeiten, wie in den gewählten Standardbedingungen von zwei Stunden, migriert allerdings sehr wenig Bisphenol A aus der Trinkflasche im Bereich der Bestimmungsgrenze. Trinkflasche 06 besteht aus Polyethersulfon, bei dem das Monomer Bisphenol S ist. Somit ist eine Migration auch zu erwarten gewesen. Hier stellt sich der Zusammenhang ähnlich dar wie für Bisphenol A in Trinkflasche 07. Auch hier ist der Gehalt der 10-stündigen Migration etwa drei Mal so hoch als die erste Migration bei Standardbedingungen. Interessant ist die geringe Migration von Bisphenol A bei TF04, da diese Trinkflasche aus Polypropylen besteht und somit kein Monomer dem Analyten entspricht. Hier kann es sich mitunter um Produktionsrückstände handeln, die beim ersten Ausspülen nicht entfernt wurden. Beim Ausspülen und auch bei den Migrationsuntersuchungen unter Standardbedingungen konnte kein Bisphenol A für TF04 detektiert werden. Auch eine Querkontamination ist somit nicht ausgeschlossen. Der Grenzwert von Bisphenol A (50 µg/kg LM) wird von allen Trinkflaschen eingehalten. Somit ist bei allen Flaschen im Hinblick auf Bisphenole von keiner Gefahr für den Verbraucher auszugehen im Hinblick auf Bisphenole. Trotz drastischer Bedingungen konnte kein Bisphenol FL nachgewiesen werden. Die Arbeitsgruppe verwendete für die Migrationsuntersuchungen selbst synthetisiertes, deuteriertes Bisphenol FL als internen Standard [79]. Eventuell sind hier Kontaminationen aufgrund des unzureichenden Reinheitsgrades entstanden.

5 Zusammenfassung und Ausblick

Bisphenol A ist aufgrund seiner vielfältigen Einsatzmöglichkeiten ein beliebter Ausgangsstoff zur Herstellung zahlreicher Materialien. Der Bedarf von BPA in Industrienationen nimmt jedes Jahr zu [1, 80]. Mittlerweile gehört Bisphenol A deshalb zu den ubiquitär vorkommenden Substanzen. Es wird sowohl in Umweltproben als auch in menschlichen Proben wie Blut und Muttermilch nachgewiesen [83 bis 89]. Dabei ist die endokrine Wirksamkeit bereits seit den 1930er Jahren bekannt [81]. Aufgrund der adversen Effekte von Bisphenol A werden mittlerweile zunehmend Strukturanaloga verwendet, welche weitaus weniger wissenschaftlich erforscht sind bzw. ebenfalls negative Effekte zeigen.

In der vorliegenden Arbeit wurde deshalb eine analytische Methode zur Bestimmung von 17 ausgewählten Bisphenolen entwickelt. Dabei konzentrierten sich die Untersuchungen auf die nach der EFSA in 2014 wichtigsten Eintragsquellen für den menschlichen Organismus [82]. Haupteintragsweg stellt dabei die Nahrung dar, welche durch Verunreinigungen oder Migrationen von Verpackungsmaterial belastet ist. In der vorliegenden Arbeit wurde deshalb eine Methode zur Migration von Bisphenolen aus Trinkflaschen entwickelt. Untersucht wurden kommerziell erhältliche Flaschen aus unterschiedlichen Polymer-Materialien, wie sie derzeit verwendet werden.

Als Migrationsbedingungen wurden die in der Verordnung für Lebensmittelkontaktmaterialien genormten Standards verwendet. Eine SPE-Methode zur Aufkonzentrierung wurde entwickelt, um auch geringste Migrationen ermitteln zu können. Mithilfe dieser Untersuchungen wurde bestätigt, dass Bisphenol A aus Polycarbonat-Flaschen migrieren kann. Die Migration steigt mit zunehmender Temperatur und Kontaktzeit [79, 90]. Dennoch sind die ermittelten Werte um das Zehnfache geringer, als der derzeitige Grenzwert vorschreibt [28]. Ähnliche Migrationseffekte sind für die Flaschen aus Polyethersulfon für das Strukturanaloga Bisphenol S feststellbar. Die Gehalte sind aber um den Faktor zwei geringer als es für Bisphenol A in den untersuchten Polycarbonat-Flaschen der Fall ist [91]. Alle anderen untersuchten Materialien wiesen keine Migration der Bisphenole oberhalb der Bestimmungsgrenze auf. Eine Migration von Bisphenol FL aus Trinkflaschen mit Tritan® als verwendetes Material konnte nicht detektiert werden [79].

Eine weitere Eintragsquelle für Bisphenole in den menschlichen Organismus stellt Hausstaub dar [82]. Bei Kleinkindern unter drei Jahren wird die Exposition durch Hausstaub als zweitgrößter Eintrag geschätzt. Dies liegt zum einen an der körperlichen Nähe zum Staub im Bodenbereich, zum anderen ist durch alterstypisches Verhalten die Aufnahme von Hausstaub

oral im Vergleich zu einer erwachsenen Person größer. Die Methodenentwicklung zum Nachweis von Bisphenolen in Hausstaub stellt eine große Herausforderung dar. Es handelt sich je nach Lebensumständen um eine stark heterogene Matrix, sodass die Methode robust gegenüber wechselnden Matrixbestandteilen sein sollte. Eine weitere Herausforderung stellten die unterschiedlichen Gehalte der einzelnen Bisphenole dar. So muss die Methode sehr nachweisstark sein, da wenig eingesetzte Strukturanaloga bestimmt werden sollten. Die Bisphenole F und S waren in 100 % der Hausstaubproben detektierbar. Sie werden bereits großtechnisch eingesetzt und konnten somit in verdünnten Proben gemessen werden. Bisphenol A stellt die Hauptbelastung dar und wurde in jeder Hausstaubprobe gefunden. Dabei liegen die Gehalte um eine Größenordnung höher als die restlichen Bisphenole. Aufgrund des Erwartungswertes mussten die Proben so stark verdünnt werden, dass ein möglicher Matrixeinfluss ausgeschlossen werden konnte und nicht auf das aufwendigere Verfahren der Standardaddition zurückgegriffen werden musste. Die geringen Gehalte der Strukturanaloga schließen eine solche Verfahrensweise aus. Trotzdem war es möglich eine Methode zu entwickeln, die Wiederfindungsraten von 96 bis 113 % und einer Messpräzision von 1,5 bis 6,7 % aufweist, um alle Analytsubstanzen nachweisen zu können.

Nach Auswertung und Vergleich der Bisphenol-Belastung mit den Fragebögen kann keine direkte Expositionsquelle festgestellt werden, sodass von einem diffusen Eintrag auszugehen ist. Tendenziell sind die Gehalte in Hausstaubproben aus ländlichem Raum und mehr Wohnungsgröße geringer als Proben aus stadtnahen Gebieten. Auch ein antiproportionaler Zusammenhang zwischen Bisphenol A-Gehalten und Strukturanaloga-Einsatz ist nicht erkennbar. Demnach ist die Bisphenol-Belastung vorrangig durch Lebensweisen verursacht, wobei keine Punktquellen ermittelt werden konnten.

Eine Besonderheit in der Exposition von Bisphenol A stellt Thermopapier dar. Es liegt im Prozentbereich in der Entwicklerschicht des Papiers ungebunden vor und kann somit leicht dermal aufgenommen. Gerade für erwachsene Menschen stellt diese Exposition den zweitgrößten Eintrag von Bisphenol A nach den Lebensmitteln dar. Für die Quantifizierung von Bisphenolen in Thermopapieren wurde eine einfache und schnelle Analytik entwickelt, die kostengünstig durchführbar ist. Die Messungen erfolgten dabei mit der optimierten HPLC-Methode und zum Methodenvergleich auch mit der GC-MS/MS-Methode, wie sie auch bei den Hausstaubproben und Migrationslösungen verwendet wurde.

In 94 % der untersuchten Thermopapierproben konnte entweder Bisphenol A oder Bisphenol S als Entwicklersubstanz detektiert werden. Dabei entfiel der Großteil auf Bisphenol A (mehr als 80 %). Die Ergebnisse wurden mit GC-MS/MS noch einmal bestätigt.

Damit ist die HPLC-Methode zur Quantifizierung von Bisphenolen in Thermopapier geeignet. Die Ergebnisse sind mit anderen Publikationen vergleichbar, bei denen ebenfalls Bisphenol A und S in Prozent-Bereichen ermittelt wurden [3, 4].

Innerhalb dieser Dissertation wurden Methoden zur Qualifizierung und Quantifizierung von ausgewählten Bisphenolen in drei wichtigen Haupteintragskompartimenten für den menschlichen Organismus entwickelt. Aufgrund von zunehmenden Vorsorgeverboten und Reglementierungen bezüglich Bisphenol A treten Alternativen zunehmend in den Vordergrund. Die erstellten Methoden sind also zum *Monitoring* der Bisphenole für zukünftige Belastungseinschätzungen geeignet. Durch die Reglementierung von Bisphenol A in Thermopapier konnte und kann künftig so der Einsatz von Strukturanaloga beobachtet werden.

In Hausstaubproben dienen die ermittelten Daten als Grundlage für die Einschätzung der aktuellen Belastung durch Bisphenole in Deutschland. Diese Gehalte können mit zukünftigen Messungen verglichen werden. Dadurch erhält man einen Überblick, ob die BPA-Belastung durch die gesetzlichen Vorschriften auf Dauer abnimmt, oder die Gesamtbelastung der Bisphenole durch die zunehmende Verwendung der Analoga gleich bleibt.

Die Messmethoden können als Grundlage für die Methodenentwicklung zur Quantifizierung von Bisphenolen in anderen Probenkompartimenten dienen. Denkbar ist die Anwendung der entwickelten Methode zur Untersuchung von Lebensmittel, wie beispielsweise Fisch, der sowohl roh als auch verarbeitet verzehrt wird. Immer wieder wird in der Presse über eine Belastung von Fischen und Meerestieren durch Mikroplastik berichtet. Von diesen Partikeln ist ein direkter Übergang ins Lebensmittel möglich, sodass eine Überwachung notwendig wäre. Auch andere Papiermaterialien außer Thermopapier sind von Relevanz, da durch unsachgemäßes Recycling Bisphenole in den Kreislauf eingetragen werden können. Dadurch steigt die Bisphenolbelastung in Produkten, die aus Recyclingmaterial hergestellt wurden.

6 Summary and Outlook

Bisphenol A is a popular starting material for the production of numerous materials due to its wide range of applications. The demand for BPA in industrial nations is increasing every year [1, 80]. Bisphenol A is therefore one of the ubiquitous subsubes. It is detected both in environmental samples as well as in human samples, blood and breast milk [83 to 89]. Endocrine activity has been known since the 1930s [81]. Due to the adverse effects of bisphenol A, structural analogues are now increasingly used, which have recieved far less scientific attention or also show negative effects.

Therefore, an analytical method to determine 17 selected bisphenols was developed. The studies focussed on the most important sources of human organism intake after EFSA in 2014 [82]. The main entry route is food, which is affected by contamination or migration of packaging material. In this study a method was developed for the migration of bisphenols from drinking bottles. Commercially available bottles of different polymer materials, as currently used, were investigated.

The migration conditions used were the standards promoted in the food contact materials regulation. An SPE concentration method has been developed to detect even the smallest migrations. These studies confirmed that bisphenol A can migrate from polycarbonate bottles. Migration increases with increasing temperature and contact time [79, 90]. Nevertheless, the values which were determined are ten times lower than the current limit prescribes [28]. Similar migration effects can be observed for the polyethersulfone bottles for the structural analogue bisphenol S. However, the contents are lower by a factor of two than is the case for bisphenol A in the polycarbonate bottles investigated [82]. All other materials tested showed no migration of bisphenols above the quantification limit. Migration of Bisphenol FL from Tritan® bottles could not be detected [77].

Another entry source for bisphenols in the human organism is house dust [79]. For infants under the age of three, exposure to house dust is estimated to be the second largest entry. On the one hand, this is due to the physical proximity to the dust in the floor area, and, on the other hand, the child`s oral intake of house dust in comparison to an adult person is greater due to the behaviour typical of age. The method development for the detection of bisphenols in house dust poses a big challenge. It is a strongly heterogeneous matrix depending on the circumstances of life, so that the method should be robust to strongly changing matrix components. Another challenge were the different contents of the individual bisphenols. Thus, the method must be very effective, since little used structural analogues can be determined.

Bisphenols F and S were detectable in 100% of house dust samples. They are already used on an industrial scale and could thus be measured in diluted samples. Bisphenol A represents the major burden and was found in every house dust sample. The contents are an order of magnitude higher than the remaining bisphenols.

Due to the expected value, the samples had to be diluted so much that a possible matrix influence could be excluded and the more complex standard addition procedure was not necessary. This was not possible due to the low content of the structural analogues. Nevertheless, it was possible to develop a method to demonstrate the recovery rates of 96 to 113 % and a measuring precision of 1.5 to 6.7 % of all analyte substances.

After evaluating and comparing the bisphenol load with the questionnaires, no direct source of exposure could be determined, so that a diffuse entry can be assumed. The tendency is for house dust samples from rural areas and larger living space to be smaller than samples from areas close to the city. Also an antiproportional connection between bisphenol A contents and structural analogue use is not recognizable. Accordingly, the bisphenol load is primarily caused by lifestyles, where no point sources could be determined.

A special feature in the exposure of bisphenol A is thermal paper. It is in the percent range unbounded in the developer layer of the paper and can therefore be dermally absorbed. Especially for adults, this exposure represents the second largest entry of bisphenol A after food. For the quantification of bisphenols in thermal papers, a simple and rapid analysis was developed which is cost-effective to implement. The measurements were carried out with the optimized HPLC method and method comparison with the GC-MS / MS method, as it was also used in the house dust and migration solutions.

In 94% of the thermal paper samples investigated, either bisphenol A or bisphenol S could be detected as a developing agent. The bulk of detected bisphenols accounted for bisphenol A (more than 80%). The results were confirmed again with GC-MS / MS. Thus, the HPLC method is suitable for the quantification of bisphenols in thermal paper. The results are comparable to other publications in which bisphenol A and S were also determined in percent ranges [3, 4].

Within this thesis, methods for the qualification and quantification of selected bisphenols in three major main entry compartments for the human organism have been developed. Due to increasing precautionary prohibitions and regulations on bisphenol A, alternatives are increasingly coming to the fore. The resulting methods are therefore suitable for monitoring the bisphenols for future stresst assessments. By regulating bisphenol A in thermal paper, the use of structural analogues could be observed for the past and can be observed in the future.

In household dust samples, the data obtained serve as a basis for the current load of bisphenols in Germany. These levels can be compared to future measurements. This will give an overview of whether the regulatory burden on BPA exposure will decrease or whether the overall load of bisphenols will remain the same due to the increasing use of analogues.

The measurement methods can serve as a basis for method development for the quantification of bisphenols in other sample compartments. It is conceivable to use the developed method to examine food, such as fish, which is consumed both raw and processed. Again and again the press reports on the contamination of fish and marine animals with microplastics. A direct transition of bisphenols from these particles into the food would be possible, so that monitoring would be necessary. In addition to thermal paper other paper materials are also of relevance, since bisphenols can enter the ciculation due to improper recycling. This increases bisphenol levels in products made from recycled materials.

I Literaturangaben

[1] Stoffströme wichtiger endokrin wirksamer Industriechemikalien (Bisphenol A; Dibutylphthalat/Benzylbutylphthalat; Nonylphenol/Alkylphenolethoxylate), Leisewitz, A. u. Schwarz, W., Frankfurt am Main 1997

[2] Goldinger, D. M., Demierre, A.-L., Zoller, O., Rupp, H., Reinhard, H., Magnin, R., Becker, T. W. u. Bourqui-Pittet, M.: Endocrine activity of alternatives to BPA found in thermal paper in Switzerland. Regulatory toxicology and pharmacology : RTP 71 (2015) 3, S. 453–462

[3] Liao, C., Liu, F. u. Kannan, K.: Bisphenol s, a new bisphenol analogue, in paper products and currency bills and its association with bisphenol a residues. Environmental science & technology 46 (2012) 12, S. 6515–6522

[4] Bisphenol A Alternatives in Thermal Paper, United States Environmental Protection Agency, 2014

[5] Goodson, A., Summerfield, W. u. Cooper, I.: Survey of bisphenol A and bisphenol F in canned foods. Food additives and contaminants 19 (2002) 8, S. 796–802

[6] Leepipatpiboon, N., Sae-Khow, O. u. Jayanta, S.: Simultaneous determination of bisphenol-A-diglycidyl ether, bisphenol-F-diglycidyl ether, and their derivatives in oil-in-water and aqueous-based canned foods by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. Journal of Chromatography A 1073 (2005) 1-2, S. 331–339

[7] Regueiro, J. u. Wenzl, T.: Determination of bisphenols in beverages by mixed-mode solid-phase extraction and liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. Journal of chromatography. A 1422 (2015), S. 230–238

[8] Europäische Kommission: 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. VO (EU) 10/2011. 2011

[9] Feng, Y., Yin, J., Jiao, Z., Shi, J., Li, M. u. Shao, B.: Bisphenol AF may cause testosterone reduction by directly affecting testis function in adult male rats. Toxicology letters 211 (2012) 2, S. 201–209

[10] Héliès-Toussaint, C., Peyre, L., Costanzo, C., Chagnon, M.-C. u. Rahmani, R.: Is bisphenol S a safe substitute for bisphenol A in terms of metabolic function? An in vitro study. Toxicology and applied pharmacology 280 (2014) 2, S. 224–235

[11] Kitamura, S., Suzuki, T., Sanoh, S., Kohta, R., Jinno, N., Sugihara, K., Yoshihara, S., Fujimoto, N., Watanabe, H. u. Ohta, S.: Comparative study of the endocrine-disrupting

activity of bisphenol A and 19 related compounds. Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology 84 (2005) 2, S. 249–259

[12] Schultis, T. u. Metzger J.W.: Endokrine Aktivität verschiedener Bisphenole und deren Derivate BADGE und BFGDE

[13] Europäische Kommission: VERORDNUNG (EU) 2016/2235 DER KOMMISSION vom 12. Dezember 2016 zur Änderung von Anhang XVII der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH) hinsichtlich Bisphenol A. 2016

[14] Bisphenol A. Massenchemikalie mit unerwünschten Nebenwirkungen, Umweltbundesamt, Dessau-Roßlau 2010

[15] Breitmaier, E. u. Jung, G.: Organische Chemie. Grundlagen, Stoffklassen, Reaktionen, Konzepte, Molekülstruktur ; zahlreiche Formeln, Tabellen. Stuttgart: Thieme 2005

[16] Chen, D., Kannan, K., Tan, H., Zheng, Z., Feng, Y.-L., Wu, Y. u. Widelka, M.: Bisphenol Analogues Other Than BPA: Environmental Occurrence, Human Exposure, and Toxicity-A Review. Environmental science & technology 50 (2016) 11, S. 5438–5453

[17] Wang, Q., Chen, M., Shan, G., Chen, P., Cui, S., Yi, S. u. Zhu, L.: Bioaccumulation and biomagnification of emerging bisphenol analogues in aquatic organisms from Taihu Lake, China. The Science of the total environment 598 (2017), S. 814–820

[18] Rosenmai, A. K., Dybdahl, M., Pedersen, M., van Vugt-Lussenburg, A., Medea, B., Wedebye, E. B., Taxvig, C. u. Vinggaard, A. M.: Are structural analogues to bisphenol a safe alternatives? Toxicological sciences 139 (2014) 1, S. 35–47

[19] Vandenberg, L. N., Maffini, M. V., Sonnenschein, C., Rubin, B. S. u. Soto, A. M.: Bisphenol-A and the Great Divide. A Review of Controversies in the Field of Endocrine Disruption. Endocrine Reviews 30 (2009) 1, S. 75–95

[20] Dodds, E. C., Lawson, W.: Synthetic oestrogenic agents without the phenanthrene nucleus. Nature 137 (1936) 3476, S. 996

[21] Kuiper, G. G., Lemmen, J. G., Carlsson, B., Corton, J. C., Safe, S. H., van der Saag, P. T., van der Burg, B. u. Gustafsson, J. A.: Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor beta. Endocrinology 139 (1998) 10, S. 4252–4263

[22] Baker, M. E. u. Chandsawangbhuwana, C.: 3D models of MBP, a biologically active metabolite of bisphenol A, in human estrogen receptor α and estrogen receptor β. PloS one 7 (2012) 10, S. e46078

[23] Hirao-Suzuki, M., Takeda, S., Okuda, K., Takiguchi, M. u. Yoshihara, S.: Repeated Exposure to 4-Methyl-2,4-bis(4-hydroxyphenyl)pent-1-ene (MBP), an Active Metabolite of Bisphenol A, Aggressively Stimulates Breast Cancer Cell Growth in an Estrogen Receptor β (ERβ)–Dependent Manner. Molecular Pharmacology 95 (2019) 3, S. 260–268

[24] Hormann, A. M., Vom Saal, F. S., Nagel, S. C., Stahlhut, R. W., Moyer, C. L., Ellersieck, M. R., Welshons, W. V., Toutain, P.-L. u. Taylor, J. A.: Holding thermal receipt paper and eating food after using hand sanitizer results in high serum bioactive and urine total levels of bisphenol A (BPA). PloS one 9 (2014) 10, e110509

[25] Kuruto-Niwa, R., Nozawa, R., Miyakoshi, T., Shiozawa, T. u. Terao, Y.: Estrogenic activity of alkylphenols, bisphenol S, and their chlorinated derivatives using a GFP expression system. Environmental Toxicology and Pharmacology 19 (2005) 1, S. 121–130

[26] Ji, K., Hong, S., Kho, Y. u. Choi, K.: Effects of bisphenol s exposure on endocrine functions and reproduction of zebrafish. Environmental science & technology 47 (2013) 15, S. 8793–8800

[27] Eladak, S., Grisin, T., Moison, D., Guerquin, M.-J., N'Tumba-Byn, T., Pozzi-Gaudin, S., Benachi, A., Livera, G., Rouiller-Fabre, V. u. Habert, R.: A new chapter in the bisphenol A story: bisphenol S and bisphenol F are not safe alternatives to this compound. Fertility and sterility 103 (2015) 1, S. 11–21

[28] Europäische Kommission: VERORDNUNG (EU) 2018/213 DER KOMMISSION vom 12. Februar 2018 über die Verwendung von Bisphenol A in Lacken und Beschichtungen, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen, und zur Änderung der Verordnung (EU) Nr. 10/2011 hinsichtlich der Verwendung dieses Stoffes in Lebensmittelkontaktmaterialien aus Kunststoff. VO (EU) 20187213. 2018

[29] European Chemicals Agency: Infocard - 1,1-bis(4-hydroxyphenyl)-1-phenylethane. https://echa.europa.eu/substance-information/-/substanceinfo/100.103.138, abgerufen am: 25.06.2018

[30] European Chemicals Agency: Infocard - 2,2-Bis(2-hydroxy-5-biphenylyl)propane. https://echa.europa.eu/substance-information/-/substanceinfo/100.203.270, abgerufen am: 25.06.2018

[31] European Chemicals Agency: Infocard - 4-(2-{4-[2-(4-hydroxyphenyl)propan-2-yl]phenyl}propan-2-yl)phenol. https://echa.europa.eu/substance-information/-/substanceinfo/100.125.643, abgerufen am: 25.06.2018

[32] European Chemicals Agency: Infocard - 4,4'-(1,3-phenylene-bis(1-methylethylidene))bis-phenol. https://echa.europa.eu/substance-information/-/substanceinfo/100.102.734, abgerufen am: 25.06.2018

[33] European Chemicals Agency: Infocard - 4,4'-(1-methylpropylidene)bisphenol. https://echa.europa.eu/substance-information/-/substanceinfo/100.000.933, abgerufen am: 25.06.2018

[34] European Chemicals Agency: Infocard - 4,4'-(dichlorovinylidene)diphenol. https://echa.europa.eu/substance-information/-/substanceinfo/100.035.385, abgerufen am: 25.06.2018

[35] European Chemicals Agency: Infocard - 4,4'-[2,2,2-trifluoro-1-(trifluoromethyl)ethylidene]diphenol. https://echa.europa.eu/substance-information/-/substanceinfo/100.014.579, abgerufen am: 25.06.2018

[36] European Chemicals Agency: Infocard - 4,4'-cyclohexylidenebisphenol. https://echa.europa.eu/substance-information/-/substanceinfo/100.011.525, abgerufen am: 25.06.2018

[37] European Chemicals Agency: Infocard - 4,4'-isopropylidenedi-o-cresol. https://echa.europa.eu/substance-information/-/substanceinfo/100.001.128, abgerufen am: 25.06.2018

[38] European Chemicals Agency: Infocard - 4,4'-isopropylidenedi-o-cresol. https://echa.europa.eu/substance-information/-/substanceinfo/100.001.128, abgerufen am: 25.06.2018

[39] European Chemicals Agency: Infocard - 4,4'-isopropylidenediphenol. https://echa.europa.eu/substance-information/-/substanceinfo/100.001.133, abgerufen am: 25.06.2018

[40] European Chemicals Agency: Infocard - 4,4'-methylenediphenol. https://echa.europa.eu/substance-information/-/substanceinfo/100.009.691, abgerufen am: 25.06.2018

[41] European Chemicals Agency: Infocard - 4,4'-sulphonyldiphenol. https://echa.europa.eu/substance-information/-/substanceinfo/100.001.137, abgerufen am: 25.06.2018

[42] European Chemicals Agency: Infocard - 4-[(4-hydroxyphenyl)diphenylmethyl]phenol. https://echa.europa.eu/substance-information/-/substanceinfo/100.204.942, abgerufen am: 25.06.2018

[43] European Chemicals Agency: Infocard - 4,4'-(3,3,5-Trimethylcyclohexylidene)bisphenol. https://echa.europa.eu/substance-information/-/substanceinfo/100.123.958, abgerufen am: 25.06.2018

[44] European Chemicals Agency: Infocard - 4-[1-(4-hydroxyphenyl)ethyl]phenol. https://echa.europa.eu/substance-information/-/substanceinfo/100.155.981, abgerufen am: 25.06.2018

[45] European Chemicals Agency: Infocard - 4-{2-[4-hydroxy-3-(propan-2-yl)phenyl]propan-2-yl}-2-(propan-2-yl)phenol. https://echa.europa.eu/substance-information/-/substanceinfo/100.203.269, abgerufen am: 25.06.2018

[46] European Chemicals Agency: Infocard - 9,9-bis(4-hydroxyphenyl)fluorene. https://echa.europa.eu/substance-information/-/substanceinfo/100.100.850, abgerufen am: 25.06.2018

[47] Becker, H. G. O.: Organikum. Organisch-chemisches Grundpraktikum. Weinheim: Wiley-VCH 2001

[48] Umweltbericht: 61/2002. Schwerflüchtige organische Umweltchemikalien in Hamburger Hausstäuben, Freie und Hansestadt Hamburg, Behörde für Umwelt und Gesundheit, Hamburg 2002

[49] Hausstaub - Ein Indikator für Innenraumbelastung, Uhl, M., Hohenblum, P., Scharf, S. u. Trimbacher, C., Wien 2004

[50] BPA Dossier Restriction annex XV 4.4’-isopropylidenediphenol (bisphenol A; BPA), Agence nationale de sécurité sanitaire de l’alimentation, de l’environnement et du travail, 2014

[51] Koehler Paper Group: Thermotechnologie. Wie funktioniert der Thermodruck, 2017. https://www.koehlerpaper.com/de/papier/thermal/thermotechnologie.php, abgerufen am: 19.09.2017

[52] Baumann, W. u. Rothardt, T.: Druckereichemikalien. Daten und Fakten zum Umweltschutz. Berlin, Heidelberg, s.l.: Springer Berlin Heidelberg 1999

[53] Markt Survey: Use of bisphenol A and its alternatives in thermal paper in the EU from 2014 to 2017, European Chemicals Agency, 2018

[54] Europäisches Parlament und Rat: VERORDNUNG (EG) Nr. 1935/2004 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 27. Oktober 2004 über Materialien und Gegenstände, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen und zur Aufhebung der Richtlinien 80/590/EWG und 89/109/EWG. VO (EG) 1935/2004, Bd. 2004. 2004

[55] Brede, C., Fjeldal, P., Skjevrak, I. u. Herikstad, H.: Increased migration levels of bisphenol A from polycarbonate baby bottles after dishwashing, boiling and brushing. Food additives and contaminants 20 (2003) 7, S. 684–689

[56] Le, H. H., Carlson, E. M., Chua, J. P. u. Belcher, S. M.: Bisphenol A is released from polycarbonate drinking bottles and mimics the neurotoxic actions of estrogen in developing cerebellar neurons. Toxicology letters 176 (2008) 2, S. 149–156

[57] Osimitz, T. G., Eldridge, M. L., Sloter, E., Welsh, W., Ai, N., Sayler, G. S., Menn, F. u. Toole, C.: Lack of androgenicity and estrogenicity of the three monomers used in Eastman's Tritan™ copolyesters. Food and chemical toxicology 50 (2012) 6, S. 2196–2205

[58] Hübschmann, H.-J.: Handbuch der GC/MS. Grundlagen und Anwendung. Weinheim: VCH 2005

[59] Cammann, K. (Hrsg.): Instrumentelle analytische Chemie. Verfahren, Anwendungen und Qualitätssicherung. Spektrum Lehrbuch. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag 2001

[60] Spektrum.de: Gaschromatographie, 1998. https://www.spektrum.de/lexikon/physik/gaschromatographie/5544, abgerufen am: 15.05.2019

[61] Hübschmann, H.-J.: Handbook of GC-MS. Fundamentals and applications. Weinheim: Wiley-VCH 2015

[62] McMaster, M. C.: GC/MS. A practical user's guide. Hoboken, N.J: Wiley-Interscience 2008

[63] aparentas (Hrsg.): Laborpraxis Band 3:. Trennungsmethoden. Springer 2016

[64] Aced, G. u. Möckel, H. J.: Liquidchromatographie. Apparative, theoretische und methodische Grundlagen der HPLC. Weinheim: VCH 1991

[65] Töppner, K., Hansen, D. u. Herbig, E.: Ultrapure Water for HPLC Analysis. The Role of Ultrapure Water. G.I.T. Laboratory Journal Europe 2014 (2014) 17

[66] Engelhardt, H., Aitzetmüller, K. u. Asshauer, J. (Hrsg.): Practice of high performance liquid chromatography. Applications, equipment and quantitative analysis. Berlin: Springer 1986

[67] Atkins, P. W., Paula, J. de u. Bär, M.: Physikalische Chemie. Wiley VCH Lehrbuchkollektion 1. Weinheim: Wiley-VCH Verl. 2013

[68] Behörde für Umwelt und Gesundheit: Schwerflüchtige organische Umweltchemikalien in Hamburger Hausstäuben 2002 (2002)

[69] Albrecht, C. u. Lorenz, W.: Occurence of synthetic musk compounds and their fate in the aquatic environment of the river saale in germany. Fresenius Environmental Bulletin 23 (2014) 7, S. 1455–1463

[70] Schmidt, V. M.: Elektrochemische Verfahrenstechnik. Grundlagen, Reaktionstechnik, Prozeßoptimierung. Weinheim: Wiley 2003

[71] Europäische Kommission: 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. 2015

[72] Bundesamt für Kartographie und Geodäsie: Verwaltungskarte Deutschland. Länder. Frankfurt am Main: Bundesamt für Kartographie und Geodäsie 2017

[73] Wang, W., Abualnaja, K. O., Asimakopoulos, A. G., Covaci, A., Gevao, B., Johnson-Restrepo, B., Kumosani, T. A., Malarvannan, G., Minh, T. B., Moon, H.-B., Nakata, H., Sinha, R. K. u. Kannan, K.: A comparative assessment of human exposure to tetrabromobisphenol A and eight bisphenols including bisphenol A via indoor dust ingestion in twelve countries. Environment international 83 (2015), S. 183–191

[74] Loganathan, S. N. u. Kannan, K.: Occurrence of bisphenol A in indoor dust from two locations in the eastern United States and implications for human exposures. Archives of environmental contamination and toxicology 61 (2011) 1, S. 68–73

[75] Liao, C., Liu, F., Guo, Y., Moon, H.-B., Nakata, H., Wu, Q. u. Kannan, K.: Occurrence of eight bisphenol analogues in indoor dust from the United States and several Asian countries: implications for human exposure. Environmental science & technology 46 (2012) 16, S. 9138–9145

[76] Thayer, K. A., Taylor, K. W., Garantziotis, S., Schurman, S., Kissling, G. E., Hunt, D., Herbert, B., Church, R., Jankowich, R., Churchwell, M. I., Scheri, R. C., Birnbaum, L. S. u. Bucher, J. R.: Bisphenol A, Bisphenol S, and 4-Hydroxyphenyl 4-Isoprooxyphenylsulfone (BPSIP) in Urine and Blood of Cashiers. Environmental health perspectives 124 (2015) 4

[77] Europäische Kommission: VERORDNUNG (EU) 2016/2235 DER KOMMISSION vom 12. Dezember 2016 zur Änderung von Anhang XVII der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH) hinsichtlich Bisphenol A. 2016

[78] Rochester, J. R. u. Bolden, A. L.: Bisphenol S and F: A Systematic Review and Comparison of the Hormonal Activity of Bisphenol A Substitutes. Environmental health perspectives 123 (2015) 7, S. 643–650

[79] Zhang, Z., Hu, Y., Guo, J., Yu, T., Sun, L., Xiao, X., Zhu, D., Nakanishi, T., Hiromori, Y., Li, J., Fan, X., Wan, Y., Cheng, S., Guo, X. u. Hu, J.: Fluorene-9-bisphenol is anti-oestrogenic and may cause adverse pregnancy outcomes in mice. Nature communications 8 (2017), S. 14585

[80] IHS Markit: Bisphenol A - Chemical Economics Handbook, 2018. https://ihsmarkit.com/products/bisphenol-chemical-economics-handbook.html, abgerufen am: 11.04.2019

[81] E.C. Dodds, W. L.: Molecular structure in relation to oestrogenic activity. Compounds without a phenanthrene nucleus. JSTOR 839 (1938) 125, S. 222–232

[82] European Food Safety Authority: Scientific Opinion on the risks to public health related to the presence of bisphenol A (BPA) in foodstuffs: Executive summary. EFSA Journal 13 (2015) 1, S. 3978

[83] Yoshimura, Y., Brock, J. W., Makino, T. u. Nakazawa, H.: Measurement of bisphenol A in human serum by gas chromatography/mass spectrometry. Analytica Chimica Acta 458 (2002) 2, S. 331–336

[84] Liao, C., Liu, F., Alomirah, H., Loi, V. D., Mohd, M. A., Moon, H.-B., Nakata, H. u. Kannan, K.: Bisphenol S in urine from the United States and seven Asian countries: occurrence and human exposures. Environmental science & technology 46 (2012) 12, S. 6860–6866

[85] Li, X. u. Franke, A. A.: Improvement of bisphenol A quantitation from urine by LCMS. Analytical and bioanalytical chemistry 407 (2015) 13, S. 3869–3874

[86] Heffernan, A. L., Thompson, K., Eaglesham, G., Vijayasarathy, S., Mueller, J. F., Sly, P. D. u. Gomez, M. J.: Rapid, automated online SPE-LC-QTRAP-MS/MS method for the simultaneous analysis of 14 phthalate metabolites and 5 bisphenol analogues in human urine. Talanta 151 (2016), S. 224–233

[87] Chen, M., Zhu, P., Xu, B., Zhao, R., Qiao, S., Chen, X., Tang, R., Wu, D., Song, L., Wang, S., Xia, Y. u. Wang, X.: Determination of Nine Environmental Phenols in Urine by Ultra-High-Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. Journal of Analytical Toxicology 36 (2012) 9, S. 608–615

[88] Deceuninck, Y., Bichon, E., Marchand, P., Boquien, C.-Y., Legrand, A., Boscher, C., Antignac, J. P. u. Le Bizec, B.: Determination of bisphenol A and related substitu-

tes/analogues in human breast milk using gas chromatography-tandem mass spectrometry. Analytical and bioanalytical chemistry 407 (2015) 9, S. 2485–2497

[89] Cobellis, L., Colacurci, N., Trabucco, E., Carpentiero, C. u. Grumetto, L.: Measurement of bisphenol A and bisphenol B levels in human blood sera from healthy and endometriotic women. Biomedical chromatography : BMC 23 (2009) 11, S. 1186–1190

[90] Chang, C.-M., Chou, C.-C. u. Lee, M. R.: Determining leaching of bisphenol A from plastic containers by solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. Analytica Chimica Acta 539 (2005) 1-2, S. 41–47

[91] Catherine Simoneau, Sandro Valzacchi, Vaidas Morkunas, Liza Van den Eede: Comparison of migration from polyethersulphone baby bottles with that of polycarbonate baby bottles (2012)

II Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Strukturvergleich oströgen wirksamer Substanzen (ES, MBP, DES und BPA) [22] 9

Abb. 2: Schematischer Aufbau des Soxleth-Extraktors [47] 12

Abb. 3: Eintrag von BPA in menschl. Organismus (nach REACH Anhang XV) [50] 15

Abb. 4: Struktur und Funktion des Thermopapiers [51] 16

Abb. 5: Thermoprint-Schema [51] 16

Abb. 6: Konstitutionelle Repetiereinheiten der Polymere PC, PP und PES 18

Abb. 7: Schematische Darstellung Gaschromatograph nach [60] 20

Abb. 8: Schema eines Quadrupolmassenfilters mit Ionenbahnen [59] 24

Abb. 9: Schematische Darstellung der verschiedenen GC-MS/MS-Techniken, nach [61] 27

Abb. 10: Reaktion von TMSH mit Bisphenolen (nicht stöchiometrisch) 29

Abb. 11: schematischer Aufbau HPLC-System nach [65] 30

Abb. 12: Probenaufgabe mit dem Sechswegeventil [59] 33

Abb. 13: Jablonski-Diagramm für Naphthalin (IC = Innere Umwandlung, ISC = *Intersystem Crossing*) [67] 35

Abb. 14: Optimierung der Kollisionsenergie für Bisphenol A (241.1 zu 133.1) mit AutoSRM 44

Abb. 15: Variation des PTV-Programms (50 pg/µl) 48

Abb. 16: Variation der Injektortemperatur beim SSL (30 pg/µl) 49

Abb. 17: Auswahl der Derivatisierung anhand vom jeweiligen *Response Ratio* 50

Abb. 18: Flächenverhältnis bei Variation des Methylierungsmittels 52

Abb. 19: Flächenverhältnis bei Variation der TMSH-Methylierung 53

Abb. 20: *Full Scan*-Aufnahme einer 1 ng/µl Standardlösung mit GC-MS/MS 54

Abb. 21: DAD-Scannmessung von 210 bis 400 nm (1 ng/µl Stammlösung) 56

Abb. 22: FLD-Scannmessung von 300 bis 500 nm Emission (1 ng/µl Stammlösung) 57

Abb. 23: Chromatogramm HPLC (1 ng/µl Stammlösung) 59

Abb. 24: Hausstaubfraktionen in Retsch-Sieben (v.l.: > 2 mm, 2 mm - 63 µm, < 63 µm) .. 61

Abb. 25: US-Extraktion Toluol, *Clean up* Kieselgel 63
Abb. 26: US-Extraktion Methanol, *Clean up* Kieselgel 64
Abb. 27: Ultraschall-Extraktion mit Methanol/Toluol, *Clean up* Kieselgel 65
Abb. 28: US-Extraktion Methanol und Aceton, *Clean up*: aktiviertes Kieselgel 66
Abb. 29: Verteilung der detektierten Bisphenole in den Extraktionsfraktionen 67
Abb. 30: SPE-*Clean up* mittels aktiviertem Kieselgel, Elution mit Methanol 69
Abb. 31: SPE-*Clean up* mittels aktiviertem Kieselgel und GCB 70
Abb. 32: Wiederfindungsraten beim Abrotieren mit und ohne Einsatz eines *Keepers* 71
Abb. 33: Interferenzprobleme bei ausgewählten Übergängen für Bisphenol C 73
Abb. 34: Wiederfindungsrate der dotierten Hausstaubproben mit Methodenpräzision 74
Abb. 35: Aufarbeitungsschema der Hausstaubproben 76
Abb. 36: Chromatogramm mit und ohne Kieselgel-*Clean up* (230 nm) 77
Abb. 37: Wiederfindungsrate bei Variation der Menge an graphitiertem Ruß 78
Abb. 38: Wiederfindungsrate bei Variation der Elutionsmittelstärke 79
Abb. 39: Wiederfindungsrate der dotierten Thermopapierproben mit Standardabweichung 80
Abb. 40: Aufarbeitungsschema für die Messung von Bisphenolen in Thermopapier 81
Abb. 41: Wiederfindungsraten der Methode mit dotierten Proben (Surrogat berücksichtigt) 85
Abb. 42: Aufarbeitungsschema für die Migrationsuntersuchungen in Trinkflaschen 86
Abb. 43: Übersicht aller Bisphenole in Hausstaubproben 88
Abb. 44: Herkunft der Hausstaubproben nach [72] 90
Abb. 45: Bisphenol-Gehalte ohne Bisphenol A in Hausstaubproben 94
Abb. 46: Methodenvergleich Bisphenol A-Gehalte in Thermopapier mit HPLC und GC-MS/MS 99
Abb. 47: Methodenvergleich BPS-Gehalte Thermopapier 100
Abb. 48: Übersicht Anteile der Bisphenole in untersuchten Thermopapieren 101
Abb. 49: Migrationsgehalte von Bisphenol A in TF07 105
Abb. 50: Migrationsgehalte von Bisphenol S in TF06 106

Abb. 51: Migrationsgehalte der Trinkflaschen bei Langzeitkontakt 108

Abb. 52: Kalibriergerade für Bisphenol A 1:50 in Hausstaub mit GC-MS/MS XVI

Abb. 53: Beispiel Standardaddition HS01-1 1:5 verdünnt für Bisphenol S und F XVI

Abb. 54: Fragebogen zu den untersuchten Hausstaubproben XVII

Abb. 55: Kalibriergerade BPS mit HPLC-DAD-Detektion XXII

Abb. 56: Kalibriergeraden von BPA, BPAF und BPAP (GC-MS/MS) für Migrationslösungen XXVIII

Abb. 57: SPE-Aufreinigung der Migrationslösungen XXXV

III Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Berechnete Eigenschaften der Bisphenol Analoga (EPIWEB 4.1) [16, 17].....4

Tab. 2: Toxische Effekte der Bisphenol-Analoga [16].....8

Tab. 3: Häufig verwendete stationäre Phasen in der Kapillar-GC, in Anlehnung an [59, 61].....22

Tab. 4: Verschiedene Messtechniken bei Triple-Quadrupol-Massenspektrometern [61] .27

Tab. 5: Verwendete Analytsubstanzen.....36

Tab. 6: Verwendete Lösungsmittel und Reinheitsgrad.....37

Tab. 7: Verwendete Geräte/Materialien.....37

Tab. 8: Nachweis- und Bestimmungrenzen nach Kalibriergeradenmodell für Hausstaub 41

Tab. 9: Nachweis- und Bestimmungrenzen nach Kalibriergeradenmodell für Thermopapier mittels HPLC 42

Tab. 10: Injektoreinstellungen des GC-Messprogramms 45

Tab. 11: Temperaturprogramm des Gaschromatographen 45

Tab. 12: Ausgewählte Massenübergänge der GC-MS/MS-Methode 46

Tab. 13: Einstellungen des Massenspektrometers 47

Tab. 14: Parameter der HPLC-Methode 58

Tab. 15: Messpräzisionen für die Messung mittels HPLC (in %) 60

Tab. 16: Detektierte Substanzen nach NIST-Datenbank-Vergleich 70

Tab. 17: Methodenpräzision für die Aufarbeitung von Hausstaub (in %).....75

Tab. 18: Messpräzision für die Aufarbeitung von Hausstaub (in %) 75

Tab. 19: Verwendete SPE-Materialien zur Methodenentwicklung 82

Tab. 20: Wiederfindungsraten der SPE-Materialien mit dotiertem Wasser (in %) 83

Tab. 21: Bisphenol-Konzentrationen in Hausstaub (ng/g) nach [73] 91

Tab. 22: Bisphenol A-Gehalte in Hausstaub aus östlichen Staaten der USA nach [74].....92

Tab. 23: Vergleich der Hausstaubproben HS05 und HS22 93

Tab. 24: Übersicht jährliche Zuordnung der Proben.....96

Tab. 25: Untersuchte Thermopapierproben 97

Tab. 26: Zusammenhang zwischen Verwendungsjahr und Bisphenol A-Gehalt 102

Tab. 27: Übersicht über die untersuchten Trinkflaschenproben 104

Tab. 28: Konzentration der Einzelstammlösungen (24.01.2019) XV

Tab. 29: Ermittelte Bisphenol-Gehalte in Hausstaubproben XX

Tab. 30: Kalibrierdaten für HPLC-DAD Messungen von Thermopapier XXII

Tab. 31: Ermittelte Nachweis- und Bestimmungsgrenzen für Trinkflaschen nach DIN 32645 XXXIV

Tab. 32: Bisphenol-Gehalte 10-stündige Migration (Die Werte in Klammern befinden sich zwischen der Nachweis- und Bestimmungsgrenze.) XXXVI

Tab. 33: Bisphenol-Gehalte in kochendem Wasser (zum Ausspülen verwendet) XXXVII

Tab. 34: Bisphenol-Gehalte 1. Migration, 3 Gew.-% Essigsäure XXXVIII

Tab. 35: Bisphenol-Gehalte 1. Migration, 20 Vol.-% Ethanol XXXIX

Tab. 36: Bisphenol-Gehalte 1. Migration, 50 Vol.-% Ethanol XL

Tab. 37: Bisphenol-Gehalte 2. Migration, 3 Gew.-% Essigsäure XLI

Tab. 38: Bisphenol-Gehalte 2. Migration, 20 Vol.-% Ethanol XLII

Tab. 39: Bisphenol-Gehalte 2. Migration, 50 Vol.-% Ethanol XLIII

Tab. 40: Bisphenol-Gehalte 3. Migration, 3 Gew.-% Essigsäure XLIV

Tab. 41: Bisphenol-Gehalte 3. Migration, 20 Vol.-% Ethanol XLV

Tab. 42: Bisphenol-Gehalte 3. Migration, 50 Vol.-% Ethanol XLVI

IV Anhang

Tab. 28: Konzentration der Einzelstammlösungen (24.01.2019)

Bisphenol	Einwaage (in mg)	Konzentration (in µg/µl)
A	5,00	1,000
A d16	5,08	1,016
AF	4,99	0,998
AF d4	5,22	1,044
AP	5,16	1,032
B	5,06	1,012
BP	5,09	1,018
C	5,07	1,014
C2	5,14	1,028
E	5,12	1,024
F	5,20	1,040
FL	5,17	1,034
G	5,02	1,004
M	5,07	1,014
P	5,24	1,048
PH	5,04	1,008
S	5,12	1,024
TMC	5,02	1,004
Z	5,08	1,016
Fluoranthen d10 (IS in Toluol)	5,26	1,052

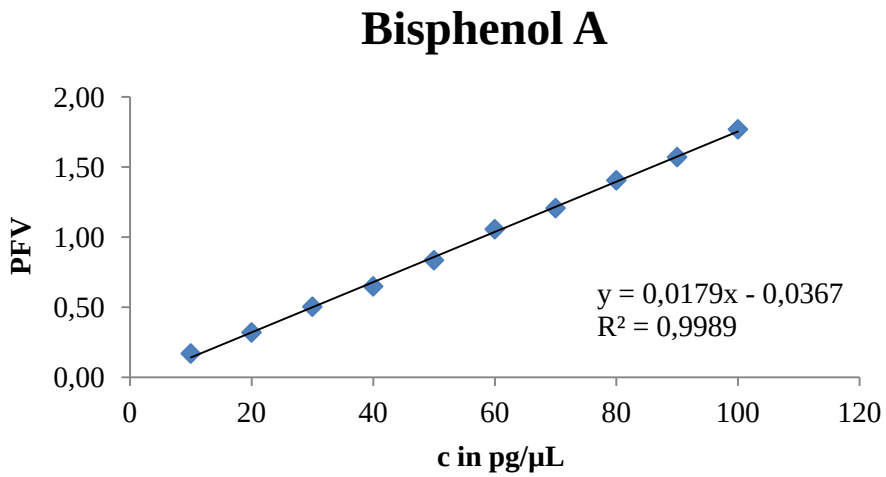
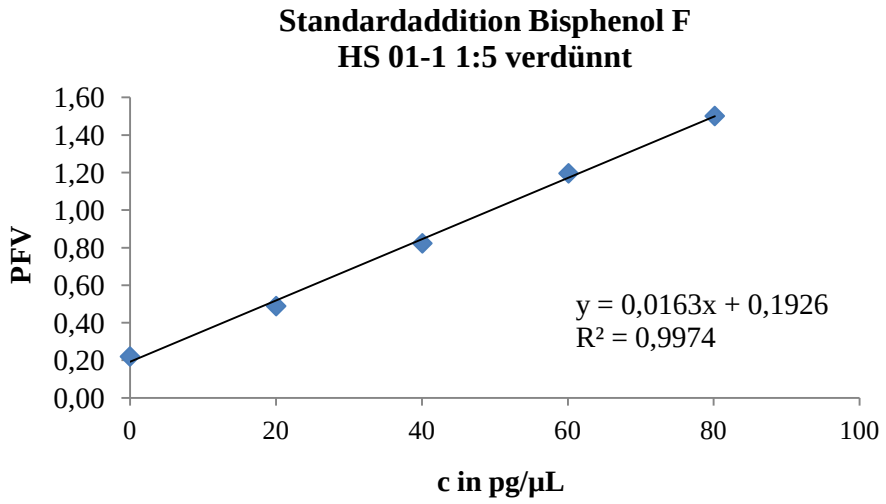


Abb. 52: Kalibriergerade für Bisphenol A 1:50 in Hausstaub mit GC-MS/MS



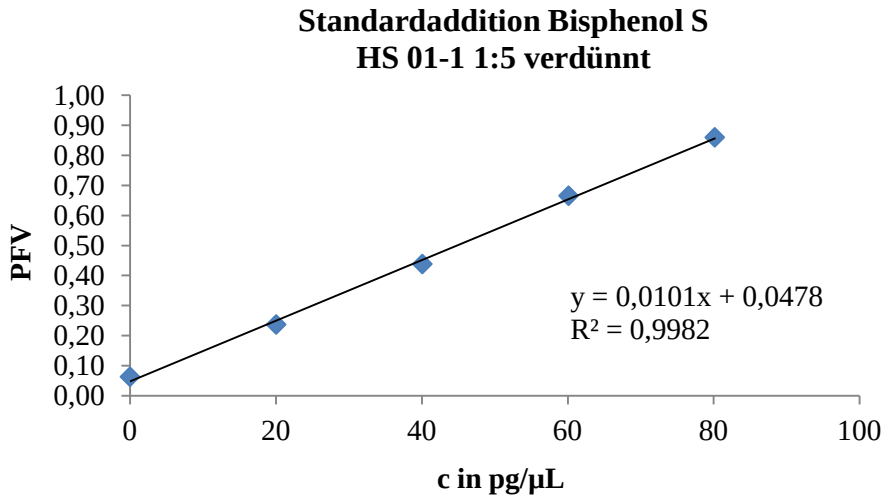


Abb. 53: Beispiel Standardaddition HS01-1 1:5 verdünnt für Bisphenol S und F

Fragebogen - Hausstaub

Im Rahmen meiner Promotionsarbeit beschäftige ich mich mit dem Nachweis von Bisphenolen in Hausstaubproben. Ich bedanke mich bereits jetzt für die Bereitstellung Ihrer Staubprobe!

Ich bitte darum, die Fragen nach bestem Wissen und Gewissen auszufüllen, da sie bei der Interpretation der Ergebnisse und Kausalitätsprüfung hilfreich sein können!

Die Antworten werden in jedem Fall vertraulich behandelt und Ergebnisse nur anonymisiert veröffentlicht.

Mit freundlichen Grüßen,

Daniel Goldmann

Allgemeine Angaben zur Hausstaubprobe:

Über welchen Zeitraum erstreckte sich die Probenahme? _____

Herkunft der Probe (beutelloser Sauger oder mit Beutel): _____

Name: _____

Bundesland: _____

Ort: _____

Straße: _____

Anzahl der im Haushalt lebenden Personen: _____

Leben Haustiere im Haushalt? ☐ Ja ☐ Nein

Wenn ja, welche Tiere und wie viele leben bei Ihnen? _____

Wird in der Wohnung geraucht? ☐ Ja ☐ Nein

Wenn ja, wie viel wird ungefähr in der Wohnung geraucht? ____ Zigaretten/Tag

Abb. 54: Fragebogen zu den untersuchten Hausstaubproben

Haustyp: ☐ Hochhaus ☐ Betonplattenbau mit/ohne Dichtungsfugen
☐ Reihenhaus/Einfamilienhaus ☐ Fertighaus
☐ Fachwerkhaus ☐ Mehrfamilienhaus
☐ Sonstiges (z.B. ehem. Soldatenwohnung):

Heizungen: ☐ Zentralheizung ☐ Gasetagenheizung
☐ Ofen ☐ Kamin
☐ Sonstiges:

Allgemeine Fragen zur Wohnung und zum Saugverhalten:

Angaben zur Umgebung? (bis 2 km)
☐ ländlich (Ortsrand)
☐ ländlich (Ortskern)
☐ städtisch (locker verbaut)
☐ städtisch (stark verbaut)

Verkehr:
☐ schwach
☐ stark (Fernzone)
☐ stark (Nahzone)
☐ starker LKW-Verkehr

Wie häufig wird in Ihrer Wohnung/ Ihrem Haus gesaugt?
☐ täglich
☐ zwei- bis dreimal die Woche
☐ einmal die Woche
☐ alle zwei Wochen
☐ seltener

Welche Böden werden gesaugt? (Mehrfach-antworten möglich)
☐ Parkettboden
☐ Laminat
☐ Fliesenboden
☐ PVC-Belag
☐ Linoleum
☐ nur Teppiche/Teppichboden

Wird außerhalb der Wohnung gesaugt?
☐ Ja ☐ Nein
(Mehrfachantworten möglich)
☐ Auto
☐ Garage
☐ Terrasse
☐ Balkon
☐ Keller
☐ andere: _____

Fortsetzung Abb. 54: Fragebogen zu den untersuchten Hausstaubproben

Spezielle Fragen im Hinblick auf mögliche Bisphenol-Eintragsquellen:

Wird in vorwiegend als Büro genutzten Räumen gesaugt?

☐ Ja ☐ Nein

evtl. Erläuterungen: _____

_____

Sind in den gesaugten Räumen PVC-Böden verbaut?

☐ Ja ☐ Nein

Wenn ja, wie viel prozentual zur gesamten Wohnung gesehen? ca._____%

Ist in der Wohnung ein Laserdrucker vorhanden?

☐ Ja ☐ Nein

evtl. Erläuterungen: _____

_____

Werden in der Wohnung Kassenzettel/Thermopapier offen aufbewahrt? (nicht abgeheftet)

☐ Ja ☐ Nein

evtl. Erläuterungen (wie viele Zettel oder ungefähre mengenmäßige Einordnung): _____

Fortsetzung Abb. 54: Fragebogen zu den untersuchten Hausstaubproben

Tab. 29: Ermittelte Bisphenol-Gehalte in Hausstaubproben

	HS 01	HS 02	HS 03	HS 05	HS 06	HS 07	HS 08	HS 10	HS 11	HS 13
	Gehalt in ng/g	Gehalt in ng/g	Gehalt in ng/g	Gehalt in ng/g	Gehalt in ng/g	Gehalt in ng/g	Gehalt in ng/g	Gehalt in ng/g	Gehalt in ng/g	Gehalt in ng/g
Bisphenol A	4744	2059	6935	3066	8083	3468	8584	4217	2356	2101
Bisphenol AF	< 2	< 2	1,5	< 2	< 2	< 2	17,6	34,1	< 2	1,9
Bisphenol AP	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
Bisphenol B	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
Bisphenol BP	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
Bisphenol C	< 3	< 3	2,2	9,2	< 3	< 3	19,2	< 3	< 3	< 2
Bisphenol C2	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
Bisphenol E	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	7,0	< 2
Bisphenol F	204,8	94,1	139,5	119,2	69,1	122,8	251,7	125,6	115,1	122,0
Bisphenol FL	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
Bisphenol G	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
Bisphenol M	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
Bisphenol P	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
Bisphenol PH	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4
Bisphenol S	93,8	65,4	433,7	761,1	197,3	421,7	267,2	106,2	110,8	341,2
Bisphenol TMC	< 3	< 3	< 3	4,6	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
Bisphenol Z	< 2	< 2	2,3	< 2	11,4	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2

Fortsetzung Tab. 29: Ermittelte Bisphenol-Gehalte in Hausstaubproben

	HS 14	HS 15	HS 16	HS 17	HS 20	HS 21	HS 22	HS 23	HS 24
	Gehalt in ng/g	Gehalt in ng/g	Gehalt in ng/g	Gehalt in ng/g	Gehalt in ng/g	Gehalt in ng/g	Gehalt in ng/g	Gehalt in ng/g	Gehalt in ng/g
Bisphenol A	2780	10724	4733	1187	2626	2747	3657	17340	663
Bisphenol AF	3,6	22,5	< 2	< 2	< 2	2,2	3,8	< 2	0,5
Bisphenol AP	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
Bisphenol B	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
Bisphenol BP	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
Bisphenol C	15,3	< 3	3,7	120,5	22,0	< 3	68,8	6,3	< 3
Bisphenol C2	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
Bisphenol E	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	12,1	< 2	< 2	< 2
Bisphenol F	505,9	62,1	66,3	134,8	179,7	2235,0	108,7	54,7	15,1
Bisphenol FL	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
Bisphenol G	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
Bisphenol M	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
Bisphenol P	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
Bisphenol PH	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4
Bisphenol S	348,7	95,1	260,0	104,6	264,1	161,8	716,5	196,0	38,2
Bisphenol TMC	< 3	14,5	2,3	< 3	< 3	< 3	4,8	< 3	< 3
Bisphenol Z	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2

Tab. 30: Kalibrierdaten für HPLC-DAD Messungen von Thermopapier

	Achsenabschnitt	Steigung	Wellenlänge in nm	Retentionszeit in min
Bisphenol S	0,12956	0,05248	254	5,12
Bisphenol F	1,82193	0,04837	230	8,39
Bisphenol E	0,12880	0,04773	230	9,41
Bisphenol A	0,17794	0,04131	230	10,44
Bisphenol B	0,23106	0,04071	230	12,45
Bisphenol C	-0,11682	0,02805	230	13,39
Bisphenol AP	0,35479	0,03483	230	14,81
Bisphenol AF/C2	0,86008	0,03093	230	15,30
Bisphenol Z	0,02673	0,03306	230	16,01
Bisphenol FL	0,55399	0,06010	230	18,62
Bisphenol BP	-4,61640	0,05825	218	23,93
Bisphenol M/P	-0,09461	0,04172	230	28,09
Bisphenol TMC	0,37143	0,02504	230	28,56
Bisphenol G	0,98790	0,02584	230	29,83
Bisphenol PH	-0,73195	0,06987	230	30,21

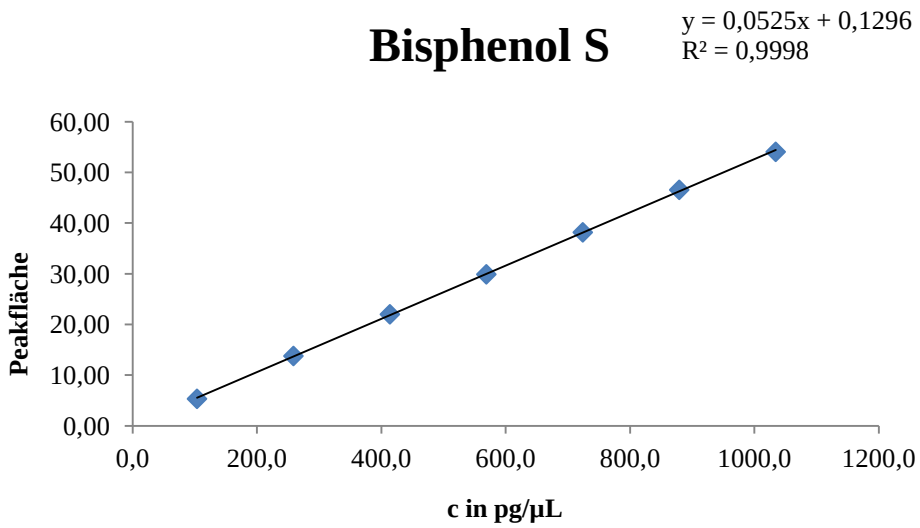
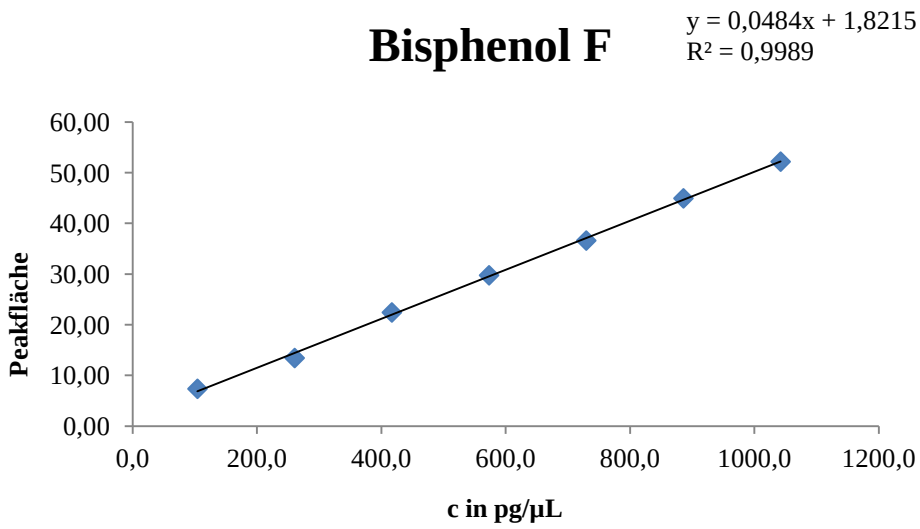
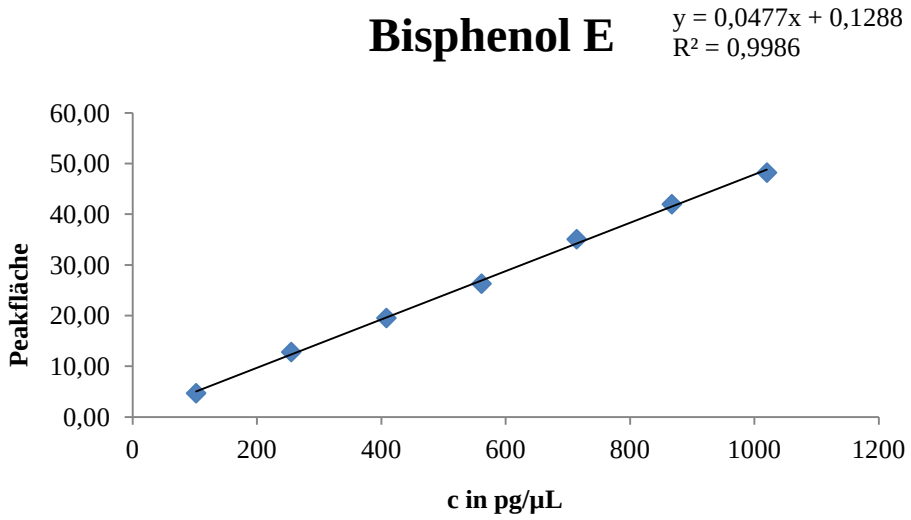
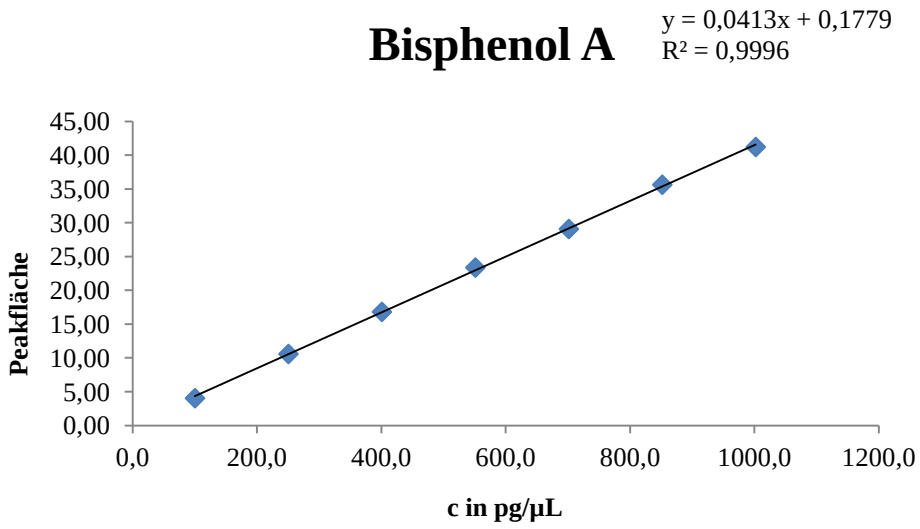


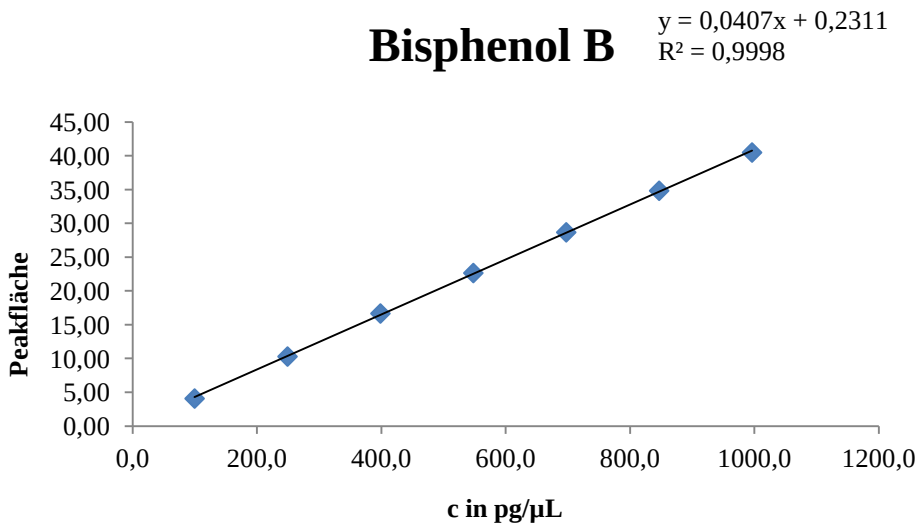
Abb. 55: Kalibriergerade BPS mit HPLC-DAD-Detektion

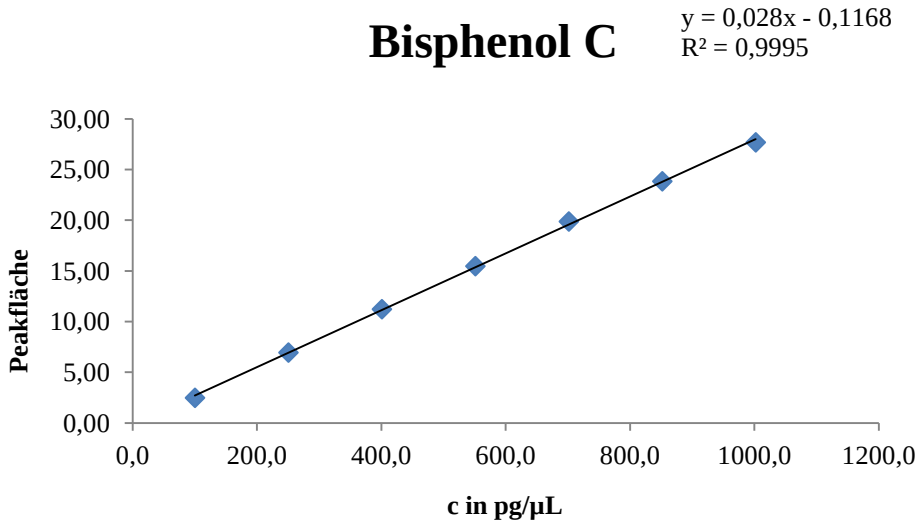


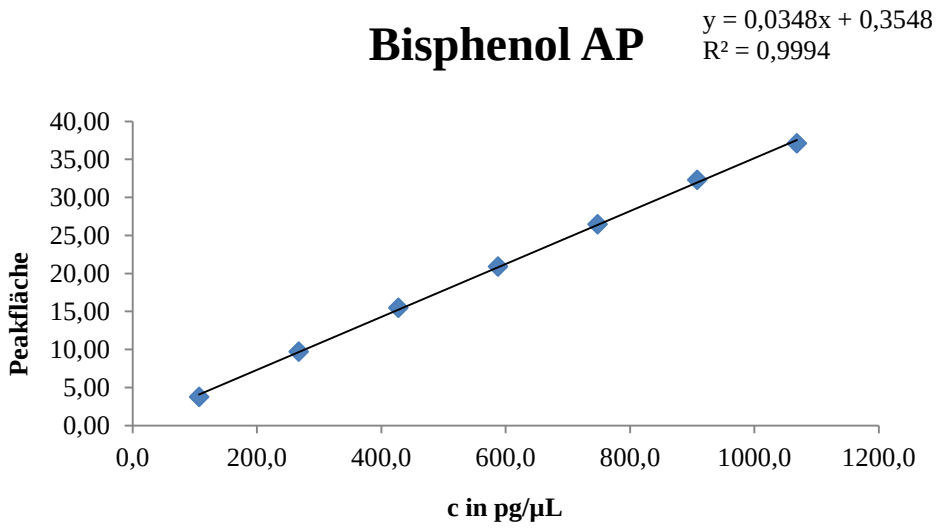




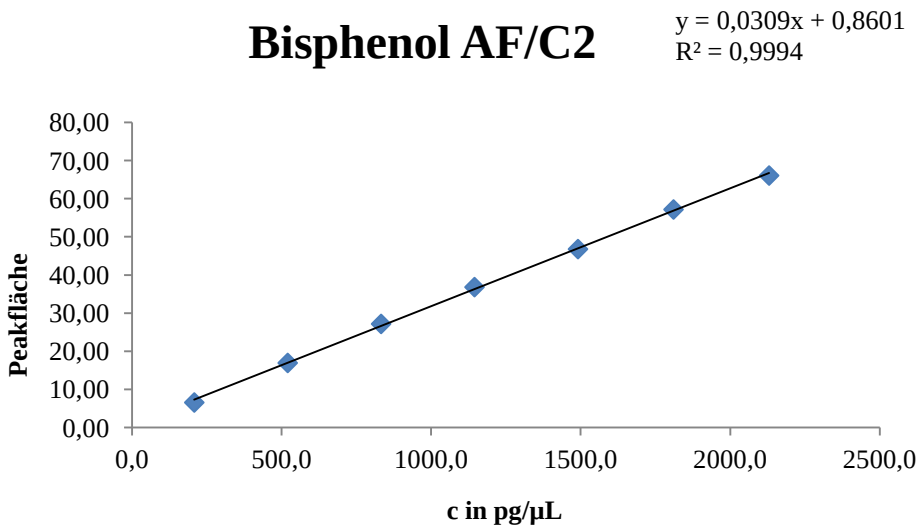
Fortsetzung Abb. 55: Kalibriergeraden von BPF, BPE und BPA mit HPLC-DAD-Detektion

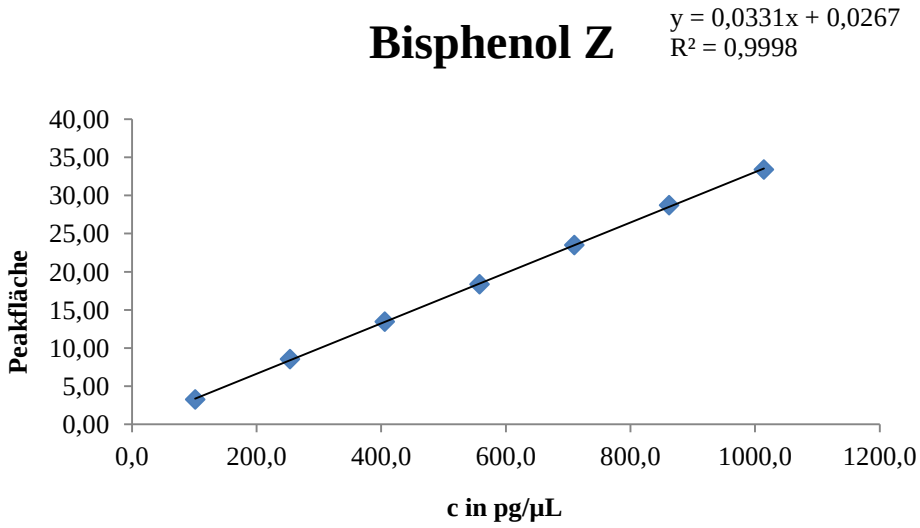


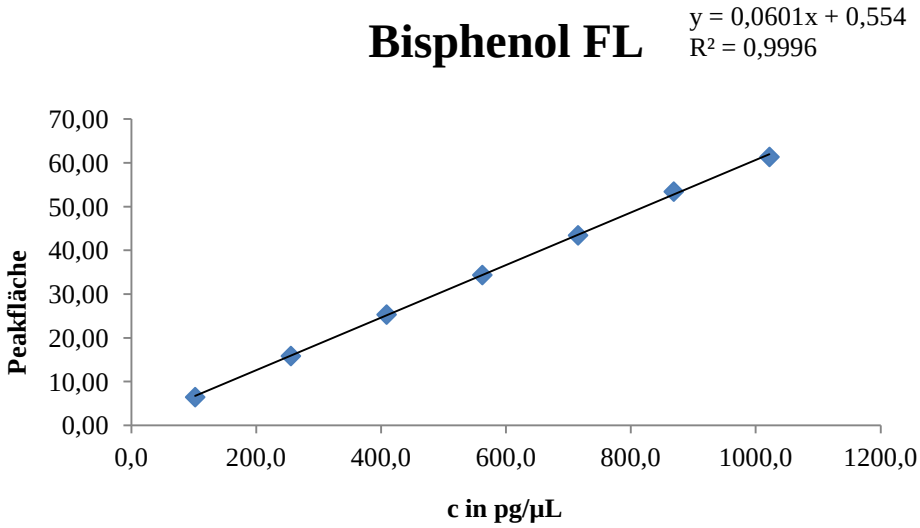




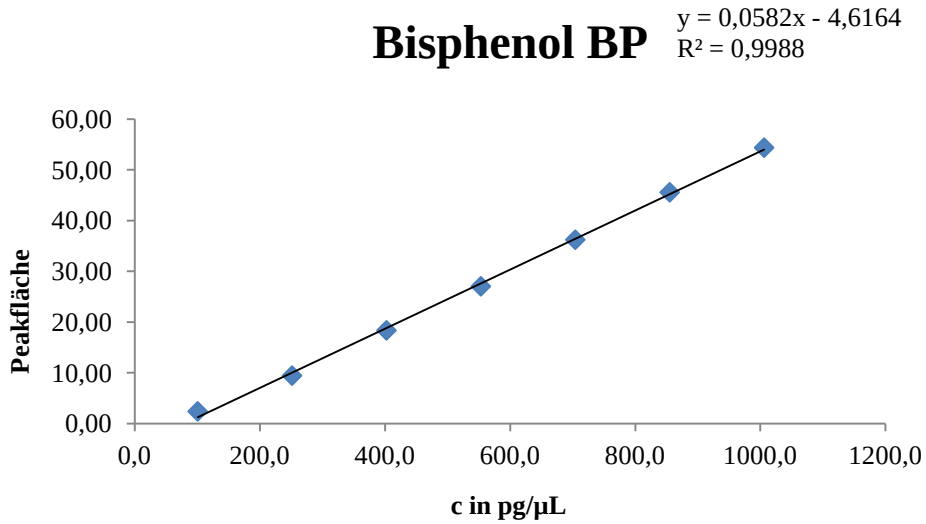
Fortsetzung Abb. 55: Kalibriergeraden von BBF, BPC und BPAP mit HPLC-DAD-Detektion

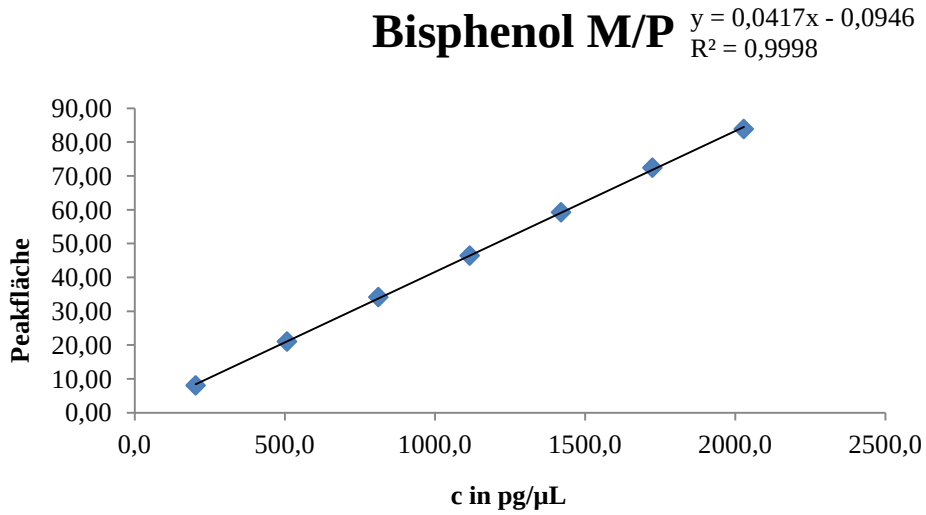


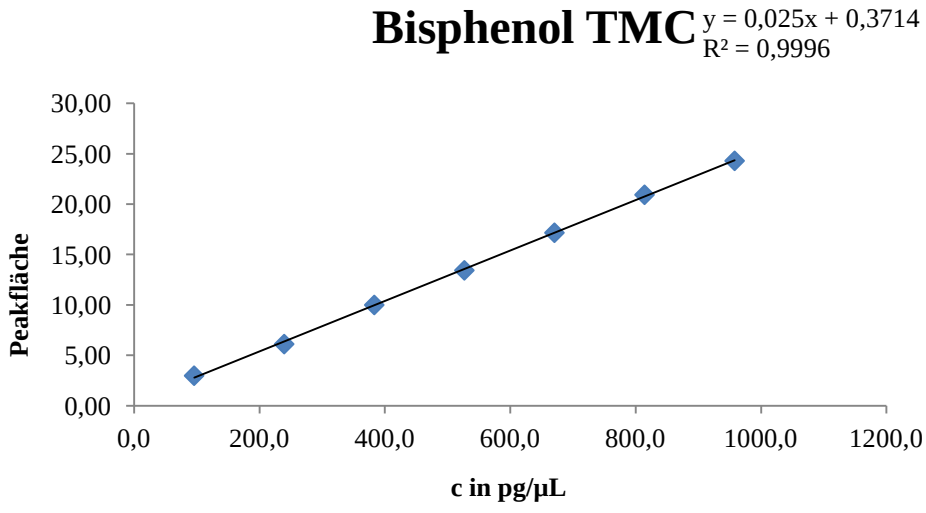




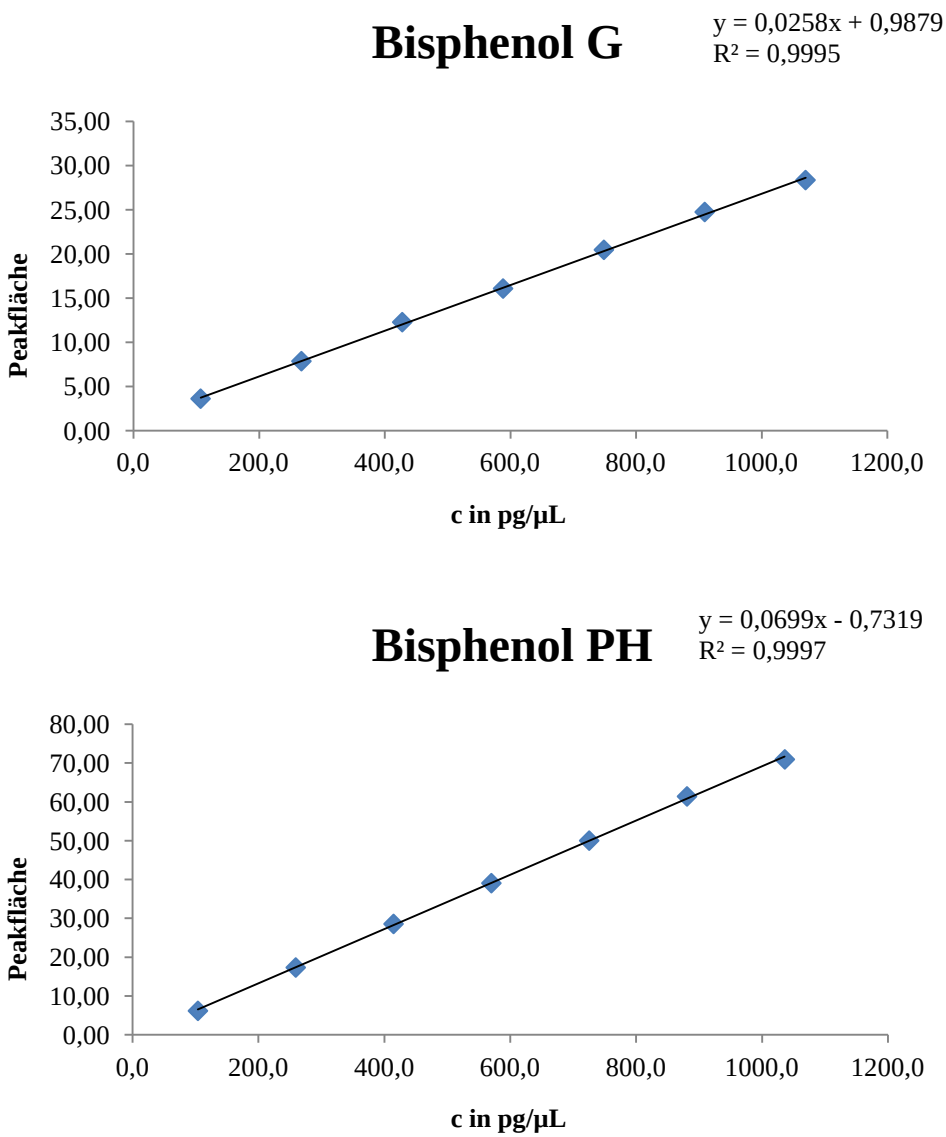
Fortsetzung Abb. 55: Kalibriergeraden von BBAF/C2, BPZ und BPFL mit HPLC-DAD-Detektion



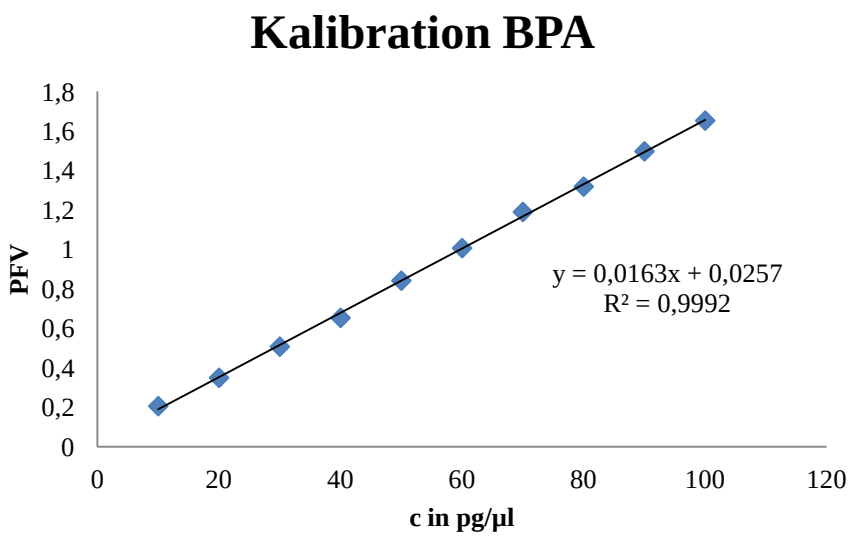


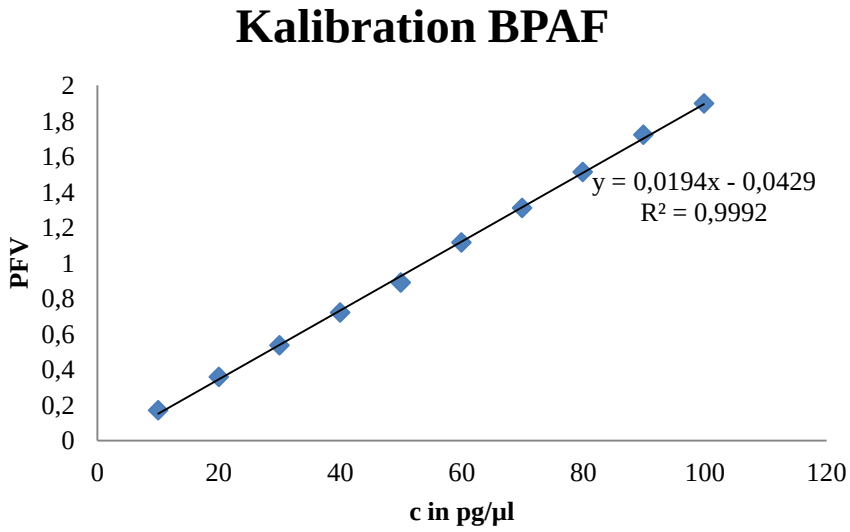


Fortsetzung Abb. 55: Kalibriergeraden von BBBP, BPM/P und BPTMC mit HPLC-DAD-Detektion



Fortsetzung Abb. 55: Kalibriergeraden von BPG und BPPH mit HPLC-DAD-Detektion





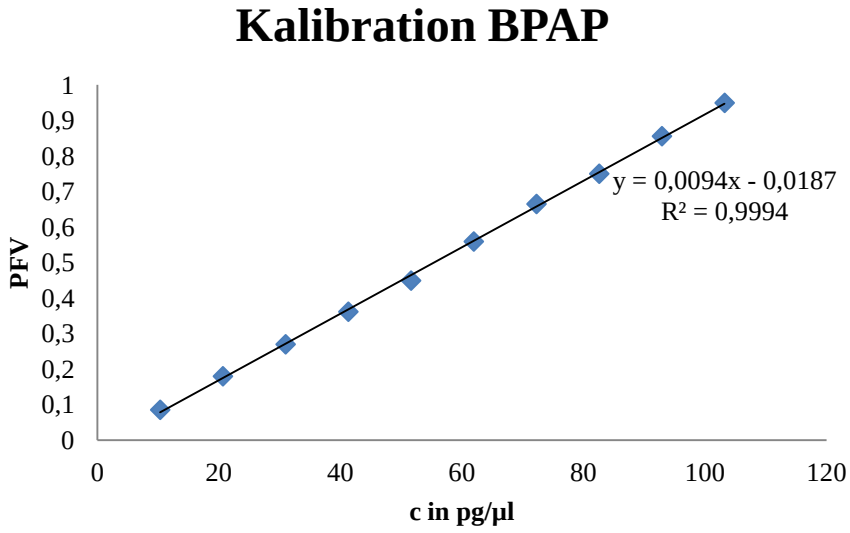
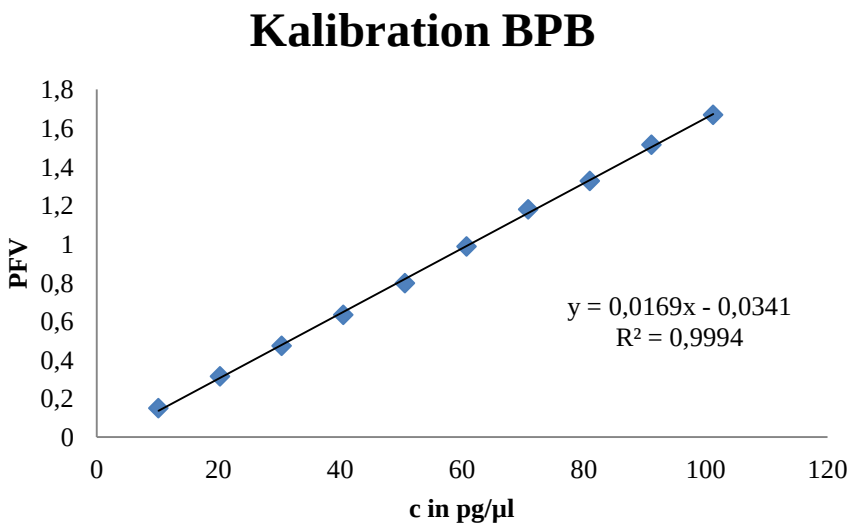
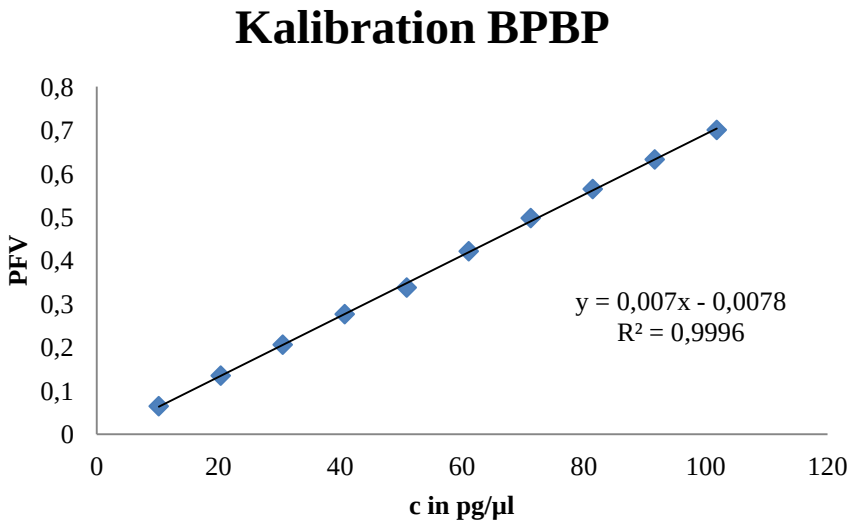
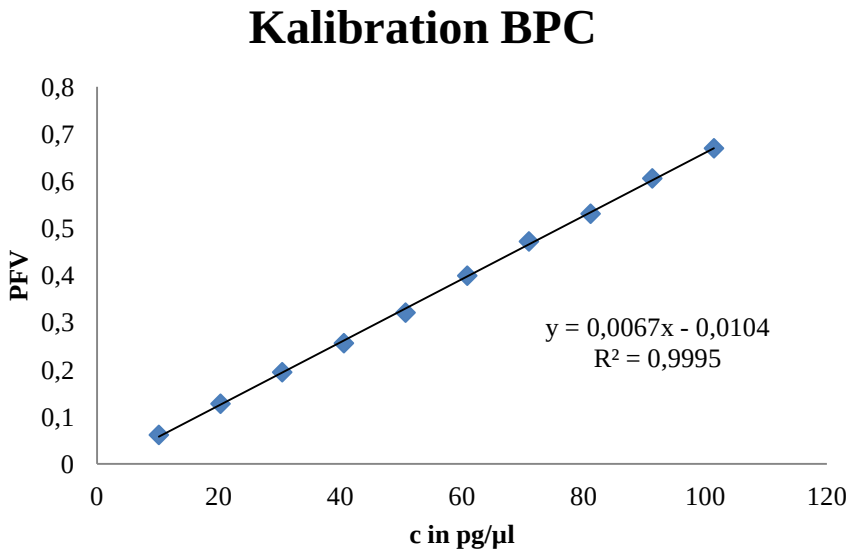


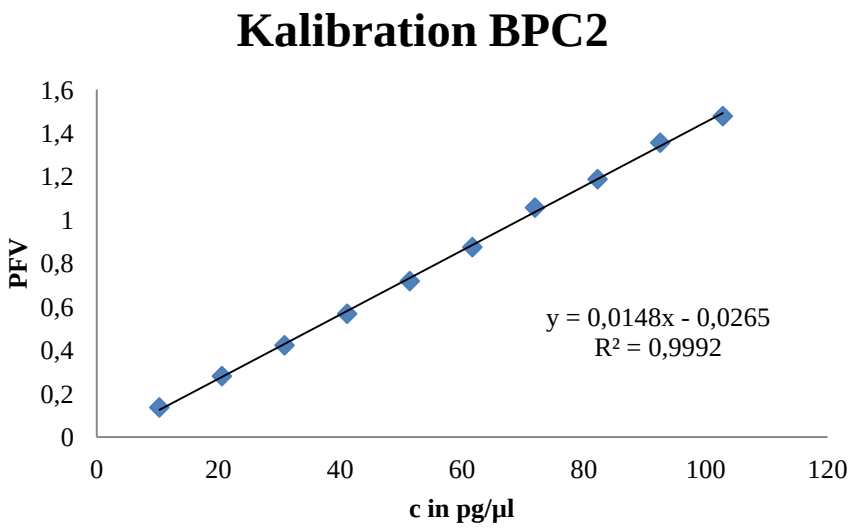
Abb. 56: Kalibriergeraden von BPA, BPAF und BPAP (GC-MS/MS) für Migrationslösungen

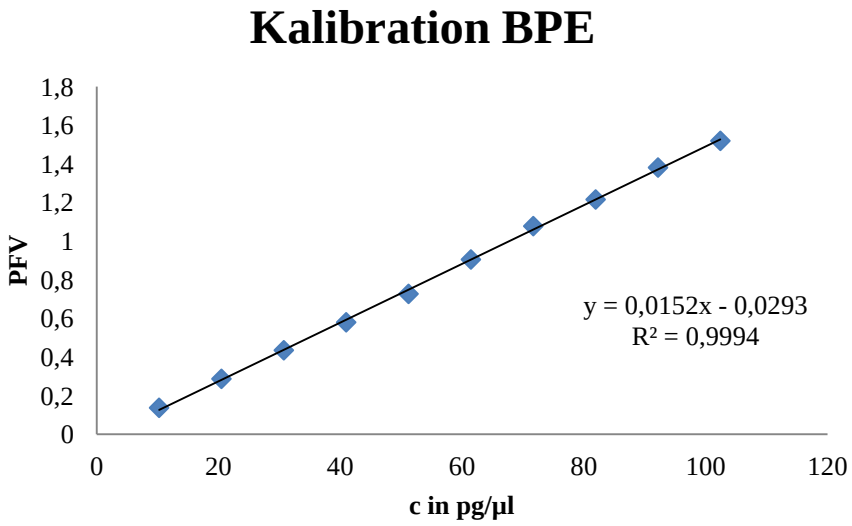


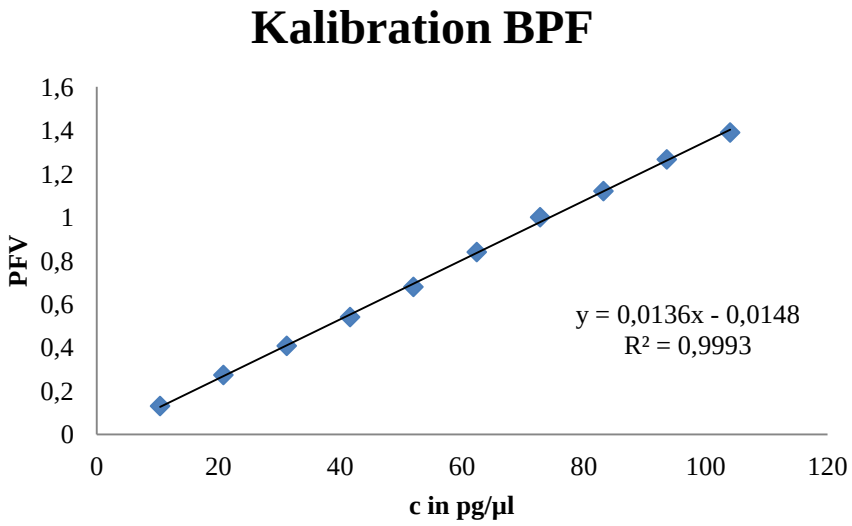




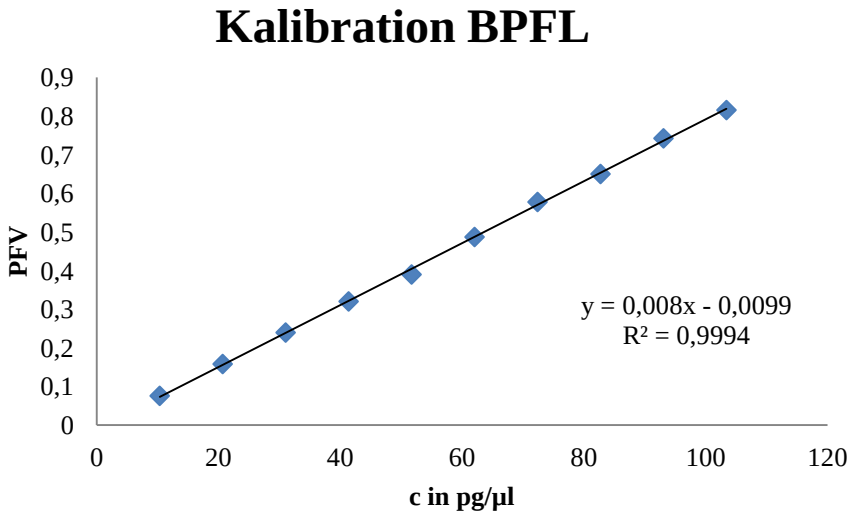
Fortsetzung Abb. 56: Kalibriergeraden von BPB, BPBP und BPC (GC-MS/MS) für Migrationslösungen

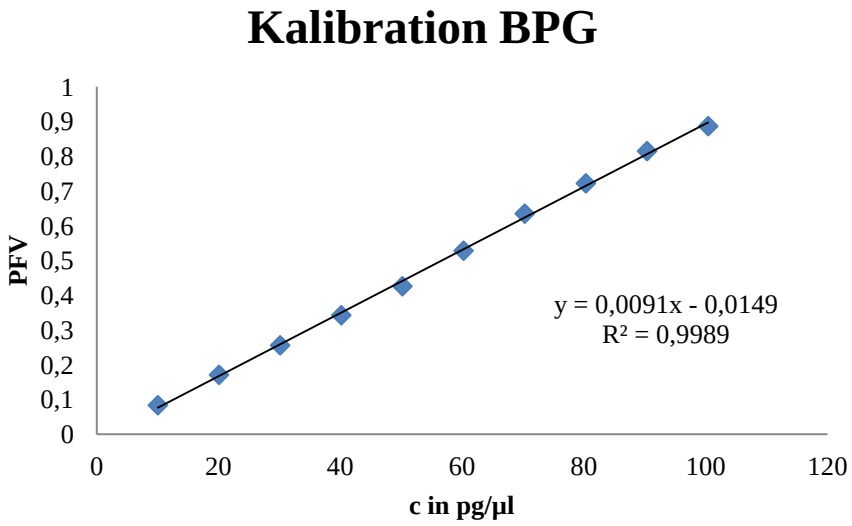


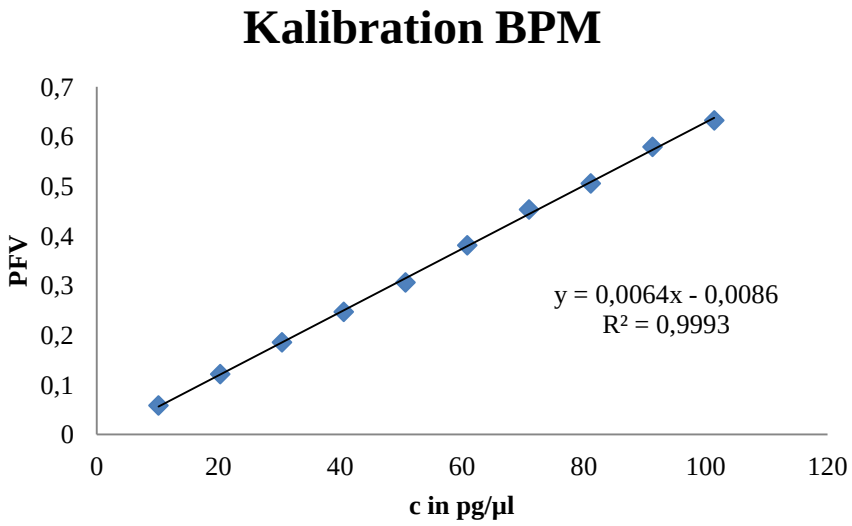




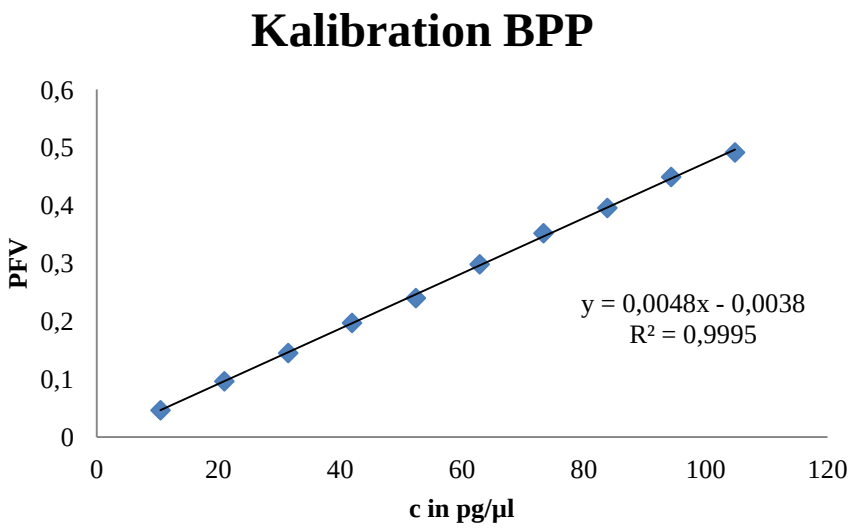
Fortsetzung Abb. 56: Kalibriergeraden von BPC2, BPE und BPF (GC-MS/MS) für Migrationslösungen

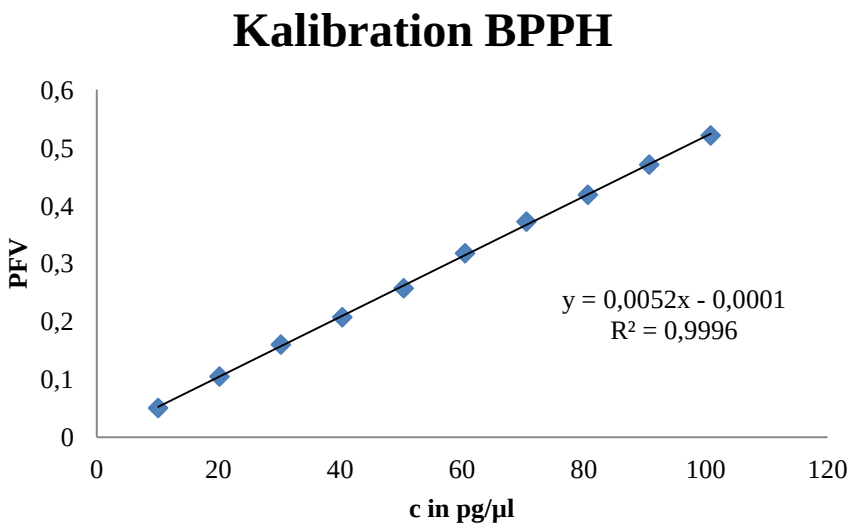


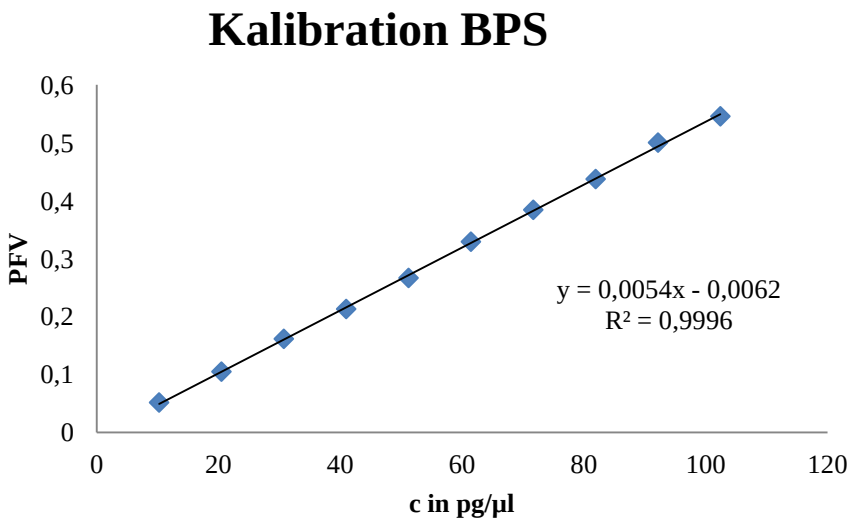




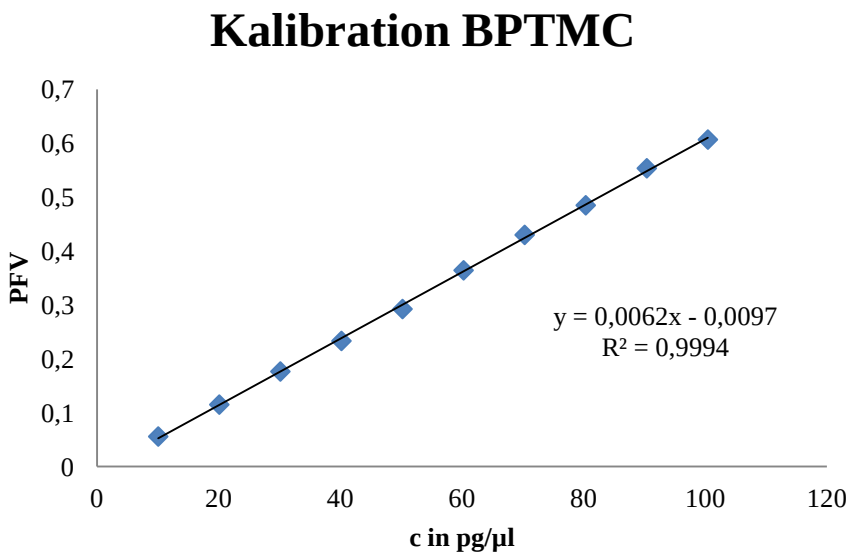
Fortsetzung Abb. 56: Kalibriergeraden von BPFL, BPG und BPM (GC-MS/MS) für Migrationslösungen

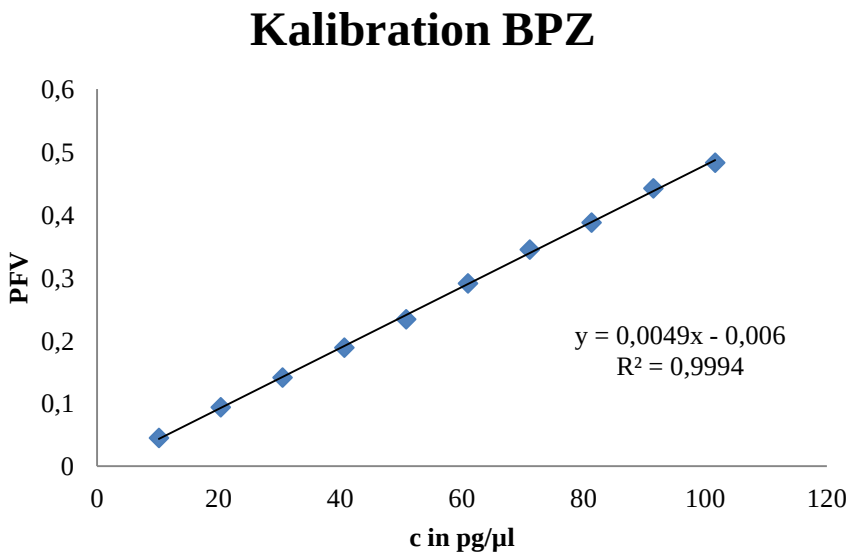






Fortsetzung Abb. 56: Kalibriergeraden von BPP, BPPH und BPS (GC-MS/MS) für Migrationslösungen





Fortsetzung Abb. 56: Kalibriergeraden von BPTMC und BPZ (GC-MS/MS) für Migrationslösungen

Tab. 31: Ermittelte Nachweis- und Bestimmungsgrenzen für Trinkflaschen nach DIN 32645

	NG [pg/µl]	BG [pg/µl]	TF 01 BG [ng/kg]	TF 02 BG [ng/kg]	TF 03 BG [ng/kg]	TF 04 BG [ng/kg]	TF 05 BG [ng/kg]	TF 06 BG [ng/kg]	TF 07 BG [ng/kg]
Bisphenol A	1,34	4,80	6,86	9,61	7,39	6,41	16,02	18,48	19,22
Bisphenol AF	1,39	4,95	7,08	9,91	7,62	6,60	16,51	19,05	19,81
Bisphenol AP	1,23	4,40	6,29	8,81	6,77	5,87	14,68	16,94	17,61
Bisphenol B	1,24	4,45	6,36	8,91	6,85	5,94	14,85	17,13	17,82
Bisphenol BP	1,05	3,77	5,39	7,55	5,80	5,03	12,58	14,51	15,09
Bisphenol C	1,11	4,00	5,71	8,00	6,15	5,33	13,33	15,38	16,00
Bisphenol C2	1,40	5,00	7,15	10,01	7,70	6,67	16,68	19,24	20,01
Bisphenol E	1,26	4,52	6,46	9,04	6,96	6,03	15,07	17,39	18,09
Bisphenol F	1,32	4,72	6,74	9,44	7,26	6,29	15,73	18,15	18,88
Bisphenol FL	1,24	4,45	6,36	8,90	6,85	5,93	14,83	17,11	17,80
Bisphenol G	1,61	5,72	8,17	11,44	8,80	7,62	19,06	21,99	22,87
Bisphenol M	1,32	4,74	6,77	9,48	7,29	6,32	15,79	18,22	18,95
Bisphenol P	1,18	4,23	6,05	8,46	6,51	5,64	14,11	16,28	16,93
Bisphenol PH	0,97	3,52	5,03	7,04	5,42	4,70	11,74	13,55	14,09
Bisphenol S	1,00	3,61	5,16	7,22	5,56	4,82	12,04	13,89	14,45
Bisphenol TMC	1,16	4,17	5,96	8,35	6,42	5,57	13,91	16,05	16,70
Bisphenol Z	1,24	4,43	6,33	8,86	6,82	5,91	14,77	17,05	17,73

Art der Entscheidungsgrenze: NG/BG

Chemometrisches Modell: Kalibriergeradenmethode

Anzahl n der Kalibrierproben: 10

Anzahl m der Messungen der Analysenprobe: 2

Abb. 57: SPE-Aufreinigung der Migrationslösungen

Tab. 32: Bisphenol-Gehalte 10-stündige Migration (Die Werte in Klammern befinden sich zwischen der Nachweis- und Bestimmungsgrenze.)

	TF 01	**TF 02**	**TF 03**	**TF 04**	**TF 05**	**TF 06**	**TF 07**
	Gehalt in µg/kg	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**
Bisphenol A	(0,0021)	< NG	< NG	**0,0089**	< NG	(0,0057)	**0,2961**
Bisphenol AF	(0,0034)	(0,0029)	(0,0029)	(0,003)	(0,0034)	(0,0029)	(0,0029)
Bisphenol AP	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol B	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol BP	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol C	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol C2	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol E	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol F	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol FL	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol G	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol M	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol P	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol PH	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol S	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	**0,116**	< NG
Bisphenol TMC	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol Z	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG

Tab. 33: Bisphenol-Gehalte in kochendem Wasser (zum Ausspülen verwendet)

	TF 01	**TF 02**	**TF 03**	**TF 04**	**TF 05**	**TF 06**	**TF 07**
	Gehalt in µg/kg	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**
Bisphenol A	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	**0,022**	**0,413**
Bisphenol AF	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol AP	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol B	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol BP	< NG	< NG	**0,009**	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol C	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol C2	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol E	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol F	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol FL	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol G	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol M	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol P	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol PH	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol S	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	**0,331**	< NG
Bisphenol TMC	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol Z	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG

Tab. 34: Bisphenol-Gehalte 1. Migration, 3 Gew.-% Essigsäure

	TF 01	**TF 02**	**TF 03**	**TF 04**	**TF 05**	**TF 06**	**TF 07**
	Gehalt in µg/kg	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**
Bisphenol A	(0,0066)	(0,0035)	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol AF	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol AP	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol B	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol BP	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol C	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol C2	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol E	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol F	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol FL	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol G	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol M	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol P	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol PH	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol S	(0,0016)	**0,0112**	< NG	< NG	< NG	(0,0064)	< NG
Bisphenol TMC	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol Z	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG

Tab. 35: Bisphenol-Gehalte 1. Migration, 20 Vol.-% Ethanol

	TF 01	**TF 02**	**TF 03**	**TF 04**	**TF 05**	**TF 06**	**TF 07**
	Gehalt in µg/kg	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**
Bisphenol A	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	**0,102**
Bisphenol AF	(0,0031)	(0,0039)	(0,0034)	(0,0040)	< NG	< NG	< NG
Bisphenol AP	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol B	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol BP	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol C	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol C2	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol E	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol F	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol FL	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol G	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol M	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol P	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol PH	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol S	< NG	< NG	< NG	< NG	(0,0062)	**0,0375**	(0,0058)
Bisphenol TMC	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol Z	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG

Tab. 36: Bisphenol-Gehalte 1. Migration, 50 Vol.-% Ethanol

	TF 01	**TF 02**	**TF 03**	**TF 04**	**TF 05**	**TF 06**	**TF 07**
	Gehalt in µg/kg	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**
Bisphenol A	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	**0,492**
Bisphenol AF	(0,0038)	(0,0093)	(0,0071)	**0,0068**	(0,0076)	(0,0076)	(0,0074)
Bisphenol AP	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol B	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol BP	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol C	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol C2	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol E	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol F	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol FL	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol G	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol M	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol P	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol PH	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol S	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	**0,1701**	(0,0119)
Bisphenol TMC	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol Z	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG

Tab. 37: Bisphenol-Gehalte 2. Migration, 3 Gew.-% Essigsäure

	TF 01	**TF 02**	**TF 03**	**TF 04**	**TF 05**	**TF 06**	**TF 07**
	Gehalt in µg/kg	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**
Bisphenol A	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol AF	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol AP	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol B	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol BP	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol C	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol C2	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol E	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol F	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol FL	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol G	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol M	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol P	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol PH	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol S	(0,0027)	< NG	< NG	< NG	< NG	(0,0051)	< NG
Bisphenol TMC	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol Z	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG

Tab. 38: Bisphenol-Gehalte 2. Migration, 20 Vol.-% Ethanol

	TF 01	**TF 02**	**TF 03**	**TF 04**	**TF 05**	**TF 06**	**TF 07**
	Gehalt in µg/kg	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**
Bisphenol A	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	(0,0163)
Bisphenol AF	< NG	(0,0028)	(0,0036)	(0,0036)	< NG	< NG	< NG
Bisphenol AP	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol B	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol BP	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol C	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol C2	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol E	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol F	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol FL	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol G	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol M	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol P	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol PH	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol S	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	(0,0160)	< NG
Bisphenol TMC	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol Z	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG

Tab. 39: Bisphenol-Gehalte 2. Migration, 50 Vol.-% Ethanol

	TF 01	**TF 02**	**TF 03**	**TF 04**	**TF 05**	**TF 06**	**TF 07**
	Gehalt in µg/kg	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**
Bisphenol A	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	**0,0585**
Bisphenol AF	(0,0046)	(0,0066)	(0,0074)	(0,0064)	(0,0090)	(0,0094)	(0,0090)
Bisphenol AP	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol B	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol BP	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol C	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol C2	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol E	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol F	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol FL	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol G	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol M	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol P	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol PH	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol S	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	**0,0628**	< NG
Bisphenol TMC	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol Z	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG

Tab. 40: Bisphenol-Gehalte 3. Migration, 3 Gew.-% Essigsäure

	TF 01	**TF 02**	**TF 03**	**TF 04**	**TF 05**	**TF 06**	**TF 07**
	Gehalt in µg/kg	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**
Bisphenol A	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol AF	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol AP	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol B	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol BP	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol C	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol C2	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol E	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol F	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol FL	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol G	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol M	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol P	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol PH	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol S	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol TMC	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol Z	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG

Tab. 41: Bisphenol-Gehalte 3. Migration, 20 Vol.-% Ethanol

	TF 01	**TF 02**	**TF 03**	**TF 04**	**TF 05**	**TF 06**	**TF 07**
	Gehalt in µg/kg	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**
Bisphenol A	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	**0,0207**
Bisphenol AF	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol AP	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol B	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol BP	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol C	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol C2	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol E	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol F	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol FL	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol G	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol M	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol P	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol PH	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol S	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	**0,0205**	< NG
Bisphenol TMC	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol Z	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG

Tab. 42: Bisphenol-Gehalte 3. Migration, 50 Vol.-% Ethanol

	TF 01	**TF 02**	**TF 03**	**TF 04**	**TF 05**	**TF 06**	**TF 07**
	Gehalt in µg/kg	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**	**Gehalt in µg/kg**
Bisphenol A	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	**0,1531**
Bisphenol AF	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol AP	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol B	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol BP	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol C	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol C2	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol E	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol F	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol FL	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol G	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol M	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol P	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol PH	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol S	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	**0,0514**	< NG
Bisphenol TMC	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG
Bisphenol Z	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG

V Tagungsbeiträge/ Präsentationen

D. Goldmann, W. Lorenz:

"Analytik von Bisphenolen in verschiedenen Probenmatrices"

Thermo Scientific Anwenderseminar für Chromatographie,

08. März 2018 im pentahotel Leipzig, Vortrag "GC, GC-MS Session" 10:45 Uhr

VI Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und nur unter Verwendung der angegebenen Quellen und Hilfsmittel angefertigt habe.
Die den Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen sind als solche kenntlich gemacht.

Halle (Saale), den 22.07.2020 Daniel Goldmann

VII Lebenslauf

Angaben zur Person:

Vor- und Zuname:	Daniel Goldmann
Geburtstag:	29.09.1988
Geburtsort:	Mühlhausen/ Thüringen

Berufsausbildung:

Seit 08/2019	**stellvertretender Laborleiter** ANALYTIK LABOR Dr. Kludas Kreuzbergstraße 146 06849 Dessau-Roßlau
10/2015 bis 07/2019	**wissenschaftlicher Mitarbeiter** an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg Institut für Chemie, Lebensmittel- und Umweltchemie AK Prof. Dr. W. Lorenz aktuelles Thema der Dissertation: *„Methodenentwicklung und Untersuchungen von Bisphenol A und ausgewählten Strukturanaloga*“
05/2013 bis 09/2015	**Projektleiter in der Produktanalytik** (Fachbereich: Spielzeug, REACh-SVHC-Analytik, Consumer Products) DEKRA Automobil GmbH Labor für Umwelt- und Produktanalytik Köthener Straße 33, 06118 Halle
01/2013	Abschluss als **Diplom- Chemiker** Friedrich-Schiller-Universität Jena Titel der Diplomarbeit: *„Uraneintrag aus phosphathaltigen Düngemitteln in landwirtschaftliche Nutzflächen Thüringens*“
10/2007 bis 01/2013	**Studium der Umweltchemie** Friedrich-Schiller-Universität Jena

Praktika:

02/2011 bis 04/2011	externes Praktikum bei der Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft (Jena) Forschungsthema: *„Durchführung von methodischen Untersuchungen zur quantitativen Arsenbestimmung in Mineral- und Mischfuttermitteln sowie Düngemitteln mit ICP-DRC-MS“*

Schulausbildung:

06/2007	**Abitur** Staatliches Gymnasium „St. Josef“, Dingelstädt
08/1999 bis 06/2007	Staatliches Gymnasium „St.Josef“, Dingelstädt Leistungskurse: Mathematik, Chemie
08/1995 bis 08/1999	Staatliche Grundschule, Büttstedt (Eichsfeld)

Besondere Kenntnisse:

Fremdsprachen:	Englisch (sehr gute Kenntnisse in Wort und Schrift) Latein (Grundkenntnisse)
IT-Kenntnisse:	MS-Office (Excel, Word, Powerpoint), Grundkenntnisse in STATISTICA, SPSS diaLIMS (tägliche Arbeit innerhalb der Routineanalytik und Vertretung des LIMS-Verantwortlichen)
Sonstige Kenntnisse:	Führerschein Klasse A und B

Hobbys:

Musik	Akkordeonunterricht von 1997 bis 2006 Tenorhorn in der Blaskapelle seit 2007
Feuerwehr	aktives Mitglied seit 2006

Halle (Saale), den 22.07.2020 Daniel Goldmann