

Aus der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie  
der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Direktor: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

und dem

Walther-Straub-Institut für Pharmakologie und Toxikologie  
der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Vorstand: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

unter der Leitung von: Prof. Dr. Dr. Franz-Xaver Reichl



## **Experimentelle Untersuchung zur Bisphenol-A-Migration aus Beruhigungssaugern und Bewertung des potenziellen Gesundheitsrisikos für Säuglinge und Kleinkinder**

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Zahnmedizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Lena Herwanger  
aus  
Bad Saulgau

2022

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Erster Gutachter: Prof. Dr. Dr. Franz-Xaver Reichl

Zweiter Gutachter: apl. Prof. Dr. Peter Thomas

Dritter Gutachter: apl. Prof. Dr. Gabriele Sabbioni

Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter: PD Dr. rer. biol. hum. Christof Högg

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 17.11.2022

# Inhaltsverzeichnis

<b>Inhaltsverzeichnis</b>	<b>3</b>
<b>Zusammenfassung</b>	<b>5</b>
<b>Abstract (English)</b>	<b>7</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>9</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>10</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>11</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>12</b>
<b>2 Literaturübersicht</b>	<b>14</b>
2.1 Bisphenol A (BPA)	14
2.1.1 Historie	14
2.1.2 Physikalische und chemische Stoffeigenschaften	14
2.1.3 Verwendung und Vorkommen	16
2.1.4 Behördliche Regulierungen und Risikobewertung	17
2.1.5 BPA-Exposition von Säuglingen und Kleinkindern	21
2.1.6 Wirkung von BPA als endokriner Disruptor	26
2.2 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)	31
2.2.1 Allgemeines	31
2.2.2 Funktionsweise	31
2.2.3 Aufbau einer HPLC-Anlage	32
2.2.4 Anwendung zum Nachweis von BPA	35
<b>3 Problemstellung und Zielsetzung</b>	<b>36</b>
<b>4 Material und Methoden</b>	<b>37</b>
4.1 Material	37
4.1.1 Beruhigungssauger	37
4.1.2 Analysegeräte und Zubehör	39
4.1.3 Reagenzien und Verbrauchsmaterialien	41
4.2 Methoden	42
4.2.1 Herstellung der Migrationsproben	42
4.2.2 BPA-Analyse mit HPLC	45
4.2.3 Kalibrierung	47
4.2.4 Berechnung der Massenanteile	52

<b>5</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>53</b>
5.1	Analyse der Schildanteile	54
5.2	Analyse der Saugeranteile	58
5.3	Beruhigungssauger in toto	62
5.4	Zusammenfassung der Ergebnisse	65
<b>6</b>	<b>Diskussion</b>	<b>66</b>
6.1	Nachweis von BPA in Beruhigungssaugerproben	66
6.2	Risk-Assessment-Analyse einer BPA-Exposition für Säuglinge und Kleinkinder	71
6.3	Limitationen der Studie	74
6.4	Schlussfolgerung und Ausblick	74
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>76</b>
	<b>Anhang</b>	<b>94</b>
		<b>97</b>
	<b>Danksagung</b>	<b>98</b>
	<b>Eidesstattliche Versicherung</b>	<b>99</b>
	<b>Publikationen</b>	<b>100</b>

# Zusammenfassung

Bisphenol A (BPA) ist eine in Industrienationen ubiquitär verbreitete Substanz mit endokriner Wirksamkeit. BPA wird zur Herstellung von Alltagsgegenständen aus Polycarbonat-Kunststoffen und Epoxidharzen eingesetzt. Dazu zählen auch Produkte für Säuglinge und Kleinkinder wie Beruhigungssauger (umgangssprachlich Schnuller). Diese Altersgruppe gilt aufgrund ihrer eingeschränkten BPA-Metabolisierung und der ablaufenden physischen Entwicklungsprozesse als vulnerabel gegenüber einer Exposition mit endokrinen Disruptoren wie BPA. Ein Verbot von BPA bei der Herstellung von Beruhigungssaugern wurde trotz der Gefahr einer direkten oralen Exposition bislang nicht durch die Europäische Kommission beschlossen. Derzeit ist unklar, inwiefern der Gebrauch von Beruhigungssaugern eine Gefahr der BPA-Exposition und dem damit verbundenen Gesundheitsrisiko darstellt. Das Ziel der vorliegenden Studie war die qualitative und quantitative Erfassung der BPA-Freisetzung aus kommerziell verfügbaren Beruhigungssaugern unter Worst-Case-Bedingungen mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatografie mit Fluoreszenzdetektion (HPLC-FLD). Auf Basis der HPLC-Daten wurde anschließend ein Risk-Assessment durchgeführt. Die Schild- und Saugeranteile von sieben Beruhigungssaugern der Hersteller NUK, Hevea, MMBABY, FUNNYBABY, Novatex und einem unbekanntem Hersteller wurden getrennt analysiert. Die 42 Proben (n=3 je Schild- und Saugeranteil) wurden nach mechanischer Zerkleinerung bei 37 °C für 72 Stunden in Methanol extrahiert und mit einer HPLC-FLD analysiert. Als Validierungsparameter der HPLC-Analyse wurden eine Nachweisgrenze (LOD) von 0,22 µg/l und eine Bestimmungsgrenze (LOQ) von 0,66 µg/l bei einer Wiederfindungsrate (WFR) von 92,3 % auf Basis von Aufdotierungen bestimmt. Ein qualitativer BPA-Nachweis war in allen untersuchten Proben möglich. Bei zwei Proben, einem Schildanteil des Herstellers NUK und dem Saugeranteil des Herstellers FUNNYBABY, lagen die ermittelten Konzentrationen unterhalb der LOQ, sodass keine Quantifizierung erfolgen konnte. Der Schildanteil des Beruhigungssaugers von FUNNYBABY setzte die höchste BPA-Konzentration (288 µg/l) im Vergleich zu den anderen untersuchten Proben der Schild- und Saugeranteile (0,69 µg/l bis 9,40 µg/l) frei. Für die maximal freigesetzte BPA-Konzentration des Beruhigungssaugers von FUNNYBABY wurde eine BPA-Aufnahme von 0,38 µg/kg KG/Tag für Säuglinge und 0,18 µg/kg KG/Tag für Kleinkinder unter Worst-Case-Bedingungen berechnet. Die von der European Food Safety Authority (EFSA) 2015 veröffentlichte und aktuell gültige t-TDI (temporary Tolerable Daily Intake) von 4 µg/kg KG/Tag wurde somit deutlich unterschritten. Unter Einbeziehung der von der EFSA geschätzten maximalen BPA-Grundbelastung wird die t-TDI ebenfalls nicht ausgeschöpft.

Nach derzeitigem Kenntnisstand trägt daher die Verwendung von Beruhigungssaugern mit hoher Wahrscheinlichkeit nicht wesentlich zum BPA-assoziierten Gesundheitsrisiko von Säuglingen und Kleinkindern bei. Zukünftig gilt es zu klären, inwiefern BPA-Ersatzstoffe und andere Substanzen mit potenziellem Gesundheitsrisiko bei der Produktion von Beruhigungssaugern und weiteren Verbraucherprodukten eingesetzt werden. Darüber hinaus sollte das toxikologische Gesundheitsrisiko solcher Alternativstoffe und deren Freisetzung aus Kunststoffen weitreichend untersucht werden.

## Abstract (English)

Bisphenol A (BPA) is a substance with endocrine activity that is ubiquitously used in industrialized nations. BPA is used in the manufacture of everyday items made from polycarbonate plastics and epoxy resins. These include products for infants and toddlers such as pacifiers (so called dummies). This age group is considered being vulnerable to the exposure to endocrine disruptors such as BPA due to their limited BPA metabolism and occurring physical development processes. A ban on BPA in the production of pacifiers has not yet been determined by the European Commission, despite the risk of direct oral exposure. Currently, it is unclear to what extent the use of pacifiers poses a risk of BPA exposure and the associated health risk. The aim of the present study was to evaluate BPA migration from commercially available pacifiers under worst-case conditions by qualitative and quantitative analysis using high-performance liquid chromatography with fluorescence detection (HPLC-FLD). Based on the resulting data a risk assessment was performed. Shield and teat fractions of seven different pacifiers of the manufacturers NUK, Hevea, MMBABY, FUNNYBABY, Novatex along with an unknown manufacturer were analyzed separately. After cutting the 42 samples (n=3 per each shield and teat) into small pieces, samples were extracted in methanol at 37 °C for 72 hours and analyzed by HPLC-FLD. As validation parameters of the HPLC analysis, a limit of detection (LOD; 0.22 µg/l) and a limit of quantitation (LOQ; 0.66 µg/l) were determined with a recovery rate (RR) of 92.3% based on spiking. BPA was detected qualitatively in all samples tested. BPA concentrations of two samples (a shield fraction of NUK and a teat fraction of FUNNYBABY) were below the LOQ, so that no quantification could be performed. The pacifier shield fraction of the manufacturer FUNNYBABY released the highest BPA concentration (288 µg/l) compared to the remaining investigated shield and teat fractions (0.69 µg/l to 9.40 µg/l). A potential BPA uptake under worst-case conditions of 0.38 µg/kg bw/day for infants and 0.18 µg/kg bw/day for toddlers was calculated from the FUNNYBABY pacifier. These concentrations are clearly lower in comparison to the recent t-TDI (temporary Tolerable Daily Intake) which was published and validated by the European Food Safety Authority (EFSA) in 2015 with a value of 4 µg/kg bw/day. Summing up with estimated maximum environmental background concentration of BPA (EFSA), resulting BPA values are still not exceeding the t-TDI. Therefore, based on current knowledge, the use of pacifiers is highly unlikely to contribute to BPA-associated health risk towards infants and toddlers. Future investigations should clarify to which extent BPA substitutes and other substances with potential health risks are used in the production of pacifiers and any other consumer products. In addition, the

toxicological health risk of such alternative substances and their release from plastics should be widely investigated.



# Abbildungsverzeichnis

Abb. 2.1	Synthesereaktion von Bisphenol A (BPA)	15
Abb. 2.2	Schematische Darstellung einer Hochleistungsflüssigkeitschromatografie-(HPLC)-Anlage	33
Abb. 4.1	Schematische Darstellung eines Beruhigungssaugers	38
Abb. 4.2	Hochleistungsflüssigkeitschromatografie-(HPLC)-Anlage	40
Abb. 4.3	Trennsäule mit Stativ	40
Abb. 4.4	Zertrennen eines Schildes	42
Abb. 4.5	Einfüllen der Partikel	42
Abb. 4.6	Probe vor der Extraktion	43
Abb. 4.7	Einengen unter Stickstoff-(N <sub>2</sub> )-Strom	43
Abb. 4.8	Schematische Darstellung der einzelnen Schritte zur Probenherstellung	44
Abb. 4.9	Gradientenverlaufsprogramm der Hochleistungsflüssigkeitschromatografie-(HPLC)-Analyse	46
Abb. 4.10	Fünf-Punkt-Kalibriergerade	49
Abb. 4.11	Überlagerte Chromatogramme der Kalibriermessungen	50
Abb. 5.1	Grafische Überlagerung der Chromatogramme einer Analyseprobenmessung (rot) und des 100 µg/l-BPA-Standards (schwarz)	53
Abb. 5.2	Bisphenol A-(BPA)-Massenkonzentrationen der Schildaliquote	55
Abb. 5.3	Berechnete Bisphenol A-(BPA)-Massenkonzentrationen der gesamten Schilde	56
Abb. 5.4	Bisphenol A-(BPA)-Massenkonzentrationen der Saugeraliquote	59
Abb. 5.5	Berechnete Bisphenol A-(BPA)-Massenkonzentrationen der gesamten Sauger	60
Abb. 5.6	Berechnete Bisphenol A-(BPA)-Massenkonzentrationen der gesamten Beruhigungssauger	63

# Tabellenverzeichnis

Tab. 2.1	Physikalisch-chemische Stoffeigenschaften von Bisphenol A (BPA)	15
Tab. 2.2	Behördliche Regulierungen zu Bisphenol A (BPA) im internationalen Vergleich	18
Tab. 2.3	Übersicht zur Bisphenol A-(BPA)-Exposition von Säuglingen und Kleinkindern	22
Tab. 2.4	Nicht-ernährungsbedingte Bisphenol A-(BPA)-Exposition von Säuglingen und Kleinkindern	23
Tab. 4.1	Übersicht und Charakterisierung der untersuchten Beruhigungssauger	37
Tab. 4.2	Übersicht über die verwendeten Geräte mit Herstellerangabe	39
Tab. 4.3	Reagenzien und Verbrauchsmaterialien mit Herstellerangabe	41
Tab. 4.4	Hochleistungsflüssigkeitschromatografie-(HPLC)-Parameter	45
Tab. 4.5	Verdünnungsreihe zur Herstellung der Kalibrierlösungen	47
Tab. 5.1	Bisphenol A-(BPA)-Massenkonzentrationen der Schildaliquote	54
Tab. 5.2	Berechnete Bisphenol A-(BPA)-Massenkonzentrationen der gesamten Schilde	56
Tab. 5.3	Berechnete Bisphenol A-(BPA)-Massenanteile der Schildaliquote	57
Tab. 5.4	Bisphenol A-(BPA)-Massenkonzentrationen der Saugeraliquote	58
Tab. 5.5	Berechnete Bisphenol A-(BPA)-Massenkonzentrationen der gesamten Sauger	60
Tab. 5.6	Berechnete Bisphenol A-(BPA)-Massenanteile der Saugeraliquote	61
Tab. 5.7	Berechnete Bisphenol A-(BPA)-Massenkonzentrationen der gesamten Beruhigungssauger	62
Tab. 5.8	Berechnete Bisphenol A-(BPA)-Masse der gesamten Beruhigungssauger	64
Tab. 6.1	Risk-Assessment-Analyse einer Bisphenol A-(BPA)-Exposition durch den Beruhigungssauger ID 6	73

# Abkürzungsverzeichnis

BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung
BPA	Bisphenol A
BPS	Bisphenol S
ECHA	European Chemicals Agency
EFSA	European Food Safety Authority
EU	Europäische Union
FDA	Food and Drug Administration
FLD	Fluoreszenzdetektor/-detektion
GC	Gaschromatografie
GC/MS	Gaschromatografie mit Massenspektrometrie
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatografie, engl. High Performance Liquid Chromatography
KG	Körpergewicht
LOD	Nachweisgrenze, engl. limit of detection
LOQ	Bestimmungsgrenze, engl. limit of quantification
MIH	Molaren-Inzisiven-Hypomineralisation
PC	Polycarbonat/e
SCF	Scientific Committee on Food
TDI	Tolerable Daily Intake
t-TDI	temporary Tolerable Daily Intake
UV	ultraviolett
VIS	sichtbar, engl. visible
WFR	Wiederfindungsrate

# 1 Einleitung

In den vergangenen Jahren wurde vielfach über potenzielle gesundheitliche Risiken im Zusammenhang mit der Verwendung von Bisphenol A (BPA) berichtet. Im Jahr 2016 wurde BPA von der Europäischen Chemikalienagentur (European Chemicals Agency [ECHA]) als reproduktionstoxisch eingestuft und in Folge als besonders besorgniserregende Substanz nach dem europäischen Chemikalienrecht identifiziert und als endokriner Disruptor für Mensch und Umwelt bewertet (ECHA, 2017). Als endokrine Disruptoren werden Stoffe bezeichnet, die in das endokrine System eingreifen und durch die Störung hormoneller Signalwege Einfluss auf Wachstums- und Entwicklungsprozesse in einem Organismus nehmen können (WHO, 2002). Wissenschaftliche Untersuchungen ergaben Hinweise auf einen Zusammenhang einer BPA-Exposition mit der Pathogenese verschiedener Erkrankungen wie Adipositas, kardiovaskuläre Erkrankungen, Diabetes, Infertilität, neurologische Störungen und Zahnschmelzbildungsstörungen (Jedon et al., 2013; Nomiri et al., 2019; Zulkifli et al., 2021).

Dennoch wird BPA in der Industrie nach wie vor weitverbreitet eingesetzt und dient als Ausgangsstoff zur Synthese von Polycarbonaten (PC) und Epoxidharzen. Aufgrund der positiven Materialeigenschaften von PC-Kunststoffen werden diese nicht nur im Baugewerbe und Fahrzeugbau, sondern auch bei der Herstellung vieler Verbraucherprodukte verwendet. Auch Produkte mit Kontakt zu Lebensmitteln wie Trinkflaschen, Vorratsdosen oder Geschirr werden aus PC hergestellt und Epoxidharze werden zur Innenbeschichtung von Getränke- und Konservendosen eingesetzt. In der Vergangenheit wurde in mehreren Studien eine Freisetzung bzw. Migration von BPA aus den Verpackungen in die Lebensmittel nachgewiesen (Hoekstra & Simoneau, 2013). Als Migration wird in der Chemie und Toxikologie im Allgemeinen ein Übergang niedermolekularer Stoffe aus einem Material in die Umgebung bezeichnet (Schwedt, 1995). Auch die meist nur in geringem Ausmaß freigesetzten BPA-Mengen könnten, im Sinne des kontrovers diskutierten Niedrigdosiseffekts, ein gesundheitliches Risiko darstellen (Dokmeci et al., 2022). Aufgrund der endokrinen Wirkung sind Säuglinge und Kleinkinder eine besonders vulnerable Bevölkerungsgruppe für eine BPA-Exposition (Nachman et al., 2015). Mehrere Studien belegen eine BPA-Migration aus PC-Säuglingsflaschen in die Säuglingsnahrung (Brede et al., 2003; Le et al., 2008; Maragou et al., 2008). Als Konsequenz verbot die Kommission der Europäischen Union (EU) 2011 die Herstellung sowie den Vertrieb von Säuglingsflaschen aus PC. Das Verbot wurde 2018 auf sämtliche Trinkgefäße für Säuglinge und Kleinkinder ausgeweitet (EU-Kommission, 2011, 2018).

Zur Verwendung von PC-Kunststoffen bei der Herstellung von Beruhigungssaugern

(umgangssprachlich Schnuller) gibt es bis heute keine einheitliche Regelung auf EU-Ebene. Einzig Österreich führte im Jahr 2011 ein Verbot der Verwendung von BPA zur Herstellung von Beruhigungssaugern und Beißspielzeugen ein (BMG Österreich, 2011). Laut Verpackungskennzeichnung verzichteten auch die meisten Hersteller der im deutschen Einzelhandel erhältlichen Beruhigungssauger freiwillig auf die Verwendung BPA-haltiger Kunststoffe. Allgemein hat sich der Vermerk „BPA-frei“ in den vergangenen Jahren mit dem gestiegenen Gesundheits- und Umweltbewusstsein der Gesellschaft zu einer Art „Gütesiegel“ mit bemerkenswerter Marketingwirksamkeit entwickelt. Solange keine behördliche Regelung vorliegt, können Eltern von Säuglingen und Kleinkindern außerhalb Österreichs lediglich den Herstellerangaben vertrauen. Es gilt daher zu evaluieren, ob BPA aus Beruhigungssaugern freigesetzt werden kann und inwiefern deren regelmäßiger Gebrauch aktuell zur BPA-Exposition von Säuglingen und Kleinkindern und dem damit verbundenen Gesundheitsrisiko beitragen kann.

## 2 Literaturübersicht

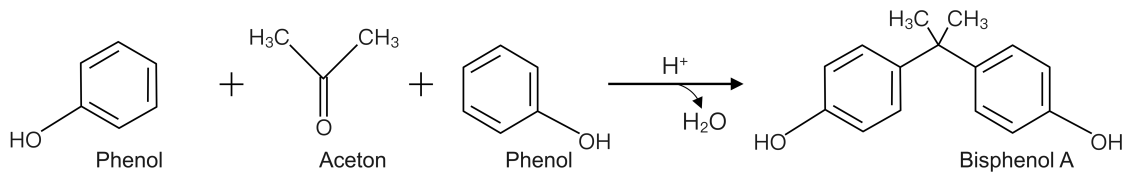
### 2.1 Bisphenol A (BPA)

#### 2.1.1 Historie

Im Jahr 1891 synthetisierte der russische Chemiker Alexander Dianin erstmals 4,4'-Propan-2,2-Diylidiphenol. Diese Substanz ist heute unter dem Trivialnamen Bisphenol A allgemein bekannt (Dianin, 1891). Die britischen Biochemiker Edward C. Dodds und Wilfrid Lawson, entdeckten bereits 1936 bei der Suche nach einem synthetischen Östrogensatz die schwach östrogene Wirkung von BPA. Der Ansatz wurde jedoch nicht weiterverfolgt, da sich mit Diethylstilbestrol bald darauf eine Substanz mit höherer östrogenen Wirksamkeit als BPA fand (Dodds & Lawson, 1936). Ungeachtet der potenziell schädigenden Wirkung auf den menschlichen Körper, wurde BPA ab den 1940er Jahren in der Produktion von Epoxidharzen und ab 1953 flächendeckend in der industriellen Produktion von PC-Kunststoffen eingesetzt (Domininghaus, 2005). Einen ersten Wendepunkt im bis dahin bedenkenlosen Umgang mit BPA, stellte ein Zufallsbefund einer Gruppe amerikanischer Wissenschaftler der Stanford University im Jahr 1992 dar. Beim Autoklavieren von Laborbehältern aus PC hatte sich eine zunächst unbekannte Substanz mit östrogenen Wirkung gelöst, die durch eine analytische Untersuchung im Anschluss als BPA identifiziert wurde (Krishnan et al., 1993). Seit dieser Beobachtung wurde BPA vielfach im Hinblick auf pathogene Effekte, Exposition, Toxikokinetik, Risikopotenzial und Langzeitauswirkungen wissenschaftlich untersucht (Abraham & Chakraborty, 2020; Rochester, 2013). Die ubiquitäre Verwendung wird angesichts der endokrinen Wirkung zunehmend kontrovers diskutiert (Vom Saal & Vandenberg, 2021).

#### 2.1.2 Physikalische und chemische Stoffeigenschaften

BPA ist eine chemische Verbindung aus der Gruppe der Diphenylmethan-Derivate und ist das am weitesten verbreitete Bisphenol (ECHA, 2021). Als Bisphenole werden 17 chemische Verbindungen mit einer gemeinsamen Grundstruktur bestehend aus zwei Phenylgruppen, die über einen variablen organischen Rest verbunden sind, zusammengefasst. Inzwischen werden die anderen Bisphenole immer häufiger als Substitut für BPA verwendet (Chen et al., 2016). Die Synthese von BPA erfolgt durch eine Kondensationsreaktion aus zwei Äquivalenten Phenol und einem Äquivalent Aceton mit Hilfe saurer Katalysatoren wie Chlorwasserstoff oder Polystyrolsulfonat (Abb. 2.1).



**Abb. 2.1: Synthesereaktion von Bisphenol A (BPA)**

Quelle: Eigene Darstellung

Die grundlegenden physikalisch-chemischen Stoffeigenschaften von BPA wurden bereits 1905 vom deutschen Chemiker Theodor Zincke untersucht (Zincke, 1905). Tab. 2.1 fasst die wichtigsten Eckdaten nach aktuellem Kenntnisstand zusammen. BPA liegt bei Raumtemperatur als Feststoff in Form weißer Flocken oder als Pulver vor und weist nur eine geringe Löslichkeit in Wasser auf. Die Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln und Fetten ist hingegen gut.

**Tab. 2.1: Physikalisch-chemische Stoffeigenschaften von Bisphenol A (BPA)**

Trivialname	Bisphenol A (BPA)
IUPAC-Bezeichnung	4,4'-propane-2,2-diyldiphenol
Summenformel	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>
CAS-Nummer	80-05-7
Molare Masse	228,28 g/mol
Aggregatzustand	fest
Dichte	1,2 g/cm <sup>3</sup> (25 °C)
Schmelzpunkt	155 °C
Siedepunkt	220 °C (5,3 hPa)
Löslichkeit in H <sub>2</sub> O	0,3 g/l (25 °C)
<i>n</i> -Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizient <i>K</i> <sub>ow</sub>	3,32
pH-Wert	6,4
Toxikologische Daten	LD50 oral: 3250 mg/kg LD50 dermal: 3590 mg/kg

CAS = Chemical Abstracts Service, IUPAC = International Union of Pure and Applied Chemistry, LD50 = letale Dosis, bei der 50 % der Betroffenen sterben

Quelle: Eigene Darstellung nach GESTIS-Stoffdatenbank (2022)

### 2.1.3 Verwendung und Vorkommen

Im Jahr 2006 wurden weltweit 3,8 Mio. Tonnen BPA produziert (Umweltbundesamt, 2010). In den EU-Mitgliedsstaaten lag die BPA-Produktion 2005/2006 bei 1,15 Mio. Tonnen. Allein in Deutschland wurden 840.000 Tonnen produziert, was einem Anteil von ~ 70 % entspricht (EU-Kommission, 2008; Statistisches Bundesamt, 2009). Von dem in der EU produzierten BPA wurden 2005/2006 ca. 80 % zur Herstellung von PC-Kunststoffen, 18 % zur Epoxidharz-Produktion und 2 % zur Erzeugung weiterer Stoffe (z. B. PVC und Weichmacher) verwendet (EU-Kommission, 2008). Durch Polykondensation mit Phosgen wird aus BPA der thermoplastische Polymerkunststoff PC hergestellt. PC zeichnet sich durch eine Reihe positiver Eigenschaften wie hohe Härte, Schlagfestigkeit, Steifigkeit sowie Transparenz aus und wird daher vielfältig eingesetzt (Covestro, 2022). PC wird weitverbreitet im Automobilbau, dem Baugewerbe, bei der Herstellung von Medizinprodukten und vielen Verbraucherprodukten verwendet (Abts, 2010). Neben Alltagsgegenständen (z. B. Elektronikgeräte, Brillengläser, CDs) werden auch Produkte mit Lebensmittelkontakt aus PC gefertigt (Hoekstra & Simoneau, 2013). Hierzu gehören u. a. Aufbewahrungsbehälter, Mehrweg-Getränkeflaschen, Kochutensilien oder Behälter für Wasserspender (EFSA, 2021a). Auch Produkte für Säuglinge und Kleinkinder wie Beruhigungssauger, Beißspielzeuge oder Geschirr werden aus PC hergestellt (Hoekstra & Simoneau, 2013; Lassen et al., 2011). Die zweithäufigste Anwendung von BPA ist die Herstellung von Epoxidharzen, die ebenfalls in vielen Bereichen eingesetzt werden (EU-Kommission, 2008). Sie dienen u. a. zur Herstellung von Klebstoffen, Lacken, Bodenbelägen und zur Korrosionsschutzbeschichtung von Rohrleitungen (Dornbusch et al., 2015). Ebenso werden Produkte mit Lebensmittelkontakt wie Konserven- oder Getränkedosen innenseitig mit Epoxidharz beschichtet. Epoxidharze sind zunächst flüssig, nach Zugabe von Härtern bildet sich nach einer variablen Dauer ein duroplastischer Polyetherkunststoff mit guter Temperatur- und Chemikalienbeständigkeit (Pham & Marks, 2005).

BPA liegt in PC-Kunststoffen und in den ausgehärteten Epoxidharz-Erzeugnissen in polymerisierter Form chemisch fest gebunden vor, kann jedoch unter spezifischen Bedingungen wie beim Kontakt mit heißem Wasser bzw. mit hydrophilen Lösungsmitteln wie Alkohol oder Milch hydrolytisch gelöst werden (Kovacic et al., 2020; Mahdavianpour et al., 2021; Russo et al., 2018). Nach einer unvollständigen Polymerisationsreaktion kann BPA zudem als Restmonomer vorliegen (Leisewitz & Schwarz, 1997).

Darüber hinaus wird BPA auch als Additiv verwendet. Beispielsweise wird es bei der Herstellung von Polyvinylchlorid (PVC), als Antioxidans in Weichmachern, sowie in Flammschutzmitteln eingesetzt (EFSA, 2021a; Umweltbundesamt, 2010).



Bis 2020 wurde es zudem als Farbbildner in Thermopapier verwendet (ECHA, 2020). Da BPA bei der Verwendung als Additiv nicht chemisch gebunden vorliegt, kann es leichter freigesetzt werden (Umweltbundesamt, 2022). Daher ist die Verwendung von BPA in Thermopapier nach Beschluss der EU-Kommission seit 2020 verboten (EU-Kommission, 2019). Anstelle von BPA wird inzwischen überwiegend Bisphenol S (BPS) für die Herstellung von Thermopapier verwendet (ECHA, 2020). Die Ergebnisse tierexperimenteller Studien deuten jedoch auch im Fall von BPS auf eine potenzielle endokrine Wirkung hin (Y. Chen et al., 2016; Eilebrecht et al., 2020).

## **2.1.4 Behördliche Regulierungen und Risikobewertung**

### **Behördliche Regulierungen**

Seit dem Jahr 2010 traten in den Mitgliedsstaaten der EU und in einigen Nicht-EU-Ländern diverse Richtlinien zur Beschränkung der Verwendung von BPA in Kraft (BAG Schweiz, 2020). Die EU-Mitgliedsstaaten Österreich, Belgien, Dänemark, Schweden und Frankreich beschlossen zudem über die EU-Richtlinien hinausgehende zusätzliche nationale Beschränkungen. Tab. 2.2 bietet einen Überblick über die Verordnungen und Beschlüsse.

**Tab. 2.2: Behördliche Regulierungen zu Bisphenol A (BPA) im internationalen Vergleich**

Land	Anwendung	Grenzwerte	Gültigkeit ab
alle EU-Mitgliedsstaaten	Säuglingsflaschen aus Polycarbonat	Verbot	2011
	Spielzeuge für Kinder < 3 Jahre	Migrationsgrenze: 0,04 mg/l	2017
	Kunststoffe, Lacke und Beschichtungen mit Lebensmittelkontakt	Migrationsgrenze: 0,05 mg/kg	2018
	Thermopapier	Verbot (Grenzwert 0,02%)	2020
Dänemark	Produkte mit Lebensmittelkontakt für Kinder < 3 Jahre	Verbot	2010
Österreich	Beruhigungssauger und Beißspielzeuge	Verbot	2012
Schweden	Produkte mit Lebensmittelkontakt für Kinder < 3 Jahre	Verbot	2013
Belgien	Produkte mit Lebensmittelkontakt für Kinder < 3 Jahre	Verbot	2013
Frankreich	Lebensmittelverpackungen	Verbot	2015
Schweiz	ab 2017 wurden die Regelungen der EU sukzessive übernommen		
USA	Säuglingsflaschen aus Polycarbonat	Verbot	2012
	Produkte mit Lebensmittelkontakt für Kinder < 3 Jahre	Verbot in einem Teil der Bundesstaaten	2010-2013
Kanada	Säuglingsflaschen aus Polycarbonat	Verbot	2010
China	Säuglingsflaschen aus Polycarbonat	Verbot	2011
Japan	bislang keine behördlichen Regelungen		
Australien	bislang keine behördlichen Regelungen		

EU = Europäische Union, USA = United States of America

Quelle: Eigene Darstellung nach BAG Schweiz (2020)

## Risikobewertung

In der EU wurde BPA 1986 erstmals vom Wissenschaftlichen Lebensmittelausschuss der EU (Scientific Committee on Food [SCF]) zur Verwendung bei der Herstellung von Lebensmittelkontaktmaterialien unter Angabe eines Tolerable Daily Intake-(TDI)-Werts von 50 µg/kg Körpergewicht (KG)/Tag bewertet (SCF, 1986). Die TDI ist definiert als „die geschätzte Menge eines beliebigen Stoffs, die theoretisch über die gesamte Lebenszeit täglich aufgenommen werden kann, ohne spürbare Auswirkungen auf die Gesundheit des Verbrauchers zu haben“ (BfR, 2022). Anhand der Ergebnisse tierexperimenteller oder epidemiologischer Untersuchungen wurde für die TDI-Festlegung die Dosis bestimmt, bei der zuletzt keine Schädigung auftritt (No Observed Adverse Level [NOAEL]). Diese Dosis wurde durch den Sicherheitsfaktor 100 dividiert, um die Diversität der Toxikokinetik von Mensch und Versuchstier zu berücksichtigen (BfR, 2022). Oral verabreichtes BPA wird vom Menschen schneller biotransformiert und ausgeschieden als von Nagetieren (SCF, 1986).

Aufgrund bestehender Unsicherheiten wegen unvollständiger toxikologischer Daten, wurde der TDI-Wert 2002 vom SCF vorübergehend herabgesetzt. Durch die Neuberechnung unter Anwendung eines Sicherheitsfaktors von 500 ergab sich eine t-TDI von 10 µg/kg KG/Tag. Durch den Zusatz „t“ wird angezeigt, dass es sich um einen temporären Wert handelt, der sobald aktualisierte, signifikante Daten vorliegen, durch einen definitiven Wert ersetzt werden soll (SCF, 2002).

Die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (European Food Safety Authority [EFSA]), die 2003 an die Stelle des SCF trat, schloss 2006 ihre erste vollständige Risikobewertung einer BPA-Exposition für Verbraucher durch Lebensmittelverzehr ab. Nach umfassender Überprüfung der verfügbaren Daten der wissenschaftlichen Untersuchungen aus den Vorjahren wurde erneut ein TDI-Wert von 50 µg/kg KG/Tag für BPA eingeführt. In dem Gutachten wurden Schätzwerte zur ernährungsbedingten BPA-Exposition für verschiedene Altersgruppen angegeben. Der Höchstwert von 13 µg/kg KG/Tag wurde für 6 Monate alte Säuglinge, die Flaschennahrung aus PC-Flaschen erhalten, erhoben. Aufgrund der Tatsache, dass dieser konservativ geschätzte Wert die damals gültige TDI deutlich unterschritt, kam die EFSA zu dem Fazit, dass die BPA-Exposition durch Lebensmittel auf Basis der ausgewerteten Daten für keine Altersgruppe ein gesundheitliches Risiko darstellt (EFSA, 2006).

In der Neubewertung der EFSA aus dem Jahr 2015, wurde der TDI-Wert nach Einbeziehung weiterer Daten und Anwendung differenzierterer Methoden auf 4 µg/kg KG/Tag deutlich herabgesetzt (EFSA, 2015a). Der Wert wurde erneut als vorläufige t-TDI bezeichnet, da die EFSA vor einer abschließenden Bewertung zunächst die Ergebnisse

laufender wissenschaftlicher Untersuchungen eines staatlichen Forschungsprogramms der USA abwarten wollte. Zur Einschätzung der Exposition wurden erstmals neben Lebensmitteln auch Nichtnahrungsquellen (z. B. Staub, Thermopapier, Kosmetika, Spielzeug und Beruhigungssauger) in der Bewertung berücksichtigt. Unter der Worst-Case-Annahme einer hohen Exposition in allen Bereichen wurde eine maximale tägliche BPA-Aufnahme zwischen 1–1,5 µg/kg KG geschätzt. Da das Expositionsniveau unterhalb des t-TDI-Werts lag, kam die EFSA erneut zu dem Schluss, dass BPA kein Risiko für die Gesundheit des Menschen darstellt (EFSA, 2015a, 2015b). 2016 wurde BPA von der ECHA als reproduktionstoxisch nach Kategorie 1B eingestuft. Die Kategorisierung zeigt an, dass eine Reproduktionstoxizität bei Tieren nachgewiesen wurde und für Menschen vermutet wird. Auf dieser Grundlage wurde BPA 2017 als besorgniserregende Substanz identifiziert und nach der REACH-Verordnung als endokriner Disruptor für Mensch und Umwelt bewertet (ECHA, 2017). Als REACH-Verordnung wird die Europäische Chemikalienverordnung zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe bezeichnet (BfR, 2021b).

Die Ergebnisse des von der US-amerikanischen Aufsichtsbehörde für Lebensmittel und Arzneimittel (Food and Drug Administration [FDA]) initiierten Forschungsprogramms „CLARITY-BPA“, die bei der letzten Bewertung der EFSA noch ausstanden, wurden 2021 in einem Report veröffentlicht. Die Autoren bewerteten die diskutierte BPA-assoziierte dauerhafte Schädigung des Immunsystems auf Basis von Tierversuchen als wenig wahrscheinlich (NTP, 2021). Zuvor hatte die FDA in ihrer letzten Bewertung von 2014 eine TDI von 5 µg/kg KG/Tag für BPA festgelegt und ein Gesundheitsrisiko für den Menschen ausgeschlossen, da die geschätzte Exposition aller Altersgruppen deutlich unter dem TDI-Wert lag (FDA, 2014).

Im Dezember 2021 teilte die EFSA mit, dass sie nach vorgenommener Neubewertung vorschlägt, den TDI-Wert von BPA zukünftig auf 0,04 ng/kg KG/Tag zu senken, was einer Reduktion um das 100.000-Fache vom bisherigen t-TDI-Wert entspricht. Der angefertigte Gutachtenentwurf stand zwei Monate zur öffentlichen Konsultation, ein abschließendes Gutachten steht aktuell (März 2022) noch aus. Als ausschlaggebend für die Senkung der TDI wurden die in tierexperimentellen Studien nachgewiesenen Auswirkungen auf das Immunsystem angeführt (EFSA, 2021b).

Die FDA und das deutsche Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) gaben an, den Gutachtenentwurf zunächst prüfen und zu einem späteren Zeitpunkt kommentieren zu wollen (BfR, 2021b; John, 2022). Es kann jetzt bereits festgehalten werden, dass die bisherigen Schätzwerte der EFSA zur BPA-Exposition in allen Altersgruppen den zuletzt vorgeschlagenen TDI-Wert deutlich überschreitet (EFSA, 2015b).

## 2.1.5 BPA-Exposition von Säuglingen und Kleinkindern

Die BPA-Exposition wurde von der EFSA mit Hilfe von Expositionsmodellierungen und Biomonitoring-Daten aus Urinalysen abgeschätzt (BfR, 2015). Generell werden ernährungsbedingte und nicht-ernährungsbedingte BPA-Expositionen, die oral, inhalativ oder dermal erfolgen können, unterschieden (Mielke et al., 2011). Die resultierenden BPA-Expositionswerte werden in Tab. 2.3 zusammenfassend dargestellt. Altersunabhängig stellt die ernährungsbedingte BPA-Exposition den größeren Anteil an der Gesamtexposition dar. Das gilt insbesondere für Säuglinge und Kleinkinder bis 3 Jahre, die mit durchschnittlich 0,12 µg/kg KG/Tag unter Average-Case-Annahmen die größte ernährungsbedingte Exposition aller Altersgruppen aufweisen (EFSA, 2015a). Als Begründung dafür ist die in Relation zum Körpergewicht größere Menge verzehrter Lebensmittel zu nennen. Ernährt wird ein Säugling zunächst entweder durch Stillen mit Muttermilch oder aus Säuglingsflaschen mit Formulanahrung. Seitdem das Verbot zur Verwendung von PC-Kunststoffen bei der Herstellung von Säuglingsflaschen 2011 in Kraft getreten ist, übersteigt die geschätzte ernährungsbedingte BPA-Exposition gestillter Säuglinge die derjenigen, die Muttermilchersatz erhalten, um durchschnittlich annähernd das Sechsfache (EFSA, 2015a; EU-Kommission, 2011). Eine Untersuchung mit 277 Flaschen aus verschiedenen PC-Ersatzmaterialien konnte 2012 BPA in zwei Polyamid-Flaschen eines Herstellers nachweisen (Simoneau et al., 2012). Laut mehrerer Studien liegt der BPA-Gehalt in Muttermilch im Nanogramm-pro-Liter-Bereich (Gao et al., 2021; Iribarne-Duran et al., 2022; Lee et al., 2018). Ab ca. dem 4. Lebensmonat erhalten Säuglinge zusätzlich Beikost, üblicherweise aus bruchsicherem Kunststoffgeschirr, das bis ins Kleinkindalter verwendet wird und möglicherweise eine weitere Quelle für die ernährungsbedingte BPA-Exposition darstellt (Fewtrell et al., 2017; Oca et al., 2013). Oca et al. analysierten 2013 die Bestandteile verschiedener Kunststoffgeschirrwaren; der maximale festgestellte BPA-Migrationswert lag bei 5,53 µg/l nach 24-stündiger Extraktion in Aceton. Weiter wurde eine gesteigerte Migrationsrate mit Zunahme der Temperatur, Kontaktdauer und Kontaktfläche gezeigt (Oca et al., 2013).

**Tab. 2.3: Übersicht zur Bisphenol A (BPA)-Exposition von Säuglingen und Kleinkindern**

Altersgruppe	Expositions-niveau	ernährungs-bedingt [µg/kg KG/d]	nicht-ernährungs-bedingt [µg/kg KG/d]	Gesamt-exposition [µg/kg KG/d]
Säuglinge 1. - 5. Lebenstag (Stillernährung)	mittel	0,119	-	-
	hoch	0,346	-	-
Säuglinge 6. Lebenstag - 3. Lebensmonat (Stillernährung)	mittel	0,094	0,009	0,103
	hoch	0,344	0,015	0,359
Säuglinge 4. - 6. Lebensmonat (Stillernährung)	mittel	0,090	0,009	0,099
	hoch	0,314	0,015	0,329
Säuglinge 1. - 6. Lebensmonat (Formulanahrung)	mittel	0,014	0,009	0,023
	hoch	0,060	0,015	0,075
Säuglinge 6. - 12. Lebensmonat	mittel	0,207	0,009	0,216
	hoch	0,475	0,015	0,490
Kleinkinder 1 - 3 Lebensjahre	mittel	0,216	0,007	0,223
	hoch	0,509	0,012	0,521

**Mittelwerte für Säuglinge und Kleinkinder aller Gruppen:**

Expositions-niveau	ernährungs-bedingt [µg/kg KG/d]	nicht-ernährungs-bedingt [µg/kg KG/d]	Gesamt-exposition [µg/kg KG/d]
mittel	0,123	0,009	0,132
hoch	0,341	0,014	0,355

*Zusammenfassung der geschätzten BPA-Expositionswerte. Das mittlere Expositions-niveau entspricht einer Average-Case-Annahme, das hohe Expositions-niveau einer Worst-Case-Annahme.*

*d = Tag, KG = Körpergewicht*

*Quelle: Eigene Darstellung nach EFSA (2015a)*

Bei der nicht-ernährungsbedingten Exposition spielt neben der inhalativen Aufnahme von BPA durch Staub vor allem die orale Aufnahme von BPA durch Spielzeuge und Beruhigungssauger eine Rolle (EFSA, 2015a, S. 54). Die Daten zur nicht-ernährungsbedingten Exposition werden in Tab. 2.4 zusammengefasst. Bei einem Vergleich mit den Daten aus Tab. 2.3 fällt auf, dass die orale Exposition durch Beruhigungssauger nicht in die Berechnung der altersspezifischen Gesamtexpositionen eingeflossen ist

(EFSA, 2015a, S. 60). Die geschätzte BPA-Exposition durch Beruhigungssauger wurde in dem Gutachten lediglich unter den Faktoren aufgeführt, die nur in individuellen Fällen, aufgrund spezifischer Angewohnheiten zu einer signifikant höheren BPA-Exposition führen können (EFSA, 2015a, S. 62).

**Tab. 2.4: Nicht-ernährungsbedingte Bisphenol A (BPA)-Exposition von Säuglingen und Kleinkindern**

Altersgruppe	Expositions-niveau	Staub	Spielzeug	Beruhigungs-sauger
Säuglinge (0-12 Monate)	mittel	0,009	0,0002	0,008
	hoch	0,015	0,0006	0,010
Kleinkinder (1-3 Jahre)	mittel	0,007	0,00001	0,007
	hoch	0,012	0,00001	0,010

Übersicht der nicht-ernährungsbedingten BPA-Expositionen in  $\mu\text{g}/\text{kg KG}/\text{d}$ . Das mittlere Expositions-niveau entspricht einer Average-Case-Annahme, das hohe Expositions-niveau einer Worst-Case-Annahme.

$d$  = Tag, KG = Körpergewicht

Quelle: Eigene Darstellung nach EFSA (2015a, S. 61f.)

Während der oralen Phase in der Entwicklung neigen Kinder dazu, sämtliche greifbaren Gegenstände in den Mund zu nehmen. Das Lutsch- und Saugverhalten von Kindern im Alter von 0–3 Jahren wurde in pädiatrischen Studien über eine tägliche Mundverweildauer für Spielzeuge und Beruhigungssauger untersucht (Bremmer & van Veen, 2002; Juberg et al., 2001). Die Zeitangaben wurden neben weiteren Faktoren zur Berechnung der potenziellen Exposition in folgender Formel berücksichtigt:

$$U_{toy} = \frac{q_{product} \cdot f_{time} \cdot f_{surface}}{bw}$$

$U_{toy}$  tägliche BPA-Aufnahme (Uptake) in  $\mu\text{g}/\text{kg}$  Körpergewicht

$q_{product}$  Migrationskonzentration nach 24 Stunden in Abhängigkeit der täglich produzierten Speichelmenge

$f_{time}$  tägliche Anwendungszeit anteilig von 24 Stunden

$f_{surface}$  Anteil der Oberfläche mit Speichelkontakt in %, bei Beruhigungssaugern 25 %

$bw$  Körpergewicht in kg

Quelle: EFSA (2015a, S. 57)

Die dermale Aufnahme über Spielzeuge aus PC scheint vernachlässigbar gering, da die Migration in Körperschweiß nur sehr langsam abläuft, eine orale Aufnahme über Spielzeuge aus PC ist hingegen potenziell möglich (Kemi, 2012). Beruhigungssauger bestehen für gewöhnlich aus einem Schildanteil aus Hartkunststoff, der nur peripher Kontakt zur Mundhöhle hat, und einem Saugeranteil aus Kautschuk oder Silikon mit unmittelbarem Kontakt zur Mundschleimhaut. Eine BPA-Migration ist grundsätzlich nur aus den Schildanteilen aus PC zu erwarten, da BPA regulär nicht zur Herstellung anderer Hartkunststoffe oder in der Kautschuk- und Silikonproduktion verwendet wird (BfR, 2009b). Dennoch wurde in mehreren Untersuchungen eine geringe BPA-Migration aus Saugerproben detektiert, die vermutlich auf BPA-Kontaminationen der Proben zurückzuführen ist (BfR, 2009b; Kemi, 2012). Lassen et al., die 2011 acht Beruhigungssauger europäischer Hersteller untersuchten, hielten fest, dass bei Gebrauch der Schildanteil mit Speichel in Kontakt kommt, der wiederum in die Mundhöhle gelangt und so aus PC migriertes BPA zur oralen Exposition beiträgt. Die Autoren gehen von einer Kontaktfläche aus, die 25 % der mundseitigen Oberfläche entspricht. Der maximale Migrationswert nach 7,75 Stunden bei 37 °C in artifiziellem Speichelmedium betrug 1,36 µg/l (Lassen et al., 2011). In einer wissenschaftlichen Studie im Auftrag der schwedischen Regierung von 2012, wurden 14 Spielzeuge und Schnuller aus PC untersucht: Eine BPA-Migration in den artifiziiellen Speichel konnte für acht Proben nach 24 Stunden bei 24 °C festgestellt werden, die maximale Migrationsrate für Spielzeuge betrug 0,63 µg/l und für Beruhigungssauger 0,21 µg/l (Kemi, 2012). Es gilt zu beachten, dass die genannten Untersuchungen vor Einführung des Migrationsgrenzwerts für Spielzeuge für Kinder jünger als 36 Monate durchgeführt wurden. 2017 wurde ein Grenzwert von 0,04 mg/l für eine Extraktionsdauer von einer Stunde in Wasser eingeführt, der jedoch weit über den erhobenen Messwerten liegt (EU-Kommission, 2017). Eine Forschergruppe aus Spanien analysierte 2020 drei Beruhigungssauger und acht Spielzeuge für Kleinkinder. Die Extraktion erfolgte für eine Stunde in Wasser, entsprechend dem in der EU-Verordnung angegeben DIN-Standard. Der maximale Migrationswert betrug 0,3 µg/l für ein Spielzeug und 0,23 µg/l für einen Beruhigungssauger. Die Werte unterschritten den Migrationsgrenzwert für Spielzeuge somit um mehr als das 100-Fache (Vicente-Martinez et al., 2020).

Mit der Einführung eines BPA-Grenzwerts für Spielzeuge reagierte die EU 2017 auch auf Forderungen der Öffentlichkeit. Für Aufsehen sorgten insbesondere die Ergebnisse einer 2009 von der österreichischen Umweltorganisation Global 2000 initiierten Studie. Ein akkreditiertes AnalySELabor untersuchte in-vitro zehn Beruhigungssauger namhafter Hersteller auf die Freisetzung von BPA. Laut dieser Analyse wurde bei neun von zehn Beruhigungssaugern eine BPA-Migration mit einem Maximalwert von 2284 mg/kg



ermittelt (Global 2000, 2009b). In allen neun Fällen wurde neben einer BPA-Freisetzung aus dem Schildanteil auch eine Migration aus dem Saugeranteil beobachtet, die mit einer potenziellen Diffusion aus dem PC-Schild erklärt wurde (Global 2000, 2009a). Das deutsche BfR untersuchte daraufhin ebenfalls in-vitro die Saugeranteile von 18 Beruhigungssaugern, wobei nur bei einer Probe eine geringe BPA-Freisetzung festgestellt wurde (BfR, 2009b). Ob es sich bei beiden Studien um die gleichen Beruhigungssauger handelte, wurde nicht beschrieben (BfR, 2009b). Die beiden Studien unterschieden sich jedoch wesentlich in der Methodik. Das von Global 2000 beauftragte Labor zerkleinerte die Proben und verwendete ein Lösungsmittelgemisch aus Toluol und Ethylacetat zur Extraktion in einem Soxhlet-Extraktor für 16 Stunden (Global 2000, 2009b). Das BfR führte die Analyse hingegen entsprechend der Prüfnorm für Spielzeuge durch. Die Proben wurden unzerkleinert in artifiziellem Speichel für eine Stunde unter Bewegung extrahiert. In einer weiteren Untersuchungsreihe erfolgte die Extraktion in 50-prozentigem Ethanol bei 40 °C für fünf Tage. Diese Versuchsreihe führte jedoch zu keinen anderen Ergebnissen als die vorangegangene (BfR, 2009b). Das BfR vermutete zudem fehlerhafte Abläufe in der Gaschromatografie/Massenspektrometrie (GC/MS)-Analyse des akkreditierten Labors der Global 2000-Studie (BfR, 2009b). Nichtsdestotrotz erzeugte die Veröffentlichung großes Aufsehen und zwang die Hersteller förmlich zu einer Produktionsumstellung und zur Verwendung von PC-Ersatzmaterialien mit schlechteren physikalischen Eigenschaften (BfR, 2009a). Inwiefern diese Änderungen tatsächlich umgesetzt wurden, geht aus der Literatur nicht eindeutig hervor. In einer Analyse, die infolge der Publikation von Global 2000 von einer Arbeitsgruppe der Technischen Universität Dresden durchgeführt wurde, konnte in den untersuchten Saugerproben kein BPA nachgewiesen werden. Die BPA-Gehalte der untersuchten Schildproben lagen im zu erwartenden Bereich für Restmonomer-Gehalte und wurden als irrelevant für eine Migration bei herkömmlicher Anwendung bewertet (Richter & Simat, 2010).

Neben der Expositionsmodellierung, bei der altersspezifische Ernährungsgewohnheiten und Verhaltensmuster berücksichtigt werden, wurden zur Expositionsbewertung auch Human-Biomonitoring-Untersuchungen von Urinproben aller Altersgruppen herangezogen (EFSA, 2015a, S. 11), da BPA zu ca. 90 % über die Nieren bzw. den Urin ausgeschieden wird (Huang et al., 2018). Die aktuellen Human-Biomonitoring-Daten aus Deutschland belegen eindeutig das ubiquitäre Vorkommen von BPA. In annähernd allen Proben konnte BPA nachgewiesen werden (Tschersich et al., 2021). Bei einem Vergleich der Ergebnisse der Fünften Deutschen Umweltstudie zur Gesundheit (German Environmental Survey V [GerES V]), die Daten von 2014–2017 einbezog und der Vorgängerstudie GerES IV, welche Daten von 2003–2006 beinhaltete, ist eine Abnahme

der BPA-Konzentration im Urin für alle Altersgruppen erkennbar. Die Abnahme fällt insbesondere in der Gruppe der Kleinkinder auf (Becker et al., 2009; Tschersich et al., 2021). Dieser Befund deckt sich mit den Erkenntnissen von Bellisario et al., die 2021 eine Studie zum BPA-Gehalt im Urin Neugeborener publizierten und ebenfalls eine rückläufige Entwicklung der BPA-Konzentration konstatierten (Bellisario et al., 2021).

## **2.1.6 Wirkung von BPA als endokriner Disruptor**

### **Toxikokinetik und Niedrigdosis-effekt**

Die Toxikokinetik von BPA hängt vom Expositionsweg, über den es in den Organismus aufgenommen wird, ab (EFSA, 2015a, S. 66). Nach der primären oralen Aufnahme wird BPA im Gastrointestinaltrakt über die Mukosa resorbiert und über die Pfortader zur Leber transportiert, wo es im adulten Organismus vollständig zu BPA-Glucuronid oder seltener zu BPA-Sulfat enzymatisch konjugiert wird (Doerge et al., 2012). Durch die Konjugation verliert BPA seine endokrine Wirkung, diese wurde in tierexperimentellen Studien nur für das unkonjugierte BPA nachgewiesen (Corrales et al., 2015). Das konjugierte BPA wird innerhalb von 24 Stunden zu ca. 90 % über den Urin und zu ca. 10 % über die Fäzes ausgeschieden, die Halbwertszeit beträgt 2–6 Stunden (Völkel et al., 2002). Diese Metabolisierung funktioniert bei Säuglingen jedoch nur eingeschränkt, da die Glucuronidierungsraten im neonatalen Organismus noch deutlich niedriger sind als beim Erwachsenen (Jalal et al., 2018). Das die Reaktion katalysierende Enzym, die Uridindiphosphat-(UDP)-Glucuronosyltransferase, ist physiologisch erst im Alter von 2–3 Monaten voll aktiv (Allegaert et al., 2008; Edginton & Ritter, 2009). Aufgrund der eingeschränkten Metabolisierung, der ohnehin höheren BPA-Expositionsrate und der ablaufenden physischen Entwicklungsprozesse, stellen Säuglinge eine besonders vulnerable Personengruppe für die Wirkung endokriner Disruptoren dar (Doerge et al., 2011; Vandenberg et al., 2009). Eine Störung der systematischen Abfolge einzelner Schritte während der Entwicklungsperiode, kann für den Organismus schwerwiegende Konsequenzen haben (Bernal & Jirtle, 2010). In der Vergangenheit wurde zunächst angenommen, dass die Konzentration von unkonjugiertem BPA auch bei Säuglingen und Kleinkindern zu gering ist, um ein gesundheitliches Risiko darzustellen. Verschiedene Untersuchungen belegen jedoch eine nicht monotone Dosis-Wirkungs-Beziehung, die häufig auch als Niedrigdosis-effekt bezeichnet wird (Beausoleil et al., 2013; Vandenberg, 2013). In einer tierexperimentellen Untersuchung wurde nachgewiesen, dass die Stör-effekte auf Kardiomyozyten auch nach 10.000-facher Erniedrigung der verwendeten BPA-Menge analog ausfielen (Liang et al., 2014). Potenzielle Niedrigdosis-effekte von

BPA beim Menschen werden wissenschaftlich kontrovers diskutiert. Die EFSA konnte nach Auswertung der aktuellen Datenlage keinen eindeutigen Hinweis auf Niedrigdosis-effekte für BPA feststellen (EFSA Scientific Committee, 2021).

Altersunabhängig scheint der dermale und inhalative Expositionsweg eine eher untergeordnete Rolle zu spielen (EFSA, 2015a, S. 185), jedoch treten nach nicht-oraler BPA-Exposition höhere Konzentrationen von unkonjugiertem BPA im Blut auf. Der Grund ist eine direkte Aufnahme in den Blutkreislauf, welche in Konsequenz zu einer verlängerten Halbwertszeit, einer verstärkten endokrinen Wirkung und einer verzögerten Konjugation führt (Tominaga et al., 2006).

### **Effekte auf den menschlichen Organismus**

BPA besitzt nur eine geringe akute Toxizität, kann als endokriner Disruptor aber eine Vielzahl von Wachstums- und Entwicklungsprozessen stören, was in zahlreichen In-vitro- und In-vivo-Untersuchungen gezeigt werden konnte (Careghini et al., 2015; IlygUndoGdu et al., 2020; Konieczna et al., 2015). Analog zum körpereigenen 17 $\beta$ -Estradiol kann es als agonistisches bzw. dosisabhängig als antagonistisches Xenohormon an membranständige (mER) und intrazelluläre Östrogenrezeptoren (ER $\alpha$ , ER $\beta$ ) binden (Schug et al., 2011; Tohmé et al., 2014; Welshons et al., 2006). Außerdem wurde eine Interaktion mit dem G-Protein-gekoppelten Östrogenrezeptor (GPER) und dem Rezeptor des epidermalen Wachstumsfaktors (EGFR) beobachtet (Fitzgerald et al., 2015). An Androgenrezeptoren (AR) und Thyroidrezeptoren (TR) zeigt BPA eine antagonistische Wirkung (Moriyama et al., 2002; Oehlmann et al., 2006). BPA wird als pathogener Faktor vieler Erkrankungen diskutiert. Beispielsweise wird ein Zusammenhang zwischen einer pränatalen BPA-Exposition und der späteren Entwicklung eines polyzystischen Ovarialsyndroms (PCOS) vermutet, von dem aktuell ca. 10 % der Frauen im gebärfähigen Alter betroffen sind und das die häufigste Ursache weiblicher Infertilität darstellt (Hewlett et al., 2017). Weiter wird eine Beeinträchtigung der männlichen Infertilität als Folge einer BPA-Exposition diskutiert, nachdem in tierexperimentellen Untersuchungen neben einem verminderten Hodenwachstum eine verschlechterte Spermienqualität nach prä- und postnataler BPA-Gabe festgestellt wurde (Hong et al., 2016; Zhang et al., 2013). Fallstudien zeigten zudem eine signifikante Korrelation zwischen dem Auftreten von Aborten und erhöhten BPA-Konzentrationen im Serum betroffener Frauen (Shen et al., 2015; Sugiura-Ogasawara et al., 2005). Ein Zusammenhang wird auch mit der Genese kardiovaskulärer Erkrankungen diskutiert. Hohe BPA-Gehalte im Urin von Probanden korrelierten mit dem Auftreten einer koronaren Herzkrankheit (KHK) (Melzer et al., 2012), peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (pAVK) (Shankar et al., 2012) und einer

reduzierten Herzratenvariabilität (HRV) (Bae et al., 2012). Bei Kindern mit erhöhten BPA-Konzentrationen im Urin wurde ein vermehrtes Auftreten von Adipositas, Hypertonie und erhöhten Nüchternblutglukosewerten beobachtet (Amin et al., 2019; Mansouri et al., 2019). Die Studienergebnisse zu den Effekten von BPA auf das neurologische System sind weitreichend, aber nicht eindeutig. Eine Geburtskohortenstudie aus Spanien lieferte Hinweise auf einen Zusammenhang von erhöhten pränatalen BPA-Expositionen und neurologischen Entwicklungsstörungen, die mit einer verminderten Psychomotorik und einer Aufmerksamkeits-Defizit-Hyperaktivitäts-Störung-(ADHS)-Symptomatik assoziiert waren. Die ADHS-Symptomatik trat dabei geschlechtsspezifisch bei Jungen häufiger auf (Casas et al., 2015). Eine Geschlechtsspezifität zeigte sich auch in einem Tierexperiment, bei dem Ratten prä- und postnatal eine geringe BPA-Dosis verabreicht bekamen, die als repräsentativ für die menschliche Exposition angesehen wurde. Allein die männlichen Nachkommen zeigten vermehrt depressionsähnliche Verhaltensmuster, was die Autoren durch einen BPA-abhängigen Serotoninmangel erklärten (Xin et al., 2018). Darüber hinaus wird auf der Basis tierexperimenteller Daten eine Beeinträchtigung der Gehirnentwicklung durch eine pränatale BPA-assoziierte Störung des thyreotropen Regelkreises diskutiert (Xu et al., 2019). Laut Zulkifli et al. sind im Kindesalter beginnende Erkrankungen eher auf eine pränatale BPA-Exposition zurückzuführen, während ein Krankheitsbeginn in der Adoleszenz oder im Erwachsenenalter eher für eine zusätzliche oder alleinige postnatale BPA-Exposition spricht (Zulkifli et al., 2021).

### **Ätiologie der Molaren-Inzisiven-Hypomineralisation**

Auch für das in der Zahnheilkunde weitverbreitete Krankheitsbild der Molaren-Inzisiven-Hypomineralisation (MIH), deren Ätiologie nach wie vor ungeklärt ist, wurde eine BPA-Exposition als möglicher ätiologischer Faktor diskutiert. Bei der MIH handelt es sich um eine entwicklungsbedingte qualitative Schmelzbildungsstörung. Das klinische Leitsymptom sind scharf begrenzte, weiße über gelb bis braun erscheinende Opazitäten des Zahnschmelzes, die für die Betroffenen zu funktionellen und ästhetischen Einschränkungen führen. Aufgrund der hohen Prävalenzraten von ~ 10 % bis ~ 30%, die in den vergangenen Jahren in nationalen und internationalen epidemiologischen Studien erhoben wurden (Jordan & Micheelis, 2016; Kühnisch et al., 2014; Schwendicke et al., 2018), bezeichnete die Deutsche Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde (DGZMK) die MIH im Jahr 2018 in einer Pressemitteilung als neue Volkskrankheit (DGZMK, 2018). In den vergangenen Jahren wurden zahlreiche potenzielle ätiologische Faktoren für die MIH diskutiert und wissenschaftlich untersucht. Es herrscht ein Konsens, dass pathophysiologisch eine Störung oder Schädigung der schmelzbildenden

Zellen (Ameloblasten) während der Schmelzbildung (Amelogenese) vorliegen muss (Alaluusua, 2010; Crombie et al., 2009; Lygidakis et al., 2021; Silva et al., 2016). Somit ist von einem Zeitfenster der Pathogenese einer MIH für bleibende erste Molaren und bleibende Inzisiven vom achten Schwangerschaftsmonat bis zum vierten Lebensjahr auszugehen (Bekes, 2021, S. 22). Studien belegen, dass der genetisch kontrollierte Prozess der Amelogenese empfindlich gegenüber extrinsischen Störungen ist (Suga, 1989). Grundsätzlich deuten die Prävalenzentwicklung und Untersuchungen archäologischer Schädelfunde aus Bayern darauf hin, dass es sich bei der MIH vermutlich um ein neuzeitliches Phänomen handelt (Kühnisch et al., 2016). Aufgrund des großen Zeitfensters, welches der Pathogenese zugeordnet wird, wurden in der Vergangenheit neben dem Einfluss genetischer Faktoren zahlreiche prä-, peri- und postnatale Faktoren diskutiert und untersucht. Dazu gehören Geburtskomplikationen, Antibiotikaeinnahmen, Störungen des Vitamin-D-Stoffwechsels und frühkindliche respiratorische Erkrankungen (Flexeder et al., 2020; Garot et al., 2021; Kühnisch et al., 2015; Silva et al., 2016). Eine Monokausalität konnte bislang nicht ermittelt werden, daher wird aktuell von einer multifaktoriellen Ätiologiekette ausgegangen (Garot et al., 2021). Im Jahr 2013 publizierte eine französische Arbeitsgruppe die Ergebnisse tierexperimenteller Untersuchungen, aus denen ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Zahnhartsubstanzdefekten und einer vorherigen prä- und perinatalen BPA-Exposition bei männlichen Ratten hervorging (Jedeon et al., 2013). Die Defekte entsprachen nach Ansicht der Autoren den MIH-assoziierten Hypomineralisationen beim Menschen. In dem Experiment wurde zunächst Muttertieren während der Tragezeit und der Säugephase, sowie nach der Entwöhnung den Nachkommen eine tägliche BPA-Dosis von 5 µg/kg KG verabreicht. Nach 30 Tagen wiesen 12 von 16 BPA-exponierten Ratten (75%) Opazitäten an den Inzisiven auf. Vergleichende chemische und mikroskopische Untersuchungen mit menschlichen extrahierten MIH-Zähnen ergaben einige Übereinstimmungen. Die Ergebnisse der In-vivo-Untersuchung konnten in-vitro reproduziert werden. Nach 100 Tagen traten keine Zahnhartsubstanzdefekte auf und der Befund entsprach dem der Kontrollgruppe. Das Auftreten von Opazitäten nach 30 Tagen wurde von den Autoren mit der verminderten Fähigkeit zur BPA-Metabolisierung und -Ausscheidung von Ratten im fötalen und neonatalen Stadium im Vergleich zu adulten Tieren begründet (Jedeon et al., 2013). Der Zahnschmelz von Ratten und anderen Nagetieren wird aufgrund des stetigen Zahnwachstums zeitlebens neu gebildet. Bei Menschen ist die Amelogenese hingegen im Kindesalter abgeschlossen, danach kann der Zahnschmelz nicht mehr regeneriert bzw. neu synthetisiert werden (Ehrenfeld et al., 2010). Störungen der Amelogenese führen so zwangsläufig zu irreversiblen Schmelzdefekten. Jedeon et al. konstatierten, dass

es sich bei BPA um einen möglichen Ätiologiefaktor der MIH beim Menschen handeln könnte (Jedon et al., 2013). Das BfR kam in seiner Bewertung der Studie zu dem Schluss, dass es keinen gesicherten Zusammenhang zwischen einer BPA-Exposition und der Entstehung von MIH bei Kindern gibt und eine direkte Kausalität unwahrscheinlich ist (BfR, 2021a). Es wurde kritisch angemerkt, dass die toxikokinetischen Eigenschaften von Ratten nicht ohne Weiteres auf den Menschen übertragen werden können, da menschliche Säuglinge BPA besser metabolisieren können als Ratten im neonatalen Entwicklungsstadium (BfR, 2018). Die Ergebnisse einer weiteren kürzlich veröffentlichten tierexperimentellen Studie mit Zebramuscheln können jedoch als ein weiterer Hinweis auf einen Zusammenhang der Ätiologie der MIH mit einer BPA-Exposition betrachtet werden (Liu et al., 2022). Liu et al. hielten fest, dass BPA einen mineralisationshemmenden Effekt auf die Schalen von Muscheln hat. Inwiefern die genannten Tiermodelle auf den Menschen übertragbar sind und ob die kontrovers diskutierten Niedrigdosiseffekte auch im Zusammenhang mit einer potenziellen Ätiologie der MIH stehen, ist derzeit noch nicht abschließend geklärt (Bekes, 2021, S. 41).

## 2.2 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

### 2.2.1 Allgemeines

Die Hochleistungsflüssigkeitschromatografie (High Performance Liquid Chromatography [HPLC]) ist eine weitverbreitete und vielfältig einsetzbare chemische Analyse-methode. Das Verfahren wurde in den 1960er Jahren auf der Grundlage der Flüssigkeitschromatografie entwickelt und als Hochdruckflüssigkeitschromatografie bezeichnet, da die wesentliche Innovation der Methode in der Verwendung von Hochdruckpumpen bestand, die einen konstanten Druck von 300–400 bar erzeugen konnten (Lindsay, 1996). Mit Hilfe der HPLC ist eine Trennung von Substanzgemischen möglich, durch die einzelne Analyten qualitativ und quantitativ bestimmt werden können. Aufgrund der schnellen und reproduzierbaren Durchführbarkeit wird die Methode außerdem präparativ zur Probenvorbereitung und Gewinnung von Reinsubstanzen verwendet. Zahlreiche Modifikationen und Weiterentwicklungen ermöglichen ein breites Analytenspektrum. Mit der HPLC können anorganische und organische Ionen, Metallkomplexe, organische Stoffe und Polymere getrennt und analysiert werden. Aufgrund dieser Variabilität hat sich die HPLC in der Umwelt- und Lebensmittelanalytik, der Pharmazie, der Biochemie und in weiteren Fachbereichen fest etabliert (Meyer, 2004).

### 2.2.2 Funktionsweise

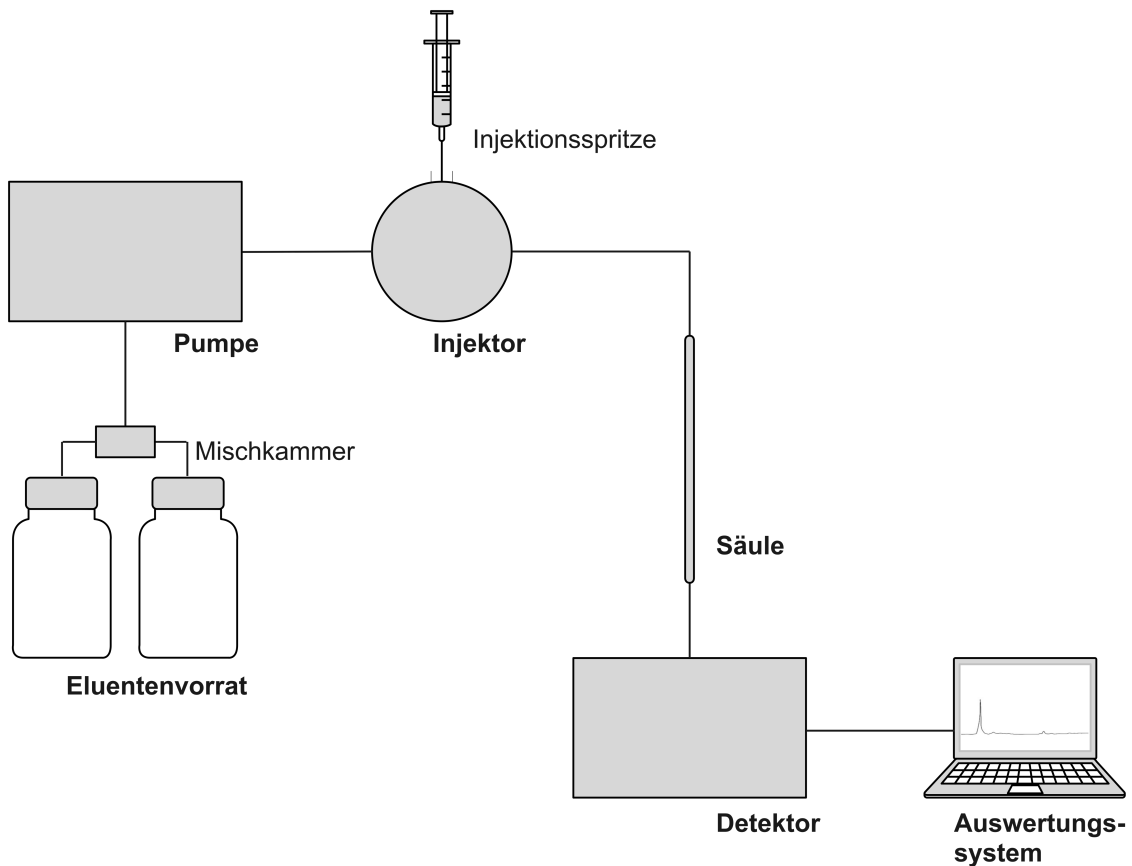
Bei einer HPLC-Analyse wird eine den Analyten enthaltende Probe gelöst in einem Lösungsmittel oder Lösungsmittelgemisch mit konstant hohem Druck durch eine Trennsäule befördert. Das Lösungsmittelgemisch wird auch als Eluent oder mobile Phase bezeichnet, die Trennsäule als stationäre Phase. Das Grundprinzip der Trennung sind die ungleichen Wechselwirkungen der einzelnen Substanzen eines Gemischs mit der stationären Phase und der mobilen Phase. Diese Wechselwirkungen beruhen auf ungleichen Polaritäten, Molekülgrößen, Ladungen oder Affinitäten zur Komplexbildung (Schwedt, 1995). Daraus resultiert ein für die einzelnen Substanzen unterschiedliches Retentionsverhalten. Nach Passage der Trennsäule erzeugt die Substanz am nachgeschalteten Detektor ein Signal. Werden diese Signale mit Hilfe eines Softwareprogramms registriert und gegen die Zeit aufgetragen, erhält man ein Chromatogramm. In einem Chromatogramm entspricht der Zeitpunkt (x-Wert) eines Peakmaximums der Retentionszeit einer Substanz. Die Retentionszeit einer spezifischen Substanz ist innerhalb eines chromatografischen Systems, solange keine Parameter verändert werden, konstant (Cammann, 2000). Daher kann ein Analyt über den Vergleich der Retentionszeit

mit der eines aus einer Reinsubstanz hergestellten Standards identifiziert werden. Die Identifikation entspricht einem qualitativen Nachweis. Zusätzlich kann über die Signalintensität eine quantitative Bestimmung erfolgen. Die Intensität wird durch Integration der Peakfläche bestimmt. Voraussetzung hierfür ist eine Kalibrierung, bei der über die Analyse mehrerer Standardlösungen bekannter Konzentrationen derselben Substanz eine Kalibrierfunktion generiert wird. Über diese Kalibrierfunktion kann anschließend die unbekannte Konzentration des Analyten berechnet werden. Es wird allgemein zwischen einer externen und einer internen Kalibrierung unterschieden. Bei der externen Kalibrierung wird die Standardlösung separat zur Probe analysiert, bei der internen Kalibrierung wird der Standard hingegen direkt zur Probe hinzugefügt und gemeinsam mit dieser untersucht.

### **2.2.3 Aufbau einer HPLC-Anlage**

Abb. 2.2 zeigt den Grundaufbau einer HPLC-Anlage, die meist modular aufgebaut ist und je nach Anwendung durch weitere Komponenten ergänzt werden kann. Grundsätzlich werden ein Eluentenvorrat (mobile Phase), eine Mischkammer, eine Pumpe, ein Injektor, eine Trennsäule (stationäre Phase), ein Detektor und ein System zur Datenerfassung und -auswertung benötigt.





**Abb. 2.2: Schematische Darstellung einer Hochleistungsflüssigkeitschromatografie-(HPLC)-Anlage**

*Quelle: Eigene Darstellung nach Otto (2019, S. 475)*

### **Der Eluent (mobile Phase, Laufmittel)**

Die Auswahl der Lösungsmittel ist anwendungsbezogen. In der am häufigsten durchgeführten Umkehrphasenchromatografie (engl. reversed phase) mit apolarer stationärer Phase kommen polare Solvenzien wie Wasser ( $\text{H}_2\text{O}$ ) oder Pufferlösungen und leicht apolare Solvenzien wie Methanol ( $\text{MeOH}$ ) oder Acetonitril ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ) zum Einsatz (Meyer, 2004). Durch Mischung verschiedener Lösungsmittel wird die Elutionskraft der mobilen Phase in Abhängigkeit von der verwendeten stationären Phase und dem zu untersuchenden Analyten optimiert. Je größer die Elutionskraft eines Eluenten ist, desto schneller wird ein Analyt von der stationären Phase in die mobile Phase überführt (Eppert, 2000). Die Zusammensetzung des Eluenten kann während der gesamten Trennung konstant gehalten (isokratische Elution) oder währenddessen variiert werden (Gradientenelution). Eine Gradientenelution hat den Vorteil, dass bei einer Erhöhung der Elutionskraft im zeitlichen Verlauf des Trennprozesses lipophilere Analytmoleküle schneller in die mobile Phase überführt werden, was zu einer schärferen Trennung der Analyten führen und die Analysedauer verkürzen kann (Otto, 2019). Die Mischung des Eluenten

nach dem geplanten Gradientenprogramm wird in modernen Systemen vollautomatisch vorgenommen.

## **Die Pumpe**

Durch den von der Pumpe erzeugten Druck wird die mobile Phase durch die gepackte Trennsäule (stationäre Phase) befördert. Der Druck sollte möglichst in einem Bereich zwischen 40 und 400 bar regelbar sein und einen konstanten und pulsationsarmen Fluss mit einer Flussrate zwischen 0,1 ml/min und 2 ml/min erzeugen. Allgemein gilt, je feiner das Packungsmaterial der Säule ist, desto größer ist der erforderliche Druck (Lindsay, 1996).

## **Der Injektor**

Über den Injektor wird die Probe auf die Trennsäule aufgetragen. Die Injektion kann manuell mit Hilfe einer Injektionsspritze, die mit einem exakt definierten Probenvolumen befüllt wurde, über eine Probenschleife und ein Sechswegventil erfolgen. Nach der Injektion der Probelösung wird die Probenschleife mit dem Eluenten durchspült, dadurch wird der anschließende Auftrag der Probe auf die Trennsäule ermöglicht (Meyer, 2004). Inzwischen wird dieser Vorgang meist automatisiert mit Hilfe eines Autosamplers, bei dem ebenfalls eine Probenschleife eingesetzt wird, durchgeführt.

## **Die Trennsäule (stationäre Phase)**

Grundsätzlich handelt es sich bei einer Trennsäule um eine Röhre z. B. aus Edelstahl, die inwendig gepackt ist und je nach Bedarf in Länge und Durchmesser variieren kann (Otto, 2019). Als Packungsmaterial wird meist Kieselgel verwendet. Bei der häufig durchgeführten Umkehrphasenchromatografie wird das Kieselgel zusätzlich modifiziert. Hierzu werden lange Alkylketten, wie Octadecyl-Reste (C<sub>18</sub>), kovalent an die Oberfläche der Kieselgelpartikel gebunden, wodurch die stationäre Phase apolar wird. Bei anderen Trennprinzipien kommen auch Zirkonoxide, Aluminiumoxide oder Polymere als Packungsmaterial zum Einsatz. Zur Verlängerung der Lebensdauer der Trennsäule kann zusätzlich eine Vorsäule vorgeschaltet werden, diese enthält meist dasselbe Packungsmaterial wie die Trennsäule. Die Vorsäule hält Verunreinigungen zurück, die ansonsten zur Verschmutzung der Trennsäule führen können.

## **Der Detektor**

Zur Detektion der eluierten Substanzen steht eine Vielzahl von Detektoren zur Verfügung. Am häufigsten kommen UV/VIS-Detektoren zum Einsatz, die die Absorption von ultraviolettem (UV) und sichtbarem (engl. visible [VIS]) Licht durch die eluierten Substanzen messen. Diese Detektoren können, je nach gewählter Wellenlängeneinstellung, zur selektiven Analyse bestimmter Substanzen oder universell zur Detektion unterschiedlicher Analyten angewendet werden. Voraussetzung für eine Bestimmung ist eine ausreichende Absorption des Lichts im gewählten Wellenlängenbereich (Meyer, 2004). Bestimmte Stoffe, sogenannte Fluorophore, können zur Fluoreszenz angeregt werden. Diese Eigenschaft kann zur Detektion mittels Fluoreszenzdetektoren (FLD) genutzt werden, die eine bis zu 1000-fach höhere Sensitivität im Vergleich zu UV-Detektoren besitzen (Otto, 2019). Darüber hinaus werden Brechungsindexdetektoren, Verdampfungslichtstreuungsdetektoren, Leitfähigkeitsdetektoren oder Massenspektrometer genutzt.

### **2.2.4 Anwendung zum Nachweis von BPA**

In der Phenolanalytik wird die HPLC neben der GC standardmäßig eingesetzt. Bei der HPLC-Analyse wird in den meisten Fällen eine Umkehrphasenchromatografie genutzt (Marko-Varga & Barceló, 1992). Die Trennung von Analyten in Substanzgemischen basiert auf abweichenden, sich aus verschiedenen Hydrophobizitäten ergebenden, Wechselwirkungen zwischen der apolaren stationären Phase und der polaren mobilen Phase. Zum Nachweis des Diphenols BPA wird aufgrund der fluorophoren Stoffeigenschaften häufig die FLD angewandt (Wang et al., 2013). Diese weist eine deutlich höhere Sensitivität und Selektivität als die verbreitete UV/VIS-Detektionsmethode auf und ermöglicht so bereits den Nachweis geringerer Konzentrationen im Spurenbereich, was für den Einsatz in der Lebensmittel- und Umweltanalytik von großem Vorteil ist (Schmidt et al., 1997). Die Kopplung eines HPLC- und GC-Analysesystems an einen MS-Detektor kann eine Absenkung des Detektionslimits und eine Steigerung der Sensitivität und Selektivität ermöglichen (Chen et al., 2012). Die Funktion eines MS-Detektors basiert prinzipiell auf einer Identifikation eines Analyten nach Desorption und Ionisation auf Basis ihrer Relation von Masse zu Ladung (Todd, 1991).

### 3 Problemstellung und Zielsetzung

Säuglinge und Kleinkinder gehören zu den vulnerablen Personengruppen für eine erhöhte Exposition mit endokrinen Disruptoren wie BPA. Aufgrund zahlreicher Hinweise auf mögliche gesundheitliche Risiken, sollte eine BPA-Exposition aus vermeidbaren Quellen so niedrig wie möglich gehalten werden. In der EU wurden in den vergangenen Jahren zwar verschiedene Richtlinien zur Verwendung von BPA im Sinne des Verbraucherschutzes eingeführt, der Einsatz BPA-haltiger Werkstoffe zur Herstellung von Beruhigungssaugern ist aber nach wie vor gestattet. Die meisten Herstellerfirmen geben an, die Produktion inzwischen freiwillig umgestellt zu haben und keine BPA-haltigen Stoffe mehr einzusetzen, eine Garantie stellt dies für die Verbraucher jedoch nicht dar. Wird BPA bei der Herstellung verwendet, können Beruhigungssauger, die häufig täglich mehrere Stunden im Mund verweilen, möglicherweise eine wichtige Quelle für eine kontinuierliche orale BPA-Exposition von Säuglingen und Kleinkindern darstellen.

Das Ziel der vorliegenden Studie war es daher, eine mögliche BPA-Migration aus aktuell im Handel erhältlichen Beruhigungssaugern qualitativ nachzuweisen und zu quantifizieren. Im Anschluss sollte eine Risk-Assessment-Analyse auf der Grundlage der erhobenen Daten zur Bewertung des Gesundheitsrisikos für Säuglinge und Kleinkinder durchgeführt werden. Ferner sollte dabei die potenzielle Beteiligung einer BPA-Exposition an der Ätiologie der MIH berücksichtigt werden.

## 4 Material und Methoden

### 4.1 Material

#### 4.1.1 Beruhigungssauger

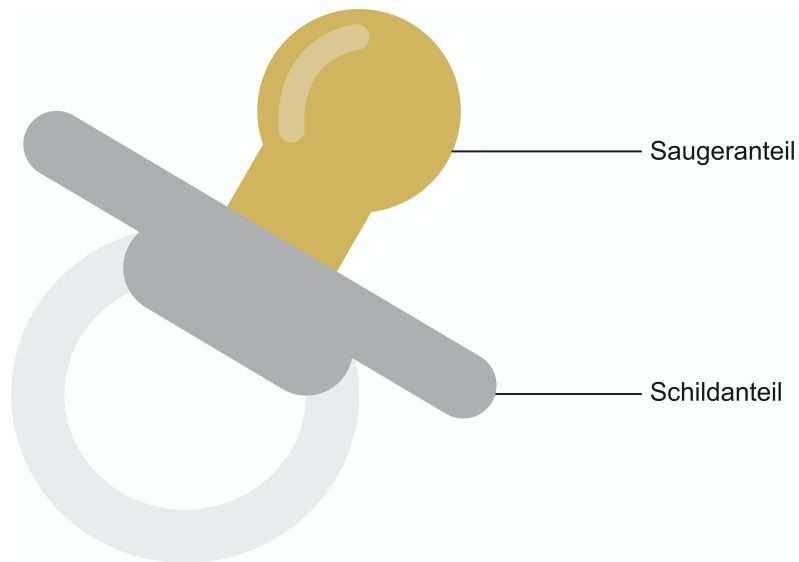
Gegenstand der Untersuchung waren sieben Beruhigungssauger verschiedener gängiger Hersteller aus dem In- und Ausland. Die Beruhigungssauger wurden im Juni und Juli 2021 erworben, drei davon im nationalen Einzelhandel, vier im internationalen Onlinehandel. Von den Beruhigungssaugern wurden jeweils drei Exemplare (n=3), wenn angegeben aus derselben Charge, untersucht. Insgesamt erfolgte eine heterogene Auswahl hinsichtlich Bezugsquelle, Herkunft und Materialeigenschaften, um ein möglichst breites Spektrum abzudecken. Die untersuchten Beruhigungssauger und deren Merkmale werden in der folgenden Tab. 4.1 aufgeführt.

**Tab. 4.1: Übersicht und Charakterisierung der untersuchten Beruhigungssauger**

ID	Hersteller	Bezugsquelle	LOT	Material und Beschreibung Schild	Material Sauger	Vermerk "BPA-frei"
1	<b>NUK</b> , Zeven, DE	Einzelhandel	0000659422	Hartkunststoff, farblos transparent	Kautschuk	ja
2	<b>NUK</b> , Zeven, DE	Einzelhandel	0000660992	Hartkunststoff, weiß opak	Silikon	ja
3	<b>Hevea</b> , Dragør, DK	Onlinehandel	19172	Kautschuk, naturbelassen	Kautschuk	ja
4	<b>MMBABY</b> , Bangalore, IN	Onlinehandel	k. A.	Hartkunststoff, gelb opak	Silikon	nein
5	<b>k. A.</b> , CN	Onlinehandel	k. A.	Hartkunststoff, grün opak	Silikon	nein
6	<b>FUNNYBABY</b> , k. A., CN	Onlinehandel	2506	Hartkunststoff, schwarz transparent	Silikon	ja
7	<b>Novatex</b> , Pattensen, DE	Einzelhandel	494812	Hartkunststoff, grün opak	Kautschuk	ja

*BPA = Bisphenol A, k. A. = keine Angabe, LOT = Chargennummer*

Auf der Grundlage der Ergebnisse vorangegangener Untersuchungen, in denen eine BPA-Migration aus Saugeranteilen aus Kautschuk und Silikon beschrieben wurde (BfR, 2009b; Global 2000, 2009b), wurden die Schild- und Saugeranteile der Beruhigungssauger getrennt voneinander untersucht (Abb. 4.1).



**Abb. 4.1: Schematische Darstellung eines Beruhigungssaugers**

*Der Saugeranteil wird aus flexiblem Kautschuk oder Silikon gefertigt. Der Schildanteil wird überwiegend aus Hartkunststoffen hergestellt, seltener auch aus Kautschuk (Lassen et al., 2011).*

*Quelle: Eigene Darstellung*

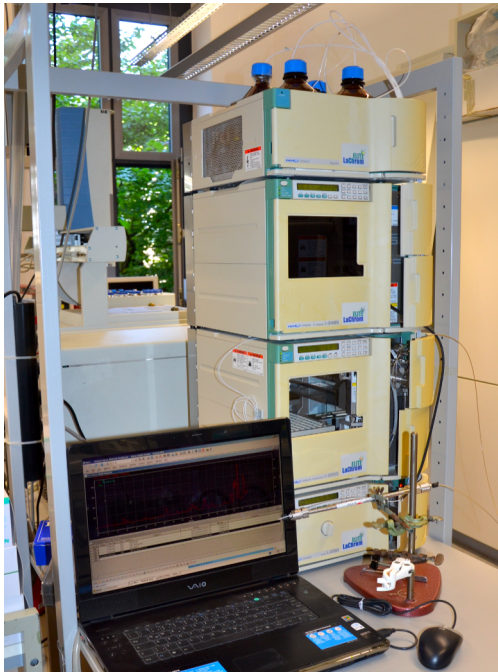
## 4.1.2 Analysegeräte und Zubehör

Der BPA-Gehalt der untersuchten Proben wurde mittels einer HPLC-Anlage mit gekoppelter FLD analysiert. Die einzelnen Komponenten der Anlage, weitere erforderliche Geräte und Zubehör werden in Tab. 4.2 unter Angabe der genauen Bezeichnungen und der Hersteller gelistet.

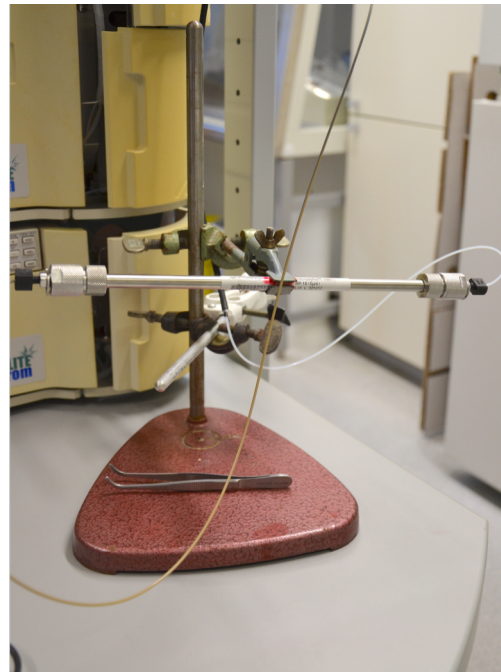
**Tab. 4.2: Übersicht über die verwendeten Geräte mit Herstellerangabe**

<b>HPLC-Anlage LaChrom Elite®</b> bestehend aus: Organizer FL-Detector L-2485 Autosampler L-2200 Pump L-2130 EZChrom Elite-Software für Windows XP	VWR Hitachi, Radnor, USA
<b>Trennsäule:</b> LiChrospher® 100 RP-18 (5 µm), LiChroCART® 250-4	Merck KGaA, Darmstadt, DE
<b>Vorsäule:</b> LiChroCART® 4-4	Merck KGaA, Darmstadt, DE
<b>Analysenwaage:</b> CP124S	Sartorius, Göttingen, DE
<b>Vortexmischer:</b> Reax I	Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Schwabach, DE
<b>Minizentrifuge:</b> Minispin®	Eppendorf AG, Hamburg, DE
<b>CO2-Inkubator:</b> Heracell 240	Kendro Laboratory Products GmbH, Hanau, DE
<b>Aufbereitungssystem zur Erzeugung          von Reinstwasser:</b> Synergy® UV-R	Merck KGaA, Darmstadt, DE

Die Abb. 4.2 und 4.3 zeigen den Aufbau der verwendeten HPLC-Anlage und die Trennsäule.



**Abb. 4.2: Hochleistungsflüssigkeitschromatografie-(HPLC)-Anlage**



**Abb. 4.3: Trennsäule mit Stativ**



### 4.1.3 Reagenzien und Verbrauchsmaterialien

Die Lagerung und Verwendung aller Reagenzien und Verbrauchsmaterialien erfolgte unter Standardlaborbedingungen. In Tab. 4.3 werden die Reagenzien und Verbrauchsmaterialien unter Angabe der genauen Bezeichnung und des Herstellers aufgelistet.

**Tab. 4.3: Reagenzien und Verbrauchsmaterialien mit Herstellerangabe**

<b>Methanol für Flüssigchromatografie:</b> LiChrosolv® CAS-Nr.: 67-56-1	Supelco®, Merck KGaA, Darmstadt, DE
<b>Bisphenol A ≥ 99 %</b> zur Herstellung der Stammlösung CAS-Nr.: 80-05-7	Sigma-Aldrich, St. Louis, USA
<b>Gewindeflaschen N 18</b> , 10 ml, Klarglas mit <b>Schraubverschluss N 18</b> Metall mit PTFE-Septum	Macherey-Nagel, Düren, DE
<b>Gewindeflaschen N 9</b> , 1,5 ml, Braunglas mit <b>Schraubverschluss N 9</b> Polypropylen mit PTFE-Septum	Macherey-Nagel, Düren, DE
<b>Rollrandflaschen N 11</b> , 1,5 ml, Klarglas	Macherey-Nagel, Düren, DE
<b>Zentrifugaleinheiten</b> Nanosep®, 0,2 µm Porengröße	Pall, Port Washington, USA

CAS = Chemical Abstracts Service, N = Nenndurchmesser, PTFE = Polytetrafluorethylen

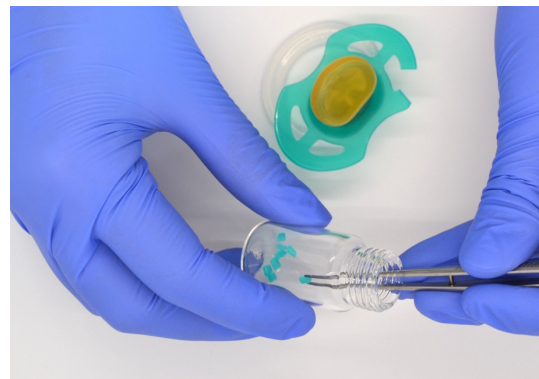
## 4.2 Methoden

### 4.2.1 Herstellung der Migrationsproben

Die Herstellung der Migrationsproben erfolgte für alle Proben der untersuchten Beruhigungssauger zur Sicherstellung der Vergleichbarkeit und Reproduzierbarkeit analog. Das Probenmaterial wurde jeweils mit 0,756 g (Standardabweichung SD:  $\pm 0,0013$  g) mit einer Analysenwaage eingewogen. Hierbei wurde explizit darauf geachtet, dass bei allen Proben der gleiche Bereich des Schildes bzw. des Saugers verwendet wurde. Die eingewogenen Segmente wurden im Anschluss in ca. 2,0 mm x 2,0 mm große Partikel zerkleinert und zur zusätzlichen Kontrolle abgezählt (Abb. 4.4).



**Abb. 4.4: Zertrennen eines Schildes**



**Abb. 4.5: Einfüllen der Partikel**

Das Zerkleinern erfolgte bei den Proben der Schildanteile aus Hartkunststoff mit einem Seitenschneider mit verchromten Schneiden. Die Saugeranteile aus Kautschuk und Silikon wurden mit einer Schere aus Edelstahl zerkleinert. Sämtliche Werkzeuge wurden vor jedem Gebrauch gereinigt, um etwaige Kontaminationen bzw. Verschleppungen zu verhindern. Anschließend wurden die Partikel mit Hilfe eines Papiertrichters bzw. einer Pinzette in 10 ml Gewindeflaschen eingefüllt (Abb. 4.5). Diese wurden nach der Zugabe von 2 ml Methanol als Lösungsmittel zur Fest-Flüssig-Extraktion fest verschlossen (Abb. 4.6) und anschließend 72 Stunden lang bei 37 °C inkubiert. Nach Abschluss der Extraktionsphase, wurde ein aliquoter Teil des Extrakts (1 ml) entnommen, in eine 1,5 ml Gewindeflasche aus Braunglas überführt und nach Fixierung der Gewindeflasche in einem Laborstativ unter einem moderaten kontinuierlichen, auf die Lösungsmitteloberfläche gerichteten Stickstoff-(N<sub>2</sub>)-Strom bei Raumtemperatur bis zur Trockene eingengt (Abb. 4.7).

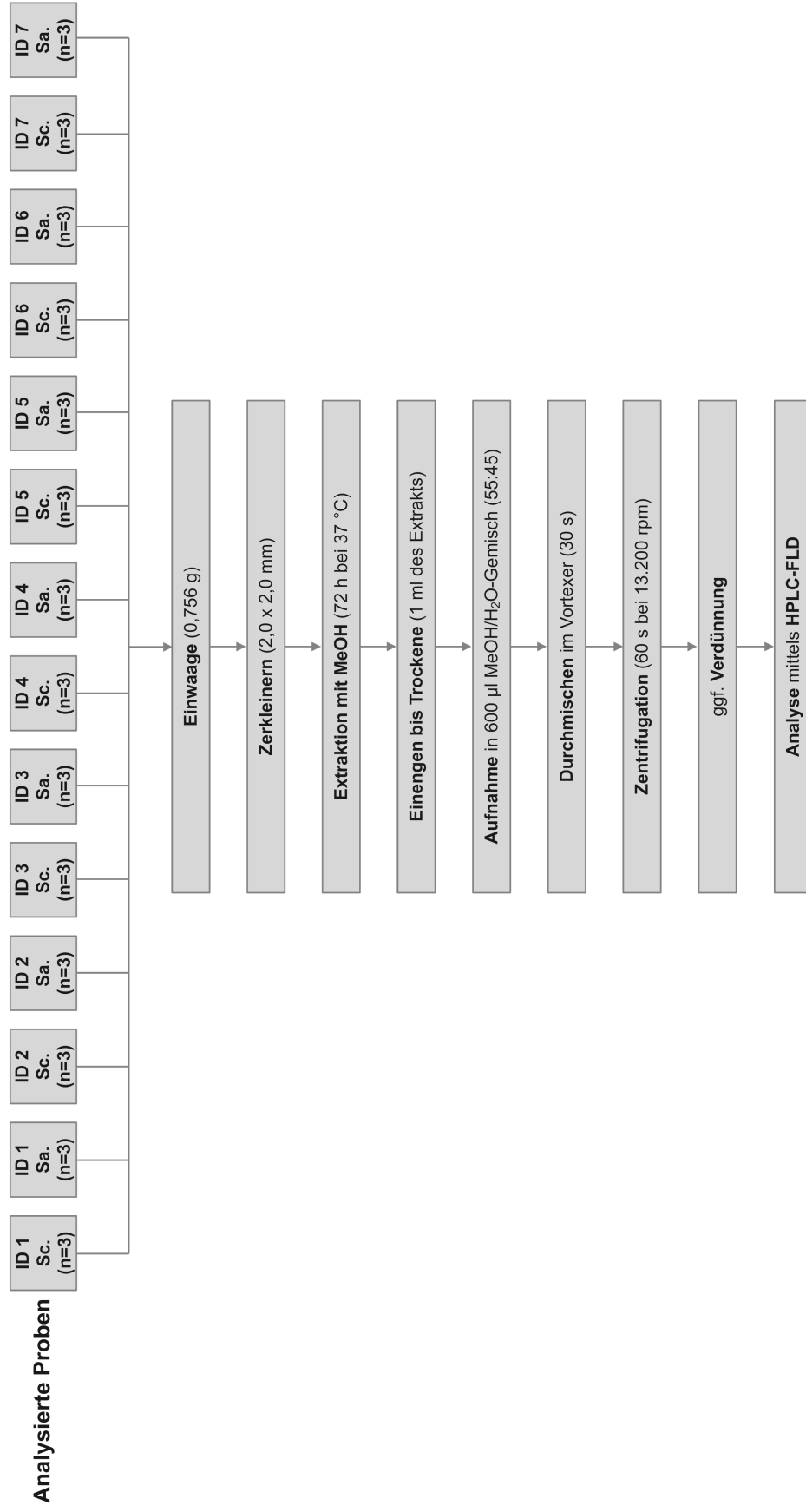


**Abb. 4.6: Probe vor der Extraktion**



**Abb. 4.7: Einengen unter Stickstoff-(N<sub>2</sub>)-Strom**

Der Rückstand wurde in 600 µl eines Gemischs aus Methanol und deionisiertem Wasser im Verhältnis 55:45 aufgenommen und mit einem Vortexer durchmischt. Zur Entfernung der Feststoffrückstände wurden die Extrakte im Anschluss durch Zentrifugenfilter mit 0,2 µm Porengröße für 60 s bei 13.200 rpm in einer Minizentrifuge filtriert und danach in 1,5 ml Gewindeflaschen aus Braunglas überführt. Um den Kalibrationsbereich nicht zu überschreiten und eine geeignete Analytkonzentration einzustellen, war in einigen Fällen eine Verdünnung mit dem Methanol-Wasser-Gemisch im Verhältnis 55:45 (Elutionsgemisch) notwendig. Der Verdünnungsfaktor wurde, wie auch das Einwaagegewicht, das Extraktionsvolumen und das ideale Lösungsmittel, in Vorversuchen ermittelt. In Abb. 4.8 werden die einzelnen Schritte der Probenvorbereitung schematisch dargestellt. Zwischen den Messungen wurden die Proben temperatur- und lichtgeschützt gelagert. Zur HPLC-Analyse wurde ein Aliquot von 100 µl über den Autosampler injiziert. Die Probenvorbereitung erfolgte unter der Verwendung von Nitrilhandschuhen, sowie BPA-freien Instrumenten und Laborutensilien, um eine externe Kontamination der Proben mit BPA zu vermeiden. Im Anhang 1 befinden sich weitere Bildaufnahmen zur Probenherstellung.



**Abb. 4-8: Schematische Darstellung der einzelnen Schritte zur Probenherstellung**

FLD = Fluoreszenzdetektor, h = Stunden, H<sub>2</sub>O = deionisiertes Wasser, HPLC = Hochleistungsflüssigkeitschromatografie, ID = Probennummer, MeOH = Methanol, Sa. = Sauger, Sc. = Schild

## 4.2.2 BPA-Analyse mit HPLC

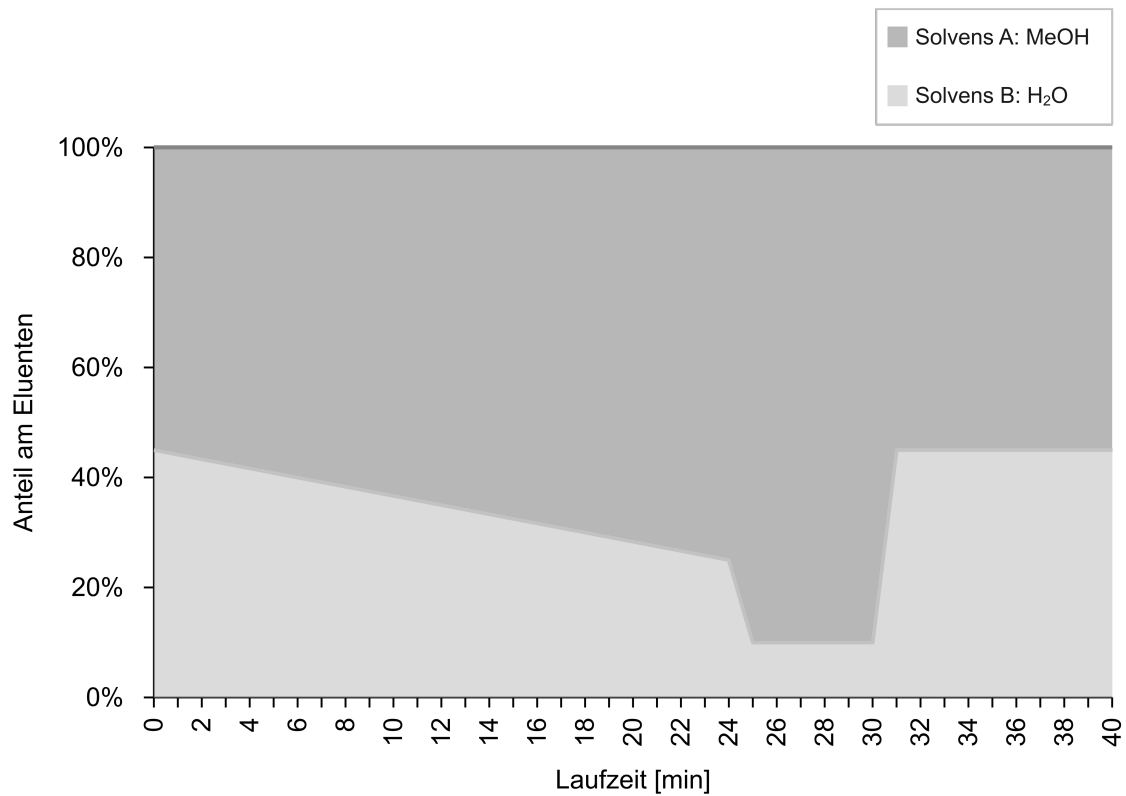
Die BPA-Analyse der Beruhigungssaugerproben erfolgte mit einer LaChrom Elite® HPLC-Anlage bestehend aus einem Pumpenmodul Typ L-2130, einem Autosampler Typ L-2200, einem Fluoreszenzdetektor Typ L-2485 und der dazugehörigen Software EZ-Chrom Elite für Windows XP zur Steuerung und Auswertung (VWR Hitachi, Radnor, USA). Die gewählten Einstellungen der einzelnen Trenn- und Detektionsparameter sind Tab. 4.4 zu entnehmen. Die Wellenlängen zur Anregung (270 nm) und Emission (333 nm) wurden einem vom Bundesinstitut für Materialforschung und -prüfung (BAM) veröffentlichten Prüfbericht entnommen (BAM, 2008).

**Tab. 4.4: Hochleistungsflüssigkeitschromatografie-(HPLC)-Parameter**

<b>Trennsäule</b>	LiChrospher® 100 RP-18 (5 µm), LiChroCART® 250-4
<b>Vorsäule</b>	LiChroCART® 4-4
<b>Mobile Phase</b>	Solvens A: MeOH Solvens B: H <sub>2</sub> O
<b>Flussrate</b>	700 µl/min
<b>Injektionsvolumen</b>	100 µl
<b>Spülflüssigkeit Sampler</b>	55 % MeOH + 45 % H <sub>2</sub> O
<b>Fluoreszenzdetektor:</b>	
<b>Anregungswellenlänge (Ex)</b>	270 nm
<b>Emissionswellenlänge (Em)</b>	333 nm

*H<sub>2</sub>O = deionisiertes Wasser, MeOH = Methanol, RP (reversed phase) = Umkehrphase*

Zur Trennung wurde eine LiChrospher® 100 RP-18 Chromatographiesäule, mit C<sub>18</sub>-modifiziertem Kieselgel-Packungsmaterial mit einer Partikelgröße von 5 µm und einer Dimension von 250 mm x 4,6 mm, sowie eine entsprechende Vorsäule verwendet (beides Merck KGaA, Darmstadt, DE). Als mobile Phase wurde ein Gemisch aus Methanol und deionisiertem Wasser (Eluent) verwendet. Die Zusammensetzung des Eluenten änderte sich entsprechend einer Gradientenelution im Verlauf der Analyse. Die Eluentenzusammensetzung in Abhängigkeit der Zeit kann Abb. 4.9 entnommen werden. Die Messungen wurden bei Raumtemperatur durchgeführt.



Laufzeit zu Beginn des Intervalls (min)	Anteil Solvens A MeOH (%)	Anteil Solvens B H <sub>2</sub> O (%)
0	55	45
24	75	25
25	90	10
30	90	10
31	55	45

**Abb. 4.9: Gradientenverlaufsprogramm der Hochleistungsflüssigkeitschromatografie-(HPLC)-Analyse**

Grafische Darstellung der Zusammensetzung des Eluenten aus den beiden Solvenzien Methanol (MeOH) und Wasser (H<sub>2</sub>O) über die Laufzeit der HPLC-Analyse [min]. Der zugehörigen deskriptiven Tabelle unterhalb des Graphen können exakte Zahlenwerte entnommen werden.

## 4.2.3 Kalibrierung

### Herstellung der Kalibrierlösungen

Zunächst wurde eine Stammlösung aus BPA als Standardreferenzmaterial (Reinheit  $\geq 99\%$ ) und Methanol mit einer Konzentration von 10 g/l in einem Messkolben angesetzt. Aus dieser Lösung wurden im Anschluss über eine Verdünnungsreihe (Tab. 4.5) fünf Kalibrierstandards über Zwischenverdünnungen hergestellt. Die Verdünnung erfolgte mit dem Eluentengemisch aus Methanol und deionisiertem Wasser (55:45). Die Konzentrationen der Kalibrierstandards wurden auf der Basis der Ergebnisse von Vorversuchen und dem daraus resultierenden Spektrum von zu erwartenden Messwerten gewählt.

Tab. 4.5: Verdünnungsreihe zur Herstellung der Kalibrierlösungen

Kalibrierlösung	Konzentration BPA [ $\mu\text{g/l}$ ]	Verdünnungsfaktor
KAL 1	100	
KAL 2	50	1:2
KAL 3	10	1:5
KAL 4	5	1:2
KAL 5	1	1:5

Konzentration von Bisphenol A (BPA) [ $\mu\text{g}$ ] gelöst im Eluentengemisch [l]

## Qualitative und quantitative Bestimmung

Die Grundlage der qualitativen und quantitativen BPA-Bestimmung der hier angewandten Methode bildete eine externe Kalibrierung, da die Proben separat zu den Standardlösungen gemessen wurden.

### Qualitativer Nachweis

Die Identifikation eines Analyten beruht auf dessen charakteristischem Retentionsverhalten. Der qualitative Nachweis erfolgte über einen chromatografischen Vergleich der Retentionszeiten von Probenmessungen und dem Referenzstandard. Die Retentionszeit für BPA betrug 14,24 min.

### Quantitativer Nachweis

Die Intensitäten der analytischen Signale der Kalibriermessungen werden durch Peakflächenintegration ermittelt. Werden die Peakflächen in Abhängigkeit der bekannten Konzentrationen der Standardlösungen aufgetragen, erhält man eine lineare Kalibrierfunktion. Nach Otto (2019) kann eine lineare Kalibrierfunktion durch eine allgemeine Geradengleichung beschrieben werden:

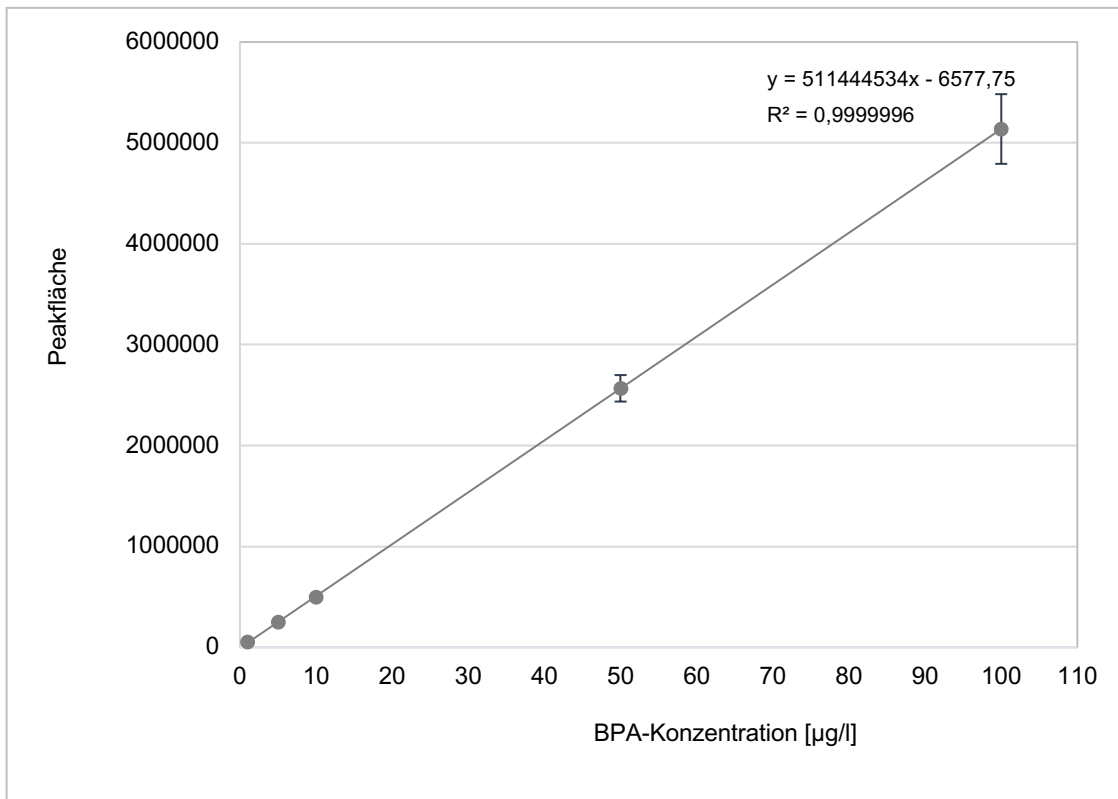
$$y = b_0 + b_1x$$

Wobei  $b_0$  für den Blindwert steht, also das Signal, das theoretisch der Konzentration 0 entspricht. Die Steigung  $b_1$  beschreibt die Empfindlichkeit und  $y$  die Signalintensität in Abhängigkeit von der Konzentration  $x$ . Durch Auflösen der Gleichung nach  $x$ , erhält man die allgemeine Analysenfunktion, über die mit Hilfe der gemessenen Signalintensität  $y_U$  eine unbekannte Konzentration  $x_U$  berechnet werden kann:

$$x_U = \frac{y_U - b_0}{b_1}$$

Mit Hilfe der zur HPLC-Anlage gehörenden Software EZChrom Elite wurden die entsprechenden Peakflächen der analytischen Signale der BPA-Kalibrierlösungen bestimmt. Abb. 4.10 zeigt die ermittelte lineare Kalibrierfunktion in Form einer Fünf-Punkt-Kalibriergeraden unter Angabe der Geradengleichung und Darstellung der Standardabweichungen von sechs Wiederholungsmessungen ( $n=6$ ).





**Abb. 4.10: Fünf-Punkt-Kalibriergerade**  
*BPA = Bisphenol A,  $R^2 = \text{Bestimmtheitsmaß}$*

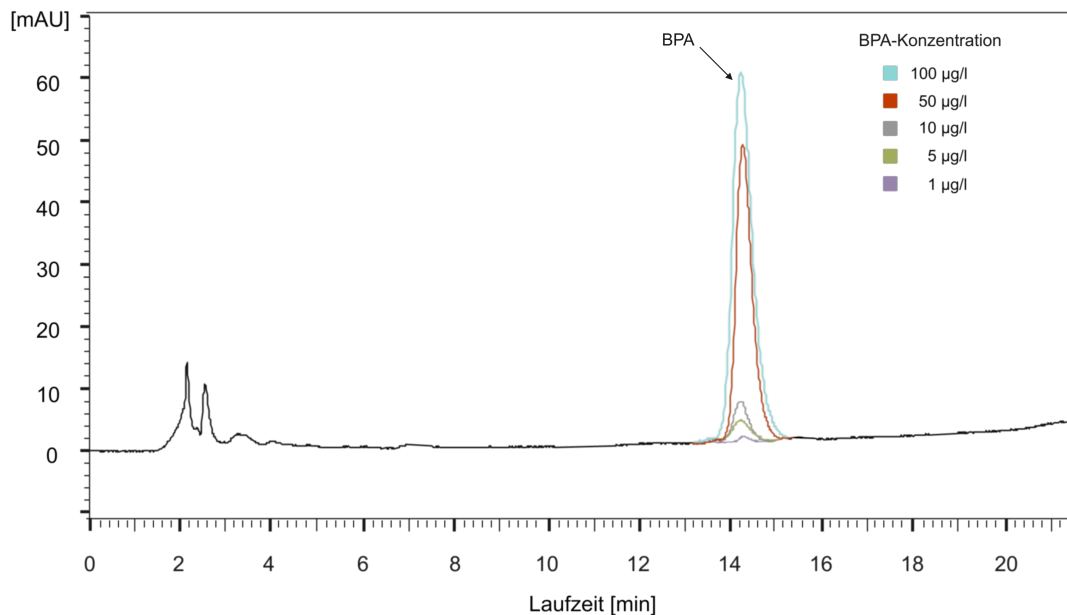
Aus der Geradengleichung der Kalibriergeraden

$$y = 511444534x - 6577,75$$

ergibt sich nach Umstellung die Analysefunktion:

$$x = \frac{y + 6577,75}{511444534}$$

Mit Hilfe der erhaltenen Analysefunktion konnten die BPA-Konzentrationen in den Migrationsproben berechnet werden. Zur Qualitätssicherung wurde bei der externen Kalibrierung ein festes Abfolgeschema eingehalten: Vor und nach jeder Probenmessung wurden die Standardlösungen und zwei Lösungsmittelblindproben gemessen, um eine mögliche Probenverschleppung auszuschließen (Cantwell, 2019). In Abb. 4.11 werden die Chromatogramme der fünf BPA-Kalibrierlösungen überlagert dargestellt.



**Abb. 4.11: Überlagerte Chromatogramme der Kalibriermessungen**

*mAU = milli-Absorption-Unit*

*Die BPA-Konzentrationen der Kalibrierlösungen können der Legende in der Abbildung oben rechts entnommen werden.*

## Methodenüberprüfung

### Nachweis- und Bestimmungsgrenze

Die Nachweisgrenze (limit of detection [LOD]) entspricht der geringsten Konzentration eines Analyten in einer Probe, die qualitativ noch erfasst werden kann. Die Bestimmungsgrenze (limit of quantification [LOQ]) entspricht der geringsten Konzentration eines Analyten in einer Probe, die quantitativ bestimmt werden kann (Wellnitz & Gluschke, 2005). Die Berechnung der LOD und LOQ erfolgte entsprechend der International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH) Q2 (R1) Richtlinie zur Methodvalidierung aus dem Jahr 1995 basierend auf der Kalibrierungskurve.

Allgemein gilt:

$$\text{LOD} = \frac{3,3 \cdot \sigma}{S} \quad \text{und} \quad \text{LOQ} = \frac{10 \cdot \sigma}{S}$$

Wobei  $\sigma$  der Standardabweichung der y-Abschnitte der Regressionsgeraden und  $S$  der Geradensteigung entspricht (EMA, 2006). Die Berechnung ergab eine LOD von 0,218  $\mu\text{g/l}$  und eine LOQ von 0,662  $\mu\text{g/l}$ .

### Linearität

Die Kalibriergerade zeigt einen linearen Zusammenhang zwischen den ermittelten Messsignalen und den Analytkonzentrationen im untersuchten Bereich bis zu einer BPA-Konzentration von 100 µg/l. Als Maß für die Linearität dient der dimensionslose Korrelationskoeffizient  $r$ , der meist in quadrierter Form als Bestimmtheitsmaß  $R^2$  angegeben wird. Für diese Messreihe lag  $R^2$  annähernd bei 1 ( $R^2 = 0,9999996$ , Abb. 4.10), was einem nahezu idealen linearen Zusammenhang entspricht. Die Linearität dient der Bestätigung der Sensitivität einer Methode.

### Präzision

Ein Maß für die Präzision einer Methode ist der Zufallsfehler. Dieser wurde durch Wiederholungsmessungen unabhängiger Proben ( $n=6$ ), Berechnung der mittleren Messwerte und Berechnung der Standardabweichung  $SD_y$  der Mittelwerte erhoben. Die prozentuale relative Standardabweichung  $SD_r$  (%) als Maß für die Wiederholpräzision der Methode betrug bei sechs Wiederholungsmessungen ( $n=6$ ) 2,41%.

### Richtigkeit

Die Richtigkeit entspricht der Abweichung des Messwertes vom richtigen Wert aufgrund eines systematischen Fehlers. Über die Wiederfindungsrate (WFR) ist eine Bestimmung der Richtigkeit durch Standardaddition bzw. Aufdotierung („Spiken“) möglich (Wellnitz & Gluschke, 2005). Der Analyt wurde hierzu in bekannter Konzentration zu sechs Analyseproben hinzugegeben und gemessen. Nach Bestimmung der Analytkonzentrationen der dotierten und undotierten Proben wurde jeweils die Differenz gebildet. Die Differenz im Verhältnis zur aufdotierten Konzentration ergab eine mittlere WFR von 92,3%.

#### 4.2.4 Berechnung der Massenanteile

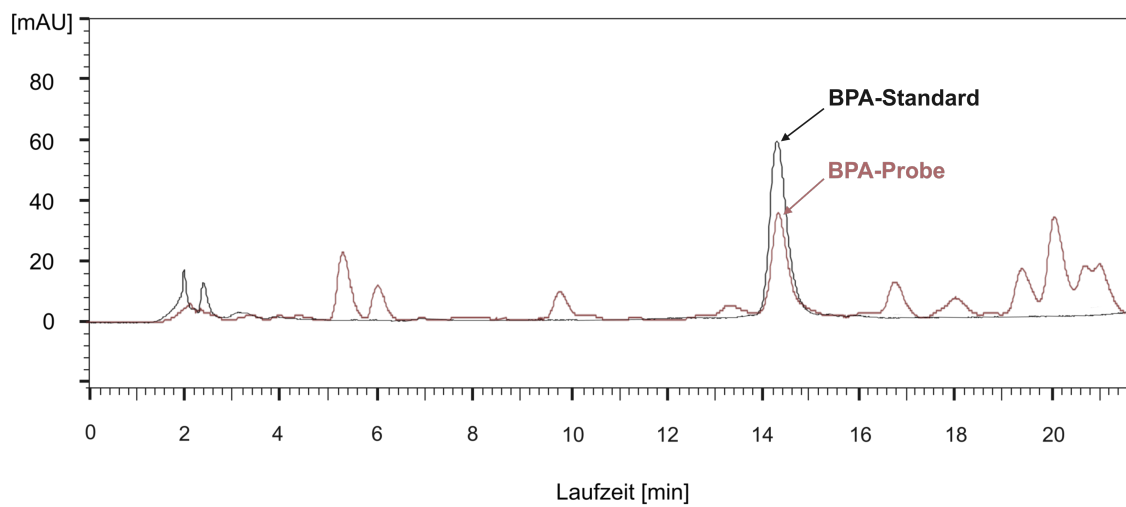
Zur Verbesserung der Vergleichbarkeit mit den Literaturdaten wurden die Ergebnisse zusätzlich als Massenanteil der BPA-Masse ( $m_{BPA}$ ) am Probenmaterial (PM) angegeben. Sie wurden mit folgender Formel berechnet:

$$m_{BPA} / \text{g PM} = \frac{m_{BPAan} \cdot v_{ex} \cdot v_{au}}{v_i \cdot m_p \cdot v_{ab} \cdot DF} \quad [\mu\text{g/g}]$$

Wobei  $m_{BPAan}$  der analysierten BPA-Masse [ $\mu\text{g}$ ],  $v_{ex}$  dem Extraktionsvolumen [ $\mu\text{l}$ ],  $v_{au}$  dem Aufnahmevolumen [ $\mu\text{l}$ ],  $v_i$  dem Injektionsvolumen [ $\mu\text{l}$ ],  $m_p$  der eingewogenen Probenmasse [g],  $v_{ab}$  dem Abblasevolumen [ $\mu\text{l}$ ] und  $DF$  dem dimensionslosen Verdünnungsfaktor entspricht.

## 5 Ergebnisse

Die BPA-Massenkonzentrationen in den Migrationsproben der Beruhigungssauger wurden durch Integration der Peakflächen zur ermittelten Retentionszeit von BPA (14,24 min) bestimmt. Die Retentionszeit wurde auf Grundlage der zuvor durchgeführten BPA-Kalibrierung berechnet. Abb. 5.1 zeigt eine grafische Überlagerung der Chromatogramme einer repräsentativen Analyseprobenmessung und einer BPA-Standardmessung. Weitere Chromatogramme von Analyseprobenmessungen sind im Anhang 2 zu finden.



**Abb. 5.1: Grafische Überlagerung der Chromatogramme einer Analyseprobenmessung (rot) und des 100 µg/l-BPA-Standards (schwarz)**

*mAU = milli-Absorption-Unit*

## 5.1 Analyse der Schildanteile

In Tab 5.1 werden die BPA-Massenkonzentrationen der Beruhigungssauger-Migrationsproben der Schildaliquote unter Angabe der Mittelwerte, der absoluten Standardabweichungen und der Minimal- und Maximalwerte deskriptiv dargestellt. Die Massenkonzentration entspricht dem Verhältnis der migrierten BPA-Masse zum Volumen des Lösungsmittels Methanol und wird in  $\mu\text{g/l}$  angegeben.

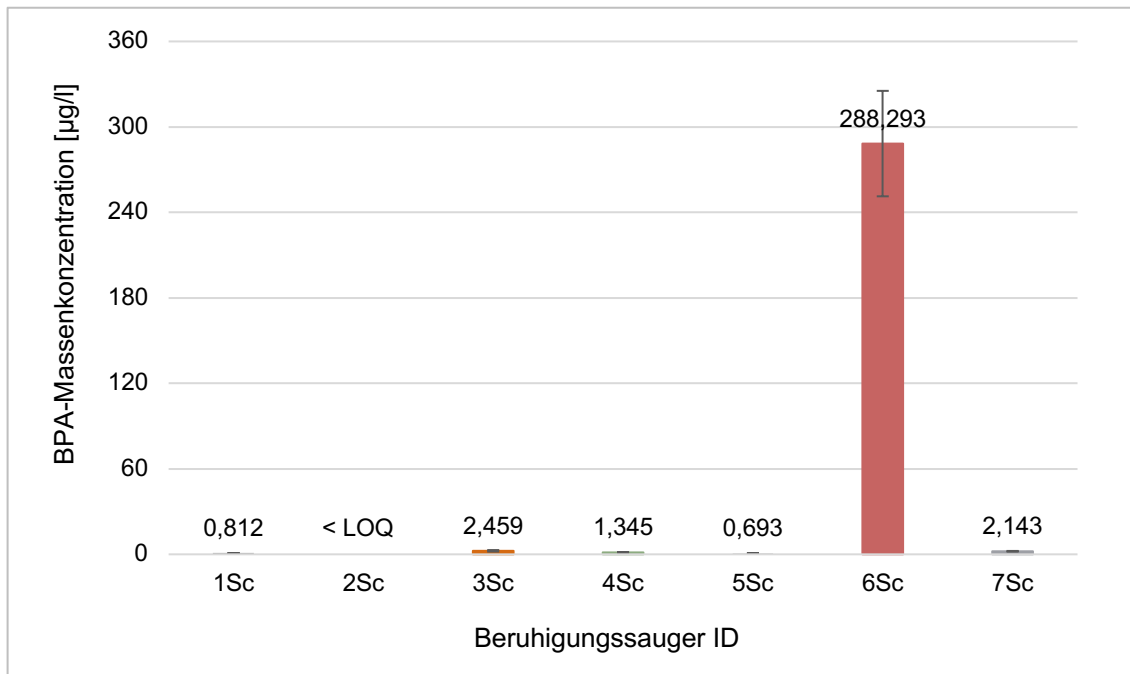
Die mit Abstand höchste BPA-Massenkonzentration wurde mit 288,293  $\mu\text{g/l}$  für die Schildprobe ID 6<sub>Sc</sub> des Herstellers FUNNYBABY aus China ermittelt. Die ermittelten BPA-Konzentrationen der Schildproben der anderen Beruhigungssauger lagen bei 0,693  $\mu\text{g/l}$ –2,459  $\mu\text{g/l}$ . Für die Probe ID 2<sub>Sc</sub> war eine Quantifizierung nicht möglich, da der Messwert unterhalb der LOQ lag.

**Tab. 5.1: Bisphenol A-(BPA)-Massenkonzentrationen der Schildaliquote**

Identifikationsnummer (Hersteller, Land)	n	mean [ $\mu\text{g/l}$ ]	sd [ $\mu\text{g/l}$ ]	min [ $\mu\text{g/l}$ ]	max [ $\mu\text{g/l}$ ]
ID 1 <sub>Sc</sub> (NUK, DE)	3	0,812	0,084	0,729	0,896
ID 2 <sub>Sc</sub> (NUK, DE)	3	< LOQ	-	-	-
ID 3 <sub>Sc</sub> (Hevea, DK)	3	2,459	0,533	1,848	2,830
ID 4 <sub>Sc</sub> (MMBABY, IN)	3	1,345	0,175	1,235	1,546
ID 5 <sub>Sc</sub> (k.A., CN)	3	0,693	0,111	0,608	0,819
ID 6 <sub>Sc</sub> (FUNNYBABY, CN)	3	288,293	37,012	264,200	330,910
ID 7 <sub>Sc</sub> (Novatex, DE)	3	2,143	0,240	1,870	2,320

*BPA-Massenkonzentration = Verhältnis der migrierten BPA-Masse zum Volumen des Lösungsmittels Methanol [ $\mu\text{g/l}$ ], ID = Probennummer, LOQ = Bestimmungsgrenze, max = Maximalwert, mean = arithmetisches Mittel, min = Minimalwert, n = Anzahl der Messproben, Sc = Schild, sd = Standardabweichung*

Die Abweichung der gemessenen BPA-Konzentration für die Probe ID 6<sub>Sc</sub> (FUNNY-BABY, China) im Vergleich zu den restlichen Proben wird in der grafischen Darstellung (Abb. 5.2) noch einmal deutlich.



**Abb. 5.2: Bisphenol A-(BPA)-Massenkonzentrationen der Schildaliquote**

*x-Achse: Identifikationsnummer (ID) der Beruhigungssauger*

*y-Achse: BPA-Massenkonzentration [µg/l]*

*Die Säulen mit dem Fehlerbalken entsprechen dem Mittelwert ± Standardabweichung von n=3 Proben.*

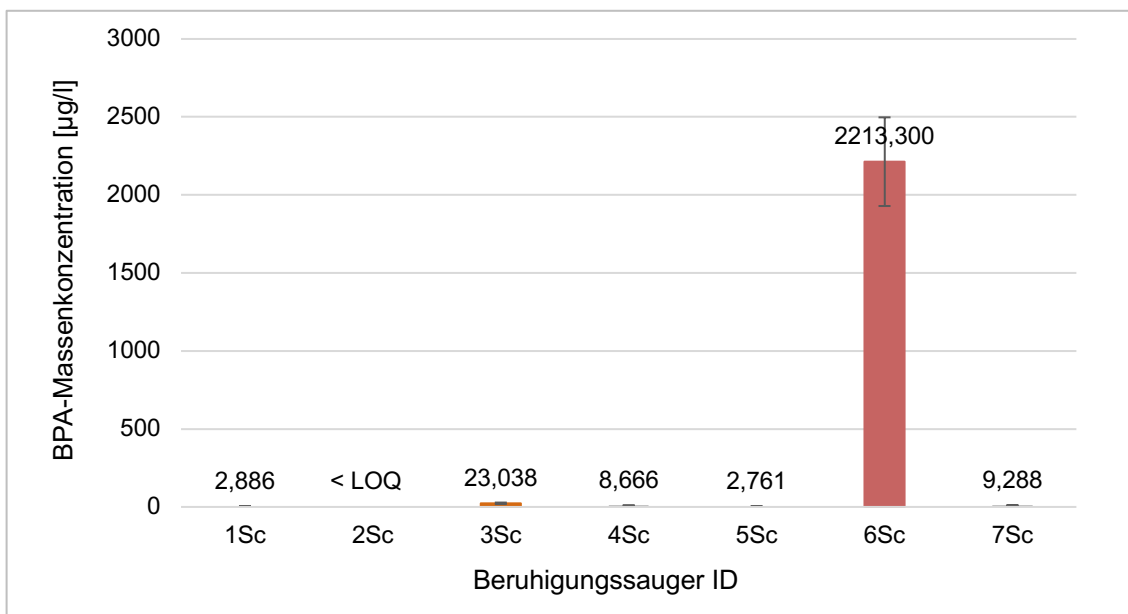
*ID = Probennummer, LOQ = Bestimmungsgrenze, Sc = Schild*

Zur Verbesserung der Vergleichbarkeit und als Vorbereitung für eine Bewertung des toxikologischen Risikos (engl. Toxicological Risk Assessment) der Worst-Case-Analyse wurden im Anschluss die ermittelten BPA-Konzentrationen auf die Gesamtgewichte der Schildanteile der untersuchten Beruhigungssauger hochgerechnet. Die errechneten Gesamtkonzentrationen sind der Tab. 5.2 zu entnehmen und werden in Abb. 5.3 grafisch dargestellt. Erwartungsgemäß zeigte die Migrationsprobe ID 6<sub>Sc</sub> (FUNNYBABY, China) erneut den höchsten Wert. Mit einer errechneten Konzentration von 2213,3 µg/l entspricht dieser annähernd dem 1000-Fachen der geringsten errechneten BPA-Konzentration der Probe ID 5<sub>Sc</sub> (k. A., China) mit 2,761 µg/l in der Messreihe der Schilde.

**Tab. 5.2: Berechnete Bisphenol A-(BPA)-Massenkonzentrationen der gesamten Schilde**

Identifikationsnummer (Hersteller, Land)	Mittelwert der Massen- konzentration n=3 [µg/l]	Gewichtsfaktor zur Umrechnung	errechnete BPA- Konzentration Schild gesamt [µg/l]	sd [µg/l]
ID 1 <sub>Sc</sub> (NUK, DE)	0,812	2,687	2,886	0,297
ID 2 <sub>Sc</sub> (NUK, DE)	< LOQ	-	-	-
ID 3 <sub>Sc</sub> (Hevea, DK)	2,459	7,082	23,038	4,997
ID 4 <sub>Sc</sub> (MMBABY, IN)	1,345	4,872	8,666	1,125
ID 5 <sub>Sc</sub> (k.A., CN)	0,693	3,012	2,761	0,443
ID 6 <sub>Sc</sub> (FUNNYBABY, CN)	288,293	5,804	2213,300	284,151
ID 7 <sub>Sc</sub> (Novatex, DE)	2,143	3,276	9,288	1,040

*BPA-Massenkonzentration = Verhältnis der migrierten BPA-Masse zum Volumen des Lösungsmittels Methanol [µg/l]; Der Gewichtsfaktor zur Umrechnung wurde aus der Relation der Einwaage zum Gesamtgewicht des Schildes berechnet.  
ID = Probennummer, LOQ = Bestimmungsgrenze, sd = Standardabweichung*



**Abb. 5.3: Berechnete Bisphenol A-(BPA)-Massenkonzentrationen der gesamten Schilde**

*x-Achse: Identifikationsnummer (ID) der Beruhigungssauger*

*y-Achse: BPA-Massenkonzentration [µg/l]*

*Die Säulen mit dem Fehlerbalken entsprechen dem Mittelwert ± Standardabweichung von n=3 Proben.*

*ID = Probennummer, LOQ = Bestimmungsgrenze, Sc = Schild*



Entsprechend dem in Kapitel 4.2.4 beschriebenen Berechnungsschema wurden die Ergebnisse zur Verbesserung der Vergleichbarkeit mit den Literaturdaten zusätzlich als Massenanteil der BPA-Menge am Probenmaterial der Schilde berechnet (Tab. 5.3).

**Tab. 5.3: Berechnete Bisphenol A-(BPA)-Massenanteile der Schildaliquote**

Identifikationsnummer (Hersteller, Land)	n	mean [ $\mu\text{g/g}$ ]	sd [ $\mu\text{g/g}$ ]	min [ $\mu\text{g/g}$ ]	max [ $\mu\text{g/g}$ ]
ID 1 <sub>Sc</sub> (NUK, DE)	3	0,013	0,001	0,012	0,014
ID 2 <sub>Sc</sub> (NUK, DE)	3	0,010	0,002	0,008	0,013
ID 3 <sub>Sc</sub> (Hevea, DK)	3	0,043	0,003	0,039	0,045
ID 4 <sub>Sc</sub> (MMBABY, IN)	3	0,020	0,003	0,02	0,025
ID 5 <sub>Sc</sub> (k.A., CN)	3	0,010	0,002	0,01	0,013
ID 6 <sub>Sc</sub> (FUNNYBABY, CN)	3	4,288	0,586	4,183	5,246
ID 7 <sub>Sc</sub> (Novatex, DE)	3	0,036	0,004	0,03	0,037

*BPA-Massenanteil = migrierte BPA-Masse pro Gramm Probenmaterial [ $\mu\text{g/g}$ ]*

*BPA-Masse Schild gesamt = in Bezug auf das Gesamtgewicht errechneter BPA-Gehalt des Schildes*

*ID = Probennummer, sd = Standardabweichung, max = Maximalwert, min = Minimalwert*

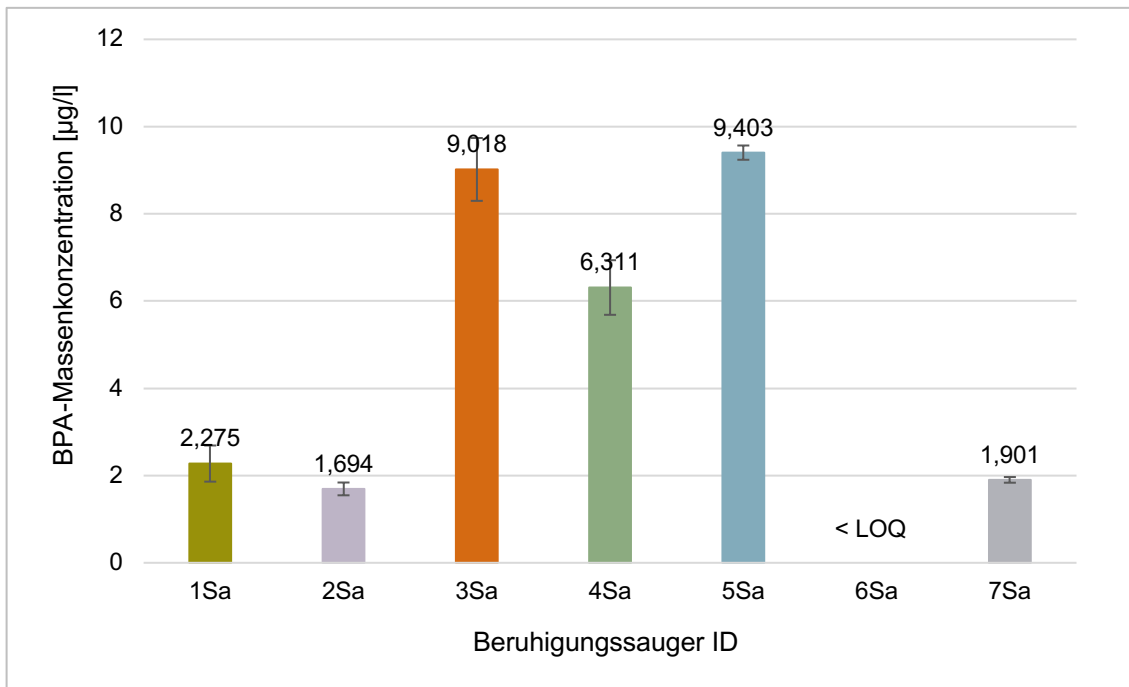
## 5.2 Analyse der Saugeranteile

Analog zu den Schildanteilen werden in Tab. 5.4 die BPA-Massenkonzentrationen der Migrationsproben der Saugeraliquote unter Angabe der Mittelwerte, der absoluten Standardabweichungen und der Minimal- und Maximalwerte, deskriptiv dargestellt und in Abb. 5.4 visualisiert.

**Tab. 5.4: Bisphenol A-(BPA)-Massenkonzentrationen der Saugeraliquote**

Identifikationsnummer (Hersteller, Land)	n	mean [ $\mu\text{g/l}$ ]	sd [ $\mu\text{g/l}$ ]	min [ $\mu\text{g/l}$ ]	max [ $\mu\text{g/l}$ ]
ID 1 <sub>Sa</sub> (NUK, DE)	3	2,275	0,414	1,994	2,751
ID 2 <sub>Sa</sub> (NUK, DE)	3	1,694	0,147	1,531	1,815
ID 3 <sub>Sa</sub> (Hevea, DK)	3	9,018	0,720	8,361	9,788
ID 4 <sub>Sa</sub> (MMBABY, IN)	3	6,311	0,626	5,891	7,030
ID 5 <sub>Sa</sub> (k.A., CN)	3	9,403	0,164	9,227	9,551
ID 6 <sub>Sa</sub> (FUNNYBABY, CN)	3	< LOQ	-	-	-
ID 7 <sub>Sa</sub> (Novatex, DE)	3	1,901	0,065	1,832	1,961

*BPA-Massenkonzentration = Verhältnis der migrierten BPA-Masse zum Volumen des Lösungsmittels Methanol [ $\mu\text{g/l}$ ], ID = Probennummer, LOQ = Bestimmungsgrenze, max = Maximalwert, mean = arithmetisches Mittel, min = Minimalwert, n = Anzahl der Messproben, Sa = Sauger, sd = Standardabweichung*



**Abb. 5.4: Bisphenol A-(BPA)-Massenkonzentrationen der Saugeraliquote**

*x-Achse: Identifikationsnummer (ID) der Beruhigungssauger*

*y-Achse: BPA-Massenkonzentration [µg/l]*

*Die Säulen mit dem Fehlerbalken entsprechen dem Mittelwert ± Standardabweichung von n=3 Proben.*

*ID = Probennummer, LOQ = Bestimmungsgrenze, Sa = Sauger*

Die ermittelten Massenkonzentrationen für die Proben der Saugeranteile lagen im Mittelwert zwischen 1,694 µg/l (ID 2<sub>Sa</sub>) und 9,403 µg/l (ID 5<sub>Sa</sub>). Die gemessene Konzentration für die Probe des Saugeranteils ID 6<sub>Sa</sub> lag unterhalb der LOQ, weshalb eine Quantifizierung nicht möglich war. Dabei handelt es sich um den gleichen Beruhigungssauger (ID 6), für den die mit Abstand höchste Konzentration im Schildanteil erhoben wurde. Bis auf eine Ausnahme (ID 6<sub>Sc</sub>) wurden für die Proben der Saugeranteile höhere BPA-Konzentrationen ermittelt als für die Proben der Schildanteile.

Die ermittelten BPA-Konzentrationen wurden analog zum Vorgehen bei den Schildanteilen auf die Gesamtgewichte der einzelnen Saugeranteile hochgerechnet. Die errechneten Gesamtkonzentrationen sind Tab. 5.5 zu entnehmen und wurden in Abb. 5.5 grafisch dargestellt. Die Werte lagen im Mittel zwischen 2,714 µg/l (ID 2<sub>Sa</sub>) und 18,31 µg/l (ID 3<sub>Sa</sub>). Der Wert für den Sauger ID 3<sub>Sa</sub> ist auf ein höheres spezifisches Eigengewicht zurückzuführen.

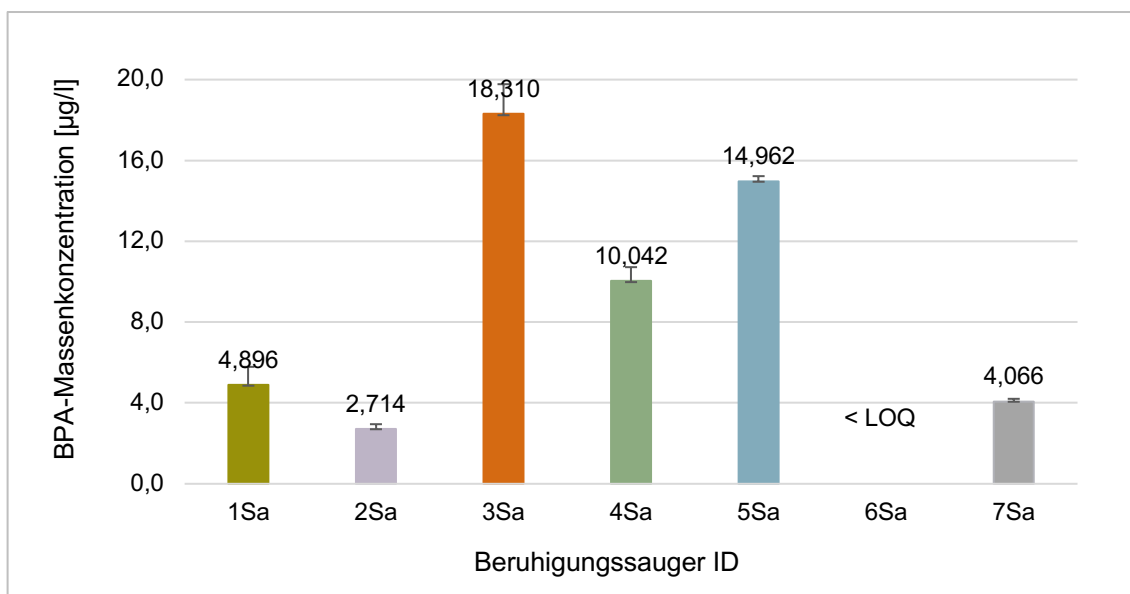
**Tab. 5.5: Berechnete Bisphenol A-(BPA)-Massenkonzentrationen der gesamten Sauger**

Identifikationsnummer (Hersteller, Land)	Mittelwert der Massen- konzentration n=3 [µg/l]	Gewichtsfaktor zur Umrechnung	errechnete BPA- Konzentration Sauger gesamt [µg/l]	sd [µg/l]
ID 1 <sub>Sa</sub> (NUK, DE)	2,275	2,152	4,896	0,414
ID 2 <sub>Sa</sub> (NUK, DE)	1,694	1,602	2,714	0,147
ID 3 <sub>Sa</sub> (Hevea, DK)	9,018	2,030	18,310	0,720
ID 4 <sub>Sa</sub> (MMBABY, IN)	6,311	4,622	10,042	0,626
ID 5 <sub>Sa</sub> (k.A., CN)	9,403	1,591	14,962	0,164
ID 6 <sub>Sa</sub> (FUNNYBABY, CN)	< LOQ	-	-	-
ID 7 <sub>Sa</sub> (Novatex, DE)	1,901	2,139	4,066	0,065

*BPA-Massenkonzentration = Verhältnis der migrierten BPA-Masse zum Volumen des Lösungsmittels Methanol [µg/l]*

*Der Gewichtsfaktor zur Umrechnung wurde aus der Relation der Einwaage zum Gesamtgewicht des Saugers berechnet.*

*ID = Probennummer, LOQ = Bestimmungsgrenze, sd = Standardabweichung*



**Abb. 5.5: Berechnete Bisphenol A-(BPA)-Massenkonzentrationen der gesamten Sauger**

*x-Achse: Identifikationsnummer (ID) der Beruhigungssauger*

*y-Achse: BPA-Massenkonzentration [µg/l]*

*Die Säulen mit dem Fehlerbalken entsprechen dem Mittelwert ± Standardabweichung von n=3 Proben.*

*ID = Probennummer, LOQ = Bestimmungsgrenze, Sa = Sauger*

Auch für die Saugeranteile wurde zusätzlich der Massenanteil der BPA-Menge am Probenmaterial entsprechend dem in Kapitel 4.2.4 beschriebenen Berechnungsschema zur Verbesserung der Vergleichbarkeit mit den Literaturdaten berechnet (Tab. 5.6).

**Tab. 5.6: Berechnete Bisphenol A-(BPA)-Massenanteile der Saugeraliquote**

Identifikationsnummer (Hersteller, Land)	n	mean [ $\mu\text{g/g}$ ]	sd [ $\mu\text{g/g}$ ]	min [ $\mu\text{g/g}$ ]	max [ $\mu\text{g/g}$ ]
ID 1 <sub>Sa</sub> (NUK, DE)	3	0,036	0,007	0,028	0,044
ID 2 <sub>Sa</sub> (NUK, DE)	3	0,027	0,002	0,024	0,029
ID 3 <sub>Sa</sub> (Hevea, DK)	3	0,143	0,011	0,132	0,155
ID 4 <sub>Sa</sub> (MMBABY, IN)	3	0,100	0,010	0,094	0,112
ID 5 <sub>Sa</sub> (k.A., CN)	3	0,149	0,003	0,146	0,151
ID 6 <sub>Sa</sub> (FUNNYBABY, CN)	3	0,010	0,002	0,008	0,012
ID 7 <sub>Sa</sub> (Novatex, DE)	3	0,030	0,001	0,029	0,035

*BPA-Massenanteil = migrierte BPA-Masse pro Gramm Probenmaterial [ $\mu\text{g/g}$ ]*

*BPA-Masse Sauger gesamt = in Bezug auf das Gesamtgewicht errechneter BPA-Gehalt des Saugers*

*ID = Probennummer, sd = Standardabweichung, max = Maximalwert, min = Minimalwert*

## 5.3 Beruhigungssauger in toto

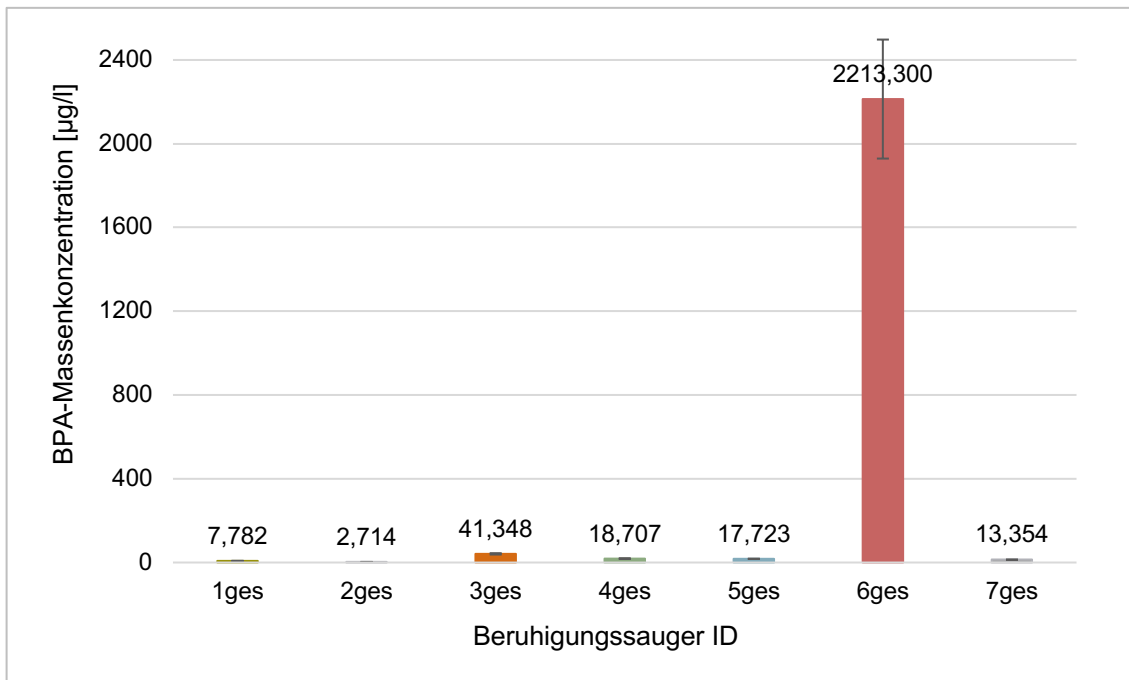
Abschließend wurden die BPA-Gehalte der Schilde und Sauger addiert, um eine Analyse des potenziellen toxikologischen Gesamtrisikos vornehmen zu können. Die errechneten BPA-Gehalte der Beruhigungssauger in toto können Tab. 5.7 entnommen werden. Die Werte lagen zwischen 2,714 µg/l (ID 2<sub>ges</sub>) und 2213,3 µg/l (ID 6<sub>ges</sub>). Aufgrund der bedeutend höheren BPA-Massenkonzentration des Schildanteils wurde der maximale Wert für den gesamten Beruhigungssauger ID 6 ermittelt, trotz der geringen BPA-Massenkonzentration des Saugeranteils unterhalb der LOQ.

**Tab. 5.7: Berechnete Bisphenol A-(BPA)-Massenkonzentrationen der gesamten Beruhigungssauger**

Identifikationsnummer (Hersteller, Land)	errechnete BPA- Konzentration ges. Beruhigungssauger [µg/l]	sd [µg/l]
ID 1 <sub>ges</sub> (NUK, DE)	7,782	0,594
ID 2 <sub>ges</sub> (NUK, DE)	2,714	0,235
ID 3 <sub>ges</sub> (Hevea, DK)	41,348	3,230
ID 4 <sub>ges</sub> (MMBABY, IN)	18,707	0,901
ID 5 <sub>ges</sub> (k.A., CN)	17,723	0,352
ID 6 <sub>ges</sub> (FUNNYBABY, CN)	2213,300	284,151
ID 7 <sub>ges</sub> (Novatex, DE)	13,354	0,590

*BPA-Massenkonzentration = Verhältnis der migrierten BPA-Masse zum Volumen des Lösungsmittels Methanol [µg/l]*

*ID = Probennummer, sd = Standardabweichung*



**Abb. 5.6: Berechnete Bisphenol A-(BPA)-Massenkonzentrationen der gesamten Beruhigungssauger**

*x-Achse: Identifikationsnummer (ID) der Beruhigungssauger*

*y-Achse: BPA-Massenkonzentration [µg/l]*

*Die Säulen mit dem Fehlerbalken entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung von  $n=3$  Proben.*

*ID = Probennummer*

Aus der Summe der Massenanteile der Schild- und Saugeranteile wurde abschließend die jeweilige BPA-Masse der gesamten Beruhigungssauger bestimmt (Tab. 5.8). Diese Daten stellten die Grundlage einer abschließenden Risk-Assessment-Analyse unter Worst-Case-Bedingungen dar.

**Tab. 5.8: Berechnete Bisphenol A-(BPA)-Masse der gesamten Beruhigungssauger**

Identifikationsnummer (Hersteller, Land)	errechnete BPA-Masse gesamter Beruhigungssauger [µg]	sd [µg]
ID 1 <sub>ges</sub> (NUK, DE)	0,090	0,007
ID 2 <sub>ges</sub> (NUK, DE)	0,057	0,004
ID 3 <sub>ges</sub> (Hevea, DK)	0,517	0,039
ID 4 <sub>ges</sub> (MMBABY, IN)	0,452	0,024
ID 5 <sub>ges</sub> (k.A., CN)	0,214	0,005
ID 6 <sub>ges</sub> (FUNNYBABY, CN)	26,550	1,701
ID 7 <sub>ges</sub> (Novatex, DE)	0,162	0,008

*BPA-Masse = migrierte BPA-Masse [µg] für die gesamten Beruhigungssauger entspricht der Summe der Massenanteile der Schild- und Saugeranteile, welche vorab in Bezug auf die Gesamtgewichte berechnet wurden  
ID = Probennummer, sd = Standardabweichung*



## 5.4 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die HPLC-FLD Analyse der 42 Migrationsproben aus Schild- und Saugeranteilen der sieben untersuchten Beruhigungssauger erlaubte einen qualitativen Nachweis von BPA in sämtlichen Proben. Ein quantitativer BPA-Nachweis war nicht in allen Fällen möglich, da die ermittelten BPA-Massenkonzentrationen für die Proben eines Schildes (ID 2<sub>Sc</sub>) und die Proben eines Saugers (ID 6<sub>sa</sub>) unterhalb der ermittelten LOQ von 0,662 µg/l lagen. Die Probenherstellung und -analyse erfolgten für die Schild- und Saugeranteile der Beruhigungssauger separat, um eine potenzielle Diffusion von BPA aus dem Hartkunststoffschild in den Sauger beurteilen zu können. Für die Migrationsprobe ID 6<sub>Sc</sub> eines Hartkunststoff-Schildanteils (FUNNYBABY aus China) wurde mit 288,293 µg/l eine um mehrere Größenordnungen höhere Massenkonzentration als für die restlichen Proben der Schild- und Saugeranteile ermittelt, für die Konzentrationen zwischen 0,693 µg/l und 9,403 µg/l gemessen wurden. Abgesehen von einer Ausnahme (ID 6<sub>Sc</sub>) ergab die Analyseauswertung moderat höhere BPA-Konzentrationen in den Proben der elastischen Saugeranteile aus Kautschuk und Silikon (1,694–9,403 µg/l) im Vergleich zu den Hartkunststoffproben der Schildanteile (0,693–2,459 µg/l).

## 6 Diskussion

Das Ziel der vorliegenden Studie war es, eine potenzielle BPA-Migration aus gängigen Beruhigungssaugern qualitativ nachzuweisen und zu quantifizieren. Auf der Grundlage der erhobenen Daten wurde anschließend eine Risk-Assessment-Analyse zur Bewertung des Gesundheitsrisikos für Säuglinge und Kleinkinder durchgeführt.

### 6.1 Nachweis von BPA in Beruhigungssaugerproben

Die der analytischen Messung vorausgegangene Probenvorbereitung erfolgte nach etablierten und standardisierten Labormethoden. Aufgrund der Tatsache, dass im Anschluss an die analytische Untersuchung eine Risikobewertung im Sinne eines Risk-Assessments unter Worst-Case-Bedingungen vorgenommen werden sollte, wurden bei der Probenvorbereitung an mehreren Stellen weitaus strengere Bedingungen als die realen Anwendungsbedingungen geschaffen. Wie in der Analytik verbreitet, wurde für den Aufschluss durch eine HPLC-Analyse die zu untersuchende Feststoffmatrix zunächst zerkleinert. Dabei wurde mit Hilfe einer Analysenwaage für alle Proben die gleiche repräsentative Menge abgewogen. Da die in Analyselaboren angewandte Methode des kryogenen Mahlens (Junghare et al., 2020), die insbesondere zur Zerkleinerung der flexiblen und temperaturempfindlichen Kautschuk- und Silikonproben erforderlich gewesen wäre, nicht verfügbar war, erfolgte eine manuelle Zerkleinerung mittels Schneidwerkzeugen. Zwar hatte dieses Vorgehen einerseits einen erheblich höheren Zeit- und Arbeitsaufwand zur Folge, erwies sich aber andererseits auch als insofern vorteilhaft, als dass die Größe und Form der Probenpartikel weitgehend einheitlich waren. Die verwendete Partikelgröße (2,0 mm x 2,0 mm) wurde in Anlehnung an eine frühere Untersuchung zu BPA-Gehalten in Beruhigungssaugern gewählt (Richter & Simat, 2010). Da die Freisetzung des Analyten BPA aus Feststoffen untersucht werden sollte, musste der Analyt zunächst mittels eines Extraktionsverfahrens in Lösung gebracht werden (Schwedt, 1995). Auf Grundlage der Ergebnisse vorangegangener analytischer Untersuchungen von Kunststoffmaterialien unter Worst-Case-Bedingungen, wurde Methanol als Lösungsmittel gewählt (Polydorou et al., 2012; Tichy et al., 2021; Wedekind et al., 2021). Im Gegensatz zu anderen Solvenzien, wie beispielsweise Aceton, löst Methanol die Kunststoffmatrix nicht an (Fewtrell et al., 2017; Hirasawa et al., 1984). Darüber hinaus gilt Methanol als adäquates Lösungsmittel für BPA (Gatidou et al., 2007). Durch die hydrophoben Eigenschaften von Polymerkunststoffen kommt es bei der Extraktion mit organischen Lösungsmitteln wie Methanol zu einer vermehrten Freisetzung einzelner

Bestandteile verglichen mit der Extraktion in wässrigen Medien, wie z. B. artifiziellem Speichel (Van Landuyt et al., 2011). Darüber hinaus wurde Methanol in der Vergangenheit auch zur Extraktion silikonhaltiger Proben angewandt (Padilla et al., 2005; Walther et al., 2019). Die Extraktionsdauer von 72 Stunden wurde auf der Grundlage der Ergebnisse einer früheren institutsinternen Untersuchung gewählt, in der verschiedene Zeitintervalle zur Freisetzung einzelner Komponenten aus Dentalkunststoffen durch Extraktion verglichen wurden (Rothmund et al., 2015). In der Mehrzahl der durchgeführten Studien zur BPA-Migration aus Beruhigungssaugern wurden diese nicht zerteilt oder zerkleinert (Kemi, 2012; Lassen et al., 2011; Vicente-Martinez et al., 2020). Das entspricht zwar einerseits eher den realen Anwendungsbedingungen, andererseits kann so aber keine separate Analyse von Schild- und Saugeranteilen durchgeführt werden. Folglich kann keine valide Aussage getroffen werden, aus welcher der beiden Komponenten eine BPA-Migration stattgefunden hat. Eine Einzelanalyse wurde auf wissenschaftlicher Ebene zuvor nur mit unterschiedlichen Methoden der Probenvorbereitung für die beiden Beruhigungssaugerbestandteile durchgeführt (Richter & Simat, 2010). In dieser Untersuchung wurden die Saugeranteile nach dem Zerkleinern durch Zerschneiden für sechs Stunden in reinem Ethanol extrahiert, die Schildanteile wurden kryogen zermahlen, in Dichlormethan gelöst und anschließend in Methanol ausgefällt. In Anbetracht des unterschiedlichen Reaktionsverhaltens der verschiedenen Materialien scheint das sinnvoll, da andernfalls ein methodischer Kompromiss eingegangen werden muss (Sun et al., 2016). Bei der Verwendung verschiedener Extraktionsmethoden ist die Vergleichbarkeit der Ergebnisse jedoch zweifelhaft. Als Extraktionsmittel wurde in den bisherigen Untersuchungen häufig Wasser oder artifizierlicher Speichel eingesetzt (BfR, 2009b; Kemi, 2012; Lassen et al., 2011; Vicente-Martinez et al., 2020). Für Analysen unter strengeren, die physiologischen Gegebenheiten überschreitenden Bedingungen, wurden bislang organische Lösungsmittel wie Toluol, Dichlormethan, Ethylacetat und Ethanol verwendet (BfR, 2009b; Global 2000, 2009b; Richter & Simat, 2010). Zur Verwendung von Methanol als Lösungsmitteln für Beruhigungssaugerproben lagen in der Literatur keine Daten vor. Darüber hinaus wurde in den Publikationen eine Extraktionsdauer von 24 Stunden nie überschritten. Um den hohen Anforderungen einer In-vitro-Studie zur BPA-Migration unter Worst-Case-Bedingungen gerecht zu werden, wurden in der vorliegenden Untersuchung mit der Kombination aus der Zerkleinerung des Probenmaterials, der Wahl des Lösungsmittels Methanol und der langen Extraktionsdauer, besonders extraktionsfördernde Bedingungen geschaffen. Derart strenge Voraussetzungen wurden in keiner der bislang publizierten BPA-Analysen von Beruhigungssaugern gewählt (BfR, 2009b; Global 2000, 2009b; Kemi, 2012; Lassen et al., 2011; Richter & Simat, 2010).

Die in der vorliegenden Untersuchung angewandte Nachweismethode für BPA durch eine HPLC-FLD-Analyse ist in der chemischen Analytik Standard (Arce et al., 2018; Guo et al., 2020; Orzel & Swit, 2021). Sie stellt eine reproduzierbare, kostengünstige und sensitive Methode zur Detektion von BPA dar. Die Sensitivität und Selektivität einer HPLC-Analyse von BPA kann durch den Einsatz eines FLD anstelle anderer spektroskopischer Detektoren (z. B. UV/VIS-Detektor) gesteigert werden. Dennoch ist die Selektivität der HPLC-FLD-Methode limitiert, was zu einer unerwünschten Detektion strukturverwandter Stoffe des Analyten und somit zur Ableitung überhöhter Analytkonzentrationen aus den Messdaten führen kann (Hope et al., 2016). Es wurde beschrieben, dass die Sensitivität durch Zugabe stärkerer Fluorophore gesteigert werden kann (Mao et al., 2004; Sun et al., 2002; Watanabe et al., 2001). Nichtsdestotrotz kann die Sensitivität und Selektivität des alternativen Verfahrens der GC/MS nicht erreicht werden (Sun et al., 2016). In der Vergangenheit hat sich jedoch gezeigt, dass die höhere Sensitivität und Selektivität bei der Detektion einzelner Analyten, wie in diesem Fall BPA, den erheblich höheren Aufwand einer GC/MS-Analyse, die eine vorherige Derivatisierung der Proben erfordert, kaum rechtfertigt (Salgueiro-González et al., 2017; WHO, 2011). Aus diesem Grund wurde in der vorliegenden Studie eine HPLC-FLD-Analyse angewandt. Die verwendete Trennsäule mit C<sub>18</sub>-modifizierter Umkehrphase wird standardisiert in der HPLC-Analytik eingesetzt und wurde in der Vergangenheit dementsprechend häufig auch zur Analyse von BPA gewählt (Demirkaya & Kadioglu, 2010; Wang et al., 2020). Das Gleiche gilt für das angewandte Eluentengemisch aus Methanol und deionisiertem Wasser, das gleichermaßen zur isokratischen Elution und Gradientenelution eingesetzt werden kann (Moid AlAmmari et al., 2020; Qiu et al., 2019).

Die ermittelten Detektionsgrenzen der Methode lagen in der vorliegenden Studie in einem ähnlichen Bereich wie in einer vorangegangenen Studie (Vicente-Martinez et al., 2020). Das zur Quantifizierung angewandte Verfahren der externen Kalibrierung zeichnet sich allgemein durch eine gute Reproduzierbarkeit und einfache Umsetzbarkeit aus, ist jedoch technisch sehr anspruchsvoll. Zudem birgt eine externe Kalibrierung die Risiken einer Verschleierung systematischer Fehler, des Auftretens von Matrixeffekten und der Lösungsmittelverdampfung (Otto, 2019). All diese Risiken lassen sich im Fall der vorliegenden Studie anhand der ermittelten WFR aber ausschließen. Die WFR lag mit 92,3 % im Mittel ausreichend hoch für valide Ergebnisse bei der BPA-Quantifizierung. Aufgrund der ubiquitären Verwendung von BPA in der heutigen Zeit, stellte die Verhinderung externer Kontaminationen der Proben mit BPA bei deren Aufbereitung eine besondere Herausforderung dar. Das permanent bestehende Restrisiko einer Probenkontamination mit BPA kann selbst unter strikter Einhaltung der Vorsichtsmaßnahmen

faktisch nicht vermieden werden (WHO, 2011). Die Probenvorbereitung erfolgte in der vorliegenden Untersuchung ausnahmslos unmittelbar vor der HPLC-Analyse wodurch die Gefahr der Degradation, Akkumulation und Kontamination, von und mit BPA, limitiert wurde.

Die Probe des Schildanteils eines Beruhigungssaugers des chinesischen Herstellers FUNNYBABY (ID 6<sub>Sc</sub>) zeigte mit 288 µg/l einen deutlich höheren BPA-Gehalt. Dieser Wert entspricht mehr als dem 30-Fachen der zweithöchsten gemessenen Konzentration der Saugerprobe ID 5<sub>Sa</sub> mit 9,4 µg/l. Der Befund steht im Widerspruch zum Vermerk „BPA-free“ auf der Originalverpackung des Herstellers FUNNYBABY. Dieser Beruhigungssauger wurde nicht im deutschen Einzelhandel erworben, sondern über eine international operierende Online-Handelsplattform bezogen. Da BPA in größeren Mengen regulär nur aus PC-Bestandteilen freigesetzt werden kann (BfR, 2009b), ist davon auszugehen, dass PC zur Produktion des Schildanteils verwendet wurde. Verpackungsaufschriften, die auf eine Produktherstellung ohne die Verwendung von BPA hinweisen haben sich allgemein in den vergangenen Jahren mit der zunehmenden Berichterstattung über gesundheitliche Risiken im Zusammenhang mit BPA etabliert. Ein offizielles Verbraucherschutzsiegel oder Ähnliches gibt es jedoch nicht (Kirchnawy et al., 2020). Der namhafte Hersteller NUK aus Deutschland gibt beispielsweise an, dass er seine Produktion als Reaktion auf die zunehmende Verunsicherung von Eltern, bereits vor mehreren Jahren freiwillig umgestellt hat und seither gänzlich auf die Verwendung BPA-haltiger Werkstoffe verzichtet (NUK, 2022). Die beiden in der vorliegenden Untersuchung getesteten Beruhigungssauger dieses Herstellers, die ebenfalls als „BPA-frei“ gekennzeichnet sind, zeigten im Vergleich zu den restlichen untersuchten Beruhigungssaugern den geringsten Gesamtgehalt an BPA. Auf eine weitgehende Umstellung der Produktion deutet auch ein Vergleich mit den publizierten Daten des Umweltverbands Global 2000 aus dem Jahr 2009 hin. In dem veröffentlichten Prüfbericht wurden maximale BPA-Massenanteile von 2284 mg/kg für einen Schildanteil und 437 mg/kg für einen Saugeranteil angegeben (Global 2000, 2009b). Ein direkter Vergleich der erhobenen Daten ist aufgrund der unterschiedlichen Methoden zwar nur bedingt möglich, die maximalen Massenanteile der vorliegenden Studie von umgerechnet 4,29 mg/kg (Schildanteil von ID 6) und 0,15 mg/kg (Saugeranteil von ID 5), liegen jedoch um mehr als das 500-Fache (Schild) bzw. das 2000-Fache (Sauger) unter den Werten, die 2009 von Global 2000 veröffentlicht wurden (Global 2000, 2009b).

In der Literatur herrscht kein Konsens darüber, ob BPA auch aus den flexiblen Saugeranteilen bestehend aus Kautschuk und Silikon freigesetzt werden kann. In zwei der veröffentlichten Analysen zu Beruhigungssaugern mit getrennter Untersuchung der Schilde

und Sauger wurde zumindest teilweise eine BPA-Migration gezeigt (BfR, 2009b; Global 2000, 2009b). In einer weiteren Studie konnte keine BPA-Migration oberhalb der LOD nachgewiesen werden (Richter & Simat, 2010). Bemerkenswerterweise wurden in der vorliegenden Studie mit einer Ausnahme (ID 6, FUNNYBABY China) für sämtliche untersuchten Beruhigungssauger höhere BPA-Konzentrationen in den Saugeranteilen im Vergleich zu den Schildanteilen gemessen. Innerhalb der Messreihe der Schildanteile wurde für die Probe des einzigen Kautschukschildes (ID 3, Hevea Dänemark) die zweithöchste BPA-Konzentration ermittelt. Der Messwert der Saugerprobe des Beruhigungssaugers mit der höchsten BPA-Konzentration im Schildanteil (ID 6) lag unterhalb der LOQ. Die Annahme, dass die gemessenen BPA-Konzentrationen in den Proben der Saugeranteile auf einer Diffusion von BPA aus den Hartkunststoffschilden beruht (Global 2000, 2009a), ließ sich somit nicht bestätigen. Während der Versuchsdurchführung zeigte sich ein geringgradig differentes Extraktionsverhalten für die Proben der Sauger aus Kautschuk und Silikon. Die Extrakte und die mit dem Elutionsgemisch aufgenommenen Proben wiesen im Vergleich zu den Hartkunststoffproben teilweise eine höhere Viskosität auf, was aber durch Zentrifugieren und Verdünnen behoben werden konnte. Dennoch kann eine geringe Interferenz der Probenmatrix mit der Trennsäule, die durch niedermolekulare Verunreinigungen verursacht werden kann, und eine daraus resultierende Beeinflussung des Elutionsverhaltens nicht gesichert ausgeschlossen werden (Kemi, 2012). Dies könnte eine Ursache für die moderat höheren Messwerte der Saugeranteile im Vergleich zu den Schildanteilen aus Hartkunststoff sein. Aus Gründen der Vergleichbarkeit wurde auf eine Modifikation der Probenaufbereitung für die Saugeranteile aber bewusst verzichtet, da damit auch immer ein hohes Risiko der Verfälschung von Analyseergebnissen einhergeht (Andrade-Eiroa et al., 2016).

Vorstellbar wäre auch, dass es im Fall der Kautschukmaterialien bereits bei der Rohstoffgewinnung zu einer Kontamination mit BPA gekommen ist. In einer filmischen Dokumentation wurde festgehalten, dass der Milchsaft (Latex) des Kautschukbaums während der Rohstoffgewinnung und -verarbeitung in einer Plantage in Malaysia mehrmals in verschiedene Kunststoffbehälter umgefüllt wurde. Eine Migration aus diesen Behältern wäre auch durch die zur Weiterverarbeitung erfolgte Zugabe von Ammoniak denkbar (NZZ Format, 2008). Der meist in niedrigen Konzentrationen erfolgte qualitative Nachweis von BPA in sämtlichen Proben könnte aber auch auf das ubiquitäre Vorkommen von BPA in der Umgebung zurückgeführt werden. Diesen begründeten Verdacht führten auch die Autoren einer Studie an, in der ausschließlich als „BPA-frei“ gekennzeichnete Säuglingsflaschen verschiedener Hersteller untersucht wurden und in allen getesteten Proben geringe BPA-Mengen nachgewiesen wurden (Ali et al., 2018). In

Anbetracht der Tatsache, dass BPA auch in Hausstaub nachgewiesen werden kann, erscheint diese Erklärung durchaus plausibel (Lv et al., 2016).

## **6.2 Risk-Assessment-Analyse einer BPA-Exposition für Säuglinge und Kleinkinder**

Auf der Grundlage der HPLC-Analyseergebnisse wurde ein Risk-Assessment der BPA-Exposition von Säuglingen und Kleinkindern für die Verwendung von Beruhigungssaugern unter Worst-Case-Bedingungen erstellt. Für die Berechnung wurden exemplarisch die Analyseergebnisse des Beruhigungssaugers ID 6 vom chinesischen Hersteller FUN-NYBABY aus der vorliegenden Studie verwendet, für den die insgesamt höchste freigesetzte BPA-Konzentration detektiert wurde.

Angenommen, ein Säugling mit einem Körpergewicht von 4,5 kg würde innerhalb eines Tages die gesamte BPA-Masse, die aus dem Schild- und dem Saugeranteil des Beruhigungssaugers ID 6 freigesetzt werden kann, ungehindert in den Organismus aufnehmen, würde theoretisch eine BPA-Aufnahme von 1,97 µg/kg KG/Tag resultieren. Ein Kleinkind mit einem Körpergewicht von 12 kg würde durch den Beruhigungssauger ID 6 entsprechend 0,74 µg/kg KG/Tag BPA aufnehmen. Aus dem Gutachten der EFSA geht eine geschätzte tägliche BPA-Grundbelastung unter Worst-Case-Bedingungen von 0,36 µg/kg KG für die Altersgruppe der Säuglinge und Kleinkinder hervor (EFSA, 2015a). Bei dieser Grundbelastung wurde eine Exposition mit BPA durch Beruhigungssauger für diese Altersgruppe nicht berücksichtigt. Die Summe aus der von der EFSA angegebenen BPA-Grundbelastung und dem errechneten Maximalwert zur BPA-Exposition durch den untersuchten Beruhigungssauger ID 6 unterschreitet mit 2,33 µg/kg KG/Tag (Säugling) bzw. 1,10 µg/kg KG/Tag (Kleinkind) die aktuelle t-TDI von 4 µg/kg KG/Tag um mehr als den Faktor 0,4 (Säugling) bzw. 0,7 (Kleinkind) (EFSA, 2015a).

Zur Ermöglichung einer Bewertung der Ergebnisse unter physiologischeren Bedingungen und einer besseren Vergleichbarkeit mit den von der EFSA im Jahr 2015 publizierten Daten zur maximalen BPA-Exposition durch Beruhigungssauger, wurde zusätzlich die in Kapitel 2.1.5 der vorliegenden Arbeit beschriebene Formel für eine weitere Berechnung angewandt (EFSA, 2015a). Die Modellrechnung wurde wiederum für den Beruhigungssauger ID 6 durchgeführt. Entsprechend dem Gutachten der EFSA wurde bei der Berechnung berücksichtigt, dass eine BPA-Migration aus den Schildanteilen nur bedingt eine orale Expositionsquelle darstellt, da die Schilde während der Verwendung nur peripheren Kontakt zur Mundhöhle über die Lippen aufweisen und BPA aus den Schilden allein durch Speichel aus dieser Region aufgenommen werden kann (EFSA, 2015b;

Lassen et al., 2011). Im Gegensatz dazu haben die Saugeranteile für die Dauer der Verwendung mit der gesamten Außenfläche Kontakt zur Mundhöhle. Daher wurden für die Berechnung der durch den Schildanteil verursachten BPA-Aufnahme nur 25 % der Gesamtoberfläche des Schildes als Migrationsfläche berücksichtigt (Lassen et al., 2011). Weiter wurde der in den Untersuchungen ermittelte BPA-Migrationswert – analog zur Vorgehensweise der EFSA – in allen Berechnungen auf eine Extraktionsdauer von 24 Stunden linear extrapoliert und auf die täglich produzierte Speichelmenge von 0,2 l (Säuglinge) bzw. 0,3 l (Kleinkinder) bezogen berechnet (EFSA, 2015a; Lassen et al., 2011). Für die tägliche Anwendungsdauer wurden 4,8 Stunden angenommen, was dem publizierten Maximalwert einer pädiatrischen Studie aus den Niederlanden entspricht (Bremmer & van Veen, 2002).

Unter den genannten Berechnungsparametern ergibt sich für den Beruhigungssauger mit der maximalen BPA-Konzentration (ID 6) für einen 4,5 kg schweren Säugling eine potenzielle tägliche BPA-Exposition von 0,38 µg/kg KG. Dieser Wert entspricht einer Ausschöpfung von 9,5 % des derzeit gültigen t-TDI-Werts für BPA von 4 µg/kg KG/Tag, der somit um mehr als das Zehnfache unterschritten wird (BfR, 2015). Entsprechend wurde für ein 12 kg schweres Kleinkind eine potenzielle tägliche BPA-Exposition von 0,18 µg/kg KG für ID 6 berechnet. Dieser Wert entspricht 4,6 % der t-TDI und einer Unterschreitung um mehr als das 21-Fache. Die Summe aus der von der EFSA angegebenen BPA-Grundbelastung von 0,36 µg/kg KG/Tag und der über die EFSA-Modellrechnung berechneten maximalen BPA-Exposition durch den Beruhigungssauger ID 6, liegt mit 0,73 µg/kg KG/Tag (Säugling) bzw. 0,54 µg/kg KG/Tag (Kleinkind) um mehr als das Fünffache (Säugling) bzw. das Siebenfache (Kleinkind) unter der t-TDI von 4 µg/kg KG/Tag. Die Daten der Risk-Assessment-Analyse werden in Tab. 6.1 noch einmal übersichtlich dargestellt.



**Tab. 6.1: Risk-Assessment-Analyse einer Bisphenol A-(BPA)-Exposition durch den Beruhigungssauger ID 6**

	<b>Worst-Case-Berechnung</b>	<b>Modellrechnung nach EFSA</b>
<b>Exposition von Säuglingen</b>	1,97 µg/kg KG/Tag	0,38 µg/kg KG/Tag
Summe mit BPA-Grundbelastung	2,33 µg/kg KG/Tag	0,73 µg/kg KG/Tag
<b>Exposition von Kleinkindern</b>	0,74 µg/kg KG/Tag	0,18 µg/kg KG/Tag
Summe mit BPA-Grundbelastung	1,10 µg/kg KG/Tag	0,54 µg/kg KG/Tag

*Zusammenfassung der Ergebnisse der BPA-Expositionsberechnung für den Beruhigungssauger ID 6 über eine Worst-Case-Berechnung und eine Modellrechnung basierend auf den Beschreibungen der EFSA im BPA-Gutachten von 2015. Für Säuglinge wurde ein Körpergewicht von 4,5 kg angenommen, für Kleinkinder 12 kg. BPA-Grundbelastung = 0,36 µg/kg KG/Tag, KG = Körpergewicht*

Die EFSA hat in ihrem Gutachten von 2015 die tägliche BPA-Exposition durch Beruhigungssauger auf maximal 0,01 µg/kg KG eingeschätzt (EFSA, 2015a). Bei einem Vergleich mit den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung gilt es jedoch zu beachten, dass die EFSA für die Berechnung lediglich die Ergebnisse von Untersuchungen unter moderateren Bedingungen berücksichtigt hat. Ergebnisse von In-vitro-Studien, in denen die Extraktionsbedingungen über den DIN-Standard zur Überprüfung von Spielzeugen in Bezug auf BPA hinausgingen, wurden nicht berücksichtigt (EFSA, 2015a; EU-Kommission, 2017).

Der über das beschriebene Worst-Case-Szenario der vorliegenden Studie berechnete maximale BPA-Expositionswert durch den Beruhigungssauger ID 6 liegt mit 1,97 µg/kg KG/Tag um annähernd das 200-Fache höher als der von der EFSA angegebene Maximalwert von 0,01 µg/kg KG/Tag für eine BPA-Exposition durch Beruhigungssauger. Der deutlich höhere Maximalwert resultiert mutmaßlich aus den weitaus effektiveren Extraktionsbedingungen (Worst-Case-Bedingungen), die im Vorfeld dieser Analyse zielgerichtet geschaffen wurden.

### **6.3 Limitationen der Studie**

Wie im Grunde jede Studie, unterliegt auch die vorliegende Untersuchung gewissen Limitationen, die bei der Interpretation der erhobenen Daten berücksichtigt werden müssen.

Da es sich um eine reine In-vitro-Untersuchung handelt, kann keine gesicherte Aussage zur In-vivo-BPA-Exposition des menschlichen Organismus' und zum daraus resultierenden Gesundheitsrisiko getroffen werden. Für die Zukunft wäre eine Kombination von In-vitro- und In-vivo-Experimenten in einer vergleichenden Analyse wünschenswert. In einer solchen Studie sollten die Beruhigungssauger unter verschiedenen Bedingungen in-vitro getestet werden, um die erhobenen Daten mit In-vivo-Daten, beispielsweise aus einer Biomonitoringanalyse zu vergleichen.

Einen weiteren limitierenden Faktor der vorliegenden Untersuchung stellt die extreme Schnelllebigkeit, durch die der Markt für Beruhigungssauger charakterisiert ist, dar. Die vielzähligen Modelle sind nur in einem kurzen Zeitraum erhältlich oder werden ständig in Form und Farbe verändert. Die Stichprobenanalysen von Beruhigungssaugern umfassen somit häufig Modelle, die unter Umständen bereits zum Zeitpunkt der Publikation der Daten nicht mehr verfügbar sind. Bedauerlicherweise ist dieser Faktor nur bedingt beeinflussbar und kann auch in zukünftigen Untersuchungen nicht behoben werden.

### **6.4 Schlussfolgerung und Ausblick**

Auf Basis der Ergebnisse der Untersuchung und der derzeit gültigen Kriterien der EFSA zur toxikologischen Bewertung von BPA, lässt sich folgern, dass ein Gebrauch von Beruhigungssaugern mutmaßlich zu keiner wesentlichen BPA-Exposition von Säuglingen und Kleinkindern beiträgt und nach aktuellem Kenntnisstand kein außergewöhnliches Gesundheitsrisiko durch eine Migration von BPA darstellt (EFSA, 2015a).

Diese Einschätzung gilt auch im Hinblick auf die noch immer ungeklärte Ätiologie der MIH. Nach einer 2013 publizierten tierexperimentellen Studie von Jedeon et al. wurde eine BPA-Exposition öffentlichkeitswirksam als möglicher pathogener Faktor für die MIH diskutiert. In diesem Zusammenhang ist festzuhalten, dass das in der vorliegenden Studie errechnete Expositionsmaximum unter Einbeziehung der Analyseergebnisse der Beruhigungssauger weit unter der in der tierexperimentellen Studie von Jedeon et al. simulierten BPA-Exposition von 5 µg/kg KG/Tag liegt (Jedeon et al., 2013). Da zu dieser Fragestellung in der Literatur nur wenige Daten vorliegen und noch nicht bekannt ist,

inwiefern Schmelzhyponineralisationen auch bei niedrigeren BPA-Expositionen beobachtet werden können, ist keine abschließende Aussage zur Kausalität der Verwendung von Beruhigungssaugern für die Pathogenese einer MIH möglich. Zukünftig sollten zur Klärung der ätiologischen Zusammenhänge der MIH neben prospektiven klinischen Studien, auch weitere experimentelle Studien durchgeführt werden, wie z.B. die erst kürzlich veröffentlichte In-vivo-Studie von Liu et al., in der eine Korrelation des Auftretens von Mineralisationsstörungen der Schalen von Zebramuscheln mit der vorherigen Gabe von BPA gezeigt werden konnte (Liu et al., 2022). Darüber hinaus sollten die beschriebenen Niedrigdosiseffekte von BPA im Kontext der MIH untersucht werden.

In Bezug auf die derzeitige Verwendung von BPA bei der Herstellung von Beruhigungssaugern, deuten die vorliegenden Befunde darauf hin, dass die Hersteller inzwischen überwiegend auf die Verwendung BPA-haltiger Stoffe in der Produktion verzichten, obwohl Regelungen der EU-Kommission dazu fehlen. Nach Auffassung der Verfasserin dieser Dissertation kann der in der EU seit 2017 geltende Migrationsgrenzwert für Spielzeuge von 0,04 mg/l nach einstündiger Extraktion in Wasser nicht auf Beruhigungssauger übertragen werden, da Beruhigungssauger im Gegensatz zu Spielzeugen anwendungsbedingt in die Mundhöhle gelangen und dort oft weit länger als nur eine Stunde verweilen.

Des Weiteren stellt sich die Frage, welche alternativen Substanzen zu BPA inzwischen bei der Produktion eingesetzt werden. BPA-Ersatzstoffe, wie beispielsweise das Analogon BPS, sind weitaus weniger erforscht als BPA. Erste wissenschaftliche Studien berichten auch im Fall von BPS und weiteren Ersatzstoffen von einer endokrinen Wirkung (Basak et al., 2020; Bittner et al., 2014; Rochester & Bolden, 2015). In zukünftigen Untersuchungen sollten daher vermehrt auch BPA-Ersatzstoffe analysiert werden. In Anbetracht der im Nachgang dieser Untersuchung im Dezember 2021 von der EFSA veröffentlichten Ankündigung einer Senkung der TDI von BPA um den Faktor 100.000 von 4 µg/kg KG/Tag auf 0,04 ng/kg KG/Tag, ist davon auszugehen, dass BPA in der Industrie künftig weiter sukzessive ersetzt wird (EFSA Scientific Committee, 2021; Niu et al., 2021). Dem Verbraucher wird durch die Kennzeichnung „BPA-frei“ eine Sicherheit suggeriert, dabei können die Produkte stattdessen andere endokrin wirksame, jedoch weniger in Verruf geratene Substanzen enthalten. Prinzipiell wäre eine gesetzliche Regelung zur Produktkennzeichnung wünschenswert, dass sich Verbraucher nicht allein auf die Aussagen der Hersteller verlassen müssen. Das gilt insbesondere für Produkte für Säuglinge, Kleinkinder und Schwangere, da sie vulnerable Personengruppen für die Einwirkung von endokrinen Disruptoren darstellen.

## 7 Literaturverzeichnis

- Abraham, A., & Chakraborty, P. (2020). A review on sources and health impacts of bisphenol A. *Rev Environ Health*, 35(2), 201-210. <https://doi.org/10.1515/reveh-2019-0034>
- Abts, G. (2010). *Kunststoff-Wissen für Einsteiger*. Hanser Fachbuch.
- Alaluusua, S. (2010). Aetiology of Molar-Incisor Hypomineralisation: A systematic review. *Eur Arch Paediatr Dent*, 11(2), 53-58. <https://doi.org/10.1007/BF03262713>
- Ali, M., Jaghbir, M., Salam, M., Al-Kadamany, G., Damsees, R., & Al-Rawashdeh, N. (2018). Testing baby bottles for the presence of residual and migrated bisphenol A. *Environ Monit Assess*, 191(1), 7. <https://doi.org/10.1007/s10661-018-7126-0>
- Allegaert, K., Rayyan, M., Vanhaesebrouck, S., & Naulaers, G. (2008). Developmental pharmacokinetics in neonates. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 1(3), 415-428. <https://doi.org/10.1586/17512433.1.3.415>
- Amin, M. M., Ebrahim, K., Hashemi, M., Shoshtari-Yeganeh, B., Rafiei, N., Mansourian, M., & Kelishadi, R. (2019). Association of exposure to Bisphenol A with obesity and cardiometabolic risk factors in children and adolescents. *Int J Environ Health Res*, 29(1), 94-106. <https://doi.org/10.1080/09603123.2018.1515896>
- Andrade-Eiroa, A., Canle, M., Leroy-Cancellieri, V., & Cerdà, V. (2016). Solid-phase extraction of organic compounds: A critical review (Part I). *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 80, 641-654. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.08.015>
- Arce, M. M., Sanllorente, S., Ortiz, M. C., & Sarabia, L. A. (2018). Easy-to-use procedure to optimise a chromatographic method. Application in the determination of bisphenol-A and phenol in toys by means of liquid chromatography with fluorescence detection. *J Chromatogr A*, 1534, 93-100. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.12.049>
- Bae, S., Kim, J. H., Lim, Y. H., Park, H. Y., & Hong, Y. C. (2012). Associations of bisphenol A exposure with heart rate variability and blood pressure. *Hypertension*, 60(3), 786-793. <https://doi.org/10.1161/hypertensionaha.112.197715>
- BAG Schweiz. (2020). *Bisphenol A*. Bundesamt für Gesundheit Schweiz. <https://www.bag.admin.ch/dam/bag/de/dokumente/chem/themen-a-z/factsheet-bisphenol-a.pdf.download.pdf/2017-bpa-factsheet-de.pdf>
- BAM. (2008). *Prüfbericht zur Untersuchung einer Trinkflasche auf Bisphenol A (BPA)*. Bundesamt für Materialforschung und -prüfung. [https://kreuzberger-wasser.de/wp-content/uploads/zertifikat\\_trinkflaschen\\_bisphenol.pdf](https://kreuzberger-wasser.de/wp-content/uploads/zertifikat_trinkflaschen_bisphenol.pdf)

- Basak, S., Das, M. K., & Duttaroy, A. K. (2020). Plastics derived endocrine-disrupting compounds and their effects on early development. *Birth Defects Res*, 112(17), 1308-1325. <https://doi.org/10.1002/bdr2.1741>
- Beausoleil, C., Ormsby, J. N., Gies, A., Hass, U., Heindel, J. J., Holmer, M. L., Nielsen, P. J., Munn, S., & Schoenfelder, G. (2013). Low dose effects and non-monotonic dose responses for endocrine active chemicals: science to practice workshop: workshop summary. *Chemosphere*, 93(6), 847-856. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.06.043>
- Becker, K., Göen, T., Seiwert, M., Conrad, A., Pick-Fuss, H., Müller, J., Wittassek, M., Schulz, C., & Kolossa-Gehring, M. (2009). GerES IV: phthalate metabolites and bisphenol A in urine of German children. *Int J Hyg Environ Health*, 212(6), 685-692. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2009.08.002>
- Bekes, K. (2021). *Molaren-Inzisiven-Hypomineralisation* (1st ed.). Quintessenz Verlags-GmbH, Berlin.
- Bellisario, V., Cocchi, E., Tassinari, R., Squillacioti, G., Musso, T., Sottemano, S., Zorzi, M., Dalmaso, P., Coscia, A., Medana, C., & Bono, R. (2021). Bisphenol A and S in the Urine of Newborns: Plastic for Non-Food Use Still without Rules. *Biology (Basel)*, 10(3). <https://doi.org/10.3390/biology10030188>
- Bernal, A., & Jirtle, R. (2010). Bernal, A. J. & Jirtle, R. L. Epigenomic disruption: the effects of early developmental exposures. *Birth Defects Res. A Clin. Mol. Teratol.* 88, 938-944. *Birth defects research. Part A, Clinical and molecular teratology*, 88, 938-944. <https://doi.org/10.1002/bdra.20685>
- BfR. (2009a). 4. Sitzung der BfR-Kommission für Bedarfsgegenstände. Bundesinstitut für Risikobewertung. [https://mobil.bfr.bund.de/cm/343/4\\_sitzung\\_der\\_bfr\\_kommission\\_fuer\\_bedarfsg egenstaende.pdf](https://mobil.bfr.bund.de/cm/343/4_sitzung_der_bfr_kommission_fuer_bedarfsg egenstaende.pdf)
- BfR. (2009b). *Bisphenol A in Beruhigungssaugern - Untersuchungsergebnisse des BfR*. Bundesinstitut für Risikobewertung. [https://www.bfr.bund.de/cm/343/bisphenol\\_a\\_in\\_beruhigungssaugern\\_untersuchungsergebnisse\\_des\\_bfr.pdf](https://www.bfr.bund.de/cm/343/bisphenol_a_in_beruhigungssaugern_untersuchungsergebnisse_des_bfr.pdf)
- BfR. (2015). *Kein Gesundheitsrisiko für Verbraucher durch Bisphenol A-Exposition - BfR unterstützt die Einschätzung der EFSA-Neubewertung*. Bundesinstitut für Risikobewertung. <https://www.bfr.bund.de/cm/343/kein-gesundheitsrisiko-fuer-verbraucher-durch-bisphenol-a-exposition-bfr-unterstuetzt-die-einschaetzung-der-efsa-neubewertung.pdf>
- BfR. (2018). *Zusammenhang zwischen „Kreidezähnen“ bei Kindern (Molar-Incisor-Hypomineralisation, MIH) und der Aufnahme von Bisphenol A ist nach derzeitigem Stand des Wissens unwahrscheinlich*. Bundesinstitut für Risikobewertung. <https://mobil.bfr.bund.de/cm/343/zusammenhang-zwischen-kreidezahnen-bei-kindern-und-der-aufnahme-von-bisphenol-a-ist-nach-derzeitigem-stand-des-wissens-unwahrscheinlich.pdf>

- BfR. (2021a). *Bisphenol A in Alltagsprodukten: Antworten auf häufig gestellte Fragen*. Bundesinstitut für Risikobewertung. [https://www.bfr.bund.de/de/bisphenol\\_a\\_in\\_alltagsprodukten\\_antworten\\_auf\\_haeufig\\_gestellte\\_fragen-7195.html](https://www.bfr.bund.de/de/bisphenol_a_in_alltagsprodukten_antworten_auf_haeufig_gestellte_fragen-7195.html)
- BfR. (2021b). *Entwurf einer neuen Stellungnahme zu Bisphenol A: Bewertung durch die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit kann öffentlich kommentiert werden*. Bundesinstitut für Risikobewertung. <https://www.bfr.bund.de/cm/343/entwurf-einer-neuen-stellungnahme-zu-bisphenol-a-bewertung-durch-die-efsa-kann-oeffentlich-kommentiert-werden.pdf>
- BfR. (2022). *TDI/TWI/TMI - täglich, wöchentlich oder monatlich: die duldbare Aufnahmemenge von Schadstoffen ist klar definiert*. Bundesinstitut für Risikobewertung. [https://www.bfr.bund.de/de/a-z\\_index/tdi-187180.html](https://www.bfr.bund.de/de/a-z_index/tdi-187180.html) - zitiert am 14.02.2022
- Bittner, G. D., Yang, C. Z., & Stoner, M. A. (2014). Estrogenic chemicals often leach from BPA-free plastic products that are replacements for BPA-containing polycarbonate products. *Environ Health*, 13(1), 41. <https://doi.org/10.1186/1476-069x-13-41>
- BMG Österreich. (2011). *Verbot der Verwendung von Bisphenol A in Beruhigungssaugern und Beißringen Teil II*. Bundesministerium für Gesundheit Österreich. [https://www.ris.bka.gv.at/Dokumente/BgblAuth/BGBLA\\_2011\\_II\\_327/BGBLA\\_2011\\_II\\_327.pdf](https://www.ris.bka.gv.at/Dokumente/BgblAuth/BGBLA_2011_II_327/BGBLA_2011_II_327.pdf)
- Brede, C., Fjeldal, P., Skjevraak, I., & Herikstad, H. (2003). Increased migration levels of bisphenol A from polycarbonate baby bottles after dishwashing, boiling and brushing. *Food Addit Contam*, 20(7), 684-689. <https://doi.org/10.1080/0265203031000119061>
- Bremmer, H. J., & van Veen, M. P. (2002). *Children's Toys Fact Sheet*. W. a. S. Dutch Ministry of Health. <https://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/612810012.pdf>
- Cammann, K. (2000). *Instrumentelle Analytische Chemie: Verfahren, Anwendungen, Qualitätssicherung* (1st ed.). Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg Deutschland.
- Cantwell. (2019). *Blanks in Method Validation - Supplement to Eurachem Guide The Fitness for Purpose of Analytical Methods*. <https://www.eurachem.org/index.php/publications/guides/blanks-in-method-validation>
- Careghini, A., Mastorgio, A. F., Saponaro, S., & Sezenna, E. (2015). Bisphenol A, nonylphenols, benzophenones, and benzotriazoles in soils, groundwater, surface water, sediments, and food: a review. *Environ Sci Pollut Res Int*, 22(8), 5711-5741. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3974-5>

- Casas, M., Forns, J., Martínez, D., Avella-García, C., Valvi, D., Ballesteros-Gómez, A., Luque, N., Rubio, S., Julvez, J., Sunyer, J., & Vrijheid, M. (2015). Exposure to bisphenol A during pregnancy and child neuropsychological development in the INMA-Sabadell cohort. *Environ Res*, 142, 671-679. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.07.024>
- Chen, Kannan, K., Tan, H., Zheng, Z., Feng, Y. L., Wu, Y., & Widelka, M. (2016). Bisphenol Analogues Other Than BPA: Environmental Occurrence, Human Exposure, and Toxicity-A Review. *Environ Sci Technol*, 50(11), 5438-5453. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b05387>
- Chen, M., Tao, L., Collins, E. M., Austin, C., & Lu, C. (2012). Simultaneous determination of multiple phthalate metabolites and bisphenol-A in human urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 904, 73-80. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2012.07.022>
- Chen, Y., Shu, L., Qiu, Z., Lee, D. Y., Settle, S. J., Que Hee, S., Telesca, D., Yang, X., & Allard, P. (2016). Exposure to the BPA-Substitute Bisphenol S Causes Unique Alterations of Germline Function. *PLOS Genetics*, 12(7), e1006223. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006223>
- Corrales, J., Kristofco, L. A., Steele, W. B., Yates, B. S., Breed, C. S., Williams, E. S., & Brooks, B. W. (2015). Global Assessment of Bisphenol A in the Environment: Review and Analysis of Its Occurrence and Bioaccumulation. *Dose Response*, 13(3), 1559325815598308. <https://doi.org/10.1177/1559325815598308>
- Covestro. (2022). *Polycarbonat-Kunststoffe*. <https://solutions.covestro.com/-/media/covestro/solution-center/brands/downloads/imported/1556888808.pdf>
- Crombie, F., Manton, D., & Kilpatrick, N. (2009). Aetiology of molar-incisor hypomineralization: a critical review. *Int J Paediatr Dent*, 19(2), 73-83. <https://doi.org/10.1111/j.1365-263X.2008.00966.x>
- Demirkaya, F., & Kadioglu, Y. (2010). Development and Validation of A Reversed Phase-HPLC-DAD Method for Determination of Bisphenol-A in Artificial Saliva. *Asian Journal of Chemistry*, 22, 153-158. <https://www.mdpi.com/2297-8739/5/1/12/pdf>
- DGZMK. (2018). *Neue Volkskrankheit: MIH hat Karies in bestimmten Altersgruppen schon überholt* <https://www.dgzmk.de/aktuelles?pr=/dgzmk-pressekonferenz-am-06-juni-2019-in-berlin#:~:text=Pressemitteilung%20zur%20DGZMK%2DPressekonferenz%20am%2024.%20Mai%202018>
- Dianin, A. P. (1891). Condensation of ketones with phenols. *J. Russ. Phys. Chem. Soc.*, 23, 488-517.
- Dodds, E. C., & Lawson, W. (1936). Synthetic strogenic Agents without the Phenanthrene Nucleus. *Nature*, 137(3476), 996-996. <https://doi.org/10.1038/137996a0>

- Doerge, D. R., Twaddle, N. C., Vanlandingham, M., Brown, R. P., & Fisher, J. W. (2011). Distribution of bisphenol A into tissues of adult, neonatal, and fetal Sprague-Dawley rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 255(3), 261-270. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2011.07.009>
- Doerge, D. R., Twaddle, N. C., Vanlandingham, M., & Fisher, J. W. (2012). Pharmacokinetics of bisphenol A in serum and adipose tissue following intravenous administration to adult female CD-1 mice. *Toxicol Lett*, 211(2), 114-119. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2012.03.008>
- Dokmeci, A. H., Karaboga, I., Guzel, S., Erboga, Z. F., & Yilmaz, A. (2022). Toxicological assessment of low-dose bisphenol A, lead and endosulfan combination: chronic toxicity study in male rats. *Environ Sci Pollut Res Int*, 29(7), 10558-10574. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-16407-8>
- Domininghaus, H. (2005). *Die Kunststoffe und ihre Eigenschaften*. Springer, Berlin, Heidelberg. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/b137575>
- Dornbusch, M., Christ, U., & Rasing, R. (2015). *Epoxidharze*. Vincentz-Network.
- ECHA. (2017). *SVHC Support Document - 4,4'-Isopropylidenediphenol*. European Chemicals Agency. <https://echa.europa.eu/documents/10162/769b2777-19cd-9fff-33c4-54fe6d8290d5>
- ECHA. (2020). *The use of bisphenol A and its alternatives in thermal paper in the EU during 2014-2022*. European Chemicals Agency. [https://echa.europa.eu/documents/10162/23294236/bpa\\_thermal\\_paper\\_report\\_2020\\_en.pdf/59eca269-c788-7942-5c17-3bd822d9cba0](https://echa.europa.eu/documents/10162/23294236/bpa_thermal_paper_report_2020_en.pdf/59eca269-c788-7942-5c17-3bd822d9cba0)
- ECHA. (2021). *Assessment of Regulatory Needs: Report on Bisphenols*. European Chemicals Agency. <https://echa.europa.eu/de/hot-topics/bisphenol-a#:~:text=Assessment%20of%20regulatory%20needs%20for%20bisphenols>
- Edginton, A. N., & Ritter, L. (2009). Predicting Plasma Concentrations of Bisphenol A in Children Younger Than 2 Years of Age after Typical Feeding Schedules, using a Physiologically Based Toxicokinetic Model. *Environmental Health Perspectives*, 117(4), 645-652. <https://doi.org/doi:10.1289/ehp.0800073>
- EFSA. (2006). *Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food on a request from the Commission related to 2,2-BIS(4-HYDROXYPHENYL)PROPANE (Bisphenol A)*. <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2007.428>
- EFSA. (2015a). *Scientific Opinion on the risks to public health related to the presence of bisphenol A (BPA) in foodstuffs*. European Food Safety Authority. <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2015.3978>
- EFSA. (2015b). *Wissenschaftliches Gutachten zu Bisphenol A*. European Food Safety Authority.



[https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/corporate\\_publications/files/factsh\\_eetbpa150121-de.pdf](https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/corporate_publications/files/factsh_eetbpa150121-de.pdf)

- EFSA. (2021a). *Bisphenol A*. <https://www.efsa.europa.eu/de/topics/topic/bisphenol>
- EFSA. (2021b). *Entwurf einer neuen Stellungnahme zu Bisphenol A*. European Food Safety Authority. <https://www.efsa.europa.eu/de/news/bisphenol-efsa-draft-opinion-proposes-lowering-tolerable-daily-intake> - zitiert am 16.02.2022
- EFSA Scientific Committee. (2021). *Opinion on the impact of non-monotonic dose responses on EFSA's human health risk assessments (1831-4732)*. <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2903/j.efsa.2021.6877>
- Ehrenfeld, M., Gängler, P., Hoffmann, T., Schwenzer, N., & Willershausen, B. (2010). *Konservierende Zahnheilkunde und Parodontologie* (3rd ed.). Thieme-Verlag, Stuttgart.
- Eilebrecht, E., Wenzel, A., Teigeler, M., Windshügel, B., Keminer, O., Chachulski, L., & Kohler, M. (2020). *Bewertung des endokrinen Potenzials von Bisphenol A Alternativstoffen in umweltrelevanten Verwendungen*. Umweltbundesamt.
- EMA. (2006). *ICH Topic Q 2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology 1995*. European Medicines Agency. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-2-r1-validation-analytical-procedures-text-methodology-step-5\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-2-r1-validation-analytical-procedures-text-methodology-step-5_en.pdf)
- Eppert, G. J. (2000). *Flüssigchromatografie: HPLC - Theorie und Praxis* (3rd ed.). Vieweg + Teubner Verlag, Wiesbaden.
- EU-Kommission. (2008). *Updated European Union risk assessment report 4,4'-isopropylidenediphenol (bisphenol-A)*. European Commission. <https://doi.org/doi/10.2788/40301>
- EU-Kommission. (2011). *RICHTLINIE 2011/8/EU DER KOMMISSION vom 28. Januar 2011 - zur Änderung der Richtlinie 2002/72/EG hinsichtlich der Beschränkung der Verwendung von Bisphenol A in Säuglingsflaschen aus Kunststoff*. EU-Kommission. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/PDF/?uri=CELEX:32011L0008&from=DE>
- EU-Kommission. (2017). *RICHTLINIE (EU) 2017/898 DER KOMMISSION zur Änderung von Anhang II Anlage C der Richtlinie 2009/48/EG des Europäischen Parlaments und des Rates über die Sicherheit von Spielzeug zwecks Festlegung spezifischer Grenzwerte für in Spielzeug verwendete chemische Stoffe in Bezug auf Bisphenol A*. EU-Kommission. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/PDF/?uri=CELEX:32017L0898&from=SV>
- EU-Kommission. (2018). *VERORDNUNG (EU) 2018/213 DER KOMMISSION 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.* EU-Kommission. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/PDF/?uri=CELEX:32018R0213&from=EN>

EU-Kommission. (2019). *BESCHLUSS (EU) 2019/70 DER KOMMISSION zur Festlegung der Umweltkriterien für die Vergabe des EU-Umweltzeichens für grafisches Papier und der Umweltkriterien für die Vergabe des EU-Umweltzeichens für Hygienepapier und Hygienepapierprodukte* EU-Kommission. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/PDF/?uri=CELEX:32019D0070&from=PT>

FDA. (2014). *Final report for the review of literature and data on BPA.* Food and Drug Administration U.S. DEPARTMENT OF HEALTH & HUMAN SERVICES. <https://www.fda.gov/media/90546/download>

Fewtrell, M., Bronsky, J., Campoy, C., Domellöf, M., Embleton, N., Fidler Mis, N., Hojsak, I., Hulst, J. M., Indrio, F., Lapillonne, A., & Molgaard, C. (2017). Complementary Feeding: A Position Paper by the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition (ESPGHAN) Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 64(1), 119-132. <https://doi.org/10.1097/mpg.0000000000001454>

Fitzgerald, A. C., Peyton, C., Dong, J., & Thomas, P. (2015). Bisphenol A and Related Alkylphenols Exert Nongenomic Estrogenic Actions Through a G Protein-Coupled Estrogen Receptor 1 (Gper)/Epidermal Growth Factor Receptor (Egfr) Pathway to Inhibit Meiotic Maturation of Zebrafish Oocytes. *Biol Reprod*, 93(6), 135. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.115.132316>

Flexeder, C., Kabary Hassan, L., Standl, M., Schulz, H., & Kuhnisch, J. (2020). Is There an Association between Asthma and Dental Caries and Molar Incisor Hypomineralisation? *Caries Res*, 54(1), 87-95. <https://doi.org/10.1159/000504382>

Gao, Q., Niu, Y., Wang, B., Liu, J., Zhao, Y., Zhang, J., Wang, Y., & Shao, B. (2021). Estimation of lactating mothers' daily intakes of bisphenol A using breast milk. *Environ Pollut*, 286, 117545. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117545>

Garot, E., Rouas, P., Somani, C., Taylor, G. D., Wong, F., & Lygidakis, N. A. (2021). An update of the aetiological factors involved in molar incisor hypomineralisation (MIH): a systematic review and meta-analysis. *Eur Arch Paediatr Dent*. <https://doi.org/10.1007/s40368-021-00646-x>

Gatidou, G., Thomaidis, N. S., Stasinakis, A. S., & Lekkas, T. D. (2007). Simultaneous determination of the endocrine disrupting compounds nonylphenol, nonylphenol ethoxylates, triclosan and bisphenol A in wastewater and sewage sludge by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 1138(1-2), 32-41. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.10.037>

Global 2000. (2009a). *Hintergrundinformation, Bisphenol A: Der hormonelle Schadstoff ist besonders gefährlich für Kinder*. [https://www.global2000.at/sites/global/files/Hintergrundpapier\\_bisphenol\\_A1.pdf](https://www.global2000.at/sites/global/files/Hintergrundpapier_bisphenol_A1.pdf)

- Global 2000. (2009b). *Prüfbericht 909/09 Beruhigungssauger von Chemcon, akkreditierte Prüfstelle nach ISO/IEX 17025*. G. 2000. [https://www.global2000.at/sites/global/files/Pruefbericht\\_90909.pdf](https://www.global2000.at/sites/global/files/Pruefbericht_90909.pdf)
- Guo, M., He, M., Zhong, J., He, Q., Ismail, B. B., Chen, G., & Liu, D. (2020). High-performance liquid chromatography (HPLC)-fluorescence method for determination of bisphenol A diglycidyl ether (BADGE) and its derivatives in canned foods. *Sci Total Environ*, 710, 134975. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134975>
- Hewlett, M., Chow, E., Aschengrau, A., & Mahalingaiah, S. (2017). Prenatal Exposure to Endocrine Disruptors: A Developmental Etiology for Polycystic Ovary Syndrome. *Reprod Sci*, 24(1), 19-27. <https://doi.org/10.1177/1933719116654992>
- Hirasawa, T., Nasu, I., Hirabayashi, S., & Harashima, I. (1984). The method of quantitative analysis of residual monomer in dental resin using thin film samples. *Dent Mater*, 243-349.
- Hoekstra, E. J., & Simoneau, C. (2013). Release of bisphenol A from polycarbonate: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 53(4), 386-402. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.536919>
- Hong, J., Chen, F., Wang, X., Bai, Y., Zhou, R., Li, Y., & Chen, L. (2016). Exposure of preimplantation embryos to low-dose bisphenol A impairs testes development and suppresses histone acetylation of StAR promoter to reduce production of testosterone in mice. *Mol Cell Endocrinol*, 427, 101-111. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2016.03.009>
- Hope, E., Reed, D. R., & Moilanen, L. H. (2016). Potential confounders of bisphenol-a analysis in dental materials. *Dent Mater*, 32(8), 961-967. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2016.05.001>
- Huang, R. P., Liu, Z. H., Yin, H., Dang, Z., Wu, P. X., Zhu, N. W., & Lin, Z. (2018). Bisphenol A concentrations in human urine, human intakes across six continents, and annual trends of average intakes in adult and child populations worldwide: A thorough literature review. *Sci Total Environ*, 626, 971-981. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.01.144>
- Iribarne-Duran, L. M., Peinado, F. M., Freire, C., Castellero-Rosales, I., Artacho-Cordon, F., & Olea, N. (2022). Concentrations of bisphenols, parabens, and benzophenones in human breast milk: A systematic review and meta-analysis. *Sci Total Environ*, 806(Pt 1), 150437. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150437>
- IylgUndoGdu, I., UstUnda, G. A., & Duydu, Y. (2020). Toxicological Evaluation of Bisphenol A and Its Analogues. *Turk J Pharm Sci*, 17(4), 457-462. <https://doi.org/10.4274/tjps.galenos.2019.58219>

- Jalal, N., Surendranath, A. R., Pathak, J. L., Yu, S., & Chung, C. Y. (2018). Bisphenol A (BPA) the mighty and the mutagenic. *Toxicol Rep*, 5, 76-84. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2017.12.013>
- Jedeon, K., De la Dure-Molla, M., Brookes, S. J., Liodice, S., Marciano, C., Kirkham, J., Canivenc-Lavier, M. C., Boudalia, S., Berges, R., Harada, H., Berdal, A., & Babajko, S. (2013). Enamel defects reflect perinatal exposure to bisphenol A. *Am J Pathol*, 183(1), 108-118. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2013.04.004>
- John, J. (2022). *US FDA studying Efsa proposal to reduce BPA tolerable daily intake*. Chemical Watch. <https://chemicalwatch.com/402685/us-fda-studying-efsa-proposal-to-reduce-bpa-tolerable-daily-intake> - zitiert am 17.02.2022
- Jordan, A. R., & Micheelis, W. (2016). *Fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS V) - Kurzfassung*. Deutscher Zahnärzte Verlag DÄV, Köln. [https://www.bzaek.de/fileadmin/PDFs/dms/Zusammenfassung\\_DMS\\_V.pdf](https://www.bzaek.de/fileadmin/PDFs/dms/Zusammenfassung_DMS_V.pdf)
- Juberg, D. R., Alfano, K., Coughlin, R. J., & Thompson, K. M. (2001). An observational study of object mouthing behavior by young children. *Pediatrics*, 107(1), 135-142. <https://doi.org/10.1542/peds.107.1.135>
- Junghare, H., Hamjade, M., Patil, C., Girase, S., & Lele, M. (2020). A Review on Cryogenic Grinding. *International Journal of Current Engineering and Technology* (Special Issue-7), 422-423. <https://inpressco.com/wp-content/uploads/2017/06/Paper98420-423.pdf>
- Kemi. (2012). *Schwedischer Originaltitel: Bisfenol A i leksaker och barnartiklar (ins Deutsche übersetzt: Bisphenol A in Spielzeug und Kinderartikeln)*. Kemikalieinspektionen (Swedish Chemicals Agency). <https://www.kemi.se/en/publications/reports/2012/rapport-6-12-bisfenol-a-i-leksaker-och-barnartiklar---behov-av-exponeringsminskning>
- Kirchnawy, C., Hager, F., Osorio Piniella, V., Jeschko, M., Washuttl, M., Mertl, J., Mathieu-Huart, A., & Rousselle, C. (2020). Potential endocrine disrupting properties of toys for babies and infants. *PLoS One*, 15(4), e0231171. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231171>
- Konieczna, A., Rutkowska, A., & Rachon, D. (2015). Health risk of exposure to Bisphenol A (BPA). *Rocz Panstw Zakl Hig*, 66(1), 5-11. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25813067>
- Kovacic, A., Gys, C., Gulin, M. R., Kosjek, T., Heath, D., Covaci, A., & Heath, E. (2020). The migration of bisphenols from beverage cans and reusable sports bottles. *Food Chem*, 331, 127326. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127326>
- Krishnan, A. V., Stathis, P., Permuth, S. F., Tokes, L., & Feldman, D. (1993). Bisphenol-A: an estrogenic substance is released from polycarbonate flasks during autoclaving. *Endocrinology*, 132(6), 2279-2286. <https://doi.org/10.1210/endo.132.6.8504731>

- Kühnisch, J., Heitmüller, D., Thiering, E., Brockow, I., Hoffmann, U., Neumann, C., Heinrich-Weltzien, R., Bauer, C. P., von Berg, A., Koletzko, S., Garcia-Godoy, F., Hickel, R., & Heinrich, J. (2014). Proportion and extent of manifestation of molar-incisor-hypomineralizations according to different phenotypes. *J Public Health Dent*, 74(1), 42-49. <https://doi.org/10.1111/j.1752-7325.2012.00365.x>
- Kühnisch, J., Lauenstein, A., Pitchika, V., McGlynn, G., Staskiewicz, A., Hickel, R., & Grupe, G. (2016). Was molar incisor hypomineralisation (MIH) present in archaeological case series? *Clin Oral Investig*, 20(9), 2387-2393. <https://doi.org/10.1007/s00784-016-1717-3>
- Kühnisch, J., Thiering, E., Kratzsch, J., Heinrich-Weltzien, R., Hickel, R., Heinrich, J., group, G. I. s., & group, L. I. s. (2015). Elevated serum 25(OH)-vitamin D levels are negatively correlated with molar-incisor hypomineralization. *J Dent Res*, 94(2), 381-387. <https://doi.org/10.1177/0022034514561657>
- Lassen, C., Mikkelsen, S., & Brandt, U. K. (2011). *Migration of bisphenol A from cash register receipts and baby dummies* (Survey of Chemical Substances in Consumer Products, Issue. D. E. P. Agency. [https://substitution-bp.ineris.fr/sites/substitution-bp/files/documents/migration of bisphenol a from cash register receipts and baby dummies 0.pdf](https://substitution-bp.ineris.fr/sites/substitution-bp/files/documents/migration%20of%20bisphenol%20a%20from%20cash%20register%20receipts%20and%20baby%20dummies%200.pdf)
- Le, H. H., Carlson, E. M., Chua, J. P., & Belcher, S. M. (2008). Bisphenol A is released from polycarbonate drinking bottles and mimics the neurotoxic actions of estrogen in developing cerebellar neurons. *Toxicol Lett*, 176(2), 149-156. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2007.11.001>
- Lee, J., Choi, K., Park, J., Moon, H. B., Choi, G., Lee, J. J., Suh, E., Kim, H. J., Eun, S. H., Kim, G. H., Cho, G. J., Kim, S. K., Kim, S., Kim, S. Y., Kim, S., Eom, S., Choi, S., Kim, Y. D., & Kim, S. (2018). Bisphenol A distribution in serum, urine, placenta, breast milk, and umbilical cord serum in a birth panel of mother-neonate pairs. *Sci Total Environ*, 626, 1494-1501. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.042>
- Leisewitz, A., & Schwarz, W. (1997). *Stoffströme wichtiger endokrin wirksamer Industriechemikalien (Bisphenol A; Dibutylphthalat/Benzylbutylphthalat; Nonylphenol/Alkylphenolethoxylate)*. <https://www.oekorecherche.de/sites/default/files/publikationen/vollendokrin.pdf>
- Liang, Q., Gao, X., Chen, Y., Hong, K., & Wang, H. S. (2014). Cellular mechanism of the nonmonotonic dose response of bisphenol A in rat cardiac myocytes. *Environ Health Perspect*, 122(6), 601-608. <https://doi.org/10.1289/ehp.1307491>
- Lindsay, S. (1996). *Einführung in die HPLC* (1st ed.). Fried. Vieweg & Sohn Verlagsgesellschaft mbH, Wiesbaden.
- Liu, F., Reichl, F.-X., Milz, S., Wölfle, U. C., Kühnisch, J., Schmitz, C., Geist, J., Hickel, R., Högg, C., & Sternecker, K. (2022). Disrupted biomineralization in zebra mussels after exposure to bisphenol-A: Potential implications for molar-incisor

hypomineralization. *Dental Materials*, 38(4), 689-699.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.dental.2022.02.010>

- Lv, Y., Rui, C., Dai, Y., Pang, Q., Li, Y., Fan, R., & Lu, S. (2016). Exposure of children to BPA through dust and the association of urinary BPA and triclosan with oxidative stress in Guangzhou, China. *Environ Sci Process Impacts*, 18(12), 1492-1499. <https://doi.org/10.1039/c6em00472e>
- Lygidakis, N. A., Garot, E., Somani, C., Taylor, G. D., Rouas, P., & Wong, F. S. L. (2021). Best clinical practice guidance for clinicians dealing with children presenting with molar-incisor-hypomineralisation (MIH): an updated European Academy of Paediatric Dentistry policy document. *Eur Arch Paediatr Dent*. <https://doi.org/10.1007/s40368-021-00668-5>
- Mahdavianpour, M., Chamkouri, N., Chamkouri, H., Kolivand, Z., Noorizadeh, N., Malaekheh, S. M. A., & Karami, S. (2021). Determination of bisphenol a migration from food packaging by dispersive liquid-liquid microextraction. *MethodsX*, 8, 101415. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2021.101415>
- Mansouri, V., Ebrahimpour, K., Poursafa, P., Riahi, R., Shoshtari-Yeganeh, B., Hystad, P., & Kelishadi, R. (2019). Exposure to phthalates and bisphenol A is associated with higher risk of cardiometabolic impairment in normal weight children. *Environ Sci Pollut Res Int*, 26(18), 18604-18614. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05123-z>
- Mao, L., Sun, C., Zhang, H., Li, Y.-X., & Wu, D. (2004). Determination of environmental estrogens in human urine by high performance liquid chromatography after fluorescent derivatization with p-nitrobenzoyl chloride. *Analytica Chimica Acta*, 522, 241-246. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2004.04.071>
- Maragou, N. C., Makri, A., Lampi, E. N., Thomaidis, N. S., & Koupparis, M. A. (2008). Migration of Bisphenol A from polycarbonate baby bottles under real use conditions. *Food Additives and Contaminants*, 373-383. <https://doi.org/10.1080/02652030701509998>
- Marko-Varga, G., & Barceló, D. (1992). Liquid chromatographic retention and separation of phenols and related aromatic compounds on reversed phase columns. *Chromatographia*, 34(3), 146-154. <https://doi.org/10.1007/BF02276128>
- Melzer, D., Osborne, N. J., Henley, W. E., Cipelli, R., Young, A., Money, C., McCormack, P., Luben, R., Khaw, K. T., Wareham, N. J., & Galloway, T. S. (2012). Urinary bisphenol A concentration and risk of future coronary artery disease in apparently healthy men and women. *Circulation*, 125(12), 1482-1490. <https://doi.org/10.1161/circulationaha.111.069153>
- Meyer, V. R. (2004). *Praxis der Hochleistungs-Flüssigkeitschromatografie* (9th ed.). Wiley-VCH GmbH, Weinheim.

- Mielke, H., Partosch, F., & Gundert-Remy, U. (2011). The contribution of dermal exposure to the internal exposure of bisphenol A in man. *Toxicology Letters*, 204(2), 190-198. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2011.04.032>
- Moid AlAmmari, A., Rizwan Khan, M., & Aqel, A. (2020). Trace identification of endocrine-disrupting bisphenol A in drinking water by solid-phase extraction and ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of King Saud University - Science*, 32(2), 1634-1640. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jksus.2019.12.022>
- Moriyama, K., Tagami, T., Akamizu, T., Usui, T., Saijo, M., Kanamoto, N., Hataya, Y., Shimatsu, A., Kuzuya, H., & Nakao, K. (2002). Thyroid hormone action is disrupted by bisphenol A as an antagonist. *J Clin Endocrinol Metab*, 87(11), 5185-5190. <https://doi.org/10.1210/jc.2002-020209>
- Nachman, R. M., Fox, S. D., Golden, W. C., Sibinga, E., Groopman, J. D., & Lees, P. S. J. (2015). Serial Free Bisphenol A and Bisphenol A Glucuronide Concentrations in Neonates. *The Journal of Pediatrics*, 167(1), 64-69. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2015.03.036>
- Niu, Y., Wang, B., Yang, R., Wu, Y., Zhao, Y., Li, C., Zhang, J., Xing, Y., & Shao, B. (2021). Bisphenol Analogues and Their Chlorinated Derivatives in Breast Milk in China: Occurrence and Exposure Assessment. *J Agric Food Chem*, 69(4), 1391-1397. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c06938>
- Nomiri, S., Hoshyar, R., Ambrosino, C., Tyler, C. R., & Mansouri, B. (2019). A mini review of bisphenol A (BPA) effects on cancer-related cellular signaling pathways. *Environ Sci Pollut Res Int*, 26(9), 8459-8467. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04228-9>
- NTP. (2021). *NTP Research Report on the Consortium Linking Academic and Regulatory Insights on Bisphenol A Toxicity (CLARITY-BPA): A Compendium of Published Findings*. National Toxicology Program. [https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/results/pubs/rr/reports/rr18\\_508.pdf](https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/results/pubs/rr/reports/rr18_508.pdf)
- NUK. (2022). *FAQ: Eltern fragen - NUK antwortet*. [https://www.nuk.de/de\\_de/rat-hilfe/fragen-antworten](https://www.nuk.de/de_de/rat-hilfe/fragen-antworten) - zitiert am 06.03.2022
- NZZ Format. (2008). *Latex: Kostbare Milch vom Gummibaum von NZZ Format*. <https://www.youtube.com/watch?v=OlpJ2FwoO74>, - zitiert am 12.03.2022
- Oca, M. L., Ortiz, M. C., Herrero, A., & Sarabia, L. A. (2013). Optimization of a GC/MS procedure that uses parallel factor analysis for the determination of bisphenols and their diglycidyl ethers after migration from polycarbonate tableware. *Talanta*, 106, 266-280. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.10.086>
- Oehlmann, J., Schulte-Oehlmann, U., Bachmann, J., Oetken, M., Lutz, I., Kloas, W., & Ternes, T. A. (2006). Bisphenol A induces superfeminization in the ramshorn snail *Marisa cornuarietis* (Gastropoda: Prosobranchia) at environmentally

relevant concentrations. *Environ Health Perspect*, 114 Suppl 1, 127-133. <https://doi.org/10.1289/ehp.8065>

- Orzel, J., & Swit, P. (2021). Comparison of Quantitative Detection Methods Based on Molecular Fluorescence Spectroscopy and Chromatographic Techniques Used for the Determination of Bisphenol Compounds. *Int J Mol Sci*, 22(19). <https://doi.org/10.3390/ijms221910569>
- Otto, M. (2019). *Analytische Chemie* (5th ed.). Wiley-VCH, Weinheim.
- Padilla, M., Palma, M., & Barroso, C. G. (2005). Determination of phenolics in cosmetic creams and similar emulsions. *J Chromatogr A*, 1091(1-2), 83-88. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.07.041>
- Pham, H. Q., & Marks, M. J. (2005). Epoxy Resins. In *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. [https://doi.org/https://doi.org/10.1002/14356007.a09\\_547.pub2](https://doi.org/https://doi.org/10.1002/14356007.a09_547.pub2)
- Polydorou, O., Huberty, C., Wolkewitz, M., Bolek, R., Hellwig, E., & Kümmerer, K. (2012). The effect of storage medium on the elution of monomers from composite materials. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 100B(1), 68-74. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jbm.b.31923>
- Qiu, Y., Xia, Z., Li, G., Yu, Q., Lu, J., & Li, Y. (2019). Rapid supercritical fluid chromatography analysis for 18 phthalate esters and bisphenol A in dairy products. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 592(1), 012015. <https://doi.org/10.1088/1757-899x/592/1/012015>
- Richter, L., & Simat, T. J. (2010). *Bisphenol A in Beruhigungssaugern? (Posterpräsentation auf dem 39. Deutscher Lebensmittelchemikertag in Stuttgart-Hohenheim vom 20. - 22.09.2010)*. TU Dresden (Fakultät für Mathematik und Naturwissenschaften - Professur für Lebensmittelkunde und Bedarfsgegenstände). <https://www.chm.tu-dresden.de/lc2/dateien/Poster2-BPA,Altpapier.pdf>
- Rochester, J. R. (2013). Bisphenol A and human health: a review of the literature. *Reprod Toxicol*, 42, 132-155. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2013.08.008>
- Rochester, J. R., & Bolden, A. L. (2015). Bisphenol S and F: A Systematic Review and Comparison of the Hormonal Activity of Bisphenol A Substitutes. *Environmental Health Perspectives*, 123(7), 643-650. <https://doi.org/10.1289/ehp.1408989>
- Rothmund, L., Shehata, M., Van Landuyt, K. L., Schweikl, H., Carell, T., Geurtsen, W., Hellwig, E., Hickel, R., Reichl, F. X., & Högg, C. (2015). Release and protein binding of components from resin based composites in native saliva and other extraction media. *Dent Mater*, 31(5), 496-504. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2015.01.016>
- Russo, G., Barbato, F., Cardone, E., Fattore, M., Albrizio, S., & Grumetto, L. (2018). Bisphenol A and Bisphenol S release in milk under household conditions from



baby bottles marketed in Italy. *J Environ Sci Health B*, 53(2), 116-120. <https://doi.org/10.1080/03601234.2017.1388662>

- Salgueiro-González, N., Muniategui-Lorenzo, S., López-Mahía, P., & Prada-Rodríguez, D. (2017). Trends in analytical methodologies for the determination of alkylphenols and bisphenol A in water samples. *Analytica Chimica Acta*, 962, 1-14. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.01.035>
- SCF. (1986). *Certain monomers and other starting substances to be used in the manufacture of plastic materials and articles intended to come into contact with foodstuffs*. Scientific Committee for Food. [https://ec.europa.eu/food/system/files/2020-12/sci-com\\_scf\\_reports\\_17.pdf](https://ec.europa.eu/food/system/files/2020-12/sci-com_scf_reports_17.pdf)
- SCF. (2002). *Opinion of the Scientific Committee on Food on Bisphenol A*. Scientific Committee on Food. [https://ec.europa.eu/food/system/files/2020-12/sci-com\\_scf\\_out128\\_en.pdf](https://ec.europa.eu/food/system/files/2020-12/sci-com_scf_out128_en.pdf)
- Schmidt, T. C., Petersmann, M., Kaminski, L., von Löw, E., & Stork, G. (1997). Analysis of aminobenzoic acids in waste water from a former ammunition plant with HPLC and combined diode array and fluorescence detection. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 357(1), 121-126. <https://doi.org/10.1007/s002160050124>
- Schug, T. T., Janesick, A., Blumberg, B., & Heindel, J. J. (2011). Endocrine disrupting chemicals and disease susceptibility. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 127(3-5), 204-215. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2011.08.007>
- Schwedt, G. (1995). *Analytische Chemie - Grundlagen, Methoden und Praxis* (1st ed.). Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- Schwendicke, F., Elhennawy, K., Reda, S., Bekes, K., Manton, D. J., & Krois, J. (2018). Global burden of molar incisor hypomineralization. *J Dent*, 68, 10-18. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2017.12.002>
- Shankar, A., Teppala, S., & Sabanayagam, C. (2012). Bisphenol A and peripheral arterial disease: results from the NHANES. *Environ Health Perspect*, 120(9), 1297-1300. <https://doi.org/10.1289/ehp.1104114>
- Shen, Y., Zheng, Y., Jiang, J., Liu, Y., Luo, X., Shen, Z., Chen, X., Wang, Y., Dai, Y., Zhao, J., Liang, H., Chen, A., & Yuan, W. (2015). Higher urinary bisphenol A concentration is associated with unexplained recurrent miscarriage risk: evidence from a case-control study in eastern China. *PLoS One*, 10(5), e0127886-e0127886. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127886>
- Silva, M. J., Scurrah, K. J., Craig, J. M., Manton, D. J., & Kilpatrick, N. (2016). Etiology of molar incisor hypomineralization - A systematic review. *Community Dent Oral Epidemiol*, 44(4), 342-353. <https://doi.org/10.1111/cdoe.12229>
- Simoneau, C., Van den Eede, L., & Valzacchi, S. (2012). Identification and quantification of the migration of chemicals from plastic baby bottles used as substitutes for

- polycarbonate. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 29(3), 469-480. <https://doi.org/10.1080/19440049.2011.644588>
- Statistisches Bundesamt. (2009). *Produktion im Produzierenden Gewerbe*. [www.genesis.destatis.de](http://www.genesis.destatis.de) - Abrufdatum: 12.02.2022
- Suga, S. (1989). Enamel hypomineralization viewed from the pattern of progressive mineralization of human and monkey developing enamel. *Adv Dent Res*, 3(2), 188-198. <https://doi.org/10.1177/08959374890030021901>
- Sugiura-Ogasawara, M., Ozaki, Y., Sonta, S., Makino, T., & Suzumori, K. (2005). Exposure to bisphenol A is associated with recurrent miscarriage. *Hum Reprod*, 20(8), 2325-2329. <https://doi.org/10.1093/humrep/deh888>
- Sun, F., Kang, L., Xiang, X., Li, H., Luo, X., Luo, R., Lu, C., & Peng, X. (2016). Recent advances and progress in the detection of bisphenol A. *Anal Bioanal Chem*, 408(25), 6913-6927. <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9791-6>
- Sun, Y., Nakashima, M. N., Takahashi, M., Kuroda, N., & Nakashima, K. (2002). Determination of bisphenol A in rat brain by microdialysis and column switching high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Biomed Chromatogr*, 16(5), 319-326. <https://doi.org/10.1002/bmc.161>
- Tichy, A., Simkova, M., Schweiger, J., Bradna, P., & Guth, J. F. (2021). Release of Bisphenol A from Milled and 3D-Printed Dental Polycarbonate Materials. *Materials (Basel)*, 14(19). <https://doi.org/10.3390/ma14195868>
- Todd, J. F. J. (1991). Recommendations for nomenclature and symbolism for mass spectroscopy (including an appendix of terms used in vacuum technology). (Recommendations 1991). *Pure and Applied Chemistry*, 63(10), 1541-1566. <https://doi.org/doi:10.1351/pac199163101541>
- Tohmé, M., Prud'homme, S. M., Boulahtouf, A., Samarut, E., Brunet, F., Bernard, L., Bourguet, W., Gibert, Y., Balaguer, P., & Laudet, V. (2014). Estrogen-related receptor  $\gamma$  is an in vivo receptor of bisphenol A. *Faseb j*, 28(7), 3124-3133. <https://doi.org/10.1096/fj.13-240465>
- Tominaga, T., Negishi, T., Hirooka, H., Miyachi, A., Inoue, A., Hayasaka, I., & Yoshikawa, Y. (2006). Toxicokinetics of bisphenol A in rats, monkeys and chimpanzees by the LC-MS/MS method. *Toxicology*, 226(2-3), 208-217. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2006.07.004>
- Tschersich, C., Murawski, A., Schwedler, G., Rucic, E., Moos, R. K., Kasper-Sonnenberg, M., Koch, H. M., Brüning, T., & Kolossa-Gehring, M. (2021). Bisphenol A and six other environmental phenols in urine of children and adolescents in Germany – human biomonitoring results of the German Environmental Survey 2014–2017 (GerES V). *Science of The Total Environment*, 763, 144615. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144615>

- Umweltbundesamt. (2010). *Bisphenol A - Massenchemikalie mit unerwünschten Nebenwirkungen*. Umweltbundesamt. [http://www.umweltbundesamt.de/uba-info-medien/mysql\\_medien.php?anfrage=Kennnummer&Suchwort=3782](http://www.umweltbundesamt.de/uba-info-medien/mysql_medien.php?anfrage=Kennnummer&Suchwort=3782)
- Umweltbundesamt. (2022). *Bisphenol A*. <https://www.umweltbundesamt.de/themen/chemikalien/chemikalien-reach/stoffgruppen/bisphenol-a#was-ist-bisphenol-a>
- Van Landuyt, K. L., Nawrot, T., Geebelen, B., De Munck, J., Snauwaert, J., Yoshihara, K., Scheers, H., Godderis, L., Hoet, P., & Van Meerbeek, B. (2011). How much do resin-based dental materials release? A meta-analytical approach. *Dent Mater*, 27(8), 723-747. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2011.05.001>
- Vandenberg, L. N. (2013). Non-Monotonic Dose Responses in Studies of Endocrine Disrupting Chemicals: Bisphenol a as a Case Study. *Dose-Response*, 12(2), dose-response.13-020.Vandenberg. <https://doi.org/10.2203/dose-response.13-020.Vandenberg>
- Vandenberg, L. N., Maffini, M. V., Sonnenschein, C., Rubin, B. S., & Soto, A. M. (2009). Bisphenol-A and the great divide: a review of controversies in the field of endocrine disruption. *Endocrine Reviews*, 30(1), 75-95. <https://doi.org/10.1210/er.2008-0021>
- Vicente-Martinez, Y., Caravaca, M., & Soto-Meca, A. (2020). Determination of Very Low Concentration of Bisphenol A in Toys and Baby Pacifiers Using Dispersive Liquid-Liquid Microextraction by In Situ Ionic Liquid Formation and High-Performance Liquid Chromatography. *Pharmaceuticals (Basel)*, 13(10). <https://doi.org/10.3390/ph13100301>
- Völkel, W., Colnot, T., Csanady, G. A., Filser, J. G., & Dekant, W. (2002). Metabolism and kinetics of bisphenol a in humans at low doses following oral administration. *Chem Res Toxicol*, 15(10), 1281-1287. <https://doi.org/10.1021/tx025548t>
- Vom Saal, F. S., & Vandenberg, L. N. (2021). Update on the Health Effects of Bisphenol A: Overwhelming Evidence of Harm. *Endocrinology*, 162(3). <https://doi.org/10.1210/endocr/bqaa171>
- Walther, H., Subbaraman, L. N., & Jones, L. (2019). Efficacy of Contact Lens Care Solutions in Removing Cholesterol Deposits From Silicone Hydrogel Contact Lenses. *Eye Contact Lens*, 45(2), 105-111. <https://doi.org/10.1097/icl.0000000000000547>
- Wang, H., Zou, Y., Li, C., Wang, W., Zhang, M., Dahlgren, R. A., & Wang, X. (2013). Fluorescence characteristics of bisphenol A in room temperature ionic liquids. *J Fluoresc*, 23(6), 1157-1165. <https://doi.org/10.1007/s10895-013-1246-2>
- Wang, J., Cai, Z., Zhang, J., Hu, Z., Han, J., Feng, L., Zhang, N., Lu, Y., & Zhang, J. (2020). Simultaneous determination of nine bisphenol migrations in products related to sanitary and safety of drinking water by auto-solid phase extraction and ultra-performance liquid chromatography with photodiode array and

fluorescence detector. *SN Applied Sciences*, 2(3), 479.  
<https://doi.org/10.1007/s42452-020-2241-2>

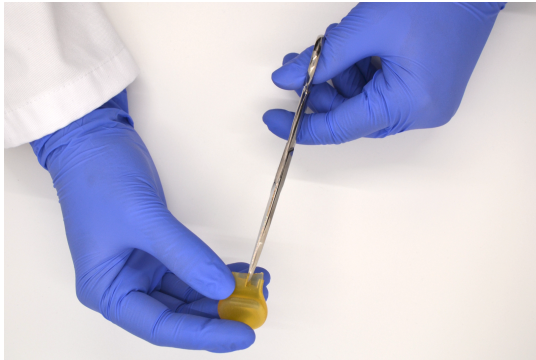
- Watanabe, T., Yamamoto, H., Inoue, K., Yamaguchi, A., Yoshimura, Y., Kato, K., Nakazawa, H., Kuroda, N., & Nakashima, K. (2001). Development of sensitive high-performance liquid chromatography with fluorescence detection using 4-(4,5-diphenyl-1H-imidazol-2-yl)-benzoyl chloride as a labeling reagent for determination of bisphenol A in plasma samples. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 762(1), 1-7. [https://doi.org/10.1016/s0378-4347\(01\)00287-0](https://doi.org/10.1016/s0378-4347(01)00287-0)
- Wedekind, L., Guth, J. F., Schweiger, J., Kollmuss, M., Reichl, F. X., Edelhoff, D., & Hogg, C. (2021). Elution behavior of a 3D-printed, milled and conventional resin-based occlusal splint material. *Dent Mater*, 37(4), 701-710. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2021.01.024>
- Wellmitz, J., & Gluschke, M. (2005). *Leitlinie zur Methodvalidierung im BLMP*. <https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/publikation/long/2832.pdf>
- Welshons, W. V., Nagel, S. C., & vom Saal, F. S. (2006). Large effects from small exposures. III. Endocrine mechanisms mediating effects of bisphenol A at levels of human exposure. *Endocrinology*, 147(6 Suppl), S56-69. <https://doi.org/10.1210/en.2005-1159>
- WHO. (2002). *Global assessment on the state of the science of endocrine disruptors*. World Health Organization (International Programme on Chemical Safety). <https://apps.who.int/iris/handle/10665/67357>
- WHO. (2011). *Joint FAO/WHO expert meeting to review toxicological and health aspects of bisphenol A : final report, including report of stakeholder meeting on bisphenol A, 1st-5th November 2010, Ottawa, Canada (97892141564274)*. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44624>
- Xin, F., Fischer, E., Krapp, C., Krizman, E. N., Lan, Y., Mesaros, C., Snyder, N. W., Bansal, A., Robinson, M. B., Simmons, R. A., & Bartolomei, M. S. (2018). Mice exposed to bisphenol A exhibit depressive-like behavior with neurotransmitter and neuroactive steroid dysfunction. *Horm Behav*, 102, 93-104. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2018.05.010>
- Xu, X., Fan, S., Guo, Y., Tan, R., Zhang, J., Zhang, W., Pan, B. X., & Kato, N. (2019). The effects of perinatal bisphenol A exposure on thyroid hormone homeostasis and glucose metabolism in the prefrontal cortex and hippocampus of rats. *Brain Behav*, 9(3), e01225. <https://doi.org/10.1002/brb3.1225>
- Zhang, G. L., Zhang, X. F., Feng, Y. M., Li, L., Huynh, E., Sun, X. F., Sun, Z. Y., & Shen, W. (2013). Exposure to bisphenol A results in a decline in mouse spermatogenesis. *Reprod Fertil Dev*, 25(6), 847-859. <https://doi.org/10.1071/RD12159>

Zincke, T. (1905). Über die Einwirkung von Brom und von Chlor auf Phenole: Substitutionsprodukte, Pseudobromide und Pseudochloride. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, 343, 75-99.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jlac.19053430106>

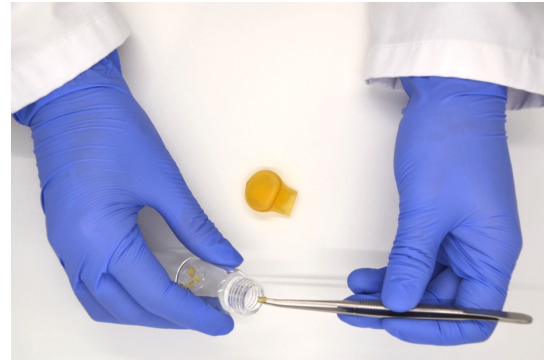
Zulkifli, S., Rahman, A. A., Kadir, S., & Nor, N. S. M. (2021). Bisphenol A and its effects on the systemic organs of children. *Eur J Pediatr*, 180(10), 3111-3127.  
<https://doi.org/10.1007/s00431-021-04085-0>

# Anhang

## Anhang 1: Eigene Bildaufnahmen zur Migrationsprobenherstellung



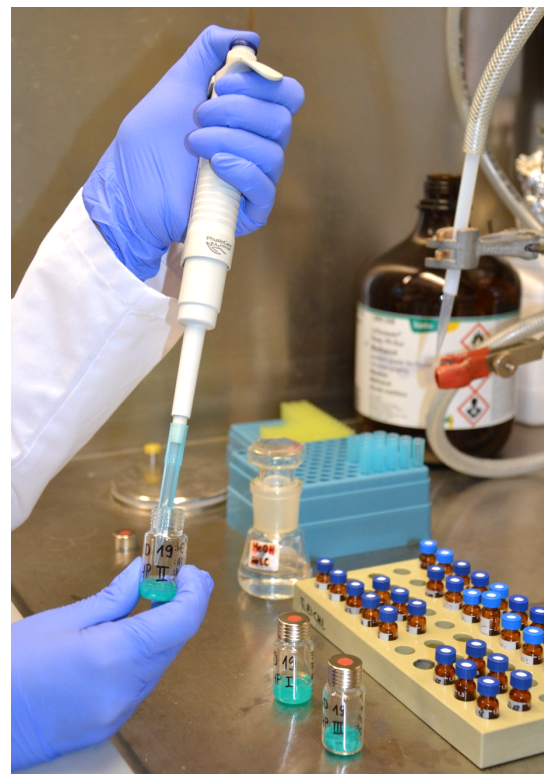
1.1 Zertrennen eines Saugers



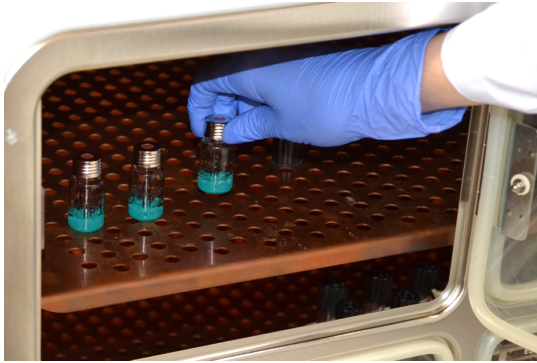
1.2 Einfüllen der Saugerpartikel



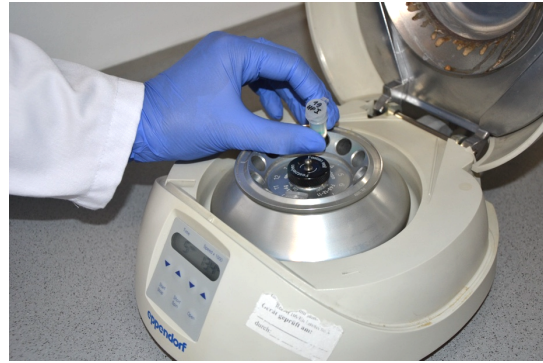
1.3 Einwaage mit Analysenwaage



1.4 Zugabe von Methanol



**1.5 Einstellen in den CO<sub>2</sub>-Inkubator**



**1.6 Zentrifugation einer Probe**



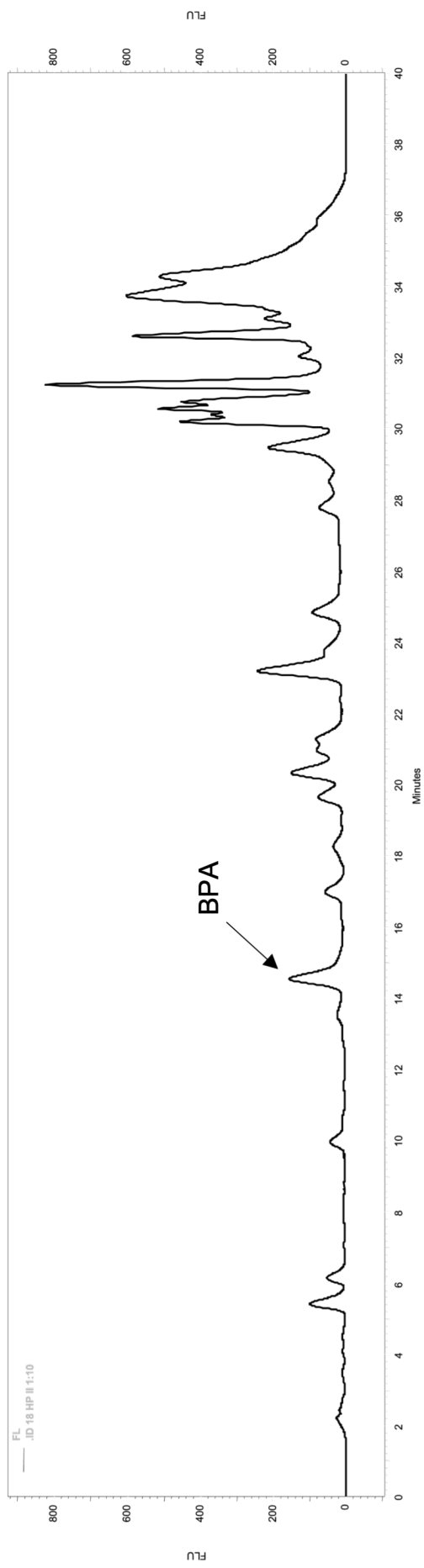
**1.7 Migrationsproben der Schildanteile aus Hartkunststoff und Kautschuk**



**1.8 Migrationsproben der Saugeranteile aus Silikon und Kautschuk**

*Quelle: Eigene Aufnahmen*

## Anhang 2: Chromatogramme der Hochleistungsflüssigkeitschromatografie-(HPLC)-Messungen von Migrationsproben



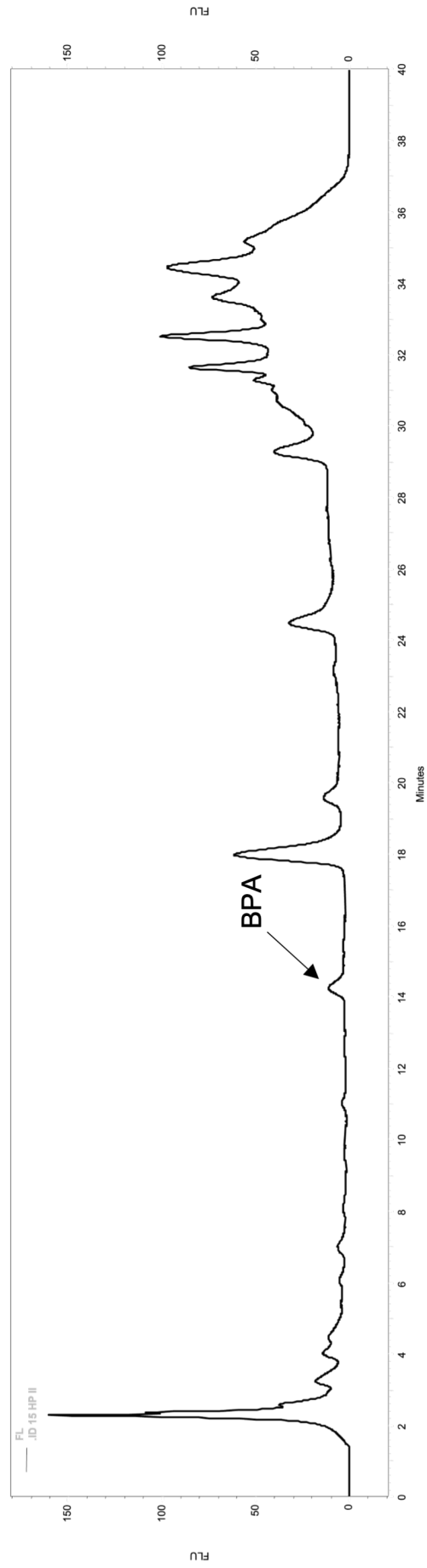
### 2.1 Chromatogramm einer Messung der Migrationsprobe ID 6<sub>Sc</sub> (1:10 verdünnt)

x-Achse: Laufzeit [min], y-Achse: Absorptionseinheit

Pfeil und Beschriftung markieren den Peak, der durch Abgleich der Retentionszeit Bisphenol A (BPA) zugeordnet werden konnte.

Quelle: Export aus EZ-Chrom Elite-Software





## 2.2 Chromatogramm einer Messung der Migrationsprobe ID 4<sub>sc</sub>

x-Achse: Laufzeit [min], y-Achse: Absorptionseinheit

Pfeil und Beschriftung markieren den Peak, der durch Abgleich der Retentionszeit Bisphenol A (BPA) zugeordnet werden konnte.

Quelle: Export aus EZ-Chrom Elite-Software

# Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Dr. Franz-Xaver Reichl für die Überlassung des Themas und die fachliche Betreuung bedanken. Er machte diese Dissertation erst möglich und hat mich bei der Erarbeitung stets durch seine Ideen und Hilfestellungen vorangebracht. Ich durfte ihn mit seiner begeisterungsfähigen Art bereits im Studium kennenlernen und habe mich sehr gefreut, eine durch ihn betreute Forschungsarbeit umsetzen zu können.

Ein besonderer Dank gilt auch den beiden anderen Mitgliedern meiner Betreuungskommission, Herrn PD Dr. Burkhard Summer und Herrn Prof. Dr. Peter Thomas, ohne ihre Unterstützung hätte ich die Dissertation keinesfalls so zielgerichtet und strukturiert fertigstellen können.

Bei meinem Betreuer, Herrn PD Dr. Christof Högg, möchte ich mich insbesondere für die fachliche und persönliche Unterstützung in zahlreichen Diskussionen bedanken. Nur durch seine große Expertise in der Analytik war es mir möglich, das theoretische Grundwissen zu den Methoden dieser Studie zu erlangen und so die Laborversuche selbstständig durchführen zu können.

Des Weiteren gilt mein Dank Herrn Stefan Schulz, der mich bei der Versuchsdurchführung im Labor unterstützte und wichtige Vorarbeit leistete.

Beim Klinikum der Universität München möchte ich mich für die finanzielle Unterstützung durch das Promotionsstipendium bedanken, ohne diese Unterstützung wäre die Arbeit an der Dissertation in Vollzeit nicht möglich gewesen.

Bei meiner Familie und meinen Freunden, allen voran Karin, Stefan W. und Stefan G., bedanke ich mich herzlich für die große Unterstützung während des Studiums und der Arbeit an dieser Dissertation.

Ein ganz besonderer Dank gilt meiner Mama. Sie hat alle bisherigen Hürden gemeinsam mit mir genommen und mich mit ihrer bedingungslosen Liebe zu jeder Zeit unterstützt. Aus diesem Grund möchte ich diese Arbeit ihr, meinem Bruder und meinem verstorbenen Papa mit ganz viel Liebe widmen.

# Eidesstattliche Versicherung

Ich, Lena Herwanger, erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel

**„Experimentelle Untersuchung zur Bisphenol-A-Migration aus  
Beruhigungssaugern und Bewertung des potenziellen  
Gesundheitsrisikos für Säuglinge und Kleinkinder“**

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe. Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 17.11.2022

Lena Herwanger

## **Publikationen**

Ein Manuskript für einen Fachartikel mit den Ergebnissen dieser Dissertation wird aktuell erstellt und zeitnah bei einem peer-reviewed Journal zur Begutachtung eingereicht.