

**BISPHENOL A UND
BISPHENOL A-DIGLYCIDYLETHER (BADGE)
ALS EXTRACTABLES / LEACHABLES
AUS ALUMINIUMTUBEN FÜR DEN
PHARMAZEUTISCHEN GEBRAUCH**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat.)

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

vorgelegt von

Jan Boris Haverkamp

aus Münster (Westf.)

Bonn 2009

Angefertigt mit Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Diese Dissertation ist auf dem Hochschulschriftenserver der ULB Bonn unter http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss_online elektronisch publiziert.

Erscheinungsjahr: 2010

1. Gutachter: Prof. Dr. R. Galensa

2. Gutachter: Prof. Dr. K.-J. Steffens

Tag des Promotionskolloquiums: 18. Juni 2010

Quality is never an accident. It is always the result of intelligent effort.

(John Ruskin, 1819 – 1900)

Danksagung

Der praktische Teil der vorliegenden Arbeit wurde in der Zeit von April 2005 bis Dezember 2008 unter der Leitung von Herrn Professor Dr. Rudolf Galensa im Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) in Bonn durchgeführt. Viele Menschen haben wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen. In diesem Sinne danke ich

- meinem Doktorvater, Herrn **Professor Dr. R. Galensa**, für die Betreuung und Unterstützung dieser Arbeit. Die mir gewährten Freiräume, das entgegengebrachte Vertrauen sowie die angenehme Atmosphäre unserer Treffen habe ich besonders zu schätzen gewusst. Für den konstruktiven Austausch bin ich sehr dankbar.
- meinen Betreuern im BfArM, Herrn **Dr. U. Lipke**, Frau **Dr. C. Lipperheide**, Frau **Dr. G. Seifert** und Herrn **Dr. T. Zapf**, für die Initiierung des interessanten Forschungsprojektes, welches meine Begeisterung für analytisches Arbeiten und Qualitätsaspekte von Arzneimitteln bestärkte. Sie brachten mir stets großes Vertrauen entgegen und gaben mir die Chance zu selbständigem, eigenverantwortlichen Arbeiten. Insbesondere Frau **Dr. Lipperheide** und Herrn **Dr. Lipke** danke ich für ihr außergewöhnliches Engagement: die intensiven – sowohl kritischen als auch konstruktiv geführten – Diskussionen haben die Arbeit stetig vorangetrieben. Nicht unerwähnt bleiben soll die freundschaftliche Atmosphäre und die gute ‚Bewirtung‘ bei unseren unzähligen Treffen.
- Herrn **Professor Dr. K.-J. Steffens** für die freundlichen Gespräche und die Übernahme des Korreferates. Frau **Professor Dr. C. E. Müller** und Herrn **Priv.-Doz. Dr. F. Marx** für die Mitwirkung in der Prüfungskommission.
- allen **Kolleginnen und Kollegen im BfArM** – insbesondere der Fachgebiete 45, 65 sowie des ehemaligen Fachgebiets 315 – für die freundliche Aufnahme und das angenehme Arbeitsklima.
- Herrn **A. Derscheid**, Frau **A. Dittmer**, Herrn **V. Ebert**, Frau **J. Flechtner-Stahl**, Frau **K. Grieger**, Frau **B. Jacobsen** und Herrn **J. Wutzke** für ihre Unterstützung und Hilfsbereitschaft im Labor.
- Herrn **Professor Dr. H.-P. Helfrich** und Herrn **Priv.-Doz. Dr. H. Arndt** für das offene Ohr bei mathematischen Fragestellungen.

II | DANKSAGUNG

- meinen ‚Leidensgenossinnen‘ Frau **Dr. I. Koch**, Frau **M. Martin**, Frau **A.-L. Reiners** und Frau **C. Weiß** für den netten Gedankenaustausch sowie die gegenseitige Motivation und Unterstützung.
- dem **AK Galensa** für die freundliche Aufnahme.
- meinen **Eltern**, die mir den Weg zur Promotion ermöglicht, mich immer unterstützt und an meine Fähigkeiten geglaubt haben. Meiner Mutter danke ich des Weiteren für das akribische Korrekturlesen. Meinem Vater, der den Abschluss dieser Arbeit leider nicht mehr erleben durfte, danke ich für seine Vorbildfunktion, besonders auch in Bezug auf wissenschaftliches Arbeiten.
- meiner Frau **Andrea** für ihre endlose Geduld, ihr Verständnis und dafür, dass sie mich während der gesamten Promotionszeit unterstützt und immer wieder motiviert hat.
- allen, die aus Bescheidenheit nicht genannt werden möchten respektive deren Erwähnung ich an dieser Stelle vergessen habe.

Abkürzungsverzeichnis

ABI.	Amtsblatt
ACD	<i>Allergic Contact Dermatitis</i> , allergische Kontaktdermatitis
ACN	Acetonitril
AFC	<i>Panel on Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food</i> , Wissenschaftliches Gremium für Lebensmittelzusatzstoffe, Aromastoffe, Verarbeitungshilfsstoffe und Materialien, die mit Lebensmitteln in Berührung kommen
AMG	Arzneimittelgesetz
ASE	<i>Accelerated Solvent Extraction</i> , beschleunigte Lösungsmittelextraktion
ATR	<i>Attenuated Total Reflectance / Reflection</i> , abgeschwächte Totalreflexion
BADGE	2,2-Bis-[4-(2,3-epoxypropoxy)phenyl]propan, Bisphenol A-Diglycidylether
BADGE·2HCl	Bisphenol A-bis(3-chloro-2-hydroxypropyl)ether
BADGE·2H₂O	Bisphenol A-bis(2,3-dihydroxypropyl)ether
BADGE·H₂O	2-[4-(2,3-Epoxypropoxy)phenyl]-2-[4-(2,3-dihydroxypropoxy)phenyl]propan
BADGE·HCl	2-[4-(2,3-Epoxypropoxy)phenyl]-2-[4-(3-chloro-2-hydroxypropoxy)phenyl]propan
BADGE·HCl·H₂O	2-[4-(2,3-Dihydroxypropoxy)phenyl]-2-[4-(3-chloro-2-hydroxypropoxy)phenyl]propan
BADHPE	Bisphenol A-di-3-hydroxypropylether
BfArM	Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte
BFDGE	Bis-[4-(2,3-epoxypropoxy)phenyl]methan, Bisphenol F-Diglycidylether
BgVV	Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin
bis-GMA	Bisphenol A-glycidylmethacrylat
BP	<i>British Pharmacopoeia</i> , Britische Pharmakopöe
BPA	2,2-Bis(4-hydroxyphenyl)propan, Bisphenol A
CE	<i>Capillary Electrophoresis</i> , Kapillarelektrophorese
CHMP	<i>Committee for Medicinal Products for Human Use</i>
CL	Chemolumineszenz
CoA	<i>Certificate of Analysis</i> , Analysenzertifikat
CPMP	<i>Committee for Proprietary Medicinal Products</i>
CVMP	<i>Committee for Medicinal Products for Veterinary Use</i>
DAB	Deutsches Arzneibuch
DAC	Deutscher Arzneimittelcodex
DAD	Diodenarraydetektor / -detektion
DGEBA / DGEBPA	<i>Diglycidyl Ether of Bisphenol A</i> (entspricht BADGE)
DIN	Deutsches Institut für Normung e. V.

IV | ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i> , Desoxyribonukleinsäure
ECD	Elektrochemische(r) Detektion / Detektor
EDQM	<i>European Directorate for the Quality of Medicines & Healthcare</i> , Europäisches Direktorat für die Qualität von Arzneimitteln
EEDC	<i>Estrogen-like Endocrine Disrupting Chemicals</i> , Estrogenartige, endokrine Disruptoren
EEW	<i>Epoxide Equivalent Weight</i> , Epoxidäquivalentgewicht
EFSA	<i>European Food Safety Authority</i> , Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit
EG	Europäische Gemeinschaft
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i> , Enzymgebundener Immunoassay
EMA	<i>European Medicines Agency</i> , Europäische Arzneimittelagentur
ESI	<i>Electrospray Ionization</i> , Elektrospray-Ionisierung
ETMA	<i>European Tube Manufacturers Association</i>
EtOH	Ethanol
EVA	Ethylvinylacetat
EWG	Europäische Wirtschaftsgemeinschaft
FDA	<i>U.S. Food and Drug Administration</i> , US-amerikanische Behörde für Lebensmittel- und Arzneimittelsicherheit
FLD	Fluoreszenzdetektor / -detektion
FSL	<i>Food Simulating Liquid</i> , Lebensmittel-Simulanzlösemittel
FTIR	Fourier-Transformations-Infrarot-Spektrometrie
GC	Gaschromatographie
HDPE	<i>High-Density Polyethylene</i> , Polyethylen hoher Dichte
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i> , Hochleistungsflüssigchromatographie
ICH	<i>The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use</i>
IPA	Isopropylalkohol, 2-Propanol
IR	Infrarot
ISTD	Interner Standard
LC	<i>Liquid Chromatography</i> , Flüssigchromatographie
LLE	<i>Liquid Liquid Extraction</i> , Flüssig-Flüssig-Extraktion
LOD	<i>Limit of Detection</i> , Nachweisgrenze
LOQ	<i>Limit of Quantitation</i> , Bestimmungsgrenze
m/z	Masse/Ladung-Verhältnis
MAE	<i>Microwave-assisted Extraction</i> , Mikrowellenunterstützte Extraktion
MeOH	Methanol

MS	Massenspektrometrie / Massenspektrometer
MSD	Massenspektrometrische(r) Detektion / Detektor
MSPD	<i>Matrix Solid Phase Dispersion</i> , Matrix-Festphasendispersion
n.d.	nicht detektierbar bzw. Wert < LOD
NAVp	Normenausschuss Verpackungswesen
NRF	Neues Rezeptur-Formularium
O/W	Öl in Wasser
p.a.	<i>pro analysi</i> , zur Analyse
PC	Polycarbonat
PE	Polyethylen
PEG	Polyethylenglykol, Macrogol
PET	Polyethylenterephthalat
Ph.Eur.	<i>Pharmacopoea Europaea</i> , Europäisches Arzneibuch
PP	Polypropylen
PPAR	<i>Peroxisome Proliferator Activated Receptors</i> , Peroxisom-Proliferator-aktivierter Rezeptor
puriss.	<i>purissimum</i> , reinst
PVC	Polyvinylchlorid
QM	höchstzulässiger Restgehalt des Stoffes im Bedarfsgegenstand
QWP	<i>Joint CHMP/CVMP Quality Working Party</i> , Arbeitsgruppe für Qualität
RP	<i>Reversed Phase</i> , Umkehrphase
rpm	<i>Revolutions per Minute</i> , Umdrehungen pro Minute
RSD	<i>Relative Standard Deviation</i> , relative Standardabweichung
RT	Raumtemperatur
S/N	<i>Signal/Noise</i> , Signal/Rausch-Verhältnis
SBSE	<i>Stir Bar Sorptive Extraction</i> , Magnetrührstab-Sorptions-Extraktion
SE	<i>Solvent Extraction</i> , Flüssigextraktion
SEC	<i>Size Exclusion Chromatography</i> , Größenausschluss-Chromatographie
SIM	<i>Single Ion Monitoring</i> , Einzelionenüberwachung
SML	<i>Specific Migration Limit</i> , spezifischer Migrationsgrenzwert
SPE	<i>Solid Phase Extraction</i> , Festphasenextraktion
SPME	<i>Solid Phase Microextraction</i> , Festphasenmikroextraktion
tBME	<i>tert</i> -Butylmethylether
UVD	Ultraviolett-detektor / -detektion
TIC	<i>Total Ion Current</i> , Totalionenstrom
W/O	Wasser in Öl

Symbolverzeichnis

c	Konzentration
k	Boltzmann-Konstante
m	Menge
n	Anzahl / Stichprobenumfang
n_D	Brechungsindex
r	Radius
s^2	Varianz
s_{x0}	Verfahrensstandardabweichung
s_y	Reststandardabweichung
t	Zeit / Dauer
$t_{f;\alpha}$	Quantil der t-Verteilung
t_R	Retentionszeit
x	Abstand
\bar{x}	arithmetischer Mittelwert
A	Fläche
D	Diffusionskoeffizient
K	Verteilungskoeffizient
P'	Umkehrphasenpolarität
Q_x	Summe der Abweichungsquadrate von \bar{x}
R^2	Bestimmtheitsmaß
T	Temperatur
V_{k0}	Verfahrensvariationskoeffizient, relative Verfahrensstandardabweichung
\emptyset	arithmetischer Mittelwert
δ	Deformationsschwingung
ε^0	Elutionsstärke
η	Viskosität
$\lambda_{EX}, \lambda_{EM}$	Anregungs-, Emissionswellenlänge
ν	Valenzschwingung
$\tilde{\nu}$	Wellenzahl
ρ	Dichte
φ	Benzenring

Inhaltsverzeichnis

Danksagung	I
Abkürzungsverzeichnis	III
Symbolverzeichnis	VI
Inhaltsverzeichnis	VII
1 Einleitung	1
1.1 Packmittel – Aluminiumtube	1
1.2 Epoxidharze	2
1.3 Interaktionen Packmittel – Arzneimittel	5
1.4 Bisphenol A-Diglycidylether (BADGE)	8
1.5 Bisphenol A (BPA)	10
1.6 Rechtliche Rahmenbedingungen	11
1.7 Bisherige Arbeiten	16
1.8 Problemstellung	21
2 Tubenakquise – Physikochemische Vorprüfungen	23
2.1 Identitätsprüfung via ATR-FTIR	23
2.2 Bestimmung der Polymerisation	26
2.3 Porositätsmessung / Lackporentest	26
2.4 Schichtdickenverteilung	27
3 Die analytische Erfassung von BPA, BADGE und dessen Derivaten	29
3.1 Ausgangssituation	29
3.2 Interner Standard (BADHPE)	29
3.3 Methodvalidierung	30
4 Extraktionsstudien	37
4.1 Extraktionskinetik	37
4.2 Extraktionsmedien	40
4.3 Extraktion differenter Tubentypen	44
4.4 Verifizierung der Peakzuordnung	47
4.5 Strahlensterilisation	48

5	Migrationsstudien	51
5.1	Grundrezepturen: Salbe – Gel – Creme	51
5.2	Modifikation der Cremematrix	62
5.3	Einfluss der Matrixpolarität	66
5.4	Einfluss des Emulgators	73
5.5	Polyethylenglykol-Partialstruktur	78
5.6	„In-Use“-Bedingungen	83
6	Diskussion	87
6.1	Tubenakquise – Physikochemische Vorprüfungen	87
6.2	Die analytische Erfassung von BPA, BADGE und dessen Derivaten	87
6.3	Extraktionsstudien	89
6.4	Migrationsstudien	96
6.5	Beurteilung und Konsequenzen	101
7	Zusammenfassung	105
8	Experimenteller Teil	107
8.1	Materialien, Geräte und Methoden	107
8.2	Physikochemische Vorprüfungen	112
8.3	Aufreinigung des internen Standards	114
8.4	Methodenvalidierung	116
8.5	Extraktionsstudien	122
8.6	Migrationsstudien	131
9	Literaturverzeichnis	151
10	Anhang	175
10.1	Residuenplots	175
10.2	Daten zur Wiederfindung	176
10.3	Verfahrenskenndaten	191
11	Publikationen	207

1 Einleitung

1.1 Packmittel – Aluminiumtube

Bei der Verpackung von Arzneimitteln ist zwischen Primär- und Sekundärverpackung zu differenzieren. Behältnisse oder jede andere Form der Arzneimittelverpackung zählen als Primärverpackung, sofern sie unmittelbar mit dem Arzneimittel in Berührung kommen [EUROPÄISCHES PARLAMENT 2001]. Unter der Sekundärverpackung wird im Allgemeinen die Umverpackung, welche unter anderem zur Aufnahme des Beipackzettels dient, verstanden [BLEISCH *et al.* 2003]. Als Primärverpackung halbfester Darreichungsformen sind Aluminiumtuben weit verbreitet.

Die Erfindung der Tube geht auf das Jahr 1841 zurück, als der US-Amerikaner John Rand einen einseitig versiegelten und am anderen Ende wiederverschließbaren, aufrollbaren Bleizylinder entwickelte [RAND 1841]. Ursprünglich war dieser für Maler gedacht, die ihre Ölfarben bis dato zum Schutz vor Austrocknung überwiegend in Schweinsblasen lagerten [TÜGEL 2007]. In den folgenden Jahrzehnten fanden vornehmlich Tuben aus Zinn, aus mit Zinn beschichtetem Blei und aus Bleilegierungen Anwendung. Nach ersten Produktionsversuchen von Aluminiumtuben im Jahr 1913 begannen diese in den 20er- und 30er-Jahren des 20. Jahrhunderts die zinn- und bleibasierten Tuben abzulösen [ETMA 2009]. Neben der geringeren Reaktivität des Metalls gab vor allem die niedrige Dichte von Aluminium den Ausschlag für einen Wechsel, sodass die Aluminiumtuben ihre Vorläufer bereits in den 1940er und 1950er Jahren nahezu vollständig vom Markt verdrängt hatten [JENKINS und OSBORN 1993].

Ungefähr 10,4 Milliarden Tuben wurden 2008 allein in Europa von den Mitgliedern der *European Tube Manufacturers Association* (ETMA) hergestellt, wobei nur 20 % dieser Tuben als Primärpackmittel von Pharmazeutika zum Einsatz kamen (s. Abb. 1.1). Entgegen dem allgemeinen Trend, Aluminiumtuben durch Kunststoff- (PE, PP) und Verbundtuben zu substituieren, werden für den europäischen Arzneimittelsektor auch heute noch überwiegend Aluminiumtuben verwendet [ETMA 2009]. Dies ist vor allem auf die guten Barriereigenschaften des Aluminiums zurückzuführen. Neben der Impermeabilität für

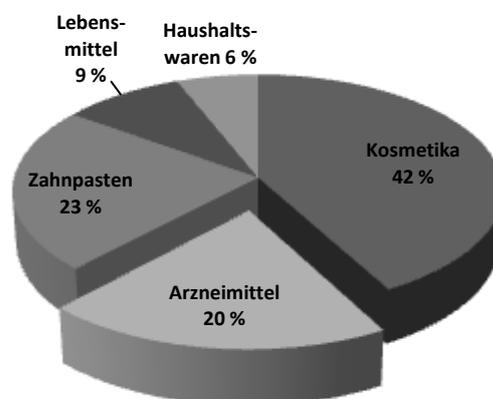


Abb. 1.1: Einsatzgebiete von Tuben europäischer Produktion [nach ETMA 2009]

Feuchtigkeit und Gase gewährleistet die Aluminiumtube einen effizienten Schutz vor Licht und Keimen. Des Weiteren weisen Aluminiumtuben im Gegensatz zu Kunststoff- und Verbundtuben ein eher plastisches Verhalten auf, welches das ‚Rücksaugen‘ von Luft nach der Dispensierung weitgehend unterbindet. Ergo wird das Füllgut besser vor potentieller Austrocknung und Oxidation geschützt [JENKINS und OSBORN 1993].

Die Herstellung von Aluminiumtuben erfolgt über mehrere Schritte, ausgehend von mit Metallseife gefetteten Aluminiumronden. Aus diesen werden im Fließpressverfahren unter hohem Umformdruck Rohtuben gepresst, welche nachfolgend auf die vordefinierte Länge geschnitten werden. In einem weiteren Arbeitsschritt erfolgt an einem Drehautomaten die Rollung des Gewindes, bevor die Tuben bei ca. 400 – 500 °C gegläht werden. Hierbei kommt es zur erneuten Erweichung des durch Umformung versprödeten Materials; Schmiermittelreste werden eliminiert. Zum Schutz des Aluminiums vor aggressiven Füllgütern sowie zur Vermeidung des Übergangs von Metallionen auf das Produkt wird nach dem Glühprozess von einem Spritzautomaten ein auf das Füllprodukt abgestimmter Innenschutzlack in definierter Schichtdicke aufgetragen und anschließend bei 260 – 320 °C eingebrannt. Häufig erfolgt die Auftragung des Lackes in mehreren Schichten [GOLDA 1984]. Nach Abschluss dieser so genannten ‚Rohtubenphase‘ folgt die ‚Dekoration‘ der Tuben mit einer äußerlich aufgetragenen Grundierung, der Vortrocknung, der Auftragung des Druckbildes sowie gegebenenfalls eines Klarlacks. Zuletzt wird eine Kappe auf die Tube aufgeschraubt und die Tube fakultativ via Schleuderdüsenautomat mit einem lufttrocknenden Dichtring aus Latexmasse versehen. Bei Anwendung eines kontinuierlich ablaufenden Herstellungsprozesses werden infolge der hohen Temperaturen keimarme Aluminiumtuben erhalten [GOLDA 1985].

1.2 Epoxidharze

Für die Innenschutzbeschichtung von Aluminiumtuben finden vorrangig Lacke auf Epoxidharzbasis Verwendung. Bei diesen handelt es sich um durch Kondensation von reaktiven Epoxidverbindungen mit mehrwertigen Alkoholen oder Phenolen gewonnene Polyether, die sich durch das Vorhandensein von mehr als einem Oxiranring auszeichnen [BEYER und WALTER 1988].

Bereits 1934 meldete SCHLACK [1934] ein Patent für die Herstellung eines auf Bisphenol A (BPA) und Epichlorhydrin basierenden Epoxidharzes an. CASTAN [1940] erkannte, dass sich daraus durch Härtung mit Phthalsäureanhydrid ein Duomer (*thermoset*) mit besonders guten Oberflächeneigenschaften erhalten ließ [SCHWARZ 1988]. Diese Entdeckung ebnete den Weg für den kommerziellen Durchbruch der Epoxidharze. In den folgenden Jahrzehnten wurde über strukturelle Modifikationen eine unüberschaubare Anzahl von Spezialharzen generiert: Bisphenol F-basierte, halogenierte, cycloaliphatische Epoxid-

harze, Epoxyvinylester, Epoxyacrylate etc. Ebenso vielfältig wie die Zusammensetzung der Lacke stellt sich deren Anwendungsspektrum dar: Oberflächenschutzlacke, Klebstoffe, Gießharze in der Elektrotechnik, Verbundstoffe in der Luft- und Raumfahrt etc.

Mit einem Mengenabsatz von 75 – 90 % dominieren Harze vom BPA-Typ heutzutage den Markt für Epoxidharze [PHAM und MARKS. 2005, PONTÉN 2006]. Dies ist vor allem auf die Kombination von vergleichsweise geringen Produktionskosten bei gleichzeitig hoher Einsatzflexibilität zurückzuführen. So lassen sich an BPA-basierten Epoxidharzen über Beimengung diverser *curing agents*, Füllmittel, Solvenzien, Verdüner, Weichmacher, Pigmente, Katalysatoren, Reaktionsbeschleuniger und Härter gezielt Modifikationen der Prozessierungs- und Materialeigenschaften vornehmen [SIMAL-GÁNDARA 1999].

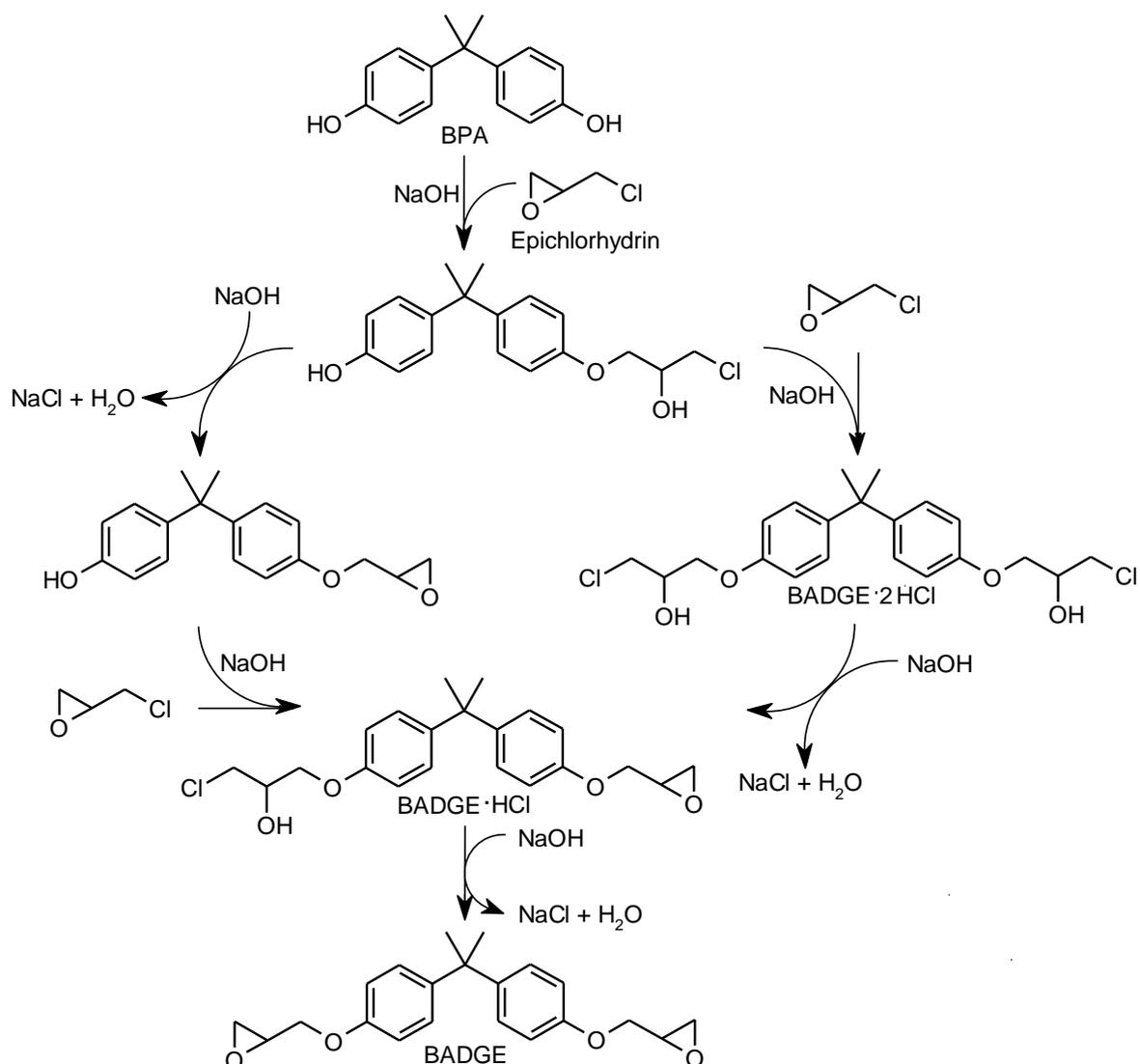


Abb. 1.2: Schematische Darstellung der BADGE-Synthese

Wichtigster Bestandteil der Rohlacke BPA-basierter Epoxidharze ist das Präpolymer von BPA mit Epichlorhydrin. Vereinfacht dargestellt erfolgt dessen Herstellung nach basen-

katalysierter, nucleophiler Öffnung des Epoxidrings des Epichlorhydrins über eine Kuppelung des primären Kohlenstoffatoms mit der phenolischen Hydroxylgruppe des Bisphenols zum Chlorhydrin (s. Abb. 1.2). Die anschließende Elimination von Wasser resultiert in der Rekonstitution der Oxiranringe respektive der Bildung des Bisphenol A-Diglycidylethers (BADGE). Intermediär entstehen unter anderem die (partial-)hydrochlorierten Derivate $\text{BADGE}\cdot\text{HCl}$ und $\text{BADGE}\cdot 2\text{HCl}$.

Durch Variation der Molmengenverhältnisse von BPA zu Epichlorhydrin sowie der Reaktionsbedingungen lässt sich der Polymerisationsgrad des Präpolymers gezielt beeinflussen. Während im einfachsten Fall das monomerische BADGE entsteht (s. Abb. 1.3, $n = 0$), enthalten die zur Beschichtung genutzten Rohlacke üblicherweise Präpolymere mit einem Polymerisationsgrad von $n \approx 9 - 11$ [SIMAL-GÁNDARA *et al.* 1998]. Die Rohlacke können jedoch Restmonomere aus dem Produktionsprozess (u.a. BPA, BADGE, $\text{BADGE}\cdot\text{HCl}$ und $\text{BADGE}\cdot 2\text{HCl}$), partial-hydrolysierte Derivate ($\text{BADGE}\cdot\text{H}_2\text{O}$, $\text{BADGE}\cdot\text{HCl}\cdot\text{H}_2\text{O}$ und $\text{BADGE}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, s. Abb. 1.5) sowie Reaktionsprodukte mit Additiven aufweisen.

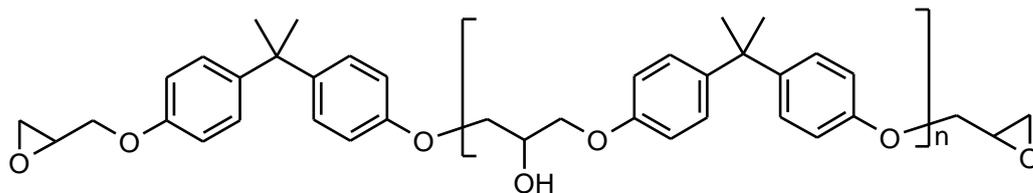


Abb. 1.3: Präpolymer eines Epoxidharzes vom BPA-Typ

Zur Ausbildung einer dreidimensionalen, quervernetzten Struktur müssen die Epoxidharze mit *curing agents*, Härtern und Quervernetzern zur Reaktion gebracht werden. Für Innenbeschichtungen werden hierfür häufig polyfunktionale Phenolharze, Anhydride von Dicarbonsäuren (z.B. Phthalsäure-, Maleinsäureanhydrid) oder aromatische Diamine (z.B. *m*-Phenyldiamin, Diaminodiphenylmethan) genutzt, die zu Beschichtungen hoher chemischer Stabilität führen (s. Abb. 1.4). Zwecks Charakterisierung des Epoxidharzes wird üblicherweise das Epoxidäquivalentgewicht (EEW) angegeben, welches derjenigen Menge Harz in Gramm entspricht, die ein Mol Epoxidgruppen enthält. Das EEW ist unter anderem für die Berechnung des Harz-Härter-Verhältnisses erforderlich. Da die Härter nicht katalytisch sondern als Reaktionspartner fungieren, ist eine exakte Einhaltung des Mischverhältnisses obligat [SCHWARZ 1988].

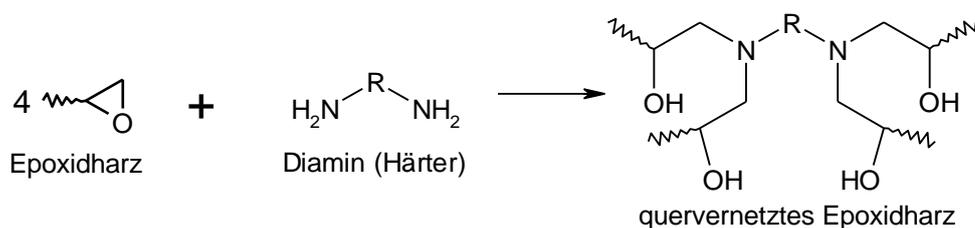


Abb. 1.4: Quervernetzung eines Epoxidharzes mit einem Diamin [PHAM und MARKS 2008]

Der Produktionsprozess beinhaltet prinzipiell zwei kritische Aspekte: die Reinheit der eingesetzten Edukte sowie das Erfordernis der Einhaltung exakter Bedingungen (Mischungsverhältnis, Einbrenndauer / -temperatur) während der Härtung [SIMAL-GÁNDARA *et al.* 1998]. Infolge eines fehlerhaften Produktionsprozesses, abweichender Einbrennbedingungen oder inkorrekten Quervernetzung können vermehrt Restmonomere / -oligomere, Additive sowie deren Reaktionsprodukte aus der Innenbeschichtung in das Füllgut übergehen. Bei BPA-basierten Epoxidharzen ist dies vor allem für BPA, BADGE sowie dessen (partial-)hydrolysierte und hydrochlorierte Derivate beschrieben.

1.3 Interaktionen Packmittel – Arzneimittel

Aus der großen Bandbreite der für die Herstellung pharmazeutischer Packmittel verwendeten Materialien ergeben sich – insbesondere für Kunststoffe – eine Vielzahl an Interaktionsmöglichkeiten: der Transfer von Substanzen aus dem Umfeld durch das Packmittel (Permeation), aus dem Packmittel in das Arzneimittel (Extraktion, *Leaching*) sowie jeweils umgekehrt (Permeation, Sorption), wobei Folgereaktionen sowohl innerhalb des Packmittels als auch innerhalb des Arzneimittels möglich sind.

Unter ‚Sorption‘ wird die physikochemische Bindung eines gelösten Bestandteils des Arzneimittels an das Primärpackmittel verstanden [EMEA 2005]. Inkompatibilitäten aufgrund von Sorptionsprozessen sind insbesondere bei niedrig dosierten Wirkstoffen als kritisch zu werten, da diese zu einer signifikanten Minderung der Wirksamkeit des Arzneimittels führen können. Eine Vielzahl von Studien belegt, dass Wirkstoffe insbesondere von Kunststoffmaterialien adsorbiert werden [u.a. JENKE 1993, MARTENS *et al.* 1990, MOORHATCH und CHIOU 1974, PALMGRÉN *et al.* 2006, SALOMIES *et al.* 1994].

Unter *Leaching*, oftmals synonym mit Migration verwendet, wird die Abgabe von Substanzen (*Leachables*) aus dem Kunststoffmaterial an das Füllgut verstanden. Das *Leaching* unterscheidet sich von der Extraktion dadurch, dass es unter Bedingungen auftritt, die den erwartungsgemäßen Gebrauch des Arzneimittels widerspiegeln. Bei der Extraktion hingegen wird ein geeignetes Solvenssystem unter ‚extremen‘ Bedingungen verwendet, um die Menge der aus dem Packmittel in das Füllmedium übergehenden Substanzen (*Extractables*) zu maximieren respektive eine *worst case*-Abschätzung vorzunehmen [EMEA 2005].

Sorptions- und Migrationsprozesse sind in der Lage, sowohl direkt als auch indirekt – über eine Minderung der Funktionalität des Packmittels – die Qualität eines Arzneimittels zu beeinträchtigen. Nach BANER *et al.* [2003] sollte die Minimierung des Interaktionspotentials deshalb zumeist das Hauptkriterium eines optimalen Packmittelsystems darstellen.

Der Grad des Risikos einer Packmittelinteraktion wird in Abhängigkeit von der Darreichungsform und dem Applikationsweg unterschiedlich bewertet. Da Diffusionsvorgänge die Grundvoraussetzung für Migration darstellen, werden Wechselwirkungen zwischen Primärverpackung und festen Darreichungsformen als unwahrscheinlich angesehen; hingegen ist die Wahrscheinlichkeit von Interaktionen bei flüssigen oder halbfesten Darreichungsformen hoch (s. Tab. 1.1).

Tab. 1.1: Einstufung von Packmittelinteraktionen verschiedener Darreichungsformklassen

Relevanz im Zusammenhang mit Applikationsweg	Wahrscheinlichkeit von Wechselwirkungen (Packmittelkomponenten – Darreichungsformen)		
	hoch	mittel	niedrig
am höchsten	Parenteralia Aerosol-Inhalanda	Sterile Pulver Pulver für Injectabilia Pulver-Inhalanda	
hoch	Flüssige und halbfeste Zubereitungen zur Anwendung an Auge und Nase; Transdermale Pflaster		
niedrig	Flüssige und halbfeste Zubereitungen zur topischen Anwendung oder in der Mundhöhle oder zum Einnehmen	Pulver zum Einnehmen oder zur topischen Anwendung	Tabletten, Weich- und Hartkapseln

In Anlehnung an *Guidance for Industry* [FDA 1999]

Unter physikalischen Gesichtspunkten wird der Massentransfer in das Produkt neben der geometrischen Dimension eines Produkt-Packmittel-Systems im Wesentlichen durch kinetische (Diffusions-) und thermodynamische (Verteilungs-)Prozesse determiniert. Die Grundlagen für die ablaufenden Vorgänge können über das zweite Fick'sche Diffusionsgesetz sowie den Verteilungskoeffizienten beschrieben werden (s. Tab. 1.2). Infolge der *Brown'schen* Molekularbewegung tritt bei Diffusionsprozessen ein Massentransport in Richtung des Konzentrationsgradienten auf. Sobald ein Molekül die Grenzfläche zwischen Polymer und Füllmedium erreicht, wird das Ausmaß des Übergangs zum einen von der Viskosität des Mediums und zum anderen essentiell von der Löslichkeit des *Leachables* in beiden Phasen bestimmt. Die Lösungseigenschaften im Füllmedium werden hierbei maßgeblich durch dessen Zusammensetzung (Polarität, Emulgatoren etc.) determiniert. Der Transport innerhalb der Polymermatrix hängt wiederum im Wesentlichen von der Flüchtigkeit, dem Molekulargewicht sowie dem Diffusionsvermögen des *Leachables* ab. In diesem Zusammenhang spielen die Elastizität und die thermoplastischen Eigenschaften des Polymers eine wichtige Rolle [LAU und WONG 2000, PIRINGER und BANER 2008]. Diese

sind jedoch nicht zwangsläufig konstante Parameter, sondern können sich infolge von Sorptions- und Quellungsprozessen während der Lagerung verändern.

Tab. 1.2: Grundformeln von Diffusions- und Verteilungsprozessen

$$\frac{\delta c}{\delta t} = D \frac{\delta^2 c}{\delta x^2}$$

2. Fick'sches Diffusionsgesetz

$$D = \frac{k \cdot T}{6\pi\eta r}$$

Diffusionskoeffizient

$$K_{P,F} = \frac{c_{P,\infty}\rho_P}{c_{F,\infty}\rho_F}$$

Verteilungskoeffizient

c	Konzentration
t	Zeit
D	Diffusionskoeffizient
x	Abstand
k	Boltzmann-Konstante
T	Temperatur (absolut)
η	Viskosität der Matrix
r	Molekülradius
$K_{P,F}$	Verteilungskoeffizient
$c_{P,\infty}/c_{F,\infty}$	Gleichgewichtskonzentration des <i>Leachables</i> in der jeweiligen Phase
$\rho_{P/F}$	Dichte des Packmittels / Füllmediums

Unter Verwendung stark vereinfachter Annahmen (u.a. unendliche Dicke des Packmittels, homogene Verteilung des *Leachables* im Packmittel) können die aus einem Packmittel (P) zu einem definierten Zeitpunkt in ein Füllmedium (F) migrierten *Leachable*-Mengen näherungsweise mit Hilfe des zweiten Fick'schen Diffusionsgesetzes und dem Verteilungskoeffizienten beschrieben werden. Für viskose Füllmedien leitet sich nach BANER *et al.* [2003] die in Formel 1.1 dargestellte Gleichung ab.

$$\frac{m_{F,t}}{A} = \frac{2}{\sqrt{\pi}} c_{P,0} \rho_P \frac{\beta}{1 + \beta} \sqrt{D_P t}$$

$$\text{wobei: } \beta = \frac{1}{K_{P,F}} \sqrt{\frac{D_F}{D_P}}$$

$m_{F,t}$	Menge des migrierten <i>Leachables</i>
A	Kontaktfläche
$c_{P,0}$	Ausgangskonzentration des <i>Leachables</i> im Packmittel
ρ_P	Dichte des Packmittels
$D_{P/F}$	Diffusionskoeffizient des <i>Leachables</i> im Packmittel / Füllmedium
t	Kontaktzeit
$K_{P,F}$	Verteilungskoeffizient (s. Tab. 1.2)

Formel 1.1: Berechnung des *Leachings* in viskose Füllmedien [BANER *et al.* 2003]

Zu beachten gilt, dass die Gleichung lediglich für einen Massentransfer < 60 % anwendbar ist, da mit zunehmender Annäherung an das Verteilungsgleichgewicht die Ungenauigkeit stark zunimmt. Dennoch können grundlegende Aussagen über Migrationsvorgänge aus der Gleichung abgeleitet werden. So ist der Diffusionsstrom proportional der Ausgangs-

konzentration des *Leachables*, der Wurzel der Zeit sowie der Wurzel des Diffusionskoeffizienten im Packmittel. Vereinfacht gesagt: ist der Verteilungskoeffizient der Substanz zwischen Packmittel und Füllmedium in Richtung des Füllmediums verschoben ($K_{P,F} \leq 1$) respektive löst sich das *Leachable* besser im Füllmedium als im Packmittel, so wird der Diffusionsstrom überwiegend durch die Eigenschaften des Packmittels bestimmt. Im Gegenzug determiniert das Füllmedium den Diffusionsstrom, wenn die Substanz eine höhere Affinität zum Packmittel aufweist.

1.4 Bisphenol A-Diglycidylether (BADGE)

BADGE, im medizinischen Bereich gelegentlich auch als *diglycidylether of bisphenol A* (DGEBA, DGEbPA) oder *Monomer 340* bezeichnet, wird überwiegend als Intermediat für die Herstellung von Epoxidharzen, als Klebstoffbestandteil von Verbundmaterialien sowie als stabilisierendes Additiv (*HCl-Scavenger'*) in PVC-Organosolen verwendet.

Obwohl weniger als 10 % der Epoxidharzproduktion für die Innenbeschichtungen von Konserven- und Getränkedosen eingesetzt werden, stellt Nahrung – abgesehen von speziellen Berufsgruppen – die Hauptexpositionsquelle für den Menschen dar [POOLE *et al.* 2004]. Expositionen mit Epoxidharzen können sowohl akute als auch verzögerte allergische Reaktionen hervorrufen. So stellen BPA-basierte Harze eine der häufigsten Ursachen berufsbedingter Kontaktallergien dar [AMADO und TAYLOR 2008, JOLANKI *et al.* 2001, TARVAINEN und KANERVA 1999, UTER *et al.* 2004]. Nachdem die beobachteten Reaktionen anfänglich auf BPA und den Harzen zugesetzte Härter zurückgeführt wurden, identifizierten erstmals FREGERT und THORGEIRSSON [1977; THORGEIRSSON und FREGERT 1977] monomeres BADGE als Hauptallergen. 60 – 80 % der Patienten mit allergischer Kontaktdermatitis (*allergic contact dermatitis*, ACD) auf Epoxidharze sind gegenüber BADGE sensibilisiert [PONTÉN 2006]. Mit zunehmendem Polymerisationsgrad nimmt das allergene Potential stark ab [THORGEIRSSON *et al.* 1978]. Neben der verzögert eintretenden ACD können vereinzelt auch unmittelbare Reaktionen provoziert werden [KANERVA *et al.* 1991]. So wurden durch Exposition mit BADGE vereinzelt Urticaria [KANERVA *et al.* 2002] sowie allergisches Asthma [HANNU *et al.* 2009, KANERVA *et al.* 2000] hervorgerufen. Auch ein anaphylaktischer Schock nach Arbeit mit einem BPA-basierten Epoxidharz ist beschrieben [STUTZ *et al.* 2008]. Patienten mit allergischen Reaktionen auf BADGE zeigen einen hohen Grad an Kreuzreaktivität mit strukturell verwandten Verbindungen wie Bisphenol F-Diglycidylether (BFDGE) [GEIER *et al.* 2004, LEE *et al.* 2002], dem Monomer der sogenannten *Novolake*, sowie Bisphenol A-glycidylmethacrylat (bis-GMA) [GEIER *et al.* 2007], einem BADGE-Derivat, welches als Bestandteil von Dentalversiegelungen Verwendung findet. Vom Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV)

wurde BADGE der Kategorie A („bedeutendes Kontaktallergen“) zugeordnet [KAYSER und SCHLEDE 2001].

Neben dieser allgemein anerkannten, allergischen Komponente befindet sich eine Vielzahl weiterer toxikologischer Aspekte in Diskussion. Seitdem BADGE *in vitro* als bifunktionales, alkylierendes Agens beschrieben [u.a. ANDERSEN *et al.* 1978] und die Bildung von DNA-Addukten mit Nucleosiden nachgewiesen wurde [u.a. STEINER *et al.* 1992, VANHOUTTE *et al.* 1995], befassen sich eine Vielzahl von *in vitro*-Studien und Tierversuchen mit dessen cancerogenem, mutagenem und genotoxischem Potential [u.a. HASEMAN und CLARK 1990, NAKAZAWA *et al.* 2002, SUÁREZ *et al.* 2000]. Gleichwohl kam das Wissenschaftliche Gremium für Lebensmittelzusatzstoffe, Aromastoffe, Verarbeitungshilfsstoffe und Materialien, die mit Lebensmitteln in Berührung kommen (AFC) 2004 in einem Gutachten zu dem Ergebnis, dass BADGE und seine Chlorhydrine (BADGE·2HCl, BADGE·HCl und BADGE·HCl·H₂O) *in vivo* keinen Anlass zu Bedenken im Hinblick auf eine potentielle Cancerogenität bzw. Genotoxizität geben [AFC 2004].

Ungeachtet dessen werden in zahlreichen Publikationen unter anderem die Wirkung von BADGE am PPAR γ -Rezeptor [BISHOP-BAILEY *et al.* 2000, FEHLBERG *et al.* 2003, NAKAMUTA *et al.* 2002, WRIGHT *et al.* 2000], die Induktion der Apoptose in Tumorzellen [u.a. FEHLBERG *et al.* 2002], Antagonismus am Androgenrezeptor und somit endokrine Disruption [HANAOKA *et al.* 2002, HYOUNG *et al.* 2007, TERASAKI *et al.* 2006] sowie auch weiterhin cytotoxische Effekte [RAMILO *et al.* 2006] diskutiert. Allgemein wird davon ausgegangen, dass die toxikologische Wirkung im Wesentlichen auf die reaktiven Epoxidgruppen zurückzuführen ist und somit reziprok mit dem Polymerisations- und Hydrolysegrad korreliert [NAKAZAWA 2002, SIMAL-GÁNDARA *et al.* 1998, SUÁREZ *et al.* 2000, SUEIRO *et al.* 2001]. Somit wurde dem toxikologischen Profil der an beiden Epoxidgruppen hydrolysierten (BADGE·2H₂O) und hydrochlorierten BADGE-Derivate (BADGE·2HCl) im Vergleich zu BADGE nur wenig Beachtung geschenkt. AHN *et al.* [2008] konnten jedoch auch für BADGE·2H₂O eine endokrine Wirkung nachweisen; BADGE·2HCl zeigte wiederum eine hohe Bindungsaffinität zum Androgenrezeptor, ohne agonistische Aktivität zu bewirken [SATO *et al.* 2004]. Beide Verbindungen erhöhten zudem *in vitro* die Proliferationsrate von T47D-Brustkrebszellen [NAKAZAWA *et al.* 2002].

Zusammengefasst muss konstatiert werden, dass die Toxikologie von BADGE und dessen Derivaten zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht abschließend geklärt ist.

Da BADGE sowohl nach oraler als auch nach dermalen Applikation [BOOGARD *et al.* 2000] relativ rasch metabolisiert wird (Hydrolyse, Konjugation), stellt es keine signifikante Quelle (< 1 %) von BPA dar [HUTSON 1998]. Sterilisationsversuche mit BADGE in Simulanzlösemitteln gaben ebenfalls keine Anhaltspunkte für eine Etherspaltung respektive eine Zersetzung von BADGE zu BPA [YONEKUBO *et al.* 2008].

1.5 Bisphenol A (BPA)

BPA wird aus Aceton und Phenol synthetisiert und gehört zu den im größten Umfang produzierten Chemikalien. Für 2010 wird eine globale Nachfrage von fünf Millionen Tonnen vorhergesagt [BALLESTEROS-GÓMEZ *et al.* 2009]. BPA findet überwiegend in der Herstellung von Kunststoffen Verwendung, wobei Epoxidharze nur einen kleinen Teil des Anwendungsspektrums reflektieren. So ist BPA eine der Ausgangsverbindungen der Synthese von Polycarbonat (PC), einem widerstandsfähigen, glasklaren Kunststoff, welcher unter anderem für die Herstellung von CDs, Babyflaschen, Mehrwegflaschen, Wasserleitungen und diversen Haushaltsbehältnissen genutzt wird. Des Weiteren spielt BPA bei der Herstellung von Flammschutzmitteln, Polyester-, Polyacrylat-, Polysulfonharzen und Dentalversiegelungen auf bis-GMA-Basis eine wichtige Rolle.

Aufgrund seiner breiten Anwendung kommt BPA heutzutage nahezu ubiquitär vor. KANG *et al.* [2006] zeigen in einem *Review* eine Vielzahl an Expositionsquellen auf; so konnte BPA unter anderem in verschiedensten Umweltproben (Wasser-, Luft- und Erdproben) nachgewiesen werden. VANDENBERG *et al.* [2007] widmen sich in einem weiteren *Review* Studien zum Vorkommen von BPA in Körperflüssigkeiten (Urin, Blut, Serum) und Gewebe, wobei BPA zumeist in über 90 % der Proben detektiert wurde. So konnten CALAFAT *et al.* in zwei Studien 2005 und 2008 BPA bzw. dessen Konjugate in 95 % (394 Probanden) bzw. 92 % (2517 Probanden) der Urinproben nachweisen. Selbst bei Frühgeborenen wurden in drei Vierteln der Urinproben BPA-Konjugate detektiert [CALAFAT *et al.* 2009]. Ungeachtet dessen wird allgemein infolge der zunehmenden Verwendung von PC-Gefäßen und mit Epoxidharzen beschichteten Behältnissen von einer primären Exposition durch Lebensmittel ausgegangen [u.a. BALLESTEROS-GÓMEZ *et al.* 2009, KANG *et al.* 2006, SAJIKI *et al.* 2007].

Das allergene Potential von BPA ist noch nicht hinreichend untersucht. Beim Menschen wurden nur vereinzelt kontakt- und photoallergische Reaktionen beobachtet [AALTO-KORTE *et al.* 2003, ESTLANDER *et al.* 1999, MAGUIRE 1988, MATTHIEU *et al.* 2004]. Vom BgVV wurde BPA der Kategorie B („begründeter Hinweis auf kontaktallergene Wirkung“) zugeordnet [KAYSER und SCHLEDE 2001].

BPA gehört zur Gruppe der Xenoestrogene, genauer gesagt den *estrogen-like endocrine disrupting chemicals* (EEDC). Die hormonellen Eigenschaften wurden eher zufällig von KRISHNAN *et al.* [1993] entdeckt, nachdem durch Verwendung von in Polycarbonatflaschen autoklaviertem Wasser die Proliferationsrate von MCF-7-Brustkrebszellen erhöht wurde. Seitdem konnte die estrogenartige Wirkung von BPA in einer Vielzahl von Rezeptorbindungs-, Genexpressions- und Zellproliferationsstudien bestätigt werden [u.a. BERGERON *et al.* 1999, HIROI *et al.* 1999, HOWDESHHELL *et al.* 1999, KIM *et al.* 2001, LI *et al.* 2004, MATTHEWS *et al.* 2001, TAKAO *et al.* 2003], wobei die Ergebnisse zur

relativen Aktivität über vier Zehnerpotenzen divergieren [THOMSON und GROUNDS 2005]. Sowohl genomische als auch nicht genomische Estrogeneffekte sind beschrieben.

Eine beträchtliche Anzahl an Publikationen beschäftigt sich mit weiteren Aspekten der Toxizität von BPA, einschließlich seines Verbleibs im Körper. So werden vor allem potentielle Cancerogenität, Reproduktionstoxizität, Hepatotoxizität, Antagonismus am T₃-Rezeptor, Blockade der Testosteronsynthese sowie diverse *low dose*-Effekte aus Tierversuchen (u.a. Änderung der Organgewichte, Rezeptorexpression, Hormonspiegel) diskutiert [u.a. GOLOUBKOVA *et al.* 2000, GUPTA 2000, HAUBRUGE *et al.* 2000, HIROI *et al.* 2004, HONMA *et al.* 2002, MORIYAMA *et al.* 2002, SCHÖNFELDER *et al.* 2004, STEINMETZ *et al.* 1998, TIMMS *et al.* 2005, UPMEIER *et al.* 2000, ZOELLER *et al.* 2005]. In einem Gutachten von 2006 kommt das AFC in Anbetracht der Studienlage unter Berücksichtigung der ernährungsbedingten Exposition zu dem Ergebnis, dass die derzeit gültigen Grenzwerte (s. Kap. 1.6.2) als hinreichend sicher anzusehen sind [AFC 2006]. Diese Ansicht ist in der Wissenschaft nicht unumstritten, sodass sich nach wie vor eine Vielzahl kontroverser Publikationen der Thematik widmen [u.a. HANIOKA *et al.* 2008, HONMA *et al.* 2006, KERI *et al.* 2007, MYERS *et al.* 2009, OKADA *et al.* 2007, PALANZA *et al.* 2008, PRINS *et al.* 2008, RUBIN und SOTO 2009, STAHLHUT *et al.* 2009, VANDENBERG *et al.* 2009, VOM SAAL *et al.* 2007, WELSHONS *et al.* 2006] und weitere toxikologische Effekte beschrieben wurden. Derzeit existieren bereits über 1000 Publikationen zur BPA-Problematik, sodass das toxikologische Profil als ‚noch in Diskussion befindlich‘ anzusehen ist.

1.6 Rechtliche Rahmenbedingungen

1.6.1 Arzneimittelrecht

An pharmazeutische Behältnisse müssen besondere Anforderungen gestellt werden, da sie Bestandteil des Arzneimittels sind und dessen Qualität maßgeblich beeinflussen können [NÜRNBERG und LANGGUTH 2007]. So besagt das Arzneimittelgesetz (AMG) in §55 (8): ‚Arzneimittel dürfen [...] nur in den Verkehr gebracht werden, wenn ihre Behältnisse und Umhüllungen, soweit sie mit den Arzneimitteln in Berührung kommen, den anerkannten pharmazeutischen Regeln entsprechen‘. Das Europäische Arzneibuch (Ph.Eur.) definiert die Anforderungen an die Qualität von pharmazeutisch einsetzbaren Behältnissen. Packmittel müssen demzufolge so beschaffen sein, dass der Inhalt vor Verlust und Veränderung geschützt wird und in geeigneter Weise entnommen werden kann. Darüber hinaus ist insbesondere bei Kunststoffbehältnissen zu beachten, dass keine Substanzen durch das Füllgut in solcher Menge herausgelöst werden können, dass der Inhalt in seiner Wirksamkeit oder Haltbarkeit verändert wird oder ein Toxizitätsrisiko darstellt. Des Weiteren werden im Arzneibuch spezifische Anforderungen an häufig verwendete Materialien (Glas, PE, PP, PVC, PET, EVA) gestellt. Behältnisse und Materialien, die

nicht im Arzneibuch gelistet sind oder anderen als den genannten Qualitätsstandards entsprechen, können ebenfalls für die Verpackung verwendet werden. In diesem Fall ist der Qualitätsnachweis im Rahmen der Zulassung des Arzneimittels zu erbringen [PH.EUR.].

Bei der Zulassung eines Fertigarzneimittels wird neben dem Beleg einer entsprechenden Qualität des Behältnisses, seiner Verschlüsse und der verwendeten Materialien auch der Nachweis verlangt, dass die gewählte Primärverpackung für das jeweilige Arzneimittel geeignet ist. Es handelt sich hierbei um eine grundsätzliche Eignungsprüfung, die auch erfolgen muss, wenn die Qualität des Behältnisses und seiner Materialien den Anforderungen des Arzneibuches entspricht. Folgende Punkte sind u.a. im Rahmen des Zulassungsdossiers zu erläutern: Wahl des Packmittelmaterials, Schutz des Arzneimittels vor Feuchtigkeit und Licht, Kompatibilität des Materials mit der Formulierung (inklusive Sorption und *Leaching*), Unbedenklichkeit und Handhabung [EUROPÄISCHE KOMMISSION 2004b].

Verschiedenste Materialien kommen derzeit für die Verpackung von Arzneimitteln zur Anwendung, wobei insbesondere das Spektrum der Kunststoffe aufgrund der vielfältigen Modifikationsmöglichkeiten kontinuierlich erweitert wird. Das Hauptproblem in diesem Zusammenhang – sowohl aus industrieller als auch aus regulatorischer Sicht – stellen die potentiellen Interaktionen zwischen Packmittel und Füllgut dar, welche in einer Beeinträchtigung der Qualität, Wirksamkeit und Unbedenklichkeit resultieren können.

Für die Prüfung der Innenbeschichtungen pharmazeutisch verwendeter Aluminiumtuben hat der Gesetzgeber bislang noch keine spezifischen Durchführungsbestimmungen etabliert. Zwecks Regelung des Umgangs mit Primärpackmitteln aus Kunststoff im Rahmen des Zulassungsverfahrens wurde für Human- und Tierarzneimittel von der *Joint CHMP/CVMP Quality Working Party (QWP)* die *Guideline on Plastic Immediate Packaging Materials* publiziert [EMEA 2005]. Innenbeschichtungen auf Epoxidharzbasis fallen unter die Guideline, da sie der Definition ‚organische Makromoleküle, hergestellt durch Polymerisation [...] von Molekülen geringeren Molekulargewichts‘ entsprechen. Für die Verpackung flüssiger und halbfester Darreichungsformen schreibt die Guideline Extraktionsstudien vor, sofern die Materialien weder in der Ph.Eur. noch in der Pharmakopöe eines Mitgliedsstaates spezifiziert oder als Packmittel für Lebensmittel zugelassen sind. Für Packmittel von Parenteralia, Inhalanda und Ophthalmika sind auch bei gültiger Lebensmittelzulassung Extraktionsergebnisse vorzulegen (s. Tab. 1.3).

Für halbfeste und flüssige Darreichungsformen sind in jedem Fall Interaktionsstudien durchzuführen, welche individuell die Eignung des Packmittels für das jeweilige Arzneimittel belegen. Im Rahmen dieser Prüfung ist zum einen die Funktionalität des Packmittels zu evaluieren und zum anderen sicherzustellen, dass keine signifikanten Veränderungen auftreten, die zu einer Minderung der Qualität des Wirkstoffs oder des Arzneimittels als Ganzem führen.

Tab. 1.3: Bei der Zulassung von Arzneimitteln vorzulegende Unterlagen für Packmittel aus Kunststoff

Darreichungsform	Oralia, Topika			Parenteralia, Inhalanda, Ophthalmika		
	fest	halbfest, flüssig		fest	halbfest, flüssig	
Material beschrieben in		Ph.Eur., Pharmakopöe eines Mitgliedsstaates oder zugelassen für LM?			Ph.Eur. oder Pharmakopöe eines Mitgliedsstaates?	
		ja	nein		ja	nein
Allgemeine Information	X	X	X	X	X	X
Spezifikation	X	X	X	X	X	X
Interaktionsstudien		X	X	ggf.	X	X
Extraktionsstudien			X			X
Toxikologische Information			X			X

in Anlehnung an Appendix II der *Guideline on Plastic Immediate Packaging Materials* [EMA 2005]; LM = Lebensmittel

Neben Sorptionsstudien geben vor allem Migrationsstudien Aufschluss über potentielle Interaktionen. Diese sind explizit erforderlich, wenn Extraktionsstudien Anhaltspunkte für potentielle *Extractables* geben. Im Gegensatz zum Lebensmittelbereich, in dem auf Tests mit Simulanzlösemitteln (*food simulating liquids*, FSLs) zurückgegriffen werden kann (s. Kap. 1.6.2), sind die Prüfungen bei Arzneimitteln nach den gesetzlichen Vorgaben mit der tatsächlichen Zusammensetzung und Formulierung durchzuführen.

1.6.2 Lebensmittel- und Bedarfsgegenständerecht

Im Vordergrund der Rahmenverordnung 1935/2004 [EUROPÄISCHES PARLAMENT UND RAT 2004] steht der Schutz der menschlichen Gesundheit sowie der Verbraucherinteressen. Lebensmittelkontaktmaterialien sind demnach so herzustellen, dass unter vorhersehbaren Verwendungsbedingungen keine Bestandteile in Mengen abgegeben werden, die geeignet sind, die menschliche Gesundheit zu gefährden oder eine unverträgliche Veränderung der Zusammensetzung herbeizuführen. Die Verordnung listet Materialgruppen, für die spezifische Einzelmaßnahmen erlassen werden können. Hieraus leitet sich die Richtlinie 2002/72/EG [EUROPÄISCHE KOMMISSION 2002b] – zuletzt geändert durch Verordnung 975/2009 [EUROPÄISCHE KOMMISSION 2009] – ab, welche die Vorgaben für Materialien und Gegenstände aus Kunststoff spezifiziert („Kunststoff-Richtlinie“). Im Anhang dieser Richtlinie sind in Positivlisten zulässige Monomere, Ausgangsstoffe und Additive verzeichnet. Darüber hinaus werden für die genannten Verbindungen auf Basis einer toxikologischen Bewertung spezifische Migrationsgrenzwerte (*specific migration limit*, SML) bzw. höchstzulässige Restgehalte im Kunststoff definiert.

Erstmals 1990 wurden die Verwendung der Monomere BPA und BADGE bei der Herstellung von Kunststoffverpackungen für Lebensmittel verbindlich geregelt und Grenzwerte in die Kunststoffrichtlinie implementiert. Neuere wissenschaftliche Erkenntnisse – unter anderem bezüglich des toxikologischen Potentials, der Bildung von BADGE-Deri-

vaten mit Nahrungsmittelkomponenten, weiterer Expositionsquellen etc. – gaben den Ausschlag für die Aufnahme der Hydrolyse- und Hydrochlorierungsprodukte von BADGE (s. Abb. 1.5) in die Richtlinien sowie die Adaption der SMLs (s. Tab. 1.4).

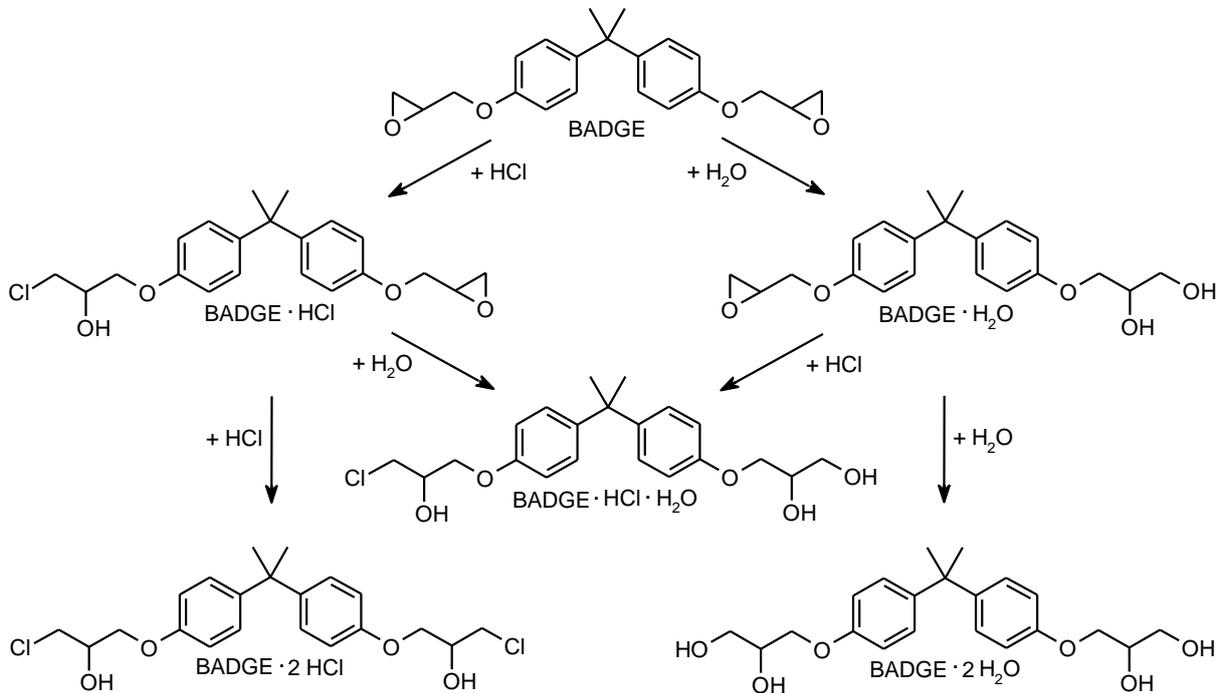


Abb. 1.5: BADGE und dessen Reaktionsprodukte mit Wasser und Chlorid

Tab. 1.4: Spezifische Migrationsgrenzwerte nach Lebensmittelrecht

Mono-mer	Richtlinie / Verordnung	SML [mg/6 dm ²] ^a	Erläuterung
BPA	90/128/EWG Festsetzung	3,0	
	2002/72/EG ersetzt 90/128/EWG	3,0	
	2004/19/EG Änderung v. 2002/72/EG; Einengung des SML	0,6	
BADGE	90/128/EWG Festsetzung	QM = 1 mg/kg oder SML ≤ 0,02	BADGE
	1999/91/EG Änderung v. 90/128/EWG; Differenzierung des SML		$\sum \left[\begin{array}{l} (BADGE \cdot 2H_2O), BADGE \cdot H_2O \\ BADGE \cdot HCl \cdot H_2O, BADGE \\ BADGE \cdot HCl, BADGE \cdot 2HCl \end{array} \right]$
	2001/61/EG explizite Richtlinie über Verwendung v. Epoxyderivate	1,0	
	2002/16/EG ersetzt 2001/61/EG		
1895/2005/EG ersetzt 2002/16/EG; Differenzierung des SML		9,0	$\sum [BADGE \cdot 2H_2O, BADGE \cdot H_2O]$
		1,0	$\sum [BADGE \cdot HCl \cdot H_2O, BADGE \cdot HCl, BADGE \cdot 2HCl]$

^a alternativ in [mg/kg]; SML = spezifischer Migrationsgrenzwert; QM = höchstzulässiger Restgehalt des Stoffes im Bedarfsgegenstand

Die Kontrolle der Anwendungsbeschränkungen respektive der SMLs ist auf europäischer Ebene in Richtlinie 82/711/EWG [EUROPÄISCHER RAT 1982], zuletzt geändert durch Richtlinie 97/48/EG [EUROPÄISCHE KOMMISSION 1997], festgelegt und erfolgt via Simulanzlösemitteln (*food simulating liquids*, FSL). Neben den Bedingungen für die Migrationsprüfung (Prüfzeit und -temperatur) werden in dieser Richtlinie die zu verwendenden FSLs in Abhängigkeit von dem zu erwartenden Füllgut spezifiziert (s. Tab. 1.5). Da es sich bei Aluminiumtuben in der Regel um füllbare Bedarfsgegenstände mit einem Fassungsvermögen < 500 mL handelt, ist gemäß Richtlinie 2002/72/EG eine oberflächenbezogene Bewertung des Ergebnisses der Migrationsprüfung vorzunehmen [EUROPÄISCHE KOMMISSION 2002b].

Tab. 1.5: Simulanzlösemittel für Migrationsprüfungen

Lebensmittelkategorie	Simulanzlösemittel
Wässrige Lebensmittel (pH > 4,5)	Destilliertes Wasser oder Wasser von gleicher Qualität
Saure Lebensmittel (wässrige Lebensmittel mit einem pH-Wert ≤ 4,5)	3 %ige Essigsäure (m/V)
Alkoholische Lebensmittel	10 %iges Ethanol (V/V). Diese Konzentration ist dem Alkoholgehalt des jeweiligen Lebensmittels anzupassen, wenn dieser 10 % überschreitet
Fetthaltige Lebensmittel	Rektifiziertes Olivenöl oder andere fetthaltige Lösemittel

Auszug aus Richtlinie 97/48/EG, Tabelle I [EUROPÄISCHE KOMMISSION 1997]

Aufgrund des erhöhten Aufwandes der Probenaufarbeitung von Olivenöl wurden mit Inkrafttreten der Richtlinie für fetthaltige Lebensmittel fakultative Ersatzprüfungen, zum Beispiel mit Isooctan und Ethanol 95%, Alternativprüfungen mit flüchtigen Medien sowie Extraktionsprüfungen etabliert. Diese können genutzt werden, sofern aufgrund wissenschaftlicher Daten allgemein anerkannt ist, dass deren Ergebnisse denen bei Prüfung mit Olivenöl entsprechen bzw. darüber liegen.

Mit Inkrafttreten der Richtlinie 2002/72/EG [EUROPÄISCHE KOMMISSION 2002b] wurde darüber hinaus unter bestimmten Voraussetzungen die Anwendung allgemein anerkannter, wissenschaftlich belegter Diffusionsmodelle legitimiert. Diverse mathematische Modelle und stoffspezifische Kennzahlen für ausgewählte Polymere wurden seitdem publiziert. Diese ermöglichen für bestimmte Polymer-Füllgut-Systeme eine näherungsweise Abschätzung der *Leachables* [u.a. BEGLEY *et al.* 2005, PIRINGER und BANER 2008].

1.6.3 Weitere Normen

Eine Reihe von nationalen und europäischen Normen ergänzen die Vorgaben für Aluminiumtuben (s. Tab. 1.6). Nachdem lange Zeit vor allem die Dimensionierung spezifiziert wurde, gibt es neuerdings Bestrebungen, Aussagen über die Güte der Innenbeschichtung zu treffen. Vom Normausschuss Verpackungswesen (NAVp) des Deutschen Instituts für

Normung (DIN) wurden deshalb zwei Normen veröffentlicht, die sich der Beständigkeit und dem Polymerisationsgrad der Innenbeschichtung widmen (DIN EN 15653 / 15766).

Tab. 1.6: Nationale und europäische Normen für Aluminiumtuben

Bezeichnung	Titel	Version
DIN 55436-2	Verpackungsprüfung; Aluminiumtuben; Bestimmung der Verformbarkeit des Tubenmantels	07/1990
DIN EN 12374	Packmittel – Tuben – Terminologie	09/2009
DIN EN 12375	Packmittel – Aluminiumtuben – Bestimmung der Manteldicke	08/2009
DIN EN 12377	Packmittel – Tuben – Prüfverfahren zur Bestimmung der Luftdichtheit der Verschlüsse	11/1998
DIN EN 13046	Packmittel – Zylindrische Metalltuben – Maße und Grenzabmaße	12/2000
DIN EN 13047	Packmittel – Konische Metalltuben – Maße und Grenzabmaße	10/2000
DIN EN 13048	Packmittel – Aluminiumtuben – Verfahren zur Bestimmung der Dicke des Innenschutzlackes	08/2009
DIN EN 14391	Packmittel – Aluminiumtuben – Tastbare Gefahrenhinweise	12/2004
DIN EN 15384	Packmittel – Aluminiumtuben – Prüfverfahren zur Bestimmung der Porosität der Innenbeschichtung	01/2008
DIN EN 15421	Packmittel – Aluminiumtuben – Bestimmung der Haftfestigkeit des Innen- und Außenschutzlackes	02/2008
DIN EN 15653	Packmittel – Aluminiumtuben – Prüfverfahren zur Ermittlung der Beständigkeit des Innenschutzlackes gegen Ammoniak	07/2009
DIN EN 15766	Packmittel – Aluminiumtuben – Prüfverfahren zur Bestimmung der Polymerisation der Innenbeschichtung mit Aceton	08/2009

1.7 Bisherige Arbeiten

Aufgrund der zunehmenden toxikologischen und lebensmittelrechtlichen Relevanz wurden in den letzten 10 bis 15 Jahren diverse Studien zur Kontamination von Füllgütern und Kontaktmedien – vorrangig Lebensmitteln – mit BPA, BADGE und dessen Derivaten sowie deren analytischer Erfassung publiziert (s. Tab. 1.7 u. Tab. 1.8). Des Weiteren wurde in einigen Migrationsstudien der Einfluss verschiedener Faktoren auf das *Leaching* untersucht.

Bereits 1991 demonstrierten PASEIRO-LOSADA *et al.*, dass BADGE aus Epoxidharzen extrahiert werden kann und in der Lage ist, in Simulanzlösemittel überzugehen [1991a/b]. Wiederholt wurde auf die hydrolytische Instabilität von BADGE in wasserhaltigen Medien hingewiesen [u.a. COTTIER *et al.* 1998, PASEIRO-LOSADA *et al.* 1993, PHILO *et al.* 1997, SIMAL-

GÁNDARA *et al.* 1992 / 1993a], sodass nachfolgende Studien zunehmend um die Bestimmung der Hydrolyseprodukte (BADGE·H₂O, BADGE·2H₂O) erweitert wurden. Sowohl in chloridhaltigen Füllmedien [u.a. YONEKUBO *et al.* 2008] als auch bei Verwendung von PVC-Organosolbeschichtungen konnten außerdem die (partial-)hydrochlorierten Derivate (BADGE·HCl, BADGE·2HCl, BADGE·HCl·H₂O) nachgewiesen werden [u.a. BIEDERMANN *et al.* 1997, RICHARD *et al.* 1999].

Im Rahmen von Lebensmittelkontrollen wurde die Belastung diverser Nahrungsmittel mit BADGE und zum Teil auch dessen Derivaten untersucht [u.a. BIEDERMANN *et al.* 1996, HAMMARLING *et al.* 2000, RAUTER *et al.* 1999, SIMONEAU *et al.* 1999, SUMMERFIELD *et al.* 1998, THEOBALD *et al.* 1999a / 1999b / 2002, YONEKUBO *et al.* 2008]. Hierbei wurden vor allem in fett- und ölreichen Matrices erhöhte Mengen an BADGE festgestellt; in hydrophileren Medien (z.B. Getränken) fielen die nachgewiesenen *Leachables* zumeist vergleichsweise niedrig aus [GROB *et al.* 2006]. Dies ist vor allem auf die Lipophilie des BADGE-Moleküls sowie auf die erhöhte Extraktionseffektivität infolge einer durch das Öl verursachten Quellung der Innenbeschichtung [u.a. BIEDERMANN *et al.* 1996, BRONZ *et al.* 1998] zurückzuführen.

Tab. 1.7: Untersuchungen zu BADGE im Lebensmittelbereich

Donor / Packmittel	Akzeptor / Medium	Referenz
Konserven- / Getränkedosen	Lebensmittel	BERGER <i>et al.</i> 2001 ^c , BIEDERMANN <i>et al.</i> 1996 ^a / 1997 ^c / 1999a ^b / 1999b ^b / 2000 ^c , BIEDERMANN und GROB 1998 ^c , BILES <i>et al.</i> 1999 ^b , BREDE <i>et al.</i> 2002 ^a , BREM <i>et al.</i> 2000 ^b , BRONZ <i>et al.</i> 1998 ^b , CABADO <i>et al.</i> 2008 ^a , CASAJUANA und LACORTE 2004 ^a , HAMMARLING <i>et al.</i> 2000 ^b , LEEPIPATPIBOON <i>et al.</i> 2005 ^b , LINTSCHINGER und RAUTER 2000 ^b , NERÍN <i>et al.</i> 2002 ^b , PARDO <i>et al.</i> 2006 ^b , PETERSEN 2003 ^b , PETERSEN <i>et al.</i> 2008 ^b , RAUTER <i>et al.</i> 1999 ^b , RICHARD <i>et al.</i> 1999 ^b , ROUBTSOVA <i>et al.</i> 1997 ^a , SAJIKI <i>et al.</i> 2007 ^a , SIMONEAU <i>et al.</i> 1999 ^a , SUMMERFIELD <i>et al.</i> 1998 ^a , SUN <i>et al.</i> 2006 ^b , THEOBALD <i>et al.</i> 1999a ^a / 1999b ^a , UEMATSU <i>et al.</i> 2001 ^b , YONEKUBO <i>et al.</i> 2008 ^b
	FSL	BERGER und OEHME 2000 ^c , BIEDERMANN <i>et al.</i> 1998 ^c , HAMMARLING <i>et al.</i> 2000 ^b , MUNGUÍA-LÓPEZ und SOTO-VALDEZ. 2001 ^a , PASEIRO-LOSADA <i>et al.</i> 1991b ^a , POUSTKOVÁ <i>et al.</i> 2004 ^b , SALAFRANCA <i>et al.</i> 1999 ^a , SENDÓN-GARCÍA <i>et al.</i> 2003 ^c , SENDÓN-GARCÍA und PASEIRO-LOSADA 2004 ^b , SIMONEAU <i>et al.</i> 2002 ^a , THEOBALD <i>et al.</i> 2002 ^c
Diverses		
- Lacke / Beschichtungen	FSL	BIEDERMANN <i>et al.</i> 1998 ^c , COTTIER <i>et al.</i> 1997 ^b / 1998 ^b , FUCHSLUEGER <i>et al.</i> 1999 ^c , HENRIKS-ECKERMAN und LAJOKI 1988 ^a , PASEIRO-LOSADA <i>et al.</i> 1991a ^a / 1993 ^b / 1997 ^b , ROMERO <i>et al.</i> 2002 ^a , SCHAEFER <i>et al.</i> 2004 ^c , SCHÄFER und SIMAT 2004 ^c , SIMAL-GÁNDARA <i>et al.</i> 1992 ^b / 1993a ^b / 1993b ^a
- Mikrowellen-Geschirr	FSL Lebensmittel	BEGLEY <i>et al.</i> 1991 ^a SHARMAN <i>et al.</i> 1995 ^a
- Leitungen	Wasser	CRATHORNE <i>et al.</i> 1986 ^a
- Verbundfolie	FSL	UEMATSU <i>et al.</i> 2005 ^b
- Weinbottiche	Wasser & Wein	LAMBERT und LARROQUE 1997 ^b

^a nur BADGE; ^b BADGE und Derivate; ^c BADGE, Derivate und Oligomere

Das Gesamt-*Leaching* von BADGE und dessen Derivaten fiel gegenüber den Epoxidharzen bei Organosolbeschichtungen zumeist deutlich höher aus [BIEDERMANN *et al.* 1996 / 1997 / 1998 / 2000, BILES *et al.* 1999, BREM *et al.* 2000, HAMMARLING *et al.* 2000, LINTSCHINGER und RAUTER 2000, MUNGUÍA-LÓPEZ und SOTO-VALDEZ 2001, SIMONEAU *et al.* 1999, SUMMERFIELD *et al.* 1998, THEOBALD *et al.* 2002], da bei letzteren gezielt monomerisches BADGE als ‚HCl-Scavenger‘ zugesetzt wurde. Aus selbigem Grund wurden höhere Mengen chlorierter BADGE-Derivate bislang fast ausschließlich in mit PVC-Organosolen beschichteten Konserven nachgewiesen [u.a. BERGER *et al.* 2001, BIEDERMANN *et al.* 1997, UEMATSU *et al.* 2001]. Bei Epoxidharzen konnten zumeist nur Spuren der hydrochlorierten Syntheserückstände erfasst werden.

Tab. 1.8: Untersuchungen zu BPA im Lebensmittelbereich

Donor / Packmittel	Akzeptor / Medium	Referenz
Konserven- / Getränkedosen	Lebensmittel	BASHEER und LEE 2004, BILES <i>et al.</i> 1997b, BRAUNRATH <i>et al.</i> 2005, BRAUNRATH und CICHNA 2005, BREDE <i>et al.</i> 2002, BROTONS <i>et al.</i> 1995, CAO <i>et al.</i> 2008 / 2009a / 2009b, CASAJUANA und LACORTE 2004, GOODSON <i>et al.</i> 2002 / 2004, GRUMETTO <i>et al.</i> 2008, HAN <i>et al.</i> 2005, HIGUCHI <i>et al.</i> 2004, HORIE <i>et al.</i> 1999, HOWE und BORODINSKY 1998, IMANAKA <i>et al.</i> 2001, INOUE <i>et al.</i> 2003, KANG und KONDO 2002a / 2002b / 2003, KAWAMURA <i>et al.</i> 2001, KUO und DING 2004, LIM und TAKEUCHI 2006, LIU <i>et al.</i> 2008, MARAGOU <i>et al.</i> 2006, MUNGUÍA-LÓPEZ <i>et al.</i> 2002 / 2005, NERÍN <i>et al.</i> 2002, OZAKI <i>et al.</i> 2002, SAJIKI <i>et al.</i> 2007, SHAO <i>et al.</i> 2005 / 2007, SUN <i>et al.</i> 2006, THOMSON und GROUNDS 2005, XIAO <i>et al.</i> 2007, YONEKUBO <i>et al.</i> 2008, YOSHIDA <i>et al.</i> 2001
	FSL	KANG <i>et al.</i> 2003, MUNGUÍA-LÓPEZ und SOTO-VALDEZ 2001, MUNGUÍA-LÓPEZ <i>et al.</i> 2002 / 2005, OZAKI <i>et al.</i> 2002, SALAFRANCA <i>et al.</i> 1999
Gefäße aus PC	- Babyflaschen	Wasser BREDE <i>et al.</i> 2003, CAO und CORRIVEAU 2008 FSL BILES <i>et al.</i> 1997a, D'ANTUONO <i>et al.</i> 2001, MARAGOU <i>et al.</i> 2008, MOUNTFORD <i>et al.</i> 1997,
	- Flaschen	Wasser KRISHNAN <i>et al.</i> 1993, LE <i>et al.</i> 2008
	- Mikrowellen-Geschirr	FSL NERÍN <i>et al.</i> 2003
	- Leitungen	FSL SAJIKI und YONEKUBO 2004
Diverses	- Gummi	FSL OZAKI und BABA 2003
	- Papier/Pappe	FSL OZAKI <i>et al.</i> 2006
	- PET	Wasser TOYO'OKA und OSHIGE 2000
	- PVC-Folie	FSL LÓPEZ-CERVANTES und PASEIRO-LOSADA 2003
	- Wassertanks	Wasser BAE <i>et al.</i> 2002, LAMBERT und LARROQUE 1997, ROMERO <i>et al.</i> 2002
	- Weinbottiche	Wein BRENN-STRUCKHOFOVA und CICHNA-MARKL 2006, LAMBERT und LARROQUE 1997 FSL LARROQUE <i>et al.</i> 1988
Unbekannt	Lebensmittel	ALEXIADOU <i>et al.</i> 2008, DU <i>et al.</i> 2007, OTAKA <i>et al.</i> 2003, YAN <i>et al.</i> 2009, ZHANG und WU 1998

Während Untersuchungen zu BADGE und dessen Derivaten zumeist an Konserven- und Getränkedosen durchgeführt wurden, rückten bei BPA zusätzlich Gefäße auf Polycarbonatbasis – vor allem Babyflaschen – und Babyschnuller in den öffentlichen Fokus. Des Weiteren konnte das im Vergleich zu BADGE hydrophilere BPA im Rahmen der Lebensmittelüberwachung wiederholt in Getränken und Konserven nachgewiesen werden, wobei die gemessenen Konzentrationen zumeist relativ niedrig ausfielen. Neben den gelisteten Studien (s. Tab. 1.8) existieren unzählige Publikationen zu BPA-Rückständen in Umweltproben (Wasser, Abwässer, Klärschlämme, Boden, Luft etc.), Trinkwasser und biologischen Proben (Körperflüssigkeiten, Gewebe). Dies ist vor allem auf die im Vergleich zu BADGE höhere Hydrolysestabilität des BPA-Moleküls zurückzuführen.

In einigen Migrationsstudien konnte gezeigt werden, dass das *Leaching* von BPA, BADGE und dessen Derivaten aus Epoxidharzbeschichtungen wesentlich durch die Lager- temperatur determiniert wird [u.a. BAE *et al.* 2002, KANG *et al.* 2003, KAWAMURA *et al.* 2001, MUNGUÍA-LÓPEZ und SOTO-VALDEZ 2001, MUNGUÍA-LÓPEZ *et al.* 2002 / 2005, SAJIKI *et al.* 2007, SIMONEAU *et al.* 2002, YONEKUBO *et al.* 2008]. In Migrationsstudien an Konserven- dosen zeigten GOODSON *et al.* [2004] und CABADO *et al.* [2008], dass die Einstellung des Verteilungsgleichgewichtes von BPA bzw. BADGE zwischen Lebensmittel und Innenbeschich- tung bereits überwiegend (80 – 100 %) während der initialen Hitzesterilisation erfolgt. Darüber hinaus wurde die Zusammensetzung des Füllmediums (pH-Wert, Salz- und Ölgehalt) als zentraler migrationsbeeinflussender Faktor identifiziert [u.a. KANG *et al.* 2003, YONEKUBO *et al.* 2008]. RICHARD *et al.* [1999] und BERGER *et al.* [2001] berichten nach Dotierung von Thunfischkonserven über eine Abnahme der BADGE-Menge, die auf eine Reaktion mit Nahrungsmittelbestandteilen hindeutet. PETERSEN [2003] und PETERSEN *et al.* [2008] untersuchten das ‚Verschwinden‘ und beschrieben die Reaktion mit α -Amino- gruppen von Aminosäuren und Proteinen.

Die große Bandbreite an untersuchten Matrices und der zu quantifizierenden Analyten bedingt die Verwendung verschiedenster Analysetechniken. So kommen für die Proben- aufarbeitung von BPA die Methoden der lösungsmittelbasierten Extraktion (SE, LLE, ASE, MAE), Festphasenextraktion (SPE) sowie speziellere Techniken (SPME, SBSE, MSPD) zur Anwendung. Für die analytische Auftrennung und Erfassung wurden eine Vielzahl an flüssigchromatographischen (LC-DAD, LC-FLD, LC-ECD, LC-MS) und gaschromato- graphischen (GC-MS), gleichzeitig aber auch immunochemische (ELISA) und kapillar- elektrophoretische (CE) Methoden publiziert. BALLESTEROS-GÓMEZ *et al.* [2009] diskutieren in einem Übersichtsartikel die Vor- und Nachteile der verschiedenen Techniken und kommen zu dem Ergebnis, dass insbesondere mit den massenspektrometrischen Metho- den valide Daten gewonnen werden können. Darüber hinaus wurden eine Vielzahl von Sammelmethode für die parallele Bestimmung von endokrinen Disruptoren – inklusive

BPA – in Wasserproben publiziert [u.a. BOLZ *et al.* 2001, BRAUN *et al.* 2003, CARABIAS-MARTÍNEZ *et al.* 2004, DIRTU *et al.* 2008, HEEMKEN *et al.* 2001, INOUE *et al.* 2002, KAWAGUCHI *et al.* 2004, LAGANÀ *et al.* 2004, LEE *et al.* 2005, LIU *et al.* 2004, MOL *et al.* 2000, PEDERSEN und LINDHOLST 1999, SUN *et al.* 2001]. Die Methoden zum Nachweis von BADGE und dessen Derivaten sind ähnlich breit gefächert, wobei zur Erfassung oligomerischer Bestandteile zusätzlich größenausschlusschromatographische Techniken (SEC) zur Anwendung kommen.

In Anbetracht der gemeinsamen Hauptexpositionsquelle – den Innenbeschichtungen von Konserven- und Getränkedosen – ist es verwunderlich, dass bislang vergleichsweise wenige Methoden eine simultane Quantifizierung von BPA, BADGE und dessen Derivaten vorsehen: SUN *et al.* (LC-FLD) [2006], YONEKUBO *et al.* (LC-MS) [2008] und PETERSEN (LC-FLD-MS) [2003]. Die von NÉRIN *et al.* [2002] für Lebensmittel und INOUE *et al.* [2001] für humanes Plasma entwickelten Methoden eignen sich lediglich zur parallelen Bestimmung von BPA, BADGE und einzelnen Derivaten.

In Relation zum Umwelt- und Lebensmittelbereich wurde auf dem pharmazeutisch-medizinischen Sektor der BPA/BADGE-Problematik bislang vergleichsweise wenig Bedeutung beigemessen. Während *Leaching* von BPA aus PVC-Medizinprodukten – z.B. Infusionsbeuteln – bereits seit längerem thematisiert wird [u.a. ARBIN *et al.* 1986, CALAFAT *et al.* 2009], wurden in den letzten Jahren vereinzelt polycarbonat- und polysulfonhaltige Hämodialysegeräte [HAISHIMA *et al.* 2001, MURAKAMI *et al.* 2007, YAMASAKI *et al.* 2001] sowie Cardiopulmonarbypässe [SAKURAI *et al.* 2002] hinsichtlich des Übergangs von BPA in den Blutkreislauf geprüft. Die gemessenen Mengen bewegten sich jedoch in sehr geringen Konzentrationen. Etwas intensiver wurde zeitweise die Freisetzung von BPA aus bis-GMA-basierten Dentalversiegelungen verfolgt [u.a. ARENHOLT-BINDSLEV *et al.* 1999, FUNG *et al.* 2000, JOSKOW *et al.* 2006, LEWIS *et al.* 1999, MANABE *et al.* 2000, NATHANSON *et al.* 1997, NODA *et al.* 1999, OLEA *et al.* 1996, PULGAR *et al.* 2000, SCHMALZ *et al.* 1999, SÖDERHOLM und MARIOTTI 1999, WATANABE 2004].

Auf dem pharmazeutischen Sektor wurde bislang erst ein einziger Tubentyp (5 mL) hinsichtlich BADGE und dessen Derivaten geprüft. SØEBORG *et al.* [2006] befüllten zur Bestimmung der *Extractables* die Tuben mit 2 mL 2-Propanol (Isopropylalkohol, IPA) und lagerten diese für 48 Stunden bei 70 °C. Die (partial-)hydrolysierten BADGE-Derivate BADGE·2H₂O, BADGE·H₂O und BADGE·HCl·H₂O konnten in Mengen von 500 – 1200 µg/L IPA nachgewiesen werden, während die übrigen *Extractables* deutlich unter 150 µg/L lagen. Des Weiteren wurden in einer stark beschleunigten Migrationsstudie die in eine Cremematrix übergehenden *Leachable*-Mengen bestimmt. Hierzu befüllten SØEBORG *et al.* die Tuben mit 5 mL einer modifizierten Cremematrix der *British Pharmacopoeia* (BP) und lagerten diese für 120 Stunden bei 70 °C ein. Neben Spuren von BADGE (ca. 5 µg/L)

konnten ausschließlich die (partial-)hydrolysierten BADGE-Derivate in Mengen von ca. 30 – 160 µg/L nachgewiesen werden. Die in der Cremematrix detektierten *Leachables* lagen somit im Bereich von 5 – 15 % der *Extractables*. Für SØEBORG *et al.* erscheinen die in der Creme gefundenen Mengen als sicher. Sie fordern jedoch weitere Untersuchungen diesbezüglich.

1.8 Problemstellung

Die bisherigen Veröffentlichungen aus dem Lebensmittelbereich zeigen, dass bei Verwendung von Epoxidharzbeschichtungen vom BPA-Typ in der überwiegenden Anzahl der untersuchten Kontaktmedien BPA, BADGE und dessen Derivate als *Extractables* und/oder *Leachables* nachgewiesen werden können.

Ziel der Extraktionsstudien war es daher zu beurteilen, in welchem Ausmaß die genannten Analyten in den Innenbeschichtungen verschiedener, handelsüblicher Aluminiumtuben für den pharmazeutischen Gebrauch nachweisbar sind respektive aus diesen extrahiert werden können. Zwecks Einordnung der gewonnenen Daten galt es, den Einfluss der Extraktionsparameter (Solvens, Temperatur) auf Effektivität und Geschwindigkeit der Extraktion zu prüfen.

Des Weiteren sollten Migrationsstudien unter Lagerungsbedingungen, die den im Zulassungsbereich üblichen Vorgaben (*intermediate / accelerated conditions*) entsprechen, durchgeführt werden. Aufgrund des sehr heterogenen Spektrums potentieller pharmazeutischer Füllgüter galt es, verschiedenste Matrices in die Studie einzubeziehen, Art und Umfang des *Leachings* in Abhängigkeit von der Matrixzusammensetzung zu untersuchen und gegebenenfalls migrationsbeeinflussende Faktoren zu evaluieren. Da im Gegensatz zu Lebensmitteln bei halbfesten, pharmazeutischen Darreichungsformen im Regelfall von einer Hitzebehandlung abgesehen wird, waren Migrationsprozesse über eine längere Lagerdauer zu erwarten, sodass die Migrationsprofile über mehrere Monate überwacht werden sollten.

Im Rahmen von Zulassungsverfahren halbfester Darreichungsformen werden üblicherweise Analysenzertifikate (*certificate of analysis, CoA*) sowie Ergebnisse physikalisch-chemischer Tests präsentiert. Anhand der Ergebnisse von Extraktions- und Migrationsstudien sollten eine Beurteilung der Eignung und Aussagekraft dieser Daten für die qualitative Beurteilung des Primärpackmittels Aluminiumtube vorgenommen und gegebenenfalls Alternativen aufgezeigt werden.

2 Tubenakquise – Physikochemische Vorprüfungen

Tuben unterschiedlichster Dimensionierung werden für die Verpackung halbfester Darreichungsformen angeboten. Bei der Akquise galt es zu bedenken, dass im Rahmen der beabsichtigten Extraktions- und Migrationsstudien eine ‚worst case‘-Betrachtung hinsichtlich der Exposition der jeweiligen Füllgüter respektive -medien vorgenommen werden sollte. Diese war über den Einsatz von Tuben mit einem großen Oberflächen/Volumen-Verhältnis zu realisieren, ergo wurden Tuben mit einem kleinen Nennvolumen (z.B. Augensalbtuben) präferiert. Insgesamt 17 Tubentypen wurden von sieben Anbietern zur Verfügung gestellt oder konnten käuflich erworben werden. Eine Übersicht der akquirierten Tuben ist Kapitel 8.1.5 zu entnehmen.

Bereits optisch unterschieden sich die Tubentypen deutlich, insbesondere hinsichtlich der Färbung des Innenschutzlackes sowie der Stärke des verwendeten Aluminiums. Mit Ausnahme eines einzelnen mitgelieferten CoAs des Rohlackes von Tubentyp A lagen keine detaillierteren Informationen zu Art und Zusammensetzung der vorliegenden Tubeninnenschutzbeschichtungen vor.

Die Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit sollten sich auf mit Epoxidharzen vom BPA-Typ beschichtete Tuben beschränken, sodass eine vorherige Identitätsprüfung der Tubeninnenschutzlacke obligat wurde (s. Kap. 2.1). Zwecks weiterer Charakterisierung wurden exemplarisch physikalisch-chemische Untersuchungen durch die Hydro Aluminium GmbH (Bonn) an vier ausgewählten Tubentypen (A#1, A#2, D und K) vorgenommen (s. Kap. 2.3 u. 2.4). Bei diesen Tubentypen waren bereits im direkten, visuellen Vergleich der Innenseiten Unterschiede bezüglich Farbe, Rauigkeit und Homogenität des Lackfilms festzustellen.

2.1 Identitätsprüfung via ATR-FTIR

Die Fourier-Transform-Infrarot-Spektrometrie (FTIR) ermöglicht, anhand charakteristischer Absorption von Strahlung Aussagen über funktionelle Gruppen eines Moleküls zu treffen. Im direkten Vergleich des *fingerprint*-Bereichs mit geeigneten Referenzspektren kann gegebenenfalls eine Identifizierung der Substanz bzw. des Substanzgemisches vorgenommen werden [u.a. RÜCKER *et al.* 2001]. Einen Sonderfall der IR-Spektrometrie stellt die ATR-Technik (*attenuated total reflectance*) dar, die standardmäßig für die Identitätsbestimmung von Polymeren verwendet wird. Die Abschwächung eines totalreflektierten Strahls ermöglicht hierbei die Aufnahme von Oberflächenspektren unter Wegfall einer vorherigen Probenvorbereitung [GÜNZLER und GREMLICH 2003].

Mit Ausnahme der Tubentypen C sowie N bis Q, welche in zu geringer Stückzahl zur Verfügung standen, wurden IR-Spektren aller Tubeninnenbeschichtungen aufgenommen (vgl. Kap. 8.2.1).

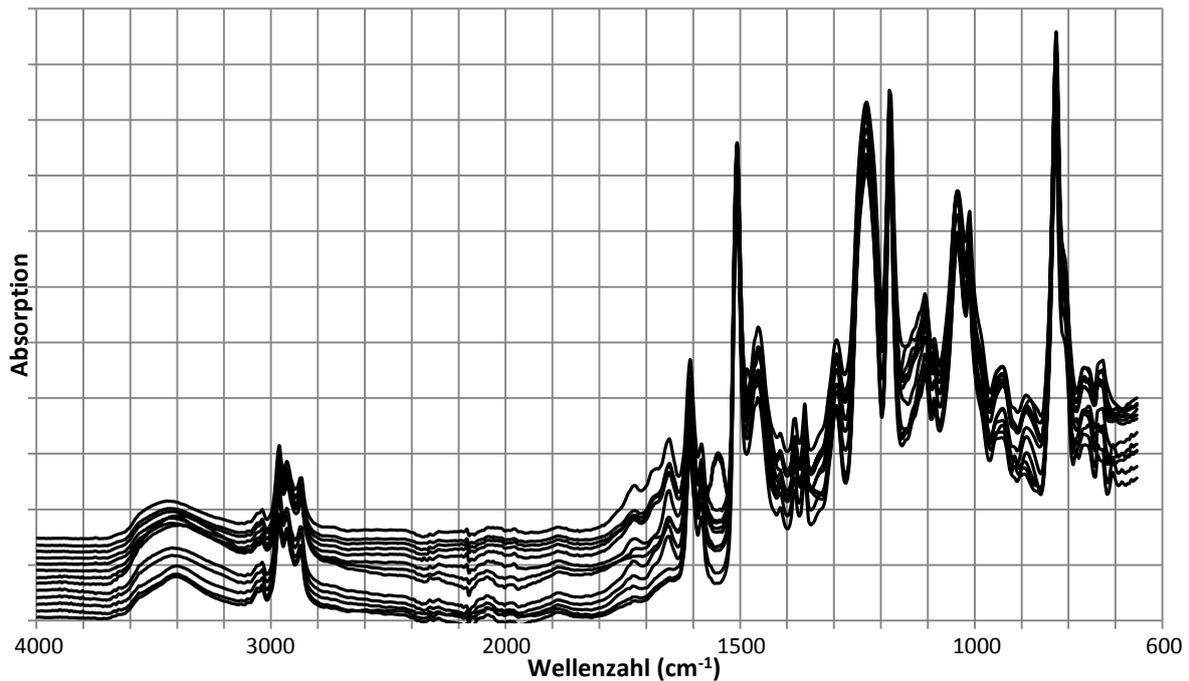


Abb. 2.1: IR-Spektren der Tubeninnenschuttlacke (gestaffelte Darstellung)

Der Vergleich der IR-Spektren ergab nur geringfügige Differenzen zwischen den einzelnen Tubeninnenbeschichtungen (s. Abb. 2.1). Die Absorptionsbanden konnten den für Epoxidharze vom BPA-Typ charakteristischen Strukturen zugeordnet werden (s. Tab. 2.1).

Tab. 2.1: Charakteristische IR-Absorptionsbanden eines Epoxidharzes vom BPA-Typ

$\tilde{\nu}$ [cm ⁻¹]	Bandenzuordnung	$\tilde{\nu}$ [cm ⁻¹]	Bandenzuordnung
825	$\delta(\varphi - H)$ aus der Ebene	1384, 1362	$\delta_s(CH_3)$ geminale Dimethylgruppen
915	Oxiranring	1458	$\nu(C = C) \varphi + \delta_{as}(CH_3)$
1036	$\nu(\varphi - O - C)$	1605, 1580, 1509	$\nu(C = C) \varphi$
1180	$\delta(\varphi - H)$ in Ebene + $\nu(C - C)$ von $C - C(-\varphi)_2$	2870	$\nu_s(CH_3)$
		2965	$\nu_{as}(CH_3) + \nu_{as}(O - CH_2)$
1240 - 1230	$\nu(\varphi - O) + \delta(\varphi - H)$ in Ebene	3030	$\nu(\varphi - H)$
1295	$\nu(C - O) + \nu(C - C)$	~ 3400	$\nu(OH)$

Zuordnung in Anlehnung an HUMMEL und SCHOLL [1988] / MANFREDI *et al.* [2005]; $\tilde{\nu}$ = Wellenzahl; ν = Valenzschwingung; δ = Deformationsschwingung; φ = Benzenring; as = asymmetrisch; s = symmetrisch

Die Differenzierung von den strukturell eng verwandten Epoxidharzen vom Bisphenol F-Typ (*Novolak*) erfolgte über das Vorhandensein von Methylgruppenbanden bei 1362 und 1384 cm^{-1} , welche ausschließlich bei Lacken vom BPA-Typ auftreten. Diese waren in allen Spektren deutlich zu erkennen (s. Abb. 2.2). Ein Abgleich mit der Hummel-Spektrenbibliothek [HUMMEL und SCHOLL 1988] sowie mit publizierten Spektren von mit BPA-basierten Epoxidharzen beschichteten Konservendosen [BIEDERMANN *et al.* 2000, BILES *et al.* 1997b, MUNGUÍA-LÓPEZ und SOTO-VALDEZ 2001, SAJIKI *et al.* 2007, SUMMERFIELD *et al.* 1998] ergab ebenfalls einen hohen Homologiegrad.

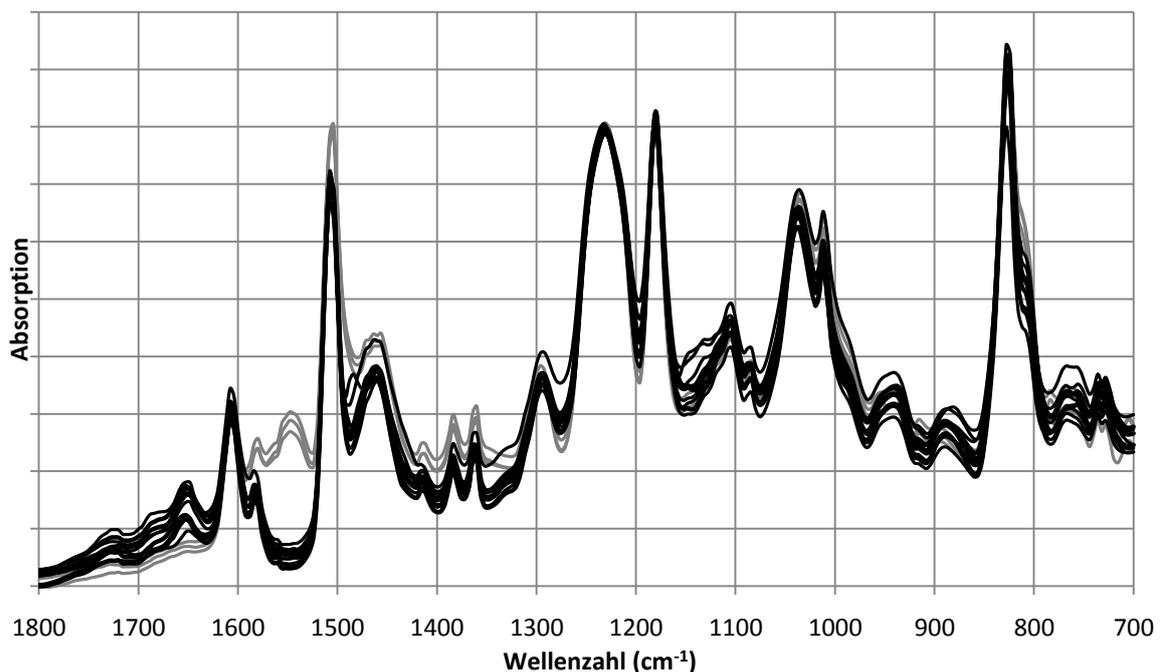


Abb. 2.2: Auszug aus ATR-FTIR-Spektren; Tubentyp A #1/#2, B (grau); Tubentyp D bis M (schwarz)

Eine detailliertere Betrachtung des unteren Wellenzahlbereichs der IR-Spektren ermöglichte eine Differenzierung der untersuchten Lacke in zwei Subgruppen (s. Abb. 2.2). Lackspektren des Anbieters I (Typ A#1/#2, B) wiesen eine ausgeprägte Bande im Bereich von 1530 bis 1570 cm^{-1} auf, die bei allen weiteren Spektren fehlte. Ein von der Hydro Aluminium GmbH durchgeführter Abgleich dieser Spektren mit einer hauseigenen Spektrenbibliothek deutete auf eine Beimischung von oder Grundierung mit Komponenten vom Polyurethantyp hin [HYDRO 2006]. Im Gegensatz zu Anbieter I waren in den Spektren der übrigen Tuben schwache Banden im Bereich von 1650 bzw. 1675 cm^{-1} zu erkennen, die mutmaßlich auf die Verwendung von Quervernetzern vom Amin- und/oder Amidtyp zurückzuführen waren (vgl. Kap. 1.2). Des Weiteren war eine leichte Erhöhung der Bande bei 1725 cm^{-1} festzustellen, welche auf die Verwendung eines Additivs vom Estertyp hindeutete [MUNGUÍA-LÓPEZ und SOTO-VALDEZ 2001, MANFREDI *et al.* 2005].

2.2 Bestimmung der Polymerisation

Im August 2009 wurde vom Normausschuss Verpackungswesen (NAVp) die DIN EN 15766 ‚Prüfverfahren zur Bestimmung der Polymerisation der Innenbeschichtung mit Aceton‘ [DIN 2009e] publiziert. Das Verfahren soll als Indikator einer unzureichenden Härtung der Innenbeschichtung dienen.

Mit Ausnahme der Tubentypen C sowie N bis Q wurden alle Tuben dem beschriebenen Prüfverfahren unterzogen (vgl. Kap. 8.2.2). Alle Tubeninnenbeschichtungen entsprachen den Vorgaben und gaben somit keinen Anhaltspunkt für eine unzureichende Polymerisation der verwendeten Innenschutzlacke.

2.3 Porositätsmessung / Lackporentest

Zur Untersuchung der Güte der Tubeninnenschutzlacke wurden exemplarisch Tuben vom Typ A#1, A#2, D und K einer auf einem elektrolytischen Verfahren basierenden Porositätsmessung in Anlehnung an DIN EN 15384 [DIN 2008a] unterzogen (vgl. Kap. 8.2.3). Die Norm spezifiziert für Tuben mit einem Durchmesser ≤ 28 mm eine maximal akzeptable mittlere Stromstärke von 25 mA, wobei Einzelmesswerte 80 mA nicht überschreiten dürfen.

Tab. 2.2: Ergebnis der Porositätsmessung [HYDRO 2006]

Tubentyp	Stromflüsse [mA]			Ø
	I	II	III	
A #1	10	6	6	7
A #2	10	12	13	12
D	2	2	4	3
K	8	9	11	9

Bei den getesteten Tuben lagen sämtliche Einzelmessungen unter 15 mA und entsprachen somit deutlich den Vorgaben (s. Tab. 2.2). Darüber hinaus konnte bei einem nachfolgenden Lackporentest visuell keine Zementation von Kupfer festgestellt werden, welche als Indiz einer erhöhten Porigkeit der Innenbeschichtungen gegolten hätte [HYDRO 2006].

Nach einem weiteren Lackporentest unter forcierten Prüfbedingungen (vgl. Kap. 8.2.3) wurden die Tuben ebenfalls visuell geprüft. Bei beiden Chargen vom Tubentyp A waren vor allem im Bereich der Tubenschulter deutliche Angrifferscheinungen zu erkennen (s. Abb. 2.3). Bei Tuben vom Typ D und K konnten keine signifikanten Änderungen der Oberfläche beobachtet werden.

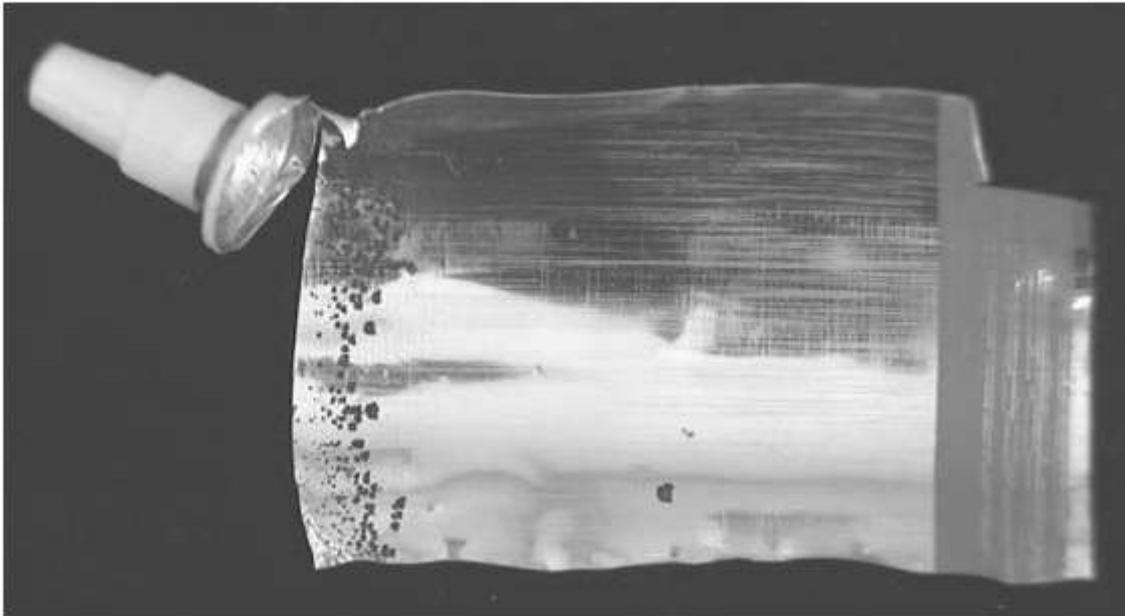


Abb. 2.3: Innenbeschichtung von Tubentyp A#1 nach Lackporentest unter forcierten Prüfbedingungen

2.4 Schichtdickenverteilung

Innenseiten der Tuben vom Typ A#1/#2 wiesen vereinzelt ‚fleckige‘ Areale auf; die Tubeninnenschutzlacke der Tuben D und K wirkten insgesamt dunkler und homogener verteilt. Interferometrische Messungen zur Bestimmung der Dicke der Lackschicht sowie der Schichtdickenverteilung belegten die beobachteten Differenzen (vgl. Kap. 8.2.4).

Tab. 2.3: Lackschichtdickenverteilung [HYDRO 2006]

Tubentyp	range	(\emptyset)
A #1	6,2 – 12,8	(9,4)
A #2	5,4 – 13,4	(9,6)
D	4,1 – 9,9	(7,9)
K	4,2 – 6,9	(5,6)

Angaben in μm ; Einzelmessungen vgl. Tab. 8.2

Ogleich heller, waren die Lackschichten bei Tubentyp A#1/#2 tendenziell dicker und inhomogener verteilt als bei den Tubentypen D und K (s. Tab. 2.3). Des Weiteren konnten bei Tuben vom Typ A#2 über 3D-Profilen (nicht dargestellt) Bereiche mit glatter Oberfläche ebenso wie Bereiche mit umformbedingten Riefen und Aufbrüchen der Metalloberfläche nachgewiesen werden [HYDRO 2006].

Insgesamt zeigten die Vorprüfungen, dass sich die Innenschutzlacke der Tuben des Herstellers I (Typ A und B) hinsichtlich ihrer ATR-Spektren respektive der Zusammensetzung von den übrigen geprüften Tuben signifikant unterschieden. Die physikochemischen Vorprüfungen ergaben hingegen nur marginale Unterschiede.

3 Die analytische Erfassung von BPA, BADGE und dessen Derivaten

3.1 Ausgangssituation

Mit der auf RP-HPLC-FLD basierenden Methode nach PETERSEN [2003] konnten simultan BPA, BADGE sowie dessen (partial-)hydrolysierte ($\text{BADGE}\cdot\text{H}_2\text{O}$, $\text{BADGE}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$) und hydrochlorierte Derivate ($\text{BADGE}\cdot\text{HCl}$, $\text{BADGE}\cdot 2\text{HCl}$, $\text{BADGE}\cdot\text{HCl}\cdot\text{H}_2\text{O}$) mit hoher Spezifität und Sensitivität unter Verwendung eines internen Standards bestimmt werden. Die Methode basiert auf einem binären Gradienten mit einem 5 mM Ammoniumformiatpuffer (pH 3,0) und einer 2:1-Mischung (V/V) aus Methanol und Acetonitril (ACN) als organischem Modifizier (vgl. Kap. 8.1.6). Darüber hinaus lässt sich mit der Methode optional eine massenspektrometrische Verifizierung vornehmen.

3.2 Interner Standard (BADHPE)

Zur Kompensation variabler Analytverluste während der Probenaufarbeitung ist die Verwendung eines internen Standards (ISTD) obligat. Gemäß PETERSEN [2003] eignet sich hierfür insbesondere Bisphenol A-di-3-hydroxypropylether (BADHPE, s. Abb. 3.1) aufgrund einer Retentionszeit im ungefähren Mittel der Analytpeaks. BADHPE war als Polymerisationsgemisch kommerziell erhältlich.

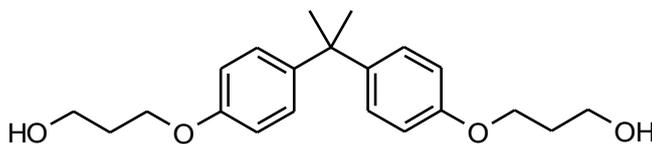


Abb. 3.1: Bisphenol A-di-3-hydroxypropylether (BADHPE)

In einem unter Standardbedingungen (vgl. Tab. 8.1) aufgenommenen Chromatogramm einer BADHPE-Lösung wurden im relevanten Messfenster fünf Verunreinigungspeaks detektiert, wobei zwei der Verunreinigungen (I_4 / I_5) Retentionszeiten im Bereich der Referenzsubstanzen BADGE, $\text{BADGE}\cdot\text{HCl}$ und $\text{BADGE}\cdot 2\text{HCl}$ aufwiesen (s. Abb. 3.2). Um einer systematischen Verfälschung der Messergebnisse – insbesondere im unteren Messbereich – vorzubeugen, wurde BADHPE initial einer semipräparativen, chromatographischen Aufreinigung unterzogen (vgl. Kap. 8.3). Das Ergebnis der Aufreinigung wurde chromatographisch verifiziert (s. Abb. 3.2).

Aufgrund der von BADHPE nur marginal abweichenden Retentionszeiten konnte die semipräparative Methode (vgl. Tab. 8.4) nicht für die selektive Abtrennung der Verunreinigungen I_1 und I_2 genutzt werden. Von weiteren Aufreinigungsschritten konnte abgesehen werden, da Interferenzen mit den Peaks der Referenzsubstanzen nicht zu erwarten waren.

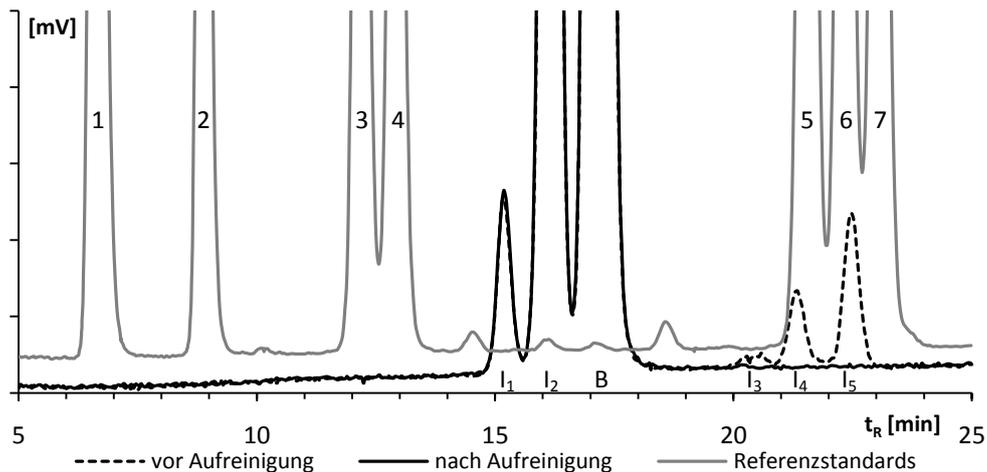


Abb. 3.2: Chromatogramme BADHPE vor/nach Aufreinigung ($c \approx 500 \mu\text{g/L}$) im Vergleich zu einer Mischung der übrigen Referenzstandards ($c \approx 50 \mu\text{g/L}$)

B = BADHPE; $I_1 - I_4$ = Verunreinigungspeaks von BADHPE; 1 = BADGE \cdot 2H $_2$ O; 2 = BPA; 3 = BADGE \cdot H $_2$ O; 4 = BADGE \cdot HCl \cdot H $_2$ O; 5 = BADGE; 6 = BADGE \cdot HCl; 7 = BADGE \cdot 2HCl

Der aufgereinigte interne Standard wurde dicht verschlossen bei 4 °C gelagert. Arbeitsstandardlösungen in ACN wurden bei Bedarf frisch hergestellt. Auch nach zweijähriger Lagerung konnten keine signifikanten Änderungen der Peakflächenverhältnisse in den Chromatogrammen festgestellt werden, die auf einen Abbau von BADHPE hingedeutet hätten (vgl. Kap. 8.3.3).

3.3 Methodenvalidierung

3.3.1 Parameter

Die ‚Linearität‘ eines analytischen Verfahrens entspricht dessen Fähigkeit, innerhalb eines definierten Arbeitsbereiches Messergebnisse zu erhalten, die der Analytkonzentration in einer Probe direkt proportional sind [EMEA 1995]. Für die Prüfung auf lineare Abhängigkeit stehen in der Literatur eine Vielzahl graphischer Verfahren und mathematischer Parameter zur Verfügung [KROMIDAS 2000]. Während das Bestimmtheitsmaß R^2 lediglich als Maß der Anpassung eines mathematischen Modells an die Messwerte verstanden werden kann, liefert die Reststandardabweichung s_y zusätzlich Informationen über die Präzision. Unter Einbeziehung der Kalibriergeradensteigung lässt sich daraus die Verfahrensstandardabweichung s_{x_0} ableiten, welche die Leistungsfähigkeit der Methode widerspiegelt. Nach abschließender Normierung auf den Schwerpunkt der Kalibriergeraden erhält man den Verfahrensvariationskoeffizienten V_{k0} , über den ein direkter Vergleich alternativer Verfahren ermöglicht wird.

Die Bestimmung von Wiederfindungsraten eignet sich insbesondere zur Feststellung potentieller systematischer Fehler während der Probenaufarbeitung und Quantifizierung. Wird der ‚richtige‘ Wert tatsächlich gefunden, kann dies – unter den gewählten Bedin-

gungen – als Beweis sowohl der Selektivität als auch der Robustheit und Richtigkeit einer Methode angesehen werden [KROMIDAS 2000].

Bei der ‚Nachweisgrenze‘ (*limit of detection*, LOD) kann ein Analyt innerhalb eines definierten Konfidenzintervalls gerade noch zuverlässig – respektive mit akzeptabler Ungenauigkeit – nachgewiesen werden [FUNK *et al.* 2007]; ergo handelt es sich um die Entscheidungsgrenze für das Vorhandensein eines Analyten [DIN 1994]. Die ‚Bestimmungsgrenze‘ (*limit of quantitation*, LOQ) einer analytischen Methode beschreibt die kleinste Analytmenge in der Probe, die mit vorgegebener Präzision und Richtigkeit quantitativ erfasst werden kann [DIN 1994]. Für die Ermittlung von LOD und LOQ stehen diverse praktische und rechnerische Methoden zur Verfügung. Bei chromatographischen Messverfahren wird häufig die konzentrationsabhängige Höhe des Messsignals in Relation zur Unsicherheit eines Leerwertes (‚Grundrauschen‘) gesetzt und mit einem Sicherheitsfaktor beaufschlagt. Üblicherweise findet ein Signal/Rausch-Verhältnis (S/N) von 3:1 für LOD, respektive 9:1 (nach *Ph.Eur.* 10:1) für LOQ, Verwendung.

Die ‚Robustheit‘ einer Methode beschreibt das Ausmaß der Unabhängigkeit eines Ergebnisses von Änderungen relevanter Einflussparameter [KROMIDAS 2000]. Somit gibt sie einen Hinweis auf die Verlässlichkeit im ‚normalen‘ Gebrauch. Eine weitere Differenzierung in Methodenrobustheit, Verfahrensstabilität und Anwendbarkeit ist möglich.

3.3.2 Grundkalibrierung

Unter der ‚Grundkalibrierung‘ wird nachfolgend die matrixunabhängige Kalibrierung verstanden. Sie wurde unter Einbeziehung aller Referenzsubstanzen inklusive des internen Standards durchgeführt, wobei der Arbeitsbereich an das Messfenster des Fluoreszenzdetektors adaptiert wurde. Im Rahmen der Extraktions- und Migrationsstudien überstiegen die Konzentrationen wiederholt den initial definierten Arbeitsbereich. Durch Verwendung eines reduzierten Injektionsvolumens im Bereich von 10 – 100 μL konnte bei den meisten Proben die Einhaltung des Arbeitsbereiches gewährleistet werden. Aus diesem Grund wurde die Grundkalibrierung sowohl mittels Verdünnungsreihe als auch mit variablem Injektionsvolumen durchgeführt (vgl. Kap. 8.4.1). Im Rahmen der Linearitätsprüfung wurden für beide Verfahren sämtliche beschriebenen Parameter (s. Kap. 3.3.1) ermittelt. Die Residuenplots der Kalibriergeraden wurden hinsichtlich Trends untersucht und die Auswirkung des Injektionsvolumens auf die Peaksymmetrie geprüft.

Ein Vergleich der beiden Verfahrensvariationskoeffizienten (s. Tab. 3.1) belegte erwartungsgemäß das Überwiegen des manuellen Pipettierfehlers gegenüber der Ungenauigkeit des Injektors. Unterschiede in der Steigung der Kalibriergeraden (vgl. Tab. 8.6 u. Tab. 8.7) waren auf die abweichende Betriebszeit der Xenonlampe des Fluoreszenzdetektors zum jeweiligen Messungszeitpunkt zurückzuführen.

Tab. 3.1: Mittlere Kenndaten der Grundkalibrierung (exklusive ISTD)

	Ermittlung mittels	
	Verdünnungsreihe	Variation des Injektionsvolumen
Arbeitsbereich [$\frac{\mu g}{L}$]	LOQ – 500	LOQ – 5000
Bestimmtheitsmaß R^2	0,9992	0,9996
Reststandardabweichung s_y [$mV \cdot min$]	1,19	0,991
Verfahrensstandardabweichung s_{xo} [$\frac{\mu g}{L}$]	4,25	3,02
Verfahrensvariationskoeffizient V_{ko} [%]	1,56	1,11
Nachweis- / Bestimmungsgrenze (S/N) [$\frac{\mu g}{L}$]	0,66 / 2,20	
Nachweis- / Bestimmungsgrenze (DIN 32645) [$\frac{\mu g}{L}$]	0,38 / 1,32	

Einzelkenndaten vgl. Tab. 8.6 – Tab. 8.8

Die dargestellten Kenndaten (s. Tab. 3.1) belegten die Linearität der Verfahren innerhalb der definierten Arbeitsbereiche. Die zugehörigen Residuenplots wiesen konzentrationsabhängig eine Zunahme der Streuung auf, gaben aber keinen Hinweis auf sonstige Trends innerhalb der Messreihen (s. Abb. 3.3, vgl. Kap. 10.1). Auch die Peaksymmetrie wurde durch die Variation des Injektionsvolumens nicht signifikant beeinflusst (s. Abb. 3.4). Somit konnte die prinzipielle Eignung der Verwendung eines reduzierten Injektionsvolumens zur Einhaltung des Arbeitsbereiches nachgewiesen werden.

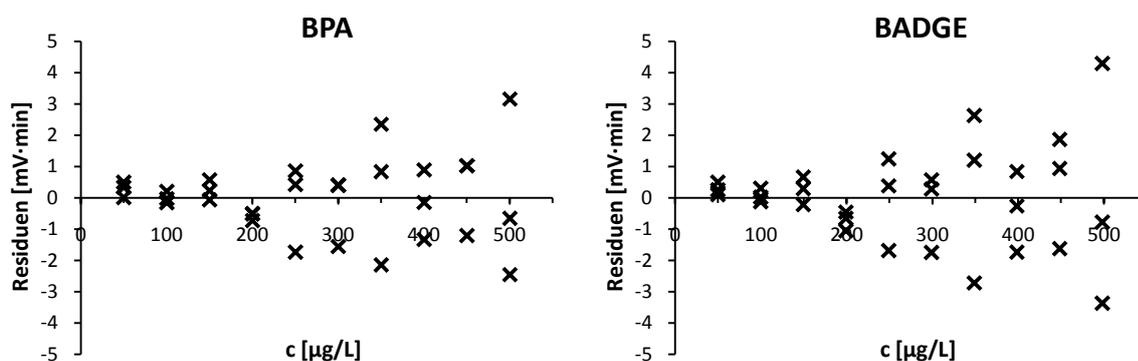


Abb. 3.3: Exemplarische Residuenplots der Prüfung auf Linearität (übrige Residuenplots vgl. Kap. 10.1)

In einem separaten Versuch wurden LOD und LOQ sowohl über das Signal/Rausch-Verhältnis als auch nach DIN 32645 [DIN 1994] ermittelt (vgl. Kap. 8.4.1.2). Bei dieser indirekten Methode erfolgt die Bestimmung der Unsicherheit des Leerwertes über eine Extrapolation der Präzision von Regressionsdaten (vgl. Kap. 8.4.3.3).

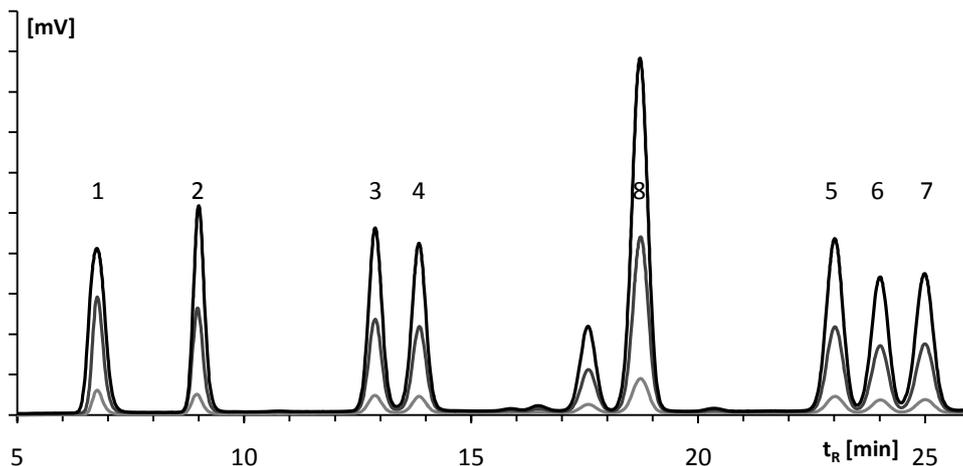


Abb. 3.4: Chromatogramme der Referenzsubstanzen ($c \approx 500 \mu\text{g/L}$, BADHPE: $c \approx 1000 \mu\text{g/L}$) bei verschiedenen Injektionsvolumina (10, 50, 100 μL)
 1 = BADGE \cdot 2H $_2$ O; 2 = BPA; 3 = BADGE \cdot H $_2$ O; 4 = BADGE \cdot HCl \cdot H $_2$ O; 5 = BADGE; 6 = BADGE \cdot HCl; 7 = BADGE \cdot 2HCl, 8 = BADHPE

Die ermittelten Nachweisgrenzen gewährleisteten eine hinreichend sensitive Quantifizierung aller betrachteten Analyten, wobei beide verwendeten Berechnungsmethoden Ergebnisse vergleichbarer Größenordnung lieferten (s. Tab. 3.1). Bei der Bestimmung aus dem Signal/Rausch-Verhältnis verschlechterten sich LOD und LOQ mit zunehmender Retentionszeit aufgrund der Peakverbreiterung, respektive der resultierenden Abnahme der Peakhöhe (vgl. Tab. 8.8). Eine Ausnahme bildete BADGE \cdot 2H $_2$ O, da die Elutionskraft des verwendeten Solvens im vorderen Chromatogrammbereich eine leichte Peakverbreiterung und somit Abnahme der Peakhöhe bewirkte (s. Abb. 3.4). Somit ergaben sich für diesen Analyten geringfügig erhöhte Grenzwerte. Bei der peakflächenbezogenen Kalkulation nach DIN 32645 [DIN 1994] trat dieser Effekt erwartungsgemäß nicht auf.

Anhand der dargestellten Daten konnten die genutzten Verfahren als valide angesehen werden.

3.3.3 Robustheit

Im Rahmen der Robustheitsprüfung (vgl. Kap. 8.4.2) wurde der Fokus auf Aspekte der Verfahrensstabilität, insbesondere der Stabilität der Standard- und Probenlösungen, gelegt.

3.3.3.1 Stabilität der Stammlösungen

BERGER und OEHME [2000] stellten keinen signifikanten Abbau der BADGE-Derivate bei Lagerung in gekühltem ACN fest. Zwecks Verifizierung wurden separate Stammlösungen aller Referenzsubstanzen in ACN ($c \approx 1000 \text{ mg/L}$) hergestellt und bei $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ gelagert. Die Stabilität dieser Stammlösungen wurde exemplarisch über die relativen Peakflächenanteile kontrolliert (vgl. Kap. 8.4.2.1). 14 Monate nach Ansatz waren bei allen Stammlösungen ausschließlich Abweichungen $\leq 0,2 \%$ festzustellen. Dies lag im Bereich des

Messfehlers der Methode, sodass über die gesamte Versuchsdauer kein signifikanter Abbau der einzelnen, in ACN gelösten Referenzsubstanzen bestand.

3.3.3.2 Stabilität der Arbeitsstandardlösungen

In Intervallen wurden aus den separaten Stammlösungen Mischungen der Standards (Arbeitsstandardlösungen) in ACN hergestellt und bei -20 °C gelagert ($c \approx 1000\text{ }\mu\text{g/L}$). Die Stabilität dieser Mischlösungen wurde über einen Vergleich der relativen Peakflächen der Analyten in den mitgeführten Standards der Kalibrierreihen kontrolliert. Über die Verwendungsdauer der Arbeitsstandardlösungen konnte keine signifikante Veränderung der Peakflächenverhältnisse festgestellt werden, die auf eine Interaktion der Analyten hingedeutet hätte.

3.3.3.3 Stabilität der Analyten in ACN/H₂O-Mischungen

Die Hydrolyse epoxidhaltiger BADGE-Derivate ist vielfach beschrieben (vgl. Kap. 1.7). Deshalb wurde die Stabilität der Analyten in einer den aufgearbeiteten Proben entsprechenden ACN/H₂O-Mischung bei Raumtemperatur und bei Lagerung im gekühlten Autosampler ($T \approx 4\text{ °C}$) überprüft (vgl. Kap. 8.4.2.2).

In den Chromatogrammen von BPA und BADGE·2HCl konnten auch nach siebentägiger Lagerung bei Raumtemperatur keine weiteren Peaks detektiert werden, die auf einen Abbau beider Substanzen hingedeutet hätten. Die Chromatogramme der Referenzsubstanzen von BADGE·2H₂O bzw. BADGE·HCl·H₂O wiesen von Beginn an einen einzelnen respektive vier Verunreinigungspeaks auf, deren Peakflächenverhältnis sich im Beobachtungszeitraum jedoch nicht signifikant änderte. Bei den Substanzen mit freien Oxiraningruppen (BADGE, BADGE·H₂O, BADGE·HCl) wurde erwartungsgemäß eine temperatur- und zeitabhängige Hydrolyse beobachtet (s. Tab. 3.2).

Tab. 3.2: Hydrolyse epoxidhaltiger BADGE-Derivate in ACN/H₂O (4,2 ad 10,0 mL)

	Beginn 0 d	Autosampler (4 °C)		Raumtemperatur	
		3 d	7 d	3 d	7 d
BADGE·H₂O	93,1	93,0	93,2	92,4	91,7
BADGE·2H ₂ O	3,5	3,6	3,7	4,2	5,0
Σ (weitere Peaks)	3,4	3,4	3,1	3,4	3,3
BADGE	97,8	97,6	97,4	95,7	94,6
BADGE·H ₂ O	n.d.	0,2	0,5	1,5	3,0
Σ (weitere Peaks)	2,2	2,2	2,1	2,8	2,4
BADGE·HCl	94,0	93,8	93,9	93,2	92,4
BADGE·HCl·H ₂ O	n.d.	n.d.	0,2	0,8	1,6
Σ (weitere Peaks)	6,0	6,2	5,9	6,0	6,0

Darstellung in relativen Peakflächenanteilen [%]

Zur Vermeidung hydrolysebedingter, systematischer Verfälschungen der Messergebnisse waren sämtliche Proben im Autosampler bei 4 °C zu lagern und binnen 48 Stunden nach Aufarbeitung zu vermessen. Der bei diesen Bedingungen aus der Hydrolyse resultierende Messfehler konnte mit $\leq 0,2$ % bei der Auswertung vernachlässigt werden (s. Tab. 3.2). Einen Sonderfall stellten die aufgearbeiteten Proben einer Polysorbat 60-Matrix dar, die aus Viskositätsgründen bei Raumtemperatur gelagert werden mussten (vgl. Kap. 8.6.5.5.1). Der aus der Hydrolyse resultierende Fehler lag bei dieser Matrix für alle Analyten mit < 2 % nach 48 Stunden noch im akzeptablen Bereich. Darüber hinaus wurden die Produkte der Hydrolyse ebenfalls quantifiziert und gingen in die summarische Betrachtung der Migration mit ein.

3.3.4 Matrixkalibrierung

Das breite Spektrum in die Untersuchung einbezogener Matrices bedingte individuelle Aufarbeitungsschemata. Da die Wiederfindungsraten maßgeblich durch die experimentellen Bedingungen determiniert werden und zudem einen Schlüsselparameter im Rahmen der Methodvalidierung darstellen, wurden Versuche zur Wiederfindung unter Einbeziehung sämtlicher Matrices durchgeführt. Zur Reduktion des experimentellen Aufwandes wurden die über den internen Standard korrigierten Wiederfindungsdaten als Basis für die Berechnung der Verfahrenskenndaten sowie von LOD und LOQ verwendet (vgl. Kap. 8.4.3).

Während die Ermittlung von LOD und LOQ über das Signal/Rausch-Verhältnis im Rahmen der Grundkalibrierung adäquate Grenzwerte lieferte, erwies sich die Methode für die Matrixkalibrierung als ungeeignet. Zahlreiche Faktoren – wie Probenaufarbeitung, Interferenzen in den Chromatogrammen, rechnerische Korrektur über den internen Standard und gegebenenfalls Hintergrundabzug (*background subtraction*) von separat aufgenommenen Matrixchromatogrammen – haben einen entscheidenden Einfluss auf Präzision und Richtigkeit der Messergebnisse, die sich nur bedingt im Signal/Rausch-Verhältnis widerspiegeln. Um valide Aussagen über die Dimension von LOD und LOQ treffen zu können, wurde deshalb für die Matrixkalibrierung ausschließlich die Methode in Anlehnung an die Kalibriergeradenmethode gemäß DIN 32645 [DIN 1994] gewählt (vgl. Kap. 8.4.3.3). Eine Voraussetzung hierfür ist Varianzenhomogenität (Homoskedastizität), auf die vorab mittels Test nach *Hartley* geprüft wurde (vgl. Kap. 8.4.3.2).

Die mittleren Verfahrenskenndaten sind im Rahmen der jeweiligen Migrationsstudien dargestellt (vgl. Kap. 5). Die Einzeldaten der Wiederfindungsversuche sowie die vollständigen Verfahrenskenndaten können dem Anhang (vgl. Kap. 10.2 u. Kap. 10.3) entnommen werden.

4 Extraktionsstudien

Verschiedenste Bedingungen finden in der Literatur für die Bestimmung der *Extractables* aus Epoxidharzbeschichtungen Anwendung (s. Tab. 4.1). Um eine Evaluation von Extraktionsdaten vornehmen zu können, wurden an unbenutzten Leertuben Untersuchungen hinsichtlich des Einflusses der Extraktionsdauer, -temperatur sowie des verwendeten Füllmediums durchgeführt (vgl. Kap. 8.5).

Tab. 4.1: Extraktionsbedingungen für Epoxidharzbeschichtungen

Solvens	Dauer	Temperatur	Referenz(en)
2-Propanol	48 h	70 °C	SØEBORG <i>et al.</i> [2006]
Aceton	3 h ^a	RT	HENRIKS-ECKERMAN und LAJOKI [1988]
ACN	20 min ^b	RT	THEOBALD <i>et al.</i> [1999b]
ACN	16 h	RT	THEOBALD <i>et al.</i> [2002]
ACN	24 h	RT	BIEDERMANN und GROB [1998], BERGER und OEHME [2000], BERGER <i>et al.</i> [2001], BRONZ <i>et al.</i> [1998], SCHAEFER <i>et al.</i> [2004], SCHAEFER und SIMAT [2004]
ACN	24 h	25 °C	BIEDERMANN <i>et al.</i> [1998, 2000]
ACN	4 h	40 °C	SENDÓN-GARCÍA und PASEIRO-LOSADA [2004]
Chloroform / MeOH (25:75)	10 h	n.a. ^c	PASEIRO-LOSADA <i>et al.</i> [1991a]
MeOH	3 h	> 65 °C ^d	COTTIER <i>et al.</i> [1997, 1998]

RT = Raumtemperatur; ^a davon 1 h im Ultraschallbad; ^b unter Rühren; ^c nicht angegeben (Reflux); ^d Soxhlet-Extraktion

4.1 Extraktionskinetik

Zur Untersuchung der Extraktionskinetik während der Lagerung wurden mit Solvenzien befüllte Tuben differenter Typen sowohl bei Raumtemperatur als auch bei 40 °C eingelagert und die Konzentrationen der *Extractables* zu verschiedenen Zeitpunkten bestimmt (vgl. Kap. 8.5.1).

Unter Berücksichtigung der hohen interindividuellen Streuung der Messwerte wurden bei den mit Acetonitril (ACN) befüllten Tuben vom Typ A#2 im Beobachtungsintervall von 24 Stunden bis 14 Tagen nach Abfüllung temperaturunabhängig nur marginale Änderungen der Konzentrationsverläufe aller *Extractables* festgestellt (s. Abb. 4.1; vgl. Tab. 8.15 u. Tab. 8.16). Dies belegte die sehr rasche Einstellung des Restmonomergleichgewichts zwischen Innenschutzlack und Füllmedium bei diesem Tubentyp bereits vor der ersten Probenahme. Darüber hinaus wurde bei der forcierten Extraktion (40 °C, 14 d) bei keinem der Analyten eine signifikante Konzentrationsabnahme beobachtet, sodass von einem weitgehend inerten Verhalten von BPA, BADGE und dessen Derivaten gegenüber ACN

ausgegangen werden konnte. Reaktionen relevanter Mengen der Restmonomere untereinander sowie mit weiteren, nicht quantifizierten *Extractables* konnten somit ebenfalls für den Versuchszeitraum ausgeschlossen werden.

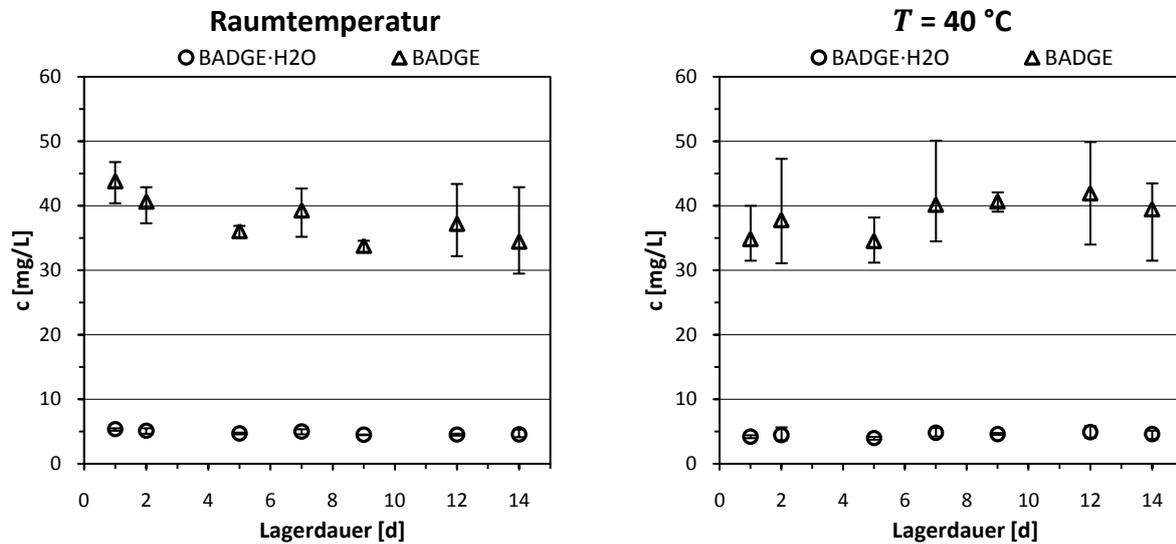


Abb. 4.1: Tubentyp A#2: Exemplarische Konzentrationsverläufe der beiden höchstkonzentrierten *Extractables* bei Raumtemperatur und 40 °C mit *range* ($n = 3$); Füllmedium: ACN (vgl. Tab. 8.15 u. Tab. 8.16)

Im direkten Vergleich der Einlagerung bei Raumtemperatur und 40 °C waren keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Konzentrationsverläufe von BADGE, BADGE·H₂O und BADGE·2H₂O zu erkennen. Bei der forcierten Extraktion lagen die Konzentrationen von BPA, BADGE·HCl·H₂O und BADGE·HCl geringfügig unter denen der Einlagerung bei Raumtemperatur (vgl. Tab. 8.15 u. Tab. 8.16). Im Vergleich mit den Ergebnissen nachfolgender Extraktionsstudien mit selbigem Tubentyp (s. Tab. 4.2 u. Tab. 4.5) unter analogen Bedingungen (ACN, 40°C) egalisierten sich die Unterschiede, sodass im vorliegenden Fall von Messungenauigkeiten auszugehen war.

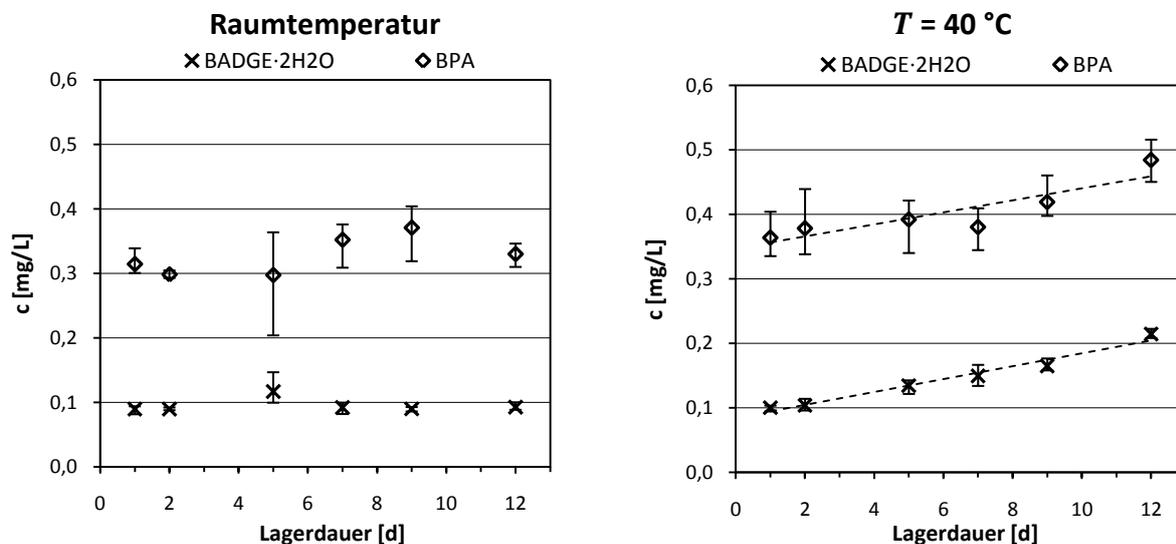


Abb. 4.2: Tubentyp I: Exemplarische Konzentrationsverläufe der beiden höchstkonzentrierten *Extractables* bei Raumtemperatur und 40 °C mit *range* ($n = 3$); Füllmedium: ACN (vgl. Tab. 8.17 u. Tab. 8.18)

Eine mit Tuben vom Typ I analog durchgeführte Extraktion ergab ein hinsichtlich des Temperatureffektes differentes Verhalten. Während die Konzentrationen aller *Extractables* nach eintägiger Lagerung bei beiden Temperaturen noch vergleichbare Größenordnungen aufwiesen und bei Raumtemperaturlagerung im Beobachtungsintervall annähernd konstant blieben, war bei der forcierten Extraktion tendenziell ein stetiger Anstieg aller Analytkonzentrationen zu beobachten (s. Abb. 4.2, vgl. Tab. 8.17 u. Tab. 8.18). Insbesondere die extrahierte Menge an BADGE·2H₂O verdoppelte sich im Versuchszeitraum (12 d) von 100 µg/L auf 214 µg/L.

Für den beobachteten Konzentrationsanstieg aller (partial-)hydrolysierten BADGE-Derivate (BADGE·2H₂O, BADGE·H₂O, BADGE·HCl·H₂O) konnte eine Hydrolyse als Ursache ausgeschlossen werden, da für die Extraktion nahezu wasserfreies ACN (CoA: ≤ 0,02 % H₂O) verwendet wurde und die Tuben anhand von Differenzwägungen als dicht angesehen werden konnten (vgl. Kap. 8.5). Darüber hinaus wurden die Edukte der potentiellen Hydrolyse (BADGE, BADGE·HCl) in den Extrakten nicht nachgewiesen. Außerdem war bei Extraktion des Tubentyps A#2 mit ACN (s. Abb. 4.1) – ungeachtet des Vorhandenseins der potentiellen Edukte (BADGE, BADGE·HCl) – keine Zunahme der korrespondierenden, hydrolysierten BADGE-Derivate festzustellen.

Zwecks Verifizierung der Beobachtung wurde ein dritter Tubentyp (Typ D) mit ACN extrahiert, wobei in Ermangelung einer ausreichenden Tubenzahl ausschließlich die Auswirkung einer forcierten Extraktion untersucht werden konnte. Die nachgewiesenen Mengen aller *Extractables* stiegen mit Ausnahme von BADGE·HCl innerhalb der ersten Tage nach Einlagerung stetig an, bevor sie asymptotisch einem Grenzwert entgegenzustreben schienen (s. Abb. 4.3, vgl. Tab. 8.19). Analog Tubentyp I (s. Abb. 4.2) wurde das maximale Ausmaß der Extraktion mit Versuchsende mutmaßlich nicht erreicht.

Insgesamt ergaben die vorstehenden Versuche für die untersuchten Tubeninnenbeschichtungen sehr unterschiedliche Extraktionskinetiken. Darüber hinaus zeigte sich eine unterschiedlich starke Beeinflussung durch die Variation der Lagerungsbedingungen. Für Tubentyp D und I war der Konzentrationsanstieg bei BADGE·2H₂O innerhalb des Beobachtungsintervalls am stärksten ausgeprägt.

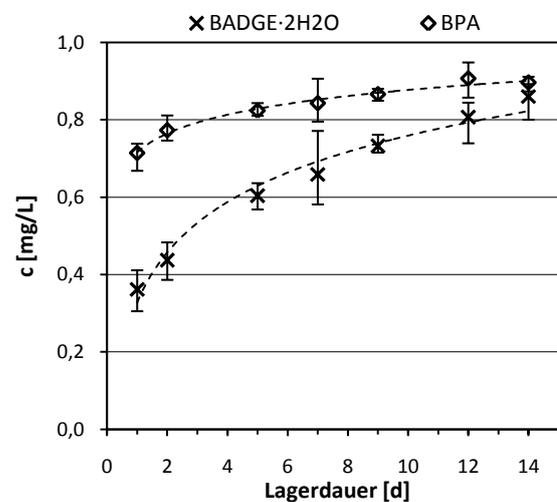


Abb. 4.3 : Tubentyp D: Exemplarische Konzentrationsverläufe der beiden höchstkonzentrierten *Extractables* bei 40 °C mit range ($n = 3$); Füllmedium: ACN (vgl. Tab. 8.19)

In einem alternativen Versuchsansatz wurden die bereits eingangs untersuchten Tuben vom Typ A#2 einer forcierten Extraktion ($T = 40\text{ °C}$) mit 2-Propanol (Isopropanol, IPA) unterzogen. Ungefähr zehn Tage nach Einlagerung erreichten die Konzentrationsverläufe

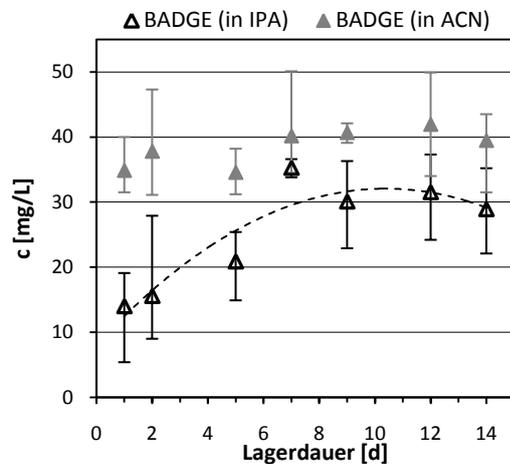


Abb. 4.4: Tubentyp A#2: Konzentrationsverlauf von BADGE bei Extraktion mit IPA vs. ACN ($T = 40\text{ °C}$, $n = 3$); (vgl. Tab. 8.20)

der beiden quantifizierten *Extractables* asymptotisch einen Grenzwert (vgl. Tab. 8.20). Die Extraktion verlief somit im Vergleich zur ACN-basierten Extraktion signifikant langsamer (s. Abb. 4.4). Darüber hinaus lagen die mit 2-Propanol extrahierten Mengen sichtbar unter denen von ACN. Nach dem zwölften Tag wurde eine tendenzielle Abnahme der Analytkonzentrationen beobachtet, welche möglicherweise auf Interaktionen zwischen den *Extractables* und dem alkoholischen Extraktionsmedium beruhte (s. Kap. 4.2).

4.2 Extraktionsmedien

Der Einfluss des Füllmediums auf die qualitative und quantitative Zusammensetzung der *Extractables* wurde in der Folge detaillierter betrachtet. Für die Untersuchung wurden Tuben mit bekannt hoher Menge an Restmonomeren (Typ A#2) gewählt, da diese auch bei gegebenenfalls geringer Extraktionseffektivität des verwendeten Füllmediums eine hinreichende Sensitivität der Detektion gewährleisten.

Halbfeste pharmazeutische Darreichungsformen bilden ein sehr heterogenes Spektrum potentieller Füllgüter. Neben ‚klassischen‘ Hydrogelen und rein lipophilen Salben Grundlagen finden sowohl saure (z.B. *Salicylsäure-Salbe NRF*) als auch alkoholhaltige Formulierungen breite Anwendung, sodass Migrationsprüfungen unter Einbeziehung sämtlicher Simulanzlösemittel nach Lebensmittelrecht durchgeführt wurden (vgl. Kap. 1.6.2). In der Richtlinie 97/48/EG sind die Prüfbedingungen für Materialien und Gegenstände aus Kunststoff, die dazu bestimmt sind, für einen unbestimmten Zeitraum bei Raumtemperatur mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen, mit zehn Tagen bei 40 °C spezifiziert [EUROPÄISCHE KOMMISSION 1997]. Unter den dargestellten Prüfbedingungen ist für Olivenöl eine Ersatzprüfung mit Isooctan (2 d, 20 °C) sowie mit Ethanol 95 % (10 d, 40 °C) zulässig.

Die Rezepturen zahlreicher Gele (z.B. *2-Propanolhaltiges Carbomergel DAB*) weisen einen erhöhten Alkoholanteil auf, sodass 25 %iges Ethanol und 25 %iges 2-Propanol in die Studie mit einbezogen wurden. Ferner wurden Extraktionsprüfungen mit organischen

Medien (ohne Wasseranteil) durchgeführt (vgl. Kap. 8.5.2). Die Extraktionsergebnisse mit den verschiedenen Füllmedien sind in den Tabellen 4.2 und 4.3 dargestellt.

Tab. 4.2: Extraktion mit unterschiedlichen Extraktionsmedien (40 °C, 10 d)

Füllmedium	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl
Wasser	16,9 ± 3,0	6,4 ± 3,5	3,8 ± 0,6	< LOQ	< LOQ	n.d.
Essigsäure 3 %	34,5 ± 8,8	4,3 ± 1,8	n.d.	< LOQ	n.d.	n.d.
Olivenöl	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Isooctan ¹	n.d.	< LOQ	n.d.	n.d.	18,1 ± 16,5	n.d.
Isooctan	n.d.	3,5 ± 0,9	n.d.	n.d.	25,0 ± 7,7	n.d.
EtOH 10 %	59,0 ± 7,0	9,1 ± 1,4	27,4 ± 3,2	--- ^a	7,2 ± 0,8	n.d.
EtOH	252 ± 44	725 ± 171	4520 ± 610	--- ^a	26800 ± 6600	--- ^a
IPA	213 ± 36	740 ± 63	3750 ± 480	45,3 ± 3,5	25100 ± 4400	897 ± 59
MeOH	355 ± 70	845 ± 120	5110 ± 670	88,4 ± 3,4	21860 ± 3500	979 ± 89
Aceton	221 ± 51	1070 ± 180	4720 ± 690	46,8 ± 9,1	38800 ± 7500	1100 ± 170
ACN	210 ± 29	986 ± 76	4470 ± 450	62,2 ± 1,9	33600 ± 5200	1230 ± 80

Mittelwerte mit Standardabweichung in µg/L Füllmedium ($n = 5$); ¹ (2 d, RT); ^a wegen Peaküberlagerung mit BADGE·EtOH·H₂O / BADGE·EtOH nicht auswertbar (s. Tab. 4.4); BADGE·2HCl nicht nachweisbar

In den FSLs Wasser und Essigsäure 3 % wurden nur wenige, überwiegend hydrophilere Analyten nachgewiesen respektive knapp oberhalb der Bestimmungsgrenzen quantifiziert (s. Tab. 4.2). Im lipophilen FSL Olivenöl konnte kein einziger der betrachteten Analyten detektiert werden. Auch die Ersatzprüfung mit Isooctan ergab lediglich geringe extrahierbare Mengen an BADGE und BPA. Unter den in der Lebensmittelrichtlinie spezifizierten FSLs (vgl. Tab. 1.5) resultierte die Extraktion mit Ethanol 10 % in den höchsten Konzentrationen an *Extractables*: mit Ausnahme der lipophileren Analyten BADGE·HCl und BADGE·2HCl, von denen letzteres in keinem der Extrakte nachgewiesen werden konnte, wurden alle Analyten in quantifizierbaren Mengen extrahiert.

In Relation zu den in den Simulanzlösemitteln nachgewiesenen Mengen fielen die mittels polaren organischen Solvenzien (ohne Wasseranteil) quantifizierten Mengen um zwei bis drei Zehnerpotenzen höher aus. ACN und Aceton hatten unter den gewählten Bedingungen die höchste Extraktionseffektivität.

Bei den Alkoholen wurde eine starke Abhängigkeit des Extraktionsergebnisses vom wässrigen Anteil festgestellt (s. Tab. 4.3). Mit Abnahme des Wasseranteils im System EtOH/H₂O ergab sich ein exponentieller Anstieg der *Extractables*, wobei der Effekt mit der Lipophilie der *Extractables* zunahm. Bei der Extraktion mit 2-Propanol konnten im Vergleich zur ethanolischen Extraktion bereits bei 25%igem organischen Anteil deutlich

höhere Mengen extrahiert werden. Die relativ hohen Mengen an BADGE·2H₂O, BADGE·H₂O und BADGE·HCl·H₂O waren hierbei vermutlich auf nach dem Übergang ins Solvens hydrolysiertes BADGE und BADGE·HCl zurückzuführen.

Tab. 4.3: EtOH-/IPA-Extraktion mit wässrigem Anteil (40 °C, 10 d)

Füllmedium	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl
EtOH 10 %	59,0 ± 7,0	9,1 ± 1,4	27,4 ± 3,2	--- ^a	7,2 ± 0,8	n.d.
EtOH 25 %	229 ± 21	50,4 ± 3,1	287 ± 30	--- ^a	117 ± 13	n.d.
EtOH	252 ± 44	725 ± 171	4520 ± 610	--- ^a	26800 ± 6600	--- ^a
IPA 25 %	1600 ± 260	322 ± 19	3200 ± 520	126 ± 9	1870 ± 300	107 ± 10
IPA	213 ± 36	740 ± 63	3750 ± 480	45,3 ± 3,5	25100 ± 4400	897 ± 59

Mittelwerte mit Standardabweichung in µg/L Füllmedium ($n = 5$); ^a wegen Peaküberlagerung mit BADGE·EtOH·H₂O / BADGE·EtOH nicht auswertbar (s. Tab. 4.4); BADGE·2HCl nicht nachweisbar

In Relation zu Aceton und ACN resultierte die Extraktion mit den niedermolekularen Alkoholen tendenziell in geringeren Konzentrationen der *Extractables* (s. Tab. 4.2). In den zugehörigen Chromatogrammen wurde im direkten Vergleich das Auftreten zusätzlicher Peaks beobachtet (s. Abb. 4.5). Diese waren auf Reaktionen zwischen epoxidgruppenhaltigen BADGE-Derivaten und den Alkoholen zurückzuführen, wie sie unter anderem von COTTIER *et al.* [1997] bereits für Methyl-, PHILO *et al.* [1997] für Ethyl- sowie von SCHÄFER und SIMAT [2004] für eine Vielzahl weiterer Ether – unter anderem mit Propanol, Butanol und Phenolen – beschrieben wurden.

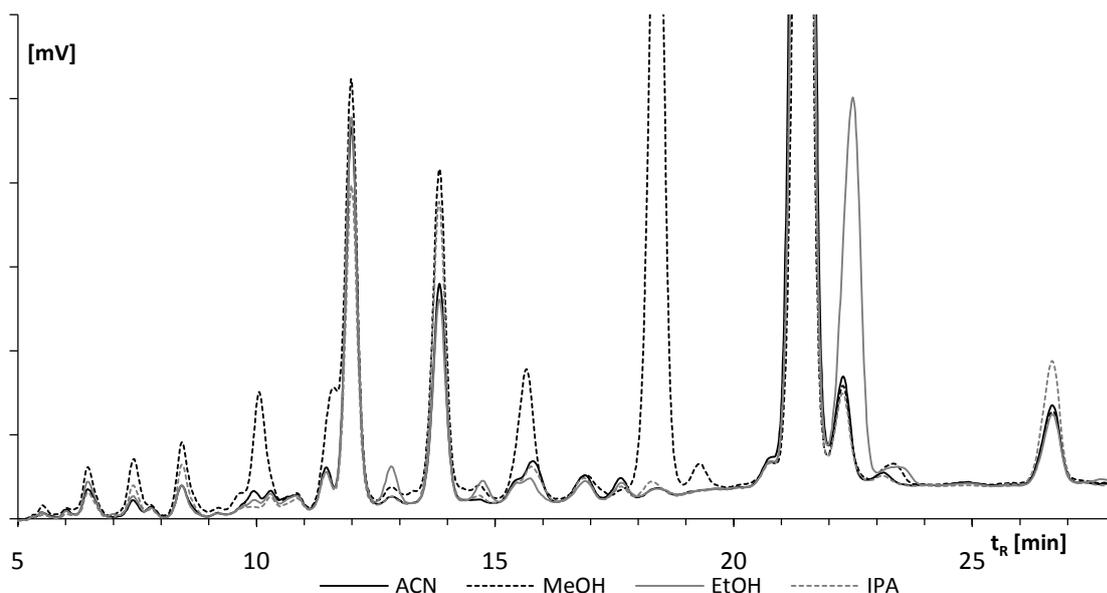


Abb. 4.5: Chromatogramme der Extraktion mit ACN, MeOH, EtOH und 2-Propanol (10 d, 40 °C)

Nach Darstellung der korrespondierenden Alkylether durch Umsetzung der drei epoxidgruppenhaltigen Derivate (BADGE, BADGE·H₂O und BADGE·HCl) mit Methanol, Ethanol und 2-Propanol (vgl. Kap. 8.5.3.1) wurden die Lösungen chromatographiert und auf potentielle Interferenzen mit den Referenzsubstanzen geprüft. Die Peakzuordnung wurde massenspektrometrisch verifiziert (vgl. Kap. 8.5.3.2).

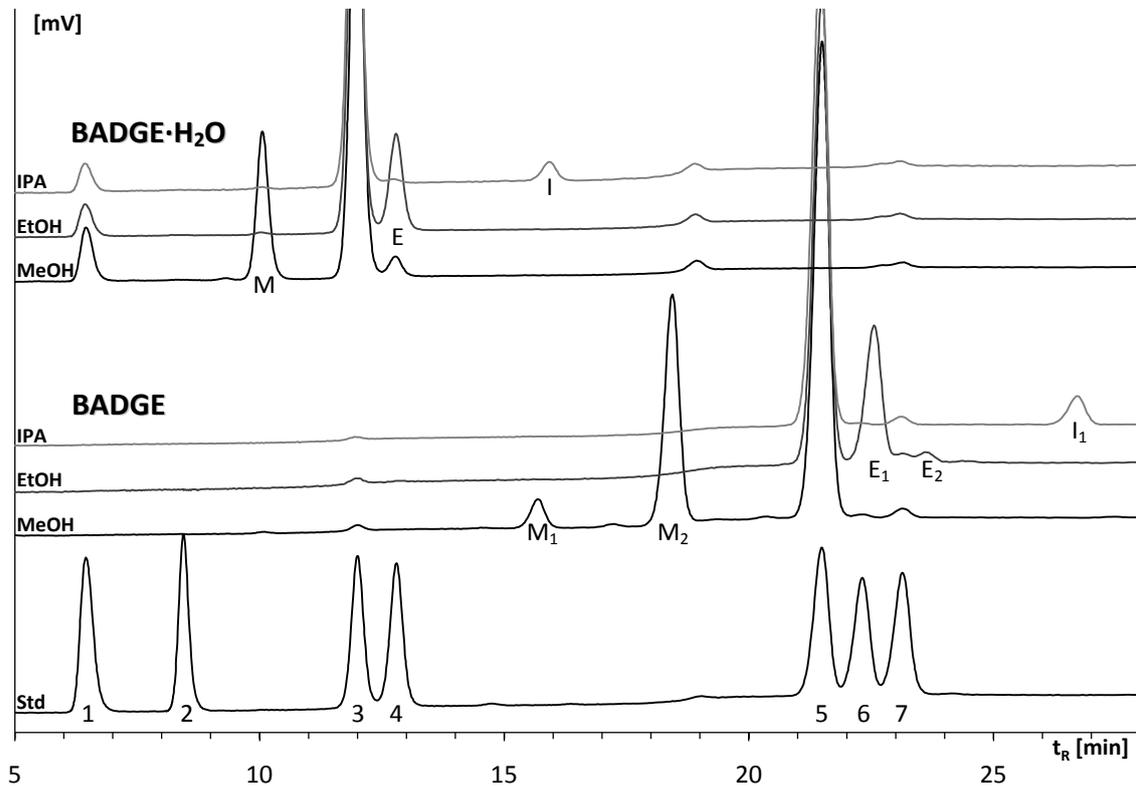


Abb. 4.6: Chromatogramme zur Umsetzung von BADGE und BADGE·H₂O mit MeOH, EtOH und IPA

M = BADGE·MeOH·H₂O; E = BADGE·EtOH·H₂O; I = BADGE·IPA·H₂O; M₁ = BADGE·2MeOH; M₂ = BADGE·MeOH;
 E₁ = BADGE·EtOH; E₂ = BADGE·2EtOH; I₁ = BADGE·IPA 1 = BADGE·2H₂O; 2 = BPA; 3 = BADGE·H₂O;
 4 = BADGE·HCl·H₂O; 5 = BADGE; 6 = BADGE·HCl; 7 = BADGE·2HCl

Während die Methyl- und Isopropylether aller Derivate aufgrund abweichender Retentionszeiten nicht mit den Referenzsubstanzen interferierten (s. Abb. 4.6), wurden in den Chromatogrammen der ethanolischen Lösungen potentielle Überlagerungen festgestellt, welche eine valide Quantifizierung der entsprechenden Peaks in den ethanolischen Extrakten verhinderten (s. Tab. 4.4).

Tab. 4.4: Peakinterferenzen der Ethylether von BADGE

Peak	Interferenz mit
BADGE·EtOH	BADGE·HCl; BADGE·2HCl
BADGE·2EtOH	BADGE·2HCl
BADGE·EtOH·H ₂ O	BADGE·HCl·H ₂ O
BADGE·EtOH·HCl	BADGE·2HCl

Die Referenzsubstanz von BADGE·HCl (nicht dargestellt) enthielt bereits vor der Umsetzung mehrere bekannte (BADGE, BADGE·2HCl) und unbekannte Verunreinigungen, die jedoch nicht mit den übrigen Analyten interferierten. Die Peaküberlagerung des ethanolschen Derivats (BADGE·EtOH·HCl) mit BADGE·2HCl konnte nachfolgend ignoriert werden, da BADGE·2HCl weder aus den verschiedenen Tuben extrahiert (s. Tab. 4.5) noch im Rahmen von Migrationsstudien (vgl. Kap. 5) nachgewiesen wurde.

Um potentielle physikochemische Modifikationen der Lackstruktur durch den Extraktionsprozess, zum Beispiel in Form einer vollständigen Auflösung, zu untersuchen, wurden von Tuben vom Typ A#1/#2, D und I ATR-FTIR-Spektren (32 Scans, Auflösung: 4 cm^{-1}) vor und nach der Extraktion mit ACN aufgenommen [HYDRO 2006]. Bei keiner Tube konnte eine signifikante Beeinflussung der Spektren durch den Extraktionsvorgang festgestellt werden. Bei der Extraktion mit Methanol und 2-Propanol wurden ebenfalls ATR-FTIR-Spektren extrahierter Tuben (Typ A#2) denen unbenutzter Leertuben gegenübergestellt: bei beiden Alkoholen konnte eine deutliche Zunahme der Banden bei 3370 cm^{-1} ($\nu(OH)$) und $2965/2870\text{ cm}^{-1}$ ($\nu(CH_3)$) beobachtet werden, die auf eine alkoholische Quellung der Lackierung respektive eine Sorption der Alkohole in das Epoxidharz hindeutete. Darüber hinaus wurden leichte bzw. starke Zunahmen der Banden bei 1740 cm^{-1} ($\nu(C=O)$) und 1230 cm^{-1} ($\nu(C-O)$) festgestellt, die möglicherweise auf esterartige Verbindungen zurückzuführen waren. Ein Vergleich der durch Subtraktion erhaltenen Differenzspektren mit einer Spektrenbibliothek ergab große Homologien mit Methylacrylatpolymeren, die unter anderem als Klebstoffe und Zusätze zu Beschichtungen verwendet werden [HYDRO 2006]. Offensichtlich wurde die Substanz durch den alkoholischen Extraktionsvorgang an der Oberfläche der Innenbeschichtung angereichert.

Insgesamt demonstrieren die Versuche eine maßgebliche Beeinflussung des Extraktionsergebnisses durch die Wahl des Extraktionsmediums.

4.3 Extraktion differenter Tubentypen

Zwecks Untersuchung des Gehaltes an Restmonomeren von BPA, BADGE und dessen Derivaten in den Innenbeschichtungen der akquirierten Tuben (vgl. Kap. 8.1.5) wurde eine simultane Extraktion durchgeführt. Für die Versuche wurde ACN verwendet, da dieses laborintern in höherer Reinheit als Aceton zur Verfügung stand (vgl. Kap. 8.5.4).

Die Extraktionsprofile wiesen eine hohe Variabilität sowohl hinsichtlich der extrahierbaren Mengen als auch der Zusammensetzung der Extraktionsprofile auf (s. Abb. 4.7). Neben den im Rahmen dieser Studie quantifizierten Analyten wurde eine Vielzahl unbekannter *Extractables* detektiert, in denen sich die einzelnen Chromatogramme charakteristisch unterschieden. Des Weiteren waren auch – unter anderem im Retentionsbereich von fünf bis zehn Minuten – weitgehend homologe Bereiche zu finden.

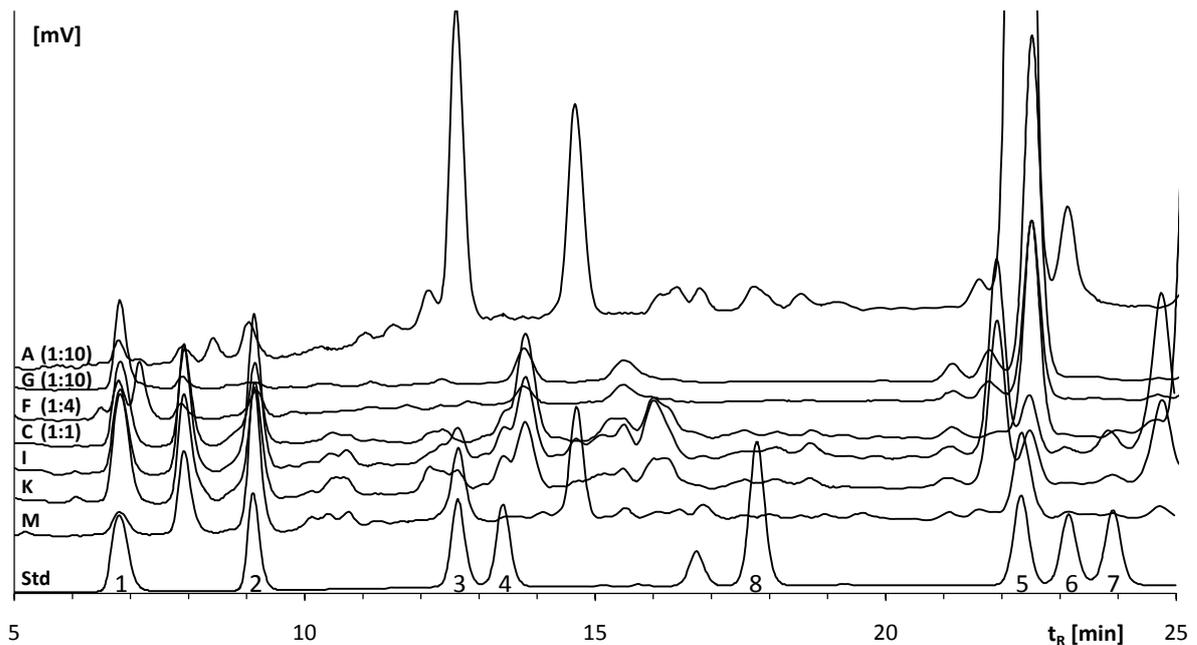


Abb. 4.7: Exemplarische Chromatogramme der Extrakte differenter Tubeninnenbeschichtungen vs. Mischung der Standards ($c \approx 200 \mu\text{g/L}$); Chromatogramme zwecks Übersichtlichkeit teilweise gestaucht; 1 = BADGE·2H₂O; 2 = BPA; 3 = BADGE·H₂O; 4 = BADGE·HCl·H₂O; 5 = BADGE; 6 = BADGE·HCl; 7 = BADGE·2HCl; 8 = BADHPE ($c \approx 400 \mu\text{g/L}$)

Tabelle 4.5 gibt eine Übersicht der in den Tubeninnenschutzlacken quantifizierten Mengen. Zahlreiche Interferenzen in Form von Peaküberlappung, Schulterbildung etc. erschwerten die Integration der Einzelpeaks. Ergo sind die dargestellten Konzentrationen als Näherungswerte zu verstehen. Ausschließlich Peaks, deren Zuordnung via LC-MS verifiziert werden konnte (s. Kap. 4.4), sind in der Tabelle gelistet.

Typenunabhängig konnte aus allen Innenbeschichtungen BADGE·2H₂O extrahiert werden. BPA, BADGE·H₂O und BADGE·HCl·H₂O wurden ebenfalls in der Mehrzahl der Extrakte gefunden. Insgesamt spielten die hydrochlorierten Derivate im Vergleich zu BADGE und dessen Hydrolyseprodukten eine eher untergeordnete Rolle und ließen sich lediglich in Tuben des Anbieters I (Typ A#1/#2, B) in höheren Konzentrationen bestimmen. Während das partial-hydrochlorierte BADGE·HCl noch in einigen Innenbeschichtungen nachgewiesen werden konnte, wurde BADGE·2HCl in keinem der Extrakte detektiert.

Eine Gegenüberstellung der Extraktionsergebnisse des Anbieters I mit den übrigen Extrakten zeigte insbesondere hinsichtlich der Konzentrationen von BADGE und BADGE·H₂O erhöhte Level. So konnten aus Tuben vom Typ A#1 BADGE·H₂O und BADGE durchschnittlich in Konzentrationen von 6,26 bzw. 57,4 mg/L extrahiert werden. Dies entsprach dem mindestens 15- respektive 50-fachen aller übrigen Extrakte. Eine zweite Charge desselben Tubentyps (Typ A#2) ergab für die meisten *Extractables* signifikant niedrigere Konzentrationen. Ein Vergleich der *Extractables* des Tubentyps A#2 mit Typ B resultierte unter Berücksichtigung des differierenden Oberflächen/Volumen-Verhältnisses in vergleichbaren Größenordnungen.

Tab. 4.5: Extractables diverser Tubentypen (40 °C, 10 d)

Typ	Anbieter	Nennfüllgewicht/ Nennvolumen	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE ·4700	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
A #1	I	5 mL	346 ± 38	748 ± 95	6260 ± 610	55,4 ± 8,7	57400 ± 4700	1580 ± 130	n.d.
A #2	I	5 mL	168 ± 33	955 ± 104	4230 ± 230	56,9 ± 4,4	30900 ± 2000	1280 ± 80	n.d.
B	I	35 mL	275 ± 19	552 ± 27	3180 ± 220	56,1 ± 1,8	18400 ± 1500	725 ± 44	n.d.
C ¹	II	4 mL	858 ± 133	721 ± 53	n.d.	78,9 ± 9,7	n.d.	n.d.	n.d.
D	II	7 mL	785 ± 136	765 ± 21	383 ± 39	76,5 ± 12,1	100 – 150 ^a	8,3 ± 0,7	n.d.
E ²	II	15 mL	256 ± 2	1370 ± 60	156 ± 9	17,3 ± 0,1	50 – 100 ^a	4,9 ± 0,6	n.d.
F	III	7 mL	329 ± 172	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
G	IV	8 mL	1480 ± 160	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
H	IV	15 mL	1660 ± 60	10 – 20 ^a	n.d.	n.d.	n.d.	4,9 ± 0,4	n.d.
I	V	7 mL	183 ± 10	339 ± 15	32,0 ± 2,7	30,8 ± 6,2	n.d.	n.d.	n.d.
J	V	15 mL	229 ± 14	252 ± 12	7,4 ± 0,4	43,4 ± 3,4	n.d.	3,8 ± 0,4	n.d.
K	VI	7 g	247 ± 16	264 ± 14	18,1 ± 3,6	33,8 ± 6,0	n.d.	n.d.	n.d.
L	VI	20 g	205 ± 18	448 ± 17	107 ± 48	48,3 ± 8,4	n.d.	n.d.	n.d.
M	VII	10 g	50,5 ± 8,4	307 ± 20	126 ± 40	n.d.	148 ± 63	n.d.	n.d.
N ³	III	3,5 g	151	540	n.d.	n.d.	1060	n.d.	n.d.
O ³	III	30 g	135	412	108	10,4	90,1	15,1	n.d.
P ³	III	50 g	391	143	69,4	n.d.	345	n.d.	n.d.
Q ³	III	75 g	151	245	145	11,9	95,4	n.d.	n.d.

Mittelwerte mit Standardabweichung in µg/L ACN (**n** = 5);¹ (**n** = 4);² (**n** = 2);³ (**n** = 1);^a Peaküberlappung; Abschätzung aus MS-Daten (s. Kap. 4.4)

4.4 Verifizierung der Peakzuordnung

Die Peakzuordnung der *Extractables* wurde nach chromatographischer Trennung massenspektrometrisch verifiziert. Den resultierenden Massenspektren konnten sowohl gruppenspezifische Molekülfragmente als auch substanzspezifische Clusterionen mit Bestandteilen des Eluenten entnommen werden (vgl. Tab. 8.22 u. Tab. 8.23). Zusammengekommen ergaben diese für jede Substanz charakteristische Muster, welche im direkten Vergleich mit Massenspektren der Referenzsubstanzen eine valide Verifizierung ermöglichen.

Durch Modifikation einzelner Parameter der massenspektrometrischen Detektion kann sowohl die Sensitivität als auch die Spezifität einer Methode beeinflusst werden. PETERSEN [2003] erreichte durch Verwendung eines 5 mM Ammoniumformatpuffers eine Sensitivitätssteigerung bei positiver Elektrospray-Ionisierung (ESI(+)). Da es sich bei der zur Erzeugung spezifischer Molekülfragmente erforderlichen Fragmentorspannung um einen gerätespezifischen Parameter handelt, war eine Adaption der Methode erforderlich (vgl. Kap. 8.5.5.2). Hierbei konnte abweichend von den Ergebnissen von PETERSEN [2003] unabhängig von der angelegten Fragmentorspannung im positiven Ionenmodus keine für eine valide Verifizierung ausreichende Ionisierung von BPA erreicht werden. Die Erfassung von BPA war jedoch im negativen Ionenmodus (ESI(-)) möglich. Aufgrund der Suppression der Phenolgruppene deprotonierung durch das saure Milieu des Puffers erfolgte die Substitution des Eluenten durch Wasser. In einer Versuchsreihe mit sukzessiv ansteigender Fragmentorspannung (vgl. Kap. 8.5.5.3) konnten bei 90 V eine hohe Sensitivität und Spezifität realisiert werden (s. Abb. 4.8). Der Totalionenstrom (*total ion current*, TIC) verteilte sich relativ gleichmäßig auf die Fragmente m/z 205, 227 und 273.

In Relation zur Erfassung von BADGE und dessen Derivaten im ESI(+)-Modus fielen die gemessenen TICs deutlich niedriger aus.

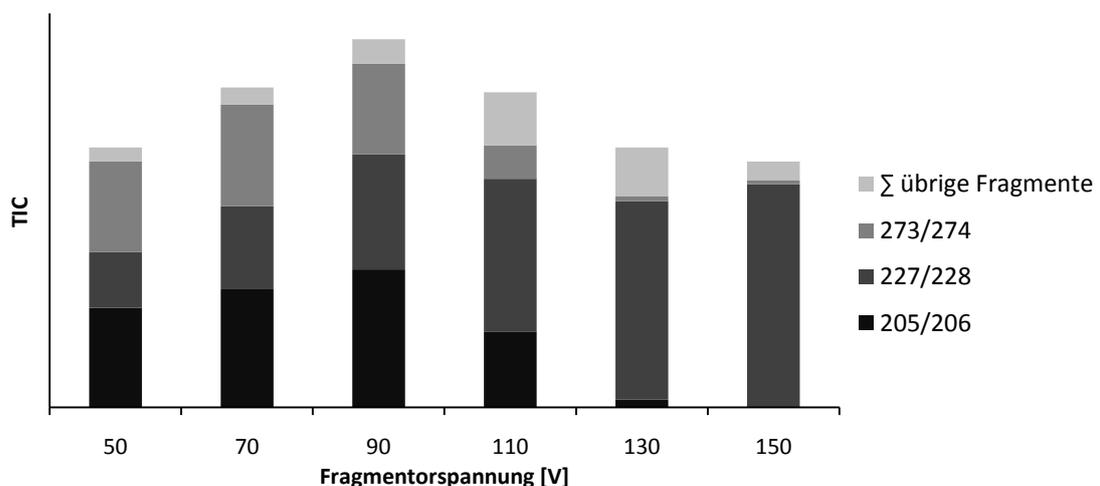


Abb. 4.8: BPA: TIC-Zusammensetzung (m/z) vs. Fragmentorspannung; Fragmente > 1 % TIC

Sämtliche im Rahmen des vergleichenden Extraktionsversuches (s. Kap. 4.3) anhand der Retentionszeiten zugeordneten und quantifizierten Peaks wurden massenspektrometrisch hinsichtlich ihrer Identität gegen Spektren der Referenzsubstanzen geprüft (vgl. Kap. 8.5.5.4). Neben dem qualitativen Vergleich wurde zusätzlich ein semiquantitativer Abgleich der Größenordnungen der mittels FLD und MS detektierten Analytkonzentrationen vorgenommen, um Überlagerungen durch unbekannte, fluoreszenzaktive Verbindungen auszuschließen.

4.5 Strahlensterilisation

Eine aseptische Abfüllung (z.B. Augensalbe) bedingt eine vorherige Sterilisation des Primärpackmittels zur Gewährleistung der mikrobiellen Reinheit. Diese kann unter anderem mittels γ -Strahlung unter Verwendung einer Co-60 Quelle durchgeführt werden [GOLDA 1984]. Für die Gewährleistung der Sterilität fordert das europäische Arzneibuch eine absorbierte Referenzstrahlendosis von mindestens 25 kGy [PH.EUR.]. Die stoffliche Veränderung diverser Kunststoffverpackungsmaterialien durch Bestrahlung wurde unter anderem von FRANZ und WELLE [1998] ausführlich untersucht. Diese konnten zeigen, dass durch die Einbringung hochenergetischer Strahlung Strangbrüche in Polymeren induziert und daraus folgend niedermolekulare Komponenten vermehrt freigesetzt werden können.

Exemplarisch wurde anhand des Tubentyps D untersucht, ob der Sterilisationsprozess via γ -Strahlung die aus den Innenbeschichtungen extrahierbaren Mengen von BPA, BADGE und dessen Derivaten unmittelbar beeinflusst (vgl. Kap. 8.5.6).

Tab. 4.6: *Extractables* bestrahlter vs. unbehandelter Tuben (Tubentyp D)

Bestrahlung	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl
ohne (n = 5)	785 ± 136	765 ± 21	383 ± 39	76,5 ± 12,1	100 – 150 ^a	8,3 ± 0,7
mit (n = 2)	840 ± 49	867 ± 23	383 ± 20	80,6 ± 5,4	--- ^b	6,9 ± 0,8

Mittelwerte mit Standardabweichung in $\mu\text{g/L}$ ACN (40 °C, 10 d); BADGE·2HCl nicht nachweisbar; ^a Abschätzung aus MS-Daten; ^b BADGE wegen Interferenzen mittels FLD nicht auswertbar, keine Verifizierung via MS durchgeführt

Obwohl die Tuben einer ungefähr vierfach erhöhten Strahlendosis (97,8 kGy) exponiert wurden, ergaben sich kaum Anhaltspunkte für eine signifikante Neubildung monomerischer BADGE-Derivate (s. Tab. 4.6). Die extrahierbaren Mengen an BPA fielen bei den bestrahlten Tuben marginal höher aus. Aufgrund der geringen Probenzahl war jedoch unklar, inwiefern es sich um eine signifikante Beobachtung handelt.

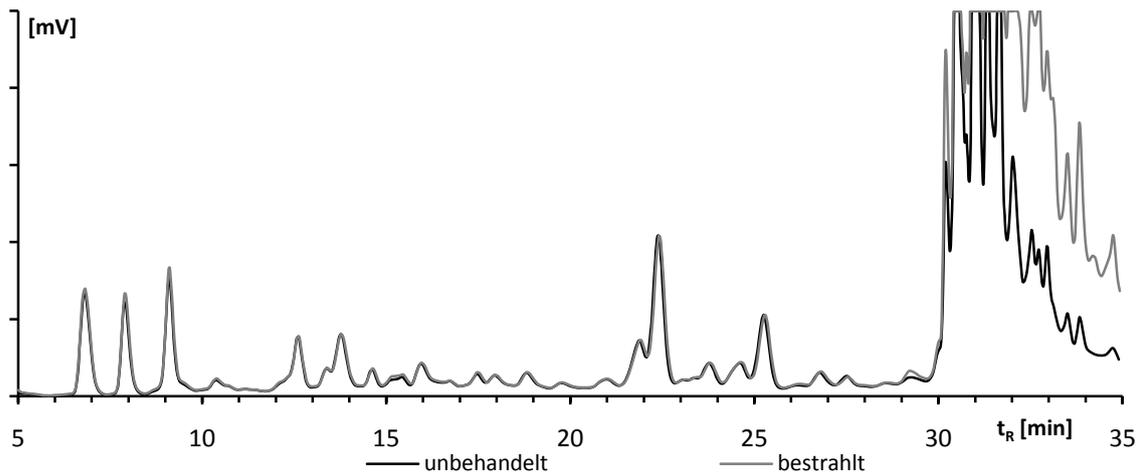


Abb. 4.9: Chromatogramm eines Extraktes einer bestrahlten vs. unbestrahlten Tube (40 °C, 10 d, ACN, Tubentyp D)

Ein visueller Vergleich der erhaltenen Chromatogramme wies im relevanten Messfenster ($t_R = 5 - 25$ min) keine signifikanten Abweichungen auf (s. Abb. 4.9). Während der anschließenden Spülphase des Gradienten ($t_R > 25$ min) war in den Chromatogrammen der Extrakte der bestrahlten Tuben eine gegenüber den unbehandelten Tuben deutlich erhöhte Emission zu erkennen, die auf eine Modifikation des Polymers hindeutete. So ist die Bildung oligomerischer Fragmente denkbar.

5 Migrationsstudien

Die Migrationsstudien wurden vorwiegend mit etablierten, respektive monographierten oder in anerkannten Formularen gelisteten Rezepturen durchgeführt (vgl. Kap. 8.6.1). Matrices verschiedener Zusammensetzung wurden nach bestimmten Parametern (u.a. Grundrezepturtyp, Emulgatoranteil, Polarität) ausgewählt. Ein weiteres wichtiges Kriterium der Matrixselektion war die analytische Zugänglichkeit, das heißt die selektive Erfassbarkeit der Analyten in den jeweiligen Matrices. Ergo wurden Formulierungen mit wenigen Komponenten möglichst hoher Reinheit präferiert. Die Rezepturen sowie – bei Gelen und Cremes – eine gegebenenfalls gemäß Monographie vorgenommene Konservierung gewährleisteten die mikrobiologische Stabilität im Beobachtungsintervall, sodass mikrobielle Untersuchungen im Verlaufe der Lagerungsversuche als nicht notwendig erachtet wurden. Überwiegend Tuben vom Typ A fanden Verwendung, da die hohen Konzentrationen an *Extractables* auch bei geringem *Leaching* eine hinreichende Sensitivität der Detektion sicherstellten.

Obwohl BADGE-2HCl aus keiner Tubeninnenbeschichtung extrahiert werden konnte (vgl. Kap. 4.3), wurde der Analyt in die Methodenentwicklung der Migrationsstudien einbezogen und die Chromatogramme hinsichtlich potentiellen *Leachings* geprüft. Da bei keiner der nachfolgenden Migrationsstudien BADGE-2HCl nachgewiesen werden konnte, bleibt der Analyt im Rahmen der Ergebnisdarstellung unberücksichtigt.

5.1 Grundrezepturen: Salbe – Gel – Creme

Um das Spektrum halbfester Füllgüter möglichst breit abzudecken, wurden für eine erste Migrationsstudie drei divergente Matrixtypen gewählt: eine lipophile Salbe, ein Hydrogel sowie eine Creme. Als Matrices relativ simpler Zusammensetzung wurden die lipophile *Einfache Augensalbe DAC* und das hydrophile *Wasserhaltiges Carbomergel DAB* selektiert. Darüber hinaus wurde ein zweiphasiges System vom O/W-Typ, die *Nichtionische Hydrophile Creme DAB*, in die Studie einbezogen (s. Tab. 5.1).

Tab. 5.1: Matrix-Rezepturen: Salbe – Gel – Creme

<i>Einfache Augensalbe DAC</i>		<i>Wasserhaltiges Carbomergel DAB</i>		<i>Nichtionische Hydrophile Creme DAB</i>	
Dickflüssiges Paraffin	40,0	Carbomer 50.000	0,5	Polysorbat 60	5,0
Weißes Vaseline	60,0	NaOH 5 % (m/V)	3,0	Cetylstearylalkohol	10,0
		Gereinigtes Wasser	96,5	Glycerol 85 %	10,0
				Wasser	50,0
				Weißes Vaseline	25,0

Mengenangaben in Massenanteilen; Herstellung vgl. Kap. 8.6.1

Nach der Abfüllung (vgl. Kap. 8.6.2) wurden die Tuben (Typ A#1) zwecks Erfassung des Temperatureinflusses auf das Migrationsverhalten in Anlehnung an die ICH-Guideline für Stabilitätsstudien [EMEA 2003] bei *intermediate* (30 °C) und *accelerated conditions* (40 °C) in Klimaschränken eingelagert. Proben wurden in Intervallen entnommen (vgl. Kap. 8.6.3), gepoolt, aufgearbeitet und quantifiziert. Als Referenz wurden die Matrices anteilig in lichtdichte Glasbehälter verfüllt, unter probenanalogen Bedingungen eingelagert und parallel zu den Probenahmezeitpunkten aufgearbeitet.

5.1.1 Methodenentwicklung

Aufgrund des differenten Matrixcharakters der selektierten Dermatika mussten individuelle Probenaufarbeitungsschemata unter Berücksichtigung der Rezepturspezifika entwickelt werden. So erforderte das auf Umkehrphasenchromatographie basierende Quantifizierungsverfahren bei den Salben und Cremes eine vorherige Abtrennung lipophiler Matrixbestandteile.

5.1.1.1 Abtrennung lipophiler Matrixbestandteile

Ungeachtet guter Löslichkeit von BPA, BADGE sowie dessen Derivaten in ACN [u.a. BIEDERMANN *et al.* 1998, BRONZ *et al.* 1998] verhinderte die mangelnde Suspendierbarkeit lipophiler Matrixbestandteile in ACN (auch unter Zuhilfenahme eines Ultraschallbades) eine direkte Extraktion der Analyten. Ergo wurde zur vollständigen Suspendierung und anschließenden Abtrennung lipophiler Komponenten eine Flüssig-Flüssig-Extraktion (*liquid liquid extraction*, LLE) erforderlich. Als mit ACN nicht mischbare Phasen wiesen unter den laborintern verfügbaren Solvenzien ausschließlich n-Heptan und n-Hexan die erforderliche Trenngüte und chromatographische Reinheit auf. Infolge der potentiellen Cancerogenität von n-Hexan [SIGMA-ALDRICH 2007a/b] wurde ein System aus n-Heptan und ACN gewählt.

Obwohl die Analyten mittels LLE weitgehend selektiv von den lipophilen Rezepturbestandteilen separiert werden konnten, störten in die Analytphase verschleppte Restlipide die nachfolgende analytische Erfassung und beeinflussten darüber hinaus das Retentionsverhalten. Deshalb wurde zur Entfernung der Restlipide zusätzlich eine Festphasenextraktion (*solid phase extraction*, SPE) in die Probenaufarbeitung integriert. In Vorversuchen mit phenolischen, RP18- und Polyamidphasen konnte keine selektive, simultane Retention aller Analyten bei gleichzeitiger Elution lipophiler Matrixkomponenten erzielt werden. PETERSEN [2003] beschreibt eine inverse SPE-Methode an einer RP-18-Phase. Im Gegensatz zur ‚konventionellen‘ SPE fungiert hierbei die stationäre Phase als selektiver Lipidfilter; die zu verwerfenden Komponenten werden auf der Säule reteniert, während die Analyten eluiert werden. Der von PETERSEN beschriebene inverse

Ansatz wurde adaptiert. Zwecks Verifizierung der quantitativen Elution und Optimierung der Eluentenzusammensetzung wurden Wiederfindungsraten bei unterschiedlichen ACN/H₂O-Mischungsverhältnissen über die einzelnen Elutionsschritte bestimmt (vgl. Kap. 8.6.4.1).

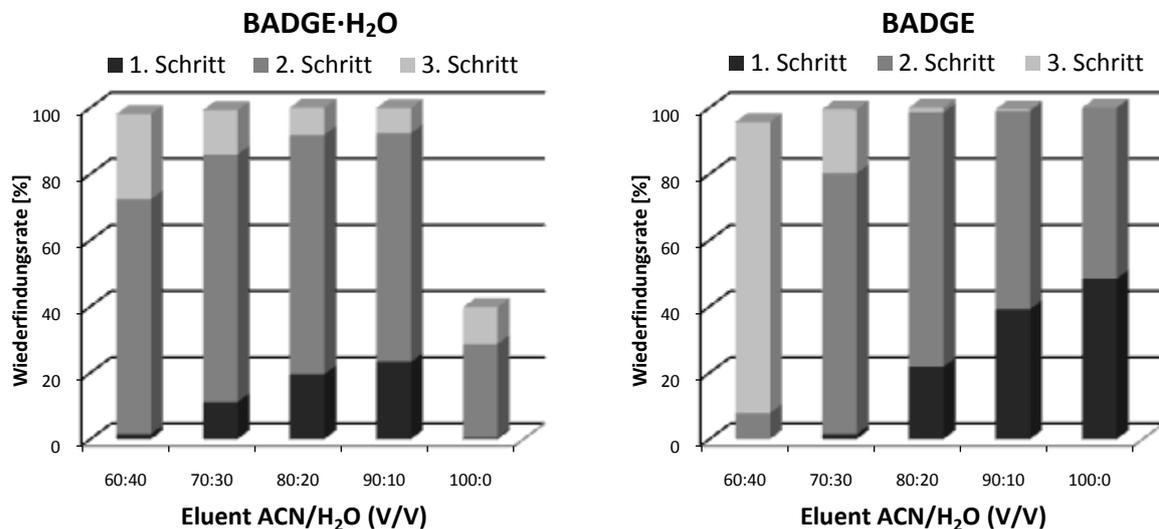


Abb. 5.1: Inverse SPE: Mittlere Wiederfindungsraten von BADGE-H₂O und BADGE in % nach summarischer ISTD-Korrektur (n = 2); Daten der übrigen Analyten vgl. Tab. 8.29

Insbesondere die BADGE-Derivate mit Diolstruktur (BADGE-2H₂O, BADGE-H₂O, BADGE-HCl-H₂O) interagierten im wasserfreien Medium mit der stationären Phase und wurden demzufolge unzureichend eluiert (s. Abb. 5.1, links). Ein Vergleich der Elution mit 10 – 30 %igem wässrigen Anteil ergab für alle Analyten Gesamtwiederfindungsraten > 95 % (vgl. Tab. 8.29). Mit abnehmendem organischem Eluentenanteil verschob sich hierbei die Elution der lipophileren Analyten (BADGE, BADGE-HCl, BADGE-2HCl) erwartungsgemäß in spätere Spülschritte. Bei einem 40 %igen Wasseranteil wurde der überwiegende Anteil der lipophilen Analyten, insbesondere BADGE, erst im letzten Spülschritt eluiert (s. Abb. 5.1, rechts).

Infolge *Frontings* der Peaks von BADGE-2H₂O und BPA bei Elution mit ≥ 80 %igem ACN-Anteil wurde für die SPE eine ACN/H₂O-Mischung im Verhältnis 70:30 (V/V) gewählt, bei deren Verwendung alle Analyten eine akzeptable Peaksymmetrie aufwiesen. Die adaptierte SPE-Methode ist in Kapitel 8.6.5.1 beschrieben.

SUN *et al.* [2006] beschreiben für die Bestimmung von BPA, BADGE und dessen Derivaten in Lebensmittelproben eine ‚konventionelle‘ SPE-Methode an einer RP18-Phase, die eine nachfolgende Aufkonzentrierung der Proben und somit optimierte LODs/LOQs ermöglichen soll. Trotz Untersuchung zahlreicher methodischer Modifikationen konnte die Durchführung aufgrund mangelnder Löslichkeit der lipophileren Analyten im für den Transfer auf die SPE-Kartuschen angegebenen Solvens (MeOH/H₂O, 5:95 V/V) nicht reproduziert werden.

5.1.1.2 Einfache Augensalbe DAC

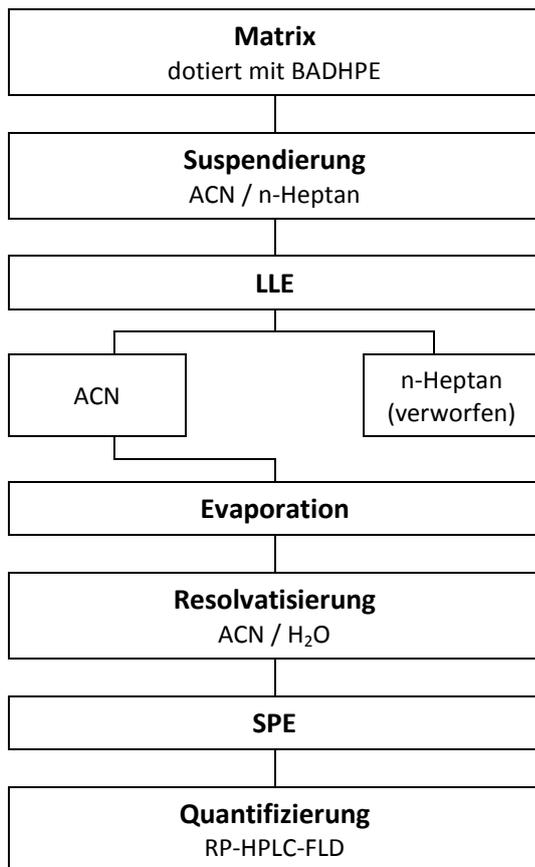


Abb. 5.2: Probenaufarbeitung *Einfache Augensalbe DAC*; vgl. Kap. 8.6.5.2.1

Während der LLE erfolgte die Phasentrennung in allen Schritten gut differenzierbar. Verschleppte Restlipide konnten vor der analytischen Erfassung via SPE entfernt werden (s. Abb. 5.2). Eine detaillierte Beschreibung der Probenaufarbeitung von *Einfache Augensalbe DAC* findet sich in Kapitel 8.6.5.2.1.

In den resultierenden Chromatogrammen waren geringe Matrixinterferenzen mit den Peaks von BADGE·H₂O und BADGE sowie eine deutliche Überlagerung im Retentionsbereich von BADGE·2HCl zu erkennen (s. Abb. 5.3). Diese waren chargenübergreifend auf fluoreszenzaktive Verunreinigungen des Vaselins zurückzuführen. Eine valide Auswertung der Chromatogramme konnte nach softwaregestützter Subtraktion von parallel aufgenommenen Matrixspektren (*background subtraction*) manuell vorgenommen werden.

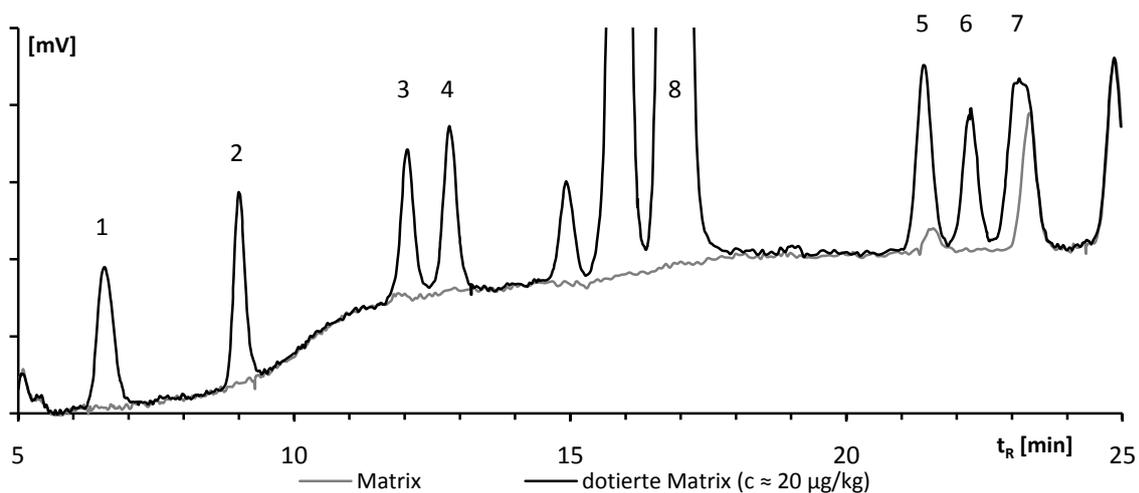


Abb. 5.3: Chromatogramme *Einfache Augensalbe DAC*

1 = BADGE·2H₂O; 2 = BPA; 3 = BADGE·H₂O; 4 = BADGE·HCl·H₂O; 5 = BADGE; 6 = BADGE·HCl; 7 = BADGE·2HCl; 8 = BADHPE (*c* ≈ 1000 µg/kg)

Konzentrationsunabhängig streuten die Wiederfindungsraten des internen Standards mit 79,8 – 96,8 % deutlich (vgl. Tab. 10.1). Nach rechnerischer Korrektur ergaben sich für die meisten Analyten akzeptable Verfahrensvariationskoeffizienten; nur BADGE·2H₂O und

BADGE·HCl·H₂O zeigten relativ hohe Varianzen (vgl. Tab. 10.16), denen in den korrespondierenden Retentionsbereichen keinerlei Interferenzen zuzuordnen waren (s. Abb. 5.3).

LOD und LOQ wurden für alle Analyten berechnet, obgleich ausschließlich für BADGE und BADGE·HCl Homoskedastizität nachgewiesen werden konnten (vgl. Kap. 8.4.3.2). Die Wiederfindungsdaten boten keine Anhaltspunkte für eine Reaktion der Analyten mit Matrixbestandteilen. Auch bei fünffacher Wiederholung des Versuchs zur Bestimmung der Wiederfindungsraten inklusive Chargenwechsel der Rezepturbestandteile konnte keine Homoskedastizität aller Analyten erreicht werden. Zu vermuten waren Analyteinschlüsse in den Restlipiden, die bei der Resolvatisierung (s. Abb. 5.2) nicht quantitativ erfasst wurden.

Tab. 5.2: *Einfache Augensalbe DAC*: Kenndaten der Matrixkalibrierung (nach ISTD-Korrektur)

	BADGE	alle Analyten <i>range</i> (∅)	
Arbeitsbereich $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}\right]$	LOQ – 1000		
Bestimmtheitsmaß R^2	0,9999	0,9948 – 0,9999	(0,9984)
Reststandardabweichung s_y [$\text{mV} \cdot \text{min}$]	0,202	0,157 – 1,11	(0,507)
Verfahrensstandardabweichung s_{x0} $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}\right]$	0,876	0,778 – 5,46	(2,54)
Verfahrensvariationskoeffizient V_{ko} [%]	0,824	0,784 – 5,27	(2,40)
Wiederfindung [%]	99,8 – 103,6	84,8 – 107,2	(96,7)
Nachweisgrenze $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}\right]$	1,3	1,1 – 7,8	(3,6)
Bestimmungsgrenze $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}\right]$	4,5	4,0 – 27,5	(12,9)

Übersicht einzelner Verfahrenskennndaten vgl. Tab. 10.16; Wiederfindungsdaten vgl. Tab. 10.1

Da die Kenndaten von BADGE (s. Tab. 5.2) eine valide Auswertung zuließen und im Laufe der Migrationsstudie in den Chromatogrammen keine Anzeichen für *Leaching* der übrigen Analyten festgestellt werden konnten, wurde der Beobachtung nicht weiter nachgegangen.

5.1.1.3 Nichtionische Hydrophile Creme DAB

Zwecks Optimierung der Phasentrennung bei einer *Einfache Augensalbe DAC* analogen Suspendierung und LLE wurde das Volumen der ACN-Phasen erhöht. Bei der Einengung am Rotationsverdampfer traten reproduzierbar Siedeverzüge sowie starke Schaumbildung auf, denen eine Verschleppung des Emulgator- / Glycerol- / Wasseranteils zugrunde lag. Eine Modifikation der Probenaufarbeitung war somit obligat.

Die Methode wurde zum einen dahingehend modifiziert, dass durch Zusatz von Ammoniumformiat während der LLE ein dreiphasiges System generiert wurde (s. Abb. 5.5): n-Heptan (oben), ACN (mittig), H₂O (unten). Die Phasentrennung beruhte mutmaßlich auf der homoselektiven Solvatation von Ammoniumformiat durch Wasser [EMONS *et al.* 1984]. Über das Verwerfen eines Großteils der wässrigen Phase bereits während der LLE konnten die zur Entfernung des Restwassers erforderliche Menge Natriumsulfat wasserfrei und somit die unspezifischen Wechselwirkungen mit den Analyten deutlich reduziert werden.

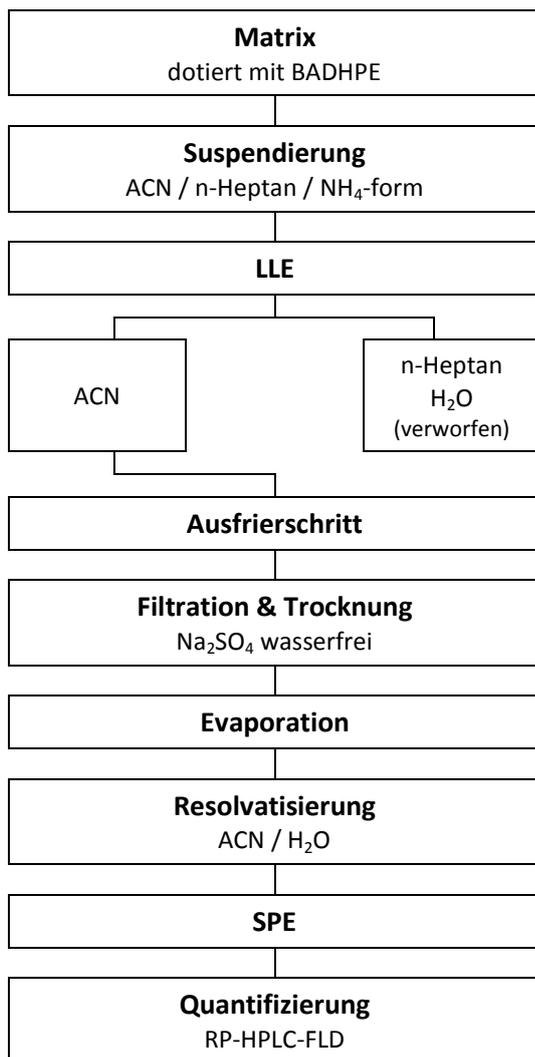


Abb. 5.4: Probenaufarbeitung *Nichtionische Hydrophile Creme DAB*; vgl. Kap. 8.6.5.3

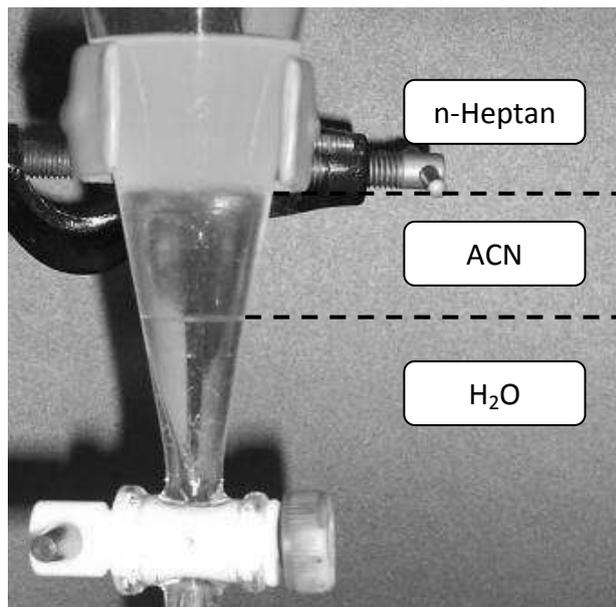


Abb. 5.5: 3-Phasen-System während LLE

Die für ein hinreichendes Trennergebnis erforderliche Menge Ammoniumformiat wurde in einer empirischen Versuchsreihe ermittelt. Darüber hinaus konnte Cetylstearylalkohol aus den vereinigten ACN-Phasen nach der LLE ausgefrozen werden. Details zur Probenaufarbeitung von *Nichtionische Hydrophile Creme DAB* sind im Kapitel 8.6.5.3 dargestellt.

Durch die Aufarbeitung konnte Polysorbat 60 nicht quantitativ abgetrennt werden; eine Beeinträchtigung der Aufarbeitungsschritte wurde nicht beobachtet. Der verschleppte Polysorbatanteil verursachte in den Chromatogrammen massive Interferenzen, insbesondere im Bereich von BADGE·2H₂O und BPA. Durch Abflachung des Gradienten (vgl. Tab. 8.1) sowie durch die Implementierung einer rechnerischen *background subtraction* wurde eine valide, manuelle Auswertung ermöglicht (s. Abb. 5.6).

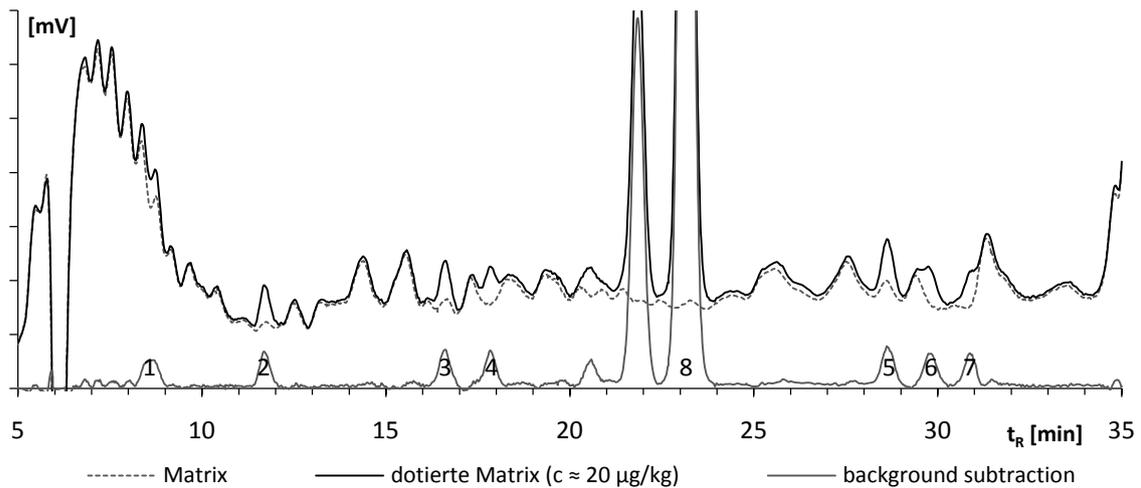


Abb. 5.6: Chromatogramme *Nichtionische Hydrophile Creme DAB*

1 = BADGE·2H₂O; 2 = BPA; 3 = BADGE·H₂O; 4 = BADGE·HCl·H₂O; 5 = BADGE; 6 = BADGE·HCl; 7 = BADGE·2HCl;
8 = BADHPE ($c \approx 1000 \mu\text{g}/\text{kg}$)

Infolge der verwendeten Ausfrier- und Filtrationsschritte wiesen die Wiederfindungsraten des internen Standards eine erhöhte Varianz auf (80,9 – 93,7 %; vgl. Tab. 10.5). Dessen ungeachtet belegten die rechnerisch korrigierten Daten die Eignung für die quantitative Erfassung sämtlicher betrachteter Analyten in *Nichtionische Hydrophile Creme DAB* (s. Tab. 5.3).

Tab. 5.3: *Nichtionische Hydrophile Creme DAB*: Kenndaten der Matrixkalibrierung (nach ISTD-Korrektur)

	range	(\emptyset)
Arbeitsbereich $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}\right]$	LOQ – 1000	
Bestimmtheitsmaß R^2	0,9996 – 0,9999	(0,9998)
Reststandardabweichung s_y [$mV \cdot \text{min}$]	0,0960 – 0,221	(0,155)
Verfahrensstandardabweichung s_{x0} $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}\right]$	0,662 – 1,53	(1,08)
Verfahrensvariationskoeffizient V_{ko} [%]	0,646 – 1,42	(1,02)
Wiederfindung [%]	91,8 – 107,3	(100,0)
Nachweisgrenze $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}\right]$	0,95 – 2,2	(1,5)
Bestimmungsgrenze $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}\right]$	3,4 – 7,9	(5,6)

Übersicht einzelner Verfahrenskennndaten vgl. Tab. 10.20; Wiederfindungsdaten vgl. Tab. 10.5

5.1.1.4 Wasserhaltiges Carbomergel DAB

Im Kommentar zur Carbomer-Monographie des europäischen Arzneibuches (Ph.Eur.) wird auf die Inkompatibilität von Polyacrylsäure mit Elektrolyten hingewiesen [NÜRNBERG und RÜCKER 2004]. Diese wurde für die selektive Abtrennung des Gelbildners nutzbar gemacht. Durch Zugabe von Ammoniumformiat zu einer Mischung von Wasserhaltiges Carbomer-

gel DAB mit ACN wurde neben einer Phasentrennung eine weitgehend quantitative Präzipitation von Polyacrylsäure in Form weißer Agglomerate induziert. Nach Entfernen von Restwasser mittels Natriumsulfat wasserfrei wurden die Proben eingengt, der Rückstand resolvatisiert, filtriert und quantifiziert (s. Abb. 5.7). Die Probenaufarbeitung ist in Kapitel 8.6.5.4.1 beschrieben.

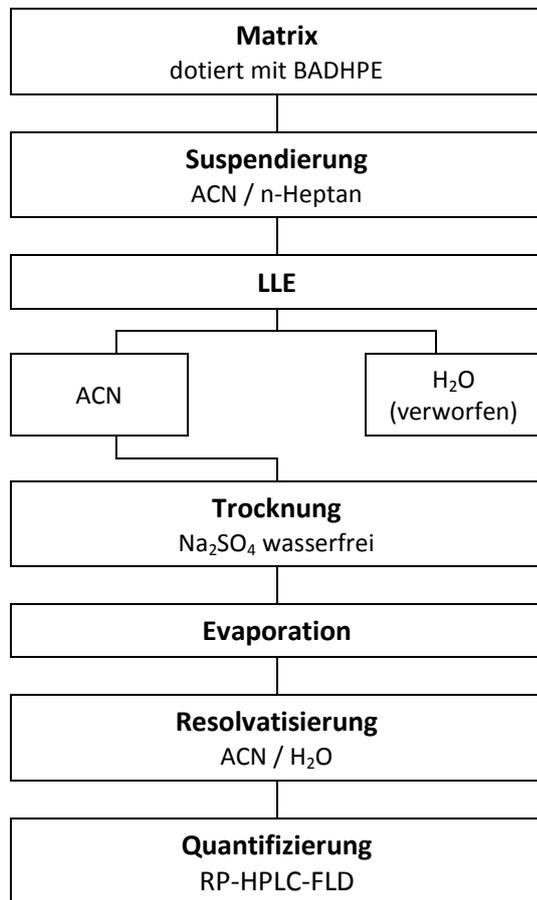


Abb. 5.7: Probenaufarbeitung *Wasserhaltiges Carbomergel DAB*; vgl. Kap. 8.6.5.4.1

Im vorderen Chromatogrammbereich ($t_R < 6$ min) zeigten sich vermutlich auf verschlepptes Ammoniumformiat zurückzuführende Interferenzen, die eine Auswertung jedoch nicht beeinträchtigten (s. Abb. 5.8). Zusätzlich wiesen die Chromatogramme der Matrix leichte Interferenzen im Bereich von $\text{BADGE}\cdot\text{H}_2\text{O}$, $\text{BADGE}\cdot\text{HCl}$ und $\text{BADGE}\cdot 2\text{HCl}$ auf, die via *background subtraction* kompensiert werden konnten. Auffallend war der mit BPA coeluierende Peak, der bei verschiedenen Matrixproben desselben Homogenats deutliche Schwankungen aufwies. Die resultierende Verfälschung der Messwerte wurde im Rahmen der Bewertung der BPA-Messergebnisse berücksichtigt.

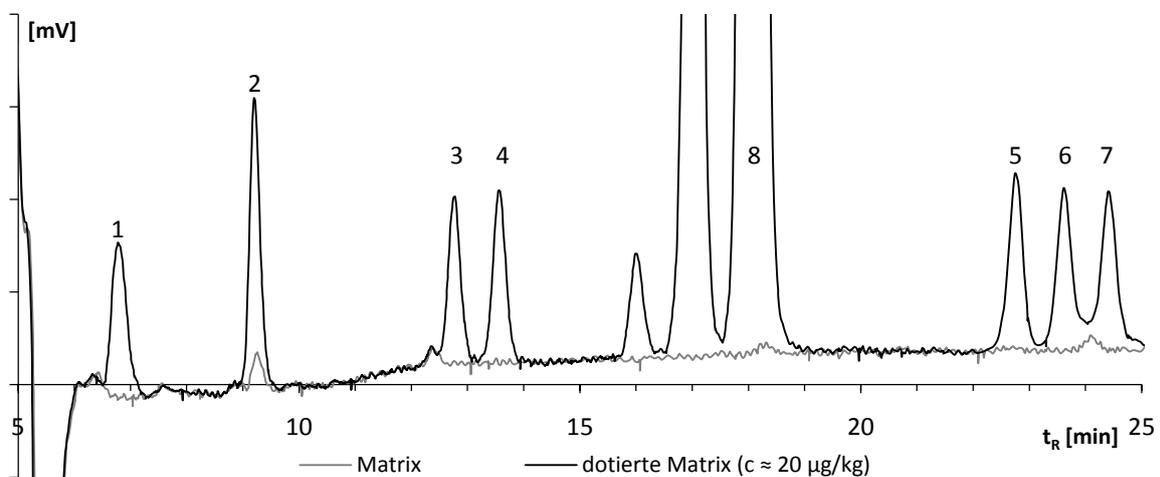


Abb. 5.8: Chromatogramme *Wasserhaltiges Carbomergel DAB*

1 = $\text{BADGE}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 2 = BPA; 3 = $\text{BADGE}\cdot\text{H}_2\text{O}$; 4 = $\text{BADGE}\cdot\text{HCl}\cdot\text{H}_2\text{O}$; 5 = BADGE; 6 = $\text{BADGE}\cdot\text{HCl}$; 7 = $\text{BADGE}\cdot 2\text{HCl}$; 8 = BADHPE ($c \approx 1000 \mu\text{g}/\text{kg}$)

Infolge der simplen Matrixzusammensetzung konnten sehr ‚saubere‘ Chromatogramme generiert werden, welche in vergleichsweise niedrigen LODs und LOQs resultierten (s. Tab. 5.4). Die Wiederfindungsrate des internen Standards lag im Bereich von 94,6 – 99,6 %. Der hydrophile Charakter von BADGE·2H₂O bedingte den Verlust eines geringen Anteils während der LLE an die wässrige Phase, sodass die korrespondierenden Wiederfindungsraten um 3 – 5 % zu niedrig ausfielen.

Tab. 5.4: *Wasserhaltiges Carbomergel DAB*: Kenndaten der Matrixkalibrierung (nach ISTD-Korrektur)

	range	(\emptyset)
Arbeitsbereich [$\frac{\mu g}{kg}$]	LOQ – 1000	
Bestimmtheitsmaß R^2	0,9997 – 0,9999	(0,9999)
Reststandardabweichung s_y [$mV \cdot min$]	0,0574 – 0,185	(0,103)
Verfahrensstandardabweichung s_{xo} [$\frac{\mu g}{kg}$]	0,421 – 1,35	(0,718)
Verfahrensvariationskoeffizient V_{ko} [%]	0,373 – 1,26	(0,680)
Wiederfindung [%]	95,3 – 103,9	(99,7)
Nachweisgrenze [$\frac{\mu g}{kg}$]	0,60 – 1,9	(1,0)
Bestimmungsgrenze [$\frac{\mu g}{kg}$]	2,2 – 7,0	(3,7)

Übersicht einzelner Verfahrenskennzahlen vgl. Tab. 10.24; Wiederfindungsdaten vgl. Tab. 10.9

5.1.2 Ergebnis

Bei der Studie mit den Grundrezepturen konnte *Leaching* sowohl bei *intermediate* als auch bei *accelerated conditions* in alle drei untersuchten Matrices nachgewiesen werden.

Tab. 5.5: *Leachables* zum Ende der Migrationsstudie (52 Wochen)

Matrix		BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl
Salbe	30 °C	n.d.	< LOQ	n.d.	n.d.	8,3 ± 0,5	n.d.
	40 °C	n.d.	< LOQ	n.d.	n.d.	18,6 ± 0,9	n.d.
Gel	30 °C	15,0 ± 0,2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	40 °C	29,7 ± 0,3	< LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Creme	30 °C	43,8 ± 1,4	< LOQ	n.d.	< LOQ	17,7 ± 1,7	n.d.
	40 °C	121 ± 5	7,3 ± 1,4	n.d.	6,4 ± 0,6	7,3 ± 0,6	n.d.

Mittelwerte mit Standardabweichung in $\mu g/kg$ Matrix ($n = 3$); Gesamtdaten der Migrationsstudie vgl. Kap. 8.6.6.1

Die Zusammensetzung der *Leachables* zeigte hierbei eine deutliche Matrixabhängigkeit (s. Tab. 5.5): während in der lipophilen Salbenmatrix ausschließlich BADGE bestimmt werden konnte, wurde im hydrophilen Gel einzig BADGE·2H₂O in quantifizierbaren Mengen detektiert. Die höchste Gesamtmigration trat bei *Nichtionische Hydrophile Creme DAB*

auf; unter *accelerated conditions* konnten in der Creme neben BADGE und $\text{BADGE}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ zeitweise zusätzlich BPA, $\text{BADGE}\cdot\text{H}_2\text{O}$ und $\text{BADGE}\cdot\text{HCl}\cdot\text{H}_2\text{O}$ quantifiziert werden.

Des Weiteren war ein Temperatureffekt auf das Ausmaß der Migration deutlich zu erkennen; zum Ende der Migrationsstudie fielen bei allen Matrices die unter *accelerated conditions* gemessenen Konzentrationen um ungefähr Faktor zwei höher aus (s. Tab. 5.5). Einzig BADGE in *Nichtionische Hydrophile Creme DAB* ergab ein reziprokes Verhältnis, welches sich über die Auswertung der Einzelmessung erklären ließ. Wie nachfolgend dargestellt, unterschieden sich die Konzentrationsverläufe bei *Nichtionische Hydrophile Creme DAB* deutlich von denen der Salbe und des Gels. Aufgrund der Methodik der Probenahme (vgl. Kap. 8.6.3) spiegeln die in den Diagrammen (Abb. 5.9 u. Abb. 5.10) dargestellten Intervalle nicht die interindividuelle Varianz der *Leachables* der Einzeltuben, sondern die Methodenpräzision wider. Diese lag in einer akzeptablen Größenordnung.

Einfache Augensalbe DAC: Bereits zum Zeitpunkt der ersten Probenahme nach zwei Wochen lagen die BADGE-Konzentrationen bei beiden Temperaturen oberhalb 50 % der im weiteren Verlauf gemessenen Maximalkonzentrationen (s. Abb. 5.9, links). Anschließend schienen sich die Konzentrationsverläufe asymptotisch unterschiedlichen Grenzwerten anzunähern. In Relation zu den *intermediate conditions* wurden bei *accelerated conditions* zu sämtlichen Messzeitpunkten ungefähr doppelt so hohe BADGE-Level in der Matrix nachgewiesen. Neben *Leaching* von lipophilerem BADGE wurde ab der vierten Woche zusätzlich BPA detektiert (vgl. Tab. 8.36).

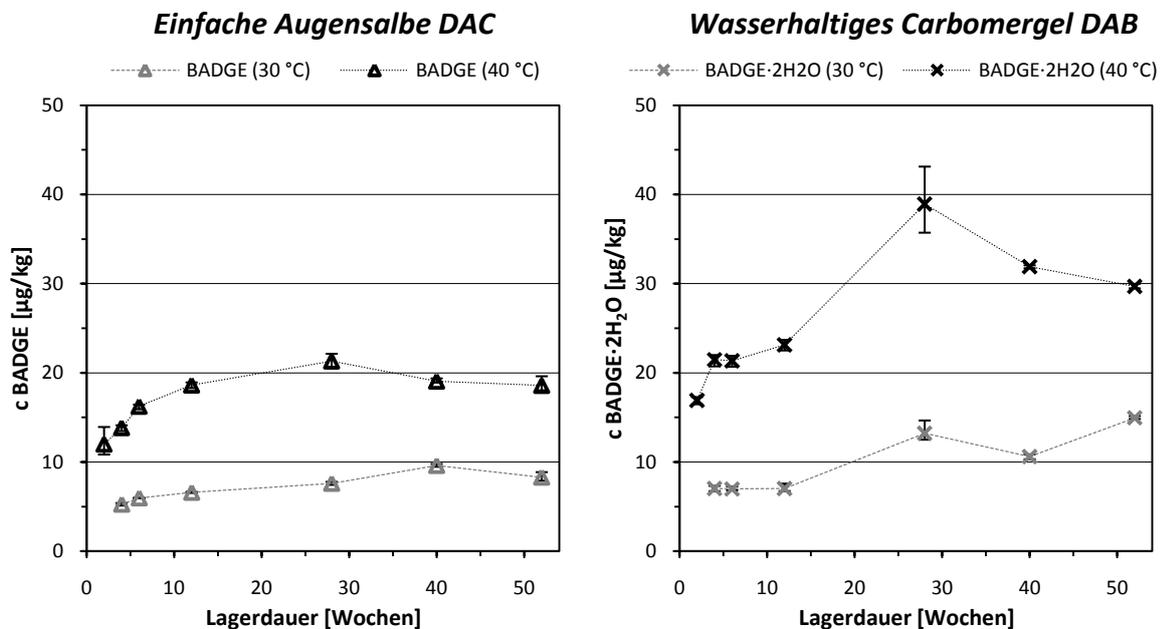


Abb. 5.9: Temperaturabhängiges Leaching in Einfache Augensalbe DAC und Wasserhaltiges Carbomergel DAB
Darstellung mit *range* ($n = 3$); Verbindungslinien dienen ausschließlich der Visualisierung und stellen keine Interpolation dar; vgl. Tab. 8.36 u. Tab. 8.37

Wasserhaltiges Carbomergel DAB: Die Konzentrationsprofile von BADGE·2H₂O deuten auf eine BADGE in *Einfache Augensalbe DAC* ähnelnde Migrationskinetik hin (s. Abb. 5.9, rechts). So schienen ebenfalls bereits zum ersten Messzeitpunkt über die Hälfte der *Leachables* in das Gel übergegangen zu sein. Neben BADGE·2H₂O wurden nur sporadisch weitere Analyten in nicht quantifizierbaren Mengen detektiert (vgl. Tab. 8.37).

Nichtionische Hydrophile Creme DAB: Unter den *accelerated conditions* schien nach initial steilem Anstieg das maximale Ausmaß der Gesamtmigration bereits sechs Wochen nach Einlagerung weitgehend erreicht (s. Abb. 5.10, rechts). Während die Summe der Kontaminanten von da an nur geringfügig variierte, konnte die stetige Hydrolyse von BADGE zu BADGE·2H₂O verfolgt werden. Nach anfänglichem Anstieg der BADGE-Konzentration wurde ab der sechsten Woche bis zum Ende der Migrationsstudie eine Abnahme beobachtet; die Konzentration an BADGE·2H₂O stieg über den gesamten Beobachtungszeitraum stetig an. Aufgrund des abweichenden Molekulargewichtes war die Zunahme des hydrolysierten Derivats möglicherweise für den geringen Anstieg der Gesamtmigration im weiteren Verlauf verantwortlich. Das Intermediat der BADGE-Hydrolyse (BADGE·H₂O) wurde nur einmalig knapp oberhalb LOQ erfasst.

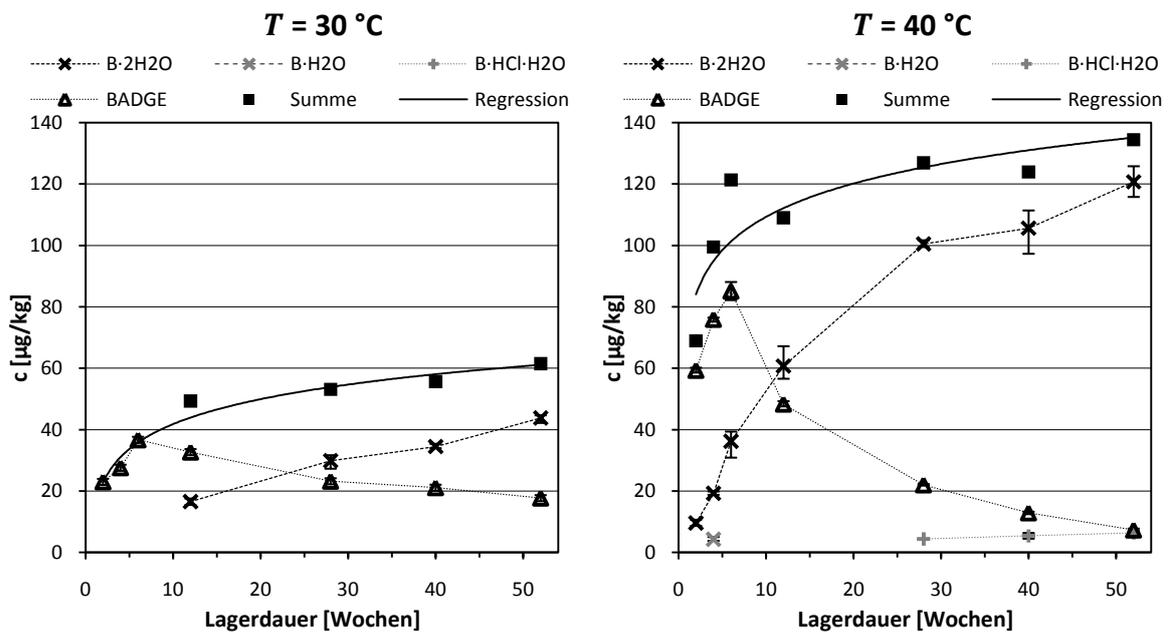


Abb. 5.10: Temperaturabhängiges Leaching in Nichtionische Hydrophile Creme DAB

Darstellung mit *range* ($n = 3$); BPA nicht dargestellt; Verbindungslinien dienen ausschließlich der Visualisierung und stellen keine Interpolation dar; vgl. Tab. 8.38

Ab dem sechsten Monat nach Einlagerung konnte neben BADGE und BADGE·2H₂O zusätzlich BADGE·HCl·H₂O bestimmt werden (vgl. Abb. 5.10). Vor dem Hintergrund der nur sehr geringen, aus den Innenbeschichtungen extrahierbaren Mengen an BADGE·HCl·H₂O (vgl. Tab. 4.5) war zu vermuten, dass es sich bei dem in der Creme nachgewiesenen Analyten überwiegend um das nach dem *Leaching* entstandene Hydrolyseprodukt von BADGE·HCl

handelte. Obgleich die Daten auf das Vorhandensein von BPA in geringer Konzentration hindeuteten, konnte aufgrund der im Kapitel 5.1.1.4 beschriebenen Interferenz mit einer coeluierenden Verunreinigung keine eindeutige Aussage über das Vorliegen getroffen werden.

Ein Vergleich mit den *intermediate conditions* ergab für *Nichtionische Hydrophile Creme DAB* ein den *accelerated conditions* weitgehend analoges Verhalten, wobei erwartungsgemäß das Gesamtausmaß der Migration sowie die Hydrolysegeschwindigkeit niedriger ausfielen (s. Abb. 5.10).

5.2 Modifikation der Cremematrix

In einer weiteren Studie wurde die Rezeptur von *Nichtionische Hydrophile Creme DAB* hinsichtlich der anteiligen Zusammensetzung variiert, um migrationsbeeinflussende Faktoren spezifisch untersuchen zu können (s. Tab. 5.6).

- Variante I: Verdopplung des Emulgatoranteils
- Varianten II & III: Variation des Anteils hydrophiler zu lipophiler Komponenten

Zwecks Komparabilität wurde die Originalrezeptur von *Nichtionische Hydrophile Creme DAB* erneut eingelagert.

Tab. 5.6: Rezepturvarianten von *Nichtionische Hydrophile Creme DAB*

	Originalrezeptur nach DAB	Rezepturvarianten		
		I (30 % Emulgator)	II (80 % hydrophiler Anteil)	III (40 % hydrophiler Anteil)
Polysorbat 60	5,0	10,0	5,0	5,0
Cetylstearylalkohol	10,0	20,0	10,0	10,0
Glycerol 85 %	10,0	8,2	13,3	6,7
Wasser	50,0	41,2	66,7	33,3
Weißes Vaseline	25,0	20,6	5,0	45,0

Mengenangaben in Massenanteilen; Herstellung vgl. Kap. 8.6.1.2

Nach Abfüllung (vgl. Kap. 8.6.2) in Tuben vom Typ A#2 wurden die Proben bei *intermediate* und *accelerated conditions* in Klimaschränken eingelagert und Proben in Intervallen entnommen. Zwecks Abbildung der interindividuellen Streuung wurde ein modifiziertes Probenahmeschema verwendet (vgl. Kap. 8.6.3). Das für die Originalrezeptur entwickelte Aufarbeitungsschema konnte unter Adaption der zugesetzten Ammoniumformiatmenge für alle Rezepturen übernommen werden (vgl. Kap. 8.6.5.3).

Variante I: Die Verdopplung des Emulgatoranteils von 15 auf 30 % (m/m) resultierte aufgrund der Konsistenz von Cetylstearylalkohol in einer deutlichen Viskositäts-erhöhung

der Creme. Versuche, den Emulgatoranteil zu reduzieren, misslingen, da bereits bei 10 %igem Emulgatoranteil keine hinreichende Stabilität des Systems erreicht werden konnte.

Ungeachtet des hohen Emulgatoranteils und den daraus abgeleiteten verstärkten Chromatogramminterferenzen konnten mit der Methode akzeptable Verfahrenskenn-
daten erzielt werden (s. Tab. 5.7).

Tab. 5.7: Nichtionische Hydrophile Creme DAB – Variante I (30 % Emulgator): Kenndaten der Matrixkalibrierung (nach ISTD-Korrektur)

	<i>range</i>	(\emptyset)
Arbeitsbereich $\left[\frac{\mu g}{kg}\right]$	LOQ – 1000	
Bestimmtheitsmaß R^2	0,9959 – 0,9998	(0,9990)
Reststandardabweichung s_y [$mV \cdot min$]	0,174 – 0,668	(0,289)
Verfahrensstandardabweichung s_{xo} $\left[\frac{\mu g}{kg}\right]$	1,14 – 5,30	(2,25)
Verfahrensvariationskoeffizient V_{ko} [%]	1,07 – 4,70	(2,10)
Wiederfindung [%]	86,6 – 105,1	(98,1)
Nachweisgrenze $\left[\frac{\mu g}{kg}\right]$	1,6 – 7,6	(3,2)
Bestimmungsgrenze $\left[\frac{\mu g}{kg}\right]$	5,9 – 26,7	(11,5)

Übersicht einzelner Verfahrenskenndaten vgl. Tab. 10.21; Wiederfindungsdaten vgl. Tab. 10.6

Tab. 5.8: Nichtionische Hydrophile Creme – Variante II & III: Kenndaten der Matrixkalibrierung (nach ISTD-Korrektur)

	Variante II (80% hydrophiler Anteil) <i>range</i> (\emptyset)	Variante III (40% hydrophiler Anteil) <i>range</i> (\emptyset)
Arbeitsbereich $\left[\frac{\mu g}{kg}\right]$	LOQ – 1000	LOQ – 1000
Bestimmtheitsmaß R^2	0,9990 – 0,9998 (0,9995)	0,9890 – 0,9999 (0,9979)
Reststandardabweichung s_y [$mV \cdot min$]	0,140 – 0,331 (0,212)	0,108 – 1,06 (0,355)
Verfahrensstandardabweichung s_{xo} $\left[\frac{\mu g}{kg}\right]$	1,01 – 2,45 (1,60)	0,795 – 8,72 (2,76)
Verfahrensvariationskoeffizient V_{ko} [%]	0,944 – 2,16 (1,44)	0,775 – 7,73 (2,55)
Wiederfindung [%]	88,1 – 109,2 (101,1)	83,3 – 111,6 (99,0)
Nachweisgrenze $\left[\frac{\mu g}{kg}\right]$	1,5 – 3,6 (2,3)	1,1 – 12,5 (3,9)
Bestimmungsgrenze $\left[\frac{\mu g}{kg}\right]$	5,4 – 12,8 (8,4)	4,1 – 43,2 (13,9)

Übersicht einzelner Verfahrenskenndaten vgl. Tab. 10.22 u. Tab. 10.23; Wiederfindungsdaten vgl. Tab. 10.7 u. Tab. 10.8

Varianten II & III: Simultan wurde in zwei weiteren Ansätzen das Verhältnis von hydrophilen (Glycerol / Wasser) zu lipophilen (Vaselin) Komponenten bei konstantem Emulgatoranteil modifiziert. Hierzu wurde der in der Originalrezeptur vorhandene 60 %ige hydrophile Anteil (m/m) auf 80 % erhöht bzw. auf 40 % reduziert (s. Tab. 5.6).

Mit der Aufarbeitungsmethode wurden bei beiden Matrices akzeptable Verfahrenskenndaten erzielt (s. Tab. 5.8). Lediglich bei Rezepturvariante III zeigte sich für BADGE-2HCl eine deutlich erhöhte Messwertvarianz (vgl. Tab. 10.23). Die Beobachtung konnte vernachlässigt werden, da es keine Anhaltspunkte für das Vorhandensein dieses Analyten in der Matrix gab.

5.2.1 Rezepturvarianten

Tendenziell fielen bei der Rezeptur mit 30 %igem Emulgatoranteil (Variante I) die Konzentrationen der *Leachables* im Vergleich zur Originalrezeptur ungefähr 30 % niedriger aus (s. Abb. 5.11), weshalb einige der Analyten zwar detektiert, aber nicht quantifiziert werden konnten (vgl. Tab. 8.40). Ungeachtet der deutlich höheren Viskosität des Gesamtsystems sowie des geringeren Wasseranteils der Matrix wurde die Hydrolysegeschwindigkeit von BADGE zu BADGE-2H₂O kaum beeinflusst. Tendenziell war eine geringfügige Verlangsamung der asymptotischen Annäherung an den oberen Summengrenzwert festzustellen.

Ein Vergleich der Konzentrationsverläufe der ‚Originalrezeptur‘ mit den Rezepturen mit modifiziertem hydrophilem Anteil (Varianten II & III) zeigte deutlich, dass das Verhältnis von hydrophilen zu lipophilen Matrixkomponenten weder den Gesamtumfang der Migration noch die Zeit bis zum Erreichen eines Konzentrationsplateaus maßgeblich beeinflusste (s. Abb. 5.11). Einzig die Hydrolysegeschwindigkeit korrelierte erwartungsgemäß mit dem wässrigen Anteil der Matrix, was zum einen auf das vermehrte Vorhandensein von freiem Wasser (Massenwirkungsgesetz) und zum anderen auf die mutmaßlich geringere Viskosität der freien Phase zurückzuführen war.

Für die bei *intermediate conditions* eingelagerten Proben (nicht abgebildet, vgl. Tab. 8.39 – Tab. 8.42) ergab sich ein weitgehend analoges Migrationsverhalten, wobei der Gesamtumfang des *Leachings* niedriger ausfiel und die Hydrolyse der epoxidhaltigen Derivate erwartungsgemäß verlangsamt erfolgte.

Analog der vorherigen Migrationsstudie (s. Kap. 5.1.2) wurde die Bestimmung von BPA in den Cremerezepturen durch einen coeluierenden Peak beeinträchtigt, sodass die Messergebnisse hohe Varianzen aufwiesen. Da alle Proben via *background subtraction* ausgewertet wurden, konnte zumindest im statistischen Mittel von dem Vorhandensein von BPA in den Matrices ausgegangen werden. BPA war hierbei in diejenigen Matrices in quantifizierbaren Mengen übergegangen, in denen *Leaching* von BADGE und dessen Derivaten in höheren Mengen festgestellt wurde.

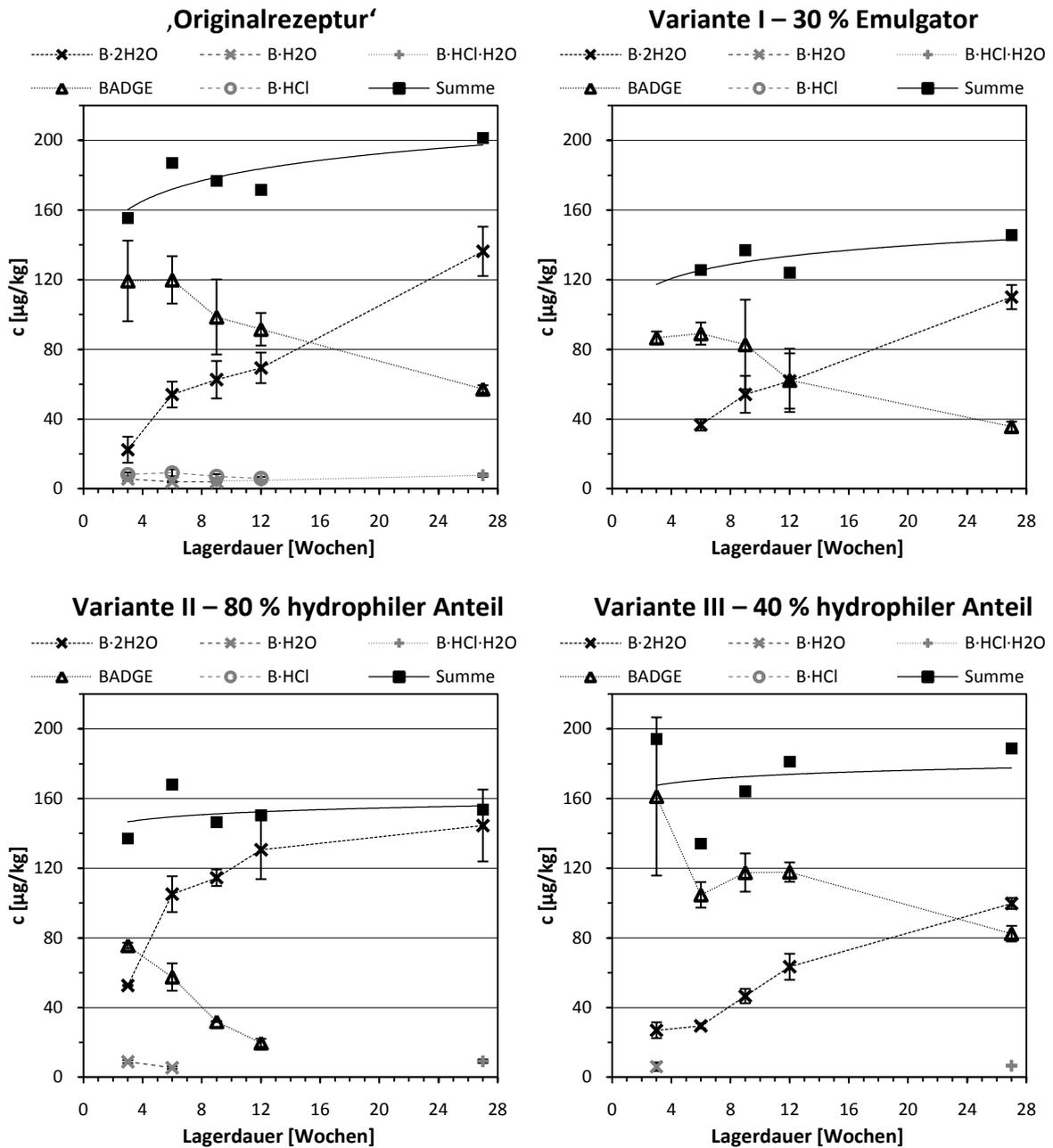


Abb. 5.11: *Leaching* in *Nichtionische Hydrophile Creme DAB* & Rezepturvarianten I – III ($T = 40\text{ °C}$)
 Darstellung mit Standardabweichung ($n = 3$); Summen mit Regressionskurve dargestellt; BPA nicht dargestellt; Verbindungslinien dienen ausschließlich der Visualisierung und stellen keine Interpolation dar; vgl. Tab. 8.39 – Tab. 8.42

5.2.2 Auswirkungen Tubenchargenwechsel

Ein Vergleich der Ergebnisse dieser mit der vorangegangenen Migrationsstudie (s. Kap. 5.1) ergab für *Nichtionische Hydrophile Creme DAB* weitgehend analoge ‚Migrationsprofile‘ (s. Abb. 5.10 u. Abb. 5.11): bereits drei bis sechs Wochen nach Einlagerung war das *Leaching* weitgehend abgeschlossen. In der Folge konnte überwiegend die fortschreitende Hydrolyse von BADGE zu BADGE \cdot 2H $_2$ O respektive von BADGE \cdot HCl zu BADGE \cdot HCl \cdot H $_2$ O verfolgt werden. Unter *accelerated conditions* wurden zudem BADGE \cdot H $_2$ O und BADGE \cdot HCl in Intervallen quantifiziert.

Tab. 5.9: *Leachables* in *Nichtionische Hydrophile Creme DAB* nach 27 Wochen

Lager- temperatur	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl
Tubentyp A#1						
30 °C	29,9 ± 2,3	< LOQ	n.d.	< LOQ	23,2 ± 0,0 ^a	n.d.
40 °C	100 ± 1	<LOQ	n.d.	4,4 ± 0,2	22,0 ± 0,3	n.d.
Tubentyp A#2						
30 °C	40,9 ± 6,8	12,3 ± 3,1	n.d.	< LOQ	48,6 ± 9,2	< LOQ
40 °C	136 ± 14	18,8 ± 7,9	n.d.	7,7 ± 0,9	57,3 ± 2,2	< LOQ

Mittelwerte mit Standardabweichung angegeben in µg/kg Matrix ($n = 3$); ^a Abweichung < 0,05; Messergebnisse der gesamten Migrationsstudie vgl. Tab. 8.38 u. Tab. 8.39

Die Gesamtmigration hingegen fiel in Relation zur ersten Migrationsstudie, die mit Tubencharge A#1 durchgeführt worden war, temperaturunabhängig um ungefähr Faktor 1,5 – 2 höher aus (s. Tab. 5.9). Dieser Effekt ergab mit Bezug auf die quantifizierten *Extractables* der beiden Tubenchargen einen gewissen Widerspruch, da diese ein reziprokes Verhältnis aufwiesen (vgl. Tab. 4.5). Obwohl augenscheinlich keine Unterschiede zwischen den beiden Matrixchargen bestanden musste berücksichtigt werden, dass teilweise abweichende Chargen an Rezepturbestandteilen für die Herstellung verwendet worden waren. Auch konnten die Herstellungsparameter nur innerhalb gewisser Grenzen reproduziert werden, was insbesondere bei mehrphasigen Systemen die Produkteigenschaften maßgeblich beeinflussen kann.

5.3 Einfluss der Matrixpolarität

Zwecks spezifischer Erfassung des Einflusses der Füllmedienpolarität auf das Migrationsverhalten wurde eine Migrationsstudie mit Carbomergelen durchgeführt, da sich deren Rezepturen primär im alkoholischen Anteil unterscheiden (s. Tab. 5.10). In den gängigen Formularen und Arzneibüchern sind neben bereits untersuchtem *Wasserhaltiges Carbomergel DAB* unter anderem *Ultraschallkontaktgel NRF 13.2*, *2-Propanolhaltiges Carbomergel DAB* und ethanolhaltiges Carbomergel monographiert, letzteres im Kommentar zur Monographie von *2-Propanolhaltiges Carbomergel DAB*.

Die vier Carbomergele wurden in Tuben des Typs A#2 abgefüllt (vgl. Kap. 8.6.2) und für sechs Monate parallel bei *intermediate* und *accelerated conditions* eingelagert. Proben wurden in Intervallen gezogen, gepoolt (vgl. Kap. 8.6.3), aufgearbeitet und quantifiziert. Zwecks Optimierung von LOD und LOQ wurde die Probenaufarbeitung vorab modifiziert.

Tab. 5.10: Carbomergelrezepturen

	<i>Wasserhaltiges Carbomergel DAB</i>	<i>Ultraschallkontaktgel NRF 13.2</i>	<i>IPA-haltiges Carbomergel DAB</i>	<i>EtOH-haltiges Carbomergel</i>
Carbomer 50.000	0,5	0,5	0,5	0,5
Basisches Agens				
NaOH 5 % (m/V)	3,0	---	1,0	1,0
Trometamol	---	0,5	---	---
Alkohol				
2-Propanol	---	---	25,0	---
Ethanol 96 %	---	---	---	25,0
Propylenglykol	---	20,0	---	---
Wasser	96,5	79,0	73,5	73,5

Mengenangaben in Massenanteilen; Herstellung vgl. Kap. 8.6.1.3

5.3.1 Methodenoptimierung

Zwecks Straffung der Probenaufarbeitung wurde die LLE dahingehend modifiziert, dass nach ammoniumformiatinduzierter Phasentrennung die ACN-Phase direkt separiert und eingengt wurde. Über ein reduziertes Resolvatisierungsvolumen konnte eine Optimierung von LOD und LOQ erfolgen. Die Eignung der Modifikation wurde an allen vier Carbomergelen via Wiederfindungsversuch geprüft (vgl. Kap. 8.6.4.2).

Die Wiederfindungsraten von BADGE·2H₂O lagen bei *Wasserhaltiges Carbomergel DAB* und *Ultraschallkontaktgel NRF 13.2* um 20 – 30 % unter denen der übrigen Analyten (vgl. Tab. 8.30). Dies war über die Phasenverteilung des hydrophileren Analyten und die nur einmalige Durchführung des Extraktionsschrittes zu erklären. Die ethanol- und 2-Propanol-haltigen Carbomergele konnten nicht reproduzierbar aufgearbeitet werden: bei einzelnen Proben wiesen vor allem die lipophileren Analyten Wiederfindungsraten < 5 % auf, respektive wurden teilweise nicht mehr detektiert. Der Effekt ließ sich über eine verzögerte Phasentrennung in den *Vials* durch verschlepptes Ammoniumformiat erklären. Dies führte zur Injektion einer nachträglich gebildeten wässrigen Phase. Nachfolgend wurde versucht, einerseits die Wiederfindungsraten von BADGE·2H₂O durch Erhöhung der während der Suspendierung zugesetzten Ammoniumformiatmenge zu optimieren und andererseits die unerwünschte Phasentrennung im *Vial* zu unterbinden.

In einer Versuchsreihe mit ethanolhaltigem Carbomergel und *2-Propanolhaltiges Carbomergel DAB* wurde der Einfluss der zugesetzten Menge an Ammoniumformiat auf die Phasentrennung und die Wiederfindungsraten detaillierter betrachtet (vgl. Kap. 8.6.4.3). Die Ammoniumformiatmenge korrelierte hierbei mit dem Volumen der wässrigen Phase (vgl. Tab. 8.31). Ab 1,4 g Ammoniumformiat lag das Salz im Überschuss vor; die Bildung einer trüben Mischphase war zu beobachten, welche erst nach längerer Standzeit

($t > 30$ min) eine Phasendifferenzierung ermöglichte. Bei beiden Carbomergelen resultierte die Zugabe geringer Ammoniumformiatmengen in einem Verlust der lipophileren Analyten an die hydrophile Phase, ohne dass eine Phasentrennung analog dem vorherigen Versuch beobachtet werden konnte (vgl. Tab. 8.32 u. Tab. 8.33). Ab 0,8 g Ammoniumformiat verbesserte sich die Gesamtwiederfindung deutlich. Für Folgeversuche wurde die zu verwendende Ammoniumformiatmenge knapp unterhalb der Sättigung zu 1,3 g definiert.

Zur Vermeidung der Phasentrennung während und nach der Resolvatisierung wurden in Vorversuchen sowohl die Filtration über Natriumsulfat wasserfrei als auch der Transfer mit wasserfreiem ACN untersucht. Nachdem beide Methoden in hohen, unspezifischen Verlusten der Analyten resultierten, wurde zur prinzipiellen Vermeidung der Phasentrennung die Resolvatisierung mit alternativen organischen Medien in Betracht gezogen. Um das chromatographische System möglichst wenig zu beeinflussen, wurden Solvenzien mit ACN vergleichbarer Elutionsstärke (ϵ^0) hinsichtlich Eignung geprüft [MEYER 2004]: Aceton, Methanol, tBME und 2-Butanon. Nach Mischung mit Wasser (50:50 V/V) und Zugabe von Ammoniumformiat im Überschuss stellte sich bei allen Solvenzien – mit Ausnahme von Methanol – eine ACN-analoge Phasentrennung ein, sodass nachfolgend Methanol verwendet wurde. Zwecks Gewährleistung eines quantitativen Probentransfers war ein möglichst hoher Methanolanteil zu verwenden, wobei *Fronting* der Peaks infolge zu hoher Elutionsstärke den limitierenden Faktor darstellte. Über die Umkehrphasenpolarität P' wurde ein der Ausgangskonzentration des Gradienten entsprechender Methanolanteil zu 65 % berechnet (vgl. Kap. 8.6.4.4).

Obwohl RAUTER *et al.* [1999] feststellten, dass bei Raumtemperatur keine signifikante Beeinträchtigung der Stabilität von BADGE durch Methanol zu erwarten ist, wurde während der Methodenentwicklung teilweise eine Methanolyse der oxiranringhaltigen BADGE-Derivate in der Probelösung beobachtet. Dies deckt sich mit den Erfahrungen von COTTIER *et al.* [1997] und ROUBTSOVA *et al.* [1997]. Im Rahmen der Prüfung zur Verfahrensstabilität wurden deshalb Untersuchungen zur Lagerung der methanolischen Lösungen im gekühlten Autosampler ($T = 4$ °C) durchgeführt (vgl. Kap. 8.4.2.3).

Bei allen Carbomergelen konnte eine stetige Abreaktion der oxiranringhaltigen BADGE-Derivate in Lösung beobachtet werden (vgl. Tab. 8.9 – Tab. 8.12), die bei BADGE selber infolge des Vorhandenseins zweier Epoxidgruppen besonders rasch verlief (s. Abb. 5.12). Die Wiederfindungsraten der potentiellen Hydrolyseprodukte (BADGE·2H₂O, BADGE·HCl·H₂O) stiegen simultan nur geringfügig an, sodass primär von einer Methanolyse auszugehen war.

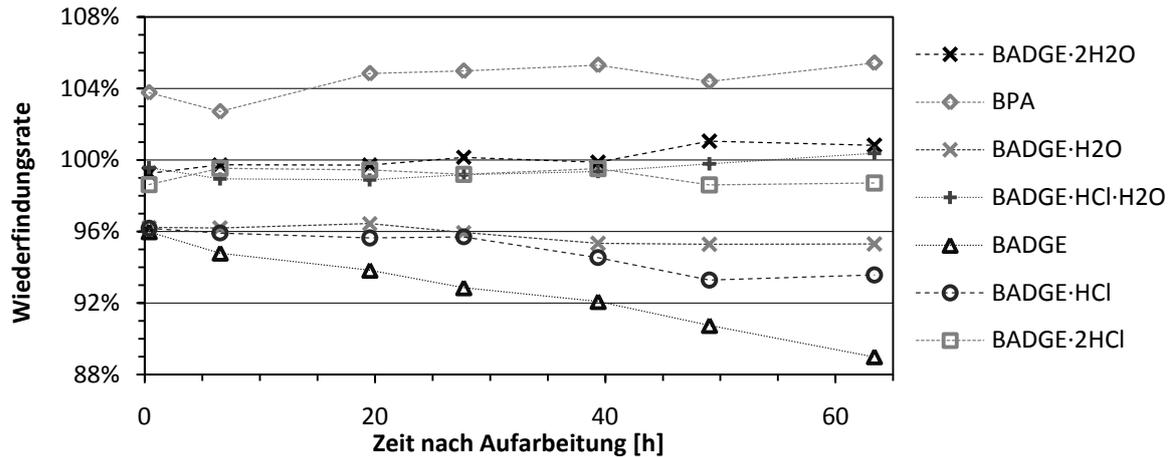


Abb. 5.12: *2-Propanolhaltiges Carbomergel DAB*: Mittlere Wiederfindungsraten ($n = 2$) bei gekühlter Lagerung ($T = 4\text{ °C}$); Verbindungslinien dienen ausschließlich der Visualisierung und stellen keine Interpolation dar; vgl. Tab. 8.12

Bei *Wasserhaltiges Carbomergel DAB* und *Ultraschallkontaktgel NRF 13.2* konnten die Messsequenzen im Rahmen der Migrationsstudie binnen 20 Stunden nach Einstellung der Proben in den Autosampler abgeschlossen werden. Zu diesem Zeitpunkt wurden alle oxiranringhaltigen Derivate mit $\geq 97\%$ wiedergefunden (vgl. Tab. 8.9 u. Tab. 8.10). Durch zusätzliche Messungen mit reduziertem Injektionsvolumen verlängerte sich die Analysendauer bei ethanolhaltigem Carbomergel auf ca. 30 Stunden respektive bei *2-Propanolhaltiges Carbomergel DAB* auf knapp 40 Stunden. Mit Abschluss der Quantifizierung wurden somit noch ungefähr 92 % BADGE, 96 % BADGE·H₂O und 97 % BADGE·HCl in ethanolhaltigem Carbomergel (vgl. Tab. 8.11) respektive 92 % BADGE, 95 % BADGE·H₂O und 93 % BADGE·HCl in *2-Propanolhaltiges Carbomergel DAB* wiedergefunden (s. Abb. 5.12).

Tab. 5.11: *Wasserhaltiges Carbomergel DAB* und *Ultraschallkontaktgel NRF 13.2*: Kenndaten der Matrixkalibrierung (nach ISTD-Korrektur)

	<i>Wasserhaltiges Carbomergel DAB</i> range (Ø)	<i>Ultraschallkontaktgel NRF 13.2</i> range (Ø)
Arbeitsbereich $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}\right]$	LOQ – 200	LOQ – 200
Bestimmtheitsmaß R^2	0,9998 – 0,9999 (0,9999)	0,9997 – 0,9999 (0,9998)
Reststandardabweichung s_y [$\text{mV} \cdot \text{min}$]	0,0602 – 0,154 (0,0963)	0,104 – 0,200 (0,144)
Verfahrensstandardabweichung s_{x0} $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}\right]$	0,0841 – 0,209 (0,127)	0,151 – 0,274 (0,198)
Verfahrensvariationskoeffizient V_{ko} [%]	0,373 – 1,02 (0,607)	0,667 – 1,34 (0,94)
Wiederfindung [%]	91,5 – 112,9 (99,2)	81,5 – 105,5 (99,0)
Nachweisgrenze $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}\right]$	0,12 – 0,30 (0,18)	0,22 – 0,39 (0,28)
Bestimmungsgrenze $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}\right]$	0,44 – 1,1 (0,66)	0,78 – 1,4 (1,0)

Übersicht einzelner Verfahrenskennwerten vgl. Tab. 10.25 u. Tab. 10.26; Wiederfindungsdaten vgl. Tab. 10.10 u. Tab. 10.11

Tab. 5.12: Ethanolhaltiges Carbomergel und 2-Propanolhaltiges Carbomergel DAB: Kenndaten der Matrixkalibrierung (nach ISTD-Korrektur)

	Ethanolhaltiges Carbomergel		2-Propanolhaltiges Carbomergel DAB	
	range	(\emptyset)	range	(\emptyset)
Arbeitsbereich [$\frac{\mu g}{kg}$]	LOQ – 200 / 2000 ^a		LOQ – 200 / 2000 ^a	
Bestimmtheitsmaß R^2	0,9995 – 0,9999 (0,9997)		0,9995 – 0,9999 (0,9998)	
Reststandardabweichung s_y [$mV \cdot min$]	0,124 – 0,272 (0,172)		0,0967 – 0,241 (0,148)	
Verfahrensstandardabweichung s_{x0} [$\frac{\mu g}{kg}$]	0,177 – 0,358 (0,242)		0,138 – 0,340 (0,213)	
Verfahrensvariationskoeffizient V_{ko} [%]	0,826 – 1,68 (1,15)		0,667 – 1,60 (1,01)	
Wiederfindung [%]	88,2 – 108,4 (97,4)		81,8 – 112,4 (96,4)	
Nachweisgrenze [$\frac{\mu g}{kg}$]	0,25 – 0,51 (0,35)		0,20 – 0,49 (0,30)	
Bestimmungsgrenze [$\frac{\mu g}{kg}$]	0,92 – 1,8 (1,3)		0,72 – 1,8 (1,1)	

^a Injektionsvolumen: 100 / 10 μL ; Übersicht einzelner Verfahrenskennndaten vgl. Tab. 10.27 u. Tab. 10.28; Wiederfindungsdaten vgl. Tab. 10.12 u. Tab. 10.13

Insgesamt belegten die Verfahrenskennndaten (s. Tab. 5.11 u. Tab. 5.12) die Eignung der optimierten Methode für die Bestimmung der Analyten in den vier Carbomergelen. Durch die Optimierung konnten deutlich niedrigere LODs / LOQs für sämtliche Analyten realisiert und Arbeitszeit für die Probenaufarbeitung reduziert werden.

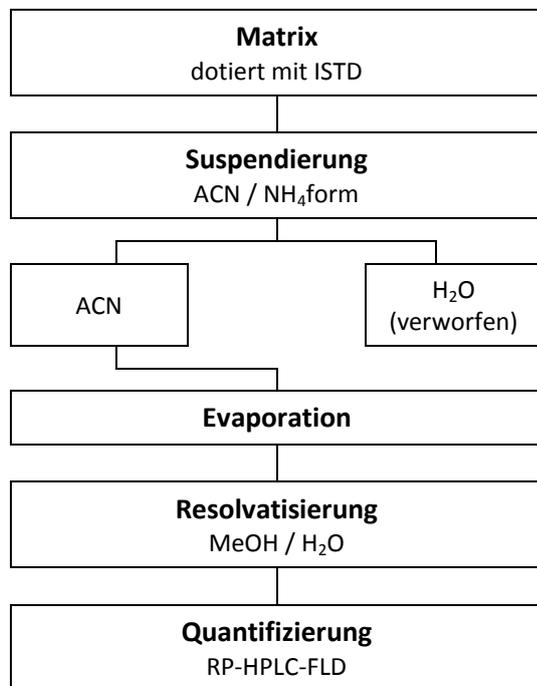


Abb. 5.13: Optimierte Probenaufarbeitung Carbomergel; vgl. Kap. 8.6.5.4.2

Zu beachten galt es zum einen, dass die Messwerte für BPA – ungeachtet der rechnerischen Subtraktion der coeluierenden Verunreinigung – bei allen Carbomergelen systematisch um 5 – 10 % zu hoch ausfielen (vgl. Tab. 10.10 – Tab. 10.13). Bei *Ultraschallkontaktgel NRF 13.2* fielen zusätzlich die Wiederfindungsraten von BADGE·2H₂O systematisch um ungefähr 15 % zu niedrig aus (vgl. Tab. 10.11), bei den übrigen Carbomergelen jedoch nur um 5 %. Möglicherweise beeinflusste das in der wässrigen Phase enthaltene Propylen-glykol die Phasenverteilung nach der Suspension der Matrix (s. Abb. 5.13). Bei dem ethanolhaltigen und dem 2-Propanol-haltigen Carbomergel DAB fielen die Wiederfindungsraten von BADGE um ungefähr 10 bzw. 15 %

zu niedrig aus (vgl. Tab. 10.12 u. Tab. 10.13). Aufgrund der oben beschriebenen Versuchsreihe zur Methanolyse wurde davon ausgegangen, dass der Verlust im Wesentlichen auf den Umfang der Messequenz respektive die Dauer der Versuchsdurchführung zur Bestimmung der Verfahrenskenndaten zurückzuführen war.

Unter Berücksichtigung der starken interindividuellen Schwankungen der *Extractables* der Einzeltuben und den in den Matrices quantifizierten Mengen wurden die beschriebenen Abweichungen noch als akzeptabel angesehen. Das optimierte, für die nachfolgende Migrationsstudie verwendete Probenaufarbeitungsschema (s. Abb. 5.13) ist in Kapitel 8.6.5.4.2 beschrieben.

5.3.2 Ergebnis

Durch die optimierten Bestimmungsgrenzen konnten in *Wasserhaltiges Carbomergel DAB* BADGE·2H₂O, BPA und BADGE·HCl·H₂O im gesamten Beobachtungsintervall quantifiziert werden (s. Abb. 5.14, links). Bei Einlagerung unter *intermediate conditions* wurden initial zusätzlich Spuren von BADGE und BADGE·H₂O bestimmt (nicht dargestellt, vgl. Tab. 8.43). Dies deutete darauf hin, dass es sich bei dem in der hydrophilen Matrix quantifizierten BADGE·2H₂O überwiegend um das nach dem Übergang von dem Polymer in das Füllmedium entstandene Hydrolyseprodukt handelte.

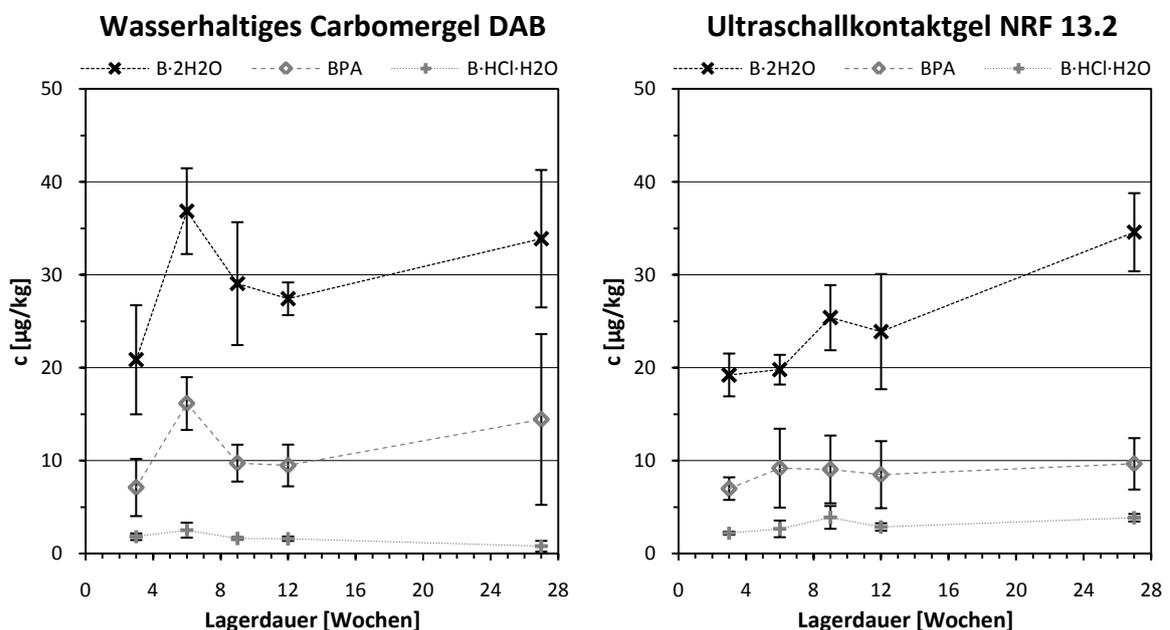


Abb. 5.14: *Leaching* in *Wasserhaltiges Carbomergel DAB* und *Ultraschallkontaktgel NRF 13.2* unter *accelerated conditions*; Darstellung mit Standardabweichung ($n = 3$); Verbindungslinien dienen ausschließlich der Visualisierung und stellen keine Interpolation dar; vgl. Tab. 8.43 u. Tab. 8.44

Verglichen mit den Konzentrationsverläufen von BADGE·2H₂O während der ersten Migrationsstudie (s. Abb. 5.9) lagen die Ergebnisse, ungeachtet abweichender Matrix- und Tubenchargen, temperaturunabhängig in vergleichbarer Größenordnung. Auch in der vor-

liegenden Studie schien das Verteilungsgleichgewicht zwischen Innenbeschichtung und Matrix nach ungefähr sechs Wochen weitgehend eingestellt.

Die Migrationsstudie mit *Ultraschallkontaktgel NRF 13.2* resultierte in einem *Wasserhaltiges Carbomergel DAB* ähnelndem Migrationsprofil (s. Abb. 5.14). Dieselben Analyten konnten in Konzentrationen vergleichbarer Größenordnung bestimmt werden, wobei offen blieb, ob mit Studienende das maximale Ausmaß der Migration bereits erreicht wurde. Für die Lagerung unter *intermediate conditions* (nicht dargestellt, vgl. Tab. 8.43 u. Tab. 8.44) ergab sich ein analoges Bild. Insgesamt schien der 20 %ige Propylenglykolanteil einen untergeordneten Einfluss auf das Migrationsverhalten der Analyten auszuüben.

Tab. 5.13: Carbomergel: Konzentrationen der beiden höchstkonzentrierten *Leachables* zum Ende der Migrationsstudie (27 Wochen)

	BADGE·2H ₂ O		BPA	
	30 °C	40 °C	30 °C	40 °C
Wasserhaltiges Carbomergel DAB	19,1 ± 4,4	33,9 ± 7,4	7,2 ± 1,6	14,4 ± 9,2
Ultraschallkontaktgel NRF 13.2	12,0 ± 0,7	34,6 ± 4,2	5,0 ± 0,8	9,7 ± 2,8
Ethanolhaltiges Carbomergel	114 ± 22	701 ± 99	29,4 ± 2,3	96,1 ± 9,2
2-Propanolhaltiges Carbomergel	1260 ± 220	10800 ± 800	132 ± 10,5	680 ± 34

Mittelwerte mit Standardabweichung angegeben in µg/kg Matrix ($n = 3$); Messergebnisse der gesamten Migrationsstudie vgl. Tab. 8.43 – Tab. 8.46

Abweichende Ergebnisse zeigten sich bei der Lagerung der ethanol- und 2-Propanolbasierten Carbomergelen (s. Tab. 5.13). Nahezu alle BADGE-Derivate konnten in hohen Mengen bestimmt werden, wobei die Gesamtmigration in *2-Propanolhaltiges Carbomergel DAB* evident am stärksten ausgeprägt war. Neben den quantifizierten Analyten enthielten die Chromatogramme dieser beiden Matrices eine Vielzahl unbekannter Peaks. Bei dem ethanolhaltigen Carbomergel wurden die Peaks von BADGE·HCl und BADGE·HCl·H₂O von den im Beobachtungsintervall stetig zunehmenden Peaks von BADGE·EtOH und BADGE·HCl·EtOH überlagert (vgl. Kap. 4.2), sodass keine valide Auswertung der beiden Analyten vorgenommen werden konnte (vgl. Tab. 8.45).

Bei der Lagerung unter *intermediate conditions* konnte die Hydrolyse der epoxidhaltigen Derivate im Anschluss an das *Leaching* besonders gut nachverfolgt werden (s. Abb. 5.15). Nachdem anfänglich BADGE und das partial-hydrolysierte BADGE·H₂O in relativ hohen Konzentrationen detektiert wurden, nahmen die Konzentrationen der beiden Analyten in der Folge stetig ab, während simultan die Konzentration an BADGE·2H₂O anstieg. Die Summe von BADGE und seinen Derivaten blieb somit – unter Berücksichtigung der Schwankungsbreiten – bereits ab dem ersten Probenahmezeitpunkt nach drei Wochen weitgehend konstant. Dies belegte eine sehr rasche Einstellung des Verteilungsgleichgewichtes zwischen Füllmedium und Polymer, vermutlich bereits deutlich vor der ersten Probenahme.

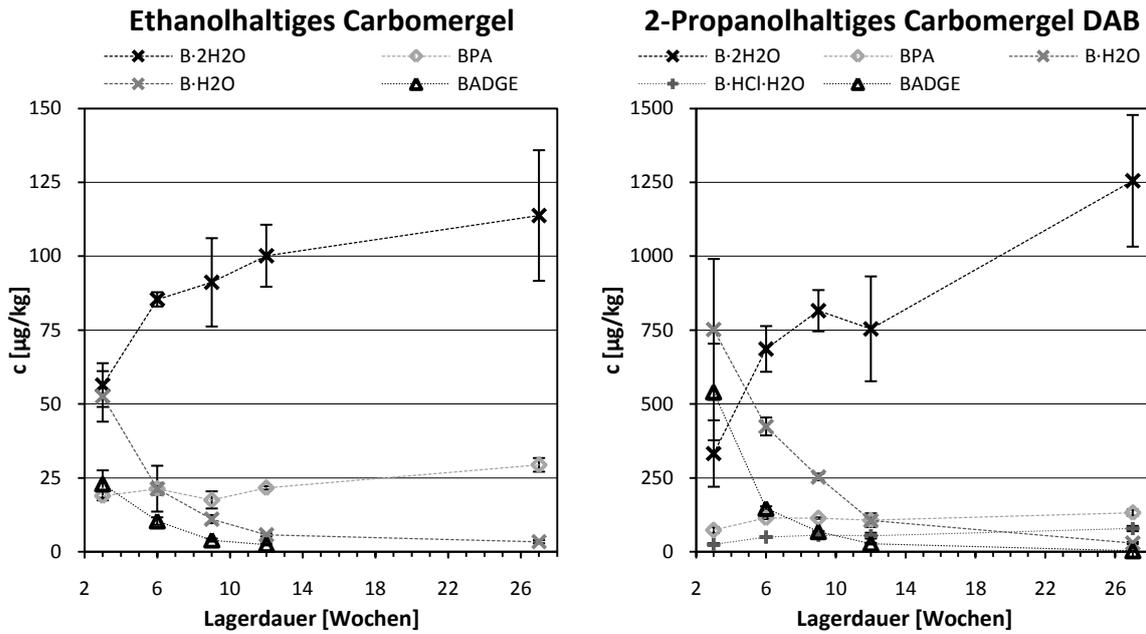


Abb. 5.15: *Leaching* bei ethanolhaltigem Carbomergel und 2-Propanolhaltiges Carbomergel DAB unter *intermediate conditions*; Darstellung mit Standardabweichung ($n = 3$); Verbindungslinien dienen ausschließlich der Visualisierung und stellen keine Interpolation dar; vgl. Tab. 8.45 u. Tab. 8.46

5.4 Einfluss des Emulgators

In der nachfolgenden Studie wurden zum einen betrachtet, inwiefern ein Emulgatoranteil überhaupt Einfluss auf das Migrationsverhalten hat und zum anderen die Auswirkung des Emulgatortyps bzw. dessen Strukturelementen untersucht. Hierzu wurden zwei Modifikationen von *Einfache Augensalbe DAC* mit 10 %igem Emulgatorzusatz angefertigt (vgl. Kap. 8.6.1.1). Mit Bezug auf *Nichtionische Hydrophile Creme DAB* wurde Polysorbat 60 in die Studie einbezogen. Als Pendant zum O/W-Emulgator wurde der strukturell verwandte W/O-Emulgator Span 60 gewählt (s. Abb. 5.16). Beide Formulierungen waren Modellmatrices ohne pharmazeutische Bedeutung.

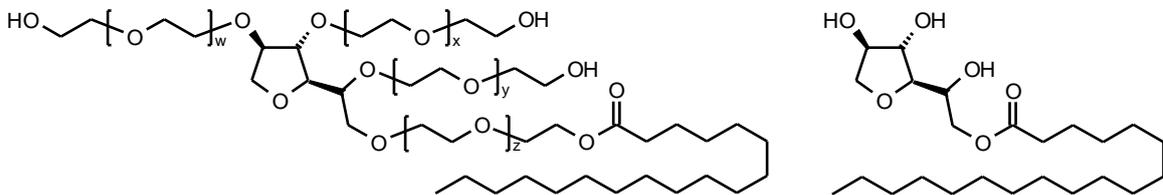


Abb. 5.16: Polysorbat 60 (Polyoxyethylensorbitanmonostearat) und Span 60 (Sorbitanmonostearat)

Nach der Abfüllung in Tuben des Typs A#2 (vgl. Kap. 8.6.2) wurden die Matrices ausschließlich bei *accelerated conditions* eingelagert. Proben wurden in Intervallen gezogen, gepoolt (vgl. Kap. 8.6.3), aufgearbeitet und quantifiziert.

5.4.1 Methodenadaption

Der Emulgatoranteil beider Matrices machte eine individuelle Adaption der Probenaufarbeitung erforderlich.

5.4.1.1 Einfache Augensalbe DAC + 10 % Span 60

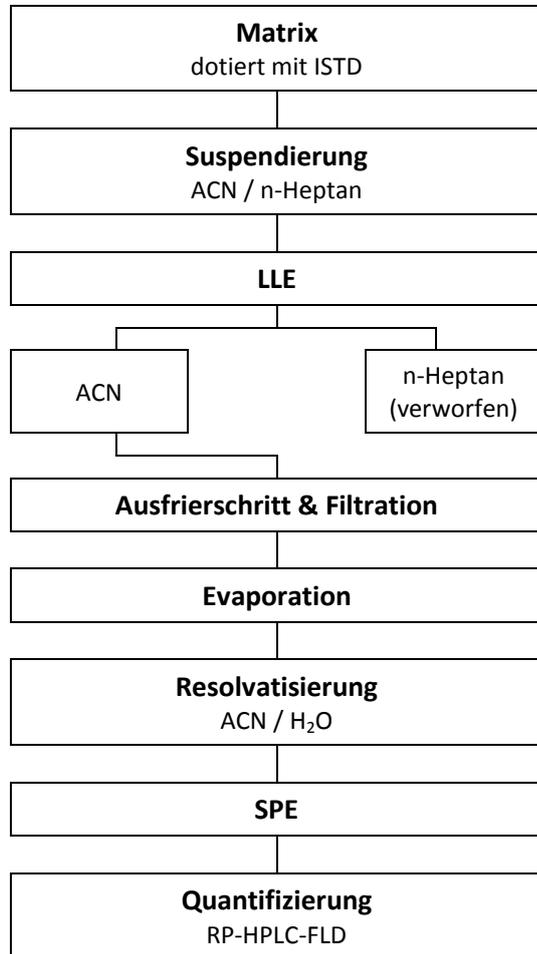


Abb. 5.17: Probenaufarbeitung *Einfache Augensalbe DAC + 10 % Span 60*; vgl. Kap. 8.6.5.2.2

Auch nach 30-minütiger Standzeit war bei einer *Einfache Augensalbe DAC* analogen LLE keine Phasentrennung erkennbar. Erst nach Erhöhung der zugesetzten ACN-Volumina konnten die Phasen nach jeweils ungefähr 20-minütiger Standzeit differenziert werden. Während der Einengung am Rotationsverdampfer wurde ein starkes, emulgatorbedingtes Aufschäumen beobachtet. Durch Implementieren eines Ausfrier- und Filtrationsschrittes konnte der Emulgator abgetrennt werden. Restlipide wurden analog der emulgatorfreien Matrix via SPE entfernt.

Die Filtration der tiefgekühlten Extrakte verlief schleppend, da die Poren des Filters unmittelbar nach Probenaufgabe verstopften. Infolge unspezifischer Wechselwirkungen ergaben sich sehr niedrige Wiederfindungsraten (ISTD: 25,5 – 41,3 %; vgl. Tab. 10.3). Nach rechnerischer Korrektur lagen dennoch über 90 % der Wiederfindungsraten im Bereich 80 bis 120 %, wobei primär die

Wiederfindungsraten von BADGE·2HCl – dem im Rahmen der Migrationsstudie keine Bedeutung zukam – außerhalb dieses Bereiches lagen. Das Probenaufarbeitungsschema für *Einfache Augensalbe DAC + 10 % Span 60* ist in Kapitel 8.6.5.2.2 detailliert beschrieben (s. Abb. 5.17).

Aus dem hohen Korrekturfaktor resultierten relativ hohe Variationskoeffizienten sowie Nachweis- und Bestimmungsgrenzen (s. Tab. 5.14). Darüber hinaus zeigte sich innerhalb der Wiederfindungsraten tendenziell ein abfallender Trend von den hydrophileren zu den lipophileren Analyten (vgl. Tab. 10.3), sodass zusätzlich von spezifischen Wechselwirkungen auszugehen war.

Tab. 5.14: *Einfache Augensalbe DAC + 10 % Span 60*: Kenndaten der Matrixkalibrierung (nach ISTD-Korrektur)

	range	(\emptyset)
Arbeitsbereich $\left[\frac{\mu g}{kg}\right]$	LOQ – 1000	
Bestimmtheitsmaß R^2	0,9770 – 0,9987	(0,9934)
Reststandardabweichung s_y $[mV \cdot min]$	0,402 – 1,60	(0,763)
Verfahrensstandardabweichung s_{xo} $\left[\frac{\mu g}{kg}\right]$	2,82 – 12,7	(5,65)
Verfahrensvariationskoeffizient V_{ko} [%]	2,65 – 11,2	(5,30)
Wiederfindung [%]	53,8 – 128,4	(97,2)
Nachweisgrenze $\left[\frac{\mu g}{kg}\right]$	4,0 – 18,1	(8,1)
Bestimmungsgrenze $\left[\frac{\mu g}{kg}\right]$	14,4 – 61,7	(28,2)

Übersicht einzelner Verfahrenskennndaten vgl. Tab. 10.18; Wiederfindungsdaten vgl. Tab. 10.3

Ungeachtet der mäßigen Verfahrenskennndaten reichte die Methode aus, um grundlegende Aussagen über den Emulgatoreinfluss auf das Migrationsverhalten treffen zu können.

5.4.1.2 *Einfache Augensalbe DAC + 10 % Polysorbat*

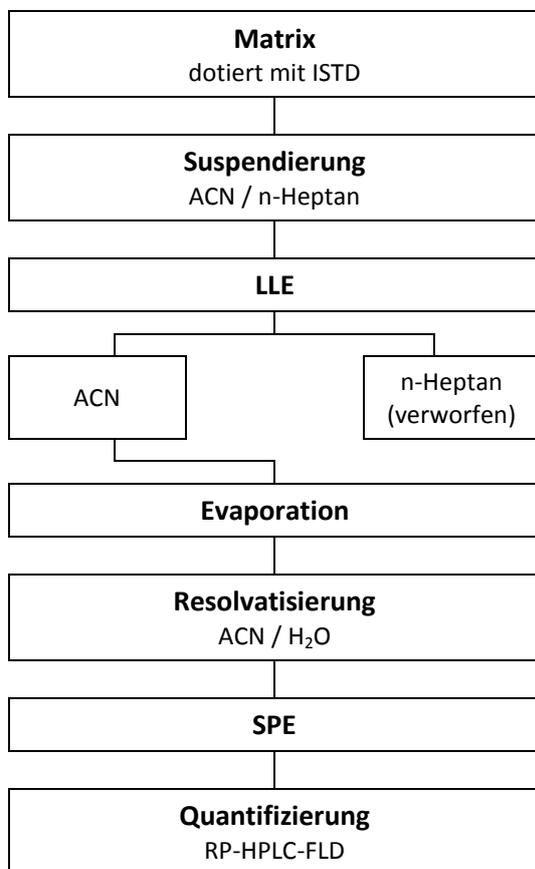


Abb. 5.18: Probenaufarbeitung *Einfache Augensalbe DAC + 10 % Polysorbat 60*; vgl. Kap. 8.6.5.2.3

Durch Erhöhung des für die LLE verwendeten ACN-Volumens konnte die Phasentrennung beschleunigt werden. Polysorbat 60 ging bereits im ersten Extraktionsschritt nahezu quantitativ in die ACN-Phase über; eine Beeinträchtigung der nachfolgenden Aufarbeitungsschritte wurde nicht beobachtet. Im vorderen Chromatogrammbereich generierte die Verschleppung die bereits von *Nicht-ionische Hydrophile Creme DAB* bekannten Interferenzen (s. Abb. 5.6), die eine Auswertung der Peakflächen, vor allem im unteren Konzentrationsbereich, geringfügig beeinträchtigten.

Versuche, den Emulgatoranteil auszufrieren, misslangen, da Polysorbat 60 bereits im ersten Nachspülschritt der Filtration – ungeachtet der Verwendung tiefgekühlten ACNs ($T \approx -20\text{ °C}$) – erneut nahezu quantitativ in

Lösung ging. Darüber hinaus wiesen die Chromatogramme des Filtrats auch ohne Nachspülen die oben beschriebenen Interferenzen auf. Das Probenaufarbeitungsschema (s. Abb. 5.18) für *Einfache Augensalbe DAC* mit 10 % Polysorbat 60 ist in Kapitel 8.6.5.2.3 beschrieben.

Tab. 5.15: *Einfache Augensalbe DAC + 10 % Polysorbat 60*: Kenndaten der Matrixkalibrierung (nach ISTD-Korrektur)

	range	(\emptyset)
Arbeitsbereich $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}\right]$	LOQ – 2000 / 20000 ^a	
Bestimmtheitsmaß R^2	0,9986 – 0,9999	(0,9997)
Reststandardabweichung s_y [$\text{mV} \cdot \text{min}$]	0,126 – 0,397	(0,175)
Verfahrensstandardabweichung s_{xo} $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}\right]$	1,78 – 5,87	(2,56)
Verfahrensvariationskoeffizient V_{ko} [%]	0,836 – 2,60	(1,19)
Wiederfindung [%]	91,3 – 110,6	(100,4)
Nachweisgrenze $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}\right]$	2,7 – 8,6	(3,8)
Bestimmungsgrenze $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}\right]$	9,2 – 30,7	(13,3)

^a Injektionsvolumen: 100 / 10 μL ; Übersicht einzelner Verfahrenskenndaten vgl. Tab. 10.17; Wiederfindungsdaten vgl. Tab. 10.2

Die Probenaufarbeitung ergab sehr gute Wiederfindungsraten (ISTD: 98,7 – 102,0 %). Die ermittelten Verfahrenskenndaten (s. Tab. 5.15) belegten die Eignung der Methode.

5.4.2 Ergebnis

Aufgrund der erhöhten Bestimmungsgrenzen bei *Einfache Augensalbe DAC + 10 % Span* (s. Tab. 5.14) konnte im Beobachtungsintervall ausschließlich BADGE in geringen Mengen quantifiziert werden (s. Abb. 5.19, links). Grundsätzlich lagen die gemessenen BADGE-Konzentrationen – vorbehaltlich der abweichenden Tubencharge – in einer der emulgatorfreien Matrix vergleichbaren Größenordnung (s. Kap. 5.1.2). Somit schien in der vorliegenden Formulierung der zugesetzte Anteil an Span 60 einen vernachlässigbaren Einfluss auf das *Leaching* auszuüben.

Gravierende Unterschiede zeigten sich bei der polysorbathaltigen Matrix. Alle quantifizierten *Extractables* (vgl. Kap. 4.3) konnten als *Leachables* in der Formulierung in hohen Konzentrationen nachgewiesen werden (s. Abb. 5.19, rechts); das Gesamtausmaß des *Leachings* lag über dem von *2-Propanolhaltiges Carbomergel DAB*.

Über den Beobachtungszeitraum wurde, ungeachtet der prinzipiell wasserfreien Rezeptur, ein leichter Anstieg der Hydrolyse-derivate von BADGE – primär des Intermediats $\text{BADGE} \cdot \text{H}_2\text{O}$ – beobachtet, der mutmaßlich auf eine Verunreinigung des Emulgators (CoA: 2,5 % H_2O) oder eine Undichtigkeit der Tuben zurückzuführen war.

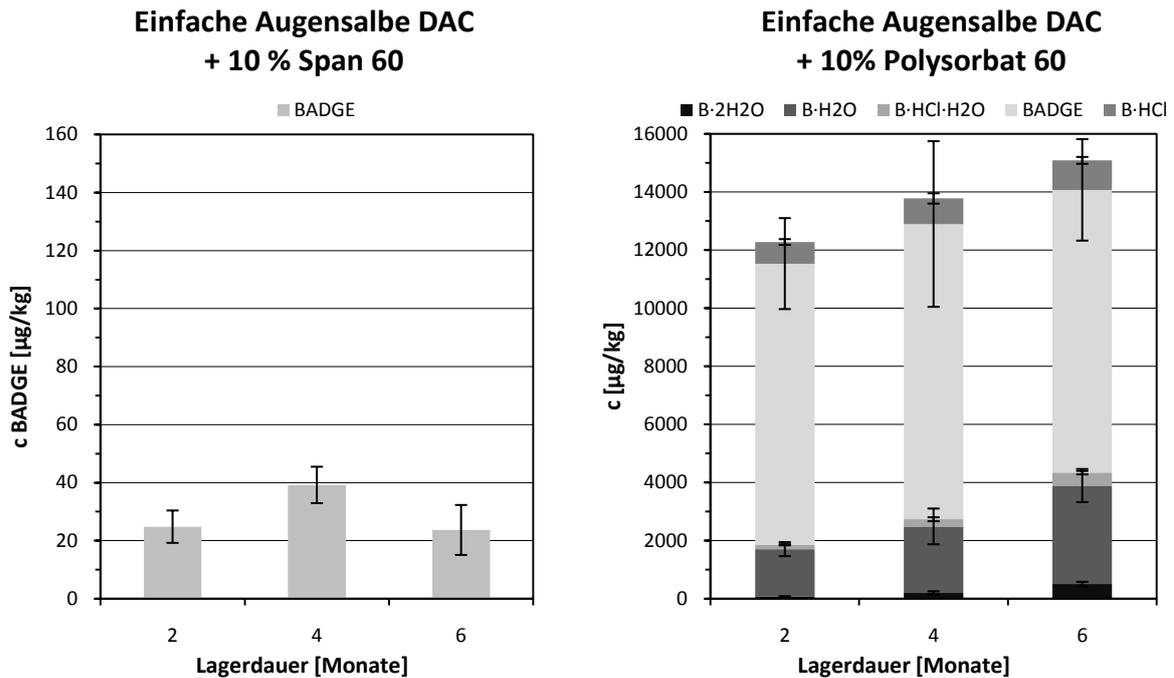


Abb. 5.19: *Leaching* in *Einfache Augensalbe DAC* mit 10 %igem Zusatz an Span 60 bzw. Polysorbat 60 unter *accelerated conditions*; unterschiedliche Skalierung beachten; Konzentrationsangaben mit Standardabweichung ($n = 3$); BPA nicht dargestellt; vgl. Tab. 8.47 u. Tab. 8.48

5.4.3 Polysorbat 60

Nachdem bereits der 10 %ige Polysorbatanteil der Matrix in einer massiven Verstärkung des *Leachings* resultierte, wurde eine zusätzliche Versuchsreihe durchgeführt. Die Tuben wurden ausschließlich mit Polysorbat 60 befüllt und unter anlogenen Bedingungen eingelagert.

Von einer individuellen Methodenentwicklung wurde abgesehen und unter viskositätsbedingter Reduktion der Einwaage auf das Probenaufarbeitungsschema von *Einfache Augensalbe DAC* + 10 % Polysorbat 60 (s. Abb. 5.18) zurückgegriffen. Abweichend von der Salbe war eine Kühlung der Proben im Autosampler aufgrund der temperaturabhängigen Zunahme der Viskosität der Probelösung nicht möglich. Das zugehörige Probenaufarbeitungsschema ist in Kapitel 8.6.5.5.1 beschrieben. Die Verfahrenskenndaten (s. Tab. 5.16) belegten die Eignung der Methode.

Obleich keine Anhaltspunkte in den korrespondierenden Chromatogrammen gefunden werden konnten, wiesen die Verfahrenskenndaten von BADGE \cdot 2H₂O eine erhöhte Varianz auf (vgl. Tab. 10.30) und resultierten somit in höheren Nachweis- und Bestimmungsgrenzen. Angesichts der in den Matrices nachgewiesenen *Leachable-Level* kam der Beobachtung jedoch keine Bedeutung zu.

Tab. 5.16: Polysorbat 60: Kenndaten der Matrixkalibrierung (nach ISTD-Korrektur)

	<i>range</i>	(\emptyset)
Arbeitsbereich $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}\right]$	LOQ – 10000 / 100000 ^a	
Bestimmtheitsmaß R^2	0,9971 – 0,9998	(0,9992)
Reststandardabweichung s_y [$\text{mV} \cdot \text{min}$]	0,0909 – 0,340	(0,151)
Verfahrensstandardabweichung s_{x0} $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}\right]$	6,12 – 22,7	(10,2)
Verfahrensvariationskoeffizient V_{ko} [%]	1,18 – 4,18	(1,90)
Wiederfindung [%]	91,8 – 124,8	(103,6)
Nachweisgrenze $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}\right]$	8,9 – 33,0	(14,8)
Bestimmungsgrenze $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}\right]$	32,2 – 117,1	(53,0)

^a Injektionsvolumen: 100 / 10 μL ; Übersicht einzelner Verfahrenskennzahlen vgl. Tab. 10.30; Wiederfindungsdaten vgl. Tab. 10.15

Im Vergleich mit der Salbengrundlage mit 10 %igem Emulgatoranteil wurde bei der Migrationsstudie mit reinem Polysorbat 60 eine ungefähre Verdopplung der *Leachables* festgestellt (s. Abb. 5.21). BPA und BADGE·HCl·H₂O konnten aufgrund von Peaküberlagerungen in den Chromatogrammen nicht quantifiziert werden (vgl. Tab. 8.49). Da weder vermehrt hydrolysiertes BADGE noch zusätzliche Peaks nach 6 Monaten beobachtet wurden, war die Abnahme von BADGE im Beobachtungsintervall mutmaßlich auf interindividuelle Schwankungen zurückzuführen.

5.5 Polyethylenglykol-Partialstruktur

5.5.1 Polyethylenglykol 300

Aufgrund der massiven Verstärkung des *Leachings* durch Polysorbat sollte in einem weiteren Versuch geklärt werden, ob der beobachtete Effekt der Tensidaktivität oder definierten Partialstrukturen des Emulgators zuzuordnen war. Ein Vergleich der Emulgatorstrukturen von Span 60 und Polysorbat 60 zeigte, dass sich diese ausschließlich in dem Vorhandensein von Polyoxyethylengruppen in den Seitenketten unterscheiden (s. Abb. 5.16). Um einen kausalen Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein dieser Partialstruktur und der massiven Verstärkung des *Leachings* isoliert zu prüfen, wurde als weiteres Füllmedium Polyethylenglykol 300 (PEG 300) gewählt. Ausgehend von einer – zumindest theoretisch – gleichmäßigen Verteilung von 20 Mol Ethylenoxid auf die vier Seitenketten von 1 Mol Polysorbat, liegt bei Polysorbat 60 ein durchschnittlicher Polymerisationsgrad von $n = 5$ vor [AMMON 2007], der in der Migrationsstudie mit PEG 300 ($n \sim 6,4$) annähernd simuliert werden konnte.

Für die Migrationsstudie wurden PEG 300 in Tuben (Typ A#2) abgefüllt (vgl. Kap 8.6.2), bei *accelerated conditions* im Klimaschrank eingelagert und Proben in Intervallen (vgl. Tab. 8.28) entnommen. Abweichend von der in Kapitel 8.6.3 dargestellten Probenahme wurden Aliquote von Einzeltuben vermessen.

5.5.1.1 Methodenadaption

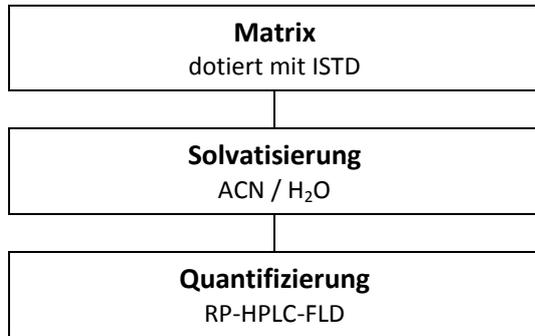


Abb. 5.20: Probenaufarbeitung PEG 300; vgl. Kap. 8.6.5.5.2

Anfänglich wurde versucht – analog den Carbomergelen – über eine ammoniumfomiatvermittelte ACN-H₂O-Phasentrennung PEG von den Analyten abzutrennen (vgl. Kap. 8.6.4.5). PEG 300 verteilte sich jedoch annähernd zu gleichen Teilen auf beide Phasen; zusätzlich ergaben sich uneinheitliche Wiederfindungsraten (vgl. Tab. 8.34). In der Folge wurden die Probelösungen direkt unter

viskositätsbedingter Reduktion der Einwaage aus PEG 300, Wasser und ACN hergestellt (s. Abb. 5.20). Eine Beschreibung der Probenaufarbeitung ist Kapitel 8.6.5.5.2 zu entnehmen.

Tab. 5.17: Polyethylenglykol 300: Kenndaten der Matrixkalibrierung (nach ISTD-Korrektur)

	<i>range</i>	<i>(\emptyset)</i>
Arbeitsbereich $\left[\frac{\mu g}{kg}\right]$	LOQ – 2000 / 20000 ^a	
Bestimmtheitsmaß R^2	0,9995 – 0,9998	(0,9998)
Reststandardabweichung s_y [<i>mV</i> · <i>min</i>]	0,185 – 0,294	(0,207)
Verfahrensstandardabweichung s_{xo} $\left[\frac{\mu g}{kg}\right]$	1,99 – 3,38	(2,36)
Verfahrensvariationskoeffizient V_{ko} [%]	0,934 – 1,56	(1,12)
Wiederfindung [%]	96,7 – 109,7	(100,5)
Nachweisgrenze $\left[\frac{\mu g}{kg}\right]$	2,8 – 4,8	(3,4)
Bestimmungsgrenze $\left[\frac{\mu g}{kg}\right]$	10,3 – 17,4	(12,2)

^a Injektionsvolumen: 100 / 10 μ L; Übersicht einzelner Verfahrenskennndaten vgl. Tab. 10.29; Wiederfindungsdaten vgl. Tab. 10.14

Die korrespondierenden Chromatogramme wiesen keine relevanten Interferenzen auf. Die Wiederfindungsraten lagen vor rechnerischer Korrektur oberhalb 100 %. Dieser Effekt war vermutlich auf einen temperaturabhängigen Dichteunterschied zwischen der reinen ACN/H₂O-Mischung der Kalibrierreihe und den matrixhaltigen Probelösungen nach Kühlung im Autosampler zurückzuführen. Durch die Verwendung des internen Standards

wurde die differierende Volumenkontraktion rechnerisch egalisiert. Die Verfahrenskenn-
daten (s. Tab. 5.17) belegten die Eignung der Methode.

5.5.1.2 Ergebnis

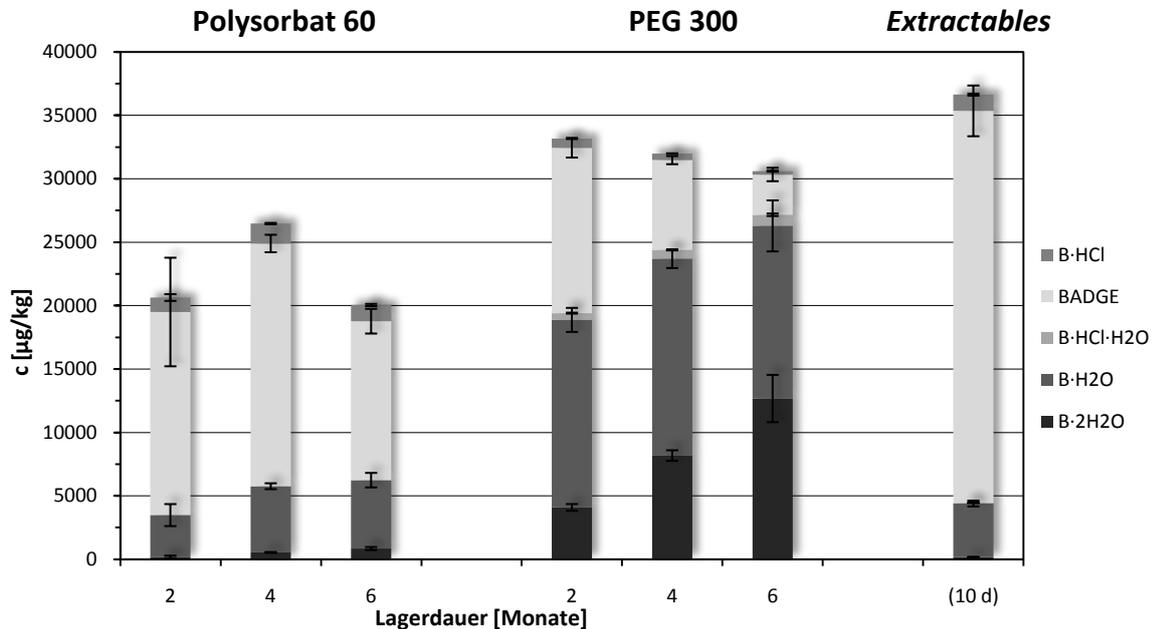


Abb. 5.21: *Leaching in Polysorbat 60 und PEG 300 unter accelerated conditions im Vergleich zu den Extractables (10 d, 40 °C); BPA nicht dargestellt; Konzentrationsangaben mit Standardabweichung (n = 3); vgl. Tab. 8.49 u. Tab. 8.50*

Die Migrationsstudie mit PEG 300 resultierte in hohen Konzentrationen aller untersuchten Kontaminanten. Bereits bei der ersten Probenahme nach zwei Monaten näherte sich der Gesamtumfang der *Leachables* den in der Extraktionsstudie nachgewiesenen Mengen an *Extractables* an (s. Abb. 5.21). Die nachgewiesenen Mengen an BPA fielen mit durchschnittlich 485 µg/kg – entsprechend ungefähr 50 % der *Extractables* – etwas geringer aus. Während die summarische Konzentration im Beobachtungsintervall weitgehend konstant blieb, waren eine kontinuierliche, hydrolytische Zunahme an BADGE·2H₂O, eine stetige Abnahme an BADGE und eine näherungsweise konstante Menge an BADGE·H₂O zu beobachten. Gemäß CoA enthielt PEG 300 lediglich 0,12 % Wasser. Im Rahmen der Probenahme wurde eine leichte Gewichtszunahme (0,1 – 0,6 %) bei allen Tuben festgestellt, die vermutlich aus der Hygroskopizität von PEG niederen Polymerisationsgrades [AMMON 2007] sowie Undichtigkeiten der Tuben hervorging. Ob und gegebenenfalls in welchem Umfang Reaktionen der Analyten mit PEG das Ausmaß der Hydrolyse beeinflussten, wurde nicht untersucht.

Durch das Ergebnis der Migrationsstudie mit PEG 300 konnte die forcierte Migration der Analyten in polysorbathaltige Matrices der PEG-Partialstruktur zugeordnet werden.

5.5.2 Macrogolsalbe DAC

Zur Evaluierung des Migrationsverhaltens in pharmazeutisch relevante, PEG-haltige Matrices wurde eine Migrationsstudie mit *Macrogolsalbe DAC* – einer Mischung aus PEG 300 und PEG 1500 – durchgeführt (vgl. Kap. 8.6.1.1). Zur Erfassung des Temperatureffektes wurden die Tuben nach der Abfüllung (vgl. Kap. 8.6.2) bei *intermediate* und *accelerated conditions* eingelagert. Da in der Migrationsstudie mit PEG 300 das maximale Ausmaß der Migration zum Zeitpunkt der ersten Probenahme nach zwei Monaten bereits erreicht worden war, wurden zur Überwachung der Kinetik des *Leachings* engmaschigere Probenahmeintervalle gewählt (vgl. Tab. 8.28). Abweichend von der in Kapitel 8.6.3 dargestellten Probenahme wurden zum jeweiligen Probenahmezeitpunkt homogenisierte Aliquote von Einzeltuben vermessen.

5.5.2.1 Methodenadaption

Das Probenaufarbeitungsschema wurde aus dem für PEG 300 entwickelten Schema (s. Abb. 5.20) abgeleitet, wobei aufgrund der erhöhten Viskosität der Probelösungen ein höheres Endvolumen Verwendung fand. Die Probenaufarbeitung ist in Kapitel 8.6.5.2.4 detailliert beschrieben. Die Verfahrenskenndaten belegten die Eignung der Methode für die Bestimmung der Analyten in *Macrogolsalbe DAC* (s. Tab. 5.18).

Tab. 5.18: *Macrogolsalbe DAC*: Kenndaten der Matrixkalibrierung (nach ISTD-Korrektur)

	<i>range</i>	(\emptyset)
Arbeitsbereich $\left[\frac{\mu g}{kg}\right]$	LOQ – 4000 / 40000 ^a	
Bestimmtheitsmaß R^2	0,9952 – 0,9995	(0,9983)
Reststandardabweichung s_y [$mV \cdot min$]	0,148 – 0,383	(0,218)
Verfahrensstandardabweichung s_{xo} $\left[\frac{\mu g}{kg}\right]$	3,51 – 10,4	(5,91)
Verfahrensvariationskoeffizient V_{ko} [%]	1,65 – 5,07	(2,81)
Wiederfindung [%]	97,1 – 133,5	(103,0)
Nachweisgrenze $\left[\frac{\mu g}{kg}\right]$	5,0 – 14,9	(8,5)
Bestimmungsgrenze $\left[\frac{\mu g}{kg}\right]$	18,1 – 52,4	(30,1)

^a Injektionsvolumen: 100 / 10 μL ; Übersicht einzelner Verfahrenskenndaten vgl. Tab. 10.19; Wiederfindungsdaten vgl. Tab. 10.4

5.5.2.2 Ergebnis

Bereits bei der ersten Probenahme nach sieben Tagen war das maximale Ausmaß des *Leachings* erreicht (s. Abb. 5.22). Nachfolgend konnte ausschließlich die temperaturabhängige Hydrolyse von BADGE und seinen Derivaten beobachtet werden. Ein Vergleich der Einlagerung bei *intermediate* und *accelerated conditions* ergab einen relativ geringen

Unterschied (20 – 30 %) hinsichtlich des Temperatureffektes auf das Ausmaß der Gesamtmigration. Die Gesamtmenge der *Leachables* bei *accelerated conditions* lag analog PEG 300 nur geringfügig unter der nachgewiesenen Menge an *Extractables*.

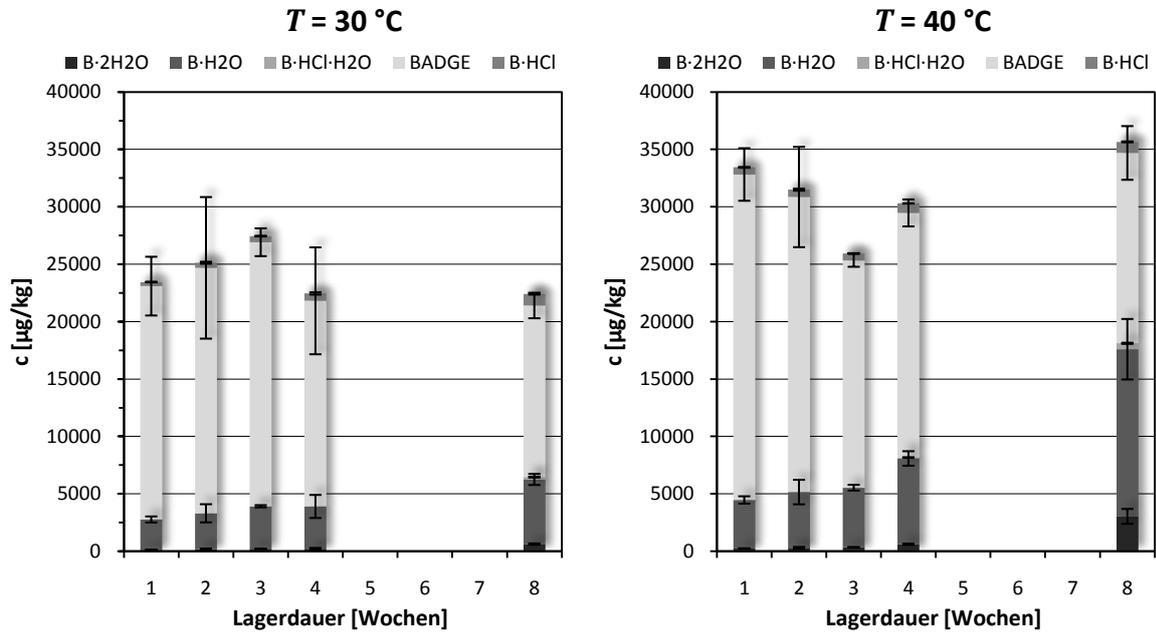


Abb. 5.22: *Leaching in Macrogolsalbe DAC*; Darstellung mit Standardabweichung ($n = 3$); BPA nicht dargestellt; vgl. Tab. 8.51

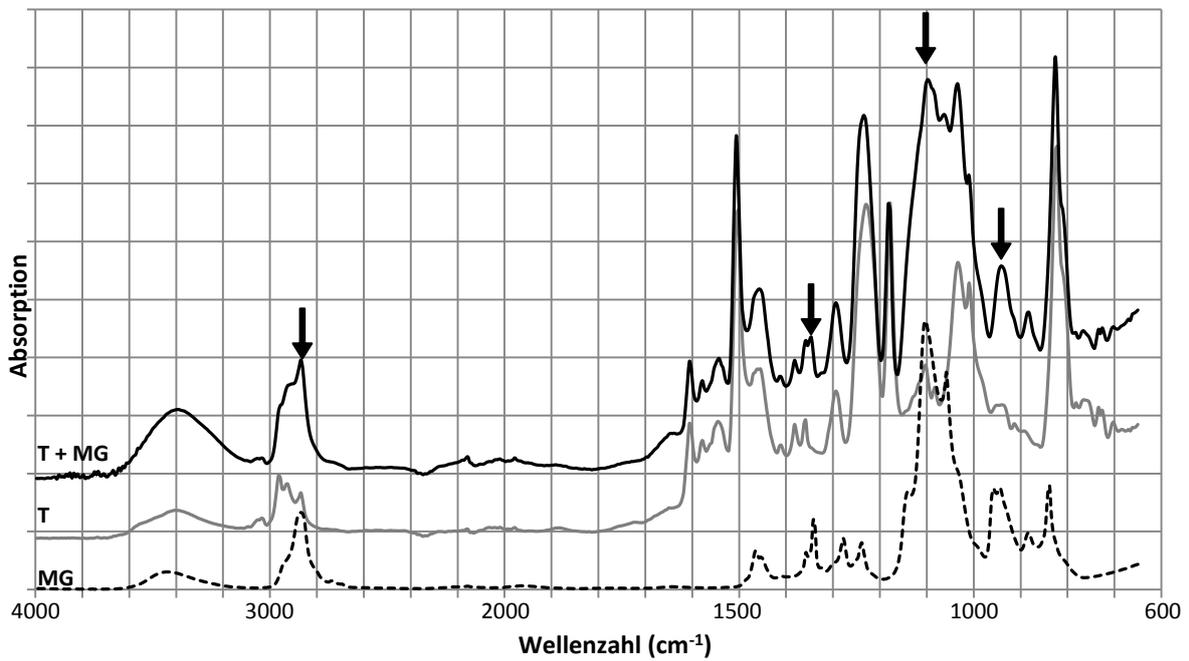


Abb. 5.23: ATR-FTIR-Spektren der Innenbeschichtungen von mit *Macrogolsalbe DAC* gelagerten Tuben (T + MG), Leertuben (T) und von *Macrogolsalbe DAC* (MG); Spektrum von *Macrogolsalbe DAC* gestaucht (1:2,5) dargestellt; Hauptunterschiede mit Pfeilen indiziert

Exemplarisch wurde eine der mit *Macrogolsalbe DAC* befüllten Tuben geöffnet, die Innenbeschichtung gereinigt und mittels ATR-FTIR (32 Scans, Auflösung: 4 cm^{-1}) gegen Leertuben und Proben der Matrix untersucht. Die Gegenüberstellung der Spektren zeigte deutlich eine Sorption von PEG in das Epoxidharz während der Lagerung (s. Abb. 5.23).

5.6 ‚In-Use‘-Bedingungen

In der 2001 in Kraft getretenen *note for guidance on in-use stability testing of human medicinal products* [EMA 2001] werden vom *Committee for Proprietary Medicinal Products* (CPMP, heute CHMP) für Mehrdosenbehältnisse Tests gefordert, die den alltäglichen Gebrauch des Produktes simulieren. Die daraus resultierenden Veränderungen des Produktes hinsichtlich qualitativer Parameter sind zu prüfen. Bei der Dispensierung halbfester Darreichungsformen aus Aluminiumtuben erfährt das Primärbehältnis üblicherweise eine mechanische Beanspruchung („Quetschen“). Parallel zu den Migrationsstudien mit *Nichtionische Hydrophile Creme DAB* (s. Kap. 5.2) und *Macrogolsalbe DAC* (s. Kap. 5.5.2) wurde daher die Auswirkung von wiederholtem mechanischem Stress auf das Migrationsverhalten der Restmonomere untersucht. Hierzu wurden wöchentlich anteilig Tuben den Klimaschränken ($T = 40\text{ °C}$) entnommen, kurzzeitig ‚durchgeknetet‘ und erneut eingelagert. Die Aufarbeitung der Proben erfolgte exemplarisch in Intervallen (vgl. Tab. 8.28) simultan den mechanisch nicht beanspruchten Proben.

5.6.1 Nichtionische Hydrophile Creme DAB

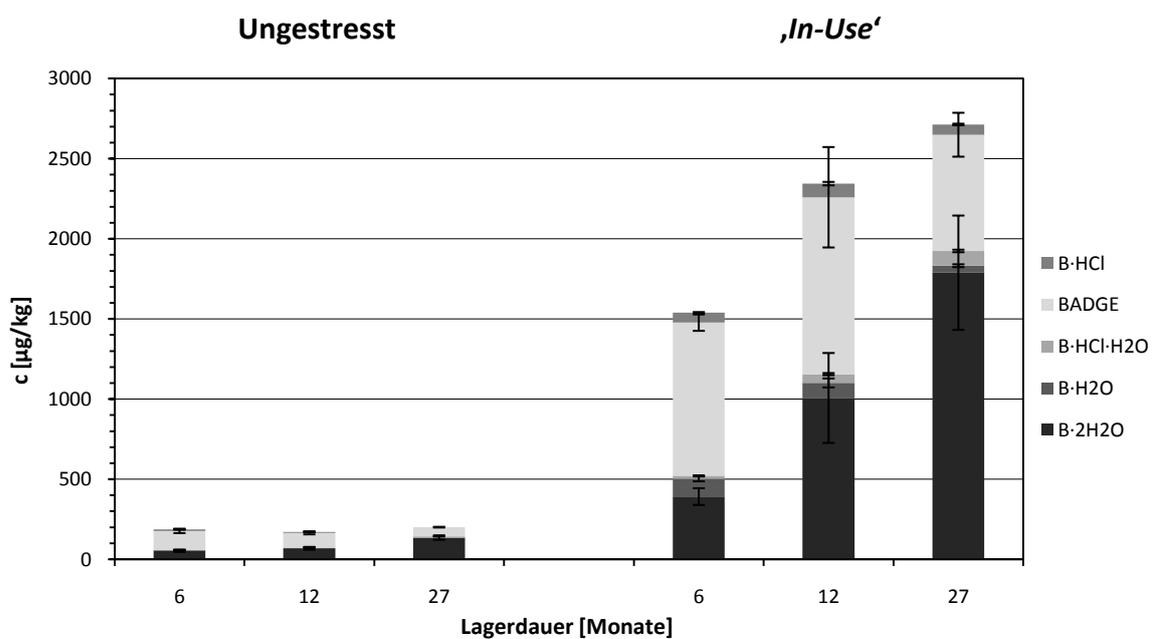


Abb. 5.24: *Nichtionische Hydrophile Creme DAB*: Leaching in ungestressten Tuben vs. ‚In-Use‘-Tuben unter *accelerated conditions*; BPA nicht dargestellt; vgl. Tab. 8.39

In der in den ‚In-Use‘-Tuben gelagerten *Nichtionische Hydrophile Creme DAB* konnten sämtliche Analyten in signifikant höheren Konzentrationen bestimmt werden. Der Gesamtumfang des *Leachings* erfuhr durch die mechanische Beanspruchung eine Verstärkung um Faktor acht bis zwölf (s. Abb. 5.24).

5.6.2 Macrogosalbe DAC – Tubentyp A#2

Bei Befüllung der Tuben mit *Macrogosalbe DAC* wies ein Vergleich der Konzentrationsprofile von ungestressten Tuben und Tuben ‚In-Use‘ weder bezüglich der Gesamtmigration noch bezüglich der Profile der Einzelanalyten signifikante Unterschiede auf (s. Abb. 5.25).

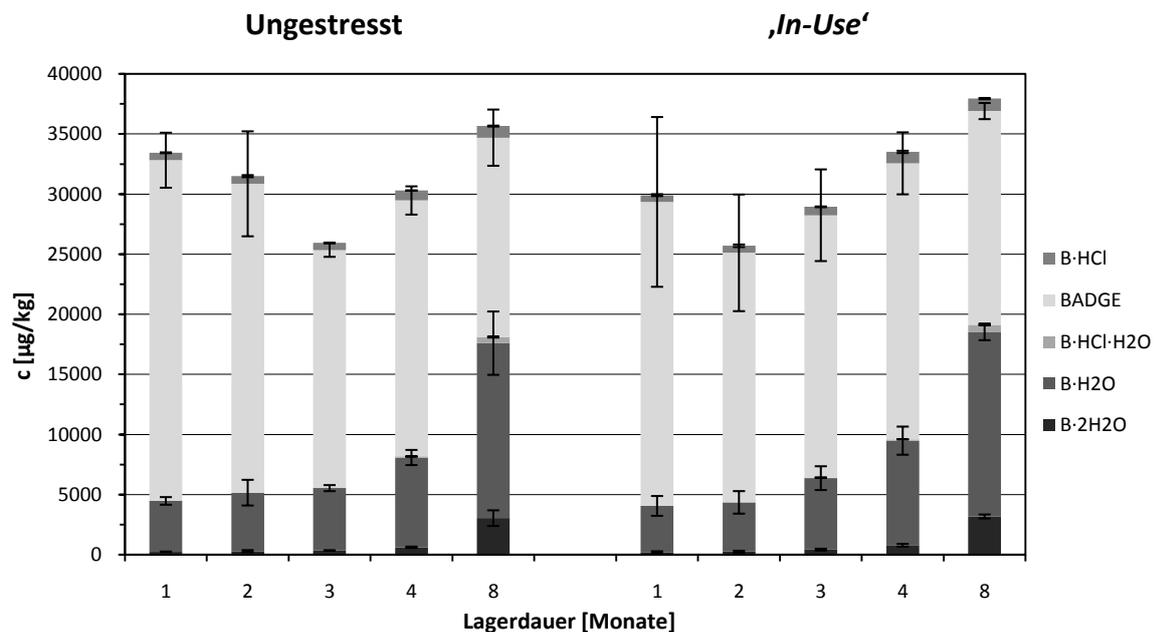


Abb. 5.25: *Macrogosalbe DAC*: *Leaching* in ungestressten Tuben vs. ‚In-Use‘-Tuben ($T = 40\text{ °C}$); BPA nicht dargestellt; vgl. Tab. 8.51

5.6.3 Macrogosalbe DAC – Tubentyp M

In einem parallelen Versuchsansatz wurde *Macrogosalbe DAC* in Tuben vom Typ M abgefüllt und bei *accelerated conditions* eingelagert (vgl. Kap. 8.6.2). Aufgrund mangelnder Dichtheit infolge fehlender Latexgummierung musste ein Großteil der Proben verworfen werden, sodass lediglich zu zwei Messpunkten Proben aufgearbeitet werden konnten (vgl. Tab. 8.28).

Zu beiden Probenahmezeitpunkten wurde ausschließlich BPA in quantifizierbaren Mengen erfasst (s. Tab. 8.52). Zusätzlich wurden zeitweise Spuren von $\text{BADGE}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{BADGE}\cdot \text{H}_2\text{O}$ und BADGE nachgewiesen. Bei einem Vergleich der ungestressten Tuben mit den Tuben ‚In-Use‘ fielen die Konzentrationsniveaus letzterer, sofern aus den wenigen Daten ersichtlich, ungefähr doppelt so hoch aus (s. Tab. 5.19). Im Gegensatz zu den vorherigen Versuchen lagen die *Leachables* – bezogen auf die *Extractables* – im Bereich $\approx 40\%$.

Tab. 5.19: *Macrogolsalbe DAC* in Tubentyp M: Ergebnis der Migrationsstudie

	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl
	Leachables¹ (8 Wochen, 40 °C, Macrogolsalbe DAC)					
Ungestresst	< LOQ	54,2 ± 19,6	< LOQ	n.d.	< LOQ ^a	n.d.
„In-Use“	< LOQ	127 ± 8	< LOQ	n.d.	< LOQ	n.d.
	Extractables² (10 d, 40 °C, ACN)					
	50,5 ± 8,4	307 ± 20	126 ± 40	n.d.	148 ± 63	n.d.

¹ Mittelwerte mit Standardabweichung ($n = 3$) angegeben in $\mu\text{g}/\text{kg}$ Matrix; ² Mittelwerte mit Standardabweichung ($n = 5$) angegeben in $\mu\text{g}/\text{L}$; ^a Ausreißer ignoriert ($n = 2$); vgl. Tab. 8.52

6 Diskussion

6.1 Tubenakquise – Physikochemische Vorprüfungen

Die Innenbeschichtungen der akquirierten Tuben wurden mittels ATR-FTIR-Untersuchungen als Epoxidharze vom BPA-Typ identifiziert. Da weiterführende Informationen über die Zusammensetzung der verwendeten Lacke nicht zur Verfügung standen sowie in Ermangelung geeigneter Referenzspektren, konnten die verwendeten Additive nicht zweifelsfrei zugeordnet werden.

Tab. 6.1: Physikochemische Vorprüfungen: Zusammenfassung

Prüfparameter	Tubentyp		
	A#1/#2	D	K
Visuelle Prüfung	marginale Unterschiede		
Polymerisationsprüfung (DIN 15766)	entspricht	entspricht	entspricht
Porositätsmessung			
- DIN 15384	entspricht	entspricht	entspricht
- forcierte Bedingungen	Korrosion	--- ^a	--- ^a
Schichtdickenverteilung	tendenziell inhomogen	homogen	homogen

^a keine Korrosionsanzeichen

Sowohl in Anlehnung an DIN EN 15384 [DIN 2008a] durchgeführte Untersuchungen hinsichtlich der Porosität als auch die entsprechend DIN EN 15766 [DIN 2009e] durchgeführten Bestimmungen der Polymerisation erfüllten bei allen getesteten Innenbeschichtungen deutlich die Vorgaben der jeweiligen Norm (s. Tab. 6.1). Als einzige Indizien qualitativer Mängel bei Tubentyp A#1/#2 sind zum einen die tendenziell inhomogenere Verteilung der Lackschichtdicken und zum anderen das Ergebnis des forcierten Porositätstests anzusehen, wobei die Durchführungen letzteres nicht den DIN-Vorgaben für Tuben entsprach.

6.2 Die analytische Erfassung von BPA, BADGE und dessen Derivaten

Die analytische Methode nach PETERSEN [2003] ermöglichte die simultane Quantifizierung von BPA, BADGE sowie dessen (partial-)hydrolysierten und hydrochlorierten Derivaten. Eine obligatorische Kompensation variabler Analytverluste im Rahmen der Probenaufarbeitung erfolgte via internem Standard. Ungeachtet der Vielzahl publizierter Methoden für Lebensmittel (vgl. Kap. 1.7) erforderte die Bandbreite untersuchter Arzneimittelmatrices individuell entwickelte Probenaufarbeitungsschemata. Diese gewährleisteten – mit wenigen Ausnahmen – gute Wiederfindungsraten, akzeptable Verfahrensvariations-

koeffizienten sowie niedrige LODs / LOQs, sodass eine valide, hinreichend selektive und sensitive Quantifizierung aller untersuchten Analyten in den Matrices vorgenommen werden konnte.

Für die Bestimmung von LOD / LOQ aus der Linearität gemäß DIN 32645 [DIN 1994] sollte der Kalibrierbereich – ungeachtet bestandener Prüfung auf Homoskedastizität – das 10 – 20-fache von LOD nicht übersteigen, da andernfalls die Wichtung der höheren Konzentrationen zu einer Verfälschung, d.h. inkorrekt hohen Grenzwerten führen kann [ERMER und MILLER 2005]. Der für die Berechnung zugrunde gelegte Konzentrationsbereich überstieg den vorgegebenen Bereich im Mittel um Faktor fünf, entsprechend dem ungefähr 100-fachen der Konzentration von LOD. Ein Vergleich mit exemplarisch über das Signal/Rausch-Verhältnis berechneten Grenzwerten ergab dennoch eine weitgehende Übereinstimmung. Aufgrund des unverhältnismäßigen Aufwandes einer für jede Matrix erforderlichen, separaten Bestimmung im näheren Bereich von LOD wurden die ermittelten Grenzwerte als hinreichend für eine konservative Beurteilung der Messergebnisse angesehen. Abweichungen zwischen den im Rahmen dieser Arbeit dargestellten und bereits publizierten Werten [HAVERKAMP *et al.* 2008] ergeben sich aus der nachträglichen Zugrundelegung eines einseitigen *t*-Wertes bei der Berechnung von LOD [ERMER und MILLER 2005]. Da die Neuberechnung in einer Verbesserung der Grenzwerte resultiert, bleiben die in der Publikation dargestellten Extraktions- und Migrationsergebnisse unbenommen.

Dem Auftreten zahlreicher unbekannter *Extractables* und *Leachables* konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht nachgegangen werden, da weder geeignete Referenzsubstanzen noch die apparativen Voraussetzungen für eine Strukturaufklärung zur Verfügung standen. Des Weiteren wird eine Erfassung und Charakterisierung der Gesamtheit an *Extractables* angesichts des breiten Spektrums an Additiven und der daraus abgeleiteten nahezu unbegrenzten Kombinationsmöglichkeiten als impraktikabel angesehen.

Bei der Bewertung der Ergebnisse sowohl der Extraktions- als auch der Migrationsstudien ist zu berücksichtigen, dass die dargestellten Werte – ungeachtet der im Rahmen der Grund- und Matrixkalibrierung ermittelten, guten Verfahrenskenndaten – eine erhöhte Messunsicherheit aufweisen, die auf Peakinterferenzen (Überlappungen, Schulterbildung etc.) mit den unbekanntem *Extractables* / *Leachables* in den Realproben zurückzuführen ist. Soweit nach subjektiven Kriterien eine valide, manuelle Integration der gesuchten Analytpeaks möglich war, wurden diese Daten als Messwerte verwendet. Der resultierende Fehler wird als für die Beantwortung der Fragestellung akzeptabel angesehen.

Inwiefern die entwickelten Probenaufarbeitungsschemata auf andere halb feste Darreichungsformen transferiert werden können ist ungewiss, da für die Probenaufarbeitung

überwiegend Matrixspezifika (z.B. Inkompatibilitäten) nutzbar gemacht wurden. Eine initial geplante Marktanalyse konnte im Rahmen der Arbeit nicht realisiert werden, da das gewählte Analyseverfahren eine matrixspezifische Probenaufarbeitung erfordert hätte. Des Weiteren zeigte sich im Laufe der Arbeit insbesondere für komplexere Matrices die Notwendigkeit der *background subtraction Leachable*-freier Referenzmatrices, welche für Fertigarzneimittel nicht zur Verfügung standen.

6.3 Extraktionsstudien

6.3.1 Solvenzien

Die Extraktion mit unterschiedlichen Solvenzien ergab gravierende Unterschiede in der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung der *Extractables*. Bei Anwendung der ‚Grundregeln für die Ermittlung der Migration‘ gemäß lebensmittelrechtlichen Vorgaben [EUROPÄISCHE KOMMISSION 1997] gingen in die konventionellen FSLs (Wasser, Essigsäure 3 %, Ethanol 10 % und Olivenöl) lediglich Spuren der Restmonomere über, die in Relation zu den mittels der organischen Medien extrahierbaren Mengen um zwei bis drei Zehnerpotenzen niedriger ausfielen (s. Abb. 6.1). Die Ergebnisse decken sich weitgehend mit den Beobachtungen von SCHAEFER *et al.* [2004], die mit ACN und den FSLs an beschichtetem Weißblech Untersuchungen zur Gesamtmigration durchführten.

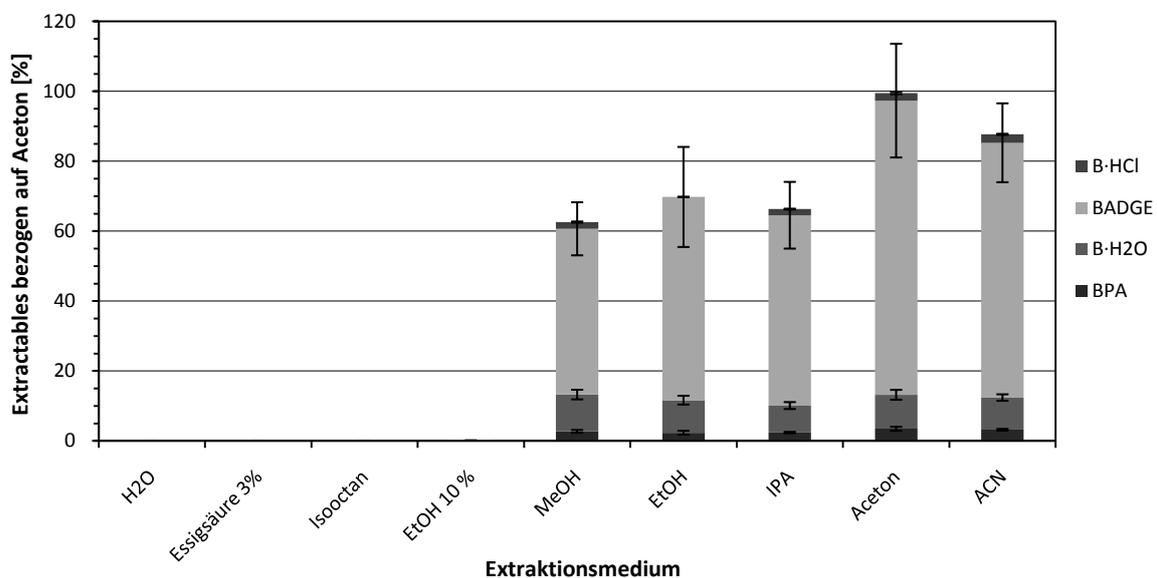


Abb. 6.1: Gegenüberstellung der *Extractables* (Extraktion mit Aceton = 100%)

Molmassenbereinigte Darstellung mit Standardabweichung ($n = 5$); BADGE·2H₂O / BADGE·HCl·H₂O nicht dargestellt, da Anteile < 0,5 % / 0,2 %

Bei der Extraktion mit Wasser wurden BADGE und dessen Derivate in Konzentrationen ungefähr vier Zehnerpotenzen unterhalb der von BILES *et al.* [1999] für Raumtemperatur angegebenen Löslichkeit von BADGE nachgewiesen. Das geringe Ausmaß des *Leachings* ist

somit vermutlich zum einen auf ein stark in Richtung der Polymerphase verschobenes Verteilungsgleichgewicht und zum anderen auf die gegenüber den organischen Solventen fehlende Penetration von Wasser in die Polymerstruktur zurückzuführen [SCHAEFER *et al.* 2004]. Aufgrund der geringen Halbwertszeit von BADGE in Wasser ($t_{1/2} = 41 - 43$ h bei $T = 40$ °C) [COTTIER *et al.* 1998, PASEIRO-LOSADA *et al.* 1993] konnten fast ausschließlich die hydrolysierten BADGE-Derivate nachgewiesen respektive knapp oberhalb von LOQ quantifiziert werden.

Die gegenüber Wasser nur marginal höheren Extractable-Mengen in Essigsäure 3 % lassen auf eine hinreichende Säureresistenz der Innenbeschichtung A#2 schließen. MUNGUÍA-LÓPEZ *et al.* [2002] stellten bei Extraktion von BPA aus Epoxidharzbeschichtungen von Dosen ebenfalls keinen ‚Säureeffekt‘ fest. BADGE und BADGE·H₂O konnten in Essigsäure 3 % nicht nachgewiesen werden, sodass die gegenüber Wasser leicht erhöhte Menge an BADGE·2H₂O mutmaßlich ein Produkt der beschleunigten, säurekatalysierten Hydrolyse der beiden epoxidgruppenhaltigen Analyten im Sauren darstellt (BADGE: $t_{1/2} = 4,2 - 8,5$ h bei $T = 40$ °C) [COTTIER *et al.* 1998, PASEIRO-LOSADA *et al.* 1993].

Bei Extraktion mit Olivenöl konnte kein einziger der betrachteten Analyten in dem Simulanzlösemittel nachgewiesen werden, obwohl in der Vergangenheit im Rahmen der Lebensmittelüberwachung erhöhte BADGE-Konzentrationen vorwiegend in fett- / ölreichen Lebensmitteln (z.B. Fischkonserven) aufgefallen waren. THEOBALD *et al.* [1999b] wiesen bei der Untersuchung verschiedener, nicht hitzesterilisierter Pflanzenöle in Dosen trotz hoher, mit ACN aus den Innenbeschichtungen extrahierbarer Mengen ebenfalls in keinem der Öle BADGE nach. In einer von SIMONEAU *et al.* [2002] bei verschiedenen Lagertemperaturen durchgeführten, mehr als einjährigen Migrationsstudie mit Sonnenblumenöl trat signifikantes *Leaching* von BADGE erst oberhalb 60 °C auf. Ferner fanden sie heraus, dass nach initialer konservenüblicher Hitzesterilisation (hier: 30 min, 115 °C) schon mit Beginn der Studie deutlich höhere Mengen an *Extractables* nachgewiesen wurden. Die Konzentration nahm bei nachfolgender Lagerung bei 60 °C nicht weiter zu, sodass von einer Einstellung des Verteilungsgleichgewichts von BADGE zwischen Epoxidharz und Öl bereits während der Hitzesterilisation auszugehen war. MUNGUÍA-LÓPEZ *et al.* [2005] wiesen für BPA ein analoges Verhalten nach. COTTIER *et al.* [1998] vermuten eine starke Temperaturabhängigkeit der Löslichkeit von BADGE in Öl als Ursache für die beschriebenen Differenzen. BRONZ *et al.* [1998] gehen sogar von einer mit ACN vergleichbaren Extraktionseffektivität des Öls während der Hitzesterilisation aus. Der ausbleibende Nachweis der Restmonomere in Olivenöl im Rahmen der durchgeführten Extraktionsstudie ist somit im Wesentlichen auf die niedrigere, für pharmazeutische Produkte jedoch repräsentative Prüftemperatur zurückzuführen.

Die Ersatzprüfung mittels Isooctan resultierte in einer den wässrigen Medien vergleichbaren Größenordnung und bestätigte somit die Ergebnisse von COTTIER *et al.* [1998]. Auch die Durchführung einer gegenüber den Vorgaben der Richtlinie 97/48/EG [EUROPÄISCHE KOMMISSION 1997] forcierten Extraktion (40 °C, 10 d statt 20 °C, 2 d) führte lediglich zu einer vernachlässigbaren Erhöhung des Extraktionsergebnisses, sodass von einer erfolgten Einstellung des Verteilungsgleichgewichts zwischen Polymer und Isooctan auszugehen ist. Auch hier spielt vermutlich die mangelnde Sorption des Solvens eine entscheidende Rolle.

Ein Vergleich der Extraktionsmedien Methanol, Ethanol und 2-Propanol ergab nur geringfügige Unterschiede hinsichtlich der Gesamtmenge an *Extractables* (s. Abb. 6.1). Erwartungsgemäß wurden tendenziell mit abnehmender Größe des Alkylrestes, respektive der Zunahme des Dipolmoments, vermehrt hydrophilere Restmonomere extrahiert. Im Rahmen der Synthese der BADGE-Alkylether konnte beobachtet werden, dass die Reaktionsgeschwindigkeit mit abnehmender Größe des Alkylrestes zunahm, respektive BADGE zu einem definierten Zeitpunkt zu einem größeren Anteil umgesetzt wurde. Insgesamt kann die Etherbildung der BADGE-Derivate als ein Erklärungsansatz für die im Vergleich zu ACN und Aceton niedrigeren *Extractable*-Level angesehen werden. Darüber hinaus wird eine weitere Ursache in den im Vergleich zu ACN und Aceton abweichenden Polaritäten der Alkohole und einer damit verbundenen Verschiebung des Verteilungsgleichgewichtes vermutet. Die dezisive Abhängigkeit der Extraktionseffektivität sowie des Verteilungsgleichgewichtes von der Polarität des Extraktionsmediums wird anhand der Gegenüberstellung der Extraktionsergebnisse mit 10 %igem, 25 %igem und reinem Alkohol evident (vgl. Kap. 4.2). JENKE *et al.* [2006] beschreiben eine lineare Abhängigkeit des logarithmierten Verteilungskoeffizienten der *Extractables* von der Füllmedienpolarität und machen sich diese für die Abschätzung der Verteilungskoeffizienten bei Polymeren zunutze.

SØEBORG *et al.* [2006] verwendeten für die Quantifizierung der *Extractables* in Innenbeschichtungen von Salbentuben eine 48-stündige Extraktion mit 2-Propanol bei 70 °C. Aufgrund der nachgewiesenen Etherbildung von BADGE mit niedermolekularen Alkoholen ist 2-Propanol als disputabel für eine quantitative Erfassung der *Extractables* anzusehen. So belegen die hohe Extraktionseffektivität und die weitgehende Inertheit von ACN und Aceton die Eignung beider Solvenzien für eine Abschätzung der extrahierbaren Mengen an BPA, BADGE und dessen Derivaten aus Tubeninnenbeschichtungen. HENRIKS-ECKERMAN und LAJOKI [1988] gehen für Aceton von einer Extraktionseffektivität > 90 % aus. ACN wurde bereits in zahlreichen Publikationen als probates Extraktionsmedium für Epoxidharzbeschichtungen verwendet (vgl. Tab. 4.1).

6.3.2 Kinetik

Die Untersuchungen zur Extraktionskinetik zeigen, dass die Verteilungsgeschwindigkeit – respektive die Dauer bis zur Einstellung des Verteilungsgleichgewichts zwischen Epoxidharz und Solvens – im Wesentlichen durch drei Faktoren beeinflusst wird: Temperatur, Beschaffenheit der Innenbeschichtung und Füllmedium.

Die Lagertemperatur geht hierbei zum einen direkt in den Diffusionskoeffizienten ein (vgl. Kap. 1.3), zum anderen ist eine indirekte Beeinflussung über eine temperaturabhängige Modifikation physikochemischer Eigenschaften sowohl des Innenschutzlackes (z.B. Aufweitung des Polymergerüsts) als auch des Füllmediums (Viskosität, Polarität etc.) möglich.

Der Zusammensetzung der Innenschuttlackierung kommt eine nicht minder wichtige Rolle zu. Bei Extraktion des Tubentyps A#2 mit ACN bei Raumtemperatur schien das Verteilungsgleichgewicht bereits zum Zeitpunkt der ersten Probenahme nach 24 Stunden eingestellt. Dies deckt sich mit den Beobachtungen von THEOBALD *et al.* [1999a], die für eine Extraktion mit ACN unter gelindem Rühren bei Raumtemperatur von einem Übergang des Großteils von BADGE binnen 20 Minuten ausgehen. Bei Tubentyp I hingegen war selbst bei der forcierten Extraktion (40 °C) mit Versuchsende nach zwölf Tagen der Übergang der *Extractables* mutmaßlich noch nicht abgeschlossen. Eine Beeinflussung der Extraktions- respektive Verteilungsgeschwindigkeit durch die ‚Dichte‘ des Polymergerüsts sowie die spezifischen Eigenschaften verwendeter Additive wurden bereits von LAMBERT *et al.* [1997 / 1998] diskutiert. Sie zeigten unter anderem, dass die spezifische Migration von BADGE und einigen Additiven von der Wahl des Quervernetzers determiniert wird und mit dem Grad der Quervernetzung reziprok korreliert.

Im Vergleich der Konzentrationsprofile der verschiedenen *Extractables* eines Tubentyps fiel unter *accelerated conditions* auf, dass bei Tubentyp D und I die relative Zunahme von BADGE·2H₂O und BADGE·HCl·H₂O über den Beobachtungszeitraum am höchsten war. Bei beiden Analyten scheint somit eine gegenüber den übrigen *Extractables* verlangsamte Diffusion innerhalb der Epoxidharzmatrix stattzufinden. Diese ist wahrscheinlich auf die höhere Molekülgröße zurückzuführen, welche reziprok in den Diffusionskoeffizienten einget. Es ist somit zu berücksichtigen, dass auch die Eigenschaften der einzelnen *Extractables* deren Extraktionskinetik beeinflussen können.

Des Weiteren wurde offensichtlich, dass die Wahl des Extraktionsmediums nicht nur das Gesamtausmaß der Migration, sondern auch die Verteilungsgeschwindigkeit beeinflussen kann. Während bei forcierter Extraktion des Tubentyps A#2 mit 2-Propanol erst nach sieben bis neun Tagen die Maximalmenge an *Extractables* nachgewiesen wurde, erfolgte die Einstellung des Verteilungsgleichgewichtes mit ACN bei Raumtemperatur bereits vor der ersten Probenahme nach 24 Stunden. Ein wichtiger Aspekt ist hierbei die

Löslichkeit des *Extractables* im jeweiligen Solvens respektive der Verteilungskoeffizient zwischen Polymer und Solvens. Darüber hinaus kann auch das Penetrationsvermögen des Füllmediums in das Epoxidharzgerüst zu einer beschleunigten Extraktion beitragen. Da im Rahmen der ATR-FTIR-Untersuchungen zwar die Sorption von 2-Propanol in das Polymer nachgewiesen wurde, dies jedoch nicht für ACN beobachtet werden konnte [HYDRO 2006], scheint im vorliegenden Fall die Löslichkeit im Füllmedium gegenüber dem Penetrationsvermögen einen größeren Einfluss auf die Extraktionskinetik auszuüben. Die beschleunigte Einstellung des Verteilungsgleichgewichtes ist als weiteres Argument für die Verwendung von ACN zur Bestimmung der *Extractables* zu sehen.

6.3.3 Extraktion differenter Tubentypen

Für den Vergleich der Tubeninnenbeschichtungen wurde eine zehntägige Extraktion mit ACN bei 40 °C zugrunde gelegt. Basierend auf den Untersuchungsergebnissen zur Extraktionskinetik gewährleisteten die gewählten Bedingungen nicht für alle Tubentypen eine quantitative, sondern lediglich eine weitgehende Einstellung des Verteilungsgleichgewichtes.

Aus allen getesteten Innenbeschichtungen von Aluminiumtuben konnten Restmonomere in quantifizierbaren Mengen extrahiert werden, wobei sich eine sehr heterogene qualitative und quantitative Zusammensetzung der einzelnen Extraktionsprofile darstellt. Die Zuordnung der quantifizierten *Extractables* wurde mittels LC-MS verifiziert. Bei BADGE·2H₂O – dem einzigen, in allen Extrakten nachweisbaren Analyten – bleibt unklar, ob es sich um originäre Mengen oder das während der Lagerung infolge Luftfeuchtigkeit entstandene Hydrolyseprodukt handelt. Die chlorierten Derivate waren insgesamt im Vergleich zu BADGE und dessen hydrolysierten Derivaten in deutlich geringerem Ausmaß in den Innenbeschichtungen vorhanden. Dies deckt sich mit den Erfahrungen aus dem Lebensmittelbereich, bei dem die chlorierten Derivate überwiegend im Zusammenhang mit PVC-Organosolen und bei Befüllung mit salz- bzw. chloridhaltigen Lebensmitteln nachgewiesen wurden (vgl. Kap. 1.7). Da weder Organosolbeschichtungen untersucht noch chloridhaltige Solvenzien verwendet wurden, ist zu vermuten, dass die detektierten Mengen chlorierter BADGE-Derivate auf Rückstände aus der BADGE-Synthese (vgl. Kap. 1.2) zurückzuführen sind.

Von insgesamt 17 untersuchten Tubentypen lag die Summe der quantifizierten *Extractables* bei sechs von sieben Anbietern – zumeist deutlich – unter 2 mg/L. Bei dem von SØEBORG *et al.* [2006] untersuchten Tubentyp (5 mL) lagen die nachgewiesenen *Extractables* prinzipiell in vergleichbarer Größenordnung. Ein direkter Vergleich der Extraktionsergebnisse ist jedoch nur bedingt möglich, da SØEBORG *et al.* zum einen abweichende Extraktionsbedingungen (48 h, 70 °C, 2 mL 2-Propanol) verwendeten und zum anderen die Bildung von Isopropyletherderivaten nicht ausgeschlossen werden kann.

Demgegenüber wiesen beide Tubentypen des Anbieters I (A#1/#2, B) *Extractable*-Mengen auf, welche mindestens ein bis zwei Zehnerpotenzen über den in den übrigen Tubentypen gemessenen Konzentrationen lagen. In bisherigen Untersuchungen aus dem Lebensmittelbereich waren hohe BADGE-Level vor allem im Zusammenhang mit Organosolen aufgefallen (vgl. Kap. 1.7). Bei Epoxidharzen lagen die BADGE-Level ob der Verwendung von präpolymerisiertem BADGE im Allgemeinen deutlich niedriger. Obgleich die lebensmittelrechtlichen Vorgaben keine Rechtsverbindlichkeit für Arzneimittel haben, übersteigen die aus Tubentyp A#1 unter alternativen Prüfbedingungen extrahierten Mengen den spezifischen Summenmigrationsgrenzwert für BADGE und seine hydrolysierten Derivate (9 mg/6 dm²) mit 11,7 mg/6 dm² [EUROPÄISCHE KOMMISSION 2005]. Insgesamt wurden aus den Tuben des Anbieters I insbesondere Monomere mit freien Epoxidgruppen (BADGE, BADGE·H₂O und BADGE·HCl) in hohen Mengen extrahiert. Die höchste extrahierbare Menge an BPA konnte bei Tubentyp E mit 0,25 mg/6 dm² gegenüber einem spezifischen Migrationsgrenzwert von 1,0 mg/6 dm² [EUROPÄISCHE KOMMISSION 2004a] festgestellt werden.

Für Tuben vom Typ A#1/#2 wurde seitens des Anbieters ein CoA des korrespondierenden Rohlackes nach lebensmittelrechtlichen Vorgaben zur Verfügung gestellt. Die im Zertifikat angegebenen Daten beziehen sich zum einen auf eine Extraktion mit Essigsäure 3 % (2 h 70 °C + 10 d 40 °C) und zum anderen auf eine 24-stündige Extraktion mit ACN bei 20 °C. Da im Rahmen der Untersuchung der Extraktionskinetik mit ACN für diesen Innenschutzlack das Erreichen des Verteilungsgleichgewichts nach 24 Stunden bei Raumtemperatur belegt wurde, konnte ein Vergleich der Ergebnisse vorgenommen werden (s. Tab. 6.2).

Tab. 6.2: Extraktionsergebnis vs. CoA-Angaben

Füllmedium	BADGE ·H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl
Essigsäure 3 %						
- CoA ¹	n.d. (< 6)	n.d. (< 6)	n.d. (< 6)	n.d. (< 6)	n.d. (< 6)	n.d. (< 6)
- Typ A#2 ²	6,3	0,8	0,1	0,4	0,2	n.d.
ACN						
- CoA ³	--- ^a	n.d. (< 12)	--- ^a	--- ^a	54	--- ^a
- Typ A#1 ²	63,1	136	1140	10,1	10500	287
- Typ A#2 ²	30,7	174	772	10,4	5640	234

Konzentrationsangaben in µg/6 dm²; ¹ (2 h 70 °C + 10 d 40 °C); ² (10 d, 40 °C); ³ (24 h, 20 °C); ^a keine Angabe

Der laut CoA ausbleibende Nachweis der *Extractables* in Essigsäure 3 % erscheint aufgrund des stark in Richtung des Polymers verschobenen Verteilungsgleichgewichtes

plausibel. Die Ergebnisse der Extraktion mit ACN hingegen weisen gravierende Unterschiede zu den im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Daten auf. So differieren die quantifizierten *Extractables* um mindestens eine Zehnerpotenz für BPA und um mehr als zwei Zehnerpotenzen für BADGE. Diese Diskrepanz deutet auf eine unvollständige Polymerisation des Innenschutzlackes während der Tubenherstellung hin. Potentielle Ursachen hierfür könnten in Prozessabweichungen während des Einbrennens (Temperatur, Dauer) [SIMAL-GÁNDARA *et al.* 1998] oder in einem falschen Harz/Härter-Verhältnis zu suchen sein. So wird unter anderem der Grad der Quervernetzung durch die genannten Faktoren beeinflusst [LAMBERT *et al.* 1997 / 1998]. Für Abweichungen im Produktionsprozess spricht ebenfalls die Chargenvariabilität des Tubentyps A (s. Tab. 6.2). Trotz der Verwendung desselben Lacktyps (laut telefonischer Auskunft des Anbieters) unterschieden sich die Mengen an *Extractables* approximativ um Faktor zwei. Im direkten Vergleich der Chromatogramme beider Chargen waren keine zusätzlichen Peaks zu erkennen. Auch die Mengenverhältnisse der *Extractables* liegen in vergleichbarer Größenordnung, sodass hydrolytische Prozesse sowie Abreaktionen der Restmonomere untereinander als Ursache weitgehend ausgeschlossen werden können.

Anhand der Gegenüberstellung der Daten des CoAs mit den Extraktionsergebnissen wird – vorbehaltlich der ordnungsgemäßen Durchführung der Prüfung seitens des Zertifikatausstellers – ein grundlegendes Problem ersichtlich: die CoAs beziehen sich üblicherweise, gemäß den dem BfArM vorliegenden Dokumentationen, explizit auf den Rohlack. Für die Erhebung der Daten werden laut Angaben des CoAs inerte Substrate (Metallplättchen) verwendet, auf die der Lack abweichend von der Tubenherstellung mittels *roller coating* aufgebracht wird. Anschließend erfolgt die Härtung des Lackes gemäß der Spezifikation des Lackherstellers. Die so gewonnenen Daten lassen somit keinerlei Rückschlüsse auf die Einhaltung der Spezifikation während einer tatsächlichen Tubenherstellung zu.

Nicht zuletzt konnten neben den quantifizierten Restmonomeren in den Chromatogrammen viele weitere *Extractables* detektiert werden. Darüber hinaus wurde zum Teil eine erhebliche Zunahme der Emission während der Spülphase des Gradienten beobachtet. In zahlreichen Publikationen [u.a. BERGER und OEHME 2000, FUCHSLUEGER *et al.* 1999, SCHAEFER und SIMAT 2004] konnten bis heute eine Vielzahl von BADGE-Oligomeren, deren hydrolysierten, hydrochlorierten und cyclisierten Derivaten sowie Reaktionsprodukten mit organischen Solvenzien, *Chain-Stoppern* und diversen weiteren Additiven identifiziert werden. Somit handelt es sich bei den nicht weiter identifizierten *Extractables* mutmaßlich um Nebenreaktionsprodukte aus dem Polymerisationsprozess. Darüber hinaus ist zu berücksichtigen, dass das gewählte Analysenverfahren ausschließlich fluoreszenzaktive Verbindungen, und diese auch nur innerhalb des definierten Messfensters, erfasst. Exemplarisch aufgenommene DAD-Spektren belegen, dass weitere, fluoreszenz-inaktive

Verbindungen aus den Innenbeschichtungen extrahiert werden können. Dieser Beobachtung wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht weiter nachgegangen.

6.4 Migrationsstudien

6.4.1 Temperatur

Erwartungsgemäß ging mit steigender Lagerungstemperatur ein akzeleriertes *Leaching* einher. Dieser Effekt ist im Wesentlichen auf die direkte Temperaturabhängigkeit des Diffusionskoeffizienten sowie die matrixspezifische Abnahme der Viskosität – welche ebenfalls in den Diffusionskoeffizienten eingeht – zurückzuführen. Die qualitative Zusammensetzung der *Leachable*-Profile beider Einlagerungstemperaturen unterschied sich, abgesehen von einer durch die differierende Hydrolysegeschwindigkeit bedingten Verschiebung, nur geringfügig.

Bei Gegenüberstellung der Migrationsprofile einer bei *intermediate* (30 °C) und *accelerated conditions* (40 °C) gelagerten Matrix schien die jeweilige Gesamtmenge der *Leachables* asymptotisch differenten Grenzwerten entgegenzustreben. Somit liegt eine temperaturabhängige Verschiebung des Verteilungsgleichgewichtes infolge einer Modifikation der physikochemischen Matrix- und/oder Polymereigenschaften nahe. Bei der Mehrzahl der Matrices lag der Temperatureffekt auf das Gesamtausmaß der Migration in einer Größenordnung von Faktor zwei bis drei. Abweichend hiervon unterschieden sich die Gesamtmengen der *Leachables* bei ethanolhaltigem Carbomergel approximativ um Faktor fünf, bei *2-Propanolhaltiges Carbomergel DAB* um Faktor acht. Infolge des bei *Macrogolsalbe DAC* in Tubentyp A#2 nahezu erschöpfenden *Leachings* fiel der ‚Temperatureffekt‘ bei dieser Matrix deutlich niedriger aus.

6.4.2 Matrix

Die durchgeführten Migrationsstudien demonstrieren den entscheidenden Einfluss der Matrixrezeptur sowohl auf die qualitative Zusammensetzung als auch auf die Quantität der *Leachables*.

Während in der lipophilen *Einfachen Augensalbe DAC* ausschließlich lipophileres BADGE bestimmt werden konnte, wurden in den hydrophilen Matrices *Wasserhaltiges Carbomergel DAB* und *Ultraschallkontaktgel NRF 13.2* vor allem die hydrophileren Derivate $\text{BADGE} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{BADGE} \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{BADGE} \cdot \text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ sowie BPA nachgewiesen. Die Gesamtmenge der *Leachables* liegt in beiden Hydrogelen um etwa drei Zehnerpotenzen unter den *Extractables* (s. Abb. 6.3). Die geringe Migration bei diesen Systemen deutet auf ein stark in Richtung des Epoxidharzes verschobenes Verteilungsgleichgewicht hin, wobei diese Hypothese durch weitergehende Untersuchungen bestätigt werden müsste.

Darüber hinaus ist anzunehmen, dass keine oder nur eine geringe Sorption von Matrixkomponenten in das Polymergerüst der Innenbeschichtung stattfindet. Das in *Einfache Augensalbe DAC* quantifizierte BADGE bewegt sich in einer den *Leachables* der hydrophilen Matrices vergleichbaren Größenordnung.

In den Rezepturen mit Anteil an niedermolekularen Alkoholen wurde signifikant höheres *Leaching* nachgewiesen, wobei die in ethanolhaltigem Carbomergel detektierten Mengen in etwa 2 % und die in *2-Propanolhaltiges Carbomergel DAB* nachgewiesenen *Leachables* knapp einem Drittel der *Extractables* entsprachen (s. Abb. 6.3). Bereits bei der ersten Probenahme nach drei Wochen schien das Verteilungsgleichgewicht bei beiden Matrices erreicht, anschließend wurden überwiegend Hydrolyseprozesse beobachtet. Somit müssen die erheblichen Unterschiede – ungefähr Faktor 15 – im Gesamt-*Leaching* beider Hydrogele (s. Abb. 6.2, links) auf differierende Verteilungskoeffizienten zurückgeführt werden. Diese spiegeln sich auch in den im Rahmen der Extraktionsstudie via 25 %igen Alkoholen extrahierten Mengen wieder (s. Abb. 6.2, rechts), die sich um circa Faktor 10 unterscheiden. Beide Vergleiche zeigen, dass bereits die Unterschiede zwischen Ethanol 25 % und 2-Propanol 25 % zu deutlich abweichenden Migrationsergebnissen führen können und somit die Ergebnisse von Migrationsstudien nur sehr eingeschränkt auf vermeintlich ähnliche Formulierungen übertragen werden können.

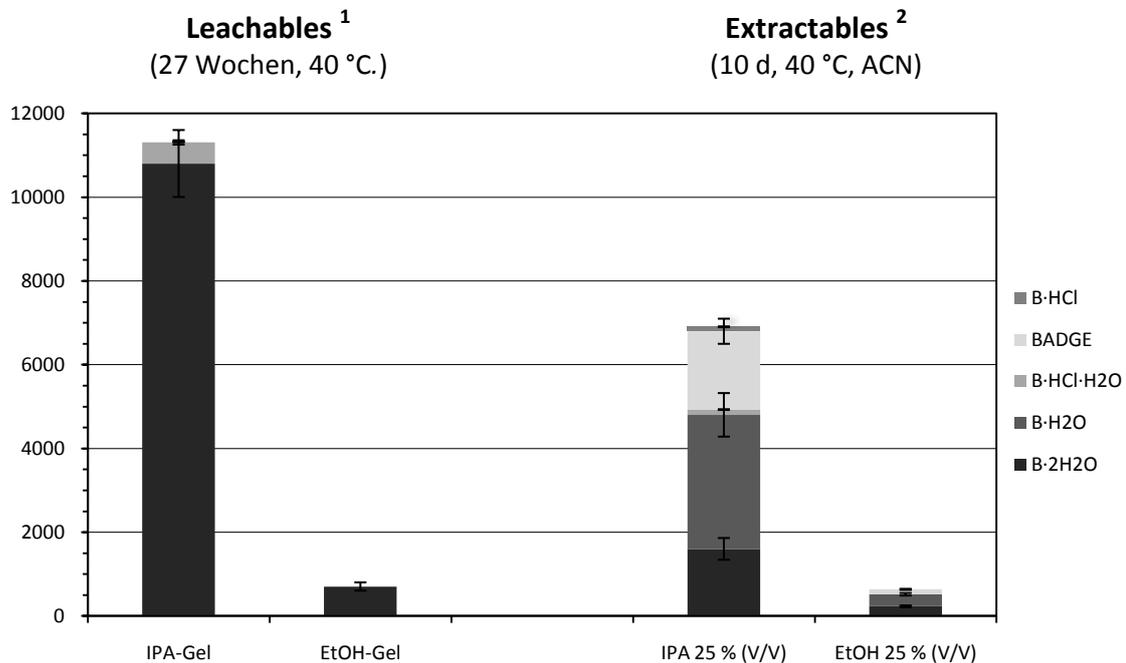


Abb. 6.2: *Leachables* in 2-Propanolhaltiges Carbomergel DAB und ethanolhaltigem Carbomergel vs. *Extractables* in IPA 25 % / EtOH 25 %

¹ Mittelwerte mit Standardabweichung ($n = 3$) angegeben in $\mu\text{g}/\text{kg}$ Matrix; ² Mittelwerte mit Standardabweichung ($n = 5$) angegeben in $\mu\text{g}/\text{L}$; BPA nicht dargestellt; BADGE-HCl-H₂O und BADGE-HCl wegen Peaküberlagerung bei ethanolhaltigem Carbomergel und EtOH 25 % nicht auswertbar

Im Vergleich der *Leachables* und *Extractables* fiel das Ergebnis der Extraktionsstudie mit 25 %igem 2-Propanol um fast 40 % niedriger aus. Dies lässt sich nicht allein über den

Dichteunterschied zwischen Lösung und Gel erklären. Im Rahmen der Untersuchungen zur Extraktionskinetik mit (nicht-wässrigem) 2-Propanol wurde das maximale Ausmaß der Extraktion erst nach ungefähr zehn Tagen erreicht (vgl. Kap. 4.1). Somit ist die Gesamtmengendifferenz bei dem hier vorliegenden, alkoholisch-wässrigen Medium vermutlich auf eine nicht abgeschlossene Einstellung des Verteilungsgleichgewichtes mit Ende der Extraktionsstudie nach zehn Tagen zurückzuführen.

Anders als die Polarität der Matrixbestandteile scheinen anteilige Variationen der Gesamtrezeptur, sofern diese keine grundlegenden Änderungen der physikalisch-chemischen Eigenschaften bedingen, nur in sehr begrenztem Umfang die Kinetik und das Ausmaß der Gesamtmigration zu beeinflussen. So wurde bei den drei Rezepturvarianten von *Nichtionische Hydrophile Creme DAB* nur eine geringfügige Modifikation des *Leachings* beobachtet.

Eine massive Verstärkung des *Leachings* zeigte sich bei PEG-haltigen Matrices. Bei Abfüllung der *Macrogolsalbe DAC* in Aluminiumtuben – gemäß expliziter Empfehlung seitens der NRF-Monographie [NRF 2007] – des Typs A#2 wurden bereits sieben Tage nach Einlagerung 63 % (*intermediate conditions*) bzw. 90 % (*accelerated conditions*) der *Extractables* in der Matrix wiedergefunden (s. Abb. 6.3). Neben einem stark in Richtung des Füllmediums verschobenen Verteilungsgleichgewicht ist möglicherweise auch die mittels ATR-FTIR nachgewiesene Sorption von PEG für das nahezu quantitative *Leaching* verantwortlich zu machen.

Auch als Partialstruktur von Rezepturbestandteilen, zum Beispiel in Polysorbat 60, beeinflussen PEG-Gruppen das Migrationsverhalten evident. Das Ausmaß scheint hierbei stark von der freien Beweglichkeit innerhalb der Matrix abzuhängen. Während bei *Einfache Augensalbe DAC + 10 % Polysorbat 60 Leachables* im Bereich bis zu 40 % der *Extractables* nachgewiesen wurden (s. Abb. 6.3), bewirkte der 10 %ige Polysorbatanteil in der modifizierten *Nichtionische Hydrophile Creme DAB* (Variante I, vgl. Kap. 5.2.1) lediglich ein *Leaching* < 0,4 % der *Extractables*. Möglicherweise lässt sich dieser Unterschied auf die Ausbildung einer aus den hydratisierten Tensiden (Polysorbat und Cetylstearylalkohol) aufgebauten Gelgerüststruktur in der Creme zurückführen [NÜRNBERG und LANGGUTH 2005]. Das weitgehend immobile, dreidimensionale Mischkristallinat mit einem Überschuss an Cetylstearylalkohol könnte zum einen dafür sorgen, dass lediglich ein sehr geringer Anteil des Polysorbats mit der Tubeninnenbeschichtung in Kontakt tritt und zum anderen Diffusionsvorgänge hemmen. Die Frage, ob grundsätzlich grenzflächenaktive Eigenschaften von Emulgatoren eine Auswirkung auf das Ausmaß der Gesamtmigration haben, kann anhand der vorliegenden Daten nicht beantwortet werden.

Die Migration von BADGE und seinen Derivaten aus einer Tubeninnenbeschichtung in eine Cremeformulierung wurde ebenfalls von SØEBORG *et al.* [2006] untersucht. Nach

Lagerung einer modifizierten Rezeptur von *Aqueous Cream BP*, die ebenfalls einen Emulgator mit PEG-Partialstruktur enthielt, konnten bei 70 °C *Leaching* von BADGE·2H₂O, BADGE·H₂O, BADGE·HCl·H₂O sowie Spuren von BADGE nachgewiesen werden. In der Studie wurde nach 120 Stunden Lagerung BADGE·2H₂O als Hauptpeak in einer Konzentration von ungefähr 160 µg/kg identifiziert. Die Konzentration liegt somit – ungeachtet der abweichenden Tuben und Lagerbedingungen – in einer ähnlichen Größenordnung wie bei *Nichtionische Hydrophile Creme DAB*, jedoch mehr als zwei Zehnerpotenzen unter den in *Macrogolsalbe DAC* nachgewiesenen Mengen. Bezogen auf die *Extractables* wiesen SØEBORG *et al.* *Leaching* von 5 – 15 % der *Extractables* nach. Dies übertrifft deutlich den im Rahmen dieser Arbeit in *Nichtionische Hydrophile Creme DAB* quantifizierten Anteil (~ 0,6 %) und ist möglicherweise auf die von SØEBORG *et al.* verwendete höhere Prüftemperatur und die daraus resultierende Veränderung der Matrixeigenschaften zurückzuführen.

SØEBORG *et al.* fanden mit Ende der Migrationsstudie in ihrer Cremematrix überwiegend die ‚vollständig‘ hydrolysierten Analyten (BADGE·2H₂O, BADGE·HCl·H₂O) wieder. Ein weitgehend analoges Bild bot sich in der vorliegenden Arbeit in Migrationsstudien mit *Nichtionische Hydrophile Creme DAB*. In den PEG-haltigen Matrices hingegen wurden erstmals hohe Mengen oxiranringhaltiger BADGE-Derivate in halbfesten Darreichungsformen nachgewiesen. Dies verdeutlicht noch einmal die Matrixabhängigkeit der in der Formulierung gefundenen Derivate von BADGE.

6.4.3 ‚In-Use‘-Bedingungen

Bei *Macrogolsalbe DAC* in Tubentyp A#2 zeigten sich hinsichtlich des Gesamtausmaßes des *Leachings* keine signifikanten Unterschiede zwischen der ‚ungestressten‘ Salbe und der Matrix ‚In-Use‘. Es wird vermutet, dass infolge der hohen Extraktionseffektivität sowie der geringen Viskosität das Verteilungsgleichgewicht zwischen Innenschutzlack und Matrix bereits nach einwöchiger Lagerung – und somit vor Beginn der ‚In-Use‘-Behandlung – eingestellt war, wobei mutmaßlich auch tiefere Lackschichten *in extenso* extrahiert wurden. Analog konnten GOODSON *et al.* [2004] nach vorheriger Hitzesterilisation und damit eingestelltem Verteilungsgleichgewicht in einem Vergleich zwischen intakten und verbeulten Konservendosen keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich des *Leachings* beobachten.

Bei Tubentyp A#2 mit *Nichtionische Hydrophile Creme DAB* wurde hingegen ein deutlicher Effekt von ‚In-Use‘-Bedingungen auf das Migrationsverhalten festgestellt respektive mehr als eine Verzehnfachung der Gesamtmigration beobachtet. Die mechanische Beanspruchung der Tuben bewirkte zwar eine geringfügige Vergrößerung der durch die Matrix benetzten Oberfläche, diese lag jedoch in Relation zu den beobachteten Effekten in ver-

nachlässigbarer Größenordnung. Ausgehend von der Hypothese, dass der Migrationsprozess bei *Nichtionische Hydrophile Creme DAB* überwiegend durch die PEG-Seitenketten des 5 %igen Polysorbatanteils determiniert wird, sind die Unterschiede zwischen ungestressten Tuben und Tuben ‚*In-Use*‘ hinsichtlich der Gesamtmigration möglicherweise über eine gehemmte Diffusion zu erklären. Während die geringe Matrixviskosität bei *Macrogolsalbe DAC* die Ausbildung eines Konzentrationsgradienten weitgehend unterbindet, liegt der Polysorbatanteil in *Nichtionische Hydrophile Creme DAB* ‚fixiert‘ innerhalb des Emulgator-Mischkristallinat-Gerüsts vor, sodass sich möglicherweise während der Lagerung eine Schicht hoher Analytkonzentration an der Grenzfläche zwischen Matrix und Innenbeschichtung (Donor) ausbildet. Der Diffusionsstrom ist gemäß dem Fick’schen Diffusionsgesetz dem Konzentrationsgradienten proportional (vgl. Kap. 1.3), sodass mit Angleichung der Konzentrationen das *Leaching* an der Grenzschicht abnimmt. Bei mechanischer Beanspruchung der Tube (‚*In-Use*‘) wird nun die Gerüststruktur vorübergehend ‚aufgebrochen‘ und eine Homogenisierung der Akzeptorphase respektive ein Konzentrationsausgleich vorgenommen. Die Konzentration der *Leachables* an der Grenzfläche würde demzufolge abnehmen und der ursprüngliche Konzentrationsgradient wäre annähernd wieder hergestellt. Ähnliche Effekte sind in der Literatur beschrieben. So konnten Limm und Hollifield [1995] für bestimmte Additive von PP und HDPE unter Rühren ein deutlich beschleunigtes *Leaching* in Wasser feststellen.

Als weitere Ursache des ‚*In-Use*‘-Effektes ist eine physikalische Beeinträchtigung der Lackstruktur infolge der mechanischen Beanspruchung denkbar. Ausgehend von der Hypothese, dass Matrixbestandteile von *Nichtionische Hydrophile Creme DAB* infolge der Fixierung im Gerüst nicht oder kaum in die Lackstruktur penetrieren und überwiegend *Leaching* innerhalb des Epoxidharzes in Richtung der Grenzfläche auftritt, würde durch die Entstehung von Beschädigungen (Risse etc.) die Kontaktfläche vergrößert und die Matrix wäre in der Lage, mit tieferen Lackschichten zu interagieren. Belege für den beschriebenen Sachverhalt konnten nicht gefunden werden.

Sofern aus den wenigen Daten ersichtlich, ergab sich bei Tubentyp M mit *Macrogolsalbe DAC* ein abweichendes Bild. Zu beiden Probenahmezeitpunkten nach vier und acht Wochen war das *Leaching* vermutlich nicht abgeschlossen. Dies weist auf eine deutlich verlangsamte Sorption von PEG hin. Durch die Anwendung von ‚*In-Use*‘-Bedingungen verstärkte sich die Migration von BPA approximativ um Faktor zwei.

Auch wenn die Ursachen für die beobachteten ‚*In-Use*‘-Effekte nicht abschließend geklärt werden konnten belegen die Versuche, dass – sofern die Einstellung des Verteilungsgleichgewichts nicht bereits erfolgt ist – durch eine mechanische Beanspruchung, wie sie üblicherweise im Rahmen der Dispensierung von halbfesten Darreichungsformen

erfolgt, unter bestimmten Umständen *Leaching* in das Arzneimittel beschleunigt werden kann.

6.5 Beurteilung und Konsequenzen

Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Extraktionsstudien belegen, dass Aluminiumtuben mit stark unterschiedlichen Restgehalten an BPA, BADGE und dessen Derivaten als pharmazeutische Primärpackmittel auf dem Markt sind. In Migrationsstudien mit etablierten pharmazeutischen Matrices konnte gezeigt werden, dass unter zulassungsüblichen Prüfbedingungen ein nahezu vollständiges *Leaching* dieser Restmonomere in die Darreichungsformen stattfinden kann (s. Abb. 6.3). Ergo sind Aluminiumtuben minderer Qualität respektive mit hohem Restmonomergehalt in den Tubeninnenbeschichtungen prinzipiell in der Lage, die Qualität eines darin befindlichen Arzneimittels zu beeinträchtigen. Allergische Reaktionen nach Applikation mit Restmonomeren kontaminierter Dermatika sind prinzipiell vorstellbar; allerdings muss dies erst noch untersucht werden.

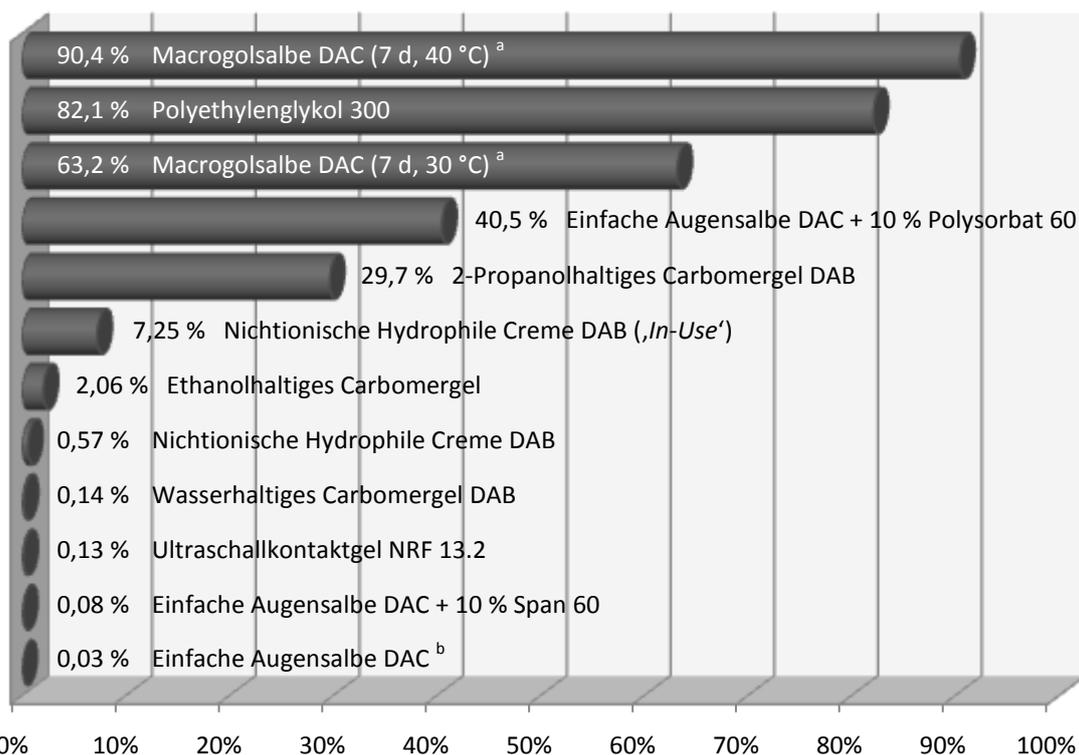


Abb. 6.3: Anteiliges *Leaching* (6 Monate, 40 °C) bezogen auf *Extractables* (ACN, 10 d, 40 °C) mit Tubentyp A#2
Molmassenbereinigte Darstellung; ^a Abweichende Lagerungsbedingungen /-dauer; ^b *Extractables* und *Leachables* bei Verwendung von Tubentyp A#1

Die vorab durchgeführten physikochemischen Prüfungen gaben kaum Anhaltspunkte für die in den Extraktions- und Migrationsstudien nachgewiesenen, qualitativen Mängel. In den Anmerkungen der DIN EN 15384 [DIN 2008a] wird darauf hingewiesen, dass die Bestimmung der Porosität niemals als alleiniges Kennzeichen zur Qualitätsbestimmung

dienen darf, sondern immer im Zusammenhang mit weiteren Kenndaten sowie Ergebnissen ‚erweiterter Stabilitätsstudien‘ zu evaluieren ist. Weder Schichtdickenbestimmung noch Polymerisationsbestimmung ermöglichten eine valide Differenzierung der Tuben. Auch sind unter ‚erweiterten Stabilitätsstudien‘ im Sinne der Norm eher physikalische Parameter (Verformbarkeit, Haftfestigkeit des Lackes) zu verstehen und weniger Kompatibilitätsstudien im pharmazeutischen Sinne gemäß Richtlinie 2001/83/EG [EUROPÄISCHES PARLAMENT UND RAT 2001]. Die generelle Eignung des ‚Prüfverfahrens zur Bestimmung der Polymerisation der Innenbeschichtung mit Aceton‘ gemäß DIN EN 15766 [DIN 2009e] kann nicht beurteilt werden, da zur Verifizierung keine Innenbeschichtungen mit bekannt unzureichender Polymerisation zur Verfügung standen. Es gilt jedoch zu beachten, dass eine ausbleibende Oberflächenveränderung nicht im Umkehrschluss als Beweis einer hinreichenden Polymerisation interpretiert werden sollte.

Somit müssen die in der Praxis gängigen und üblicherweise in CoAs gelisteten physikalisch-chemischen Prüfparameter als allein nicht ausreichend für eine Qualitätsbeurteilung von Aluminiumtuben halbfester, pharmazeutischer Darreichungsformen angesehen werden.

Die ‚Migrationsprüfung‘ der Tuben vom Typ A#2 mit den Standardsimulanzien nach Lebensmittelrecht bestätigte deren prinzipielle Eignung als Lebensmittelverpackung, da die in den üblichen FSLs nachgewiesenen Restmonomermengen die spezifischen Migrationsgrenzwerte um fast zwei Zehnerpotenzen unterschritten. Das Ergebnis kann jedoch nur eingeschränkt auf das *Leaching* von BPA, BADGE und dessen Derivaten in halbfeste Darreichungsformen übertragen werden. Während für rein wässrige / lipophile Matrices noch mäßig realistische Vorhersagen getroffen werden konnten, wurden die potentiellen *Leachables* in Bezug auf Matrices mit erhöhtem Extraktionspotential (z.B. alkohol- oder PEG-haltige Matrices) gravierend unterschätzt. Lediglich bei Anwendung der in Richtlinie 97/48/EG [EUROPÄISCHE KOMMISSION 1997] beschriebenen, fakultativen Ersatzprüfung mit Ethanol konnte eine näherungsweise Bestimmung der *Extractables* erzielt werden, wobei die Verwendung des Alkohols infolge der beschriebenen Abreaktion mit den oxiranringhaltigen Analyten abzulehnen ist. Ergo sind in Bezug auf BPA, BADGE und dessen Derivate die Migrationsprüfungen mit den gängigen FSLs nach Lebensmittelrecht für die Simulation halbfester Darreichungsformen nur sehr bedingt und für die Abschätzung der *Extractables* als ungeeignet anzusehen.

In den letzten Jahren wurden vermehrt mathematische Modelle zur Abschätzung des *Leachings* aus Polymeren publiziert. Voraussetzung für deren Anwendbarkeit ist die Kenntnis der Ausgangsmenge an Restmonomeren sowie diverser physikochemischer Kenndaten des Donorpolymers und des Akzeptormediums. Die Komplexität von Epoxidharzrezepturen und pharmazeutischen Formulierungen sowie potentielle Veränderungen

der Materialeigenschaften infolge Sorptionsprozessen limitieren die Anwendbarkeit und Aussagekraft der rechnerischen Modelle.

Auch nach ausführlicher Untersuchung und Beurteilung durch das AFC [2004 / 2006] wird das toxikologische Potential von BADGE und BPA noch immer kontrovers diskutiert (vgl. Kap. 1.4 und 1.5). CLIMIE *et al.* [1981] konnten in Tierversuchen demonstrieren, dass nach dermalen Applikation lediglich 23 % BADGE resorbiert werden, wobei SØEBORG *et al.* [2006] vorhersagen, dass BADGE mit einem $\log K_p$ -Wert von -3,10 am besten von allen Derivaten permeiert. Im Laufe des Resorptionsvorganges findet eine metabolische Hydrolyse der Epoxidgruppen statt [BOOGARD *et al.* 2000]. KADDAR *et al.* [2008] zeigten *in vitro*, dass Schweinehaut nach zehnstündiger Exposition lediglich 11 % des applizierten BPAs enthielt, wobei ein Großteil an der Hautoberfläche akkumulierte. Trotz der offenkundig guten dermalen Barrierefunktion gegenüber BPA und BADGE gilt es zu bedenken, dass Dermatika häufig auf pathologisch geschwächter und/oder verletzter Haut sowie auf offenen Wunden appliziert werden (z.B. Jodsalben auf Macrogolbasis), sodass in diesen Fällen von einer reduzierten Barrierefunktion ausgegangen wird [SØEBORG *et al.* 2007]. Auch Bestandteile der Matrixrezeptur, zum Beispiel Alkohole, können die Funktionalität der Hautbarriere – wie häufig auch pharmazeutisch-technologisch zunutze gemacht – herabsetzen (*penetration enhancer*). So beobachteten KANERVA *et al.* [2002] nach BADGE-Applikation beim ‚Nachwischen‘ mit einer alkoholischen Lösung eine deutliche Intensivierung der Utricariasyptomatik.

Um die Qualität und Unbedenklichkeit von halbfesten Darreichungsformen zu gewährleisten, sind Interaktionen zwischen Innenbeschichtung und Formulierung stets zu berücksichtigen. Unabhängig von der Aussagekraft von Tests mit Simulanzlösemitteln gilt es zu beachten, dass die üblichen CoAs zwar die prinzipielle Eignung eines Innenschuttlackes bei bestimmungsgemäßer Applikation belegen, Rückschlüsse hinsichtlich der Qualität der Innenschutzbeschichtung respektive des Restmonomergehaltes beim fertigen Packmittel indes nicht gezogen werden können. Ebenso wenig können Ergebnisse von bestehenden Interaktionsstudien vorbehaltlos auf neue Matrices alternativer Zusammensetzung übertragen werden, da einzelne Rezepturbestandteile oder sogar deren Partialstrukturen das Ausmaß des *Leachings* mitunter massiv beeinflussen. Als geeignetes Mittel der Qualitätskontrolle wird ein stichprobenartiges Monitoring der *Extractables* aus Innenbeschichtungen sämtlicher Aluminiumtubenchargen mit geeigneten Extraktionsmedien und –bedingungen gemäß *Guideline on plastic immediate packaging materials* [EMA 2005] empfohlen, zumal eine Quantifizierung der *Extractables* mit relativ geringem Aufwand realisiert werden kann. Bei Nachweis relevanter *Extractable*-Mengen sind darüber hinaus Interaktionsstudien mit dem fertigen Arzneimittel unverzichtbar. Aufgrund des

breiten Spektrums halbfester pharmazeutischer Formulierungen erscheint in diesem Zusammenhang die Erstellung allgemeingültiger Methoden zur Bestimmung der *Leachables* in den jeweiligen Matrices als impraktikabel.

Nach derzeitigem wissenschaftlichen Stand werden die Restmonomergehalte an BPA, BADGE sowie dessen Derivaten als Surrogatparameter für die qualitative Beurteilung einer Innenbeschichtung auf BPA-Basis verwendet, da das Risikopotential von Epoxidharzbestandteilen als reziprok proportional dem Polymerisationsgrad angesehen wird. Es gilt jedoch zu bedenken, dass diese Restmonomere nur einen Bruchteil (3 – 20 %) der tatsächlichen *Extractables / Leachables* repräsentieren [BRONZ *et al.* 1998, BIEDERMANN *et al.* 1998, BERGER und OEHME 2000, SCHÄFER und SIMAT 2004, GROB *et al.* 2006]. Der überwiegende Anteil der migrierenden Bestandteile setzt sich aus Oligomeren, Reaktionsprodukten mit Additiven und Verunreinigungen zusammen, von denen bis heute nur wenige identifiziert, geschweige denn toxikologisch bewertet wurden. Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit mit BPA und BADGE kann eine toxikologische und allergene Relevanz zumindest nicht ausgeschlossen werden. In diesem Zusammenhang sind darüber hinaus potentielle Reaktionsprodukte mit Matrixbestandteilen zu berücksichtigen [u.a. RICHARD *et al.* 1999, PETERSEN *et al.* 2008].

Nicht zuletzt sollte es im Ansinnen der Tubenhersteller und -anbieter liegen, qualitativ hochwertige Packmittel zu produzieren. Über die Verwendung von präpolymerisierten Epoxidharzen hoher Reinheit, respektive mit geringem Restmonomergehalt, ist es möglich, Tuben mit sehr geringen *Extractable*-Mengen herzustellen [SIMAL-GÁNDARA *et al.* 1998, THEOBALD *et al.* 2002]. Da jedoch 95 % der Epoxidharze für andere Anwendungen produziert werden, scheint der Reinheit der Ausgangsmaterialien bei der Lackherstellung zuweilen eine untergeordnete Rolle zu zukommen [ANKLAM und BATTAGLIA 1999]. Positiv zu bewerten ist, dass lediglich zwei Tubentypen eines einzelnen von sieben getesteten Anbietern erhöhte Konzentrationen an *Extractables* aufwiesen; auffällig war bei diesen Tubentypen die mögliche Polyurethanbeimischung. In Ermangelung alternativer Tubentypen mit vergleichbaren Absorptionsbanden konnte indes keine Aussage über potentielle kausale Zusammenhänge getroffen werden.

Alles in allem scheint es sich angesichts der vielen Tuben mit geringen Mengen an *Extractables* um eine weitgehend vermeidbare Problematik zu handeln. Es wäre zu begrüßen, wenn künftig im Rahmen der Tubenherstellung neben den ökonomischen Aspekten auch der Verbrauchersicherheit ein hoher Stellenwert eingeräumt und der Gehalt an *Extractables* routinemäßig überprüft würde.

7 Zusammenfassung

Aluminiumtuben stellen ein weit verbreitetes Primärpackmittel halbfester, pharmazeutischer Darreichungsformen dar. Um einen direkten Kontakt zwischen Metall und Arzneimittel zu verhindern, sind die Tuben üblicherweise mit einem polymeren Innenschutzlack auf Basis eines Epoxidharzes vom BPA-Typ beschichtet. BPA, BADGE und dessen Derivate, als Restmonomere aus dem Herstellungsprozess bekannt, sind in der Lage, als potentielle *Leachables* aus der Beschichtung in das Füllgut überzugehen.

Ziel der Untersuchungen war es zu bestimmen, in welchem Ausmaß die genannten Restmonomere aus den Innenbeschichtungen handelsüblicher Aluminiumtuben für den pharmazeutischen Gebrauch extrahiert werden können. In Migrationsstudien mit unterschiedlichen pharmazeutischen Formulierungen sollten Art und Umfang des *Leachings* in Abhängigkeit von der Matrixzusammensetzung geprüft und gegebenenfalls migrationsbeeinflussende Faktoren evaluiert werden. Anhand der gewonnenen Daten sollte die Eignung und Aussagekraft von gängigen Analysezertifikaten für die qualitative Beurteilung von Aluminiumtuben hinsichtlich *Extractables* und *Leachables* untersucht werden.

In einer vergleichenden Extraktionsstudie mit Acetonitril an 17 Tubentypen sieben verschiedener Anbieter konnten aus allen Innenbeschichtungen Restmonomere extrahiert werden, wobei sich deutliche Unterschiede hinsichtlich der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung der *Extractables* ergaben. Insbesondere bei Tuben eines Anbieters überstiegen die *Extractables* die Restmonomergehalte der übrigen Anbieter um mindestens ein bis zwei Zehnerpotenzen, wobei überwiegend reaktivere Derivate mit freien Epoxidgruppen nachgewiesen wurden. Bei der Durchführung von Migrationsprüfungen mit Standardsimulanzlösemitteln gemäß lebensmittelrechtlichen Vorgaben wurde bei selbigen Tuben lediglich ein Bruchteil der in der Innenbeschichtung enthaltenen Restmonomere erfasst.

In Migrationsstudien mit etablierten pharmazeutischen Matrices konnte unter zulassungsüblichen Prüfbedingungen bei allen Formulierungen *Leaching* nachgewiesen werden, wobei Art und Umfang – neben der Lagerdauer und -temperatur – entscheidend durch die Matrixzusammensetzung beeinflusst wurden. Der Polarität der Matrix sowie insbesondere dem Vorhandensein von PEG-Partialstrukturen kam eine große Bedeutung zu. Es konnte für PEG-haltige Matrices gezeigt werden, dass bei zulassungsüblichen Lagerungsbedingungen ein weitgehend quantitatives *Leaching* von BPA, BADGE und dessen Derivaten stattfinden kann. Migrationsstudien mit Standardsimulanzlösemitteln gemäß Lebensmittelrecht sind daher für die Abschätzung des Migrationsausmaßes in halbfeste, pharmazeutische Formulierungen ungeeignet. Als weiterer, das *Leaching*

fördernder Faktor wurden darüber hinaus ‚*In-Use*‘-Bedingungen in Form einer mechanischen Beanspruchung des Packmittels identifiziert.

Des Weiteren musste festgestellt werden, dass hinsichtlich *Extractables* und *Leachables* für Aluminiumtuben nur selten aussagekräftige Unterlagen zur Verfügung stehen. Es konnte gezeigt werden, dass physikochemische Tests nur bedingt Rückschlüsse auf die Qualität von Epoxidharzbeschichtungen zulassen. Analysenzertifikate, die zum Nachweis der Qualität der Innenbeschichtung nach lebensmittelrechtlichen Vorgaben erstellt worden waren und sich zum Teil auf Rohlacke bezogen, erwiesen sich als ungeeignet für eine Qualitätsbeurteilung der Salbentubeninnenbeschichtung hinsichtlich Restmonomergehalt.

Zur Gewährleistung von Qualität und Unbedenklichkeit halbfester Formulierungen sind Interaktionen zwischen den Beschichtungen und den Arzneiformen stets zu berücksichtigen. Für die Beurteilung der Qualität des Primärpackmittels wird eine Extraktion der beschichteten Aluminiumtuben unter Verwendung geeigneter Prüfmedien und -bedingungen als notwendig angesehen. Bei Nachweis relevanter Restmonomergehalte sind individuelle Migrationsuntersuchungen mit der tatsächlichen Formulierung erforderlich.

8 Experimenteller Teil

8.1 Materialien, Geräte und Methoden

8.1.1 Geräte

8.1.1.1 HPLC-FLD

Sofern nicht anders angegeben, Komponenten von *Dionex* (Germering, Deutschland).

Quaternäre Pumpe	<i>P 680A LPG-4</i>
Autosampler	<i>ASI-100 T</i> , 250 µl Injektionsschleife, Kühlung (4 °C / RT)
Säulenofen	<i>STH 585</i> (<i>Gynkotec</i> , Germering, Deutschland)
Vorsäule	<i>Multospher 100 RP18 - 5µ</i> , 10 x 4 mm (<i>CS-Chromatographie</i> , Langerwehe, Deutschland)
Säule	<i>Multospher 100 RP18 - 5µ</i> , 250 x 4 mm (<i>CS-Chromatographie</i> , Langerwehe, Deutschland) oder <i>Jupiter 5µ C18 300 Å</i> 150 x 4,60 mm (<i>Phenomenex</i> , Aschaffenburg, Deutschland)
Fluoreszenzdetektor	<i>RF2000</i>
Auswertesystem	<i>Chromeleon 6.40 SP8 Build 800</i>

8.1.1.2 Semi-präparative HPLC-DAD

Sofern nicht anders angegeben, Komponenten von *Gynkotec* (Germering, Deutschland).

Binäre Pumpenkombination	<i>M 480, M 300 CS</i>
Autosampler	<i>Gina 50</i> , 1000 µL Injektionsschleife
Säulenofen	<i>STH 585</i>
Säule	<i>Jupiter 5µ C18 300 Å</i> 250 x 10,00 mm (<i>Phenomenex</i> , Aschaffenburg, Deutschland)
Diodenarraydetektor	<i>UVD 340S</i> (<i>Dionex</i> , Germering, Deutschland)
Auswertesystem	<i>Chromeleon 4.32 Build 392</i> (<i>Dionex</i> , Germering, Deutschland)

8.1.1.3 ATR-FTIR

Komponenten von *PerkinElmer Instruments* (Waltham, MA, USA).

FTIR-Spektrometer	<i>Spectrum One</i>
ATR-Einheit	<i>Universal ATR Sampling Accessory</i>
Auswertesystem	<i>Spectrum</i> (Version 3.02.01)

8.1.1.4 HPLC-DAD-MSD

Sofern nicht anders angegeben, Komponenten von *Agilent Technologies* (Böblingen, Deutschland).

Quaternäre Pumpe	<i>G1311A</i>
Degasser	<i>G1322A</i>
Autosampller + Thermostat	<i>G1329A</i> und <i>G1313A</i>
Säulenofen	<i>G1316A</i>
Vorsäule	<i>Multospher 100</i> RP18 - 5 μ , 10 x 4 mm (<i>CS-Chromatographie</i> , Langerwehe, Deutschland)
Säule	<i>Multospher 100</i> RP18 - 5 μ , 250 x 4 mm (<i>CS-Chromatographie</i> , Langerwehe, Deutschland)
Diodenarraydetektor	<i>G1315A</i>
Massenspektrometer	<i>G1946D</i>
Auswertesystem	<i>Chemstation</i> B.03.01 SR1

8.1.1.5 Weitere Geräte

Klimaschränke	Konstant-Klimaprüfschrank <i>VC 0033</i> (<i>Vötsch Industrietechnik</i> , Balingen-Frommern, Deutschland)
Kühl-Gefrierkombination	<i>KSV 3321/05</i> (<i>Robert Bosch Haustechnik</i> , Gerlingen-Schillerhöhe, Deutschland)
Magnetrührer	<i>MR 3001K / MR 3002 S</i> + Temperaturregler <i>EKT3001</i> (<i>Heidolph instruments</i> , Schwabach, Deutschland)
Messschieber	<i>DIGI-MET 1/100</i> 150x40 mm (<i>Preisser Messtechnik</i> , Gammertingen, Deutschland)
pH-Messgerät	<i>pH-Meter 780</i> (<i>Metrohm</i> , Herisau, Schweiz)
Rotationsverdampfer	<i>Büchi 471</i> (<i>Büchi Labortechnik</i> , Flawil, Schweiz)
Salbenbad	Serien-Mehrzweckheizbad Typ <i>SMR 2</i> (<i>Harry Gestigkeit</i> , Düsseldorf, Deutschland)
Salben-Mischmaschine	<i>Unimix</i> (<i>Haagen & Rinau Mischtechnik</i> , Bremen, Deutschland)
SPE-Vakuumeinheit	<i>Baker spe-12G</i> (<i>Mallinckrodt Baker</i> , Deventer, Niederlande)
Trockenschrank	<i>Heraeus kelvitron t</i> (<i>Heraeus instruments</i> , Hanau, Deutschland)
Tubenabfüllanlagen	<i>KDP 115</i> Kolbendosiermaschine, pneumatisch (<i>Hundt Spezialmaschinen</i> , Pfinztal, Deutschland) Tubenfüllmaschine <i>Hammonia</i> (<i>Wepa Apothekenbedarf</i> , Hillscheid, Deutschland) <i>aponorm</i> -Tubenfüller (<i>Wepa Apothekenbedarf</i> , Hillscheid, Deutschland)
Tubenausquetscher	<i>Tube-Wringer</i> (<i>Gill Mechanical Company</i> , Eugene, OR, USA)
Tubenschließzange	<i>aponorm</i> (<i>Wepa Apothekenbedarf</i> , Hillscheid, Deutschland)

Ultraschallbäder	<i>Sonorex RK 100 H, Sonorex Super (Bandelin electronic, Berlin, Deutschland)</i>
Vakuumtrockenschrank	<i>vacutherm VT 6060 M (Heraeus instruments, Hanau, Deutschland)</i>
Waagen	<i>PG603-S DeltaRange (Mettler Toledo, Gießen, Deutschland)</i> <i>AX205 DeltaRange (Mettler Toledo, Gießen, Deutschland)</i> <i>LA34000P (Sartorius, Göttingen, Deutschland)</i>
Wasserbad, temperierbar	<i>Haake Typ 111 + Haake E3 Heizgerät mit Pumpe (Thermo Electron, Karlsruhe, Deutschland)</i>

8.1.2 Chemikalien

8.1.2.1 Referenzsubstanzen

Mit Ausnahme von BPA (*Sigma-Aldrich*, Gillingham, UK) und BADHPE (*Sigma-Aldrich*, St.Louis, MO, USA) wurden alle Referenzsubstanzen von *Fluka* (Buchs, Schweiz) bezogen. Die Gehaltsangaben der Analysenzertifikate wurden als Ist-Werte übernommen. Gegenseitige Verunreinigungen der Referenzsubstanzen (u.a. BADGE·2H₂O in BADGE·H₂O) fanden bei der Herstellung der Mischstandards rechnerisch Berücksichtigung.

8.1.2.2 Solvenzien

Aceton	p.a. (<i>Merck</i> , Darmstadt, Deutschland)
Acetonitril	gradient grade (<i>Sigma-Aldrich</i> , Steinheim, Deutschland)
2-Butanon	p.a. (<i>Merck</i> , Darmstadt, Deutschland)
tert-Butylmethylether	p.a. (<i>Merck</i> , Darmstadt, Deutschland)
Ethanol	puriss. (<i>Merck</i> , Darmstadt, Deutschland)
n-Heptan	für HPLC (<i>Sigma-Aldrich</i> , Steinheim, Deutschland)
n-Hexan	für HPLC (<i>Sigma-Aldrich</i> , Steinheim, Deutschland)
Isooctan	> 99 % (<i>Fluka</i> , Buchs, Schweiz)
Methanol	für HPLC (<i>Sigma-Aldrich</i> , Steinheim, Deutschland)
Olivenöl	raffiniert (<i>Arcos Organics</i> , NJ, USA)
2-Propanol	gradient grade (<i>Merck</i> , Darmstadt, Deutschland)

Gereinigtes Wasser wurde bedarfsabhängig über eine *Milli-Q gradient*-Anlage (*Millipore*, Molsheim, Frankreich) hergestellt.

8.1.2.3 Sonstige Chemikalien

Ameisensäure	puriss. p.a. (<i>Fluka</i> , Buchs, Schweiz)
Ammoniumformiat	99,995+ % (<i>Sigma-Aldrich</i> , St.Louis, MO, USA) puriss. p.a., für MS (<i>Fluka</i> , Buchs, Schweiz)
Essigsäure	p.a. (<i>Merck</i> , Darmstadt, Deutschland)
Natriumsulfat, wasserfrei	p.a. (<i>Merck</i> , Darmstadt, Deutschland)

8.1.2.4 Rezepturbestandteile

Cetylstearylalkohol (Lanette O)	Ph.Eur. (<i>Caesar & Loretz</i> , Hilden, Deutschland)
Fettsäuresorbitanester 60 (Span 60)	<i>Sigma-Aldrich</i> (St.Louis, MO, USA)
Glycerin 85 %	Ph.Eur. (<i>Caesar & Loretz</i> , Hilden, Deutschland)
Natriumhydroxid	p.a. (<i>Merck</i> , Darmstadt, Deutschland)
Paraffin, dickflüssig	Ph.Eur. (<i>Caesar & Loretz</i> , Hilden, Deutschland)
Polyacrylsäure (Carbomer 50.000)	Ph.Eur. (<i>Caesar & Loretz</i> , Hilden, Deutschland)
Polyethylenglykol 300	Ph.Eur. (<i>Caesar & Loretz</i> , Hilden, Deutschland)
Polyethylenglykol 1500	Ph.Eur. (<i>Caesar & Loretz</i> , Hilden, Deutschland)
Polysorbat 60 (Tween 60)	Ph.Eur. (<i>Caesar & Loretz</i> , Hilden, Deutschland)
Propylenglykol	Ph.Eur. (<i>Fluka</i> , Buchs, Schweiz)
Trometamol	Ph.Eur. (<i>Caesar & Loretz</i> , Hilden, Deutschland)
Vaseline, weißes	Ph.Eur. (<i>Caesar & Loretz</i> , Hilden, Deutschland)

8.1.3 Verbrauchsmaterial

Filter	<i>Chromafil PET-45/15 MS</i> (<i>Macherey-Nagel</i> , Düren, Deutschland) <i>Durapore membrane filters 0,45µm HV</i> (<i>Millipore</i> , Irland)
SPE-Kartuschen	<i>Bakerbond SPE C18, 500 mg/3 mL</i> (<i>Mallinckrodt Baker</i> , Deventer, Niederlande)
Spritzen	<i>Injekt 2 mL, Einmalspritzen 2-teilig</i> (<i>B.Braun Melsungen</i> , Melsungen, Deutschland)

8.1.4 Eluenten

8.1.4.1 Ammoniumformiat-Puffer 5 mM, pH 3 (Eluent A)

315 ± 3 mg Ammoniumformiat wurden in 1000,0 mL H₂O gelöst und mit konzentrierter Ameisensäure auf pH 3,0 eingestellt. Nach Vakuumfiltration über einen Membranfilter wurde der Puffer vor Verwendung im Ultraschallbad entgast ($t \sim 5$ min).

8.1.4.2 MeOH/ACN-Mischung (Eluent B)

Methanol und ACN wurden im Verhältnis 2:1 (V/V) gemischt, im Ultraschallbad entgast ($t \sim 5$ min) und auf Raumtemperatur temperiert.

8.1.5 Aluminiumtuben

Bezeichnung	Anbieter ¹	Nennfüllgewicht / -volumen	Besonderheiten
A#1 / A#2	I	5 mL	Augensalbtube, Dichtungsgummierung
B	I	35 mL	Durchstechdorn
C	II	4 mL	Augensalbtube, Dichtungsgummierung
D	II	7 mL	Durchstechdorn, Dichtungsgummierung
E	II	15 mL	Durchstechdorn
F	III	7 mL	
G	IV	8 mL	
H	IV	15 mL	Durchstechdorn
I	V	7 mL	Augensalbtube, Dichtungsgummierung
J	V	15 mL	
K	VI	7 g	
L	VI	20 g	
M	VII	10 g	
N ²	III	3,5 g	Augensalbtube
O ²	III	30 g	Durchstechdorn, Dichtungsgummierung
P ²	III	50 g	Durchstechdorn, Dichtungsgummierung
Q ²	III	75 g	Dichtungsgummierung

¹ Hersteller / Zwischenhändler sind dem Autor bekannt; ² Einzel Exemplare ($n = 1$)

Aufgrund von Lieferschwierigkeiten seitens Anbieter I wurde ein Chargenwechsel bei Tubentyp A erforderlich.

8.1.6 HPLC-Methode

Die analytische Methode wurde von PETERSEN [2003] übernommen und adaptiert. BPA, BADGE und die betrachteten Derivate eluierten vor der 25. Minute, sodass der ursprüngliche Gradient (0 min: 40 % Eluent A \rightarrow 30 min: 25 % Eluent A) um fünf Minuten verkürzt werden konnte (s. Tab. 8.1). Für die Analytik polysorbathaltiger Matrices wurde ein marginal abgeflachter Gradient genutzt.

Tab. 8.1: Analytische Gradientenmethode (in Anlehnung an PETERSEN [2003])

Chromatographisches Verfahren	RP-HPLC-FLD (s. Kap. 8.1.1.1)	
Mobile Phase	Binärer Gradient	
,konventionell‘	<u>Eluent A</u> : 0,5 mM NH ₄ form, pH 3,0	
	<u>Eluent B</u> : MeOH /ACN (2:1 V/V)	
	0 min	60 % Eluent B
	25 min	72,5 % Eluent B
	26 min	95 % Eluent B
	35 min	95 % Eluent B
	36 min	60 % Eluent B
	45 min	60 % Eluent B
,polysorbathaltige Matrices‘	0 min	55 % Eluent B
	30 min	70 % Eluent B
	31 min	95 % Eluent B
	40 min	95 % Eluent B
	41 min	55 % Eluent B
	50 min	55 % Eluent B
Flussrate	0,8 mL/min	
Temperatur Säulenofen	30 °C	
FLD-Parameter	$\lambda_{EX} = 275 \text{ nm}$; $\lambda_{EM} = 305 \text{ nm}$	

8.2 Physikochemische Vorprüfungen

8.2.1 ATR-FTIR

Die Zylindermäntel aller Tubentypen (ausgenommen Typ C, N – Q) wurden abgetrennt und behutsam geglättet. Nach Fixierung der Substrate auf der ATR-Einheit mit einem Anpressdruck von $145 \pm 5 \text{ N}$ wurden an jeweils drei Punkten Spektren im Wellenzahlbereich von 650 cm^{-1} bis 4000 cm^{-1} aufgenommen (32 Scans, Auflösung: 4 cm^{-1}).

Bei allen getesteten Tubentypen variierten die Spektren unterschiedlicher Messpunkte derselben Tube ausschließlich hinsichtlich der Gesamtsignalintensität, nicht jedoch hinsichtlich der Ausprägung spezifischer Absorptionsbanden.

8.2.2 Bestimmung der Polymerisation

Gemäß dem Prüfverfahren der DIN EN 15766 [DIN 2009e] wurden bei allen Tubentypen (ausgenommen Typ C, N – Q) die abgetrennten und geglätteten Tubenmäntel mit in Aceton getränkter Watte mit einem manuellen Anpressdruck von $\geq 10 \text{ N/cm}^2$ zehnmal auf- und abgerieben. Zwecks Gewährleistung der Vergleichbarkeit im Rahmen der nachfolgenden visuellen Evaluation wurde in Aceton getränkte Watte unter analogen Bedingungen auf einer Glasfläche gerieben. Anschließend wurden die behandelten Substrate

mit unbehandelten Innenbeschichtungen selbigen Tubentyps verglichen und hinsichtlich jedweder Veränderung des Erscheinungsbildes geprüft. Parallel dazu wurden die korrespondierenden Wattebäusche auf Verfärbungen untersucht.

Bei allen getesteten Tubeninnenbeschichtungen konnten weder Verfärbungen der Watte noch Modifikation der beschichteten Oberflächen festgestellt werden.

8.2.3 Porositätsmessung / Lackporentest

In Anlehnung an DIN EN 15384 [DIN 2008a] wurden nach dem Befüllen der Tuben vom Typ A#1, A#2, D und K ($n = 3$) mit einer Elektrolytlösung aus 10 g Kupfersulfat-Pentahydrat, 5 mL Eisessig, 0,5 g Netzmittel (Norm: 0,05 g) und 985 mL Wasser eine Spannung von 4,5 V angelegt und die nach 2 Sekunden fließenden Ströme amperometrisch erfasst.

Für den anschließenden visuellen Lackporentest wurde der Elektrolyt für 45 Minuten in den Tuben belassen. Nach mehrmaligem Ausspülen mit Wasser wurden die Tuben aufgeschnitten und hinsichtlich punktueller Zementation von Kupfer geprüft. Zusätzlich wurden weitere Tuben derselben Typen einem forcierten Test unterzogen. Zu diesem Zweck wurde ein Standardelektrolyt für visuelle Porenprüfungen an lackierten Aluminiumfolien, bestehend aus 500 mL Wasser, 100 mL Salzsäure 37 %, 25 g Citronensäure und 50 g Kupfersulfat-Pentahydrat für 30 Minuten in den Tuben belassen. Die Tuben wurden nach mehrmaligem Ausspülen aufgeschnitten und visuell inspiziert.

Sowohl Porositätsmessung als auch Lackporentest wurden extern seitens der Hydro Aluminium GmbH (Bonn) durchgeführt.

8.2.4 Schichtdickenbestimmung

Die Lackschichtdicken respektive die Schichtdickenverteilung wurden interferometrisch an abgetrennten, geglätteten Tubenmänteln vom Typ A#1, A#2, D und K bestimmt ($n = 3$). Die Schichtdicken wurden aus der ‚Durchdringung‘ unter Annahme eines für Epoxidharze vom BPA-Typ repräsentativen Brechungsindex von $n_D = 1,5$ (Erfahrungswert Hydro Aluminium GmbH) berechnet. Aufgrund der bereits visuell konstatierten Heterogenität der Schichtdicken erfolgten Messungen an jeweils vier ‚Extrempunkten‘: an einer dunkleren, mittleren und helleren Lackstelle ohne sowie an einer mittleren Lackstelle mit Kratzern.

Diese Untersuchungen erfolgten ebenfalls extern seitens der Hydro Aluminium GmbH (Bonn).

Tab. 8.2: Lackschichtdickenverteilung [μm] bei Tuben vom Typ A#1, A#2, D und K [HYDRO 2006]

Tube	untersuchte Stelle	I	II	III	\emptyset
Typ A#1	dunkel	10,8	12,2	12,8	11,9
	hell	7,4	8,3	6,2	7,3
	mittel	9,5	9,8	10,5	9,9
	mittel mit Kratzern	9,8	7,8	7,7	8,4
Typ A#2	dunkel	12,3	13,4	12,9	12,9
	hell	5,4	6,9	6,0	6,1
	mittel	9,9	11,0	7,2	9,4
	mittel mit Kratzern	10,7	8,6	10,4	9,9
Typ D	dunkel	9,2	9,6	8,9	9,2
	hell	4,1	6,6	6,3	5,7
	mittel	6,9	9,9	7,8	8,2
	mittel mit Kratzern	6,6	8,4	9,9	8,3
Typ K	dunkel	6,9	5,3	6,0	6,1
	hell	5,3	5,6	5,4	5,4
	mittel	5,6	5,7	4,2	5,2
	mittel mit Kratzern	5,1	5,7	5,9	5,6

8.3 Aufreinigung des internen Standards

Für die semipräparative Aufreinigung stand laborintern eine RP-Säule vom Typ *Jupiter 5 μ C18 300Å 250 x 10.00 mm* zur Verfügung. Die Methodenentwicklung erfolgte auf der korrespondierenden analytischen Säule (s. Kap. 8.1.1.1). Zwecks Vereinfachung der Produktisolierung wurde ein pufferfreies, isokratisches MeOH/H₂O-System gewählt.

8.3.1 Methodenentwicklung im analytischen Maßstab

Die Optimierung der mobilen Phase erfolgte empirisch. Jeweils 100 μL einer methanolisch-wässrigen BADHPE-Lösung (50:50 V/V, $c \approx 2 \text{ mg/mL}$) wurden isokratisch bei sukzessiv steigendem Methanolanteil des Eluenten chromatographiert (Flussrate: 0,8 mL/min; $T = 30 \text{ }^\circ\text{C}$). Die ‚Retentionsfenster‘ von BADHPE und den abzutrennenden Verunreinigungen $I_3 - I_5$ sind in Tabelle 8.3 dargestellt. Bereits marginale Veränderungen des Eluentenverhältnisses resultierten in einer signifikanten Änderung der Auflösung zwischen BADHPE und den Verunreinigungen. Mit einem MeOH/H₂O-System im Verhältnis 60:40 (V/V) konnte ein Kompromiss zwischen hinreichender Auflösung und akzeptabler Analysendauer erzielt werden.

Tab. 8.3: Retentionsbereiche von BADHPE und dessen Verunreinigungen I₃ – I₅

MeOH/H ₂ O (V/V)	t _R (BADHPE) [min]	t _R (I ₃ – I ₅) [min]
56:44	19,6 – 26,5	34,7 – 47,1
57:43	17,7 – 23,8	30,7 – 41,0
58:42	15,7 – 21,6	26,9 – 36,3
59:41	13,9 – 19,8	23,6 – 32,0
60:40	12,5 – 18,2	20,9 – 28,6
61:39	11,2 – 17,1	18,2 – 26,2

8.3.2 Methodentransfer in semipräparativen Maßstab

Zwecks Reduktion der Anzahl erforderlicher Injektionen sollten für die Aufreinigung höhere Ausgangskonzentrationen verwendet werden. Ein Schnellversuch ergab für das BADHPE-Polymerisationsgemisch eine Löslichkeit von ~ 60 mg/mL in MeOH/H₂O (50:50 V/V). Um einer Präzipitation vor oder während der Injektion vorzubeugen, wurde für die Aufreinigung eine Lösung zu 50 mg/mL in MeOH/H₂O (50:50 V/V) verwendet. Der Methodentransfer in den semipräparativen Maßstab erfolgte unter säulenquerschnittsbezogener Adaption der Flussrate (s. Tab. 8.4). Durch Erhöhung des Injektionsvolumens auf 1000 µL sowie die höhere Ausgangskonzentration verbreiterte sich der Elutionsbereich des BADHPE-Hauptpeaks auf 16,5 bis 31,0 Minuten. Die Verunreinigungen I₃ – I₅ wurden ab der 36. Minute eluiert. Durch Implementierung eines Spülgradienten konnte die Elution der Verunreinigungen beschleunigt werden.

Tab. 8.4: Parameter der semipräparativen BADHPE-Aufreinigung

Chromatographisches Verfahren	RP-HPLC-UVD (s. Kap. 8.1.1.2)
Mobile Phase	<u>Eluent A:</u> H ₂ O <u>Eluent B:</u> MeOH 0 min: 60 % Eluent B 30 min: 60 % Eluent B 40 min: 95 % Eluent B 45 min: 95 % Eluent B 46 min: 60 % Eluent B 55 min: 60 % Eluent B
Flussrate	3,8 mL/min
Temperatur Säulenofen	30 °C
UV-Detektion	λ = 275 nm

Der BADHPE-haltige Eluent wurde im Messfenster manuell aufgefangen, die vereinten Fraktionen am Rotationsverdampfer zur Trockne eingengt ($T \approx 50 \text{ °C}$) und der Rückstand

über Nacht im Vakuumtrockenschrank nachgetrocknet ($T \approx 30 \text{ }^\circ\text{C}$). Insgesamt 25 Aliquote à 1000 μL wurden aufgereinigt. Nach abschließender Trocknung konnten 1158 mg gereinigtes BADHPE – entsprechend einer Ausbeute von 93 % – isoliert werden.

8.3.3 Stabilität von BADHPE

In Intervallen wurden Lösungen des aufgereinigten internen Standards in ACN/ H_2O (4,2 mL ad 10,0 mL, $c \approx 500 \mu\text{g/L}$) chromatographiert ($n = 2$) und hinsichtlich der relativen Peakflächenanteile geprüft (s. Tab. 8.5).

Tab. 8.5: Relativer Peakflächenanteil (%) von BADHPE und dessen Verunreinigungen ($I_1 - I_5$)

	BADHPE	I_1	I_2	I_3	I_4	I_5
$t = 0$	80,2	1,1	18,7	n.d.	n.d.	n.d.
$t = 2 \text{ a}$	80,1	1,2	18,7	n.d.	n.d.	n.d.

($t = 0$): unmittelbar nach Aufreinigung; ($t = 2 \text{ a}$): nach 2 Jahren Lagerung bei $4 \text{ }^\circ\text{C}$

Die Abweichungen liegen im Bereich der Ungenauigkeit der Messmethode.

8.4 Methodenvalidierung

Im Rahmen der Methodenvalidierung wurden sämtliche Berechnungen mit *Microsoft Excel 2007* (Redmond, WA, USA) durchgeführt.

8.4.1 Grundkalibrierung

8.4.1.1 Linearität

Für die Grundkalibrierung wurden Kalibrierstandards aller Referenzsubstanzen inklusive BADHPE (Mischstandards) in zehn äquidistanten Konzentrationen zu 50 bis 500 $\mu\text{g/L}$ in ACN/ H_2O (4,2 ad 10,0 mL) verwendet ($n = 3$).

Tab. 8.6: Verfahrenskenndaten der Grundkalibrierung: Verdünnungsreihe 50 – 500 $\mu\text{g/L}$

	BADGE $\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	BPA	BADGE $\cdot \text{H}_2\text{O}$	BADGE $\cdot \text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$	BADHPE	BADGE	BADGE $\cdot \text{HCl}$	BADGE $\cdot 2\text{HCl}$
$m \left[\frac{\text{mV} \cdot \text{min} \cdot \text{L}}{\mu\text{g}} \right]$	0,279	0,259	0,284	0,271	0,245	0,326	0,282	0,258
$b \left[\text{mV} \cdot \text{min} \right]$	-0,589	-0,458	-0,476	-0,497	0,243	-0,323	-0,286	-0,412
R^2	0,9994	0,9990	0,9993	0,9993	0,9992	0,9990	0,9990	0,9991
$s_y \left[\text{mV} \cdot \text{min} \right]$	1,06	1,22	1,06	1,04	0,998	1,55	1,21	1,19
$s_{x0} \left[\frac{\mu\text{g}}{\text{L}} \right]$	3,79	4,72	3,72	3,85	4,07	4,77	4,30	4,60
$V_{k0} \left[\% \right]$	1,36	1,72	1,41	1,44	1,48	1,74	1,68	1,58

m = Steigung, b = Achsenabschnitt, R^2 = Bestimmtheitsmaß, s_y = Reststandardabweichung, s_{x0} = Verfahrensstandardabweichung, V_{k0} = Verfahrensvariationskoeffizient

Für die Verifizierung der Linearität des Injektionsvolumens wurden 3 Kalibrierstandards ($c \approx 500 \mu\text{g/L}$) in ACN/H₂O (4,2 ad 10,0 mL) genutzt. Die Proben wurden mit zehn äquidistanten Injektionsvolumina im Bereich von 10 bis 100 μL vermessen ($n = 3$).

Tab. 8.7: Verfahrenskennndaten der Grundkalibrierung: Injektionsvolumina 10 – 100 μL

	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
$m \left[\frac{\text{mV} \cdot \text{min} \cdot \text{L}}{\mu\text{g}} \right]$	0,331	0,295	0,335	0,320	0,380	0,324	0,305
$b \text{ [mV} \cdot \text{min]}$	-0,784	-1,062	-1,112	-1,013	-1,642	-1,286	-1,464
R^2	0,9998	0,9995	0,9997	0,9997	0,9993	0,9995	0,9996
$s_y \text{ [mV} \cdot \text{min]}$	0,755	0,981	0,831	0,821	1,52	1,02	1,01
$s_{x0} \left[\frac{\mu\text{g}}{\text{L}} \right]$	2,28	3,33	2,48	2,57	4,00	3,15	3,30
$V_{k0} \text{ [%]}$	0,81	1,21	0,94	0,96	1,46	1,23	1,14

m = Steigung, b = Achsenabschnitt, R^2 = Bestimmtheitsmaß, s_y = Reststandardabweichung, s_{x0} = Verfahrensstandardabweichung, V_{k0} = Verfahrensvariationskoeffizient

8.4.1.2 Nachweis- und Bestimmungsgrenze

Für die Bestimmung von LOD und LOQ im Rahmen der Grundkalibrierung wurden Verdünnungen des Mischstandards zu 2, 4, 6 und 8 $\mu\text{g/L}$ ($n = 3$) in ACN/H₂O (4,2 ad 10,0 mL) erstellt. LOD und LOQ wurden sowohl über das Signal/Rausch-Verhältnis nach PH.EUR. [2008] bestimmt als auch gemäß DIN 32645 [DIN 1994] berechnet (s. Kap. 8.4.3.3). Die Einzelergebnisse beider Verfahren sind nachfolgend gegenübergestellt (s. Tab. 8.8).

Tab. 8.8: Nachweis- und Bestimmungsgrenzen der Grundkalibrierung [$\mu\text{g/L}$]

	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
LOD (S/N 3:1)	0,67	0,56	0,59	0,65	0,63	0,73	0,78
LOQ (S/N 10:1)	2,24	1,85	1,97	2,18	2,09	2,45	2,61
LOD (DIN 32645)	0,44	0,38	0,31	0,37	0,42	0,41	0,35
LOQ (DIN 32645)	1,51	1,32	1,08	1,28	1,46	1,40	1,23

8.4.2 Robustheit

8.4.2.1 Stabilität der Stammlösungen

Die Stabilität der Stammlösungen wurde parallel zur Herstellung der Arbeitsstandardlösungen geprüft. Hierzu wurden verdünnte Lösungen der Einzelstandards in ACN/H₂O ($c \approx 500 \mu\text{g/L}$, 4,2 ad 10,0 mL) hergestellt, chromatographiert und hinsichtlich der relativen Peakflächenverhältnisse geprüft.

8.4.2.2 Stabilität der Standards in wässriger Lösung

Verdünnte Lösungen der Einzelstandards wurden in ACN/H₂O ($c \approx 500 \mu\text{g/L}$, 4,2 ad 10,0 mL) angesetzt und parallel bei Raumtemperatur und im gekühlten Autosampler ($T = 4 \text{ }^\circ\text{C}$) eingelagert. Unmittelbar nach Herstellung, nach drei und sieben Tagen wurden die Proben chromatographiert und hinsichtlich der relativen Peakflächenverhältnisse ausgewertet.

8.4.2.3 Stabilität der Carbomergelproben

Je 5 g Wasserhaltiges Carbomergel DAB, Ultraschallkontaktgel NRF 13.2, ethanolhaltiges Carbomergel und 2-Propanolhaltiges Carbomergel DAB wurden in Jodzählkolben (50 mL) eingewogen und mit einer Mischung der Standards ($c \approx 40 \mu\text{g/kg}$) sowie dem internen Standard ($c \approx 200 \mu\text{g/kg}$) dotiert ($n = 2$). Die Proben wurden entsprechend dem optimierten Schema (s. Kap. 8.6.5.4.2) aufgearbeitet, im Autosampler ($T \approx 4 \text{ }^\circ\text{C}$) gelagert und in Intervallen gegen externe Kalibrierproben quantifiziert.

Tab. 8.9: Wasserhaltiges Carbomergel DAB: Mittlere Wiederfindungsraten [%] vs. Lagerdauer ($n = 2$)

Zeit nach Aufarb. [h]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
2,0	97,8	102,8	98,7	101,1	98,0	98,3	100,9
8,0	97,6	102,7	98,5	100,3	97,2	98,7	102,7
21,0	98,6	103,6	97,8	100,2	96,8	98,5	102,4
29,0	97,9	104,2	97,1	99,3	95,1	98,0	102,3
41,0	98,1	105,2	96,3	99,8	94,1	97,1	102,4
50,5	98,8	103,8	97,1	100,7	92,1	95,2	101,1
65,0	98,9	104,9	97,3	101,0	90,7	95,0	101,1

Tab. 8.10: Ultraschallkontaktgel NRF 13.2: Mittlere Wiederfindungsraten [%] vs. Lagerdauer ($n = 2$)

Zeit nach Aufarb. [h]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
3,5	87,9	101,0	100,2	99,6	98,9	99,7	100,9
9,5	87,8	99,9	99,8	98,5	98,4	99,0	101,8
22,5	88,2	101,5	99,9	98,9	98,4	99,5	101,5
30,5	87,8	101,6	99,6	98,6	97,1	99,1	101,8
42,5	87,8	102,3	99,0	98,5	97,0	98,8	102,1
52,0	88,5	100,3	99,7	99,7	95,6	97,7	101,1
66,5	88,7	101,5	99,6	99,7	95,4	98,0	101,0

Tab. 8.11: Ethanolhaltiges Carbomergel: Mittlere Wiederfindungsraten [%] vs. Lagerdauer ($n = 2$)

Zeit nach Aufarb. [h]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
1,0	102,4	107,2	97,5	102,5	95,7	98,7	104,2
20,5 ^a	102,3	108,4	97,7	101,8	93,6	97,2	103,4
27,5	102,3	108,0	97,2	103,3	92,6	96,5	103,5
32,5	101,5	108,7	95,6	102,7	91,8	96,9	104,3
42,0	101,9	108,8	96,4	102,8	91,1	95,9	104,1
49,5	101,4	108,4	95,8	102,2	90,1	95,6	103,4
57,0	102,9	109,0	96,3	103,4	89,8	95,4	103,9
64,5	102,6	108,1	95,2	102,8	88,3	94,0	103,0

^a Messfehler: keine Daten für ca. 10 h nach Einlagerung

Tab. 8.12: 2-Propanolhaltiges Carbomergel DAB: Mittlere Wiederfindungsraten [%] vs. Lagerdauer ($n = 2$)

Zeit nach Aufarb. [h]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
0,5	99,3	103,8	96,2	99,6	96,0	96,2	98,6
6,5	99,7	102,7	96,2	98,9	94,8	95,9	99,5
19,5	99,7	104,8	96,4	98,9	93,8	95,6	99,5
27,5	100,2	105,0	95,9	99,2	92,9	95,7	99,2
39,0	99,9	105,3	95,3	99,4	92,1	94,5	99,5
49,0	101,1	104,4	95,3	99,8	90,7	93,3	98,6
63,0	100,8	105,4	95,3	100,4	89,0	93,6	98,7

8.4.3 Matrixkalibrierung

8.4.3.1 Wiederfindung

Gemäß den Mindestanforderungen der ICH-Guideline Q2 (R1) [EMEA 1995] wurden bei allen Matrices neun Bestimmungen verteilt auf drei unterschiedliche Konzentrationen vorgenommen. Hierbei wurden die Dotierungslevel der Referenzsubstanzen sowie des internen Standards an die matrixspezifische Probenaufarbeitung adaptiert (s. Tab. 8.13).

In Vorversuchen konnte keine homogene Direktdotierung der Matrices erreicht werden, sodass die Dotierung alternativ unmittelbar nach Matrixeinwaage via in ACN gelösten Standards erfolgte. Zusätzlich zu den neun dotierten Proben wurden analog den Migrationsstudien drei undotierte Matrixproben zur rechnerischen Kompensation gegebenenfalls auftretender Interferenzen in den Chromatogrammen (*background subtraction*) mitgeführt. Alle Proben wurden gemäß den individuell entwickelten Schemata (s. Kap. 8.6.5) aufgearbeitet und in Doppelbestimmung gegen direktpipettierte Standards vermessen.

Tab. 8.13: Dotierungslevel für die Bestimmung der Wiederfindungsraten

Matrices	Dotierung [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	
	Referenzsubstanzen	ISTD
<i>Einfache Augensalbe DAC</i> <i>Einfache Augensalbe DAC + 10 % Span 60</i> <i>Nichtionische Hydrophile Creme DAB + Varianten</i> <i>Wasserhaltiges Carbomergel DAB</i> ¹	20 / 100 / 200	1000
<i>Wasserhaltiges Carbomergel DAB</i> ² <i>Ultraschallkontaktgel NRF 13.2</i> <i>Ethanolhaltiges Carbomergel</i> <i>2-Propanolhaltiges Carbomergel DAB</i>	4 / 20 / 40	200
PEG 300 <i>Einfache Augensalbe DAC + 10 % Polysorbat</i>	40 / 200 / 400	2000
<i>Macrogolsalbe DAC</i>	40 / 200 / 400	4000
Polysorbat 60	100 / 500 / 1000	10000

¹ konventionelle Methode (s. Kap. 8.6.5.4.1); ² optimierte Methode (s. Kap. 8.6.5.4.2)

8.4.3.2 Prüfung auf Varianzenhomogenität

Auf Varianzenhomogenität (Homoskedastizität) wurde mittels Test nach *Hartley* geprüft. Hierbei wurde, ausgehend von der Nullhypothese der Homoskedastizität, der Quotient aus größter und kleinster Stichprobenvarianz (\hat{F}_{max}) mit der tabellierten Prüfgröße F_{max} verglichen [SACHS und HEDDERICH 2006].

$$\hat{F}_{max} = \frac{s_{max}^2}{s_{min}^2}$$

Formel 8.1: Prüfung der Gleichheit mehrerer Varianzen nach *Hartley*

Unter der Annahme, dass die Unsicherheit des Leerwertes überwiegend durch den Messvorgang inklusive der manuellen Peakintegration determiniert wurde und weniger auf die vorherige Probenaufarbeitung zurückzuführen war, wurden bei der Berechnung von \hat{F}_{max} sowie bei der Festlegung der Prüfgröße die Einzelmessungen ($v = n_0 - 1 = 5$) der jeweiligen Kalibrierlevel ($k = 3$) einbezogen. Die Streuung aus der rechnerischen Korrektur über den internen Standard ging in die Messwerte direkt ein, sodass diese bei der Festlegung der Freiheitsgrade unberücksichtigt blieb.

Die über den internen Standard korrigierten Messwerte aus der Bestimmung der Wiederfindungsraten wurden bei sämtlichen Matrices hinsichtlich Homoskedastizität geprüft. Überschritt \hat{F}_{max} bei vorgegebener Irrtumswahrscheinlichkeit ($\alpha = 0,05$) den tabellierten Wert ($F_{max} = 10,8$), wurde die Homogenitätshypothese abgelehnt.

Tab. 8.14: Prüfgrößen des Tests auf Homoskedastizität nach *Hartley*

Matrix	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
<i>Einfache Augensalbe DAC</i>	56,8 ^a	31,5 ^a	31,4 ^a	86,1 ^a	5,4	1,1	14,4 ^a
<i>Einfache Augensalbe DAC + 10 % Polysorbat 60</i>	3,0	5,6	3,4	8,9	10,4	4,0	7,2
<i>Einfache Augensalbe DAC + 10 % Span 60</i>	5,2	7,5	4,9	9,9	6,4	11,1 ^a	24,8 ^a
<i>Wasserhaltiges Carbo- mergel DAB</i> ¹	5,5	9,8	6,9	2,9	10,4	9,6	5,8
<i>Wasserhaltiges Carbo- mergel DAB</i> ²	1,5	9,9	7,7	5,5	5,1	4,3	1,4
<i>Ultraschallkontaktgel NRF 13.2</i>	4,6	2,1	2,1	5,9	10,6	1,4	2,3
<i>2-Propanolhaltiges Carbomergel DAB</i>	8,2	8,8	7,8	6,8	10,0	9,5	4,8
<i>Ethanolhaltiges Carbomergel</i>	9,8	10,1	2,6	6,4	7,3	7,3	6,3
<i>Nichtionische Hydrophile Creme DAB</i>	4,2	3,8	1,6	6,4	5,2	6,0	6,3
<i>Nichtionische Hydrophile Creme DAB – Variante I</i>	6,1	5,0	4,8	5,1	2,8	7,3	8,3
<i>Nichtionische Hydrophile Creme DAB – Variante II</i>	7,5	3,3	2,0	7,4	2,7	9,4	1,7
<i>Nichtionische Hydrophile Creme DAB – Variante III</i>	10,5	1,1	3,4	4,8	2,0	6,9	1,4
Polysorbat 60	8,9	4,4	6,5	7,0	10,0	4,3	3,6
PEG 300	9,4	6,1	8,5	4,0	5,3	7,1	5,7
<i>Macrogolsalbe DAC</i>	10,5	7,0	4,7	4,1	9,1	7,0	4,3

¹ konventionelle Methode (s. Kap. 8.6.5.4.1); ² optimierte Methode (s. Kap. 8.6.5.4.2); ^a Überschreitung der tabellierten Prüfgröße F_{max}

Anhand der vorliegenden Stichproben ließ sich auf dem 5 %-Niveau die Nullhypothese auf Homoskedastizität mit Ausnahme einzelner Analyten bei *Einfache Augensalbe DAC* und *Einfache Augensalbe DAC + 10 % Span 60* nicht ablehnen (s. Tab. 8.14).

8.4.3.3 Berechnung von Nachweis und Bestimmungsgrenze

Die Berechnung der Nachweisgrenze (x_{LOD}) wurde mittels der in DIN 32645 [DIN 1994] angegebenen Formel 8.2 aus den Daten der Grundkalibrierung (s. Kap. 8.4.1), respektive für die Matrixkalibrierung aus den Daten der Wiederfindungsversuche (s. Kap. 8.4.3.1) durchgeführt. Für die Kalkulation der Bestimmungsgrenze (x_{LOQ}) war eine Iterationsvorschrift angegeben. Durch Substitution von x_{LOQ} im Wurzelausdruck durch $k \cdot x_{LOD}$ konnte eine hinreichende Näherung der Bestimmungsgrenzen erzielt werden. Die relative Ergebnisunsicherheit wurde zu 33,3 % ($k = 3$) definiert [ERMER und MILLER 2005].

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

$$f = n - 2 \text{ Freiheitsgrade} \quad f = n - 2 \text{ Freiheitsgrade}$$

Formel 8.2: Berechnung der Nachweis- und Bestimmungsgrenze gemäß DIN 32645 [DIN 1994]

s_{x0} = Verfahrensstandardabweichung; $t_{f;\alpha}$ = Quantil der t-Verteilung ($\alpha = 0,05$); m = Anzahl der Messungen je Probe; n = Gesamtanzahl der Kalibriermessungen; \bar{x} = Arithmetisches Mittel der Gehalte aller Kalibrierproben; Q_x = Summe der Abweichungsquadrate von \bar{x} bei der Kalibrierung; k = Kehrwert der relativen Ergebnisunsicherheit zur Charakterisierung der Bestimmungsgrenze

8.5 Extraktionsstudien

Im Rahmen der Extraktionsstudien wurden sämtliche Leertuben ausgewogen, mit den Nennvolumina der jeweiligen Solvenzien befüllt, manuell via Tubenzange verschlossen (3-fach Falz) und mit den Verschlüssen nach unten in Reagenzglasständern – bei großvolumigeren Tuben in Bechergläsern – fixiert. Mittels Differenzwägung der befüllten Tuben zum Zeitpunkt der Einlagerung und der Probenahme wurde die Dichtheit über den Lagerungszeitraum kontrolliert. Tuben mit inhaltsbezogener Abweichung < 0,3 % wurden als dicht angesehen. Bei Abweichungen im Bereich von 0,3 bis 2,0 % wurde nach erfolgter Quantifizierung und einem Vergleich der Messergebnisse mit den Parallelmessungen individuell über die Einbeziehung in die Auswertung entschieden. Tuben mit Solvensverlust > 2,0 % wurden verworfen. Nach füllmedienspezifischer Aufarbeitung erfolgte die Abfüllung in Vials zur Entfernung potentieller partikulärer Bestandteile via Einmalspritzen über 0,45 µm-Filter. Die Quantifizierung wurde unter Standardbedingungen (s. Tab. 8.1) gegen externe Kalibrierproben in Doppelbestimmung vorgenommen.

8.5.1 Extraktionskinetik

Tuben vom Typ A#2, D und I wurden mit ACN befüllt und simultan bei Raumtemperatur (Typ A#2 und I) und im Klimaschrank bei 40 °C (Typ A#2, D und I) eingelagert (s. Kap. 8.5). In Intervallen wurden jeweils drei Tuben randomisiert entnommen und wie folgt aufgearbeitet: Aliquote zu 1 mL (Typ A#2) bzw. 4 mL (Typ D und I) wurden mit ACN auf 4,2 mL ergänzt und anschließend mit Wasser auf 10 mL aufgefüllt. Aufgrund der hohen Konzen-

trationen an *Extractables* bei Tubentyp A#2 wurden diese zusätzlich zur 100 µL-Injektion mit einem adaptierten Injektionsvolumen – ebenfalls in Doppelbestimmung – vermessen (s. Tab. 8.15 bis Tab. 8.19).

Tab. 8.15: Tubentyp A#2: Extraktionskinetik mit ACN bei Raumtemperatur

Zeit [d]	BADGE·2H ₂ O	BPA	BADGE·H ₂ O	BADGE·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE·HCl
1	253 ± 6	956 ± 25	5370 ± 210	59,1 ± 4,3	43800 ± 3200	1490 ± 60
2	243 ± 19	967 ± 70	5120 ± 430	58,5 ± 4,1	40600 ± 3000	1450 ± 110
5	222 ± 6	971 ± 97	4690 ± 140	55,6 ± 3,3	36100 ± 1000	1330 ± 40
7	240 ± 18	978 ± 6	5010 ± 400	60,5 ± 2,5	39300 ± 3800	1420 ± 60
9	215 ± 3	991 ± 27	4490 ± 50	56,0 ± 1,0	33800 ± 1000	1310 ± 20
12	228 ± 4	950 ± 265	4530 ± 150	58,1 ± 12,6	37300 ± 5700	1450 ± 120
14	229 ± 26	1100 ± 90	4570 ± 650	67,9 ± 3,5	34500 ± 7300	1540 ± 130

Mittlere Konzentrationen mit Standardabweichung in µg/L ($n = 3$); BADGE·2HCl nicht nachweisbar

Tab. 8.16: Tubentyp A#2: Extraktionskinetik mit ACN bei 40 °C

Zeit [d]	BADGE·2H ₂ O	BPA	BADGE·H ₂ O	BADGE·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE·HCl
1	212 ± 10	814 ± 163	4220 ± 230	47,7 ± 9,9	34900 ± 4500	1120 ± 60
2	219 ± 52	675 ± 235	4450 ± 1060	42,1 ± 11,5	37800 ± 8500	1150 ± 310
5	194 ± 13	565 ± 17	3980 ± 230	38,2 ± 1,7	34600 ± 3500	986 ± 28
7	245 ± 38	797 ± 206	4790 ± 700	48,2 ± 10,7	40100 ± 8600	1220 ± 150
9	235 ± 10	623 ± 27	4620 ± 150	39,4 ± 1,8	40700 ± 1500	1080 ± 20
12	249 ± 46	677 ± 132	4890 ± 920	39,8 ± 6,7	41900 ± 8000	1140 ± 180
14	233 ± 37	677 ± 109	4620 ± 710	39,4 ± 3,3	39400 ± 6900	1120 ± 150

Mittlere Konzentrationen mit Standardabweichung in µg/L ($n = 3$); BADGE·2HCl nicht nachweisbar

Tab. 8.17: Tubentyp I: Extraktionskinetik mit ACN bei Raumtemperatur

Zeit [d]	BADGE·2H ₂ O	BPA	BADGE·H ₂ O	BADGE·HCl·H ₂ O
1	89,8 ± 7,0	314 ± 21	17,6 ± 2,2	11,3 ± 0,8
2	89,5 ± 2,3	298 ± 6	18,6 ± 3,5	11,2 ± 0,4
5	117 ± 26	297 ± 83	31,6 ± 12,2	13,5 ± 1,7
7	92,2 ± 9,1	352 ± 38	18,5 ± 2,2	11,4 ± 1,3
9	89,9 ± 3,5	371 ± 46	17,0 ± 1,5	11,2 ± 0,3
12	92,7 ± 6,5	330 ± 18	19,7 ± 1,2	11,1 ± 0,8

Mittlere Konzentrationen mit Standardabweichung in µg/L ($n = 3$); BADGE, BADGE·HCl und BADGE·2HCl nicht nachweisbar

Tab. 8.18: Tubentyp I: Extraktionskinetik mit ACN bei 40 °C

Zeit [d]	BADGE·2H ₂ O	BPA	BADGE·H ₂ O	BADGE·HCl·H ₂ O
1	100 ± 5	364 ± 36	18,7 ± 4,3	11,9 ± 0,8
2	104 ± 9	378 ± 54	17,4 ± 1,2	12,0 ± 0,9
5	134 ± 11	392 ± 45	19,5 ± 1,2	14,6 ± 1,1
7	149 ± 16	380 ± 33	20,4 ± 2,8	15,6 ± 1,6
9	165 ± 10	419 ± 36	22,2 ± 1,1	16,3 ± 1,1
12	214 ± 7	484 ± 33	23,9 ± 1,3	19,5 ± 0,8

Mittlere Konzentrationen mit Standardabweichung in µg/L ($n = 3$); BADGE, BADGE·HCl und BADGE·2HCl nicht nachweisbar

Tab. 8.19: Tubentyp D: Extraktionskinetik mit ACN bei 40 °C

Zeit [d]	BADGE·2H ₂ O	BPA	BADGE·H ₂ O	BADGE·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE·HCl
1	361 ± 53	714 ± 40	279 ± 20	44,8 ± 2,2	--- ^a	11,7 ± 1,3
2	437 ± 49	772 ± 34	314 ± 26	57,4 ± 6,3	--- ^a	12,2 ± 0,9
5	604 ± 34	823 ± 17	357 ± 19	72,3 ± 7,4	--- ^a	12,1 ± 1,3
7	659 ± 99	842 ± 57	362 ± 27	73,6 ± 11,0	--- ^a	11,3 ± 1,2
8	714 ± 40	872 ± 37	371 ± 31	80,3 ± 5,0	--- ^a	11,3 ± 1,5
9	732 ± 25	865 ± 15	376 ± 21	83,1 ± 2,3	--- ^a	11,3 ± 1,6
12	807 ± 59	906 ± 46	372 ± 1	90,2 ± 7,1	--- ^a	10,1 ± 1,0
14	860 ± 52	896 ± 20	397 ± 13	94,1 ± 5,7	--- ^a	10,4 ± 1,7

Mittlere Konzentrationen mit Standardabweichung in µg/L ($n = 3$); ^a wegen Peaküberlagerung nicht auswertbar; BADGE·2HCl nicht nachweisbar

In einem weiteren Ansatz wurden Tuben vom Typ A#2 mit 2-Propanol befüllt und bei 40 °C eingelagert. In Intervallen wurden jeweils drei Tuben entnommen und wie folgt aufgearbeitet: Aliquote zu 1 mL wurden am Rotationsverdampfer zur Trockne eingedunstet ($T \approx 40$ °C, $t \approx 3$ min), in 3 x 2 mL ACN/H₂O (70:30 V/V) resuspendiert und mit Wasser zu 10 mL ergänzt. Die Proben wurden mit einem Injektionsvolumen von 10 µL in Doppelbestimmung vermessen; ausschließlich die Konzentrationsverläufe von BADGE und BADGE·2H₂O wurden ausgewertet (s. Tab. 8.20).

Tab. 8.20: Tubentyp A #2: Extraktionskinetik mit IPA bei 40 °C

Zeit [d]	BADGE·H ₂ O	BADGE
1	1670 ± 780	14000 ± 7500
2	2060 ± 1230	15600 ± 10700
5	2940 ± 610	20900 ± 5400
7	4680 ± 240	35200 ± 1400
9	4320 ± 680	30000 ± 6700
12	4670 ± 640	31500 ± 6700
14	4480 ± 710	28900 ± 6600

Mittlere Konzentrationen mit Standardabweichung ($n = 3$) in $\mu\text{g/L}$

8.5.2 Extraktionsmedien

Tuben vom Typ A#2 wurden mit H₂O, Essigsäure 3 % (m/V), Olivenöl, EtOH 10 % (m/m), EtOH 25 % (m/m), IPA 25 % (m/m), Isooctan, MeOH, EtOH, IPA, Aceton und ACN befüllt und im Klimaschrank für zehn Tage bei 40 °C eingelagert ($n = 5$). Zusätzlich wurden mit Isooctan befüllte Tuben für 48 Stunden bei Raumtemperatur gelagert ($n = 5$). Nach der Probenahme wurden Aliquote der Solvenzien in Abhängigkeit vom verwendeten Füllmedium gemäß dem nachfolgenden Schema (s. Tab. 8.21) aufgearbeitet. Sofern erforderlich, wurden zur Einhaltung des Arbeitsbereichs die Injektions- und/oder Aliquotvolumina adaptiert.

Tab. 8.21: Füllmedienspezifische Probenvorbereitung

Extraktionsmedium	Probenvorbereitung
H ₂ O	Aliquot (4 mL) mit 4,2 mL ACN versetzen, mit H ₂ O auf 10 mL auffüllen
ACN	Aliquot (1 mL) mit 3,2 mL ACN ergänzen, mit H ₂ O auf 10 mL auffüllen
Aceton, EtOH, IPA, Isooctan, MeOH	Aliquot (1 mL) zur Trockne einengen ($T = 40\text{ °C}$), Resolvatisierung in 3 x 2 mL ACN/H ₂ O (70:30 V/V), mit H ₂ O auf 10 mL auffüllen
EtOH 10/25 %, IPA 25%, Essigsäure 3 %	Aliquot (1 – 4 mL) einengen ($T = 40\text{ °C}$) bis Alkohol / Säure olfaktorisch nicht mehr nachweisbar, dann Vorgehen analog H ₂ O (s.o.)
Olivenöl	Aliquot (4 mL) analog Schema für <i>Einfache Augensalbe DAC</i> aufarbeiten (s. Kap. 8.6.5.2.1)

8.5.3 Alkylether von BADGE und dessen Derivaten

8.5.3.1 Darstellung

Separate Lösungen von BADGE, BADGE·H₂O und BADGE·HCl in MeOH, EtOH und 2-Propanol ($c \approx 50$ mg/L) wurden für 10 Stunden unter Rückfluss zum Sieden erhitzt ($T \approx 110$ °C).

8.5.3.2 Verifizierung der Peakzuordnung

Die Lösungen der Alkylether von BADGE, BADGE·H₂O und BADGE·HCl (s. Kap. 8.5.3.1) wurden mit ACN zu 5 mg/L verdünnt und analog den Bedingungen für BADGE und dessen Derivaten (s. Tab. 8.24) massenspektrometrisch gegen eine Mischung der Referenzsubstanzen ($c \approx 10$ mg/L) vermessen.

8.5.4 Extraktion differenter Tubentypen

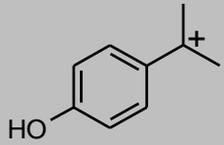
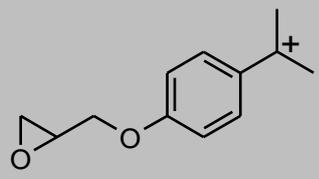
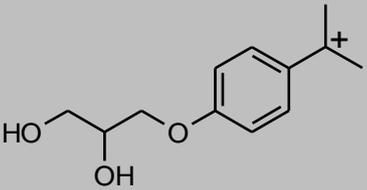
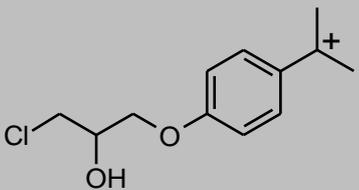
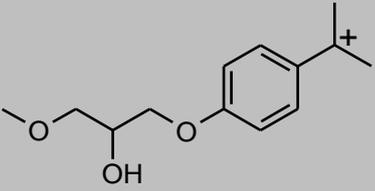
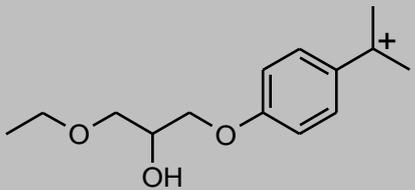
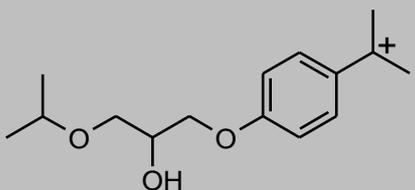
Tuben vom Typ A bis Q (s. Kap. 8.1.5) wurden mit den jeweiligen Nennvolumina – respektive bei alleiniger Angabe von Füllgewichten den korrespondierenden Volumina – an ACN befüllt ($n = 5$). Aufgrund zu geringer Stückzahlen wurden von Tubentyp C und E vier bzw. zwei Tuben untersucht, bei Tuben vom Typ N bis Q handelte es sich um Einzelexemplare.

Nach zehn Tagen Lagerung bei 40 °C wurden Aliquote zu 1 (Typ A#1/#2, B) bzw. 4 mL (übrige Tuben) entnommen, mit ACN auf 4,2 mL ergänzt und mit H₂O auf 10 mL aufgefüllt. Die Quantifizierung erfolgte – sofern erforderlich unter Adaption der Injektionsvolumina – in Doppelbestimmung.

8.5.5 Massenspektrometrische Untersuchungen

8.5.5.1 Molekülfragmente und Clusterionen

Tab. 8.22: Gruppenspezifische Molekülfragmente von BADGE und dessen Derivaten (nach PETERSEN [2003]) sowie der Produkte von BADGE, BADGE·H₂O und BADGE·HCl mit niedermolekularen Alkoholen (s. Kap. 8.5.3)

Fragmentionen	Massenzahl	Herkunft
	135	BADGE + Derivate
	191	BADGE BADGE·H ₂ O BADGE·HCl BADGE·R-OH
	209	BADGE·H ₂ O BADGE·2H ₂ O BADGE·HCl·H ₂ O BADGE·R-OH·H ₂ O
	227 / 229	BADGE·HCl BADGE·2HCl BADGE·HCl·H ₂ O BADGE·HCl·R-OH
	223	BADGE·MeOH BADGE·2MeOH BADGE·MeOH·H ₂ O BADGE·HCl·MeOH
	237	BADGE·EtOH BADGE·2EtOH BADGE·EtOH·H ₂ O BADGE·HCl·EtOH
	251	BADGE·IPA BADGE·IPA·H ₂ O BADGE·HCl·IPA

R-OH = niedermolekulare Alkohole (MeOH, EtOH, IPA)

Tab. 8.23: Substanzspezifische Clusterionen und Molekülfragmente im positiven Ionenmodus

Analyt	Moleküliion (H ⁺ -Cluster) M+1	Clusterbildung mit			Fragmentionen (m/z)
		H ₂ O/NH ₄ ⁺ M+18	Na ⁺ M+23	K ⁺ M+39	
BADGE ¹	341	358	363	379	135 / 191
BADGE·H ₂ O ¹	359	376	381	397	135 / 191 / 209
BADGE·HCl ¹	377 / 379 ^a	394 / 396 ^a	399 / 401 ^a	415 / 417 ^a	135 / 191 / 227 229 ^a
BADGE·2H ₂ O ¹	377	394	399	415	135 / 209
BADGE·HCl·H ₂ O ¹	395 / 397 ^a	412 / 414 ^a	417 / 419 ^a	433 / 435 ^a	135 / 209 / 227 229 ^a
BADGE·2HCl ¹	413 / 415 ^a 417 ^a	430 / 432 ^a 434 ^a	435 / 437 ^a 439 ^a	451 / 453 ^a 455 ^a	135 / 227 229 ^a
BADGE·MeOH	373	390	395	411	135 / 191 / 223
BADGE·EtOH	387	404	409	425	135 / 191 / 237
BADGE·IPA	401	418	423	439	135 / 191 / 251
BADGE·2MeOH	405	422	427	443	135 / 223
BADGE·2EtOH	433	450	455	471	135 / 237
BADGE·MeOH·H ₂ O	391	408	413	429	135 / 209 / 223
BADGE·EtOH·H ₂ O	405	422	427	443	135 / 209 / 237
BADGE·IPA·H ₂ O	419	436	441	457	135 / 209 / 251
BADGE·HCl·MeOH	409 / 411 ^a	426 / 428 ^a	431 / 433 ^a	447 / 449 ^a	135 / 223 / 227 229 ^a
BADGE·HCl·EtOH	423 / 425 ^a	440 / 442 ^a	445 / 447 ^a	461 / 463 ^a	135 / 227 / 229 ^a 237
BADGE·HCl·IPA	437 / 439 ^a	454 / 456 ^a	459 / 461 ^a	475 / 477 ^a	135 / 227 / 229 ^a 251

¹ nach PETERSEN [2003]; ^a Chlorisotope

8.5.5.2 BADGE + Derivate: Optimierung der Fragmentorspannung

Die Abhängigkeit des TICs sowie des Fragmentierungsmusters von der angelegten Fragmentorspannung wurde an einer Mischung der Standards in ACN ($c \approx 40$ mg/L) im positiven Ionenmodus im Bereich von 50 – 200 V untersucht. Die Vermessung erfolgte mittels Einzelinjektion unter sukzessiver Erhöhung der Fragmentorspannung.

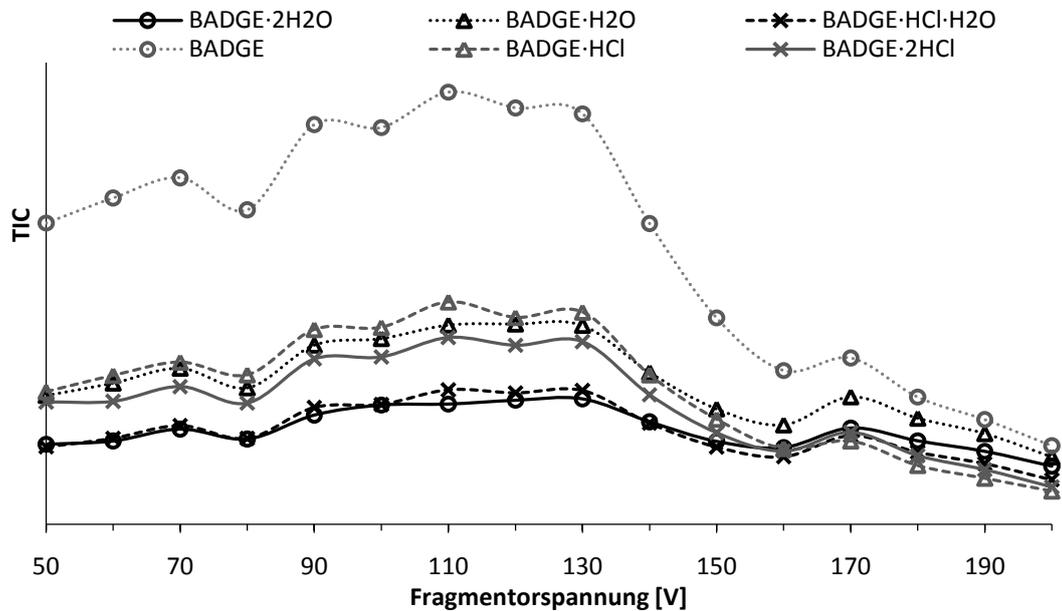


Abb. 8.1: BADGE + Derivate: Fragmentorspannung vs. TIC

Während bei einer Fragmentorspannung von 170 V die Moleküle besonders charakteristisch fragmentierten, konnte im Bereich von 90 bis 130 V ein Maximum des TICs und daraus resultierend eine hohe Sensitivität erzielt werden (vgl. Abb. 8.1).

8.5.5.3 BPA: Optimierung der Fragmentorspannung

Die Abhängigkeit des TICs sowie des Fragmentierungsmusters von der angelegten Fragmentorspannung (50 – 150 V) wurde an einer BPA-Lösung in ACN ($c \approx 40$ mg/L) im negativen Ionenmodus untersucht. Die Vermessung erfolgte in Einzelinjektion unter sukzessiver Erhöhung der Fragmentorspannung. Ausschließlich Fragmente mit relativem TIC-Anteil > 1 % wurden berücksichtigt.

8.5.5.4 Tubenvergleich: Verifizierung der Peakzuordnung

Bei Vorhandensein hinreichender Restvolumina aus dem vergleichenden Extraktionsversuch (s. Kap. 8.5.4) wurden die ACN-Extrakte der Tubeninnenbeschichtungen zwecks Sensitivitätserhöhung aufkonzentriert. Hierzu wurden bis zu 10 mL einer Mischung der Extraktreste am Rotationsverdampfer zur Trockne eingedunstet ($T \approx 40$ °C) und in 1 mL ACN resolvasiert. Für die Erfassung von BADGE und dessen Derivaten wurde der adaptierte

Gradient nach PETERSEN [2003] übernommen (s. Tab. 8.1). Die massenspektrometrischen Parameter können wie folgt zusammengefasst werden.

Tab. 8.24: Parameter der massenspektrometrischen Detektion von BADGE und dessen Derivaten

MSD-Parameter	RP-HPLC-DAD-MSD (s. Kap. 8.1.1.4)
	ESI(+)
	Fragmentorspannung: 120 / 170 V
	Scan-Modus (25 %): m/z 100 – m/z 500
	SIM-Modus (75 %): charakteristische Fragmente (vgl. Tab. 8.23)
	Trocknungsgas: 12 L/min; 350 °C
	Verneblerdruck: 60 psig
	Kapillarspannung: 4000 V

Für die Verifizierung der Peakzuordnung von BPA ermöglichten die geringen Retentionszeiten die Verwendung eines verkürzten Gradienten (s. Tab. 8.25).

Tab. 8.25: Parameter der massenspektrometrischen Detektion von BPA

Chromatographisches Verfahren	RP-HPLC-DAD-MSD (s. Kap. 8.1.1.4)
Mobile Phase	Binärer Gradient
	<u>Eluent A</u> : H ₂ O
	<u>Eluent B</u> : MeOH/ACN (2:1, V/V)
	0 min 60 % Eluent B
	10 min 65 % Eluent B
	11 min 95 % Eluent B
	20 min 95 % Eluent B
	21 min 60 % Eluent B
25 min 60 % Eluent B	
Flussrate	0,8 mL/min
Temperatur Säulenofen	30 °C
DAD-Parameter	$\lambda = 275 \text{ nm}$
MSD-Parameter	ESI(-)
	Fragmentorspannung: 90 V
	Scan-Modus (25 %): m/z 100 – m/z 300
	SIM-Modus (75 %): m/z: 205/206; 227/228; 273/274
	Trocknungsgas: 12 L/min; 325 °C
	Verneblerdruck: 60 psig
	Kapillarspannung: 3500 V

8.5.6 Bestrahlung

Zwei Tuben vom Typ D wurden im Institut für Physikalische Chemie der Universität zu Köln (AK Prof. Tieke) mittels einer Cobalt-60-Quelle bestrahlt. Die Tuben wurden einer Strahlendosis von ungefähr 97,8 kGy exponiert, anschließend analog den unbestrahlten

Tuben einer Extraktion mit ACN unterzogen (s. Kap. 8.5.4), die Restmonomere quantifiziert und die Chromatogramme denen unbestrahlter Muster gegenübergestellt.

8.6 Migrationsstudien

8.6.1 Herstellung der Matrices

Zwecks Minimierung des Kontaminationsrisikos wurde von der Verwendung kommerziell verfügbarer Matrices abgesehen. Sofern nicht anders angegeben, erfolgte die Herstellung entsprechend den Vorgaben der jeweiligen Monographien.

Für Vorversuche wurden die Rezepturen überwiegend manuell mittels Fantaschale und Pistill dargestellt. Nachdem zu Beginn der Arbeiten Analytsorption in das Melaminharz der Fantaschalen beobachtet wurde, fanden in der Folge ausschließlich Fantaschalen aus Chromnickelstahl (*Wepa Apothekenbedarf*, Hillscheid, Deutschland) Verwendung. Für die meisten Migrationsstudien wurden die Formulierungen zwecks Homogenität im 1,5 kg-Maßstab via Salbenmischmaschine hergestellt. Die Geräteparameter sind den nachfolgenden Rezepturbeschreibungen zu entnehmen.

8.6.1.1 Salben

Die Rezepturen aller Salben gewährleisteten eine hinreichende mikrobielle Stabilität im Beobachtungsintervall.

Geräteparameter:

- *Einfache Augensalbe DAC* + Varianten: 20 rpm, $T = 70\text{ °C}$ (Produkttemperatur)
- *Macrogosalbe DAC*: 20 rpm, $T = 40\text{ °C}$ (Produkttemperatur)

Mit Erreichen der homogenen Schmelze wurden die Mantelheizung der Salben-Mischmaschine deaktiviert und die Rezepturen jeweils über Nacht kaltgerührt.

Tab. 8.26: Salbenrezepturen

	Einfache Augensalbe DAC [2007]			Macrogosalbe DAC	
	Original	+ 10 % O/W-Emulgator	+ 10 % W/O-Emulgator		
Dickflüssiges Paraffin	40,0	36,4	36,4	Macrogol 300	50,0
Weißes Vaseline	60,0	54,5	54,5	Macrogol 1500	50,0
Polysorbat 60	---	9,1	---		
Span 60	---	---	9,1		

Mengenangaben in Massenanteilen

Einfache Augensalbe DAC:

Gemäß Monographie [DAC 2007] war die Rezeptur nach Herstellung via trockener Hitze ($T \approx 160 \text{ °C}$, $t \approx 2 \text{ h}$) zu sterilisieren. Aufgrund temperaturinduzierter Bildung fluoreszenzaktiver Verbindungen, welche mit den Analyten in den Chromatogrammen interferierten, wurde von der Hitzesterilisation abgesehen. Ein maßgeblicher Einfluss des – vor Abfüllung durchzuführenden – Sterilisationsprozesses auf das Migrationsverhalten während der Lagerung war nicht zu erwarten.

Einfache Augensalbe DAC + 10 % Polysorbat 60:

Auch nach längerem Erwärmen unter intensivem Rühren konnte kein einphasiges System dargestellt werden. Der Emulgator lag nach dem Erkalten feinverteilt in der lipophilen Phase vor. Dieser Zustand war augenscheinlich stabil. Nach 6-monatiger Lagerung bei 40 °C war keine diskrete Phasentrennung zu erkennen.

Einfache Augensalbe DAC + 10 % Polysorbat 60:

Im Gegensatz zur Rezeptur mit Polysorbatanteil ergab sich nach dem Erkalten ein augenscheinlich einphasiges System.

8.6.1.2 Nichtionische Hydrophile Creme DAB [2007] und Rezepturvariationen

Zwecks Vermeidung einer mikrobiellen Kontamination war die Konservierung der Cremematrizes obligat. Gemäß DAB-Monographie eignen sich Sorbinsäure und Methylparaben. Angesichts des phenolischen Grundgerüsts waren bei Verwendung von Methylparaben analytische Interferenzen eher zu erwarten als bei Sorbinsäure, sodass für die Konservierung sämtlicher Cremerezepturen 0,1 % Sorbinsäure zugesetzt wurde.

Geräteparameter: 20 rpm; $T = 70 \text{ °C}$ (Produkttemperatur)

Mit Erreichen der Produkttemperatur von 70 °C und nach Zugabe der zuvor temperierten, hydrophilen Bestandteile wurden die Mantelheizung der Salben-Mischmaschine deaktiviert und die Rezepturen über Nacht kaltgerührt.

Nach sechs Monaten Lagerung im Klimaschrank bei 40 °C wurde bei keiner der Cremerezepturen ein Hinweis auf eine potentielle Instabilität des Systems festgestellt.

8.6.1.3 Carbomergele

Ausschließlich *Wasserhaltiges Carbomergel DAB* erforderte eine Konservierung, da der Alkohol- bzw. Polyolanteil die übrigen Carbomergelrezepturen hinreichend vor mikrobiellem Wachstum schützte [NÜRNBERG *et al.* 1986]. *Wasserhaltiges Carbomergel DAB* wurde gemäß Monographie mit 0,1 % Sorbinsäure und 0,1 % Kaliumsorbat konserviert.

Geräteparameter: 20 rpm; Raumtemperatur

8.6.2 Matrixabfüllung

Sämtliche Matrices wurden zeitnah zur Abfüllung hergestellt und manuell verfüllt. Im Rahmen der ersten Migrationsstudie (vgl. Kap. 5.1) konnte ausschließlich *Nichtionische Hydrophile Creme DAB* mittels pneumatischer Kolbendosiermaschine in die Tuben verfüllt werden. Bei nachfolgenden Abfüllversuchen von *Wasserhaltiges Carbomergel DAB* und *Einfache Augensalbe DAC* streute die Füllmenge aufgrund zu geringer bzw. zu hoher Matrixviskosität unverhältnismäßig stark, sodass alternativ ein *aponorm*-Tubenfüller Verwendung fand. Die Varianz der Füllmengen gab den Impuls für die Beschaffung eines 100 mL-Kolbenprobers aus Glas (für niederviskose Matrices) sowie einer weiteren Abfülleinrichtung (Tubenfüllmaschine *Hammonia*). Durch den Equipmentwechsel konnte die Füllmengenstreuung signifikant reduziert werden (s. Tab. 8.27).

Nach der Abfüllung wurden alle Tuben manuell via Tubenschließzange verschlossen (3-fach Falz) und mit dem Verschluss nach unten in Reagenzglasständern fixiert. Anteilig wurden die Matrices in Glasbehälter verfüllt, lichtdicht verschlossen und zeitgleich mit den Tuben unter analogen Bedingungen eingelagert.

Tab. 8.27: Übersicht Matrixabfüllung

Kap.	Matrix	Füllmenge ¹ [g]	Tuben-Typ	Verf. ²
5.1	<i>Nichtionische Hydrophile Creme DAB</i>	4,047 ± 0,324	A#1	A
	<i>Einfache Augensalbe DAC</i>	5,242 ± 0,214	A#1	B
	<i>Wasserhaltiges Carbomergel DAB</i>	5,524 ± 0,609	A#1	B
5.2	<i>Nichtionische Hydrophile Creme DAB</i>	4,616 ± 0,081	A#2	D
	<i>Nichtionische Hydrophile Creme DAB – Variante I</i>	5,668 ± 0,077	A#2	D
	<i>Nichtionische Hydrophile Creme DAB – Variante II</i>	5,611 ± 0,130	A#2	D
	<i>Nichtionische Hydrophile Creme DAB – Variante III</i>	5,329 ± 0,105	A#2	D
5.3	<i>Wasserhaltiges Carbomergel DAB</i>	5,088 ± 0,088	A#2	C
	<i>Ultraschallkontaktgel NRF 13.2</i>	5,097 ± 0,081	A#2	C
	<i>Ethanolhaltiges Carbomergel</i>	5,092 ± 0,058	A#2	C
	<i>2-Propanolhaltiges Carbomergel DAB</i>	5,092 ± 0,085	A#2	C
5.4	<i>Einfache Augensalbe DAC + 10 % Polysorbat 60</i>	5,675 ± 0,057	A#2	D
	<i>Einfache Augensalbe DAC + 10 % Span 60</i>	5,593 ± 0,074	A#2	D
	<i>Polysorbat 60</i>	5,695 ± 0,187	A#2	C
5.5	<i>PEG 300</i>	5,438 ± 0,028	A#2	C
	<i>Macrogolsalbe DAC</i>	5,902 ± 0,105	A#2	D
5.6	<i>Macrogolsalbe DAC</i>	10,776 ± 0,328	M	D

¹ mit Standardabweichung; ² Abfüllverfahren: A = Kolbendosiermaschine; B = *aponorm*-Tubenfüller; C = Kolbenprober; D = Tubenfüllmaschine

8.6.3 Probenahme

Die Probenahme aus den Klimaschränken erfolgte randomisiert in definierten Intervallen (s. Tab. 8.28). Via Differenzwägung wurden die Tuben auf Dichte über die Lagerdauer geprüft. Bei Feststellung signifikanter Abweichungen wurden die entsprechenden Tuben verworfen und Proben nachgezogen. Um intraindividuellen Schwankungen vorzubeugen, wurde der Gesamthalt der Tuben mittels Tubenausquetscher entnommen. Abweichungen der Probeneinwaage vom Sollwert fanden rechnerisch als Korrekturfaktor Berücksichtigung.

Tab. 8.28: Migrationsstudien – Probenahmeintervalle

Migrationsstudie	Intervalle
Grundrezepturen: Salbe – Gel – Creme (Kap. 5.1)	2 / 4 / 6 / 12 / 28 / 40 / 52 Wochen
Modifikation der Cremematrix (Kap. 5.2)	3 / 6 ^a / 9 / 12 ^a / 27 ^a Wochen
Einfluss der Matrixpolarität (Kap. 5.3)	3 / 6 / 9 / 12 / 27 Wochen
Einfluss des Emulgators (Kap. 5.4)	2 / 4 / 6 Monate
PEG-Partialstruktur (Kap. 5.5)	2 / 4 / 6 Monate
Macrogolsalbe DAC (Kap. 5.5.2)	1 ^a / 2 ^a / 3 ^a / 4 ^a / 8 ^a Wochen
Macrogolsalbe DAC – Tubentyp M (Kap. 5.6.3)	4 ^a / 8 ^a Wochen

^a zusätzliche Probenahme für ‚In-Use‘-Studie (Kap. 5.6)

Im Rahmen der ersten Migrationsstudie (vgl. Kap. 5.1) erfolgte – zur Kompensation der interindividuellen Streuung der Restmonomergehalte in den Tubeninnenbeschichtungen – die Aufarbeitung aus einem Probenpool. Hierzu wurde der Inhalt von fünf Tuben in eine Fantaschale ausgewogen und homogenisiert. Proben des Homogenats zu 5,0 g ($n = 3$) sowie Mischproben aus der in Glasbehältern eingelagerten Matrix ($n = 3$) wurden in Jodzahlkolben eingewogen und entsprechend den individuellen Schemata aufgearbeitet (s. Kap. 8.6.5).

Bei den übrigen Migrationsstudien wurden – sofern nicht anders angegeben – abweichend von der oben dargestellten Vorgehensweise drei separate Homogenate aus jeweils zwei Tuben erstellt. Aus jedem Homogenat wurde eine Mischprobe aufgearbeitet. Zusätzlich erfolgte die Aufarbeitung von drei Mischproben aus der in Glasbehältern eingelagerten Matrix.

8.6.4 Methodenentwicklung

8.6.4.1 Inverse SPE: Wiederfindungsraten vs. Eluentenzusammensetzung

Im Rahmen der Probenaufarbeitung sollte der Probentransfer auf die SPE-Kartuschen mit 3 x 2 mL Solvens erfolgen. Mischlösungen aller Standards inklusive BADHPE ($c \approx 2500 \mu\text{g/L}$) wurden in ACN/H₂O-Mischungen unterschiedlichen Volumenverhältnisses hergestellt: 60:40, 70:30, 80:20, 90:10 und 100:0 (V/V). Für alle Ansätze wurden sukzessive die nachfolgenden Schritte durchlaufen ($n = 2$):

- Aktivierung der SPE-Kartusche: 2 mL ACN
- Konditionierung: 2 mL der jeweiligen ACN/H₂O-Mischungen (ohne Standard)
- Probenaufgabe: 2 mL der Standardlösung („1. Spülschritt“)
- 2. und 3. Spülschritt mit der jeweiligen ACN/H₂O Mischung (ohne Standard)

Alle Fraktionen wurden separat aufgefangen und nach Verdünnen mit ACN und H₂O zu 4,2 mL ad 10,0 mL quantifiziert. Die Wiederfindungsraten wurden gegen direktpipettierte Standards bestimmt.

Tab. 8.29: Wiederfindungsraten vs. Eluentenzusammensetzung

Solvens / Spülschritt	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADHPE	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
60:40 I	42,7	31,7	1,4	7,9	7,0	n.d.	n.d.	0,2
60:40 II	55,1	65,7	69,6	80,2	84,2	7,7	30,3	55,1
60:40 III	0,7	0,8	25,2	10,2	6,8	86,1	66,6	42,0
Σ	98,5	98,2	96,2	98,3	98,0	93,8	96,9	97,3
70:30 I	46,7	45,8	11,2	23,2	27,7	1,5	6,7	15,0
70:30 II	53,1	54,4	74,9	72,3	71,3	78,9	85,2	80,7
70:30 III	0,9	0,3	13,5	4,8	1,3	19,3	7,9	4,1
Σ	100,7	100,5	99,6	100,3	100,3	99,7	99,8	99,8
80:20 I	41,3	48,1	18,7	29,1	36,5	20,8	28,3	33,8
80:20 II	53,0	46,9	68,8	63,9	58,3	73,2	66,2	60,8
80:20 III	1,3	0,2	8,1	3,0	0,5	1,5	0,8	0,7
Σ	95,6	95,2	95,6	96,0	95,3	95,5	95,3	95,3
90:10 I	35,2	52,6	23,1	31,9	43,3	38,9	42,7	45,1
90:10 II	59,5	45,9	68,4	63,6	55,3	59,4	55,7	52,7
90:10 III	4,3	0,3	7,6	3,7	0,5	0,5	0,4	0,6
Σ	99,0	98,8	99,1	99,2	99,1	98,8	98,8	98,4
100:0 I	n.d.	46,9	0,4	0,6	33,2	47,9	47,8	47,1
100:0 II	5,1	51,7	28,0	34,6	64,5	52,3	51,8	50,8
100:0 III	2,5	0,8	11,0	12,0	1,3	0,2	0,2	0,3
Σ	7,6	99,4	39,4	47,2	99,0	100,4	99,8	98,2

Mittlere Wiederfindungsraten in % ($n = 2$)

8.6.4.2 Überprüfung der modifizierten Carbomergelmethode

Je 5 g *Wasserhaltiges Carbomergel DAB*, *Ultraschallkontaktgel NRF 13.2*, ethanolhaltiges Carbomergel und *2-Propanolhaltiges Carbomergel DAB* ($n = 3$) wurden in Jodzahlkolben (50 mL) eingewogen und mit einer Mischung der Standards ($c \approx 50 \mu\text{g}/\text{kg}$) sowie BADHPE ($c \approx 200 \mu\text{g}/\text{kg}$) dotiert. Unter Zugabe von 10 mL ACN und 0,7 g Ammoniumformiat wurden die Gele gelöst und anschließend in Nesslerzylinder (20 mL) transferiert. Nach vollständiger Phasentrennung ($t \approx 5 \text{ min}$) wurde die ACN-Phase abpipettiert, am Rotationsverdampfer zur Trockne eingeengt ($T \approx 40 \text{ }^\circ\text{C}$, $t \approx 5 \text{ min}$) und in 2 x 0,9 mL ACN/H₂O (42:58 V/V) resolvisiert. Nach dem Auffüllen auf 2 mL mit selbiger Mischung und Filtration wurden die Wiederfindungsraten gegen direktpipettierte Standards bestimmt.

Tab. 8.30: Wiederfindungsraten [%] der modifizierten Carbomergelmethode

Matrix	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADHPE	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
H ₂ O- Gel	62,4	84,4	77,4	79,9	86,5	82,9	83,1	84,2
	67,8	89,5	81,7	84,8	88,1	84,4	85,9	86,9
	64,9	87,1	78,2	81,3	87,2	82,3	84,0	85,2
NRF- Gel	43,0	72,7	70,9	70,4	77,6	82,9	81,7	81,7
	54,0	80,8	78,6	78,7	86,0	85,1	86,8	86,0
	44,6	72,1	71,1	69,7	77,9	79,5	80,6	80,5
EtOH- Gel	40,1	3,2	3,6	4,3	2,3	n.d.	n.d.	n.d.
	40,9	4,7	5,6	6,5	3,9	n.d.	n.d.	n.d.
	Phasentrennung während Proben transfer							
IPA- Gel	62,3	22,2	25,2	28,5	21,5	2,4	2,1	3,3
	76,5	95,2	74,6	84,5	88,2	83,3	84,9	87,3
	Phasentrennung während Proben transfer							

H₂O-Gel = *Wasserhaltiges Carbomergel DAB*; NRF-Gel = *Ultraschallkontaktgel NRF 13.2*; EtOH-Gel = ethanolhaltiges Carbomergel; IPA-Gel = *2-Propanolhaltiges Carbomergel DAB*; vgl. Tab. 5.10

8.6.4.3 Carbomergele: Einfluss der Ammoniumformiatzugabe

Je 5 g ethanolhaltiges Carbomergel und *2-Propanolhaltiges Carbomergel DAB* wurden in Jodzahlkolben (50 mL) eingewogen und mit einer Mischung der Standards ($c \approx 200 \mu\text{g}/\text{kg}$) sowie BADHPE ($c \approx 500 \mu\text{g}/\text{kg}$) dotiert. Unter Zugabe von 10 mL ACN sowie variabler Mengen Ammoniumformiat (0,4 – 1,4 g) wurden die Gele gelöst und in Nesslerzylinder (20 mL) transferiert. Nach erfolgter Phasentrennung wurde die wässrige Phase volumetrisch erfasst (s. Tab. 8.31).

Tab. 8.31: Volumen [mL] der wässrigen Phase vs. Ammoniumformiatmenge

Matrix	Zugabe Ammoniumformiat [g]					
	0,4	0,6	0,8	1,0	1,2	1,4
Ethanolhaltiges Carbomergel	1,9	3,4	3,6	3,9	4,2	4,6
2-Propanolhaltiges Carbomergel DAB	2,2	3,2	3,6	3,8	4,2	4,8

Anschließend wurde die ACN-Phase abpipettiert, am Rotationsverdampfer eingengt ($T \approx 40 \text{ }^\circ\text{C}$) und zur Vermeidung einer erneuten Phasentrennung in 3 x 2 mL ACN/H₂O (70:30 V/V) resolvtisiert. Nach dem Auffüllen mit H₂O auf 10 mL und anschließender Filtration konnten die Wiederfindungsraten gegen direktpipettierte Standards bestimmt werden (s. Tab. 8.32 u. Tab. 8.33).

Tab. 8.32: Ethanolhaltiges Carbomergel: Wiederfindungsraten vs. Ammoniumformiatzugabe

NH ₄ form [g]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADHPE	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
0,4	75,0	34,1	40,5	42,3	35,9	10,8	11,7	12,8
0,6	89,9	88,1	85,2	87,6	86,8	78,4	78,2	79,0
0,8	92,2	95,9	93,9	95,6	95,2	94,9	94,9	95,1
1,0	91,0	96,8	90,8	93,7	94,3	93,0	93,5	94,0
1,2	91,1	97,6	91,2	94,5	94,9	94,0	94,4	94,7
1,4	90,4	96,0	90,3	93,7	94,0	92,8	92,9	93,3

Mittlere Wiederfindungsraten in % ($n = 2$)

Tab. 8.33: 2-Propanolhaltiges Carbomergel DAB: Wiederfindungsraten vs. Ammoniumformiatzugabe

NH ₄ form [g]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADHPE	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
0,4	74,4	57,1	59,4	61,3	58,3	42,8	43,3	44,5
0,6	91,6	96,4	93,2	94,6	95,7	95,0	95,0	95,8
0,8	93,1	98,8	91,5	95,0	95,8	94,5	94,8	95,1
1,0	93,3	97,7	93,3	95,6	96,0	94,7	94,8	95,3
1,2	92,2	96,6	92,1	94,1	94,7	94,5	94,3	94,9
1,4	92,5	96,0	93,1	95,1	95,2	94,9	94,7	95,5

Mittlere Wiederfindungsraten in % ($n = 2$)

8.6.4.4 Carbomergele: Berechnung des Methanolanteils für Probentransfer

$$P'_{H_2O} * \varphi_{H_2O} + P'_{MeOH} * \varphi_{MeOH(x)} = P'_{H_2O} * \varphi_{H_2O} + P'_{MeOH} * \varphi_{MeOH} + P'_{ACN} * \varphi_{ACN}$$

$$P'_{ACN} = 3,2$$

$$P'_{MeOH} = 2,6$$

$$P'_{H_2O} = 0$$

$$\varphi_{MeOH(x)} = \frac{(2,6 * 0,40 + 3,2 * 0,20)}{2,6} = 0,65$$

Formel 8.3: Berechnung des Methanolanteils aus der Umkehrphasenpolarität (nach MEYER [2004])
 P' = Umkehrphasenpolarität; φ = Volumenanteil

8.6.4.5 PEG 300

5,0 g PEG 300 wurde mit einer Mischung der Standards dotiert ($c \approx 200 \mu\text{g}/\text{kg}$) und mit 5,0 mL H_2O , 10,0 mL ACN und 1,3 g Ammoniumformiat versetzt ($n = 2$). Nach dem Transfer in Nesslerzylinder und erfolgter Phasentrennung wurde die obere Phase am Rotationsverdampfer eingengt ($T = 40 \text{ }^\circ\text{C}$), wobei circa 2,5 g PEG 300 im Spitzkolben zurückblieben. Der Rückstand wurde in 3 x 2 mL ACN/ H_2O (70:30 V/V) aufgenommen, mit H_2O auf 10 mL ergänzt, filtriert und gegen externe Kalibrierproben via *background subtraction* von Matrixproben quantifiziert.

Tab. 8.34: PEG 300: Wiederfindungsraten nach Phasentrennung mit Wasser

	BADGE · H_2O	BPA	BADGE · H_2O	BADGE · $\text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$	BADHPE	BADGE	BADGE · HCl	BADGE · 2HCl
I	43,0	60,7	65,7	62,1	71,4	79,3	78,3	76,9
II	41,2	59,0	63,9	60,4	69,3	77,8	76,8	74,7

Mittlere Wiederfindungsraten in % ($n = 2$)

8.6.5 Probenaufarbeitung / Quantifizierung

Nachfolgend sind die Methoden zur selektiven Abtrennung der Analyten von den jeweiligen Matrices dargestellt. Sofern nicht anders angegeben, erfolgte die anschließende Quantifizierung via RP-HPLC-FLD (s. Tab. 8.1) mit einem Injektionsvolumen von 100 μL in Doppelbestimmung gegen externe Kalibrierproben. Sämtliche Chromatogramme wurden – sofern erforderlich nach vorheriger *background subtraction* von Matrixproben – manuell integriert.

8.6.5.1 SPE

Die SPE-Kartuschen wurden mit 2 mL ACN aktiviert und mit 2 mL ACN/ H_2O (70:30 V/V) konditioniert. Der Transfer der zur Trockene eingengten Proben erfolgte mit 3 x 2 mL selbiger ACN/ H_2O -Mischung. Abschließend wurden die Proben unter Temperierung mit H_2O auf 10 mL ergänzt.

8.6.5.2 Salben

8.6.5.2.1 Einfache Augensalbe DAC

Proben-/Matrix-Aliquote zu 5,0 g wurden in Jodzahlkolben (100 mL) eingewogen und die Proben mit 1 mL internem Standard ($c \approx 5$ mg/L ACN) dotiert. Nach Zugabe von 20 mL n-Heptan und weiteren 9 mL (Probe) bzw. 10 mL (Matrix) ACN wurden die Salben durch intensives, manuelles Schütteln und gegebenenfalls unter Zuhilfenahme eines Ultraschallbades ($t < 5$ min) suspendiert. Anschließend wurden die Suspensionen einer LLE mit zusätzlichen 2 x 5 mL ACN unterzogen. Die vereinigten ACN-Phasen wurden am Rotationsverdampfer zur Trockne eingengt ($T \approx 40$ °C, $t \approx 5$ min) und Restlipide via SPE (s. Kap. 8.6.5.1) entfernt.

8.6.5.2.2 Einfache Augensalbe DAC + 10 % Span 60

Proben-/Matrix-Aliquote zu 5,0 g wurden in Jodzahlkolben (100 mL) eingewogen und die Proben mit 1 mL internem Standard ($c \approx 5$ mg/L ACN) dotiert. Nach Zugabe von 20 mL n-Heptan und weiteren 19 mL (Probe) bzw. 20 mL (Matrix) ACN wurden die Salben durch intensives, manuelles Schütteln und gegebenenfalls unter Zuhilfenahme eines Ultraschallbades ($t < 5$ min) suspendiert. Anschließend wurden die Suspensionen einer LLE mit zusätzlichen 2 x 20 mL ACN unterzogen und nachfolgend tiefgekühlt ($T \approx -20$ °C, $t \geq 2$ h). Nach Filtration unter Nachspülen mit 2 x 5 mL gekühltem ACN ($T \approx -20$ °C) wurden die Filtrate am Rotationsverdampfer zur Trockne eingengt ($T \approx 40$ °C, $t \approx 10$ min) und Restlipide via SPE (s. Kap. 8.6.5.1) entfernt.

8.6.5.2.3 Einfache Augensalbe DAC + 10 % Polysorbat 60

Proben-/Matrix-Aliquote zu 5,0 g wurden in Jodzahlkolben (100 mL) eingewogen und die Proben mit 2 mL internem Standard ($c \approx 50$ mg/L ACN) dotiert. Nach Zugabe von 20 mL n-Heptan und weiteren 18 mL (Probe) bzw. 20 mL (Matrix) ACN wurden die Proben analog der im Kapitel 8.6.5.2.1 beschriebenen Vorgehensweise suspendiert, der LLE und der SPE unterzogen. Abweichend wurde den Eluat nach Abschluss der SPE 4,2 mL ACN hinzugefügt und die Proben mit H₂O zu 20 mL ergänzt. Die Quantifizierung wurde mit Injektionsvolumina zu 10 und 100 µL jeweils in Doppelbestimmung gegen externe Kalibrierproben vorgenommen.

8.6.5.2.4 Macrogolsalbe DAC

Proben-/Matrix-Aliquote zu 2,5 g wurden in Jodzahlkolben (50 mL) eingewogen und die Proben mit 2 mL internem Standard ($c \approx 50$ mg/L ACN) dotiert. Nach Zugabe von weiteren 6,4 mL (Probe) bzw. 8,4 mL (Matrix) ACN wurden die Salben durch manuelles Schütteln

gelöst. Anschließend wurden die Lösungen in Messkolben transferiert, mit H₂O auf 20 mL ergänzt und über 0,45 µm-Filter in Vials abgefüllt. Die Quantifizierung erfolgte mit Injektionsvolumina von 10 und 100 µL jeweils in Doppelbestimmung.

Die in Tubentyp M gelagerten Proben (vgl. Kap. 5.6.2) wurden abweichend mit 2 mL internem Standard ($c \approx 5$ mg/L ACN) dotiert und ausschließlich mit einem Injektionsvolumen von 100 µL vermessen.

8.6.5.3 Nichtionische Hydrophile Creme DAB + Variationen

Proben-/Matrix-Aliquote zu 5,0 g wurden in Jodzahlkolben (100 mL) eingewogen und die Proben mit 1 mL internem Standard ($c \approx 5$ mg/L ACN) dotiert. Nach Zugabe von 20 mL n-Heptan, weiteren 9 mL (Probe) bzw. 10 mL (Matrix) ACN und einer dem Wassergehalt angepassten Menge Ammoniumformiat (s. Tab. 8.35) wurden die Cremes durch intensives, manuelles Schütteln und gegebenenfalls unter Zuhilfenahme eines Ultraschallbades ($t < 5$ min) suspendiert.

Tab. 8.35: Ammoniumformiatzugabe während Probenaufarbeitung

Matrix	Ammoniumformiat [g]
Nichtionische Hydrophile Creme DAB	0,70
Rezepturvariation I & III	0,45
Rezepturvariation II	1,10

Anschließend wurden die Suspensionen einer LLE mit zusätzlichen 2 x 10 mL ACN unterzogen, während der sowohl n-Heptan als auch die wässrige Phase verworfen wurden. Danach wurden die vereinigten ACN-Phasen tiefgekühlt ($T \approx -20$ °C, $t \geq 2$ h). Nach Filtration über wenig Natriumsulfat wasserfrei unter Nachspülen mit 2 x 10 mL gekühltem ACN ($T \approx -20$ °C) wurden die Filtrate am Rotationsverdampfer zur Trockne eingengt ($T \approx 40$ °C, $t \approx 7$ min) und die Restlipide via SPE (Kap. 8.6.5.1) entfernt.

8.6.5.4 Gele

8.6.5.4.1 Wasserhaltiges Carbomergel DAB – konventionelle Methode

Proben-/Matrix-Aliquote zu 5,0 g wurden in Jodzahlkolben (50 mL) eingewogen und die Proben mit 1 mL internem Standard ($c \approx 5$ mg/L ACN) dotiert. Nach Zugabe von weiteren 9 mL (Probe) bzw. 10 mL (Matrix) ACN sowie 0,7 g Ammoniumformiat wurde das Gel unter kurzem, manuellem Schütteln gelöst. Anschließend wurde die Lösung einer LLE mit zusätzlichen 2 x 5 mL ACN unterzogen, wobei die wässrige Phase verworfen wurde. Nach Filtration der vereinigten ACN-Phasen über wenig Natriumsulfat wasserfrei unter Nachspülen mit 2 x 5 mL ACN wurden die Filtrate am Rotationsverdampfer zur Trockne eingengt ($T \approx 40$ °C, $t \approx 5$ min). Abschließend wurden die Proben mit 3 x 2 mL ACN/H₂O

(70:30 V/V) in Messkolben transferiert, mit H₂O auf 10 mL ergänzt und über 0,45 µm-Filter in Vials abgefüllt.

8.6.5.4.2 Carbomergele – optimierte Methode

Proben-/Matrix-Aliquote zu 5,0 g wurden in Jodzahlkolben (50 mL) eingewogen. *Wasserhaltiges Carbomergel DAB*, *Ultraschallkontaktgel NRF 13.2* und ethanolhaltiges Carbomergel wurden mit 200 µL internem Standard ($c \approx 5$ mg/L ACN) dotiert. Zur Kompensation leichter Matrixinterferenzen wurde *2-Propanolhaltiges Carbomergel DAB* mit 1 mL internem Standard ($c \approx 50$ mg/L ACN) versetzt. Nach Ergänzung auf 10 mL ACN und Zugabe von 1,3 g Ammoniumformiat wurden die Gele unter kurzem, manuellem Schütteln gelöst, in Nesslerzylinder transferiert und bis zur vollständigen Phasentrennung ($t \approx 5$ min) ruhen gelassen. Anschließend wurde die obere ACN-Phase abpipettiert und am Rotationsverdampfer zur Trockne eingeengt ($T = 40$ °C; $t \approx 5$ min). Die Rückstände wurden mit 2 x 0,9 mL MeOH/H₂O (65:35 V/V) in Messkolben transferiert und mit selbigem Solvens auf 2 mL aufgefüllt. Von *2-Propanolhaltiges Carbomergel DAB* wurden zusätzlich Verdünnungen im Verhältnis 1:20 in MeOH/H₂O (65:35 V/V) erstellt. Nach abschließender Filtration (0,45 µm) erfolgte die Quantifizierung mit einem Injektionsvolumen von 100 µL. Proben von ethanolhaltigem Carbomergel und die verdünnten Proben von *2-Propanolhaltiges Carbomergel DAB* wurden zusätzlich mit einem adaptierten Injektionsvolumen vermessen.

8.6.5.5 Sonstige Matrices

8.6.5.5.1 Polysorbat 60

Proben-/Matrix-Aliquote zu 1,0 g wurden in Jodzahlkolben (100 mL) eingewogen und die Proben mit 2 mL internem Standard ($c \approx 50$ mg/L ACN) dotiert. Die weitere Aufarbeitung und Quantifizierung erfolgte analog der im Kapitel 8.6.5.2.3 beschriebenen Vorgehensweise für *Einfache Augensalbe DAC + 10 % Polysorbat 60*. Während der Lagerung im Autosampler wurden die Proben auf 20 °C temperiert.

8.6.5.5.2 Polyethylenglykol 300

Proben-/Matrix-Aliquote zu 2,5 g wurden direkt in Messkolben (10 mL) eingewogen und die Proben mit 1 mL internem Standard ($c \approx 50$ mg/L ACN) dotiert. Nach Zugabe von weiteren 3,2 mL (Probe) bzw. 4,2 mL (Matrix) ACN wurden die Matrices unter manuellem Schwenken gelöst, mit H₂O auf 10 mL aufgefüllt und filtriert. Anschließend erfolgte die Quantifizierung mit Injektionsvolumina zu 10 und 100 µL.

8.6.6 Ergebnis

Während sämtlichen Migrationsstudien konnten keine Anzeichen für das Vorhandensein von BADGE·2HCl in den Matrices gefunden werden, sodass von einer Auflistung des Analyten in den nachfolgenden Übersichtstabellen abgesehen wurde.

8.6.6.1 Grundrezepturen: Salbe – Creme – Hydrogel

Tab. 8.36: Einfache Augensalbe DAC: Ergebnis der Migrationsstudie

Lagerdauer [Wochen]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl
Lagerung unter <i>intermediate conditions</i> (T = 30 °C)						
2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	< LOQ	n.d.
4	n.d.	< LOQ	n.d.	n.d.	5,3 ± 0,1	n.d.
6	n.d.	< LOQ	n.d.	n.d.	6,0 ± 0,0 ^b	n.d.
12	n.d.	< LOQ	n.d.	n.d.	6,6 ± 0,1	n.d.
28	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	7,6 ± 0,2	n.d.
40	n.d.	< LOQ	n.d.	n.d.	9,6 ± 0,2	n.d.
52	n.d.	< LOQ	n.d.	n.d.	8,3 ± 0,5	n.d.
Lagerung unter <i>accelerated conditions</i> (T = 40 °C)						
2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	12,0 ± 1,7	n.d.
4	n.d.	< LOQ	n.d.	n.d.	13,9 ± 0,3	n.d.
6	n.d.	< LOQ	n.d.	n.d.	16,2 ± 0,3	n.d.
12	n.d.	< LOQ	n.d.	n.d.	18,6 ± 0,3	n.d.
28 ^a	n.d.	< LOQ	n.d.	n.d.	21,3 ± 1,1	< LOQ
40	n.d.	< LOQ	n.d.	n.d.	19,1 ± 0,3	n.d.
52	n.d.	< LOQ	n.d.	n.d.	18,6 ± 0,9	n.d.
Ausbeute Matrixentnahme		94,0 ± 1,4 % (n = 70)		Wiederfindung (ISTD)		85,7 ± 8,6 % (n = 41)

Mittelwerte mit Standardabweichung (n = 3) in µg/kg Matrix; ^a 1 Ausreißer (n = 2); ^b Standardabweichung < 0,05

Aufgrund einer Kontamination sowohl der bei *intermediate* als auch der bei *accelerated conditions* gelagerten Referenzmatrices konnten ab der 28. Woche keine Matrixspektren generiert werden. Da bis einschließlich der zwölften Woche nach Einlagerung keine Anhaltspunkte für das Auftreten temperaturinduzierter Interferenzen in den Chromatogrammen der Matrixproben vorlagen, wurde die Auswertung zu den verbleibenden Probenahmezeitpunkten gegen Matrixspektren der zwölften Woche vorgenommen.

Tab. 8.37: *Wasserhaltiges Carbomergel DAB*: Ergebnis der Migrationsstudie

Lagerdauer [Wochen]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl
Lagerung unter <i>intermediate conditions</i> (T = 30 °C)						
2	< LOQ	n.d.	< LOQ	n.d.	n.d.	n.d.
4	7,0 ± 0,3	n.d.	< LOQ	n.d.	n.d.	n.d.
6	7,0 ± 0,2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
12	7,0 ± 0,5	n.d.	n.d.	< LOQ	n.d.	n.d.
28	13,2 ± 1,2	n.d.	< LOQ	< LOQ	n.d.	n.d.
40	10,6 ± 0,3	n.d.	n.d.	< LOQ	n.d.	n.d.
52	15,0 ± 0,2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Lagerung unter <i>accelerated conditions</i> (T = 40 °C)						
2	16,9 ± 0,4	n.d.	n.d.	< LOQ	n.d.	n.d.
4	21,5 ± 0,7	n.d.	< LOQ	< LOQ	n.d.	n.d.
6	21,4 ± 0,6	n.d.	n.d.	< LOQ	n.d.	n.d.
12	23,1 ± 0,6	n.d.	n.d.	< LOQ	n.d.	n.d.
28	38,9 ± 3,8	n.d.	n.d.	< LOQ	n.d.	n.d.
40	31,9 ± 0,2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
52	29,7 ± 0,3	< LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Ausbeute Matrixentnahme		94,5 ± 1,3 % (n = 70)		Wiederfindung (ISTD)		87,1 ± 6,8 % (n = 42)

Mittelwerte mit Standardabweichung (n = 3) in µg/kg Matrix

Nichtionische Hydrophile Creme DAB

Tab. 8.38: Nichtionische Hydrophile Creme DAB: Ergebnis der Migrationsstudie

Lagerdauer [Wochen]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl
Lagerung unter <i>intermediate conditions</i> (T = 30 °C)						
2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	23,0 ± 1,3	n.d.
4	< LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	27,6 ± 0,4	n.d.
6	< LOQ	n.d.	< LOQ	n.d.	36,7 ± 1,9	n.d.
12	16,6 ± 1,1	n.d.	n.d.	n.d.	32,7 ± 0,8	n.d.
28	29,9 ± 2,3	< LOQ	n.d.	< LOQ	23,2 ± 0,0 ^a	n.d.
40	34,5 ± 0,8	n.d.	n.d.	< LOQ	21,1 ± 0,9	n.d.
52	43,8 ± 1,4	< LOQ	n.d.	< LOQ	17,7 ± 1,7	n.d.
Lagerung unter <i>accelerated conditions</i> (T = 40 °C)						
2	9,6 ± 1,0	< LOQ	< LOQ	n.d.	59,3 ± 0,8	n.d.
4	19,3 ± 0,5	< LOQ	4,3 ± 0,7	n.d.	75,9 ± 0,7	n.d.
6	36,2 ± 4,6	n.d.	n.d.	n.d.	85,1 ± 2,9	n.d.
12	60,7 ± 5,7	n.d.	n.d.	< LOQ	48,3 ± 0,9	n.d.
28	100 ± 1	< LOQ	n.d.	4,4 ± 0,2	22,0 ± 0,3	n.d.
40	106 ± 7	9,8 ± 2,0	n.d.	5,4 ± 1,0	12,9 ± 0,4	n.d.
52	121 ± 5	7,3 ± 1,4	n.d.	6,4 ± 0,6	7,3 ± 0,6	n.d.
Ausbeute Matrixentnahme		95,0 ± 0,8 % (n = 70)		Wiederfindung (ISTD)		87,2 ± 7,1 % (n = 42)

Mittelwerte mit Standardabweichung (n = 3) in µg/kg Matrix; ^a Abweichung < 0,05

Obwohl alle Proben eines Probenahmezeitpunktes aus einem einzigen Homogenat aufgearbeitet wurden (s. Kap. 8.6.3), wiesen die quantifizierten Mengen an BPA teilweise starke Schwankungen auf. Ergo sind die dargestellten Konzentrationen als vorbehaltlich zu verstehen.

8.6.6.2 Variationen der Cremematrix

Bei allen Cremematrices wurde in den parallel aufgearbeiteten Matrixproben Coelution mit den BPA-Peaks beobachtet. Infolge der hohen Streuung der Einzelwerte sind die nachfolgend dargestellten Konzentrationsangaben als nur bedingt aussagekräftig anzusehen.

Tab. 8.39: Nichtionische Hydrophile Creme DAB: Ergebnis der Migrationsstudie

Lagerdauer [Wochen]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl
Lagerung unter intermediate conditions (T = 30 °C)						
3	< LOQ	< LOQ	< LOQ	n.d.	45,0 ± 6,1	< LOQ
6	17,3 ± 3,9	9,4 ± 5,6	< LOQ	< LOQ	65,0 ± 16,2	4,1 ± 1,4
9	20,0 ± 5,2	11,3 ± 7,9	< LOQ	< LOQ	63,5 ± 19,9	< LOQ
12	21,7 ± 1,4	9,6 ± 2,5	n.d.	< LOQ	53,2 ± 5,0	< LOQ
27	40,9 ± 6,8	12,3 ± 3,1	n.d.	< LOQ	48,6 ± 9,2	< LOQ
Lagerung unter accelerated conditions (T = 40 °C)						
3	22,4 ± 7,5	11,3 ± 9,3	5,6 ± 1,1	< LOQ	119 ± 23	8,2 ± 1,2
6	54,1 ± 7,4	12,9 ± 3,4	3,9 ± 0,4 ^a	< LOQ	120 ± 14	9,1 ± 2,0
9	62,6 ± 10,8	14,0 ± 6,1	3,9 ± 0,5	4,5 ± 0,3	98,6 ± 21,6	7,2 ± 1,2
12	69,4 ± 8,8	12,9 ± 8,0	< LOQ	4,3 ± 0,8	91,5 ± 9,3	5,1 ± 1,5
27	136 ± 14	18,8 ± 7,9	n.d.	7,7 ± 0,9	57,3 ± 2,2	< LOQ
Lagerung ‚In-Use‘ unter accelerated conditions (T = 40 °C)						
6	392 ± 52	47,9 ± 3,0	110 ± 15	19,3 ± 2,2	956 ± 51	62,1 ± 3,9
12	1010 ± 280	117 ± 13	93,6 ± 28,0	55,2 ± 6,7	1100 ± 310	85,2 ± 10,8
27	1790 ± 360	142 ± 15	43,7 ± 8,8	92,1 ± 7,8	725 ± 137	63,8 ± 5,1
Ausbeute Matrixentnahme	94,0 ± 1,9 % (n = 78)		Wiederfindung (ISTD)		87,8 ± 5,0 % (n = 39)	

Mittelwerte mit Standardabweichung (n = 3) in µg/kg Matrix; ^a 1 Ausreißer (n = 2)

Tab. 8.40: Nichtionische Hydrophile Creme DAB – Variante I: Ergebnis der Migrationsstudie

Lagerdauer [Wochen]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl
Lagerung unter intermediate conditions (T = 30 °C)						
3	n.d.	< LOQ	< LOQ	n.d.	37,2 ± 3,9	< LOQ
6	13,0 ± 0,7	< LOQ	< LOQ	n.d.	54,1 ± 8,2	< LOQ
9	18,2 ± 2,2	< LOQ	n.d.	< LOQ	47,4 ± 3,2	< LOQ
12	22,2 ± 1,9	< LOQ	n.d.	n.d.	54,8 ± 4,2	n.d.
27	24,9 ± 11,0	< LOQ	n.d.	n.d.	28,3 ± 8,2	n.d.
Lagerung unter accelerated conditions (T = 40 °C)						
3	< LOQ	< LOQ	< LOQ	n.d.	86,6 ± 3,7	< LOQ
6	36,6 ± 2,9	< LOQ	< LOQ	n.d.	89,1 ± 1,1	< LOQ
9	54,2 ± 9,3	< LOQ ^a	< LOQ	< LOQ	82,7 ± 22,9	< LOQ
12	61,8 ± 16,0	< LOQ	< LOQ	< LOQ	62,2 ± 16,7	< LOQ
27	110 ± 4	< LOQ	n.d.	< LOQ	35,7 ± 3,1	n.d.
Ausbeute Matrixentnahme	94,7 ± 0,8 % (n = 60)		Wiederfindung (ISTD)		86,4 ± 6,3 % (n = 30)	

Mittelwerte mit Standardabweichung (n = 3) in µg/kg Matrix; ^a 1 Ausreißer (n = 2)

Tab. 8.41: *Nichtionische Hydrophile Creme DAB – Variante II: Ergebnis der Migrationsstudie*

Lagerdauer [Wochen]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl
Lagerung unter <i>intermediate conditions</i> (T = 30 °C)						
3	< LOQ	< LOQ	< LOQ	n.d.	33,2 ± 5,0	n.d.
6	31,8 ± 3,3	< LOQ	< LOQ	n.d.	42,8 ± 3,8	n.d.
9	38,8 ± 5,4	8,7 ± 4,3	< LOQ	< LOQ	30,8 ± 3,1	n.d.
12	38,7 ± 4,4	< LOQ	< LOQ	< LOQ	23,7 ± 4,0	n.d.
27	79,5 ± 6,2	< LOQ	n.d.	< LOQ	11,6 ± 0,3	n.d.
Lagerung unter <i>accelerated conditions</i> (T = 40 °C)						
3	52,7 ± 0,4	< LOQ	8,9 ± 0,9	< LOQ	75,5 ± 1,7	< LOQ
6	105 ± 10	16,1 ± 0,8	5,5 ± 0,7	< LOQ	57,5 ± 7,8	< LOQ
9	115 ± 5	9,6 ± 5,2	< LOQ	< LOQ	32,0 ± 0,3	n.d.
12	131 ± 17	12,5 ± 3,1	< LOQ	< LOQ	19,7 ± 2,3	n.d.
27 ^a	145 ± 21	19,3 ± 7,4	n.d.	9,1 ± 1,0	< LOQ	n.d.
Ausbeute Matrixentnahme		94,7 ± 1,1 % (n = 60)		Wiederfindung (ISTD)		87,1 ± 4,1 % (n = 29)

Mittelwerte mit Standardabweichung (n = 3) in µg/kg Matrix; ^a Probe verschüttet (n = 2)Tab. 8.42: *Nichtionische Hydrophile Creme DAB – Variante III: Ergebnis der Migrationsstudie*

Lagerdauer [Wochen]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl
Lagerung unter <i>intermediate conditions</i> (T = 30 °C)						
3	< LOQ	< LOQ	< LOQ	n.d.	50,9 ± 6,0	< LOQ
6	< LOQ	< LOQ	n.d.	n.d.	45,7 ± 21,8	< LOQ
9	< LOQ	8,3 ± 3,4	n.d.	n.d.	47,0 ± 15,4	n.d.
12	19,5 ± 2,2	10,9 ± 5,9	< LOQ	< LOQ	65,8 ± 10,8	< LOQ
27	30,9 ± 2,3	< LOQ	n.d.	< LOQ	59,3 ± 4,9	< LOQ
Lagerung unter <i>accelerated conditions</i> (T = 40 °C)						
3	26,9 ± 4,6	n.d.	6,0 ± 2,5	n.d.	161 ± 45	< LOQ
6	29,4 ± 1,5	10,3 ± 4,2	< LOQ	< LOQ	105 ± 7	< LOQ
9	46,6 ± 4,1	< LOQ	< LOQ	< LOQ	118 ± 11	< LOQ
12	63,4 ± 7,4	9,2 ± 3,1	< LOQ	< LOQ	118 ± 6	< LOQ
27	99,8 ± 3,2	14,0 ± 1,3	< LOQ	6,6 ± 0,4	82,4 ± 4,5	< LOQ
Ausbeute Matrixentnahme		95,0 ± 0,6 % (n = 60)		Wiederfindung (ISTD)		89,5 ± 5,3 % (n = 30)

Mittelwerte mit Standardabweichung (n = 3) in µg/kg Matrix

8.6.6.3 Polarität

Tab. 8.43: *Wasserhaltiges Carbomergel DAB*: Ergebnis der Migrationsstudie

Lagerdauer [Wochen]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl
Lagerung unter <i>intermediate conditions</i> (T = 30 °C)						
3	9,6 ± 2,3	7,2 ± 5,0	2,6 ± 0,8	0,9 ± 0,2	1,4 ± 1,3	n.d.
6	15,0 ± 5,4	9,3 ± 3,6	< LOQ	1,3 ± 0,3	< LOQ	n.d.
9	16,2 ± 3,8	8,2 ± 3,1	n.d.	1,2 ± 0,1	n.d.	n.d.
12	14,9 ± 1,9	10,0 ± 3,3	n.d.	1,0 ± 0,2	n.d.	n.d.
27	19,1 ± 4,4	7,2 ± 1,6	n.d.	1,3 ± 0,3	n.d.	n.d.
Lagerung unter <i>accelerated conditions</i> (T = 40 °C)						
3	20,9 ± 5,9	7,1 ± 3,1	< LOQ	1,8 ± 0,4	< LOQ	n.d.
6	36,8 ± 4,6	16,2 ± 2,8	< LOQ	2,5 ± 0,8	< LOQ	n.d.
9	29,1 ± 6,6	9,7 ± 2,0	n.d.	1,6 ± 0,2	n.d.	n.d.
12	27,4 ± 1,7	9,5 ± 2,2	n.d.	1,6 ± 0,2	n.d.	n.d.
27	33,9 ± 7,4	14,4 ± 9,2	n.d.	0,8 ± 0,6	n.d.	n.d.
Ausbeute Matrixentnahme	94,5 ± 1,2 % (n = 60)		Wiederfindung (ISTD)		95,3 ± 1,8 % (n = 30)	

Mittelwerte mit Standardabweichung (n = 3) in µg/kg Matrix

Tab. 8.44: *Ultraschallkontaktgel NRF 13.2*: Ergebnis der Migrationsstudie

Lagerdauer [Wochen]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl
Lagerung unter <i>intermediate conditions</i> (T = 30 °C)						
3	6,7 ± 2,5	6,3 ± 2,0	2,1 ± 0,4	1,4 ± 0,8	1,9 ± 0,8	n.d.
6	7,2 ± 0,7	5,5 ± 1,0	< LOQ	1,3 ± 0,1	< LOQ	n.d.
9	9,2 ± 1,0	7,3 ± 0,5	n.d.	1,7 ± 0,2	n.d.	n.d.
12	8,5 ± 3,1	5,9 ± 0,9	n.d.	1,6 ± 0,2	n.d.	n.d.
27	12,0 ± 0,7	5,0 ± 0,8	n.d.	1,9 ± 0,1	n.d.	n.d.
Lagerung unter <i>accelerated conditions</i> (T = 40 °C)						
3	19,2 ± 2,3	7,0 ± 1,2	1,5 ± 0,2	2,2 ± 0,2	< LOQ	n.d.
6	19,8 ± 1,6	9,2 ± 4,2	< LOQ	2,7 ± 0,9	< LOQ	n.d.
9	25,4 ± 3,5	9,1 ± 3,6	n.d.	3,9 ± 1,3	n.d.	n.d.
12	23,9 ± 6,2	8,5 ± 3,6	n.d.	2,9 ± 0,4	n.d.	n.d.
27	34,6 ± 4,2	9,7 ± 2,8	n.d.	3,9 ± 0,4	n.d.	n.d.
Ausbeute Matrixentnahme	94,5 ± 0,7 % (n = 60)		Wiederfindung (ISTD)		92,3 ± 4,5 % (n = 30)	

Mittelwerte mit Standardabweichung (n = 3) in µg/kg Matrix

Tab. 8.45: Ethanolhaltiges Carbomergel: Ergebnis der Migrationsstudie

Lagerdauer [Wochen]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl
Lagerung unter <i>intermediate conditions</i> (T = 30 °C)						
3	56,4 ± 7,4	18,9 ± 1,6	52,6 ± 8,6	--- ^a	22,9 ± 4,6	n.d.
6	85,4 ± 2,4	21,3 ± 7,8	21,3 ± 2,0	--- ^a	10,4 ± 1,3	n.d.
9	91,2 ± 14,9	17,5 ± 2,9	11,0 ± 1,3	--- ^a	3,9 ± 0,5	n.d.
12	100 ± 10	21,6 ± 0,6	5,7 ± 0,5	--- ^a	2,4 ± 0,3	n.d.
27	114 ± 22	29,4 ± 2,3	3,4 ± 0,5	--- ^a	< LOQ	n.d.
Lagerung unter <i>accelerated conditions</i> (T = 40 °C)						
3	543 ± 76	86,5 ± 9,8	86,2 ± 10,6	--- ^a	17,9 ± 2,5	n.d.
6	595 ± 24	86,5 ± 1,1	22,5 ± 0,3	--- ^a	3,7 ± 0,1	n.d.
9	634 ± 63	83,0 ± 4,8	12,0 ± 1,5	--- ^a	< LOQ	--- ^a
12	678 ± 174	85,9 ± 8,3	n.d.	--- ^a	< LOQ	--- ^a
27	701 ± 99	96,1 ± 9,2	n.d.	--- ^a	< LOQ	--- ^a
Ausbeute Matrixentnahme		94,7 ± 0,8 % (n = 60)		Wiederfindung (ISTD)		93,6 ± 2,0 % (n = 30)

Mittelwerte mit Standardabweichung (n = 3) in µg/kg Matrix; ^a keine Auswertung wegen Peaküberlagerung

Tab. 8.46: 2-Propanolhaltiges Carbomergel DAB: Ergebnis der Migrationsstudie

Lagerdauer [Wochen]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl
Lagerung unter <i>intermediate conditions</i> (T = 30 °C)						
3	332 ± 112	73,2 ± 9,7	752 ± 238	24,8 ± 4,3	541 ± 163	42,7 ± 9,0
6	686 ± 77	114 ± 3,7	424 ± 30	49,6 ± 3,0	147 ± 7	16,6 ± 1,0
9	816 ± 70	114 ± 2,4	253 ± 11	56,1 ± 3,3	67,7 ± 2,3	13,3 ± 0,5
12	754 ± 177	107 ± 23,4	105 ± 16	54,4 ± 9,9	27,3 ± 2,8	7,8 ± 1,2
27	1260 ± 220	132 ± 10,5	30,0 ± 3,3	78,5 ± 8,9	2,9 ± 0,4	n.d.
Lagerung unter <i>accelerated conditions</i> (T = 40 °C)						
3	6710 ± 1390	383 ± 13	3140 ± 930	350 ± 48	513 ± 145	102 ± 22
6	8630 ± 450	619 ± 57	444 ± 37	483 ± 12	59,5 ± 4,1	72,5 ± 2,9
9	9060 ± 2300	507 ± 18	n.d.	452 ± 76	11,7 ± 3,5	n.d.
12	8160 ± 2130	611 ± 19	n.d.	449 ± 56	7,6 ± 2,3	n.d.
27	10800 ± 800	680 ± 34	n.d.	504 ± 52	10,4 ± 0,8	n.d.
Ausbeute Matrixentnahme		94,5 ± 0,9 % (n = 60)		Wiederfindung (ISTD)		92,5 ± 2,7 % (n = 30)

Mittelwerte mit Standardabweichung (n = 3) in µg/kg Matrix

8.6.6.4 Einfluss des Emulgators

Tab. 8.47: Einfache Augensalbe DAC + 10 % Span 60: Ergebnis der Migrationsstudie ($T = 40\text{ °C}$)

Lagerdauer [Monate]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl
2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	24,8 ± 5,6	n.d.
4	n.d.	< LOQ	n.d.	n.d.	39,2 ± 6,3	n.d.
6	n.d.	< LOQ	n.d.	n.d.	23,7 ± 8,6	n.d.
Ausbeute Matrixentnahme		95,9 ± 0,5 % ($n = 18$)		Wiederfindung (ISTD)		49,2 ± 10,1 % ($n = 9$)

Mittelwerte mit Standardabweichung ($n = 3$) in µg/kg Matrix

Tab. 8.48: Einfache Augensalbe DAC + 10 % Polysorbat 60: Ergebnis der Migrationsstudie ($T = 40\text{ °C}$)

Lagerdauer [Monate]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl
2	69,9 ± 17,6	225 ± 7	1640 ± 240	150 ± 20	9680 ± 1570	745 ± 98
4	200 ± 55	348 ± 5	2290 ± 620	247 ± 68	10200 ± 2900	880 ± 178
6	505 ± 77	374 ± 17	3390 ± 570	445 ± 59	9730 ± 1750	1020 ± 120
Ausbeute Matrixentnahme		95,4 ± 0,5 % ($n = 12$) ^a		Wiederfindung (ISTD)		96,1 ± 3,2 % ($n = 9$)

Mittelwerte mit Standardabweichung ($n = 3$) in µg/kg Matrix; ^a aufgrund von erhöhtem Ausschuss bei der Probenahme (Undichtigkeiten) wurden nach vier und sechs Monaten die Inhalte von Einzeltuben aufgearbeitet

Tab. 8.49: Polysorbat 60: Ergebnis der Migrationsstudie ($T = 40\text{ °C}$)

Lagerdauer [Monate]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl
2	192 ± 102	--- ^a	3300 ± 870	--- ^a	16000 ± 4300	1140 ± 270
4	543 ± 34	--- ^a	5220 ± 230	--- ^a	19100 ± 700	1570 ± 50
6	852 ± 120	--- ^a	5390 ± 570	--- ^a	12500 ± 1000	1270 ± 90
Ausbeute Matrixentnahme		94,3 ± 3,0 % ($n = 9$)		Wiederfindung (ISTD)		96,0 ± 1,8 % ($n = 9$)

Mittelwerte mit Standardabweichung ($n = 3$) in µg/kg Matrix; ^a keine Auswertung wegen Peaküberlagerung

8.6.6.5 PEG-Partialstruktur

Tab. 8.50: PEG 300: Ergebnis der Migrationsstudie ($T = 40\text{ °C}$)

Lagerdauer [Monate]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl
2 ^a	4090 ± 260	534 ± 40	14800 ± 900	534 ± 36	13000 ± 800	738 ± 38
4	8180 ± 420	466 ± 97	15500 ± 700	684 ± 29	11100 ± 300	518 ± 20
6	12700 ± 1900	456 ± 251	13600 ± 2000	880 ± 97	3170 ± 530	261 ± 44
Ausbeute Matrixentnahme		96,1 ± 0,6 % ($n = 9$)		Wiederfindung (ISTD)		106,8 ± 2,4 % ($n = 6$) ^a

Mittelwerte mit Standardabweichung ($n = 3$) in µg/kg Matrix; ^a fehlerhafte ISTD-Zugabe: Werte unkorrigiert

Tab. 8.51: *Macrogolsalbe DAC*: Ergebnis der Migrationsstudie

Lagerdauer [Wochen]	BADGE ·2H ₂ O	BPA ^a	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl
Lagerung unter <i>intermediate conditions</i> (T = 30 °C)						
1	138 ± 9	377 ± 15	2640 ± 260	n.d.	20300 ± 2600	356 ± 29
2	189 ± 57	487 ± 45	2130 ± 790	n.d.	21400 ± 6200	444 ± 87
3	218 ± 12	529 ± 74	3710 ± 100	< LOQ	23000 ± 1200	532 ± 30
4 ^b	230 ± 68	579 ± 89	3680 ± 1000	< LOQ	17900 ± 4700	640 ± 101
8	635 ± 60	467 ± 42	5630 ± 480	202 ± 11	14900 ± 1100	999 ± 51
Lagerung unter <i>accelerated conditions</i> (T = 40 °C)						
1	244 ± 24	653 ± 49	4230 ± 320	< LOQ	28300 ± 2300	620 ± 36
2	299 ± 86	696 ± 126	4870 ± 1070	< LOQ	25700 ± 4400	638 ± 87
3	354 ± 22	566 ± 23	5190 ± 250	< LOQ	19800 ± 600	614 ± 11
4 ^b	620 ± 58	630 ± 18	7470 ± 630	85,5 ± 7,5	21300 ± 1200	827 ± 17
8	3050 ± 650	480 ± 62	14600 ± 2600	516 ± 50	16600 ± 2300	964 ± 30
Lagerung ‚In-Use‘ unter <i>accelerated conditions</i> (T = 40 °C)						
1	225 ± 69	586 ± 114	3840 ± 830	< LOQ	25300 ± 7100	566 ± 80
2	257 ± 80	663 ± 155	4100 ± 940	< LOQ	20800 ± 4900	586 ± 106
3	424 ± 77	747 ± 119	5959 ± 990	38,5 ± 3,8	21800 ± 3800	699 ± 31
4 ^b	792 ± 117	638 ± 48	8700 ± 1170	114 ± 11	23000 ± 2600	952 ± 96
8	3180 ± 170	396 ± 28	15400 ± 700	550 ± 21	17800 ± 700	1040 ± 50
Ausbeute Matrixentnahme		94,6 ± 0,7 % (n = 45)		Wiederfindung (ISTD)		98,8 ± 1,6 % (n = 36) ^a

Mittelwerte mit Standardabweichung (n = 3) in µg/kg Matrix; ^a BPA wegen partieller Peaküberlappung nur grob abgeschätzt; ^b fehlerhafte ISTD-Zugabe: Werte unkorrigiert

8.6.6.6 In-Use-Bedingungen

Tab. 8.52: *Macrogolsalbe DAC* in Tubentyp M: Ergebnis der Migrationsstudie

Lagerdauer [Wochen]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl
Lagerung unter <i>accelerated conditions</i> (T = 40 °C)						
4	n.d.	< LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
8	< LOQ	54,2 ± 19,6	< LOQ	n.d.	< LOQ ^a	n.d.
Lagerung ‚In-Use‘ unter <i>accelerated conditions</i> (T = 40 °C)						
4	n.d.	49,6 ± 10,9	n.d.	n.d.	< LOQ	n.d.
8	< LOQ	127 ± 8	< LOQ	n.d.	< LOQ	n.d.
Ausbeute Matrixentnahme		94,8 ± 0,6 % (n = 12)		Wiederfindung (ISTD)		98,4 ± 1,4 % (n = 12)

Mittelwerte mit Standardabweichung (n = 3) in µg/kg Matrix; ^a 1 Ausreißer (n = 2)

9 Literaturverzeichnis

- AALTO-KORTE K, ALANKO K, HENRIKS-ECKERMAN ML, ESTLANDER T, JOLANKI R. Allergic contact dermatitis from bisphenol A in PVC gloves. *Contact Derm.* **2003**; 49 (4): 202-5.
- AFC. Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food (AFC) on a request from the Commission related to 2,2-bis(4-hydroxyphenyl)propane bis(2,3-epoxypropyl)ether (Bisphenol A diglycidyl ether, BADGE). *The EFSA Journal.* **2004**; 86: 1-40.
- AFC. 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). *The EFSA Journal.* **2006**; 428: 1-75.
- AHN SW, NEDUMARAN B, XIE Y, KIM DK, KIM YD, CHOI HS. Bisphenol A bis(2,3-dihydroxypropyl)ether (BADGE-2H₂O) induces orphan nuclear receptor Nur77 gene expression and increases steroidogenesis in mouse testicular Leydig cells. *Mol Cells.* **2008**; 26 (1): 74-80.
- ALEXIADOU DK, MARAGOU NC, THOMAIDIS NS, THEODORIDIS GA, KOUPPARIS MA. Molecularly imprinted polymers for bisphenol A for HPLC and SPE from water and milk. *J Sep Sci.* **2008**; 31 (12): 2272-82.
- AMADO A und TAYLOR JS. Contact allergy to epoxy resins. *Contact Dermatitis.* **2008**; 58 (3): 186-7.
- AMG - ARZNEIMITTELGESETZ in der Fassung der Bekanntmachung vom 12.12.2005 (BGBl. I S.3394), zuletzt geändert durch Art. 9 Abs. 1 des Gesetzes zur Reform des Versicherungsvertragsrechtes vom 23.11.2007. (BGBl. I S. 2631)
- AMMON HPT. Hunnius, Pharmazeutisches Wörterbuch. 9. Auflage [Online]. Berlin: de Gruyter; **2007**.
- ANDERSEN M, KIEL P, LARSEN H, MAXILD J. Mutagenic action of aromatic epoxy resins. *Nature.* **1978**; 276 (5686): 391-2.
- ANKLAM E und BATTAGLIA R. Solving the BADGE problem by analysis? *Eur Food Res Technol.* **1999**; 210 (2): 153-4.
- ARAKAWA C, FUJIMAKI K, YOSHINAGA J, IMAI H, SERIZAWA S, SHIRAIISHI H. Daily Urinary Excretion of Bisphenol A. *Environ Health Prev Med.* **2004**; 9: 22-6.
- ARBIN A, JACOBSSON S, HÄNNINEN K, HAGMAN A, ÖSTELIUS J. Studies on contamination of intravenous solutions from PVC-bags with dynamic headspace GC-MS and LC-diode array techniques. *Int J Pharm.* **1986**; 28 (2-3): 211-8.
- ARENHOLT-BINDSLEV D, BREINHOLT V, PREISS A, SCHMALZ G. Time-related bisphenol-A content and estrogenic activity in saliva samples collected in relation to placement of fissure sealants. *Clin Oral Investig.* **1999**; 3 (3): 120-5.

- BAE N, JEONG JH, LEE SJ. The quantification and characterization of endocrine disruptor bisphenol-A leaching from epoxy resin. *Water Sci Technol.* **2002**; 46 (11-12): 381-7.
- BALLESTEROS-GÓMEZ A, RUBIO S, PÉREZ-BENDITO D. Analytical methods for the determination of bisphenol A in food. *J Chromatogr A.* **2009**; 1216 (3): 449-69.
- BANER AL, BRANDSCH R, PIRINGER O. Interaction between packaging and food. In: BUCHNER N, WEISSER H, VOGELPOHL H, BANER AL, BRANDSCH R, PIRINGER O. *Foods*, 4. Food Packaging. [Online]. **2003**. Verfügbar über: Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. 7th ed. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons; 2008. [letzter Zugriff: 2008-08-07]
- BASHEER C und LEE HK. Analysis of endocrine disrupting alkylphenols, chlorophenols and bisphenol-A using hollow fiber-protected liquid-phase microextraction coupled with injection port-derivatization gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A.* **2004**; 1057 (1-2): 163-9.
- BEGLEY TH, BILES JE, HOLLIFIELD HC. Migration of an Epoxy Adhesive Compound into a Food-Simulating Liquid and Food from Microwave Susceptor Packaging. *J Agric Food Chem.* **1991**; 39 (11): 1944-5.
- BEGLEY T, CASTLE L, FEIGENBAUM A, FRANZ R, HINRICHS K, LICKLY T, MERCEA P, MILANA M, O'BRIEN A, REBRE S, RIJK R, PIRINGER O. Evaluation of migration models that might be used in support of regulations for food-contact plastics. *Food Addit Contam.* **2005**; 22 (1): 73-90.
- BERGER U und OEHME M. Identification of Derivatives of Bisphenol A Diglycidyl Ether and Novolac Glycidyl Ether in Can Coatings by Liquid Chromatography/Ion Trap Mass Spectrometry. *J AOAC Int.* **2000**; 83 (6): 1367-76.
- BERGER U, OEHME M, GIRARDIB L. Quantification of derivatives of bisphenol A diglycidyl ether (BADGE) and novolac glycidyl ether (NOGE) migrated from can coatings into tuna by HPLC/fluorescence and MS detection. *Fresenius J Anal Chem.* **2001**; 369 (2): 115-23.
- BERGERON RM, THOMPSON TB, LEONARD LS, PLUTA L, GAIDO KW. Estrogenicity of bisphenol A in a human endometrial carcinoma cell line. *Mol Cell Endocrinol.* **1999**; 150 (1-2): 179-87.
- BEYER H und WALTER W. Lehrbuch der organischen Chemie. 21., völlig neu bearb. Aufl., Stuttgart: Hirzel; **1988**. 312.
- BIEDERMANN M, GROB K, BRONZ M, CURCIO R, HUBER M, LOPEZ-FABAL F. Bisphenol-A-Diglycidyl Ether (BADGE) in Edible-Oil-Containing Canned Foods: Determination by LC-LC-Fluorescence Detection. *Mitt Gebiete Lebensm Hyg.* **1996**; 87: 547-58.
- BIEDERMANN M, BRONZ M, GROB K. BADGE and its Accompanying Compounds in Canned Oily Foods: Further Results. *Mitt Gebiete Lebensm Hyg.* **1997**; 88: 277-92.
- BIEDERMANN M und GROB K. Food contamination from epoxy resins and organosols used as can coatings: analysis by gradient NPLC. *Food Addit Contam.* **1998**; 15 (5): 609-18.

- BIEDERMANN M, GROB K, BÖHLER P, WIDMER HR. Identification of Migrants from Coatings of Food Cans and Tubes: Reaction Products of Bisphenol-A-Diglycidyl Ether (BADGE) with Phenols and Solvents. *Mitt Gebiete Lebensm Hyg.* **1998**; 89: 529-47.
- BIEDERMANN M, BRONZ M, BÜRCHLER B, GROB K, KELLER F, NEUKOM HP, RICHARD N, SPINNER C. Reaction Products of Bisphenol-A-Diglycidyl Ether (BADGE) and Bisphenol-F-Diglycidyl Ether (BFDGE) with Hydrochloric Acid and Water in Canned Foods with Aqueous Matrix. 1. Analytical Methods. *Mitt Gebiete Lebensm Hyg.* **1999a**; 90: 177-94.
- BIEDERMANN M, BRONZ M, BÜRCHLER B, GROB K, KELLER F, NEUKOM HP, RICHARD N, SPINNER C. Reaction Products of Bisphenol-A-Diglycidyl Ether (BADGE) and Bisphenol-F-Diglycidyl Ether (BFDGE) with Hydrochloric Acid and Water in Canned Foods with Aqueous Matrix. 2. Results from a Survey of the Swiss Market. *Mitt Gebiete Lebensm Hyg.* **1999b**; 90: 195-210.
- BIEDERMANN M, WAGNER C, GROB K, IMHOF D, BEUGGERT H. Bisphenol-A-Diglycidyl Ether (BADGE) and Novolak Glycidyl Ether (NOGE) as Additives in Can Coatings. *Mitt Gebiete Lebensm Hyg.* **2000**; 91: 274-86.
- BILES JE, MCNEAL TP, BEGLEY TH, HOLLIFIELD HC. Determination of Bisphenol-A in Reusable Polycarbonate Food-Contact Plastics and Migration to Food-Simulating Liquids. *J Agric Food Chem.* **1997a**; 45 (9): 3541-4.
- BILES JE, MCNEAL TP, BEGLEY TH. Determination of Bisphenol A Migrating from Epoxy Can Coatings to Infant Formula Liquid Concentrates. *J Agric Food Chem.* **1997b**; 45 (12): 4697-700.
- BILES JE, WHITE KD, MCNEAL TP, BEGLEY TH. Determination of the Diglycidyl Ether of Bisphenol A and Its Derivates in Canned Foods. *J Agric Food Chem.* **1999**; 47 (5): 1965-9.
- BISHOP-BAILEY D, HLA T, WARNER TD. Bisphenol A diglycidyl ether (BADGE) is a PPAR γ agonist in an ECV304 cell line. *Br J Pharmacol.* **2000**; 131 (4): 651-4.
- BLEISCH G, GOLDHAHN H, SCHRICKER G, VOGT H. Lexikon Verpackungstechnik. Hamburg: B. Behr's; **2003**.
- BOLZ U, HAGENMAIER H, KÖRNER W. Phenolic xenoestrogens in surface water, sediments, and sewage sludge from Baden-Württemberg, south-west Germany. *Environ Pollut.* **2001**; 115 (2): 291-301.
- BOOGARD PJ, DENNEMAN MA, VAN SITTERT NJ. Dermal penetration and metabolism of five glycidyl ethers in human, rat and mouse skin. *Xenobiotica.* **2000**; 30 (5): 469-83.
- BRAUN P, MOEDER M, SCHRADER S, POPP P, KUSCHK P, ENGEWALD W. Trace analysis of technical nonylphenol, bisphenol A and 17 α -ethinylestradiol in wastewater using solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A.* **2003**; 988 (1): 41-51.
- BRAUNRATH R und CICHNA M. Sample preparation including sol-gel immunoaffinity chromatography for determination of bisphenol A in canned beverages, fruits and vegetables. *J Chromatogr A.* **2005**; 1062 (2): 189-98.

- BRAUNRATH R, PODLIPNA D, PADLESÁK S, CICHNA-MARKL M. Determination of Bisphenol A in Canned Foods by Immunoaffinity Chromatography, HPLC, and Fluorescence Detection. *J Agric Food Chem.* **2005**; 53 (23): 8911-7.
- BREDE C, SKJEVRAK I, HERIKSTAD H, ÅNENSEN E, AUSTVOLL R, HEMMINGSEN T. Improved sample extraction and clean-up for the GC-MS determination of BADGE and BFDGE in vegetable oil. *Food Addit Contam.* **2002**; 19 (5): 483-91.
- BREDE C, FJELDAL P, SKJEVRAK I, HERIKSTAD H. Increased migration levels of bisphenol A from polycarbonate baby bottles after dishwashing, boiling and brushing. *Food Addit Contam.* **2003**; 20 (7): 684-9.
- BREM S, BIEDERMANN M, GROB K, SPINNER C, DUDLER V. Migration from the Internal Coatings of Food Cans and the Lids of Glas Jars: Campaign 2000 on the Swiss Market. *Mitt Gebiete Lebensm Hyg.* **2000**; 91: 567-80.
- BRENN-STRUCKHOFOVA Z und CICHNA-MARKL M. Determination of bisphenol A in wine by sol-gel immunoaffinity chromatography, HPLC and fluorescence detection. *Food Addit Contam.* **2006**; 23 (11): 1227-35.
- BRONZ M, BIEDERMANN M, GROB K. Characterization of Migrates from Can Coatings by Size Exclusion Chromatography; Total Amounts of Phenolics with Molecular Weight below 1000 D. *Mitt Gebiete Lebensm Hyg.* **1998**; 89: 327-38.
- BROTONS JA, OLEA-SERRANO MF, VILLALLOBOS M, PEDRAZA V, OLEA N. Xenoestrogens Released from Lacquer Coatings in Food Cans. *Environ Health Perspect.* **1995**; 103 (6): 608-12.
- CABADO AG, ALDEA S, PORRO C, OJEA G, LAGO J, SOBRADO C, VIEITES JM. Migration of BADGE (bisphenol A diglycidyl-ether) and BFDGE (bisphenol F diglycidyl-ether) in canned seafood. *Food Chem Toxicol.* **2008**; 46 (5): 1674-80.
- CALAFAT AM, KUKLENYIK Z, REIDY JA, CAUDILL SP, EKONG J, NEEDHAM LL. Urinary Concentrations of Bisphenol A and 4-Nonylphenol in a Human Reference Population. *Environ Health Perspect.* **2005**; 113 (4): 391-5.
- CALAFAT AM, YE X, WONG LY, REIDY JA, NEEDHAM LL. Exposure of the U.S. Population to Bisphenol A and 4-*tertiary*-Octylphenol: 2003-2004. *Environ Health Perspect.* **2008**; 116 (1): 39-44.
- CALAFAT AM, WEUVE J, YE X, JIA LT, HU H, RINGER S, HUTTNER K, HAUSER R. Exposure to Bisphenol A and Other Phenols in Neonatal Intensive Care Unit Premature Infants. *Environ Health Perspect.* **2009**; 117 (4): 639-44.
- CAO XL und CORRIVEAU J. Migration of Bisphenol A from Polycarbonate Baby and Water Bottles into Water under Severe Conditions. *J Agric Food Chem.* **2008**; 56 (15): 6378-81.
- CAO XL, DUFRESNE G, BELISLE S, CLEMENT G, FALICKI M, BERARDIN F, RULIBIKIYE A. Levels of Bisphenol A in Canned Liquid Infant Formula Products in Canada and Dietary Intake Estimates. *J Agric Food Chem.* **2008**; 56 (17): 7919-24.

- CAO XL, CORRIVEAU J, POPOVIC S. Levels of Bisphenol A in Canned Soft Drink Products in Canadian Markets. *J Agric Food Chem.* **2009a**; 57 (4): 1307-11.
- CAO XL, CORRIVEAU J, POPOVIC S, CLEMENT G, BERARDIN F, DUFRESNE G. Bisphenol A in Baby Food Products in Glass Jars with Metal Lids from Canadian Markets. *J Agric Food Chem.* **2009b**; 57 (12): 5345-51.
- CARABIAS-MARTÍNEZ R, RODRÍGUEZ-GONZALO E, REVILLA-RUIZ P. Determination of weakly acidic endocrine-disrupting compounds by liquid chromatography-mass spectrometry with post-column base addition. *J Chromatogr A.* **2004**; 1056 (1-2): 131-8.
- CASAJUANA N und LACORTE S. New Methodology for the Determination of Phtalate Esters, Bisphenol A, Bisphenol A Diglycidyl Ether, and Nonylphenol in Commercial Whole Milk Samples. *J Agric Food Chem.* **2004**; 52 (12): 3702-7.
- CASTAN P (DeTrey Frères Co.). Schweizer Patent 211.116. **1940**.
- CLIMIE IJ, HUTSON DH, STOYDIN G. Metabolism of the epoxy resin component 2,2-bis[4-(2,3-epoxypropoxy)phenyl]propane, the diglycidyl ether of bisphenol A (DGEBA) in the mouse. Part I. A comparison of the fate of a single dermal application and of a single oral dose of ¹⁴C-DGEBA. *Xenobiotica.* **1981**; 11 (6): 391-9.
- COBELLIS L, COLACURCI N, TRABUCCO E, CARPENTIERO C, GRUMETTO L. Measurement of bisphenol A and bisphenol B levels in human blood sera from healthy and endometriotic women. *Biomed Chromatogr.* **2009**; 23 (11): 1186-90.
- COTTIER S, RIQUET AM, FEIGENBAUM A, POLLET B, LAPIERRE C, MORTREUIL P. Identification of potential migrants from a vinylic organosol varnish by gas chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A.* **1997**; 771 (1-2): 366-73.
- COTTIER S, FEIGENBAUM A, MORTREUIL P, REYNIER A, DOLE P, RIQUET AM. Interaction of a Vinylic Organosol Used as a Can Coating with Solvents and Food Simulants. *J Agric Food Chem.* **1998**; 46 (12): 5254-61.
- CRATHORNE B, PALMER CP, STANLEY JA. High-performance liquid chromatographic determination of bisphenol A diglycidyl ether and bisphenol F diglycidyl ether in water. *J Chromatogr.* **1986**; 360: 266-70.
- D'ANTUONO A, DALL'ORTO VC, BALBO AL, SOBRAL S, REZZANO I. Determination of Bisphenol A in Food-Simulating Liquids Using LCED with Chemically Modified Electrode. *J Agric Food Chem.* **2001**; 49 (3): 1098-101.
- DAB – DEUTSCHES ARZNEIBUCH 2007. Amtliche Ausgabe. Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag; **2007**.
- DAC – DEUTSCHER ARZNEIMITTEL CODEX. Stand: 1. September 2007. Eschborn: Govi-Verlag Pharmazeutischer Verlag; **2007**.
- DIN. Verpackungsprüfung; Aluminiumtuben; Bestimmung der Verformbarkeit des Tubenmantels. Deutsche Fassung DIN 55436-2:1990-07. Berlin: Beuth Verlag; **1990**.

- DIN. Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze. Deutsche Fassung DIN 32645:1994. Berlin: Beuth Verlag; **1994**.
- DIN. Packmittel – Tuben – Prüfverfahren zur Bestimmung der Luftdichtheit der Verschlüsse; Deutsche Fassung EN 12377:1998. Berlin: Beuth Verlag; **1998**.
- DIN. Packmittel – Zylindrische Metalltuben – Maße und Grenzabmaße; Deutsche Fassung EN 13046:2000. Berlin: Beuth Verlag; **2000a**.
- DIN. Packmittel – Konische Metalltuben – Maße und Grenzabmaße; Deutsche Fassung EN 13047:2000. Berlin: Beuth Verlag; **2000b**.
- DIN. Packmittel – Aluminiumtuben – Tastbare Gefahrenhinweise; Deutsche Fassung EN 14391:2004. Berlin: Beuth Verlag; **2004**.
- DIN. Packmittel – Aluminiumtuben – Prüfverfahren zur Bestimmung der Porosität der Innenbeschichtung; Deutsche Fassung EN 15384:2007. Berlin: Beuth Verlag; **2008a**.
- DIN. Packmittel – Aluminiumtuben – Bestimmung der Haftfestigkeit des Innen- und Außenschutzlackes; Deutsche Fassung EN 15421:2007. Berlin: Beuth Verlag; **2008b**.
- DIN. Packmittel – Tuben – Terminologie; Deutsche Fassung EN 12374:2009. Berlin: Beuth Verlag; **2009a**.
- DIN. Packmittel – Aluminiumtuben – Bestimmung der Manteldicke; Deutsche Fassung EN 12375:2009. Berlin: Beuth Verlag; **2009b**.
- DIN. Packmittel – Aluminiumtuben – Verfahren zur Bestimmung der Dicke des Innenschutzlackes; Deutsche Fassung EN 13048:2009. Berlin: Beuth Verlag; **2009c**.
- DIN. Packmittel – Aluminiumtuben – Prüfverfahren zur Ermittlung der Beständigkeit des Innenschutzlackes gegen Ammoniak; Deutsche Fassung EN 15653:2009. Berlin: Beuth Verlag; **2009d**.
- DIN. Packmittel – Aluminiumtuben – Prüfverfahren zur Bestimmung der Polymerisation der Innenbeschichtung mit Aceton; Deutsche Fassung EN 15766:2009. Berlin: Beuth Verlag; **2009e**.
- DIRTU AC, ROOSENS L, GEENS T, GHEORGHE A, NEELS H, COVACI A. Simultaneous determination of bisphenol A, triclosan, and tetrabromobisphenol A in human serum using solid-phase extraction and gas chromatography-electron capture negative-ionization mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem.* **2008**; 391 (4): 1175-81.
- DU H, YAN H, LI Y, WANG J. Study on Determination of the Xenoestrogens 4-Nonylphenol and Bisphenol A in Vegetables Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Wei Sheng Yan Jiu.* **2007**; 36 (3): 369-71. [chinesisch]
- EMA – EUROPEAN MEDICINES AGENCY. Note for guidance on validation of analytical procedures: text and methodology. CPMP/ICH/381/95. London. **1995**.
<http://www.emea.europa.eu/pdfs/human/ich/038195en.pdf>

- EMA – THE EUROPEAN AGENCY FOR THE EVALUATION OF MEDICINAL PRODUCTS. Note for guidance on in-use stability testing of human medicinal products. CPMP/QWP/2934/99. London. **2001**.
<http://www.emea.europa.eu/pdfs/human/qwp/293499en.pdf>
- EMA – EUROPEAN MEDICINES AGENCY. Note for guidance on stability testing: stability testing of new drugs substances and products. CPMP/ICH/2736/99. London. **2003**.
<http://www.emea.europa.eu/pdfs/human/ich/273699en.pdf>
- EMA – EUROPEAN MEDICINES AGENCY. Guideline on plastic immediate packaging materials. CPMP/QWP/4359/03. London. **2005**.
<http://www.emea.europa.eu/pdfs/human/qwp/435903en.pdf>
- EMONS HH, JANNECK E, KABISCH G, POLLMER K. Untersuchungen an Systemen aus Salzen und gemischten Lösungsmitteln. XXVII. Zur Solvatation von Aluminium(III)-chlorid in Acetonitril und Acetonitril-Wasser-Gemischen (Ramanspektroskopische Untersuchungen). *Z Anorg Allg Chem.* **1984**; 511 (4): 148-60.
- ERMER J und MILLER JHM. Method Validation in Pharmaceutical Analysis. A Guide to Best Practice. Weinheim: Wiley-VCH; **2005**. 101-19.
- ESTLANDER T, JOLANKI R, HENRIKS-ECKERMAN ML, KANERVA L. Occupational contact allergy to bisphenol A. *Contact Dermatitis.* **1999**; 40 (1): 52-3.
- ETMA – EUROPEAN TUBE MANUFACTURERS ASSOCIATION. About tubes. [Online, **2009**]
<http://www.etma-online.org>
- EUROPÄISCHE KOMMISSION. Richtlinie 90/128/EWG der Kommission über Materialien und Gegenstände aus Kunststoff, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen, vom 23. Februar **1990**. (ABl. L 75/19)
- EUROPÄISCHE KOMMISSION. Richtlinie 97/48/EG der Kommission zur zweiten Änderung der Richtlinie 82/711/EWG des Rates über die Grundregeln zur Ermittlung der Migration von Materialien und Gegenständen aus Kunststoff, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen, vom 29. Juli **1997**. (ABl. EG Nr. L 222/10)
- EUROPÄISCHE KOMMISSION. Richtlinie 1999/91/EG der Kommission zur Änderung der Richtlinie 90/128/EWG über Materialien und Gegenstände aus Kunststoff, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen, vom 23. November **1999**. (ABl. EG Nr. 310/41)
- EUROPÄISCHE KOMMISSION. Richtlinie 2001/61/EG der Kommission über die Verwendung bestimmter Epoxyderivate in Materialien und Gegenständen, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen, vom 8. August **2001**. (ABl. EG Nr. L 215/26)
- EUROPÄISCHE KOMMISSION. Richtlinie 2002/16/EG der Kommission über die Verwendung bestimmter Epoxyderivate in Materialien und Gegenständen, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen, vom 20. Februar **2002a**. (ABl. EG Nr. L 51/27)
- EUROPÄISCHE KOMMISSION. Richtlinie 2002/72/EG der Kommission über Materialien und Gegenstände aus Kunststoff, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen, vom 6. August **2002b**. (ABl. EU Nr. L 39/1)

- EUROPÄISCHE KOMMISSION. Richtlinie 2004/19/EG der Kommission zur Änderung der Richtlinie 2002/72/EG über Materialien und Gegenstände aus Kunststoff, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen, vom 1. März **2004a**. (ABl. EU Nr. L 71/8)
- EUROPÄISCHE KOMMISSION. The Rules Governing Medicinal Products in the European Union, Notice to Applicants, Volume 2B; incorporating the Common Technical Document (CTD); Presentation and format of the dossier (3.2.P.2.4), edition July **2004b**: 248.
- EUROPÄISCHE KOMMISSION. Verordnung (EG) Nr. 1895/2005 der Kommission über die Beschränkung der Verwendung bestimmter Epoxyderivate in Materialien und Gegenständen, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen, vom 18. November **2005**. (ABl. EU Nr. L 302/28)
- EUROPÄISCHE KOMMISSION. Verordnung (EG) Nr. 975/2009 der Kommission zur Änderung der Richtlinie 2002/72/EG über Materialien und Gegenstände aus Kunststoff, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen, vom 19. Oktober **2009**. (ABl. EU Nr. L 274/3)
- EUROPÄISCHES PARLAMENT UND RAT. Richtlinie 2001/83/EG des Europäischen Parlaments und des Rates zur Schaffung eines Gemeinschaftskodexes für Humanarzneimittel, vom 6. November **2001**. (ABl. EG Nr. L 311/67)
- EUROPÄISCHES PARLAMENT UND RAT. Verordnung (EG) Nr. 1935/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates über Materialien und Gegenstände, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen und zur Aufhebung der Richtlinien 80/590/EWG und 89/109/EWG, vom 27. Oktober **2004**. (ABl. EU Nr. L 338/4)
- EUROPÄISCHER RAT. Richtlinie 82/711/EWG des Rates über die Grundregeln für die Ermittlung der Migration aus Materialien und Gegenständen aus Kunststoff, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen, vom 18. Oktober **1982**. (ABl. EG Nr. L 297/26)
- FDA – FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Guidance for Industry. Container Closure Systems for Packaging Human Drugs and Biologics [Online]. **1999**.
<http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM070551.pdf>
- FEHLBERG S, TRAUTWEIN S, GÖKE A, GÖKE R. Bisphenol A diglycidyl ether induces apoptosis in tumour cells independently of peroxisome proliferator-activated receptor- γ , in caspase-dependent and -independent manners. *Biochem J*. **2002**; 362 (3): 573-8.
- FEHLBERG S, GREGEL CM, GÖKE A, GÖKE R. Bisphenol A diglycidyl ether-induced apoptosis involves Bax/Bid-dependent mitochondrial release of apoptosis-inducing factor (AIF), cytochrome c and Smac/DIABLO. *Br J Pharmacol*. **2003**; 139 (3): 495-500.
- FRANZ R und WELLE F. Experimentelle Untersuchungen zu stofflichen Veränderungen von Kunststoffverpackungsmaterialien für Lebensmittel durch Bestrahlung. BMG-Projekt 416-6080-5/73. Abschlussbericht. **1998**.
- FREGERT S und THORGEIRSSON A. Patch testing with molecular oligomers of epoxy resins in humans. *Contact Derm*. **1977**; 3 (6): 301-3.

- FUCHSLUEGER U, RISSLER K, STEPHAN H, GREYER HJ, GRASSERBAUER M. High-performance Liquid Chromatography-Mass spectrometry of Epoxy Resins. *J App Polymer Sci.* **1999**; 72 (7): 913-25.
- FUNG EYK, EWOLDSSEN NO, GERMAIN HAS, MARX DB, MIAW CL, SIEW C, CHOU HN, GRUNINGER SE, MEYER DM. Pharmacokinetics of Bisphenol A Released from Dental Sealant. *Journal Am Dent Assoc.* **2000**; 131 (1): 51-8.
- FUNK W, DAMMANN V, DONNEVERT G. Quality Assurance in Analytical Chemistry. 2nd completely rev. and enl. ed. Weinheim: Wiley-VCH; **2007**.
- GEIER J, LESSMANN H, HILLEN U, JAPPE U, DICKEL H, KOCH P, FROSCH PJ, SCHNUCH A, UTER W. An attempt to improve diagnostics of contact allergy due to epoxy resin systems. First results of the multicentre study EPOX 2002. *Contact Derm.* **2004**; 51 (5-6): 263-72.
- GEIER J, LESSMANN H, UTER W, SCHNUCH A. Are concomitant patch test reactions to epoxy resin and BIS-GMA indicative of cross-reactivity? *Contact Derm.* **2007**; 57 (6): 376-80.
- GOLDA H. Die Sauberhaltung bei der Herstellung von Tuben. In: ALGNER S, HELBIG J, SPINGLER E. Primär-Packmittel. Herstellung + Optimierung + Kontrolle = Sicherheit. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft; **1984**. 32-3.
- GOLDA H. Metall – Packstoff für pharmazeutische Verpackungen. In: HELBIG J, SPINGLER E. Kunststoffe für die Pharmazeutische Verpackung. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft; **1985**. 89-96.
- GOLOUBKOVA T, RIBEIRO MF, RODRIGUES LP, CECCONELLO AL, SPRITZER PM. Effects of xenoestrogen bisphenol A on uterine and pituitary weight, serum prolactin levels and immunoreactive prolactin cells in ovariectomized Wistar rats. *Arch Toxicol.* **2000**; 74 (2): 92-8.
- GOODSON A, SUMMERFIELD W, COOPER I. Survey of bisphenol A and bisphenol F in canned foods. *Food Addit Contam.* **2002**; 19 (8): 796-802.
- GOODSON A, ROBIN H, SUMMERFIELD W, COOPER I. Migration of bisphenol A from can coatings – effects of damage, storage, conditions and heating. *Food Addit Contam.* **2004**; 21 (10): 1015-26.
- GROB K, BIEDERMANN M, SCHERBAUM E, ROTH M, RIEGER K. Food Contamination with Organic Materials in Perspective: Packaging Materials as the Largest and Least Controlled Source? A View Focusing on the European Situation. *Crit Rev Food Sci Nutr.* **2006**; 46 (7): 529-35.
- GRUMETTO L, MONTESANO D, SECCIA S, ALBRIZIO S, BARBATO F. Determination of Bisphenol A and Bisphenol B Residues in Canned Peeled Tomatoes by Reversed-Phase Liquid Chromatography. *J Agric Food Chem.* **2008**; 56 (22): 10633-7.
- GÜNZLER H, GREMLICH HU. IR-Spektroskopie: Eine Einführung. 4., vollst. überarb. und aktual. Aufl. Weinheim: Wiley-VCH; **2003**. 123-6.
- GUPTA C. Reproductive Malformation of the Male Offspring Following Maternal Exposure to Estrogenic Chemicals. *Proc Soc Exp Biol Med.* **2000**; 224 (2): 61-8.
- HAISHIMA Y, HAYASHI Y, YAGAMI T, NAKAMURA A. Elution of Bisphenol A from Hemodialyzers Consisting of Polycarbonate Resins. *J Biomed Mater Res.* **2001**; 58 (2): 209-15.

- HAMMARLING L, GUSTAVSSON H, SVENSSON K, OSKARSSON A. Migration of bisphenol-A diglycidyl ether (BADGE) and its reaction products in canned foods. *Food Addit Contam.* **2000**; 17 (11): 937-43.
- HAN H, SHAO B, MA Y, WU G, XUE Y. Determination of estrogen-like compounds in beverages by high performance liquid chromatography. *Se Pu.* **2005**; 23 (2): 176-9. [chinesisch]
- HANAOKA T, KAWAMURA N, HARA K, TSUGANE S. Urinary bisphenol A and plasma hormone concentrations in male workers exposed to bisphenol A diglycidyl ether and mixed organic solvents. *Occup Environ Med.* **2002**; 59: 625-8.
- HANIOKA N, TAKEDA Y, TANAKA-KAGAWA T, HAYASHI K, JINNO H, NARIMATSU S. Interaction of bisphenol A with human UDP-glucuronosyltransferase 1A6 enzyme. *Environ Toxicol.* **2008**; 23 (3): 407-12.
- HANNU T, FRILANDER K, KAUPPI P, KUULIALA O, ALANKO K. IgE-Mediated Occupational Asthma from Epoxy Resin. *Int Arch Allergy Immunol.* **2009**; 148 (1): 41-4.
- HASEMAN JK und CLARK AM. Carcinogenicity results for 114 laboratory animal studies used to assess the predictivity of four in vitro genetic toxicity assays for rodent carcinogenicity. *Environ Mol Mutagen.* **1990**; 16 Suppl 18: 15-31.
- HAUBRUGE E, PETIT F, GAGE MJ. Reduced sperm counts in guppies (*Poecilia reticulata*) following exposure to low levels of tributyltin and bisphenol A. *Proc Biol Sci.* **2000**; 267 (1459): 2333-7.
- HAVERKAMP JB, LIPKE U, ZAPF T, GALENSA R, LIPPERHEIDE C. Interaktionen zwischen Arzneimittel und Primärverpackung. *ApothekenMagazin.* **2007**; 25 (9): 8-14.
- HAVERKAMP JB, LIPKE U, ZAPF T, GALENSA R, LIPPERHEIDE C. Contamination of Semi-Solid Dosage Forms by Leachables from Aluminium Tubes. *Eur J Pharm Biopharm.* **2008**; 70 (3): 921 8.
- HEEMKEN OP, REINCKE H, STACHEL B, THEOBALD N. The occurrence of xenoestrogens in the Elbe river and the North Sea. *Chemosphere.* **2001**; 45 (3): 245-59.
- HENRIKS-ECKERMAN ML und LAIJOKI T. Determination of Oligomer 340 and Polyamines in Cured Epoxy Resins by Extraction and High-performance Liquid Chromatography. *Analyst.* **1988**; 113 (2): 239-42.
- HIGUCHI M, MIYATA D, KAWAMURA S, UEDA E, IMANAKA M, TONOGAI Y. Estimation of Daily Intake of Phenols in Hospital Meal Samples. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi.* **2004**; 45 (6): 339-43. [japanisch]
- HIROI H, TSUTSUMI O, MOMOEDA M, TAKAI Y, OSUGA Y, TAKETANI Y. Differential Interactions of Bisphenol A and 17 β -estradiol with Estrogen Receptor α (ER α) and ER β . *Endocr J.* **1999**; 46 (6): 773-8.
- HIROI H, TSUTSUMI O, TAKEUCHI T, MOMOEDA M, IKEZUKI Y, OKAMURA A, YOKOTA H, TAKETANI Y. Differences in Serum Bisphenol A Concentrations in Premenopausal Normal Women and Women with Endometrial Hyperplasia. *Endocr J.* **2004**; 51 (6): 595-600.
- HONMA S, SUZUKI A, BUCHANAN DL, KATSU Y, WATANABE H, IGUCHI T. Low dose effect of in utero exposure to bisphenol A and diethylstilbestrol on female mouse reproduction. *Reprod Toxicol.* **2002**; 16 (2): 117-22.

- HONMA T, MIYAGAWA M, SUDA M, WANG RS, KOBAYASHI K, SEKIGUCHI S. Effects of Perinatal Exposure to Bisphenol A on Brain Neurotransmitters in Female Rat Offspring. *Ind Health*. **2006**; 44 (3): 510-24.
- HORIE M, YOSHIDA T, ISHII R, KOBAYASHI S, NAKAZAWA H. Determination of bisphenol A in canned drinks by LC/MS. *Bunseki Kagaku*. **1999**; 48 (6): 579-87. [japanisch]
- HOWDESHELL KL, HOTCHKISS AK, THAYER KA, VANDENBERGH JG, VOM SAAL FS. Exposure to bisphenol A advances puberty. *Nature*. **1999**; 401 (6755): 763-4.
- HOWDESHELL KL, PETERMAN PH, JUDY BM, TAYLOR JA, ORAZIO CE, RUHLEN RL, VOM SAAL FS, WELSHONS WV. Bisphenol A is Released from Used Polycarbonate Animal Cages into Water at Room Temperature. *Environ Health Perspect*. **2003**; 111 (9): 1180-7.
- HOWE SE und BORODINSKY L. Potential exposure to bisphenol A from food-contact use of polycarbonate resins. *Food Addit Contam*. **1998**; 15 (3): 370-5.
- HUMMEL DO und SCHOLL F. Atlas der Polymer- und Kunststoffanalyse. 2., völlig neu bearb. Aufl. Band 2, Kunststoffe, Fasern, Kautschuk, Harze; Ausgangs- und Hilfsstoffe, Abbauprodukte. Weinheim: Verlag Chemie; **1988**. 307-9.
- HUTSON DH. Bisphenol A Diglycidyl Ether as a Potential Metabolic Source of Bisphenol A. *Environ Health Perspect*. **1998**; 106 (10): A472-3.
- HYDRO ALUMINIUM GMBH. Untersuchungsbericht RDB-06-083. Bonn. **2006**.
- HYOUNG UJ, YANG YJ, KWON SK, YOO JH, MYOUNG SC, KIM SC, HONG YP. Developmental Toxicity by Exposure to Bisphenol A Diglycidyl Ether during Gestation and Lactation Period in Sprague-dawley Male Rats. *J Prev Med Public Health*. **2007**; 40 (2): 155-61.
- IMANAKA M, SASAKI K, NEMOTO S, UEDA E, MURAKAMI E, MIYATA D, TONOGAI Y. Determination of Bisphenol A in Foods Using GC/MS. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*. **2001**; 42 (2): 71-8. [japanisch]
- INOUE K, YAMAGUCHI A, WADA M, YOSHIMURA Y, MAKINO T, NAKAZAWA H. Quantitative detection of bisphenol A and bisphenol A diglycidyl ether metabolites in human plasma by liquid chromatography-electrospray mass spectrometry. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*. **2001**; 765 (2): 121-6.
- INOUE K, YOSHIE Y, KONDO S, YOSHIMURA Y, NAKAZAWA H. Determination of phenolic xenoestrogens in water by liquid chromatography with coulometric-array detection. *J Chromatogr A*. **2002**; 946 (1-2): 291-4.
- INOUE K, MURAYAMA S, TAKBA K, YOSHIMURA Y, NAKAZAWA H. Contamination of xenoestrogens bisphenol A and F in honey: safety assessment and analytical method of these compounds in honey. *J Food Composit Anal*. **2003**; 16 (4): 497-506.
- JENKE DR. Modeling of solute sorption by polyvinyl chloride plastic infusion bags. *J Pharm Sci*. **1993**; 82 (11): 1134-39.
- JENKE D, ODUFU A, POSS M. The effect of solvent polarity on the accumulation of leachables from pharmaceutical product containers. *Eur J Pharm Sci*. **2006**; 27 (2-3): 133-42.

- JENKINS WA and OSBORN KR. Packaging Drugs and Pharmaceuticals. Basel: Technomic Publishing; **1993**.
- JOLANKI R, ESTLANDER T, KANERVA L. 182 patients with occupational allergic epoxy contact dermatitis over 22 years. *Contact Derm.* **2001**; 44 (2): 121-3.
- JOSKOW R, BARR DB, BARR JR, CALAFAT AM, NEEDHAM LL, RUBIN C. Exposure to bisphenol A from bis-glycidyl dimethacrylate-based dental sealants. *J Am Dent Assoc.* **2006**; 137 (3): 353-62.
- KADDAR N, HARTHÉ C, DÉCHAUD H, MAPPUS E, PUGEAT M. Cutaneous Penetration of Bisphenol A in Pig Skin. *J Toxicol Environ Health A.* **2008**; 71 (8): 471-3.
- KANERVA L, JOLANKI R, TUPASELA O, HALMEPURO L, KESKINEN H, ESTLANDER T, SYSILAMPI ML. Immediate and delayed allergy from epoxy resins based on diglycidyl ether of bisphenol A. *Scand J Work Environ Health.* **1991**; 17 (3): 208-15.
- KANERVA L, ESTLANDER T, KESKINEN H, JOLANKI R. Occupational allergic airborne contact dermatitis and delayed bronchial asthma from epoxy resin revealed by bronchial provocation test. *Eur J Dermatol.* **2000**; 10 (6): 475-7.
- KANERVA L, PELTTARI M, JOLANKI R, ALANKO K, ESTLANDER T, SUHONEN R. Occupational contact urticaria from diglycidyl ether of bisphenol A epoxy resin. *Allergy.* **2002**; 57 (12): 1205-7.
- KANG JH und KONDO F. Bisphenol A migration from cans containing coffee and caffeine. *Food Addit Contam.* **2002a**; 19 (9): 886-90.
- KANG JH und KONDO F. Determination of bisphenol A in canned pet foods. *Res Vet Sci.* **2002b**; 73 (2): 177-82.
- KANG JH und KONDO F. Determination of Bisphenol A in Milk and Dairy Products by High-Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection. *J Food Prot.* **2003**; 66 (8): 1439-43.
- KANG JH, KITO K, KONDO F. Factors Influencing the Migration of Bisphenol A from Cans. *J Food Prot.* **2003**; 66 (8): 1444-7.
- KANG JH, KONDO F, KATAYAMA Y. Human exposure to bisphenol A. *Toxicology.* **2006**; 226 (2-3): 79-89.
- KAWAGUCHI M, INOUE K, YOSHIMURA M, ITO R, SAKUI N, OKANOUCI N, NAKAZAWA H. Determination of bisphenol A in river water and body fluid samples by stir bar sorptive extraction with in situ derivatization and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* **2004**; 805 (1): 41-8.
- KAWAMURA Y, INOUE K, NAKAZAWA H, YAMADA T, MAITANI T. Cause of Bisphenol A Migration from Cans for Drinks and Assessment of Improved Cans. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi.* **2001**; 42 (1): 13-7. [japanisch]
- KAYSER D und SCHLEDE E. Chemikalien und Kontaktallergie – Eine bewertende Zusammenstellung. Komplettfassung, vollst. überarb. München: Urban und Vogel; **2001**.

- KERI RA, HO SM, HUNT PA, KNUDSEN KE, SOTO AM, PRINS GS. An evaluation of evidence for the carcinogenic activity of bisphenol A. *Reprod Toxicol*. **2007**; 24 (2): 240-52.
- KIM HS, HAN SY, YOO SD, LEE BM, PARK KL. Potential Estrogenic Effects of Bisphenol-A Estimated by *In Vitro* and *In Vivo* Combination Assays. *J Toxicol Sci*. **2001**; 26 (3): 111-8.
- KRISHNAN AV, STATHIS P, PERMUTH SF, TOKES L, FELDMAN D. Bisphenol A: An Estrogenic Substance is Released from Polycarbonate Flasks during Autoclaving. *Endocrinology*. **1993**; 132 (6): 2279-86.
- KROMIDAS S. Handbuch Validierung in der Analytik. Weinheim: Wiley-VCH; **2000**.
- KUO HW und DING WH. Trace determination of bisphenol A and phytoestrogens in infant formula powders by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A*. **2004**; 1027 (1-2): 67-74.
- LAGANÀ A, BACALONI A, DE LEVA I, FABERI A, FAGO G, MARINO A. Analytical methodologies for determining the occurrence of endocrine disrupting chemicals in sewage treatment plants and natural waters. *Anal Chim Acta*. **2004**; 501 (1): 79-88.
- LAMBERT C und LARROQUE M. Chromatographic Analysis of Water and Wine Samples for Phenolic Compounds Released from Food-Contact Epoxy Resins. *J Chromatogr Sci*. **1997**; 35 (2): 57-62.
- LAMBERT C, LARROQUE M, LEBRUN JC, GÉRARD JF. Food-contact epoxy resin: co-variation between migration and degree of cross-linking. *Food Addit Contam*. **1997**; 14 (2): 199-208.
- LAMBERT C, LARROQUE M, SUBIRATS JT, GÉRARD JF. Food-contact epoxy resin: co-variation between migration and degree of cross-linking. Part II. *Food Addit Contam*. **1998**; 15 (3): 318-28.
- LARROQUE M, VIAN L, BLAISE A, BRUN S. Chromatographic determination of residual monomers of epoxy resins in wine simulants. *J Chromatogr*. **1988**; 445 (1): 107-17. [französisch]
- LAU OW und WONG SK. Contamination in food from packaging material. *J Chromatogr A*. **2000**; 882 (1-2): 255-70.
- LE HH, CARLSON EM, CHUA JP, BELCHER SM. Bisphenol A is released from polycarbonate drinking bottles and mimics the neurotoxic actions of estrogen in developing cerebellar neurons. *Toxicol Lett*. **2008**; 176 (2): 149-56.
- LEE HB, PEART TE, SVOBODA ML. Determination of endocrine-disrupting phenols, acidic pharmaceuticals, and personal-care products in sewage by solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A*. **2005**; 1094 (1-2): 122-9.
- LEE HN, POKORNY CD, LAW S, PRATT M, SASSEVILLE D, STORRS FJ. Cross-reactivity among epoxy acrylates and bisphenol F epoxy resins in patients with bisphenol A epoxy resin sensitivity. *Am J Contact Dermat*. **2002**; 13 (3): 108-15.
- LEEPIPATPIBOON N, SAE-KHOW O, JAYANTA S. Simultaneous determination of bisphenol A-diglycidyl ether, bisphenol F-diglycidyl ether, and their derivatives in oil-in-water and aqueous-based canned foods by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J Chromatogr A*. **2005**; 1073 (1-2): 331-9.

- LEWIS JB, RUEGGERBERG FA, LAPP CA, ERGLE JW, SCHUSTER GS. Identification and characterization of estrogen-like components in commercial resin-based dental restorative materials. *Clin Oral Investig*. **1999**; 3 (3): 107-13.
- LI W, SEIFERT M, XU Y, HOCK B. Comparative study of estrogenic potencies of estradiol, tamoxifen, bisphenol-A and resveratrol with two in vitro bioassays. *Environ Int*. **2004**; 30 (3): 329-35.
- LIM LW und TAKEUCHI T. On-line precolumn enrichment of bisphenol A using boronate column in microcolumn liquid chromatography. *J Chromatogr A*. **2006**; 1106 (1-2): 139-45.
- LIMM W und HOLLIFIELD HC. Effects of temperature and mixing on polymer adjuvant migration to corn oil and water. *Food Addit Contam*. **1995**; 12 (4): 609-24.
- LINTSCHINGER J und RAUTER W. Simultaneous determination of bisphenol A-diglycidyl ether, bisphenol F-diglycidyl ether and their hydrolysis and chlorohydroxy derivatives in canned food. *Eur Food Res Technol*. **2000**; 211 (3): 211-7.
- LIU R, ZHOU JL, WILDING A. Simultaneous determination of endocrine disrupting phenolic compounds and steroids in water by solid-phase extraction-gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A*. **2004**; 1022 (1-2): 179-89.
- LIU X, JI Y, ZHANG H, LIU M. Elimination of matrix effects in the determination of bisphenol A in milk by solid-phase microextraction-high-performance liquid chromatography. *Food Addit Contam Part A*. **2008**; 25 (6): 772-8.
- LÓPEZ-CERVANTES J und PASEIRO-LOSADA P. Determination of bisphenol A in, and its migration from, PVC stretch film used for food packaging. *Food Addit Contam*. **2003**; 20 (6): 596-606.
- MAGUIRE HC. Experimental photoallergic contact dermatitis to bisphenol A. *Acta Derm Venereol*. **1988**; 68 (5): 408-12.
- MANABE A, KANEKO S, NUMAZAWA S, ITOH K, INOUE M, HISAMITSU H, SASA R, YOSHIDA T. Detection of Bisphenol-A in Dental Materials by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Dent Mater J*. **2000**; 19 (1): 75-86.
- MANFREDI LB, GINÉZ MJL, BENÍTEZ GJ, EGLI WA, RISSONE H, VÁZQUEZ A. Use of Epoxy-Phenolic Lacquers in Food Coatings: Characterization of Lacquers and Cured Films. *J Appl Polymer Sci*. **2005**; 95 (6): 1448-58.
- MARAGOU NC, LAMPI EN, THOMAIDIS NS, KOUPPARIS MA. Determination of bisphenol A in milk by solid phase extraction and liquid chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A*. **2006**; 1129 (2): 165-73.
- MARAGOU NC, MAKRI A, LAMPI EN, THOMAIDIS NS, KOUPPARIS MA. Migration of bisphenol A from polycarbonate baby bottles under real use conditions. *Food Addit Contam*. **2008**; 25 (3): 373-83.
- MARTENS HJ, DE GOEDE PN, VAN LOENEN AC. Sorption of various drugs in polyvinyl chloride, glass, and polyethylene-lined infusion containers. *Am J Hosp Pharm*. **1990**; 47 (2): 369-73.

- MATTHEWS JB, TWOMEY K, ZACHAREWSKI TR. In Vitro and in Vivo Interactions of Bisphenol A and Its Metabolite, Bisphenol A Glucuronide, with Estrogen Receptors α and β . *Chem Res Toxicol.* **2001**; 14 (2): 149-57.
- MATTHIEU L, GODOI AFL, LAMBERT J, VAN GRIEKEN R. Occupational allergic contact dermatitis from bisphenol A in vinyl gloves. *Contact Derm.* **2004**; 49 (6): 281-3.
- MEYER VR. Praxis der Hochleistungs-Flüssigchromatographie. 9., aktual. Aufl. Weinheim: Wiley-VCH; **2004**.
- MOL HG, SUNARTO S, STEIJGER OM. Determination of endocrine disruptors in water after derivatization with *N*-methyl-*N*-(*tert*-butyldimethyltrifluoroacetamide) using gas chromatography with mass spectrometric detection. *J Chromatogr A.* **2000**; 879 (1): 97-112.
- MOORHATCH P und CHIOU WL. Interactions between drugs and plastic intravenous fluid bags. I. Sorption studies on 17 drugs. *Am J Health Pharm.* **1974**; 31 (1): 72-8.
- MORIYAMA K, TAGAMI T, AKAMIZU T, USUI T, SAIJO M, KANAMOTO N, HATAYA Y, SHIMATSU A, KUZUYA H, NAKAO K. Thyroid Hormone Action Is Disrupted by Bisphenol A as an Antagonist. *J Clin Endocrinol Metab.* **2002**; 87 (11): 5185-90.
- MOUNTFORD KA, KELLY J, JICKELLS SM, CASTLE L. Investigations into the potential degradation of polycarbonate baby bottles during sterilization with consequent release of bisphenol A. *Food Addit Contam.* **1997**; 14 (6): 737-40.
- MUNGUÍA-LÓPEZ EM und SOTO-VALDEZ H. Effect of Heat Processing and Storage Time on Migration of Bisphenol A (BPA) and Bisphenol A-Diglycidyl Ether (BADGE) to Aqueous Food Simulant from Mexican Can Coatings. *J Agric Food Chem.* **2001**; 49 (8): 3666-71.
- MUNGUÍA-LÓPEZ EM, PERALTA E, GONZALEZ-LEON A, VARGAS-REQUENA C, SOTO-VALDEZ H. Migration of Bisphenol A (BPA) from Epoxy Can Coatings to Jalapeño Peppers and an Acid Food Simulant. *J Agric Food Chem.* **2002**; 50 (25): 7299-302.
- MUNGUÍA-LÓPEZ EM, GERARDO-LUGO S, PERALTA E, BOLUMEN S, SOTO-VALDEZ H. Migration of bisphenol A (BPA) from can coatings into fatty-food simulant and tuna fish. *Food Addit Contam.* **2005**; 22 (9): 892-8.
- MURAKAMI K, OHASHI A, HORI H, HIBIYA M, SHOJI Y, KUNISAKI M, AKITA M, YAGI A, SUGIYAMA K, SHIMOZATO S, ITO K, TAKAHASHI H, TAKAHASHI K, YAMAMOTO K, KASUGAI M, KAWAMURA N, NAKAI S, HASEGAWA M, TOMITA M, NABESHIMA K, HIKI Y, SUGIYAMA S. Accumulation of Bisphenol A in Hemodialysis Patients. *Blood Purif.* **2007**; 25 (3): 290-4.
- MYERS JP, VOM SAAL FS, AKINGBEMI BT, ARIZONO K, BELCHER S, COLBORN T, CHAHOUD I, CRAIN DA, FARABOLLINI F, GUILLETTE LJ JR, HASSOLD T, HO SM, HUNT PA, IGUCHI T, JOBLING S, KANNO J, LAUFER H, MARCUS M, MCLACHLAN JA, NADAL A, OEHLMANN J, OLEA N, PALANZA P, PARMIGIANI S, RUBIN BS, SCHOENFELDER G, SONNENSCHNEIN C, SOTO AM, TALSNESS CE, TAYLOR JA, VANDENBERG LN, VANDENBERGH JG, VOGEL S, WATSON CS, WELSHONS WV, ZOELLER RT. Why Public Health Agencies Cannot Depend on Good Laboratory Practices as a Criterion for Selecting Data: The Case of Bisphenol A. *Environ Health Perspect.* **2009**; 117 (3): 309-15.

- NAKAMUTA M, ENJOJI M, UCHIMURA K, OHTA S, SUGIMOTO R, KOTOH K, KATO M, IRIE T, MUTA T, NAWATA H. Bisphenol a diglycidyl ether (BADGE) suppresses tumor necrosis factor- α production as a PPAR γ agonist in the murine macrophage-like cell line, RAW 264.7. *Cell Biol Int.* **2002**; 26 (3): 235-41.
- NAKAZAWA H, YAMAGUCHI A, INOUE K, YAMAZAKI T, KATO K, YOSHIMURA Y, MAKINO T. In vitro assay of hydrolysis and chlorohydroxy derivatives of bisphenol A diglycidyl ether for estrogenic activity. *Food Chem Toxicol.* **2002**; 40 (12): 1827-32.
- NATHANSON D, LERTPITAYAKUN P, LAMKIN MS, EDALATPOUR M, CHOU LL. In Vitro Elution of Leachable Components from Dental Sealants. *J Am Dent Assoc.* **1997**; 128 (11): 1517-23.
- NERÍN C, PHILO MR, SALAFRANCA J, CASTLE L. Determination of bisphenol-type contaminants from food packaging materials in aqueous foods by solid-phase microextraction-high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A.* **2002**; 963 (1-2): 375-80.
- NERÍN C, FERNÁNDEZ C, DOMEÑO C, SALAFRANCA J. Determination of Potential Migrants in Polycarbonate Containers Used for Microwave Ovens by High-Performance Liquid Chromatography with Ultraviolet and Fluorescence Detection. *J Agric Food Chem.* **2003**; 51 (19): 5647-53.
- NODA M, KOMATSU H, SANO H. HPLC analysis of dental resin composites components. *J Biomed Mater Res.* **1999**; 47 (3): 374-8.
- NRF – NEUES REZEPTUR-FORMULARIUM. Stand: 1. Oktober 2007. Eschborn: Govi-Verlag Pharmazeutischer Verlag. **2007**.
- NÜRNBERG E, MUCKENSCHNABEL R, POHLER W. Polyole als Konservierungsmittel für hydrophile Cremes und transparente Tensidgele. *Pharm Ztg.* **1986**; 131 (14): 796-800.
- NÜRNBERG E und LANGGUTH P. Nichtionische hydrophile Creme. In: BÖHME H, HARTKE K, HARTKE H, WICHTL M. Arzneibuch-Kommentar. Grundwerk mit 21. Aktualisierungslieferung. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft; **2005**.
- NÜRNBERG E und LANGGUTH P. 3.2 Behältnisse. In: BÖHME H, HARTKE K, HARTKE H, WICHTL M. Kommentar zum Europäischen Arzneibuch, Band 1. Grundwerk mit 27. Aktualisierungslieferung. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft; **2007**.
- NÜRNBERG E und RÜCKER G. Carbomere. In: BÖHME H, HARTKE K, HARTKE H, WICHTL M. Arzneibuch-Kommentar. Grundwerk mit 19. Aktualisierungslieferung. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft; **2004**.
- OKADA K, IMAOKA S, HASHIMOTO S, HIROI T, FUNAE Y. Over-expression of protein disulfide isomerase reduces the release of growth hormone induced by bisphenol A and/or T₃. *Mol Cell Endocrinol.* **2007**; 278 (1-2): 44-51.
- OLEA N, PULGAR R, PÉREZ P, OLEA-SERRANO F, RIVAS A, NOVILLO-FERTRELL A, PEDRAZA V, SOTO AM, SONNENSCHNAIN C. Estrogenicity of Resin-based Composites and Sealants Used in Dentistry. *Environ Health Perspect.* **1996**; 104 (3): 298-305.

- OTAKA H, YASUHARA A, MORITA M. Determination of Bisphenol A and 4-Nonylphenol in Human Milk Using Alkaline Digestion and Cleanup by Solid-Phase Extraction. *Anal Sci.* **2003**; 19 (12): 1663-6.
- OUCHI K und WATANABE S. Measurement of bisphenol A in human urine using liquid chromatography with multi-channel coulometric electrochemical detection. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* **2002**; 780 (2): 365-70.
- OZAKI A, YAMAGUCHI Y, OKAMOTO A, KAWAI N. Determination of Alkylphenols, Bisphenol A, Benzophenone and Phthalates in Containers of Baby Food, and Migration into Food Simulants. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi.* **2002**; 43 (4): 260-6. [japanisch]
- OZAKI A und BABA T. Alkylphenol and bisphenol A levels in rubber products. *Food Addit Contam.* **2003**; 20 (1): 92-8.
- OZAKI A, KAWASAKI C, KAWAMURA Y, TANAMOTO K. Migration of Bisphenol A and Benzophenones from Paper and Paperboard Products Used in Contact with Food. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi.* **2006**; 47 (3): 99-104. [japanisch]
- PALANZA P, GIOIOSA L, VOM SAAL FS, PARMIGIANI S. Effects of developmental exposure to bisphenol A on brain and behavior in mice. *Environ Res.* **2008**; 108 (2): 150-7.
- PALMGRÉN JJ, MÖNKKÖNEN J, KORJAMO T, HASSINEN A, AURIOLA S. Drug adsorption to plastic containers and retention of drugs in cultured cells under in vitro conditions. *Eur J Pharm Biopharm.* **2006**; 64 (3): 369-78.
- PARDO O, YUSÀ V, LEÓN N, PASTOR A. Determination of bisphenol diglycidyl ether residues in canned foods by pressurized liquid extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A.* **2006**; 1107 (1-2): 70-8.
- PASEIRO-LOSADA P, PAZ-ABUÍN S, VÁZQUEZ-ODÉRIZ L, SIMAL-LOZANO J, SIMAL-GÁNDARA J. Quality control of cured epoxy resins. Determination of residual free monomers (*m*-xylylenediamine and bisphenol A diglycidyl ether) in the finished product. *J Chromatogr.* **1991a**; 585 (1): 75-81.
- PASEIRO-LOSADA P, LÓPEZ-MAHÍA P, VÁZQUEZ-ODÉRIZ L, SIMAL-LOZANO J, SIMAL-GÁNDARA J. Sensitive and Rapid Reversed-Phase Liquid Chromatography-Fluorescence Method for Determining Bisphenol A Diglycidyl Ether in Aqueous-Based Food Simulants. *J Assoc Off Anal Chem.* **1991b**; 74 (6): 925-8.
- PASEIRO-LOSADA P, SIMAL-LOZANO J, PAZ-ABUÍN S, LÓPEZ-MAHÍA P, SIMAL-GÁNDARA J. Kinetics of the hydrolysis of bisphenol A diglycidyl ether (BADGE) in water-based food simulants. Implications for legislation on the migration of BADGE-Type epoxy resins into foodstuffs. *Fresenius J Anal Chem.* **1993**; 345 (7): 527-32.
- PASEIRO-LOSADA P, PÉREZ-LAMELA C, LÓPEZ-FABAL MF, SANMARTÍN-FENOLLERA P, SIMAL-LOZANO J. Two RP-HPLC Sensitive Methods to Quantify and Identify Bisphenol A Diglycidyl Ether and its Hydrolysis Products. 1. European Union Aqueous Food Simulants. *J Agric Food Chem.* **1997**; 45 (9): 3493-500.

- PEDERSEN SN und LINDHOLST C. Quantification of the xenoestrogens 4-tert.-octylphenol and bisphenol A in water and in fish tissue based on microwave assisted extraction, solid-phase extraction and liquid chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A*. **1999**; 864 (1): 17-24.
- PETERSEN H. Bisphenol A-Diglycidylether: Vorkommen, Ersatzstoffe und Reaktionen mit Lebensmittelbestandteilen [Dissertation]. [Hamburg]: Universität Hamburg; **2003**.
- PETERSEN H, BIEREICHEL A, BURSEG K, SIMAT TJ, STEINHART H. Bisphenol A diglycidyl ether (BADGE) migrating from packaging material ‚disappears‘ in food: reaction with food components. *Food Addit Contam*. **2008**; 25 (7): 911-20.
- PH.EUR. (EUROPEAN PHARMACOPOEIA) – SUPPLEMENT 6.2 TO THE 6TH EDITION [Online]. Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines & Healthcare (EDQM). **2008** [zitiert am 04. Juli 2008].
- PHAM HQ und MARKS MJ. Epoxy Resins. [Online]. **2005**. Verfügbar über: Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. 7th ed. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons; 2008. [zitiert am: 2008-08-07]
- PHILO MR, JICKELLS SM, DAMANT AP, CASTLE L. Stability of Plastics Monomers in Food-Simulating Liquids under European Union Migration Test Conditions. *J Agric Food Chem*. **1994**; 42 (7): 1497-1501.
- PHILO MR, DAMANT AP, CASTLE L. Reactions of epoxide monomers in food simulants used to test plastics for migration. *Food Addit Contam*. **1997**; 14 (1): 75-82.
- PIRINGER OG und BANER AL. Plastic Packaging. Interaction with Food and Pharmaceuticals. 2nd, completely revised edition. Weinheim: Wiley-VCH; **2008**. 349-415.
- PONTÉN A. Epoxy Resin Systems. In: FROSC PJ, MENNÉ T, LEPOITTEVIN JP. Contact Dermatitis. 4th ed. Berlin: Springer; **2006**. 595-99.
- POOLE A, VAN HERWIJNEN P, WEIDELI H, THOMAS MC, RANSBOTYN G, VANCE C. Review of the toxicology, human exposure and safety assessment for bisphenol A diglycidylether (BADGE). *Food Addit Contam*. **2004**; 21 (9): 905-19.
- POUSTKOVÁ I, DOBIÁŠ J, STEINER I, POUSTKA J, VOLDŘICH M. Stability of bisphenol A diglycidyl ether and bisphenol F diglycidyl ether in water-based food simulants. *Eur Food Res Technol*. **2004**; 219 (5): 534-9.
- PRINS GS, TANG WY, BELMONTE J, HO SM. Perinatal Exposure to Oestradiol and Bisphenol A Alters the Prostate Epigenome and Increases Susceptibility to Carcinogenesis. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. **2008**; 102 (2): 134-8.
- PULGAR R, OLEA-SERRANO MF, NOVILLO-FERTRELL A, RIVAS A, PAZOS P, PEDRAZA V, NAVAJAS JM, OLEA N. Determination of Bisphenol A and Related Aromatic Compounds Released from Bis-GMA-Based Composites and Sealants by High Performance Liquid Chromatography. *Environ Health Perspect*. **2000**; 108 (1): 21-7.

- RAMILO G, VALVERDE I, LAGO J, VIEITES JM, CABADO AG. Cytotoxic effects of BADGE (bisphenol A diglycidyl ether) and BFDGE (bisphenol F diglycidyl ether) on Caco-2 cells in vitro. *Arch Toxicol.* **2006**; 80 (11): 748-55.
- RAND J. US Patent 2252. **1841**.
- RAUTER W, DICKINGER G, ZIHLARZ R, LINTSCHINGER J. Determination of Bisphenol A diglycidylether (BADGE) and its hydrolysis products in canned oily foods from the Austrian market. *Z Lebensm Unters Forsch A.* **1999**; 208: 208-11.
- RICHARD N, BIEDERMANN M, GROB K. Reaction of Bisphenol-A-Diglycidyl Ether (BADGE) from Can Coatings with Food Components. *Mitt Lebensm Hyg.* **1999**; 90: 532-45.
- ROMERO J, VENTURA F, GOMEZ M. Characterization of Paint Samples Used in Drinking Water Reservoirs: Identification of Endocrine Disruptor Compounds. *J Chromatogr Sci.* **2002**; 40 (4): 191-7.
- ROUBTSOVA S, HOLLÄNDER J, FRANZ R. A Rapid and Convenient Method for the Quantitative Determination of Bisphenol A Diglycidyl Ether (BADGE) in Foodstuffs. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau.* **1997**; 93 (9): 273-6.
- RUBIN BS und SOTO AM. Bisphenol A: Perinatal exposure and body weight. *Mol Cell Endocrinol.* **2009**; 304 (1-2): 55-62.
- RÜCKER G, NEUGEBAUER M, WILLEMS GG. Instrumentelle pharmazeutische Analytik. 3., völlig Neubearb. Aufl. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft; **2001**. 172.
- SACHS L, HEDDERICH J. Angewandte Statistik. 12., vollst. neu bearb. Aufl. Berlin Heidelberg New York: Springer; **2006**. 419.
- SAJIKI J und YONEKUBO J. Leaching of bisphenol A (BPA) from polycarbonate plastic to water containing amino acids and its degradation by radical oxygen species. *Chemosphere.* **2004**; 55 (6): 861-7.
- SAJIKI J, MIYAMOTO F, FUKATA H, MORI C, YONEKUBO J, HAYAKAWA K. Bisphenol A (BPA) and its source in foods in Japanese markets. *Food Addit Contam.* **2007**; 24 (1): 103-12.
- SAKURAI H, MAEDA M, MIYAHARA K, NAKAYAMA M, MURAYAMA H, HASEGAWA H, HAYAKAWA M, SUGIURA T, KAMIKURA K. Extraction of bisphenol-A from a cardiopulmonary bypass circuit. *Kyobu Geka.* **2002**; 55 (9): 770-2. [japanisch]
- SALAFRANCA J, BATLLE R, NERÍN C. Use of solid-phase microextraction for the analysis of bisphenol A and bisphenol A diglycidyl ether in food simulants. *J Chromatogr A.* **1999**; 864 (1): 137-44.
- SALOMIES HEM, HEINONEN RM, TOPPILA, MAI. Sorptive loss of diazepam, nitroglycerin and warfarin sodium to polypropylene-lined infusion bags (Softbags). *Int J Pharm.* **1994**; 110 (2): 197-201.
- SATOH K, OHYAMA K, AOKI N, IIDA M, NAGAI F. Study on anti-androgenic effects of bisphenol a diglycidyl ether (BADGE), bisphenol F diglycidyl ether (BFDGE) and their derivatives using cells stably transfected with human androgen receptor, AR-EcoScreen. *Food Chem Toxicol.* **2004**; 42 (6): 983-93.

- SCHAEFER A, MASS S, SIMAT TJ, STEINHART H. Migration from can coatings: Part 1. A size exclusion chromatographic method for the simultaneous determination of overall migration and migrating substances below 1000 Da. *Food Addit Contam.* **2004**; 21 (3): 287-301.
- SCHAEFER A und SIMAT TJ. Migration from can coatings: Part 3. Synthesis, identification and quantification of migrating epoxy-based substances below 1000Da. *Food Addit Contam.* **2004**; 21 (4): 390-405.
- SCHLACK P (IG Farbenindustrie AG). Deutsches Patent 676.117. **1934**.
- SCHMALZ G, PREISS A, ARENHOLT-BINDSLEV D. Bisphenol-A content of resin monomers and related degradation products. *Clin Oral Investig.* **1999**; 3 (3): 114-9.
- SCHÖNFELDER G, FRIEDRICH K, PAUL M, CHAHOUD I. Developmental Effects of Prenatal Exposure to Bisphenol A on the Uterus of Rat Offspring. *Neoplasia.* **2004**; 6 (5): 584-94.
- SCHWARZ O. Kunststoffkunde. 2. Auflage. Würzburg: Vogel-Buchverlag; **1988**. 173-9.
- SENDÓN-GARCÍA R, PASEIRO-LOSADA P, PÉREZ-LAMELA C. Determination of Compounds from Epoxy Resins in Food Simulants by HPLC-Fluorescence. *Chromatographia.* **2003**; 58 (5-6): 337-42.
- SENDÓN-GARCÍA R und PASEIRO-LOSADA P. Determination of bisphenol A diglycidyl ether and its hydrolysis and chlorohydroxy derivatives by liquid chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A.* **2004**; 1032 (1-2): 37-43.
- SHAO B, HAN H, HU J, ZHAO J, WU G, XUE Y, MA Y, ZHANG S. Determination of alkylphenol and bisphenol A in beverages using liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Anal Chim Acta.* **2005**; 530 (2): 245-52.
- SHAO B, HAN H, TU X, HUANG L. Analysis of alkylphenol and bisphenol A in eggs and milk by matrix solid phase dispersion extraction and liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* **2007**; 850 (1-2): 412-6.
- SHARMAN M, HONEYBONE CA, JICKELLS SM, CASTLE L. Detection of residues of the epoxy adhesive component bisphenol A diglycidyl ether (BADGE) in microwave susceptors and its migration into food. *Food Addit Contam.* **1995**; 12 (6): 779-87.
- SIGMA-ALDRICH. Sicherheitsdatenblatt Hexane. Version 3.0 vom 12.05.**2007a** [Online].
- SIGMA-ALDRICH. Sicherheitsdatenblatt Heptane. Version 3.0 vom 12.07.**2007b** [Online].
- SIMAL-GÁNDARA J, PASEIRO-LOSADA P, LÓPEZ-MAHÍA P, J.SIMAL-LOZANO. RP-HPLC-TSP-MS of Epoxy Resins Bisphenol A Diglycidyl Ether Type. *J Chromatogr Sci.* **1992**; 30 (1): 11-6.
- SIMAL-GÁNDARA J, LÓPEZ-MAHÍA P, PASEIRO-LOSADA P, J.SIMAL-LOZANO, PAZ-ABUÍN S. Overall and specific migration of bisphenol a diglycidyl ether monomer and m-xylylenediamine hardener from an optimized epoxy-amine formulation into water.based food simulants. *Food Addit Contam.* **1993a**; 10 (5): 555-65.

- SIMAL-GÁNDARA J, PAZ-ABUÍN S, PASEIRO-LOSADA P, SIMAL-LOZANO J. Determination of Bisphenols A and F in Noncured Epoxy Resins by RP-HPLC-Fluorescence Techniques. *J Chromatogr Sci.* **1993b**; 31 (11): 450-4.
- SIMAL-GÁNDARA J, PAZ-ABUÍN S, AHRNÉ L. A Critical Review of the Quality and Safety of BADGE-Based Epoxy Coatings for Cans: Implications for Legislation on Epoxy Coatings for Food Contact. *Crit Rev Food Sci Nutr.* **1998**; 38 (8): 675-88.
- SIMAL-GÁNDARA J. Selection of Can Coatings for Different Applications. *Food Rev Int.* **1999**; 15 (1): 121-37.
- SIMONEAU C, THEOBALD A, HANNAERT P, RONCARI P, RONCARI A, RUDOLPH T, ANKLAM E. Monitoring of bisphenol-A-diglycidylether (BADGE) in canned fish in oil. *Food Addit Contam.* **1999**; 16 (5): 189-95.
- SIMONEAU C, THEOBALD A, RONCARI P, HANNAERT P, ANKLAM E. Time-temperature study of the kinetics of migration of BADGE (bisphenol-A-diglycidyl-ether) into a fatty medium. *Food Addit Contam.* **2002**; 19 (Suppl.): 73-8.
- SØEBORG T, HANSEN SH, HALLING-SØRENSEN B. Determination of bisphenol diglycidyl ethers in topical dosage forms. *J Pharm Biomed Anal.* **2006**; 40 (2): 322-30.
- SØEBORG T, BASSE LH, HALLING-SØRENSEN B. Risk assessment of topically applied products. *Toxicology.* **2007**; 236 (1-2): 140-8.
- SÖDERHOLM KJ und MARIOTTI A. Bis-GMA-Based Resins in Dentistry: Are They Safe? *J Am Dent Assoc.* **1999**; 130 (2): 201-9.
- STAHLHUT RW, WELSHONS WV, SWAN SH. Bisphenol A Data in NHANES Suggest Longer than Expected Half-Life, Substantial Nonfood Exposure, or Both. *Environ Health Perspect.* **2009**; 117 (5): 784-9.
- STEINER S, HÖNGER G, SAGELSDORFF P. Molecular dosimetry of DNA adducts in C3H mice treated with bisphenol A diglycidylether. *Carcinogenesis.* **1992**; 13 (6): 969-72.
- STEINMETZ R, MITCHNER NA, GRANT A, ALLEN DL, BIGSBY RM, BEN-JONATHAN N. The Xenoestrogen Bisphenol A Induces Growth, Differentiation, and *c-fos* Gene Expression in the Female Reproductive Tract. *Endocrinology.* **1998**; 139 (6): 2741-7.
- STUTZ N, HERTL M, LÖFFLER H. Anaphylaxis caused by contact urticaria because of epoxy resins: an extraordinary emergency. *Contact Derm.* **2008**; 58 (5):307-9.
- SUÁREZ S, SUEIRO RA, GARRIDO J. Genotoxicity of the coating lacquer on food cans, bisphenol A diglycidyl ether (BADGE), its hydrolysis products and a chlorohydrin of BADGE. *Mutat Res.* **2000**; 470 (2): 221-8.
- SUEIRO RA, ARAUJO M, SUÁREZ S, GARRIDO MJ. Mutagenic potential of bisphenol A diglycidyl ether (BADGE) and its hydrolysis-derived products in the Ames *Salmonella* assay. *Mutagenesis.* **2001**; 16 (4): 303-7.

- SUMMERFIELD W, GOODSON A, COOPER I. Survey of Bisphenol A diglycidyl ether (BADGE) in canned foods. *Food Addit Contam.* **1998**; 15 (7): 818-30.
- SUN C, LEONG LP, BARLOW PJ, CHAN SH, BLOODWORTH BC. Single laboratory validation of a method for the determination of Bisphenol A, Bisphenol A diglycidyl ether and its derivatives in canned foods by reversed-phase liquid chromatography. *J Chromatogr A.* **2006**; 1129 (1): 145-8.
- SUN Y, WADA M, KURODA N, HIRAYAMA K, NAKZAWA H, NAKASHIMA K. Simultaneous Determination of Phenolic Xenoestrogens by Solid-Phase Extraction and High-Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection. *Anal Sci.* **2001**; 17 (6): 697-701.
- TAKAO T, NANAMIYA W, NAZARLOO HP, MATSUMOTO R, ASABA K, HASHIMOTO K. Exposure to the environmental estrogen bisphenol A differentially modulated estrogen receptor- α and - β immunoreactivity and mRNA in male mouse testis. *Life Sci.* **2003**; 72 (10): 1159-69.
- TAKESHITA A, KOIBUCHI N, OKA J, TAGUCHI M, SHISHIBA Y, OZAWA Y. Bisphenol-A, an environmental estrogen, activates the human orphan nuclear receptor, steroid and xenobiotic receptor-mediated transcription. *Eur J Endocrinol.* **2001**; 145 (4): 513-17.
- TARVAINEN K und KANERVA L. Occupational dermatoses from plastic composites. *Journal of Environmental Medicine.* **1999**; 1 (1): 3-17.
- TERASAKI M, KAZAMA T, SHIRAISHI F, MAKINO M. Identification and estrogenic characterization of impurities in commercial bisphenol A diglycidyl ether (BADGE). *Chemosphere.* **2006**; 65 (5): 873-80.
- THEOBALD A, SIMONEAU C, RONCARI P, RONCARI A, ANKLAM E. Correlations Between the Levels of Bisphenol-A-diglycidylether (BADGE) in Cans, Lids and Homogenised Food Matrix from Canned Fish in Oil. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau.* **1999a**; 95 (5): 186-91.
- THEOBALD A, SIMONEAU C, RONCARI P, RONCARI A, ANKLAM E. Monitoring of Bisphenol-A-Diglycidylether (BADGE) in Canned Milk Products and Vegetable Oils. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau.* **1999b**; 95 (9): 362-5.
- THEOBALD A, SIMONEAU C, RONCARI A, ANKLAM E. Identification of Epoxy Containing Migrants from Can Coatings in Edible Oil: A Model Study on Reaction Products of Bisphenol-A-Diglycidyl-Ether (BADGE) with Solvents for Coating Production. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau.* **2002**; 98 (7): 249-56.
- THOMSON BM und GROUNDS PR. Bisphenol A in canned foods in New Zealand: An exposure assessment. *Food Addit Contam.* **2005**; 22 (1): 65-72.
- THORGEIRSSON A und FREGERT S. Allergenicity of epoxy resins in the guinea pig. *Acta Derm Venerol.* **1977**; 57 (3): 253-6.
- THORGEIRSSON A, FREGERT S, RAMNÄS O. Sensitization capacity of epoxy resin oligomers in the guinea pig. *Acta Derm Venerol.* **1978**; 58 (1): 17-21.

- TIMMS BG, HOWDESHELL KL, BARTON L, BRADLEY S, RICHTER CA, VOM SAAL FS. Estrogenic chemicals in plastic and oral contraceptives disrupt development of the fetal mouse prostate and urethra. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **2005**; 102 (19): 7014-9.
- TOYO'OKA T und OSHIGE Y. Determination of Alkylphenols in Mineral Water packed in PET Bottles by Liquid Chromatography. *Anal Sci*. **2000**; 16 (10): 1071-6.
- TÜGEL H. Die Randerscheinung. *Geo*. **2007**; 6: 188.
- UEMATSU Y, HIRATA K, SUZUKI K, IIDA, K, SAITO K. Chlorohydrins of bisphenol A diglycidyl ether (BADGE) and of bisphenol F diglycidyl ether (BFDGE) in canned foods and ready-to-drink coffees from the Japanese market. *Food Addit Contam*. **2001**; 18 (2): 177-85.
- UEMATSU Y, OGIMOTO M, KABASHIMA J, SUZUKI K, KANEKO R, FUNAYAMA K, HANEISHI N, YASUNO T, OGINO S. Simulation of Migration from a Multi-layer Laminated Film Intended for Retort Foods. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*. **2005**; 46 (4): 133-8. [japanisch]
- UPMEIER A, DEGEN GH, DIEL P, MICHNA H, BOLT HM. Toxicokinetics of bisphenol A in female DA/Han rats after a single i.v. and oral administration. *Arch Toxicol*. **2000**; 74 (8): 431-6.
- UTER W, RÜHL R, PFAHLBERG A, GEIER J, SCHNUCH A, GEFELLER O. Contact Allergy in Construction Workers: Result of a Multifactorial Analysis. *Ann Occup Hyg*. **2004**; 48 (1): 21-7.
- VANDENBERG LN, HAUSER R, MARCUS M, OLEA N, WELSHONS WV. Human exposure to bisphenol A (BPA). *Reprod Toxicol*. **2007**; 24 (2): 139-77.
- VANDENBERG LN, MAFFINI MV, SONNENSCHNEIN C, RUBIN BS, SOTO AM. Bisphenol-A and the Great Divide: A Review of Controversies in the Field of Endocrine Disruption. *Endocr Rev*. **2009**; 30 (1): 75-95.
- VANHOUTTE K, JOOS P, LEMIERE F, VAN DONGEN W, ESMANS EL, CLAEYS M, VAN DEN EECKHOUT E. Thermospray Liquid Chromatography-Mass Spectrometry of the DNA Adducts Formed Between 2'-Deoxynucleosides and Bisphenol A Diglycidyl Ether. *J Mass Spectrom*. **1995**; 30 (10): 1453-61.
- VOM SAAL FS, AKINGBEMI BT, BELCHER SM, BIRNBAUM LS, CRAIN DA, ERIKSEN M, FARABOLLINI F, GUILLETTE LJ JR, HAUSER R, HEINDEL JJ, HO SM, HUNT PA, IGUCHI T, JOBLING S, KANNO J, KERI RA, KNUDSEN KE, LAUFER H, LEBLANC GA, MARCUS M, MCLACHLAN JA, MYERS JP, NADAL A, NEWBOLD RR, OLEA N, PRINS GS, RICHTER CA, RUBIN BS, SONNENSCHNEIN C, SOTO AM, TALSNESS CE, VANDENBERGH JG, VANDENBERG LN, WALSER-KUNTZ DR, WATSON CS, WELSHONS WV, WETHERILL Y, ZOELLER RT. Chapel Hill bisphenol A expert panel consensus statement: integration of mechanisms, effects in animals and potential to impact human health at current levels of exposure. *Reprod Toxicol*. **2007**; 24 (2): 131-8.
- WATANABE M. Degradation and formation of bisphenol A in polycarbonate used in dentistry. *J Med Dent Sci*. **2004**; 51 (1): 1-6.
- WELSHONS WV, NAGEL SC, VOM SAAL FS. Large Effects from Small Exposures. III. Endocrine Mechanisms Mediating Effects of Bisphenol A at Levels of Human Exposure. *Endocrinology*. **2006**; 147 (6 Suppl): S56-69.

- WRIGHT HM, CLISH CB, MIKAMI T, HAUSER S, YANAGI K, HIRAMATSU R, SERHAN CN, SPIEGELMAN BM. A Synthetic Antagonist for the Peroxisome Proliferator-activated Receptor γ Inhibits Adipocyte Differentiation. *J Biol Chem.* **2000**; 275 (3): 1873-7.
- XIAO J, SHAO B, WU YN, WANG ZT, HOU W. Determination of bisphenol A and alkyl phenols in canned food with high performance liquid chromatography-fluorescence. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi.* **2007**; 41 (6): 449-52. [chinesisch]
- YAMASAKI H, NAGAKE Y, MAKINO H. Determination of Bisphenol A in Effluents of Hemodialyzers. *Nephron.* **2001**; 88 (4): 376-78.
- YAN W, LI Y, ZHAO L, LIN JM. Determination of estrogens and bisphenol A in bovine milk by automated on-line C₃₀ solid-phase extraction coupled with high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A.* **2009**; 1216 (44): 7539-45.
- YE X, KUKLENYIK Z, NEEDHAM LL, CALAFAT AM. Quantification of urinary conjugates of bisphenol A, 2,5-dichlorophenol, and 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone in humans by online solid phase extraction-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem.* **2005**; 383 (4): 638-44.
- YONEKUBO J, JAYAKAWA K, SAJIKI J. Concentrations of Bisphenol A, Bisphenol A Diglycidylether, and Their Derivatives in Canned Foods in Japanese Markets. *J Agric Food Chem.* **2008**; 56 (6): 2041-7.
- YOSHIDA T, HORIE M, HOSHINO Y, NAKZAWA H. Determination of bisphenol A in canned vegetables and fruit by high performance liquid chromatography. *Food Addit Contam.* **2001**; 18 (1): 69-75.
- ZHANG X und WU R. Analysis of phenolic compounds in mineral water by high performance liquid chromatography (HPLC). *Se Pu.* **1998**; 16 (6): 530-1. [chinesisch]
- ZOELLER RT, BANSAL R, PARRIS C. Bisphenol-A, an Environmental Contaminant that Acts as a Thyroid Hormone Receptor Antagonist *in Vitro*, Increases Serum Thyroxine, and Alters RC3/Neurogranin Expression in the Developing Rat Brain. *Endocrinology.* **2005**; 146 (2): 607-12.

10 Anhang

10.1 Residuenplots

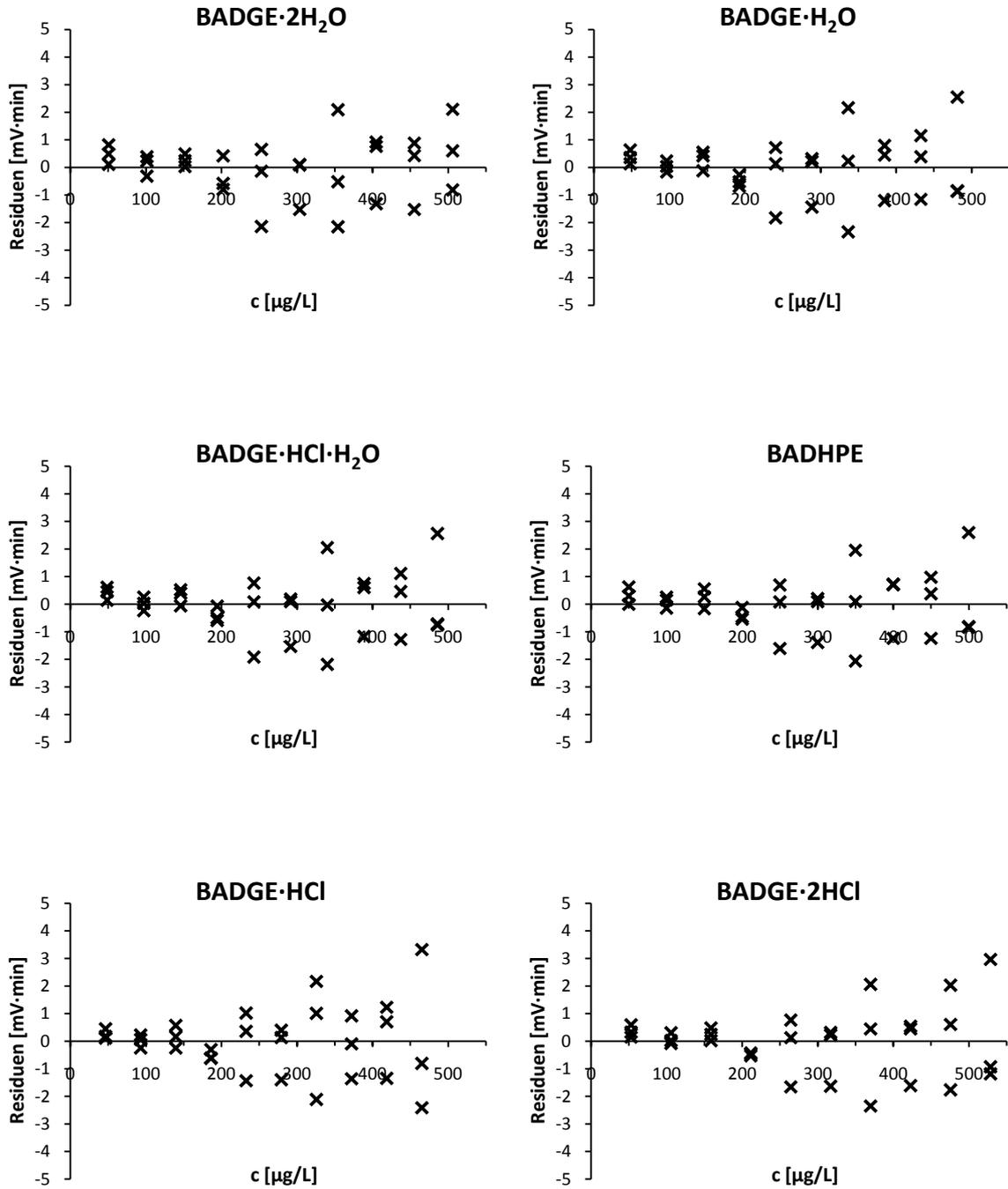


Abb. 10.1: Residuenplots der Prüfung auf Linearität

10.2 Daten zur Wiederfindung

10.2.1 Salben

Tab. 10.1: *Einfache Augensalbe DAC*: Wiederfindungsraten [%]

c [µg/kg]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADHPE	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
20	78,6	82,4	82,0	75,9	88,7	91,9	89,0	76,5
	83,5	89,5	90,3	86,5	91,9	93,0	94,4	82,3
	80,8	78,1	77,9	74,5	83,2	85,8	83,7	70,6
∅	81,0	83,4	83,4	79,0	88,0	90,3	89,0	76,4
RSD	3,1	6,9	7,6	8,3	5,0	4,3	6,0	7,6
100	90,3	91,5	90,0	91,5	94,4	94,2	94,1	91,7
	86,6	87,1	80,6	80,9	91,1	93,0	91,8	87,6
	89,7	94,8	90,8	87,5	96,8	97,1	97,2	96,1
∅	88,9	91,1	87,1	86,7	94,1	94,8	94,4	91,8
RSD	2,2	4,2	6,5	6,2	3,1	2,2	2,9	4,7
200	87,0	81,8	79,0	81,3	84,8	85,6	85,4	82,6
	85,6	77,1	74,8	82,9	79,8	81,2	80,4	77,9
	92,6	90,9	87,6	90,1	92,0	93,1	93,3	91,1
∅	88,4	83,3	80,5	84,8	85,5	86,7	86,3	83,9
RSD	4,2	8,4	8,1	5,6	7,2	6,9	7,5	8,0

ISTD-korrigierte Werte								
20	88,6	92,9	92,4	85,6	100,0	103,6	100,4	86,2
	90,9	97,4	98,3	94,1	100,0	101,2	102,7	89,5
	97,1	93,9	93,5	89,5	100,0	103,1	100,5	84,8
∅	92,2	94,7	94,7	89,7	---	102,6	101,2	86,8
RSD	4,8	2,5	3,3	4,7	---	1,3	1,3	2,8
100	95,6	96,9	95,3	96,9	100,0	99,8	99,7	97,2
	95,1	95,7	88,6	88,9	100,0	102,1	100,8	96,2
	92,6	97,9	93,8	90,4	100,0	100,3	100,4	99,3
∅	94,4	96,8	92,5	92,1	---	100,7	100,3	97,5
RSD	1,7	1,1	3,8	4,6	---	1,2	0,5	1,6
200	102,5	96,5	93,2	95,9	100,0	101,0	100,7	97,4
	107,2	96,7	93,7	103,9	100,0	101,8	100,7	97,7
	100,7	98,9	95,3	98,0	100,0	101,2	101,4	99,1
∅	103,5	97,3	94,1	99,3	---	101,3	100,9	98,1
RSD	3,3	1,4	1,2	4,2	---	0,4	0,4	0,9

Tab. 10.2: Einfache Augensalbe DAC + 10 % Polysorbat 60: Wiederfindungsraten [%]

c [µg/kg]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADHPE	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
40	90,7 ^a	99,7	97,1	96,4	99,3	93,9	92,3	97,7
	105,9	99,7	95,8	94,2	99,3	94,4	94,4	98,6
	110,6	99,3	96,2	94,9	100,0	95,0	92,9	96,8
∅	102,4	99,5	96,4	95,2	99,5	94,4	93,2	97,7
RSD	10,2	0,2	0,7	1,1	0,4	0,6	1,2	0,9
200	101,0	102,1	100,4	100,6	99,9	101,2	102,2	101,7
	107,2	103,5	102,4	102,6	101,9	103,5	105,0	103,6
	108,6	104,6	101,4	102,6	102,0	103,3	105,0	102,9
∅	105,6	103,4	101,4	101,9	101,3	102,7	104,1	102,8
RSD	3,8	1,2	0,9	1,1	1,1	1,3	1,5	0,9
400	99,6	103,0	100,6	100,5	100,3	103,4	103,3	102,2
	101,7	104,0	101,2	101,6	101,0	104,3	103,7	103,4
	101,5	102,0	99,5	99,4	98,7	101,4	101,6	100,3
∅	100,9	103,0	100,4	100,5	100,0	103,0	102,9	102,0
RSD	1,2	0,9	0,9	1,1	1,2	1,4	1,1	1,5

ISTD-korrigierte Werte								
40	91,3 ^a	100,3	97,7	97,0	100,0	94,5	93,0	98,4
	106,6	100,4	96,5	94,9	100,0	95,1	95,1	99,3
	110,6	99,3	96,2	94,9	100,0	95,0	92,9	96,8
∅	102,8	100,0	96,8	95,6	---	94,9	93,7	98,2
RSD	9,9	0,6	0,9	1,3	---	0,3	1,3	1,3
200	101,1	102,2	100,5	100,6	100,0	101,2	102,3	101,8
	105,2	101,6	100,5	100,7	100,0	101,6	103,0	101,7
	106,5	102,6	99,4	100,6	100,0	101,3	103,0	100,9
∅	104,3	102,1	100,1	100,7	---	101,4	102,8	101,5
RSD	2,7	0,5	0,6	< 0,1	---	0,2	0,4	0,5
400	99,3	102,7	100,3	100,2	100,0	103,1	103,1	102,0
	100,7	102,9	100,2	100,6	100,0	103,2	102,7	102,4
	102,8	103,4	100,8	100,6	100,0	102,7	102,9	101,6
∅	100,9	103,0	100,4	100,5	---	103,0	102,9	102,0
RSD	1,8	0,3	0,3	0,2	---	0,3	0,2	0,4

^a Einfachbestimmung wg. Ausreißer

Tab. 10.3: Einfache Augensalbe DAC + 10 % Span 60: Wiederfindungsraten [%]

c [µg/kg]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADHPE	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
20	31,0	32,8	25,5	28,7	25,5	24,2	20,6	14,4
	29,2	27,9	23,0	26,2	26,4	23,7	21,2	18,6
	34,5	33,6	30,1	32,3	28,9	28,9	27,7	15,6
∅	31,6	31,4	26,2	29,1	27,0	25,6	23,2	16,2
RSD	8,5	9,7	13,6	10,6	6,6	11,0	17,1	13,5
100	41,9	42,1	39,0	38,8	40,0	36,0	34,5	30,3
	42,7	45,9	41,3	41,1	41,3	38,7	37,3	34,9
	37,8	41,4	37,6	34,9	35,1	31,5	28,8	31,8
∅	40,8	43,1	39,3	38,3	38,8	35,4	33,6	32,4
RSD	6,4	5,6	4,7	8,1	8,5	10,3	12,9	7,2
200	30,1	33,9	28,6	27,4	28,8	24,9	23,7	25,8
	34,3	37,0	33,3	32,5	32,5	28,9	27,6	29,8
	28,2	30,0	26,6	25,8	26,1	23,6	22,6	22,7
∅	30,9	33,6	29,5	28,6	29,1	25,8	24,6	26,1
RSD	10,0	10,4	11,5	12,4	11,2	10,8	10,8	13,6

ISTD-korrigierte Werte								
20	121,7	128,4	99,9	112,6	100,0	95,1	80,7	56,5
	110,7	105,7	87,2	99,1	100,0	89,9	80,2	70,5
	119,3	116,0	103,9	111,7	100,0	99,7	95,8	53,8
∅	117,2	116,7	97,0	107,8	---	94,9	85,5	60,2
RSD	4,9	9,8	9,0	7,0	---	5,2	10,4	14,9
100	104,8	105,2	97,4	96,9	100,0	90,1	86,4	75,8
	103,3	111,0	99,8	99,4	100,0	93,7	90,3	84,5
	107,8	118,1	107,3	99,6	100,0	89,8	82,2	90,8
∅	105,3	111,4	101,5	98,6	---	91,2	86,3	83,7
RSD	2,2	5,8	5,1	1,5	---	2,4	4,7	9,0
200	104,8	117,9	99,6	95,2	100,0	86,7	82,5	89,8
	105,3	113,6	102,2	100,0	100,0	88,9	85,0	91,6
	108,4	115,2	102,2	98,8	100,0	90,6	86,7	87,3
∅	106,2	115,6	101,3	98,0	---	88,7	84,7	89,6
RSD	1,9	1,9	1,5	2,5	---	2,2	2,5	2,5

Tab. 10.4: *Macrogolsalbe DAC*: Wiederfindungsraten [%]

<i>c</i> [µg/kg]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADHPE	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
40	97,6	105,4	111,2	104,0	95,4	92,6	94,6	107,7
	100,7	101,7	104,3	105,0	95,3	98,3	99,9	96,3
	106,3	102,8	127,2	114,5	95,3	94,6	97,8	95,0
∅	101,5	103,3	114,2	107,8	95,3	95,2	97,4	99,7
RSD	4,4	1,8	10,3	5,4	0,1	3,0	2,7	7,0
200	95,1	97,7	96,2	96,7	97,3	96,1	96,6	97,0
	97,2	96,9	104,1	97,9	97,2	95,7	95,3	94,9
	97,9	98,8	96,0	97,5	97,6	95,7	95,3	95,4
∅	96,7	97,8	98,8	97,4	97,4	95,9	95,7	95,8
RSD	1,5	1,0	4,7	0,6	0,2	0,3	0,8	1,1
400	95,4	99,0	100,5	98,4	97,4	97,1	98,1	97,9
	98,7	99,0	99,2	98,7	96,2	97,6	98,6	97,5
	99,3	99,2	96,6	96,9	96,3	97,8	98,4	97,3
∅	97,8	99,0	98,8	98,0	96,6	97,5	98,3	97,6
RSD	2,1	0,1	2,0	1,0	0,7	0,4	0,3	0,3

ISTD-korrigierte Werte								
40	102,4	110,5	116,6	109,1	100,0	97,1	99,2	113,0
	105,7	106,7	109,4	110,2	100,0	103,2	104,8	101,1
	111,6	108,0	133,5	120,2	100,0	99,3	102,6	99,7
∅	106,6	108,4	119,9	113,2	---	99,9	102,2	104,6
RSD	4,4	1,8	10,3	5,4	---	3,1	2,8	7,0
200	97,8	100,4	98,9	99,4	100,0	98,8	99,2	99,7
	100,0	99,7	107,1	100,7	100,0	98,5	98,1	97,6
	100,3	101,2	98,4	99,9	100,0	98,0	97,6	97,8
∅	99,3	100,4	101,4	100,0	---	98,4	98,3	98,3
RSD	1,4	0,8	4,8	0,7	---	0,4	0,8	1,2
400	98,0	101,7	103,2	101,1	100,0	99,7	100,7	100,6
	102,6	102,9	103,1	102,6	100,0	101,5	102,5	101,4
	103,2	103,1	100,4	100,7	100,0	101,6	102,2	101,1
∅	101,3	102,5	102,3	101,5	---	100,9	101,8	101,0
RSD	2,8	0,7	1,6	1,0	---	1,0	0,9	0,4

10.2.2 Cremes

Tab. 10.5: *Nichtionische Hydrophile Creme DAB*: Wiederfindungsraten [%]

c [µg/kg]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADHPE	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
20	90,8	91,1	90,7	92,8	93,2	97,6	95,3	85,5
	94,9	100,6	96,5	95,7	93,7	96,4	94,6	94,6
	92,1	92,5	91,7	90,5	92,5	96,2	94,8	94,5
∅	92,6	94,7	93,0	93,0	93,1	96,7	94,9	91,5
RSD	2,2	5,4	3,4	2,8	0,7	0,7	0,4	5,7
100	90,5	91,5	90,5	90,8	91,1	90,2	91,9	91,3
	88,9	91,9	90,0	90,7	90,1	89,1	90,1	89,7
	89,6	91,6	90,7	91,7	90,8	89,8	90,4	90,7
∅	89,7	91,7	90,4	91,1	90,7	89,7	90,8	90,6
RSD	0,9	0,2	0,4	0,6	0,6	0,6	1,0	0,9
200	93,3	93,0	92,8	93,2	93,1	92,1	92,7	92,7
	87,5	87,0	87,4	87,2	87,5	86,5	87,2	86,6
	80,7	81,9	80,4	80,7	80,9	79,5	80,3	79,3
∅	87,2	87,3	86,8	87,0	87,2	86,0	86,7	86,2
RSD	7,2	6,4	7,2	7,2	7,0	7,3	7,2	7,8

ISTD-korrigierte Werte								
20	97,5	97,8	97,4	99,7	100,0	104,7	102,3	91,8
	101,3	107,3	103,0	102,1	100,0	102,9	101,0	101,0
	99,6	100,0	99,2	97,9	100,0	104,1	102,5	102,2
∅	99,5	101,7	99,9	99,9	---	103,9	101,9	98,3
RSD	1,9	4,9	2,9	2,1	---	0,9	0,8	5,8
100	99,4	100,4	99,3	99,7	100,0	99,1	100,8	100,2
	98,7	102,0	99,9	100,7	100,0	98,9	100,0	99,6
	98,7	100,9	100,0	101,0	100,0	98,9	99,6	99,9
∅	98,9	101,1	99,7	100,5	---	99,0	100,2	99,9
RSD	0,4	0,8	0,4	0,7	---	0,1	0,6	0,3
200	100,2	99,9	99,7	100,1	100,0	98,9	99,5	99,6
	100,0	99,5	99,9	99,7	100,0	98,9	99,7	99,0
	99,7	101,2	99,3	99,7	100,0	98,3	99,2	98,0
∅	100,0	100,2	99,6	99,8	---	98,7	99,5	98,8
RSD	0,2	0,9	0,3	0,2	---	0,3	0,3	0,8

Tab. 10.6: Nichtionische Hydrophile Creme DAB – Variation I: Wiederfindungsraten [%]

c [µg/kg]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADHPE	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
20	91,7	83,1	84,3	88,5	90,6	89,0	87,9	90,3
	90,6	85,3	80,1	88,0	92,5	88,0	87,3	84,0
	90,9	92,0	81,9	88,8	92,6	87,6	85,9	86,1
∅	91,1	86,8	82,1	88,4	91,9	88,2	87,1	86,8
RSD	0,6	5,3	2,5	0,5	1,2	0,8	1,2	3,7
100	96,3	96,4	96,0	96,7	98,2	99,6	97,4	103,2
	93,3	93,3	91,4	93,2	94,3	94,5	96,3	99,0
	95,0	97,5	96,2	98,4	99,3	100,0	102,6	101,1
∅	94,9	95,7	94,5	96,1	97,3	98,0	98,8	101,1
RSD	1,6	2,3	2,9	2,8	2,7	3,1	3,4	2,1
200	93,3	95,2	94,2	95,9	96,2	96,2	97,5	98,0
	95,1	97,9	96,1	97,4	98,1	97,9	99,3	98,4
	96,5	98,2	96,5	98,1	98,8	99,1	100,5	100,2
∅	95,0	97,1	95,6	97,1	97,7	97,7	99,1	98,9
RSD	1,7	1,7	1,2	1,1	1,4	1,5	1,5	1,2

ISTD-korrigierte Werte								
20	101,2	91,7	93,0	97,7	100,0	98,2	97,0	99,7
	97,9	92,2	86,6	95,1	100,0	95,1	94,4	90,8
	98,2	99,4	88,4	96,0	100,0	94,6	92,8	93,0
∅	99,1	94,4	89,3	96,2	---	96,0	94,7	94,5
RSD	1,8	4,6	3,7	1,3	---	2,0	2,2	4,9
100	98,1	98,2	97,8	98,5	100,0	101,4	99,3	105,1
	98,9	98,9	96,9	98,8	100,0	100,1	102,1	104,9
	95,7	98,2	96,9	99,2	100,0	100,7	103,4	101,8
∅	97,6	98,4	97,2	98,8	---	100,8	101,6	104,0
RSD	1,7	0,4	0,5	0,3	---	0,6	2,1	1,8
200	97,0	98,9	98,0	99,7	100,0	100,0	101,4	101,9
	97,0	99,8	97,9	99,3	100,0	99,8	101,2	100,3
	97,7	99,4	97,7	99,3	100,0	100,3	101,7	101,5
∅	97,2	99,4	97,9	99,4	---	100,0	101,4	101,2
RSD	0,4	0,4	0,2	0,3	---	0,3	0,2	0,8

Tab. 10.7: Nichtionische Hydrophile Creme DAB – Variation II: Wiederfindungsraten [%]

c [µg/kg]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADHPE	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
20	78,6	83,9	89,7	88,7	89,2	84,3	83,5	92,2
	90,3	91,0	94,0	92,1	88,4	89,8	92,4	93,7
	91,5 ^a	92,5 ^a	100,2 ^a	97,1 ^a	91,8 ^a	85,5 ^a	95,6 ^a	89,7 ^a
∅	86,8	89,1	94,6	92,6	89,8	86,5	90,5	91,8
RSD	8,2	5,2	5,6	4,5	2,0	3,3	6,9	2,2
100	85,9	89,6	90,8	91,1	87,9	88,1	88,3	90,9
	92,7	91,5	94,6	94,5	90,5	89,2	90,5	91,3
	93,4	92,0	93,1	93,6	89,0	89,4	89,9	91,0
∅	90,7	91,0	92,8	93,1	89,1	88,9	89,6	91,1
RSD	4,6	1,4	2,1	1,9	1,5	0,8	1,3	0,2
200	94,6	93,4	96,7	97,0	94,0	93,3	93,7	93,7
	93,6	93,5	96,3	96,3	93,7	93,4	93,7	94,0
	92,3	91,4	94,3	93,2	91,4	91,1	91,5	91,1
∅	93,5	92,8	95,8	95,5	93,0	92,6	93,0	93,0
RSD	1,2	1,3	1,3	2,1	1,6	1,4	1,4	1,7

ISTD-korrigierte Werte								
20	88,1	94,0	100,5	99,4	100,0	94,5	93,6	103,3
	102,2	102,9	106,4	104,2	100,0	101,6	104,6	106,0
	99,8 ^a	100,8 ^a	109,2 ^a	105,8 ^a	100,0 ^a	93,2 ^a	104,2 ^a	97,8 ^a
∅	96,7	99,2	105,4	103,1	---	96,4	100,8	102,4
RSD	7,8	4,7	4,2	3,2	---	4,7	6,2	4,1
100	97,7	101,9	103,3	103,7	100,0	100,3	100,5	103,5
	102,5	101,1	104,6	104,4	100,0	98,5	100,1	100,9
	105,0	103,4	104,6	105,1	100,0	100,4	101,0	102,2
∅	101,7	102,1	104,2	104,4	---	99,7	100,5	102,2
RSD	3,6	1,2	0,7	0,7	---	1,0	0,4	1,3
200	100,6	99,4	102,8	103,2	100,0	99,3	99,6	99,7
	99,9	99,7	102,8	102,8	100,0	99,6	100,0	100,3
	101,0	100,1	103,2	102,0	100,0	99,7	100,2	99,7
∅	100,5	99,7	102,9	102,7	---	99,5	99,9	99,9
RSD	0,6	0,3	0,2	0,6	---	0,2	0,3	0,3

^a Einfachbestimmung wg. elektronischem Störsignal

Tab. 10.8: Nichtionische Hydrophile Creme DAB – Variation III: Wiederfindungsraten [%]

c [µg/kg]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADHPE	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
20	91,9	96,0	91,3	95,4	92,7	95,7	87,4	98,3
	85,6	88,1	90,1	91,5	90,2	86,9	86,2	75,2
	96,2	101,3	89,5	94,6	91,4	85,4	85,3	102,0
∅	91,3	95,1	90,3	93,8	91,4	89,3	86,3	91,8
RSD	5,8	7,0	1,0	2,2	1,4	6,2	1,2	15,8
100	81,7	80,1	80,8	80,5	81,3	77,7	80,5	72,8
	92,5	88,9	89,1	89,0	89,1	87,1	89,0	81,5
	87,9	89,8	88,4	88,6	89,0	85,9	90,0	81,3
∅	87,3	86,3	86,1	86,0	86,5	83,6	86,5	78,5
RSD	6,2	6,2	5,3	5,6	5,2	6,2	6,0	6,4
200	92,1	93,0	93,4	93,5	93,7	92,8	93,9	91,0
	92,4	94,1	94,1	94,9	94,8	93,6	96,9	93,1
	94,2	92,8	93,8	93,7	93,8	92,4	96,7	88,5
∅	92,9	93,3	93,8	94,1	94,1	92,9	95,8	90,9
RSD	1,2	0,8	0,4	0,8	0,6	0,7	1,8	2,5

ISTD-korrigierte Werte								
20	99,1	103,5	98,4	102,8	100,0	103,2	94,3	106,0
	94,9	97,7	99,8	101,4	100,0	96,3	95,5	83,3
	105,3	110,9	98,0	103,6	100,0	93,4	93,4	111,6
∅	99,8	104,0	98,8	102,6	---	97,6	94,4	100,3
RSD	5,2	6,4	1,0	1,1	---	5,1	1,2	14,9
100	100,5	98,6	99,4	99,0	100,0	95,5	99,0	89,5
	103,8	99,7	99,9	99,9	100,0	97,7	99,8	91,4
	98,7	100,9	99,3	99,5	100,0	96,5	101,1	91,3
∅	101,0	99,8	99,5	99,5	---	96,6	100,0	90,8
RSD	2,5	1,2	0,4	0,4	---	1,1	1,1	1,2
200	98,3	99,2	99,7	99,8	100,0	99,0	100,2	97,1
	97,5	99,4	99,3	100,1	100,0	98,8	102,3	98,2
	100,4	98,9	100,0	99,9	100,0	98,5	103,1	94,3
∅	98,7	99,2	99,7	100,0	---	98,7	101,8	96,6
RSD	1,5	0,2	0,3	0,2	---	0,3	1,5	2,1

10.2.3 Carbomergele

Tab. 10.9: Wasserhaltiges Carbomergel DAB – ‚konventionelle‘ Methode: Wiederfindungsraten [%]

c [µg/kg]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADHPE	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
20	94,2	97,7	95,6	97,2	95,0	96,5	96,1	98,0
	90,8	97,0	92,1	93,7	94,6	94,8	95,3	95,9
	94,5	99,6	97,2	99,1	96,1	96,1	96,4	97,6
∅	93,2	98,1	95,0	96,7	95,2	95,8	95,9	97,2
RSD	2,2	1,4	2,7	2,8	0,8	0,9	0,6	1,1
100	93,5	98,9	95,0	96,8	97,1	96,7	96,5	98,0
	91,4	98,9	91,4	95,7	95,2	93,4	93,8	95,7
	93,1	101,1	93,5	97,2	97,5	97,0	97,0	97,9
∅	92,7	99,6	93,3	96,6	96,6	95,7	95,8	97,2
RSD	1,2	1,3	2,0	0,8	1,3	2,1	1,8	1,3
200	95,6	101,6	96,9	99,4	99,6	99,2	99,0	99,9
	94,7	101,1	97,0	98,7	99,2	98,9	99,0	99,5
	93,7	100,6	96,3	98,3	98,4	98,1	98,1	98,8
∅	94,7	101,1	96,7	98,8	99,1	98,7	98,7	99,4
RSD	1,0	0,5	0,4	0,6	0,6	0,5	0,5	0,6

ISTD-korrigierte Werte								
20	99,2	102,8	100,6	102,3	100,0	101,6	101,1	103,2
	96,0	102,5	97,3	99,0	100,0	100,2	100,7	101,4
	98,4	103,7	101,2	103,1	100,0	100,0	100,4	101,6
∅	97,8	103,0	99,7	101,5	---	100,6	100,7	102,0
RSD	1,7	0,6	2,1	2,1	---	0,9	0,4	1,0
100	96,3	101,8	97,8	99,7	100,0	99,6	99,3	100,8
	96,0	103,9	96,0	100,5	100,0	98,1	98,5	100,5
	95,5	103,7	95,9	99,7	100,0	99,5	99,5	100,4
∅	95,9	103,1	96,6	100,0	---	99,1	99,1	100,6
RSD	0,4	1,1	1,1	0,5	---	0,8	0,5	0,2
200	96,0	101,9	97,2	99,8	100,0	99,6	99,4	100,3
	95,4	102,0	97,8	99,5	100,0	99,7	99,8	100,4
	95,3	102,3	97,8	99,9	100,0	99,7	99,7	100,4
∅	95,6	102,1	97,6	99,7	---	99,7	99,7	100,4
RSD	0,4	0,2	0,3	0,2	---	0,1	0,2	< 0,1

Tab. 10.10: *Wasserhaltiges Carbomergel DAB* - optimierte Methode: Wiederfindungsraten [%]

<i>c</i> [µg/kg]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADHPE	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
4	87,0	107,4	88,6	89,6	95,1	96,4	93,2	93,5
	91,6	101,5	88,3	88,0	95,6	99,7	95,8	92,7
	90,3	102,0	89,2	90,5	93,9	97,4	92,0	93,4
∅	89,6	103,6	88,7	89,4	94,9	97,8	93,6	93,2
RSD	2,6	3,2	0,5	1,4	0,9	1,7	2,1	0,4
20	89,8	102,1	90,5	94,9	94,0	91,0	92,6	96,4
	88,5	100,0	88,0	93,0	91,9	89,1	91,0	94,2
	89,2	101,0	89,2	94,0	92,7	89,4	91,4	94,8
∅	89,2	101,1	89,3	94,0	92,9	89,9	91,7	95,2
RSD	0,7	1,0	1,4	1,1	1,1	1,1	0,9	1,2
40	88,2	96,7	88,8	91,7	92,4	89,9	91,0	93,1
	85,6	95,1	85,9	89,7	90,0	87,5	89,0	91,1
	88,0	96,9	88,9	91,8	92,4	90,2	91,4	93,1
∅	87,2	96,3	87,9	91,1	91,6	89,2	90,5	92,5
RSD	1,7	1,0	1,9	1,3	1,5	1,6	1,4	1,2

ISTD-korrigierte Werte								
4	91,5	112,9	93,2	94,2	100,0	101,3	98,0	98,3
	95,8	106,1	92,3	92,0	100,0	104,3	100,2	97,0
	96,1	108,5	94,9	96,3	100,0	103,7	97,9	99,4
∅	94,5	109,2	93,5	94,2	---	103,1	98,7	98,2
RSD	2,7	3,1	1,4	2,3	---	1,5	1,3	1,2
20	95,5	108,6	96,3	101,0	100,0	96,8	98,5	102,6
	96,3	108,8	95,8	101,2	100,0	97,0	99,0	102,5
	96,2	108,9	96,2	101,4	100,0	96,4	98,5	102,2
∅	96,0	108,8	96,1	101,2	---	96,8	98,7	102,5
RSD	0,4	0,1	0,3	0,2	---	0,3	0,3	0,2
40	95,5	104,7	96,1	99,3	100,0	97,3	98,6	100,8
	95,1	105,7	95,4	99,6	100,0	97,2	98,9	101,2
	95,2	104,9	96,3	99,3	100,0	97,7	98,9	100,8
∅	95,2	105,1	95,9	99,4	---	97,4	98,8	100,9
RSD	0,2	0,5	0,5	0,2	---	0,2	0,2	0,2

Tab. 10.11: *Ultraschallkontaktgel NRF 13.2*: Wiederfindungsraten [%]

<i>c</i> [µg/kg]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADHPE	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
4	77,9	100,7	93,3	93,6	95,5	93,7	96,6	99,8
	73,6	93,0	91,7	89,7	89,8	91,0	93,4	91,9
	80,1	99,3	90,0	94,6	95,0	94,6	95,3	98,2
∅	77,2	97,7	91,7	92,6	93,4	93,1	95,1	96,6
RSD	4,3	4,2	1,8	2,8	3,4	2,0	1,7	4,3
20	78,0	96,4	93,0	93,0	92,3	93,1	94,7	93,0
	79,7	96,5	93,0	94,1	92,5	93,9	94,8	94,3
	79,8	97,4	95,0	95,3	94,1	95,3	95,5	95,4
∅	79,2	96,8	93,7	94,1	93,0	94,1	95,0	94,2
RSD	1,3	0,6	1,2	1,2	1,1	1,2	0,5	1,3
40	83,8	99,6	96,5	97,3	96,7	97,9	98,5	99,3
	83,1	98,5	95,1	95,9	95,5	96,0	97,3	97,7
	81,2	96,3	92,7	93,4	93,6	93,6	94,9	95,6
∅	82,7	98,1	94,8	95,5	95,3	95,8	96,9	97,5
RSD	1,6	1,7	2,0	2,1	1,6	2,2	1,9	1,9

ISTD-korrigierte Werte								
4	81,5	105,5	97,7	98,0	100,0	98,1	101,2	104,5
	81,9	103,6	102,1	99,9	100,0	101,3	104,0	102,3
	84,3	104,5	94,7	99,6	100,0	99,6	100,3	103,4
∅	82,6	104,5	98,2	99,2	---	99,7	101,8	103,4
RSD	1,8	0,9	3,8	1,0	---	1,6	1,9	1,0
20	84,5	104,4	100,7	100,7	100,0	100,8	102,5	100,8
	86,2	104,3	100,5	101,7	100,0	101,5	102,5	101,9
	84,7	103,5	100,9	101,2	100,0	101,2	101,5	101,3
∅	85,1	104,1	100,7	101,2	---	101,2	102,2	101,3
RSD	1,1	0,5	0,2	0,5	---	0,3	0,6	0,6
40	86,7	103,0	99,8	100,6	100,0	101,2	101,9	102,7
	87,0	103,1	99,5	100,4	100,0	100,5	101,8	102,3
	86,7	102,9	99,0	99,8	100,0	99,9	101,4	102,0
∅	86,8	103,0	99,4	100,2	---	100,6	101,7	102,3
RSD	0,2	0,1	0,4	0,4	---	0,6	0,3	0,3

Tab. 10.12: Ethanolhaltiges Carbomergel: Wiederfindungsraten [%]

c [µg/kg]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADHPE	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
4	96,2	103,0	89,5	91,8	96,1	86,6	89,8	95,9
	98,3	104,7	92,1	93,8	97,0	85,6	90,1	94,9
	95,0	103,8	96,6	95,7	99,2	92,2	95,5	99,8
∅	96,5	103,8	92,8	93,8	97,5	88,1	91,8	96,9
RSD	1,8	0,8	3,9	2,1	1,6	4,0	3,5	2,7
20	90,5	101,0	90,9	94,4	95,8	88,3	92,3	97,5
	91,1	104,5	92,4	95,9	97,0	88,6	93,4	97,5
	91,0	104,4	91,4	95,7	96,2	85,4	90,4	95,5
∅	90,9	103,3	91,5	95,3	96,4	87,4	92,1	96,8
RSD	0,4	1,9	0,8	0,9	0,7	2,0	1,6	1,2
40	92,3	104,6	93,4	97,4	98,5	90,0	94,6	98,4
	91,6	104,7	94,0	97,7	98,8	90,4	95,1	99,6
	90,9	102,7	92,2	95,8	96,6	88,3	93,0	96,8
∅	91,6	104,0	93,2	97,0	98,0	89,6	94,2	98,3
RSD	0,8	1,1	1,0	1,1	1,2	1,3	1,2	1,4

ISTD-korrigierte Werte								
4	100,0	107,2	93,1	95,5	100,0	90,1	93,4	99,8
	101,3	107,8	94,9	96,6	100,0	88,2	92,9	97,8
	95,8	104,6	97,5	96,5	100,0	92,9	96,3	100,7
∅	99,0	106,6	95,2	96,2	---	90,4	94,2	99,4
RSD	2,9	1,6	2,3	0,6	---	2,6	2,0	1,5
20	94,5	105,4	94,9	98,6	100,0	92,2	96,4	101,8
	93,8	107,7	95,2	98,8	100,0	91,3	96,3	100,5
	94,6	108,4	95,0	99,5	100,0	88,8	93,9	99,2
∅	94,3	107,2	95,0	98,9	---	90,7	95,5	100,5
RSD	0,4	1,5	0,2	0,5	---	2,0	1,4	1,3
40	93,7	106,2	94,8	98,9	100,0	91,4	96,0	99,8
	92,7	106,0	95,2	98,9	100,0	91,5	96,3	100,9
	94,1	106,4	95,5	99,2	100,0	91,5	96,3	100,3
∅	93,5	106,2	95,1	99,0	---	91,5	96,2	100,3
RSD	0,8	0,2	0,4	0,2	---	0,1	0,2	0,5

Tab. 10.13: 2-Propanolhaltiges Carbomergel DAB: Wiederfindungsraten [%]

c [µg/kg]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADHPE	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
4	90,6	105,8	87,6	94,7	95,7	83,2	90,1	94,3
	92,1	106,4	84,3	92,5	94,7	77,5	86,2	96,4
	91,5	105,7	90,1	96,2	96,5	83,8	92,0	98,6
∅	91,4	105,9	87,3	94,4	95,6	81,5	89,5	96,5
RSD	0,8	0,4	3,3	1,9	0,9	4,3	3,3	2,3
20	90,2	104,0	87,3	94,3	95,0	81,7	88,1	94,5
	91,0	105,4	88,2	95,8	96,7	83,0	89,6	96,8
	92,9	107,9	89,7	97,9	97,9	83,5	90,9	99,1
∅	91,4	105,7	88,4	96,0	96,6	82,7	89,5	96,8
RSD	1,6	1,9	1,4	1,9	1,5	1,1	1,6	2,4
40	94,5	109,1	90,1	98,2	99,2	85,0	92,6	98,7
	93,6	108,5	89,1	97,7	98,5	83,8	91,4	98,4
	91,3	106,0	88,6	96,0	96,8	83,8	90,6	96,7
∅	93,2	107,9	89,3	97,3	98,2	84,2	91,5	97,9
RSD	1,8	1,5	0,9	1,2	1,3	0,8	1,1	1,1

ISTD-korrigierte Werte								
4	94,7	110,5	91,6	98,9	100,0	86,9	94,2	98,6
	97,2	112,4	89,0	97,7	100,0	81,8	91,0	101,8
	94,8	109,5	93,4	99,6	100,0	86,8	95,4	102,2
∅	95,6	110,8	91,3	98,7	---	85,2	93,5	100,9
RSD	1,5	1,3	2,4	1,0	---	3,4	2,4	2,0
20	94,9	109,5	91,9	99,3	100,0	86,0	92,8	99,5
	94,1	108,9	91,2	99,0	100,0	85,8	92,6	100,1
	94,9	110,2	91,6	100,0	100,0	85,3	92,8	101,2
∅	94,6	109,5	91,6	99,4	---	85,7	92,7	100,3
RSD	0,5	0,6	0,4	0,5	---	0,4	0,1	0,9
40	95,3	110,0	90,9	99,0	100,0	85,7	93,3	99,5
	95,0	110,1	90,4	99,1	100,0	85,0	92,7	99,9
	94,4	109,5	91,5	99,2	100,0	86,6	93,6	100,0
∅	94,9	109,9	90,9	99,1	---	85,8	93,2	99,8
RSD	0,5	0,3	0,6	0,1	---	0,9	0,5	0,3

10.2.4 Weitere Matrices

Tab. 10.14: Polyethylenglykol 300: Wiederfindungsraten [%]

c [µg/kg]	BADGE ·2H₂O	BPA	BADGE ·H₂O	BADGE ·HCl·H₂O	BADHPE	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
40	102,4	102,3	103,4	104,1	102,3	103,2	101,7	104,0
	112,6	102,4	103,6	105,2	102,7	102,6	99,4	104,9
	108,9	99,7	101,0	101,7	100,7	98,0	97,9	101,3
∅ RSD	108,0	101,5	102,7	103,7	101,9	101,3	99,7	103,4
	4,8	1,5	1,4	1,7	1,0	2,8	1,9	1,8
200	100,1	99,8	99,3	99,6	99,2	98,9	98,6	98,9
	103,1	102,9	101,9	102,7	102,3	102,1	101,8	104,1
	105,0	105,2	104,2	104,6	104,4	104,6	103,5	105,2
∅ RSD	102,8	102,6	101,8	102,3	102,0	101,9	101,3	102,7
	2,4	2,7	2,4	2,5	2,6	2,8	2,4	3,3
400	105,3	106,6	105,6	105,9	105,8	106,3	106,0	106,9
	106,3	106,4	105,4	106,0	105,7	106,2	106,7	107,1
	105,7	106,4	105,4	105,8	105,6	105,9	105,9	106,5
∅ RSD	105,7	106,5	105,5	105,9	105,7	106,1	106,2	106,8
	0,5	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,4	0,3
ISTD-korrigierte Werte								
40	100,1	100,0	101,1	101,8	100,0	100,9	99,4	101,7
	109,7	99,7	100,9	102,4	100,0	99,9	96,7	102,2
	108,1	99,0	100,3	101,0	100,0	97,3	97,2	100,5
∅ RSD	105,9	99,5	100,8	101,7	---	99,4	97,8	101,5
	4,8	0,5	0,4	0,7	---	1,9	1,4	0,8
200	101,0	100,7	100,2	100,5	100,0	99,8	99,5	99,8
	100,8	100,5	99,6	100,4	100,0	99,8	99,5	101,7
	100,6	100,8	99,8	100,2	100,0	100,1	99,1	100,8
∅ RSD	100,8	100,7	99,9	100,4	---	99,9	99,4	100,8
	0,2	0,1	0,3	0,1	---	0,2	0,2	1,0
400	99,5	100,8	99,9	100,2	100,0	100,5	100,2	101,1
	100,6	100,7	99,7	100,3	100,0	100,5	101,0	101,4
	100,1	100,8	99,9	100,3	100,0	100,3	100,3	100,9
∅ RSD	100,1	100,8	99,8	100,2	---	100,4	100,5	101,1
	0,5	0,1	0,1	0,1	---	0,1	0,4	0,3

Tab. 10.15: Polysorbat 60: Wiederfindungsraten [%]

c [µg/kg]	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADHPE	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
100	111,2	89,1	97,7	100,3	97,0	106,9	100,5	99,7
	102,4	92,0	100,5	109,1	96,9	120,9	99,5	98,4
	96,2	100,0	100,8	106,6	95,6	110,6	94,4	98,1
∅	103,2	93,7	99,7	105,3	96,5	112,8	98,1	98,8
RSD	7,3	6,0	1,7	4,3	0,8	6,5	3,3	0,9
500	92,7	100,0	100,5	101,9	97,3	103,3	100,1	98,8
	95,5	97,4	101,3	104,2	97,5	103,2	101,7	99,8
	Probe verschüttet							
∅	94,1	98,7	100,9	103,0	97,4	103,2	100,9	99,3
RSD	2,1	1,8	0,6	1,6	0,2	0,1	1,1	0,8
1000	97,9	98,3	99,1	99,7	97,1	101,8	99,6	99,4
	97,2	98,4	98,2	98,3	96,7	103,4	99,0	98,5
	96,6	96,7	97,0	97,6	94,9	100,1	98,8	97,8
∅	97,2	97,8	98,1	98,5	96,2	101,7	99,2	98,6
RSD	0,6	1,0	1,1	1,1	1,2	1,6	0,4	0,9

ISTD-korrigierte Werte								
100	114,6	91,8	100,7	103,3	100,0	110,1	103,5	102,8
	105,7	95,0	103,8	112,6	100,0	124,8	102,7	101,6
	100,6	104,6	105,4	111,5	100,0	115,6	98,8	102,6
∅	106,9	97,1	103,3	109,1	---	116,9	101,7	102,3
RSD	6,6	6,9	2,3	4,6	---	6,4	2,5	0,6
500	95,3	102,7	103,2	104,7	100,0	106,1	102,9	101,5
	97,9	99,8	103,9	106,8	100,0	105,8	104,3	102,4
	Probe verschüttet							
∅	96,6	101,3	103,6	105,7	---	105,9	103,6	101,9
RSD	1,9	2,0	0,4	1,4	---	0,2	1,0	0,6
1000	100,8	101,2	102,1	102,6	100,0	104,8	102,6	102,4
	100,6	101,8	101,6	101,7	100,0	106,9	102,5	101,9
	101,8	101,8	102,1	102,8	100,0	105,4	104,1	103,0
∅	101,0	101,6	102,0	102,4	---	105,7	103,1	102,4
RSD	0,6	0,4	0,3	0,6	---	1,0	0,9	0,5

10.3 Verfahrenskennndaten

10.3.1 Salben

Einfache Augensalbe DAC

Tab. 10.16: Einfache Augensalbe DAC: Verfahrenskennndaten Matrixkalibrierung

	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
Vor ISTD-Korrektur							
$m \left[\frac{mV \cdot \text{min} \cdot \text{kg}}{\mu\text{g}} \right]$	0,181	0,150	0,161	0,166	0,196	0,171	0,160
$b \text{ [mV} \cdot \text{min]}$	-0,208	0,506	0,551	0,032	0,782	0,603	0,348
R^2	0,9963	0,9833	0,9830	0,9922	0,9879	0,9863	0,9833
$s_y \text{ [mV} \cdot \text{min]}$	0,875	1,53	1,59	1,11	1,69	1,47	1,72
$s_{x0} \left[\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}} \right]$	4,82	10,2	9,88	6,72	8,62	8,56	10,8
$V_{ko} \text{ [%]}$	4,47	9,53	9,63	6,48	8,10	8,63	9,54
Nach ISTD-Korrektur							
$m \left[\frac{mV \cdot \text{min} \cdot \text{kg}}{\mu\text{g}} \right]$	0,214	0,177	0,189	0,195	0,231	0,202	0,188
$b \text{ [mV} \cdot \text{min]}$	-1,088	-0,156	-0,131	-0,729	-0,065	-0,092	-0,424
R^2	0,9957	0,9996	0,9992	0,9948	0,9999	0,9999	0,9996
$s_y \text{ [mV} \cdot \text{min]}$	1,11	0,282	0,410	1,07	0,202	0,157	0,318
$s_{x0} \left[\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}} \right]$	5,19	1,59	2,17	5,46	0,876	0,778	1,69
$V_{ko} \text{ [%]}$	4,81	1,49	2,11	5,27	0,82	0,78	1,50
$LOD \left[\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}} \right]$	7,4	2,3	3,1	7,8	1,3	1,1	2,4
$LOQ \left[\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}} \right]$	26,2	8,2	11,1	27,5	4,5	4,0	8,7

m = Steigung, b = Achsenabschnitt, R^2 = Bestimmtheitsmaß, s_y = Reststandardabweichung, s_{x0} = Verfahrensstandardabweichung, V_{ko} = Verfahrensvariationskoeffizient

Einfache Augensalbe DAC + 10 % Polysorbat 60Tab. 10.17: *Einfache Augensalbe DAC + 10 % Polysorbat 60*: Verfahrenskennndaten Matrixkalibrierung

	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
Vor ISTD-Korrektur							
$m \left[\frac{mV \cdot \min \cdot kg}{\mu g} \right]$	0,0675	0,0639	0,0691	0,0670	0,0791	0,0709	0,0645
$b \text{ [mV} \cdot \text{min]}$	0,0817	-0,0870	-0,0685	-0,103	-0,112	-0,0618	0,0480
R^2	0,9984	0,9996	0,9997	0,9996	0,9994	0,9993	0,9994
$s_y \text{ [mV} \cdot \text{min]}$	0,419	0,190	0,188	0,200	0,299	0,264	0,265
$s_{x0} \left[\frac{\mu g}{kg} \right]$	6,21	2,97	2,73	2,99	3,77	3,72	4,11
$V_{ko} \text{ [%]}$	2,75	1,39	1,33	1,44	1,78	1,87	1,82
Nach ISTD-Korrektur							
$m \left[\frac{mV \cdot \min \cdot kg}{\mu g} \right]$	0,0676	0,0639	0,0691	0,0670	0,0791	0,0709	0,0645
$b \text{ [mV} \cdot \text{min]}$	0,0135	-0,1355	-0,1189	-0,1516	-0,1705	-0,1113	-0,0028
R^2	0,9986	0,9998	0,9999	0,9998	0,9999	0,9998	0,9998
$s_y \text{ [mV} \cdot \text{min]}$	0,397	0,132	0,126	0,128	0,141	0,133	0,166
$s_{x0} \left[\frac{\mu g}{kg} \right]$	5,87	2,06	1,83	1,91	1,78	1,88	2,58
$V_{ko} \text{ [%]}$	2,60	0,97	0,89	0,92	0,84	0,95	1,14
$LOD \left[\frac{\mu g}{kg} \right]$	8,6	3,1	2,8	2,8	2,7	2,8	3,8
$LOQ \left[\frac{\mu g}{kg} \right]$	30,7	10,7	9,5	9,9	9,2	9,7	13,3

m = Steigung, b = Achsenabschnitt, R^2 = Bestimmtheitsmaß, s_y = Reststandardabweichung, s_{x0} = Verfahrensstandardabweichung, V_{ko} = Verfahrensvariationskoeffizient

Einfache Augensalbe DAC + 10 % Span 60

Tab. 10.18: Einfache Augensalbe DAC + 10 % Span 60: Verfahrenskenndaten Matrixkalibrierung

	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
	Vor ISTD-Korrektur						
<i>m</i> $\left[\frac{\text{mV} \cdot \text{min} \cdot \text{kg}}{\mu\text{g}}\right]$	0,0425	0,0448	0,0426	0,0393	0,0413	0,0346	0,0366
<i>b</i> [mV · min]	0,429	0,335	0,413	0,480	0,544	0,374	0,0343
<i>R</i>²	0,9552	0,9578	0,9384	0,9333	0,9268	0,9196	0,9300
<i>s_y</i> [mV · min]	0,727	0,735	0,820	0,798	0,904	0,743	0,829
<i>s_{x0}</i> $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}\right]$	17,1	16,4	19,2	20,3	21,9	21,5	22,6
<i>V_{ko}</i> [%]	15,9	15,4	18,8	19,6	20,6	21,7	20,1
	Nach ISTD-Korrektur						
<i>m</i> $\left[\frac{\text{mV} \cdot \text{min} \cdot \text{kg}}{\mu\text{g}}\right]$	0,147	0,155	0,147	0,136	0,143	0,120	0,126
<i>b</i> [mV · min]	-0,068	-0,419	-0,122	0,204	0,246	0,016	-1,196
<i>R</i>²	0,9958	0,9956	0,9980	0,9982	0,9987	0,9903	0,9770
<i>s_y</i> [mV · min]	0,755	0,799	0,495	0,434	0,402	0,858	1,60
<i>s_{x0}</i> $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}\right]$	5,15	5,17	3,36	3,20	2,82	7,18	12,7
<i>V_{ko}</i> [%]	4,78	4,84	3,28	3,09	2,65	7,23	11,2
<i>LOD</i> $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}\right]$	7,4	7,4	4,8	4,6	4,0	10,3	18,1
<i>LOQ</i> $\left[\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}\right]$	26,0	26,1	17,1	16,3	14,4	35,7	61,7

m = Steigung, ***b*** = Achsenabschnitt, ***R*²** = Bestimmtheitsmaß, ***s_y*** = Reststandardabweichung, ***s_{x0}*** = Verfahrensstandardabweichung, ***V_{ko}*** = Verfahrensvariationskoeffizient

Macrogolsalbe DAC

Tab. 10.19: Macrogolsalbe DAC: Verfahrenskenndaten Matrixkalibrierung

	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
Vor ISTD-Korrektur							
$m \left[\frac{mV \cdot \min \cdot kg}{\mu g} \right]$	0,0358	0,0333	0,0356	0,0350	0,0419	0,0367	0,0337
$b \text{ [mV} \cdot \text{min]}$	0,0285	0,0205	0,2090	0,1798	0,0577	0,0050	0,0152
R^2	0,9987	0,9993	0,9951	0,9982	0,9997	0,9996	0,9993
$s_y \text{ [mV} \cdot \text{min]}$	0,207	0,139	0,375	0,225	0,111	0,111	0,150
$s_{x0} \left[\frac{\mu g}{kg} \right]$	5,79	4,18	10,5	6,45	2,65	3,02	4,47
$V_{ko} \text{ [%]}$	2,68	1,96	5,14	3,11	1,25	1,52	1,98
Nach ISTD-Korrektur							
$m \left[\frac{mV \cdot \min \cdot kg}{\mu g} \right]$	0,0370	0,0345	0,0368	0,0361	0,0433	0,0379	0,0348
$b \text{ [mV} \cdot \text{min]}$	0,0262	0,0180	0,2147	0,1838	0,0555	0,0018	0,0130
R^2	0,9979	0,9991	0,9952	0,9982	0,9995	0,9993	0,9990
$s_y \text{ [mV} \cdot \text{min]}$	0,267	0,162	0,383	0,235	0,152	0,148	0,180
$s_{x0} \left[\frac{\mu g}{kg} \right]$	7,20	4,71	10,4	6,50	3,51	3,90	5,18
$V_{ko} \text{ [%]}$	3,33	2,21	5,07	3,14	1,65	1,96	2,30
$LOD \left[\frac{\mu g}{kg} \right]$	10,3	6,7	14,9	9,3	5,0	5,6	7,4
$LOQ \left[\frac{\mu g}{kg} \right]$	36,6	24,2	52,4	33,1	18,1	20,0	26,6

m = Steigung, b = Achsenabschnitt, R^2 = Bestimmtheitsmaß, s_y = Reststandardabweichung, s_{x0} = Verfahrensstandardabweichung, V_{ko} = Verfahrensvariationskoeffizient

10.3.2 Cremes

Nichtionische Hydrophile Creme DAB

Tab. 10.20: Nichtionische Hydrophile Creme DAB: Verfahrenskenndaten Matrixkalibrierung

	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
Vor ISTD-Korrektur							
<i>m</i> [$\frac{mV \cdot min \cdot kg}{\mu g}$]	0,125	0,114	0,125	0,120	0,143	0,125	0,116
<i>b</i> [$mV \cdot min$]	0,191	0,341	0,334	0,306	0,468	0,339	0,310
<i>R</i>²	0,9909	0,9925	0,9910	0,9909	0,9907	0,9910	0,9892
<i>s_y</i> [$mV \cdot min$]	0,944	0,774	0,898	0,871	1,08	0,866	1,00
<i>s_{x0}</i> [$\frac{\mu g}{kg}$]	7,56	6,80	7,17	7,28	7,54	6,91	8,62
<i>V_{ko}</i> [%]	7,01	6,37	6,99	7,02	7,09	6,97	7,65
Nach ISTD-Korrektur							
<i>m</i> [$\frac{mV \cdot min \cdot kg}{\mu g}$]	0,144	0,132	0,145	0,139	0,166	0,145	0,134
<i>b</i> [$mV \cdot min$]	-0,171	0,026	0,002	-0,016	0,077	0,017	-0,028
<i>R</i>²	0,9996	0,9997	0,9999	0,9999	0,9998	0,9999	0,9997
<i>s_y</i> [$mV \cdot min$]	0,221	0,174	0,096	0,107	0,192	0,108	0,186
<i>s_{x0}</i> [$\frac{\mu g}{kg}$]	1,53	1,32	0,662	0,770	1,16	0,746	1,38
<i>V_{ko}</i> [%]	1,42	1,24	0,65	0,74	1,09	0,75	1,23
<i>LOD</i> [$\frac{\mu g}{kg}$]	2,2	1,9	0,9	1,1	1,7	1,1	2,0
<i>LOQ</i> [$\frac{\mu g}{kg}$]	7,9	6,8	3,4	4,0	6,0	3,9	7,2

m = Steigung, ***b*** = Achsenabschnitt, ***R*²** = Bestimmtheitsmaß, ***s_y*** = Reststandardabweichung, ***s_{x0}*** = Verfahrensstandardabweichung, ***V_{ko}*** = Verfahrensvariationskoeffizient

Nichtionische Hydrophile Creme DAB – Variation I

Tab. 10.21: Nichtionische Hydrophile Creme DAB – Variation I: Verfahrenskennndaten Matrixkalibrierung

	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
Vor ISTD-Korrektur							
$m \left[\frac{mV \cdot min \cdot kg}{\mu g} \right]$	0,123	0,109	0,130	0,127	0,150	0,135	0,124
$b [mV \cdot min]$	-0,288	-0,347	-0,377	-0,299	-0,305	-0,284	-0,284
R^2	0,9985	0,9982	0,9983	0,9981	0,9979	0,9976	0,9933
$s_y [mV \cdot min]$	0,376	0,362	0,398	0,424	0,534	0,483	0,844
$s_{x0} \left[\frac{\mu g}{kg} \right]$	3,04	3,31	3,05	3,33	3,56	3,57	6,80
$V_{ko} [\%]$	2,82	3,10	2,98	3,21	3,35	3,59	6,03
Nach ISTD-Korrektur							
$m \left[\frac{mV \cdot min \cdot kg}{\mu g} \right]$	0,126	0,111	0,133	0,130	0,152	0,138	0,126
$b [mV \cdot min]$	-0,139	-0,223	-0,235	-0,151	-0,127	-0,135	-0,132
R^2	0,9994	0,9993	0,9994	0,9994	0,9998	0,9994	0,9959
$s_y [mV \cdot min]$	0,234	0,227	0,243	0,233	0,174	0,243	0,668
$s_{x0} \left[\frac{\mu g}{kg} \right]$	1,86	2,04	1,83	1,80	1,14	1,77	5,30
$V_{ko} [\%]$	1,73	1,91	1,79	1,73	1,07	1,78	4,70
$LOD \left[\frac{\mu g}{kg} \right]$	2,7	2,9	2,6	2,6	1,6	2,5	7,6
$LOQ \left[\frac{\mu g}{kg} \right]$	9,6	10,5	9,4	9,2	5,9	9,1	26,7

m = Steigung, b = Achsenabschnitt, R^2 = Bestimmtheitsmaß, s_y = Reststandardabweichung, s_{x0} = Verfahrensstandardabweichung, V_{ko} = Verfahrensvariationskoeffizient

Nichtionische Hydrophile Creme DAB – Variation II

Tab. 10.22: Nichtionische Hydrophile Creme DAB – Variation II: Verfahrenskennndaten Matrixkalibrierung

	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
Vor ISTD-Korrektur							
<i>m</i> [$\frac{mV \cdot \text{min} \cdot \text{kg}}{\mu\text{g}}$]	0,127	0,107	0,129	0,125	0,144	0,128	0,118
<i>b</i> [$mV \cdot \text{min}$]	-0,413	-0,153	-0,115	-0,137	-0,245	-0,131	-0,120
<i>R</i>²	0,9983	0,9992	0,9990	0,9982	0,9992	0,9992	0,9989
<i>s_y</i> [$mV \cdot \text{min}$]	0,413	0,239	0,303	0,403	0,314	0,265	0,314
<i>s_{x0}</i> [$\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}$]	3,26	2,24	2,34	3,23	2,19	2,07	2,66
<i>V_{ko}</i> [%]	2,88	2,00	2,18	2,98	1,96	1,99	2,25
Nach ISTD-Korrektur							
<i>m</i> [$\frac{mV \cdot \text{min} \cdot \text{kg}}{\mu\text{g}}$]	0,135	0,114	0,138	0,133	0,153	0,137	0,126
<i>b</i> [$mV \cdot \text{min}$]	-0,106	0,130	0,222	0,189	0,131	0,189	0,221
<i>R</i>²	0,9990	0,9996	0,9998	0,9996	0,9997	0,9996	0,9994
<i>s_y</i> [$mV \cdot \text{min}$]	0,331	0,182	0,140	0,201	0,194	0,185	0,255
<i>s_{x0}</i> [$\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}$]	2,45	1,59	1,01	1,51	1,26	1,35	2,03
<i>V_{ko}</i> [%]	2,16	1,42	0,94	1,39	1,13	1,30	1,71
<i>LOD</i> [$\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}$]	3,6	2,3	1,5	2,2	1,9	2,0	3,0
<i>LOQ</i> [$\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}$]	12,8	8,4	5,4	8,0	6,7	7,1	10,7

m = Steigung, *b* = Achsenabschnitt, *R*² = Bestimmtheitsmaß, *s_y* = Reststandardabweichung, *s_{x0}* = Verfahrensstandardabweichung, *V_{ko}* = Verfahrensvariationskoeffizient

Nichtionische Hydrophile Creme DAB – Variation III

Tab. 10.23: Nichtionische Hydrophile Creme DAB – Variation III: Verfahrenskenndaten Matrixkalibrierung

	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
Vor ISTD-Korrektur							
$m \left[\frac{mV \cdot \min \cdot kg}{\mu g} \right]$	0,123	0,105	0,128	0,124	0,144	0,133	0,115
$b \text{ [mV} \cdot \text{min]}$	-0,346	-0,167	-0,445	-0,447	-0,529	-0,535	-0,564
R^2	0,9969	0,9962	0,9967	0,9956	0,9947	0,9953	0,9818
$s_y \text{ [mV} \cdot \text{min]}$	0,541	0,510	0,554	0,625	0,822	0,662	1,30
$s_{x0} \left[\frac{\mu g}{kg} \right]$	4,40	4,84	4,31	5,05	5,69	4,98	11,2
$V_{ko} \text{ [%]}$	4,08	4,53	4,21	4,87	5,35	5,02	9,96
Nach ISTD-Korrektur							
$m \left[\frac{mV \cdot \min \cdot kg}{\mu g} \right]$	0,130	0,111	0,136	0,131	0,152	0,140	0,122
$b \text{ [mV} \cdot \text{min]}$	0,108	0,232	-0,007	-0,024	-0,030	-0,109	-0,169
R^2	0,9986	0,9997	0,9999	0,9997	0,9995	0,9989	0,9890
$s_y \text{ [mV} \cdot \text{min]}$	0,383	0,156	0,108	0,161	0,273	0,339	1,06
$s_{x0} \left[\frac{\mu g}{kg} \right]$	2,95	1,40	0,795	1,23	1,79	2,41	8,72
$V_{ko} \text{ [%]}$	2,73	1,31	0,78	1,19	1,68	2,43	7,73
$LOD \left[\frac{\mu g}{kg} \right]$	4,2	2,0	1,1	1,8	2,6	3,4	12,5
$LOQ \left[\frac{\mu g}{kg} \right]$	15,1	7,2	4,1	6,4	9,2	12,3	43,2

m = Steigung, b = Achsenabschnitt, R^2 = Bestimmtheitsmaß, s_y = Reststandardabweichung, s_{x0} = Verfahrensstandardabweichung, V_{ko} = Verfahrensvariationskoeffizient

10.3.3 Carbomergele

Wasserhaltiges Carbomergel DAB – ‚konventionelle‘ Methode

Tab. 10.24: Wasserhaltiges Carbomergel DAB – ‚konventionelle‘ Methode: Verfahrenskenndaten Matrixkalibrierung

	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
	Vor ISTD-Korrektur						
<i>m</i> [$\frac{mV \cdot min \cdot kg}{\mu g}$]	0,138	0,136	0,142	0,138	0,168	0,146	0,136
<i>b</i> [$mV \cdot min$]	-0,120	-0,004	-0,144	-0,103	-0,152	-0,124	-0,094
<i>R</i>²	0,9994	0,9994	0,9994	0,9997	0,9993	0,9993	0,9994
<i>s_y</i> [$mV \cdot min$]	0,260	0,263	0,270	0,196	0,349	0,282	0,264
<i>s_{x0}</i> [$\frac{\mu g}{kg}$]	1,88	1,93	1,90	1,42	2,08	1,94	1,94
<i>V_{ko}</i> [%]	1,75	1,81	1,85	1,37	1,95	1,95	1,72
	Nach ISTD-Korrektur						
<i>m</i> [$\frac{mV \cdot min \cdot kg}{\mu g}$]	0,139	0,137	0,143	0,139	0,169	0,146	0,136
<i>b</i> [$mV \cdot min$]	0,112	0,227	0,082	0,120	0,125	0,101	0,145
<i>R</i>²	0,9999	0,9997	0,9999	0,9999	0,9999	0,9999	> 0,9999
<i>s_y</i> [$mV \cdot min$]	0,111	0,185	0,109	0,081	0,097	0,076	0,057
<i>s_{x0}</i> [$\frac{\mu g}{kg}$]	0,803	1,35	0,767	0,585	0,578	0,521	0,421
<i>V_{ko}</i> [%]	0,74	1,26	0,75	0,56	0,54	0,53	0,37
<i>LOD</i> [$\frac{\mu g}{kg}$]	1,1	1,9	1,1	0,8	0,8	0,7	0,6
<i>LOQ</i> [$\frac{\mu g}{kg}$]	4,2	7,0	4,0	3,0	3,0	2,7	2,2

m = Steigung, ***b*** = Achsenabschnitt, ***R*²** = Bestimmtheitsmaß, ***s_y*** = Reststandardabweichung, ***s_{x0}*** = Verfahrensstandardabweichung, ***V_{ko}*** = Verfahrensvariationskoeffizient

Wasserhaltiges Carbomergel DAB – optimierte Methode

Tab. 10.25: Wasserhaltiges Carbomergel DAB – optimierte Methode: Verfahrenskenndaten Matrixkalibrierung

	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
Vor ISTD-Korrektur							
$m \left[\frac{mV \cdot min \cdot kg}{\mu g} \right]$	0,654	0,667	0,670	0,667	0,791	0,694	0,653
$b \text{ [mV} \cdot \text{min]}$	0,097	0,124	0,089	0,080	0,193	0,121	0,147
R^2	0,9993	0,9994	0,9990	0,9995	0,9991	0,9993	0,9994
$s_y \text{ [mV} \cdot \text{min]}$	0,268	0,252	0,324	0,235	0,376	0,265	0,263
$s_{x0} \left[\frac{\mu g}{kg} \right]$	0,409	0,379	0,483	0,353	0,476	0,382	0,403
$V_{ko} \text{ [%]}$	1,90	1,77	2,35	1,70	2,24	1,93	1,79
Nach ISTD-Korrektur							
$m \left[\frac{mV \cdot min \cdot kg}{\mu g} \right]$	0,718	0,731	0,735	0,732	0,867	0,761	0,716
$b \text{ [mV} \cdot \text{min]}$	-0,063	-0,035	-0,067	-0,077	0,006	-0,034	-0,017
R^2	> 0,9999	0,9999	0,9998	0,9999	0,9999	> 0,9999	> 0,9999
$s_y \text{ [mV} \cdot \text{min]}$	0,065	0,099	0,154	0,088	0,132	0,076	0,060
$s_{x0} \left[\frac{\mu g}{kg} \right]$	0,091	0,135	0,209	0,121	0,152	0,101	0,084
$V_{ko} \text{ [%]}$	0,42	0,63	1,02	0,58	0,71	0,51	0,37
$LOD \left[\frac{\mu g}{kg} \right]$	0,13	0,19	0,30	0,17	0,22	0,14	0,12
$LOQ \left[\frac{\mu g}{kg} \right]$	0,47	0,70	1,08	0,63	0,79	0,52	0,44

m = Steigung, b = Achsenabschnitt, R^2 = Bestimmtheitsmaß, s_y = Reststandardabweichung, s_{x0} = Verfahrensstandardabweichung, V_{ko} = Verfahrensvariationskoeffizient

Ultraschallkontaktgel NRF 13.2Tab. 10.26: *Ultraschallkontaktgel NRF 13.2*: Verfahrenskenndaten Matrixkalibrierung

	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
	Vor ISTD-Korrektur						
<i>m</i> [$\frac{mV \cdot \text{min} \cdot \text{kg}}{\mu\text{g}}$]	0,618	0,652	0,698	0,672	0,802	0,703	0,660
<i>b</i> [$mV \cdot \text{min}$]	-0,279	-0,009	-0,037	-0,063	-0,083	-0,029	-0,129
<i>R</i>²	0,9990	0,9992	0,9991	0,9991	0,9989	0,9993	0,9988
<i>s_y</i> [$mV \cdot \text{min}$]	0,313	0,287	0,310	0,307	0,423	0,278	0,375
<i>s_{x0}</i> [$\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}$]	0,507	0,439	0,444	0,456	0,527	0,395	0,568
<i>V_{ko}</i> [%]	2,35	2,06	2,16	2,20	2,48	1,99	2,52
	Nach ISTD-Korrektur						
<i>m</i> [$\frac{mV \cdot \text{min} \cdot \text{kg}}{\mu\text{g}}$]	0,647	0,682	0,730	0,703	0,839	0,736	0,691
<i>b</i> [$mV \cdot \text{min}$]	-0,131	0,168	0,145	0,110	0,131	0,149	0,051
<i>R</i>²	0,9999	0,9998	0,9997	0,9998	0,9998	0,9999	0,9999
<i>s_y</i> [$mV \cdot \text{min}$]	0,106	0,131	0,200	0,143	0,198	0,122	0,104
<i>s_{x0}</i> [$\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}$]	0,164	0,192	0,274	0,204	0,236	0,166	0,151
<i>V_{ko}</i> [%]	0,76	0,90	1,34	0,98	1,11	0,84	0,67
<i>LOD</i> [$\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}$]	0,24	0,28	0,39	0,29	0,34	0,24	0,22
<i>LOQ</i> [$\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}$]	0,85	1,00	1,42	1,05	1,22	0,86	0,78

m = Steigung, *b* = Achsenabschnitt, *R*² = Bestimmtheitsmaß, *s_y* = Reststandardabweichung, *s_{x0}* = Verfahrensstandardabweichung, *V_{ko}* = Verfahrensvariationskoeffizient

Ethanolhaltiges Carbomergel

Tab. 10.27: Ethanolhaltiges Carbomergel: Verfahrenskenndaten Matrixkalibrierung

	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
Vor ISTD-Korrektur							
$m \left[\frac{mV \cdot min \cdot kg}{\mu g} \right]$	0,685	0,692	0,685	0,685	0,745	0,683	0,663
$b \text{ [mV} \cdot \text{min]}$	0,015	0,082	0,034	-0,051	-0,023	-0,016	-0,031
R^2	0,9998	0,9996	0,9997	0,9998	0,9992	0,9995	0,9996
$s_y \text{ [mV} \cdot \text{min]}$	0,153	0,210	0,168	0,159	0,323	0,223	0,226
$s_{x0} \left[\frac{\mu g}{kg} \right]$	0,224	0,303	0,245	0,233	0,433	0,326	0,341
$V_{ko} \text{ [%]}$	1,04	1,42	1,19	1,12	2,04	1,64	1,51
Nach ISTD-Korrektur							
$m \left[\frac{mV \cdot min \cdot kg}{\mu g} \right]$	0,647	0,682	0,730	0,703	0,839	0,736	0,691
$b \text{ [mV} \cdot \text{min]}$	-0,131	0,168	0,145	0,110	0,131	0,149	0,051
R^2	0,9999	0,9997	0,9999	0,9998	0,9995	0,9997	0,9998
$s_y \text{ [mV} \cdot \text{min]}$	0,106	0,131	0,200	0,143	0,198	0,122	0,104
$s_{x0} \left[\frac{\mu g}{kg} \right]$	0,164	0,192	0,274	0,204	0,236	0,166	0,151
$V_{ko} \text{ [%]}$	0,83	1,31	0,86	0,94	1,68	1,31	1,08
$LOD \left[\frac{\mu g}{kg} \right]$	0,26	0,40	0,25	0,28	0,51	0,37	0,35
$LOQ \left[\frac{\mu g}{kg} \right]$	0,92	1,45	0,92	1,01	1,84	1,35	1,26

m = Steigung, b = Achsenabschnitt, R^2 = Bestimmtheitsmaß, s_y = Reststandardabweichung, s_{x0} = Verfahrensstandardabweichung, V_{ko} = Verfahrensvariationskoeffizient

2-Propanolhaltiges Carbomergel

Tab. 10.28: 2-Propanolhaltiges Carbomergel DAB: Verfahrenskenndaten Matrixkalibrierung

	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
Vor ISTD-Korrektur							
<i>m</i> [$\frac{mV \cdot \text{min} \cdot \text{kg}}{\mu\text{g}}$]	0,706	0,719	0,660	0,689	0,698	0,661	0,661
<i>b</i> [$mV \cdot \text{min}$]	-0,208	-0,007	0,008	-0,050	0,015	0,012	0,019
<i>R</i>²	0,9991	0,9993	0,9996	0,9995	0,9993	0,9994	0,9995
<i>s_y</i> [$mV \cdot \text{min}$]	0,336	0,301	0,197	0,224	0,278	0,241	0,242
<i>s_{x0}</i> [$\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}$]	0,476	0,419	0,298	0,325	0,398	0,365	0,367
<i>V_{ko}</i> [%]	2,20	1,96	1,45	1,57	1,87	1,84	1,63
Nach ISTD-Korrektur							
<i>m</i> [$\frac{mV \cdot \text{min} \cdot \text{kg}}{\mu\text{g}}$]	0,717	0,730	0,670	0,699	0,708	0,671	0,671
<i>b</i> [$mV \cdot \text{min}$]	-0,054	0,156	0,152	0,099	0,173	0,152	0,178
<i>R</i>²	0,9999	0,9999	0,9998	0,9999	0,9995	0,9997	0,9998
<i>s_y</i> [$mV \cdot \text{min}$]	0,125	0,129	0,141	0,097	0,241	0,157	0,143
<i>s_{x0}</i> [$\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}$]	0,174	0,177	0,211	0,138	0,340	0,234	0,213
<i>V_{ko}</i> [%]	0,81	0,83	1,03	0,67	1,60	1,18	0,95
<i>LOD</i> [$\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}$]	0,25	0,25	0,30	0,20	0,49	0,34	0,31
<i>LOQ</i> [$\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}$]	0,90	0,92	1,09	0,72	1,75	1,21	1,11

m = Steigung, *b* = Achsenabschnitt, *R*² = Bestimmtheitsmaß, *s_y* = Reststandardabweichung, *s_{x0}* = Verfahrensstandardabweichung, *V_{ko}* = Verfahrensvariationskoeffizient

10.3.4 Weitere Matrices

Polyethylenglykol 300

Tab. 10.29: Polyethylenglykol 300: Verfahrenskenndaten Matrixkalibrierung

	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
Vor ISTD-Korrektur							
$m \left[\frac{mV \cdot min \cdot kg}{\mu g} \right]$	0,0925	0,0880	0,0938	0,0912	0,1064	0,0943	0,0886
$b \left[mV \cdot min \right]$	-0,1926	-0,0545	-0,0388	-0,0833	-0,1316	-0,1287	-0,2205
R^2	0,9996	0,9996	0,9996	0,9996	0,9996	0,9996	0,9995
$s_y \left[mV \cdot min \right]$	0,286	0,284	0,265	0,263	0,346	0,282	0,339
$s_{x0} \left[\frac{\mu g}{kg} \right]$	3,09	3,22	2,82	2,89	3,26	2,99	3,83
$V_{ko} \left[\% \right]$	1,43	1,51	1,37	1,39	1,53	1,51	1,70
Nach ISTD-Korrektur							
$m \left[\frac{mV \cdot min \cdot kg}{\mu g} \right]$	0,0871	0,0828	0,0883	0,0858	0,1001	0,0888	0,0834
$b \left[mV \cdot min \right]$	0,1692	0,2845	0,3091	0,2583	0,2769	0,2100	0,1410
R^2	0,9995	0,9998	0,9998	0,9998	0,9998	0,9998	0,9998
$s_y \left[mV \cdot min \right]$	0,294	0,189	0,188	0,187	0,199	0,185	0,208
$s_{x0} \left[\frac{\mu g}{kg} \right]$	3,38	2,28	2,13	2,18	1,99	2,09	2,49
$V_{ko} \left[\% \right]$	1,56	1,07	1,04	1,05	0,93	1,05	1,10
$LOD \left[\frac{\mu g}{kg} \right]$	4,8	3,3	3,0	3,1	2,8	3,0	3,6
$LOQ \left[\frac{\mu g}{kg} \right]$	17,4	11,8	11,0	11,3	10,3	10,8	12,9

m = Steigung, b = Achsenabschnitt, R^2 = Bestimmtheitsmaß, s_y = Reststandardabweichung, s_{x0} = Verfahrensstandardabweichung, V_{ko} = Verfahrensvariationskoeffizient

Polysorbat 60

Tab. 10.30: Polysorbat 60: Verfahrenskennndaten Matrixkalibrierung

	BADGE ·2H ₂ O	BPA	BADGE ·H ₂ O	BADGE ·HCl·H ₂ O	BADGE	BADGE ·HCl	BADGE ·2HCl
	Vor ISTD-Korrektur						
$m \left[\frac{mV \cdot \min \cdot kg}{\mu g} \right]$	0,0144	0,0122	0,0143	0,0140	0,0170	0,0151	0,0134
$b [mV \cdot \min]$	-0,2460	-0,0553	0,0494	-0,0054	0,1075	-0,0324	-0,1035
R^2	0,9971	0,9992	0,9995	0,9991	0,9993	0,9996	0,9997
$s_y [mV \cdot \min]$	0,330	0,145	0,130	0,168	0,183	0,115	0,106
$s_{x0} \left[\frac{\mu g}{kg} \right]$	22,9	11,9	9,12	12,0	10,8	7,63	7,94
$V_{ko} [\%]$	4,21	2,21	1,76	2,29	2,01	1,53	1,40
	Nach ISTD-Korrektur						
$m \left[\frac{mV \cdot \min \cdot kg}{\mu g} \right]$	0,0150	0,0127	0,0149	0,0146	0,0176	0,0157	0,0139
$b [mV \cdot \min]$	-0,2846	-0,0828	0,0215	-0,0348	0,0751	-0,0639	-0,1368
R^2	0,9971	0,9994	0,9998	0,9995	0,9996	0,9997	0,9998
$s_y [mV \cdot \min]$	0,340	0,130	0,091	0,138	0,154	0,108	0,097
$s_{x0} \left[\frac{\mu g}{kg} \right]$	22,7	10,3	6,12	9,44	8,74	6,88	6,94
$V_{ko} [\%]$	4,18	1,91	1,18	1,81	1,63	1,38	1,22
$LOD \left[\frac{\mu g}{kg} \right]$	33,0	14,9	8,9	13,7	12,7	10,0	10,1
$LOQ \left[\frac{\mu g}{kg} \right]$	117	53,7	32,2	49,5	45,8	36,2	36,5

m = Steigung, b = Achsenabschnitt, R^2 = Bestimmtheitsmaß, s_y = Reststandardabweichung, s_{x0} = Verfahrensstandardabweichung, V_{ko} = Verfahrensvariationskoeffizient

11 Publikationen

Artikel

LIPPERHEIDE C, HAVERKAMP J, NORWIG J. Gut verpackt – Regulatorische Anforderungen an die Primärverpackung von Parenteralia. *SterilTechnik*. **2007**; 1: 24-5.

HAVERKAMP JB, LIPKE U, ZAPF T, GALENSA R, LIPPERHEIDE C. Interaktionen zwischen Arzneimittel und Primärverpackung. *ApothekenMagazin*. **2007**; 25 (9): 8-14.

HAVERKAMP JB, LIPKE U, ZAPF T, GALENSA R, LIPPERHEIDE C. Contamination of Semi-Solid Dosage Forms by Leachables from Aluminium Tubes. *Eur J Pharm Biopharm*. **2008**; 70 (3): 921-8.

Abstrakta / Kongressbeiträge

HAVERKAMP JB, LIPPERHEIDE C, LIPKE UC, SEIFERT G, ZAPF T, GALENSA R. Bestimmung von Bisphenol A und BADGE sowie dessen Abbauprodukten in Salben, Gelen und Cremes. *Regionaltagung NRW der Lebensmittelchemischen Gesellschaft*, Bonn, 08. März **2006** (Poster).
Abstract siehe Lebensmittelchemie, **2006**; 60 (6): 140-1.

HAVERKAMP JB, LIPPERHEIDE C, LIPKE UC, SEIFERT G, ZAPF T, GALENSA R. Kontamination von halbfesten Darreichungsformen durch Leachables aus Salbentuben.
DPhG-Doktorandentagung, Nürnberg-Heroldsberg, 06. – 08. September **2006** (Poster).

HAVERKAMP JB, LIPPERHEIDE C. Kontamination von halbfesten Darreichungsformen durch Leachables aus der Innenbeschichtung von Salbentuben.
BfArM - Forum Qualität, Bonn, 18. Dezember **2006** (Vortrag).

HAVERKAMP JB. Contamination of Semi-Solid Dosage Forms by Leachables from Inner Tube Coatings.
Pharmaceutical Sciences World Congress, Pre-Satellite Meeting, Amsterdam (Niederlande), 20. April **2007** (Vortrag).

HAVERKAMP JB, LIPKE U, ZAPF T, GALENSA R, LIPPERHEIDE C. Kontamination von Salben durch Bestandteile ihrer Verpackung.

Tag der offenen Tür im BMG, Berlin, 25. – 26. August **2007** (Poster).

HAVERKAMP JB, LIPKE U, ZAPF T, GALENSA R, LIPPERHEIDE C. Contamination of Semi-Solid Dosage Forms by Leachables from Aluminium Tubes.

DPhG-Jahrestagung, Erlangen, 10. – 13. Oktober **2007** (Poster).

HAVERKAMP JB, LIPKE U, ZAPF T, GALENSA R, LIPPERHEIDE C. Contamination of Nonionic Hydrophilic Cream by Leachables from Aluminium Tubes.

6th World Meeting on Pharmaceuticals, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Barcelona (Spanien), 07. – 10. April **2008** (Poster).

HAVERKAMP JB, LIPPERHEIDE C. Kontamination von halbfesten Darreichungsformen durch Leachables aus der Innenbeschichtung von Salbentuben.

BfArM - Wissenschaftliches Kolloquium, Bonn, 15. Mai **2008** (Vortrag).

LIPPERHEIDE C, HAVERKAMP JB. Einfluss der Formulierung auf Interaktionen mit der Primärverpackung.

Symposium „Anforderungen an neue Rezepturbestandteile für Dermatika und Kosmetika“ der Gesellschaft für Dermopharmazie, Bonn, 21. Oktober **2008** (Vortrag).