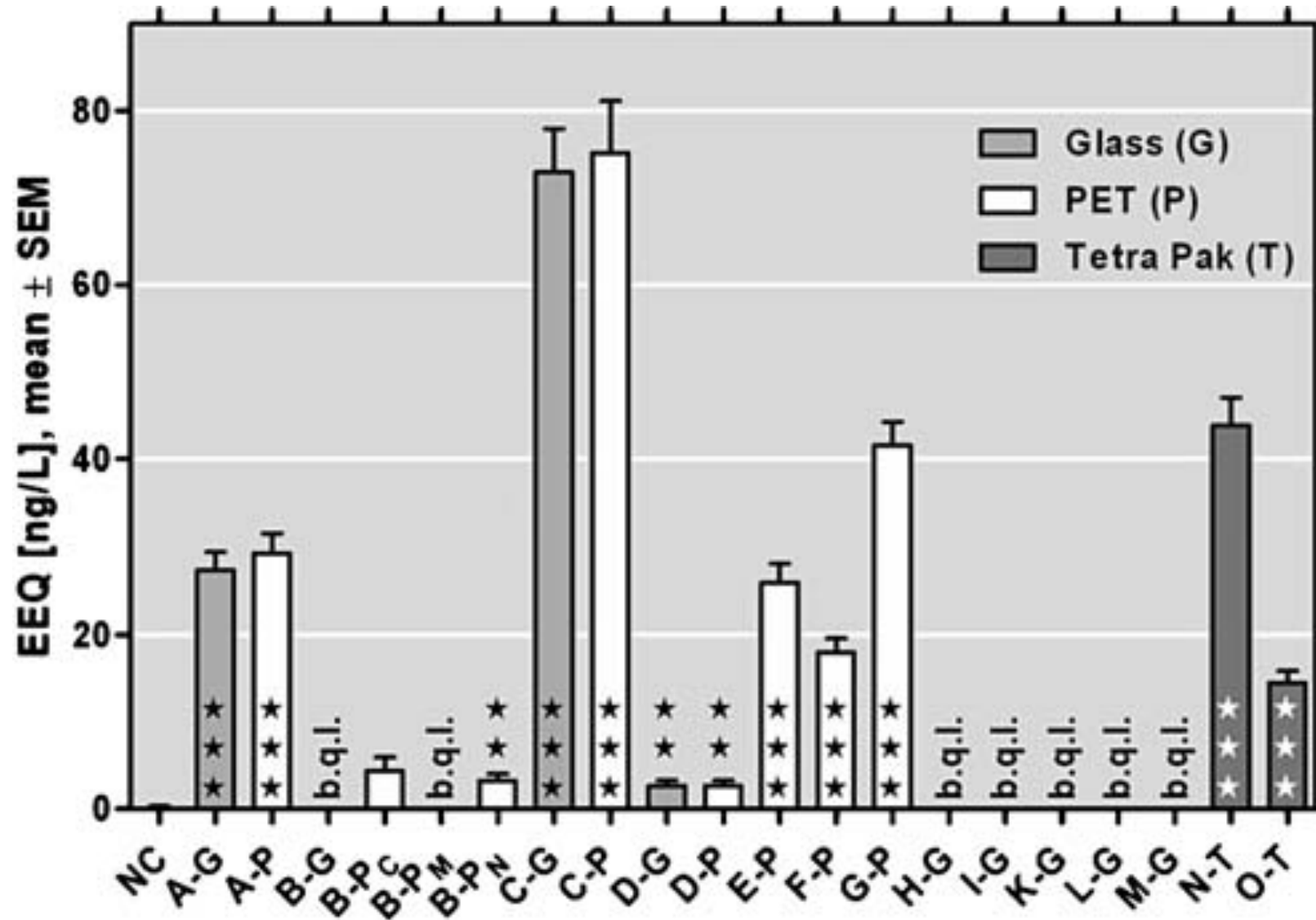


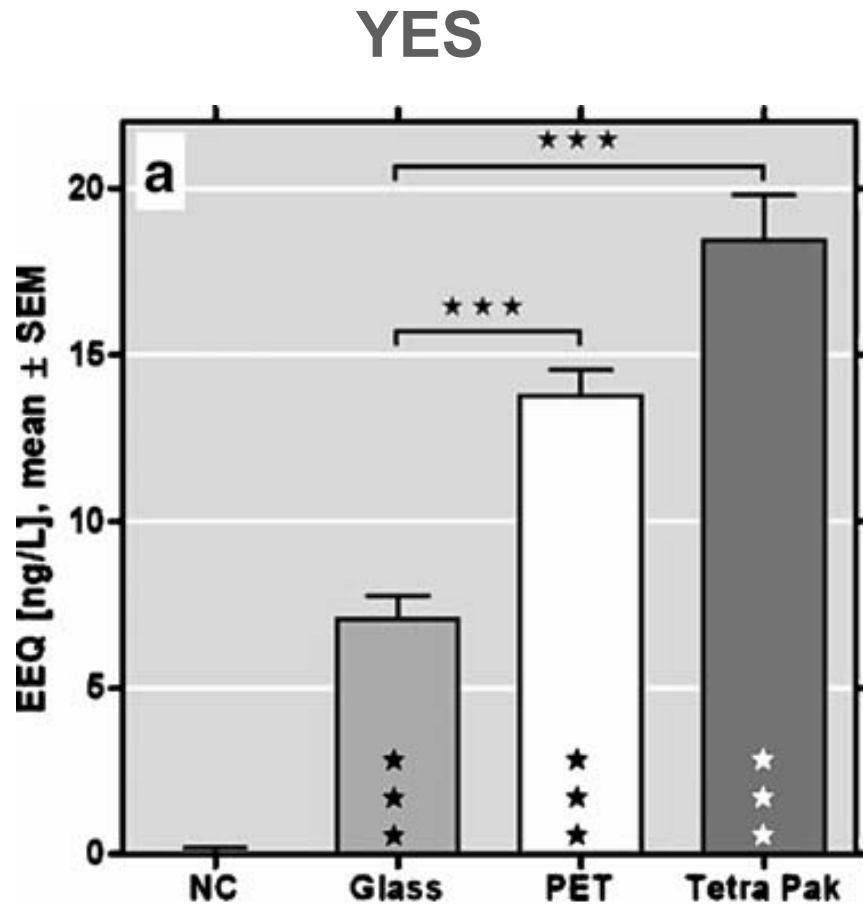


Inhalt

- EAS in abgepacktem Wasser
- Literaturdaten
- Östrogenaktivität von Verpackungsmigraten
- Zusammenfassung

- EAS im Lebensmittelkontakt –
 - Phenolische Antioxidantien, Bisphenol A, Phthalate etc.
 - Kunststoffe, Papier, Verbunde, beschichtete Metalldosen ...
- Auswirkungen :
 - Gefährungspotential intensiv diskutiert
 - Derzeit Konzentration auf einige wenige Substanzen
 - Große Anzahl an potentiellen EDCs in Verpackungen
- Handlungsbedarf bei:
 - Analytik (Bioanalytik; chemische Analytik)
 - Toxizitätsstudien
- Reduktion der Belastung von Verpackungen mit EAS

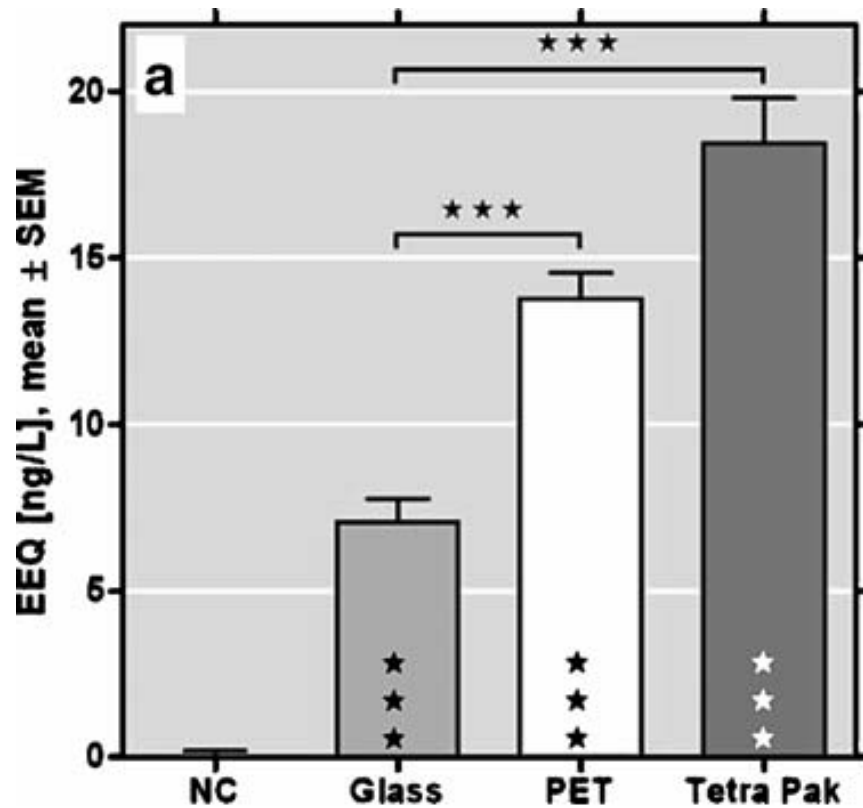




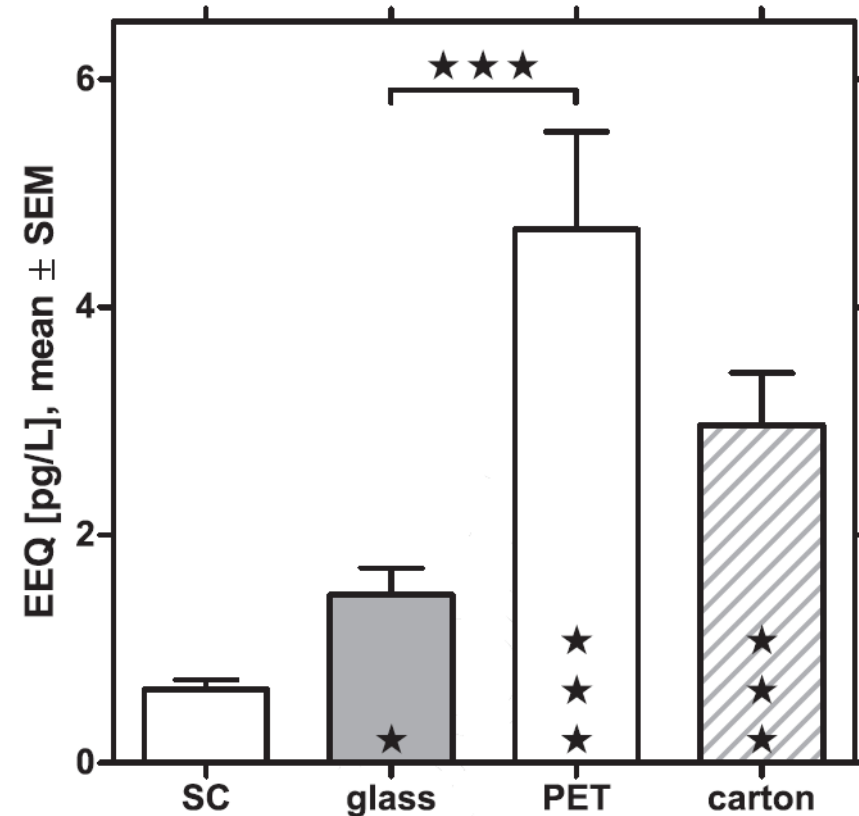
Wagner et.al.: Environmental Science and Pollution Research, 16:278-286 (2009)

Wagner et.al.: J. Ster. Chem. Mol. Biol., 127(1):128-135 (2011)

YES



E-SCREEN



Verpackungen, die positiv auf Östrogen (EA) getestet wurden

	N	EA positiv
HDPE	13	61%
PET	21	100%
PP	4	100%
PLA	7	100%
Bottles	38	89%
Baby Bottles	11	100%
Rigid Packaging	10	90%
Food Wrap	8	100%

- Untersuchung von 455 Kunststoffprodukten
- Marktproben (meist **befüllt!**) - ausgewaschen
- Migrationen mit EtOH oder Salzlösung
- Migrationsbedingungen nicht angegeben
- Testsystem: MCF-7 (ESCREEN)
- **Nahezu alle Proben weisen Östrogenaktivität auf!**
- Keine quantitativen Aussagen / Bestimmungsgrenzen

Yang et.al: EHP 119(7): 989-996 (2011)

- Untersuchung von Mineralwasser in PET- / Glasflaschen
- Wasser aus UK, I, F
- Testsysteme: Rezeptorgenassays (humane Zelllinien)
- Plotan et.al.: Food Chemistry 2013, 136(3-4): 1590-1596

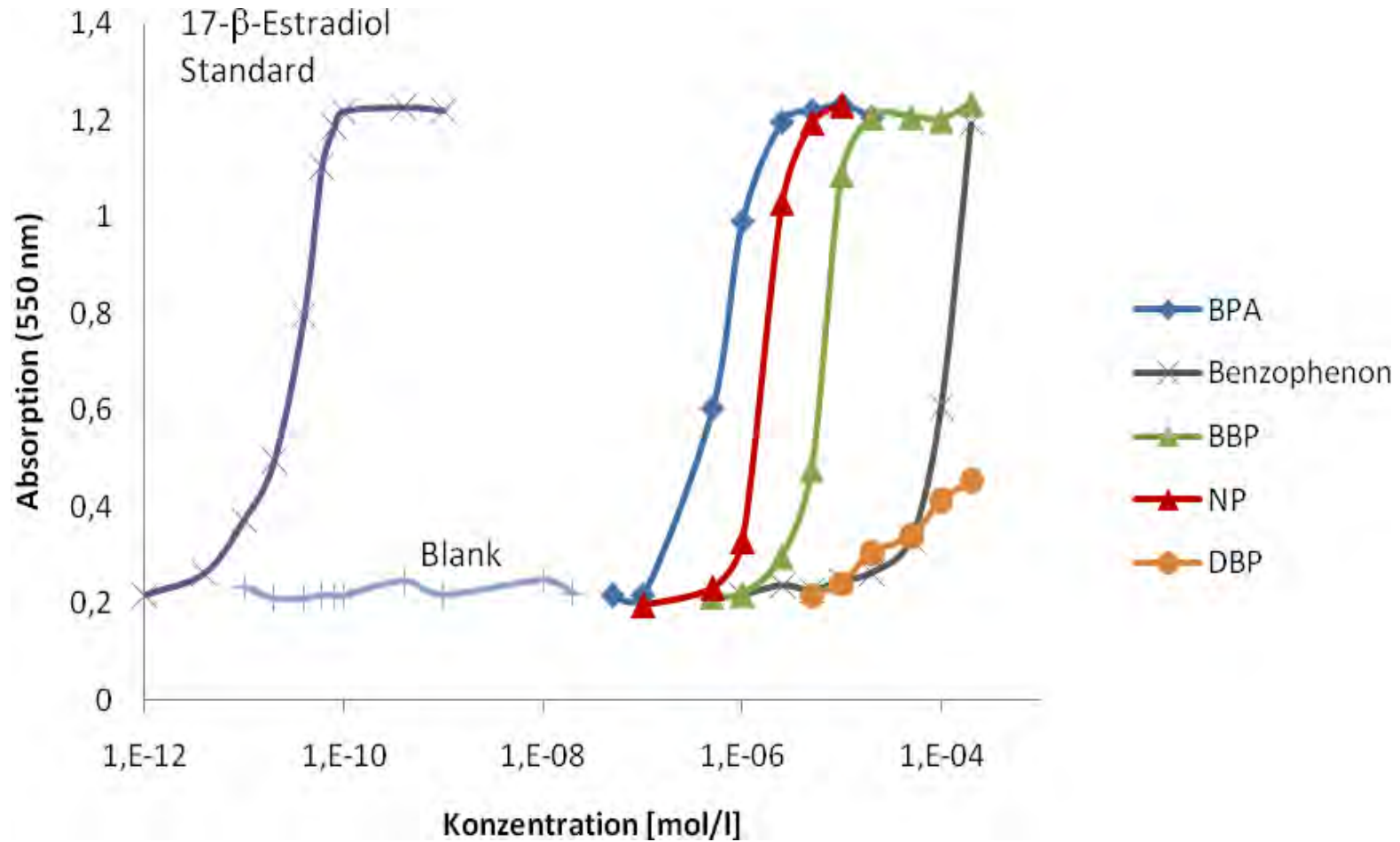
	Positive Proben [%]	Mittelwert [ng/l]	Max. Wert [ng/l]
Östrogen - Agonist	38	10	34
Androgen - Agonist	38	26	63
Androgen - Antagonist	29	38	84
Progestagen - Agonist	36	123	392
Glucocorticoid - Agonist	55	14	81

Plotan et. al.: Food Chemistry 10.1016/j.foodchem.2012.01.115

- Studien zu EAS in Verpackungen:
 - Ergebnisse nicht vergleichbar
 - Unterschiedliche Methoden
 - Interpretationen oft nicht nachvollziehbar
 - Meist kein direkter Rückschluss auf Verpackungen als Kontaminationsquelle möglich

- Adaptierung von Methoden für Verpackungsmigrante
 - In-vitro-Tests (Östrogene, Androgene, Thyroid etc.)
 - chemische Nachweisverfahren für die wichtigsten EAS im ppb-Bereich (GC/MS und LC/MS)
 - Validierung und High-Throughput
- Screening und Bewertung von ausgewählten Verpackungen und Lebensmitteln
- Entwicklung EAS-freier Verpackungsmaterialien

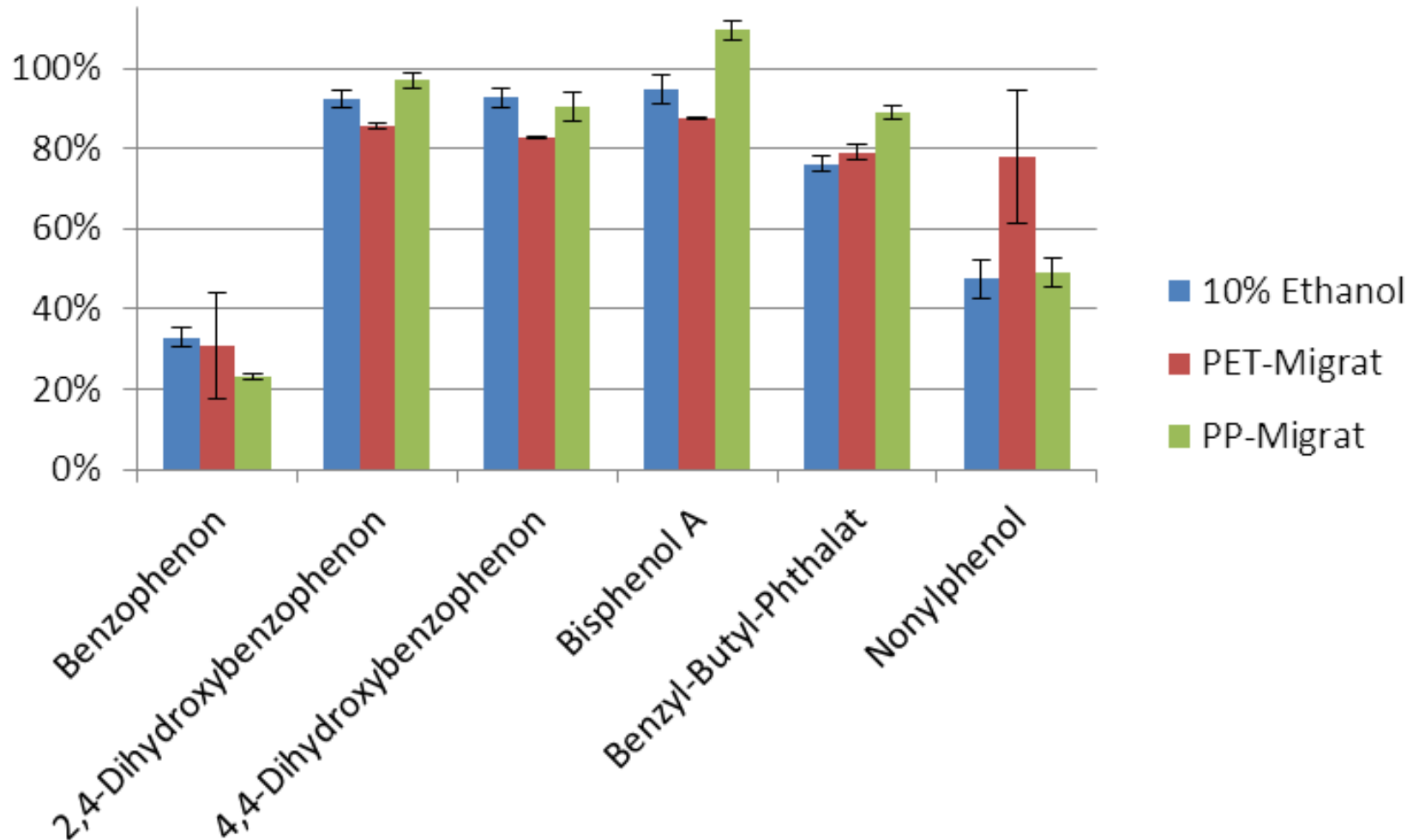
1. Migration mit Lebensmittelsimulationen /
Migrationsbedingungen laut Verwendungszweck
2. Einsatz unbefüllter Verpackungen
3. Aufreinigung des Migrates über Solid Phase Extraction
4. In-vitro-Test mit validierten Verfahren
5. Parallel dazu: Chemische Analytik (GC/MS bzw. LC/MS)
mit validierten Verfahren



- Aufkonzentrierung von wässrigen Lebensmittelextrakte (bis zu 10% Ethanol, bzw. 3% Essigsäure)
- Aufkonzentrierungsfaktor von bis zu 15.000
- Unspezifische Aufkonzentrierung unpolarer Substanzen

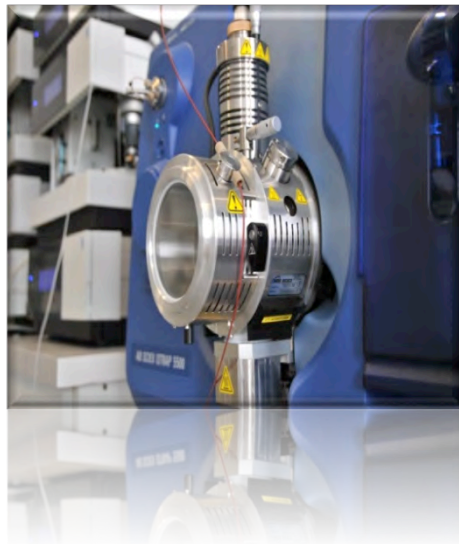


Wiederfindung in Abhängigkeit der Probenmatrix



HPLC-UV/VIS-MS/MSⁿ

- Dionex U3000
Qtrap 5500, Triple-Quad mit
linearer Ionenfalle
Quelle: ESI und APCI



GC-MS

- TDU-GC/MS: 7890A (GC) +
5975C inert (MS) + FID mit
Multipurpose Sampler: TDU/HS/
FI
- Twister Technologie

Quantitativ

■ 28 Substanzen

■ Nachweisgrenze:

- 0,2 – 4,8 µg/L

Validierte Methode!

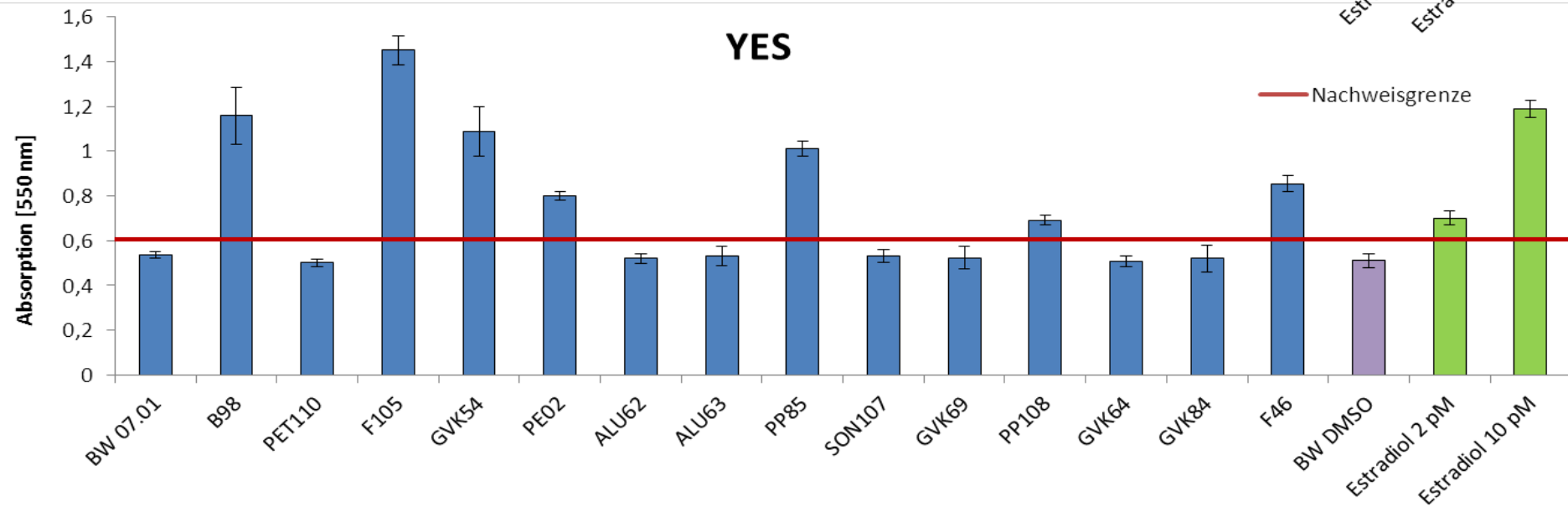
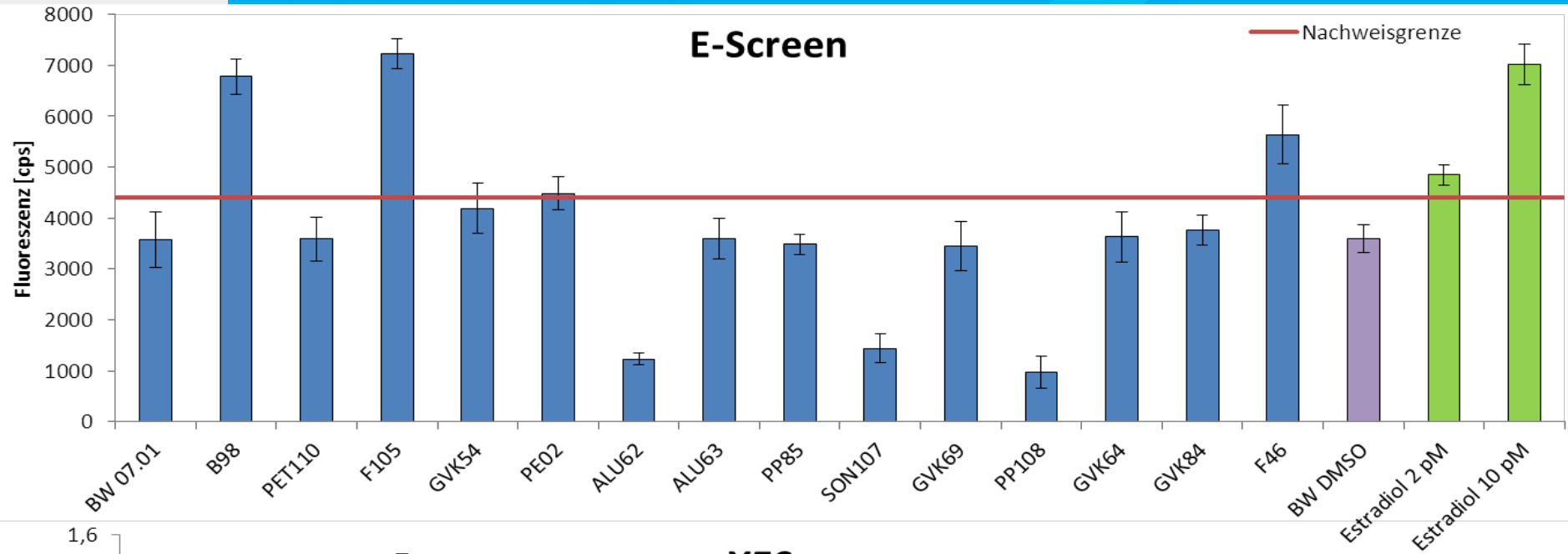
Substanz	Nachweisgrenze [µg/L]
Dicyclohexyl phthalate	0,2
Diethyl phthalate	1,3
Diisobutyl phthalate (DiBP)	1,9
Dibutyl phthalate (DBP)	0,2
Di-n-hexylphthalate (DnHP)	0,2
Butyl benzyl phthalate (BBP)	0,2
Bis (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP)	0,3
4-chloro-3-methyl-phenol	1,1
4,4´-Thiobis(6-terc-butyl-3-methyl-phenol)	0,8
2-Phenylphenol	1,7
4-Phenylphenol	1,9
4-Nonylphenol (NP)	0,3
2,2´-Methylenebis(4-ethyl-6-tert-butylphenol)	0,5
2,2´-Methylene bis(4-methyl-6-tert-butylphenol)	0,6
p-Cumyl phenol	1,0
Triclosan	0,5
BHA	1,0
Ethyl-4-hydroxy-benzoate (Ethylparaben)	0,2
n-Propyl-p-hydroxybenzoate (Propylparaben)	2,6
Methyl p-hydroxybenzoate (Methylparaben)	4,8
Diethylhexyl adipate	0,3
Diphenyl-p-phenylenediamine	2,3
Oleamide	0,5
1,4-Dichlorobenzene	0,6
Benzophenone	0,5
2,20-Dihydroxy-4-methoxybenzophenone	0,8
2,4-Dihydroxybenzophenone	2,0
Oxybenzone	0,4

84 verschiedene Verpackungsmaterialien getestet

- Lagerung von Verpackungen mit „Lebensmittelsimulanzien“ gemäß den EU-Richtlinien („*worst case*“ – Bedingungen)
- Direkte Untersuchung der Migrante mittels HPLC-MS, GC-MS
- Aufkonzentrierung mittels SPE für Bioassays
- LOQ: 0,1 – 1 ng EEQ / Liter Migrat

Material	N	EA-positiv	Wachstums- inhibierung	EA-positiv
PET	20	0	0	0,0%
GVK	9	1	0	11,1%
PE	15	1	0	6,7%
PP	14	2	1	14,3%
Verbundfolien	9	3	0	33,3%
PS	6	1	1	16,7%
Sonstige	11	0	4	0,0%
Gesamt	84	8	6	9,5%

Vergleich Ergebnisse YES und E-Screen



Positive Probe: PP-Becher

5 unabhängige Migrante getestet:

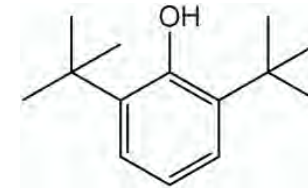
YES:

Östrogenaktivität: $1,9 \pm 0,6$ ng/L EEQ

GC-MS Ergebnisse:

2,4-di-tert-Butylphenol

ca. 150 µg/L



Dibutylphthalat (DBP)

ca. 20 µg/L

Diethylphthalat (DEP)

ca. 15 µg/L

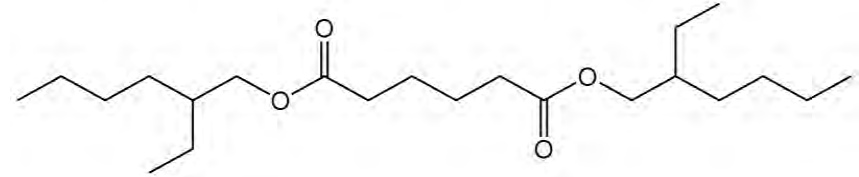
Di-n-octylphthalat

ca. 50 µg/L

Verbundfolien-Probe „VF105“:

- hohe Östrogenaktivität des Migrats: **59 ± 29 ng/L EEQ**
- das entspricht der Aktivität von:
 - 59 ng/L 17-β-Estradiol
 - 0,3 mg/L Bisphenol A → 40 mg/kg Verpackung
 - 5 mg/L Benzyl-Butyl-Phthalat → 600 mg/kg Verpackung
 - 30 mg/L Benzophenon → 3,6 g/kg Verpackung

GC-MS Ergebnisse:



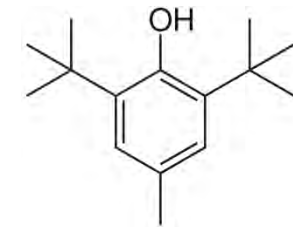
Di-ethyl-hexyl-Adipat:

$186 \pm 55 \mu\text{g/L}$

Sonstige Substanzen (Quantifizierung über FID):

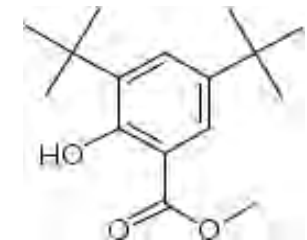
-Butylhydroxytoluol (BHT)

ca. 40 $\mu\text{g/L}$



-2-Hydroxy-3,5-di-tert-Butyl-Benzoesäuremethylester

ca. 200 $\mu\text{g/L}$



- Literaturdaten nur bedingt vergleichbar
 - Testsysteme
 - Probenvorbehandlung
 - Extraktionsmethoden
 - Auswertungsverfahren
- Mineralwässer: Östrogenaktivitäten im ng-Bereich
 - Keine Klärung über die Herkunft der Aktivität
 - **PET: wahrscheinlich nicht die Quelle der Aktivität**
 - **Chemische Analytik essentiell**

- Relativ geringe Anzahl östrogenpositiver Proben im YES
- Kritische Faktoren:
 - Klebstoffe
 - Bedruckung
 - Antioxidantien, Phthalate
 - Recycling

- Hormonbedingte Erkrankungen steigen seit 20 Jahren stark an
- Mitverursacher: Endokrine Disruptoren
- Betonung auf Östrogene / Antiöstrogene
- Ziele:
 - Schutz vulnerabler Gruppen (Kinder, Schwangere, Jugendliche)
 - Entwicklung von Testsystemen

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit

**Österreichisches Forschungsinstitut für Chemie und Technik
1030 Wien, Arsenal Obj. 213**

Manfred Tacker: manfred.tacker@ofi.at