

Humanbiomonitoring zu Weichmachern und deren Ersatzstoffen

IPA baut Methodenrepertoire weiter aus

Holger M. Koch, Tobias Weiß, Thomas Brüning

Weichmacher werden in vielen Kunststoffen verwendet und sind so allgegenwärtig. Da Phthalate – bislang die wichtigsten Vertreter der Weichmacher – in den letzten Jahren aufgrund ihrer reproduktionstoxischen Eigenschaften in Verruf geraten sind, werden sie zunehmend durch andere Stoffe ersetzt, deren Wirkungen aber häufig weniger gut erforscht sind. Im Rahmen verschiedener europa- und deutschlandweiter Projekte wurden und werden im IPA für verschiedene Phthalate und deren Ersatzstoffe Nachweismethoden entwickelt. Diese können sowohl für das Humanbiomonitoring im Rahmen von Präventionsmaßnahmen bei Beschäftigten, die Umgang mit Phthalaten haben, als auch in der Allgemeinbevölkerung zur Bestimmung von Referenzwerten eingesetzt werden.

Der Begriff Weichmacher bezeichnet eine Stoffgruppe, die vorwiegend in Weich-PVC-Anwendungen wie Bodenbelägen, Folien, Schläuchen, Stromkabeln oder Blutbeuteln zur Anwendung kommt, um diesen die gewünschte Flexibilität zu verleihen. In Nischen-Anwendungen erfüllen Weichmacher auch weitere Aufgaben zum Beispiel in Klebstoffen, Farben, Tapeten, Kosmetika, Körperpflegemitteln, Reinigungsmitteln und Arzneimitteln. Aufgrund ihres hohen Produktionsvolumens und ihrer umfangreichen Verwendung sind sie an Arbeitsplätzen, im privaten Umfeld, in der Umwelt und in der Nahrungskette allgegenwärtig. Damit sind direkte und indirekte Expositionen in der Allgemeinbevölkerung aber auch von Beschäftigten im Umgang mit Weichmachern weit verbreitet.

Phthalate können reproduktionstoxisch sein

Die klassischen Vertreter der Weichmacher waren bisher die als Phthalate bezeichneten Ester der Phthalsäure mit verschiedenen Alkoholen. Einige dieser Phthalate, deren Alkoholseitenketten zwischen vier und neun Kohlenstoffatomen umfassen, sind in den vergangenen Jahren jedoch in Verruf gekommen, da sie in Tierversuchen eine Vielzahl

entwicklungs- und reproduktionstoxischer Effekte zeigen, die unter dem „Phthalat-Syndrom“ subsummiert werden (Furr et al. 2014). Werden männliche Nachkommen während der Schwangerschaft gegenüber diesen Phthalaten exponiert, kann es unter anderem zu Fehlbildungen der inneren und äußeren Genitalien und verminderter Spermienqualität kommen. Dies wird unter anderem auf deren Fähigkeit zur Unterdrückung der Testosteron- und der InsL3-Peptidhormon-Produktion zurückgeführt. Aufgrund dieser anti-androgenen Wirkungen werden diese Phthalate auch der Gruppe der sogenannten Endokrinen Disruptoren, also Stoffen, die hormonartig wirken, zugerechnet. Ferner zeigen valide wissenschaftliche Studien, dass diese Phthalate dosis-additiv zusammenwirken, das heißt in Kombinationen trägt jedes einzelne Phthalat seinen Anteil zur kumulativen Gesamtwirkung bei (Howdeshell et al. 2015). Deshalb steht neben der bisher üblichen toxikologischen Einzelbewertung auch eine Risikobewertungen der Mischexposition gegenüber Phthalaten im Zentrum wichtiger Gremien, Einrichtungen und Forschungsprojekten wie der US National Academy of Sciences, US CPSC CHAP oder der Kommission Human-Biomonitoring.

Kurz gefasst

Auf europäischer Ebene wurden bestimmte Phthalate unter Vorsorgeerwägungen bereits ab 1999 in Kinderspielwaren eingeschränkt, ab 2001 als reproduktionstoxische Stoffe eingestuft (heute: CLP Repr. Cat 1B) und sind somit zum Beispiel in Kosmetika verboten. Seit 2015 unterliegen bestimmte Phthalate der Zulassungspflicht unter REACH beziehungsweise ist deren Herstellung und Einsatz unter REACH in der EU nicht mehr möglich, weil kein Zulassungsantrag gestellt wurde. In 2019 werden Restriktionen in Kraft gesetzt, die bestimmte Phthalate jetzt auch in importierten Artikeln verbieten, so dass auch Artikel mit diesen Phthalaten grundsätzlich vom Markt verbannt sein werden. Außerhalb des Geltungsbereiches von REACH bleiben diese Phthalate jedoch bis auf weiteres zugelassen (z.B. in Medizinprodukten). Allerdings werden derzeit im Rahmen der neuen Medizinprodukteverordnung (Verordnung (EU) 2017/745) Richtlinien für Phthalate erarbeitet, deren Veröffentlichung noch für 2019 geplant ist.

EU-Projekt hat Phthalate im Fokus

Neben den Phthalaten rücken aber auch deren Ersatzstoffe, auch Substitute genannt, in den Fokus (Abbildung 1). So ist in den letzten Jahren deren Produktionsvolumen und Verwendung rasch angestiegen (Abbildung 2). Auch wenn bei den derzeit eingesetzten Substituten vieles für ein deutlich vorteilhafteres toxikologisches Profil spricht, muss auch für diese Substitute von einer breiten Exposition der Allgemeinbevölkerung und am Arbeitsplatz ausgegangen werden.

Auch deshalb stehen neben den klassischen Phthalaten deren Substitute ebenfalls als prioritär zu behandelnde Stoffe im Arbeitsprogramm der Europäischen Human Biomonitoring Initiative (HBM4EU). Hierbei handelt es sich um ein EU-Forschungsprojekt, an dem über 100 Partner, inklusive der Europäischen Umweltagentur und der Europäischen Kommission, aus 28 Ländern beteiligt sind. Koordiniert wird dieses Projekt vom Umweltbundesamt (www.hbm4eu.eu). Vorrän-

- Weichmacher werden in vielen Kunststoffen verwendet und sind so auch überall in der Umwelt zu finden.
- Da Weichmacher in der Vergangenheit als reproduktionstoxisch in Verruf geraten sind, gibt es mittlerweile Ersatzstoffe, die aber häufig noch nicht gut untersucht sind.
- Im IPA werden sowohl für Phthalate als auch für deren Ersatzstoffe Nachweismethoden entwickelt, die dann für das Humanbiomonitoring eingesetzt werden können.

giges Ziel dieses Forschungsverbundes ist die Koordination und der Ausbau des Human-Biomonitorings (HBM) in Europa, um die Faktengrundlage für die Umwelt- und Chemikalienpolitik in der EU zu verbessern (Ganzleben et al. 2017). Das IPA ist Teil dieses Projektes im Bereich „Analytische Qualitätssicherung“ und hat für den Unterbereich „Neue Methodenentwicklungen“ die Leitung übernommen.

Humanbiomonitoring von Phthalaten im IPA

Das IPA hat frühzeitig neben der kontinuierlichen Weiterentwicklung des Humanbiomonitorings von Phthalaten auch die Neuentwicklung von HBM-Methoden für deren Substitute vorangetrieben. So kann im IPA derzeit anhand von über 20 verschiedenen spezifischen Metaboliten im Urin die Körperlast gegenüber elf verschiedenen Phthalaten bestimmt werden (Koch et al. 2017). Durch die Einbindung des IPA in das deutsche Kooperationsprojekt zur Förderung des HBM zwischen Umweltministerium (BMU) und dem Verband der chemischen Industrie (VCI) sind vom IPA HBM Methoden für die Substitute Hexamoll® DINCH, Diethylhexylterephthalat (DEHTP) und Diethylhexyltadipat (DEHA) selbst entwickelt beziehungsweise deren Entwicklung (Dipropylheptylphthalat, DPHP) unterstützt worden (Schütze et al. 2012; Leng et al. 2014; Lessmann et al. 2016; Nehring et al. 2019). Weitere Substitute befinden sich in Bearbeitung. Neben der reinen

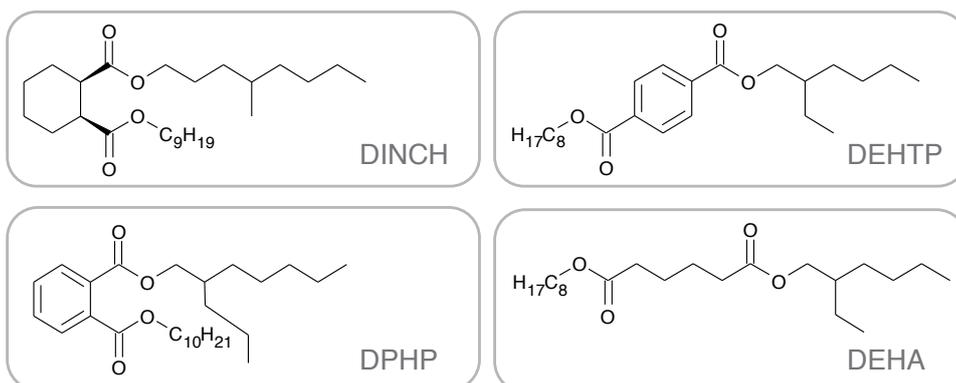
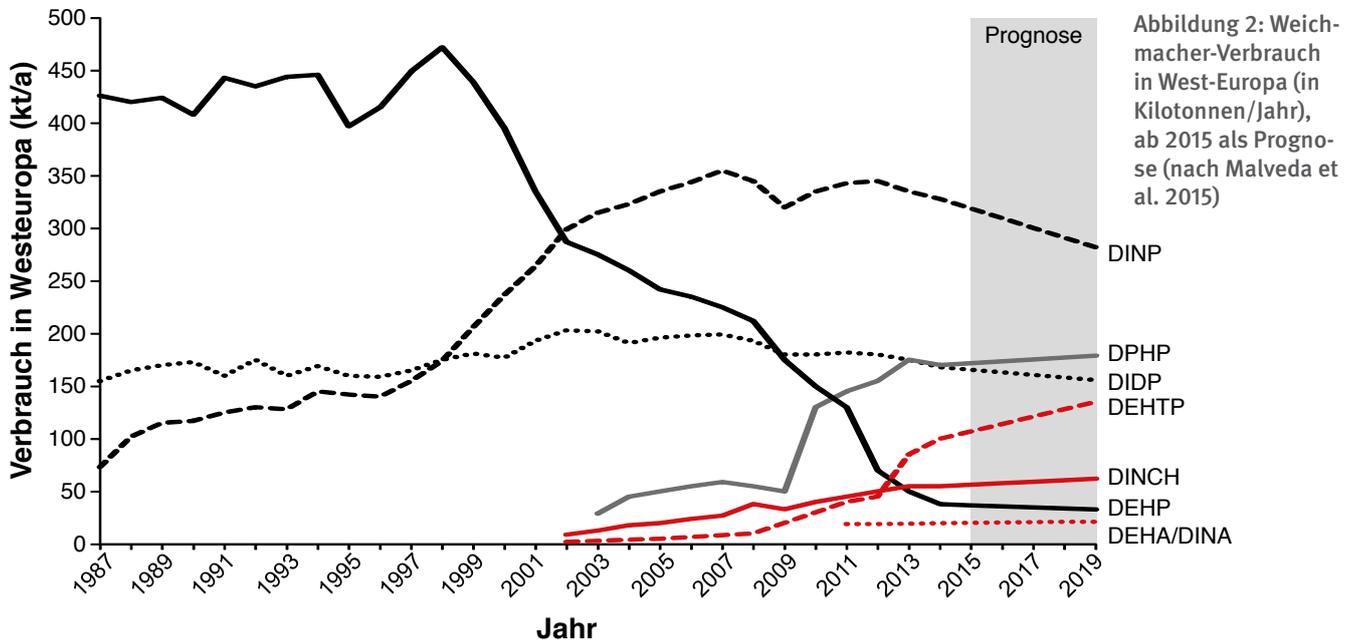


Abbildung 1: Bedeutende, alternative Weichmacher als Substitute für die kritisch eingestuft Phthalate.



analytischen Methodenentwicklung werden auch detaillierte Studien zum Human-Metabolismus und erste Anwendungen in Bevölkerungskollektiven durchgeführt (z.B. Schütze et al. 2017). Diese HBM Daten können dann direkt mit Biologischen Grenzwerten am Arbeitsplatz (z.B. BAT-Wert der DFG-MAK Kommission für DEHP) oder toxikologisch begründeten Umweltmedizinischen Grenzwerten (z.B. HBM-Werte des Umweltbundesamtes für DEHP, DINCH, DEHTP und DPHP) beziehungsweise statistischen Referenzwerten (RV95) in Bezug gesetzt werden. Damit ist es möglich, deren Expositionshöhe und ein möglicherweise damit verbundenes Risiko zu beurteilen. Derzeit ermittelt das IPA die DEHP Belastung von Beschäftigten im PVC-Recycling. Dies ist ein erforderlicher Bestandteil der REACH-Zulassung im Recycling-Bereich. In weiteren Studien am Arbeitsplatz beziehungsweise in experimentellen Studien im Expositionslabor konnte gezeigt werden, dass für bestimmte Phthalate, wie DEHP, Diisononylphthalat (DiNP) und Dibutylphthalat (DBP), die Hautaufnahme einen deutlich relevanteren Expositionspfad darstellen könnte, als bislang angenommen (Koch et al. 2012, Weschler et al. 2015, Salthammer et al. 2018).

Humanbiomonitoring am IPA zeigt veränderte Belastungssituation

Grundsätzlich konnte vom IPA anhand der seit 1988 in der Umweltprobenbank des Bundes eingelagerten Urinproben gezeigt werden, dass in der Allgemeinbevölkerung die Belastungen mit den kritischen, und stufenweise regulierten Phthalaten seit der Jahrtausendwende deutlich zurückgegangen sind (Koch et al. 2017). Hingegen sind die Belastungen mit einigen der wichtigsten Substitute (DINCH, DEHTP,

DPHP) sprunghaft angestiegen (Schütze et al. 2014, Schütze et al. 2015, Lessmann et al. (im Review), Kasper-Sonnenberg et al. 2019). Derzeit ergibt sich aus der Belastungssituation gegenüber den Substituten kein akuter Anlass zur Sorge. Gleichwohl bedarf der rasche Anstieg der Verwendung und der gemessenen Belastungen einer engmaschigen weiteren Kontrolle. Für die Substitute an Arbeitsplätzen liegen bislang keine Belastungsdaten vor.

Fazit:

Dank der internationalen und nationalen Einbindung des Humanbiomonitorings am IPA konnte ein umfangreiches Methodenrepertoire und die entsprechende Expertise zu Phthalaten und deren Substituten aufgebaut werden. Dieses wird – entsprechend den aktuellen Anforderungen – kontinuierlich erweitert.

Das IPA leistet mit der Bereitstellung validierter Methoden und toxikokinetischer Basisdaten einen wesentlichen Beitrag zur gesundheitlichen Bewertung der Exposition gegenüber diesen weit verbreiteten Stoffen und kann somit eine wissenschaftlich fundierte Grundlage für eventuell als notwendig erachtete regulative staatliche Maßnahmen sowie für Einleitung und Überwachung von betrieblichen Präventionsmaßnahmen im Rahmen von Gefährdungsbeurteilungen schaffen.

Die Autoren:
Prof. Dr. Thomas Brüning,
Dr. Holger M. Koch, Dr. Tobias Weiß
 IPA

Literatur

- Furr JR, Lambright CS, Wilson VS, Foster PM, Gray LE Jr. A short-term in vivo screen using fetal testosterone production, a key event in the phthalate adverse outcome pathway, to predict disruption of sexual differentiation. *Toxicol Sci* 2014; 140: 403-24 doi: 10.1093/toxsci/kfu081
- Ganzleben C, Antignac JP, Barouki R, Castaño A, Fiddicke U, Klánová J, Lebret E, Olea N, Sarigiannis D, Schoeters GR, Sepai O, Tolonen H, Kolossa-Gehring M. Human biomonitoring as a tool to support chemicals regulation in the European Union. *Int J Hyg Environ Health* 2017; 220: 94-97 doi: 10.1016/j.ijheh.2017.01.007
- Howdeshell KL, Rider CV, Wilson VS, Furr JR, Lambright CR, Gray LE Jr. Dose Addition Models Based on Biologically Relevant Reductions in Fetal Testosterone Accurately Predict Postnatal Reproductive Tract Alterations by a Phthalate Mixture in Rats. *Toxicol Sci* 2015; 148: 488-502 doi: 10.1093/toxsci/kfv196
- Kasper-Sonnenberg M, Koch HM, Apel P, Rüter M, Pälme C, Brüning T, Kolossa-Gehring M. Time trend of exposure to the phthalate plasticizer substitute DINCH in Germany from 1999 to 2017: Biomonitoring data on young adults from the Environmental Specimen Bank (ESB). *Int J Hyg Environ Health* 2019; Epub ahead of print
- Koch HM, Rüter M, Schütze A, Conrad A, Pälme C, Apel P, Brüning T, Kolossa-Gehring M. Phthalate metabolites in 24-h urine samples of the German Environmental Specimen Bank (ESB) from 1988 to 2015 and a comparison with US NHANES data from 1999 to 2012. *Int J Hyg Environ Health* 2017; 220: 130-141 doi: 10.1016/j.ijheh.2016.11.003
- Koch HM, Schütze A, Pälme C, Angerer J, Brüning T. Metabolism of the plasticizer and phthalate substitute diisononyl-cyclohexane-1,2-dicarboxylate (DINCH®) in humans after single oral doses. *Arch Toxicol* 2013; 87: 799-806 doi: 10.1007/s00204-012-0990-4
- Koch HM, Haller A, Weiss T, Käfferlein HU, Stork J, Brüning T. Phthalate exposure during cold plastisol application – a human biomonitoring study. *Toxicol Lett* 2012; 213: 100-6 doi: 10.1016/j.toxlet.2011.06.010
- Leng G, Koch HM, Gries W, Schütze A, Langsch A, Brüning T, Otter R. Urinary metabolite excretion after oral dosage of bis(2-propylheptyl) phthalate (DPHP) to five male volunteers – characterization of suitable biomarkers for human biomonitoring. *Toxicol Lett* 2014; 231: 282-8 doi: 10.1016/j.toxlet.2014.06.035
- Lessmann F, Schütze A, Weiss T, Brüning T, Koch HM. Determination of metabolites of di(2-ethylhexyl) terephthalate (DEHTP) in human urine by HPLC-MS/MS with on-line clean-up. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2016 Feb 1;1011:196-203. doi: 10.1016/j.jchromb.2015.12.042.
- Malveda et al. *Chemical Economics Handbook Plasticizers*. IHS Global Inc. 2015
- Nehring A, Bury D, Kling HW, Weiss T, Brüning T, Koch HM. Determination of human urinary metabolites of the plasticizer di(2-ethylhexyl) adipate (DEHA) by online-SPE-HPLC-MS/MS. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2019; 1124: 239-246 doi: 10.1016/j.jchromb.2019.06.019
- Salthammer T, Zhang Y, Mo J, Koch HM, Weschler CJ. Assessing Human Exposure to Organic Pollutants in the Indoor Environment. *Angew Chem Int Ed Engl* 2018; 57: 12228-12263 doi: 10.1002/anie.201711023
- Schütze A, Gries W, Kolossa-Gehring M, Apel P, Schröter-Kermani C, Fiddicke U, Leng G, Brüning T, Koch HM. Bis-(2-propylheptyl)phthalate (DPHP) metabolites emerging in 24h urine samples from the German Environmental Specimen Bank (1999-2012). *Int J Hyg Environ Health*. 2015; 218: 559-63 doi: 10.1016/j.ijheh.2015.05.007
- Schütze A, Pälme C, Angerer J, Weiss T, Brüning T, Koch HM. Quantification of biomarkers of environmental exposure to di(isononyl)cyclohexane-1,2-dicarboxylate (DINCH) in urine via HPLC-MS/MS. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2012; 895-896: 123-30 doi: 10.1016/j.jchromb.2012.03.030
- Schütze A, Otter R, Modick H, Langsch A, Brüning T, Koch HM. Additional oxidized and alkyl chain breakdown metabolites of the plasticizer DINCH in urine after oral dosage to human volunteers. *Arch Toxicol* 2017; 91: 179-188 doi: 10.1007/s00204-016-1688-9
- Weschler CJ, Bekö G, Koch HM, Salthammer T, Schripp T, Toftum J, Clausen G. Transdermal Uptake of Diethyl Phthalate and Di(n-butyl) Phthalate Directly from Air: Experimental Verification. *Environ Health Perspect* 2015; 123: 928-34 doi: 10.1289/ehp.1409151