



In-vitro-Toxizität und chemische Zusammensetzung von Kunststoffprodukten

L. Zimmermann (l.zimmermann@bio.uni-frankfurt.de)¹, M. Wagner (martin.wagner@ntnu.no)²,
C. Völker (voelker@isoe.de)³,

¹ Abteilung Aquatische Ökotoxikologie, Goethe Universität Frankfurt, Frankfurt am Main,

² Department of Biology, Norwegian University of Science and Technology, Trondheim, Norwegen

³ Institut für sozial-ökologische Forschung (ISOE), Frankfurt am Main

Zusammenfassung

Kunststoffe enthalten eine große Zahl von Substanzen, von denen bisher nur einzelne ausführlich untersucht sind. Eine vollumfängliche Charakterisierung der chemischen Zusammensetzung fehlt jedoch bisher. Deshalb wurden in der vorgestellten Studie 34 Alltagsprodukte aus verschiedenen Kunststoffmaterialien ausgewählt, ihre chemischen Inhaltsstoffe extrahiert und mittels In-vitro-Tests und Non-Target hochauflösender Massenspektrometrie auf ihre Toxizität und Zusammensetzung untersucht und miteinander verglichen. Drei Viertel der Produkte enthielten Substanzen, die unspezifische Toxizität, endokrine Effekte und/oder eine oxidativen Stressantwort induzierten. Insgesamt befanden sich in den 34 Produkten mehr als 1400 Chemikalien, von denen ein Großteil unbekannt ist. Die Effekte und Chemikalien variierten mit dem Kunststoffmaterial und dem jeweiligen Produkttyp.

Hintergründe

Kunststoffe sind ein integraler Bestandteil unseres täglichen Lebens, da sie langlebig, kostengünstig und vielfältig einsetzbar sind. Um die gewünschte materielle Funktionalität zu erreichen, werden verschiedene Polymertypen, wie beispielsweise Polyethylen und Polystyrol, eingesetzt und je nach Anwendung mit Füllstoffen und Zusatzstoffen, wie Weichmachern, Antioxidantien, Stabilisatoren sowie Farbstoffen, versehen [1]. Neben diesen Additiven beinhalten Kunststoffe zahlreiche weitere Chemikalien, z.B. Monomere oder unbeabsichtigt eingebrachte Substanzen (non-intentionally added substances, NIAS) wie Neben- oder Abbauprodukte [2]. Ihnen ist gemein, dass sie meist nicht kovalent an das Polymer gebunden sind und in den Verpackungsinhalt (z.B. Nahrungsmittel) übertreten können. Somit stellen Kunststoffe eine nicht zu vernachlässigende Expositionsquelle von Mensch und Umwelt gegenüber unzähligen Chemikalien dar [3]. Das Gefährdungspotential und die Expositionsmengen einzelner Kunststoff-assoziiierter Chemikalien, wie beispielsweise Bisphenol A, sind umfassend untersucht [4]. Dahingegen finden die meisten anderen Substanzen bisher keine Beachtung. Das liegt nicht nur an der komplexen chemischen Zusammensetzung und Vielseitigkeit der einzelnen Produkte, sondern auch daran, dass viele der in Kunststoffen vorkommenden Substanzen nicht bekannt sind. Mögliche gesundheitliche Auswirkungen dieser „Unbekannten“ sowie der Substanzmischung, welche sich in dem fertigen Produkt befindet, müssen laut derzeitiger EU-Richtlinie nicht einmal für die ver-

gleichsweise stark regulierten Kunststoffe mit Lebensmittelkontakt bestimmt werden, da diese nur die Bewertung der Migration einzelner, bekannter Substanzen vorsieht [5]. Eine Möglichkeit zur Bewertung der Gesamtoxizität aller bekannten und unbekanntem Chemikalien in einem Endprodukt bietet der Einsatz unterschiedlicher Biotests [6]. Die (toxischen) Substanzen lassen sich wiederum mittels chemischer Non-Target Analytik identifizieren.

Mit diesem Ansatz wurden in der vorgestellten Studie sowohl erdölbasierte als auch Kunststoffprodukte aus nachwachsenden Rohstoffen toxikologisch und chemisch charakterisiert. Ziel war ein Vergleich der Toxizität verschiedener Kunststoffmaterialien (unterschiedlicher Polymertyp) sowie von Kunststoffprodukten mit bzw. ohne Lebensmittelkontakt. Zudem wurde die Anzahl an Substanzen, ihre Herkunft bzw. Funktion sowie beschriebene Toxizität untersucht (Abb. 1).

Untersuchungsobjekte und Versuchsdurchführung

Für die Untersuchung wurden 34 Alltagsprodukte aus Kunststoffen, wie beispielsweise Trinkflaschen, Joghurtbecher, Folien, Lebensmittelschalen oder Shampooflaschen, ausgewählt, die auf acht verschiedenen Polymertypen mit hohem Marktanteil basierten. Darunter befanden sich die erdölbasierten Kunststoffe High-Density Polyethylen (HDPE), Low-Density Polyethylene (LDPE), Polystyrol (PS), Polypropylen (PP), Polyethylenterephthalat (PET), Polyvinylchlorid (PVC) und Polyurethan (PUR) sowie die aus nachwachsenden Rohstoffen hergestellte und bioabbaubare Polymilchsäure (PLA; Tab. 1).

Die Produkte wurden in Streifen geschnitten und in einem lösemittel- und ultraschallbasierten Verfahren extrahiert, um das toxische Potenzial möglichst aller im Kunststoff vorkommenden Chemikalien zu bestimmen. Die Extraktion stellt also ein „Worst-Case-Szenario“ dar. Zur Bestimmung der Toxizität wurden die Extrakte im Mikrotox-Assay mit dem Bakterium *Aliivibrio fischeri* auf unspezifische Toxizität sowie im AREc23-Assay mit der Brustkrebszelllinie MCF7 auf die Induktion einer oxidativen Stressantwort getestet. Zudem wurden sie im Yeast Estrogen Screen (YES) auf östrogene und im Yeast Anti-Androgen Screen (YAAS) auf anti-androgene Aktivität untersucht. Zur Identifikation der Substanzen in den Extrakten folgte ein Non-target-Screening basierend auf hochauflösender Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-

QTOF-MS; Abb. 1). Aus jedem produktspezifischen Massenspektrum wurde die Anzahl der Peaks (chemische Merkmale) entnommen und die Substanzen durch Abgleich mit der NIST 14 (National Institute of Standards and Technologies) Datenbank identifiziert. Um die Herkunft (aus dem Kunststoff oder dessen Inhalt), Funktion und beschriebene Toxizität der potentiell identifizierten Substanzen zu bestimmen, wurden deren CAS-Nummern mit weiteren Datenbanken verglichen (PubChem [7], Datenbank von Groh et al. "Chemicals associated with plastic packaging" [3], ToxCast Datenbank [8]). Für eine detaillierte Beschreibung der Biotests und Auswertung der GC-QTOF-MS-Daten siehe [9].

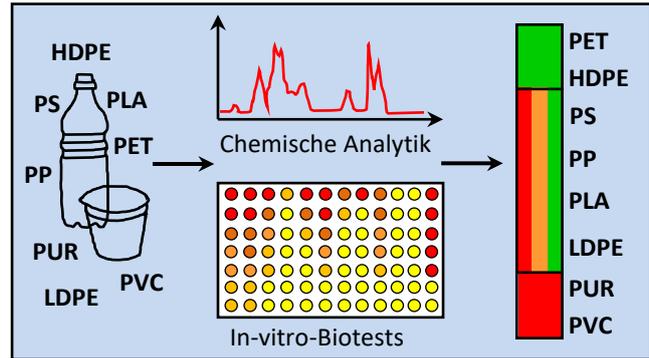


Abb. 1: Schematische Darstellung der Versuchsdurchführung einschließlich untersuchter Polymertypen. Abbildung übernommen aus [9].

Tabelle 1. Untersuchte Kunststoffprodukte

Probe	Kunststoffprodukt	FCM
HDPE 1	Nachfüllbare Trinkflasche	Ja
HDPE 2	Joghurttrinkflasche	Ja
HDPE 3	Mülltüte	Nein
HDPE 4	Duschgeißflasche	Nein
LDPE 1	Fruchtsaftflasche	Ja
LDPE 2	Plastikfolie	Ja
LDPE 3	Gefrierbeutel	Ja
LDPE 4	Behältnis für Haarspülung	Nein
PS 1	Joghurtbecher	Ja
PS 2	Obstschale	Ja
PS 3	Gemüseschale	Ja
PS 4	Plastikbecher	Ja
PP 1	Nachfüllbare Trinkflasche	Ja
PP 2	Joghurtbecher	Ja
PP 3	Fruchtgummiverpackung	Ja
PP 4	Taschentuchverpackung	Nein
PP 5	Shampooflasche	Nein
PET 1	Softdrinkflasche	Ja
PET 2	Joghurtbecher	Ja
PET 3	Bratschlauch	Ja
PET 4	Gemüseschale	Ja
PET 5	Shampooflasche	Nein
PVC 1	Frischhaltefolie	Ja
PVC 2	Tischset	Nein
PVC 3	Teichplane	Nein
PVC 4	Fußboden	Nein
PUR 1	Spülschwamm	Nein
PUR 2	Badeschwamm	Nein
PUR 3	Akustikschaum	Nein
PUR 4	Badeschuhe	Nein
PLA 1	Joghurtbecher	Ja
PLA 2	Gemüseschale	Ja
PLA 3	Shampooflasche	Nein
PLA 4	Kaffebecherdeckel	Ja

Tabelle verändert aus [9]. FCM, Food Contact Material, Material mit Lebensmittelkontakt.

Zur Veranschaulichung der Daten in einer Heatmap wurden die Effektkonzentrationen und -höhen sowie die Gesamtanzahl der Peaks und der prozentuale Anteil nicht-identifizierter Peaks je auf den Wert niedrigster (0 %) bzw. höchster (100 %) Toxizität bzw. Anzahl an Peaks in unserem Datensatz normalisiert.

In-vitro-Toxizität von Kunststoffprodukten

Insgesamt zeigten 74 % der Extrakte aus den 34 untersuchten Kunststoffprodukten einen negativen Effekt in mindestens einem der Biotests (Abb. 2). Hierbei führten zwei Drittel der Extrakte zu unspezifischer Toxizität und 41 % zu einer oxidativem Stressantwort. Zudem induzierten 27 % der Produkte eine antiandrogene und 12 % eine östrogene Wirkung in den In-vitro-Tests (Abb. 2).

Der Vergleich von Produkten verschiedener Polymertypen zeigte, dass insbesondere PVC- und PUR-basierte Kunststoffe die meisten Endpunkte beeinflussten sowie die höchsten negativen Auswirkungen hatten. Im Gegensatz dazu riefen die Extrakte aus PET- und HDPE-Produkten, wenn überhaupt, lediglich niedrige In-vitro-Effekte hervor.

Interessanter Weise führten die Extrakte aller PLA-Produkte zu einer unspezifischen Toxizität, welche vergleichbar mit der der PUR- und PVC-Produkte war. Dies verdeutlicht, dass sogenannte „Biokunststoffe“ nicht zwangsläufig weniger bedenkliche Substanzen enthalten als herkömmliche, erdöl-basierte Kunststoffe, obwohl sie als nachhaltigere Alternative vermarktet werden.

Für die übrigen untersuchten Kunststofftypen, LDPE, PS und PP, lässt sich keine generalisierte Aussage treffen, da es vielmehr von dem jeweiligen Produkt abhing, ob dessen chemische Inhaltsstoffe toxisch wirkten oder nicht. Dies impliziert, dass die Toxizität der untersuchten Produkte stark von deren individueller chemischer Zusammensetzung abhängt und nicht nur vom verwendeten Polymer.

Ein Vergleich der Materialien mit und ohne Lebensmittelkontakt zeigte, dass letztere zu einer höheren Stressantwort führten und verstärkt antiandrogen wirkten. Dennoch riefen auch die Extrakte der Produkte mit Lebensmittelkontakt negative Effekte in den In-vitro-Tests hervor. Im Falle der unspezifischen Toxizität erreichten sie sogar vergleichbare Werte wie die Produkte ohne Lebensmittelkontakt. Dies unterstreicht Bedenken, dass die derzeitige Einzelsubstanzprüfung von Lebensmittelkontaktmaterialien nicht ausreicht, um mögliche Gesundheitsrisiken adäquat zu bewerten [6]. Gleichzeitig weisen die Ergebnisse unserer Studie darauf hin, dass Biotests ein geeignetes Mittel darstellen, um die Gesamtoxizität einer Substanzmischung zu untersuchen.

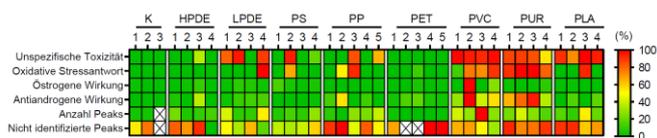


Abb. 2: Toxikologisches und chemisches Profil der Kunststoffprodukte basierend auf den Ergebnissen der Biotests und den GC-QTOF-MS Daten (gesamte Anzahl Peaks, Anteil nicht identifizierter Peaks). Die Kontrollen (K) umfassen die Verfahrensblanks 1 (1) und 2 (2) sowie die Lösemittelkontrolle (3). Je höher der prozentuale Wert, desto toxischer die Probe bzw. desto höher die jeweilige Anzahl an Peaks im Vergleich zu den restlichen getesteten Produkten. Abbildung verändert aus [9].

Chemikalien in Kunststoffprodukten

Mittels hochauflösender Non-target GC-QTOF-MS ließen sich insgesamt 1400 Peaks detektieren. In 15 Produkten befanden sich jeweils über 40 Peaks. Im Maximum waren 194 Peaks detektierbar. Dies verdeutlicht, dass Kunststoffmaterialien eine große Anzahl und breite Palette an niedermolekularen Chemikalien enthalten. Über einen Abgleich mit der NIST Datenbank konnten 260 dieser Peaks bestimmten Chemikalien zugordnet werden, d.h. mehr als 80 % der Merkmale waren nicht identifizierbar.

Von den identifizierten Substanzen stammten mindestens 57 aus dem Kunststoffprodukt selbst und nicht dem Inhalt der Verpackung. Sie umfassten Monomere, Zwischenprodukte, Lösemittel und bekannte NIAS. Generell stellte es sich als schwierig heraus, die Herkunft und Funktionalität der Chemikalien zu bestimmen, da es an öffentlich verfügbaren Daten mangelt. Dementsprechend besteht die Notwendigkeit, vollständige, transparente Datenbanken für Kunststoff-assoziierte Chemikalien zu entwickeln, welche es z.B. vereinfachen, die Exposition gegenüber diesen zu bestimmen.

Ein Abgleich der potentiell identifizierten Substanzen mit der ToxCast-Datenbank für In-vitro-Toxizität zeigte, dass für die meisten Substanzen bisher keine Daten vorhanden sind. Die Chemikalien, welche in der Datenbank zu finden waren, umfassten wiederum Stoffe mit nachgewiesener In-vitro-Toxizität. Beispiele sind der UV-Filter Benzophenon, welcher östrogen wirkt, sowie das Antioxidans Butylhydroxytoluol, welches laut ToxCast-Daten u.a. eine starke antiandrogene Aktivität aufweist.

Fazit

Wie unsere Studie zeigt, enthält die Mehrzahl der Alltagsprodukte aus Kunststoffen Chemikalien, welche in In-vitro-Tests negative Auswirkungen hervorrufen. Von den Dutzenden bzw. Hunderten Substanzen, welche in einem einzelnen Kunststoffprodukt enthalten sein können, lassen sich die meisten nicht identifizieren und somit auch nicht deren Auswirkungen auf Mensch und Umwelt bestimmen. Obwohl es bereits Materialien auf dem Markt gibt, die keine In-vitro-Toxizität hervorrufen, und damit als unbedenklicher gelten, lassen sich diese beim Einkauf nicht von bedenklicheren, also solchen mit einem hohen toxischen Potenzial, unterscheiden. Um dem entgegen zu wirken, sollten Produzenten sowie Politik die

Unbedenklichkeit von Kunststoffprodukten garantieren. Ein erster Schritt wäre beispielsweise die transparente Kommunikation über die verwendeten Inhaltsstoffe.

Zur Studie

Die Untersuchungen wurden in einer Kooperation des ISOE –Institut für sozial-ökologische Forschung in Frankfurt, der Goethe-Universität Frankfurt, der Technisch-Naturwissenschaftlichen Universität Norwegen und der Bundesanstalt für Gewässerkunde im Rahmen des PlastX-Projektes (<http://www.plastx.org>) mit Förderung des Bundesministerium für Bildung und Forschung (01UU1603A-C) durchgeführt. Der Text ist eine deutsche Zusammenfassung der kürzlich in „Environmental Science & Technology“ erschienenen Studie „Zimmermann, G. Dierkes, T. A. Ternes, C. Völker, M. Wagner, Benchmarking the in vitro toxicity and chemical composition of plastic consumer products“. *Environ. Sci. Technol.*, 53 (19), 11467-11477, 2019, doi: 10.1021/acs.est.9b02293.

Referenzen

1. J. N. Hahladakis, C. A. Velis, R. Weber, E. Iacovidou, P. Purnell, An overview of chemical additives present in plastics. *J. Hazard. Mater.* 344, 179–199, **2018**, doi: 10.1016/j.jhazmat.2017.10.014.
2. J. Muncke, Exposure to endocrine disrupting compounds via the food chain. *Sci Total Environ.* 407, 4549–4559, **2009**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2009.05.006.
3. K. J. Groh, T. Backhaus, B. Carney-Almroth, B. Guecke, P. A. Inostroza, A. Lennquist, H. A. Leslie, M. Maffini, D. Slunge, L. Trasande, A. M. Warhurst, J. Muncke., Overview of known plastic packaging-associated chemicals and their hazards. *Sci Total Environ.* 651, 3253–3268, **2019**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.10.015.
4. M. Wagner, Know thy unknowns: why we need to widen our view on endocrine disruptors. *J Epidemiol Community Health.* 71, 209, **2016**, doi: 10.1136/jech-2016-207259.
5. European Commission (EC), Regulation (EU) No 10/2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food (14.01.2014).
6. K. J. Groh, J. Muncke, In vitro toxicity testing of food contact materials. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 16, 1123–1150, **2017**, doi: 10.1111/1541-4337.12280.
7. National Center for Biotechnology Information (NCBI), PubChem Open Chemistry Database 2018 (available at <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/search/#collection=compounds>).
8. United States Environmental Protection Agency (US EPA), ToxCast database (invitroDBv3) 02.11.2018 (available at <https://www.epa.gov/chemical-research/exploring-toxcast-data-downloadable-data>).
9. L. Zimmermann, G. Dierkes, T. A. Ternes, C. Völker, M. Wagner, Benchmarking the in vitro toxicity and chemical composition of plastic consumer products. *Environ. Sci. Technol.* 53 (19), 11467-11477, **2019**, doi: 10.1021/acs.est.9b02293.

Korrespondenzadresse

Lisa Zimmermann
Abteilung Aquatische Ökotoxikologie
Goethe Universität Frankfurt
Max-von-Laue-Str. 13, D-60438 Frankfurt am Main
Internet:
<http://www.plastx.org/>;
http://www.bio.uni-frankfurt.de/43971064/Abt_Oehlmann
E-mail: l.zimmermann@bio.uni-frankfurt.de
Telefon: +49 69 79842150