

Dissertation

**Migration von organischen Substanzen aus Polyvinylchlorid-Artikeln
unter besonderer Berücksichtigung der Weichmacher
Di(2-ethylhexyl)adipat (DEHA), Acetyltributylcitrat (ATBC)
und Di(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP)**

ausgeführt zum Zwecke der Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der
technischen Wissenschaften/der Naturwissenschaften unter Leitung von

Ao. Univ. Prof. Dr. Ingrid Steiner
E 160
Institut für Lebensmittelchemie und –technologie

eingereicht an der Technischen Universität Wien
Technisch Naturwissenschaftliche Fakultät

von

Dipl.-Ing. Andreas Wildhack
9325738

Josef Weinhebergasse 7/1/11
2340 Mödling

Wien, am 21. Dezember 2001

.....
Dipl.-Ing. Andreas Wildhack

Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern für ihre Unterstützung und die Finanzierung des Studiums.

Ebenfalls möchte ich Frau Ao.Univ.Prof. Dr. Ingrid Steiner für ihre Unterstützung und die angenehme und produktive Zusammenarbeit danken.

Für die finanzielle Unterstützung, zahlreiche Ideen und Arbeitsvorschläge möchte ich mich bei Herrn Dr. Fiala vom Verbraucherrat des Österreichischen Normungsinstitutes bedanken.

Außerdem Dank an Herrn Dr. HJ Ankersmit und seinen Mitarbeitern von der Klinischen Abteilung für Herz-Thorax-Chirurgie (Prof. Ernst Wolner) im Allgemeinen Krankenhaus Wien für die Projektidee, die vom Bürgermeisterfonds (Nummer 1912) gefördert wurde.

Weiters möchte ich dem Institut für Angewandte Botanik, technische Mikroskopie und organische Rohstofflehre und dem Institut für Chemische Technologie organischer Stoffe, insbesondere Herrn Walter Dazingen meinen Dank aussprechen, ohne deren beispielhafte institutsübergreifende Unterstützung viele Dinge nur mit erheblichen Schwierigkeiten bewerkstelligt hätten werden können.

Ebenfalls Dank an die Service-Einrichtung für Transmissions-Elektronenmikroskopie (USTEM) besonders an Herrn Ao.Univ.Prof. Dr. Peter Schatzschneider und ObRat DI Gerhard Rumlmaier für die Erstellung der elektronenmikroskopischen Aufnahmen.

Auch möchte ich dem Technologischen Gewerbemuseum, insbesondere Herrn Dr. Wolanek und Herrn Dr. Elmecker, für ihre Unterstützung und kompetente Beratung meinen Dank aussprechen.

Zu guter letzt möchte ich mich bei allen Mitarbeitern und Kollegen des Institutes für Lebensmittelchemie und -technologie für das ausgesprochen angenehme und kollegiale Arbeitsklima und die gute Zusammenarbeit bedanken.

Kurzfassung

Im Zuge dieser Arbeit wurde das Migrationsverhalten einiger organischer Substanzen, insbesondere der Weichmacher Di(2-ethylhexyl)adipat (DEHA), Acetyltributyleicitrat (ATBC) und Di(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP), aus Weich-PVC-Artikeln, wie zum Beispiel Babyartikeln oder medizinischen Schlauchmaterialien, untersucht.

Die in Zusammenarbeit mit dem Verbraucherrat des Österreichischen Normungsinstitutes (ÖNORM) durchgeführten Untersuchungen von DEHA und ATBC brachten die Erkenntnis, daß sich diese beiden Substanzen hinsichtlich ihres Migrationsverhaltens nur unwesentlich voneinander bzw. von Phthalatweichmachern unterscheiden.

Es zeigte sich, daß die Mengen der aus den diversen PVC-Materialien ausgewanderten Weichmacher alle in der selben Größenordnung lagen und daß auch die charakteristische Veränderung der Migration bei Variation der Versuchsparameter im Bereich der Erwartungen war.

Dank der aus in-vivo Lutsch- und Kauversuchen mit freiwilligen Testpersonen erhaltenen Ergebnisse, die mit den aus den Simulationen erhaltenen Migrationswerten sehr gut übereinstimmten, war die Grundvoraussetzung für die Realitätsnähe und die Aussagekraft der ermittelten Daten gegeben.

Weiters wurden die Voraussetzungen für die Entwicklung einer innerhalb der Europäischen Normung einheitlichen, validierten Standard-Analysenmethode für die Freisetzung von DEHA bzw. ATBC aus Weich-PVC-Artikeln geschaffen.

Die vom Europäischen Normungsinstitut (CEN) aufgestellten Qualitätskriterien für die statistische Absicherung der Analytik konnten erfüllt werden und damit wurde eine Grundlage für nachfolgende Analysen anderer Weichmachergruppen gelegt mit dem Ziel, objektive Migrationsgrenzwerte festlegen zu können.

Ein weiterer Schwerpunkt dieser Arbeit war die in Zusammenarbeit mit dem Allgemeinen Krankenhaus Wien durchgeführte Analyse von Plasmaproben von Patienten, die während einer Operation an einer Herz-Lungen-Maschine angeschlossen waren.

Das Plasma wurde auf den Gehalt von DEHP bzw. dessen enzymatischen Metaboliten MEHP untersucht und die Werte mit gesunden Probanden und Patienten mit angeborenen Herzfehlern verglichen.

Es konnte gezeigt werden, daß aus den verwendeten medizinischen Schlauchmaterialien relevante Mengen von DEHP in den Körper der Patienten gelangten und daß sich der Plasma-DEHP-Gehalt mit fortschreitender Dauer der Operation stetig steigerte, resultierend in einer signifikanten Erhöhung der postoperativen DEHP-Konzentration im Vergleich zu gesunden Probanden und Patienten kurz vor einer Operation.

Diese Werte wurden durch eine Migrationsuntersuchung der Schlauchsysteme mit einer isotonischen Salzlösung noch bestätigt, da auch hier ein Anstieg mit der Zeit festzustellen war.

Weiters war zu erkennen, daß die Absolutkonzentration von DEHP im Plasma von Patienten vor dem Anschluß an eine Herz-Lungen-Maschine fast vier mal größer als bei Patienten mit Herzfehlern und über vierzig mal größer als bei gesunden Probanden war.

Diese Ergebnisse sind insbesondere unter Berücksichtigung der Risikoabschätzung relevant, die zeigt, daß auf diese Weise in relativ kurzer Zeit große Mengen DEHP in den Körper gelangen können und so vor allem bei Personen mit geringem Körpergewicht der TDI-Wert bei weitem überstiegen werden kann.

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|-----------|
| I. EINLEITUNG | 1 |
| 1. PVC allgemein | 2 |
| 2. Herstellung und Eigenschaften von PVC | 2 |
| 3. Weichmacher | 3 |
| 3.1. Di(2-ethylhexyl)adipat (DEHA) | 6 |
| 3.2. Acetyltributylcitrat (ATBC) | 8 |
| 3.3. Di(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP) | 9 |
| 4. Allgemeine rechtliche Grundlagen | 13 |
| 4.1. Europäische Union | 13 |
| 4.2. Österreich | 14 |
| 5. Einsatzgebiete von PVC in der Medizin | 16 |
| II. AUFGABENSTELLUNG | 19 |
| A. ANALYTIK VON DEHA UND ATBC | NA |
| B. ANALYSE VON DEHP UND MEHP IN BLUT | 21 |
| B-III. VERSUCHSMATERIALIEN UND GERÄTE | 21 |
| 1. Analysenmaterialien | 21 |
| 1.1. Blutplasma..... | 21 |
| 1.2. Salzlösungen..... | 21 |
| 2. Glasgeräte | 22 |
| 3. Lösungsmittel bzw. Laufmittel | 22 |
| 4. Standards bzw. Standardlösungen | 22 |
| 5. Salzlösung | 22 |
| 6. Zentrifuge..... | 22 |
| 7. Analysengeräte..... | 22 |
| B-IV. ARBEITSMETHODIK | 23 |
| 1. Allgemein..... | 23 |
| 2. Quantitative Bestimmung von DEHP | 23 |
| 2.1. DEHP-Gehalt in Plasmaproben..... | 23 |
| 2.2. DEHP-Gehalt in Salzlösungen | 23 |
| 3. Quantitative Bestimmung von MEHP | 24 |
| 3.1. MEHP-Gehalt in Plasmaproben | 24 |
| 3.2. MEHP-Gehalt in Salzlösungen | 24 |
| 4. Eichkurven und Validierung | 24 |
| 4.1. Eichgerade DEHP | 24 |
| 4.2. Eichgerade MEHP | 25 |
| 5. Wiederfindungsversuche..... | 25 |
| 5.1. Wiederfindung DEHP | 25 |
| 5.2. Wiederfindung MEHP..... | 25 |
| 6. Blindwerte..... | 26 |
| 7. Analyse und Auswertung | 26 |
| 7.1. HPLC-Methodik DEHP | 26 |
| 7.2. HPLC-Methodik MEHP..... | 26 |

| | |
|---|-----------|
| B-V. MESSWERTE UND ERGEBNISSE | 27 |
| Analytik | 28 |
| DEHP und MEHP in Plasma von Patienten an der Herz-Lungen-Maschine | 30 |
| DEHP und MEHP in Plasma von gesunden Probanden und Probanden mit Vitien.. | 36 |
| DEHP und MEHP in Salzlösungen | 37 |
| B-VI. DISKUSSION | 38 |
| 1. Allgemein..... | 38 |
| 2. Analytik..... | 39 |
| 2.1. Eichgeraden..... | 40 |
| 2.2. Präzision | 41 |
| 2.3. Wiederfindung..... | 41 |
| 2.4. Nachweisgrenze | 41 |
| 3. DEHP bzw. MEHP-Gehalte im Plasma..... | 41 |
| 3.1. Patienten an der Herz-Lungen-Maschine..... | 41 |
| 3.2. Gesunde Probanden..... | 44 |
| 3.3. Probanden mit Vitien | 44 |
| 3.4. Vergleich der Personengruppen | 45 |
| 4. Untersuchung der Salzlösungen..... | 46 |
| 5. Risikoabschätzung | 47 |
| VII. ZUSAMMENFASSUNG | 49 |
| VIII. LITERATURVERZEICHNIS | 51 |

I. Einleitung

Die Migration von organischen Substanzen aus Kunststoffartikeln hat sich in den letzten 25 Jahren zu einem vieldiskutierten Thema entwickelt.

Weltweit werden Bemühungen unternommen, die große Anzahl der Stoffe, die aus Kunststoffen auswandern können, analytisch zu erfassen. Außerdem gilt es festzustellen, ob davon eine potentielle Gefährdung der Gesundheit ausgeht und wenn ja, in welchem Ausmaß und welcher Art diese Gefährdung ist. Diese Erkenntnisse müssen dann unter Einbeziehung aller mitwirkenden Faktoren in ein „rechtliches Gewand“ gehüllt werden. Allerdings bedürfen die bestehenden gesetzlichen Richtlinien aufgrund ständig neuer Erkenntnisse einer laufenden Aktualisierung und Anpassung.

Diese Tatsache bringt sowohl für die Kunststoffindustrie, als auch für die Kontrollinstanzen und nicht zuletzt auch für die Konsumenten Probleme mit sich.

Im Zuge dieser Arbeit wurde das Migrationsverhalten einiger organischer Substanzen aus Weich-PVC-Artikeln untersucht (siehe auch [1,2]) und Methoden entwickelt, die eine zuverlässige qualitative und quantitative Detektion dieser Substanzen auch im Spurenbereich ermöglichen sollten.

Da es innerhalb der Europäischen Union noch keine validierte Standard-Testmethode für die Freisetzung von Weichmachern aus Weich-PVC-Artikeln gibt, kann gegenwärtig weder ein gleichmäßig hohes Schutzniveau für die Gesundheit durch Festlegung von Grenzwerten noch eine einheitliche, nichtdiskriminierende Anwendung solcher Grenzwerte gewährleistet werden.

Ein Schwerpunkt dieser Arbeit war daher die Entwicklung eines zuverlässigen und normierten Extraktions- und Detektionsverfahrens von Weichmachern, das bestimmte vom Europäischen Komitee für Normung (CEN) ausgegebene Qualitätskriterien erfüllen mußte. Diese Validierungsstudie sollte damit in weiterer Folge als Voraussetzung und Grundlage für eine europaweite Standardisierung der Analytik von Weichmachern fungieren.

Dieser Teil der Arbeit wurde in Kooperation mit dem Verbraucherrat des Österreichischen Normungsinstitutes (ÖNORM) durchgeführt.

Aus aktuellem Anlaß wurde im Zuge eines zweiten Projektes, das in Zusammenarbeit mit dem Allgemeinen Krankenhaus Wien (Dr. HJ Ankersmit) durchgeführt wurde, die Migration von organischen Substanzen aus medizinischen Schlauchmaterialien untersucht.

Diese Analysen sollten die Voraussetzungen für eine mögliche Erklärung teils schwerwiegender Komplikationen bei Patienten liefern, die im Zuge einer Operation an eine Herz-Lungen-Maschine angeschlossen sind.

Zu Beginn dieser Arbeit wird außerdem eine kurze Einführung über PVC und dessen Weichmacher gegeben. Anschließend wird ein Überblick über die neuesten toxikologischen Erkenntnisse auf dem Gebiet der Weichmacher gewährt und die rechtlichen Aspekte in Österreich und dem Europäischen Raum beleuchtet.

Darüber hinaus ist ein Teilkapitel dem umstrittenen Einsatz von PVC in Krankenhäusern bei medizinischen Gebrauchsartikeln gewidmet.

1. PVC allgemein

Polyvinylchlorid ist einer der wichtigsten und wohl auch einer der umstrittensten Kunststoffe der heutigen Zeit.

Bei einer weltweiten jährlichen Gesamt-Kunststoffproduktion von über 100 Millionen Tonnen nimmt PVC hinter Polyethylen mit über 25 Millionen t den zweiten Platz ein [3,4].

Den für viele Einsatzgebiete überragenden physikalischen Eigenschaften stehen allerdings auch größere Nachteile gegenüber.

So geriet PVC in den letzten Jahren auf Grund der auftretenden Umweltbelastung bei der Entsorgung und nicht zuletzt wegen des häufig eingesetzten toxikologisch umstrittenen Weichmachers DEHP in Kritik.

Zur Zeit laufen vor allem in Europa heftige Diskussionen über eine drastische Reduzierung der PVC-Produktion und der Verwendung von PVC-Artikeln.

2. Herstellung und Eigenschaften von PVC-

Die Rohstoffe für die Herstellung von PVC werden zu 43% aus Erdöl bzw. Steinkohle und zu 57% aus Steinsalz gewonnen [5,6].

Durch Raffination des Erdöls erhält man verschiedene Fraktionen, eine davon ist die Naphtha-Fraktion („Chemie-Benzin“). Durch Cracken von Naphtha lassen sich Ethylen, Propylen und zahlreiche andere Chemierohstoffe herstellen.

Steinsalz (NaCl) wird weltweit in großen Mengen gewonnen, wobei die Vorräte nahezu unerschöpflich sind.

Eine fast gesättigte wäßrige Lösung des Salzes (Sole) wird durch einen Elektrolyseprozeß in Chlor, Natronlauge und Wasserstoff zerlegt. Heute wird für die Herstellung dieser wichtigen Einsatzprodukte in der Grundstoffindustrie hauptsächlich das energie- und kostengünstige Membranverfahren genutzt.

Aus Ethylen und Chlor stellt man bei ca. 80°C mit Aluminiumverbindungen als Katalysator in der sogenannten „Direktchlorierung“ Dichlorethan her, das in einem weiteren Schritt unter Abspaltung von Chlorwasserstoff zu Vinylchlorid (VC) umgesetzt wird. Den bei der Abspaltung erhaltenen Chlorwasserstoff setzt man in einem zweiten Verfahren, der „Oxychlorierung“, ebenfalls zur Herstellung von Dichlorethan aus Ethylen ein. Dieser Verfahrensschritt wird bei Temperaturen von etwa 250°C mit Kupferverbindungen als Katalysator betrieben [5,6].

Neben dem Chlorwasserstoff aus der Spaltung kann auch aus anderen Quellen stammender Chlorwasserstoff eingesetzt werden, beispielsweise aus Abfallprodukten von bestimmten chemischen Prozessen.

Das so entstandene Vinylchlorid wird über eine Destillation von allen unerwünschten Bestandteilen gereinigt und kann so hochrein als Monomer zur PVC-Herstellung bei der Polymerisation eingesetzt werden.

Der eigentliche Polymerisationsschritt wird großtechnisch nach drei Verfahren vollzogen: Massepolymerisation (M-PVC), Emulsionspolymerisation (E-PVC) und vor allem Suspensionpolymerisation (S-PVC). Diese verschiedenen Verfahren erlauben es, PVC-Typen mit unterschiedlichen Eigenschaften gezielt für bestimmte Anwendungsgebiete zu produzieren [4,7].

Zusätze wie Weichmacher, Stabilisatoren, Gleitmittel, Füllstoffe, Pigmente, Flammschutzmittel u.a. verleihen dem Kunststoff die gewünschten Eigenschaften.

Grundsätzlich unterscheidet man zwischen Hart-PVC mit einem Weichmachergehalt von 0-12% und Weich-PVC mit einem Gehalt von 20-50%.

Hart-PVC ist chemisch sehr beständig (gegen Wasser, Säuren, Basen, Benzine), einige organische Lösungsmittel wirken jedoch quellend (u.a. Benzol). Weiters besitzt es hohe mechanische Festigkeit, Steifheit und Härte, ist jedoch in der Kälte schlagempfindlich. Dieser Kunststoff ist wegen seiner hohen Witterungs- und Altersbeständigkeit einer der wichtigsten Kunststoffe im Baugewerbe. Er eignet sich vor allem für säurefeste Rohre, Behälter, und für Folien [4,7].

Weich-PVC erhält man durch Additive wie Weichmacher und erreicht dadurch eine in weiten Grenzen einstellbare Flexibilität. Auf der anderen Seite ist es nicht so chemikalienbeständig wie Hart-PVC und wird von vielen organischen Lösungsmitteln angegriffen (u.a. THF). Hauptanwendungsgebiete für Weich-PVC sind vor allem Kabelummantelungen, Folien bzw. Fußbodenbeläge [4,7].

Die vor allem im Lebensmittelbereich eingesetzten Folien sind jedoch auf Grund ihres Weichmachergehaltes insbesondere für fetthaltige bzw. ölige Lebensmittel ungeeignet.

3. Weichmacher

Weichmacher sind flüssige oder feste organische Stoffe mit geringem Dampfdruck, die z.B. Kunststoffen zugesetzt werden, um deren Flexibilität, Verarbeitbarkeit und Dehnbarkeit zu verbessern und um erhöhtes Formänderungsvermögen, erhöhte elastische Eigenschaften und geringere Härte zu erreichen [7].

Man unterscheidet generell zwischen zwei Arten von Weichmachung, nämlich zwischen äußerer und innerer :

Bei der äußeren Weichmachung werden die Weichmacher physikalisch über Van der Waals-Kräfte an die Kunststoffmoleküle gebunden.

Dabei treten die polaren Gruppen des Weichmachers mit den polaren Gruppen des Kunststoffes in Wechselwirkung. Die kleinen beweglichen Weichmacherdipole schieben sich zwischen die langkettigen Kunststoffmoleküle und binden sich an deren Dipole. Durch diesen Vorgang wird die Molekülstruktur aufgelockert und beweglicher und in gleichen Maße nehmen Weichheit und Dehnbarkeit des Kunststoffes zu. Bereits geringe Mengen reichen hier aus, um ein weitgefächertes Spektrum verschiedener Werkstoffeigenschaften zu erzielen [7].

Die innere Weichmachung resultiert aus Copolymerisation der Monomeren des Kunststoffes mit Comonomeren mit raumfüllenden Seitengruppen (z.B.: Acrylsäuremethylester), deren Homopolymeren eine wesentlich niedrigere Glasübergangstemperatur besitzen.

Bei dieser Copolymerisation werden die Abstände der einzelnen Makromoleküle vergrößert, die Zahl der Nebenvalenzbindungen sinkt und als Folge dessen wird die Kettenbeweglichkeit erhöht [7].

Beide Arten haben je nach Anforderungsprofil Vor- und Nachteile:

So kann bei der inneren Weichmachung die feste chemische Verknüpfung mit den Polymersegmenten durch Extraktionsmittel nicht gelöst werden, während bei der äußeren Weichmachung die nicht an die Kunststoffmatrix gebundenen Moleküle unter entsprechenden Bedingungen sehr wohl auswandern können.

Nachteilig bei der inneren Weichmachung ist die auf Grund der begrenzten Flexibilität der Copolymerisate ausgeprägte Temperaturabhängigkeit der mechanischen Eigenschaften des Werkstoffes.

Grundsätzlich werden drei Arten von Weichmachern unterschieden, nämlich die Primärweichmacher, die Sekundärweichmacher und die Extender [7].

- Primärweichmacher können im Unterschied zu den beiden folgenden Gruppen alleine verwendet werden und schwitzen aus dem weichgemachten Kunststoff nicht aus. Typische Vertreter sind Phthalate, Citrate, Trimellitate, Phosphate und Benzoate.
- Sekundärweichmacher besitzen nur eine begrenzte Verträglichkeit mit den Polymeren und werden meist in Kombination mit Primärweichmachern eingesetzt werden. Zu dieser Gruppe zählen u.a. Adipate, Sebacate, Azelate und Alkyfettsäureester.
- Extender haben nur ergänzende Funktionen. Zu ihnen zählen aromatische Kohlenwasserstoffe und Chlorparaffine.

Generell sollten Weichmacher folgende Eigenschaften aufweisen [7,8]:

- gutes Weichmachungsvermögen
- kein Ausschwitzen oder übermäßiges Auswandern aus dem Kunststoff
- geringe Flüchtigkeit und Viskosität
- ausreichende Stabilität bei angewendeten Temperaturen
- Geruchs-, Geschmacks- und Farblosigkeit
- physiologische Unbedenklichkeit
- gute Wärme-, Kälte- und Lichtbeständigkeit

Die Weichmachermigration ist ein diffusionsbedingter Vorgang und deren Geschwindigkeit und Ausmaß sind abhängig von der Struktur und der Menge der Weichmacher, dem K-Wert des PVC, der Lagertemperatur, der Dicke des Materials und der Affinität zu den Kontaktstoffen [9].

Folgende Tabelle gibt Aufschluß über die wichtigsten Weichmachergruppen [7].

Tab. 1 : Wichtige Weichmachergruppen und deren bekannteste Vertreter.

| Weichmacher | Vertreter |
|-----------------------------|---|
| Phthalsäureester | Di(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP) Diisononylphthalat (DINP) Dibutylphthalat (DBP) |
| Adipinsäureester | Di(2-ethylhexyl)adipat (DEHA) Dibutyladipat (DBA) Diisodecyladipat (DIDA) |
| Zitronensäureester | Acetyltributylcitrat (ATBC) Tributylcitrat (TBC) Acetyltriethylcitrat (ATEC) |
| Sebacinsäureester | Di(2-ethylhexyl)sebacat (DEHS) Dibutylsebacat (DBS) |
| Azelainsäureester | Di(2-ethylhexyl)azelat Diisooctylazelat |
| Trimellithsäureester | Tris(2-ethylhexyl)trimellitit (TOTM) Trialkyltrimellitit div. |
| Phosphorsäureester | Triphenylphosphat Diphenylkresylphosphat (DPCF) Tris(2-ethylhexyl)phosphat (TOF) |
| Benzoessäureester | Butylbenzoat Diethylenglycolbenzoat |
| Sulfonsäureester | Alkylsulfonsäureester div. |
| Terephthalsäureester | Di(2-ethylhexyl)terephthalat |
| Fettsäureester | Butyloleat Butylstearat |
| Epoxidweichmacher | Epoxystearinsäure Epoxidiertes Sojabohnenöl (EPSO) |
| Polymerweichmacher | Polyester aus Adipin-, Sebacin-, Azelain- und Phthalsäure mit Diolen wie z.B.:1,3-Butandiol |

In folgenden werden die drei im Zuge dieser Arbeit untersuchten Weichmacher im Detail beschrieben:

3.1. Di(2-ethylhexyl)adipat (DEHA)

Tab. 2 : Physikalisches Datenblatt von DEHA [10,11]

| | |
|-------------------|-------------------|
| CAS-Nummer | [103-23-1] |
| Summenformel | $C_{22}H_{42}O_4$ |
| Molekulargewicht | 370,58 |
| Schmelzpunkt | -76°C |
| Siedepunkt | 417°C |
| Dichte | 0,922 |
| Wasserlöslichkeit | <100mg/l (20°C) |

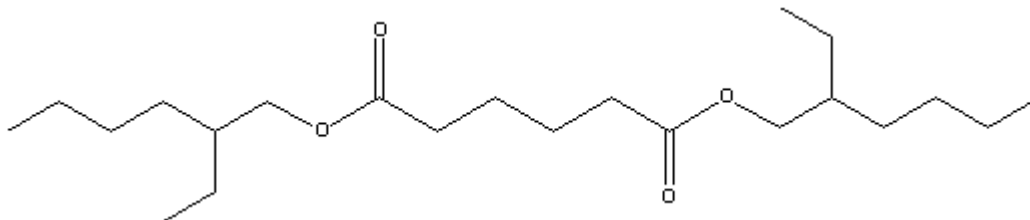


Abb. 1 : Strukturformel von DEHA

DEHA ist eine leicht gelblich gefärbte, ölige Flüssigkeit mit hohem Siedepunkt. Sie ist in Wasser nahezu unlöslich, in Essigsäure, Aceton, Ethanol, Diethylether und anderen organischen Lösungsmitteln sehr gut löslich. Außerdem zeichnet DEHA sich durch eine hohe Lichtstabilität aus [10,11].

Die Herstellung erfolgt durch die durch Schwefelsäure katalysierte Reaktion von Adipinsäure mit einem Überschuß von 2-Ethylhexanol [11].

Die Hauptanwendungsgebiete von DEHA liegen als Weichmacher für PVC oder Nitrocellulose vor allem im Bereich von Verpackungsmaterialien und überall dort, wo die kälteelastische Wirksamkeit von Phthalaten verbessert werden soll, es wird aber auch als Lösungsmittel in Kosmetika wie Badeölen oder Nagellackentfernern oder als Schmiermittel eingesetzt [11].

DEHA kommt originär in der Natur nicht vor, dennoch wurden in Trinkwasserproben auch schon geringere Mengen nachgewiesen [11].

Die durchschnittliche Aufnahmemenge beim Menschen über Umwelt und Nahrung wurde in den vergangenen Jahren laufend nach unten korrigiert und beträgt nach neuesten Schätzungen ungefähr 0,8-1,0 mg DEHA/Tag [12,13,26]

Toxikologisches Profil von DEHA

Anhand von Versuchstieren wurde festgestellt, daß DEHA sehr schnell vom Magen-Darm-Trakt absorbiert wird, wobei es naturgemäß Unterschiede zwischen dem Metabolismus von Ratten und Primaten gibt [10].

DEHA gelangt in viele Bereiche des Körpers (Leber, Niere, Nebenniere, Fettgewebe), wobei die maximal auftretenden Konzentrationen nach ca. 6-12 Stunden erreicht werden.

Anschließend wird DEHA schnell wieder über den Harn und über die Atmung ausgeschieden und reichert sich nicht im Körper an [10,14,15].

Die zahlreichen durch Hydrolyse im Magen-Darm-Trakt entstandenen Metaboliten, wie z.B.: Mono(2-ethylhexyl)adipat, 2-Ethylhexanol, Adipinsäure und die vor allem bei Menschen auftretende 2-Ethylhexansäure haben eine Halbwertszeit von rund eineinhalb Stunden und sind nach 36 Stunden nicht mehr nachweisbar [10,15].

DEHA hat eine geringe akute Toxizität mit LD₅₀-Werten von ca.10mg/ml und besitzt geringes Reizungspotential für Augen und Haut [10].

Bei Versuchstieren, denen DEHA oral verabreicht wurde, konnten folgende physiologische Veränderungen festgestellt werden:

- Peroxisomenproliferationen in der Leber (geringer als bei DEHP) [10,16,17,18]
- Zunahme des Gewichts der Leber [16,17]
- Abnahme des Körpergewichts [16]
- Veränderungen der Phospholipidsynthese [19,20,21]
- Zunahme an Enzymen, die an der Fettsäureoxidation in der Leber beteiligt sind [16]
- Leberkrebs (bei Mäusen) [10,16]
- Senkung des Cholesterinspiegels im Plasma [20,21]
- Reduktion des Leber-Glykogengehaltes [19]
- Hemmung der Cholesterinentstehung in der Leber [20]
- Leichte Embryotoxizität [10]

DEHA besitzt nach den vorliegenden Studien kein genotoxisches Potential [22,23,24,25]. Ein leicht karzinogener Effekt wurde bei Mäusen festgestellt, denen extrem hohe Dosen verabreicht wurden, jedoch wird diesem Effekt auf Grund der im Vergleich zum Menschen unterschiedlichen Stoffwechselwege und der unverhältnismäßig hohen eingesetzten Konzentrationen keine Bedeutung beigemessen [10].

Für DEHA wurde 1999 vom Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment (CSTEE) ein TDI-Wert von 300 µg/kgKG/Tag, basierend auf dem NOAEL für Embryotoxizität, festgelegt [10], der im Oktober 2000 unter Berücksichtigung von Populationsstudien nochmals bestätigt wurde [26].

3.2. Acetyltributylcitrat (ATBC)

Tab. 3 : Physikalisches Datenblatt von ATBC [10,27]

| | |
|-------------------|---------------------|
| CAS-Nummer | [77-90-7] |
| Summenformel | $C_{20}H_{34}O_8$ |
| Molekulargewicht | 402,5 |
| Schmelzpunkt | -80°C |
| Siedepunkt | 326°C (160mm Hg) |
| Dichte | 1,05 |
| Wasserlöslichkeit | ~20mg/l (20°C) |

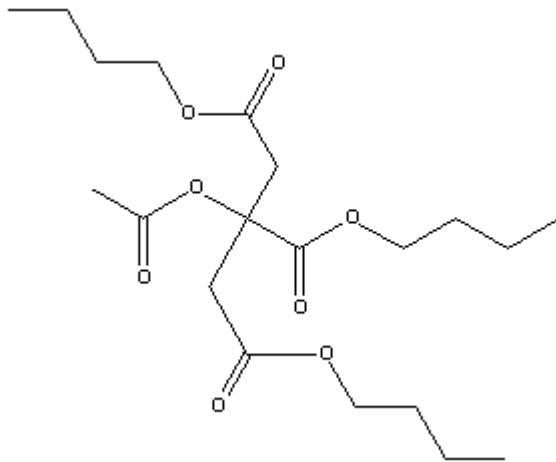


Abb. 2 : Strukturformel von ATBC

ATBC ist eine klare, farb- und geruchlose Flüssigkeit mit hohem Siedepunkt. In Wasser ist sie praktisch unlöslich, in organischen Lösungsmitteln sehr gut löslich [10].

ATBC findet vor allem als Weichmacher für Kunststoffe (PVC) Einsatz, mit den Hauptanwendungsgebieten in der Verpackungs- und Spielzeugindustrie.

Toxikologisches Profil von ATBC

ATBC wird nach oraler Verabreichung schnell absorbiert. Die Eliminierung verläuft über zwei Phasen, wobei die erste Phase eine Halbwertszeit von 3,4 Stunden und die zweite eine viel längere Halbwertszeit von 39 Stunden besitzt, und erfolgt über Urin (76%), Kot (32%) und Atmung (2%) [10].

ATBC wird sehr stark metabolisiert (mind. 9 verschiedene Metaboliten, vor allem Monobutylcitrat) [10].

ATBC ist nicht akut toxisch und reizt Augen und Haut wenig bzw. nicht. Allerdings kam es bei Ratten, denen die Substanz oral verabreicht wurde zu einer Abnahme des Körpergewichts, zu einer Gewichtszunahme der Leber und zu einigen biochemischen Veränderungen [10,28].

Untersuchungen zur Genotoxizität, Karzinogenität und reproduktiven Toxizität sind zwar vorhanden und deuten auf jeweils geringe bis gar keine Potentiale hin, doch wurden diese Studien teilweise nach heute nicht mehr gültigen Kriterien durchgeführt und besitzen somit nur geringe Aussagekraft. Außerdem fehlen Untersuchungen zur Teratogenität vollständig [10,29].

ATBC wurde daher vom Scientific Committee on Food auf die Liste derjenigen Substanzen gesetzt, für die aus Mangel an toxikologisch relevanten Daten kein TDI-Wert festgesetzt werden konnte [10].

3.3. Di(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP)

Tab. 4 : Physikalisches Datenblatt von DEHP

| | |
|-------------------|--|
| CAS-Nummer | [117-81-7] |
| Summenformel | C ₂₄ H ₃₈ O ₄ |
| Molekulargewicht | 390,6 |
| Schmelzpunkt | -50°C |
| Siedepunkt | 387°C |
| Dichte | 0,9732 |
| Wasserlöslichkeit | <1mg/l (20°C) |

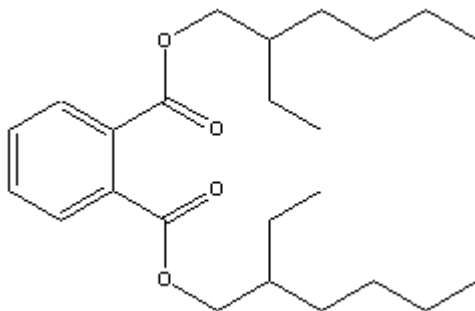


Abb. 3 : Strukturformel von DEHP

DEHP ist eine farblose, schwer flüchtige und fast geruchlose Flüssigkeit. Sie ist in organischen Lösungsmitteln gut und in Wasser nahezu unlöslich [34].

DEHP ist in der Natur nahezu ubiquitär vorhanden. Gründe dafür sind die hohen Produktions- und Anwendungsmengen, die Vielzahl von Einsatzbereichen und deren Stabilität und Persistenz gegenüber physikalischen, chemischen und biologischen Abbaureaktionen [34].

DEHP wurde bereits um 1950 in den Bereich der medizinischen und biomedizinischen Anwendung als Weichmacher für PVC-Produkte eingeführt. Typische Fabrikate sind zum Beispiel Blutbeutel, Infusionsbeutel und -schläuche oder Herzkatheter [30]. Insbesondere bei der längeren Lagerung von Blut kommt der positive Effekt von DEHP auf die Lagerzeit durch dessen Einfluß auf die Zellwand der roten Blutkörperchen zu tragen [31].

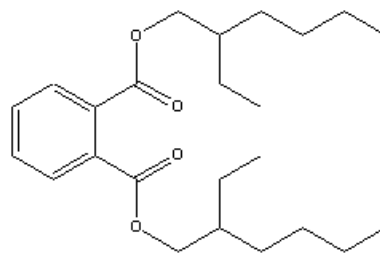
Früher wurde DEHP auch als Weichmacher für Kinderspielzeuge eingesetzt, jedoch wurde es Mitte der 80er Jahre, als Zweifel an dessen toxikologischer Unbedenklichkeit aufkamen, freiwillig wieder zurückgezogen [32].

Heute herrscht ein EU-weites Verbot für den Einsatz von DEHP in Spielzeugen für Kinder unter 3 Jahren. Mehr dazu findet sich im nächsten Kapitel.

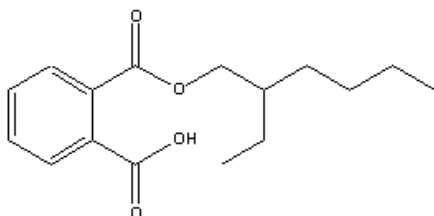
Auch in Verpackungsmaterialien, die direkt mit dem Lebensmittel in Kontakt kommen, wie z.B.: Frischhaltefolien, darf DEHP nicht mehr eingesetzt werden.

Toxikologisches Profil von DEHP:

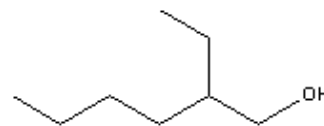
Der Metabolismus von DEHP erfolgt durch Hydrolyse vor allem durch Pankreaslipasen und anschließende Oxidation in der Leber nach folgendem Schema [33,34,35,36]:



Di(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP)

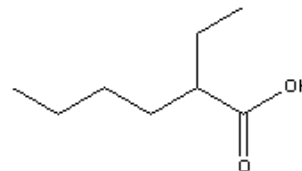


Mono(2-ethylhexyl)phthalat (MEHP)



2-Ethylhexanol (2-EXHO)

Diverse Metaboliten



2-Ethylhexansäure (2-EXHA)

Abb. 4 : Metabolismus von DEHP im Menschen

DEHP wird je nach Art der Aufnahme über den Verdauungstrakt, die Haut oder die Lunge nach der Hydrolyse als MEHP bzw. 2-EXHO ins Blut absorbiert und diese Substanzen werden vor allem in der Leber, der Niere, der Lunge und den Geschlechtsorganen gespeichert. Nach dem Metabolismus, der sehr unterschiedlich verlaufen kann, werden die Metaboliten nach kurzer Zeit über Urin, Fäces und Galle ausgeschieden [33,34,35,36,37]. Damit beträgt die Halbwertszeit von DEHP und MEHP im Blut nur mehrere Stunden und es erfolgt keine Akkumulation im Körper [34,35,38,39]. So ist die Hydrolyse von DEHP, die bekanntlich bei oraler Aufnahme auf Grund der im Verdauungstrakt erhöhten Lipasen-Konzentration wesentlich schneller verläuft als bei intravenöser Applikation, der zeitlich relevante Prozeß der Eliminationskinetik.

DEHP besitzt einen geringen Grad an akuter Toxizität [34,40,41] und beim Menschen konnten bislang noch keine eindeutigen Beweise für schädigende Effekte gefunden werden [34].

Allerdings löst DEHP starke peroxisomale Proliferation in der Leber von Nagern aus (stärker als DEHA) [34,42,43,44,45]. Diese Proliferation steht neben weiteren schädigenden Effekten auf z.B.: Membrane auch mit der Entstehung von Lebertumoren in Verbindung [34,42,44,45,46].

Dieser Mechanismus der Krebsentstehung bei Nagern wurde für den Menschen jedoch als nicht relevant eingestuft [34,45,47].

Studien über eine direkte mutagene oder genotoxische Wirkung von DEHP waren bislang sowohl bei in-vivo als auch bei in-vitro Ansätzen in Bakterien und Säugetierzellen negativ [34,45,48], eine Wirkung als Promotor bzw. Co-Karzinogen kann jedoch nicht ausgeschlossen werden [34].

Weiters besitzt DEHP bei Ratten und Mäusen teratogene und reproduktionstoxische Eigenschaften, und ist für z.B.: Atrophie der Hoden oder gestörte Spermatogenese verantwortlich [34,43,45,47,49,50,51,52].

Von den Metaboliten besitzt MEHP im Vergleich zu DEHP ein höhere akute Toxizität vor allem auf den Herzmuskel [34,39] und hat wie auch 2-EXHA teratogene und entwicklungsschädigende Eigenschaften [45]. Ebenfalls von Bedeutung sind die toxischen Effekte auf die Geschlechtsorgane [34,45,52].

Daß größere Mengen DEHP, die vor allem für Neugeborene oder bereits geschwächte Patienten bedenklich sind, über medizinische Geräte und Artikel in den Körper gelangen können, ist bekannt [37,39,52].

Neueste, bislang jedoch noch nicht ausreichend untersuchte Vermutungen, weisen auf eine weitere Art der potentiellen Gefahr hin:

Beim Einsatz von Herz-Lungen-Maschinen, deren PVC-Schläuche zumeist den Weichmacher DEHP enthalten, werden häufig bislang unerklärliche postoperative Infekte und das sogenannte Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) ohne erkennbare Krankheitserreger beobachtet [53,54]. Ähnliche Kontakte zwischen Blut und Weich-PVC

kommen auch bei Dialyse-Patienten vor und führen zu vergleichbaren Reaktionen des Immunsystems, die für den Betroffenen in vielen Fällen den Tod bedeuten [55,56].

Es wird angenommen, daß diese immunologischen Effekte durch den auswandernden Weichmacher verursacht werden könnten. Um diese Hypothese zu bestätigen sind derzeit zahlreiche Untersuchungen im Gange.

Basierend auf den aktuellsten toxikologischen Daten und der Annahme, daß testikuläre Effekte eine größere Relevanz als peroxisomale Proliferation besitzen, wurde ein TDI-Wert von 37 µg/kg Kg/Tag abgeleitet [47], der etwas tiefer liegt, als der von der European Scientific Committee on Food zuvor festgesetzte Wert von 50 µg/kg KG/Tag [45].

4. Allgemeine rechtliche Grundlagen

Da sich diese Arbeit größtenteils mit der Untersuchung von Gebrauchsgegenständen und ähnlichen Materialien beschäftigt, sei hier ein kurzer Überblick über die allgemeinen rechtlichen Grundlagen in Europa und in Österreich gegeben [57].

Gebrauchsgegenstände sind u.a. Gegenstände

- die mit Lebensmitteln in Berührung kommen
- die mit den Mundschleimhäuten in Berührung kommen
- zur Körperpflege
- Spielwaren
- Reinigungs- und Pflegemittel

Generell ist es verboten Gebrauchsgegenstände derart herzustellen oder in Verkehr zu bringen, daß sie geeignet sind, die Gesundheit zu schädigen.

Zu beachten ist hier die Formulierung, denn es genügt die bloße Eignung zur Schädigung um unter dieses Verbot zu fallen.

4.1. Europäische Union

Innerhalb der europäischen Union besteht neben Prinzipien wie dem freien Waren- und Personenverkehr auch die Bestrebung der Angleichung und Harmonisierung der innerstaatlichen Rechtsvorschriften.

Die Initiative für die Durchführung von Maßnahmen zur Rechtsangleichung geht von der Kommission aus. Es werden gegebenenfalls Stellungnahmen und Vorschläge von Lebensmittelausschüssen eingeholt (u.a. vom Scientific Committee on Food, SCF) und dem Ministerrat zum Beschluß vorgelegt. Die ergangenen Richtlinien müssen dann durch Verordnungen in nationales Recht umgesetzt werden.

Die Richtlinien für Gebrauchsgegenstände stellen grundlegende Forderungen an Ausgangsmaterialien, Migration von Inhaltsstoffen, Kennzeichnung, Prüfvorschriften, u.v.a.

In der Kunststoffrichtlinie [58], die für Verpackungsmaterialien in direktem Kontakt mit Lebensmitteln gilt, finden sich Positivlisten mit für die Herstellung zugelassenen Ausgangsstoffen, vom SCF aus toxikologischer Sicht in verschiedene Kategorien eingeteilt.

In der Spielzeugrichtlinie [59] werden umfassende Sicherheitsanforderungen für Spielzeugartikel geregelt.

Auch gibt es Vorschriften über den höchstzulässigen Restgehalt von Substanzen im Gebrauchsgegenstand.

Was die Migration betrifft, muß die von einem Gebrauchsgegenstand abgegebene Menge an Inhaltsstoff so gering sein, daß sie die menschliche Gesundheit nicht gefährdet bzw. weder die sensorischen Eigenschaften noch die Zusammensetzung des Lebensmittels beeinträchtigt.

Die höchstzulässige Globalmigration beträgt 10 mg/dm² Gebrauchsgegenstand und ist als Maß für die Inertheit eines Gegenstandes anzusehen.

Werden toxikologische Überlegungen zur maximalen Aufnahme eines Stoffes in ein Lebensmittel zugezogen (vor allem bei Verpackungstoffen), erhält man die spezifische Migration, die eine höchstzulässige Grenze von 60 mg/kg Lebensmittel aufweist.

Ziel der Harmonisierung der Rechtsvorschriften ist neben einer Vereinfachung des zwischenstaatlichen Warenverkehrs auch eine möglichst praktische und schnelle Kontrolle der Ware.

Daher sollte die Anzahl der zu überwachenden spezifischen Migrationsgrenzwerte, die analytisch meist nur unter großem Aufwand ermittelt werden können, so gering wie möglich gehalten werden und sich nur auf besonders gefährliche Stoffe beziehen. Der Rest könnte über eine analytisch wesentlich einfachere und billigere Kontrolle der Globalmigration bzw. des höchstzulässigen Restgehaltes eines Stoffes im Gebrauchsgegenstand abgedeckt werden.

Die Behandlung der Kontrolle von Gebrauchsgegenständen und der dafür nötigen Analysenverfahren findet vornehmlich im Europäischen Komitee für Normung (CEN) statt. Hier werden in internationaler Zusammenarbeit Analysenmethoden für Migrationstests entwickelt und in europaweiten Ringversuchen auf ihre Tauglichkeit geprüft.

4.2. Österreich

Österreich ist seit 1995 vollwertiges Mitglied der Europäischen Union, das heißt es hat sich zur Übernahme des EG-Rechtsbestandes verpflichtet.

Da Einfuhrbeschränkungen zwischen den Mitgliedsstaaten untersagt sind (außer zum Schutz der Gesundheit, der öffentlichen Sicherheit bzw. aus Verbraucherschutzgründen), dürfen Waren, die in einem Mitgliedsland zugelassen und verkehrsfähig sind, in alle anderen Mitgliedsländer exportiert werden.

Das hat zu Folge, daß Länder wie z.B.: Österreich, die heimischen Produzenten zum Teil strengere Regelungen auferlegen, trotzdem den Import von Waren, die diesen strengeren Kriterien eigentlich nicht entsprechen würden, zulassen müssen.

Wie bereits erwähnt, muß Österreich alle vom Ministerrat der EU erlassenen Richtlinien innerhalb einer gewissen Zeit per Verordnung in heimisches Recht umsetzen.

Jeder Hersteller ist dazu verpflichtet, nur sichere Produkte auf den Markt zu bringen, um vor allem die Sicherheit und Gesundheit von Kindern zu gewährleisten. Wenn nach Informationen eines Mitgliedstaates ein Produkt jedoch eine ernste und unmittelbare Gefahr darstellt, kann die Kommission ein Inverkehrbringen dieses Produktes verhindern.

So wurde in Österreich bereits im August 1998 eine Verordnung erlassen, die phthalathältiges Spielzeug für Kinder unter 3 Jahren ab 1.1.1999 verbietet [60]. Österreich war somit der erste Staat, das diesen Schritt setzte. Es folgten weitere europäische Länder bis auch vom Wissenschaftlichen Ausschuß der Kommission (CSTEE) die gesundheitsschädigende Wirkung von Phthalatweichmachern als erwiesen angesehen wurde.

So wurde im Dezember 1999 ein Verbot der Verwendung von bestimmten Phthalatweichmachern in Babyartikeln und Spielzeugartikeln aus Weich-PVC für Kinder unter 36 Monaten erlassen. Anzuwenden ist diese Regelung auf alle Artikel, die ganz oder auch nur teilweise aus PVC hergestellt werden und die die Weichmacher DEHP, DINP, DNOP, DIDP, BBP bzw. DBP mit einem Gewichtsanteil von über 0,1 % enthalten und die dazu bestimmt sind, von Kindern unter 3 Jahren in den Mund genommen zu werden [61]. Dieses zeitlich beschränkte EU-weite Verbot wurde bis dato bereits sieben mal verlängert (zuletzt im August 2001 [62]) und ist seit Ende Dezember 1999 ins österreichische Recht eingegliedert [63].

5. Einsatzgebiete von PVC in der Medizin

Während Hart-PVC, wie bereits erwähnt, vor allem im Baugewerbe und Weich-PVC für Folien bzw. Kabelummantelungen eingesetzt wird, soll hier auf die Verwendung von PVC in Krankenhäusern näher eingegangen werden [30,64].

Unter dem Begriff Medizinartikel sind medizinische Gebrauchsartikel, die weder Arzneimittel noch Apparate sind, zusammengefaßt. Dazu zählen unter anderem Untersuchungshandschuhe, Katheter, Infusionssysteme und Blutbeutel. Allesamt müssen sie gewisse Kriterien und Vorschriften bezüglich Sterilität, Toxizität und anderer Parameter erfüllen.

Das „Europäische Arzneibuch“ (Pharmacopoea Europaea) legt Anforderungen an Arzneimittel und medizinische Bedarfsmittel fest, wobei diese Bestimmungen in Österreich im Rahmen der Arzneibuchverordnung bereits in innerstaatliches Recht aufgenommen wurden. Trotzdem fehlt noch eine klare gesetzliche Regelung für den Produktionsprozeß, der zur Zeit nur freiwillig nach den Richtlinien des „Good Manufacturing Practice“ (GMP), in Anlehnung an den Grundsätzen der Weltgesundheitsorganisation WHO, kontrolliert werden kann.

Grundsätzlich legt die EU-Richtlinie 98/79/EWG fest, daß Medizinprodukte derart beschaffen sein müssen, daß das Risiko durch Produktmigration, Verunreinigungen und Rückstände für die beim Transport, Lagerung und Verwendung involvierten Personen so gering wie möglich gehalten wird [65].

Folgende Anforderungen werden vom medizinische Standpunkt aus an Medizinprodukte gestellt:

- Medizinprodukte sollen chemisch möglichst inert sein, das heißt nach Möglichkeit keine Monomere enthalten bzw. mit Medikamenten oder Körperflüssigkeiten nicht wechselwirken.
- Mehrwegprodukte müssen sterilisierbar sein, ohne dadurch ihre spezifische Eigenschaften zu verlieren.
Sterilisationsmethoden sind unter anderem Bestrahlung mit γ -Strahlung, Autoklavieren oder Bedampfen mit Ethylenoxid, das sich jedoch an Kunststoff anlagert und erst wieder desorbiert werden muß. Auch bei anderen Methoden ist eine eventuelle Beeinträchtigung der mechanischen bzw. physiologischen Eigenschaften zu berücksichtigen.
- Je nach Art des zu lagernden bzw. transportierenden Stoffes sind unterschiedliche Anforderungen an die Permeabilität des Kunststoffes zu stellen. So müssen manche Substanzen (Infusionslösungen) zum Beispiel vor Sauerstoff geschützt werden, um eine Oxidation der Inhaltsstoffe zu verhindern.
- Im medizinischen Bereich eingesetzte Produkte müssen biokompatibel sein, das heißt, sie dürfen das Gewebe in keiner Weise reizen, müssen aus antiallergischen Materialien erzeugt werden, dürfen keine Partikel in den Kreislauf abgeben und dürfen keine entzündlichen Reaktionen auslösen.

- Die physikalischen Eigenschaften sollten ebenfalls ein sehr weites Spektrum abdecken:
 - Flexibilität
 - Bruch-, Knick- und Splittersicherheit
 - Transparenz

Der Markt von medizinischen Produkten in Europa wird durch vier Hersteller dominiert: Fresenius, B.Braun, Baxter/Clintec und Pharmacia. Alle vier Hersteller haben auch PVC-freie Produkte im Sortiment [66].

Die am häufigsten bei Medizinartikeln eingesetzten Kunststoffe zeigt folgende Übersicht (hier nur ein Überblick über die bekanntesten Materialien):

- Polyvinylchlorid (PVC)
- Polyurethan (PUR)
- Silikon
- Naturkautschuk
- Polycarbonat (PC)
- Polyethylen (HDPE, LDPE)
- Polypropylen (PP)
- Polystyrol (PS)
- Polyethylenterephthalat (PET)
- Polyamid (PA)
- Acrylnitril-Butadien-Styrol-Copolymere (ABS)
- Ethylen-Vinylacetat-Copolymere (EVA)

Von allen oben genannten Materialien ist PVC das wohl umstrittenste und am heftigsten diskutierte.

Auf der einen Seite stehen dessen überragende physikalische Eigenschaften und der im Vergleich zu Alternativ-Kunststoffen um ca. 20-30% geringere Preis. Vor allem bei Blutbeuteln führt zur Zeit kein Weg an PVC vorbei. Grund dafür ist der durch den Weichmacher DEHP ausgelöste stabilisierende Effekt auf die roten Blutkörperchen und eine daraus folgende längere Haltbarkeit der Blutkonserven [31].

Ein weiteres Argument für den Einsatz von PVC ist der Mangel an abgesicherten Untersuchungsergebnissen bei Alternativmaterialien. Bei PVC sind durch langjährige Erfahrung und Forschung erwünschte und unerwünschte Auswirkungen genau bekannt, bei neuen Kunststoffen hingegen sind diese Risiken weniger kalkulierbar, da entsprechende Studien noch gar nicht durchgeführt wurden.

Gegen einen massiven Einsatz von PVC-Medizinartikeln sprechen andererseits sowohl medizinische als auch logistische und wirtschaftliche Argumente.

Am häufigsten wird hier wohl die Migration des für PVC gebräuchlichsten Weichmachers DEHP angesprochen. Dieser Stoff kann auf Grund seiner Ubiquität in der Umwelt auf verschiedenstem Wege in den menschlichen Körper gelangen. Auf Grund seiner lipophilen Eigenschaften können sich jedoch im Zuge von Infusionen und Operationen größere Mengen

aus der Kunststoffmatrix lösen, ins Blut übergehen und auf diese Weise inkorporiert werden. Das Spektrum der möglichen physiologischen Effekte und Beeinträchtigungen ist breit gefächert und wurde im Kapitel I.3.3. beschrieben.

Auch führt die ständige Migration von Weichmacher zur Versprödung des Materials und somit zu Oberflächenveränderungen. Extreme Rauheiten an der Oberfläche können die Ursache von Thrombenbildung sein, was vor allem bei Gefäßkathetern und anderen innerhalb des Körpers eingesetzten Medizinartikeln zu berücksichtigen ist.

Ein weiteres Problem ist die Adsorption bzw. Absorption therapeutischer Substanzen an die PVC-Matrix. Betroffen davon sind zum Beispiel Insulin oder Heparin. Auf diesen Effekt muß vor allem bei der Dosierung von Wirkstoffen großes Augenmerk gelegt werden.

Zu den erwähnten logistischen Problemen zählt vor allem die Müllbeseitigung. Da PVC-Artikel zumeist für den einmaligen Gebrauch bestimmt sind, können sich in einem Krankenhaus rapide große Mengen an PVC-Abfall anhäufen. Das stellt viele Krankenhäuser vor ein Problem bei der Mülltrennung und der Entsorgung.

Für nicht getrennt gesammelten, meist kontaminierten Spitalsabfall ist die Verbrennung die häufigste Entsorgungsart. Das dadurch entstehende Chlorgas bzw. hochgiftige Substanzen wie Dioxin, machen diese Methode sehr kostenintensiv und aufwendig.

II. Aufgabenstellung

Im Zuge dieser Arbeit sollte das Migrationsverhalten von organischen Substanzen aus Weich-PVC-Artikeln untersucht werden.

Zu analysieren waren verschiedene im Handel erworbene oder von Firmen zur Verfügung gestellte PVC-Artikel bzw. medizinische Schlauchmaterialien. Bei den zu untersuchenden Weichmachern handelte es sich vornehmlich um Di(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP), Di(2-ethylhexyladipat) (DEHA) und Acetyltributylcitrat (ATBC).

Das Analysenverfahren bestand grundsätzlich darin, einen kleinen PVC-Gegenstand, der sich zusammen mit einem dem Speichel ähnlichen Extraktionsmittel in einem Kolben befand, auf verschiedenen Geräten (Ultraschallbad, diverse Schüttelapparaturen) bei unterschiedlichen Betriebsbedingungen zu bearbeiten.

Bei diesen Studien zum Migrationsverhalten war es das Ziel, das reale Lutsch- und Kauverhalten von Kleinkindern möglichst gut zu simulieren. Um einen möglichst praxisnahen Vergleich mit dem realen Verhalten zu ermöglichen, wurden teilweise auch *in-vivo*-Lutsch- und Kauversuche durchgeführt um sie den Ergebnissen der Simulationen gegenüberzustellen.

Anschließend sollte die Menge des ausgewanderten Weichmachers mittels eines Gaschromatographen gekoppelt mit einem Massendetektor bestimmt werden.

Weiters sollte eine Validierung der Analysenmethode für Migrationsuntersuchungen für die beiden Weichmacher Di(2-ethylhexyl)adipat (DEHA) und Acetyltributylcitrat (ATBC) erstellt werden, mit dem Ziel einer europaweiten Normierung dieser Methodik.

Diese Validierung sollte sowohl mit als auch ohne dynamischer Extraktion mit einem Referenz-PVC-Stück durchgeführt werden.

Die Kriterien zur statistischen Auswertung der Ergebnisse waren vom Europäischen Komitee für Normung (CEN) vorgegeben und umfaßten neben weiteren Parametern vor allem die Wiederfindung, die Präzision, ausgedrückt durch die relative Standardabweichung, und die Linearität des Detektors.

Für die Detektion war auch hier eine gaschromatographisch-massenspektrometrische Analyse vorgesehen.

Schließlich sollte sich die Arbeit der Migration eines der bekanntesten Vertreter der Phthalatweichmacher, nämlich DEHP, aus medizinischen Bedarfsartikeln widmen. In diesem Zusammenhang wurden auch diverse Schlauchmaterialien auf deren Migrationsverhalten und Zusammensetzung geprüft.

Angesichts neuester toxikologischer Bedenken sollten die Gehalte von DEHP bzw. dessen enzymatischen Umsetzungsprodukt MEHP in Blutproben von Patienten, die während einer Operation an einer Herz-Lungen-Maschine angeschlossen waren, analysiert werden.

Außerdem war eine analytische Evaluierung des Migrationsverhaltens von DEHP aus besagten Herz-Lungen-Maschinen-Schläuchen bei Zirkulation einer isotonischen Salzlösung vorgesehen.

Abschließend sollte eine Risikoabschätzung Aufschlüsse über eine potentielle Gesundheitsgefährdung durch die auswandernden Mengen an Weichmachern geben.

B. Analyse von DEHP und MEHP in Blut

B-III. Versuchsmaterialien und Geräte

Folgende Materialien, Chemikalien und Geräte wurden bei den Versuchen eingesetzt:

1. Analysenmaterialien

Folgende Matrices wurden auf einen eventuellen DEHP bzw. MEHP-Gehalt untersucht:

1.1. Blutplasma

Im Zuge dieser Studie wurde verschiedenen Personengruppen Blut abgenommen:

- Gesunden Probanden
- Patienten, die während einer Operation an einer Herz-Lungen-Maschine angeschlossen waren
- Probanden mit angeborenen Herzerkrankungen bzw. Herzfehlern (Vitien)

Das Blut wurde in Greiner-Röhrchen gesammelt und sofort nach Abnahme durch Zentrifugation Plasma daraus gewonnen. Anschließend wurden die Proben umgehend bei -20°C tiefgefroren, um die enzymatische Metabolisierung von DEHP zu MEHP zu unterbinden. Auf eine Proteinfällung wurde in diesem Stadium noch verzichtet, um zu verhindern, daß durch eventuelle Adsorption an Proteinmoleküle Verluste der zu messenden Substanzen auftraten.

Um oben genannte Metabolisierung durch mehrmaliges Auftauen auszuschließen, wurden die Blutproben bereits vor Ort in jeweils zwei parallele Röhrchen abgefüllt. Eine Charge wurde für die DEHP-Analytik verwendet, die andere für die MEHP-Analytik.

Bei den Herz-Lungen-Maschine-Patienten wurde Blut sowohl vor der Operation abgenommen (präoperativer Wert, im Folgenden als Wert bei 0 Minuten bezeichnet), als auch in zeitlichen Abständen von 30 Minuten während des Eingriffs. Daraus sollte eine eventuelle Veränderung der Analyt-Gehalte in Abhängigkeit zur Dauer der Operation und somit zur Dauer der Exposition des Patienten nachgewiesen werden.

Bei den meisten Patienten konnte mehrmals Blut abgenommen werden (bis zu 5 mal, zuletzt nach 120 Minuten), bei manchen jedoch nur einmal (nur 0-Wert).

1.2. Salzlösungen

Hierbei wurde eine bestimmte Menge (2 l) einer isotonischen Salzlösung (HBSS) in einer Herz-Lungen-Maschine für mehrere Stunden (bis 220 Minuten) zirkulieren gelassen und nach einem Zeitschema mehrmals eine kleine Menge Lösung abgelassen und einer Analyse zugeführt.

2. Glasgeräte

Zentrifugenröhrchen (15 x 1,2cm), mit PE-Kappen verschließbar
Autosamplervials

3. Lösungsmittel bzw. Laufmittel

Acetonitril HPLC-Grade (Fa. Promochem)

Wasser HPLC-Grade (Fa. Promochem)

NaH₂PO₄-Puffer: wäßrige Lösung von NaH₂PO₄ (5mmol/l), mit Phosphorsäure auf pH=2,8 eingestellt

4. Standards bzw. Standardlösungen

Di(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP) [117-81-7], Fluka purum >98%

Di-n-heptylphthalat (DnHP) [3648-21-3], Fluka purum 98%

Diethylphthalat (DEP) [84-66-2], Fluka purum 98%

Dibutylphthalat (DBP), Merck zur Synthese ~99%

Mono(2-ethylhexyl)phthalat (MEHP) [4376-20-9], TCI America (USA) via ChemACX.com

5. Salzlösung

HBSS (Hanks' Balanced Salt Solution) H 9269, Sigma Aldrich

Zusammensetzung: anorganische Salze (u.a. NaCl (8 g/L), KCl, KH₂PO₄, Na₂HPO₄)
D-Glucose (1 g/L)

6. Zentrifuge

Labofuge 20000 Heraeus

7. Analysengeräte

HPLC: Perkin-Elmer Series 200

UV-Detektor

Autosampler

Pumpe, Interface

Säule: Waters, Supelco

Trägermaterial: Spherisorb ODS-2 5µm

Abmessungen: 150 x 4,6 mm

B-IV. Arbeitsmethodik

1. Allgemein

In diesem Teilkapitel werden die verwendeten Methoden zur Vorbereitung, Aufarbeitung und Validierung der durchgeführten Untersuchungen beschrieben.

Aus diversen Gründen, auf die in der abschließenden Diskussion näher eingegangen wird, wurde für die Bestimmung von DEHP dieselbe Extraktionsmethode, jedoch mit einem anderen internen Standard, wie für die Bestimmung von MEHP herangezogen. Aufgrund unterschiedlicher Laufmittelgemische und daraus resultierender unterschiedlicher Elutionszeiten, war jedoch eine parallele Messung der beiden Substanzen mittels HPLC nicht durchführbar.

Deshalb wurde für jede der beiden Substanzen eine eigene HPLC-Methode entwickelt und die beiden Substanzen getrennt gemessen.

2. Quantitative Bestimmung von DEHP

2.1. DEHP-Gehalt in Plasmaproben

- Plasma wurde im Wasserbad rasch aufgetaut.
- 1ml Plasma wurde dann in einem Zentrifugenröhrchen aus Glas vorgelegt (mit geeichter FinnpiPETTE).
- 100µl interner Standard (DnHP) wurden zugesetzt (mit geeichter FinnpiPETTE) und kurz geschüttelt.
- 2ml Acetonitril wurden zugegeben.

- 1ml NaOH (2 mol/l) wurde zur Proteinfällung zugesetzt und das Röhrchen verschlossen.
- Anschließend wurde die Probe 2 Minuten am Vortex kräftig durchgemischt, dann wurde das Röhrchen im Edmund-Bühler-Schüttler 10 Minuten lang bei maximaler Frequenz geschüttelt und abschließend wiederum am Vortex durchmischt.
- Zur Separation des gefällten Proteins wurde ca.10 Minuten lang bei ca.3000g zentrifugiert.
- Die leichtere Acetonitrilphase wurde mit einer Glaspipette in ein Autosamplervial übergeführt.
- Die Messung erfolgte im HPLC.

2.2. DEHP-Gehalt in Salzlösungen

Hierzu wurde die gleiche Methode wie für die Bestimmung von DEHP in Plasmaproben verwendet siehe 2.1.

3. Quantitative Bestimmung von MEHP

3.1. MEHP-Gehalt in Plasmaproben

Hierzu wurde die gleiche Aufarbeitungsmethode wie für die Bestimmung von DEHP in Plasmaproben verwendet (siehe 2.1).

Zum Unterschied zur DEHP-Analytik wurde hier als interner Standard Diethylphthalat (DEP) eingesetzt.

3.2. MEHP-Gehalt in Salzlösungen

Da in den Salzlösungen die für eine Metabolisierung von DEHP zu MEHP verantwortlichen Enzyme fehlen, wurde auf eine Analyse verzichtet.

4. Eichkurven und Validierung

Als Basis für die Erstellung der Eichgeraden diente das gepoolte Plasma mehrerer gesunder Probanden.

Die Verwendung von gepooltem Plasma hatte folgenden Hintergrund:

Bei Blut handelt es sich um eine von Person zu Person unterschiedliche Matrix. Diese individuellen Unterschiede können Einfluß auf das Extraktionsvermögen von DEHP bzw. die Affinität von DEHP zu im Plasma enthaltenen Proteinen haben.

Auch ist DEHP, wie in der Einleitung erwähnt, fast überall zu finden, sogar im Blut gesunder Probanden.

Da nicht von jeder Plasmaprobe eine eigene Eichgerade erstellt werden konnte, wurde, um die genannten Ungenauigkeiten möglichst gering zu halten und um einen realistischen Blindwert zu finden, auf die Verwendung von gepooltem Plasma zurückgegriffen.

Zu diesem Zweck wurden definierte Mengen der Analyten dem gepooltem Plasma in verschiedenen Konzentrationen zugesetzt.

Die Aufarbeitung erfolgte gemäß folgender Methode:

4.1. Eichgerade DEHP

- Plasma wurde im Wasserbad rasch aufgetaut.
- 1ml Plasma wurde dann in einem Zentrifugenröhrchen aus Glas vorgelegt (mit geeichter FinnpiPETTE).
- 100µl interner Standard (DnHP) wurden zugesetzt (mit geeichter FinnpiPETTE).
- 100µl DEHP-Lösung wurden zugesetzt (mit geeichter FinnpiPETTE) und kurz geschüttelt.
- 1,9 ml Acetonitril wurden zugegeben.
- weitere Vorgehensweise siehe 2.1.

Bei der Erstellung der Eichgeraden für die Salzlösungen wurde dasselbe Schema verwendet (statt Plasma wurde HBSS vorgelegt).

4.2. Eichgerade MEHP

Hierzu wurde die gleiche Methode wie für die Bestimmung der DEHP-Eichgeraden verwendet (siehe 4.1.)

Zum Unterschied wurde hier als interner Standard Diethylphthalat (DEP) eingesetzt.

5. Wiederfindungsversuche

Die durchgeführten Wiederfindungsversuche dienten dazu, die Qualität der eingesetzten Methode überprüfen zu können.

Auch hier wurde aus oben genannten Gründen auf die Verwendung von gepooltem Plasma zurückgegriffen.

Um eine eventuelle Adsorption des Analyten an die Blutmatrix quantifizieren zu können, wurden definierte Mengen von Lösungen verschiedener Konzentrationen erst nach abgeschlossener Extraktion in die Acetonitril-Phase eingebracht und daraus in weiterer Folge die absoluten Wiederfindungswerte berechnet.

5.1. Wiederfindung DEHP

- Plasma wurde im Wasserbad rasch aufgetaut.
- 1ml Plasma wurde dann in einem Zentrifugenröhrchen aus Glas vorgelegt (mit geeichter FinnpiPETTE).
- 100µl interner Standard (DnHP) wurden zugesetzt (mit geeichter FinnpiPETTE) und kurz geschüttelt.
- 1,9 ml Acetonitril wurden zugegeben.
- 1ml NaOH (2 mol/l) wurde zugesetzt und das Röhrchen verschlossen.
- Anschließend wurde die Probe 2 Minuten am Vortex kräftig durchgemischt, dann wurde das Röhrchen im Edmund-Bühler-Schüttler 10 Minuten lang bei maximaler Frequenz geschüttelt und abschließend wiederum am Vortex durchmischt.
- Zur Separation des gefällten Proteins wurde ca.10 Minuten lang bei ca.3000g zentrifugiert.
- 100µl DEHP-Lösung wurden vorsichtig in die leichtere Acetonitril-Phase eingebracht und leicht durchmischt.
- Die Acetonitrilphase wurde mit einer Glaspipette in ein Autosamplervial übergeführt.
- Die Messung erfolgte im HPLC.

Bei den Wiederfindungsversuchen für die Salzlösungen wurde dasselbe Schema verwendet (statt Plasma wurde HBSS vorgelegt).

5.2. Wiederfindung MEHP

Hierzu wurde die gleiche Methode wie für die Bestimmung der DEHP-Wiederfindung verwendet (siehe 5.1.).

Zum Unterschied wurde hier als interner Standard Diethylphthalat (DEP) eingesetzt.

6. Blindwerte

Um allfällige Verunreinigungen der Glasgeräte bzw. der eingesetzten Chemikalien und damit einhergehende Verschleppungen von Analyten berücksichtigen zu können, wurden für jede Versuchsreihe nach Möglichkeit Blindversuche durchgeführt.

Vor allem DEHP ist in der Umwelt nahezu ubiquitär vorhanden und wird auch besonders gut an Oberflächen z.B.: von Glas adsorbiert.

Um Verunreinigungen und Verschleppungen zu vermeiden, wurden die verwendeten Glasröhrchen auch vor jeder Meßserie sorgfältig mit Aceton und einer Mischung aus THF und Methanol gespült.

7. Analyse und Auswertung

Die Messung erfolgte mit einem HPLC-Gerät von Perkin-Elmer.

Wie bereits erwähnt, mußten für die beiden zu detektierenden Substanzen zwei unterschiedliche Meßverfahren eingesetzt werden.

Hauptaugenmerk lag auf einer sauberen Trennung der Substanzen von der störenden unspezifischen Blutmatrix.

7.1. HPLC-Methodik DEHP

- Laufmittel: Acetonitril:Wasser = 9:1
- Einspritzmenge: 60µl
- Flowrate: 2,3ml/min
- Detektor: $\lambda=225\text{nm}$
- Geräteeinstellungen: Range: 0,0080
Response: 0,05

Die Retentionszeiten betragen für DnHP ca.5 Minuten
und für DEHP ca.7 Minuten.

7.2. HPLC-Methodik MEHP

- Laufmittel: Acetonitril: NaH₂PO₄-Puffer = 1:1, pH=2,8
- Einspritzmenge: 90µl
- Flowrate: 2,3ml/min
- Detektor: $\lambda=225\text{nm}$
- Geräteeinstellungen: Range: 0,0080
Response: 0,05

Die Retentionszeiten betragen für DEP ca.4 Minuten
und für MEHP ca.9 Minuten.

B-V. Meßwerte und Ergebnisse

Die Ergebnisse sind in den nachfolgenden Tabellen zusammengestellt.

Aus diesen sind die für die jeweiligen Versuche entscheidenden Parameter sowie die Ergebnisse der Einzelmessungen, die statistisch relevanten Daten und die Menge des enthaltenen Weichmachers in $\mu\text{g/ml}$ Plasma bzw. Salzlösung zu entnehmen.

Eine detaillierte Betrachtung der Ergebnisse mit zusammenfassenden Darstellungen und Diagrammen ist im Diskussionsteil zu finden.

Analytik

Eichgeraden

DEHP in Plasmaproben

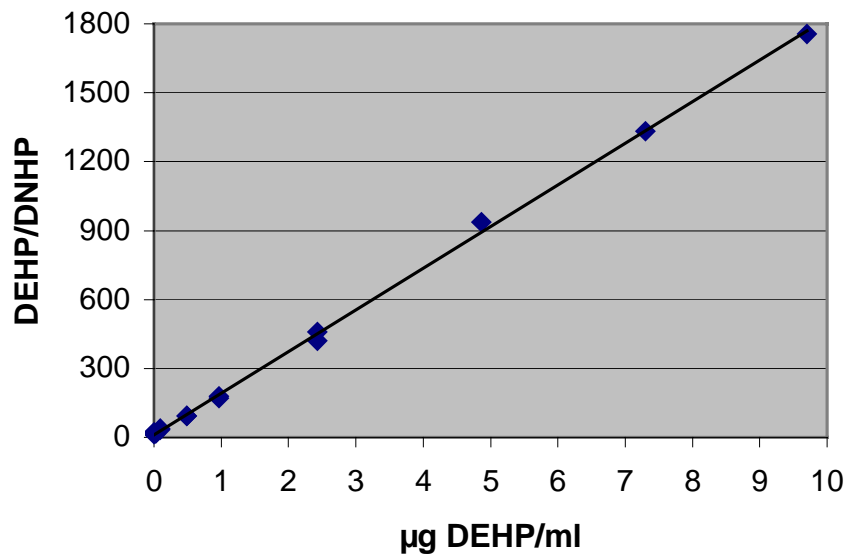


Abb. 26 : Eichgerade von DEHP in Plasma (lineare Regression)

DEHP in Salzlösung

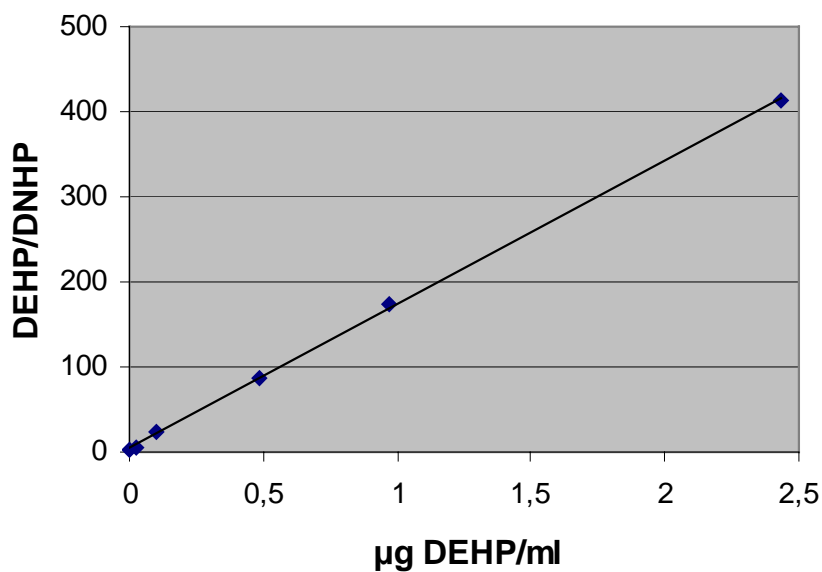
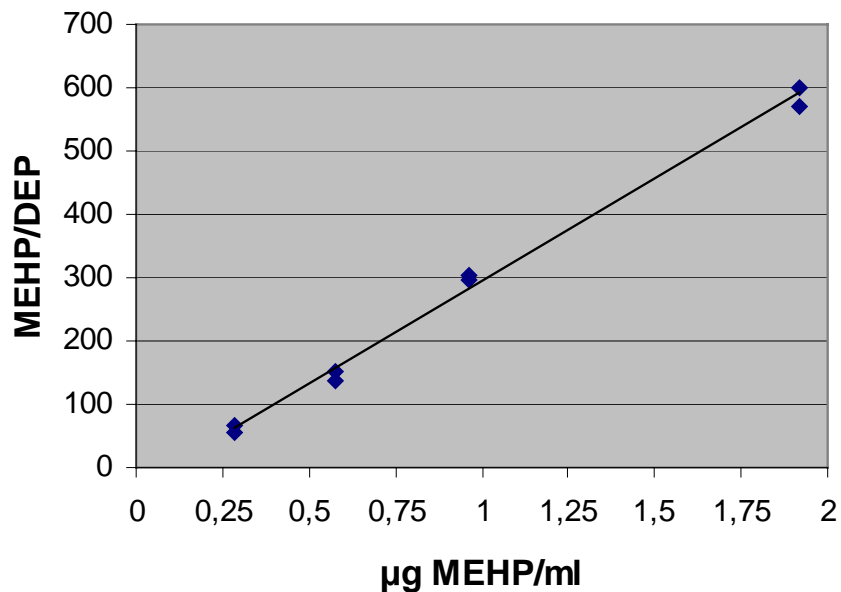


Abb. 27 : Eichgerade von DEHP in Salzlösung (lineare Regression)

Analytik**Eichgeraden****MEHP in Plasmaproben****Abb. 28** : Eichgerade von MEHP in Plasma (lineare Regression)**Tab. 44** : Charakteristische Daten der DEHP- bzw. MEHP-Analytik

| Parameter | DEHP in Plasma | DEHP in Salzlösung | MEHP in Plasma |
|-------------------------------|-------------------|-----------------------|-------------------|
| R ² (lineare Reg.) | 0,999 | 0,9997 | 0,995 |
| Wiederfindung | 90 % | 92 % | 78 % |
| Nachweisgrenze | ~ 10 ng/ml | ~ 10 ng/ml | ~ 150 ng/ml |
| Präzision | 5 % | 20 % | 12 % |

DEHP und MEHP in Plasma**Patienten an der Herz-Lungen-Maschine****Tab. 45** : DEHP- bzw. MEHP-Gehalte in Plasma von Patienten, die an eine Herz-Lungen-Maschine angeschlossen waren.**Patient 1:**

| Zeit [min] | DEHP [$\mu\text{g/ml}$] | MEHP [$\mu\text{g/ml}$] |
|------------|---------------------------|---------------------------|
| 0 | 0,390 | nd |
| 30 | 0,399 | nd |
| 60 | 0,471 | nd |
| 90 | 0,546 | nd |
| 120 | 0,600 | nd |

Patient 2:

| Zeit [min] | DEHP [$\mu\text{g/ml}$] | MEHP [$\mu\text{g/ml}$] |
|------------|---------------------------|---------------------------|
| 0 | 0,110 | nd |
| 30 | 0,201 | nd |
| 60 | 0,412 | nd |
| 90 | 0,633 | nd |

Patient 3:

| Zeit [min] | DEHP [$\mu\text{g/ml}$] | MEHP [$\mu\text{g/ml}$] |
|------------|---------------------------|---------------------------|
| 0 | 0,109 | nd |
| 30 | 0,246 | nd |
| 60 | 0,444 | nd |
| 90 | 0,804 | nd |

Patient 4:

| Zeit [min] | DEHP [$\mu\text{g/ml}$] | MEHP [$\mu\text{g/ml}$] |
|------------|---------------------------|---------------------------|
| 0 | 0,447 | 0,333 |
| 30 | 0,495 | 0,366 |
| 60 | 0,589 | 0,340 |
| 90 | 0,759 | 0,378 |

Patient 5:

| Zeit [min] | DEHP [$\mu\text{g/ml}$] | MEHP [$\mu\text{g/ml}$] |
|------------|---------------------------|---------------------------|
| 0 | 0,078 | 0,855 |
| 30 | 0,239 | 0,481 |
| 60 | 0,404 | 0,697 |
| 90 | 0,416 | 0,653 |

DEHP und MEHP in Plasma**Fortsetzung von Tab. 45 :**

DEHP- bzw. MEHP-Gehalte in Plasma von Patienten, die an eine Herz-Lungen-Maschine angeschlossen waren.

Patient 6:

| Zeit [min] | DEHP [$\mu\text{g/ml}$] | MEHP [$\mu\text{g/ml}$] |
|------------|---------------------------|---------------------------|
| 0 | 0,314 | 0,901 |
| 30 | 0,379 | 1,506 |
| 60 | 0,562 | 0,998 |
| 90 | 0,608 | 1,074 |

Patient 7:

| Zeit [min] | DEHP [$\mu\text{g/ml}$] | MEHP [$\mu\text{g/ml}$] |
|------------|---------------------------|---------------------------|
| 0 | 0,074 | 0,530 |
| 30 | 0,317 | 0,562 |
| 60 | 0,937 | 1,047 |
| 90 | 1,438 | 0,799 |

Patient 8:

| Zeit [min] | DEHP [$\mu\text{g/ml}$] | MEHP [$\mu\text{g/ml}$] |
|------------|---------------------------|---------------------------|
| 0 | 0,083 | 0,575 |
| 30 | 0,207 | 0,707 |
| 60 | 0,422 | 1,982 |
| 90 | 2,061 | 0,376 |

Patient 9:

| Zeit [min] | DEHP [$\mu\text{g/ml}$] | MEHP [$\mu\text{g/ml}$] |
|------------|---------------------------|---------------------------|
| 0 | 0,370 | nd |
| 30 | 0,434 | nd |
| 60 | 0,440 | nd |
| 90 | 0,478 | nd |

Patient 10:

| Zeit [min] | DEHP [$\mu\text{g/ml}$] | MEHP [$\mu\text{g/ml}$] |
|------------|---------------------------|---------------------------|
| 0 | 0,267 | 4,606 |
| 30 | 0,574 | 1,241 |
| 60 | 0,654 | 1,546 |
| 90 | 0,886 | 1,158 |

DEHP und MEHP in Plasma**Fortsetzung von Tab. 45 :**

DEHP- bzw. MEHP-Gehalte in Plasma von Patienten, die an eine Herz-Lungen-Maschine angeschlossen waren.

Patient 11:

| Zeit [min] | DEHP [$\mu\text{g/ml}$] | MEHP [$\mu\text{g/ml}$] |
|------------|---------------------------|---------------------------|
| 0 | 0,382 | 3,382 |
| 30 | 0,971 | 1,329 |
| 60 | 1,031 | 1,704 |
| 90 | 1,307 | 2,041 |

Patient 12:

| Zeit [min] | DEHP [$\mu\text{g/ml}$] | MEHP [$\mu\text{g/ml}$] |
|------------|---------------------------|---------------------------|
| 0 | 0,269 | nd |
| 30 | 0,385 | nd |
| 60 | 0,576 | nd |
| 90 | 0,523 | nd |

Patient 13:

| Zeit [min] | DEHP [$\mu\text{g/ml}$] | MEHP [$\mu\text{g/ml}$] |
|------------|---------------------------|---------------------------|
| 0 | 0,183 | nd |
| 30 | 0,421 | 0,281 |
| 60 | 0,539 | 0,287 |
| 90 | 0,627 | 0,334 |

Patient 14:

| Zeit [min] | DEHP [$\mu\text{g/ml}$] | MEHP [$\mu\text{g/ml}$] |
|------------|---------------------------|---------------------------|
| 0 | 0,180 | 1,670 |
| 30 | 0,205 | 0,292 |
| 60 | 0,354 | 0,194 |

Patient 15:

| Zeit [min] | DEHP [$\mu\text{g/ml}$] | MEHP [$\mu\text{g/ml}$] |
|------------|---------------------------|---------------------------|
| 0 | 0,221 | 0,542 |
| 30 | 0,287 | 1,552 |
| 60 | 0,440 | 0,646 |

Patient 16:

| Zeit [min] | DEHP [$\mu\text{g/ml}$] | MEHP [$\mu\text{g/ml}$] |
|------------|---------------------------|---------------------------|
| 0 | 0,224 | 0,634 |
| 30 | 1,110 | 0,823 |
| 60 | 0,848 | 0,797 |

DEHP und MEHP in Plasma**Fortsetzung von Tab. 45 :**

DEHP- bzw. MEHP-Gehalte in Plasma von Patienten, die an eine Herz-Lungen-Maschine angeschlossen waren.

Patient 17:

| Zeit [min] | DEHP [$\mu\text{g/ml}$] | MEHP [$\mu\text{g/ml}$] |
|------------|---------------------------|---------------------------|
| 0 | 0,346 | 0,259 |
| 30 | 0,380 | 0,249 |
| 60 | 0,438 | 0,312 |

Patient 18:

| Zeit [min] | DEHP [$\mu\text{g/ml}$] | MEHP [$\mu\text{g/ml}$] |
|------------|---------------------------|---------------------------|
| 0 | 0,170 | 0,166 |
| 30 | 0,370 | nd |
| 60 | 0,627 | nd |

Patient 19:

| Zeit [min] | DEHP [$\mu\text{g/ml}$] | MEHP [$\mu\text{g/ml}$] |
|------------|---------------------------|---------------------------|
| 0 | 0,253 | 1,033 |
| 30 | 0,514 | 0,607 |

Patient 20:

| Zeit [min] | DEHP [$\mu\text{g/ml}$] | MEHP [$\mu\text{g/ml}$] |
|------------|---------------------------|---------------------------|
| 0 | 0,301 | nd |
| 30 | 0,561 | nd |

Patient 21:

| Zeit [min] | DEHP [$\mu\text{g/ml}$] | MEHP [$\mu\text{g/ml}$] |
|------------|---------------------------|---------------------------|
| 0 | 0,290 | 0,295 |
| 30 | 0,610 | 0,308 |

Tab. 46 : Patienten, denen nur präoperativ Plasma abgenommen wurde

Patient 22-27:

| Patient | Zeit [min] | DEHP [$\mu\text{g/ml}$] | MEHP [$\mu\text{g/ml}$] |
|---------|------------|---------------------------|---------------------------|
| 22 | 0 | 0,139 | 0,252 |
| 23 | 0 | 0,134 | nd |
| 24 | 0 | 0,272 | nd |
| 25 | 0 | 0,169 | 0,242 |
| 26 | 0 | 0,163 | 0,341 |
| 27 | 0 | 0,193 | nd |

DEHP und MEHP in Plasma

Patienten an der Herz-Lungen-Maschine

x-Achse: Zeit [Minuten]

y-Achse: $\mu\text{g DEHP/ml Plasma}$ (blau) bzw. $\mu\text{g MEHP/ml Plasma}$ (rosa)

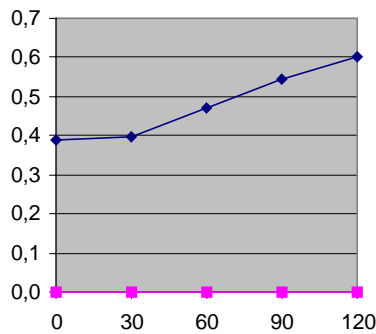


Abb. 29 : Patient 1

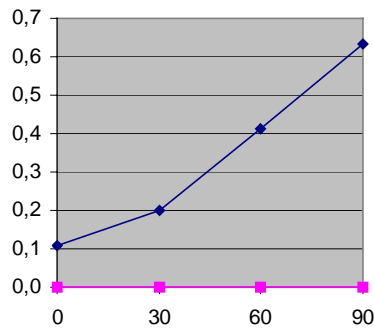


Abb. 30 : Patient 2

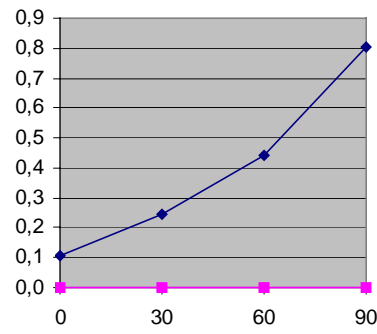


Abb. 31 : Patient 3

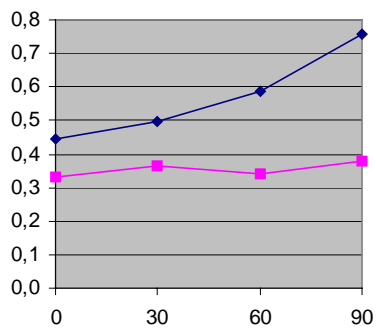


Abb. 32 : Patient 4

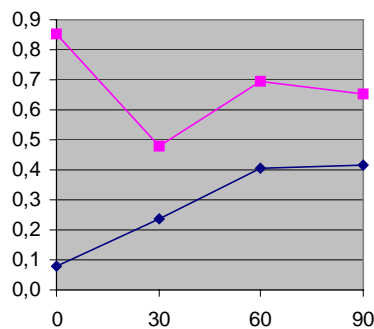


Abb. 33 : Patient 5

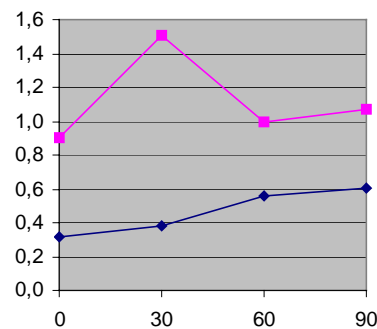


Abb. 34 : Patient 6

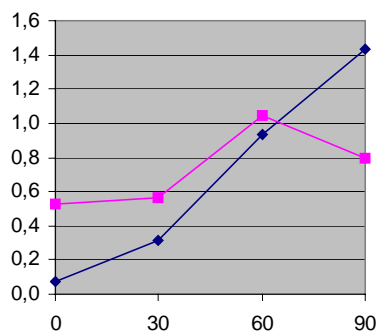


Abb. 35 : Patient 7

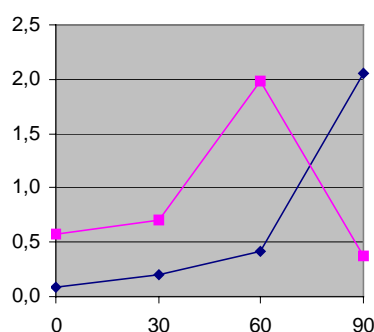


Abb. 36 : Patient 8

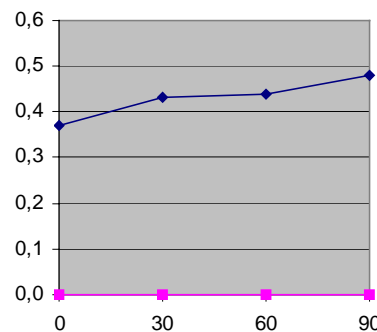


Abb. 37 : Patient 9

DEHP und MEHP in Plasma (Fortsetzung)

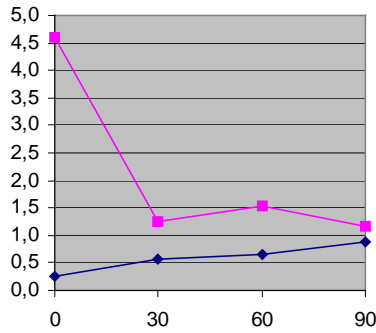


Abb. 38 : Patient 10

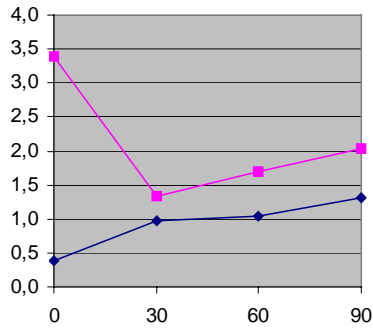


Abb. 39 : Patient 11

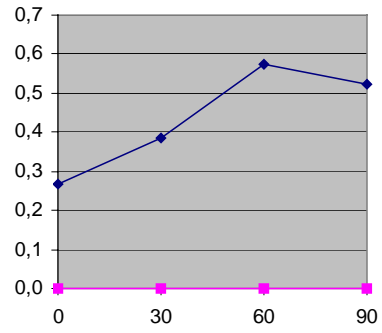


Abb. 40 : Patient 12

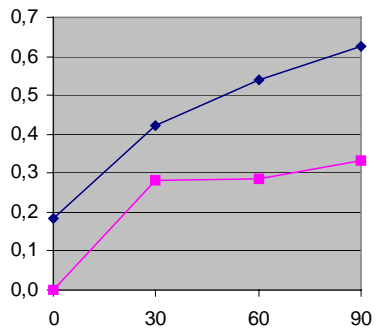


Abb. 41 : Patient 13

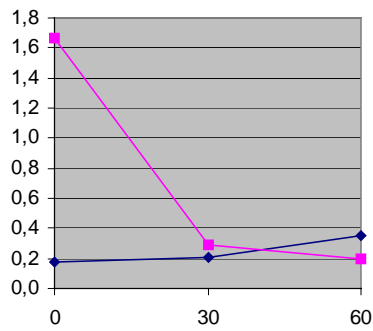


Abb. 42 : Patient 14

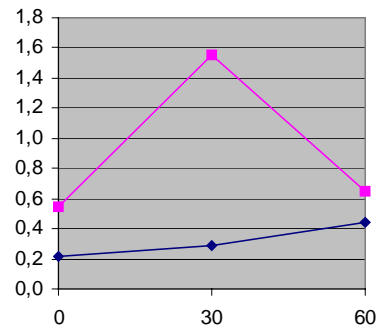


Abb. 43 : Patient 15

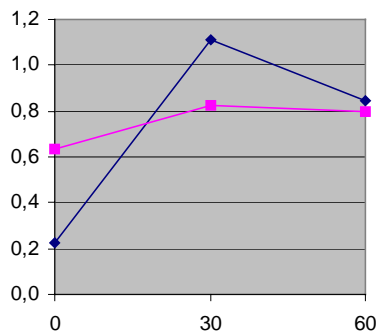


Abb. 44 : Patient 16

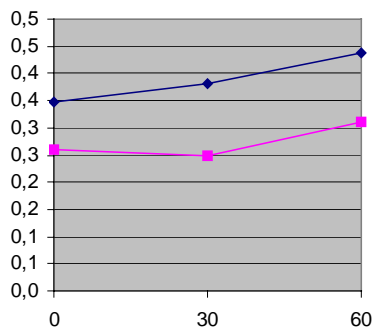


Abb. 45 : Patient 17

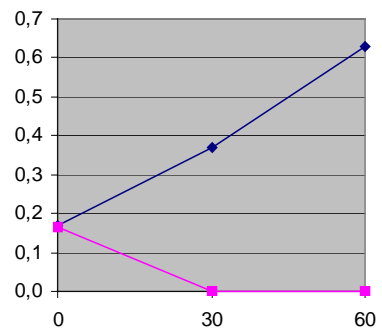


Abb. 46 : Patient 18

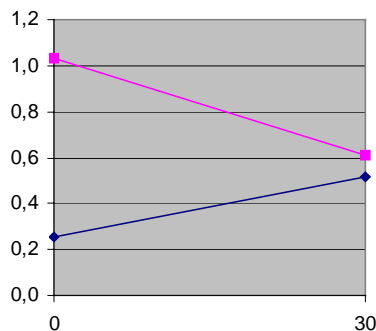


Abb. 47 : Patient 19

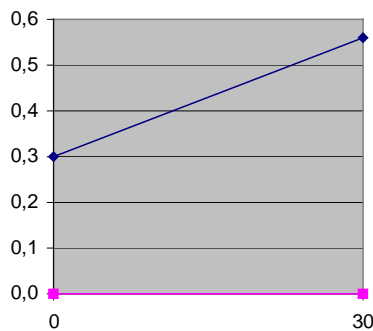


Abb. 48 : Patient 20

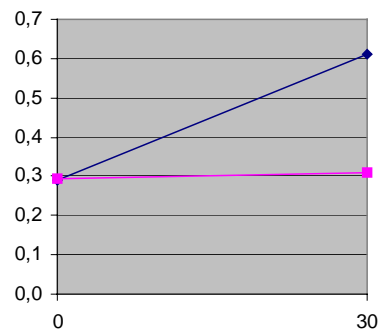


Abb. 49 : Patient 21

DEHP und MEHP in Plasma**Tab.47 :DEHP-Gehalt in Plasma gesunder Probanden und Probanden mit Vitien**

| <u>Gesunde Probanden</u> | | <u>Probanden mit Vitien</u> | |
|---------------------------------|--|------------------------------------|--|
| <u>Probanden</u> | <u>DEHP [$\mu\text{g/ml}$]</u> | <u>Probanden</u> | <u>DEHP [$\mu\text{g/ml}$]</u> |
| 1 | 0,053 | 1 | nd |
| 2 | nd | 2 | 0,021 |
| 3 | 0,01 | 3 | nd |
| 4 | nd | 4 | 0,108 |
| 5 | 0,016 | 5 | nd |
| 6 | nd | 6 | 0,040 |
| 7 | nd | 7 | 0,087 |
| 8 | 0,078 | 8 | nd |
| 9 | 0,005 | 9 | 0,033 |
| 10 | 0,043 | 10 | nd |
| 11 | 0,033 | 11 | 0,093 |
| 12 | nd | 12 | 0,182 |
| 13 | nd | 13 | 0,206 |
| 14 | nd | 14 | 0,067 |
| 15 | 0,014 | 15 | 0,191 |
| 16 | nd | 16 | 0,060 |
| 17 | 0,07 | 17 | 0,090 |
| | | 18 | 0,054 |
| | | 19 | 0,092 |
| | | 20 | 0,071 |
| | | 21 | 0,008 |
| | | 22 | 0,094 |
| | | 23 | 0,004 |
| | | 24 | 0,003 |
| Mittelwert | 0,019 $\mu\text{g/ml}$ | Mittelwert | 0,063 $\mu\text{g/ml}$ |
| Median | 0,005 $\mu\text{g/ml}$ | Median | 0,057 $\mu\text{g/ml}$ |

MEHP konnte bei keinem der Probanden detektiert werden.

DEHP und MEHP in Salzlösungen**Herz-Lungen-Maschinen-Schläuche****Tab. 48 : DEHP-Migration aus Herz-Lungen-Maschinen-Schläuchen****Schlauch A**

| <u>Zeit [min]</u> | <u>DEHP [$\mu\text{g/ml}$]</u> |
|--------------------------|--|
| 0 | 0,001 |
| 5 | 0,004 |
| 30 | 0,055 |
| 60 | 0,094 |
| 90 | 0,121 |
| 120 | 0,130 |
| 180 | 0,112 |

Schlauch B

| <u>Zeit [min]</u> | <u>DEHP [$\mu\text{g/ml}$]</u> |
|--------------------------|--|
| 0 | 0,003 |
| 5 | 0,012 |
| 30 | 0,035 |
| 60 | 0,031 |
| 90 | 0,079 |
| 120 | 0,119 |
| 180 | 0,120 |

Schlauch C

| <u>Zeit [min]</u> | <u>DEHP [$\mu\text{g/ml}$]</u> |
|--------------------------|--|
| 0 | 0 |
| 10 | 0,006 |
| 30 | 0,013 |
| 60 | 0,030 |
| 90 | 0,061 |
| 120 | 0,131 |
| 220 | 0,170 |

B-VI. Diskussion

1. Allgemein

Bei den Untersuchungen von Plasmaproben auf den Weichmacher DEHP bzw. dessen Metabolisierungsprodukt MEHP, das durch enzymatische Umsetzung entsteht, stand zuerst die Entwicklung einer geeigneten Analysenmethode im Vordergrund. Da Blut eine relativ unspezifische, individuell unterschiedliche und eher störende Matrix darstellt, mußte eine Analysenmethode gefunden werden, die neben den vorausgesetzten Eigenschaften, wie guter Wiederfindung, Reproduzierbarkeit usw. vor allem folgenden Anforderungen entsprechen sollte:

Aufarbeitung:

- Die Aufarbeitung sollte relativ einfach sein und nicht allzu viel Zeit in Anspruch nehmen, da eine große Anzahl von Proben in relativ kurzer Zeit gemessen werden sollte.

Analytik:

- Sie sollte spezifisch genug sein, um die Peaks der Analyten von den Störpeaks der Plasmamatrix zu trennen.
- Die Empfindlichkeit sollte groß genug sein, um die recht geringen Konzentrationsänderungen zwischen den verschiedenen Zeitpunkten der Blutabnahme nachweisen zu können.
- Sie sollte eine geringe Nachweisgrenze besitzen, da nicht genau bekannt war, in welchen Konzentrationen die Analyten im Blut zu finden sein würden, aber davon ausgegangen werden konnte, daß die Größenordnungen sich im einstelligen ppm-Bereich ($\mu\text{g/g}$) befinden würden.
- Sie sollte ebenfalls relativ rasch sein (geringe Retentionszeiten), zum einen aus oben genannten zeitlichen Gründen, zum anderen, da vor allem MEHP unter Lichteinwirkung nicht unbeschränkt stabil ist.

Nach Vergleich zahlreicher Möglichkeiten fiel die Entscheidung in der Frage nach der Analytik auf High-Performance-Liquid-Chromatography (HPLC).

Für die Aufarbeitung von Blut- und Plasmaproben und die Extraktion von DEHP bzw. MEHP sind in der Literatur ebenfalls etliche Möglichkeiten bekannt [67,68,69,70,71,72,73,74,75].

Aus ökonomischen und logistischen Gründen wurde schlußendlich sowohl für DEHP als auch für MEHP dieselbe Methode gewählt und zwar die Extraktion mit einer Mischung aus Acetonitril und NaOH, wobei letzteres der vollständigen Proteinfällung dienen sollte. Eine andere Methode mit einer Diethyl-Methanol-Mischung und Phosphorsäure als Extraktionsmittel hätte zwar etwas bessere Wiederfindungswerte geliefert, wurde aber aus besagten Gründen verworfen [67].

Für die Aufarbeitung und die Analysen der Salzlösungen wurde ebenfalls dieselbe Methode verwendet.

Die Wahl der internen Standards fiel wie beschrieben auf DnHP bei der Untersuchung von DEHP und auf DEP bei der Messung der MEHP-Konzentration. Diese im zweiten Fall nicht ideale Lösung, konnte nicht vermieden werden, da kein Monoester der Phthalsäure mit einer brauchbaren Retentionszeit im Handel erhältlich war oder synthetisiert werden konnte.

Beide Analyten, DEHP und MEHP gemeinsam, konnten nicht parallel in ein und demselben Ansatz untersucht werden, da deren saubere chromatographische Trennung von den Matrixpeaks unterschiedliche Laufmittel erforderlich machte.

Um die Methode auf ihre Qualität zu überprüfen, wurden vorab einige grundlegende Analysen durchgeführt. Für diese Untersuchungen wurde mit gepooltes Blut gesunder Probanden verwendet (Der Grund dafür wurde bereits eingehend in Kap B-VI.4. erörtert).

2. Analytik

Die Peaks von DEHP und des internen Standards DnHP waren sauber sowohl voneinander, als auch von den störenden Peaks der Blutmatrix, die zu Beginn eluiert wurden, getrennt und konnten problemlos integriert werden.

Folgendes Bild zeigt ein typisches Beispiel einer Messung von DEHP in Plasma:

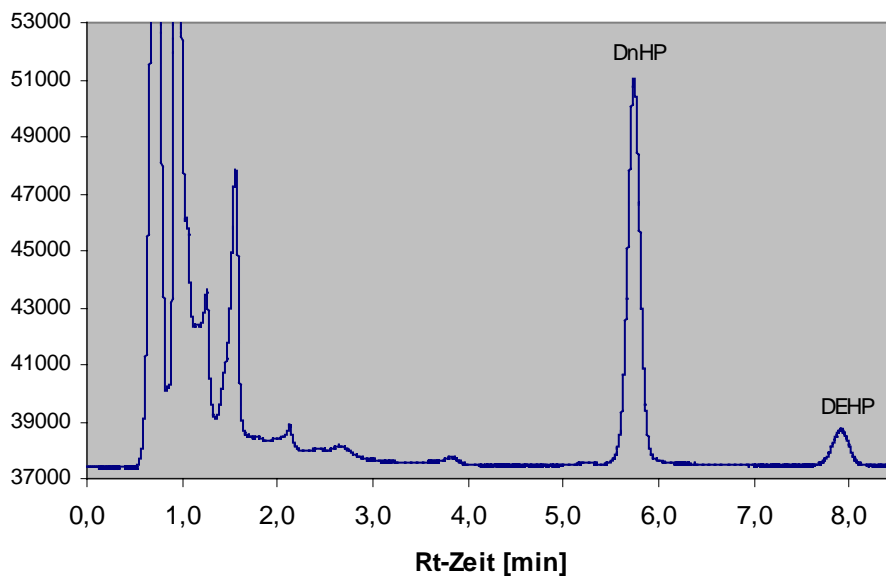


Abb. 50 : HPLC-Chromatogramm: **DEHP in Plasma**

Bei der Messung der Eichgeraden für MEHP stellte sich die Situation ein wenig anders dar: Zwar waren die Peaks von MEHP und dem internen Standard DEP meist gut untereinander getrennt, doch traten immer wieder teils überlagernde Störpeaks auf, die eine exakte Flächenbestimmung der Substanzpeaks erschwerte. Auch war der Peak von MEHP etwas breiter als der von DEHP und hatte eine leichte Tendenz zum Leading, was vor allem bei geringen Konzentrationen bei deren Auswertung erschwerend hinzukam.

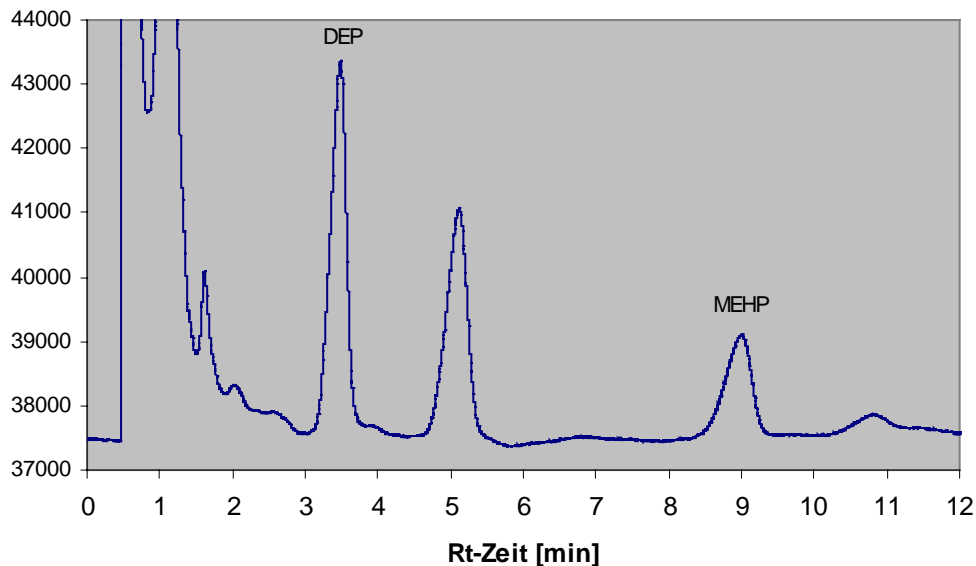


Abb. 51 : HPLC-Chromatogramm: MEHP in Plasma

2.1. Eichgeraden

Die Eichgeraden für DEHP, die durch Spiken mit entsprechenden Mengen an Analyten bzw. internem Standard hergestellt wurden, lieferten bei linearer Regression die besten Ergebnisse. Der Korrelationskoeffizient lag bei $R^2 = 0,999$. Es wurden zwei parallele Messungen durchgeführt.

Die Eichgeraden von MEHP waren auf Grund oben erwähnter Schwierigkeiten qualitativ nicht gleichwertig. Daher lag der Korrelationskoeffizient für die lineare Ausgleichsgerade nur bei $R^2 = 0,995$.

Diagramme zu den Eichgeraden finden sich bei den Ergebnissen [Tab. 44, Abb. 26,27,28].

2.2. Präzision

Die Präzision der jeweiligen Messungen wurde durch aufeinanderfolgende Messungen ein und derselben Probe erhalten. Auch dieser Wert ist aus oben genannten Gründen bei der MEHP-Analytik deutlich geringer als bei den DEHP-Untersuchungen.

Der Grund der schlechteren Präzision bei den Messungen in Salzlösung ist der, daß hier nur sehr geringe Mengen zu detektieren waren und ein dementsprechend größerer Fehler bei der Integration der Peaks einkalkuliert werden mußte [Tab.44].

2.3. Wiederfindung

Obwohl nicht unbedingt erforderlich, da durch die Verwendung von gepooltem Blut für die Eichgeraden ohnehin schon die möglichen Verluste eingerechnet waren, wurden zur qualitativen Überprüfung der Methode trotzdem Versuche zur absoluten Wiederfindung gemacht.

Es wurde nach beschriebenem Schema vorgegangen und die Resultate waren mit 90% für DEHP bzw. 78% für MEHP den Erwartungen entsprechend akzeptabel [Tab. 44].

2.4. Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze war relativ gering und lag bei etwa 10ng/ml Plasma (absolut:~0,6ng) bei der Detektion von DEHP. Dieser Wert ist bei der Analyse von Blutproben wegen der Ubiquität von DEHP jedoch nicht besonders aussagekräftig und ist natürlich auch von Matrixeffekten abhängig. Trotzdem konnten Werte in diesen Größenordnungen bei guten Voraussetzungen und wenig Interferenzen problemlos gemessen und quantifiziert werden.

Bei MEHP lag die Nachweisgrenze durch die breiteren Peaks erwartungsgemäß höher und es konnten nur mehr Konzentrationen von ca. 150 ng/ml Plasma (absolut: ~13ng) detektiert werden [Tab. 44].

3. DEHP bzw. MEHP-Gehalte im Plasma

3.1. Patienten an der Herz-Lungen-Maschine

Alle 30 Minuten wurde Patienten, die im Zuge einer Operation an eine Herz-Lungen-Maschine angeschlossen waren, Blut abgenommen und untersucht.

Die Resultate sind anschaulich aus den Tabellen 45 und 46 und den zugehörigen Diagrammen [Abb. 29-49] im Ergebnisteil zu ersehen.

Bei der Plasma-DEHP-Konzentration ließ sich ein eindeutiger Anstieg mit fortschreitender Zeit der Operation feststellen. Die Werte lagen in der Mehrheit der Fälle zwischen 0,1 und 1 µg/ml, was den Erwartungen entsprach und durch vergleichbare Untersuchungen mit Dialyse-Apparaten bestätigt wird.

Zwei Beispiele sollen nun den Anstieg von DEHP mit der Zeit illustrieren [Abb.52-55]:

Dieses Bild zeigt das gesamte Chromatogramm. Während der ersten Minuten wurden die Störpeaks der Blutmatrix eluiert, dann folgten der interne Standard DnHP und schließlich die Analytsubstanz DEHP. Die Abnahmezeiten sind in verschiedenen Farben dargestellt.

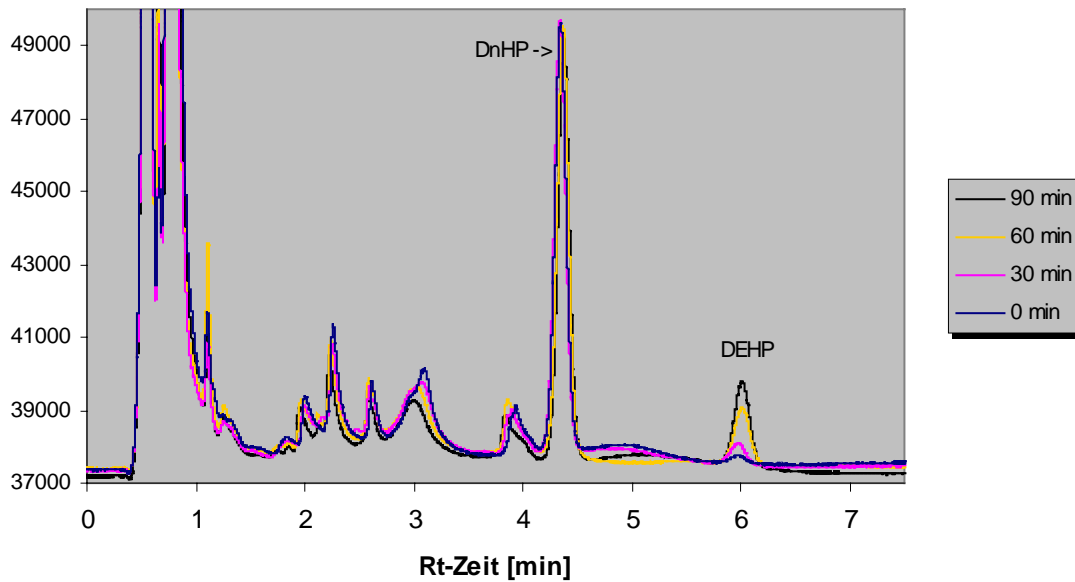


Abb. 52 : DEHP in Plasma von HLM-Patient

Dieses Bild zeigt eine Ausschnittsvergrößerung der Substanzpeaks.

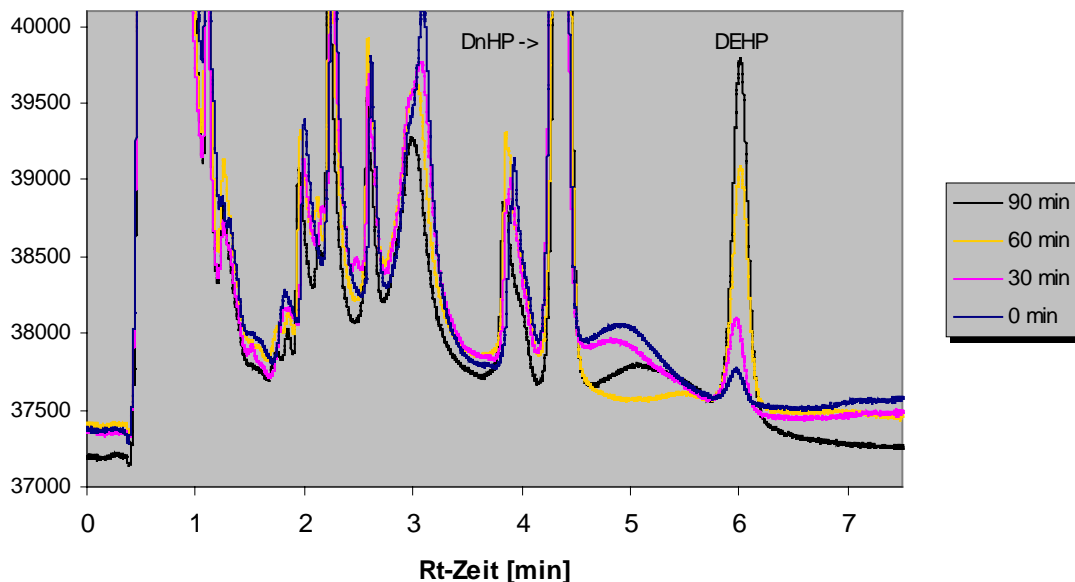


Abb. 53 : Ausschnittsvergrößerung von Abb.52

Auch in diesem Beispiel ist der Anstieg klar ersichtlich. Die im Vergleich zu den vorhergehenden Chromatogrammen unterschiedlichen Retentionszeiten, sind auf leicht veränderte Flußraten zurückzuführen. Auch sind hier deutlich die Unterschiede in der Blutmatrix zu erkennen (weit weniger störende Peaks vor dem internen Standard).

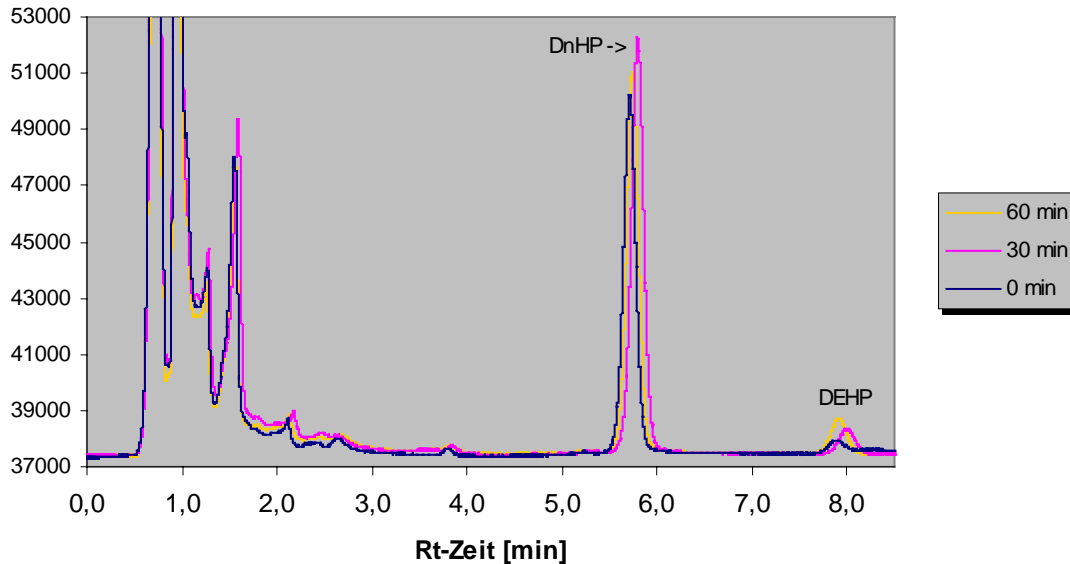


Abb. 54 : DEHP in Plasma von HLM-Patient

Hier wieder die zugehörige Ausschnittsvergrößerung im Bereich der Substanzpeaks.

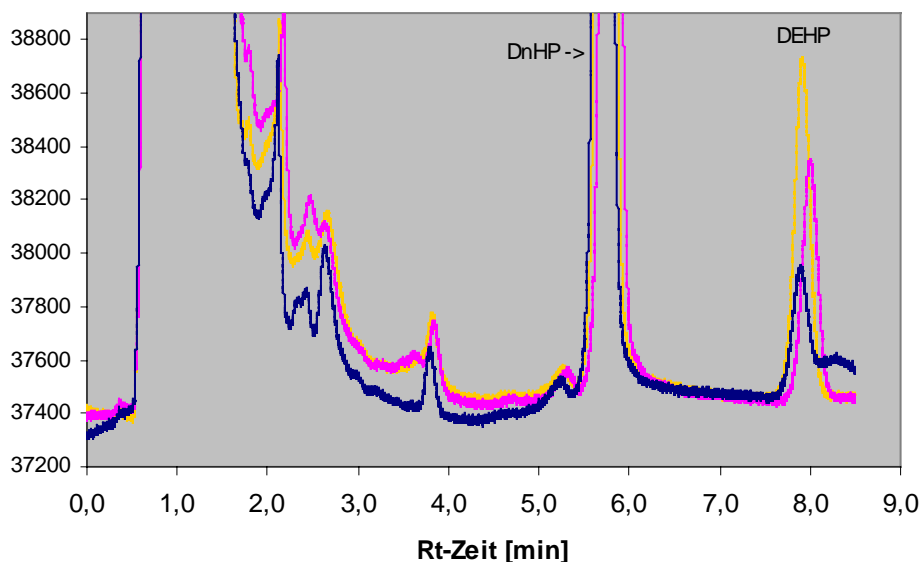


Abb. 55 : Ausschnittsvergrößerung von Abb. 54

Bei den Plasma-MEHP-Konzentrationen konnte bei keinem der Patienten ein aussagekräftiger Gang festgestellt werden. Die Werte variierten stark (zwischen nicht detektierbar und $\sim 2 \mu\text{g/ml}$ Plasma) und ließen keinerlei Regelmäßigkeiten erkennen [Tab. 45,46 bzw. Abb. 29-49].

Da die Analytik für MEHP nicht für derart große Schwankungen verantwortlich ist und auch bei der Probenvorbereitung alle Proben auf gleiche Weise behandelt wurden, sind die sich hier ergebenden Variationen aller Wahrscheinlichkeit nach in der individuellen Distribution und dem Metabolismus im Körper der Patienten zu suchen.

3.2. Gesunde Probanden

Im Blut gesunder freiwilliger Spender konnte in ca. 50 % der Fälle kein DEHP nachgewiesen werden und die Mengen bei den positiven Proben bewegten sich im Bereich von unter $0,1 \mu\text{g/ml}$ Plasma [Tab. 47].

MEHP konnte in keiner Probe detektiert werden.

3.3. Probanden mit Vitien

Hier konnte zwar auch in ca. 20% der Fälle kein DEHP gefunden werden, doch in den übrigen wurden Mengen bis zu $0,2 \mu\text{g/ml}$ Plasma nachgewiesen [Tab. 47].

Auch hier wurde in keiner Probe MEHP gemessen.

3.4. Vergleich der Personengruppen

Ein zusammenfassender Vergleich zwischen den mittleren DEHP-Gehalten im Blut gesunder Probanden, Probanden mit Vitien und den mittleren DEHP-Konzentrationen, die bei den Herz-Lungen-Maschine(HLM)-Patienten bei 0 Minuten (präoperativ) bzw. nach Abschluß der Operation (postoperativ), unabhängig davon, wie lange sie an der Herz-Lungen-Maschine angeschlossen waren, gemessen wurden, ließ große Unterschiede zwischen den vier Gruppen erkennen.

Tab. 49 : Vergleich der DEHP-Gehalte in Plasmaproben

| [µg/ml] | Gesunde Probanden | Probanden mit Vitien | HLM-Patienten (präoperativ) | HLM-Patienten (postoperativ) |
|-------------|-------------------|----------------------|-----------------------------|------------------------------|
| Mittelwerte | 0,019 | 0,063 | 0,227 | 0,740 |
| Mediane | 0,005 | 0,057 | 0,221 | 0,610 |

Um ein „robusteres“ Maß für die mittleren Werte zu erhalten, wurden die Mediane zur Auswertung verwendet und im nachfolgenden Diagramm auch die daraus berechneten oberen und unteren Quartile dargestellt.

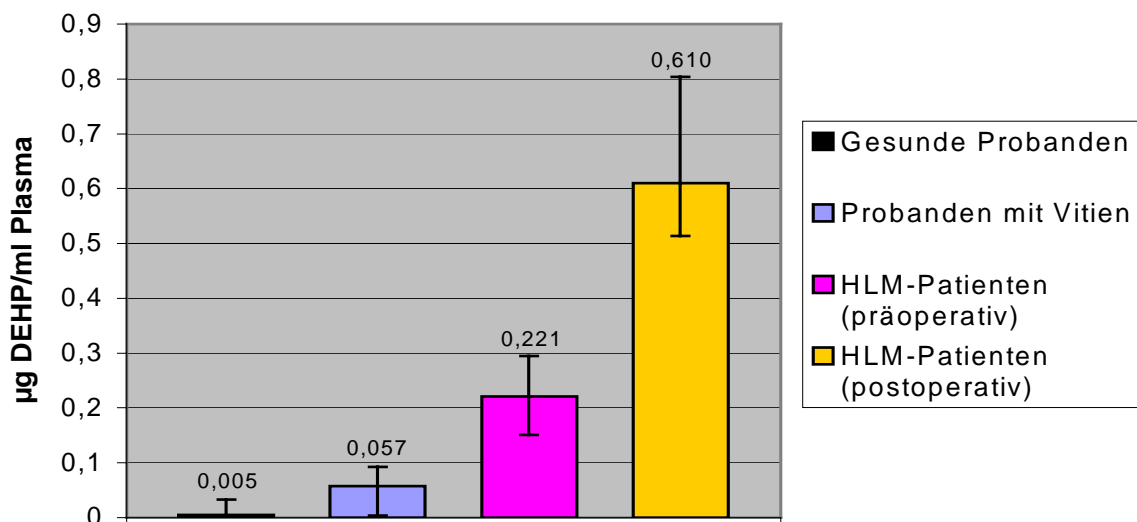


Abb. 56 : Vergleich der mittleren DEHP-Gehalte im Plasma verschiedener Personengruppen

Deutlich zu erkennen war der signifikante Unterschied der Plasma-DEHP-Konzentrationen zwischen präoperativen und postoperativen Herz-Lungen-Maschine-Patienten.

So waren die DEHP-Konzentrationen, die bei den Patienten nach der Operation gemessen wurden durchschnittlich um das 3-fache gegenüber den präoperativen Vergleichen erhöht. Eine noch dramatischere Steigerung um mehr als das 100-fache war im Vergleich zu völlig gesunden Probanden zu erkennen.

Weiters war auch festzustellen, daß bereits die Werte von Patienten kurz vor einer Operation stark erhöht gegenüber den Werten von gesunden Personen waren.

Das heißt, daß die meisten Patienten schon im Vorfeld eines Eingriffs mit DEHP in Kontakt kommen, etwa über die Nahrung oder via Infusionen.

Betrachtet man die Plasma-DEHP-Konzentrationen von Patienten mit Herzfehlern (Vitien) so nahmen diese eine Mittelstellung zwischen gesunden Personen und präoperativen Patienten ein, mit einer 10-fachen Steigerung gegenüber den gesunden Personen.

Einen möglichen Zusammenhang hierbei zu erforschen sollte die Aufgabe von weiteren Untersuchungen sein .

4. Untersuchung der Salzlösungen

Von 4 Herz-Lungen-Maschinen-Schlauchsystemen war der DEHP-Gehalt, nach teilweise fast vierstündiger Zirkulation einer isotonischen Salzlösung, gemessen worden. Auch hier war in bestimmten Zeitabständen Lösung abgenommen und analysiert worden.

Die Ergebnisse zeigten auch hier, wie zu erwarten war, eine zeitliche Steigerung der DEHP-Konzentration [Tab. 48].

Die Meßwerte bewegten sich in diesen Fall nahe der Bestimmungsgrenze. Daher sind vor allem im niedrigen Konzentrationsbereich die Ungenauigkeiten zu erklären.

Bei der Analyse des 4. Schlauches konnte in keiner Probe DEHP nachgewiesen werden. Ein möglicher Grund dafür könnte ein anderes Schlauchmaterial sein.

Das folgende Diagramm illustriert die Zusammenhänge:

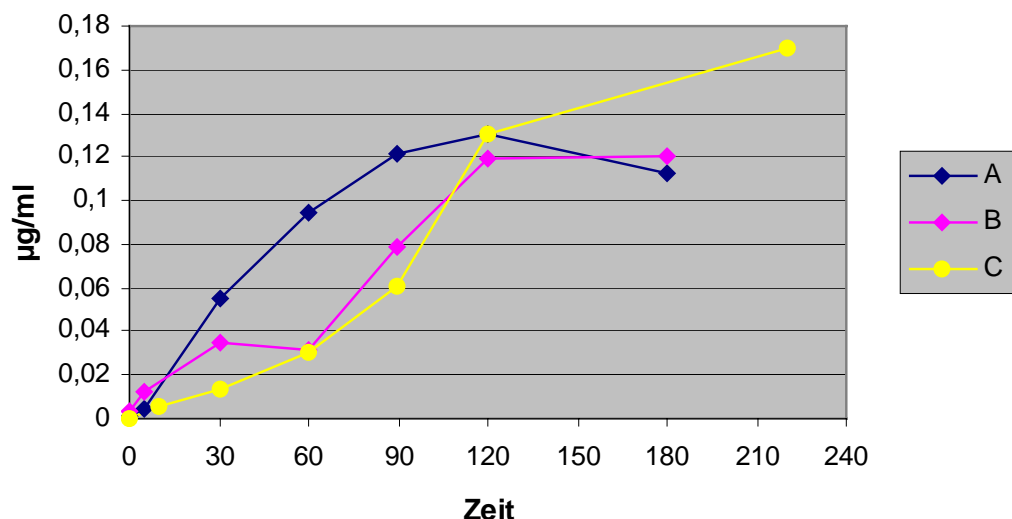


Abb. 57 : Abhängigkeit des DEHP-Gehaltes von der Zeit bei Salzlösungen

5. Risikoabschätzung

Auch hier soll wiederum eine Risikoabschätzung Richtwerte über die in den menschlichen Körper während einer Operation abgegebene Menge an DEHP liefern und somit Aufschluß über damit verbundene potentielle Gefahren geben.

Der TDI-Werte des besagten Weichmachers liegt bei:

$$\text{TDI-Wert}_{\text{DEHP}} = 37 \mu\text{g/kg KG/Tag}$$

In diesem Fall wird folgendes Szenario vorgeschlagen:

Ein Erwachsener (60kg Körpergewicht, 5 L Blut (50% Plasma) und ein Kind (8kg Körpergewicht, 0,7 L Blut) werden im Zuge einer Operation für **1 Stunde** an eine Herz-Lungen-Maschine, deren blutführende Schläuche aus Weich-PVC bestehen, angeschlossen.

Für diese Überlegung wurden die durch die Analysen der Plasmaproben erhaltenen Migrationswerte herangezogen und zwar wurde die durchschnittliche bzw. maximale Erhöhung der DEHP-Konzentration in Plasma pro Stunde aus den Differenzen zum präoperativen Wert errechnet. Diese Mengen werden abschließend mit dem TDI-Wert verglichen.

Da nur Plasmaproben von erwachsenen Versuchspersonen untersucht wurden, kann eine genaue Konzentrationsangabe für ein Kind nicht angegeben werden. Es wird jedoch davon ausgegangen, daß die Gesamtmenge des in den Körper aufgenommenen Weichmachers gleich groß wie beim Erwachsenen ist, da eine Sättigung bei diesen Konzentrationen noch nicht eintritt.

Folgende Tabelle stellt die Situation für die Exposition von DEHP für diesen Fall dar:

Tab. 50 : Risikoabschätzung für die Herz-Lungen-Maschine (DEHP)

| Patient | Erhöhung pro Stunde [$\mu\text{g DEHP/ml}$ Plasma/Stunde] | | Aufnahmemenge nach einstündiger Operation [$\mu\text{g DEHP/kg KG/Tag}$] | | % des TDI-Wertes | |
|--------------------|--|--------|--|--------|------------------|--------------|
| | Ø | Extrem | Ø | Extrem | Ø | Extrem |
| Erwachsener | 0,290 | 0,990 | 12 | 41 | 32 % | 111 % |
| Kind | x | x | 91 | 309 | 246 % | 835 % |

Diese Zahlen machen deutlich, daß im Zuge einer Operation, bei der der Patient an eine Herz-Lungen-Maschine angeschlossen werden muß, innerhalb von einer Stunde DEHP in Mengen, die im Bereich des TDI-Wertes beziehungsweise weit darüber liegen, in den Körper gelangen können.

Das Problem wird hier im Gegensatz zu den Lutsch- und Kauversuchen noch dadurch verschärft, daß es in diesem Fall einen ohnehin bereits schon geschwächten Patienten betrifft, der sich darüber hinaus noch in der Situation einer Operation am offenen Herzen befindet.

Weiters ist gerade bei solchen Patienten die Aufnahme von DEHP aus anderen Quellen, wie Infusionen u.ä., im Vorfeld des Eingriffs zu berücksichtigen. So beträgt die durchschnittliche Aufnahme von DEHP aus der Umwelt ca. 0,27 mg/Tag und kann bei Aufnahme von kontaminierter Nahrung bis auf 0,5-2 mg/Tag steigen [34,76].

Daraus läßt sich schließen, daß derart hohe Werte den Betroffenen teilweise über Tage oder Wochen belasten können und diese Situation stellt sich gerade bei Kindern oder geschwächten Personen als sehr bedenklich dar [52].

In Anbetracht dieser Ergebnisse sollte eventuell in verstärktem Maße über mögliche Alternativen bei der Wahl der Kunststoffe für Medizinartikel bzw. der eingesetzten Weichmacher nachgedacht werden. Näheres dazu findet sich im Kapitel I.5.

VII. Zusammenfassung

Die in Zusammenarbeit mit dem Verbraucherrat des Österreichischen Normungsinstitutes (ÖNORM) durchgeführten Untersuchungen der beiden Weichmacher Di(2-ethylhexyl)adipat (DEHA) und Acetyltributylcitrat (ATBC) brachten die Erkenntnis, daß sich diese hinsichtlich ihres Migrationsverhaltens nur unwesentlich voneinander bzw. von anderen in vorangegangenen Studien untersuchten Weichmachern wie zum Beispiel Di(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP) oder Diisononylphthalat (DINP) unterscheiden.

Es zeigte sich beispielsweise, daß die Mengen der aus den diversen analysierten PVC-Materialien ausgewanderten Weichmacher alle in der selben Größenordnung lagen und auch die charakteristische Veränderung der Migration bei Variation der Versuchsparameter war im Bereich der Erwartungen.

Dank der Ergebnisse der in-vivo Lutsch- und Kauversuche, die mit den aus den Simulationen erhaltenen Migrationswerten hervorragend korrelierten, war eine Grundvoraussetzung für die Realitätsnähe und die Aussagekraft der ermittelten Daten gegeben.

Beim Versuch eine validierte Standard-Analysenmethode für die Freisetzung von DEHA bzw. ATBC aus Weich-PVC-Artikeln zu entwickeln, konnten bei den Versuchen, die direkt im Scheidetrichter ohne vorangehenden Extraktionsvorgang durchgeführt wurden, die vom Europäischen Normungsinstitut (CEN) aufgestellten Kriterien für die statistische Absicherung der Daten durchwegs erfüllt werden.

Bei den zusätzlich durchgeführten Validierungen im Schüttelwasserbad gemeinsam mit einem den gegenläufigen Standard enthaltenden PVC-Stück, konnten die Anforderungen vor allem in puncto Genauigkeit und bei ATBC auch in Hinblick auf die Wiederfindung teilweise nicht eingehalten werden.

Diese Ergebnisse dienten als Grundlage für einen derzeit laufenden europaweiten Ringversuch mit dem Ziel eine validierte Methode zur Analyse der Migration für alle wichtigen Weichmachergruppen zu erstellen.

Ein weiterer Schwerpunkt dieser Arbeit waren die in Zusammenarbeit mit dem Allgemeinen Krankenhaus Wien durchgeführte Analyse von Plasmaproben von Patienten, die während einer Operation an einer Herz-Lungen-Maschine angeschlossen waren. Das Plasma wurde auf den Gehalt von DEHP bzw. dessen enzymatischen Metaboliten MEHP untersucht und die Werte mit gesunden Probanden und Patienten mit angeborenen Herzfehlern verglichen.

Bei den Messungen zeigte sich ein eindeutiger Anstieg des Plasma-DEHP-Gehaltes mit fortschreitender Dauer der Operation, resultierend in einer signifikanten Erhöhung der postoperativen DEHP-Konzentration im Vergleich zu gesunden Probanden und Patienten kurz vor einer Operation.

Diese Werte wurden durch eine Migrationsuntersuchung der Schlauchsysteme mit isotonischer Salzlösung noch bestätigt, da auch hier ein Anstieg mit der Zeit festzustellen war.

Weiters war zu erkennen, daß die Absolutkonzentration von DEHP im Plasma von Patienten vor dem Anschluß an eine Herz-Lungen-Maschine (präoperativer Wert) fast vier mal größer als bei Patienten mit Herzfehlern und über vierzig mal größer als bei gesunden Probanden war.

Diese Ergebnisse sind insbesondere unter Berücksichtigung der Risikoabschätzung relevant, die zeigt, daß auf diese Weise in kurzer Zeit große Mengen DEHP in den Körper gelangen können und so vor allem bei Kleinkindern der TDI-Wert bei weitem überstiegen werden kann.

Die Analysen des enzymatischen Metaboliten MEHP brachten weniger aufschlußreiche Ergebnisse. Zwar konnte MEHP in den meisten Plasmaproben nachgewiesen werden, doch ließen sich hier keinerlei systematische Zusammenhänge erkennen.

In Hinblick auf die Wichtigkeit dieser Untersuchungen wird an dieser Thematik in Zukunft sicher noch weiter geforscht werden müssen.

Die zukünftige Entwicklung auf dem Gebiet der Weichmacher wird stark von den ökologischen und toxikologischen Anforderungen an die Kunststoffe beeinflußt werden. Schwerflüchtige und wenig migrierende Substanzen werden voraussichtlich in den Vordergrund rücken. Auch Polyesterweichmacher werden sowohl im Lebensmittelverpackungs- als auch im medizinischen Bereich und im Bereich der Gebrauchsgegenstände an Bedeutung gewinnen.

Neben der Suche nach Alternativen im Weichmacherssektor (vor allem auf Kosten der Phthalate) wird auch die Suche nach Alternativen auf dem Kunststoffmarkt fortschreiten und insbesondere PVC wird seine bisherige Position wahrscheinlich nicht behaupten können.

Allerdings darf beim Streben nach Innovationen nicht vergessen werden, daß neue Produkte auch neue Gefahren in sich bergen und teilweise noch völlig unzulänglich untersucht sind. Demzufolge sollte nicht vorschnell und unbegründet auf Substanzen zugegriffen werden, die zwar neu sind, von denen jedoch noch keine für eine umfassende toxikologische Beurteilung ausreichenden Gutachten erstellt worden sind, die einen unbedenklichen Einsatz rechtfertigen würden.

VIII. Literaturverzeichnis

1. Steiner I., L. Scharf, F. Fiala and J. Washüttl: Migration of Di-(2-ethylhexyl)phthalate from PVC Child Articles into Saliva and Saliva Simulant. *Food Additives and Contaminants* **15**, 812-817 (1998)
2. Fiala F., I. Steiner and K. Kubesch: Migration of Di-(2-ethylhexyl)phthalate and Diisononyl Phthalate (DINP) from PVC Articles. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* **96**, 51-57 (2000)
3. o.V.: Projected World PVC Growth – PVC World Consumption 1990-2005, <http://a520.g.akamai.net/7/520/1533/a8b7ac2ebe8d88/www.greenpeace.org/~toxics/pics/pvcb/pvcconsumption.jpg>, 12. Nov. 2001
4. Domininghaus, H.: *Die Kunststoffe und Ihre Eigenschaften*, 5.Auflage, Springer-Verlag, Berlin u.a. (1998)
5. Pohle, H.: *PVC und Umwelt - Eine Bestandsaufnahme*, Springer-Verlag, Berlin u.a. (1997)
6. Beyer, H., Walter W.: *Lehrbuch der Organischen Chemie*, 22. Auflage, S. Hirzel Verlag, Stuttgart (1991)
7. Falbe J., M. Regitz [Hrsg.]: *CD Römpp Lexikon, Chemie*, Version 1.0, 9.Auflage auf CD-ROM, Thieme Verlag, Stuttgart, New York (1995)
8. Steiner, I.: *Vorlesungsskriptum – Verpackungsmaterialien für Lebensmittel*; Eigenverlag, 25 (1999)
9. Felger, H.K. [Hrsg.]: *Kunststoffhandbuch*, Bd. 2: Polyvinylchlorid, Hanser Verlag, München, Wien (1986)
10. European Union Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment (CSTEE): *Opinion on the Toxicological Characteristics and Risks of Certain Citrates and Adipates Used as a Substitute for Phthalates as Plasticisers in Certain Soft PVC Products. Opinion expressed at the 11th CSTEE Plenary Meeting*, September (1999)
11. o.V.: Di(2-ethylhexyl)adipate. *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks of Chemicals to Humans* **29**, 257-267 (1982)
12. o.V.: *Plasticizer Migration in Foods. Food and Chemical Toxicology* **29**, 139-142 (1991)
13. Loftus N.J., B.H. Woollen, G.T. Steel, M.F. Wilks and L. Castle: *An Assessment of the Dietary Uptake of Di-2-(ethylhexyl)adipate (DEHA) in a Limited Population Study. Food and Chemical Toxicology* **32**, 1-5 (1994)

-
14. Takahashi T., A. Tanaka and T. Yamaha: Elimination, Distribution and Metabolism of Di-2-(ethylhexyl)adipate (DEHA) in Rats. *Toxicology* **22**, 223-233 (1981)
 15. Loftus N.J., W.J.D. Laird, G.T. Steel, M.F. Wilks and B.H. Woollen: Metabolism and Pharmacokinetics of Deuterium-Labelled Di-2-(ethylhexyl)adipate (DEHA) in Humans. *Food and Chemical Toxicology* **31**, 609-614 (1993)
 16. Lake B.G., R.J. Price, M.E. Cunningham and D.G. Walters: Comparison of the Effects of Di-(2-ethylhexyl)adipate on Hepatic Peroxisome Proliferation and Cell Replication in the Rat and Mouse. *Toxicology* **123**, 217-226 (1997)
 17. Cornu M.C., J.C. Lhuguenot, A.M. Brady, R. Moore and C.R. Elcombe: Identification of the Peroxisome Proliferator(s) Derived from Di(2-ethylhexyl)adipate and Species Differences in Response. *Biochemical Pharmacology* **43**, 2129-2134 (1992)
 18. Keith Y., M.C. Cornu, P.M. Canning, J. Foster, J.C. Lhuguenot and C.R. Elcombe: Peroxisome Proliferation Due to Di(2-ethylhexyl)adipate, 2-Ethylhexanol and 2-Ethylhexanoic Acid. *Archives of Toxicology* **66**, 321-326 (1992)
 19. Yanagita T., M. Satoh, H. Nomura, N. Enomoto and M. Sugano: Alteration of Hepatic Phospholipids in Rats and Mice by Feeding Di-(2-ethylhexyl)adipate and Di-(2-ethylhexyl)phthalate. *Lipids* **22**, 572-577 (1987)
 20. Bell F.P.: Effect of the Plasticizer Di(2-Ethylhexyl)adipate (Dioctyladipate, DOA) on Lipid Metabolism in the Rat: I. Inhibition of Cholesterolgenesis and Modification of Phospholipid Synthesis. *Lipids* **18**, 211-215 (1983)
 21. Bell F.P.: Di(2-Ethylhexyl)adipate (DEHA): Effect on Plasma Lipids and Hepatic Cholesterolgenesis in the Rat. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **32**, 20-26 (1984)
 22. Jäkh R., C. Rhodes, P. Grasso and J.T. Carter: Genotoxicity Studies on Di-(2-ethylhexyl)phthalate and Adipate and Toxicity Studies on DEHP in the Rat and Marmoset. *Food and Chemical Toxicology* **22**, 151-155 (1984)
 23. Dirven H.A.A.M., J.L.G. Theuws, F.J. Jongeneelen and R.P. Bos: Non-Mutagenicity of 4 Metabolites of Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) and 3 Structurally Related Derivates of Di(2-ethylhexyl)adipate (DEHA) in the Salmonella Mutagenicity Assay. *Mutation Research* **260**, 121-130 (1991)
 24. Reisenbichler H. and P.M. Eckl: Genotoxic Effects of Selected Peroxisome Proliferators. *Mutation Research* **286**, 135-144 (1993)
 25. Von Däniken A., W.K. Lutz, R. Jäkh and C. Schlatter: Investigation of the Potential for Binding of Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) and Di(2-ethylhexyl)adipate (DEHA) to Liver DNA in Vivo. *Toxicology and Applied Pharmacology* **73**, 373-387 (1984)

-
26. European Union Scientific Committee on Food (CSF): Opinion of the Scientific Committee on Food on a Survey on Dietary Intake of the Food Contact Material Di-2-(ethylhexyl)adipate (DEHA). October (2000)
 27. Guiot P., M.A. Ryan and E.H. Hull: Food, Pharmaceutical and Biomedical Applications of Citric Acid Esters. *Chimicaoggi* **10**, 53-56 (1992)
 28. Mochida K., M. Gomyoda and T. Fujita: Acetyl Tributyl Citrate and Dibutyl Sebacate Inhibit the Growth of Cultured Mammalian Cells. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **56**, 635-637 (1996)
 29. Health J.L. and M. Reilly: Mutagenesis Testing of Acetyl-Tributylcitrate and Epoxidized Soybean Oil. *Poultry Science* **61**, 2517-2519 (1982)
 30. Greenpeace Österreich, Deutschland, Luxemburg [Hrsg.]: PVC im Krankenhaus - Einsatzbereiche, Risiken und Alternativen im Medizinischen Bereich, Umwelt Media Consult Verlagsgesellschaft, Wien (1995)
 31. Racz Z. and C. Barotti: Effect of DEHP Plasticizer on Stored Platelets. *Vox Sanguinis* **68**, 197-200 (1995)
 32. Wilkinson C.F. and J.C. Lamb: The Potential Health Effects of Phthalate Esters in Childrens' Toys: A Review and Risk Assessment. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **30**, 140-155 (1999)
 33. Mettang T., C. Pauli-Magnus, D.M. Alscher, J. Kirchgessner, R. Wodarz, A.W. Rettenmeier and U. Kuhlmann: Influence of Plasticizer-Free CAPD Bags and Tubings on Serum, Urine and Dialysate Levels of Phthalic Acid Esters in CAPD Patients. *Peritoneal Dialysis International* **20**, 80-84 (1999)
 34. Fay M., J.M. Donohue and C. de Rosa: ATSDR Evaluation of Health Effects of Chemicals. VI. Di(2-ethylhexyl)phthalate. *Toxicology and Industrial Health* **15**, 651-746 (1999)
 35. Albro P.W. and S.R. Lavenhar: Metabolism of Di(2-ethylhexyl)phthalate. *Drug Metabolism Reviews*, **21**, 13-34 (1989)
 36. Keys D.A., D.G. Wallace, T.B. Kepler and R.B. Conolly: Quantitative Evaluation of Alternative Mechanisms of Blood and Testes Disposition of DEHP and MEHP in Rats. *Toxicological Sciences* **49**, 172-185 (1999)
 37. Mettang T., S. Thomas, T. Kiefer, F.-P. Fischer, U. Kuhlmann, R. Wodarz and A.W. Rettenmeier: The Fate of Leached Di(2-ethylhexyl)phthalat in Patients Undergoing CAPD Treatment. *Peritoneal Dialysis International* **16**, 58-62 (1996)

-
38. Dirven A.A.M., P.H.H. Van Den Broek, A.M.M. Arends, H.H. Nordkamp, A.J.G.M. De Lepper, T. Henderson and F.J. Jongeneelen: Metabolites of the Plasticizer Di(2-ethylhexyl)phthalate in Urine Samples of Workers in Polyvinylchloride Processing Industries. *International Archives of Occupational and Environmental Health* **64**, 549-554 (1993)
 39. Barry Y.A., R.S. Labow, W.J. Keon, M. Tocchi and G. Rock: Perioperative Exposure to Plasticizers in Patients Undergoing Cardiopulmonary Bypass. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* **97**, 900-905 (1989)
 40. Adams W.J., G.R. Biddinger and K.A. Robillard: A Summary of the Acute Toxicity of 14 Phthalate Esters to Representative Aquatic Organisms. *Environmental Toxicology and Chemistry* **14**, 1569-1574 (1995)
 41. Klimisch H.J., A.O. Gamer, J. Hellwig, W. Kaufmann and R. Jäckh: DEHP: A Short-Term Repeated Inhalation Toxicity Study Including Fertility Assessment. *Food and Chemical Toxicology* **30**, 915-919 (1992)
 42. David R.M., M.R. Moore, D.C. Finney and D. Guest: Chronic Toxicity of Di(2-ethylhexyl)phthalate in Rats. *Toxicological Sciences* **55**, 433-443 (2000)
 43. Poon R., P. Lecavalier, R. Mueller, V.E. Valli, B.G. Procter and I. Chu: Subchronic Oral Toxicity of Di-n-Octyl-Phthalate and Di(2-ethylhexyl)phthalate in the Rat. *Food and Chemical Toxicology* **35**, 225-239 (1997)
 44. Rao M.S. and J.K. Reddy: The Relevance of Peroxisome Proliferation and Cell Proliferation in Peroxisome Proliferator-Induced Hepatocarcinogenesis. *Drug Metabolism Reviews* **21**, 103-110 (1989)
 45. European Union Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment (CSTEE): Opinion on Phthalate Migration from Soft PVC Toys and Child-Care Articles. Opinions expressed at the CSTEE Third Plenary Meeting, April (1998)
 46. Schulz C.O.: Assessing Human Health Risks from Exposure to Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) and Related Phthalates: Scientific Issues. *Drug Metabolism Reviews* **21**, 111-120 (1989)
 47. European Union Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment (CSTEE); Opinion on Phthalate Migration from Soft PVC Toys and Child-Care Articles. Opinion Expressed at the Sixth CSTEE Plenary Meeting, November (1998)
 48. Conway J.G., R.C. Cattley, J.A. Popp and B.E. Butterworth: Possible Mechanisms in Hepatocarcinogenesis by the Peroxisome Proliferator Di(2-ethylhexyl)phthalate. *Drug Metabolism Reviews* **21**, 65-102 (1989)

-
49. Arcadi F.A., C. Costa, C. Imperatore, A. Marchese, A. Rapisarda, M. Salemi, G.R. Trimarchi and G. Costa: Oral Toxicity of DEHP During Pregnancy and Suckling in the Long-Evans Rat. *Food and Chemical Toxicology* **36**, 963-970 (1998)
 50. Hellwig J., H. Freudenberger and R. Jäckh: Differential Prenatal Toxicity of Branched Phthalate Esters in Rats. *Food and Chemical Toxicology* **35**, 501-512 (1997)
 51. Ishihara M., M. Itoh, K. Miyamoto, S. Suna, Y. Takeuchi, I. Takenaka and F. Jitsunari: Spermatogenic Disturbance Induced by Di(2-ethylhexyl)phthalate Is Significantly Prevented by Treatment with Antioxidant Vitamins in the Rat. *International Journal of Andrology* **23**, 85-94 (2000)
 52. Sjöberg P.O.J., U.G. Bondesson, E.G. Sedin and J.P. Gustafsson: Exposure of Newborn Infants to Plasticizers. Plasma Levels of DEHP and MEHP During Exchange Transfusion. *Transfusion* **25**, 424-428 (1985)
 53. Thomas T.A., S.M. Taylor, M.M. Crane, W.R. Cornett, E.M. Langan 3rd, B.A. Snyder and D.L. Cull: An Analysis of Limb-Threatening Lower Extremity Wound Complications After 1090 Consecutive Coronary Bypass Procedures. *Vascular Medicine* **4**, 83-88 (1999)
 54. Nelson R.M. and D.J. Dies: The Economic Implications of Infection in Cardiac Surgery. *The Annals of Thoracic Surgery* **42**, 240-246 (1986)
 55. Mailloux L.U., A.G. Bellucci and B.M. Wilkes: Mortality in Dialysis Patients: Analysis of the Cause of Death. *American Journal of Kidney Diseases* **18**, 326-335 (1991)
 56. Ankersmit H.J., R. Deicher, B. Moser, I. Teufel, G. Roth, S. Gerlitz, S. Itescu, E. Wolner, G. Boltz-Nitulescu and J. Kovarik: Impaired T-Cell Proliferation, Increased Soluble Death-Inducing Receptors and Activated-Induced T Cell Death in Patients Undergoing Haemodialysis. *Clinical and Experimental Immunology* **125**, 142-148 (2001)
 57. Piringer, O.G.: Verpackungen für Lebensmittel - Eignung, Wechselwirkungen, Sicherheit, VHC Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim u.a. (1993)
 58. Richtlinie 90/128/EWG: Richtlinie der Kommission vom 23. Februar 1990 über Materialien und Gegenstände aus Kunststoff, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen, Amtsblatt L 075: 0019-0040, 21. März 1990
 59. Richtlinie 88/378/EWG: Richtlinie des Rates vom 3. Mai 1988 zur Angleichung der Rechtsvorschriften der Mitgliedsstaaten über die Sicherheit von Spielzeug, Amtsblatt L 187: 0001-0013, 16. Juli 1988
 60. Bundesgesetzblatt für die Republik Österreich: Verordnung: Verbot der Verwendung von Weichmachern bei bestimmtem Spielzeug aus Kunststoff für Kinder unter 36 Monaten, BGBl. II 255/1998, 4. Aug. 1998

-
61. EG-Beschluß 1999/815/EG: Entscheidung der Kommission vom 7. Dezember 1999 über Maßnahmen zur Untersagung des Inverkehrbringens von Spielzeug- und Babyartikeln, die dazu bestimmt sind, von Kindern unter drei Jahren in den Mund genommen zu werden, und aus Weich-PVC bestehen, das einen oder mehrere der Stoffe Diisononylphthalat (DINP); Di-(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP), Dibutylphthalat (DBP), Diisodecylphthalat (DIDP), Di-n-octylphthalat (DNOP) oder Benzylbutylphthalat (BBP) enthält, Amtsblatt L315: 0046-0049, 9. Dez.1999
 62. EG-Beschluß 2001/665/EG: Entscheidung der Kommission vom 21. August 2001 über eine siebente Verlängerung der Geltungsdauer der Entscheidung 1999/815/EG über Maßnahmen zur Untersagung des Inverkehrbringens von Spielzeug- und Babyartikeln, die dazu bestimmt sind, von Kindern unter drei Jahren in den Mund genommen zu werden, und aus Weich-PVC bestehen, das bestimmte Weichmacher enthält, Amtsblatt L233: 51-52, 31. Aug. 2001
 63. Bundesgesetzblatt für die Republik Österreich: Verordnung: Verbot der Verwendung von Weichmachern bei bestimmten Babyartikeln aus Weich-PVC für Kinder unter 36 Monaten, BGBl. II 480/1999, 21. Dez. 1999
 64. Greenpeace Österreich, Deutschland: PVC im Krankenhaus II - Produkte, Probleme und Projekte zur Vermeidung von PVC im Medizinischen Bereich, Umwelt Media Consult Verlagsgesellschaft, Wien (1998)
 65. Richtlinie 98/79/EG: Richtlinie des Europäischen Parlaments und des Rates vom 27. Oktober 1998 über In-vitro-Diagnostika, Amtsblatt L 331: 0001 – 0037, 7. Dez. 1998
 66. Di Gangi, J.: Phthalates in PVC Medical Products from 12 Countries, Greenpeace USA (1999), <http://www.greenpeace.org/~toxics/reports/medprods.pdf>, 14. Nov. 2001
 67. Shintani H.: Determination of Phthalic Acid, Mono-(2-ethylhexyl)phthalate and Di-(2-ethylhexyl)phthalate in Human Plasma and in Blood Products. *Journal of Chromatography* **337**, 279-290 (1985)
 68. Teirlynck O.A. and M.T. Rosseel: Determination of Di- and Mono(2-ethylhexyl)phthalate in Plasma by Gas Chromatography. *Journal of Chromatography* **342**, 399-405 (1985)
 69. Sjöberg P.: Determination of Di(2-ethylhexyl)phthalate and Four of its Metabolites in Blood Plasma by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography* **344**, 167-175 (1985)
 70. Piechocki J. and W. Purdy: Determination of DEHP in Human Plasma. *Clinica Chimica Acta* **48**, 385-391 (1973)
 71. Christensson A., L. Ljunggren, C. Nilson-Thorell, B. Arge, U. Diehl, K.E. Hagstam and M. Lundberg: In Vivo Comparative Evaluation of Hemodialysis Tubing Plasticized with DEHP and TEHTM. *The International Journal of Artificial Organs* **14**, 407-410 (1991)

-
72. Dine T., M. Luyckx, B. Gressier, C. Brunet, J. Souhait, S. Nogarede, J. Vanpoucke, F. Courbon, Y. Plusquellec and G. Houin: A Pharmacokinetic Interpretation of Increasing Concentrations of DEHP in Haemodialysed Patients. *Medical Engineering and Physics* **22**, 157-165 (2000)
 73. Dine T., M. Luyckx, M. Cazin, C. Brunet, J.C. Cazin: Rapid Determination by High Performance Liquid Chromatography of Di-2-ethylhexylphthalate in Plasma Stored in Plastic Bags. *Biomedical Chromatography* **5**, 94-97 (1991)
 74. Pollack G., R.L. Slaughter, J.F. Buchanan and D.D. Shen: High-Performance Liquid Chromatographic Procedure for the Determination of Di-(2-ethylhexyl)phthalate in Human Blood Specimens. Problems of Variable Extraction Yields and the Use of Standard Addition for Calibration; *Journal of Chromatography* **311**, 101-108 (1984)
 75. Persiani C. and P. Cukor: Liquid Chromatographic Method for the Determination of Phthalate Esters. *Journal of Chromatography* **109**, 413-417 (1975)
 76. Tsumura Y., S. Ishimitsu, I. Saito, H. Sakai, Y. Kobayashi and Y. Tonogai: Eleven Phthalate Esters and Di(2-ethylhexyl)adipate in One-week Duplicate Diet Samples Obtained from Hospitals and Their Estimated Daily Intakes. *Food Additives and Contaminants* **18**, 449-460 (2001)