

Stoffmonographie Di(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP) – Referenzwerte für 5oxo-MEHP und 5OH-MEHP im Urin

Stellungnahme der Kommission Human-Biomonitoring des Umweltbundesamtes

1 Einleitung

Phthalate (Phthalsäurediester) werden in vielen Bereichen des täglichen Lebens verwendet. Weltweit werden jährlich ca. 8 Millionen Tonnen (18 Milliarden Pounds) produziert [1]. Sie können deshalb in zahlreichen Produkten, in praktisch allen Umweltmedien und im menschlichen Organismus nachgewiesen werden [2, 3]. Das am häufigsten verwendete Phthalat ist das Di(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP, Formel siehe **Abb. 1**), von dem weltweit 1985 ca. 3–4 Millionen Tonnen [4] und 1987 2,12 Millionen Tonnen [5] hergestellt wurden. In Westeuropa wurden 1999 nach Angaben des Industrieverbandes ECPI (European Council for Plasticisers and Intermediates) ca. 460.000 t DEHP produziert, was 42% der gesamten Weichmacherproduktion in Europa entsprach. 2003 fiel der Anteil des DEHP auf 24% mit einer Produktionsmenge von ca. 244.000 t. DEHP wurde somit zur Jahrtausendwende von Di-iso-nonylphthalat/Di-iso-decylphthalat (DINP/DIDP) als wichtigster Weichmacher abgelöst, welche mit 56% bzw. 570.000 t im Jahr 2003 an Bedeutung gewannen [6]. Neben der Verwendung als Weichmacher für PVC, die ca. 90–95% ausmacht, wird DEHP auch in Dispersionen, Lacken, Farben und als Emulgator eingesetzt [3, 7, 8]. Phthalate werden darüber hinaus als Repellents, als Trägerflüssigkeit

in Biozid-Formulierungen und in Kosmetika, Parfüms etc. verwendet [8]. Es wird geschätzt, dass 10.000–150.000 t pro Jahr [8] bzw. 1–5% [9] der gesamten DEHP-Produktion direkt in die Umwelt gelangen. Die wichtigsten physiko-chemischen Daten des DEHP sind in **Tab. 1** zusammengestellt [8].

Human-Biomonitoring-Daten der NHANES Studie (National Health and Nutrition Examination Survey) aus den USA [10, 11] sowie Daten aus Deutschland [12] zeigten erstmals, dass die Allgemeinbevölkerung ubiquitär gegenüber DEHP und anderen Weichmachern exponiert ist. Neuere Arbeiten von Koch et al. [12, 13, 14] zur Ausscheidung von DEHP-Metaboliten im Urin an einem ausgewählten Kollektiv Süddeutschlands und bei Kindergartenkindern lassen vermuten, dass sowohl der TDI- als auch der RfD-Wert bei einem erheblichen Teil der Bevölkerung überschritten werden (TDI = tolerable daily intake, RfD = reference dose for chronic exposure). Kinder als vulnerabelste Gruppe scheinen zudem höher belastet als Erwachsene [14].

Mit den DEHP-Sekundärmetaboliten 5OH- und 5oxo-MEHP (2-Ethyl-5-hydroxyhexylphthalat und 2-Ethyl-5-oxohexylphthalat) stehen zudem heute äußerst verlässliche und aussagekräftige Biomonitoring-Parameter zur Verfügung, die eine DEHP-Exposition weitaus besser wie-

dergeben, als der zuvor verwendete Parameter MEHP (Mono(2-ethylhexyl)phthalat) oder als Bestimmungen der äußeren DEHP-Belastung.

Da DEHP das Phthalat mit einem der größten Produktionsvolumen bzw. der größten Verbreitung ist und die stärkste reproduktionstoxische Wirkung aller Phthalate aufweist, sollte dies zu einer Überprüfung des mit der Exposition von DEHP verbundenen Risikos führen. Erforderlich

Tab. 1

Physiko-chemische Daten von DEHP nach Rippen [8]

Substanz	Di(2-ethylhexyl)phthalat
Abkürzung	DEHP
CAS-Nummer	117-81-7
Molmasse	390,56 [g/mol]
Summenformel	C ₂₄ H ₃₈ O ₄
Schmelzpunkt	–50°C
Siedepunkt	385°C
Dichte	0,9843 [g/ml] (bei 20°C)
Dampfdruck	18,1 x 10 ⁻⁶ Pa (bei 20°C)
Wasserlöslichkeit	29 x 10 ⁻⁶ g/L (bei 20°C)
log P _{ow}	7,46

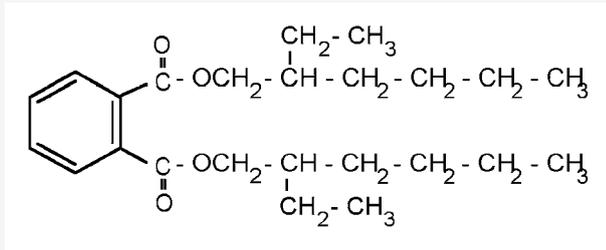


Abb. 1 ▲ Strukturformel von Di(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP)

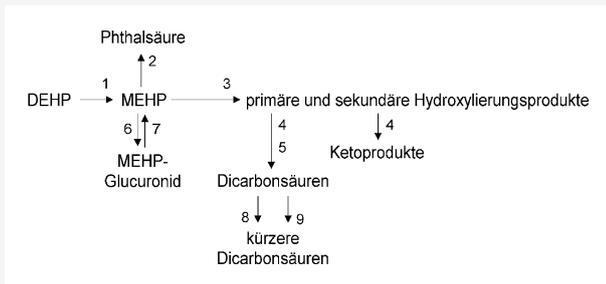


Abb. 3 ▲ Übersicht über den Metabolismus von DEHP in Säugtieren. Folgende Enzyme katalysieren den Metabolismus des DEHP: 1: unspezifische Lipase (Esterase), 2: MEHP Hydrolase, 3: mikrosomale Monooxygenase (Cytochrom-P450-abhängig), 4: Alkoholdehydrogenase, 5: Aldehyddehydrogenase, 6: Glucuronyltransferase, 7: α -Glucuronidase, 8: α -Oxidationsenzyme, 9: β -Oxidationsenzyme nach Albro und Lavenhar [91]

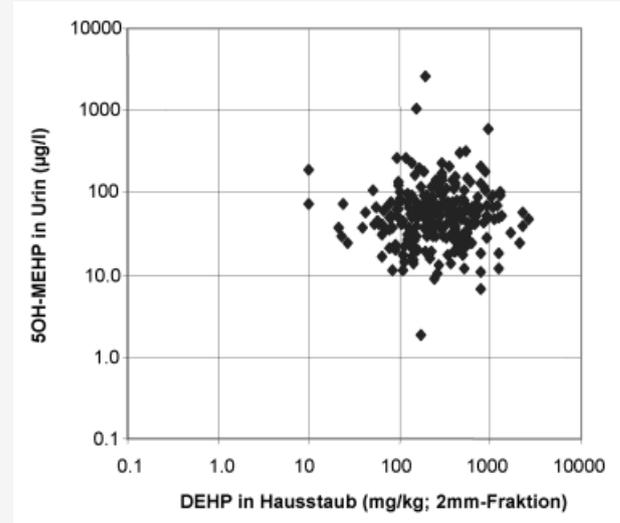


Abb. 2 ▲ Korrelation von 5OH-MEHP in Urin mit DEHP in Hausstaub (2mm-Fraktion) [29]. Die Korrelation für die 63- μ m-Fraktion sowie die Korrelationen mit anderen DEHP-Metaboliten (5oxo-MEHP und MEHP) sind ähnlich

sind aber auch repräsentative Human-Bio-monitoring-Untersuchungen zur Beschreibung der Grundbelastung der Bevölkerung. Der jetzige Stand der Kenntnis zum Human-Biomonitoring des DEHP wird in dieser Übersicht zusammengefasst.

2 Vorkommen von DEHP in der Umwelt, am Arbeitsplatz und im Wohn- und Innenraumbereich

Die folgende Zusammenstellung über das Vorkommen von DEHP in Umweltmedien berücksichtigt die Daten, die im Hinblick auf eine direkte Aufnahme durch den Menschen denkbar sind. Die Relevanz dieser Aufnahmepfade für die DEHP-Belastung der Allgemeinbevölkerung ist noch nicht bis ins Detail aufgeklärt. Weitere Informationen zum Vorkommen von DEHP in Umweltmedien finden sich z.B. bei: Beratergremium für umweltrelevante Altstoffe - BUA [15], Staples et al. [16], WHO-IPCS [17], Wams [4] und Rippen [8].

2.1 Außenluft

Ältere Untersuchungen in den 70er- und 80er-Jahren aus Amerika beschreiben

DEHP-Konzentrationen bis 29 ng/m³ im urbanen und industriellen Bereich, wobei in der Nähe von Müllverbrennungsanlagen Konzentrationen bis 300 ng/m³ gemessen wurden [3].

2.2 Innenraumluft (Arbeitsplatz/Wohnbereich)

DEHP-Konzentrationen an Arbeitsplätzen der Kunstleder- und PVC-Bearbeitung betragen bis 66 mg/m³ [4]. Deutlich geringere Konzentrationen sind in Wohninnerräumen anzutreffen, so liegen die DEHP-Konzentrationen in der Innenraumluft kanadischer Wohnungen bei einigen μ g/m³ [3], während in Räumen mit neuen Bodenbelägen Konzentrationen zwischen 200 und 300 μ g/m³ beobachtet werden [4]. Untersuchungen in Wohnungen Berlins ergeben für DEHP Raumluftgehalte von 0,062–2,2 μ g/m³ mit einem Mittelwert von 0,48 μ g/m³ [18]. Messungen in Wohnungen Niedersachsens und Schleswig-Holsteins ergeben Konzentrationen von < 0,1–1 μ g/m³ [19]. In einer ähnlichen Größenordnung liegen auch die Konzentrationen in der Innenraumluft, die von Fromme et al. [20] für Apart-

ments und Kindergärten in Berlin publiziert sind. Sie liegen für Apartments zwischen 0,059 und 0,615 μ g/m³ und für Kindergärten zwischen 0,073 und 2,253 μ g/m³. Im Innenraum neuer Personenkraftwagen betragen die Konzentrationen an DEHP bis zu 9,6 μ g/m³ [21].

Fromme et al. [20] weisen in ihrer Arbeit darauf hin, dass die gemessene Innenraumluft-Konzentration an DEHP wohl keine relevante Quelle bezogen auf die Gesamt-DEHP-Belastung der Allgemeinbevölkerung darstellt.

2.3 Sonstige Quellen im Wohn- und Innenraumbereich

Zahlreiche Gegenstände des Wohnbereichs bestehen aus Hart- oder Weich-PVC [3]. Hierzu zählen Fußbodenbeläge, Teppichrückenbeschichtungen, Vinyltapeten, PVC-Weichprofile (Teppichstößkanten, Handläufe, Tür- und Fensterdich-

¹ PVC-Produkte mit einem Weichmachergehalt von 0–12% werden als Hart-PVC, solche mit einem Weichmachergehalt von >12% als Weich-PVC bezeichnet. PVC-Produkte mit einem sehr hohen Weichmachergehalt heißen Plastisole (PVC-Paste) [2].

tungen), Elektrokabel, Möbel- und Einrichtungsgegenstände, Badewannen- und Duscheinlagen, Duschvorhänge, Tischdecken etc. [18]. Nach einer freiwilligen Selbstbeschränkung der Tapetenhersteller sollten allerdings Vinyltapeten in Zukunft keine Quelle für DEHP in Innenräumen mehr darstellen, weil die Tapetenhersteller auf andere Weichmacher (z.B. Di(isononyl)phthalat) ausweichen werden.

Alle PVC-Einrichtungsgegenstände geben DEHP in geringen Mengen in die Raumluft ab [22]. Es ist davon auszugehen, dass sich sowohl das aus Einrichtungsgegenständen langsam freigesetzte DEHP als auch das DEHP, das als Bestandteil von Repellents, als Trägerflüssigkeit in Biozidformulierungen und als Hilfsstoff z.B. in Kosmetika und Parfüms eingesetzt wird, direkt in den Innenraum gebracht wird und sich im Hausstaub als Senke für schwerflüchtige Substanzen [23] wiederfindet. Der biologische Abbau von DEHP, der unter aeroben und feuchten Bedingungen in der Umwelt schnell erfolgt ($t_{1/2} = 2-4$ Wochen) [4], wird im Innenraum, bei Bindung an Staub, deutlich verzögert. Hausstaub dürfte daneben auch den Abrieb aus DEHP-haltigen Gegenständen enthalten.

In Hausstaubproben werden Konzentrationen an DEHP bis zu einigen Gramm pro Kilogramm gemessen. Konzentrationen an DEHP im sedimentierten Staub von $\leq 0,2-4,0$ g/kg ($n=12$) werden von Bauch [18] berichtet. Bruns-Weller und Pfordt [24] finden in einer ausgewählten Hausstaubprobe (≤ 125 μm -Fraktion) eine DEHP-Konzentration von 4,58 g/kg, und anlassbezogen gemessene Werte von Pöhner et al. [25] ergeben Konzentrationen bis 8,6 g/kg ($n=272$). Daten repräsentativer Studien sind von Becker et al. [26, 27] und Butte et al. [22] publiziert.

Im Umwelt-Survey 1998 wurde in 199 zufällig ausgewählten Hausstaubproben, die von den Bewohnern mithilfe ihrer eigenen Staubsauger gesammelt und anschließend auf < 2 mm gesiebt wurde, ein Median von 0,416 g/kg an DEHP ermittelt, das 95. Perzentil in dieser Studie beträgt 1,19 g/kg [26, 27]. In 100 dieser Proben wurde zusätzlich in der ≤ 63 - μm -Fraktion DEHP bestimmt. Der Median beträgt 0,521 g/kg und das 95. Perzentil 1,33 g/kg. Die Konzentrationen an DEHP im Hausstaub

Tabelle 2

Niedrigste Konzentration von DEHP und dessen Metaboliten im Kulturmedium der Embryos (in $\mu\text{mol/ml}$), bei der statistisch signifikante toxische Effekte beobachtet wurden			
Substanz	Wachstum	Entwicklung	Morphologie
DEHP	0,85	2	0,85
MEHP	1	1	1
Metabolit I	>0,86	>0,86	0,023
Metabolit V	>0,4	>0,4	0,4
Metabolit VI	>0,33	>0,33	0,3
Metabolit IX	>0,2	0,2	0,008
2-EH	1,0	0,16	1,0
2-EHA	4,3	4,3	4,3

Tabelle 3

Übersicht über tolerierbare Aufnahmemengen an DEHP		
Bezeichnung, Institution [Lit.]	Wert ($\mu\text{g/kg KG/d}$)	Zugrunde liegender NOAEL (mg/kg KG/d) [Lit.]
TDI ^{a)} (MPR ^{b)} NL-RIVM Baars et al. [124]	4	3,7 Poon et al. [40]
RfD ^{c)} US-EPA [125]	20	20 Carpenter et al. [126]
TDI ^{a)} WHO [127]	25	2,5 WHO [127]
TDI ^{a)} EU-CSTEE [128]	37	3,7 Poon et al. [40] und ca. 3,5 LOAEL, Arcadi et al. [42] ^{f)}
TDI ^{a)} ECB/EU (RAR-DEHP)[37]	20 (Säuglinge 0–3 Monate und Frauen im gebärfähigen Alter) 25 (Säuglinge >3-12 Monate) 48 (restliche Allgemeinbevölkerung)	4,8 Wolfe et al. [53]
TDI ^{a)} Health Canada [129]	44	44 Wolkowski-Tyl et al. [135]
TRD ^{d)} D-UBA Hassauer et al. [93]	50	2,9 Wolfe et al. [53]
MRL ^{e)} US-ATSDR [66]	60	5,8 David et al. [131]

^{a)} Tolerable Daily Intake, ^{b)} Maximum Permissible Risk Level, ^{c)} Reference Dose (for chronic exposure), ^{d)} tolerierbare resorbierte Dosis, ^{e)} Minimal Risk Level (for chronic exposure duration), ^{f)} Das "Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment" hält die Studie von Wolfe und Layton [53], die in einer 3-Generationenreproduktionsstudie zu einem NOAEL von 4,8 mg/kg KG/d führte, für valider als die Arbeit von Poon et al. [40] ohne jedoch einen neuen TDI-Wert abzuleiten [132].

($n=286$) aus Niedersachsen und Schleswig-Holstein reichen bis zu 12 g/kg, der Referenzwert beträgt 2,5 g/kg (=2500 mg/kg), jeweils bezogen auf die ≤ 63 - μm -Fraktion des Staubs [22]. Die Verteilung der Konzentrationen an DEHP im Hausstaub lässt sich mit einer logarithmisch-norma-

len Verteilung beschreiben. In der Pilotstudie zum Kinder-Umweltsurvey [28] wurden bei 254 Kindern im Alter von 3-14 Jahren Hausstaub- und Urinproben untersucht. Zwischen der individuellen inneren DEHP-Belastung und der DEHP-Konzentration in den betreffenden Hausstaub-

proben (■ **Abb. 2**) fand sich kein Zusammenhang [29]. DEHP-Gehalte in Hausstaubproben erscheinen zwar auf den ersten Blick beachtlich, scheinen jedoch an der inneren Belastung der Kinder nur einen untergeordneten, inkrementellen Anteil zu haben. Wie die Worst-case-Betrachtungen für Hausstaub der ■ **Tabelle 4** zeigen, stellt dieser Aufnahmepfad nur unter Extrembedingungen einen denkbar bedeutsamen Pfad im Vergleich zu Nahrungsmitteln dar.

2.4 Lebensmittel

Über den Gehalt von DEHP in Lebensmitteln liegen nur bruchstückhaft publizierte Informationen vor. In einer Lebensmittelmonitoring-Studie des britischen Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (MAFF) wurden Fleisch, Geflügel, Eier und Milch auf DEHP untersucht. Die mittleren Gehalte liegen für alle Gruppen zwischen 0,3 und 0,7 mg/kg. Über ermittelte Maximalgehalte werden keine Angaben gemacht [30]. Babynahrung enthält, ebenfalls vom MAFF 1996 analysiert, zwischen 0,33 und 0,98 mg/kg DEHP [31]. 1998 wurden in einer Follow-up-Studie Gehalte von <0,05–0,44 mg/kg nachgewiesen [32]. Die Gehalte an Phthalaten in Babynahrung und Muttermilch wurden in 2 deutschen Untersuchungen mit geringen Stichprobenumfängen bestimmt [24, 33]. Es wurden maximale DEHP-Gehalte bis 0,16 mg/kg Milch gefunden. Abschätzungen aus Kanada [34], den USA [35, 36] sowie Europa [37] betrachten Nahrungsmittel als die entscheidende Hauptquelle der DEHP-Exposition der Allgemeinbevölkerung.

3 Toxikologie

DEHP ist nach einmaliger Aufnahme praktisch nicht toxisch. Die Substanz wirkt nicht reizend und nicht sensibilisierend [38]. Die LD₅₀-Werte (oral) sind sowohl bei Ratten als auch bei Mäusen, Kaninchen und Meerschweinchen größer als 25 g/kg [34]. In Experimenten zur chronischen Toxizität wurden aber bereits bei relativ niedrigen Dosierungen Effekte an Hoden, Nieren und Leber beobachtet [38]. In der Leber traten Hepatomegalie (Lebervergrößerung, erhöhte Lebergewichte),

Peroxisomenproliferation, eine replikative DNA-Synthese, Nekrosen und Lebertumore auf [38]. Hepatozelluläre Adenome wurden in Versuchen mit Ratten bei Konzentrationen von ca. 150 mg/kg KG/d beobachtet, und histologische Abnormalitäten in der Leber sowie eine reduzierte Leberfunktion ergaben sich bei Rhesusaffen, denen Blut aus PVC-Beuteln intravenös appliziert worden war, das ca. 100–300 mg DEHP enthielt [39]. Nierenschäden können sich in Form histologischer Veränderungen der Niere, Bildung renaler Zysten und einer Atrophie der Tubuli manifestieren [39].

Die Ergebnisse zur Reproduktionstoxizität von DEHP bei Nagern demonstrieren Effekte auf die Reproduktion und Fruchtbarkeit in beiden Geschlechtern und Entwicklungsschäden bei den Nachkommen. DEHP führt zu einer Beeinträchtigung der Struktur und der Funktion der Hoden. Es kann zu einer Reduktion des Hodengewichts, einer zum Teil massiven Atrophie der Samenkanälchen und zu Effekten auf die Spermatogenese kommen. Erste Effekte werden als Vakuolisierung der Sertolizellen bei Dosierungen ab 38 mg/kg KG/d an Ratten beschrieben [40]. Die Empfindlichkeit sich entwickelnder Tiere ist höher als die von geschlechtsreifen Tieren. Pränatale Expositionen oder Expositionen während der Laktationsphase führen in Konzentrationen zu irreversiblen Hodenschädigungen, die bei ausgewachsenen Tieren nur eine geringe Wirkung zeigen. Die Hodenschäden mit einer Atrophie der Samenkanälchen sind verknüpft mit einer Hemmung der Spermatogenese bis zur Azospermie. In-vitro- und In-vivo-Experimente haben gezeigt, dass die Sertolizellen den kritischen Wirkort für die Erzeugung der testikulären Atrophie und der Effekte auf die Keimzellen darstellen [40, 41, 42, 43].

Als Effekte auf die Nachkommen von exponierten Nagern werden embryo- und fetotoxische sowie teratogene Wirkungen von DEHP beschrieben. Viele Studien demonstrieren, dass DEHP in Ratten in Dosierungen nahe der Maternaltoxizität embryotoxisch wirkt. Hinsichtlich der Erzeugung von Missbildungen erwies sich die Maus als die empfindlichste Spezies. Embryotoxische und teratogene Effekte treten hier unterhalb von maternaltoxischen Wirkungen auf. Bei Mäusen wurden Miss-

bildungen der Augen, Exophthalmie, Exenzephalie, Missbildungen des Skeletts, des Urogenitaltraktes, der Lungen und kardiovaskuläre Anomalien bei den Nachkommen nachgewiesen.

In-vitro- und In-vivo-Studien zeigen, dass DEHP in die hormonelle Regulation eingreifen kann. DEHP zeigt in einigen In-vitro-Tests eine schwache östrogene Wirkung, und in vivo wird ein Einfluss von DEHP auf den Östrogenzyklus von ausgewachsenen weiblichen Ratten demonstriert. Bei männlichen Ratten wirkt DEHP antiandrogen [44, 45, 46].

Bei der intensiven Begutachtung der 7 Phthalsäureester Benzylbutylphthalat (BBP), Di-n-butylphthalat (DBP), Di-isononylphthalat (DINP), Di-iso-decylphthalat (DIDP), Di-n-hexylphthalat (DnHP), Di-n-octylphthalat (DinOP) und DEHP wird nur DEHP als Substanz eingestuft, die zu ernsthafter Sorge (serious concern) Anlass gibt [47]. Für DEHP werden adverse Effekte auf die sich entwickelnden Fortpflanzungsorgane bei den männlichen Kindern befürchtet, die einer hohen Konzentration durch eine medizinische Behandlung mit Phthalat-haltigen Produkten (Beutel, Schläuche) ausgesetzt sind. Wesentliche Strukturmerkmale, die zu einer Bindung von Dialkylphthalaten an humane Östrogenrezeptoren führen, werden von Asai et al. [48] beschrieben.

Eine Studie von Colón et al. [49] gibt weitere Hinweise auf die östrogenen und antiandrogenen Wirkungen von Phthalsäureestern, speziell DEHP, auch für den Menschen. So weisen Mädchen aus Puerto Rico, für die eine prämatüre Thelarche (vorzeitige Knospung der weiblichen Brust) festgestellt wurde, im Mittel mehr als 6-fach höhere Konzentrationen an DEHP im Serum auf als Mädchen, die als Kontrollkollektiv untersucht wurden (450 µg/L vs. 70 µg/L). Diese Studie ist bezüglich der gemessenen Konzentrationen von DEHP im Serum (aufgrund möglicher erheblicher Kontaminationen) allerdings mit großer Unsicherheit behaftet.

Sämtliche vorhandenen Studien belegen, dass DEHP Auswirkungen auf Fruchtbarkeit, Fortpflanzung und die Entwicklung der Nachkommen in Nagetieren hat. In männlichen Tieren induziert DEHP schwerwiegende testikuläre Effekte. Sich entwickelnde männliche Ratten zeigen

sich wesentlich empfindlicher gegenüber den testikulär-toxischen Effekten als ausgereifte Tiere [50, 51, 52, 53].

Der momentan am besten dokumentierte NOAEL (no observed adverse effect level) für testikuläre Effekte werden von Wolfe et al. [53] in einer 3-Generationenstudie an Sprague-Dawley-Ratten ermittelt und liegt bei 4,8 mg/kg KG/d. Ein weiterer NOAEL von 3,7 mg/kg KG/d basiert auf einer Vakuolisierung von Sertolizellen in einer 15-Wochenstudie. Der NOAEL für Entwicklungstoxizität in der Studie von Wolfe et al. [53] wird mit 8 mg DEHP/kg KG/d in der F₀-Generation und mit 5 mg DEHP/kg KG/d in der F₁- und F₂-Generation angegeben und basiert darauf, dass die testikulären Effekte in den F₁- und F₂-Generationen wesentlich ausgeprägter waren als in der F₀-Generation. Aus der Studie von Wolfe et al. [53], die auch eine zentrale Rolle im Risk Assessment Report der EU zu DEHP spielt, geht somit ein NOAEL von 4,8 mg/kg KG/d für testikuläre Effekte und Entwicklungstoxizität hervor. Der NOAEL im Bezug auf Fruchtbarkeit beträgt 48 mg/kg KG/d. Zum ausreichenden Schutz vor Gesundheitseffekten hält der Risk Assessment Report der ECB (European Chemical Bureau) folgende Sicherheitsabstände (MOS = Margin of Safety) zum NOAEL von 4,8 mg/kg KG/d für notwendig: 250 für Neugeborene von 0-3 Monaten, 200 für Kleinkinder von >3-12 Monaten und 100 für die Allgemeinbevölkerung (Kinder >12 Monate und Erwachsene) [37]. Da sich der NOAEL für testikuläre und entwicklungstoxische Effekte aus Mehrgenerationenstudien ableitet und sich die entscheidenden Effekte erst in den Folgegenerationen nach maternaler Dosierung zeigen, ist auch für Frauen im gebärfähigen Alter ein MOS von 250 indiziert, um deren Nachkommen in ausreichenden Maße zu schützen.

DEHP reduziert die Testosteronproduktion in fötalen Hoden um bis zu 60-85%. Während dieser kritischen Entwicklungsphase wird der Testosteronspiegel in männlichen Tieren somit auf das Niveau von weiblichen Tieren abgesenkt [45, 54]. Akingbemi et al. [55, 56] zeigen, dass DEHP in heranwachsenden Ratten die Serumtestosteron- und -17-Östradiol- (E₂) Spiegel um >50% erhöhte. Die beobachteten Effekte sind aber abhängig

Tabelle 4

Geschätzte tägliche Aufnahme (µg/kg KG/d) an DEHP aus verschiedenen Quellen		
Medium	Aufnahme	Bemerkungen
Außenluft	< 0,0005	bei Konzentrationen in der Außenluft bis 5 ng/m ³ [34]
Innenraumluft	bis ≈ 1	bei Konzentrationen in der Innenraumluft von 3,1 µg/m ³ [34]
Trinkwasser	bis ≈ 0,4	von 0,13-0,38 für Säuglinge (Alter: < 0,5 Jahre) bis 0,02-0,06 für Erwachsene (Alter 20-70 Jahre) [34]
Nahrungsmittel	4,9-18	in Abhängigkeit vom Alter, kanadische Bevölkerung [34]
	3-30	US-amerikanische Bevölkerung [35, 77]
Boden	< 0,0001	Meek und Chan [34]
Leaching aus PVC-Spielzeug	≈ 8	Kleinkind ^a beim einstündigen Ablutschen von PVC-Spielzeug mit 10 cm ² Oberfläche und einem DEHP-Gehalt von 24% [79]
Hausstaub	≈ 20	„Worst case“-Betrachtung für ein Kleinkind ^a bei einem Verzehr von 100 mg Staub [81], der einen DEHP-Gehalt von 2,5 g/kg [133] hat

^a Kleinkind im Alter von 1-2 Jahren mit einem Körpergewicht von 12 kg [81]

Tabelle 5

Struktur der Metaboliten des DEHP nach Albro et al. [95], HOOC-C ₆ H ₄ -COOCH ₂ -CH-R' R''			
Nr.		R'	R''
I	2-ethyl-3-carboxypropylphthalat	-CH ₂ COOH	-CH ₂ CH ₃
II	2-carboxyhexylphthalat	-[CH ₂] ₃ CH ₃	-COOH
III	2-ethyl-4-carboxybutylphthalat	-[CH ₂] ₂ COOH	-CH ₂ CH ₃
IV	2-carboxymethylhexylphthalat	-[CH ₂] ₃ CH ₃	-CH ₂ COOH
V	2-ethyl-5-carboxypentylphthalat	-[CH ₂] ₃ COOH	-CH ₂ CH ₃
VI	2-ethyl-5-oxohexylphthalat	-[CH ₂] ₂ -CO-CH ₃	-CH ₂ CH ₃
VII	2-(2-hydroxyethyl)hexylphthalat	-[CH ₂] ₃ CH ₃	-CH ₂ CH ₂ OH
VIII	2-ethyl-4-hydroxyhexylphthalat	-CH ₂ -CHOH-CH ₂ CH ₃	-CH ₂ CH ₃
IX	2-ethyl-5-hydroxyhexylphthalat	-[CH ₂] ₂ -CHOH-CH ₃	-CH ₂ CH ₃
X	2-ethyl-6-hydroxyhexylphthalat	-[CH ₂] ₂ CH ₂ OH	-CH ₂ CH ₃
XI	2-ethyl-pentylphthalat	-[CH ₂] ₃	-CH ₂ CH ₃
XII	2-ethyl-4-oxohexylphthalat	-CH ₂ -CO-CH ₂ CH ₃	-CH ₂ CH ₃
XIV	2-carboxymethyl-4-oxohexylphthalat	-CH ₂ -CO-CH ₂ CH ₃	-CH ₂ COOH
XV	2-ethyl-4-oxo-6-carboxyhexylphthalat	-CH ₂ -CO-CH ₂ COOH	-CH ₂ CH ₃
XVI	2-ethyl-4-hydroxy-6-carboxyhexylphthalat	-CH ₂ -CHOH-CH ₂ COOH	-CH ₂ CH ₃
XVII	2-(1-hydroxyethyl)hexylphthalat	-[CH ₂] ₃ CH ₃	-CHOH-CH ₃
XVIII	2-carboxymethyl-4-hydroxyhexylphthalat	-CH ₂ -CHOH-CH ₂ CH ₃	-CH ₂ COOH
XIX	2-(1-hydroxyethyl)-5-hydroxyhexylphthalat	-[CH ₂] ₂ -CHOH-CH ₃	-CHOH-CH ₃
XX	2-ethyl-4,6-dihydroxyhexylphthalat	-CH ₂ -CHOH-CH ₂ CH ₂ OH	-CH ₂ CH ₃
XXI	2-carboxymethyl-5-hydroxyhexylphthalat	-[CH ₂] ₂ -CHOH-CH ₃	-CH ₂ COOH
XXV	2-carboxymethyl-5-oxohexylphthalat	-[CH ₂] ₂ -CO-CH ₃	-CH ₂ COOH
XXVI	2-(1-oxethyl)hexylphthalat	-[CH ₂] ₃ CH ₃	-CO-CH ₃

von der Entwicklungsstufe des Tieres. Bei pränataler DEHP-Exposition über die Muttertiere ist in den Neugeborenen der Serumtestosteron- wie auch der „lutinizierende Hormone“- (LH)-Spiegel signifikant erniedrigt. Postnatal-präpubertäre DEHP-Exposition (bis 14 Tage nach Geburt) führt ebenfalls zu einer erniedrigten Testosteronproduktion. Paradoxerweise führt eine verlängerte DEHP-Exposition (21-48 Tage nach Geburt) zu einem signifikanten Anstieg der Testosteronproduktion. Die Exposition erwachsener Tiere führt zu keinen beobachtbaren Effekten. Zusammenfassend folgern Akingbemi et al. [55, 56], dass DEHP die Steroidgenese der Leydigzellen möglicherweise durch eine Modulation der Aktivität von an der Testosteronsynthese beteiligten Enzymen sowie eine Modulation von Serum-LH-Spiegeln in Abhängigkeit der Entwicklungsstufe des Organismus beeinflusst. Basierend auf ihren Studien legen sie einen NOAEL von 1 mg/kg/KG/d fest. Die toxikologische Relevanz bzw. Adversität dieses Endpunktes ist jedoch noch nicht eindeutig geklärt.

Von einer zunehmenden Zahl von Wissenschaftlern werden Phthalate im Allgemeinen und DEHP im Speziellen als endokrine Disruptoren der nicht klassischen Art bzw. als so genannte „trojanische Pferde“ betrachtet [46, 56, 57, 58]. Dies bedeutet, dass DEHP weniger durch eine inhärente Hormonaktivität als durch eine Fehlregulierung der Hormonsynthese und des Hormonmetabolismus in das endokrine System eingreift. Als ein solcher biochemischer endokriner Disruptor ist DEHP deshalb in den meisten klassischen Screening-Assays, die auf Interaktion mit Hormonrezeptoren basieren, unauffällig [57]. Neben dem DEHP wird auch für ein weiteres wichtiges Phthalat, dem DBP, ein solcher Wirkmechanismus postuliert und Effekte wie beim DEHP beobachtet [59, 60, 61, 62].

Die Diskussion um die eigentlich toxischen Stoffwechselprodukte des DEHP konzentrierte sich über Jahrzehnte auf den Monoester MEHP. Da MEHP bei Dosierung als solches genauso toxisch war, wie die Muttersubstanz DEHP, galt MEHP als das ultimative toxische Agens. Der extensive oxidative Metabolismus zu den Sekundärmetaboliten fand bei der Beant-

wortung dieser Frage wenig Berücksichtigung. Dies lag wohl daran, dass die Sekundärmetaboliten als Standardsubstanzen für toxikologische Untersuchungen nicht verfügbar waren.

Regnier et al. [63] untersuchten die Embryotoxizität von DEHP, MEHP und einer Reihe seiner oxidativen Metabolite bei Rattenembryos in vivo. Sie untersuchten Effekte auf Wachstum, Entwicklung und Morphologie und stellten anhand eines Vergleichs der Toxizitätsdaten eines jeden Metaboliten folgende Reihenfolge der potenziellen Entwicklungstoxizität auf:

Metabolit IX > I >> VI ≈ V > DEHP ≈ MEHP = 2-EH >> 2-EHA.

Sie kamen somit zur Erkenntnis, dass die oxidierten Metaboliten, besonders 5-OH-MEHP und 3-cx-MEHP, aber auch die anderen oxidativen Metaboliten, die ultimativ entwicklungstoxischen Spezies sind. Bezogen auf morphologische Veränderungen des Embryos erwies sich 5OH-MEHP als über 100-fach toxischer als MEHP. In allen untersuchten Parametern waren alle oxidativen Sekundärmetabolite eindeutig toxischer als DEHP, MEHP, 2-EH oder 2-EHA (■ **Tabelle 2**). In einer aktuellen Studie bestätigen Stoheker et al. [64] diese Ansicht: nicht DEHP oder MEHP, sondern die 2 sekundären Metaboliten 5OH-MEHP und 5oxo-MEHP zeigen antiandrogene Aktivität im Hershberger-Assay an Ratten.

DEHP und die Metaboliten-MEHP und 2-Ethylhexanol erweisen sich in den meisten Tests auf Gentoxizität und Mutagenität als negativ. Eine Ausnahme bilden die Ergebnisse in Testverfahren, die auch die Wirkung nicht gentoxischer Chemikalien erfassen wie Spindelgifte, Tumorpromotoren oder Peroxisomenproliferatoren. So werden in verschiedenen Zellkulturen und in vivo zelltransformierende Eigenschaften, eine Induktion von Aneuploidie und eine Induktion von Zellproliferation durch DEHP und teilweise auch für die Metaboliten nachgewiesen. Einen umfassenden Überblick über entwicklungs- und reproduktionstoxische Effekte geben Kavlock et al. [36] und ECB [37].

In Kanzerogenitätsstudien an Mäusen und Ratten (insgesamt 8 Studien) werden durch DEHP bei oraler Gabe in allen Fäl-

len konsistent hepatozelluläre Tumoren erzeugt [65]. Eine kleine Studie an Arbeitern einer DEHP-produzierenden Fabrik zeigt keine erhöhte Sterblichkeitsrate in Bezug auf Krebserkrankungen [65]. Nach der Bewertung durch die IARC (International Agency for Research on Cancer) gibt es ausreichende Beweise für die Krebs erzeugende Wirkung von DEHP bei Ratten und Mäusen, jedoch nur unzureichende Beweise für eine Krebs erzeugende Wirkung beim Menschen. DEHP wird deshalb als „not classifiable as to its carcinogenicity to humans“ eingestuft (Gruppe 3) [65]. Eine Bewertung von DEHP entsprechend der „U.S. EPA Risk Assessment Guidelines“ (United States Environmental Protection Agency) kam zu dem Ergebnis, dass DEHP als „an unlikely human carcinogen“ klassifiziert werden sollte [35]. Nach Meinung der Autoren haben die Studien deutlich gezeigt, dass für DEHP eine nichtlineare Dosis-Wirkungs-Beziehung besteht, wobei ein Schwellenwert zu bestehen scheint, unterhalb dessen von DEHP bei Nagetieren keine Tumoren hervorgerufen werden [35]. Die Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe der DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft) stuft DEHP bezüglich seiner Kanzerogenität in Kategorie 4 ein, also als Stoff mit Krebs erzeugender Wirkung, bei dem genotoxische Effekte keine oder nur eine untergeordnete Rolle spielen und bei dem bei Einhaltung des MAK-Wertes kein nennenswerter Beitrag zum Krebsrisiko für den Menschen zu erwarten ist [38].

Übersichten zur Toxikologie von DEHP wurden unter anderem von der US-ATSDR (United States Agency for Toxic Substances and Disease Registry) [66], Doull et al. [35], Fay et al. [67], Fromme [3], Harris et al. [68], Hassauer et al. [69], Huber et al. [70], der IARC [65], Kavlock et al. [36], Koss et al. [71], Latini [72], der DFG [38], Pfordt und Bruns-Weller [73], Tickner et al. [39], der US-FDA [2001], dem WWF [74] und am aktuellsten von dem ECB [36] verfasst. Eine Übersicht über tolerierbare Aufnahmemengen für den Menschen, abgeleitet von europäischen und amerikanischen Institutionen, gibt ■ **Tabelle 3**.

Hierbei ist zu berücksichtigen, dass sich die Ableitungen des ECB [36] auf

die aktuellen toxikologischen Daten stützen [53]. Daraus gehen tolerierbare Aufnahmemengen von 20 µg/kg KG/d (Säuglinge 0-3 Monate, Frauen im gebärfähigen Alter), 25 µg/kg KG/d (Säuglinge >3-12 Monate) und 48 µg/kg KG/d (restliche Allgemeinbevölkerung) hervor.

4 Aufnahmewege für den Menschen

Eine Übersicht über die geschätzte Aufnahme von DEHP für die Allgemeinbevölkerung aus verschiedenen Aufnahmepfaden gibt **■ Tabelle 4**. Die darin aufgeführten Daten geben allerdings nur einen groben Überblick, da die zugrunde gelegten DEHP-Gehalte der Nahrung teilweise aus älteren Publikationen stammen und die Berechnung der nicht-alimentären oralen Aufnahme auf der Basis von Schätzungen und Modellversuchen beruht.

4.1 Orale Aufnahme

Für die orale Aufnahme stehen, neben dem DEHP in der Nahrung und dem Trinkwasser, das bei Hand-Mund-Kontakten (vor allem bei Kleinkindern) aus dem „Einspeicheln“ von PVC-haltigen Gegenständen herausgelöste DEHP („Leaching“) und das beim Verschlucken von Hausstaub aufgenommene DEHP zur Verfügung. Die DEHP-Gehalte im Trinkwasser betragen meist nicht mehr als einige µg/L, wobei abgepacktes Trinkwasser auch etwas höhere Konzentrationen enthalten kann [3]. Die mittlere Aufnahme an DEHP mit der Nahrung beträgt in der Schweiz ca. 200 µg/d [76], Abschätzungen der WHO für die USA gehen von einer mittleren Aufnahme von 300 µg/d mit einem Maximum von 2 mg/d aus [17]. Kohn et al. [77] geben als Abschätzung des CERHR (Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction) für die Bevölkerung der USA eine Aufnahme an DEHP von 3-30 µg/kg/KG/d an; dies entspricht der Annahme von Doull et al. [35] mit 30 µg/kg/KG/d für die US-amerikanische Bevölkerung. Bei Wams [4] findet sich der Hinweis auf eine Studie, nach der in den Niederlanden täglich zwischen 0,5 und 0,8 mg an DEHP mit der Nahrung aufgenommen werden. Speziell Babynahrung kann hohe Konzentrationen an DEHP aufweisen, wenn bei

der Verarbeitung PVC-Material (Schläuche etc.) verwendet wird [78].

Eine Arbeitsgruppe der TNO (Niederlande) hat im Rahmen eines EU-Projektes gemessen, dass durch Ablutschen von PVC-Spielzeug, das einen DEHP-Gehalt von 24% hat und eine Oberfläche von 10 cm² aufweist, pro Minute 1,67 µg an DEHP gelöst werden. In einem Zeitraum von einer Stunde würden somit ca. 100 µg an DEHP aufgenommen [79].

Die von Kindern täglich verschluckte Menge an Hausstaub wird auf 100 mg geschätzt [80, 81]. „Worst case“-Betrachtungen (für Kinder im Alter bis zu 6 Jahren) gehen sogar von einer oralen Hausstaubaufnahme von bis zu 500 mg aus [82]. Dies würde für Kleinkinder pro g/kg an DEHP im Hausstaub zu einer zusätzlichen Aufnahmemenge von 100-500 µg/d führen.

Gegen den Hausstaub als wesentliche Aufnahmequelle speziell für Kinder sprechen die Ergebnisse der Pilotstudie zum Kinder-Umwelt-Survey des Umweltbundesamts, in der untersucht wurde, ob sich ein Zusammenhang zwischen den Konzentrationen an DEHP-Metaboliten im Urin von Kindern (Alter 3-14 Jahre) und den DEHP-Konzentrationen im Hausstaub aus den Wohnungen der Kinder aufzeigen lässt. Ein Zusammenhang konnte auch bei Analyse unterschiedlicher Hausstaubfraktionen (Siebfraktionen 2 mm und 63 µm) weder für MEHP noch für den Metabolit IX (5-OH-MEHP) bzw. den Metabolit VI (5-oxo-MEHP) festgestellt werden [29].

4.2 Inhalative Aufnahme

Die Aufnahme an DEHP aus der Außenluft dürfte gegenüber den Verhältnissen des Innenraumbereichs zu vernachlässigen sein. Eine vergleichsweise hohe Konzentration an DEHP in Wohnräumen von 2 µg/m³ würde bei einer eingeatmeten Luftmenge von 20 m³ und 100% Resorption (Worst-case-Abschätzung) zu einer Aufnahme von 40 µg/d führen.

4.3 Dermale Aufnahme

Die dermale Resorption von DEHP ist gering. In einem Versuch mit ¹⁴C-markiertem DEHP, bei dem DEHP gelöst in Ethanol auf den Unterarm von Freiwilligen aufgetragen wurde, wurden 1,8% der Dosis in

den ersten 24 Stunden resorbiert; 1,1% der applizierten Radioaktivität wurden in den darauf folgenden 7 Tagen mit dem Urin ausgeschieden [66].

4.4 Intravenöse/parenterale Aufnahme

Eine Vielzahl von medizinischen Bedarfsgegenständen besteht aus PVC-Plastikmaterial. Hierzu zählen Aufbewahrungsbeutel für Blut (Bluttransfusionen), Beutel für die enterale und parenterale Ernährung, Produkte für die Peritoneal- und die Hämodialyse, viele Schläuche und Infusionsbestecke sowie Bedarfsgegenstände für den kardiopulmonaren Bypass und die extrakorporale Membran-Oxygenierung. Im Gegensatz zu anderen Xenobiotika kann die intravenöse oder parenterale Aufnahme an DEHP aus medizinischen Bedarfsgegenständen für einzelne Bevölkerungsgruppen, insbesondere Dialysepatienten und Personen, die häufiger eine Bluttransfusion erhalten, der mit Abstand bedeutendste Aufnahmepfad sein. Dies gilt auch und insbesondere für immature und prämatüre Neugeborene sowie Kleinkinder, die parenteral ernährt werden und/oder der dauernden medizinischen Versorgung bedürfen.

Untersuchungen von Loff et al. [83] zeigen, dass die tägliche DEHP-Dosis, die bei der parenteralen Ernährung von Frühgeborenen mit „verabreicht“ wird und die aus Aufbewahrungsbehältnissen und Infusionsbestecken aus PVC-haltigen Materialien stammt, mindestens 10 mg beträgt, aber durchaus auch 20 mg erreichen kann. Hierbei ist zu beachten, dass während der Lagerung, z.B. des Bluts in DEHP-haltigen PVC-Beuteln, nicht nur DEHP aus dem Beutelmateriale in das Blut übergeht, sondern gleichzeitig die MEHP-Konzentrationen im gelagerten Blut ansteigen, weil MEHP durch enzymatische Hydrolyse aus DEHP gebildet wird [84, 85]. Neugeborene, die eine Bluttransfusion bekommen hatten, wiesen unmittelbar nach der Transfusion Plasmaspiegel bis zu 11,4 mg/L an DEHP und bis zu 15 mg/L an MEHP auf [86]. Bei einer Blutaustauschtransfusion können bis zu 300 mg an DEHP auf den Patienten übertragen werden [4].

Eine sehr ausführliche Abschätzung der Aufnahmemengen an DEHP aus

PVC-haltigen Medizinprodukten und der damit verbundenen Gefährdung wurde kürzlich von der US-FDA (United States Food and Drug Administration) [74] veröffentlicht.

4.5 Berechnung der Gesamtaufnahme an DEHP aus der Ausscheidung an DEHP-Metaboliten im Urin

Grundsätzlich können zur Berechnung der Aufnahme an DEHP für den Menschen die DEHP-Gehalte in Nahrungsmitteln, Luft, Wasser, Hausstaub etc. zugrunde gelegt werden. Gerade bei Weichmachern wie DEHP können die Expositionspfade aber sehr verzweigt sein. Außerdem können individuell spezifische und im Einzelfall sehr hohe DEHP-Expositionen durch besondere Verhaltensweisen (wie z.B. das „Mouthing“ bei Kleinkindern oder Plasma- und Thrombozytenspenden bei Erwachsenen) hervorgerufen werden, die durch externe Belastungsmessungen nur schwer modellierbar sind. Außerdem ist die quantitative Bedeutung der einzelnen Expositionsrouten noch nicht vollständig aufgeklärt. Generell muss darauf hingewiesen werden, dass aufgrund des ubiquitären Auftretens von DEHP im Umweltmonitoring Kontaminationen immer auftreten. Diese Kontaminationen können zwar laborintern durch aufwändige Maßnahmen minimiert werden. In der präanalytischen Phase aber sind diese Kontaminationen nur schwer zu beeinflussen. Dies führt auch dazu, dass bisherige Bestimmungen im Bereich des Umweltmonitorings und auch im Bereich der Lebensmittelanalytik in ihrem Ergebnis teils erheblich differieren und von Fall zu Fall nur schwer miteinander vergleichbar sind.

Die Gesamtaufnahme an DEHP kann daher besser aus der Ausscheidung von DEHP-Metaboliten im Urin berechnet werden. Die Ausscheidung von DEHP-Metaboliten im Urin spiegelt die tatsächliche individuelle Belastung wider und stellt keine „Worst-case“-Betrachtung dar, wie häufig bei Expositionsabschätzungen aufgrund von Umweltmonitoring. Die Grundlagen hierfür wurden durch Arbeiten von Schmid und Schlatter [87] und Kohn et al. [77] gelegt. Schmid und Schlatter [87] ermittelten, welcher Anteil, bezogen auf die Gesamtausscheidung aller Me-

taboliten und die Gesamtaufnahme an DEHP, in Form des jeweils betrachteten Metaboliten ausgeschieden wird (siehe hierzu auch **■ Tabelle 5 und 6**). Kohn et al. [77] geben auf der Grundlage eines linearen 2-Kompartimentmodells eine Formel zur Berechnung der täglichen Aufnahmemenge aus der Ausscheidung der Metaboliten im Urin an:

$$DI \left[\frac{\mu\text{g}}{\text{kg KG}} / \text{d} \right] = \frac{UE \left[\frac{\mu\text{g}}{\text{g}} \right] \cdot CE \left[\frac{\text{mg}}{\text{kg KG}} / \text{d} \right]}{F_{UE} \cdot 1000 \left[\frac{\text{mg}}{\text{g}} \right]} \cdot \frac{MW_D}{MW_M}$$

- DI = daily intake (tägliche Aufnahmemenge),
- UE = urinary excretion (of the metabolite) (Ausscheidung des Metaboliten bezogen auf die Kreatininausscheidung),
- CE = creatinin excretion normalized by body weight (Kreatininausscheidung bezogen auf das Körpergewicht),
- FUE = ratio of urinary excretion to total elimination (Anteil der Urinausscheidung des Metaboliten bezogen auf die Gesamtausscheidung),
- MWD = molecular weight of diester (Molekulargewicht des Diesters),
- MWM = molecular weight of metabolite (Molekulargewicht des Metaboliten).

Für die US-amerikanische und die deutsche Bevölkerung wurden die täglichen Aufnahmemengen von Kohn et al. [77] sowie Koch et al. [13] berechnet. Während für die amerikanische Bevölkerung unter Verwendung der Ausscheidung von MEHP ein 95. Perzentil von 3,6 µg/kg KG/d (Median: 0,71, Maximum 46) für die DEHP-Aufnahme errechnet wurde [77], kamen Koch et al. [13] auf Basis der Sekundärmetabolite IX und VI für die deutsche Bevölkerung zu einem 95. Perzentil für die DEHP-Aufnahme von 51,2 µg/kg KG/d (Median: 13,8, Maximum 166).

Bei diesen Hochrechnungen ist zu beachten, dass die verwendeten metabolischen Ausscheidungsfaktoren der herangezogenen Metabolite im Urin von entscheidender Bedeutung sind. Kohn et al. [77]

legten für ihre Hochrechnung den von Peck und Albro [88] ermittelten MEHP-Faktor und Koch et al. [13] die von Schmid und Schlatter [87] abgeleiteten Faktoren für die Sekundärmetabolite 5OH- und 5oxo-MEHP zugrunde.

Mit den von Koch et al. [89, 90] durchgeführten Metabolismusstudien stehen inzwischen durch die Dosierung von isopenmarkiertem DEHP weitaus verlässlichere Faktoren für zukünftige Hochrechnungen zur Verfügung. Zudem wurden von Koch et al. [89, 90] nicht nur die Ausscheidungsfaktoren der einzelnen Metabolite, sondern auch dazugehörige Ausscheidungskinetik und Halbwertszeiten der Ausscheidung ermittelt. Zudem wurde gezeigt, dass Metabolismus und die Ausscheidungskinetik im umweltrelevanten Dosisbereich zwischen 4,7 µg/kg KG und 650 µg/kg KG nicht dosisabhängig sind.

Die für die Berechnung der täglichen Aufnahmemengen an DEHP aus der Ausscheidung an Metaboliten im Urin erforderlichen Kenngrößen (siehe **■ Tabelle 7**) wurden an Erwachsenen ermittelt. Die Pilotstudie des Umweltbundesamtes an Kindern zwischen 3 und 14 Jahren [29], die Vergleichsstudie zwischen Erwachsenen und Kleinkindern aus einem deutschen Kindergarten [14] und Daten aus Amerika [85] zeigen jedoch, dass bei Kindern die Verhältnisse der ausgeschiedenen Metaboliten in etwa denen der Erwachsenen entsprechen (**■ Tabelle 8**). Möglicherweise ist bei einigen Kindern die Verteilung der Metabolite etwas in Richtung der oxidierten Sekundärmetabolite verschoben [14]. Bei Kindern kann wie bei Erwachsenen von einer nahezu vollständigen Resorption der aufgenommenen DEHP-Dosis ausgegangen werden [37]. Somit können die ermittelten metabolischen Ausscheidungsfaktoren mit kleineren Einschränkungen auch für Kinder angewendet werden.

5 Resorption, Verteilung

Bei oraler Aufnahme sollen, in Abhängigkeit von der Dosis an DEHP, zwischen 4,5% (Dosis: 10 g) und 11-15% (Dosis: 30 mg) resorbiert werden [87, 91]. Die resorbierte Menge an DEHP wurde dabei über die Ausscheidung der Metaboliten im Urin bestimmt. In einer Affenstudie wurden 30% der verabreichten Dosis (100

mg/kg) im Urin wiedergefunden [92]. Wesentlich höhere Aufnahmeleistungen wurden bei Verabreichung von ¹⁴C-markiertem DEHP an Ratten und Meerschweinchen festgestellt [91]. In den Resorptionsversuchen mit Nagetieren erwies sich die biliäre Ausscheidung als bedeutend. Es muss deshalb angenommen werden, dass eine Abschätzung der Resorption an DEHP beim Menschen, die nur die Ausscheidung an DEHP-Metaboliten im Urin berücksichtigt, zur Unterschätzung der Aufnahmewerte führt, da relevante Mengen an DEHP über die Galle mit den Faeces ausgeschieden werden. Diese soll 20-25% der verabreichten Dosis ausmachen [65, 67]. Koch et al. [89] finden nach oraler Gabe von isopenmarkiertem DEHP in einer Humanstudie 47% der Dosis als MEHP, 5OH-MEHP und 5oxo-MEHP im Urin wieder. Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass weitere mengenmäßig bedeutende Metabolite im Urin ausgeschieden werden, kann davon ausgegangen werden, dass ein Großteil des oral applizierten DEHP beim Menschen im Urin ausgeschieden wird [90]. Dies bedeutet aber auch, dass deutlich über 50% des oral applizierten DEHP resorbiert werden und systemisch zur Verfügung stehen.

Quantitative Daten zur Resorption bei inhalativer Exposition liegen nicht vor. Wegen der ausgeprägten Lipophilie des DEHP ist jedoch eine gute Resorption zu vermuten. Die Europäische Kommission geht für Kinder bei Inhalation von vollständiger Resorption, bei Erwachsenen (ohne nähere Erläuterung) von 75% aus [93].

Über die dermale Resorption von DEHP beim Menschen liegen keine Daten vor. Es ist jedoch von einer nur geringen Aufnahme über die Haut auszugehen, da in Experimenten mit Ratten nur ca. 5% der auf die Haut aufgetragenen Dosis (2 mg/cm²) innerhalb von 7 Tagen resorbiert wurden [94].

Über die Verteilung von DEHP und seinen Metaboliten im Körper des Menschen nach oraler Exposition liegen bisher keine Daten vor. Untersuchungen an Ratten mit ¹⁴C-markiertem DEHP zeigen, dass die Radioaktivität sich schnell in alle untersuchten Organe (Nieren, Leber, Fettgewebe, Skelettmuskeln, Lungen, Testes und Herz) ausbreitet, wobei die Leber die höchsten spezifischen Aktivitäten aufweist [91].

Tabelle 6

Relative Verteilung der DEHP-Metaboliten im Humanurin			
Metabolit	Dirven et al. [105]	Schmid und Schlatter [87]	Albro et al. [102]
MEHP	26,2%	10,5%	25,4%
VI (5oxo-MEHP)	18,2%	24,2%	16,8%
IX (5OH-MEHP)	33,8%	32,5%	50,3%
V	21,8%	33,0%	7,4%

Tabelle 7

Anteil an DEHP-Metaboliten im Humanurin in Bezug auf die aufgenommene Menge				
Metabolit	Peck und Albro [88] ^a	Schmid und Schlatter [87] ^b	Anderson et al. [101] ^b	Koch et al. [89] ^b
MEHP	4,1%	1,0-2,4 %	12-14%	7,3%
VI	4,6%	2,2-5,5 %	n.g.	14,9%
IX	14%	3,0-7,4%	n.g.	24,7%

^a intravenöse Dosierung, ^b orale Aufnahme, n.g. = nicht gemessen

Tabelle 8

Verhältnis der DEHP-Metabolite im Urin (arithmetische Mittelwerte)				
Studie	Kollektiv	5OH-MEHP MEHP	5oxo-MEHP MEHP	5OH-MEHP 5oxo-MEHP
Barr et al. [119]	Kinder und Erwachsene (N = 62)	8,2	5,9	1,4
Becker et al. [29]	3-5 Jahre (N = 55)	9,7	7,5	1,4
	6-7 Jahre (N = 50)	10,3	8,0	1,3
	8-10 Jahre (N = 39)	7,5	5,8	1,3
	11-12 Jahre (N = 58)	7,0	5,3	1,3
	13-14 Jahre (N = 48)	5,6	4,3	1,3
	Gesamt (N = 254)	8,0	6,2	1,3

6 Metabolismus

Die Erkenntnisse zum Metabolismus von DEHP beim Menschen beruhen auf Informationen, die nach oraler Exposition oder nach intravenöser Gabe erhalten wurden. Über die Verstoffwechslung nach inhalativer oder dermalen Aufnahme liegen bisher keine Erkenntnisse vor.

DEHP wird in Säugetieren in eine Vielzahl von Metaboliten umgewandelt [95, 96]. Der erste Schritt der Metabolisierung ist die Hydrolyse des DEHP zu MEHP und 2-Ethylhexanol. Sie setzt bereits im Mundraum durch Speichel ein [97, 98]. Die hydrolysierenden Enzyme (Hydrolasen, unspezifische Lipasen bzw. Esterasen) sind in vielen Geweben und im Blutplasma zu finden, insbesondere im Pankreas, in den Darmschleimhäuten, in der Le-

ber und Lunge. Der weitere Metabolismus findet in der Leber statt.

2-Ethylhexanol wird schnell zu 2-Ethylhexansäure oxidiert, die dann durch ω- und (ω-1)-Oxidation über 5-Hydroxy-2-ethylhexansäure, 2-Ethyl-5-ketohexansäure und 2-Ethylhexandicarbonsäure zu Acetat und CO₂ oxidiert wird. Wahl et al. [99] berichten erstmalig, dass neben der 2-Ethylhexansäure auch die in 3-Stellung oxidierten Metaboliten 2-Ethyl-3-hydroxyhexansäure und 2-Ethyl-3-oxohexansäure als Metaboliten des bei der Hydrolyse aus DEHP entstandenen 2-Ethylhexanol im Human-Urin ausgeschieden werden.

Der oxidative Metabolismus von MEHP beginnt mit einer Hydroxylierung der Ethylhexylseitenkette an 5 verschiedenen Positionen unter Bildung primärer und sekundärer Alko-

den Sekundärmetaboliten liegt in der längeren Halbwertszeit der Ausscheidung dieser Metaboliten begründet.

Die Halbwertszeit von DEHP im Blut des Menschen beträgt ca. 30 Minuten [91]. Die Ausscheidung von DEHP erfolgt in Form der Metabolite über den Urin mit einer Halbwertszeit von ca. 12 Stunden [87]. Hierbei muss zwischen einer initialen und einer terminalen Ausscheidungsphase sowie zwischen den einzelnen Metaboliten unterschieden werden. In der initialen Ausscheidungsphase, die ca. 10 Stunden nach der Aufnahme- bzw. Verteilungsphase erfolgt, werden MEHP und die Sekundärmetabolite mit einer kurzen Halbwertszeit von ca. 2-3 Stunden ausgeschieden. Die Halbwertszeiten in der terminalen Phase, die ca. 16 Stunden nach der Applikation erfolgt, beträgt die Halbwertszeit für MEHP 5 Stunden, für 5OH-MEHP und 5oxo-MEHP jeweils 10 Stunden. Ein Teil der Metabolite des DEHP wird möglicherweise mit den Faeces ausgeschieden. Der Hauptteil der Dosis wird jedoch über den Urin ausgeschieden [89, 90]. Die Ausscheidung mit dem Urin erfolgt beim Menschen überwiegend in Form von Glukuroniden [87, 105].

Zusammenfassend ist somit festzuhalten, dass die Sekundärmetabolite des DEHP im Vergleich zu MEHP in wesentlich höheren Konzentrationen im Urin ausgeschieden werden, dass sie deutlich längere Halbwertszeiten der Ausscheidung aufweisen und dass sie vermutlich die ultimal toxischen Produkte des DEHP-Metabolismus darstellen [63, 64]. MEHP stellt zwar eine theoretische und historisch betrachtet auch angewandte Ergänzung des Metabolitenspektrums dar, aus praktischer Sicht ist dessen Aussagekraft neben den genannten Nachteilen gegenüber den Sekundärmetaboliten v.a. Dingen durch dessen Kontaminationsanfälligkeit stark beeinträchtigt.

Die Anwendbarkeit der DEHP Metabolite 2-Ethylhexansäure, 2-Ethyl-3-hydroxyhexansäure und 2-Ethyl-3-oxohehexansäure als Biomonitoring-Parameter einer DEHP-Belastung ist dadurch limitiert, dass Ethylhexanol bzw. dessen Oxidationsprodukte auch aus einer Vielzahl anderer chemischer Verbindungen wie z.B. dem Di(2-ethylhexyl)adipat, einem anderen Weichmacher, oder Tri(2-ethyl-

hexyl)phosphat, einem weit verbreiteten Flammschutzmittel, freigesetzt werden. Außerdem wird Ethylhexanol als Holzschutzmittel, als Lösungsmittel in der Farbenindustrie, als Bestandteil von Aromastoffen (z.B. 2-Ethylhexyl-4-methoxycinnamat) und als UV-Filter (2-Ethylhexyl)salicylat) eingesetzt. In der PVC-Industrie selbst werden Ethylhexanol als Schmiermittel (lubricant) oder Modifier und dessen Salze (Calcium, Barium, Zink) als Stabilisatoren eingesetzt. Ethylhexanol bzw. dessen Metabolite sind deshalb als spezifische Indikatoren einer DEHP-Belastung in der Allgemeinbevölkerung nicht geeignet. Außerdem sind Ethylhexanol und dessen Metabolite als wesentlich geringer toxisch wirksam einzustufen, als die spezifischen Sekundärmetabolite des DEHP.

7 Human-Biomonitoring

7.1 Analytik von DEHP und DEHP-Metaboliten in humanem Blut/Serum/Plasma

Methoden zur Bestimmung von DEHP bzw. der DEHP-Metabolite im Blut, Plasma oder Serum beschränken sich zumeist auf DEHP. Zur instrumentellen Analytik wurden die Hochdruckflüssigkeitschromatographie mit UV-Detektion (HPLC-UV) oder die Gaschromatographie mit massenspektrometrischer Detektion (GC-MS) oder mit einem Elektroneneinfangdetektor (GC-ECD) verwendet.

Eine HPLC-UV-Methode zur Bestimmung von DEHP im Plasma (und in Lösungen zur parenteralen Ernährung) unter Verwendung von Di-n-heptylphthalat als internem Standard beschreiben Kambia et al. [106]. Die Extraktion des DEHP aus dem Plasma erfolgt mit Hexan unter Zusatz von Natronlauge und Acetonitril (zur Ausfällung der Proteine). Die Hexan-Extrakte werden bis zur Trockne eingengt und in Acetonitril wieder aufgenommen. Die Bestimmungsgrenze der Methode beträgt 20 µg/L (= 20 ng/ml) mit einer Wiederfindung von 97% und einer Vergleichspräzision von 9,5%. Ähnliche Aufarbeitungs- und Meßmethoden publizierten Pollack et al. [107] zur Bestimmung von DEHP im humanen Vollblut und Asaoka et al. [108] im Blut japanischer Affen.

Eine GC-MS-Methode zur Bestimmung von Phthalsäureestern, u.a. DEHP (und MEHP) beschreiben Colón et al. [49]. Auch diese Autoren versetzen das Serum mit Acetonitril, extrahieren mit Hexan/Dichlormethan und verwenden diesen Extrakt dann ohne weitere Aufreinigung, jedoch nach Einengen, für die GC-MS. Mit einer ähnlichen Aufarbeitung aber unter Verwendung von GC-ECD bestimmten Sjöberg et al. [86] die Konzentrationen an DEHP und MEHP im Plasma Neugeborener, die eine Bluttransfusion erhalten hatten. Eine HPLC-MS-Methode (HPLC-ESI-MS-MS = Hochdruckflüssigkeitschromatographie gekoppelt mit einem Tandem-Massenspektrometer unter Verwendung der Elektrospray-Ionisation) zur Bestimmung von 9 Phthalat-Metaboliten im Serum, u.a. MEHP, beschreiben Kato et al. [109]. Nach Denaturierung der Proteine mit Phosphorsäure und Dotierung mit ¹³C-markierten internen Standards werden die Proben mit β-Glucuronidase behandelt und die Phthalat-Metabolite an einer SPE-Kartusche angereichert. Sie werden mit Acetonitril und Ethylacetat wieder eluiert, die Eluate zur Trockne eingengt, der Rückstand in Wasser aufgenommen und analysiert. Eine HPLC-MS-Methode publizierten auch Inoue et al. [110] zur Bestimmung von DEHP und MEHP im Blut, wobei deuterierte interne Standards verwendet werden und die Probenanreicherung mittels Säulenschalttechniken erfolgt. Grundsätzlich ist eine Serum- bzw. Blutanalytik der Phthalat-Monoester besonders kritisch zu beurteilen im Bezug auf eine exogene Kontamination aber auch einen endogenen Abbau der Metabolite durch die Lipasen des Blutes [109].

7.2 Analytik von DEHP-Metaboliten im Human-Urin

Schon 1980 wurde von Draviam et al. [111] eine HPLC-Methode mit UV-Detektion zur Analytik von DEHP, MEHP und Phthalsäure sowie weiteren Phthalaten im Humanurin veröffentlicht. Die Urinproben werden nicht hydrolysiert. DEHP und seine Metaboliten werden aus dem stark angesäuerten Urin mit Diethylether extrahiert, der Etherextrakt eingengt und zur HPLC-Analytik in Methanol wieder

Tabelle 9

Konzentrationen an DEHP-Metaboliten in der Normalbevölkerung

Metabolit	Metabolitenkonzentrationen (µg/L)			Probanden		Datenbasis	Literatur
	Bereich	Median	P 95	Alter	Anzahl		
5oxo-MEHP (Metabolit VI)	0,5-544	36,5	156	7-64 J	85	BRD, Süddtschl.	Koch et al. [12, 103]
	0,5-544	32,3	149	15-64 J	79	BRD, Süddtschl.	Koch et al. [12, 103]
	83-169			7-14 J	6	BRD, Süddtschl.	Koch et al. [12, 103]
	4,9-55,1	19,6	36,7	20-59 J	19	BRD, Kindergartenkollektiv	Koch et al. [14]
	2,2-90,6	33,8	71,0	2-6	36	BRD, Kindergartenkollektiv	Koch et al. [14]
		15,6	243		127	USA, Stichprobe	Kato et al. [123]
	4,2-1860	28,3			63	USA, Stichprobe	Barr et al. [119]
	<0,5-1420	41,4	136	3-14 J	254	BRD, 4 Orte	Becker et al. [29]
5OH-MEHP (Metabolit IX)	0,5-818	46,8	224	7-64 J	85	BRD, Süddtschl.	Koch et al. [12, 103]
	0,5-818	44,2	215	15-64 J	79	BRD, Süddtschl.	Koch et al. [12, 103]
	104-228			7-14 J	6	BRD, Süddtschl.	Koch et al. [12, 103]
	10,7-103	32,1	64,0	20-59 J	19	BRD, Kindergartenkollektiv	Koch et al. [14]
	2,7-129	49,6	107	2-6 J	36	BRD, Kindergartenkollektiv	Koch et al. [14]
		17,4	220		127	USA, Stichprobe	Kato et al. [123]
	2,4-2414	35,9			63	USA, Stichprobe	Barr et al. [119]
	1,9-2590	52,1	185	3-14 J	254	BRD, 4 Orte	Becker et al. [29]
MEHP	<1,2-66,6	2,7	21,5	Erwachsene	289	USA, repräsentativ	Blount et al [10]
		4,9	34,5	6-11 J, 12-19 J	328	USA, repräsentativ	CDC [11]
		3,7	22,8	Erw. > 20 J	752		
		3,0	22,4	Kinder 12-18 M	1461		
	<1,2-47,3			Kinder 3-14 J	19	USA, Stichprobe	Brock et al. [134]
	<1,0-226	7,2	29,3	7-64 Jahre	254	BRD, 4 Orte	Becker et al. [29]
	<1,0-177	10,3	37,9		85	BRD, Süddtschl.	Koch et al. [12]

aufgenommen. Ein „Clean-Up“ ist nicht vorgesehen, die quantitative Bestimmung erfolgt über die UV-Absorption (bei 245 nm). Wegen der mangelnden Spezifität und der „schlechten“ Nachweisgrenze von über 1 mg/L für Phthalsäure, MEHP und DEHP können HPLC-UV-Methoden jedoch nicht zur Analytik der „Grundbelastung“ mit DEHP eingesetzt werden. Draviam et al. [112] verwendeten sie zur Bestimmung von DEHP, MEHP und Phthalsäure im Urin von Psoriasispatienten, Patienten, die wegen einer Urämie hämodialysiert wurden oder die sich eine Bypassoperation unterzogen hatten und deren Blut während der Operation mit einem Membranoxygenator oxygeniert worden war.

Eine nicht für die Routine geeignete Methode zur Analytik konjugierter Metaboliten des DEHP im Urin von Meerschweinchen und Mäusen mithilfe der Gaschromatographie und der Fast-bombardment-Massenspektrometrie (FAB-MS) beschrieben Egestad et al. [113]. Sie stellen fest, dass neben den Glucuronsäurederivaten der DEHP-Metaboliten auch, allerdings in geringerem Umfang, Glucoside im Urin von Mäusen vorkommen.

Eine Methode zur Bestimmung der Gesamtkonzentration an Phthalsäure und ihren Estern im Urin beschreiben Albro et al. [114]. Bei Verwendung von 4-Chlorphthalsäure als internem Standard umfasst sie die Hydrolyse des Urins mit Na-

tronlauge zur Freisetzung der Phthalsäure aus allen ihren Verbindungen und die Umsetzung zu Dimethylphthalat mittels Bortrifluorid-Methanol. Die Nachweisgrenze wird mit 0,5 nmol/ml angegeben (dies entspricht ca. 10 µg/L). Dabei werden Phthalsäure sowie alle Phthalsäureester und sich davon ableitende Metaboliten (auch die glucuronidierten Formen) summenparametrisch erfasst. Die Autoren stellen nach Untersuchung von mehr als 200 Urinproben fest, dass keine Urinprobe frei von Phthalaten ist. Leider geben sie aber keine Konzentrationen an.

Für die Analytik einzelner bestimmter Phthalsäureester ist die Methode von Albro et al. [114] ungeeignet.

Sollen spezifisch DEHP-Metaboliten gemessen werden, so sind folgende Schritte zur Probenaufbereitung erforderlich:

- a) enzymatische Hydrolyse mittels lipasefreier Glucuronidase/Sulfatase zur Spaltung der teilweise als Konjugate im Blut (Serum) vorliegenden und größtenteils als Konjugate im Urin ausgetrennten Phthalat-Metaboliten,
- b) Extraktion und „Clean-up“,
- c) Derivatisierung (eventuell ein nochmaliges „Clean-Up“) und
- d) instrumentelle Analyse.

Wird die Hochdruckflüssigkeitschromatographie als Trennmethode verwendet, so kann die Derivatisierung entfallen [1, 101, 115]. In der Methode von Koch et al. [115] erfolgt der „Clean-up“ (Schritt c) nach enzymatischer Hydrolyse automatisiert in einem Online-Verfahren eingebunden in die instrumentelle Analyse (Schritt d).

Spezifische Analysemethoden zur Bestimmung von Phthalat-Metaboliten im Urin umfassen:

- A: Gaschromatographie-Massenspektrometrie:
- MEHP und Metaboliten V, VI und IX: Dirven et al. [105],
 - MEHP und Metaboliten I, IV, V, VI, X und weitere: Schmid und Schlatter [87].
- B: Hochdruckflüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie
- MEHP (und andere Phthalsäuremonoester): Anderson et al. [116], Blount et al. [1], Hoppin et al. [117], Silva et al. [118],
 - MEHP (inkl. Monoethylphthalat, MEHP und Monobutylphthalat wurden chromatographisch nicht getrennt): Anderson et al. [101],
 - MEHP und Metabolite VI und IX sowie andere Phthalat-Monoester: Koch et al. [115], Barr et al. [119],
 - MEHP und Metabolite IV, V, VI und IX: Preuss et al. [120].

Nur die Sekundärmetabolite des DEHP können im Urin (und auch im Blut) kontaminationsfrei gemessen werden. Der Monoester MEHP kann durch diverse hydrolytische Prozesse bereits in der präanalytischen Phase oder unter Umweltbe-

dingungen leicht aus DEHP gebildet werden. Dies trifft auf die Sekundärmetabolite nicht zu. Da DEHP-Kontaminationen nie auszuschließen sind, sind auch Kontaminationen mit MEHP immer möglich.

7.3 Konzentrationen an DEHP und DEHP-Metaboliten in Blut, Plasma, Serum und Urin

7.3.1 Blut/Serum/Plasma

Konzentrationen an DEHP in Blut, Plasma und Serum werden zumeist bei ausgewählten Kollektiven und bei zum Vergleich dienenden Kontrollkollektiven bestimmt. Die Probanden unterliegen zumeist einer speziellen medizinischen Behandlung (parenterale Ernährung, Dialyse, Bluttransfusion etc.).

Colón et al. [49] untersuchten neben Diethylphthalat, Dibutylphthalat, Benzylbutylphthalat und Di-n-octylphthalat die DEHP-Konzentration im Serum junger Mädchen aus Puerto Rico. DEHP war im Serum der Mädchen mit prämaturner Thelarche in 25 von 41 Fällen nachweisbar, die Konzentrationen betragen zwischen „nicht nachweisbar“ und 2098 µg/L. Beim Kontrollkollektiv wurde DEHP nur im Serum von 5 Mädchen (von 35) nachgewiesen, die Konzentrationen lagen zwischen „nicht nachweisbar“ und 719 µg/L. In 3 Fällen hoher DEHP-Konzentration im Serum konnte auch MEHP nachgewiesen werden. Die Konzentrationen an DEHP im Plasma parenteral ernährter Kinder (n=4) betragen 300-6900 µg/L (=0,3-6,9 mg/L) [106]. Eine Zusammenstellung der Literatur, die im Hinblick auf DEHP-Aufnahmemengen und DEHP-Konzentrationen bei Verwendung PVC-haltiger Medizinprodukte relevant ist, wurde, wie bereits oben erwähnt, von der US-FDA [74] veröffentlicht.

7.3.2 Urin

Eine Übersicht zum Vorkommen von DEHP-Metaboliten im Urin verschiedener Kollektive gibt [Tabelle 9](#). Nicht berücksichtigt werden u.a. die Angaben von Liss et al. [121] zu Phthalat-Messungen im Urin von Arbeitern, die am Arbeitsplatz Phthalsäureanhydrid und DEHP ausgesetzt waren, weil in dieser Studie die Summe aller Phthalat-Metaboliten nach Albright et al. [114] gemessen wurde.

Dirven et al. [122] bestimmten die Konzentrationen an MEHP und den Metaboliten V, VI und IX im Urin von Arbeitern einer Stiefelfabrik, die PVC-Stiefel herstellt und im Urin von Arbeitern einer PVC-Kabelfabrik. Beide Fabrikationsstätten wiesen Konzentrationen an DEHP in der Luft bis zu 1,2 mg/m³ auf. Die Konzentrationen der DEHP-Metaboliten wurden jeweils vor und nach der Arbeitsschicht gemessen, sie waren in allen Fällen am jeweiligen Schichtende deutlich erhöht. Die Konzentrationen der einzelnen DEHP-Metaboliten waren von vergleichbarer Größenordnung (siehe [Tabelle 8](#)). Es wurde keine Korrelation zwischen den Konzentrationen in der Luft am Arbeitsplatz (personal air sampling) und den Konzentrationen an DEHP-Metaboliten im Urin der Arbeiter beobachtet.

Eine umfassende Arbeit zum Vorkommen von Phthalatmetaboliten, hier Phthalsäuremonoestern, im Humanurin publizierten Blount et al. [10]. Monoethylphthalat (MEP), Monobutylphthalat (MBP) und Monobenzylphthalat (MBzP) weisen von den Phthalsäurehalbestern die höchsten Konzentrationen auf. MEP, MBP und MBzP spiegeln die Exposition gegenüber Diethylphthalat, Dibutylphthalat und Benzylbutylphthalat wider. Ihre Konzentrationen im Urin betragen bis 16.200 µg/L (MEP), bis zu 4670 µg/L (MBP) und bis zu 1020 µg/L (MBzP). Koch et al. [12] weisen ähnlich hohe Monoesterkonzentrationen im Urin der deutschen Allgemeinbevölkerung nach. Die von Blount et al. [10] gemessenen Konzentrationen an MEHP sind hingegen deutlich geringer, die höchste gemessene Konzentration betrug 66,6 µg/L (weitere Kenndaten siehe [Tabelle 9](#)). Die Autoren führen die gegenüber anderen Phthalsäuremetaboliten geringe Konzentration an MEHP im Urin auf eine geringere Exposition gegenüber DEHP, eine mögliche Speicherung des DEHP im Fettgewebe oder eine weitere Verstoffwechslung des MEHP und/oder die Ausscheidung von MEHP auf anderen Wegen zurück. Geringe MEHP-Konzentrationen im Urin sind aber vor allem dadurch bedingt, dass die Seitenkette des DEHP durch Oxidationsreaktionen wesentlich stärker modifiziert wird, als die kürzer kettigen Phthalate. Die Sekundärmetabolite des DEHP wie Metabolit VI

(5oxo-MEHP) oder Metabolit IX (5OH-MEHP) sind deshalb im Urin in wesentlich höheren Konzentrationen als MEHP zu finden [12, 103].

8 Referenzwerte

Referenzwerte ermöglichen die Beschreibung der Grundbelastung (Istzustand) einer Bevölkerungsgruppe ohne erkennbare spezifische Belastung. Nach Möglichkeit werden die Referenzwerte an einer geeigneten Referenzpopulation ermittelt.

Die Ableitung von Referenzwerten für DEHP kann grundsätzlich auf Grundlage der Konzentrationen des Metaboliten MEHP oder der Metaboliten 5OH-MEHP und 5oxo-MEHP im Urin erfolgen. Die Aussagekraft und Belastbarkeit des Primärmetaboliten MEHP als Biomonitoringparameter wird jedoch im Licht neuester Erkenntnisse bezüglich des ausgeprägten oxidativen Metabolismus von DEHP im Menschen und den bereits genannten Vorzügen der Sekundärmetabolite 5OH- und 5oxo-MEHP (längere Halbwertszeit, höhere Konzentrationen, ultimativ toxische Metabolite und Kontaminationsunempfindlichkeit) zunehmend kritisch beurteilt. Aus den genannten Gründen sieht die Kommission von einer Ableitung eines Referenzwertes für MEHP ab.

Für die Ableitung von Referenzwerten für 5OH-MEHP und 5oxo-MEHP im Urin der deutschen Bevölkerung liegen zwar derzeit keine Daten aus bevölkerungsrepräsentativen Studien vor, von der Kommission werden aber sowohl die Daten aus der Pilotstudie 2001-2002 zum Kinder-Umwelt-Survey [29] als auch die Arbeiten von Koch et al. [13, 14, 103], Barr et al. [119] und Kato et al. [123] als prinzipiell geeignet betrachtet, die Grundbelastung der Allgemeinbevölkerung zu beschreiben.

Aus der Pilotstudie zum Kinder-Umwelt-Survey liegen Ergebnisse von 254 Kindern der Altersgruppe 3-14 Jahren aus 4 Orten Deutschlands vor [29]. Aus diesem Kollektiv wurden folgende Kennwerte ermittelt: für 5OH-MEHP: 95. Populationsperzentil (PP95)=188 µg/L, 95%-Konfidenzintervall des 95. Populationsperzentils (KI-PP95)=172-235 µg/L und für 5oxo-MEHP: P95=139 µg/L; KI-PP95=135-186 µg/L. Diese Daten bestätigen die ersten Befunde

von Koch et al. mit Untersuchungen an einer Stichprobe der deutschen Allgemeinbevölkerung, die Kinder einschloss [13, 103], und sie liegen im gleichen mittleren Konzentrationsbereich wie die Ergebnisse der Untersuchungen an Kindergartenkindern [14].

Für die Evaluierung eines Referenzwertes in der erwachsenen Allgemeinbevölkerung liegen Untersuchungen an kleineren Kollektiven vor [12, 14, 103, 119, 123]. Diese Daten verdichten sich auf die von Koch et al. [12, 103] bei einem Kollektiv der süddeutschen Allgemeinbevölkerung (n=79, 15-64 Jahre, 51 Frauen, 29 Männer und 6 Kinder im Alter von 7-14 Jahre) gefundenen Ausscheidungen. Im 95. Perzentil wurden bei diesen 79 Erwachsenen Konzentrationen von 149 µg 5oxo-MEHP/L Urin und 215 µg 5OH-MEHP/L Urin ermittelt. Die Daten der 19 Erwachsenen der Kindergartenstudie [89] sowie Daten aus den USA [119, 123] liegen im vergleichbaren (mittleren) Konzentrationsbereich und unterstreichen die Belastbarkeit dieser Werte.

Aus den genannten in Deutschland erhobenen Daten werden von der Kommission die folgenden Referenzwerte für Kinder und Erwachsene in Deutschland abgeleitet:

- 5oxo-MEHP: 150 µg/L Urin und
- 5OH-MEHP: 220 µg/L Urin.

9 Zusammenfassung

Weichmacher halten Kunststoffe geschmeidig. Sie sind in praktisch allen Bereichen des täglichen Lebens anzutreffen. Phthalate sind die am häufigsten eingesetzten Weichmacher. Eines der mengenmäßig bedeutendsten Phthalate ist das DEHP, das überwiegend zur Verbesserung der Gebrauchseigenschaften des PVC verwendet wird und von dem weltweit jährlich mehrere Millionen Tonnen produziert wurden. Bei DEHP handelt es sich um eine Substanz, die im Tierversuch an Nagetieren endokrine (endokrine disruptor) sowie reproduktions- und entwicklungs-toxische Eigenschaften aufweist und so in den Hormonhaushalt des Menschen eingreifen und die Fortpflanzungsfähigkeit beeinflussen könnte.

DEHP wird vom Menschen wahrscheinlich überwiegend mit der Nahrung aufge-

nommen, speziell für Kinder sind jedoch auch andere Aufnahmepfade (z.B. Einspeicheln von PVC-Gegenständen) denkbar. Die Belastung des Menschen mit DEHP kann mithilfe des Human-Biomonitorings festgestellt werden. Da DEHP im Körper schnell zum Monoester MEHP und nahezu vollständig weiter zu sekundären oxidativen Metaboliten wie 5OH-MEHP oder 5oxo-MEHP metabolisiert wird, bietet es sich an, die Konzentration dieser oxidativen DEHP-Metaboliten im Urin als Belastungsparameter zu erfassen. Historisch betrachtet hat auch das Human-Biomonitoring über MEHP eine gewisse Bedeutung erlangt, da dies der zuerst zur Verfügung stehende DEHP-Metabolit war. Aufgrund der Kontaminationsanfälligkeit dieses Parameters, der sehr kurzen Halbwertszeit, des geringen Anteils im DEHP-Metabolitenspektrum und auch der geringeren Toxizität gegenüber den oxidativen Sekundärmetaboliten ist MEHP als Biomonitoring-Parameter im Vergleich zu den oxidativen Sekundärmetaboliten als wesentlich schlechter geeignet anzusehen. Ergebnisse zu DEHP-Metabolitenkonzentrationen (5OH-MEHP, 5oxo-MEHP), die in den letzten Jahren in den USA aber insbesondere auch in Deutschland gemessen wurden, zeigen, dass die Bevölkerung deutlich stärker mit DEHP belastet ist, als bisher vermutet. Dies war für die Kommission Human-Biomonitoring der Anlass, die vorliegende Stoffmonographie zu erstellen und Referenzwerte für DEHP-Metaboliten abzuleiten. Basierend auf den Daten der Pilotstudie zum deutschen Kinder-Umwelt-Survey und aus Kollektiven der deutschen Allgemeinbevölkerung, unterstützt von Daten aus den USA, hat die Kommission Referenzwerte für Kinder und Erwachsene in Deutschland von 150 µg 5oxo-MEHP/L Urin und 220 µg 5OH-MEHP/L Urin abgeleitet.

Literatur

1. Blount BC, Milgram KE, Silva MJ, et al. (2000a) Quantitative detection of eight phthalate metabolites in human urine using HPLC-APCI-MS/MS. *Anal Chem* 72: 4127-4134
2. Falbe J, Regitz M (1999) *Römpp Lexikon Chemie*. 10. Aufl, CD-Version, Thieme, Stuttgart

3. Fromme H (1999) Chemische Faktoren Teil 4: Organische Stoffe – Phthalate. In: Beyer A, Eis D (Hrsg.) *Praktische Umweltmedizin – Klinik, Methoden, Arbeitshilfen*. Springer Verlag, Berlin, Folgelieferung 1/99
4. Wams TJ (1987) Diethylhexylphthalate as an environmental contaminant – a review. *Sci Total Environ* 66: 1-16
5. Lorz PM, Towae FK, Enke W, et al. (2002) Phthalic acid and derivatives. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Wiley-VCH, Weinheim
6. ECPI (European Council for Plasticisers and Intermediates) (2004) persönliche Kommunikation
7. Böhme C (1998) Chemikalien mit östrogenem Potential in Lebensmitteln und kosmetischen Mitteln. *Bundesgesundheitsbl* 41: 340-343
8. Rippen G (2000) *Handbuch Umweltchemikalien, Di(2-ethyl-hexyl)phthalat*, 51. Ergänzungslieferung, Ecomed, Landsberg
9. Leisewitz A, Schwarz W (1997) Stoffströme wichtiger hormonell wirkender Substanzen (Alkylphenole und ihre Derivate, Phthalate, Bisphenol A). F+E-Vorhaben, FKZ 106 01 076, Umweltbundesamt, Berlin
10. Blount BC, Silva MJ, Caudill SP, et al. (2000b) Levels of seven urinary phthalate metabolites in a human reference population. *Environ Health Persp* 108: 979-982
11. CDC (Centers for Disease Control and Prevention, Department of Health And Human Services, USA) (2003) Second national report on human exposure to environmental chemicals. National Center for Environmental Health, NCEH Pub. No. 02-0716. (Internet: <http://www.cdc.gov/exposurereport/2nd/pdf/secondntr.pdf>)
12. Koch HM, Rossbach B, Dexler H, Angerer J (2003c) Internal exposure of the general population to DEHP and other phthalates – determination of secondary and primary phthalate monoester metabolites in urine. *Environ Res* 93: 117-185
13. Koch HM, Drexler H, Angerer J (2003b) An estimation of the daily intake of di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) and other phthalates in the general population. *Int J Hyg Environ Health* 206: 1-17
14. Koch HM, Drexler H, Angerer J (2004a) Internal exposure of nursery-school children and their parents and teachers to Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP). *Int J Hyg Environ Health*, 207 (1), 15-22
15. BUA (Beratergremium für umweltrelevante Altstoffe) (1986) Di-(2-ethylhexyl)phthalat. BU-Stoffbericht 4, VCH-Verlagsgesellschaft, Weinheim
16. Staples CA, Peterson DR, Parkerton TF, Adams WJ (1997) The environmental fate of phthalate esters: a literature review. *Chemosphere*, 35: 667-749
17. WHO - International Programme on Chemical Safety (IPCS) (1992) Diethylhexylphthalate. *Environmental Health Criteria* 131. Eigenverlag, Genf
18. BAUCH (Beratung und Analyse - Verein für Umweltchemie e.V.) (1992) Analyse und Bewertung der in der Raumluft und im Hausstaub vorhandenen Konzentrationen der Weichmacherbestandteile Diethylhexylphthalat (DEHP) und Dibutylphthalat (DBP). Sachbericht (gefördert durch die Senatsverwaltung für Stadtentwicklung und Umweltschutz Berlin)
19. Hostrup O, Butte W (2001) Endokrin wirksame Xenobiotika in Haushalten. Konzentrationen in der Luft und im Hausstaub, Quellen und Exposition. Bericht im Auftrag des Niedersächsischen Ministeriums für Frauen, Arbeit und Soziales. Oldenburg
20. Fromme H, Lahrz T, Piloty M, et al. (2004) Occurrence of phthalates and musk fragrances in indoor air and dust from apartments and kindergartens in Berlin (Germany). *Indoor Air* 14: 188-195
21. Wensing M, Bauhof H (1999) Luftverunreinigungen in Pkw-Innenräumen. In: Turowski E, Moriske H-J (Hrsg.) *Handbuch für Bioklima und Lüftungstechnik*. 1. Ergänzungslieferung 4/99, Ecomed-Verlag, Landsberg
22. Uhde E, Bednarek M, Fuhrmann F, Salthammer T (2001) Phthalic esters in the indoor environment - Test chamber studies on PVC-coated wallcoverings. *Indoor Air* 11: 150-155
23. Butte W, Heinzow B, Hensen D, Petzold G (2000/2001) Belastung der Umweltmedien Teil 2: Innenraumluft – Hausstaub. In: Beyer A, Eis D (Hrsg.) *Praktische Umweltmedizin – Klinik, Methoden, Arbeitshilfen*. Springer Verlag, Berlin, Folgelieferung 3/2000 und 1/2001
24. Bruns-Weller E, Pfordt J (2000) Bestimmung von Phthalsäureestern in Lebensmitteln, Frauenmilch, Hausstaub und Textilien. *UWSF - Z Umweltchem Ökotox* 12: 124-130
25. Pöhner A, Simrock S, Thumulla J, et al. (1998) Hintergrundbelastung des Hausstaubes von Privathaushalten mit mittel- und schwerflüchtigen organischen Schadstoffen. *Z Umweltmed* 6: 337-345
26. Becker K, Seiwert M, Kaus S, et al. (2002) German environmental survey 1998 (GerES III): pesticides and other pollutants in house dust. Proceedings of the 9th International Conference on Indoor Air and Climate, Indoor Air 2002, Monterey, California, Vol. IV, 883-887
27. Becker K, Kaus S, Seiwert M, et al. (2004a) Umwelt-Survey 1998. Band V: Hausstaub. Stoffgehalte im Hausstaub aus Haushalten der Bevölkerung in Deutschland. *WaBoLu-Heft* 05/04, Umweltbundesamt, Berlin
28. Schulz C, Becker K, Seiwert M (2002) Kinder-Umweltsurvey. *Gesundheitswesen* 64 Sonderheft 1:69-79
29. Becker K, Seiwert M, Angerer J, et al. (2004b) DEHP metabolites in urine of children and DEHP in house dust. *Int J Hyg Environ Health* 207:409-417
30. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (MAFF) (1996a) Phthalates in food. UK Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. Food surveillance information Sheet 82, London, March 1996
31. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (MAFF) (1996b) Phthalates in infant formulae. UK Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. Food surveillance information Sheet 83, London, March 1996
32. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (MAFF) (1998) Phthalates in infant formulae – Follow-up survey. UK Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. Food surveillance information Sheet 168, London, December 1998
33. Gruber L, Wolz G, Piringer O (1998) Untersuchungen von Babynahrung. *Deut Lebensm Rundschau* 94:177-179
34. Meek ME, Chan PKL (1994) Bis(2-ethylhexyl)phthalate - Evaluation of risks to health from environmental exposure in Canada. *Environ Carcinog & Ecotox Rev-part C - J Environ Sci Health*, 12:179-194
35. Doull J, Cattley R, Elcombe C, et al. (1999) A cancer risk assessment of di(2-ethylhexyl)phthalate: Application of the new U.S. EPA risk assessment guidelines. *Regul Toxicol Pharmacol* 29: 327-357
36. Kavlock R, Boelkeheide K, Chapin R, et al. (2002) NTP Center for the evaluation of risks to human reproduction: phthalates expert panel report on the reproductive and developmental toxicity of di(2-ethylhexyl)phthalate. *Reprod Toxicol* 16: 529-653
37. European Chemicals Bureau (2004) Risk assessment report for Bis(2-ethylhexyl) phthalate (consolidated final report: February 2004). Doc. No. R042_0402_env_hh_4-6
38. Deutsche Forschungsgemeinschaft (2002) Di(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP). In: Greim H (Hrsg.) *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe – Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten*. 35. Ergänzungslieferung, Wiley-VCH, Weinheim
39. Tickner JA, Schettler T, Guidotti T, et al. (2001) Health risks posed by use of di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) in PVC medical devices: A critical review. *Amer J Ind Med* 39: 100-111
40. Poon R, Lecavallier P, Mueller P, et al. (1997) Subchronic oral toxicity of di-n-octylphthalate and di(2-ethylhexyl)phthalate in the rat. *Food Chem Toxicol* 35, 225-239
41. Creasy DM, Foster JR, Foster PMD (1983) The morphological development of di-n-pentyl phthalate induced testicular atrophy in the rat. *J Pathol* 139, 309-321
42. Arcadi FA, Costa C, Imperatore C, et al. (1998) Oral toxicity of bis(2-ethylhexyl)phthalate during pregnancy and suckling in the Long-Evans rat. *Food Chem Toxicol* 36: 963-970
43. Li LH, Jester WF Jr, Orth JM (1998). Effects of relatively low levels of mono-(2-ethylhexyl)phthalate on cocultured Sertoli cells and gonocytes from neonatal rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 153, 258-265
44. Gray LE Jr, Ostby J, Furr J, et al. (2000) Perinatal exposure to the phthalates DEHP, BBP, and DINP, but not DEP, DMP, or DOTP, alters sexual differentiation of the male rat. *Toxicol Sci* 58: 350-356
45. Parks LG, Ostby JS, Lambright CR, et al. (2000) The plasticizer diethylhexyl phthalate induces malformations by decreasing fetal testosterone synthesis during sexual differentiation in the male rat. *Toxicol Sci* 58: 339-342
46. Lovekamp-Swan T, Davis BJ (2003) Mechanism of phthalate ester toxicity in the female reproductive system. *Environ Health Perspect* 111(2):139-145
47. Booker SM (2001) NTP center reports on phthalate concerns. *Environ Health Persp* 109: A260-A261
48. Asai D, Tahara Y, Nakai M, et al. (2000) Structural essentials of xenoestrogen dialkyl phthalates to bind to the estrogen receptors. *Toxicol Lett* 118: 1-8
49. Colón I, Caro D, Bourdony CJ, Rosario O (2000) Identification of phthalate esters in the serum of young Puerto Rican girls with premature breast development. *Environ Health Perspect* 108: 895-900
50. Gray TJB, Butterworth KR (1980) Testicular atrophy produced by phthalate esters. *Arch. Toxicol. Suppl.* 4, 452-455
51. Sjöberg P, Bondesson U, Kjellen L, et al. (1985c) Kinetics of di-(2-ethylhexyl) phthalate in immature and mature rats and effect on testis. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 56, 30-37
52. Sjöberg P, Lindqvist NG, Plöen, L (1986b) Age-dependent response of the rat testes to di(2-ethylhexyl) phthalate. *Environ. Health Perspect.* 65, 237-242

53. Wolfe GW, Layton KA (2003) Multigeneration reproduction toxicity study in rats (unaudited draft): Diethylhexylphthalate: Multigenerational reproductive assessment by continuous breeding when administered to Sprague-Dawley rats in the diet. TherImmune Research Corporation (Gaithersburg, Maryland), TRC Study No 7244-200
54. Fisher JS (2004) Are all EDC effects mediated via steroid hormone receptors? *Toxicology* 205(1-2):33-41
55. Akingbemi BT, Youker RT, Sottas CM, et al. (2001) Modulation of rat Leydig cell steroidogenic function by di(2-ethylhexyl)phthalate. *Biol Reprod* 65(4):1252-1259
56. Akingbemi BT, Ge R, Klinefelter GR, et al. (2004) Phthalate-induced Leydig cell hyperplasia is associated with multiple endocrine disturbances. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(3):775-780
57. Sharpe RM, Irvine DS (2004) How strong is the evidence of a link between environmental chemicals and adverse effects on human reproductive health? *BMJ* 328(7437):447-451
58. Wilson VS, Lambright C, Furr J, et al. (2004) Phthalate ester-induced gubernacular lesions are associated with reduced *inl3* gene expression in the fetal rat testis. *Toxicology Letters* 146: 207-215
59. Fisher JS, Macpherson S, Marchetti N, Sharpe RM (2003) Human testicular dysgenesis syndrome: a possible model using in-utero exposure of the rat to dibutyl phthalate. *Hum Reprod* 18(7):1383-1394
60. Salazar V, Castillo C, Ariznavarreta C, et al. (2004) Effect of oral intake of dibutyl phthalate on reproductive parameters of Long Evans rats and pre-pubertal development of their offspring. *Toxicology* 205(1-2):131-137
61. Lee KY, Shibutani M, Takagi H, et al. (2004) Diverse developmental toxicity of di-n-butyl phthalate in both sexes of rat offspring after maternal exposure during the period from late gestation through lactation. *Toxicology* 203(1-3):221-238
62. Lehmann KP, Phillips S, Sar M, et al. (2004) Dose-dependent alterations in gene expression and testosterone synthesis in the fetal testes of male rats exposed to di-(n-butyl)phthalate. *Toxicol Sci* 81(1):60-68
63. Regnier J, Bowden C, Lhuguenot L (2004) Effects on rat embryonic development in vitro of di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) and its metabolites. *The Toxicologist CD — An official Journal of the Society of Toxicology*, 78 (1-5):187
64. Stroheker T, Cabaton N, Nourdin G, et al (2005) Evaluation of anti-androgenic activity of di-(2-ethylhexyl)phthalate. *Toxicology*, 208(1):115-121
65. International Agency for Research on Cancer (2000) Some Industrial Chemicals. *IARC Monographs* 77: 41-148
66. US-ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service) (2002) Toxicological profile for di(2-ethylhexyl)phthalate. (Internet: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp9.pdf>)
67. Fay M, Donohue JM, De Rosa C (1999) ATSDR evaluation of health effects of chemicals. VI. Di(2-ethylhexyl)phthalate. *Toxicol Ind Health* 15: 651-746
68. Harris CA, Henttu P, Parker MG, Sumpter JP (1997) The estrogenic activity of phthalate esters in vitro. *Environ Health Persp* 105: 802-811
69. Hassauer M, Kalberlah F, Oltmanns J (1991) Humantoxikologische Bewertung von Di-2-(ethylhexyl)-phthalat (DEHP) und Di-n-butylphthalat (DBP). Ableitung von Orientierungswerten. Forschungs- und Beratungsinstitut Gefahrstoffe (FoBiG)
70. Huber WW, Grasl-Kraupp B, Schulte-Hermann R (1996) Hepatocarcinogenic potential of di(2-ethylhexyl)phthalate in rodents and its implications on human risk. *Crit Rev Toxicol* 26: 365-481
71. Koss G, Tesseraux I, Pfeiffer E (1992) Toxikologische Bedeutung des Weichmachers Di(2-ethylhexyl)phthalat in medizinischen Bedarfsgegenständen aus Weich-PVC. Ausarbeitung aus der BAGS, Hamburg (unveröffentlicht)
72. Latini G (2000) Potential hazards of exposure to di-(2-ethylhexyl)-phthalate in babies. *Biol Neonate* 78: 269-276
73. Pfordt J, Bruns-Weller E (1999) Die Phthalsäureester als eine Gruppe von Umweltchemikalien mit endokrinem Potential. Niedersächsisches Ministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten. (Internet: http://cdl.niedersachsen.de/blob/images/C1533029_L20.pdf)
74. US-FDA (2001) Safety assessment of di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) released from PVC medical devices. updated: 5. Sept. 2001 (Internet: <http://www.fda.gov/cdrh/ost/dehp-pvc.pdf>)
75. WWF (2000) Gefahren für die menschliche Gesundheit durch hormonell wirksame Zusätze in Kunststoffprodukten. Flammenschutzmittel, Weichmacher und Organozinnverbindungen. WWF Deutschland, Juli
76. Kuchen A, Müller F, Farine M, et al. (1999) Die mittlere tägliche Aufnahme von Pestiziden und anderen Fremdstoffen über die Nahrung in der Schweiz. *Mitt. Lebensm. Hyg.* 90, 78-107
77. Kohn MC, Parham F, Masten SA, et al. (2000) Human exposure estimates for phthalates. *Environ Health Perspect* 108: A440-A442
78. Tsumura Y, Ishimitsu S, Saito I, (2001) Eleven phthalate esters and di(2-ethylhexyl) adipate in one-week duplicate diet samples obtained from hospitals and their estimated daily intake. *Food Addit Contam* 18: 449-460
79. Rijk R, Ehlert K (2001) Migration of phthalate plasticizers from soft PVC toys and childcare articles. Final Report. TNO Nutrition and Food research, Utrecht, Niederlande, EU-Projekt Nr. 51 566/01.01
80. Lewis RG, Fortmann RC, Camann DE (1994) Evaluation of methods for monitoring the potential exposure of small children to pesticides in the residential environment. *Arch Environ Contam Toxicol* 26: 37-46
81. US-EPA (1997) Exposure factors handbook. National Center for Environmental Assessment. Washington, DC
82. Arbeitsgemeinschaft der leitenden Medizinalbeamten und -beamtinnen der Länder (1995) Standards zur Expositionsabschätzung. Behörde für Arbeit, Gesundheit und Soziales, Hamburg
83. Loff S, Kabs F, Witt K, et al. (2000) Polyvinylchloride infusion lines expose infants to large amounts of toxic plasticizers. *J Pediatr Surg* 35:1775-1781
84. Peck CC, Odom DG, Friedman HI, et al. (1979) Di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) and mono-2-ethylhexyl phthalate (MEHP) accumulation in whole blood and red cell concentrates. *Transfusion* 19: 137-146
85. Peck CC, Odom DG, Albro PW, et al. (1981) Effect of heat on the conversion of di-2-ethylhexyl phthalate to mono-2-ethylhexyl phthalate in human plasma. *Transfusion* 21: 163-166
86. Sjöberg POJ, Bondesson UG, Sedin EG, Gustafson JP (1985) Exposure of newborn infants to plasticizers. Plasma levels of di-(2-ethylhexyl)phthalate and mono-(2-ethylhexyl)phthalate during exchange transfusion. *Transfusion* 25: 424-428
87. Schmid P, Schlatter C (1985) Excretion and metabolism of di(2-ethylhexyl)phthalate in man. *Xenobiotica* 15: 251-256
88. Peck CC, Albro PW (1982) Toxic potential of the plasticizer di(2-ethylhexyl)phthalate in the context of its disposition and metabolism in primates and man. *Environ Health Persp* 45: 11-17
89. Koch HM, Bolt HM, Angerer J (2004b) Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) metabolites in human urine and serum after a single dose of deuterium-labeled DEHP. *Arch Toxicol* 78, 123-130
90. Koch HM, Bolt HM, Preuss R, Angerer J (2005) New metabolites of di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) in human urine and serum after single oral doses of deuterium-labeled DEHP. *Arch Toxicol* (in press, DOI: 10.1007/s00204-004-0642-4)
91. Albro PW, Lavenhar SR (1989) Metabolism of di(2-ethylhexyl)phthalate. *Drug Metab Rev* 21: 13-34
92. Rhodes C, Orton TC, Pratt IS, et al. (1986) Comparative pharmacokinetics and subacute toxicity of di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in rats and marmosets: extrapolation of effects in rodents to man. *Environ Health Persp* 65: 299-307
93. Hassauer M, Schneider K, Schuhmacher-Wolz U (2003) Bericht zum F+E-Vorhaben 201 61 214 „Aktualisierung von TRD (Tolerierbare Resorbierbare Dosis)-Werte- und Prüfwerter Begründungen für den Direktpfad Boden/Mensch gemäß der Bundesbodenschutz- und Altlastenverordnung“ im Auftrag des Umweltbundesamtes - Umweltforschungsplan des Bundesministers für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit
94. Melnick RL, Morrissey RE, Tomaszewski KE (1987) Studies by the National Toxicology Program on bis(2-ethylhexyl) phthalate. *Toxicol Ind Health* 3: 99-118
95. Albro PW, Tondeur I, Marbury D, Jordan S, Schroeder J, Corbett JT (1983) Polar metabolites of di-(2-ethylhexyl)phthalate in the rat. *Biochim Biophys Acta* 760: 283-292
96. Albro PW (1986) Absorption, metabolism, and excretion of di(2-ethylhexyl)phthalate by rats and mice. *Environ Health Perspect* 65: 293-298
97. Niino T, Ishibashi T, Itho T, et al. (2001) Monoester formation by hydrolysis of dialkyl phthalate migrating from polyvinyl chloride products in human saliva. *J Health Sci* 47: 318-322
98. Niino T, Ishibashi T, Ishiwata H, et al. (2003) Characterization of human salivary esterase in enzymatic hydrolysis of phthalate esters. *J Health Sci*, 49: 76-81
99. Wahl HG, Hong QF, Stube D, et al. (2001) Simultaneous analysis of the di(2-ethylhexyl)phthalate metabolites 2-ethylhexanoic acid, 2-ethyl-3-hydroxyhexanoic acid and 2-ethyl-3-oxohexanoic acid in urine by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B* 758: 213-219
100. Tanaka A, Adachi T, Takahashi T, Yamaha T (1975) Biochemical studies on phthalic esters. Elimination, distribution and metabolism of di-(2-ethylhexyl)phthalate in rats. *Toxicol* 4: 253-264
101. Anderson WAC, Castle L, Scotter MJ, et al. (2001) A biomarker approach to measuring human dietary exposure to certain phthalate diesters. *Food Add Contam* 18: 1068-1074
102. Albro PW, Corbett JT, Schroeder JL, et al. (1982) Pharmacokinetics and interactions with macromolecules and species differences in metabolism of DEHP. *Environ Health Persp* 45: 19-25
103. Koch HM, Drexler H, Angerer J (2003d) Die innere Belastung der Allgemeinbevölkerung mit Di(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP). *Umweltmed Forsch Prax* 8: 15-23

104. Mettang T, Alscher DM, Pauli-Magnus C, et al. (1999) Phthalic acid is the main metabolite of the plasticizer di(2-ethylhexyl)phthalate in peritoneal dialysis patients. *Adv Perit Dial* 15: 229-233
105. Dirven HA, van den Broek PH, Jongeneelen FJ (1993b) Determination of four metabolites of the plasticizer di(2-ethylhexyl)phthalate in human urine samples. *Int Arch Occup Environ Health* 64: 555-560
106. Kambia K, Dine T, Gressier B, et al. (2001) High-performance liquid chromatographic method for the determination of di(2-ethylhexyl)phthalate in total parenteral nutrition and in plasma. *J Chromatogr. B* 755: 297-303
107. Pollack GM, Slaughter RL, Buchanan JF, Shen DD (1984) High-performance liquid chromatographic procedure for the determination of di-(2-ethylhexyl)phthalate in human blood specimens. Problems of variable-extraction yield and the use of standard addition for calibration. *J Chromatogr* 311:101-108
108. Asaoka K, Hagihara K, Kabaya H, et al. (2000) Uptake of phthalate esters, di(n-butyl)phthalate and di(2-ethylhexyl)phthalate, as environmental chemicals in monkeys in Japan. *Bull Environ Contam Toxicol* 64: 679-685
109. Kato K, Silva MJ, Brock JW, et al. (2003) Quantitative detection of nine phthalate metabolites in human serum using reversed-phase high-performance liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry. *J Anal Toxicol* 27: 284-289
110. Inoue K, Kawaguchi M, Okada F, et al. (2003) Column-switching high-performance liquid chromatography electrospray mass spectrometry coupled with on-line of extraction for the determination of mono- and di-(2-ethylhexyl) phthalate in blood samples. *Anal Bioanal Chem* 375: 527-533
111. Draviam EJ, Kerkay J, Pearson KH (1980) Separation and quantitation of urinary phthalates by HPLC. *Anal Lett* 13B: 1137-1155
112. Draviam EJ, Pearson KH, Kerkay J (1982) Human metabolism of bis(2-ethylhexyl)phthalate. *Anal Lett* 15B: 1729-1750
113. Egestad B, Green G, Sjoberg P, et al. (1996) Chromatographic fractionation and analysis by mass spectrometry of conjugated metabolites of bis(2-ethylhexyl)phthalate in urine. *J Chromatogr B-Biomed Appl* 677: 99-109
114. Albro PW, Jordan S, Corbett JT, Schroeder JL (1984) Determination of total phthalate in urine by gas chromatography. *Anal Chem* 56: 247-250
115. Koch HM, Gonzalez-Reche LM, Angerer J (2003a) On-line cleanup by multidimensional LC-ESI-MS/MS for high throughput quantification of primary and secondary phthalate metabolites in human urine. *J. Chromatogr. B* 784: 169-182
116. Anderson WAC, Barnes KA, Castle L, et al. (2002) Determination of isotopically labeled monoester phthalates in urine by high performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Analyst* 127: 1193-1197
117. Hoppin JA, Brock JW, Davis BJ, Baird DD (2002) Reproducibility of urinary phthalate metabolites in first morning urine samples. *Environ Health Persp* 110: 515-518
118. Silva MJ, Malek NA, Hodge CC, et al. (2003) Improved quantitative detection of 11 urinary phthalate metabolites in humans using liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B* 789: 393-404
119. Barr DB, Silva MJ, Kato K, et al. (2003): Assessing human exposure to phthalates using monoesters and their oxidized metabolites as biomarkers. *Environ Health Perspect* 111: 1148-1151
120. Preuss R, Koch HM, Angerer J (2005) Biological monitoring of the five major metabolites of di-(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) in human urine using column-switching liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 816(1-2):269-280
121. Liss GM, Albro PW, Hartle RW, Stringer WT (1985) Urine phthalate determinations as an index of occupational exposure to phthalic anhydride and di(2-ethylhexyl)phthalate. *Scand J Work Environ Health* 11: 381-387
122. Dirven HA, van den Broek PH, Arends AM, et al. (1993a) Metabolites of the plasticizer di(2-ethylhexyl)phthalate in urine samples of workers in polyvinylchloride processing industries. *Int Arch Occup Environ Health* 64: 549-554
123. Kato K, Silva MJ, Reidy JA, et al. (2004) Mono(2-Ethyl-5-Hydroxyhexyl) Phthalate and Mono-(2-Ethyl-5-Oxohexyl) Phthalate as biomarkers for human exposure assessment to Di-(2-Ethylhexyl) Phthalate. *Environ Health Perspect* 112:327-330
124. Baars AJ, Theelen RMC, Janssen PJCM, et al. (2001) Re-evaluation of human-toxicological maximum permissible risk levels. RIVM-Report 711 701 025. RIVM Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (National Institute of Public Health and the Environment), Bilhoven, Niederlande (Internet: <http://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/711701025.html>)
125. US-EPA - IRIS (Integrated Risk Information System) (1991) Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP); Last Revised - 05/01/1991 (Internet: <http://www.epa.gov/iris/subst/0014.htm>)
126. Carpenter CP, Weil CS, Smyth HF (1953) Chronic oral toxicity of di(2-ethylhexyl)phthalate for rats, guinea pigs, and dogs. *Arch Indust Hyg Occup Med* 8: 219-226
127. World Health Organization (2003) WHO Guidelines for drinking-water quality, third edition. Chapter 8 - Chemical aspects (Internet: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/en/gdwq3-8.pdf)
128. Scientific Committee for Toxicity, Ecotoxicity and the Environment (1998) Opinion on Phthalate migration from soft PVC toys and child-care articles - Data made available since the 16th of June 1998, opinion expressed at the 6th CSTEE plenary meeting, Brussels, 26/27 November 1998 (Internet: http://europa.eu.int/comm/health/ph_risk/committees/sct/docshhtml/sct_out19_en.htm)
129. Health Canada (1994) Priority substances list. Assessment report: Bis(2-ethylhexyl) Phthalate, Government of Canada, Environment Canada, Health Canada. (Internet: http://www.hc-sc.gc.ca/hecs-sesc/exsd/pdf/bis_2_ethylhexyl_phthalate.pdf)
130. Wolkowski-Tyl R, Jones-Price C, Marr MC, Kinmel CA (1984) Teratologic evaluation of diethylhexyl phthalate in CD-1 Mice, Final Report. National Center for Toxicological Research, Jefferson, AR, PB85-105674
131. David RM, Moore MR, Finney DC, Guest D (2000) Chronic toxicity of di(2-ethylhexyl)phthalate in rats. *Toxicol Sci* 55: 433-443
132. Scientific Committee for Toxicity, Ecotoxicity and the Environment (2004) Opinion on the results of a second Risk Assessment of: Bis(2-ethylhexyl)phthalate. Human Health Part. Brussels, C7/GF/csteoop/DEHP/080104 D(04).Internet: http://europa.eu.int/comm/health/ph_risk/committees/sct/documents/out214_en.pdf oder: <http://www.dehp-facts.com/upload/documents/document51.doc>
133. Butte W, Hoffmann W, Hostrup O, et al. (2001) Endokrin wirksame Substanzen im Hausstaub: Ergebnisse eines repräsentativen Monitorings. *Gefahrst Reinh Luft* 61: 19-23
134. Brock JW, Caudill SP, Silva MJ, et al. (2002) Phthalate monoesters levels in the urine of young children. *Bull Environ Contam Toxicol* 68: 309-314