

UMWELT & GESUNDHEIT

03/2012

# Phthalat-Belastung der Bevölkerung in Deutschland: Expositionsrelevante Quellen, Aufnahmepfade und Toxikokinetik am Beispiel von DEHP und DINP

Band II: Ergänzende Messungen von DEHP, DINP und DiNCH in Lebensmitteln und Migrationsmessungen in Verbraucherprodukten



UMWELTFORSCHUNGSPLAN DES  
BUNDESMINISTERIUMS FÜR UMWELT,  
NATURSCHUTZ UND REAKTORSICHERHEIT

Forschungskennzahl 3707 61 201  
UBA-FB 001637/2

## **Phthalat-Belastung der Bevölkerung in Deutschland: Expositionsrelevante Quellen, Aufnahmepfade und Toxiko- kinetik am Beispiel von DEHP und DINP**

**Band II: Ergänzende Messungen von DEHP, DINP  
und DiNCH in Lebensmitteln und Migrations-  
messungen in Verbraucherprodukten**

von

**Dr. Karla Pfaff, Dr. Oliver Kapfenstein, Dr. Ingo Ebner,  
Dr. Alexander Würtz**

Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin  
Fachgruppe „Analytik und Expositionsabschätzung“

Im Auftrag des Umweltbundesamtes

**UMWELTBUNDESAMT**

Diese Publikation ist ausschließlich als Download unter <http://www.uba.de/uba-info-medien/4392.html> verfügbar. Hier finden Sie auch die weiteren drei Bände zum Forschungsprojekt sowie eine Kurzfassung auf Deutsch und Englisch.

Die in der Studie geäußerten Ansichten und Meinungen müssen nicht mit denen der Herausgeber übereinstimmen.

Abschlussdatum: April 2012

ISSN 1862-4340

Herausgeber: Umweltbundesamt  
Wörlitzer Platz 1  
06844 Dessau-Roßlau  
Tel.: 0340/2103-0  
Telefax: 0340/2103 2285  
E-Mail: [info@umweltbundesamt.de](mailto:info@umweltbundesamt.de)  
Internet: <http://www.umweltbundesamt.de>  
<http://fuer-mensch-und-umwelt.de/>

Bundesinstitut für Risikobewertung  
Max-Dohrn-Str. 8-10  
10589 Berlin  
Tel.: 030 1 8412-0  
Telefax: 030 1 8412-4970  
E-Mail: [pressestelle@bfr.bund.de](mailto:pressestelle@bfr.bund.de)  
Internet: <http://www.bfr.bund.de/>

Redaktion: Umweltbundesamt, Fachgebiet II 1.6 Expositions-  
schätzung, gesundheitsbezogene Indikatoren  
André Conrad, Dirk Wintermeyer

Dessau-Roßlau, Dezember 2012

---

## Inhaltsverzeichnis Band II

<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>V</b>
<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>VI</b>
<b>TABELLENVERZEICHNIS</b> .....	<b>VII</b>
<b>1 EINLEITUNG</b> .....	<b>1</b>
<b>2 ANALYTISCHE METHODEN ZUR UNTERSUCHUNG VON LEBENSMITTELN UND VERBRAUCHERPRODUKTEN</b> .....	<b>2</b>
<b>2.1. Methodenentwicklung zur Untersuchung von Lebensmitteln</b> .....	<b>2</b>
2.1.1 Gaschromatographische Analytik (GC-MS) .....	4
2.1.2 Flüssigchromatographische Analytik (LC-MS/MS) .....	6
<b>2.2. Probenahme und Hintergrundbelastung</b> .....	<b>9</b>
<b>2.3. Gehaltsbestimmungen in Lebensmitteln</b> .....	<b>11</b>
<b>2.4. Zusammenfassung Lebensmittel</b> .....	<b>12</b>
<b>3 BESTIMMUNG DER POTENTIELL MIGRIERFÄHIGEN WEICHMACHER (DEHP, DINP UND DINCH) AUS VERBRAUCHERNAHEN PRODUKTEN UND DEREN MIGRATION IN SPEICHELSIMULANZLÖSUNG BZW. SCHWEIß- SIMULANZLÖSUNG</b> .....	<b>14</b>
<b>3.1. Grundsätzliche Herangehensweise an die Fragestellung der Migration</b> .....	<b>14</b>
<b>3.2. Prinzip der Analysenmethoden</b> .....	<b>15</b>
3.2.1 Bestimmung von potentiell migrierfähigen Weichmachern.....	15
3.2.2 Migration in Speichelsimulanz bzw. Schweißsimulanz.....	15
<b>3.3. Probenahme</b> .....	<b>16</b>
<b>3.4. Ergebnisse</b> .....	<b>17</b>
3.4.1 Bestimmung des Gehalts an Weichmachern in verbrauchernahen Produkten.....	17
3.4.2 Migration in Speichelsimulanz .....	18
3.4.3 Migration in Schweißsimulanz .....	21

<b>3.5.</b>	<b>Zusammenfassung Migration</b> .....	<b>23</b>
<b>4</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	<b>24</b>
<b>5</b>	<b>ANHANG</b> .....	<b>26</b>
<b>5.1.</b>	<b>Prüfvorschrift 1 (Lebensmittel)</b> .....	<b>26</b>
<b>5.2.</b>	<b>Prüfvorschrift 2 (Migration)</b> .....	<b>41</b>
<b>5.3.</b>	<b>Ergebnisse der Lebensmitteluntersuchungen</b> .....	<b>53</b>
<b>5.4.</b>	<b>Ergebnisse Migrationsuntersuchungen</b> .....	<b>56</b>

---

## Abkürzungsverzeichnis

ASE	beschleunigte Lösungsmittel Extraktion (accelerated solvent extraction)
ATBC	Acetyltributylcitrat
BG	Bestimmungsgrenze
DBS	Dibutylsebacat
DEHA	Diethylhexyladipat
DEHP	Diethylhexylphthalat
DEHS	Diethylhexylsebacat
DIDP	Diisodecylphthalat
DiNCH	Diisononylcyclohexan-1,2-dicarboxylat
DiNP	Diisononylphthalat
GC-MSD	Gaschromatographie mit massenselektiver Detektion
IRMM	Institute for Reference Materials and Measurements
LC-MS/MS	Flüssigchromatographie mit Tandem-Massenspektrometrie
NWG	Nachweisgrenze
QM	Qualitätsmanagement
SLE	sorbensgestützte Flüssig-Flüssig Extraktion (solid supported liquid extraction)
SPE	solid phase extraction

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Beispielchromatogramm eines Standards in der GC-MS (A: m/z 149, A1: Intensitätsskala 10fach höher als in A2, B, C; B: m/z 153; C: m/z 155)	5
Abbildung 2:	Kalibrierfunktion von DEHP für den GC-MS	6
Abbildung 3:	Beispielchromatogramm eines Standards in der HPLC-MS/MS (oben Chromatogramm aller Massenübergänge, darunter einzelne Massenübergänge von oben nach unten: DiNCH, DNP-d4, DiNP, DEHP, DEHP-d4, n-DHP)	8
Abbildung 4:	Beispielkalibrierungen HPLC-MS/MS	9
Abbildung 5:	Übersicht über die Zusammensetzung der untersuchten Probenkategorien (n = 138)	16
Abbildung 6:	Untersuchung der Migrationskinetik der angewandten Migrationstechnik	19
Abbildung 7:	Gegenüberstellung der bestimmten Weichmachergehalte und der ermittelten Migrationsraten für DEHP, DiNP und DiNCH	21
Abbildung 8:	Korrelation zwischen den Migrationsansätzen mit Speichel- und Schweißsimulanz-Lösungen	22



## Tabellenverzeichnis

### Tabellen im Berichtsteil

Tabelle 1:	Übersicht über die Ionenübergänge (m/z	7
Tabelle 2:	Zusammenstellung der Untersuchungsergebnisse für DEHP, DiNP und DiNCH in der Lebensmittelgruppe der Getränke	11
Tabelle 3:	Anzahl der Befunde oberhalb der Nachweisgrenze der untersuchten verbrauchernahen Produkte des Berliner Einzelhandels (n = 138)	17
Tabelle 4:	Zusammenfassung der Untersuchungsergebnisse aus der Migration in Speichelsimulanz der Proben aus dem Berliner Einzelhandel	19
Tabelle 5	Zusammenfassung der Untersuchungsergebnisse aus der Migration in Speichelsimulanz der Proben aus den Landesuntersuchungsanstalten	20
Tabelle 6	Zusammenfassung der Untersuchungsergebnisse von ausgewählten verbrauchernahen Produkten (n = 28) aus der Migration in Schweißsimulanzlösung	22

### Tabellen im Anhang

Tabelle 1	Standardverbindungen, Bezug	27
Tabelle 2	Kalibrierungsstandlösungen	30
Tabelle 3	Auflistung der Ionenpaar-Übergänge (m/z) der Weichmacher und zugehörige Potentiale	34
Tabelle 4:	Zusammengefasste Validierungsdaten (Wiederfindung und Präzision) für DEHP	38
Tabelle 5	Zusammengefasste Validierungsdaten (Wiederfindung und Präzision) für DiNP und DiNCH	39
Tabelle 6	Ermittelte Nachweisgrenzen (NWG) und Bestimmungsgrenzen (BG)	40
Tabelle 7	Zusammensetzung der Speichesimulanz-Lösung	43
Tabelle 8	Zusammensetzung der Schweißsimulanz-Lösung	44
Tabelle 9	Zusammenstellung der Kalibrierlösungen zur Migrationsmessung	46
Tabelle 10	MRM (+) Ionenpaar-Übergänge Weichmacher	49
Tabelle 11	Zusammenfassung der ermittelten Wiederfindungen (Wdf in %) und Variationskoeffizienten (VK in %) im Rahmen der Methodvalidierung für beide Simulanzlösungen	52
Tabelle 12	Ergebnisse der Migrationsmessungen	53
Tabelle 13	Ergebnisse der Migrationsuntersuchungen	56



## 1 Einleitung

Dieser Teilbericht des Forschungsvorhabens „Phthalat-Belastung der Bevölkerung in Deutschland: Expositionsrelevante Quellen, Aufnahmepfade und Toxikokinetik am Beispiel von DEHP und DiNP“ beschreibt die Entwicklungsarbeit und Validierung der angewandten Analysemethoden im Bereich der Untersuchung von Lebensmitteln und Bedarfsgegenständen. Angepasst an die Fragestellung der Expositionsabschätzung werden instrumentell-analytische Untersuchungsverfahren heutzutage dahingehend entwickelt, dass die notwendige Nachweisempfindlichkeit (beschrieben durch die Nachweisgrenze) von anthropogen verursachten Kontaminanten im unteren ppb Bereich liegt. Eine derartige Anforderung hat zur Folge, dass die angewandte Messtechnik auf dem neusten Stand von Wissenschaft und Technik beruht. Aus diesem Grund wurden in diesem Forschungsvorhaben die leistungsstarken analytischen Techniken Flüssigkeitschromatographie gekoppelt an ein Tandem-Massenspektrometer (LC-MS/MS) und Gaschromatographie gekoppelt an ein Massenselektiven Detektor (GC-MSD) eingesetzt. Die Anwendung zweier voneinander unabhängiger Messtechniken bietet im Bereich der Phthalat-Analytik weiterhin die Möglichkeit systematische Überbefunde durch die häufig diskutierte Blindwertproblematik von DEHP besser zu beschreiben und schlussendlich zu minimieren. Auch die Kreuzvalidierung der Messtechnik führt zu robusten und vertrauenswürdigen Messergebnissen im unteren ppb Bereich. Das erwähnte Blindwertproblem von DEHP wird in diesem Abschnitt im Zusammenhang mit den zu erreichenden niedrigen Nachweisgrenzen diskutiert. Es soll auch nicht unerwähnt bleiben, dass die Nachweisempfindlichkeit der beiden weiteren hier untersuchten Weichmachern DiNP und DiNCH eine gewisse analytische Herausforderung in sich bergen, da diese Verbindungen als technische Isomere gemischt eingesetzt werden und in den gaschromatographischen Verfahren häufig hohe Nachweisgrenzen aufweisen.

Es werden die Analysenergebnisse von DEHP, DiNP und DiNCH in verschiedenen Lebensmittelgruppen zusammenfassend dargestellt. Die systematische Untersuchung der unterschiedlichen Produktgruppen der Bedarfsgegenstände fokussierte sich zunächst auf die Bestimmung der Weichmachergehalte in den Kunststoffprodukten. Anschließend wurden die Produkte mit einem entsprechenden positiven Weichmacherbefund der Migrationsuntersuchung zugeführt. Die Ergebnisse beider Untersuchungen werden zusammenhängend dargestellt und diskutiert.

## **2 Analytische Methoden zur Untersuchung von Lebensmitteln und Verbraucherprodukten**

Im Jahr 2009 stellte das IRMM (Institute for Reference Materials and Measurements) die Ergebnisse einer europaweiten Evaluierung der in den Laboratorien der offiziellen Lebensmittelüberwachung angewandten Untersuchungsverfahren zur Bestimmung von Phthalaten in Lebensmitteln vor [1]. Dieser Bericht beschreibt den aktuellen wissenschaftlich-technischen Sachstand hinsichtlich der Probennahme, Lagerung von Proben, Extraktion unterschiedlicher Matrices, Probenaufarbeitung und Gerätetechnik. Weiterhin wurden die analytischen Leistungskriterien, Qualitätssicherungsmaßnahmen und die Blindwertproblematik aufgezeigt und diskutiert. Dieser Bericht wurde u. a. als Vorlage zur Entwicklung der hier angewandten Analysenverfahren herangezogen.

### **2.1. Methodenentwicklung zur Untersuchung von Lebensmitteln**

Aufgrund der hohen stofflichen Komplexität von Lebensmitteln ist der Einsatz hochselektiver Analyseverfahren bei der Untersuchung von Weichmachern in Lebensmitteln unabdingbar. Zum Einsatz kamen moderne chromatographische Trennverfahren in Kopplung mit einer massenselektiven Detektion. Neben der Gaschromatographie wurde die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie eingesetzt. Damit standen zwei voneinander unabhängige analytische Messmethoden für die Bestätigung der Analysenergebnisse zur Verfügung. Von Beginn an wurden die Analyten DEHP, DiNP und DiNCH berücksichtigt. Als interne Standardverbindungen kamen die Verbindungen d<sub>4</sub>-DEHP und d<sub>4</sub>-DNP zum Einsatz.

Die für die Methodenentwicklung erworbenen Säfte wurden hinsichtlich der homogenen Verteilung der Trübstoffe vor jeder Untersuchung aufgeschüttelt. Für die Ermittlung der methodenspezifischen Leistungskriterien wie Wiederfindung, Wiederhol- bzw. Vergleichsstandardabweichung wurde für die Entwicklung einer geeigneten Methode mit einer Zielkonzentration von 100 µg/L je Analyt gearbeitet.

Die analytischen Arbeiten dieses Forschungsvorhabens konzentrierten sich zunächst auf die Methodenentwicklung zur Extraktion, Aufreinigung bzw. Anreicherung der Analyten aus Getränken. Dafür wurden Festphasenextraktion (SPE; solid phase extraction), Flüssig- Flüssig Extraktion, beschleunigte Lösungsmittel Extraktion (ASE;

---

accelerated solvent extraction) und sorbengestützte Flüssig-Flüssig Extraktion (SLE; solid supported liquid extraction) auf deren Effektivität untersucht.

Sowohl bei der Festphasenextraktion als auch bei der Flüssig-Flüssig Extraktion wurde deutlich, dass die Trübstoffe in Säften einen bedeutenden Einflussfaktor besitzen, indem diese die unpolaren Analyten stark adsorbieren. Das Abtrennen der Schwebeteilchen mittels Zentrifugation führte zu einer deutlichen Reduzierung der Analyten. Dies zeigte sich in unzureichenden Wiederfindungen bei gleichzeitig hohen Variationskoeffizienten.

Zur besseren Extraktion gerade der an Trübstoffe adsorbierten Analyten kam in einem ersten Schritt die ASE zum Einsatz, da diese Methode üblicherweise hohe Extraktionsausbeuten bei niedrigen Kontaminationsraten verbunden mit einer effektiven Automatisierung aufweist. Die mittels ASE-Extraktion erhaltenen Blindproben wiesen jedoch eine deutliche Kontamination durch die betrachteten Phthalate, besonders DEHP, auf. Bei der Eingrenzung der Kontaminationsquellen konnte in den Dichtungsmaterialien (z. B. Dichtungsringen, Septen) des ASE-Systems Phthalate nachgewiesen werden. In den Extrakten gebrauchter Dichtungsringe wurden ebenfalls die deuterierten internen Standards nachgewiesen. Somit muss zusätzlich zur möglichen herstellungs- oder lagerungsbedingten Kontamination der Dichtmaterialien von einem Übergang der Phthalate während der Extraktion ausgegangen werden. Daraus resultierende Verschleppungen führen zu nicht reproduzierbaren, falschen Ergebnissen. Von einer Verwendung der ASE-Technik zur Probenextraktion wurde im Weiteren abgesehen.

Demgegenüber zeigte die SLE gute Ergebnisse, die eine zuverlässige Extraktion der Analyten erlauben. Nach Optimierung der Lösungsmittel und Extraktionszeit wurde als Elutionsmittel ein Gemisch von Dichlormethan und Aceton (9/1; V/V) und eine Inkubationszeit von 45 Minuten bestimmt.

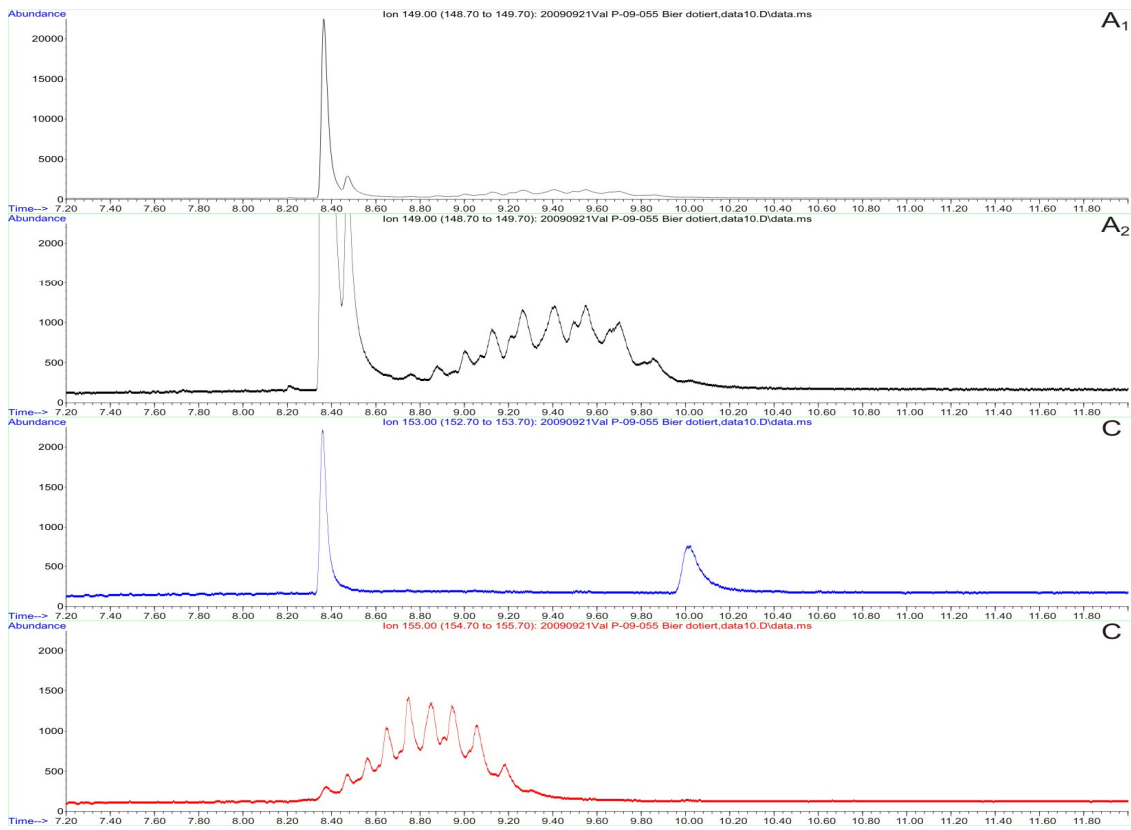
Für diese Methode wurde ebenfalls die bestehende Blindwertproblematik von DEHP minimiert. So konnten unterschiedliche Kontaminationsquellen und Eintragspfade identifiziert und ausgeschlossen werden. Die Benutzung von Kunststoffmaterialien wird weitgehend vermieden, um eine Kontamination auszuschließen.

Es wurde DiNP von verschiedenen Herstellern (Fluka, BASF, Evonik und Lonza) bezogen. Ein Vergleich der Kalibrierungsgeraden der verschiedenen DiNP-Lösungen in dem GC-MSD- und dem LC-MS/MS-System zeigten über den jeweils betrachteten Arbeitsbereich vergleichbare Steigungen der linearen Kalibrierungsfunktion. Daraus wurde die Schlussfolgerung gezogen, dass DiNP von unterschiedlichen Herstellern keinen signifikanten Einfluss auf die Endergebnisse besitzen.

Mit der entwickelten Methode ist es gelungen, reproduzierbare Wiederfindungen für die Analyten im Bereich von 70 bis 130 % (100 µg/L) zu erzielen.

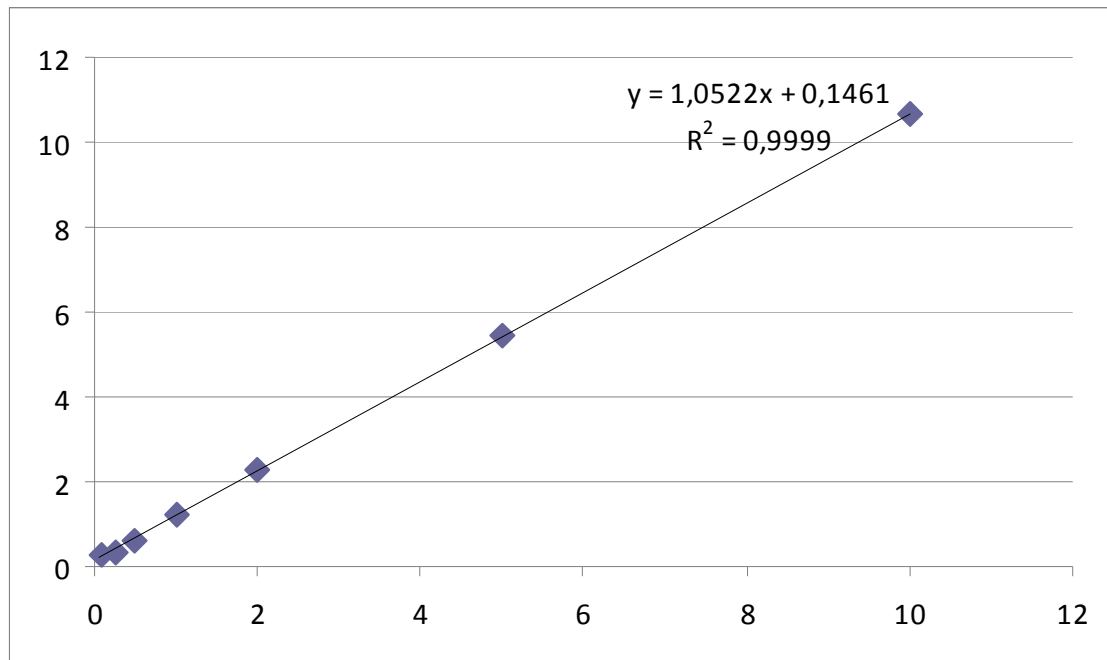
### 2.1.1 Gaschromatographische Analytik (GC-MS)

Die gaschromatographische Trennung (Agilent 6890) der Proben erfolgt mit einer DB-1701 Kapillarsäule. Die Detektion erfolgt mit einem massenselektiven Detektor im Single Ion Monitoring (SIM) Modus (Agilent 5975C). Die Quantifizierung erfolgt über das intensive Ion  $m/z$  149 (für DEHP und DiNP), bzw. über das Ion  $m/z$  155 (DiNCH). Die deuteriummarkierten Standards werden über das Ion  $m/z$  153 quantifiziert (DEHP- $d_4$  und  $n$ -DNP- $d_4$ ). Zur Absicherung (Qualifier) werden weitere Ionenspuren mitgeführt (DEHP:  $m/z$  279; DiNP:  $m/z$  307). Das ubiquitäre Vorkommen des Weichmachers DEHP stellt auch die gaschromatographische Bestimmung vor außerordentliche Herausforderungen. Konsequente Nutzung hochreiner Chemikalien und Lösemittel sowie Gase und eine häufige Überprüfung des Systems sind zur Vermeidung unreproduzierbarer Blindwerte notwendig. Da DEHP sich bei hohen Konzentrationen im Injektor anreichern kann, ist eine strikte Trennung hoch belasteter Proben von niedrig kontaminierten Proben unabdingbar. Idealerweise wird ein für die DEHP-Bestimmung gereinigtes und optimiertes GC-System nicht für andere Proben und Bestimmungen genutzt.



**Abbildung 1: Beispielchromatogramm eines Standards in der GC-MS (A: m/z 149, A<sub>1</sub>: Intensitätsskala 10fach höher als in A<sub>2</sub>, B, C; B: m/z 153; C: m/z 155)**

In der Abbildung 1 sind die einzelnen Massenspuren der Analyten am Beispiel eines Standards dargestellt. Die Massenspur A (m/z 149, in A<sub>2</sub> mit anderer Skalierung dargestellt) weist bei 8,4 min den DEHP-Peak und zwischen 8,7 min und 10 min die Peaks des Isomerengemisches von DiNP auf. Zusätzlich eluiert direkt im Anschluss an den DEHP-Peak der zugesetzte „Spritzenstandard“ n-DHP. Mit Massspur B (m/z 153) werden die internen Standards DEHP-d<sub>4</sub> (8,4 min) und n-DNP-d<sub>4</sub> (10 min) detektiert. In der unteren Massenspur C (m/z 155) sind Peaks des Isomerengemisches von DiNCH abgebildet.



**Abbildung 2: Kalibrierfunktion von DEHP für den GC-MS**

Abbildung 2 zeigt die Linearität der Kalibrierfunktion über einen Bereich von 2 Zehnerpotenzen am Beispiel DEHP. Die gaschromatographische Trennmethode in Kopplung mit der massenselektiven Detektion ist somit gut geeignet die Analyten in Lebensmittelproben zu detektieren.

### 2.1.2 Flüssigchromatographische Analytik (LC-MS/MS)

Die flüssigchromatographische Trennung (Shimadzu; Prominence) der Proben erfolgt isokratisch (Acetonitril/Wasser; 94:6 (V/V)) mittels monolithischer Säule (Merck Chromolith RP-18e; 50 x 2 mm). Die Detektion und Quantifizierung erfolgt mit einem Tripelquadrupol Tandem-Massenspektrometer (Fa. Applied Biosystems API 4000 QTrap). In nachstehender Tabelle 1 sind die Ionenübergänge (Quantifizierungs- und Absicherungs-Übergang) aufgelistet.

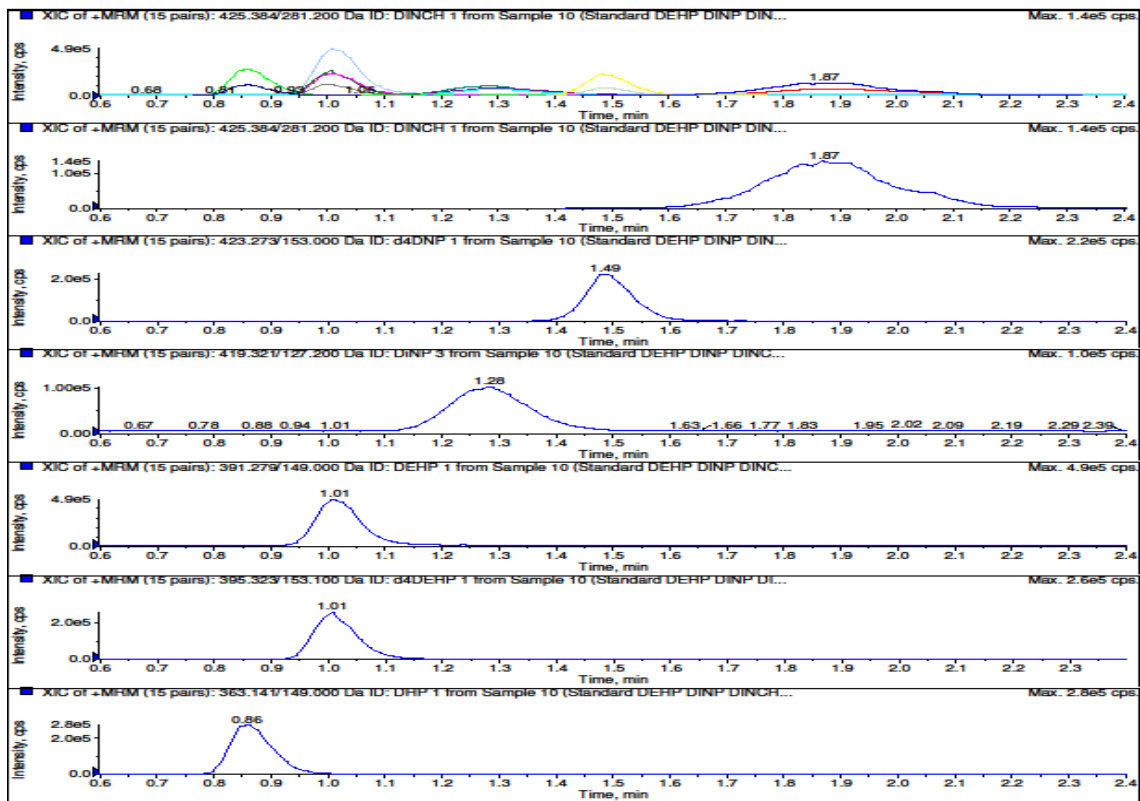
Die Kontaminationsproblematik von DEHP zeigt sich in der LC-MS/MS durch ein deutliches Hintergrundsignal (Grundrauschen). Zur Überprüfung der Kontaminationsfreiheit der Proben werden regelmäßig Blindwert Proben mitgeführt und Chemikalien-



blindwerte gemessen. Dieser Umstand muss in der Bestimmung der Nachweis- und der Bestimmungsgrenze der Methode berücksichtigt werden.

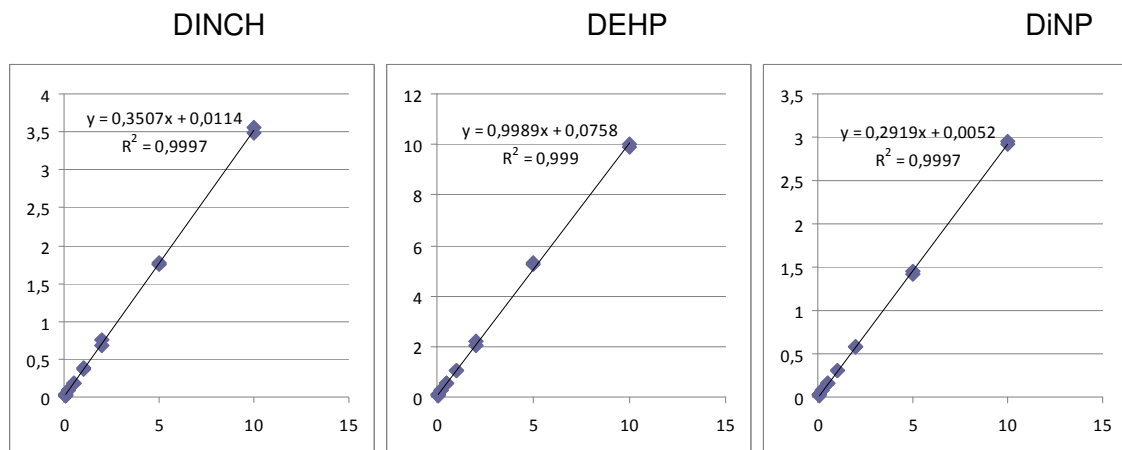
Analyt		Ionenübergänge (m/z)	
		Q1	Q3
DEHP	Quantifizierung	391,2	149,1
	Absicherung	391,2	167,2
DiNP	Quantifizierung	419,3	127,2
	Absicherung	419,3	149,1
DINCH	Quantifizierung	425,3	281,2
	Absicherung	425,3	155,2
d <sub>4</sub> -DEHP	Quantifizierung	395,3	153,1
	Absicherung	395,3	171,1
d <sub>4</sub> -DNP	Quantifizierung	423,2	153,2
	Absicherung	423,2	279,1
DHP	Quantifizierung	363,1	149,1
	Absicherung	363,1	247,2

**Tabelle 1: Übersicht über die Ionenübergänge (m/z)**



**Abbildung 3: Beispielchromatogramm eines Standards in der HPLC-MS/MS (oben Chromatogramm aller Massenübergänge, darunter einzelne Massenübergänge von oben nach unten: DiNCH, DNP-d<sub>4</sub>, DiNP, DEHP, DEHP-d<sub>4</sub>, n-DHP)**

In der obigen Abbildung ist ein Chromatogramm eines Standards mit den einzelnen Spuren der in Tabelle 1 aufgeführten Massenübergänge dargestellt. Im Gegensatz zur gaschromatographischen Bestimmung werden die Substanzgemische des DiNP und DiNCH in der HPLC nicht mehr bis zur Detektion einzelner Peaks aufgetrennt. Die Peakbreite beider Substanzgruppen ist aber deutlich größer, als die Peakbreite der Einzelverbindungen.



**Abbildung 4: Beispielkalibrierungen HPLC-MS/MS**

Auch die Kalibrierung in der HPLC-MS/MS ist über mehrere Zehnerpotenzen linear. Auch mit der hier entwickelten HPLC-MS/MS -Methode ist es somit gut möglich, die interessierenden Analyten in Lebensmittelextrakten zu quantifizieren. Einschränkend ist auf die oben beschriebene Blindwertproblematik des DEHP im chromatographischen Laufmittel zu verweisen. Aufgrund des erhöhten Grundrauschens ist die Nachweis- und Bestimmungsgrenze der HPLC-MS/MS-Methode deutlich schlechter, als die der GC-MS-Methode. Für die DEHP-Gehaltsbestimmungen im Lebensmittel wurde im Folgenden nur die GC-MS-Methode herangezogen.

## 2.2. Probenahme und Hintergrundbelastung

Im Rahmen dieses Forschungsvorhabens wurden insgesamt 80 Lebensmittel aus dem Berliner Einzelhandel erworben. Der Zeitraum der Beprobung datiert zwischen September 2009 bis Februar 2010.

In Teil I des Endberichts ist die expositionsbezogene Rangfolge der zu untersuchenden Lebensmittelgruppen aufgeführt. Ausgehend von der laborinternen Analysenstrategie, wurde zunächst für die Lebensmittelgruppe der Getränke (Erfrischungsgetränke, Säfte, Bier und Kaffee) die Methodenentwicklung und -validierung vorgenommen. Aufbauend auf dem oben beschriebenen Untersuchungsverfahren sollte dann entsprechend der weiteren zu untersuchenden Lebensmittelgruppe (Obst, Gemüse, Brot, Teigwaren, Feinbackwaren und Kartoffeln) angepasste Extraktionstechniken etabliert und mit der etablierten Probeaufarbeitung verknüpft werden.

Detailliert beschrieben wurde die auf Phthalate bezogene Blindwertproblematik von Fankhauser-Noti und Grob [2]. Die Autoren stellten in eigenen Untersuchungen fest, dass die überwiegende Phthalat Kontamination durch die Umgebungsluft verursacht wird. Eine Anreicherung der Phthalate in Lösungsmitteln, Glasware und weiteren Laborverbrauchsmaterialien kann demnach nicht vermieden werden. Bei den zu entwickelnden Untersuchungsverfahren muss über die zu untersuchende Lebensmittelmatrix auch der spezifisch zu erwartende Bereich der Phthalatkonzentration beachtet werden.

Dementsprechend sind die Anforderungen an die zu entwickelnden Analysenmethoden für überwiegend wässrige Lebensmittelmatrixen, welche niedrige Phthalatkonzentrationen (unterhalb des  $\mu\text{g}/\text{kg}$ -Bereiches) erwarten lassen, mit der gleichzeitig einhergehenden Forderung niedriger Nachweisgrenzen für die Betrachtung der Expositionsschätzung, sehr hoch.

In diesem Kontext ist bei der Methodenentwicklung und -validierung und bei QM-Maßnahmen die Möglichkeit falsch positiver Ergebnisse und einer damit einhergehenden Überschätzung der Gesamtexposition besonders zu berücksichtigen. Der gesamte Messvorgang wurde hinsichtlich Probennahme, Probenvorbereitung (z. B. Homogenisierung einer repräsentativen Laborteilprobe), Probenextraktion, Probenanreicherung und analytische Detektion hinsichtlich möglicher Blindwertprobleme ständig überwacht. Dieses Problem bestand besonders bei der Entwicklung der Methode für die Bestimmung von DEHP in wässrigen Lebensmitteln.

Es waren daher im Rahmen der QM-Maßnahmen eine Vielzahl von Messungen (Chemikalienblindwerte, Lösungsmittelblindwerte und Systemabhängige Blindwerte) neben den eigentlichen Untersuchungsproben notwendig, um mögliche falsch positive Daten zu erkennen.

In der aktuellen wissenschaftlichen Literatur zu Phthalaten in Lebensmitteln wird nur in einigen Publikationen [3-7] spezifisch auf die Problemstellung der Hintergrundbelastung und der Blindwerte eingegangen.

Eine weitere Herausforderung für die Entwicklung von expositionsbezogenen Untersuchungsverfahren mit den notwendig niedrigen Nachweisgrenzen ist bei den Weichmachern DiNP und DiNCH gegeben. Das breite Spektrum der strukturähnlichen

Verbindungen in den jeweiligen chromatographischen Systemen führt zu höheren Nachweisgrenzen.

### 2.3. Gehaltsbestimmungen in Lebensmitteln

In den Lebensmitteln wurden mit den vorhergehend beschriebenen Methoden Gehalte an DEHP, DiNP und DiNCH in Getränken bestimmt. Eine tabellarische Zusammenstellung dieser Gehaltsbestimmungen ist in Anhang 5.3 aufgeführt. Nachstehend sind die ermittelten Ergebnisse zusammengefasst (Tabelle 2).

	<b>Bier</b> (n = 22)	<b>Erfrischungsgetränke</b> (n = 25)	<b>Kaffee</b> (n = 12)	<b>Säfte</b> (n = 20)	
<b>DEHP</b>					
< NWG	13	25	12	19	
> NWG < BG	6	0	0	0	
> BG	3	0	0	1	256 <sup>2</sup>
c [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	74; 86; 111 <sup>1</sup>	-			
<b>DiNP</b>					
< NWG	18	19	12	14	
> NWG < BG	3	3	0	1	
> BG	1	3	0	5	
c [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	18	12; 13; 19		7; 10; 13; 47; 103 <sup>1</sup>	
<b>DiNCH</b>					
< NWG	22	25	12	20	

**Tabelle 2: Zusammenstellung der Untersuchungsergebnisse für DEHP, DiNP und DiNCH in der Lebensmittelgruppe der Getränke**

<sup>1</sup> Einzelwerte

<sup>2</sup> DEHP in der Deckeldichtmasse nachgewiesen

## 2.4. Zusammenfassung Lebensmittel

Als geeignete Extraktionsmethode der Analyten aus Getränken (Matrizes Apfel-, Orangen- und Karottensaft, verschiedene Biersorten sowie Kaffee) hat sich die sorbensgestützte Flüssig-Flüssig Extraktion (SLE) herausgestellt.

Die entwickelte Methode lässt sich auf verschiedene Getränke Matrizes wie Bier, Erfrischungsgetränken und Fruchtsäfte anwenden. Nach einer optimierten und angepassten Probenvorbereitung würde diese Methodik ebenfalls für den Bereich Obst und Gemüse (ohne Kartoffeln) anwendbar sein.

Wiederfindungsexperimente (Gehalt im Konzentrationsbereich 50, 125 250 µg/L Getränk) zeigten Wiederfindungsraten für DiNP und DiNCH im Bereich 70 – 130 %, bei gleichzeitig guten Daten für die laborinternen Vergleichstandardabweichung und Wiederholstandardabweichung der beschriebenen Analysenmethode.

Sowohl für die Gaschromatographie, als auch für die flüssigchromatografische Trennung sind optimierte Methoden vorhanden. Somit ist auch die Verifizierung der erzielten Ergebnisse gewährleistet.

Die Befunde der bestimmten Weichmachergehalte in den untersuchten Lebensmitteln zeigen über den hier beprobten Warenkorb an Getränken eine eher geringe Inzidenz an Weichmachern. DEHP konnte in drei von 22 Bierproben in einem Bereich von 100 µg/L bestimmt werden. In den untersuchten Erfrischungsgetränke und Kaffee konnte kein DEHP nachgewiesen werden. In einem Karottensaft wurde ein DEHP Gehalt von 256 µg/L bestimmt. Dieser konnte auf den Gehalt an DEHP in der Deckeldichtmasse des Anrollverschlusses zurückgeführt werden. Der Weichmacher DiNP wurde in 5 von 20 Säften in einem Bereich von 10 bis 100 µg/L bestimmt. Weiterhin waren in drei von 25 untersuchten Erfrischungsgetränken DiNP im Bereich von 10 – 20 µg/L bestimmt worden.

In keinen der untersuchten Lebensmittel konnte der vergleichbar neu auf dem Markt befindliche Weichmacher DiNCH nachgewiesen werden.

Sowohl in den untersuchten Lebensmitteln, als auch in den im Rahmen des Forschungsvorhabens vom BfR erworbenen verbrauchernahen Produkten wurden nur

wenige DiNP belastete Proben festgestellt. Um eine Migration des DiNP trotz dieser unzureichenden Datenlage abschätzen zu können, wurde eine Anfrage an die zuständige Lebensmittelüberwachung durchgeführt, um entsprechendes Probenmaterial zu erhalten. Diese Proben wurden wie in dem Ergebnisteil dargestellt auf ihr Migrationsverhalten hin untersucht. Aufgrund dieses Auswahlverfahrens kann ggf. nicht von einer Repräsentativität ausgegangen werden.

Das Vorhaben, weitere Lebensmittelgruppen zu untersuchen, konnte aus zeitlichen Gründen nicht mehr erreicht werden, da aufgrund der beschriebenen Blindwertproblematik von DEHP sehr viel Entwicklungsarbeit für die wässrigen Lebensmittel investiert werden musste.

### **3 Bestimmung der potentiell migrierfähigen Weichmacher (DEHP, DiNP und DiNCH) aus verbrauchernahen Produkten und deren Migration in Speichelsimulanzlösung bzw. Schweißsimulanzlösung**

#### **3.1. Grundsätzliche Herangehensweise an die Fragestellung der Migration**

Zur Evaluierung der in dem Einzelhandel vorhandenen Produkte wurden aus den zuvor definierten Produktgruppen eine repräsentative Probenanzahl entnommen.

Diese Proben wurden auf deren Gehalt an Weichmachern untersucht. Ausschließlich die Proben mit positiven Weichmacherbefunden wurden anschließend für die Migrationsuntersuchung herangezogen.

Daher wurde mit einer etablierten Analysenmethode [8] die verbrauchernahen Produkte zunächst auf deren Gehalt an DEHP, DiNP und DiNCH untersucht. Neben diesen Stoffen können mit dieser Analysentechnik auch die Weichmacher Diethylhexyladipat (DEHA), Dibutylsebacat (DBS), Diethylhexylsebacat (DEHS), Diisodecylphthalat (DIDP) und Acetyltributylcitrat (ATBC) mitbestimmt werden.

Ausschließlich die dabei positiv auf die genannten Weichmacher getesteten verbrauchernahen Produkte wurden anschließend für die Migrationsuntersuchungen herangezogen.

Im Rahmen dieses Forschungsvorhabens wurde die Migrationsprüfung von verbrauchernahen Produkten mit der darin aufgeführten „Head over Heels“-Methode durchgeführt. Dies liegt begründet in den ermittelten Ergebnissen einer Methodvalidierungsstudie. Darin wurde mit unterschiedlichen Migrationstechniken versucht, einen aus einer *in vivo* Studie erhaltenen Zielwert (Migrationsrate) im Labormaßstab abzubilden [9]. Es zeigte sich, dass mit der „Head over Heels“-Methode dieser Zielwert erreicht werden kann. Weiterhin zeigen die Ergebnisse dieser Methodvalidierungsstudie [10, 11] akzeptable Leistungskriterien (Wiederholbarkeit, Vergleichbarkeit). Dieses zusätzliche Kriterium für die Auswahl des „Head over Heels“-



Schüttlers ist für die resultierenden Migrationsraten für eine Expositionsabschätzung unabdingbar.

Mit dieser validierten Methode besteht die Möglichkeit, Migrationsraten von Weichmachern aus Polyvinylchlorid (PVC) Kunststoff zu ermitteln und somit eine Exposition durch das sog. Mouthing zu beschreiben.

In Anlehnung an den EU Report 20001 EUR 19826 EN [11] wurde die dort aufgeführte Methodik zur Migrationsprüfung von Weichmachern aus Spielzeug in Speichelsimulanz angewandt. Die aufgeführte Analysetechnik wurde auf den aktuell vorhandenen instrumentell-analytischen Stand gebracht. Diese bedingte eine neue Validierung der gesamten Methodik.

## 3.2. Prinzip der Analysemethoden

### 3.2.1 Bestimmung von potentiell migrierfähigen Weichmachern

Der Nachweis und die quantitative Bestimmung der Weichmacher erfolgt, indem ein Stück Kunststoff aus dem Probenmaterial geschnitten wurde und in Tetrahydrofuran vollständig gelöst wurde. Der gelöste Kunststoff wurde durch Umfällpräzipitation mittels Ethanol ausgefällt. Der Überstand enthält die zu untersuchenden Weichmacher, welche mittels GC-FID vermessen wurden.

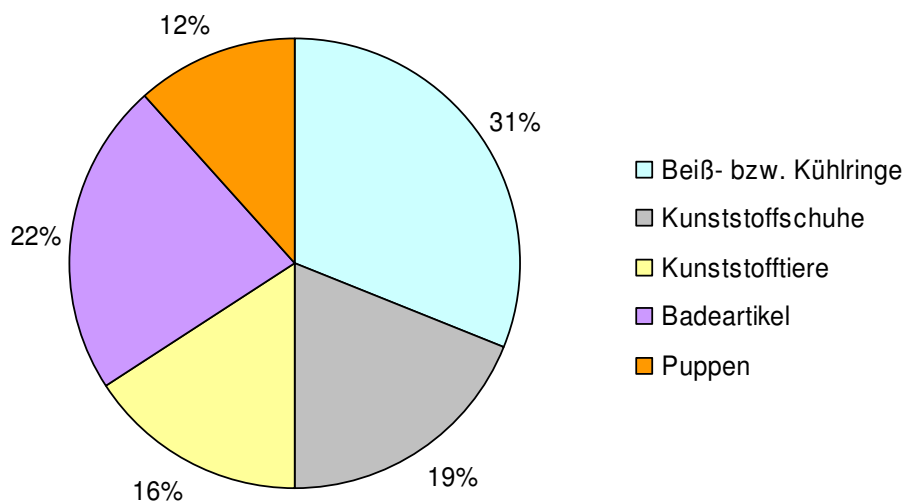
### 3.2.2 Migration in Speichelsimulanz bzw. Schweißsimulanz

Eine aliquote definierte Oberfläche des verbrauchernahen Produkts wird mit einer Speichelsimulanz- bzw. Schweißsimulanzlösung in einem „Head over Heels“-Schüttler für eine Analyse der Migration inkubiert. Anschließend wird ein Teil der Migrationslösung mit Dichlormethan extrahiert. Das Dichlormethan wird anschließend eingedampft und die Analyten mit einem definierten Acetonitril Volumen aufgenommen. Die Probe kann anschließend mit Hilfe der LC-MS/MS gemessen werden.

### 3.3. Probenahme

Im Rahmen dieses Forschungsvorhabens wurden insgesamt 138 verbrauchernahe Produkte aus dem Berliner Einzelhandel erworben. Der Zeitraum der Beprobung datiert zwischen September 2009 bis Februar 2010. Die Auswahl der Untersuchungsproben wurde aufgrund folgender Kriterien getroffen:

- Expositionsabhängige Probenahme hinsichtlich Kontaktzeit, Kontaktoberfläche und Kontaktart (z. B. Mouthing)
  - Beiß- bzw. Kühlringe
  - Kunststoffschuhe
  - Kunststofftiere
  - Badeartikel
  - Puppen
- Aufgrund der angewandten Migrationsmethode wurde bei der Beprobung darauf geachtet, dass die jeweiligen verbrauchernahen Produkte eine planare Fläche in der Größe von 10 cm<sup>2</sup> aufwiesen.



**Abbildung 5: Übersicht über die Zusammensetzung der untersuchten Probenkategorien (n = 138)**

Die zuständigen Vertreter der Landesuntersuchungslaboratorien stellten für dieses Forschungsvorhaben ebenfalls Untersuchungsproben zur Verfügung.

### 3.4. Ergebnisse

#### 3.4.1 Bestimmung des Gehalts an Weichmachern in verbrauchernahen Produkten

Zusätzlich zu den Weichmachern DEHP, DiNP und DiNCH wurden ebenfalls DEHA, DBS, DEHS und DIDP untersucht. In der nachstehenden Tabelle 3 sind die Befunde oberhalb der Nachweisgrenze der 138 untersuchten verbrauchernahen Produkte zusammengefasst. Insgesamt wurden in 78 (56,5 %) Proben die hier untersuchten Weichmacher nachgewiesen. Es ist darauf hinzuweisen, dass diese Inzidenz stark durch die Produktauswahl geprägt ist und somit kein kausaler Zusammenhang auf die im Markt befindlichen Kunststoffprodukte abgeleitet werden kann.

	<b>DEHP</b>	<b>DiNP</b>	<b>DiNCH</b>	<b>DEHT</b>
Anzahl	5	0	56	15
	(3,6 %)		(39,9 %)	(10,9 %)

**Tabelle 3: Anzahl der Befunde oberhalb der Nachweisgrenze der untersuchten verbrauchernahen Produkte des Berliner Einzelhandels (n = 138)**

Der DEHP Gehalt der fünf positiven Proben lag in einem Bereich zwischen 6,5 % - 25,8 %. Befunde oberhalb der Nachweisgrenze lagen in den untersuchten verbrauchernahen Produkten für DiNCH zwischen 5,0 % - 29,7 % und für DEHT zwischen 4,3 % - 30,8 %.

Aufgrund der geringen Anzahl an nachgewiesenen DEHP und DiNP Gehalten in dem angeführten Probenpool erfolgte eine Abfrage der Landesuntersuchungslaboratorien hinsichtlich vorhandener positiver DEHP und DiNP Befunde in unterschiedlichen verbrauchernahen Produkten.

Daraus resultierten insgesamt 31 Untersuchungsproben, welche für dieses Forschungsvorhaben zur Verfügung gestellt werden konnten. Davon zeigten 22 Proben

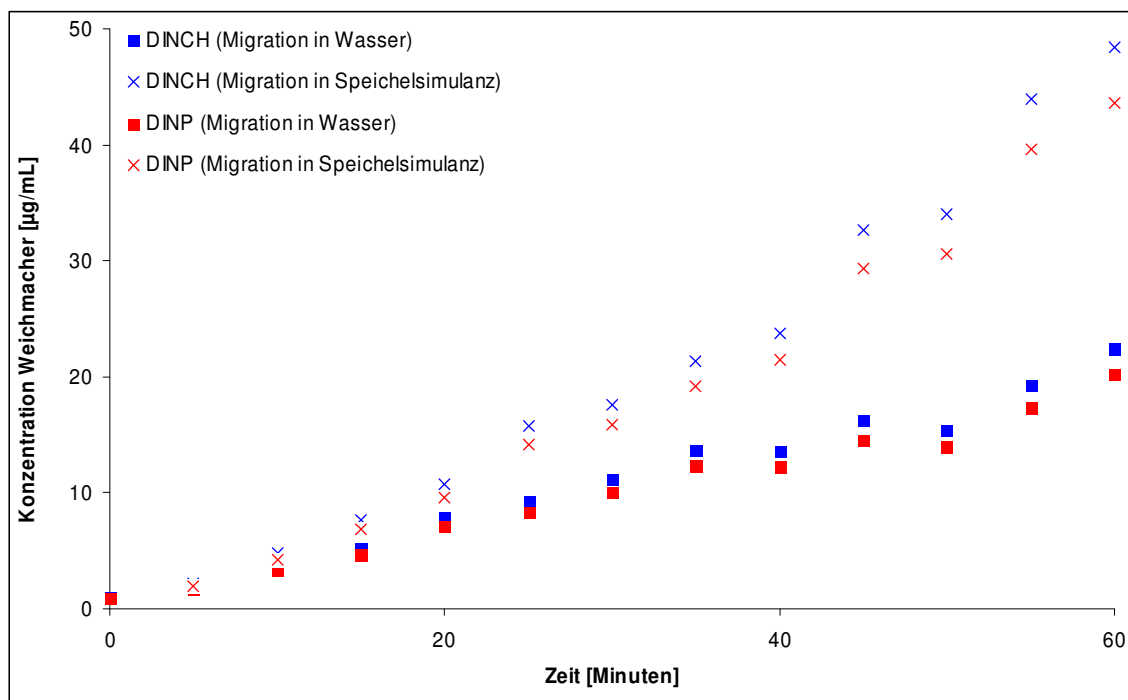
DEHP Gehalte zwischen 1,3 % - 42,2 % und 20 Proben DiNP Gehalte zwischen 5,0 % - 53,7 %. Elf dieser Proben enthielten beide Weichmacher. In diesen Produkten wurde DiNCH, DiDP, DEHS und DEHT nicht nachgewiesen. Lediglich in einer Probe wurde der Weichmacher DEHA zu 5,3 % bestimmt.

### 3.4.2 Migration in Speichelsimulanz

Basierend auf den Ergebnissen der Gehaltsuntersuchungen wurden die Migrationsuntersuchungen mit Speichelsimulanz für DEHP und DiNCH mit der angegebenen Methode durchgeführt. Grundsätzlich zeigen die vorliegenden Befunde, dass die Proben mit einem nachgewiesenen Weichmacheranteil letztendlich auch zu einer Migration in Speichelsimulanz führen.

In Voruntersuchungen zur Methodenetablierung wurde deutlich, dass die Quantifizierung der zu untersuchenden Weichmacher mittels LC-MS/MS mit der eingesetzten Speichelsimulanz-Lösung nur mit Hilfe von internen Standards zuverlässige Ergebnisse erzielt. Dies wurde in vergleichenden Untersuchungen zwischen Speichelsimulanz-Lösung und dest. Wasser verifiziert.

Unter Verwendung von PVC Kunststoffplatten wurde die Migrationskinetik anhand von DiNP und DiNCH überprüft. Diese Kunststoffplatten hatten einen DiNP Gehalt von 50 % bzw. einen DiNCH Gehalt von 47,5 %. Das Ergebnis dieser Untersuchung ist in nachfolgender Abbildung zusammengefasst. Es konnte mit diesen Untersuchungen nochmals verifiziert werden, dass der Einsatz von Speichelsimulanz notwendig ist, um realistische Daten für die Expositionsabschätzung zu erhalten.



**Abbildung 6: Untersuchung der Migrationskinetik der angewandten Migrationstechnik**

Eine Zusammenfassung der ermittelten Migrationsraten oberhalb der Nachweisgrenze ist in den nachstehenden Tabellen 4 und 5 dargestellt.

Migration	DEHP	DiNCH
n (> NWG)	5	56
Mittelwert [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ ]	1,9	10,0
Median [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ ]	2,3	9,0
Min [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ ]	0,8	0,2
Max [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ ]	3,0	33,4

**Tabelle 4: Zusammenfassung der Untersuchungsergebnisse aus der Migration in Speichelsimulanz der Proben aus dem Berliner Einzelhandel**

Einschränkend ist bei den Proben aus den Landesuntersuchungsanstalten zu bemerken, dass deren Oberflächen nicht die methodisch notwendig geometrisch Abmessung für die Migrationsprüfung aufwiesen. Von diesen Proben wurde die

Oberfläche ebenfalls bestimmt, so dass die flächenbezogene Berechnung der Migrationsrate auch hier gegeben ist.

Migration	DEHP	DiNP
n (> NWG)	22	21
Mittelwert [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ ]	9,8	8,4
Median [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ ]	7,6	7,0
Min [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ ]	0,3	0,4
Max [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ ]	27,4	28,2

**Tabelle 5: Zusammenfassung der Untersuchungsergebnisse aus der Migration in Speichelsimulanz der Proben aus den Landesuntersuchungsanstalten**

Unter Berücksichtigung der Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten (DEHP = 7,5; DiNP = 9,98; DiNCH = 10) der untersuchten Weichmacher kann ein Vergleich der Migrationsraten von DEHP, DiNP und DiNCH vorgenommen werden. Dabei ist festzustellen, dass eine mittlere Migrationsrate in einem Bereich von 10  $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$  und die maximale Migrationsrate in einem Bereich von 30  $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$  liegen.

Eine Korrelation zwischen den bestimmten Weichmachergehalten in den verbrauchernahen Produkten und den ermittelten Migrationsraten konnte nicht verifiziert werden. Dies wird aus nachfolgender Abbildung ersichtlich, in der eine Gegenüberstellung der bestimmten Gehalte und der ermittelten Migrationsraten aller drei untersuchten Weichmacher dargestellt ist.

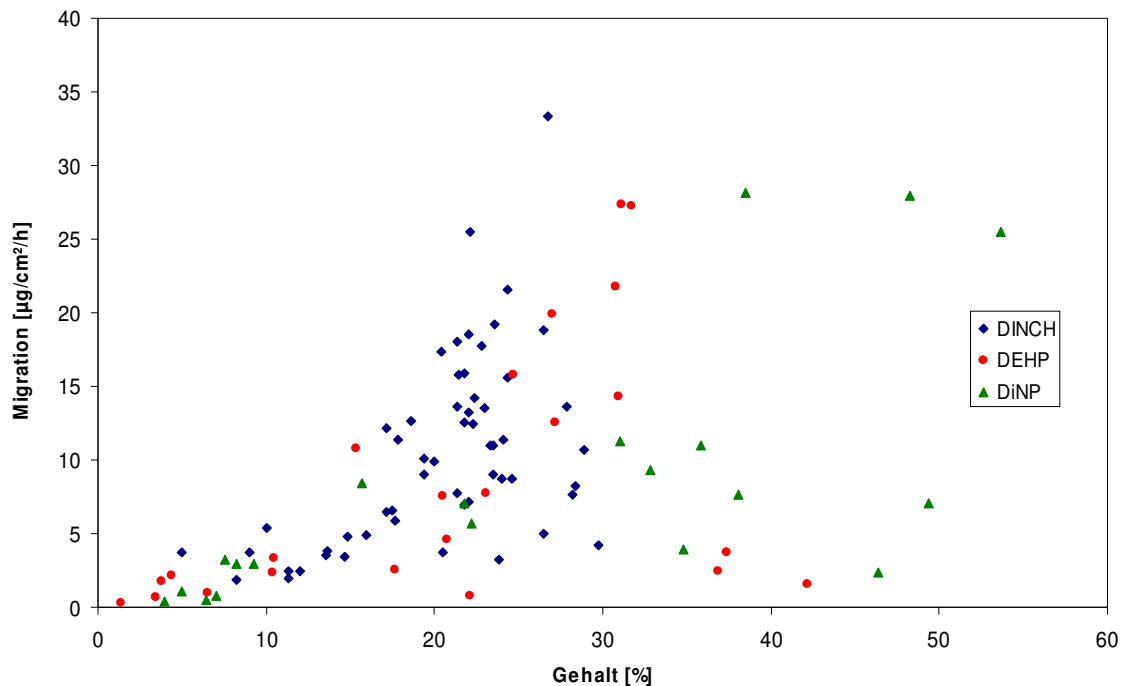


Abbildung 7: Gegenüberstellung der bestimmten Weichmachergehalte und der ermittelten Migrationsraten für DEHP, DiNP und DiNCH

### 3.4.3 Migration in Schweißsimulanz

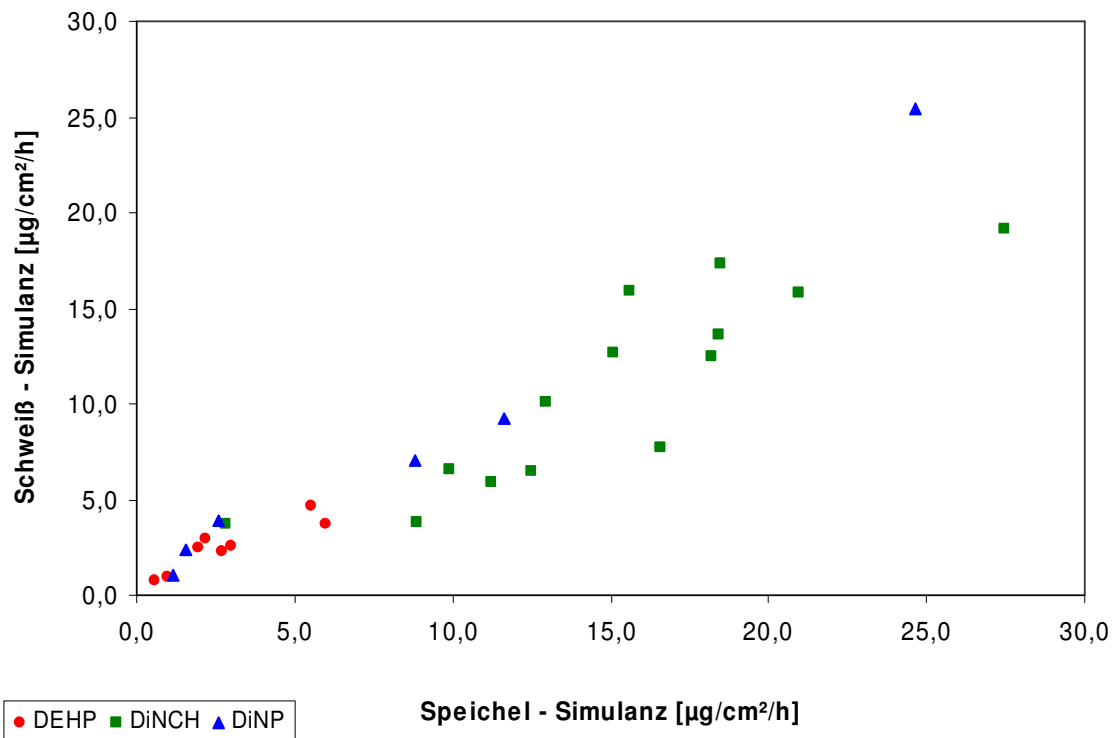
Neben der oben beschriebenen Untersuchung auf orale Exposition (sog. Mouthing) von verbrauchernahen Produkten wurde ausgehend von diesem Warenkorb 28 ausgewählte Proben, welche ihrer Bestimmung nach eine dermale Exposition aufwiesen, mit einer Schweißsimulanz-Lösung untersucht. Dafür wurde ebenfalls die oben beschriebene Migrationstechnik angewandt.

Eine Zusammenfassung der ermittelten Migrationsraten oberhalb der Nachweisgrenze ist in der nachstehenden Tabelle 6 dargestellt.

	DEHP	DiNP	DiNCH
n (> NG)	8	6	14
Mittelwert [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ ]	2,9	8,4	14,9
Median [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ ]	2,4	5,7	15,4
Min. [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ ]	0,6	1,2	2,8
Max. [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ ]	6,0	24,6	27,4

**Tabelle 6: Zusammenfassung der Untersuchungsergebnisse von ausgewählten verbrauchernahen Produkten (n = 28) aus der Migration in Schweißsimulanzlösung**

Die vergleichbaren Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten der untersuchten Weichmacher ermöglichen deren Zusammenfassung in der nachstehenden Abbildung für die Darstellung einer Korrelation bei der hier angewandten Migrationstechnik zwischen den beiden Simulanzien. Basierend auf diesen Daten ergibt sich ein Korrelationskoeffizient von 0,94.



**Abbildung 8: Korrelation zwischen den Migrationsansätzen mit Speichel- und Schweißsimulanz-Lösungen.**



### 3.5. Zusammenfassung Migration

Basierend auf der normierten Methode zur Untersuchung der Migration von Weichmachern aus Spielzeug wurde die darin beschriebene Analysentechnik auf den neusten wissenschaftlich-technischen Stand gebracht, indem die LC-MS/MS Analysentechnik für diese Untersuchungen Anwendung finden sollten. Demnach wurde nochmals eine Validierung der Methode durchgeführt um die in der Norm beschriebenen Daten zu verifizieren. Die Verifizierung dieser Daten konnte mit der LC-MS/MS Methode gezeigt werden, so dass damit die Grundlage für die anschließenden Messungen gelegt war.

Es wurden im Rahmen dieser Untersuchungen zunächst 138 verbrauchernahe Produkte auf deren Gehalt an DEHP, DiNP und DiNCH hin untersucht. Dabei konnte lediglich in fünf Produkten DEHP und in 56 Proben DiNCH bestimmt werden. DiNP wurde in keiner dieser Proben nachgewiesen. Weiterhin wurden von der amtlichen Lebensmittelüberwachung noch Proben mit DEHP und DiNP positiven Befunden abgefragt. Daraus resultieren weitere 31 Untersuchungsproben.

Die im Anschluss mit den weichmacherhaltigen verbrauchernahen Produkten durchgeführten Migrationsuntersuchungen wurden zunächst mit Speichel-Simulanzlösung und anschließend ausgewählte Produkte mit Schweißsimulanzlösung durchgeführt.

Betrachtet man die erzielten Ergebnisse für DEHP, DiNP und DiNCH auf der Grundlage des hier untersuchten Probenumfangs im Überblick, so findet man Migrationsraten für die Weichmacher bezogen auf das arithmetische Mittel im Bereich von 10  $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ . Die maximalen Migrationsraten befinden sich für alle drei Weichmacher in einem Bereich von 30  $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ .

Die Befunde von 28 untersuchten Produkten in Schweißsimulanz-Lösung zeigen vergleichend zu der Prüfung mit Speichelsimulanz-Lösung leicht niedrigere Werte, weisen aber, methodisch bedingt, eine gute Korrelation zu diesen auf.

## 4 Literaturverzeichnis

- [1] EUR 23682 EN – 2009. Methods for the determination of phthalates in food. Outcome of a survey conducted among European food control laboratories. Thomas Wenzl
- [2] Fankhauser-Noti, A., Grob, K., Blank problems in trace analysis of diethylhexyl and dibutyl phthalate: Investigation of the sources, tips and tricks. *Anal. Chim. Acta* 2007, 582, 353-360. DOI: 10.1016/j.aca.2006.09.012
- [3] Sorensen, L. K., Determination of phthalates in milk and milk products by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2006, 20, 1135-1143. DOI: 10.1002/rcm.2425
- [4] Petersen, J. H., Breindahl, T., Plasticizers in total diet samples, baby food and infant formulae. *Food Addit. Contam.* 2000, 17, 133-141. DOI: 10.1080/026520300283487
- [5] Del Carlo, M., Pepe, A., Sacchetti, G., Compagnone, D., Mastrocola, D., Cichelli, A. Determination of phthalate esters in wine using solid-phase extraction and gas-chromatography-mass spectrometry. *Food Chem.* 2008, 111, 771-777.
- [6] Tsumura, Y., Ishimitsu, S., Saito, I., Sakai, H., *et al.*, 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.* 2001, 18, 449-460. DOI: 10.1080/02652030117484
- [7] Leung, S. C., Giang, B. Y., Phthalate esters as potential contaminants during GC analysis of environmental samples using electron capture and mass spectrometric detectors. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 1993, 50, 528-532. DOI: 10.1007/BF00191241
- [8] Biedermann-Brem, S.; Biedermann, M.; Fiselier, K.; Grob, K. Compositional GC-FID analysis of the additives to PVC, focusing on the gaskets of lids for glass jars. *Food Addit. Contam.* 22, 2005
- [9] CSTEE, 2001 Opinion on the report: Validation of methodologies for the release of diisononylphthalate (DINP) in saliva stimulant from toys (2001 EUR 19826 EN) ([HTTP://WWW.WEBSITECALL.COM/CONTENT/DOWNLOAD/1000/7730/FILE/THE%20EC%20JOINT%20RESEARCH%20CENTRE%20.PDF](http://www.websitecall.com/content/download/1000/7730/file/the%20ec%20joint%20research%20centre%20.pdf))
- [10] Simoneau C. and R. Rijk – “Standard Operation Procedure for the determination of release of di-isononyl phthalate (DINP) in saliva stimulant from toys and childcare articles using a head over heels dynamic agitation device”. EUR technical report EUR 19899 EN (2001)

- [11] Simoneau C., H. Geiss, Roncari, A., Zocchi, P., Hannaert, P. – “Validation of methodologies for the release of di-isononyl phthalate in saliva simulant from toys” EUR technical report EUR 19826 EN (2001)

## **5 Anhang**

### **5.1. Prüfvorschrift 1 (Lebensmittel)**

#### **Bestimmung der Weichmacher DEHP, DiNP und DiNCH in Säften, Bieren, Erfrischungsgetränken und Kaffee mittels HPLC-ESI-MS/MS und GC - MSD**

##### **Zweck und Anwendungsbereich der Methode**

###### **1. Geltungsbereich**

Diese Prüfvorschrift gilt für die Abteilung Sicherheit für verbrauchernahe Produkte in der Fachgruppe Analytik und Expositionsabschätzung (P).

###### **2. Definitionen**

Weichmacher sind Stoffe, die spröden Duroplaste und Plasten (Thermoplaste) zugesetzt werden, um diese geschmeidiger und elastischer im Gebrauch oder der weiteren Verarbeitung zu machen.

###### **3. Prinzip**

Die Saft- bzw. Erfrischungsgetränke und Bierproben werden zunächst homogenisiert. Ein aliquoter Anteil der Probe wird mittels sorbengestützter Flüssig-Flüssig Extraktion (SLE) an einer Extrelut® Säule extrahiert. Die chromatographische Trennung und Detektion der Analyten wird mittels LC-MS/MS sowie mit der GC-MS untersucht.

###### **4. Reagenzien/Geräte**

###### **4.1 Standardverbindungen**

Die verwendeten Standards der Analyten und die internen Standards wurden von verschiedenen Firmen, wie in unten stehender Tabelle 1 aufgeführt, bezogen.

**Tabelle 1 (Anhang): Standardverbindungen, Bezug***Analytische Standardverbindungen*

Stoffname	Abk.	CAS Nummer	Hersteller
Diisononylphthalat	DINP	6815-48-0 <sup>3</sup>	Fluka
Diisononylphthalat	DINP	28553-12-0 <sup>3</sup>	BASF
Diisononylphthalat	DINP	28553-12-0 <sup>3</sup>	Evonik
Diisononylphthalat	DINP	28553-12-0 <sup>3</sup>	Lonza
Diethylhexylphthalat	DEHP	117-81-7	FLUKA
Diisononylcyclohexanoat	DiNCH	166412-78-8 474919-59-0	BASF

*Interne Standardverbindungen*

d <sub>4</sub> -Diethylhexylphthalat	D4-DEHP		Fluka
d <sub>4</sub> -Di-n-nonylphthalat	d <sub>4</sub> -n-DNP		Dr. Ehrenstorfer
Diheptylphthalat	DHP		Dr. Ehrenstorfer

**4.2 Chemikalien**

Methanol	(hypergrade)
Dichlormethan	(HPLC grade)
Acetonitril	(hypergrade)
dest. Wasser	(HPLC grade)
Aceton	(für die Gaschromatographie)
Isooktan	(für die Gaschromatographie)
Ameisensäure	(LC-MS grade)

Aluminiumoxid ausgeheizt bei 350 °C für mind. 4 Stunden

<sup>3</sup> Erläuterungen zu den Isomeren und deren CAS Nummern siehe Band I, Kapitel 2.2

### 4.3 Hilfsmittel

Direktverdrängende Pipetten (1-1000  $\mu\text{L}$ )  
Kolbenhubpipetten (1-5000  $\mu\text{L}$ )  
Diverse Vollpipetten aus Glas (1-20 mL)  
Diverse Messkolben  
HPLC Vials  
Bördelkappen und Bördelzange  
Pasteurpipetten  
Auffangschale  
Ständer für Extrelut Kartuschen  
Metallhähne mit Lueranschluß  
Kanülen zum Einmalgebrauch (Luer)  
Aluminiumfolie  
Pipettierhilfe  
Zentrifugengläser

### 4.4 Minimierung der Blindwerte für DEHP

Alle Glasgeräte müssen vor Benutzung ausgeheizt werden (350 °C für mind. 4 Stunden, dann konstant 100 °C bis zur Entnahme aus dem Ofen) und in entsprechenden Exsikkatoren gelagert werden. Die Glasgeräte werden mit Aluminiumfolie verschlossen. Unpolare Lösungsmittel müssen mit 3 % Aluminiumoxid (w/v) ausgeschüttelt werden, dazu wird ausgeheiztes  $\text{Al}_2\text{O}_3$  in eine ausgeheizte Glasflasche gegeben und das entsprechende Lösungsmittel zugegeben. Zur Bindung wird das  $\text{Al}_2\text{O}_3$  aufgeschüttelt und im Ultraschallbad für ca. 30 Minuten beschallt. Nach Inkubation über mehrere Stunden kann das gereinigte Lösungsmittel in ein ausgeheiztes Glasgefäß dekantiert werden. Bei ungenügender Sedimentation kann das  $\text{Al}_2\text{O}_3$  durch Zentrifugation entfernt werden (ca. 5000  $\times$  g, 5 Minuten). Zur Reinigung von Kunststoffmaterial werden die Gegenstände gründlich mehrfach mit gereinigtem Lösungsmittel abgespült und im Stickstoffstrom oder im Heizschrank getrocknet.

### 4.5 Standardlösungen

#### 4.5.1 Herstellung der Standard-Stammlösungen

500 mg Substanz (DEHP, DiNP, und DINCH) werden jeweils in einen 50 mL Messkolben eingewogen und in Acetonitril gelöst. Die Lösung hat eine Konzentration von 10 mg/mL.

#### **4.5.2 Herstellung der Internen Standard-Stammlösungen**

500 mg Substanz ( $d_4$ -DEHP bzw.  $d_4$ -DNP) werden jeweils in einen 50 mL Messkolben exakt eingewogen und in Acetonitril gelöst. Die Lösung hat eine Konzentration von 10 mg/mL.

#### **4.5.3 Herstellung der Standard-Stammlösungen des Spritzenstandards**

500 mg DHP werden in einen 50 mL Messkolben eingewogen und in Acetonitril gelöst. Die Lösung hat eine Konzentration von 10 mg/mL.

#### **4.5.4 Herstellung der Standard-Zwischenverdünnung**

Aus der unter Punkt 4.5.1 erstellten Lösung wird jeweils 0,5 mL abgenommen, in einen 50 mL Messkolben überführt und mit Acetonitril aufgefüllt. Die Lösung hat eine Konzentration von 100  $\mu$ g/mL.

#### **4.5.5 Herstellung der Internen Standard-Zwischenverdünnung**

Aus der unter Punkt 4.5.2 erstellten Lösung werden jeweils 0,5 mL abgenommen, in einen 50 mL Messkolben überführt und mit Acetonitril aufgefüllt. Die Lösung hat eine Konzentration von 100  $\mu$ g/mL.

#### **4.5.6 Herstellung der Zwischenverdünnung des Spritzenstandards**

Aus der unter Punkt 4.5.3 erstellten Lösung werden 0,5 mL abgenommen, in einen 50 mL Messkolben überführt und mit Acetonitril aufgefüllt. Die Lösung hat eine Konzentration von 100  $\mu$ g/mL.

#### **4.5.7 Herstellung der Wiederaufnahmelösung**

Aus der in 4.5.6 erstellten Lösung wird exakt 100  $\mu$ L entnommen und in einen 100 mL Messkolben gegeben. Mit Acetonitril wird die Lösung aufgefüllt, verschlossen und gut

geschüttelt. Die erstellte Acetonitrillösung mit einem DHP Gehalt von 100 ng/mL wird zur Wiederaufnahme der Proben nach dem Eindampfen verwendet.

Alle Lösungen sind in abgedunkelten Standardflaschen bei -18° C gelagert 6 Monate haltbar.

#### 4.5.8 Herstellung der Mischkalibrierungslösung

Die Herstellung der Mischkalibrierungslösung wird wie in nachfolgender Tabelle 2 beschrieben in 20 mL Messkolben angesetzt. Die Messkolben werden mit Acetonitril aufgefüllt, verschlossen und gut geschüttelt.

**Tabelle 2 (Anhang): Kalibrierungsstandlösungen**

	Volumen Zwischenverdünnungen [µL]	<b>Konz. Weichmacher [ng/mL]</b>	Volumen IS Zwischenverdünnungen [µL]	<b>Konz. IS Kalibrierstamm-lösungen [ng/mL]</b>	Volumen Spritzenstandard Zwischenverdünnungen [µL]	<b>Konz. Spritzenstandard Kalibrierstamm-lösung [ng/mL]</b>
	<b>4.5.4</b>		<b>4.5.5</b>		<b>4.5.6</b>	
Std 1	1	<b>5</b>	20	<b>100</b>	20	<b>100</b>
Std 2	2	<b>10</b>	20	<b>100</b>	20	<b>100</b>
Std 3	5	<b>25</b>	20	<b>100</b>	20	<b>100</b>
Std 4	10	<b>50</b>	20	<b>100</b>	20	<b>100</b>
Std 5	20	<b>100</b>	20	<b>100</b>	20	<b>100</b>
Std 6	40	<b>200</b>	20	<b>100</b>	20	<b>100</b>
Std 7	100	<b>500</b>	20	<b>100</b>	20	<b>100</b>
Std 8	200	<b>1000</b>	20	<b>100</b>	20	<b>100</b>

Diese Lösungen sind bei 4°C verschlossen und unter Lichtausschluß aufzubewahren.

## 5. Durchführung

### 5.1 Probenvorbereitungen

#### 5.1.1 Vorbereitung und Reinigung der Extrelutröhrchen



Der Inhalt der Extrakttröhrchen ist mit einem Filterpapier abgedeckt. Vor dem Spülen der Röhrchen ist dieses zu entfernen. Dazu wird mit einer Pasteurpipette vorsichtig der Rand des Filterpapiers angehoben und das Filterpapier aus der Glassäule entnommen.

Zur Entfernung von möglichen Kontaminationen mit Weichmachern werden die Extraktssäulen zunächst zur Reinigung gespült. Gleichzeitig dient dieser Schritt der Reinigung der Hähne und Kanülen, so dass ein vollständiger Aufbau der Extraktionsapparatur notwendig ist. Mit einem Becherglas werden 40 mL des Elutionsmittels (90/10 Dichlormethan/Aceton V/V [gereinigt über  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ]) über die Extraktssäule gegeben. Die Säule kann dann vom Ständer entnommen werden und in Aluminiumfolie so verpackt werden, dass das obere Ende frei liegt, um ein optimales Abdampfen des Spüllösungsmittels zu gewährleisten. Das Abdampfen erfolgt in einem Heizschrank bei 70 °C für eine Stunde.

Die Vorlage (100 mL Spitzkolben mit NS 14) ist ausgeheizt und mit Aluminiumfolie verschlossen. Die Vorlage wird unter der entsprechenden Säule positioniert, die Kanüle durchbohrt dabei die Aluminiumfolie nur an einer Stelle, so dass der Spitzkolben nicht gegenüber der Atmosphäre exponiert ist. Die Tropfgeschwindigkeit wird mit dem Hahn geregelt, so dass die 50 mL einzusetzender Eluent in etwa 5 - 10 Minuten durch die Säule eluieren.

### *5.1.2 Vorbereitung der Getränke*

Untersuchungsproben aus Saft mit deutlichem Trübstoff-Anteil werden für eine homogene Verteilung dieser, direkt in der Flasche aufgeschüttelt.

Bei karbonisierten Getränken (Bier, Erfrischungsgetränken) wird zunächst ein aliquoter Teil in einen Erlenmeyerkolben überführt und mit einem Magnetrührer über Nacht langsam entgast. Zur vollständigen Entfernung der gelösten Gase in der Probe, werden diese im Ultraschallbad entgast.

## 5.2 Extraktionsdurchführung

### 5.2.1 Mitführen von Quantifizierungsstandards

Bei allen Untersuchungen ist ein Chemikalienblindwert mitzuführen. Dabei wird eine Extrelutkartusche (nach Reinigung) ohne Zugabe einer Probe mit 3 µL internem Isotopenstandard (d<sub>4</sub>-DEHP und d<sub>4</sub>-DNP, Lösung aus 4.5.5) versetzt (direkt auf das Extrelutmaterial), die Kartusche wird wie unter Kapitel 5.2.2 beschrieben behandelt. Die hier ermittelten Werte für Verunreinigungen sind in die Quantifizierung mit einzubeziehen.

### 5.2.2 Probenaufgabe und Extraktion

Zur Aufbringung der internen Standards wird in ein 10 mL Messkolben ein Volumen von 10 µL der Lösung aus 4.5.5 aufgegeben. Nach Abdampfen des Lösungsmittels kann die flüssige Probe (3 mL) aufgebracht werden. Die Standards werden durch vortexen und kurzen Ultraschalleinsatz solubilisiert.

Exakt 3 mL Probe (mit internem Standard siehe Pkt. 5.1.2) werden mit einer Kolbenhubpipette entnommen und auf die vorbereitete Extrelut-Säule (siehe Pkt. 5.1.1) pipettiert. Die Extrelut-Säule wird mit einem Stück Aluminiumfolie verschlossen und zur Verteilung der Flüssigkeit auf dem Rack inkubiert.

***HINWEIS: Sollte die Flüssigkeit nicht einsickern, so kann eine Luftblase in der Diatomeenerde dafür verantwortlich sein. Zur Entfernung kann mit einer Pasteurpipette in die Diatomeenerde eingestochen werden, so dass die Luft entweichen kann.***

Nach 40 Minuten wird die Elution durchgeführt. Dabei wird portionsweise der Eluent (90/10 Dichlormethan/Aceton [V/V; gereinigt über Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>]) mit einer 10 mL Vollpipette in das Extrelut-Säule gegeben. Die Flüssigkeit braucht vor Aufgabe einer neuen Portion nicht vollständig zu versickern. Das Eluat (50 mL) wird in einem 100 mL Spitzkolben aufgefangen (Pkt. 5.1.1).

Zur Entfernung des Lösungsmittels wird eine Verdampfungseinheit (IR Dancer) eingesetzt. Um einen Siedeverzug auszuschließen, werden ausgeheizte Siedesteine

eingesetzt. Bei einer Temperatur von 50 °C und einem Vakuum (400 mBar für 5 Minuten, 200 mBar für 5 Minuten, schließlich maximale Pumpenleistung) wird das Lösungsmittel vollständig verdampft.

***HINWEIS: Es ist darauf zu achten, dass das Gefäß nur kurz der Atmosphäre exponiert wird.***

Zur Wiederaufnahme des Extraktes wird 1 mL Acetonitril eingesetzt, zur Kontrolle des Volumens und der Wiederaufnahmeeffektivität versetzt mit 100 ng/mL DHP (vgl.4.5.7). Das Gefäß ist mit einem ausgeheizten Glasstopfen zu verschließen. Der Lösungsvorgang wird unterstützt durch kurzes vortexen auf höchster Stufe (etwa 20 Sekunden), anschließend durch 5 Minuten Inkubation im Ultraschallbad.

Die Proben werden in ausgeheizte HPLC vials überführt und mit geeigneten Kappen verschlossen massenspektrometrisch analysiert. Die Analytik kann dabei mit der LC-MS/MS und der GC-MS durchgeführt werden.

## 5.3 Messbedingungen

### 5.3.1 HPLC-MS/MS

#### 5.3.1.1 HPLC – System (Shimadzu)

Pumpen: Durchfluss: 0,400 mL/Min.  
 Eluent A: Wasser mit 0,05 % Ameisensäure  
 Eluent B: Acetonitril mit 0,05% Ameisensäure  
 Isokratisch: 94 % Eluent B

Autosampler: Kühler Temperatur: 10 °C  
 Injektionsvolumen: 5 µL

Ofen: Temperatur: 35 °C

HPLC-Trennsäule: Merck Chromolith Fastgradient  
 RP-18e; 50 x 2 mm; monolithisch

#### 5.3.1.2 Massenspektrometer API 4000 QTrap (Applied Biosystems)

<b>Einstellungen</b>	
Scan Type:	MRM
Polarity:	Positive
Ion Source:	ESI

<b>Parameter</b>	
CUR	22
TEM	400
GS1	55
GS2	55
CAD	Medium
Ihe	Off
EP	10
IS	5500

**Tabelle 3 (Anhang): Auflistung der Ionenpaar-Übergänge (m/z) der Weichmacher und zugehörige Potentiale**

Analyt	Ionenübergänge (m/z)	Ionenübergänge (m/z)		DP	CE	CXP
		Q1	Q3			
DEHP	Quantifizierung	391,2	149,1	51	31	28
	Absicherung	391,2	167,2	51	21	10
DiNP	Quantifizierung	419,3	127,2	76	17	8
	Absicherung	419,3	149,1	76	37	8
DINCH	Quantifizierung	425,3	281,2	66	15	18
	Absicherung	425,3	155,2	66	27	16
d4-DEHP	Quantifizierung	395,3	153,1	61	29	10
	Absicherung	395,3	171,1	61	19	10
d4-DNP	Quantifizierung	423,2	153,2	61	23	10
	Absicherung	423,2	279,1	61	13	18
DHP	Quantifizierung	363,1	149,1	71	21	8
	Absicherung	363,1	247,2	71	13	16

### 5.3.2 GC – MSD (Agilent)

#### 5.3.2.1 GC-System

Injektor: KAS initial 45°C, Equilibrierung 0.5 Minuten  
Temperaturrampe mit 12°C/Minute bis 275°C konstant für 2 Minuten

Splitless, 1 µL Injektionsvolumen

Säule: DB-17ms  
Länge: 30m, Innendurchmesser: 0.25mm, Filmdicke: 0.25 µm  
Flow: 1.2 mL/min , mobile Phase: He, constant flow

Temperaturprogramm: Initial 80°C für 1 Minute konstant  
Temperaturrampe: Rate: 35°C/min  
Endtemperatur: 305°C für 10 Minuten konstant  
Gesamtdauer: 17.43 Minuten

### 5.3.2.2 Massenspektrometrischer Detektor (MSD)

Datenaquisition im SIM Modus

Detektierte Massen m/z 148.90; m/z 152.90; m/z 154.90

Dwell Time jeweils 50 msec

Solvent Delay: 3 Minuten

Temperatur der Transferline: 295 °C

Quellentemperatur : 230 °C

Quadrupoltemperatur: 150 °C

## 6 QS-Proben

Zur Qualitätskontrolle kann der Quantifizierungsstandard DHP herangezogen werden.

## 7 Berechnung

Die Berechnung des Phthalat-Gehalts erfolgt über den internen Standard unter Zugrundelegung des ermittelten Response-Faktors. Der Response-Faktor wird wie folgt berechnet:

$$R_f = \frac{C_{IS} \cdot PF_{Phthalat}}{C_{Phthalat} \cdot PF_{IS}}$$

R<sub>f</sub> : Response-Faktor

C<sub>IS</sub>: Konzentration des internen Standards in ng/mL

C<sub>Phthalat</sub>: Konzentration des Phthalat Standards in ng/mL

PF<sub>Phthalat</sub>: Integrierte Peakfläche des Phthalats im Standard

PF<sub>IS</sub>: Integrierte Peakfläche des internen Standards im Standard

Unter Berücksichtigung dieses Response-Faktors kann die Konzentration der Probe wie folgt berechnet werden:

$$Phthalat - Gehalt = M_{IS} \cdot \frac{PF_{Phthalat}}{PF_{IS}} \cdot \frac{1}{R_f}$$

---

Phthalat-Gehalt:	Gehalt an Phthalat in der Probe in $\mu\text{g}/\text{kg}$
$R_f$ :	Response-Faktor
$M_{\text{IS}}$ :	Zugesetzte Menge an IS zur Probe in $\mu\text{g}$
$PF_{\text{Phthalat}}$ :	Integrierte Peakfläche des Phthalat in der Probe
$PF_{\text{IS}}$ :	Integrierte Peakfläche des internen Standards in der Probe

## 8 Angabe der Ergebnisse

Der Weichmachergehalt in der Lebensmittelprobe wird in  $\mu\text{g}/\text{L}$  angegeben.

## 9 Abschätzung der Messunsicherheit

Nicht durchgeführt

## 10 Validierungsdaten

Die Daten der Validierungsstudie der Analysenmethode sind in den nachfolgenden Tabellen 4 und 5 zusammengestellt:

**Tabelle 4: Zusammengefasste Validierungsdaten (Wiederfindung und Präzision) für DEHP**

Level	Schwarzbier			Cola Erfrischungsgetränk		
GC-MS	Mittlere Wdf. [%]	Präzision (innerhalb eines Tag) [%]	Präzision (zwischen den Tagen) [%]	Mittlere Wdf. [%]	Präzision (innerhalb eines Tag) [%]	Präzision (zwischen den Tagen) [%]
50 µg/L	104,0	12,0	20,2	123,8	33,2	13,7
125 µg/L	103,2	3,1	10,8	113,5	9,7	13,1
250 µg/L	102,7	2,0	6,8	104,6	11,3	9,7
LC-MS/MS	Mittlere Wdf. [%]	Präzision (innerhalb eines Tag) [%]	Präzision (zwischen den Tagen) [%]	Mittlere Wdf. [%]	Präzision (innerhalb eines Tag) [%]	Präzision (zwischen den Tagen) [%]
50 µg/L	82,2	15,7	35,6	105	44,2	2,1
125 µg/L	98,4	8,1	2,0	98,7	10,9	3,5
250 µg/L	101,1	10,8	3,8	100,9	9,2	4,9



**Tabelle 5 (Anhang): Zusammengefasste Validierungsdaten (Wiederfindung und Präzision) für DiNP und DiNCH**

Level	Schwarzbier			Cola Erfrischungsgetränk		
DiNP	Mittlere Wdf. [%]	Präzision (innerhalb eines Tag) [%]	Präzision (zwischen den Tagen) [%]	Mittlere Wdf. [%]	Präzision (innerhalb eines Tag) [%]	Präzision (zwischen den Tagen) [%]
50 µg/L	101,6	8,5	14,7	96,2	13,3	13,2
125 µg/L	104,2	8,9	7,9	101,2	7,5	9,8
250 µg/L	107,7	7,9	5,6	100,2	4,6	10,7
DiNCH	Mittlere Wdf. [%]	Präzision (innerhalb eines Tag) [%]	Präzision (zwischen den Tagen) [%]	Mittlere Wdf. [%]	Präzision (innerhalb eines Tag) [%]	Präzision (zwischen den Tagen) [%]
50 µg/L	105,5	5,4	9,3	107,2	18,2	6,9
125 µg/L	105,6	5,3	0,5	107,9	10,2	8,6
250 µg/L	109,6	4,22	0,9	102,1	6,0	11,4

**Tabelle 6 (Anhang): Ermittelte Nachweisgrenzen (NWG) und Bestimmungsgrenzen (BG)**

	Matrix: Schwarzbier	Matrix: Cola Erfrischungsgetränk	Matrix: Orangensaft
<b>DEHP (GC-MSD)</b>			
Matrix Blindwert (n= 10) [µg/L]	21,6	76,7	53,9
NWG [µg/L]	15,2	33,1	37,8
BG [µg/L]	50	103,2	125
<b>DiNP (LC-MS/MS)</b>			
Matrix Blindwert (n=10) [µg/L]	-	-	-
NWG [µg/L]	3,3	3,1	1,6
BG [µg/L]	12,4	11,6	6,2
<b>DiNCH (LC-MS/MS)</b>			
Matrix Blindwert (n=10) [µg/L]	-	-	-
NWG [µg/L]	2,5	1,3	1,6
BG [µg/L]	9,4	5,1	6,0

## 5.2. Prüfvorschrift 2 (Migration)

### **Quantitative Bestimmung von DEHP, DiNP und DINCH in Speichel- bzw. Schweißsimulanz mittels HPLC-MS/MS**

#### **Zweck und Anwendungsbereich**

##### **1. Geltungsbereich**

Diese Prüfvorschrift gilt für die Abteilung Sicherheit für verbrauchernahe Produkte in der Fachgruppe Analytik und Expositionsabschätzung des BfR.

##### **2. Definitionen**

Weichmacher sind Stoffe, die spröden Duroplaste und Plasten (Thermoplaste) zugesetzt werden, um diese geschmeidiger und elastischer im Gebrauch oder der weiteren Verarbeitung zu machen.

##### **3. Prinzip**

Ein aliquoter Teil der Spielzeugprobe mit definierter Oberfläche wird mit einer Speichelsimulanz- bzw. Schweißsimulanz-Lösung extrahiert. Ein aliquoter Anteil der gelösten Probe wird mit Dichlormethan extrahiert. Das Dichlormethan wird anschließend eingedampft und die Analyten werden mit einem definierten Acetonitril Volumen aufgenommen. Die Probe kann anschließend in das LC-MS/MS injiziert werden. Die chromatographische Trennung der Analyten wird an einer RP-Phase durchgeführt.

## 4. Reagenzien/Geräte

### 4.1 Analytische Standardverbindungen

Diisononylphthalat	(DiNP)
Diethylhexylphthalat	(DEHP)
Diisononylcyclohexandioat	(DINCH)
d <sub>4</sub> -Diethylhexylphthalat	(d <sub>4</sub> -DEHP)
d <sub>4</sub> Di-n-nonylphthalat	(d <sub>4</sub> -DNP)
Diheptylphthalat	(DHP)

### 4.2 Chemikalien

Wasser dest. (hypergrade)  
Acetonitril (hypergrade)  
Dichlormethan  
Aluminiumoxid  
Ameisensäure  
Magnesiumchlorid  
Kalziumchlorid  
Di-Kaliumhydrogenphosphat  
Kaliumkarbonat  
Natriumchlorid  
Kaliumchlorid  
Harnstoff  
Milchsäure (88% ig)  
Ammoniumhydroxid-Lösung

### 4.3 Hilfsmittel

Direktverdrängende Pipetten  
Kolbenhubpipetten  
Diverse Vollpipetten aus Glas  
Diverse Messkolben  
2 mL HPLC Gefäße  
250 mL Schott Duran Flaschen  
Diverse Hamiltonspritzen  
Kulturröhrchen aus Glas

#### 4.4 Minimierung der Blindwerte für DEHP

Alle Glasgeräte müssen vor Benutzung ausgeheizt werden (350 °C für mind. 4 Stunden, anschließend 100 °C bis zur Entnahme aus dem Ofen) und in bereitgestellten Exsikkatoren gelagert werden. Alle Glasgeräte werden mit Aluminiumfolie verschlossen.

Unpolare Lösungsmittel müssen mit 3 % Aluminiumoxid (w/v) ausgeschüttelt werden, dazu wird ausgeheiztes Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> in eine ausgeheizte Glasflasche gefüllt und das entsprechende Lösungsmittel zugegeben. Das Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> wird aufgeschüttelt und für ca. 30 Minuten in das Ultraschallbad gestellt. Bei ungenügender Sedimentation kann das Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> durch Zentrifugation entfernt werden (ca. 5000 g, 5 Minuten). Zur Reinigung von Kunststoffmaterial werden die Gegenstände gründlich mehrfach mit gereinigtem Lösungsmittel abgespült und in einem Trockenschrank (ca. 70 °C) getrocknet.

#### 4.5 Herstellung Speichelsimulanz-Lösung

Für die Herstellung von einem Liter (1 L) einer Speichelsimulanz-Lösung werden die in der nachstehenden Tabelle 7 aufgeführten Salze in dest. Wasser gelöst:

**Tabelle 7 (Anhang) Zusammensetzung der Speichelsimulanz-Lösung**

Verbindung	Formel	mmol/L	mg/L
Magnesiumchlorid	MgCl <sub>2</sub> *6 H <sub>2</sub> O	0,82	166,7
Kalziumchlorid	CaCl <sub>2</sub> *2 H <sub>2</sub> O	1,0	147,0
Di-Kaliumhydrogenphosphat	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> * H <sub>2</sub> O	3,3	753,1
Kaliumkarbonat	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	3,8	525,2
Natriumchlorid	NaCl	5,6	327,3
Kaliumchlorid	KCl	10,0	745,5

Bei den angegebenen Massen ist das Kristallwasser bereits berücksichtigt

Zunächst werden die Natrium- und Kalium-Salze in 900 mL Wasser gelöst. Anschließend werden die Kalzium- und Magnesium-Salze hinzugefügt. Daraufhin wird ein pH-Wert von 6,8 mit verdünnter Salzsäure eingestellt. Diese Lösung wird in ein 1 L Messkolben quantitativ überführt und bis zur Marke aufgefüllt. Diese Lösung sollte nicht länger als zwei Wochen gelagert werden.

#### 4.6 Herstellung Schweißsimulanz-Lösung

Für die Herstellung von einem Liter (1 L) einer Schweißsimulanz-Lösung werden die in der nachstehenden Tabelle 8 aufgeführten Salze in destilliertem Wasser gelöst:

**Tabelle 8 (Anhang): Zusammensetzung der Schweißsimulanz-Lösung**

Verbindung	Formel	mmol/L	mg/L
Harnstoff	CH <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O	16,67	1000
Natriumchlorid	NaCl	85,56	5000
Milchsäure 88%	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	11,11	1000

Zunächst werden die Salze in 900 mL Wasser gelöst. Anschließend wird die Milchsäure hinzugefügt. Daraufhin wird ein pH-Wert von 6,5 mit 1 % Ammoniumhydroxid-Lösung eingestellt. Diese Lösung wird in ein 1 L Messkolben quantitativ überführt und bis zur Marke aufgefüllt. Das Schweißsimulanz nur am Tag der Herstellung verwenden.

#### 4.7 Standardlösungen

Die unten aufgeführten Stammlösungen sind in abgedunkelten Standardflaschen bei -18° C gelagert 6 Monate haltbar.

##### 4.7.1 Weichmacher – Stammlösungen (ca. 10 mg/mL)

100 mg Weichmacher werden jeweils in einen 10 mL Messkolben auf 0,1 mg genau eingewogen und in Acetonitril gelöst.

##### 4.7.2 Verdünnte Standard Mischung (ca. 50 µg/mL)

Aus den Weichmacher-Stammlösungen werden jeweils 50 µL entnommen, in einen 10 mL Messkolben pipettiert und mit Acetonitril bis zur Marke aufgefüllt.

#### **4.7.3 Herstellung der Internen Standard-Stammlösungen (ca. 10 mg/mL)**

100 mg Interner Standard werden jeweils in einen 10 mL Messkolben auf 0,1 mg genau eingewogen und in Acetonitril gelöst.

#### **4.7.4 Verdünnte Internen Standard-Lösungen (ca. 50 µg/mL)**

Aus den Internen Standard-Stammlösungen werden jeweils 50 µL entnommen, in einen 10 mL Messkolben pipettiert und mit Acetonitril bis zur Marke aufgefüllt.

#### **4.7.5 Diheptylphthalat-Stammlösungen: Qualitätskontrollstandard (ca. 10 mg/mL)**

50 mg Diheptylphthalat werden jeweils in einen 100 mL Messkolben auf 0,1 mg genau eingewogen und in Acetonitril gelöst.

#### **4.7.6 Verdünnter Qualitätskontrollstandard-Lösung (ca. 50 µg/mL)**

Aus der Diheptylphthalat - Stammlösungen werden jeweils 50 µL entnommen, in einen 10 mL Messkolben pipettiert und mit Acetonitril bis zur Marke aufgefüllt.

#### **4.7.7 Dichlormethan mit Internen Standard (ca. 200 ng/mL)**

Aus der Verdünnung der Internen Standard-Lösung (4.7.4) werden 2000 µL entnommen, in einen 500 mL Messkolben pipettiert und mit sauberen Dichlormethan bis zur Marke aufgefüllt.

#### **4.7.8 Acetonitril mit Diheptylphthalat (ca. 400 ng/mL)**

Aus der Verdünnung der Internen Standard-Lösung (4.7.5) werden 20 µL entnommen, in einen 500 mL Messkolben pipettiert und mit sauberen Acetonitril bis zur Marke aufgefüllt.

## 4.8 Herstellung der Kalibrierungslösungen

Jeder der nachstehend aufgeführten Kalibrierungslösungen werden in 10 mL Messkolben hergestellt, zum Auffüllen der Gefäße wird Acetonitril (4.7.8) eingesetzt.

**Tabelle 9 (Anhang): Zusammenstellung der Kalibrierlösungen zur Migrationsmessung**

	Zielkonz. je Analyt [ng/mL]	Standard-Mischung verdünnt (4.5.2) [ $\mu$ L]	Zielkonz. ITSD [ng/mL]	ITSD verdünnt (4.5.4) [ $\mu$ L]
<b>Std 0</b>	0		250	<b>50</b>
<b>Std 1</b>	50	<b>10</b>	250	<b>50</b>
<b>Std 2</b>	100	<b>20</b>	250	<b>50</b>
<b>Std 3</b>	200	<b>40</b>	250	<b>50</b>
<b>Std 4</b>	500	<b>100</b>	250	<b>50</b>
<b>Std 5</b>	1000	<b>200</b>	250	<b>50</b>
<b>Std 6</b>	1500	<b>300</b>	250	<b>50</b>
<b>Std 8</b>	2000	<b>400</b>	250	<b>50</b>

## 5. Durchführung

### 5.1 Probenvorbereitung und -aufarbeitung

Zunächst muss eine ebene Fläche in der Probe festgelegt werden aus der ein Scheibenförmige Oberfläche von 10 cm<sup>2</sup> mit einer entsprechenden Presse (23 mm Durchmesser) ausgeschnitten/gestanzte werden kann. (Als Unterlage wird eine Teflon Auflage genutzt). Ist die Dicke des Materials größer als 1 mm, muss auch die seitliche Schnittfläche vermessen und in die Berechnung einbezogen werden.

Die Gesamtoberfläche der ausgeschnittenen Scheibe muss vermessen und dokumentiert werden.



### **5.1.1 Konditionierung der Test Probe**

Die frisch ausgeschnittene Scheibe wird in einem verschlossenen Glasgefäß für 24 Stunden konditioniert. Die Konditionierung erfolgt bei 25°C in einem Trockenschrank. Die Scheiben dürfen dabei nicht gestapelt gelagert werden.

### **5.1.2 Vorbereitung der Test Scheibe**

Die konditionierte Scheibe wird mit einer Pinzette aus Metall nacheinander kurz mit dest. Wasser und anschließend mit der Speichelsimulanz bzw. Schweißsimulanz-Lösung abgespült. Diese gereinigte Testscheibe wird daraufhin sofort in die mit 50 mL Simulanz-Lösung befüllte Schott Flasche eingebracht.

## **5.2 Durchführung der Migrationsprüfung mittels Überkopfschüttler**

### **5.2.1 Mitführen einer Blindwertprobe**

Eine Chemikalien - Blindwert Probe (Speichelsimulanz/Schweißsimulanz) muss bei jeder Untersuchungsreihe mitgeführt werden. In eine 250 mL Schottflasche werden 50 mL Speichelsimulanz oder Schweißsimulanz pipettiert. Die Blindwerte werden wie eine Probe behandelt und aufgearbeitet.

### **5.2.2 Mitführen einer Wiederfindungs-Probe**

Eine Wiederfindungsprobe (Speichelsimulanz/Schweißsimulanz) muss bei jeder Untersuchungsreihe mitgeführt werden. In eine 250 mL Schottflasche werden 50 mL Speichelsimulanz oder Schweißsimulanz pipettiert. Anschließend werden mit einer 100 µL Hamiltonspritze 100 µL der verdünnten internen Standard-Lösungen (4.7.4) hinzu pipettiert.

Die Wiederfindungsproben werden wie eine Probe behandelt und aufgearbeitet.

### 5.2.3 Durchführung der Migrationsprüfungen

Die unter Punkt 5.1.2 vorbereitete Schott Flasche wird fest verschlossen und in den Überkopfschüttler eingespannt. Der Motor des Überkopfschüttlers wird eingeschaltet und der Rotor wird auf  $60 \pm 5$  U/Min eingestellt. Die Migration wird für  $30 \pm 1$  Minuten durchgeführt. Nach dieser Zeit wird unverzüglich die Test Scheibe mit einer Pinzette aus der Schott Flasche entnommen. Die Pinzette muss anschließend mit dem entsprechenden Simulanzlösemittel abgespült werden, um Verschleppungen zu vermeiden. Anschließend wird dieselbe Test Scheibe in eine neue Schott Flasche (ebenfalls befüllt mit 50 mL Simulanz-Lösung) eingebracht und die Migration wird wie oben beschrieben wiederholt.

Von den Migrationslösungen werden genau 5 mL in ein Kulturröhrchen pipettiert. Anschließend werden 2 mL Dichlormethan (4.7.7) hinzu pipettiert. Die Probe wird gut geschüttelt. Anschließend lässt man die Probe kurz ruhen, damit sich die Phasen trennen.

Nun kann das Dichlormethan mittels einer Pasteurpipette in ein Reagenzglas überführt werden. Es werden erneut Dichlormethan zu Probe pipettiert und die Extraktion wiederholt.

Das Dichlormethan wird zusammen geführt und eingedampft.

Die Probe wird anschließend mit 2 mL Acetonitril aufgenommen und geschüttelt. Nun wird die Probe vollständig in ein Vial überführt. Die Konzentration der Analyten in der Migrationslösung wird über die LC-MS/MS bestimmt.

## 5.3 Messbedingungen

### 5.3.1 Shimadzu HPLC System

Pumpen: Eluent A: H<sub>2</sub>O, 0,05% Ameisensäure  
 Eluent B: Acetonitril, 0,05% Ameisensäure  
 Isokratisch 5 Minuten  
 HPLC-Trennsäulen: Merck Chromolith RP-18e

Autosampller: Kühler Temperatur: 10 °C  
 Injektionsvolumen: 5 µL

Temperatur des Ofens: 35 °C

### 5.3.2 Massenspektrometer API 4000 QTrap

ESI - Einstellungen: MRM: positiv  
 CUR: 22  
 TEMP: 350 °C  
 GS1: 55  
 GS2: 55  
 CAD: Medium

**Tabelle 10 (Anhang): MRM (+) Ionenpaar-Übergänge Weichmacher**

Analyt	MRM		DP	CE	CXP
DEHP 1	391,279	149,0	51	31	28
DEHP 2	391,279	167,0	51	21	10
DiNP 1	419,321	127,2	76	17	8
DiNP 2	419,321	149,1	76	37	8
DINCH 1	425,384	281,2	66	15	18
DINCH 2	425,384	155,2	66	27	16
d <sub>4</sub> -DEHP 1	395,323	153,1	61	29	10
d <sub>4</sub> -DEHP 2	395,323	171,1	61	19	10
d <sub>4</sub> -DNP 1	423,273	153,0	61	23	10
d <sub>4</sub> -DNP 2	423,273	279,1	61	13	18

## 6. QS-Proben

Zur Qualitätskontrolle kann der Quantifizierungsstandard DHP herangezogen werden.

## 7. Berechnung

Die Berechnung des Phthalat-Gehalts erfolgt über den internen Standard unter Zugrundelegung des ermittelten Response-Faktors. Der Response-Faktor wird wie folgt berechnet:

$$R_f = \frac{C_{IS} \cdot PF_{Phthalat}}{C_{Phthalat} \cdot PF_{IS}}$$

$R_f$ :	Response-Faktor
$C_{IS}$ :	Konzentration des internen Standards in ng/mL
$C_{Phthalat}$ :	Konzentration des Phthalat Standards in ng/mL
$PF_{Phthalat}$ :	Integrierte Peakfläche des Phthalats
$PF_{IS}$ :	Integrierte Peakfläche des internen Standards

Unter Berücksichtigung dieses Response-Faktors kann die Konzentration der Probe wie folgt berechnet werden:

$$Phthalat - Gehalt = M_{IS} \cdot \frac{PF_{Phthalat}}{PF_{IS}} \cdot \frac{1}{R_f} \cdot F_V$$

Phthalat-Gehalt: Gehalt an Phthalat in der Speichelsimulanz-Lösung in  $\mu\text{g}$

$R_f$ :	Response-Faktor
$M_{IS}$ :	Zugesetzte Menge an IS zur Probe in $\mu\text{g}$
$PF_{Phthalat}$ :	Integrierte Peakfläche des Phthalat in der Probe
$PF_{IS}$ :	Integrierte Peakfläche des internen Standards in der Probe
$F_V$	Faktor für die Verdünnung der Migrationslösung

## 8. Angabe der Ergebnisse

Der Weichmachergehalt in der Speichel- bzw. Schweißsimulanz-Lösung wird in  $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$  angegeben.

## **9. Abschätzung der Messunsicherheit**

Nicht durchgeführt

## **10. Validierung/Validierungsdaten**

Die Daten aus der Validierungsstudie 20001 EUR 19826 EN „Validation of methodologies for the release of diisononylphthalate (DiNP) in salvia simulans from toys“ [2] belegen zunächst die grundsätzliche Anwendbarkeit der Methodik.

Weiterhin wurden die Leistungskriterien der durch den aufgeführten Ringversuch validierten Methode einer Verifizierungsanalyse unterzogen. Die zusammengestellten Ergebnisse dieser Verifizierung sind in nachstehender Tabelle 11 zusammengefasst.

**Tabelle 11 (Anhang): Zusammenfassung der ermittelten Wiederfindungen (Wdf in %) und Variationskoeffizienten (VK in %) im Rahmen der Methodenvalidierung für beide Simulanzlösungen**

n = 6		<b>DEHP</b>	<b>DiNP</b>	<b>DINCH</b>
Speichelsimulanz, 100	Wdf. [%]	86,4	73,1	94,1
	VK [%]	8,0	11,9	22,0
Schweißsimulanz, 100	Wdf. [%]	83,1	66,3	77,2
	VK [%]	7,2	6,4	7,3
Schweißsimulanz, 800	Wdf. [%]	88,2	77,9	82,7
	VK [%]	8,1	1,1	1,5
Speichelsimulanz, 800	Wdf. [%]	102,7	80,0	112,5
	VK [%]	10,1	13,8	34,4

## 11. Literatur

- [1] EN 71 -10 Sicherheit von Spielzeug – Teil 10: Organisch-chemische Verbindungen – Probenvorbereitung und Extraktion
- [2] 20001 EUR 19826 EN: Validation of methodologies for the release of diisononylphthalate (DiNP) in saliva simulant from toys

### 5.3. Ergebnisse der Lebensmitteluntersuchungen

Die in der folgenden Tabelle 12 vorgestellten analytischen Ergebnisse beinhalten nur die wichtigsten Daten zur Beschreibung der Ergebnisse.

**Tabelle 12 (Anhang): Ergebnisse der Migrationsmessungen**

	Warenbezeichnung	Art Verpackung der Ware	Verpackungsmaterial	DEHP [ $\mu\text{g/L}$ ]	DINP [ $\mu\text{g/L}$ ]	DINCH [ $\mu\text{g/L}$ ]
1	Limonade	Kunststoffflasche	PET	<NWG	19	<NWG
2	Cola	Kunststoffflasche	PET	<NWG	12,4	<NWG
3	Cola	Kunststoffflasche	PET	<NWG	<NWG	<NWG
4	Cola	Kunststoffflasche	PET	<NWG	<NWG	<NWG
5	Cola	Kunststoffflasche	PET	<NWG	<NWG	<NWG
6	Cola	Kunststoffflasche	PET	<NWG	13,3	<NWG
7	Cola	Kunststoffflasche	PET	<NWG	<NWG	<NWG
8	Apfelschorle	Kunststoffflasche	PET	<NWG	<NWG	<NWG
9	Orangenlimonade mit Fruchtfleisch	Glasflasche		<NWG	4,4	<NWG
10	Cola	Glasflasche		<NWG	6,1	<NWG
11	Limonade	Glasflasche		<NWG	3,6	<NWG
12	Cola	Glasflasche		<NWG	<NWG	<NWG
13	Cola	Glasflasche		<NWG	<NWG	<NWG
14	Cola	Kunststoffflasche	PET	<NWG	<NWG	<NWG
15	Cola	Glasflasche		<NWG	<NWG	<NWG
16	Orangenlimonade	Glasflasche		<NWG	<NWG	<NWG
17	Cola	Glasflasche		<NWG	<NWG	<NWG
18	Apfelsaft	Glasflasche		<NWG	9,6	<NWG
19	Apfelsaft	Glasflasche		<NWG	<NWG	<NWG
20	Apfelsaft	Glasflasche		<NWG	<NWG	<NWG
21	Apfelsaft	Kunststoffflasche	PET	<NWG	12,7	<NWG
22	Apfelsaft	Tetrapack		<NWG	<NWG	<NWG
23	Orangenlimonade	Kunststoffflasche	PET	<NWG	<NWG	<NWG
24	Apfelschorle	Kunststoffflasche	PET	<NWG	6	<NWG
25	Bier	Glasflasche		86,4	8,4	<NWG
26	Bier	Glasflasche		110,9	6,8	<NWG

	Warenbezeichnung	Art Verpackung der Ware	Verpackungsmaterial	DEHP [ $\mu\text{g/L}$ ]	DINP [ $\mu\text{g/L}$ ]	DINCH [ $\mu\text{g/L}$ ]
27	Bier	Glasflasche		<NWG	<NWG	<NWG
28	Bier	Glasflasche		48,9	<NWG	<NWG
29	Bier	Glasflasche		<NWG	<NWG	<NWG
30	Bier	Glasflasche		<NWG	<NWG	<NWG
31	Bier	Glasflasche		29,4	<NWG	<NWG
32	Bier	Glasflasche		15,3	<NWG	<NWG
33	Bier	Glasflasche		28,1	<NWG	<NWG
34	Bier	Glasflasche		<NWG	<NWG	<NWG
35	Bier	Glasflasche		<NWG	<NWG	<NWG
36	Bier	Glasflasche		<NWG	<NWG	<NWG
37	Bier	Glasflasche		<NWG	<NWG	<NWG
38	Bier	Glasflasche		<NWG	<NWG	<NWG
39	Bier	Glasflasche		<NWG	<NWG	<NWG
40	Bier	Glasflasche		73,9	5,5	<NWG
41	Bier	Glasflasche		<NWG	<NWG	<NWG
42	Bier	Glasflasche		<NWG	<NWG	<NWG
43	Orangensaft	Tetrapack		<NWG	<NWG	<NWG
44	Limonade	Tetrapack		<NWG	<NWG	<NWG
45	Orangensaft	Kunststoffflasche	PET	<NWG	<NWG	<NWG
46	Apfelsaft	Kunststoffflasche	PET	<NWG	<NWG	<NWG
47	Bier	Blehdose		28,1	17,5	<NWG
48	Bier	Blehdose		<NWG	<NWG	<NWG
49	Orangensaft	Kunststoffflasche	PET	<NWG	<NWG	<NWG
50	Bier	Blehdose		16,7	<NWG	<NWG
51	Bier	Glasflasche		<NWG	<NWG	<NWG
52	Apfelsaft	Glasflasche		<NWG	103,1	<NWG
53	Orangensaft	Glasflasche		<NWG	46,5	<NWG
54	Orangenlimonade	Kunststoffflasche	PET	<NWG	<NWG	<NWG
55	Orangenlimonade	Kunststoffflasche	PET	<NWG	<NWG	<NWG
56	Orangenlimonade	Kunststoffflasche	PET	<NWG	<NWG	<NWG
57	Cola	Kunststoffflasche	PET	<NWG	<NWG	<NWG
58	Cola	Kunststoffflasche	PET	<NWG	<NWG	<NWG



	Warenbezeichnung	Art Verpackung der Ware	Verpackungsmaterial	DEHP [ $\mu\text{g/L}$ ]	DINP [ $\mu\text{g/L}$ ]	DINCH [ $\mu\text{g/L}$ ]
59	Cola	Kunststoffflasche	PET	<NWG	<NWG	<NWG
60	Multivitaminsaft	Tetrapack		<NWG	<NWG	<NWG
61	Multivitaminsaft	Glasflasche		<NWG	<NWG	<NWG
62	Apfelsaft	Glasflasche		<NWG	7,4	<NWG
63	Cola	Kunststoffflasche	PET	<NWG	<NWG	<NWG
64	Apfelsaft	Kunststoffbeutel	PE	<NWG	<NWG	<NWG
65	Karottensaft	Glasflasche		256,2	<NWG	<NWG
66	Multivitaminsaft	Glasflasche		<NWG	<NWG	<NWG
67	Karottensaft	Glasflasche		<NWG	<NWG	<NWG
68	Cola	Kunststoffflasche	PET	<NWG	<NWG	<NWG
69	Kaffee (Mehl)	vakuumverpackt	Alufolie	<NWG	<NWG	<NWG
70	Kaffee (Mehl)	vakuumverpackt	Alufolie	<NWG	<NWG	<NWG
71	Kaffee (Mehl)	vakuumverpackt	Alufolie	<NWG	<NWG	<NWG
72	Kaffee (Mehl)	vakuumverpackt	Alufolie	<NWG	<NWG	<NWG
73	Kaffee (Mehl)	vakuumverpackt	Alufolie	<NWG	<NWG	<NWG
74	Kaffee (Mehl)	vakuumverpackt	Alufolie	<NWG	<NWG	<NWG
75	Kaffee (Mehl)	vakuumverpackt	Alufolie	<NWG	<NWG	<NWG
76	Kaffee (Mehl)	vakuumverpackt	Alufolie	<NWG	<NWG	<NWG
77	Kaffee ( löslich)	vakuumverpackt	Kunststoffolie	<NWG	<NWG	<NWG
78	Kaffee ( löslich)	Glas	Folie/ Kunststoffdeckel	<NWG	<NWG	<NWG
79	Kaffee ( löslich)	Glas	Folie/ Kunststoffdeckel	<NWG	<NWG	<NWG
80	Kaffee ( löslich)	Glas	Folie/Kunststoffdeckel	<NWG	<NWG	<NWG

<NWG = kleiner Nachweisgrenze; Zubereitung Kaffee: 5 g Kaffee auf 100 mL Wasser





	Warenbezeichnung	Weichmacher-Gehalt im Kunststoff [%]					Migration Speichelsimulanz [µg/cm <sup>2</sup> /h]			Migration Schweißsimulanz [µg/cm <sup>2</sup> /h]		
		DEHP	DiNP	DINCH	DEHT	ATBC	DEHP	DiNP	DINCH	DEHP	DiNP	DINCH
36	Kühlbeissschlüssel	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.
37	Kühlbeissschlüssel	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.
38	Zähnen-Kühler-Zoo	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.
39	Zähnen-Kühler-Zoo	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.
40	Schwimmreifen	<NWG	<NWG	5	21,9	<NWG	<NWG	<NWG	3,7	n. u.	n. u.	n. u.
41	Schwimmreifen	<NWG	<NWG	<NWG	20	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	2,8
42	Schwimmreifen	<NWG	<NWG	19,4	4,3	<NWG	<NWG	<NWG	10,1	<NWG	<NWG	13,0
43	Badetierfamilie	<NWG	<NWG	22,1	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	25,5	n. u.	n. u.	n. u.
44	Badetierfamilie	<NWG	<NWG	24,1	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	11,4	n. u.	n. u.	n. u.
45	Badetierfamilie	<NWG	<NWG	26,7	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	33,4	n. u.	n. u.	n. u.
46	Badetierfamilie	<NWG	<NWG	22	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	18,6	n. u.	n. u.	n. u.
47	Badetierfamilie	<NWG	<NWG	24,3	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	21,6	n. u.	n. u.	n. u.
48	Badetier "Pinguin"	<NWG	<NWG	<NWG	30,8	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.
49	Spritztiere	<NWG	<NWG	<NWG	30,1	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.
50	Spritztiere	<NWG	<NWG	<NWG	30,1	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.
51	Spritztiere	<NWG	<NWG	<NWG	35	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.
52	Schwimmmanchette "Super Plus"	<NWG	<NWG	21,3	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	13,6	<NWG	<NWG	18,4
53	Schwimmmanchette "Super Plus"	<NWG	<NWG	21,4	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	15,8	<NWG	<NWG	21,0
54	Schwimmmanchetten	<NWG	<NWG	21,3	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	7,7	<NWG	<NWG	16,6
55	Schwimmmanchetten	<NWG	<NWG	21,8	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	15,9	<NWG	<NWG	15,6





	Warenbezeichnung	Weichmacher-Gehalt im Kunststoff [%]					Migration Speichelsimulanz [µg/cm <sup>2</sup> /h]			Migration Schweißsimulanz [µg/cm <sup>2</sup> /h]		
		<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.
94	Entchen-Kühlbeißring	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.
		DEHP	DiNP	DiNCH	DEHT	ATBC	DEHP	DiNP	DiNCH	DEHP	DiNP	DiNCH
95	Beißring	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.
96	Beißring "Fish Teether"	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.
97	Kühlbeißring "Winnie Pooh"	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.
98	Schwimmendes "Bath Pal" Thermometer	<NWG	<NWG	27,9	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	13,6	n. u.	n. u.	n. u.
99	Badespritztier "Qualle"	<NWG	<NWG	23,5	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	9,1	n. u.	n. u.	n. u.
100	Badetier "Ente"	<NWG	<NWG	23	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	13,6	n. u.	n. u.	n. u.
101	Badetier "Ente"	<NWG	<NWG	28,2	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	7,6	n. u.	n. u.	n. u.
102	Badetier "Ente"	<NWG	<NWG	22	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	7,2	n. u.	n. u.	n. u.
103	Badespritztier "Delphin"	<NWG	<NWG	26,5	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	18,8	n. u.	n. u.	n. u.
104	Badespritztier "Delphin"	<NWG	<NWG	20	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	9,9	n. u.	n. u.	n. u.
105	Badespritztier "Frosch"	<NWG	<NWG	21,8	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	12,6	n. u.	n. u.	n. u.
106	Badespritztier "Auto"	<NWG	<NWG	23,5	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	11,0	n. u.	n. u.	n. u.
107	Badetier "Seestern"	<NWG	<NWG	19,4	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	9,0	n. u.	n. u.	n. u.
108	Badespritztier "Auto"	<NWG	<NWG	26,5	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	5,0	n. u.	n. u.	n. u.
109	Badespritztier "Qualle"	<NWG	<NWG	29,7	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	4,2	n. u.	n. u.	n. u.
110	Badespritztier "Frosch"	<NWG	<NWG	24,3	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	15,5	n. u.	n. u.	n. u.
111	Bade Familie große Ente	<NWG	<NWG	24	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	8,7	n. u.	n. u.	n. u.
112	Bade Familie kleine Ente	<NWG	<NWG	28,9	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	10,7	n. u.	n. u.	n. u.
113	Bade Familie kleine Ente	<NWG	<NWG	28,4	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	8,2	n. u.	n. u.	n. u.

	Warenbezeichnung	Weichmacher-Gehalt im Kunststoff [%]					Migration Speichelsimulanz [µg/cm <sup>2</sup> /h]			Migration Schweißsimulanz [µg/cm <sup>2</sup> /h]		
		<NWG	<NWG	22,8	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	17,7	n. u.	n. u.	n. u.
		DEHP	DiNP	DiNCH	DEHT	ATBC	DEHP	DiNP	DiNCH	DEHP	DiNP	DiNCH
114	Puppe "Dolly"	<NWG	<NWG	22,8	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	17,7	n. u.	n. u.	n. u.
		DEHP	DiNP	DiNCH	DEHT	ATBC	DEHP	DiNP	DiNCH	DEHP	DiNP	DiNCH
115	Puppe mit rosa Schlafanzug	<NWG	<NWG	24,6	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	8,7	n. u.	n. u.	n. u.
116	Puppe mit blauen Schlafanzug	<NWG	<NWG	14,7	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	3,4	n. u.	n. u.	n. u.
117	Puppe "Sleepy Time Baby"	<NWG	<NWG	12	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	2,5	n. u.	n. u.	n. u.
118	LPS- Tier	<NWG	<NWG	8,2	<NWG	6,2	<NWG	<NWG	1,8	n. u.	n. u.	n. u.
119	Badelatschen	25,8	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.
120	Badelatschen	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.
121	Kunststoffschuhe	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.
122	Kunststoffschuhe	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.
123	Babypuppe mit lila Anzug	<NWG	<NWG	11,3	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	2,5	n. u.	n. u.	n. u.
124	Puppe "Dolly"	<NWG	<NWG	23,3	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	11,0	n. u.	n. u.	n. u.
125	Puppe " Soft Baby Doll" (Biene)	<NWG	<NWG	11,3	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	1,9	n. u.	n. u.	n. u.
126	Babypuppe mit blauen Schlafanzug	<NWG	<NWG	<NWG	17,2	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.
127	Babypuppe mit rosa Schlafanzug	<NWG	<NWG	15,9	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	4,9	n. u.	n. u.	n. u.
128	Puppe mit pinken Schlafanzug	<NWG	<NWG	14,8	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	4,8	n. u.	n. u.	n. u.
129	Puppe "Baby Nursery"	<NWG	<NWG	<NWG	22	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.



	Warenbezeichnung	Weichmacher-Gehalt im Kunststoff [%]					Migration Speichelsimulanz [µg/cm <sup>2</sup> /h]			Migration Schweißsimulanz [µg/cm <sup>2</sup> /h]		
		<NWG	<NWG	21,3	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	18,0	n. u.	n. u.	n. u.
		DEHP	DiNP	DiNCH	DEHT	ATBC	DEHP	DiNP	DiNCH	DEHP	DiNP	DiNCH
130	Puppe "Tear Drops Baby"	<NWG	<NWG	21,3	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	18,0	n. u.	n. u.	n. u.
131	Puppe "Babbling Baby"	<NWG	<NWG	10	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	5,4	n. u.	n. u.	n. u.
132	Puppe "My Best Friend"	<NWG	<NWG	22	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	13,3	n. u.	n. u.	n. u.
133	Puppe "Girlie"	<NWG	<NWG	21,8	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	7,0	n. u.	n. u.	n. u.
134	Puppe "My First Glowing Baby Doll"	<NWG	<NWG	13,6	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	3,8	n. u.	n. u.	n. u.
135	Puppe mit blauen Schlafanzug	<NWG	<NWG	20,5	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	3,7	n. u.	n. u.	n. u.
136	Puppe "Better Now Baby"	<NWG	<NWG	23,8	<NWG	2,4	<NWG	<NWG	3,2	n. u.	n. u.	n. u.
137	Babybadepuppe	<NWG	<NWG	<NWG	27,5	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.
138	Puppe "My Best Friend"	<NWG	<NWG	22,4	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	14,2	n. u.	n. u.	n. u.
139	Blaue Kinderarmbanduhr	<NWG	46,4	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	2,3	<NWG	<NWG	1,5	<NWG
140	Bunte Kinderarmbanduhr	36,9	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	2,4	<NWG	<NWG	2,0	<NWG	<NWG
141	Gymnastikball	<NWG	53,7	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	25,5	<NWG	<NWG	24,6	<NWG
142	Igelball	<NWG	32,8	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	9,3	<NWG	<NWG	11,6	<NWG
143	Badesandalen	37,4	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	3,7	<NWG	<NWG	6,0	<NWG	<NWG
144	Maske für Kinder	1,3	34,8	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	3,9	<NWG	<NWG	2,6	<NWG
145	Maske	1,9	49,3	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	7,0	<NWG	0,5	8,8	<NWG
146	Kunststoffbänder	20,7	5,0	<NWG	<NWG	<NWG	4,6	1,1	<NWG	5,5	1,2	<NWG
147	Badespielzeug	20,5	21,8	<NWG	<NWG	<NWG	7,6	7,0	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.

	Warenbezeichnung	Weichmacher-Gehalt im Kunststoff [%]					Migration Speichelsimulanz [µg/cm <sup>2</sup> /h]			Migration Schweißsimulanz [µg/cm <sup>2</sup> /h]		
		n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	<NWG		<NWG	n. u.	n. u.	n. u.
148	Badespielzeug	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	<NWG	9,9	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.
149	Puppe	<NWG	38,1	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	7,7	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.
150	Puppe	<NWG	38,5	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	28,2	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.
		DEHP	DiNP	DiNCH	DEHT	ATBC	DEHP	DiNP	DiNCH	DEHP	DiNP	DiNCH
151	Kunststofffigur	42,2	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	1,6	<NWG	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.
152	Kunststofffigur	7,9	6,4	<NWG	<NWG	<NWG	0	0,5	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.
153	Kunststofffigur	1,4	3,9	<NWG	<NWG	<NWG	0,3	0,4	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.
154	Kunststofffigur	3,8	8,2	<NWG	<NWG	<NWG	1,8	2,9	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.
155	Kunststofffigur	4,4	9,2	<NWG	<NWG	<NWG	2,2	2,9	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.
156	Kunststofffigur	3,5	7,0	<NWG	<NWG	<NWG	0,6	0,7	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.
157	Badespielzeug	15,4	15,7	<NWG	<NWG	<NWG	10,8	8,5	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.
158	Kunststofffigur	<NWG	48,3	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	27,9	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.
159	Puppe	24,7	7,5	<NWG	<NWG	<NWG	15,8	3,3	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.
160	Puppe	23,1	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	7,7	<NWG	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.
161	Puppe	<NWG	31,0	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	11,3	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.
162	Puppe	<NWG	35,8	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	10,9	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.
163	Puppe	27,2	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	12,5	<NWG	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.
164	Puppe	27,0	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	19,9	<NWG	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.
165	Kunststofffigur	10,5	22,2	<NWG	<NWG	<NWG	3,3	5,7	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.
166	Kunststofffigur	31,1	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	27,4	<NWG	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.
167	Kunststofffigur	30,8	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	21,7	<NWG	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.
168	Kunststofffigur	31,0	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	14,3	<NWG	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.

	Warenbezeichnung	Weichmacher-Gehalt im Kunststoff [%]				Migration Speichelsimulanz [µg/cm <sup>2</sup> /h]			Migration Schweißsimulanz [µg/cm <sup>2</sup> /h]			
169	Kunststofffigur	31,7	<NWG	<NWG	<NWG	<NWG	27,2	<NWG	<NWG	n. u.	n. u.	n. u.

<NWG = < Nachweisgrenze; n.u. = nicht untersucht, da kein Befund an Weichmacher in den Gehaltsuntersuchungen