

## **BfR bewertet Untersuchungsergebnisse zu Mineralwasserproben mit hormonähnlicher Wirkung**

Stellungnahme Nr. 008/2009 des BfR vom 25. März 2009

Medienberichte über Untersuchungsergebnisse von Wissenschaftlern der Goethe-Universität Frankfurt zu Mineralwasserproben mit hormonähnlicher Wirkung aus Plastikflaschen haben in den vergangenen Tagen die Verbraucher verunsichert. In der Studie wurden in 12 von 20 Mineralwässern derartige Wirkungen festgestellt. Die Wissenschaftler vermuten, dass diese östrogenähnliche Wirkung von Substanzen ausgeht, die aus den Kunststoffflaschen stammen, in denen die Mineralwässer abgefüllt waren. Grundsätzlich sollte aus Sicht des Bundesinstituts für Risikobewertung (BfR) keine hormonartige Wirkung von Mineralwasser ausgehen. Von Stoffen wie dem Weichmacher DEHP, Bisphenol A oder Nonylphenol ist bekannt, dass sie aufgrund von hormonähnlichen Eigenschaften negative Auswirkungen auf die Nachkommen haben können. Bei seiner Bewertung der Studie kommt das BfR allerdings zu dem Schluss, dass die Ergebnisse keinen Rückschluss auf die Herkunft derartiger hormonell wirkender Substanzen aus PET-Flaschen zulassen.

In der genannten Studie wurde anhand von zwei Testsystemen die Anwesenheit von Substanzen mit hormoneller Wirkung in Mineralwässern untersucht: zum einen wurden Mineralwässer derselben Marke aus Glas- und in Kunststoffflaschen in einem anerkannten Zellkultursystem verglichen. Die Proben zeigten keinen signifikanten Unterschied im Vorkommen von hormonellen Wirkungen in Glas- oder in PET-Flaschen; ein deutlicher Unterschied war vielmehr zwischen verschiedenen Mineralwassermarken zu erkennen. Aus Sicht des BfR wird mit diesem Test weder belegt, dass die hormonartigen Aktivitäten aus den PET-Flaschen stammen, noch sind Aussagen möglich, um welche Substanzen es sich möglicherweise handelt. Der zweite Test erfolgte an einem Schneckenmodell. Dabei wurden Süßwasserschnecken in Glas- und Plastikflaschen gehalten und deren Fortpflanzungsverhalten beobachtet. Es zeigte sich, dass die in Plastikflaschen gehaltenen Schnecken mehr Embryonen produzierten als die in den Glasflaschen. Ob die Ursache dafür allerdings in einer Kontamination mit hormonartigen Substanzen aus den PET-Flaschen liegt oder aber auf unterschiedlichen Lebensbedingungen der Schnecken in der Plastik- bzw. Glasflasche beruht, ist aus den veröffentlichten Daten nicht ersichtlich. Nach Ansicht des BfR können aus den Daten keine wissenschaftlich begründeten Schlussfolgerungen zum gesundheitlichen Risiko des Verbrauchers gezogen werden.

Beide Tests erlauben keine Rückschlüsse auf die Substanzen, die die hormonartige Wirkung im Wasser verursachen. Aus Sicht des BfR müssen Verbraucher aufgrund der Studienergebnisse der Goethe Universität Frankfurt nicht auf Mineralwasser aus PET-Flaschen verzichten. Dem BfR sind keine bei der PET-Herstellung eingesetzten Substanzen mit entsprechender hormoneller Wirkung bekannt, die in das Mineralwasser übergehen könnten. Die Ergebnisse werfen vor allem die Frage nach den Substanzen und ihrem Eintrittspfad auf.

### **1 Gegenstand der Bewertung**

Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) hat zur Belastung von Mineralwässern mit hormonell wirksamen Schadstoffen Stellung genommen. Hierzu ist kürzlich eine Studie von Wagner und Oehlmann erschienen mit dem Titel „Endocrine disruptors in bottled mineral water: total estrogenic burden and migration from plastic bottles“ [1] Zu dieser Veröffentlichung hat das BfR bereits in seiner Information Nr. 006/2009 [2] eine erste vorläufige Bewertung der Ergebnisse vorgenommen.

## 2 Ergebnis

Grundsätzlich sollte aus Sicht des BfR keine hormonartige Wirkung von Mineralwasser ausgehen. Daher hält es das BfR für wichtig, die möglichen Eintragspfade aufzudecken und die Substanzen, die die hormonelle Wirkung hervorrufen, zu analysieren und entsprechend zu minimieren oder zu beseitigen. Eine Herkunft der Substanzen aus PET-Flaschen ist aufgrund der vorliegenden Daten nicht anzunehmen. Aus den Ergebnissen der Studie ergibt sich daher nach Ansicht des BfR für die Verbraucher keine Notwendigkeit, auf Mineralwasser aus PET-Flaschen zu verzichten und auf glasverpackte Produkte auszuweichen.

## 3 Begründung

Die o.g. Studie gibt Hinweise auf die Anwesenheit von Kontaminationen mit östrogenartiger Aktivität in einigen der untersuchten Mineralwasser-Proben sowie in Kunststoffflaschen und -verpackungen. Der Wirkungsnachweis erfolgte in zwei Testsystemen: einem in verschiedenen Laboren etablierten *in-vitro*-System mit genetisch veränderten Hefezellen (YES-Test) und einem in der Umwelttoxikologie benutzten Schneckenmodell. Die modifizierten Hefezellen enthalten Teile der menschlichen Hormonsignal-Kaskade und reagieren sehr empfindlich auf das natürliche Hormon 17 $\beta$ -Estradiol und andere am humanen Östrogenrezeptor  $\alpha$  wirksamen Substanzen (z.B. Phytoöstrogene, Xenoöstrogene). In diesem System wurden 20 Proben abgefüllter Mineralwässer auf östrogenartige Aktivität getestet, dabei wurden Wässer 14 verschiedener Marken berücksichtigt. Die Mineralwässer waren in unterschiedliche Verpackungsmaterialien abgefüllt (Glas-Flaschen, PET-Flaschen, Getränkekarton). Für 4 Marken wurden sowohl in Glas- als auch in PET-Flaschen abgefüllte Wässer untersucht, für die anderen Marken wurde jeweils nur ein Verpackungsmaterial berücksichtigt. Die Daten für die in Tetra Pak abgefüllten Wässer sind wegen der geringen Probenzahl (lediglich 2 Marken) nur bedingt aussagekräftig.

Die Autoren interpretieren ihre Ergebnisse dahingehend, dass in den positiv getesteten Mineralwässern Substanzen in einer effektiven östrogenen Wirkkonzentration vorliegen müssen und diese Substanzen wahrscheinlich aus den Kunststoffverpackungsmaterialien freigesetzt wurden. Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, dass bekannte Xenoöstrogene auch in dem hier genutzten Testsystem nur eine relativ schwache östrogenartige Potenz haben, z.B. wirkt Nonylphenol ca. um den Faktor 5.000 und Bisphenol A um den Faktor 15.000 schwächer als das natürliche Hormon 17 $\beta$ -Estradiol [3]; auch andere mögliche Verunreinigungen wie Phthalate oder Antimonverbindungen, die von den Autoren diskutiert werden, wirken um mehrere Größenordnungen schwächer östrogen als das natürliche Hormon. Das bedeutet, dass entsprechend hohe Substanzkonzentrationen vorliegen müssten, um die in der Veröffentlichung genannten östrogenen Aktivitäten hervorzurufen. Im Hinblick auf das bekannte Migrationsverhalten von Substanzen aus dem Kunststoff PET erscheint dies auch unter der Annahme der Migration von additiv wirkenden Substanzen nicht plausibel.

Proben von unterschiedlichen Mineralwassermarken zeigten erhebliche Unterschiede in der östrogenen Aktivität. Dagegen unterscheiden sich im Hefe-Testsystem die Untersuchungsergebnisse von Mineralwässern derselben Marke, die in Glas- und PET-Flaschen abgefüllt waren, nur geringfügig. Aus den in der Publikation angegebenen Daten lassen sich im Gegensatz zur Aussage der Autoren keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die Verpackung (Glas gegenüber PET) erkennen. Die von den Autoren diskutierte Möglichkeit der Herkunft von östrogenartigen Substanzen aus PET-Flaschen wird durch ihre Vergleichsuntersuchungen von Proben derselben Mineralwassermarke nicht belegt.

Als zweites Testsystem zum Auffinden von östrogenartigen Substanzen wurde ein Schnecken-Modell (*Potamopyrgus antipodarum*) verwendet. Mit diesem Testorganismus konnten Oehlmann et al. [4] eine Stimulation der Embryonenproduktion mit Bisphenol A-Konzentrationen ab 5 µg/L Wasser detektieren. Die aktuellen Untersuchungen von Wagner und Oehlmann sollen nach ihrer Ansicht belegen, dass die im Hefe-Test erhaltenen Befunde ausschließlich auf das Verpackungsmaterial zurückzuführen sind. Die Schnecken wurden dazu in 4 Glas- sowie 6 PET-Flaschen, in denen auch untersuchte Mineralwasser-Proben abgefüllt waren, mit speziellem zugefügtem Wasser als Kulturmedium (also kein Mineralwasser) gehalten. Nach 56 Tagen wurde die Zahl der von den Schnecken produzierten Embryonen gezählt. Die im Methodenteil erwähnten Untersuchungszeitpunkte nach 14 und 28 Tagen werden im Ergebnisteil nicht erwähnt. Es zeigte sich, dass die Reproduktionsrate der in PET-Flaschen gehaltenen Schnecken höher ausfiel als die Reproduktionsrate derjenigen in den Glasflaschen. Ob dieses Testsystem tatsächlich ausschließlich auf östrogenartige Substanzen reagiert oder evtl. auch durch Adsorptionseffekte an der Matrix (Glas, PET) beeinflusst wird, kann auf Grundlage der vorliegenden Veröffentlichung nicht beurteilt werden. Auf Grundlage der Daten aus dem Schneckenmodell können keine wissenschaftlich fundierten Schlussfolgerungen zum gesundheitlichen Risiko des Verbrauchers gezogen werden. Hierzu wären chemische Analysen von möglichen Migraten aus dem Kunststoff erforderlich.

Bei der Interpretation der Ergebnisse aus beiden Testsystemen ist auch zu beachten, dass zwischen der östrogenartigen Aktivität in den Mineralwässern im YES-Test und den Effekten auf die Reproduktion der Schnecken offenbar keine Korrelation besteht. Beispielsweise zeigen die zu einer Mineralwassermarke gehörenden PET-Flaschen im Schnecken-Test im Vergleich zu den anderen Marken die höchsten Reproduktionsraten, während die östrogenartige Aktivität des darin abgefüllten Mineralwassers im YES-Test sehr gering ausfiel (2,65 ng EEQ/L); dagegen führten die PET-Flaschen einer weiteren Mineralwassermarke, deren Mineralwasser im YES-Test eine besonders hohe Aktivität aufwies (75,2 ng EEQ/L), nur zu einer mittleren Stimulation der Schneckenreproduktionsrate. Auch dieser Vergleich zeigt, dass weitere Daten zur Absicherung der Validität der Befunde aus dem Schneckentest erforderlich sind.

Bei beiden Untersuchungsmethoden handelt es sich um Screening-Tests, die keine Rückschlüsse auf die Substanzen ermöglichen, durch die die festgestellten Effekte verursacht werden. Dem BfR sind keine bei der PET-Herstellung eingesetzten Substanzen bekannt, die in das Mineralwasser übergehen und für die östrogenartige Aktivität in den Proben aus PET-Flaschen verantwortlich sein könnten. Es ist bekannt, dass in Kunststoffen wie PVC bestimmte Weichmacher (z.B. Phthalate wie DEHP) verwendet werden, die sich als endokrine Modulatoren erwiesen haben. Für die Herstellung von PET werden jedoch derartige Weichmacher nicht verwendet. Auch andere östrogen wirksame Substanzen wie Bisphenol A oder Nonylphenol werden nicht für die PET-Herstellung eingesetzt. Die Ergebnisse der Studie werfen daher primär Fragen hinsichtlich der wirksamen Substanzen selbst und deren Herkunft auf. Diese können auf der Grundlage der vorliegenden Studie jedoch nicht beantwortet werden.

### 3.1. Weitere Untersuchungen zu hormonell wirkenden Substanzen in Mineralwässern

Zum Vorkommen hormonell wirksamer Stoffe in Mineralwässern liegen dem BfR folgende weitere Kenntnisse vor:

Untersuchungen des Niedersächsisches Landesamtes für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit haben gezeigt, dass bei Mineral- und Tafelwässern teilweise schon die am Brunnenkopf entnommenen Quellwässer eine östrogene Wirksamkeit besitzen [5]. Als mög-

liche Ursache für die Aktivitäten werden Huminstoffe im Quellwasser diskutiert. Die Autoren gehen aber aufgrund vergleichender Daten zu Quellwasser und verpackten Proben davon aus, dass ein Übergang von östrogen wirksamen Substanzen von den Verpackungen in die Wässer unwahrscheinlich ist. Allerdings ist ein Eintrag von entsprechend wirksamen Substanzen durch Materialien im Behandlungs- und Abfüllprozess nicht auszuschließen.

Im Rapid Alert System für Lebens- und Futtermittel vom 05. März 2009 wurden Einzelbefunde zum Vorkommen von 8-188 mg DEHP/L in einem speziellen, aus den USA importierten Wasser gemeldet, die jedoch nicht als ein Beleg für eine regelmäßige Kontamination von Mineralwässern mit östrogenartig wirksamen Substanzen angesehen werden können, wie sie in der vorliegenden Arbeit nahegelegt wird. Dies wird durch eine Untersuchung auf Phthalate in italienischen Mineralwässern auf der Basis von 71 Marken in PET-Flaschen bestätigt: Darin ergab sich für DEHP ein Maximalwert von 0,17 µg/L bzw. von 0,02 µg/L für das am höchsten belastete Quartil [6]. Ein aufgrund von Literaturdaten angestellter Vergleich der Autoren mit Leitungswasser ergab keine erhöhten Phthalatkonzentrationen der in Flaschen abgefüllten Wässer. Auch unter Berücksichtigung der schwachen östrogenen Aktivität von Phthalaten (Jobbling et al., 1995: Environ. Health Perspect. 103, 582-587), insbesondere von DEHP, ist eine generelle östrogenartige Kontamination von Mineralwässern durch diese Substanzgruppe sehr unwahrscheinlich.

Des Weiteren gab es in der Vergangenheit Probleme mit Migrationen von Nonylphenol, einer Chemikalie, die eine östrogenartige Wirkung aufweist, aus Deckelmaterialien von Mineralwasserflaschen. Das damalige Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV) hatte 1996 zu einem Befund von 6 µg Nonylphenol/L Stellung genommen. Als Quelle für das Nonylphenol war die Kunststoffeinlage im Schraubverschluss des Mineralwassers angegeben worden. In den letzten Jahren wurden dem BfR aber keine Nonylphenol-Funde aus der Untersuchung von Deckeln mehr berichtet.

Im Hefe-Testsystem besitzt 4-Nonylphenol im Vergleich zu 17β-Estradiol wie o.a. eine 5.000 mal geringere östrogene Potenz. Nach Mitteilung des Fraunhofer Instituts für Verfahrenstechnik und Verpackung wurde dort im Rahmen von zahlreichen in den letzten Jahren durchgeführten Untersuchungen zur Zusammensetzung von Flaschenverschlüssen für Mineralwasser kein Nonylphenol gefunden. Es ist deshalb wenig wahrscheinlich, dass diese Substanz die von Wagner und Oehlmann berichtete generelle östrogenartige Kontamination von Mineralwässern verursachen kann.

#### 4 Empfehlungen/Handlungsoptionen

Grundsätzlich hält das BfR östrogenartige Wirkungen durch Mineralwässer für problematisch. Aus Sicht des BfR ist eine Bestätigung der vorliegenden Testergebnisse allerdings erforderlich. Für eine rationale Bewertung der beobachteten Effekte wäre darüber hinaus jedoch vor allem die Identifizierung der verantwortlichen Kontaminanten und die Bestimmung der vorhandenen Konzentrationen von vorrangiger Bedeutung.

Weiterhin hält es das BfR für wichtig, die möglichen Eintragspfade aufzudecken. Hierzu wären Stufenkontrollen, beginnend mit den direkt den Quellen entnommenen Wässern über die Wässer nach Durchlaufen der Behandlungsprozesse bei den Abfüllern bis zu den in Handel gelangenden abgefüllten Mineralwässern, erforderlich, in denen die Ergebnisse der Östrogenitätstests mit chemisch-analytischen Daten zu vergleichen wären.

Eine Abschätzung des gesundheitlichen Risikos für die Verbraucher würde weitere Studien *in vivo* unter Berücksichtigung robuster Endpunkte erfordern.

## 5 Referenzen

[1] Wagner und Oehlmann 2009: Endocrine disruptors in bottled mineral water: total estrogenic burden and migration from plastic bottles, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, online am 10. März 2009 (DOI 10.1007/s11356-009-0107-7).

[2] BfR 2009: Hormonell wirkende Substanzen in Mineralwasser aus PET-Flaschen, Information Nr. 006/2009 des BfR vom 18. März 2009 zu einer Studie der Universität, Frankfurt am Main, [http://www.bfr.bund.de/cm/208/hormonell\\_wirkende\\_substanzen\\_in\\_mineralwasser\\_aus\\_pet\\_flaschen.pdf](http://www.bfr.bund.de/cm/208/hormonell_wirkende_substanzen_in_mineralwasser_aus_pet_flaschen.pdf)

[3] Gaido et al., 1997: Evaluation of chemicals with endocrine modulating activity in a yeast-based steroid hormone receptor gene transcription assay. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 143, 205-212

[4] Oehlmann et al. 2005: 3. Statusseminar Chemikalien in der Umwelt mit Wirkung auf das endokrine System. S.19-37

[5] Böhmler et al. 2006: Einsatz eines biologischen Testsystems (E-Screen) in der amtlichen Lebensmittelüberwachung zum Nachweis estrogen wirksamer Substanzen. *J. Verbr. Lebensm.* 1, 325-331

[6] Montuori et al. 2008: Assessing human exposure to phthalic acid and phthalate esters from mineral water stored in polyethylene terephthalate and glass bottles. *Food Add. Contam.* 25, 511-518