

Hormonaktive Substanzen in abgepacktem Mineralwasser?

In zwei kürzlich in Deutschland und in Italien durchgeführten *In-vitro*-Studien wurden in Mineralwässern aus PET-, Glas- oder «Tetra Pak®»-Verpackungen hohe östrogene Aktivitäten von bis zu 75 ng EEQ l⁻¹ gemessen. Diese Ergebnisse werfen die Frage nach der Verbrauchersicherheit von Getränkeverpackungen auf. Aus diesem Grund hat das Bundesamt für Gesundheit eine Studie in Auftrag gegeben, in welcher die in der Schweiz am meisten verkauften Mineralwässer (22 Marken von 15 Herstellern) auf östrogene Aktivitäten untersucht wurden. 15 Mineralwässer zeigten im ER-CALUX®-Test sehr niedrige östrogene Aktivitäten (Mittelwert 5,1 ± 1,4 pg EEQ l⁻¹; Maximum 8,0 pg EEQ l⁻¹), die leicht über der Bestimmungsgrenze von 3,6 pg EEQ l⁻¹ lagen. Bei 16 Mineralwässern waren östrogene Aktivitäten unterhalb der Bestimmungsgrenze vorhanden. Zwischen Mineralwässern in PET- bzw. in Glasflaschen sowie zwischen Wässern mit oder ohne Kohlensäure konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Die gemessenen östrogenen Aktivitäten in den in der Schweiz verkauften Mineralwässern stellen für die Verbraucher kein gesundheitliches Risiko dar.

EINLEITUNG

Unabhängig voneinander berichteten zwei Forschergruppen aus Deutschland [1] und Italien [2] vor Kurzem, dass sie in einigen abgefüllten Mineralwässern hohe östrogene Aktivitäten gefunden hatten. Wagner und Oehlmann [1] untersuchten 20 in Deutschland verkaufte Mineralwassermarken, wobei neun Marken sowohl in Glas als auch in Polyethylenterephthalat (PET)-Flaschen erhältlich waren. Im Yeast-Estrogen-Test (YES) zeigte sich bei drei von neun in Glasflaschen und bei sieben von neun in PET-Flaschen abgefüllten Wässern, dass sie eine signifikante östrogene Aktivität von durchschnittlich 18 ng 17β-Estradiol-Äquivalenten (EEQ) l⁻¹ (Maximum 75,2 ng EEQ l⁻¹) aufwiesen. Zur weiteren Untersuchung, ob östrogene Substanzen von der Flaschenwand in das Wasser übergehen oder ob das Wasser selbst östrogene Substanzen enthält, wurden Schnecken (*Potamopyrgus an-*

tipodarum) während 56 Tagen in Flaschen mit speziell zugefügtem Wasser, das als Kulturmedium diente, gehalten. In zwei Dritteln der untersuchten PET-Flaschen war die Reproduktionsrate, d.h. die Zahl der Embryonen pro weibliche Schnecke, signifikant erhöht. Im Vergleich dazu lag die Reproduktionsrate der Tiere in fünf der neun Glasflaschen nur leicht höher. Die Ergebnisse aus dem YES-Test und dem Schnecken-Modell waren nicht konsistent und es blieb unklar, ob die beobachteten östrogenen Aktivitäten auf die Flaschen, die Wässer oder aber beide zurückzuführen waren. In der italienischen Studie [2] wurden ebenfalls mit dem YES-Test 30 verschiedene Mineralwässer in PET-Flaschen sowie verarbeitetes Trinkwasser unterschiedlicher Herkunft analysiert. Zehn Prozent der untersuchten Wasserproben zeigten erhöhte östrogene Aktivitäten (Mittelwert 9,5 ng EEQ l⁻¹, Maximum 23,1 ng EEQ l⁻¹). Schliesslich hatten bereits Böhmler et al. [3] im

Jahre 2006 anhand des E-Screen-Testsystems (MCF7-Zellen) von östrogenen Aktivitäten in abgefülltem Mineralwasser berichtet.

Die Ergebnisse dieser Studien wurden vom deutschen Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) [4] sowie von Franz und Welle [5] diskutiert. Keine der Studien erlaubte Rückschlüsse auf die Substanzen, welche die östrogene Aktivität verursachen. Grundsätzlich ist es möglich, dass Substanzen aus den Getränkeverpackungen (PET-Flaschen, Glasflaschen, Polyethylen(PE)-Deckel) oder aus den Wasserrohren freigesetzt werden. Die Kontamination könnte auch im Pumpsystem des Abfüllers erfolgen oder bereits im Quellwasser vorhanden sein. Berücksichtigt werden müssen auch Artefakte, beispielsweise eine Kontamination während der Vorbereitung, Extraktion und Analyse der Proben. In einem kommentierenden Artikel wurden mögliche Quellen endokriner Disruptoren in PET wie Antimon und Phthalate diskutiert und weiterführende Forschung zur Klärung der Frage gefordert [6].

In der vorliegenden Studie sollte untersucht werden, ob auch in der Schweiz häufig verkaufte abgefüllte Mineralwässer östrogene Aktivitäten aufweisen.

MATERIAL UND METHODEN

Proben

31 in der Schweiz häufig verkaufte Mineralwässer wurden beprobt und untersucht. Die Auswahl basierte auf einem Bericht [7], in dem die 15 meistverkauften Marken aufgeführt waren: Aproz, Cristalp, Denner, Epfinger, Evian, Fonte Guizza, Heniez, Prix-Garantie, M-Budget, Rhäzünser, San Andrea, San Pellegrino, Swiss Alpina, Valser und Vittel. Da einige dieser Wässer nur in PET-Flaschen verkauft werden, wurden weitere häufig verkaufte Mineralwässer (Allegra, Aquella, Arkina, Contrex, Elmer, Heidiland und Passugger) in die Studie aufgenommen, um eine grössere Zahl von Wässern in Glasverpackungen untersuchen zu können (Tabelle 1).

Um Verzerrungen beispielsweise aufgrund von Unterschieden bei den Lagerbedingungen und der seit der Abfüllung des Mineralwassers

verstrichenen Zeit zu vermeiden, wurden folgende Kriterien für die Probenahme angewendet: (1) falls erhältlich, wurden Proben von Mi-

neralwässern sowohl aus PET- als auch aus Glasflaschen derselben Marke verwendet; (2) in der Regel wurden Proben von 1,5-Liter-PET-

und wiederverwendbaren 1-Liter-Glasflaschen genommen, um die meistverkauften Flaschengrößen zu berücksichtigen und die Kompa-

Tabelle 1
Liste der untersuchten Mineralwässer und Kontrollproben

Hersteller/Mineralquelle	Marke	Verpackungs- material	Mit/ohne Kohlensäure	Untersuchtes Probenvolumen (ml)	Mindesthaltbar- keitsdatum
Mineralwasser					
Nestlé Water (Suisse) SA	San Pellegrino	PET	mit Kohlensäure	3071	05.2010
	Vittel	PET	ohne Kohlensäure	3007	08.2011
Seda Aproz SA	Aproz	PET	ohne Kohlensäure	3004	09.2010
Evian-Volvic Suisse SA	Evian	Glas	ohne Kohlensäure	2298	12.09.10
		PET	ohne Kohlensäure	3028	20.04.11
Valser Mineralquellen AG	Valserwasser	Glas	mit Kohlensäure	3005	05.08.11
		PET	mit Kohlensäure	3032	28.06.10
Feldschlösschen (Mineralquelle Rhäzüns)	Rhäzünser	Glas	mit Kohlensäure	3008	18.09.11
		PET	mit Kohlensäure	2997	19.05.10
		PET	ohne Kohlensäure	2998	15.04.10
Mineralquelle Eptingen AG	Eptinger rot	Glas	mit Kohlensäure	3033	09.2011
		PET	mit Kohlensäure	3001	05.2010
		PET	ohne Kohlensäure	3010	05.2010
Nestlé Waters (Alpwater SA Saxon)	Cristalp	PET	ohne Kohlensäure	2981	03.2010
	Henniez gazéifié	Glas	mit Kohlensäure	3032	11.2011
		PET	mit Kohlensäure	2961	07.2010
	Henniez naturelle	Glas	ohne Kohlensäure	3000	02.2011
	PET	ohne Kohlensäure	2964	05.2010	
Migros	Contrex	PET	ohne Kohlensäure	3077	08.2011
	M-Budget	PET	ohne Kohlensäure	3072	09.2010
Coop	Aquella	PET	ohne Kohlensäure	3042	08.2010
	Swiss Alpina	PET	ohne Kohlensäure	2969	11.03.10
San Benedetto S.p.A	Prix-Garantie	PET	ohne Kohlensäure	2971	06.2010
	Fonte Guizza	PET	mit Kohlensäure	2994	17.12.10
Fonte S. Andrea	S. Andrea	PET	ohne Kohlensäure	4038	30.09.10
Denner	Denner	PET	mit Kohlensäure	3007	11.2010
Allegra Passugger Mineralquellen	Passugger	PET	mit Kohlensäure	2990	03.06.10
	Allegra	PET	ohne Kohlensäure	2998	29.01.10
Mineralquelle Elm, Unidrink AG	Elmer	Glas	mit Kohlensäure	2984	16.12.10
		PET	mit Kohlensäure	2991	22.03.10
Heidiland Mineralwasser AG	Heidiland	PET	mit Kohlensäure	2960	08.07.10
Kontrollproben					
Ultrareines Wasser					
Trinkwasser Eawag	stagniert		ohne Kohlensäure	2954	
Trinkwasser Eawag	nachdem Wasser 10 Minuten laufen ge- lassen wurde		ohne Kohlensäure	3017	

tibilität mit den in Deutschland und Italien durchgeführten Studien sicherzustellen; (3) falls erhältlich, wurden Proben von kohlenensäurehal-

tigen Mineralwässern genommen; (4) alle untersuchten Flaschen einer Marke wurden aus demselben Batch ausgewählt; Proben verschie-

dener Marken wurden entweder mit einem ähnlichen Abfülldatum oder einem ähnlichen Mindesthaltbarkeitsdatum ausgewählt; (5) alle

Tabelle 2

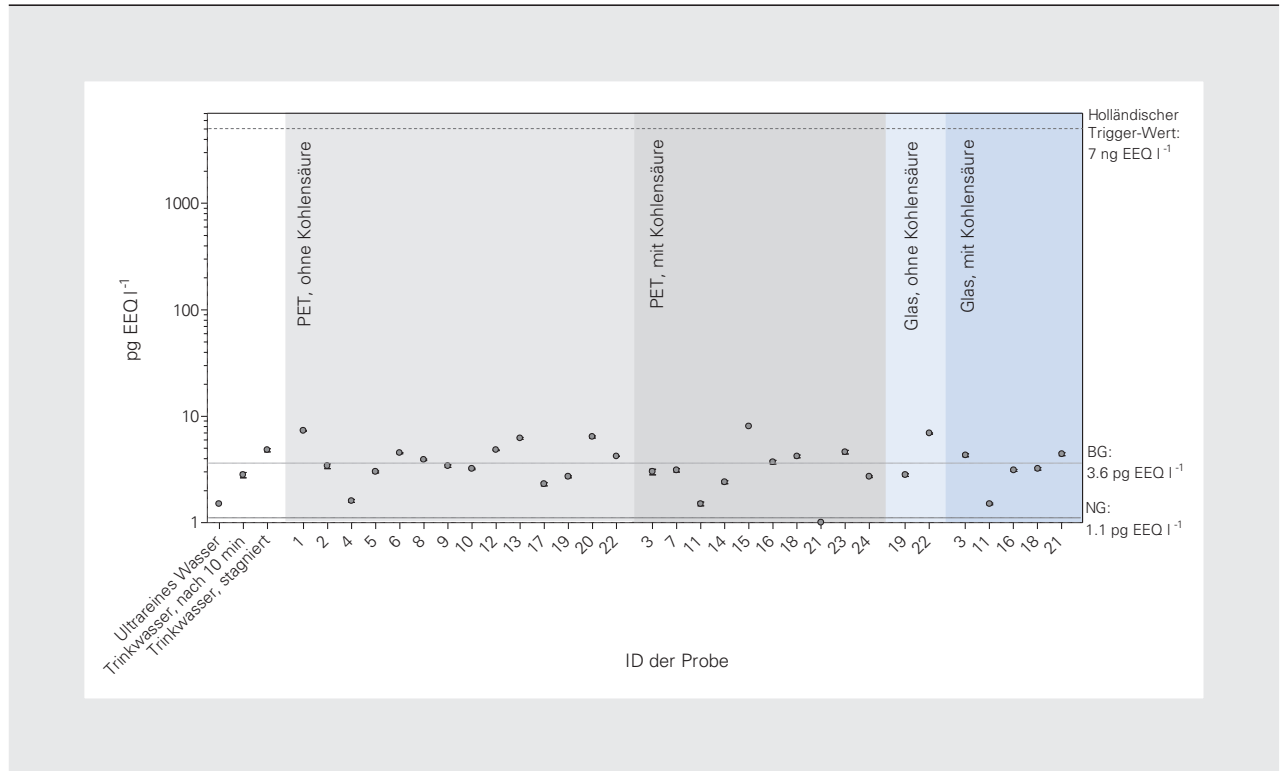
Östrogene Aktivitäten von 31 in der Schweiz verkauften abgefüllten Mineralwässern, die mit dem ER-CALUX®-Test untersucht wurden (Mittelwert ± Standardabweichung, n = 3). Um Auswirkungen auf den Verkauf bestimmter Mineralwassermarken in der Schweiz als Folge dieser Studie zu vermeiden, werden die Ergebnisse in anonymisierter Form dargestellt.

ID der Probe	PET	Glas	Mit Kohlen-säure	Ohne Kohlen-säure	ER-CALUX® EEQ (pM)	ER-CALUX® EEQ (pg EEQ l ⁻¹ Wasser)	STD	STD (%)
Mineralwasser								
1	X			X	2,02	7,3	0,11	1,5
2	X			X	0,93	<BG (3,4)	0,32	9,5
3		X	X		1,18	4,3	0,23	5,3
3	X		X		0,84	<BG (3,0)	0,31	10,1
4	X			X	0,43	<BG (1,6)	0,09	5,5
5	X			X	0,82	<BG (3,0)	0,12	4,1
6	X			X	1,25	4,5	0,10	2,3
7	X		X		0,87	<BG (3,1)	0,19	6,1
8	X			X	1,08	3,9	0,12	2,9
9	X			X	1,28	3,4	0,17	4,8
10	X			X	0,89	<BG (3,2)	0,09	3,0
11		X	X		0,42	<BG (1,5)	0,05	3,1
11	X		X		0,42	<BG (1,5)	0,11	7,6
12	X			X	1,32	4,8	0,06	1,2
13	X			X	1,70	6,2	0,22	3,5
14	X		X		0,67	<BG (2,4)	0,13	5,2
15	X		X		2,20	8,0	0,15	1,8
16		X	X		0,85	<BG (3,1)	0,12	4,0
16	X		X		1,02	3,7	0,26	6,9
17	X			X	0,65	<BG (2,3)	0,14	6,3
18		X	X		0,90	<BG (3,2)	0,16	4,9
18	X		X		1,17	4,2	0,20	4,8
19		X		X	0,76	<BG (2,8)	0,14	5,1
19	X			X	0,73	<BG (2,7)	0,10	3,8
20	X			X	1,77	6,4	0,27	4,2
21		X	X		1,24	4,4	0,25	5,6
21	X		X		<NG	<NG	-	-
22		X		X	1,47	6,9	0,17	2,4
22	X			X	1,18	4,2	0,04	0,8
23	X		X		1,26	4,6	0,31	6,7
24	X		X		0,74	<BG (2,7)	0,09	3,3
Kontrollproben								
Ultrareines Wasser					<0,3	<BG (1,5)		
Trinkwasser			nachdem Wasser 10 Minuten laufen gelassen wurde		0,77	<BG (2,8)	0,28	10,2
Trinkwasser			stagniert		1,32	4,8	0,27	5,6

ID: Identifikation; NG: Nachweisgrenze (0,3 pM = 1,1 pg EEQ l⁻¹); BG: Bestimmungsgrenze (1 pM = 3,6 pg EEQ l⁻¹); STD: Standardabweichung. Die gemessene östrogene Aktivität war quantifizierbar, wenn die Messung zwischen der BG und der EC₅₀ der Standardkurve lag (**fett** gedruckte Werte). In der Regel wird für die ER-CALUX®-Analyse davon ausgegangen, dass Messungen zwischen der NG und der BG die östrogene Aktivität immer noch gut repräsentieren. Ein Teil dieser Aktivität könnte aber auf das verwendete Lösungsmittel zurückzuführen sein. Deshalb werden nur Schätzungen in Klammern angegeben.

Abbildung 1

Östrogene Aktivitäten von 31 in der Schweiz verkauften abgefüllten Mineralwässern, die mit dem ER-CALUX®-Test untersucht wurden (Mittelwert, n = 3). Um Auswirkungen auf den Verkauf bestimmter Mineralwassermarken in der Schweiz als Folge dieser Studie zu vermeiden, werden die Ergebnisse in anonymisierter Form dargestellt. Der holländische Trigger-Wert für Trinkwasser von 7 ng EEQ l⁻¹ wurde von Mennes [26] abgeleitet.



untersuchten Flaschen wurden von Detailhändlern und Getränkelieferanten bis zum Verkauf bei Raumtemperatur in Innenräumen gelagert. Die Proben wurden im Oktober 2009 im Detailhandel und bei Getränkelieferanten eingekauft, und es wurde ein ausführlicher Probenahmebericht erstellt. Für jede Probe wurden vier 1,5-Liter-PET-Flaschen oder sechs 1-Liter-Glasflaschen gekauft und wie folgt verwendet: Je zwei PET- oder drei Glasflaschen wurden zur Extraktion und ER-CALUX®-Analyse (*chemical-activated luciferase gene expression*) an BioDetection Systems b.V. (BDS, Amsterdam NL) geschickt. BDS ist für die gesamte Analyse (einschliesslich Vorbereitung, Extraktion, Anreicherung, Aufreinigung und ER-CALUX®-Analyse der Proben) nach ISO 17025 akkreditiert. Die Messunsicherheit der Methodik beträgt 26%. Nach dem Eintreffen bei BDS wurden die Proben bis zur Analyse bei Raumtemperatur im Dunkeln aufbewahrt.

Vorbereitung und Extraktion der Proben

Um eine Kontamination mit östrogenen Substanzen während der Extraktion zu verhindern, wurden nur sorgfältig gereinigte Materialien aus Glas, Teflon oder Edelstahl benutzt. Es wurden 2 bis 3 Liter jeder Probe (die genauen Volumina sind in Tabelle 1 ersichtlich) für eine Flüssig-Flüssig-Extraktion mit Ethylacetat verwendet. Durch Destillation wurde das Volumen der Extrakte reduziert. Die verbleibende Ethylacetat/Wasser-Fraktion wurde weiter eingengt, wobei das Lösungsmittel vollständig verdampfte. Der Extrakt wurde anschliessend in 40 µl Dimethylsulfoxid (DMSO) neu aufgelöst, was eine 75 000-fache Anreicherung der Probe bei Verwendung von 3 Litern für die Extraktion ergibt. Für 17β-Estradiol, welches dem Mineralwasser zugegeben wurde, lag die Wiederfindungsrate zwischen 94% und 110% [8]. Die Flüssig-Flüssig-Extraktion, die Aufkonzentration und die Aufreinigung wurden für die Pro-

ben, Kontrollproben und Blindproben gleichzeitig durchgeführt.

ER-CALUX®-Test

Die Mineralwasserproben wurden anhand des hochsensitiven und robusten ER-CALUX®-Tests auf Hormonrezeptor-Agonisten geprüft [8, 9, 10, 11]. In der ER-CALUX®-Analyse wird eine menschliche U2OS-Zelllinie, die mit einem Luciferasegen versehen ist und unter der Transkriptionskontrolle eines Estrogenresponsiven Elements (ERE) für den Estrogenrezeptor α (ERα) steht, verwendet. Auf diese Weise können sowohl hydrophile als auch hydrophobe Substanzen nachgewiesen werden. Für den Test wurden in 96-Loch-Platten U2OS-ERα-Zellen mit einem DF-Medium (1:1-Mischung aus Dulbecco's Modified Eagle's Medium und Ham's F-12 Medium) ausgesät. Nach 24 Stunden Inkubation bei 37 °C und 7,5% CO₂ wurde das DF-Medium durch Probemedium mit der Wasserextraktion (0,1% DMSO) ersetzt, um dieses

auf agonistische Aktivität zu untersuchen (in Triplikaten). Für jeden Mineralwasserextrakt wurden folgende Verdünnungen analysiert: 1, 3, 10, 30, 100, 300, 1000, 3000, 10 000 und 30 000. Zusätzlich wurden auf jeder Platte eine positive Kontrollprobe und eine Blindprobe (jeweils als Triplikate) geprüft. Bei Platten mit Blindwerten von ≥ 1 pM EEQ wurde die Analyse erneut durchgeführt. Nach weiteren 24 Stunden Inkubation wurde das Medium entfernt und die Zellen wurden in 30 μ l Triton-Lysepuffer lysiert. Zur Quantifizierung der Luciferase-Aktivität wurde ein Luminometer (Lucy 2, Anthos, Österreich) verwendet. Mittels der Konzentrationswirkungskurve der Bezugssubstanz 17 β -Estradiol, die auf allen Platten untersucht wurde, konnten die östrogenen Äquivalenzkonzentrationen der Mineralwasserextrakte quantifiziert werden.

Verarbeitung der Daten

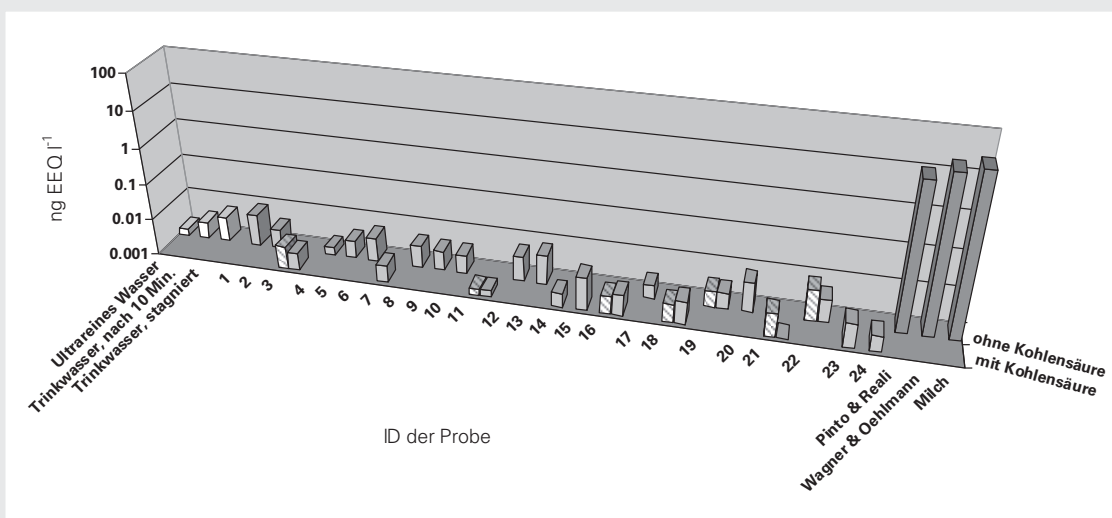
Die gemessene östrogene Aktivität der analysierten Mineralwässer wurde in 17 β -Estradiol-Äquivalenten (pM EEQ) ausgedrückt, welche durch die 17 β -Estradiol-Standardkurve bestimmt wurden. Die Resultate waren quantifizierbar, wenn die gemessenen Aktivitäten zwischen der halbmaximalen effektiven Konzentration (EC₅₀) und der Bestimmungsgrenze (BG) lagen. Es wurden nur Proben ohne Zytotoxizität quantifiziert. Die EEQ-Werte in pM wurden dann in pg EEQ l⁻¹ Wasser umgerechnet.

RESULTATE

Insgesamt wurden 31 Mineralwässer analysiert. 24 Proben stammten aus PET-Flaschen (10 kohlenensäurehaltige, 14 stille Wässer) und 7 aus Glasflaschen (5 kohlenensäurehaltige, 2 stille Wässer). Für sieben Marken waren Wasserproben aus PET-Flaschen und aus Glasflaschen verfügbar. 90% der in PET-Flaschen abgefüllten Wässer und zwei Wässer in Glasflaschen hatten ein Mindesthaltbarkeitsdatum (MHD) im Jahr 2010. Bei den übrigen in Glasflaschen abgefüllten Mineralwässern lag das MHD im Jahr 2011 (Tabelle 1). Für die Kontrollproben von ultra reinem Wasser und Trinkwasser (nachdem morgens am Hahn das Wasser während zehn Minuten laufen gelassen worden war) war

keine östrogene Aktivität (unterhalb der BG von 1 pM = 3,6 pg EEQ l⁻¹) nachweisbar. Dies galt auch für über 50% (16 von 31) der getesteten Mineralwässer (Tabelle 2, Abbildung 1). Die Kontrollprobe (stagniertes Wasser) zeigte eine östrogene Aktivität von 4,8 pg EEQ l⁻¹. Dieser Wert liegt leicht über der BG von 3,6 pg EEQ l⁻¹. 15 der 31 Wasserproben wiesen mit einem Mittelwert von 5,1 \pm 1,4 pg EEQ l⁻¹ Wasser östrogene Aktivitäten oberhalb der BG auf. Zwischen der östrogenen Aktivität und dem Verpackungsmaterial wurde keine Korrelation gefunden (50% der getesteten Proben in PET-Flaschen und 57% der getesteten Proben in Glasflaschen). Ebenso wenig besteht eine Korrelation zwischen östrogenen Aktivität und Karbonisierung (Abbildung 2). Unter den Wässern aus PET- bzw. aus Glasflaschen bestand kein Unterschied zwischen den kohlenensäurehaltigen (gepoolter Mittelwert: 4,8 \pm 0,6 pg EEQ l⁻¹; 4 PET-Proben: 5,1 \pm 1,9 pg EEQ l⁻¹, 2 Glasproben: 4,4 \pm 0,1 pg EEQ l⁻¹) und den stillen Wässern (gepoolter Mittelwert: 6,0 \pm 1,3 pg EEQ l⁻¹; 8 PET-Flaschen: 5,1 \pm 1,4 pg EEQ l⁻¹; 1 Glasflasche: 6,9 pg EEQ l⁻¹).

Abbildung 2
Vergleich der östrogenen Aktivität innerhalb und zwischen Marken, Verpackungsmaterial (Glas: schraffierte Balken, PET: hellgraue Balken) und Karbonisierungsgrad (mit Kohlensäure/ohne Kohlensäure) für 31 in der Schweiz verkaufte abgefüllte Mineralwässer, die mit der ER-CALUX[®]-Analyse untersucht wurden (Mittelwert, n = 3).



DISKUSSION

In der vorliegenden Studie wurden 31 der in der Schweiz häufig verkauften abgefüllten Mineralwässer mittels ER-CALUX®-Analyse untersucht. In 15 der geprüften Mineralwässer sowie in der Kontrollprobe von stagniertem Trinkwasser wurden sehr niedrige östrogene Aktivitäten im tiefen pg-EEQ-l⁻¹-Bereich leicht oberhalb der BG nachgewiesen. Bei allen übrigen analysierten Mineralwässern und Kontrollproben lagen die östrogenen Aktivitäten unterhalb der BG (15 Mineralwässer, Kontrollproben von nicht stagniertem und ultrareinem Wasser) oder unterhalb der Nachweisgrenze (NG) (1 Mineralwasser). Die in dieser Studie gefundenen östrogenen Aktivitäten sind durchschnittlich 1900- bis 3500-mal tiefer als die vor Kurzem in Italien [2] und in Deutschland [1] gemessenen Werte.

In den Studien aus Deutschland und Italien konnten keine Rückschlüsse auf die Substanzen gezogen werden, welche die östrogenen Aktivitäten in abgefüllten Mineralwässern verursachten. In anderen Studien waren mehrere östrogene Substanzen – wie Phthalate, Antimon und Butylhydroxytoluol (BHT) – in abgefüllten Mineralwässern und Säften nachgewiesen worden. Phthalate wie Dibutyl- (DBP), Diisobutyl- (DIBP), Diethyl- (DEP) und Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) konnten in Wasser und Säften aus PET-Flaschen gemessen werden, obwohl sie bei der PET-Produktion nicht gewollt hinzugefügt werden. Abhängig von der Art des Getränks, dem Hersteller, dem Herkunftsland, der Karbonisierung, dem Lagerzeitraum und der Lagertemperatur wurden grosse Unterschiede in der Phthalatkonzentration gefunden [6]. Schmid et al. [12] wiesen DEHP-Konzentrationen im Bereich von 0,1–0,3 µg l⁻¹ in Wasser in gebrauchten PET-Flaschen aus der Schweiz nach. Ausgehend von *In-vitro*-Studien besitzt DEHP einen Estrogen-Äquivalenzfaktor (EEF), welcher Bezug nimmt auf die Referenzsubstanz 17β-Estradiol, von 2,2 × 10⁻⁷ [13].

Antimontrioxid (SbO₃) wird als Katalysator bei der Polykondensation von PET verwendet. Gemäss *In-vitro*-Studien weist Antimon einen

EEF im Bereich von 4,3 × 10⁻³ und 1,6 × 10⁻³ auf [14]. Die Antimonkonzentrationen in PET-Flaschen können stark variieren [15]. Innerhalb derselben Marke und abhängig vom Kaufort wurden sehr unterschiedliche Antimonkonzentrationen festgestellt, wobei Unterschiede bei der Migration von Antimon im Laufe der Zeit bestanden [16]: Wasser derselben Marke hatte beim Kauf in Hongkong eine Antimonkonzentration von 1,7 µg l⁻¹, beim Kauf in Europa betrug der Wert 0,7 µg l⁻¹. Nach sechs Monaten Lagerung erhöhten sich diese Konzentrationen auf 2,0 bzw. 1,5 µg l⁻¹. Ausserdem wurde nachgewiesen, dass mit steigenden Umgebungstemperaturen im Laufe der Zeit mehr Antimon migriert [17]. In einer Studie, die das Bundesamt für Gesundheit mit 69 Proben von in der Schweiz verkauften Mineralwässern in PET- und Glasflaschen durchführte, wurde bei PET eine mittlere Antimonkonzentration von 0,43 µg l⁻¹ (Maximum 1,14 µg l⁻¹) nachgewiesen. Dieser Wert ist 3,5-mal höher als jener bei Wasser in Glasflaschen [18].

In einer deutschen Studie wurde das Antioxidans Butylhydroxytoluol (BHT) in Mineralwässern in PET- und in Glasflaschen gemessen [19]. BHT besitzt einen EEF von <2,4 × 10⁻⁶ [20, 21]. Unseres Wissens wird BHT bei der PET-Herstellung nicht verwendet, aber bei der PE-Produktion eingesetzt und könnte von den PE-Verschüssen in das Mineralwasser übergehen. Die Konzentrationen in frisch in PET-Flaschen abgefüllten Mineralwässern bewegten sich zwischen 0,8 und 2,6 µg l⁻¹ und stiegen innerhalb von neun Monaten auf 2,8–6,2 µg l⁻¹ [19].

Durch Multiplikation der in abgefüllten Wässern gemessenen Konzentrationen (Antimon [18]; BHT [19]; DEHP [12]) mit dem entsprechenden EEF können theoretische EEQ-Konzentrationen berechnet werden. Die bei Weitem höchste theoretische EEQ-Konzentration wurde für Antimon im Bereich von 1,8–4,9 ng EEQ l⁻¹ berechnet, was viel höher als die in der vorliegenden Studie gemessenen EEQ-Konzentrationen ist. Dieser Unterschied könnte zum Teil darauf zurückzuführen sein, dass das wasserlösliche Antimon während der Vorbereitung und Extraktion der Probe mit Ethylacetat

möglicherweise nur teilweise angereichert wird. Aus diesem Grund sollte der Einfluss der Vorbereitung und Extraktion der Proben für verschiedene Substanzen eingehender untersucht werden.

In einer kürzlich in Baden-Württemberg, Deutschland, durchgeführten Studie [22] konnten in 30 natürlichen Mineralwässern, von denen 15 in PET- und 15 in Glasflaschen abgefüllt waren, keine signifikanten östrogenen Aktivitäten festgestellt werden. Dabei wurde das E-Screen-Testsystem verwendet (BG 0,1 ng l⁻¹). Diese Ergebnisse wurden mit einer instrumentellen Analyse unter Verwendung von Target-Screening und Non-Target-Screening für bekannte Xenoöstrogene oder strukturell verwandte Substanzen bestätigt. Interessanterweise fanden Wagner und Oehlmann [23] in einer neuen Studie, bei der das E-Screen-Testsystem verwendet wurde, im Vergleich zu ihrer ersten Studie von 2009 [1] um mehrere Grössenordnungen niedrigere östrogene Aktivitäten in Proben von abgefülltem Wasser aus Deutschland, Italien und Frankreich. Bei 11 der 18 Proben war eine niedrige, aber statistisch signifikante östrogene Aktivität im Bereich von 1,9–12,2 pg EEQ l⁻¹ festzustellen, die mit unseren Ergebnissen vergleichbar ist.

Die in der vorliegenden Studie nachgewiesenen östrogenen Aktivitäten in abgefüllten Mineralwässern stellen für die Verbraucher kein Gesundheitsrisiko dar. Natürliche Östrogene sind in Lebensmitteln, beispielsweise in Milch- und Sojaprodukten, Bier und Wein, in deutlich höheren Konzentrationen vorhanden [24]. Beispielsweise wurde in Milch ein natürlicher 17β-Estradiol-Gehalt von 24 ng l⁻¹ gemessen [25]. Dies ist 3000-mal höher als die in dieser Studie gemessene höchste Konzentration in abgefülltem Mineralwasser (8 pg EEQ l⁻¹). ■

Weitere Informationen

Dr. Beat Brüscheweiler
 Bundesamt für Gesundheit (BAG)
 Direktion Verbraucherschutz
 Abteilung Lebensmittelsicherheit
 Sektion Ernährungs- und
 Toxikologische Risiken
 Stauffacherstrasse 101
 8004 Zürich
 E-Mail: beat.bruescheweiler@bag.admin.ch

Dr. Petra Kunz
 Ökotoxzentrum Eawag/EPFL
 Überlandstrasse 133
 8600 Dübendorf
 E-Mail: petra.kunz@oekotoxzentrum.ch

Dank

Die Autoren danken Daniela Tropiano (Ökotoxzentrum) für ihre wertvolle Hilfe und Unterstützung bei der Probenahme und Marcel Kreber (Verband Schweizerischer Mineralquellen und Soft-Drink-Produzenten, SMS), Jean-Claude Würmli (PRS PET-Recycling Schweiz), Fritz Stuker (Vetroswiss) sowie Peter Behnisch (BioDetection Systems) für ihre wertvollen Auskünfte und Kommentare und Josef Schlatter (BAG) für die Durchsicht des Manuskripts. Die Autoren erklären, dass keine Interessenskonflikte bestehen.

Literatur

1. Wagner M. and Oehlmann J. (2009). Endocrine disruptors in bottled mineral water: Total estrogenic burden and migration from plastic bottles. *Environmental Science and Pollution Research* 16: 1–9.
2. Pinto B. and Reali D. (2009). Screening of estrogen-like activity of mineral water stored in PET bottles. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 212: 228–232.
3. Böhmler G., Kohnen R., Borowski U. und Rühle A. (2006). Einsatz eines biologischen Testsystems (E-Screen) in der amtlichen Lebensmittelüberwachung zum Nachweis östrogen wirksamer Substanzen. *J. Verbr. Lebensm.* 1: 325–331.
4. Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) (2009). BfR bewertet Untersuchungsergebnisse zu Mineralwasserproben mit hormonähnlicher Wirkung. Stellungnahme Nr. 008/2009 vom 25. März 2009.
5. Franz R. and Welle, F. (2009). Can migration of endocrine disruptors from plastic bottles be the cause of estrogenic burden recently determined in bottled mineral water? *Deutsche Lebensmittelrundschau*. Mai 2009: 315–318.
6. Sax L. (2010). Polyethylene terephthalate may yield endocrine disruptors. *Environ. Health Persp.* 118: 445–448.
7. ACNielsen (2004). Consumer behavior in the retail business in Switzerland (in German). Report ACNielsen.
8. van der Linden S.C., Heringa M.B., Man H.-Y., Sonneveld E., Puijker L.M., Brouwer A., and van der Burg B. (2008). Detection of multiple hormonal activities in wastewater effluents and surface water, using a panel of steroid receptor CALUX bioassays. *Environ. Sci. Technol.* 42: 5814–5820.
9. Murk A.J., Legler J., Van Lipzig M.M.H., Meerman J.H.N., Belfroid A.C., Spenkeliink A., van der Burg B., Rijs G.B.J., and Vethaak, D. (2002). Detection of estrogenic potency in wastewater and surface water with three in vitro bioassays. *Environ. Toxicol. Chem.* 21: 16–23.
10. Sonneveld E., Jansen H.J., Riteco J.A.C., Brouwer A., and van der Burg B. (2005). Development of androgen- and estrogen-responsive bioassays, members of a panel of human cell line-based highly selective steroid-responsive bioassays. *Toxicol. Sci.* 83: 136–148.
11. Leusch F.D.L. 2008. Tools to detect estrogenic activity in environmental waters. *Global Water Research Coalition*. IWA International Water Association, London: 1–83.
12. Schmid P., Kohler M., Meierhofer R., Luzi S., and Wegelin M. (2008). Does the reuse of PET bottles during solar water disinfection pose a health risk due to the migration of plasticisers and other chemicals into the water? *Water Res.* 42: 5054–5060.
13. ter Veld M.G.R., Schout B., Louise J., van Es D.S., van der Saag P.T., Rietjens M.C.M., and Murk A.J. (2006). Estrogenic potency of food-packaging-associated plasticizers and antioxidants as detected in ER and ER reporter gene cell lines. *J. Agric. Food Chem.* 54: 4407–4416.
14. Choe S.Y., Kim S.J., Kim H.G., Lee J.H., Choi Y., Lee H., and Kim Y. (2003). Evaluation of estrogenicity of major heavy metals. *Science of the Total Environment* 312: 15–21.
15. Nishioka K., Hirahara A., and Iwamoto E. (2002). Determination of antimony in polyethylene terephthalate bottles by graphite furnace atomic absorption spectrometry using microwave sample preparation. *Bulletin of the Faculty of Human Life and Environmental Sciences, Hiroshima Women's University* 8(1): 35–42.
16. Shotyk W. and Krachler, M. (2007). Contamination of bottled waters with antimony leaching from polyethylene terephthalate (PET) increases upon storage. *Environ. Sci. Technol.* 41: 1560–1563.
17. Westerhoff P., Prapaipong P., Shock E., and Hillaireau A. (2008). Antimony leaching from polyethylene terephthalate (PET) plastic used for bottled drinking water. *Water Res.* 42: 551–556.
18. Bundesamt für Gesundheit (BAG) (2005). Antimon in Mineralwasser: Beurteilung des Gesundheitsrisikos (Antimony in mineral water: evaluation of health risks). *BAG-Bulletin* 44: 796–797.
19. Zerbe H. (2010). Mögliche gesundheitsrelevante Stoffe in abgefülltem Wasser. Präsentation BfR-Forum Verbraucherschutz «Wenn Substanzen wie Hormone wirken» (in German) 19./20. April 2010, Berlin.
20. Jobling S., Reynolds T., White R., Parker M.G., and Sumpter J.P. (1995). A variety of environmentally persistent chemicals, including some phthalate plasticizers, are weakly estrogenic. *Environ. Health Persp.* 103: 582–587.
21. Kuch B. (2010). Hormonelle Aktivität in Mineralwasser – Untersuchungen mit dem E-Screen-Assay. Präsentation an AQS Jahrestagung 2009/2010, 3.3.2010.
22. Bopp K., Kuch B. und Roth M. (2010). Hormonelle Aktivität in natürlichen Mineralwässern? *Deutsche Lebensmittelrundschau*, September 2010: 489–499.
23. Wagner M. and Oehlmann J. (2010). Endocrine disruptors in bottled mineral water: Estrogenic activity in the E-Screen. *J. Steroid Biochem Mol Biol.* doi: 10.1016/j.jsbmb. 2010. 10.004.
24. Hartmann S., Lacorn M., and Steinhart H. (1998). Natural occurrence of steroid hormones in food. *Food Chem.* 62: 7–20.
25. Courant F., Antignac J.P., Maume D., Monteau F., Andre F., and Le Bizec, B. (2007). Determination of naturally occurring oestrogens and androgens in retail samples of milk and eggs. *Food Addit. Contam.* 24: 1358–1366.
26. Mennes W. (2004). Assessment of human health risks for oestrogenic activity detected in water samples, using the ER-CALUX assay. RIVM-notitie, RIVM, Bilthoven, NL.