

Projectnummer: 871.578.19
Projecttitel: VWA Nationaal Plan diervoeders

Projectleider: H.J. van Egmond

BRIEFRAPPORT

Rapport 2008.106

december 2008

Gebromeerde vlamvertragers en broomdioxines in Choline Chloride

H.J. van Egmond, W. Traag, L.A.P. Hoogenboom

Business Units: Veiligheid & Gezondheid, Analyse & Ontwikkeling
Clusters: Microbiologie & Novel foods, Pesticiden & Contaminanten, Toxicologie & Effectmonitoring

RIKILT - Instituut voor Voedselveiligheid
Wageningen Universiteit en Researchcentrum
Bornsesteeg 45, 6708 PD Wageningen
Postbus 230, 6700 AE Wageningen
Tel: 0317 480 256
Fax: 0317 417 717
Internet: www.rikilt.wur.nl

Copyright 2008, RIKILT - Instituut voor Voedselveiligheid.

Het is de opdrachtgever toegestaan dit rapport integraal openbaar te maken en ter inzage te geven aan derden. Zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van RIKILT - Instituut voor Voedselveiligheid is het niet toegestaan:

- a) *dit door RIKILT - Instituut voor Voedselveiligheid uitgebracht rapport gedeeltelijk te publiceren of op andere wijze gedeeltelijk openbaar te maken;*
- b) *dit door RIKILT - Instituut voor Voedselveiligheid uitgebracht rapport, c.q. de naam van het rapport of RIKILT - Instituut voor Voedselveiligheid, geheel of gedeeltelijk te doen gebruiken ten behoeve van het instellen van claims, voor het voeren van gerechtelijke procedures, voor reclame of antireclame en ten behoeve van werving in meer algemene zin;*
- c) *de naam van RIKILT - Instituut voor Voedselveiligheid te gebruiken in andere zin dan als auteur van dit rapport.*

Het onderzoek beschreven in dit rapport is uitgevoerd in opdracht van de Voedsel en Waren Autoriteit en gefinancierd door: LNV, programma 438-I, WOT Contaminanten en 438-IV, WOT-diervoerders

Verzendlijst:

- Voedsel en Waren Autoriteit, Centrale Eenheid (VWA; mr.drs. R.G. Herbes)
- Voedsel en Waren Autoriteit, Team Diervoerders (VWA; drs. E. Olde Heuvel)
- Voedsel en Waren Autoriteit, Noord-West (VWA-NW; drs. G.M. van der Horst, dr. H.A. van der Schee)
- Voedsel en Waren Autoriteit, Bureau Risicobeoordeling (VWA-BuR; dr. M.J.B. Mengelers, dr. R.M.C. Theelen)
- Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit, Directie Voedselkwaliteit en Diergezondheid (LNV-VD: drs. E.R. Deckers)

<p>Bij de totstandkoming van dit rapport is de grootst mogelijke zorgvuldigheid betracht. Tenzij vooraf schriftelijk anders overeengekomen aanvaardt RIKILT - Instituut voor Voedselveiligheid geen aansprakelijkheid voor schadeclaims die worden uitgebracht n.a.v. de inhoud van dit rapport.</p>
--

Samenvatting

Sinds begin dit jaar worden in het Nationaal Plan Diervoeder Choline Chloride monsters (= diervoeder additief) gevonden waarbij de DR CALUX screenings-assay een sterk verdacht signaal geeft, maar bij de GC-HRMS geen dioxines en dl-PCB's worden gevonden. Dit rapport beschrijft de resultaten van nader onderzoek in twee Choline Chloride monsters (één met lage DR CALUX (ca. 2-3 ng BEQ/kg) en één met hoge DR CALUX respons (4-5 ng BEQ/kg) op gebromeerde vlamvertragers en broomdioxines.

In beide monsters werden de gebromeerde vlamvertragers 2,4,6-Tribroomfenol (1,1-3,6 ng/g) en Octabromo-trimethylphenyl-lindane (0,14-0,7 ng/g) aangetroffen. Octabromo-trimethylphenyl-lindane is een zeer recent op de markt gebrachte vlamvertrager ((OBIND/FR-1808). In het monster met de hoge DR CALUX respons werden ook diverse polybroomdifenylethers (PBDE's) op laag niveau aangetoond. Deze stoffen geven zelf echter geen respons in de DR CALUX test.

In beide monsters werden door het CRL in Freiburg ook een aantal broomdioxines aangetoond, waarbij in het monster met de hoge DR CALUX respons duidelijk hogere waarden werden aangetroffen. Broomdioxines zijn vooralsnog niet opgenomen in de norm voor dioxines en hebben officieel ook nog geen TEF's (Toxic Equivalent Factors). Gerekend met dezelfde TEF's als chloordioxines kan de DR CALUX-respons van 4 à 5 ng BEQ/kg nog niet geheel verklaard worden. Dit wordt veroorzaakt doordat niet alle congenere bepaald zijn en door verschillen tussen TEF's en relatieve potenties in de DR CALUX assay.

Uitgaande van een soort versleping lijkt het zorgwekkend dat een veelgebruikt diervoedingrediënt als Choline Chloride ergens in contact kan komen met industriële chemicaliën als vlamvertragers. Nader onderzoek naar chemische contaminanten (o.a. broomdioxines en gebromeerde vlamvertragers) in diervoederadditieven, risico-analyses en overleg over normstelling is adviseerbaar.

1 Aanleiding en beknopte werkwijze

1.1 Aanleiding

Choline Chloride (2-hydroxy-N,N,N-trimethylethanaminium chloride) is als toevoegingsmiddel in categorie 3a "vitaminen en provitaminen" toegelaten in diervoeders^{1,2,3}. In het Nationaal Plan Diervoeder worden jaarlijks 20-30 partijen Choline Chloride onderzocht op contaminatie met dioxines, dioxine-achtige PCB's (dl-PCB's), zware metalen en/of bestrijdingsmiddelen. Bij dit onderzoek werd begin 2008 een tweetal monsters Choline Chloride (RIK nr. 196922 en 207149) aangetroffen waarbij de DR CALUX screenings-analyse een sterk positief signaal gaf (circa 10x boven de norm), maar waarbij bij de GC-HRMS bevestigingsanalyse geen verhoogde gehalten dioxines of dioxine-achtige PCB's werden gemeten.

Naar aanleiding van bovenstaande bevindingen is in overleg met de VWA en de begeleidingscommissie van Thema 1 besloten om nader onderzoek uit te voeren naar de herkomst van de hoge DR CALUX respons in Choline Chloride monsters. Omdat van monster 196922 geen monstermateriaal meer aanwezig was, heeft de VWA van een vergelijkbare partij een monster genomen en naar het RIKILT gestuurd (dit is monster 210099). Dit monster bleek zowel bij de DR CALUX als GC-HRMS analyse resultaten te geven die vergelijkbaar waren met 196922. Besloten is om in eerste instantie monster 210099 nader te onderzoeken en daarnaast een vierde Choline Chloride monster dat een veel lagere DR CALUX respons gaf. Dit is monster 208908.

Een overzicht van de dioxine-resultaten van de 4 Choline-Chloride monsters is weergegeven in Tabel 1.

Tabel 1 De dioxine analyseresultaten van 4 monsters Choline Chloride

RIKILT nr.	Relaas-nummer	Produkt omschrijving	Monster name datum	DR CALUX (Neg/Verd.)	Totaal dioxinen + DL-PCB's [ub] (ng WHO-PCDD/F-PCB-TEQ/kg (12% vocht))
196922	56399003	Choline Chloride	11-7-2007	Verdacht ±4-5 BEQ/kg*	0.27
207149	66233642	Choline Chloride 50% Silica	10-12-2007	Verdacht ±4-5 BEQ/kg*	0.37
208908	66228304	Choline Chloride 60%	23-1-2008	Verdacht ±2-3 BEQ/kg*	0.19
210099	66221334	Choline Chloride	14-2-2008	Verdacht ±4-5 BEQ/kg*	0.30

*berekend op basis van de DR CALUX respons

De norm voor de som van dioxinen en dl-PCB's in Choline Chloride is 0,5 ng WHO-PCDD/F-PCB-TEQ/kg (12% vocht). De DR CALUX respons wordt uitgedrukt in BEQ/kg (bioassay equivalenten). In het geval dat de CALUX respons volledig veroorzaakt wordt door (chloor)dioxines en dl-PCB's zijn deze 2 eenheden vergelijkbaar. In de praktijk bepaalt de GC-HRMS de definitieve waarde voor het monster.

Het feit dat de DR CALUX een respons vertoont, geeft aan dat er in het monster stoffen aanwezig zijn die binden aan de Ah-receptor in de cellen. Dit kunnen dioxinen en dioxine-achtige PCB's zijn, maar ook hier sterk op gelijkende contaminanten zoals broomdioxines. Broomdioxines kunnen voorkomen in mengsels van gebromeerde vlamvertragers maar ook ontstaan bij verbranding van producten waarin dergelijke stoffen zijn verwerkt (bv E-waste).

1.2 Opzet van het onderzoek

De Choline-Chloride monsters 208908 en 210099 zijn onderzocht op:

1.2.1 *(Gebromeerde) vlamvertragers*

Bij dit onderzoek zijn de monsters kwantitatief op de aanwezigheid van (gebromeerde) vlamvertragers (o.a. polybroombifenylen (PBB's), polybroomdifenylethers (PBDE's)) onderzocht met GC-TOF en GC-HRMS.

1.2.2 *Broomdioxines*

Omdat RIKILT de methode voor broomdioxines niet operationeel heeft, is dit onderzoek uitgevoerd door het CRL voor dioxines en PCB's in "feed and food" (Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt PO Box 100462, D-79123 Freiburg). Bij dit onderzoek zijn de monsters onderzocht op een aantal polybroomdibenzo-p-dioxines (broomdioxines of PBDD's) en polybroomdibenzofuranen (PBDF's).

1.2.3 *Samenstelling cq identiteitsonderzoek*

Met behulp van NMR is de aard (identiteit) van beide Choline Chloride monsters (208908 en 210099) bepaald.

2 Resultaten

De resultaten van het onderzoek zijn weergegeven in Bijlage 1 en samengevat in Tabel 2.

Tabel 2 De resultaten van het gebromeerde (vlamvertragers) onderzoek in 2 monsters Choline Chloride

RIKILT nr.	Relaas-nummer	Produkt-omschrijving	Analyseresultaten	
			Broomdioxines	Gebromeerde vlamvertragers
208908	66228304	Choline Chloride 60%	2-3-7-8-TBDD: <1.5 pg/kg 2-3-7-8-TBDF: 349 pg/kg 1-2-3-7-8-PeBDF: 69 pg/kg 2-3-4-7-8-PeBDF : 19 pg/kg 1-2-3-4-7-8-HxBDF: 34 pg/kg	2,4,6-Tribroomfenol: 1.1 ng/g Octabromo-trimethylphenyl-lindane: 0.14 ng/g
210099	66221334	Choline Chloride	2-3-7-8-TBDD: 189 pg/kg 2-3-7-8-TBDF: 2263 pg/kg 1-2-3-7-8-PeBDF: 99 pg/kg 2-3-4-7-8-PeBDF : 139 pg/kg 1-2-3-4-7-8-HxBDF: 236 pg/kg	2,4,6-Tribroomfenol: 3.6 ng/g Octabromo-trimethylphenyl-lindane: 0.7 ng/g PBDE 99: 150 pg/g, PBDE 49: 131 pg/g, PBDE 66: 123 pg/g, PBDE 153: 78 pg/g, PBDE 47: 78 pg/g, PBDE 77: 26 pg/g, PBDE 119: 25 pg/g,

PBDE's = polybroomdifenylethers

Uit Tabel 2 blijkt dat met name monster 210099 een duidelijk verhoogd gehalte aan broomdioxines bevat. Deze broomdioxines zijn niet opgenomen in de norm en hebben officieel ook geen TEF. In de DR CALUX assay lijkt de respons van broomdioxines tot op zekere hoogte vergelijkbaar met die van de overeenkomstige chloordioxines. Gerekend met dezelfde TEFs (Toxic Equivalent Factors) en "lower bound" (=non-detects op 0), komt monster 210099 op een gehalte van ongeveer 0,5 ng TEQ/kg uit. Met "upperbound" (= alle non-detects op LOQ) komt er nog iets bij. Dit verklaart nog niet (geheel) de geschatte DR CALUX respons van 4 à 5 ng BEQ/kg (bioassay equivalenten). Mogelijke oorzaken hiervan zijn:

- niet alle broomdioxine congenen zijn bepaald door het CRL.
- de relatieve potenties in de bioassay komen niet altijd exact overeen met de TEF-waardes, die gebaseerd zijn op diverse type testen. TBDF lijkt het in de DR CALUX relatief goed te doen, hetgeen tot een overschatting kan leiden. Nader onderzoek hiernaar is wenselijk.

Zoals blijkt uit Tabel 2 worden naast broomdioxines ook gebromeerde vlamvertragers aangetroffen. 2,4,6-tribroomfenol is een stof die als vlamvertrager en als houtconserveringsmiddel in gebruik is. Octabromo-trimethylphenyllindane is een nieuwe vlamvertrager (OBIND/FR-1808) die recent op de markt is gekomen. Voor zover wij weten is dit de eerste keer dat deze stof in de voedselketen is

aangetroffen. Naast deze twee stoffen waren in monster 210099 nog lage niveau's aan polybroomdifenylethers (PBDE's) aanwezig.

Deze vlamvertragers geven zelf geen DR CALUX respons en dragen dus niet bij aan de hoge DR CALUX respons in de monsters. Van een aantal vlamvertragers is echter bekend dat ze verontreinigd kunnen zijn met broomdioxines.

2.1 Samenstelling cq identiteitsonderzoek

Met behulp van NMR werd aangetoond dat de twee producten uit Choline Chloride bestonden. Dit bevestigde dat het om kleine hoeveelheden contaminanten ging.

3 Conclusies en Aanbevelingen

- In beide onderzochte Choline Chloride monsters werden de gebromeerde vlamvertragers 2,4,6-Tribroomfenol en Octabromo-trimethylphenyl-lindane aangetroffen. In het monster met de hoge DR CALUX respons (210099) tevens een aantal PBDE's.
- In beide monsters werden ook broomdioxines aangetoond, echter deze kunnen niet volledig de DR CALUX respons verklaren.
- Gelet op bovenstaande resultaten lijkt het zinvol om onderzoek naar chemische contaminanten (o.a. gebromeerde vlamvertragers en broomdioxines) in diervoeder-additieven te prioriteren.
- Voor gebromeerde vlamvertragers en broomdioxines zijn (nog) geen nationale of internationale normen beschikbaar. Nader onderzoek naar de risico's voor de volksgezondheid en de te hanteren toleranties is adviseerbaar.
- Uit het oogpunt van voedselveiligheid is het zorgwekkend dat diervoedergrondstoffen ergens gedurende de productie of opslag in contact kunnen komen met industriële chemicaliën. Nader onderzoek naar de herkomst van de verontreiniging is wenselijk.

Literatuur

1. Verordening (EG) Nr. 1831/2003 van het Europese Parlement en de Raad van 22 september 2003 betreffende toevoegingsmiddelen voor diervoeding
2. Communautair repertorium van toevoegingsmiddelen voor diervoeding krachtens Verordening (EG) nr. 1831/2003

3. Community Register of Feed Additives pursuant to Regulation (EC) No 1831/2003
http://ec.europa.eu/food/food/animalnutrition/feedadditives/comm_register_feed_additives_1831-03.pdf

Bijlage 1a

RIKILT nr.	Relaas-nummer	Produkt omschrijving	Resultaten onderzoek vlamvertragers
208908	66228304	Choline Chloride 60%	2,4,6-Tribroomfenol : 1.1 ng/g, Octabromotrimethylphenyllindane : 0.14 ng/g PBDE 100 : <4 [pg/g], PBDE 119 : <4 [pg/g], PBDE 138 : <4 [pg/g], PBDE 153 : <4 [pg/g], PBDE 154 : <4 [pg/g], PBDE 17 : <4 [pg/g], PBDE 183 : <10 [pg/g], PBDE 190 : <10 [pg/g], PBDE 209 : Interferentie, PBDE 28 : <4 [pg/g], PBDE 47 : <30 [pg/g], PBDE 49 : <4 [pg/g], PBDE 66 : <4 [pg/g], PBDE 71 : <4 [pg/g], PBDE 75 : <4 [pg/g], PBDE 77 : <4 [pg/g], PBDE 85 : <4 [pg/g], PBDE 99 : <10 [pg/g]

RIKILT nr.	Relaas-nummer	Produkt omschrijving	Resultaten onderzoek vlamvertragers
210099	66221334	Toevoegings- middel Choline Chloride	2,4,6-Tribroomfenol : 3.6 ng/g Octabromotrimethylphenyllindane : 0.7 [ng/g] PBDE 100 : 17 pg/g PBDE 119 : 25 [pg/g], PBDE 138 : Interferentie, PBDE 153 : 78 pg/g PBDE 154 : Interferentie PBDE 17 : Interferentie PBDE 183 : Interferentie PBDE 190 : <10 [pg/g], PBDE 209 : Interferentie PBDE 28 : Interferentie PBDE 47 : 78 pg/g PBDE 49 : 131 pg/g PBDE 66 : 123 pg/g PBDE 71 : Interferentie PBDE 75 : <4 pg/g PBDE 77 : 26 pg/g PBDE 85 : <4 [pg/g] PBDE 99 : 150 [pg/g]

Bijlage 1b

Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Freiburg

Analysis of choline chloride samples RIK 020 8908, RIK 021 0099
21/10/2008

Concentrations of individual congeners in pg/kg fresh weight

Sample ID	Sample name	Dry weight [%]	2378-TBDD	12378-PeBDD	123478/123678-HxBDD	123789-HxBDD	OBDD	2378-TBDF	12378-PeBDF	23478-PeBDF	123478-HxBDF
15507.001A	Cholinchlorid RIK 020 8908A	97.7	n.d. < 1.5	n.d. < 11.9	n.d. < 4.3	n.d. < 3.2	n.d. < 5.1	382.2	67.8	22.8	n.d. < 21.7
15507.001B	Cholinchlorid RIK 020 8908B	97.7	n.d. < 1.1	n.d. < 19.5	n.d. < 3.7	n.d. < 2.8	n.d. < 11.5	315.6	70.3	15.9	46.4
15508.001A	Cholinchlorid RIK 021 0099A	97.0	188.8	n.d. < 20.4	n.d. < 6.1	n.d. < 3.9	n.d. < 8.5	2161.1	70.8	161.3	240.3
15508.001B	Cholinchlorid RIK 021 0099B	97.0	188.8	n.d. < 47.2	n.d. < 14.7	n.d. < 9.3	n.d. < 41.5	2264.3	126.2	116.8	230.7

Extraction method:

Twisselmann hot extraction with ethanol/toluene (70/30, v/v) and afterwards with toluene