



Einsatz von modellierten Daten bei der Anwendung von Stoffpriorisierungsverfahren

Stefan Rhiem (stefan.rhiem@lanuv.nrw.de), Barbara Guhl (barbara.guhl@lanuv.nrw.de)
Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen (LANUV NRW)

Abstract

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einsatz von modellierten Daten als Eingangsparameter für Stoffpriorisierungsverfahren (Oberflächengewässer) evaluiert. Die Daten wurden mit verschiedenen Modellierungstools (QSAR/ read-across) generiert. Der Einsatz der modellierten Daten wurde für zehn Mikroschadstoffe und zwei Priorisierungsverfahren getestet. Die *in silico*-Methoden konnten, verglichen mit experimentell erhobenen Werten aus der Literatur, oftmals belastbare Eingangsdaten für die Stoffpriorisierungsverfahren generieren, was zu einer realistischen Einstufung der Stoffe führte. Für Stoffe mit unzureichender Datenlage kann so eine erste Einschätzung über eine mögliche Umweltrelevanz getroffen werden. Es sind jedoch grundlegende Kenntnisse über die Funktionsweise der Modellierungstools und die Qualität der Vorhersagen notwendig, um Fehleinschätzungen zu minimieren.

1. Einleitung

Für die Bewertung der chemischen Belastung von Oberflächengewässern müssen in der Regel umfangreiche Stoffinventare berücksichtigt werden. Stoffpriorisierungsverfahren bieten eine Möglichkeit, aus den Stofflisten die potenziell umweltrelevanten Substanzen herauszufiltern. Am Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen (LANUV NRW) haben sich die beiden Verfahren nach COMMPS [1] und WRRL [2] bewährt (LANUV-Fachbericht 57 [3]). Der Einsatz der Priorisierungsverfahren scheitert aber in der Praxis häufig an den fehlenden Daten für die Eingangsparameter, insbesondere bei neuen, wenig untersuchten Stoffen. Eine Möglichkeit, die notwendigen Eingangsdaten zu generieren, bieten verschiedene *in silico*-Methoden [4], die auf Grundlage der chemischen Struktur eines Moleküls Parameter ableiten können. Dafür wurde eine Auswahl frei verfügbarer Modellierungstools an Hand von ausgewählten Mikroschadstoffen dahingehend evaluiert, ob die modellierten Werte zur Füllung von Datenlücken bei den Stoffpriorisierungsverfahren verwendet werden können. Es wurde verglichen, ob die Einstufungen auf Basis modellierter Eingangsparameter von denen abweichen, welche mittels experimentell erhobener Daten vorgenommen werden.

2. Methode

Für die Evaluierung wurden zehn Mikroschadstoffe aus verschiedenen Stoffgruppen ausgewählt, für die z.T. Vorinformationen bezüglich einer potenziellen Gewässerrelevanz existierten (Arzneimittelwirkstoffe: Citalopram, Fluoxetin, Sertralin, Diclofenac, Lamotrigin; Kosmetikinhaltsstoffe: Triclosan, Triclocarban; Pflanzenschutzmittel: Cypermethrin, Tefluthrin; Duftstoff: OTNE). Für diese Stoffe wurden die Parameter Bio-

konzentrationsfaktor (BCF), $\log K_{ow}$ (in den beiden Priorisierungsverfahren als Surrogat für den BCF einsetzbar) sowie ökotoxikologische Kennzahlen zur akuten Toxizität (LC_{50} Fische/ EC_{50} Daphnien) modelliert. Als Software wurden die Modellierungs-Tools ChemProp [5], EPI Suite [6] & ECOSAR [7], TEST [8], ToxRead [9], und VEGA [10] verwendet. Die in die Tools integrierten Modelle basieren auf QSAR (Quantitative Struktur-Wirkungs-Beziehung) und read-across Ansätzen. Um die Ergebnisse bewerten zu können, erfolgte ein Abgleich der modellierten mit experimentell erhobenen Daten aus der Primärliteratur und verschiedenen Datenbanken (z.B. PubChem, Pesticides Properties DataBase, ECOTOX-Datenbank). Für die Bewertungen wurden folgende Annahmen dafür getroffen, dass die *in silico* erzeugten Daten ein belastbares Ergebnis darstellen: korrekte Einstufung des BCF nach den REACH-Kriterien (BCF größer 2000 für B und größer 5000 für vB), Abweichung zwischen modellierten und experimentellen Daten um weniger als eine $\log K_{ow}$ -Einheit sowie um maximal Faktor 10 bei den Toxizitätskennzahlen. Diese Annahmen stellen einen groben Rahmen für die Ergebnisevaluation dar, jedoch schwankten auch die recherchierbaren experimentell ermittelten Werte für die verwendeten Endpunkte teilweise deutlich (vgl. z.B. Tabelle 1: Triclocarban). Zusätzlich wurde die in die meisten Tools eingebetteten Eigenevaluationen (Angaben zur Qualität bzw. zum Gültigkeitsbereich der Vorhersagen) ausgewertet.

Grundsätzlich ist anzumerken, dass für die Anwendung von Modellierungstools neben der Einarbeitung in die entsprechende Software auch grundlegende Kenntnisse über die dahinterstehenden Ansätze notwendig sind, um einen möglichst sicheren Umgang mit den Ergebnissen zu gewährleisten und Fehlinterpretationen zu minimieren.

3. Ergebnisse

In den verschiedenen Softwareanwendungen fällt der Umfang der Eigenevaluation, mit der die Modellierungstools ihre Vorhersagen bewerten, sehr unterschiedlich aus. Bei einigen wird ein Bereich für den $\log K_{ow}$ und das Molekulargewicht des vorherzusagenden Stoffs angegeben, in dem die Vorhersagen Gültigkeit besitzen (z.B. ECOSAR), während andere Tools komplexe Auswertungen verschiedener Deskriptoren und Statistiken beinhalten (z.B. VEGA). Bei den Ergebnissen für die zehn Mikroschadstoffe wurde von den Tools in den meisten Fällen vor der Verwendung nicht belastbarer Vorhersagen gewarnt. Jedoch wurden auch Vorhersagen in der Größenordnung der experimentellen Daten von den Tools als nicht gültig bzw. eingeschränkt gültig bewertet. In wenigen Einzelfällen wurden auch vorhergesagte Werte, welche deutlich

außerhalb des definierten zulässigen Schwankungsbereichs lagen, als gültige Vorhersagen eingestuft. Dies ist besonders schwerwiegend, wenn die Toxizität oder das Bioakkumulationspotential eines Stoffs deutlich unterschätzt werden. Einige Tools bieten neben der Eigenevaluation im Ergebnisreport noch Informationen darüber an, welche Moleküle im Trainingsdatensatz die größte Ähnlichkeit zu dem gesuchten Stoff haben. Der Nutzer kann diese für eine eigene Bewertung der Vorhersagequalität nutzen.

Die von den Modellen ausgegebenen log K_{OW}-Werte lagen überwiegend im als belastbar definierten Bereich. Es wurden jedoch bei einzelnen Vorhersagen Abweichungen um mehr als eine log K_{OW}-Einheit von experimentell ermittelten Werten festgestellt, welche bei den Priorisierungsverfahren zu unterschiedlichen Einstufungen führten. Die Datenlage zu experi-

mentell ermittelten BCF-Werten ermöglichte für Triclosan und Tefluthrin keine eindeutige Einstufung nach den REACH-Kriterien. Für die übrigen Stoffe führte der Einsatz modellierter BCF-Werte überwiegend zu der gleichen Einstufung wie die Verwendung experimenteller Werte. Die Verwendung von log K_{OW}-Werten als Ersatzparameter für den BCF führte in der Regel in den Priorisierungsverfahren zu einer strengeren Einstufung. Im Vorsorgesinne ist daher die Verwendung des log K_{OW} dem Einsatz modellierter BCF-Werte vorzuziehen. Abschließend ist darauf hinzuweisen, dass – wie aus der PFC-Problematik bekannt – die Bioakkumulation von Stoffen nicht immer über den log K_{OW} abgeleitet werden kann.

Tabelle 1: Ergebnisse der modellierten EC₅₀-Werte (mg/l, 48 h) für die akute Daphnien-Toxizität.

Exc = es wurden Strukturen erkannt, die auf eine erhöhte Toxizität hinweisen, * = Stoff mit spezieller akuter Toxizität. A: [11]; B: [12]; C: [13]; D: [14]; E: ECOTOX-Datenbank (US EPA); F: [15]; G: Pesticide Properties Database (University of Hertfordshire), H: Registered Substances Database (ECHA)

Modell	ECOSAR		TEST	VEGA		ChemProp			Experimentell ermittelte Werte
	Baseline toxicity	spezielle Klassen	Consensus	EPA	DEMETRA	von der Ohe	Verhaar	Kühne read-across	
Citalopram	4,844	0,652	0,19	0,0084	1,61	6,63	2,81	-	5,66 ^A
Fluoxetin	0,771	0,175	0,061	0,26	0,72	6,86	2,93	2,08	0,82 ^B
Sertralin	0,216	0,071	0,0175	0,14	0,48	0,74	0,25	1,77	0,92 ^B ; 1,3 ^B
Triclosan	0,701	0,469	0,16	0,83	1,03	1,05	0,38	0,31	0,19 ^C ; 0,26 ^C
Triclocarban	0,477	0,054	0,27	0,11	0,35	1,42	0,52	0,01	0,003 ^D ; 0,013 ^E
Diclofenac	25,75	-	0,31	0,99	17,25	4,86	2,02	31,3	80,1 ^E ; 94,1 ^E
Lamotrigin	879,6	1,872	0,41	42,9	11,55	116,1	95,48	-	>7,7 ^F ; 56,00 ^F
Cypermethrin*	0,034	0,00084	0,00104	0,0012	0,0007	0,95	0,32	Exc	0,0003 ^G
Tefluthrin*	0,007	0,00031	0,0107	0,099	0,0001	0,31	0,09	Exc	0,00006 ^G
OTNE	0,203	-	1,96	1,49	5,5	7,39	3,27	-	1,38 ^H

In Tabelle 1 sind exemplarisch die modellierten und experimentell ermittelten Daten für die akute Daphnien-Toxizität (EC₅₀, 48 h) dargestellt. Den EC₅₀-Werten sind experimentell ermittelte Werte aus verschiedenen Quellen gegenübergestellt. In roter Schrift sind die Vorhersagewerte wiedergegeben, die mehr als um einen Faktor 10 von den experimentellen Werten abweichen (jeweils der nächstliegende Wert). Die Farbcodierungen (in den Spalten) geben die Auswertung der Eigenevaluation der Modellierungstools wieder, die eine Vorhersage als „gültig“ (grün), „eingeschränkt gültig“ (gelb) oder „nicht gültig“ (rot) einstufen können. Die Validierungsergebnisse eines Modells können für die Stoffe verglichen werden, aufgrund der abweichenden Validierungssystematik ist jedoch kein Vergleich zwischen den Ergebnissen der unterschied-

lichen Modelle möglich. Mehrere Modelle (EPI Suite – „Baseline“, TEST, VEGA – „EPA“, „von der Ohe“ und „Verhaar“ aus ChemProp) bilden die Basistoxizität eines Stoffs ab. Diese Modelle gaben die akute Daphnientoxizität für die Stoffe, deren Toxizität -soweit bekannt- auf dieser Wirkweise beruht (alle Stoffe außer Cypermethrin und Tefluthrin), in der Regel belastbar wieder. Für die Stoffe Cypermethrin und Tefluthrin ist eine erhöhte Toxizität gegenüber Daphnien aufgrund eines speziellen Wirkmechanismus bekannt. Die hohe Toxizität von Tefluthrin wurde nur von drei Modellen erkannt, wobei „Kühne read-across“ aus ChemProp keinen konkreten Wert ausgibt sondern darauf hinweist, dass in dem Molekül Strukturen gefunden wurden, welche auf eine erhöhte Toxizität hinweisen. Die Toxizität von Cypermethrin, welches in den meisten

Trainingsdatensätzen der Modelle vorhanden ist, wurde von vier Modellen belastbar vorhergesagt. Zusätzlich erkannte das Modell „Kühne read-across“ aus ChemProp, eine erhöhte Toxizität. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass durch spezifische Wirkmechanismen bedingte Toxizitäten mit den verwendeten Modellen nur begrenzt vorhergesagt werden können. Als Resultat der vorliegenden Untersuchung wird zur Vorhersage der akuten Daphnientoxizität die Verwendung der Modelle „spezielle Stoffklassen“ & „Baseline“ von ECOSAR (wobei hier der Nutzer die vorgeschlagene Klassenzuordnung prüfen muss) sowie des in ChemProp verankerte „Kühne read-across“ empfohlen. Diese lieferten für die ausgewählten Stoffe überwiegend belastbare Vorhersagen. Die Eigenevaluationen der Modelle „DEMETRA“ aus VEGA und „von der Ohe“ aus ChemProp bewerteten die Vorhersagen für die getesteten Stoffe in keinem Fall als gültig, die modellierten Ergebnisse wichen aber meistens um einen Faktor kleiner 10 von den experimentellen Daten ab. Diese Modelle können daher als zusätzliche Informationsquelle zu den vorher genannten verwendet werden.

Die Ergebnisse für die ökotoxikologischen Kennzahlen aus dem akuten Fischtoxizitätstest zeigten ein vergleichbares Bild. Für die betrachteten Stoffe lieferten die Modelle in vielen Fällen Werte, welche im Bereich von Faktor 10 um experimentell ermittelte Daten liegen. Für Anwendungsbereiche, welche auf ein erstes Screening und Priorisieren von Stofflisten abzielen, ist diese Genauigkeit für eine grobe Einschätzung der Umweltrelevanz eines noch nicht im Labor untersuchten Moleküls akzeptabel. Es muss allerdings darauf hingewiesen werden, dass häufiger falsch negative (experimentelle Toxizität >> modellierte Toxizität, z.B. in Tabelle 1: Triclocarban durch das Modell „Baseline toxicity“ aus ECOSAR) als falsch positive (experimentelle Toxizität << modellierte Toxizität, z.B. in Tabelle 1: Diclofenac durch das Modell „Verhaar (baseline)“ aus ChemProp) Vorhersagen beobachtet wurden. Eine vorhergesagte hohe Toxizität wurde daher in den meisten Fällen durch entsprechende experimentelle Daten bestätigt, während eine modellierte niedrige Toxizität nicht immer den experimentell ermittelten Testergebnissen entsprach. Allgemein empfiehlt es sich zur Absicherung der Ergebnisse mehrere verschiedene Modelle parallel anzuwenden und die verschiedenen Eigenevaluationssysteme und unterschiedlich umfangreichen Zusatzinformationen zu nutzen.

Die Ergebnisse der Stoffpriorisierungsverfahren nach COMMPS und WRRL für die zehn ausgewählten Mikroschadstoffe spiegelten weitgehend aus der Literatur bekannte Bewertungen wider. Die bereits als gewässerrelevant eingestuft Stoffe bzw. jene Stoffe, die derzeit durch die EU oder nationale Behörden einer eingehenden Prüfung unterzogen werden, erhielten eine hohe Priorität (u.a. Diclofenac, Cypermethrin und Triclosan). Den übrigen Stoffen wurden demgegenüber niedrigere Prioritäten zugeordnet. Der Einsatz modellierter Eingangsparameter anstelle von experimentellen Daten führte teilweise zu abweichenden Einstufungen der

Stoffe. Einigen Stoffen wurde aufgrund der modellierten Daten ein höheres Bioakkumulationspotenzial zugeordnet, als sich aus den Ergebnissen entsprechender Laborstudien ableiten ließ. So wurde Triclocarban von einigen Modellen als bioakkumulativ eingestuft, was experimentell nicht nachgewiesen wurde. Zudem wurde die Toxizität einiger Stoffe durch die Verwendung computergenerierter akuter Toxizitätsdaten unterschätzt. Dabei führten auch Werte in einem belastbaren Bereich (Faktor 10 um den experimentellen Wert) zu abweichenden Ergebnissen der Priorisierungsverfahren, da im Priorisierungsverfahren nach WRRL die Toxizität eines Stoffe in Konzentrationsbereichen klassifiziert wird und damit auch geringe Änderungen der akuten Toxizitätsdaten zu einer abweichenden Klassenzuordnung führen können. Die Stoffpriorisierung dient dem Zweck, potenziell gewässerrelevante Mikroschadstoffe zu identifizieren. Aus diesem Grund sollten im Sinne des Vorsorgeprinzips jeweils die Werte verwendet werden, welche zu der höheren Risikostufe in den Priorisierungsverfahren führen (niedrigste Toxizitätswert/größter BCF/ höchster log K_{ow}).

Vor allem bei neu identifizierten Stoffen bzw. Stoffen mit lückenhafter Datenlage können durch die Verwendung modellierter Eingangsdaten erste überschlägige Priorisierungen erfolgen und Stoffe identifiziert werden, die vorrangig einer detaillierteren Untersuchung unterzogen werden sollten. Nach den bisherigen Erfahrungen ist jedoch eine gründliche Einarbeitung in die theoretischen Grundlagen und die Funktionsweise der Modellierungstools erforderlich, um eine korrekte Anwendung zu gewährleisten und um die Aussagekraft der Ergebnisse sicher interpretieren zu können.

Die hier vorgestellten Untersuchungen sind Teil des LANUV-Fachberichts 72 [11], in dem weitere Ergebnisse der Anwendung von Stoffpriorisierungsverfahren ausführlicher dargestellt werden.

4. Literatur

- [1] Klein, W., Denzer, S., Herrchen, M., Lepper, P., Müller, M., Sehrt, R., Storm, A., Volmer, J. (1999): Revised proposal for a list of priority substances in the context of the water framework directive (COMMPS procedure). Fraunhofer-Institute Molecular Biology and Applied Ecology
- [2] Wilkinson, H., Sturdy, L., Whitehouse, P. (2007): Prioritising chemicals for standard derivation under Annex VIII of the Water Framework Directive. Science Report—SC040038/SR, 145
- [3] LANUV (2014): Priorisierung und Risikobewertung von Spurenstoffen mit potenzieller Relevanz für nordrhein-westfälische Gewässer. LANUV-Fachbericht 57. Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen. Recklinghausen. Download: www.lanuv.nrw.de/landesamt/veroeffentlichungen/publikationen/