



Mitteilungen der Fachgruppe

Umweltchemie und Ökotoxikologie

Gesellschaft Deutscher Chemiker

- Impressionen von der Jahrestagung
- Munition im Meer und Jagd auf den Adlermörder
- In-vitro-Biotestbatterie und Total Oxidizable Precursor Assay
- PAK in Bodenproben
- Kurz vorgestellt:
Professur für Instrumentelle Analytik und Umweltmesstechnik Offenburg
- Kurznachrichten, Tagungsankündigungen und Personalien



4/2022

28. Jahrgang, Dezember 2022 ISSN 1618-3258

Impressum

Mitteilungen der Fachgruppe Umweltchemie und Ökotoxikologie

Herausgegeben von der Fachgruppe Umweltchemie und Ökotoxikologie der Gesellschaft Deutscher Chemiker
www.gdch.de/umweltchemie

Redaktion:

Prof. Dr. Dr. Klaus Fischer
Analytische und Ökologische Chemie
FB VI –Raum- und Umweltwissenschaften–
Universität Trier
Campus II, Behringstr. 21, D-54296 Trier
Tel. und Fax: 0651/ 201-3617
Sekretariat: 0651/ 201-2243
E-Mail: fischerk@uni-trier.de

Abkürzung:

Mitt Umweltchem Ökotox

Design/ Technische Umsetzung:

Dr. Matthias Kudra, Universität Leipzig
E-Mail: kudra@uni-leipzig.de

ISSN: 1618-3258

Das vorliegende Heft der Mitteilungen wurde sorgfältig erarbeitet. Dennoch übernehmen Herausgeber, Autoren und Redakteure für die Richtigkeit von Angaben, Hinweisen sowie für eventuelle Druckfehler keine Haftung.

Titelbild:

Jahrestagung in Emden: Der ausgezeichnete wissenschaftliche Nachwuchs

Editorial

116 Editorial

Originalbeiträge

- 118 **J. S. Strehse, E. Maser:** Munition im Meer: Auswirkungen auf die marine Ökosphäre
- 122 **S. Breinlinger, T. H. J. Niedermeyer:** Jagd auf den Adlermörder – Entdeckung eines neuen Cyanotoxins
- 125 **D. Jungmann et al.:** Pilothafte Anwendung einer in-vitro-Biotestbatterie für ein effektbasiertes Monitoring in ausgewählten niedersächsischen Oberflächengewässern
- 134 **F. T. Lange et al.:** Aussagekraft der Anwendung des Total Oxidizable Precursor-(TOP) Assays auf Bodenprobenextrakte und wässrige Eluate
- 139 **M. Wietzoreck et al.:** Langzeitstudie zu nitriferten und oxygenierten polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen in Bodenproben zweier unterschiedlicher Standorte

Kurz vorgestellt

- 145 Professur für Instrumentelle Analytik und Umweltmesstechnik, Hochschule Offenburg

Aus der Fachgruppe

- 146 Protokoll der Mitgliederversammlung am 7. September 2022 in Emden
- 148 Bericht aus dem Fachgruppenvorstand
- 148 Bericht von der Sitzung des FG-Arbeitskreises „Chemikalienbewertung“ am 13. Oktober 2022
- 149 Verleihung des Paul-Crutzen-Preises 2022

Informationen

Tagungen

- 150 „Wasser 2023“: 15.-17.05.2023, Augsburg
- 150 ICCE 2023, 11.-15.06.2023, Venedig

Kurznachrichten

- 151 Chemical Science Article: Chemistry Must Respond to the Crisis of Transgression of Planetary Boundaries
- 151 Rat der EU verabschiedet förmlich weitere Beschränkungen für „ewige Chemikalien“ in Abfällen
- 152 Kalifornien verklagt PFAS-Hersteller 3M und DuPont
- 152 DVGW-Forschungsvorhaben: Entwicklung eines Verfahrens für die diskriminierungsarme Anreicherung zur effektdirigierten Analytik von Wasserproben
- 153 IUTA-Forschungsprojekt: Entwicklung eines Verfahrens zur rezeptorspezifischen Anreicherung von Hormonen und endokrinen Disruptoren
- 153 Neue EU-Richtlinien für das Sedimentmanagement
- 154 Kunststoffe in der Umwelt – Zusammenfassende Informationen vom Schweizer Bundesamt für Umwelt
- 154 EU-Horizon-Projekt MINAGRIS
- 154 Konferenz soll Abkommen gegen Plastikmüll aushandeln
- 154 Neue Veröffentlichungen aus dem Umweltbundesamt

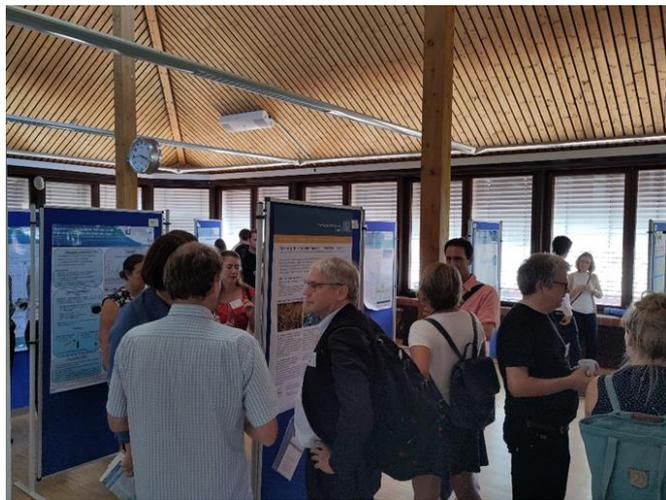
Personalia

- 157 Eintritte in die FG 23.08. bis 17.11.2022
- 157 Geburtstage 1. Quartal 2023

Liebe Mitglieder der Fachgruppe „Umweltchemie und Ökotoxikologie“,

nach zweijähriger Pause haben wir uns im September endlich wieder in Präsenz in Emden zu einer Jahrestagung getroffen. Dank eines Böschungsbrandes kurz vor Emden hatten viele Gäste sogar schon während der Anreise unverhofft die Möglichkeit, neue Kontakte zu knüpfen. Man lernt sich doch gleich viel besser kennen, wenn man gemeinsam die vielfältigen ÖPNV-Angebote der norddeutschen Tiefebene erkundet. Wir sind gespannt, welche neuen Projektideen während des Wartens auf den Schienenersatzverkehr entwickelt wurden!

Mit etwas Verspätung startete deshalb am Montagabend unsere gemeinsame Jubiläumsfeier mit dem SETAC GLB. 30 Jahre Fachgruppe „Umweltchemie und Ökotoxikologie“, 25 Jahre SETAC GLB, und 20 Jahre gemeinsame Tagungen wollten gefeiert werden. Dafür hatten die Vorsitzenden der beiden Fachgruppen eine unterhaltsame Präsentation vorbereitet und Mitglieder der beiden Fachgruppen diskutierten im Rahmen einer Podiumsdiskussion die aktuellen und zukünftigen Entwicklungen. Als Einstimmung in das Tagungsprogramm sprach Matthias Liess (UFZ Leipzig) passend zum Tagungsprogramm über „Monitoring und Modellierung von Stoffströmen und Wirkung – Entwicklung & Zukunft“.



Postersession

Das offizielle Tagungsprogramm begann am Dienstagmorgen mit einem spannenden Plenarvortrag durch Edmund Maser von der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel zu den toxikologischen Risiken versenkter Kriegsmunition, einem Thema, das leider weiterhin aktuell bleiben wird. Anschließend begannen die Parallelsessions zu verschiedenen Themengebieten aus dem Bereich der Umweltchemie und Ökotoxikologie, wobei am Dienstag insbesondere das Umweltmonitoring und der Verbleib und die Transformation von Stoffen in Umweltkompartimenten eine Rolle spielten. Den ersten Tag rundeten dann ein leckeres Abendessen direkt am Emdener Delft und – für alle, die noch genug Energie hatten – ein Abstecher in die Emdener Kneipenszene ab.

Ein Plenarvortrag zum Thema „Mikroplastik in der Umwelt: Kleine Partikel, großes analytisches Problem?“ durch Sebastian Primpke (AWI, Helgoland) lockte dann am Mittwochmorgen alle wieder zurück in den Hörsaal. Die anschließenden Diskussionen in den Parallelsessions drehten sich um ökotoxikologische Fragestellungen, den Transport von Chemikalien über den Atmosphärenpfad, Leitplanken und Grenzlinsen, und auch eine Session speziell zu Moosen wurde angeboten.



Sonnige Pause mit dem SETAC GLB-Vorstand

Den feierlichen Abschluss der Tagung bildeten die Preisverleihungen. Auf der Tagung wurden die besten Poster und Vorträge des wissenschaftlichen Nachwuchses ausgezeichnet. Der Paul-Crutzen-Preis wurde in diesem Jahr auf zwei Personen aufgeteilt, weil aus Sicht des Vorstands beide Publikationen preiswürdig waren. Steffen Breinlinger bekam den Preis zur Würdigung seiner hervorragenden Publikation „Hunting the eagle killer: A cyanobacterial neurotoxin causes vacuolar myelinopathy“ (Science 2021, 371, 1335-1343, <https://www.science.org/doi/10.1126/science.aax9050>). In seiner Arbeit (Kurzfassung in diesem Heft) hat er mit detektivischem Gespür und unter Einsatz einer Vielzahl von Methoden das Toxin ermittelt, das für das Massensterben des Weißkopfseeadlers und anderer Organismen verantwortlich ist. Ebenso preiswürdig war die Arbeit von Jennifer Strehse mit dem Titel „The explosive trinitrotoluene (TNT) induces gene expression of carbonyl reductase in the blue mussel (*Mytilus* spp.) – A new promising biomarker for sea-dumped World War relicts?“ (Archives of Toxicology 2020, 94, 4043-4054, <https://link.springer.com/article/10.1007/s00204-020-02931-y>). Jennifer Strehse kombinierte in umfangreichen Labor- und Freilandexperimenten eine Vielzahl von Methoden und entwickelte so einen spezifischen molekularen Biomarker in Miesmuscheln, mit dem eine Exposition der Filtrierer gegenüber TNT nachgewiesen werden kann (siehe erster Originalbeitrag). Wie wichtig die Arbeiten zu Munition im Meer sind, wurde bereits im ersten Plenarvortrag der Tagung deut-

lich und so bildete der Fachvortrag von Frau Strehse einen passenden Schlusspunkt für eine runde Tagung.

Wir haben uns gefreut, dass sich so viele von Ihnen aktiv in das Tagungsprogramm eingebracht und mit Sessions oder Vorträgen zu einer gelungenen und vielseitigen Tagung beigetragen haben. Neben dem inhaltlichen Programm war es mindestens genauso schön, sich in den Pausen endlich einmal wieder direkt auszutauschen. Ein besonderes Dankeschön geht an den SETAC GLB für die gute Zusammenarbeit und an das Team der Hochschule Emden für die gelungene Organisation, insbesondere an Monika Batke! 2023 wird die Jahrestagung vom 11.-13. September direkt an der deutschen Grenze in Muttenz in der Schweiz stattfinden. Merken Sie sich den Termin gerne schon einmal vor, wir würden uns freuen, wenn wir wieder so viele Fachgruppen-Mitglieder dort treffen würden.

Ihr Fachgruppen-Vorstand
Stefan Hahn, Jan Schwarzbauer, Markus Telscher, Stefanie Wieck und Christiane Zarfl



Munition im Meer: Auswirkungen auf die marine Ökosphäre – Überwachungsmöglichkeiten mittels Biomonitoring und molekularem Biomarker

Jennifer S. Strehse (strehse@toxi.uni-kiel.de), Edmund Maser (maser@toxi.uni-kiel.de)
Institut für Toxikologie und Pharmakologie für Naturwissenschaftler, UKSH Campus Kiel

Zusammenfassung

Munition im Meer rückt immer weiter in den Fokus von Gesellschaft, Politik und Forschung. Mit Hilfe eines Biomonitorings mit Miesmuscheln konnte nachgewiesen werden, dass TNT und seine Metabolite aus rostender Altmunition austreten und sich in der Meeresumwelt anreichern. Dies könnte zukünftig für die marine Flora und Fauna wie auch für den Menschen zum Problem werden, da TNT und seine Metabolite akut wie auch chronisch toxisch sind. Dies konnte unter anderem an Miesmuscheln gezeigt werden. Als Reaktion auf den durch TNT verursachten oxidativen Stress wird in den Muscheln das Gen des detoxifizierenden Enzyms Carbonylreduktase konzentrations-, zeit- und gewebeabhängig verstärkt exprimiert.

Das Erbe der Weltkriege als „neue“ Schadstoffquelle

Als vergleichsweise neue Schadstoffquelle ist das Thema „Munition im Meer“ erst vor kurzer Zeit in das Bewusstsein von Gesellschaft, Politik und Wirtschaft gerückt. Nach den beiden Weltkriegen wurden tausende Tonnen Altmunition in den Weltmeeren verklappt. Alleine in den deutschen Küstengewässern befinden sich nach Schätzungen noch immer rund 1,6 Millionen Tonnen konventioneller Munition (Böttcher et al., 2011). Der Grund dieser Art der Beseitigung war die Tatsache, dass es den Alliierten nicht möglich war, diese großen Mengen an konfiszierter Munition an Land unschädlich zu machen. Aber auch die Kriegshandlungen während der Weltkriege trugen erheblich dazu bei, dass sich Munition in allen Weltmeeren finden lässt. Dazu zählen Gefechte auf See wie z.B. feindlicher Beschuss oder das systematische Verminen von Wasserstraßen. Im zweiten Weltkrieg wurden zudem nicht abgeworfene Fliegerbomben auf dem Rückweg durch die Kampfflugzeuge über dem offenen Meer entladen, um eine sichere Landung im Heimatflughafen zu ermöglichen. Daneben liegen auf dem Grund der Weltmeere tausende mit Munition beladene Schiffs- und Flugzeugwracks.

Von Munition im Meer gehen zum Teil sehr unterschiedliche Gefahren aus. Hier muss zunächst zwischen chemischer Munition, zu der u.a. Senfgas und Tabun zählen, und konventioneller Munition, zu denen Explosivstoffe wie TNT gehören, unterschieden werden. Eine besonders akute Gefahr geht von konventioneller Munition aus, wenn sie noch scharf ist und eine Explosionsgefahr mit sich bringt. Hierdurch sind vor allem Fischer und Konstruktionen wie Windparks und Kabeltrassen gefährdet. Das zwingend vorgeschriebene Sondieren des Meeresbodens in Nord- und Ostsee vor der Durchführung von Near- und Offshore Aktivitäten, sowie weitere Folgekosten

durch die Beseitigung von Altlasten und die Verzögerungen der Bauvorhaben bringen erhebliche Kosten für die Industrie mit sich. Von Unfällen mit Munition wird immer wieder im Rahmen von Fischereiaktivitäten berichtet. Diese reichen von Explosionen an Bord bis hin zu Verletzungen durch Senfgas. Kommerziell gravierend ist zudem die Pflicht zum kompletten Vernichten des Fangs nach Kontakt mit chemischer Munition.

„Munition im Meer“ als schleichende Bedrohung für die marine Umwelt und den Menschen

Gerade die Beeinträchtigung von Near- und Offshore Aktivitäten haben das Problem der Munition im Meer in den Fokus der beteiligten Industriezweige gerückt. Durch die jeweiligen Interessensvertreter wurde auch die Aufmerksamkeit der Politik in diesem Bereich erhöht. Neben den zuvor beschriebenen akuten Gefahren und ökonomischen Auswirkungen, muss jedoch auch ein weiteres hochgradiges Risikopotential berücksichtigt werden: Konventionelle und auch chemische Kampfstoffe sind erwiesenermaßen akut wie auch chronisch in höchstem Maße giftig – für den Menschen wie auch für die marine Flora und Fauna. Dies ist in den letzten Jahren durch eine Vielzahl von Laborstudien belegt worden. Infolgedessen wurde befürchtet, dass durch die fortschreitende Korrosion der verschiedenartigen Munitionskörper Munitionsbestandteile durch das umgebende Wasser herausgelöst werden und in die marine Umwelt gelangen. Dass dies bei Munition aus dem 2. Weltkrieg geschieht, konnte erstmals im Jahr 2004 in Untersuchungen in der Meeresumwelt in der Nähe der Isla de Vieques (Puerto Rico) gezeigt werden (Porter et al., 2011). Allerdings gab es keine Erkenntnisse darüber, wie lange es dauert, bis sich die Schadstoffe aus den Minen, Bomben und Torpedos in der Meeresumwelt anreichern und wie man diese Problematik wissenschaftlich fundiert erforschen kann.

Muscheln als Biomonitoring-System für Munition im Meer

Um zu erkennen, ob sprengstofftypische Verbindungen wie TNT aus korrodierenden Kriegsalllasten austreten, ist es notwendig, diese im umgebenden Wasserkörper auch im Spurenbereich messen zu können. Miesmuscheln können dazu besonders gut als Bioindikatoren eingesetzt werden. Als permanente und gleichzeitig robuste Filtrierer nehmen sie aus dem umgebenden Wasser nicht nur Nähr-, sondern auch Schadstoffe auf und reichern diese in ihrem Gewebe an. Auf diese Weise dienen Muscheln bereits in vielen Monitoring-Programmen als Bioindikatoren zur Überwachung der Meeresumwelt auf mögliche Schadstoffbelastungen. Neben dem Sammeln und Analysieren von Wildpopulationen eignen sich Muscheln

auch für gezielte Expositionsstudien. Der Vorteil: Es kann auf den Tag genau nachvollzogen werden, wie lange sich die Muscheln in einem Untersuchungsgebiet befunden haben und erlaubt somit eine statistisch aussagekräftige Beurteilung des Belastungszustandes des betrachteten Gebietes. Es war deshalb naheliegend, dass sich Muscheln auch im Hinblick auf ein Monitoring von Munition im Meer sehr gut eignen (Strehse and Maser, 2020). Dazu wurden Miesmuscheln gezielt in einem Munitionsversenkungsgebiet vor den Toren der Kieler Förde, in der so genannten Kolberger Heide, exponiert. Die Kolberger Heide liegt ca. 2 Kilometer vor der Küste Schönbergs und umfasst ein Gebiet von 15 km². Es wird davon ausgegangen, dass rund 30 000 Tonnen Altmunition nach dem Zweiten Weltkrieg in diesem Gebiet verklappt, also entsorgt wurden. In einer ersten Versuchsreihe wurden an einer Ansammlung von ca. 70 Ankertauminen in Abständen von bis zu 35 m an insgesamt sechs Verankerungen Miesmuscheln direkt am Meeresgrund und in einem Meter Höhe für ca. drei Monate exponiert. Jede dieser bereits korrodierenden Ankertauminen enthält bis zu 350 kg Sprengstoff. Abbildung 1 zeigt den schematischen Versuchsaufbau, Abbildung 2 ein Netz exponierter Muscheln nach einem Austausch durch Forschungstaucher.

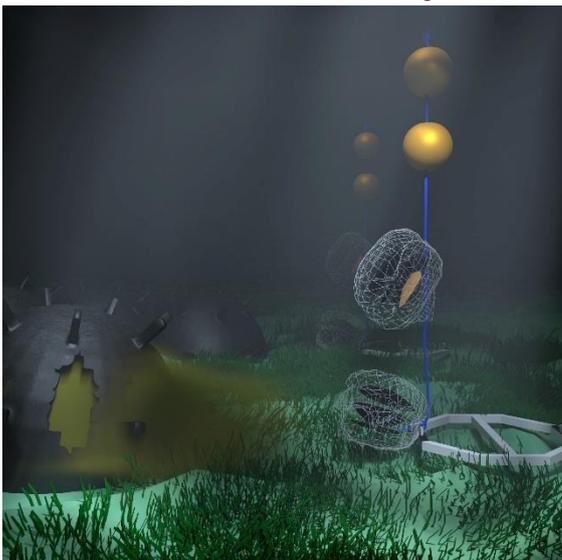


Abb.1: Schematischer Aufbau einer Mooring mit je einem Netz Miesmuscheln direkt am Meeresboden und in einem Meter Höhe. Links neben der Mooring ist eine korrodierende Anker-Taumine dargestellt. Dieser Typ Mine enthält bis zu 340 kg Sprengstoff. © Hans-Jörg Martin, UKSH

Über einen Zeitraum von einem Jahr wurden an den Ankertauminen insgesamt dreimal Muscheln ausgebracht und anschließend analysiert. Es hat sich gezeigt, dass unabhängig von der räumlichen Entfernung der Muscheln zu den Minen und ebenso Jahreszeiten-unabhängig in allen exponierten Muscheln der TNT-Metabolit 4-Amino-2,6-Dinitrotoluol (4-ADNT) nachgewiesen werden konnte. Die Konzentrationen betragen dabei im Schnitt 7 ng/g Muschelgewebe (Appel et al., 2018). Hiermit konnte eindeutig und weltweit erstmalig der Beweis erbracht werden, dass aus verklappten korrodierenden Kriegsalllasten ein als toxisch eingestuftes TNT-Umbauprodukt

innerhalb eines vergleichsweise kurzen Untersuchungszeitraumes in der marinen Umwelt nachweisbar ist.



Abb.2: Miesmuscheln nach dreimonatiger Exposition im Munitionsversenkungsgebiet Kolberger Heide. © Thorsten Schott, GEOMAR

Gezielte Sprengungen zur Absicherung von Wasserstraßen vergrößern das Umweltproblem

In einem zweiten Untersuchungsszenario wurden die Muscheln in der Kolberger Heide in einem Gebiet mit gezielt durchgeführten Sprengungen ausgebracht. Diese Sprengungen erfolgten in den vergangenen Jahren an nicht lagerungssicheren Großsprengkörpern wie Wasserbomben und Grundminen, die aus den Fahrrinnen der Wasserstraßen in dieses Gebiet verbracht wurden. Durch die Untersprengungen kommt es jedoch zu einer unvollständigen Umsetzung des Sprengstoffes. Dieser wird in kleinen, teilweise nur wenige Millimeter großen Stücken bis hin zu fußballgroßen Brocken auf dem Meeresboden verteilt. Erwartungsgemäß wurden auch in den hier exponierten Muscheln sprengstofftypische Verbindungen nachgewiesen. Im Gegensatz zu den korrodierenden Ankertauminen, wurden hier nun in den Muscheln neben dem Metaboliten 4-ADNT auch die Muttersubstanz TNT sowie zwei weitere Umbauprodukte gefunden. Noch wichtiger war aber die Tatsache, dass die gemessenen Gesamt-Konzentrationen mit durchschnittlich 350 ng/g Muschelgewebe um das bis zu 50-fache höher waren als die Konzentrationen, die im ersten Untersuchungsszenario gemessen wurden (Maser and Strehse, 2020; Strehse et al., 2017).

Eine erste toxikologische Risikobewertung für den Konsum von TNT-belasteten Meeresfrüchten

Nachdem es nun als erwiesen gilt, dass TNT und seine Metabolite in Biota wie Miesmuscheln aufgenommen werden, stellt sich nun für den Menschen als Konsument von Fisch und Meeresfrüchten die Frage, ob der mögliche Verzehr von TNT-kontaminierten Lebensmitteln eine gesundheitliche Gefahr darstellt. Besonders hervorzuheben ist hier eine chronisch-toxische Gefahr durch den Verzehr gering belasteter Meeresfrüchte. Hierbei sind insbesondere mögliche Gefahren durch die kanzerogenen und erbgutveränderten Eigenschaften der Explosivstoffe zu nennen. Erste toxikologische Berechnungen zeigen: Selbst bei einem lebenslangen täglichen Konsum einer

durchschnittlichen Verzehrmenge von ca. 37 Gramm Meeresfrüchten pro Tag, die sich wie im ersten Untersuchungsszenario in der Nähe von den teilweise korrodierenden Munitionskörpern befunden haben, lassen momentan keine negativen gesundheitlichen Auswirkungen vermuten. Meeresfrüchte, die jedoch aus einem Gebiet mit Unterwassersprengungen stammen sind dagegen so hoch belastet, dass ein täglicher Konsum nicht empfohlen werden kann (Maser and Strehse, 2021). Offensichtlich verhindern die Metallhüllen, trotz Korrosion, zurzeit noch eine übermäßige Freisetzung der giftigen Explosivstoffe. Langfristig ergibt sich aber für die Fischerei, wie auch für das Installieren von Aquakulturanlagen, dass diese nur in nicht mit Kriegsallasten belasteten Gebieten erfolgen können. Eine Überwachung von Munitionsversenkungsgebieten, zum Beispiel durch Muschelmonitoring, ist zum Schutze der Konsumenten von Fisch und Meeresfrüchten daher dringend erforderlich. Zudem ist in den kommenden Jahren vermehrt damit zu rechnen, dass die schützenden Metallhüllen immer weiter durchrosten und ihren giftigen Inhalt vermehrt freigeben.

Wird die marine Ökosphäre durch freiwerdende Explosivstoffe beeinträchtigt?

Betrachtet man in einem nächsten Schritt die Auswirkungen von Sprengstoffkontaminationen auf die marine Flora und Fauna, so muss berücksichtigt werden, dass eine gemessene Schadstoffkonzentration im Gewebe eines Lebewesens noch keine Aussage über den tatsächlichen akuten oder chronisch-toxischen Effekt dieser Substanz auf den gesamten Organismus zulässt. In Bezug auf konventionelle und chemische Kampfstoffe liegen bereits zahlreiche Labor-Studien vor, die weitgefasste negative Effekte auf Muscheln, Fische, Krebse und weitere marine Spezies belegen (Schuster et al., 2021; Koske et al., 2019; Beck et al., 2018). Zudem wurde gezeigt, dass diese Beeinträchtigungen bei TNT-Konzentrationen auftreten, die tatsächlich auch im freien Wasser gemessen werden. Die in einer Studie gemessenen Konzentrationen von 3 mg/l TNT im Munitionsversenkungsgebiet Kolberger Heide (Beck et al., 2019) können z.B. für juvenile Fische bereits tödlich sein (Liu et al. 1983).

Die Carbonylreduktase als spezifischer Biomarker und Frühwarnsystem für TNT-Kontaminationen

Die toxischen Effekte, sowie die Kanzerogenität und Mutagenität von TNT sind auf die Entstehung von oxidativem Stress im Organismus zurückzuführen. Dass oxidativer Stress eine Vielzahl von negativen Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit wie auch auf tierische Organismen hat, ist seit langer Zeit bekannt und Schwerpunkt in vielen medizinischen und biologischen Forschungsfeldern. Reaktive Sauerstoffspezies (ROS) und andere Radikale sind in der Lage, Zellbestandteile wie Proteine, DNA oder Membranlipide zu schädigen und wichtige Funktionen von Enzymen, Zellen und Geweben zu stören. Gerade die Reaktion von ROS mit Membranlipiden führt zum sogenannten „Carbonylstress“, bei dem sich durch die Lipidperoxidation entstehenden reaktive

Aldehyd- und Keton-Verbindung anhäufen und pathologische Prozesse in Gang setzen (Ebert et al., 2018). Mittlerweile ist unumstritten, dass neurodegenerative Erkrankungen wie Morbus Alzheimer und Parkinson ebenfalls durch oxidativen Stress ausgelöst werden können. In den meisten Fällen ist der Körper allerdings in der Lage, die durch oxidativen Stress entstandenen Schäden zu reparieren. Eine wichtige Rolle spielen dabei die Enzyme der Superfamilie der kurzkettigen Dehydrogenasen/Reduktasen („Short-chain dehydrogenases/reductases“ = SDR). Mitglieder dieser Enzymsuperfamilie kommen in allen Organismen vor. In einigen Modellorganismen wie Maus, Ratte und Fruchtfliege konnten für die SDR-Enzyme bereits wichtige protektive Funktionen nachgewiesen werden.

Mittlerweile ist es gelungen, das Enzym Carbonylreduktase der SDR-Superfamilie, welches auch im Menschen als Schutzenzym vor oxidativem Stress bekannt ist, in Miesmuscheln nachzuweisen. Im weiteren Verlauf der Arbeiten stellte sich heraus, dass in Wasser gelöstes TNT in der Lage ist, die genetische Expression dieses Enzyms in Miesmuscheln zu modifizieren. In Laborversuchen sowie einem Freifeldversuch im Munitionsversenkungsgebiet Kolberger Heide konnte gezeigt werden, dass die Expression der Carbonylreduktase zeit-, konzentrations- und gewebeabhängig induziert wird. Dies bedeutet, dass die Muscheln auf den Stressor TNT reagieren und zu dessen Abwehr das Enzym Carbonylreduktase vermehrt bilden. Diese Gen-Induktion war besonders im Kiemengewebe und der Mitteldarmdrüse ausgeprägt. Durch die gut durchbluteten Kiemen gelangt das aufgenommene Wasser in die Muschel, so dass in diesem Gewebe die frühzeitige Abwehrantwort besonders wichtig ist. Die Mitteldarmdrüse ist als Verdauungsorgan in besonders hohen Maßen mit Enzymen ausgestattet, die dem Fremdstoffmetabolismus dienen. Auch hier spielen Mitglieder der SDR-Superfamilie, als sogenannte Phase I Enzyme eine wichtige Rolle. Die Laborergebnisse konnten zudem auch in einem Freifeldversuch im Munitionsversenkungsgebiet Kolberger Heide bestätigt werden. Die Carbonylreduktase eignet sich somit als molekulares Frühwarnsystem in Miesmuscheln bezüglich möglicher TNT-Kontaminationen und erleichtert das Überwachen belasteter Gebiete (Strehse et al., 2020).

Fazit

Munition im Meer hat auch Jahrzehnte nach ihrer Einbringung in die Meere nichts an ihrer Brisanz verloren. Im Gegenteil, die fortschreitende Korrosion birgt für Mensch und Umwelt auch jenseits möglicher Explosionsgefahren ein immer größer werdendes Gefährdungspotential. Betroffen sind zwar vor allem die Hauptversenkungsgebiete mit ihren großen Munitionsvorkommen; da aber viele solcher Gebiete weltweit zu finden sind, kann hier durchaus von einem globalen Problem gesprochen werden.

Danksagung

Die Forschungsarbeiten, die zu den hier dargestellten Ergebnissen geführt haben, wurden zum Teil finanziell unterstützt vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (Projekt: UDEMM 03F0747B). Des Weiteren geht ein besonderer Dank an Tobias Bünning, Claus Böttcher, Jens Sternheim, Uwe Wichert, Mareike Kampmeier und das Forschungstauchzentrum der Uni Kiel.

Literatur

- Appel, D., Strehse, J.S., Martin, H.-J., Maser, E., 2018. Bioaccumulation of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) and its metabolites leaking from corroded munition in transplanted blue mussels (*M. edulis*). *Mar. Pollut. Bull.* 135, 1072–1078. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.08.028>
- Beck, A.J., Gledhill, M., Schlosser, C., Stamer, B., Böttcher, C., Sternheim, J., Greinert, J., Achterberg, E.P., 2018. Spread, behavior, and ecosystem consequences of conventional munitions compounds in coastal marine waters. *Front. Mar. Sci.* 5, 141. <https://doi.org/10.3389/fmars.2018.00141>
- Beck, A.J., van der Lee, E.M., Eggert, A., Stamer, B., Gledhill, M., Schlosser, C., Achterberg, E.P., 2019. In situ measurements of explosive compound dissolution fluxes from exposed munition material in the Baltic Sea. *Environ. Sci. Technol.* 53, 5652–5660. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b06974>
- Böttcher, C., Knobloch, T., Rühl, N.-P., Sternheim, J., Wichert, U., Wöhler, J., 2011. Munitionsbelastung der Deutschen Meeresgewässer - Bestandsaufnahme und Empfehlungen (Stand 2011).
- Ebert, B., Ebert, D., Koebsch, K., Maser, E., Kisiela, M., 2018. Carbonyl reductases from *Daphnia* are regulated by redox cycling compounds. *FEBS J.* 285(15):2869–2887. doi: 10.1111/febs.14578.
- Koske, D., Goldenstein, N.I., Kammann, U., 2019. Nitroaromatic compounds damage the DNA of zebrafish embryos (*Danio rerio*). *Aquat. Toxicol.* 217, 105345. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2019.105345>
- Liu, D.H.W., Spanggord, R.J., Bailey, H.C., Javitz, H.S., Jones, D.C.L., 1983. Toxicity of TNT wastewaters to aquatic organisms. Final Report, Volume 1. Acute toxicity of LAP wastewater and 2,4,6-trinitrotoluene. Report No AD-A142 144. US Army Medical Research and Development Command Fort Detrick, Frederick, MD, pp. 21701.
- Maser, E., Strehse, J.S., 2021. Can seafood from marine sites of dumped World War relics be eaten? *Arch. Toxicol.* 95, 2255–2261. <https://doi.org/10.1007/s00204-021-03045-9>
- Maser, E., Strehse, J.S., 2020. "Don't Blast": blast-in-place (BiP) operations of dumped World War munitions in the oceans significantly increase hazards to the environment and the human seafood consumer. *Arch. Toxicol.* 94, 1941–1953. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02743-0>
- Porter, J.W., Barton, J.V., Torres, C., 2011. Ecological, radiological, and toxicological effects of naval bombardment on the coral reefs of Isla de Vieques, Puerto Rico, in:

Machlis, G.E., Hanson, T., Špirić, Z., McKendry, J.E. (Eds.), *Warfare Ecology*.

Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 65–122.

Schuster, R., Strehse, J.S., Ahvo, A., Turja, R., Maser, E., Bickmeyer, U., Lehtonen, K.K., Brenner, M., 2021.

Exposure to dissolved TNT causes multilevel biological effects in Baltic mussels (*Mytilus* spp.). *Mar. Environ. Res.* 105264. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2021.105264>

Strehse, J.S., Appel, D., Geist, C., Martin, H.-J., Maser, E., 2017. Biomonitoring of 2,4,6-trinitrotoluene and degradation products in the marine environment with transplanted blue mussels (*M. edulis*).

Toxicol. 390, 117–123.

<https://doi.org/10.1016/j.tox.2017.09.004>

Strehse, J.S., Brenner, M., Kisiela, M., Maser, E., 2020. The explosive trinitrotoluene (TNT) induces gene expression of carbonyl reductase in the blue mussel (*Mytilus* spp.): a new promising biomarker for sea dumped war relics? *Arch. Toxicol.* 94, 4043–4054.

<https://doi.org/10.1007/s00204-020-02931-y>

Strehse, J.S., Maser, E., 2020. Marine bivalves as bioindicators for environmental pollutants with focus on dumped munitions in the sea: A review.

Mar. Environ. Res. 105006.

<https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2020.105006>

Korrespondenzadresse

Dr. Jennifer Susanne Strehse

Institut für Toxikologie und Pharmakologie für Naturwissenschaftler

UKSH Campus Kiel

Brunswiker Straße 10

24105 Kiel

Tel. +49 431 500 30912

E-Mail: strehse@toxi.uni-kiel.de

<https://www.toxi.uni-kiel.de>



Jagd auf den Adlermörder – Entdeckung eines neuen Cyanotoxins

Steffen Breinlinger¹, Timo H. J. Niedermeyer²

¹ Kykeon Analytics Ltd, 08500 Vic (Barcelona), Spain

² Institut für Pharmazie, Universität Halle-Wittenberg, Halle (Saale)

Zusammenfassung.

Mehr als 70 Weißkopfsaadler wurden in den Wintern 1994/95 und 1995/96 am DeGray Lake, Arkansas, USA tot aufgefunden – fast die gesamte Population der dort überwinternden Tiere [1]. Die verendeten Tiere zeigten weder äußerliche Verletzungen noch Anzeichen für Infektionskrankheiten. Auch bekannte Umweltgifte konnten als Ursache ausgeschlossen werden. Alle Tiere wiesen jedoch den gleichen histologischen Befund auf: eine schwammartige Veränderung in der Weißen Substanz in Gehirn und Rückenmark. Die Myelinscheiden hatten sich von den Axonen gelöst und es bildeten sich Vakuolen, insbesondere in Sehzentrum, Kleinhirn und Hirnstamm. Diese neuartige neurodegenerative Erkrankung wurde deshalb Vakuoläre Myelinopathie (VM) genannt.

Vakuoläre Myelinopathie – eine mysteriöse Erkrankung

In Herbst und Winter der darauffolgenden Jahre fanden Forscher:innen mehr und mehr betroffene Vögel, auch pflanzenfressende Wasservögel wie Blässhühner. 1998 hatte sich die Krankheit bereits auf zehn Gewässer in sechs Bundesstaaten im Südosten der USA ausgebreitet. Nicht nur Vögel entwickeln VM: Auch bei Amphibien, Reptilien und Fischen wurde die Krankheit inzwischen diagnostiziert [2]. Betroffene Tiere zeigen neurologische Beeinträchtigungen, verlieren die Orientierung, ihre motorischen Fähigkeiten sind eingeschränkt, sie werden lethargisch und sterben.

Die Ursache für VM stellte Wissenschaftler:innen vor ein Rätsel. Frühe Studien legten die Vermutung nahe, dass ein saisonal auftretendes Neurotoxin der Auslöser für VM sein könnte. Epidemiologische Untersuchungen in VM-positiven Gebieten lieferten erste Anhaltspunkte: Erkrankte und verendete Vögel wurden ausschließlich in der Umgebung künstlich angelegter Gewässer gefunden, die dicht mit Unterwasserpflanzen (hauptsächlich *Hydrilla verticillata*, Grundnessel) bewachsen waren. Diese invasive Pflanze, die in den 1950er Jahren als Aquariumpflanze aus Asien nach Florida eingeschleppt wurde, ist in den südöstlichen US-Bundesstaaten weit verbreitet [3]. Allerdings gibt es auch *Hydrilla*-bewachsene Gewässer, an denen VM nicht auftritt. Weitergehende Untersuchungen führten zur Entdeckung eines bislang unbekanntes, auf Pflanzen lebenden Cyanobakteriums (*Aetokthonos hydrillicola*), das nur in VM-positiven Gewässern *Hydrilla*-Blätter besiedelt (Abb. 1) [4]. Versuche bestätigten, dass pflanzenfressende Wasservögel, die sich von mit *A. hydrillicola* kolonisierten *H. verticillata*-Pflanzen ernähren, VM entwickeln [5]. Erkrankte Tiere stellen leichte Beute für Raubvögel dar, die nach dem Verzehr ihrer Beute ebenfalls an VM erkranken und

verenden – das Neurotoxin wird über die Nahrungskette weitergegeben [6].

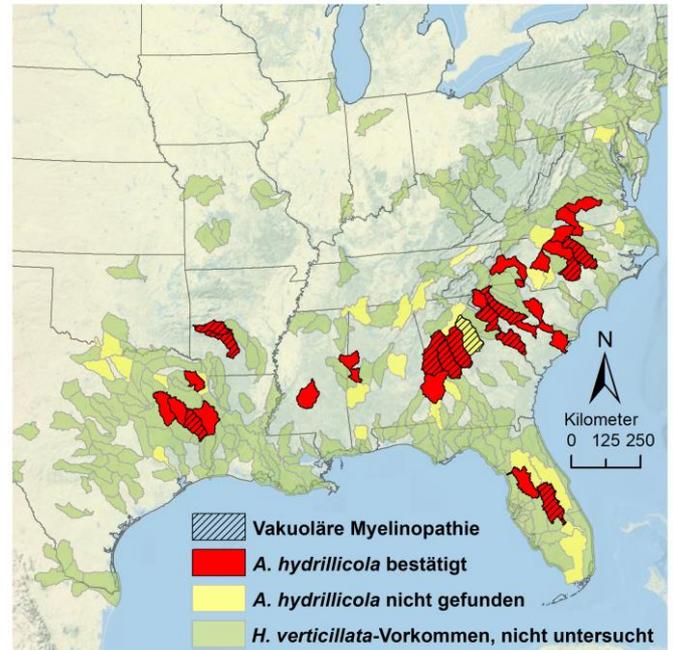


Abb. 1. VM in Wasserscheiden, in denen Grundnesseln (*H. verticillata*) von Cyanobakterien (*A. hydrillicola*) bewachsen sind. Schraffiert: Wasserscheiden, in denen VM diagnostiziert wurde. Grün: Vorkommen von *H. verticillata*, noch nicht auf Vorhandensein von *A. hydrillicola* untersucht. Gelb: *A. hydrillicola* bisher nicht gefunden. Rot: Funde von mit *A. hydrillicola* bewachsene *H. verticillata*. Abb. nach [7]

Cyanobakterien sind berüchtigt für die Produktion von Toxinen – in der breiten Öffentlichkeit im Zusammenhang mit giftigen Algenblüten bekannt. Deshalb legte diese Entdeckung die Vermutung nahe, dass VM durch ein cyanobakterielles Toxin ausgelöst wird.

Dem „Adlermörder“ auf der Spur

2011 sammelten unsere Kooperationspartner um Susan Wilde (University of Athens, Georgia, USA) mit *A. hydrillicola* kolonisierte Grundnesseln aus dem VM-positiven J. Strom Thurmond Reservoir in Georgia/South Carolina. Wir isolierten anschließend das darauf wachsende Cyanobakterium, um es im Labor zu kultivieren und das vermutlich gebildete Cyanotoxin zu isolieren. Damit sollte unsere Hypothese, dass VM durch ein Cyanotoxin ausgelöst wird, bestätigt werden. Aufgrund des extrem langsamen Wachstums der Cyanobakterien benötigte es umfangreiche Versuche zu geeigneten Kultivierungsbedingungen und viel Geduld, bis nach etwa zwei Jahren aus-

reichend Biomasse der Cyanobakterien für erste Fütterungsversuche zur Verfügung stand. Unsere Kooperationspartner fanden jedoch, dass unsere Cyanobakterien-Biomasse in den Versuchstieren keine VM auslöste – ein Rückschlag, denn es schien, als ob unsere Hypothese nicht zuträfe.

Bakterien können bei unterschiedlichen Kultivierungsbedingungen unterschiedliche Naturstoffe produzieren [8]. Produziert *A. hydrillicola* das postulierte Toxin eventuell nur, wenn es auf *H. verticillata* wächst? Mit dieser neuen Hypothese im Hinterkopf wollten wir cyanobakterielle Metabolite *in situ* auf kolonisierten Blättern von *H. verticillata* nachweisen. Dafür setzten wir die Methode *atmospheric-pressure matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry imaging* ein. Dabei wird eine Probe mit einem Laser systematisch abgescannt und massenspektrometrisch untersucht. Pixel für Pixel können so räumlich aufgelöst Informationen über die chemische Zusammensetzung der Probenoberfläche gewonnen werden. Mit Hilfe spezialisierter Software werden die einzelnen Pixel dann zu Bildern zusammengesetzt. Wir untersuchten die Oberfläche eines kolonisierten Blattes und konnten tatsächlich einen Metaboliten detektieren, dessen Verteilung sich mit den *A. hydrillicola*-Kolonien auf dem Blatt deckt (Abb. 2), der in unseren Laborkulturen jedoch nicht nachweisbar war.

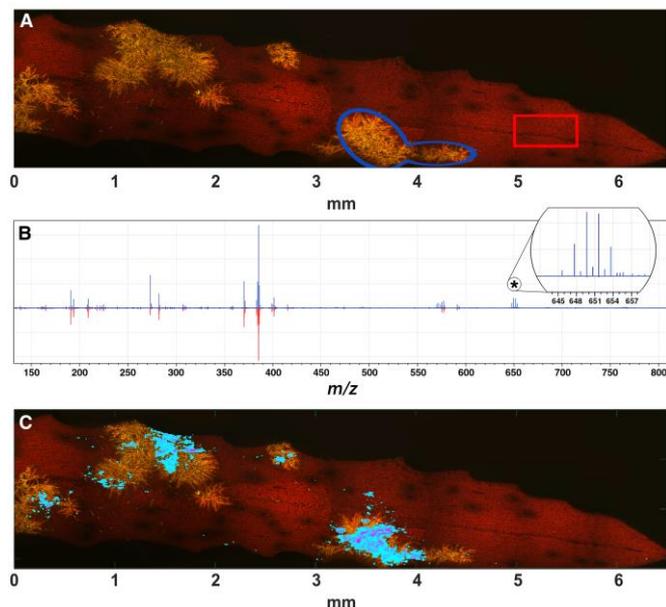


Abb. 2. AP-MALDI-MSI-Untersuchung eines mit *A. hydrillicola* kolonisierten Blattes offenbart einen Cyanobakterium-spezifischen Metaboliten. (A) Mikroskopisches Bild von *A. hydrillicola*-Kolonien auf einem Blatt von *H. verticillata*. (B) Vergleich der gemittelten Massenspektren der beiden Regionen rot (Blatt ohne Cyanobakterium) und blau (Kolonie) in (A). Vergrößert das für eine fünfmal bromierte Verbindung charakteristische Isotopenmuster bei m/z 645. Diese Verbindung ist ausschließlich in der Cyanobakterienkolonie detektierbar. (C) Übereinanderlegen von (A) und dem MSI-Bild zeigt den räumlichen Zusammenhang zwischen diesem Metaboliten und den Kolonien. Abb. nach [7]

Die durch die massenspektrometrische Analyse ermittelte Summenformel $C_{17}H_6Br_5N_3$ ließ vermuten, dass es sich bei dieser Substanz um einen bisher nicht beschriebenen Naturstoff handelt. Und – Heureka! – wir wussten augenblicklich, warum diese Substanz in unseren Laborkulturen nicht gebildet wurde: Für die Biosynthese dieses Stoffes wird – wie aus der Summenformel ersichtlich – Bromid benötigt, das in den Standard-Kultivierungsmedien für Cyanobakterien nicht enthalten ist. In der Tat, nach Zugabe von Kaliumbromid zum Medium konnten wir diese Substanz auch in unseren Laborkulturen nachweisen, insbesondere unter Stressbedingungen: Eine Reduktion der Temperatur oder Scheerstress (starkes Rühren/Schütteln der Kulturen) steigerten die Produktion der Substanz auf das Hundertfache. Wir konnten ebenfalls nachweisen, dass *Hydrilla* in der Lage ist, Bromid zu akkumulieren – dadurch könnte dem Cyanobakterium ein natürliches bromidreiches Umfeld zur Verfügung stehen.

Ein anschließendes Screening von *H. verticillata* / *A. hydrillicola*-Biomassen von VM-positiven und VM-negativen Gebieten bestätigte unsere heiße Spur: Die bromierte Substanz konnte ausschließlich in Biomasse aus VM-positiven Gebieten nachgewiesen werden. Gewebeproben erkrankter Blässhühner aus demselben Gebiet gaben weitere Gewissheit: Die Substanz fand sich in den Proben, was die Aufnahme des möglichen Toxins über den Magen-Darmtrakt bestätigte.

Identifizierung und Charakterisierung von Aetokthonotoxin

Nach der Isolierung der Substanz konnten wir ihre Struktur aufklären und stellten fest, dass es sich tatsächlich um einen neuen und strukturell sehr ungewöhnlichen Naturstoff handelte, den wir Aetokthonotoxin nannten (AETX, Abb. 3). In unseren Kultivierungsversuchen fügten wir neben KBr auch Kaliumiodid zum Kultivierungsmedium hinzu. Biomasse aus diesen Versuchen sowie die *H. verticillata* / *A. Hydrillicola*-Biomasse aus VM-positiven Gebieten analysierten wir mit Hilfe von Haloseeker, ein Softwarepaket um einfach und schnell halogenierte Substanzen in HRMS Daten zu identifizieren [9]. Dabei fanden wir nicht nur verschiedene AETX Biosynthese-Vorstufen, sondern auch iodierte Derivate [10].

Die ungewöhnliche Struktur von AETX legten die Vermutung nahe, dass *A. hydrillicola* auf eine außergewöhnliche biochemische Werkzeugkiste zurückgreifen kann. Die Sequenzierung des Genoms von *A. hydrillicola* erlaubte uns die Identifizierung des Biosynthese-Genclusters von AETX. Wir bestätigten experimentell, dass eine der beiden Halogenasen (AetF) in der Lage ist, Tryptophan mit dem beobachteten Substitutionsmuster zu bromieren.

Basierend auf unserer initialen Charakterisierung konnte die Arbeitsgruppe um B. Moore kürzlich den kompletten Biosyntheseweg von AETX nachweisen. Dabei erwies sich die Halogenase AetF als eine bisher einzigartige Flavin-Reduktase bzw. Flavin-abhängige Tryptophan Halogenase [11]. Ein Team

um Jiang und Snodgrass et. al untersuchte die Aktivität von AetF mit nicht-nativen Substraten. Ihre vor wenigen Wochen veröffentlichten Experimente zeigen, dass AetF die enantioselektive Bromierung und Iodierung einer breiten Palette von Substraten katalysieren kann [12].

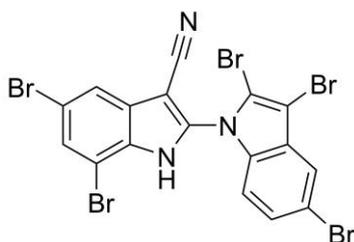


Abb. 3. Struktur von Aetokthonotoxin (AETX)

Abschließend charakterisierten wir die biologische Aktivität von AETX in *in vivo*-Assays. AETX ist sehr toxisch für den Nematoden *Caenorhabditis elegans* (LC₅₀ 40 nM) und Zebrafische (*Danio rerio*; LC₅₀ 275 nM). Hühner (*Gallus gallus*), die AETX verabreicht bekamen, entwickelten die für VM charakteristischen neurologischen Läsionen – der Beleg dafür, dass AETX das lange gesuchte VM-auslösende Toxin ist!

Eine wichtige offene Frage ist, woher in der freien Wildbahn das für die Biosynthese benötigte Bromid stammt. Wahrscheinlicher als eine natürliche geologische Herkunft ist ironischerweise ein anthropogener Ursprung: Zur Kontrolle der invasiven Pflanze *H. verticillata* wird ein bromidhaltiges Herbizid eingesetzt (Diquat-Dibromid). Auch ein Eintrag aus Kohlekraftwerken, Kraftstoffzusätzen oder der Flammenschutzmittelindustrie ist wahrscheinlich.

Wechselwirkungen in Ökosystemen sind oft komplexer, als sie uns oberflächlich betrachtet erscheinen. Die Auswirkungen von *A. hydrillicola* und seinem Neurotoxin auf aquatische Ökosysteme ist ungeklärt: AETX ist lipophil und reichert sich über die Nahrungskette an. Das Gefahrenpotenzial für Säugetiere einschließlich des Menschen (z.B. durch den Konsum von Fischen und Wasservögeln aus VM-positiven Gewässern) ist noch ungeklärt. Die Schaffung eines öffentlichen Bewusstseins für das Problem und ein verstärktes Monitoring von *A. hydrillicola* und AETX sind daher unbedingt erforderlich. *H. verticillata* ist in Europa nicht invasiv und *A. hydrillicola* wurde bisher noch nicht in Europa gefunden – ob sich beide mit fortschreitendem Klimawandel auch hier ausbreiten werden, bleibt spekulativ.

Teile dieses Artikels wurden bereits in *BIOspektrum* 06.21 veröffentlicht.

Danksagung

Wir danken der DFG für finanzielle Unterstützung (NI 1152/3-1; INST 271/388-1) und allen zum Projekterfolg beitragenden Studierenden, Mitarbeiter:innen und Kollaborationspartner:innen, insbesondere Tabitha Phillips und Susan Wilde.

Literatur

- [1] Thomas NJ, Meteyer CU, Sileo L (1998) Epizootic vacuolar myelinopathy of the central nervous system of bald eagles (*Haliaeetus leucocephalus*) and American coots (*Fulica americana*). *Vet. Pathol.* 35, 479–487
- [2] Maerz JC, Wilde SB, Terrell VK, et al. (2019) Seasonal and plant specific vulnerability of amphibian tadpoles to the invasion of a novel cyanobacteria. *Biol. Invasions* 21, 821–831
- [3] Madeira PT, Van TK, Steward KK, et al. (1997) Random amplified polymorphic DNA analysis of the phenetic relationships among world-wide accessions of *Hydrilla verticillata*. *Aquat. Botany*, 59, 217–236
- [4] Wilde SB, Johansen JR, Wilde HD, et al. (2014) *Aetokthonos hydrillicola* gen. et sp. nov.: Epiphytic cyanobacteria on invasive aquatic plants implicated in Avian Vacuolar Myelinopathy. *Phytotaxa* 181, 243–260
- [5] Wiley FE, Twiner MJ, Leighfield TA, et al. (2009) An extract of *Hydrilla verticillata* and associated epiphytes induces avian vacuolar myelinopathy in laboratory mallards. *Environ. Toxicol.* 24, 362–368
- [6] Birrenkott AH, Wilde SB, Hains JJ, et al. (2004) Establishing a food-chain link between aquatic plant material and avian vacuolar myelinopathy in mallards (*Anas platyrhynchos*). *J. Wildl. Dis.* 40, 485–492
- [7] Breinlinger S, Phillips TJ, Haram BN, et al. (2021) Hunting the eagle killer: A cyanobacterial neurotoxin causes vacuolar myelinopathy. *Science*, 371, eaax9050
- [8] Scherlach K, Hertweck C (2009) Triggering cryptic natural product biosynthesis in microorganisms. *Org. Biomol. Chem.* 7, 1753–1760
- [9] Léon A, Cariou R, Hutinet S, Hurel J, Guitton Y, et al. (2019) HaloSeeker 1.0: A User-friendly software to highlight halogenated chemicals in nontargeted high-resolution mass spectrometry data sets. *Anal. Chem.* 91, 3500–3507
- [10] Breinlinger S (2021) Investigations into bioactive natural products from cyanobacteria: a search for drug leads and the discovery of a novel cyanotoxin. *Doctoral Thesis*, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg.
- [11] Sanjoy A, Lukowski AL, Schäfer RJB, Moore BS (2022) From tryptophan to toxin: nature's convergent biosynthetic strategy to aetokthonotoxin. *JACS* 144, 2861–2866
- [12] Jiang Y, Snodgrass HM, et al. (2022) The single-component flavin reductase/flavin-dependent halogenase AetF is a versatile catalyst for selective bromination and iodination of arenes and olefins. *Angew. Chem. Int. Ed.*, accepted author manuscript.

Korrespondenzadressen

Prof. Dr. Timo Niedermeyer
Institut für Pharmazie, AG Biogene Arzneistoffe
Universität Halle-Wittenberg, Hoher Weg 8
06120 Halle (Saale)
Tel: +49 / (0)345 / 55-25765
Fax: +49 / (0)345 / 55-27407
E-Mail: timo.niedermeyer@pharmazie.uni-halle.de
<https://ag-bioarznei.pharmazie.uni-halle.de/>

Dr. Steffen Breinlinger
Kykeon Analytics Ltd.
C. Jaume I Conqueridor 18 bx
08500 Vic (Barcelona), Spain
E-Mail: sbreinlinger@kykeonanalytics.com

Pilothafte Anwendung einer *in-vitro*-Biotestbatterie für ein effektbasiertes Monitoring in ausgewählten niedersächsischen Oberflächengewässern

Dirk Jungmann (Dirk.Jungmann@tu-dresden.de)^{1,3}, Stephanie Graumnitz (Stephanie.Graumnitz@tu-dresden.de)¹, Tanja Lieke (Tanja.lieke@nlwkn.niedersachsen.de)², Jessica M. Rosolowski (Jessica.Rosolowski@tierschutzakademie.de)¹, Sara Schubert (Sara.Schubert@tu-dresden.de)³ und Mario Schaffer (Mario.Schaffer@nlwkn.niedersachsen.de)²

¹: GTW-TUD GmbH, Dresden

²: NLWKN Niedersächsischer Landesbetrieb für Wasserwirtschaft, Küsten- und Naturschutz (Betriebsstelle Hannover-Hildesheim)

³: Institut für Hydrobiologie, Technische Universität Dresden

Zusammenfassung

Die Erfassung der Schadstoffbelastung von Oberflächengewässern wurden mit standardisierten *in-vitro* Biotests durchgeführt. Die Implementierung der *in-vitro*-Biotests in die Routine-Gewässerüberwachung wurde gemeinsam mit dem NLWKN (Betriebsstelle Hannover-Hildesheim) geprüft. Es wurden an insgesamt 40 Oberflächengewässer-Messstellen Wasserproben entnommen und mit 10 *in-vitro* Biotests auf eine Belastung getestet. Einzig die Probenahmestelle Hasselbach Holzminden war in keinem der angewandten Biotests auffällig, während 5 Probenahmestellen eine hohe Belastung mit endokrin wirksamen Substanzen, 17 Probenahmestellen ein Dioxin-ähnliches und zwei Probenahmestellen genotoxische Potentiale zeigten. Es konnte gezeigt werden, dass *In-vitro*-Biotests aufgrund der summarischen Erfassung der Belastung mit Substanzen bestimmte Wirkmechanismen eine sinnvolle Ergänzung zur chemischen Analyse darstellen.

Einleitung

Biotests werden schon lange zur Prüfung der Schadstoffbelastung von Oberflächengewässern und Abwässern aus Kläranlagen eingesetzt. Bei den standardisierten Biotests, die im Labor durchgeführt werden, wird zwischen *in-vivo* und *in-vitro*-Biotests unterschieden.

Die vorliegende Studie beschäftigt sich mit der Anwendung von *in-vitro*-Biotests für Oberflächengewässerproben, bei denen Kulturen von einzelnen, teilweise modifizierten Zellen eingesetzt werden. Mit diesen Tests lassen sich spezielle toxische Mechanismen bestimmter Substanzklassen auf Zell/Rezeptor-Ebene nachweisen. Als Beispiel ist hier der Nachweis östrogenaktiver Substanzen mit dem hefezellbasierten Östrogentest (Yeast Estrogen Screen, YES) zu nennen.

Die Implementierung von *in-vivo* und *in-vitro*-Biotests in der Gewässerüberwachung, die auch als effektbasierte Methoden bezeichnet werden, wird u. a. im Rahmen der Novellierung der Europäischen Wasserrahmenrichtlinie gefordert (Brack et al., 2019; Water Framework Directive. Report Mandate 2016-2018). Hintergrund ist unter anderem die Vielzahl umweltrelevanter Chemikalien sowie Stoffgemische, die die Wasserqualität potentiell negativ beeinflussen und die durch die bisherigen chemischen Analysen nach WRRL in ihrer Komplexität

nicht erfasst werden. *In-vitro*-Biotests können, aufgrund der summarischen Erfassung der Belastung von Gewässern mit Substanzen mit bestimmten Wirkmechanismen, eine sinnvolle Ergänzung zur chemischen Analyse darstellen.

Die Biotests ermöglichen die Untersuchung und Bewertung von Stoffgemischen, deren Zusammensetzung unbekannt ist und erfassen darüber hinaus auch additive, synergistische oder antagonistische Effekte verschiedener Substanzen in einer Probe. Weiterhin erfassen *in-vitro*-Biotests Effekte von Substanzen, für welche ein Nachweis durch chemische Analytik besonders schwierig ist oder von unbekanntem Transformationsprodukten, die innerhalb eines Prozesses entstehen. Ziel dieses Pilotprojektes war die Untersuchung der Eignung von *in-vitro*-Biotests für ein effektbasiertes Monitoring als Ergänzung der regulären Überwachungsprogramme der Oberflächengewässer nach WRRL. Die *in-vitro*-Biotests wurden parallel zum Routinemonitoringprogramm des Niedersächsischen Landesbetriebes für Wasserwirtschaft, Küsten- und Naturschutz (NLWKN) mit Extrakten von Wasserproben, die aus Oberflächengewässern des Südens bzw. der Mitte Niedersachsens (Raum Hannover) stammen, durchgeführt. Aus den Ergebnissen der Untersuchung sollten mögliche Belastungen der Oberflächengewässer mit Substanzen, die eine hormonelle, mutagene oder genotoxische Wirkung haben, identifiziert werden. Zudem sollte aus den Ergebnissen das relative Belastungsniveau verglichen und eine Empfehlung von Messstellen für eine weitere fokussierte chemische Analyse abgeleitet werden.

Probenahme

Die untersuchten Gewässerproben wurden zweimalig an 40 Oberflächengewässer-Messstellen entnommen. Die Probenahmen erfolgten im August 2020 (warme Jahreszeit) sowie im März 2021 (kalte Jahreszeit). Für die Probenahme wurden Braunglasflaschen verwendet, die zuvor mehrfach mit technischem Aceton (analytical grade, > 99,8 %, Carl Roth GmbH) gespült und danach getrocknet wurden. Die Schöpfproben wurden von der Probenahme bis zur Weiterverarbeitung bei max. 7°C in Kühlboxen transportiert bzw. gelagert.

Anreicherung der Wasserproben mittels Festphasenextraktion

Nach Eingang in das Labor wurden die Proben innerhalb von 24 Stunden weiterverarbeitet. Materialien, die während der Filtration und Extraktion in direktem Kontakt mit der Probe standen, bestanden ausschließlich aus mit Lösemittel und Reinstwasser gespültem Teflon™ (PTFE), Glas, Edelstahl oder Keramik.

Es wurde jeweils 1 L der Probe mittels Vakuumpumpe (Vacuubrand GmbH) über einen Glasfaserfilter (< 0,7 µm; 90 mm Durchmesser; Sartorius) mit Hilfe einer Witt'schen Unterdruck Apparatur filtriert. Die filtrierte Probe wurde im Anschluss mittels Festphasenextraktion (SPE, solid phase extraction) angereichert. Die SPE-Kartuschen (HLB 200 mg; Waters Oasis) wurden auf einen Unterdruck-Manifold (Macherey-Nagel GmbH) fixiert und bei leichtem Unterdruck (max 800 mbar) mit jeweils 5 ml Aceton und Methanol (beide analytical grade, > 99,8 %, Carl Roth GmbH) sowie Reinstwasser (ultrapure water, autoklaviert) beschickt und dadurch konditioniert. Die SPE-Kartuschen wurden mit der filtrierten Gewässerprobe aus Flaschen (2 L, Schott AG) mittels eines Verbindungsschlauchs (PTFE, Macherey-Nagel GmbH) beladen (6 – 8 mL/min). Die beladenen Kartuschen wurden anschließend im Luftstrom getrocknet und bei -20 °C gelagert.

Die Elution der SPE-Kartuschen erfolgte mit jeweils 2 ml Aceton und Methanol in Auffanggefäße aus Glas. Anschließend wurden die Eluate im Stickstoffstrom (Reinheit 5.0) auf 300 µl eingengt, zur vollständigen Trocknung im Stickstoffstrom in Glasvials (1,5 mL, VWR) überführt und anschließend in 100 µl DMSO (analytical grade, > 99,8 %, Carl Roth GmbH) wieder aufgenommen. Somit erfolgte eine Anreicherung der Gewässerproben mit einem Faktor von 10.000. Die gewonnenen Extrakte wurden bei -20 °C in Glasvials (1,5 mL, VWR) gelagert.

Angewendete in-vitro Biotests

In Tabelle 1 sind die in-vitro Biotests aufgelistet, die für die Analyse der Gewässerproben eingesetzt wurden, sowie die jeweiligen Wirkpotentiale, die mit ihnen erfasst werden und Beispiele für Substanzen, welche diese Potentiale auslösen. Die eingesetzten Hefereportergergen-Tests wurden in Anlehnung an die ISO 19040-1 durchgeführt, mit dem Unterschied, dass während der Exposition die Kulturen geschüttelt wurden (Heidolph Inkubator 1000, Schwabach, Deutschland). Sie erfassen östrogenes (YES, Yeast Estrogen Screen), anti-östrogenes (YAES, Yeast Anti Estrogen Screen), androgenes (YAS, Yeast Androgen Screen), anti-androgenes (YAAS, Yeast Anti-Androgen Screen) und dioxinähnliches (YDS, Yeast Dioxin-like Screen) Potential. Weiterhin wurde der Ames-Test (Bacterial Reverse Mutation Test; OECD 471, ISO/CD 11350:2012) zur Erfassung von mutagenem Potential eingesetzt. Alle Zelllinien wurden ursprünglich von der Goethe-Universität Frankfurt, Abteilung Aquatische Ökotoxikologie, zur Verfügung gestellt.

Zur Erfassung mutagener Substanzen werden die in der Festphasenextraktion aufgereinigten Extrakte der Oberflächen-gewässerproben in den Ames-Tests eingesetzt. In diesem in vitro-Biotest werden sogenannte Histidin-Mangelmutanten des gentechnisch veränderten Bakteriums *Salmonella typhimurium* verwendet. Zur Beurteilung der Mutagenität wurde der Stamm TA98 verwendet, welcher eine Rasterschubmutation nachweist, sowie der Stamm TA100, welcher eine Basenpaarsubstitution nachweist. Diese Mangelmutanten zeigen in Anwesenheit mutagen wirkender Substanzen gehäuft Rückmutationen, welche über einen Farbumschlag von lila zu gelb und die Messung der optischen Dichte bei 420 nm nach 48 Stunden Inkubation angezeigt werden.

Im Mikrokern-Test (in-vitro Mammalian Cell Micronucleus Test; OECD 487, ISO 21427-2:2006) wurden humane Leberkarzinomzellen (HepG2 von der DSMZ-German Collection of Microorganisms and Cell Tissues; hier wird auch die Kultivierung beschrieben) zur Erfassung von gentoxischem Potential genutzt, welches anhand einer Schädigung von Chromosomen oder des Spindelapparates nachgewiesen wird. Der Mitoseindex bzw. die Zellteilung kann als Qualitätsparameter für die Durchführung des Tests herangezogen werden. Wenn die Ergebnisse des Tests nicht auswertbar waren (zu wenig zählbare Zellen) oder die Validitätskriterien bei positiven Befunden nicht erfüllt wurden, wurde dies entsprechend kenntlich gemacht.

Die Untersuchungen auf gentoxisches Potential mit dem Umu-Test erfolgten nach DIN 38415-3:1996. Eingesetzt wurde der Stamm TA 1535/pSK 1002 des Bakteriums *Salmonella typhimurium* (DSMZ).

Validitätskriterien

Wichtiges Validitätskriterium für alle in Tabelle 1 gelisteten Biotests ist ein optimales Wachstum der Zellen im Test. Wird dieses nicht erreicht, gilt die Probe als zytotoxisch bzw. wachstumshemmend. Als zytotoxisch wurden Proben eingestuft, wenn das Zellwachstum im Mittel deutlich unter 80% des Zellwachstums der Negativkontrolle lag. In solchen Fällen kann die Probe nach Verdünnung erneut getestet werden. Dies führt jedoch dazu, dass die in der Probe enthaltenen endokrin wirksamen, mutagenen oder gentoxischen Substanzen verdünnt werden und damit möglicherweise die Wirkschwelle des Tests nicht mehr erreicht wird. Eine Vergleichbarkeit ist grundsätzlich nur zwischen Proben der gleichen Verdünnungsstufe möglich. Die im Test erreichten finalen Verdünnungsstufen und Anreicherungs-faktoren sind in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 1: Übersicht der für die Messkampagne angewendeten in vitro Biotests mit jeweiligem summarischen Wirkpotential zum Nachweis von endokrinem, mutagenem und genotoxischem Potential sowie Beispiele für Substanzen, deren Effekte mit den Tests erfasst werden können

Biotest	Organismus	Summarisches Wirkpotential	Substanzbeispiele
Hefereportergergen-Test ISO 19040-1 (YES)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Östrogenes Potential (YES)	E2, EE2, E1, E3, BPA, DEHP, 4-NP, OP, HCH, 2,3,7,8-TCDD, DDT, Isoflavone, Phthalate, PCBs
		Anti-östrogenes Potential (YAES)	4-Hydroxytamoxifen (4-OHT), HCH, 2,3,7,8-TCDD, Isoflavone
		Androgenes Potential (YAS)	Testosteron, Trenbolon, Hexachlorbenzol, TBT
		Anti-androgenes Potential (YAAS)	Flutamid, HCB, p,p'-DDE, DDT, DEHP
		Dioxinähnliches Potential (YDS)	β-Naphthoflavin, B(a)P, Hexachlorbenzol
Ames-Test OECD 471, ISO/CD 11350:2012	<i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium	Rasterschubmutation (TA98)	PAKs wie 2-Nitrofluoren, Phenole, Schwermetalle, 2-Aminoanthracen
		Basenpaarsubstitution (TA100)	PAKs, Phenole, Schwermetalle, Natriumazid, 2-Aminoanthracen
Mikrokern-Test OECD 487, ISO 21427-2:2006	HepG2 (humane Leberkarzinomzellen)	Gentoxizität (Chromosomenschäden, Schäden am Spindelapparat)	Benzo(a)pyren, andere PAKs, Mitomycin C (Antibiotikum, Zytostatikum), andere Zytostatika
Umu-Test DIN 38415-3:1996	<i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium	Gentoxizität (u.a. Punktmutation, Rasterschubmutation, Strangbruch)	2-Aminoanthracen, Nitrochinolin-1-oxid, Benzo(a)pyren, andere PAKs

Die Ergebnisse der Biotests beziehen sich immer auf eine Positiv- und Negativkontrolle. Die Ableitung der Äquivalentkonzentrationen erfolgte durch die Verrechnung der in Tabelle 2 erwähnten Anreicherungsfaktoren mit den Werten aus den sigmoidalen Konzentrations-Wirkungs-Beziehungen, die mit den jeweiligen Referenzsubstanzen der Positivkontrolle erstellt wurden. Aus der Negativkontrolle (NK) wird das Limit of Quantification (LOQ) berechnet. Dafür wird in jedem Testansatz testspezifisch die dreifache Standardabweichung ermittelt und zum Mittelwert der Fluoreszenz der Negativkontrolle addiert [LOQ = Mittelwert Fluoreszenz NK + (3 x Standardabweichung der Fluoreszenz der NK)].

Tabelle 2: Berechnung des finalen Anreicherungsfaktors der Proben in den Biotests unter Verrechnung der Anreicherung mittels Festphasenextraktion mit der spezifischen testbedingten Verdünnung der Extrakte. (V1 – V3: Verdünnungsstufen)

Matrix	Anreicherung SPE	Biotest	Verdünnung im Test	Finale Anreicherung
Gewässer	10.000	Hefereportergergen-Test	1:480	20,8-fach
		Ames-Test	1:250	40,0-fach
		Mikrokern-Test	1:1.000 (V1)	10,0-fach
			1:2.000 (V2)	5,0-fach
			1:4.000 (V3)	2,5-fach
		Umu-Test	1:500	20,0-fach
1:1.000	10,0-fach			

Als Positivkontrolle für diesen Hefereportergergen-Test wurde die Substanz 17β-Östradiol (E2; CAS: 50-28-2; > 99% Reinheit;

Sigma-Aldrich, Deutschland) verwendet. Im Ames-Test mit dem Stamm TA100 wurde die Positivkontrolle Nitrofurantoin (NF; Antibiotikum; CAS 67-20-9; Sigma Aldrich PHR1191) verwendet. Für den Stamm TA98 wurde als Positivkontrolle 4-Nitro-Phenylendiamin (4-NOPD, CAS 99-56-9, Reinheit 98%, Sigma Aldrich) verwendet. Als Positivkontrolle wurde Ethylmethansulfonat (EMS, CAS 62-50-0 Merck) verwendet.

Ergebnisse

Bestimmung der Äquivalentkonzentration in den Hefe-Tests

Zur Erfassung endokrin wirksamer Substanzen werden die in der Festphasenextraktion aufgereinigten Extrakte der Gewässerproben in die Hefereportergergen-Tests eingesetzt.

Die Bestimmung der Äquivalentkonzentration wurde in jedem Hefe-Test mit der jeweiligen Referenzsubstanz für die Positivkontrolle aus der Konzentrations-Wirkungs-Aktivität erfasst. In Abbildung 1 ist das Ergebnis für den YES-Test dargestellt. Mit 17β-Östradiol (E2) als Positivkontrolle im YES-Test zeigt sich ein sigmoidaler Kurvenverlauf, an den eine nicht-lineare Regression (4-Parameter Hill Funktion) angepasst wurde. Mit Hilfe dieser Funktion kann aus der Stärke des Fluoreszenzsignals einer Probe eine 17β-Östradiol-äquivalente Konzentration berechnet werden. Diese muss mit den in Tabelle 2 dargestellten Verdünnungsfaktoren dem Volumen der Originalprobe angepasst werden. Die Berechnung der Standardkurven der Referenzsubstanzen erfolgte mittels nicht-linearer Regres-

sion (4-Parameter Hill Funktion). Aus diesen Kurven wurden anschließend die Äquivalentkonzentrationen abgeleitet.

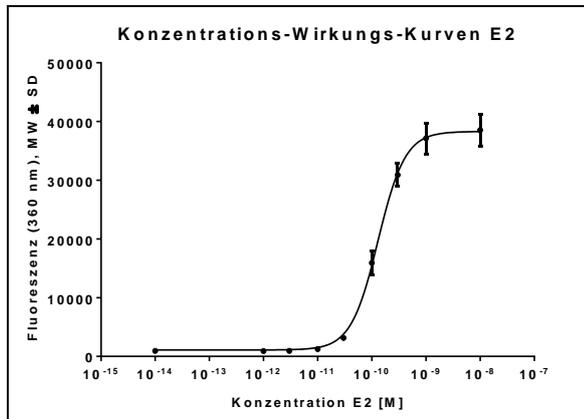


Abb. 1: Sigmoidale Konzentrations-Wirkungs-Kurve der Positivkontrolle 17β-Östradiol (E2) zum Nachweis von östrogenem Potential im YES-Test; Mittelwert (MW) ± Standardabweichung (SD).

Die Ableitung der Äquivalentkonzentrationen sowie die Verrechnung des Anreicherungsfaktors der extrahierten Proben wird auf internationaler Ebene kritisch diskutiert (Könemann et al. 2018, Kunz et al. 2017, Völker et al. 2016). Ein entsprechender ISO-Standard ist derzeit in Vorbereitung zur Veröffentlichung. Die Verrechnung der abgeleiteten Äquivalentkonzentrationen erfolgte für die vorliegende Studie mittels Division durch den finalen Anreicherungsfaktor von 20,8 (Tabelle 2). Die ermittelten Äquivalentkonzentrationen wurden im vorliegenden Bericht als erhöht eingestuft, wenn die mittlere Äquivalentkonzentration größer als das 3-fache des jeweiligen LOQ-Wertes war.

Ergebnisse aus den Hefe-Reporter-Assays

Östrogene Wirkpotentiale (YES-Test)

Die Ergebnisse für das östrogene Potential in den Extrakten der Gewässerproben sind in Abbildung 2 und Abbildung 3 detailliert dargestellt. In 9 der Gewässerproben der Probenahme im Sommer 2020 (Abbildung 3) war das östrogene Potential unterhalb der LOQ. Für 30 Gewässerproben wurde ein moderates östrogenes Potential von 0,07 bis 0,2 ng E-EQ/L festgestellt. Ein erhöhtes östrogenes Potential von > 0,2 ng E-EQ/L wurde in einer Gewässerprobe nachgewiesen.

Für die Gewässerproben der Probenahme im Frühjahr 2021 (Abbildung 4) wurden im Vergleich zu den Gewässerproben aus dem Sommer 2020 insgesamt jeweils ein höheres östrogenes Potential nachgewiesen. Unterhalb des LOQ waren 8 Gewässerproben. Ein erhöhtes östrogenes Potential >0,8 ng E-EQ/L wurde für die 3 Gewässerproben nachgewiesen. Für die weiteren 29 Gewässerproben wurde ein moderates östrogenes Potential festgestellt.

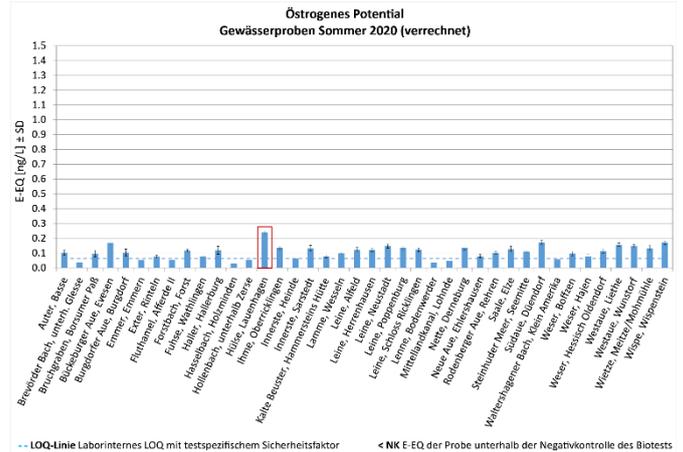


Abb. 2: Östrogenes Potential der untersuchten Gewässerproben der Probenahmeaktion Sommer 2020 im YES-Test, dargestellt als MW±SD der 17β-Östradiol Äquivalente (E-EQ) unter Verrechnung des Anreicherungsfaktors (20,8-fache Anreicherung), n= 8. Ein roter Rahmen entspricht einer Probe mit erhöhter (> 3*LOQ) Äquivalentkonzentration

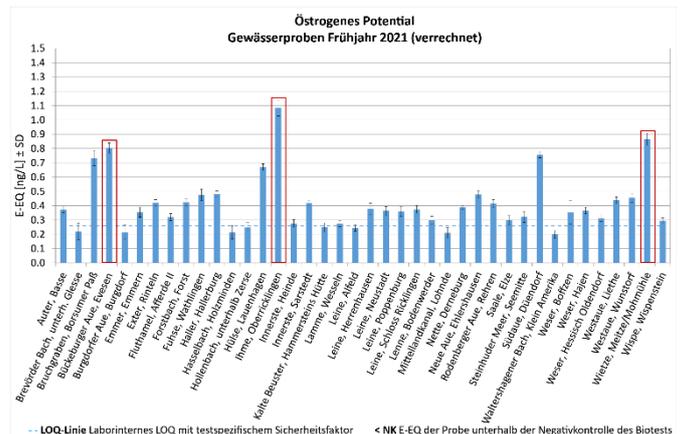


Abb. 3: Östrogenes Potential der untersuchten Gewässerproben der Probenahmeaktion Frühjahr 2021 im YES-Test, dargestellt als MW±SD der 17β-Östradiol Äquivalente (E-EQ) unter Verrechnung des Anreicherungsfaktors (20,8-fache Anreicherung), n= 8. Ein roter Rahmen entspricht einer Probe mit erhöhter (> 3*LOQ) Äquivalentkonzentration

Weitere Hefereporte-Assays

Alle weitere Hefereporter-Assay – für Anti-östrogene Wirkpotentiale (YAES-Test), Androgene Wirkpotentiale (YAS-Test), sowie Anti-androgene Wirkpotentiale (YAAS), wurden nach dem gleichen Schema ausgewertet und sind in der zusammenfassenden Auswertung in Tabelle 5 zusammengefasst.

Dioxinähnliche Wirkpotentiale (YDS-Test)

Die Bestimmung des dioxinähnlichen Potentials (YDS – Yeast Dioxin-like Screen) der angereicherten Gewässerproben ist in Abbildung 4 und Abbildung 5 dargestellt. Die Analyse der Gewässerproben der Probenahmeaktion im Sommer 2020 (Abbildung 4) ergab, dass das dioxinähnliche Potential unterhalb des LOQ an den 5 Messstellen waren. In 20 der untersuchten Gewässerproben wurde ein moderates dioxinähnliches Potential von 0,15 bis 0,44 µg β-Naphthoflavon-EQ/L nachgewiesen. In 15 der untersuchten Gewässerproben wurde

ein erhöhtes dioxinähnliches Potential von $>0,44 \mu\text{g } \beta\text{-NF-EQ/L}$ festgestellt. Das höchste nachgewiesene dioxinähnliche Potential in diesem Monitoring zeigte dabei die Gewässerprobe Bruchgraben (Borsumer Paß) mit $1,19 \pm 0,18 \mu\text{g } \beta\text{-NF-EQ/L}$.

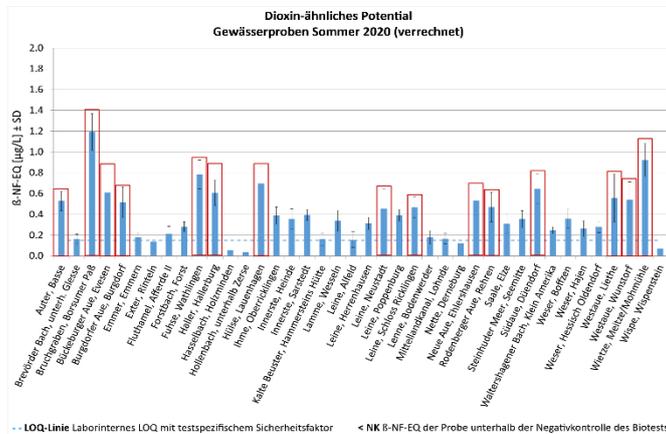


Abb 4: Dioxinähnliches Potential der untersuchten Gewässerproben der Probenahmekampagne Sommer 2020 im YDS-Test, dargestellt als $\text{MW} \pm \text{SD}$ der β -Naphthoflavin-Äquivalente ($\beta\text{-NF-EQ}$) unter Verrechnung des Anreicherungs-faktors (20,8-fache Anreicherung), $n = 8$. Ein roter Rahmen entspricht einer Probe mit erhöhter ($>3 \cdot \text{LOQ}$) Äquivalentkonzentration

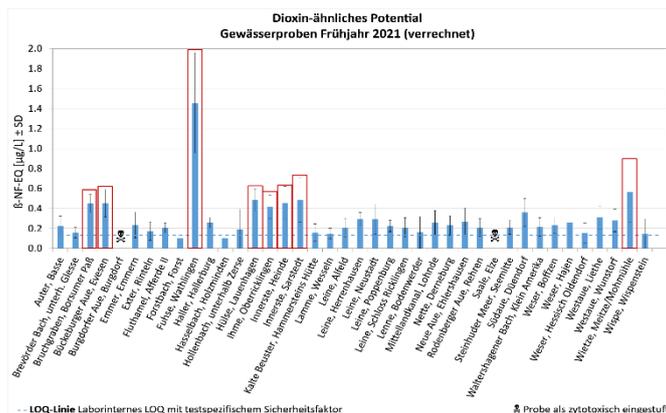


Abb 5: Dioxinähnliches Potential der untersuchten Gewässerproben der Probenahmekampagne Frühjahr 2021 in YDS-Test dargestellt als $\text{MW} \pm \text{SD}$ der β -Naphthoflavin Äquivalente ($\beta\text{-NF-EQ}$) unter Verrechnung des Anreicherungs-faktors (20,8-fache Anreicherung), $n = 8$. Ein roter Rahmen entspricht einer Probe mit erhöhter ($>3 \cdot \text{LOQ}$) Äquivalentkonzentration

Die Analyse der Gewässerproben der Probenahmekampagne Frühjahr 2021 (Abbildung 5) zeigten nur für zwei Messstellen ein dioxinähnliches Potential unterhalb des LOQ. Für 28 Messstellen konnte in den Gewässerproben ein moderates dioxinähnliches Potential zwischen $0,13$ und $0,4 \mu\text{g } \beta\text{-NF-EQ/L}$ nachgewiesen werden. Ein erhöhtes dioxinähnliches Potential von $>0,4 \mu\text{g } \beta\text{-NF-EQ/L}$ wurde in 8 Gewässerproben nachgewiesen. Zwei Gewässerproben waren nach dem oben beschriebenen Kriterium im Test zytotoxisch. Das heißt, das optimale Wachstum der im Test verwendeten Hefezellen wurde durch toxische Substanzen in den Proben gestört. Da die Proben trotz verringertem Zellwachstum ein dioxinähnliches Potential von $0,40$ bzw. $0,32 \mu\text{g } \beta\text{-NF-EQ/L}$ aufwiesen

und in den übrigen Hefetests hinsichtlich der Zytotoxizität nicht auffällig waren, ist ein chemisches Monitoring hinsichtlich Substanzen, die eine dioxinähnliche Wirkung haben, hier empfehlenswert.

Ames-Tests zur Erfassung mutagener Substanzen

Mutagenität durch Rasterschubmutationen (Ames TA98)

Die Extrakte wurden generell bei 40-facher Anreicherung getestet und auf Mutagenität geprüft. Sowohl für die Probenahme im Sommer 2020 als auch für die Probenahme im Frühjahr 2021 konnte im Ames-Test mit dem Stamm TA98 keine Mutagenität in den untersuchten Gewässerproben der verschiedenen Standorte festgestellt werden (Ergebnisse nicht dargestellt, zusammengefasst in Tabelle 5).

Dabei ist anzumerken, dass für einzelne Proben das Validitätskriterium von mindestens 25 von 48 Wells mit Revertantenzunahme bei der Positivkontrolle auch bei wiederholter Testdurchführung nicht eingehalten wurde. Aus Erfahrungswerten deuten die Ergebnisse dieser Gewässerproben aber ebenfalls nicht auf Mutagenität hin.

Mutagenität durch Basenpaarsubstitutionen (Ames TA100)

Die Extrakte für den Ames-Test mit dem Stamm TA100 wurden ebenfalls generell bei 40-facher Anreicherung getestet und auf Mutagenität geprüft. Die untersuchten Gewässerproben der Probenahme Sommer 2020 der verschiedenen Standorte zeigten in den höchsten Anreicherungsstufen keine Mutagenität. Drei Gewässerproben zeigten eine erhöhte Anzahl an Revertanten und wurden deshalb nochmals in 10-facher und 5-facher Verdünnungsstufe wiederholt gemessen. Hier zeigte sich wiederum eine erhöhte Anzahl an Revertanten für die Gewässerproben Exter (Rinteln) und Leine (Poppenburg), welche laut der OECD 471 jedoch noch nicht als mutagen eingestuft wird (Tabelle 3). Beide Proben wurden im Ames TA100 als kritisch eingeschätzt. (Ergebnisse nicht dargestellt, zusammengefasst in Tabelle 5).

Auch für die Gewässerproben der Probenahme Frühjahr 2021 zeigen die Ergebnisse des Ames TA100 keine Mutagenität an. Aber auch für diese Probenahmekampagne wurden Gewässerproben, aufgrund ihrer erhöhten Anzahl an Revertanten im Vergleich zur Negativkontrolle und den übrigen Gewässerproben, als kritisch eingestuft. Dabei handelt es sich um die Gewässerproben der Messstellen Ihme (Oberrickingen), Leine (Herrenhausen), Leine (Poppenburg) und Neue Aue (Ehlershausen). Die Messstelle Leine (Poppenburg) wurde bereits für die Probenahme Sommer 2020 als kritisch eingestuft, die übrigen Messstellen waren 2020 hingegen nicht auffällig. (Ergebnisse nicht dargestellt, zusammengefasst in Tabelle 5).

Tabelle 3: Mutagenität entsprechend den Resultaten der Ames-Tests mit den Salmonella-Stämmen TA98 und TA100 für die je 40 Gewässerproben der Probenahmen Sommer 2020 und Frühjahr 2021 bei 40-facher Anreicherung.

Gewässer, Messstelle	Mutagenität (Ames)					
	Sommer 2020			Frühjahr 2021		
	TA98	TA100	mutagen	TA98	TA100	mutagen
Auter, Basse	-	-	-	*	-	-
Brevörder Bach, unterhalb Glesse	-	-	-	-	-	-
Bruchgraben, Borsumer Paß	-	-	-	*	-	-
Bückerburger Aue, Evesen	-	-	-	-	-	-
Burgdorfer Aue, Burgdorf	-	-	-	-	-	-
Emmer, Emmern	-	-	-	-	-	-
Exter, Rinteln	-	kritisch	?	*	-	-
Fluthamel, Afferde II	-	-	-	-	-	-
Forstbach, Forst	-	-	-	-	-	-
Fuhse, Wathlingen	-	-	-	*	-	-
Haller, Hallerburg	-	-	-	*	-	-
Hasselbach, Holzminden	-	-	-	-	-	-
Hollenbach, unterhalb Zerse	-	-	-	*	-	-
Hülse, Lauenhagen	-	-	-	-	-	-
Ihme, Oberricklingen	-	-	-	-	kritisch	?
Innerste, Heinde	-	-	-	*	-	-
Innerste, Sarstedt	-	-	-	-	-	-
Kalte Beuster, Hammersteins Hütte	-	-	-	*	-	-
Lamme, Wesseln	-	-	-	-	-	-
Leine, Alfeld	-	-	-	-	-	-
Leine, Herrenhausen	-	-	-	-	kritisch	?
Leine, Neustadt	-	-	-	-	-	-
Leine, Poppenburg	-	kritisch	?	-	kritisch	?
Leine, Schloss Ricklingen	-	-	-	-	-	-
Lenne, Bodenwerder	-	-	-	-	-	-
Mittellandkanal, Lohnde	-	-	-	-	-	-
Nette, Derneburg	-	-	-	*	-	-
Neue Aue, Ehlershausen	-	-	-	-	kritisch	?
Rodenberger Aue, Rehren	-	-	-	*	-	-
Saale, Elze	-	-	-	*	-	-
Steinhuder Meer, Seemitte	-	-	-	*	-	-
Südaue, Düendorf	-	-	-	-	-	-
Waltershagener Bach, Klein Ameril	-	-	-	-	-	-
Weser, Boffzen	-	-	-	-	-	-
Weser, Hajen	-	-	-	-	-	-
Weser, Hessisch Oldendorf	-	-	-	*	-	-
Westaue, Liethe	-	-	-	-	-	-
Westaue, Wunstorf	-	-	-	*	-	-
Wietze, Meitze/Mohmühle	-	-	-	-	-	-
Wispe, Wispenstein	-	-	-	-	-	-

* Validitätskriterium der Positivkontrolle mit mind. 25 von 48 wells mit Revertantenwachstum nicht erfüllt.

Mikrokern-Test zur Erfassung gentoxischer Substanzen

Zur Erfassung gentoxischer Substanzen werden die in der Festphasenextraktion aufgereinigten Extrakte der Oberflächengewässerproben in den Mikrokern-Test eingesetzt. Der Mikrokern-Test erfasst Chromosomenschäden und andere Störungen während der Mitose, die durch Substanzen wie beispielsweise Benzo(a)pyren ausgelöst werden.

Entsprechend der Anreicherungsfaktoren in Tabelle 2 wurden die Gewässerproben 10-fach, 5-fach und 2,5-fach angereichert analysiert und bewertet. Die Anzahl an Mikrokernen/1000 Zellen wurde als erhöht eingestuft, wenn der Mittelwert pro Verdünnungsstufe signifikant höher im Vergleich zur Negativkontrolle (Fisher-Test, $p < 0,05$) war und der Mittelwert größer als die Spannweite der institutsinternen historischen Negativkontrollen war. Proben wurden als gentoxisch eingestuft, wenn sich auch in der höchsten Verdünnungsstufe noch eine signifikante Erhöhung der Anzahl an Mikrokernen feststellen ließ. Proben wurden als kritisch eingestuft, wenn in den Verdünnungsstufen VS1 und VS2 eine erhöhte Anzahl an Mikrokernen festzustellen war, nicht aber in der höchsten Ver-

dünnungsstufe VS3 oder eine erhöhte Anzahl an Mikrokernen festgestellt wurde, die Bewertung aber schwierig war (z.B. aufgrund eines zu niedrigen Mitoseindex).

Die Ergebnisse des Mikrokern-Tests für die untersuchten Proben aus den Probenahmekampagnen Sommer 2020 und Frühjahr 2021 sind in Tabelle 4 dargestellt. Für die Proben vom Sommer 2020, konnte, abgesehen von der Probe der Messstelle Leine (Poppenburg), keine signifikante Erhöhung mikrokernhaltiger Zellen festgestellt werden. Bei den Proben der Probenahme 2021 zeigte sich bei 10 von 40 Proben eine Erhöhung der Anzahl von Mikrokernen im Vergleich zur Negativkontrolle. Zwei dieser 10 Proben wurden als gentoxisch eingestuft: Burgdorfer Aue (Burgdorf) und Leine (Poppenburg). Auffällig ist die Messstelle Leine (Poppenburg) zudem, da hier sowohl für die Probe vom Sommer 2020 als auch für die Probe vom Frühjahr 2021 eine Erhöhung des Anteils mikrokernhaltiger Zellen festgestellt wurde.

Tabelle 4: Mikrokernrate und Bewertung der Gentoxizität (GT) mittels Mikrokern-Test in 3 Verdünnungsstufen (VS1-3) für die Gewässerproben (1-40); Anreicherungsstufe: 10-fach (VS1), 5-fach (VS2) und 2,5-fach (VS3). n.a.=Proben nicht auswertbar, *Proben mit erhöhter Anzahl von Mikrokernen, aber geringem Mitoseindex im Testansatz

Gewässer, Messstelle	Sommer 2020				Frühjahr 2021			
	Mikrokern / 1.000 Zellen			GT	Mikrokern / 1.000 Zellen			GT
	VS1	VS2	VS3		VS1	VS2	VS3	
Auter, Basse	-	-	-	-	-	n.a.	-	-
Brevörder Bach, u. Glesse	-	-	-	-	-	-	-	-
Bruchgraben, Borsumer Paß	-	-	-	-	-	-	-	-
Bückerburger Aue, Evesen	-	-	-	-	n.a.	n.a.	n.a.	-
Burgdorfer Aue, Burgdorf	-	-	-	-	n.a.	erhöht	erhöht	erhöht
Emmer, Emmern	-	-	-	-	-	-	-	-
Exter, Rinteln	-	-	-	-	-	-	-	-
Fluthamel, Afferde II	-	-	-	-	n.a.	n.a.	n.a.	-
Forstbach, Forst	-	-	-	-	-	-	erhöht*	-
Fuhse, Wathlingen	-	-	-	-	-	-	-	-
Haller, Hallerburg	-	-	-	-	-	-	-	-
Hasselbach, Holzminden	-	-	-	-	-	-	-	-
Hollenbach, unterhalb Zerse	-	-	-	-	n.a.	n.a.	n.a.	-
Hülse, Lauenhagen	-	-	-	-	n.a.	n.a.	n.a.	-
Ihme, Oberricklingen	-	-	-	-	erhöht*	*	erhöht*	erhöht
Innerste, Heinde	-	-	-	-	cytotoxisch	cytotoxisch	cytotoxisch	erhöht
Innerste, Sarstedt	-	-	-	-	erhöht	erhöht	-	erhöht
Kalte Beuster, Hamm. Hütte	-	-	-	-	erhöht	-	erhöht	erhöht
Lamme, Wesseln	-	-	-	-	-	-	-	-
Leine, Alfeld	-	-	-	-	n.a.	-	n.a.	-
Leine, Herrenhausen	-	-	-	-	erhöht*	erhöht*	erhöht*	erhöht
Leine, Neustadt	-	-	-	-	-	-	-	-
Leine, Poppenburg	erhöht	erhöht	erhöht	erhöht	*	erhöht	erhöht	erhöht
Leine, Schloss Ricklingen	-	-	-	-	erhöht*	*	*	erhöht
Lenne, Bodenwerder	-	-	-	-	-	-	-	-
Mittellandkanal, Lohnde	-	-	-	-	erhöht*	erhöht*	erhöht*	erhöht
Nette, Derneburg	-	-	-	-	-	-	-	-
Neue Aue, Ehlershausen	-	-	-	-	-	-	-	-
Rodenberger Aue, Rehren	-	-	-	-	n.a.	n.a.	n.a.	-
Saale, Elze	-	-	-	-	-	-	-	-
Steinhuder Meer, Seemitte	-	-	-	-	-	-	-	-
Südaue, Düendorf	-	-	-	-	-	-	-	-
Waltershagener Bach, Kl.Am	-	-	-	-	-	-	-	-
Weser, Boffzen	-	-	-	-	erhöht	-	-	-
Weser, Hajen	-	-	-	-	erhöht*	erhöht*	erhöht*	erhöht
Weser, Hessisch Oldendorf	-	-	-	-	-	-	-	-
Westaue, Liethe	-	-	-	-	-	-	-	-
Westaue, Wunstorf	-	-	-	-	-	-	-	-
Wietze, Meitze/Mohmühle	-	-	-	-	erhöht*	erhöht	-	erhöht
Wispe, Wispenstein	-	-	-	-	n.a.	n.a.	n.a.	-

Gentoxizität im Umu-Test

Die Extrakte wurden in den Umu-Tests bei 20-facher und 10-facher Anreicherung getestet und auf erbgutveränderndes Potential geprüft. Die Tests wurden sowohl unter Zugabe einer S9-Fraktion zur metabolischen Aktivierung von Gentoxinen als auch ohne durchgeführt. Als Positivkontrollen kamen Aminoanthracen (CAS: 613-13-8) und 4-Nitrochinolin-1-oxid (CAS: 56-57-5) zum Einsatz.

Es wurden ausschließlich die angereicherten Gewässerproben der Probenahme Sommer 2020 untersucht. Keine der untersuchten Proben erwies sich in der höchsten getesteten Anreicherungsstufe als potenziell erbgutverändernd.

Tabelle 5: Übersicht der Ergebnisse des effektbasierten Monitorings für 2020 und 2021 für endokrines Potential (YES, YAES, YAS, YAAS, YDS; 20,8-fache Anreicherung), Mutagenität (TA98, TA100; 40-fache Anreicherung) und Gentoxizität (MN-Test; 10-fache, 5-fache und 2,5-fache Anreicherung); n.a. nicht auswertbar

Gewässer, Messstelle	Hefereportergergen-Tests					Ames-Tests			MK-Test	
	YES	YAES	YAS	YAAS	YDS	TA98	TA100	20	21	
Auter, Basse										
Brevörder Bach, unterhalb Glesse										
Bruchgraben, Borsumer Paß										
Bückeburger Aue, Evesen										
Burgdorfer Aue, Burgdorf										
Emmer, Emmern										
Exter, Rinteln										
Fluthamel, Afferde II										
Forstbach, Forst										
Fuhse, Wathlingen										
Haller, Hallerburg										
Hasselbach, Holzminden										
Hollenbach, unterhalb Zerse										
Hülse, Lauenhagen										
Ihme, Oberrickingen										
Innerste, Heinde										
Innerste, Sarstedt										
Kalte Beuster, Hammersteins Hütte										
Lamme, Wesseln										
Leine, Alfeld										
Leine, Herrenhausen										
Leine, Neustadt										
Leine, Poppenburg										
Leine, Schloss Ricklingen										
Lenne, Bodenwerder										
Mittellandkanal, Lohnde										
Nette, Dorneburg										
Neue Aue, Ehlershausen										
Rodenberger Aue, Rehren										
Saale, Elze										
Steinhuder Meer, Seemitte										
Südaue, Düendorf										
Waltershagener Bach, Klein Amerika										
Weser, Boffzen										
Weser, Hajen										
Weser, Hessisch Oldendorf										
Westaue, Liethe										
Westaue, Wunstorf										
Wietze, Meitze/Mohmühle										
Wispe, Wispenstein										

Zusammenfassung und Diskussion

Die Zusammenfassung der Ergebnisse der untersuchten Gewässerproben der 40 Messstellen der Probenahmen Sommer 2020 und Frühjahr 2021 ist in Tabelle 5 dargestellt und kann als Unterstützung für ein weiteres fokussiertes (chemisches) Monitoring dienen. Die Untersuchungen verfolgten zwei übergeordnete Ziele. Zum einen sollten für die Ergebnisse aus den *in-vitro*-Tests Bewertungsmaßstäbe angewandt werden, die einen qualitativen Vergleich der Probenahmestellen sowie verschiedener Probenahmekampagnen ermöglichen. Darüber hinaus sollte die in vorangegangenen Monitoringkampagnen des NLWKN gesammelten Erfahrungen genutzt werden, um die erhaltenen Ergebnisse umfassender interpretieren zu können. Zunächst handelt es sich bei den Ergebnissen um effectbasierte Nachweise, das heißt beispielsweise, dass östrogene Substanzen in den Proben mit dem humanen Östrogenrezeptor in einem genetisch modifizierten Organismus interagieren und eine nachgeschaltete Reaktionskaskade auslösen. Die dadurch erhaltene Menge an Reaktionsprodukt,

in diesem Fall ein Farbstoff, ist direkt proportional zur Intensität der Rezeptoraktivität (Routledge und Sumpter, 1996). Es ist eine summarische Reaktion, ausgelöst durch alle in der Probe vorhandenen östrogen wirksamen Substanzen. Mit der Berechnung der Bio-Äquivalent-Konzentration (BEQ) ist ein Vergleich unterschiedlicher Wasserproben möglich. Dies ist detailliert im internationalen Standardverfahren ISO 23196 (2022) dargestellt.

Das effectbasierte Monitoring mit *in-vitro*-Test kann die Belastung von Probenahmestellen integral und semi-quantitativ erfassen und Substanzklassen eingrenzen. Es erlaubt jedoch keine Rückschlüsse auf die verursachenden Einzelsubstanzen. Dies muss durch ein chemisches Monitoring erfolgen. Der Vorteil des chemischen Monitorings ist die qualitative und quantitative Auswertung der Probe; ein Nachteil, dass man i. d. R. nur findet, was im Rahmen der analytischen Methode erfasst wird. Ein Effektmonitoring erfasst hingegen alle in einer Probe vorhandenen Schadstoffe mit Hilfe ihrer korrespondierenden Wirkung. Somit ist es generell sinnvoll, beide Methoden zu kombinieren und Hinweise aus dem Effektmonitoring in die Auswahl der zu untersuchenden Substanzen eines chemischen Monitorings zu integrieren.

Des Weiteren muss berücksichtigt werden, dass der Vergleich der Ergebnisse der Hefezell-basierten Tests in dieser Arbeit nur mit Auswertungen gleicher Verdünnungsstufe erfolgte. Die Berechnung des Limit of Quantification (LOQ) erfolgte aus der Negativkontrolle (NK) über die 3-fache Standardabweichung, wie es in vielen Analyseverfahren etabliert ist. Das LOQ wird für jeden Testansatz neu berechnet; es gilt also nicht für die Methode allgemein, sondern für alle innerhalb einer Probenahmekampagne durchgeführten Analysen. Wie bereits bei den Angaben zu den Validitätskriterien erwähnt, wird die dreifache Standardabweichung ermittelt und zum Mittelwert der Fluoreszenz der Negativkontrolle addiert.

Mit diesen etablierten Werkzeugen zur Analyse der Ergebnisse ist ein wichtiger Schritt für die Vergleichbarkeit verschiedener Probenahmestellen und verschiedener Probenahmekampagnen gegeben. Damit kann nachfolgend diskutiert werden, wie die Belastungssituation der unterschiedlichen Probenahmestellen ist und welche Handlungsanweisungen daraus abgeleitet werden können. Die Durchführung der Probenahmekampagne an 40 Gewässern und die anschließende Extraktion sowie Durchführung der Biotests mit den Gewässerproben war erfolgreich. Die Proben konnten im Hinblick auf endokrine, mutagene und größtenteils auch gentoxische Potentiale untersucht und eingeschätzt werden.

Einzig die Probenahmestelle Hasselbach Holzminden war in keinem der angewandten Biotests auffällig. Somit kann diese Probenahmestelle als unbelastet eingestuft werden. Dies ist auch plausibel, da das Bacheinzugsgebiet sich komplett im Naturpark Solling-Vogler (Weserbergland) befindet und fast ausschließlich (nachhaltig) forstlich genutzt wird. Dieser

Befund entspricht somit den Erwartungen (keine bekannten Abwassereinträge an dieser Probenahmestelle) und der bisherigen Befundlage aus anderen Monitoringprojekten. An allen anderen Probenahmestellen gab es bei mindestens einem Bio-test einen Nachweis einer entsprechenden Aktivität. Die Auswertung der Analyseergebnisse ergab, dass an insgesamt 5 Probenahmestellen eine hohe Belastung mit endokrin wirksamen Substanzen gefunden werden konnte. An 17 Probenahmestellen war ein Dioxin-ähnliches und an 2 Probenahmestellen waren gentoxische Potentiale nachweisbar. Dabei konzentrieren sich die endokrinen Potentiale hauptsächlich auf die östrogenen Potentiale. Die deutlichsten gentoxischen Potentiale zeigten sich dabei im Mikrokerntest. Es gab nur 4 Probenahmestellen, an denen keine östrogenen Potentiale nachgewiesen werden konnten. Für die östrogenen Potentiale ergaben sich beim Vergleich der Probenahmen 2020 und 2021 an 7 Probenahmestellen unterschiedliche Analyseergebnisse. Diese Unterschiede können mehrere Ursachen haben. Zum einen kann es sein, dass potentielle Einleitungen mit entsprechenden Stoffen, z.B. über das Abwasser, zu dem entsprechenden Probenahmezeitpunkt nicht stattgefunden haben. Zum anderen, dass Abbauprozesse saisonal unterschiedlich ablaufen und damit die Ergebnisse u.a. in Abhängigkeit zur Wassertemperatur stehen. Die Herkunft endokrin wirksamer, speziell östrogen wirkender Substanzen ist vielfältig. Einleitungen über Kläranlagen aus häuslichen Abwässern beispielsweise Ethinylestradiol als Kontrazeptiva der „Pille“ aber auch industrielle Einleitungen wie beispielsweise aus Kunststoffrecycling oder der Farbstoffindustrie können genauso wie diffuse Einträge aus der Landwirtschaft dafür verantwortlich sein. Mögliche Maßnahmen in Bezug auf die Reduzierung des Eintrags müssten über eine genaue Analyse des Einzugsgebietes, der Abwasseranteile im Gewässer und einem Abgleich mit der chemischen Analytik erfolgen.

Dioxinähnliche Potentiale konnten an fast allen Probenahmestellen nachgewiesen werden. Auch hier zeigen sich Unterschiede im Vergleich der Probenahmejahre 2020 und 2021, die in diesem Fall möglicherweise über die Eintragungspfade besser zu erklären sind als über die Temperaturunterschiede. Substanzen mit dioxinähnlichem Potential, wie beispielsweise β -Naphthoflavon, B(a)P oder Hexachlorbenzol stammen häufig aus Einträgen aus dem Verkehr, wie beispielsweise Abrieb von Reifen oder von Abgasen. Bei Regenereignissen können diese Substanzen auch von Dächern und Straßen abgewaschen werden, auf denen sie sich im Laufe der vorangegangenen trockenen Zeiten akkumuliert haben. In Untersuchungen sächsischer Gewässer mit Kläranlageneinfluss zeigte sich, dass dioxinähnliche Effekte teilweise bereits vor Kläranlagenabläufen in Gewässern nachgewiesen werden konnten (Schubert et al. 2020). Weitere Quellen von Dioxinen und dioxinähnlichen Substanzen sind Industriezweige wie papier- und metallverarbeitende Industrie, Betriebe für Abfallentsorgung und Abwasserbehandlung sowie diesel-, kohle- und holzverbrennende Betriebe (Kurwadkar et al. 2020). Auch Waldbrände oder natürliche photolytische Prozesse

können Quellen für den Eintrag an dioxinähnlichen Substanzen in Gewässer sein (Kurwadkar et al. 2020). Mit dem Umu-Test sowie dem AMES-Test können Mutationen an der DNA festgestellt werden. Weder im Umu-Test noch im AMES-Test mit dem Stamm TA 98 konnten Mutationen festgestellt werden; lediglich mit dem AMES-Test und dem Stamm TA 100 wurden an 5 Probenahmestellen Mutationen erfasst. Dabei gab es auch Unterschiede zwischen den Probenahmejahren 2020 und 2021. Neben PAKs und Phenolen gibt es zahlreiche andere Substanzen, die für Mutationen verantwortlich sein können wie beispielsweise Schwermetalle, aber auch Azide und Anthracene.

Die Proben konnten in Hinblick auf endokrine Potentiale, mutagene Potentiale und gentoxisches Potential untersucht und eingeschätzt werden. Hierbei wurden insgesamt 12 Proben bzw. Gewässer identifiziert, auf welche sich weitere Effektbasierte Untersuchungen fokussieren sollten. Die Proben 1 (Poppenburg) und 13 (Rinteln) wurden ausgewählt, da hier Hinweise auf mutagenes Potential festgestellt wurden. Probe 16 (Rehren) wurde aufgrund von anti-östrogenem Potential, Proben 19 (Hammersteins Hütte) und 30 (Wathlingen) aufgrund von androgenem Potential und Probe 31 (Borsumer Paß) aufgrund von dioxinähnlichem Potential ausgewählt. Die Proben 2 (Oberricklingen), 7 (Düendorf), 10 (Steinhuder Meer, Seemitte), 15 (Lauenhagen), 17 (Wunstorf) und 18 (Basse) wurden schließlich ausgewählt, da hier mindestens jeweils 3 Nachweise erfolgten.

Danksagung

Die Autoren möchten Lea Hilbert und Shari Reckmann für die Unterstützung der mikroskopischen Auswertung der Mikrokerntests und Juliane Isler für die technische Unterstützung bei der Durchführung der Experimente danken. Zudem danken wir Nicolino Anthony und Carina Landauer für die Mitwirkung bei der Anreicherung der Wasserproben und Fabian Palis für die Unterstützung bei der Durchführung der Umu-Tests. Ein großer Dank gilt außerdem dem Probenahme-Team des NLWKN.

Literaturverzeichnis

- Brack, W., Aissa, S.A., Backhaus, T. et al. (2019). Effect-based methods are key. The European Collaborative Project SOLUTIONS recommends integrating effect-based methods for diagnosis and monitoring of water quality. *Environmental Science Europe* 31, 10
- ISO 11350:2012 Water quality - Determination of the genotoxicity of water and waste water -Salmonella/microsome fluctuation test (Ames fluctuation test). <https://iso.org/standard/50393.html>
- ISO 19040-1:2018 Water quality - Determination of the estrogenic potential of water and waste water - Part 1: Yeast estrogen screen (*Saccharomyces cerevisiae*). <https://iso.org/standard/64450.html>
- ISO 21427-2:2006 Water quality - Evaluation of genotoxicity by measurement of the induction of micronuclei (Micronucleus test). <https://iso.org/standard/39681.html>

- Könemann, S. et al. (2018). Effect-based and chemical analytical methods to monitor estrogens under the European Water Framework Directive, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 102: 225-235.
- Kunz, P.Y. et al. (2017). Effect-based tools for monitoring estrogenic mixtures: Evaluation of five in vitro bioassays. *Water Research* 110: 378-388.
- Kurwadkar, S., Mandal, P.K., Soni, S. (Eds.). (2020). *Dioxin: Environmental Fate and Health/Ecological Consequences* (1st ed.). CRC Press London.
<https://doi.org/10.1201/9781315170961>
- OECD Test No. 471 (2020). Bacterial Reverse Mutation Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris.
<https://doi.org/10.1787/9789264071247-en>
- OECD Test No. 487 (2016). In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris.
<https://doi.org/10.1787/9789264264861-en>.
- Proposal for effect-based monitoring and assessment in the Water Framework Directive. Report to the WG Chemicals on the outcome of the work performed in the subgroup on effect-based methods (EBMs). Mandate 2016-2018. Draft December 2018.
- Schubert, S., Rosolowski, J.M., Jungmann, D. (2019). *Schadstoffe - Ermittlung von Belastungspfaden Teil: Biotests für ein effektbasiertes Monitoring. Abschlussbericht. Auftraggeber: Sächsisches Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie LfULG, über GWT TUD GmbH*
- Schubert, S., Rosolowski, J.M., Isler, J., Jungmann, D. (2020). *Biotests für ein effektbasiertes Monitoring von kommunalen Abwasseranlagen an kleinen Gewässern Monitoring 2019/2020 (Abschlussbericht). Auftraggeber: Sächsisches Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie LfULG, über GWT TUD GmbH*
- Vermeirssen, E.L.M. (2018). Vortrag "Standardisierung der Datenanalyse von in vitro Biotests - Beispiel Östrogene Wirkung YES", Ökotoxzentrum, Dübendorf.
- Völker, J. et al. (2016). Advancing biological wastewater treatment: extended anaerobic conditions enhance the removal of endocrine and dioxin-like activities. *Environmental Science & Technology* 50: 10606-10615.

Korrespondenzadresse:

Dr. Dirk Jungmann
Institut für Hydrobiologie
Fakultät für Umweltwissenschaften
Technische Universität Dresden
01062 Dresden
E-Mail: Dirk.Jungmann@tu-dresden.de

Aussagekraft der Anwendung des Total Oxidizable Precursor-(TOP) Assays auf Bodenprobenextrakte und wässrige Eluate

Frank Thomas Lange¹ (frankthomas.lange@tzw.de), Reiner Söhlmann² (r.soehlmann@landkreis-rastatt.de), Ann-Kathrin Seeger³ (Ann-Kathrin.Seeger@lubw.bwl.de), Helena Salowsky³ (Helena.Salowsky@lubw.bwl.de)

¹ DVGW-Technologiezentrum Wasser (TZW), Karlsruhe

² PFC-Geschäftsstelle, Landratsamt Rastatt, Umweltamt

³ LUBW Landesanstalt für Umwelt Baden-Württemberg

Zusammenfassung

Durch Anwendung des TOP-Assays auf methanolische Extrakte und wässrige Eluate von Bodenproben aus dem Gebiet Rastatt/Baden-Baden kann eine Einschätzung des Freisetzungspotentials für Perfluoralkylsäuren (PFAA) vorgenommen werden. Aus den erhaltenen Verteilungen der gemessenen Perfluoralkylcarbonsäuren (PFCA) und der Kenntnis des Umsatzes von Vorläuferverbindungen, sog. Präkursoren, können Rückschlüsse auf die Art der Präkursoren (Telomer-basiert oder Sulfonamid-basiert) gezogen werden. Eine Identifizierung einzelner Präkursoren ist damit jedoch nicht möglich, da diese bei der Oxidation im TOP-Assay alle chemisch zu PFCA abgebaut werden. Darüber hinaus kann der Gehalt weiterer, unbekannter Präkursoren ermittelt werden, sofern in den nativen Proben (vor Oxidation) möglichst viele bekannte Präkursoren mit zusätzlichen Analysemethoden bestimmt werden.

Einleitung

Mit genormter oder zumindest routinemäßig durchgeführter Zielverbindungs(Target)-Analytik für per- und polyfluorierte Substanzen (PFAS) in Bodenproben und wässrigen Bodeneluat lassen sich aus der mehrere Tausend Einzelverbindungen umfassenden Stoffgruppe i. d. R. nur einige Dutzend Verbindungen mittels Flüssigkeitschromatografie-Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS) analysieren. Während die Umweltlabore mittlerweile erfahren in diesen Bestimmungsmethoden sind, liegt die Limitierung des Substanzspektrums hauptsächlich an der Verfügbarkeit geeigneter, isotopemarkierter Standards, die für die genaue quantitative Bestimmung unabdingbar sind. Von entscheidender Bedeutung für das Analyseergebnis sind bei der Boden- und Eluatanalytik allerdings die der messtechnischen Bestimmung vorgelagerten Probenvorbereitungs- und Aufschlusschritte, und diese werden immer wieder unterschätzt. So hat sich beispielsweise gezeigt, dass der Feuchtigkeitsgehalt von Bodenproben, d. h. ob ein Boden vor der Eluatherstellung getrocknet wird oder nicht, einen großen Einfluss auf die Eluatkonzentrationen haben kann. In getrockneten, nicht spezifisch PFAS-belasteten Proben wurden gegenüber feldfrischen Proben Konzentrationsunterschiede von bis zu einer Zehnerpotenz beobachtet (Lange et al., 2021). Auch die Art der Herstellung der Eluate (Schüttel- vs. Perkulationsverfahren) kann einen Einfluss auf die Höhe von PFAS-Konzentrationen in diesen haben (LUBW, 2019). Insbesondere für Bodenproben, für die keine PFAS-Kontamination bekannt ist, wurden im Perkulationsverfahren

meist deutlich höhere Konzentrationen als mit dem Schüttelverfahren erhalten. Teilweise wurden Unterschiede um mehr als einen Faktor 10 festgestellt.

Ein in letzter Zeit bei Schadensfällen mit PFAS immer häufiger angewandtes Probenaufschlussverfahren ist der sog. TOP-Assay (Houtz and Sedlak, 2012). Es wird deshalb häufig eingesetzt, weil in PFAS-kontaminierten Bodenproben oft nicht nur die mit der Target-Analytik erfassbaren, vergleichsweise einfach aufgebauten Perfluoralkylcarbonsäuren (PFCA) und Perfluoralkylsulfonsäuren (PFSA), sondern auch bekannte und unbekannte Präkursoren enthalten sind. Diese können nach der Transformation zu analysierbaren PFCA als analytische Endpunkte bestimmt werden. Der Begriff „Total“, für den der Buchstabe „T“ im Akronym TOP steht, ist eigentlich irreführend und weckt falsche Erwartungen. Erfasst wird nämlich nur der Teil der PFAS in einer Messprobe, z. B. in einem Bodenextrakt oder einem wässrigen Eluat, der unter den gewählten Bedingungen oxidierbar ist und dabei zu bekannten, messbaren Produkten transformiert werden kann. Z.B. PFAS aus der Klasse der Perfluoralkylether, die u. a. in der EU-Trinkwasserrichtlinie (EU-DWD, 2020) genannt sind, werden im TOP-Assay nicht oxidiert. Des Weiteren werden flüchtige Verbindungen nicht oder nicht vollständig erfasst.

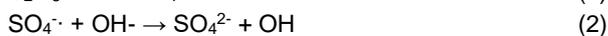
Dieser Beitrag stellt Ergebnisse von TOP-Assay-Untersuchungen an mehr als 200 Bodenproben aus dem Raum Rastatt/Baden-Baden vor. In diesem Gebiet sind seit einigen Jahren großräumige (>1100 ha) Boden- und Gewässerverunreinigungen mit perfluorierten Verbindungen bekannt, die nach derzeitigem Kenntnisstand auf die Ausbringung von mit Papierschlamm vermischtem Kompost zurückzuführen sind (Klatt, 2021). Entsprechende Präkursoren auf PFAS-Basis, die in der Papierindustrie in sog. Barrieremitteln eingesetzt wurden, wurden in dem belasteten Gebiet bereits nachgewiesen. Anhand der Ergebnisse und den aus der Literatur zum TOP-Assay bekannten Kenntnissen wird die Aussagekraft dieses Aufschlussverfahrens diskutiert. Weitergehende Informationen finden sich im ausführlichen Bericht zu dieser Studie (LUBW, 2022).

Das Prinzip des TOP-Assay

Beim TOP-Assay handelt es sich um ein partielles Aufschlussverfahren für Umweltproben, bei dem durch Oxidation von nicht messbaren polyfluorierten Verbindungen (Präkur-

soren) messbare PFCA gebildet werden (Göckener et al., 2022). Bisher existiert kein genormtes Verfahren. Das genaue Ausmaß der Oxidation hängt von den individuellen Randbedingungen des in unterschiedlichen Labors operationell definierten Verfahrens und den Probeneigenschaften (oxidierbare Probenmatrix) ab. Im Idealfall sollten alle Präkursoren zu PFCA umgewandelt werden.

Der Oxidationsschritt beim TOP erfolgt durch nasschemische Oxidation einer Probe in alkalischer Peroxodisulfat-Lösung unter Erhitzen. Das eigentliche Oxidationsmittel unter diesen Bedingungen sind $\cdot\text{OH}$ -Radikale, die aus Peroxodisulfat gebildet werden:



Die entstandenen $\cdot\text{OH}$ -Radikale reagieren mit oxidierbaren Inhaltstoffen in der wässrigen Lösung. Dazu gehören die Präkursoren von PFCA, aber auch andere Matrixbestandteile aus der Probe, wie z. B. Huminstoffe, oxidierbare anorganische Bestandteile oder Lösungsmittel und nicht-fluorierte Tenside in Feuerlöschschaumkonzentraten.

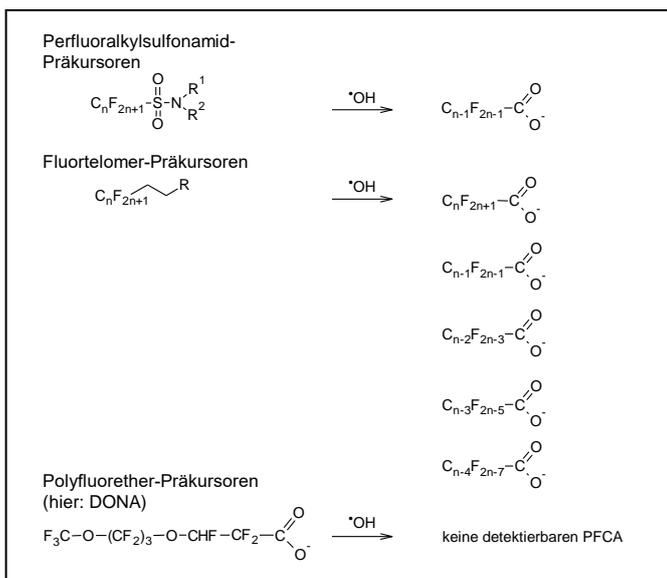


Abb. 1: Bildung von PFCA aus Perfluoralkansulfonamid- und Fluortelomerverbindungen

Die mit dem TOP-Assay erfassbaren Präkursoren stammen aus den Klassen der Perfluoralkansulfonamid- und der Fluortelomerverbindungen. Die aus diesen Stoffklassen allgemein erhältlichen PFCA sind in Abb. 1 dargestellt. Aus den Sulfonamid-Präkursoren entstehen im Wesentlichen PFCA gleicher C-Kettenlänge (mit einem perfluorierten C-Atom weniger) als die Ausgangsverbindung; Beispiel: aus Präkursoren wie bis-[2-(N-Ethyl-Perfluoroctan-1-sulfonamido)ethyl]-phosphat (diSam PAP), N-Ethyl-Perfluoroctan-1-sulfonamidoessigsäure (EtFO SAA), Perfluoroctansulfonamid (FOSA), usw. entsteht jeweils Perfluoroctansäure (PFOA). Aus den Fluortelomerverbindungen entstehen durch Kettenverkürzung bei der Oxidation

mehrere Produkte. In Modellversuchen wurden dabei um bis zu vier C-Atome kürzere PFCA nachgewiesen. Präkursoren aus der Klasse der Polyfluoralkylether werden ebenfalls oxidiert. Diese Reaktionen führen jedoch zu Produkten, die derzeit routinemäßig noch nicht analysiert und daher normalerweise nicht miterfasst werden. Perfluorierte Verbindungen werden nicht oxidiert und stellen daher keine Präkursoren im TOP-Assay dar.

Angewandte Analysemethoden

Methanolische Bodenproben-Extrakte - TOP(Boden)

Zur Untersuchung der Bodenproben wurde die Einzelsubstanzanalytik mittels LC-MS/MS in Anlehnung an DIN 38414-14 durchgeführt. Dabei wurden die PFAS mit Methanol aus der Bodenprobe extrahiert. Die wässrigen Aufschlusslösungen nach Oxidation wurden nach DIN 38407-42 mittels LC-MS/MS nach Festphasenextraktion an einem schwachen Anionenaustauscher auf 26 PFAS analysiert.

Zur TOP-Assay-Analyse der zuvor zur Trockene eingedampften, methanolischen Bodenproben-Extrakte wurde die Methode von Janda et al. (2019) mit kleinen Modifikationen zur einfacheren Handhabung verwendet. Beim Oxidationsschritt lagen die Konzentrationen von $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (73 mmol/L) und NaOH (184 mmol/L) sowie das $\text{OH}^-/\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ -Verhältnis von 2,53 etwas über den Werten von Houtz et al. (2013) ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$: 60 mmol/L, NaOH: 125 mmol/L, $\text{OH}^-/\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ -Verhältnis: 2,08). Allerdings wurde bei Houtz et al. (2013) der alkalische (0,1 M NH_3), methanolische Extrakt von 1 g nicht getrockneter Bodenprobe eingesetzt, während bei der hier verwendeten Methode nur ein Aliquot des neutralen, methanolischen Extrakts des gefriergetrockneten, gemahlten Bodens verwendet wurde, was einem Äquivalent von 0,1 g Bodenprobe entspricht. Der Zusatz der isotopenmarkierten internen Standards (IS) erfolgte wie beim Verfahren nach Houtz et al. (2013) erst nach der Oxidationsreaktion. Aufgrund des Screening-Charakters der Beprobungen wurden Trifluoressigsäure (TFAA) und Trifluorpropionsäure (PFPrA) nicht wie bei Janda et al. (2018) mit gemessen, da hierfür ein separates Detektionsverfahren notwendig gewesen wäre.

Wässrige Bodeneluat - TOP(Eluat)

Die Bodeneluat mit einem Wasser-Feststoffverhältnis von 2 L/kg wurden in Anlehnung an DIN 19529 (Schüttelverfahren) aus feldfrischen Proben hergestellt. Die PFAS-Konzentrationen im Eluat vor und nach Oxidation im TOP-Assay wurden nach DIN 38407-42 auf 26 PFAS analysiert. Der Zusatz der IS erfolgte, wie auch beim TOP-Assay der Bodenextraktückstände, nach der Oxidationsreaktion. Die Eluatproben wurden sowohl für die PFAS-Bestimmung vor als auch nach Oxidation nicht filtriert, sondern, wie nach der Zentrifugation der Eluate erhalten, eingesetzt. Zur Oxidation wurde in einer 50 mL-PP-Flasche $1 \text{ g} \pm 0,05 \text{ K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ in einem 50 mL Aliquot des Bodeneluats gelöst. Anschließend wurden 0,95 mL 10 N NaOH zugegeben und die verschlossene Reaktionsmischung wurde für 20 h bei 85°C im Trockenschrank erhitzt. Die Reak-

tionsdauer von 20 h war damit zusammen mit der Angabe „overnight“ bei Houtz et al. (2016) die längste in der Literatur dokumentierte Reaktionsdauer für wässrige Proben. Das OH⁻/S₂O₈²⁻-Verhältnis betrug 1:2,57 (theoretischer Überschuss von 2,0 erforderlich) und war daher etwas höher als bei den meisten übrigen TOP-Methoden für wässrige Proben. Dadurch wurde sichergestellt, dass der pH-Wert auch am Ende der Reaktion noch über pH 12 lag und die Oxidation im OH⁻-Radikal-Regime ablief.

Ausgewertete Datensätze

Es lagen Ergebnisse aus Beprobungen im Zuge der Screening-Untersuchungen mittels TOP-Assay aus der Region Rastatt/Baden-Baden im Zeitraum August 2019 bis Dezember 2020 vor. Stoffbilanzierungen waren nur für Proben möglich, für die Datensatzpaare vor und nach dem TOP-Assay existierten. Von 239 Datensatzpaaren zum TOP-Assay von Bodenextrakt-rückständen existierte bei 24 Proben für keine der 26 analysierten Zielverbindungen ein bilanzierbares Datenpaar vor und nach TOP, weil in diesen 24 Proben alle PFCA-Gehalte in der jeweils nativen Probe unter der Bestimmungsgrenze von 1 µg/kg lagen. Somit standen für die PFCA-Bilanzierung 215 Datensatzpaare zur Verfügung. Wegen der größeren Empfindlichkeit der Eluatanalysen waren in allen 32 Eluatdatensätzen sowohl vor als auch nach TOP messbare PFCA-Konzentrationen vorhanden.

Ergebnisse der TOP-Datenauswertung

Von den auswertbaren Ergebnisdatensätzen wurde der Faktor F(PFCA) berechnet, der die Zunahme der molaren PFCA-Gesamtgehalte (Bodenproben) bzw. Konzentrationen (Eluate) beschreibt. Er ist definiert als

$$F(\text{PFCA}) = \frac{\sum \text{PFCA}_{\text{nach}}}{\sum \text{PFCA}_{\text{vor}}} \quad (3)$$

Die Verteilung der F(PFCA)-Werte ist getrennt für Bodenproben und Eluate in Abb. 2 dargestellt.

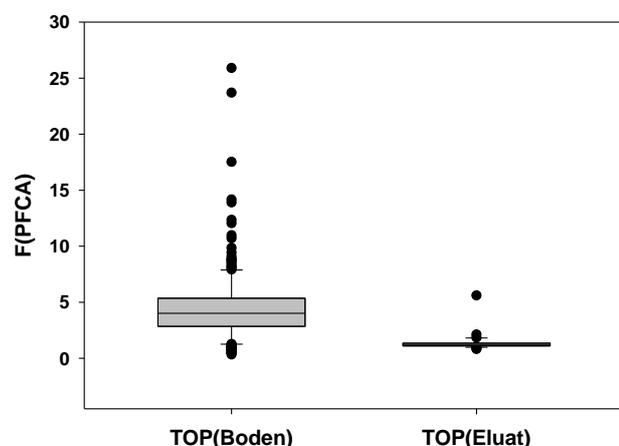


Abb. 2: Boxplot-Darstellung zur Verteilung der Faktoren F(PFCA) für TOP(Boden) (n = 215) und TOP(Eluat) (n = 32); F(PFCA) beschreibt, um welchen Faktor die molare Summe der gemessenen PFCA bei der Oxidation im TOP-Assay zunimmt.

Während sich die Faktoren F(PFCA) beim TOP(Boden) über mehr als eine Zehnerpotenz erstreckten, erreichten nur zwei von 32 Eluatproben (6%) Faktoren von >2 bzw. eine Zunahme der PFCA-Konzentrationen um mehr als 100%. Der Median ± Standardabweichung von F(PFCA) lag bei den Eluaten bei 1,19 ± 0,10. Dies bedeutet, dass in den wässrigen Eluaten im Vergleich zu den methanolischen Extrakten der Bodenproben nur vergleichsweise wenige beim TOP-Assay oxidierbare Präkursoren enthalten sind und deren Beitrag zur PFCA-Bildung beim TOP-Assay in den meisten Proben bei ca. 20% liegt. Die vergleichsweise geringe Gesamtzunahme spiegelt sich auch in den geringen Zunahmen der individuellen PFCA (nicht gezeigt) wider. Da es sich hierbei höchstwahrscheinlich um eluierbare, niedermolekulare Präkursoren [z. B. FOSA oder 6:2 Fluortelomersulfonat (6:2 FTSA)] handelt, sollte ein Großteil der 20% durch simultane Bestimmung dieser Präkursoren erfasst werden können, sodass die zusätzliche TOP-Assay-Analyse in den Eluaten weitgehend überflüssig würde.

In Abb. 3 sind die PFCA-Homologen-Verteilungen vor und nach TOP(Boden) für die Proben gezeigt, bei denen die Gehalte aller PFCA von C4 bis C12 oberhalb der Bestimmungsgrenze lagen. Diese beiden Homologenverteilungen unterscheiden sich deutlich voneinander. Der jeweils höhere Gehalt an PFCA mit gerader Anzahl an C-Atomen (zwischen PFHxA (C6) und PFDoDA (C12)) verglichen mit den Gehalten der benachbarten Homologen mit ungerader Anzahl an C-Atomen deutet auf einen wesentlichen Anteil von Fluortelomerverbindungen in den nativen Proben hin, da Fluortelomerverbindungen aus C2-Einheiten hergestellt werden. Nach der Oxidation im TOP-Assay verringern sich diese Unterschiede stark.

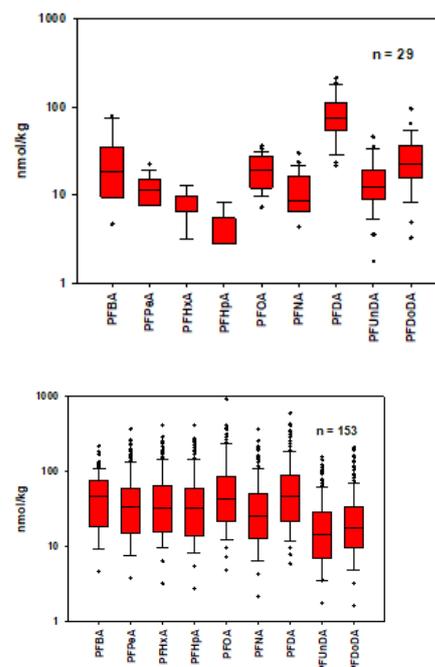


Abb. 3: Vergleich der PFCA-Homologen-Verteilungen vor (oben) und nach (unten) TOP(Boden); vor Oxidation gibt es nur 29 Proben, bei denen die Konzentration aller dargestellter Homologen über der BG von 1 µg/kg lagen.

Bei der Oxidation im TOP-Assay erfolgt eine starke Verschiebung zu PFCA kürzerer Kettenlängen bei gleichzeitiger Erhöhung der Anteile der PFCA-Homologen mit ungerader Kettenanzahl (Abb. 4). Dies geht auf die Oxidation von Fluortelomer-Präkursoren zurück. Bei der Oxidation von Perfluoralkylsulfonamid-basierten Präkursoren würde die C-Kettenlänge erhalten bleiben (Abb. 1).

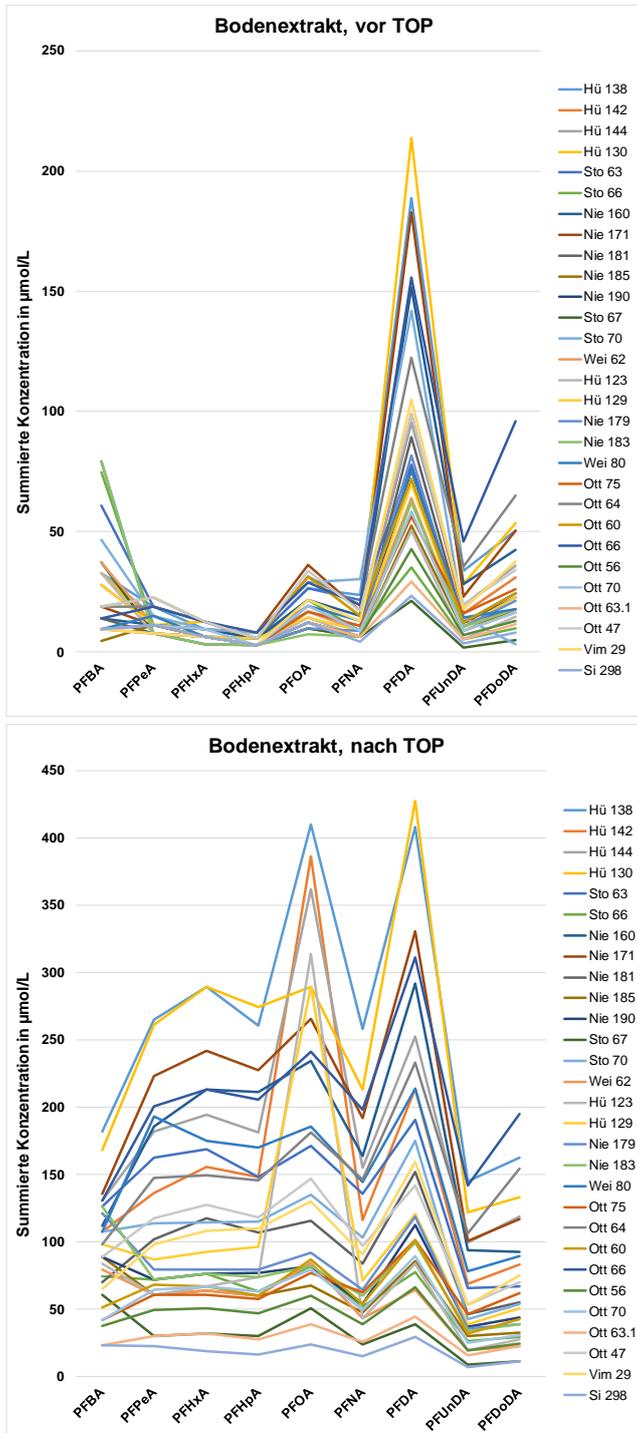


Abb. 4: Vergleich der PFCA-Homologen-Verteilungen vor (links) und nach (rechts) TOP(Boden) für Proben, bei denen die Gehalte aller PFCA von C4 bis C12 oberhalb der Bestimmungsgrenze lagen.

Bei der PFAS-Analytik nach TOP-Assay wurden teilweise leicht erhöhte Gehalte von Perfluoroctansulfonsäure (PFOS) gegenüber der Probe vor TOP-Assay beobachtet. Dies kann zwei Gründe haben (Abb. 5): (i) eine teilweise Hydrolyse oder (ii) ein mikrobieller Abbau von FOSE-basierten Präkursoren. Martin et al. (2019) berichten über die Möglichkeit der Hydrolyse von PFOAB, einem Feuerlöschschaumtensid mit Carbonsäureamid-Bindung zum perfluorierten Rest, beim TOP-Assay. Sie belegten dies durch ein Kontrollexperiment, bei dem nur NaOH, jedoch kein Oxidationsmittel im Kontrollansatz vorhanden war und sich dabei PFOA bildete. Eine analoge Hydrolyse von Sulfonsäureamiden ist wegen deren Stabilität wesentlich schwieriger. Dennoch wurde in mehreren Laboren die Bildung einer geringen Menge PFOS beim TOP-Assay beobachtet (Australasian Land and Groundwater Association, 2019; Janda, 2018). Wegen der langen Reaktionszeit von 20 h in der TOP-Assay-Methode des ZZW, ist eine geringfügige Hydrolyse Sulfonamid-basierter Präkursoren sehr wahrscheinlich.

Ein mikrobieller Abbau von Sulfonamid-basierten Präkursoren zu PFOS bei Probenlagerung kann eine Produktion beim TOP-Assay vortäuschen. Die in dieser Studie ausgewerteten Eluatanalysen vor Oxidation wurden in der Regel wenige Tage nach Probeneingang durchgeführt. Dem hingegen wurden die TOP-Analysen an den bereits vorhandenen Eluaten erst nach einer Nachbeauftragung begonnen. Dadurch kam es zu Standzeiten der Eluate von ca. 2-5 Monaten in der Kühlkammer bei ca. 6°C±2K. Wenn bei längerer Lagerdauer ein mikrobieller Abbau von Perfluoroctansulfonamidbasierten Präkursoren stattgefunden hätte, so hätte dieser zu PFOS geführt, was nach Durchführung des TOP(Eluat) als Zunahme beim TOP-Assay fehlinterpretiert worden wäre. Die mikrobiell zu PFOS abgebauten Präkursoren stünden dann im TOP-Assay nicht mehr zur Verfügung (Abb. 5). Dadurch wäre bei solchen Proben neben einer höheren PFOS-Konzentration als in der nativen Probe auch eine niedrigere PFOA-Konzentration als beim TOP einer nicht gelagerten Probe gemessen worden. Der Einfluss der Lagerdauer von Eluaten auf die PFOS- und PFOA-Konzentrationen nach TOP-Assay sollte zukünftig durch systematische Versuche genauer untersucht werden.

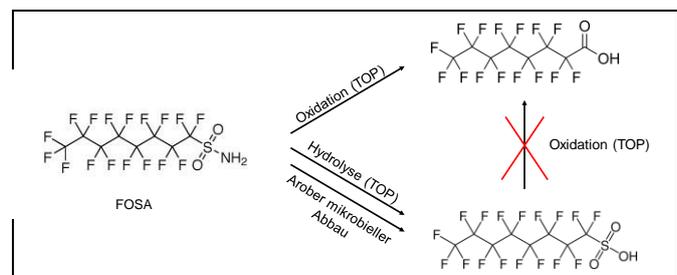


Abb. 5: Mögliche Abbaupfade von Perfluoroctansulfonamid-basierten Präkursoren am Beispiel von FOSA.

Optionen für weitergehende Informationen durch Anwendung des TOP-Assay

Aufgrund des Screening-Charakters der vorgestellten Untersuchungen wurden keine zusätzlichen Analysenverfahren zur Bestimmung bekannter Präkursoren, z. B. PAP oder SampAP, in den nativen Proben sowie der ultrakurzkettigen PFCA TFAA und PFPrA durchgeführt. Der Anteil unbekannter Präkursoren kann bei Kenntnis des Umsatzes bekannter Präkursoren beim TOP-Assay (bestimmt aus Versuchen mit Modell-Lösungen dieser Präkursoren) nach Gleichung (4) berechnet werden.

$$\Delta\text{PFCA}_{\text{unbekannt}} = \Delta\text{PFCA}_{\text{gemessen}} - \Delta\text{PFCA}_{\text{bekannt}} \quad (4)$$

Darin sind

- $\Delta\text{PFCA}_{\text{unbekannt}}$: die Summe der PFCA-Zunahme aus unbekanntem Präkursoren,
- $\Delta\text{PFCA}_{\text{gemessen}}$: $\sum\text{PFCA}_{\text{nach}} - \sum\text{PFCA}_{\text{vor}}$ = die Zunahme der molaren Konzentrationen aller gemessenen PFCA beim TOP-Assay und
- $\Delta\text{PFCA}_{\text{bekannt}}$: die Summe der aus den Konzentrationen aller gemessenen Präkursoren in der nativen Probe mittels bekannter Umsätze zu einzelnen PFCA vorhergesagten PFCA-Konzentrationen nach TOP-Assay.

$\Delta\text{PFCA}_{\text{unbekannt}}$ ist eine wichtige Größe zur Beurteilung, ob in einer Umweltprobe (hier Boden oder Bodeneluat) noch ein Depot derzeit unbekannter Präkursoren vorliegt. Diese weitergehenden Untersuchungen können sehr hilfreich für die Ableitung von Managementoptionen zum Umgang mit PFAS-belasteten Flächen sein.

Fazit und Ausblick

Die Anwendung des TOP-Assays im Boden ist sehr nützlich, da sich die Präkursoren überwiegend dort befinden und durch Abbauprozesse mobile PFAS produzieren können, die dann nach Auswaschung zu Grundwasserkontaminationen führen. Die Anwendung des TOP-Assays auf wässrige Eluate ist offensichtlich häufig weniger wichtig, da viele Präkursoren kaum in die wässrige Phase übergehen. Ein Großteil der eluierbaren Präkursoren ist vermutlich schon heute im Rahmen von etwas erweiterten Parameterlisten bei der PFAS-Target-Analytik erfassbar.

Abhängig von der Fragestellung kann es bei begrenztem Etat für PFAS-Analysen zielführender sein, weniger Proben auf eine größere Palette an bekannten Präkursoren sowie der ultrakurzkettigen PFCA TFAA und PFPrA zu untersuchen, um damit den (Mindest-)gehalt an unbekanntem Präkursoren zu ermitteln.

Eine Absenkung der Bestimmungsgrenze für individuelle PFAS in der nativen Bodenprobe (vor Oxidation), z. B. auf 0,1 µg/kg je Einzelsubstanz, ist dringend geboten, um die Berechnung von ΔPFCA für alle gemessenen PFCA zu ermöglichen.

Literatur

Australasian Land and Groundwater Association, 2019. Improving Measurement Reliability of the PFAS TOP

Assay,

https://www.ventia.com/documents/ckeditor/281/ALGA_R_D_Report_Final.pdf.

- EU-DWD, 2020. DIRECTIVE (EU) 2020/2184 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2020 on the quality of water intended for human consumption: EU-DWD. Official Journal of the European Union, L 435/1.
- Göckener, B., Lange, F.T., Lesmeister, L., Gökçe, E., Dahme, H.U., Bandow, N., Biegel-Engler, A., 2022. Digging deep - implementation, standardisation and interpretation of a total oxidisable precursor (TOP) assay within the regulatory context of per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in soil. *Environ Sci Eur* 34 (1), 2345.
- Houtz, E.F., Higgins, C.P., Field, J.A., Sedlak, D.L., 2013. Persistence of perfluoroalkyl acid precursors in AFFF-impacted groundwater and soil. *Environ Sci Technol* 47 (15), 8187–8195.
- Houtz, E.F., Sedlak, D.L., 2012. Oxidative conversion as a means of detecting precursors to perfluoroalkyl acids in urban runoff. *Environ Sci Technol* 46 (17), 9342–9349.
- Houtz, E.F., Sutton, R., Park, J.-S., Sedlak, M., 2016. Poly- and perfluoroalkyl substances in wastewater: Significance of unknown precursors, manufacturing shifts, and likely AFFF impacts. *Water Research* 95, 142–149.
- Janda, J., 2018. Polare Perfluoralkylcarbonsäuren: Bestimmung in aquatischen Proben und Untersuchungen zu ihren Präkursoren in Wasser und Feststoffen. Dissertation, Tübingen, 215 pp.
- Janda, J., Nödler, K., Scheurer, M., Happel, O., Nürnberg, G., Zwiener, C., Lange, F.T., 2019. Closing the gap - inclusion of ultrashort-chain perfluoroalkyl carboxylic acids in the total oxidizable precursor (TOP) assay protocol. *Environ Sci Process Impacts* 21 (11), 1926–1935.
- Klatt, P., 2021. PFAS in Mittelbaden. <https://pfas-dilemma.info/pfas-mittelbaden>.
- Lange, F.T., Scheurer, M., Bierreth, C., Borho, W., Seeger, A.-K., Dreher, P., Nöltner, T., 2021. Air-drying of soil samples - A crucial step in the determination of leachable concentrations of per- and polyfluoroalkyl substances. *Chemosphere* 269, 128745.
- LUBW Landesanstalt für Umwelt Baden-Württemberg, 2019. Bestimmung von per- und polyfluorierten Verbindungen (PFAS) in Feststoffen: Vergleich Schüttel- und Säulenelutionsverfahren, <https://pudi.lubw.de/detailseite/-/publication/42387>.
- LUBW Landesanstalt für Umwelt Baden-Württemberg, 2022. Studie zur Aussagekraft des Total Oxidizable Precursor-Assays Studie zur Aussagekraft des Total Oxidizable Precursor-Assays (TOP-Assay) von methanolischen Bodenextrakten und wässrigen Eluat. <https://pd.lubw.de/10410>.
- Martin, D., Munoz, G., Mejia-Avenida, S., Duy, S.V., Yao, Y., Volchek, K., Brown, C.E., Liu, J., Sauv e, S., 2019. Zwitterionic, cationic, and anionic perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances integrated into total oxidizable precursor assay of contaminated groundwater. *Talanta* 195, 533–542.

Korrespondenzadresse

Dr. Frank Thomas Lange
TZW: DVGW-Technologiezentrum Wasser
Karlsruher Str. 84
76139 Karlsruhe
Tel.: 0721-9678-157
E-Mail: frankthomas.lange@tzw.de



Long-term study of nitro- and oxy-PAHs in soil samples at a rural background and a semi-urban site in central Europe

Langzeitstudie zu nitrierten und oxygenierten polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen in Bodenproben zweier unterschiedlicher Standorte

Marco Wietzoreck^a (m.wietzoreck@mpic.de), Benjamin A. Musa Bandowe^a (b.bandowe@mpic.de), Jakub Hofmann^b (jakub.hofman@recetox.muni.cz), Petr Kukučka^b (petr.kukucka@recetox.muni.cz), Jakub Martiník^b (jakub.martinik@recetox.muni.cz), Barbora Nežiková^b (barbora.nezikova@recetox.muni.cz), Petra Příbylová^b (petra.pribylova@recetox.muni.cz), Gerhard Lammel^{a,b} (g.lammel@mpic.de)

^a Max Planck Institute for Chemistry, Multiphase Chemistry Dept., Mainz, Germany

^b Masaryk University, Research Centre for Toxic Compounds in the Environment, Brno, Czech Republic

Abstract

Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAKs) sowie ihre nitrierten (NPAHs) und oxygenierten (OPAHs) Derivate sind zum Teil langlebig und können in der Atmosphäre über weite Strecken transportiert werden. Trotz ihrer gesundheitsschädlichen Auswirkungen gibt es bisher nur wenige Studien zu den Konzentrationen der PAK-Derivate im Boden an Standorten ohne signifikante direkte Quellen bzw. Kontamination. In dieser Langzeitstudie konnten verschiedene NPAHs und OPAHs im Boden nachgewiesen werden. Durch den Vergleich der Konzentrationen im Boden und der Atmosphäre konnten einige neue Erkenntnisse gewonnen werden. Für das genaue Verständnis von Langzeitschwankungen der Konzentrationen fehlen jedoch noch einige kinetische Parameter.

Introduction

The planetary boundary of chemical pollution is considered to be transgressed (Persson et al., 2022). Polycyclic aromatic compounds (PACs), including polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their nitrated (NPAHs) and oxygenated (OPAHs) derivatives, are an important compound class of chemical pollution. It has already been shown that several PACs are carcinogenic, mutagenic, ecotoxic, endocrine disruptive and cause oxidative stress (Durant et al., 1996; Bolton et al., 2000; Lundstedt et al., 2007; IARC, 2010, 2012; Bandowe and Meusel, 2017). Humans are exposed to these pollutants in several pathways, as the substances can enter the human body by inhalation, oral ingestion and dermal contact (Ruby et al., 2016).

PACs are mainly emitted into the environment by incomplete combustion of fossil fuels and biomass (Baek et al., 1991; Bandowe and Meusel, 2017). In addition, the NPAHs and OPAHs can be formed secondarily in the atmosphere by the reaction of atmospheric oxidants with PAHs (Keyte et al., 2013). After emission, the semivolatile substances can partition between the particulate phase and the gas phase in air. Due to their persistence, PACs can be transported to places far from any primary sources. The chemicals reach the soil mainly by dry deposition adsorbed to particles and by wet deposition (precipitation) (Baek et al., 1991; Bandowe and Meusel, 2017).

In addition, PACs can reach the soil directly from fossil material such as coal and crude oil (Vikelsøe et al., 2002; Bandowe and Meusel, 2017). Because of their volatility, the substances can revolatilize from the soil surface. Thus, the soil can be a storage compartment, which can re-emit these pollutants into the atmosphere (Lammel et al., 2009; Keyte et al., 2013).

Despite the importance of these compounds, there is still a lack of knowledge about the distribution and long-term trends of the PACs in soil. The concentration of a PAC in soil depends on its emission intensity, formation in air and soil, degradation in air, deposition, revolatilization, transport, sequestration, sorption and desorption to soil matrix, degradation in soil (biotic and abiotic), bioaccumulation, plant-uptake, formation of non-extractable residues amongst others (Wilcke, 2000; Semple et al., 2003; Idowu et al., 2019).

The aim of our study was to determine the temporal variations in the concentrations and the composition profiles of OPAHs, O-heterocycles, NPAHs and PAHs in grassland soils of a central European rural background and of a semi-urban site, both in the Czech Republic. By elucidating the difference between soil at semi-urban vs. rural sites and between air and soil concentration, we aim to improve the understanding of the sources, occurrence and fate of PAH derivatives in soil.

Methods and materials

Sampling

We sampled the top 10 cm surface soil at grassland sites in Košetice and Mokrý in the Czech Republic (see Fig. 1). Košetice is a rural background site (85 km from Prague). Košetice location 1 (Kos-1) is next to an observatory measurement station on open area. Location 2 (Kos-2) is close to the confluence of two brooks on an open meadow. The soil samples from Košetice were taken in the summer of each year from 2010 to 2017.

Mokrý is a semi-urban site at the rim of an urban and an industrial area (13 km east-northeast of the city centre of Brno). Location 1 (Mok-1) is near a small forest that is close to the edge of a quarry of a cement works. Location 2 (Mok-2), 3.5 km

south of sampling site 1, is close to the village of Sivice and a cement factory. Samples from seven soils, taken from locations Mok-1 and Mok-2 during all seasons except winter from 2006 to 2015, were analysed. Each location was represented by a mixture of ten sub-samples collected from an area of 25 × 25 m. The samples were air-dried, sieved (2 mm mesh) and stored in a dark room at constant temperature and humidity.



Fig. 1: Grassland soil sampling sites

Determination of PAHs, NPAHs and OPAHs in soils

The soil samples (5 g each) were spiked with deuterated PAHs, OPAHs and NPAHs. Subsequently, the target compounds were extracted from the soil by Soxhlet extraction. After concentration, the extract was cleaned-up by column chromatography using 10%-deactivated silica. The target compounds were eluted with ethyl acetate, followed by dichloromethane. After concentration and addition of an internal standard, the PACs in the soil extracts were analysed by GC-MS. The target compounds in this study were 27 PAHs, 17 NPAHs, 1 NOPAH, 11 OPAHs and 2 O-heterocycles. All targeted compounds, including their physico-chemical properties, are shown in Appendix A.

PAHs were measured on a GC (GC 7890A Agilent Technologies) with a Rxi-5Sil MS column (Restek), coupled to a triple quadrupole mass spectrometer (MS 7000B, Agilent Technologies), using electron ionization (EI) in the positive selected ion monitoring (SIM) mode. All nitrated and oxygenated PAHs were analysed by GC-MS using atmospheric pressure chemical ionization (APCI) in negative mode on a 7890 GC (Agilent Technologies) coupled to a triple quadrupole MS Xevo TQ-S (Waters). A 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm Rxi-5Sil MS column (Restek) was used. 1 μL of the samples was injected splitless with helium as carrier gas. The target compounds were measured in the multiple reaction monitoring (MRM) mode. The ratio of the target compound and the internal standard PCB121 was used to determine the target compound concentration.

Results and discussion

Concentration

Out of the targeted 17 nitrated PAHs (NPAHs), 11 oxygenated PAHs (OPAHs), one NOPAH and 2 O-heterocycles, 5 NPAHs, 10 OPAHs and both O-heterocycles were found in soils from Košetice and Mokrá. The average concentration of the Σ_{11+2} OPAHs and O-heterocycles in Košetice ($4.07 \pm 3.08 \text{ ng g}^{-1}$) is

lower than in Mokrá ($5.91 \pm 2.30 \text{ ng g}^{-1}$). Similarly, lower NPAH levels are found in Košetice ($0.31 \pm 0.23 \text{ ng g}^{-1}$) than in Mokrá ($0.54 \pm 0.45 \text{ ng g}^{-1}$). The concentrations normalized to the total organic carbon (TOC) content are even significantly different between the two sites for the OPAHs ($p < 0.05$, Student's t-test) and close to significance for the NPAHs ($p = 0.054$, Student's t-test) (see Fig. 2) showing that the difference is not caused by the influence of the soil TOC content. The higher burden in soil from the semi-urban site Mokrá might be caused by the higher proximity to emission sources showing the importance of primary emitted PAH derivatives, especially the OPAHs, for the soil pollution.

We found a correlation ($r = 0.55$, $p < 0.01$) of the concentrations of the high molecular weight (4-5-ring) OPAHs and O-heterocycles with the TOC content in soil, but no significant correlation for the low molecular weight (2-3-ring) OPAHs and O-heterocycles or for the NPAHs. The lack of significant correlation between the TOC content and the concentrations of NPAHs and the 2-3-ring OPAHs might be due to their higher mobility, degradability and formation in soil (Wilcke et al. 2014; Cai et al., 2017). Compared to the other studies of PAH derivatives in soil, the soil concentration from the background site Košetice is among the lowest ever reported.

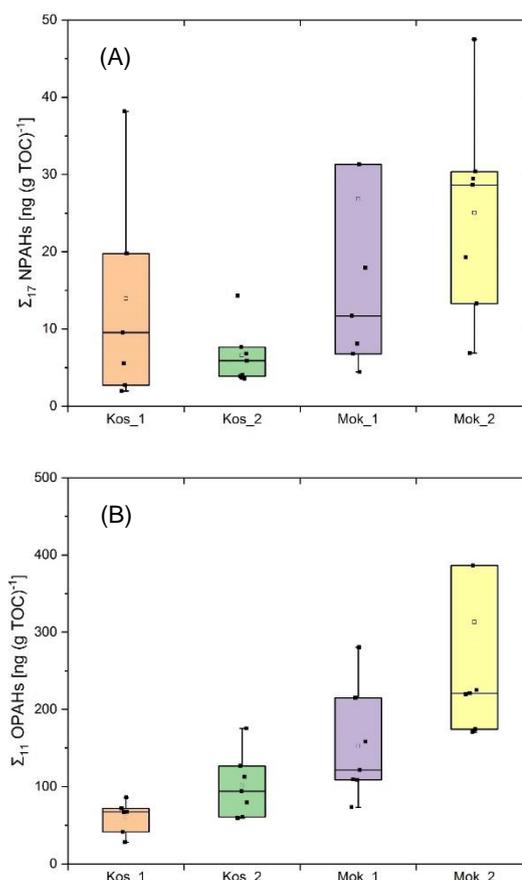


Fig. 2: Concentration of NPAHs (A) and OPAHs (B) in soil normalized to the total organic carbon content (TOC)

Composition patterns

The location average composition patterns of the NPAHs and OPAHs are shown in Fig. 3. 9-fluorenone (9-OFLN), 11-benzo(a)fluorenone (11-OBaFLN) and 11-benzo(b)fluorenone (11-OBbFLN) are the most abundant OPAHs. In air samples at the same location, the relative contribution of 9-OFLN and dibenzofuran (DBF) to the sum of OPAHs and O-heterocycles was significantly higher than in soil samples (Nežiková et al., 2021).

The highest contribution to the Σ NPAHs between 50% and 66% is from 1-nitropyrene (1-NPYR), followed by 6-nitrobenz(a)pyrene (6-NBAP), which differs greatly from the NPAH pattern in air ($\approx 1\%$ and $<1\%$, respectively; Tomaz et al. 2016; Lammel et al. 2020; Nežiková et al. 2021) shown in Fig. 3. It can probably be explained by their susceptibility to photolysis in air (Fan et al., 1996) in combination with slow degradation in soil. The contribution of nitrofluoranthene (NFLT) is between 5–30%. Although the 2-NFLT isomer was not separated from the 3-NFLT, the latter can be neglected in the environment except in immediate vicinity of diesel exhaust (Bamford et al., 2003). In contrast, NFLT has the highest share of all targeted NPAHs in air at Košetice (Nežiková et al., 2021).

In air samples, the ratio of the concentration of 2-NFLT to the concentration of 1-NPYR is often used as a diagnostic ratio for the relative importance of photochemical formation since 1-NPYR is known to be emitted primarily, while 2-NFLT is secondarily formed (Bandowe and Meusel 2017). The ratio of 2-NFLT/1-NPYR in soil in this study, ranging between 0.35 and 0.76 across the four locations, is much lower than in air (23 at Košetice; Nežiková et al. 2021). The indication of the relative importance of primary emissions by this ratio from air is obviously not preserved in soil. However, the ratio is higher at the background site Košetice compared to the semi-urban site Mokrá (0.61 \pm 0.58 vs 0.36 \pm 0.38). More details are given in Wietzoreck et al., 2022.

Temporal variation

The temporal variation of the concentration of PACs in soil at Košetice and Mokrá significantly differed between substances. It could be noticed that the concentrations of dibenzofuran, 9-fluorenone, 1-nitropyrene, the 2 ring-NPAHs and some 3-ring PAHs decreased, while it stayed constant or increased for high molecular weight PACs. Nežiková et al. (2021) found a decreasing trend of several NPAHs and OPAHs in air at Košetice between 2015 and 2017 attributable to ongoing emission reductions of PAHs that are also effective for NPAHs and OPAHs. This could be one reason for the decreasing NPAH concentrations. The decrease of the low molecular weight compounds might be explained by higher winter temperatures, leading to a lower share of the compounds in the particulate phase compared to the gas phase. Since deposition of the compounds in the particulate phase is more efficient, lower amounts in this phase could lead to lower concentrations in soil.

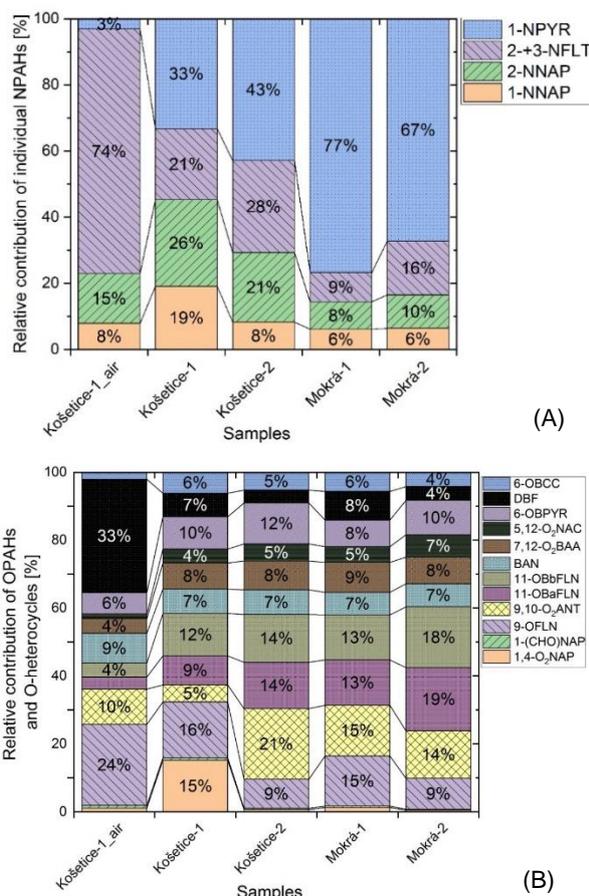


Fig. 3: Composition patterns of NPAHs (A) and OPAHs (B) in soil and air

Summary and conclusion

The concentrations of the PAH derivatives in soil at the central European background site Košetice are among the lowest ever reported. Our results show that several NPAHs and OPAHs are abundant in soil at the background site. 1-NPYR and 6-NBAP, which are identified as highly toxic (IARC, 2012; Abdullahi et al., 2014), were the most abundant NPAHs in soil. The findings suggest that 1-NPYR and 6-NBAP are more stable in soil than in air. Through eventual re-volatilisation, soil may turn into a secondary source of these pollutants. OPAHs were more equally distributed, showing the highest contributions from 9-OFLN, 11-OBaFLN and 11-OBbFLN. We found a correlation of the soil organic carbon content with the high molecular weight OPAHs and PAHs, but not with the low molecular weight OPAHs and PAHs, nor with the NPAHs. In order to study the temporal variation of the air-soil cycling, longer time series and less uncertain biodegradation data in soil are needed.

Literatur

- Abdullahi, S., & Karami-Mohajeri, M. (2014). 1-Nitropyrene. In: Encyclop. Toxicol. 3rd ed., Wexler, P., ed., Academic Press, Cambridge, USA, pp. 581-583.
- Baek, S. O., Field, R. A., Goldstone, M. E., Kirk, P. W., Lester, J. N. & Perry, R. (1991). A review of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: Sources, fate and behaviour. Water, Air, and Soil Pollution, 60, 279–300.

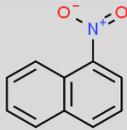
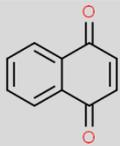
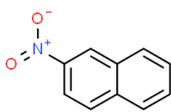
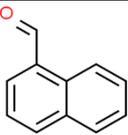
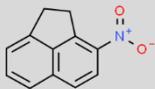
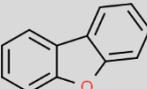
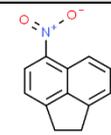
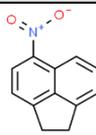
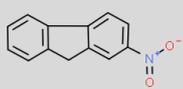
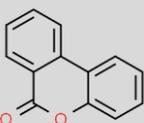
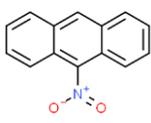
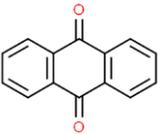
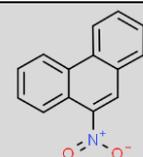
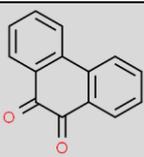
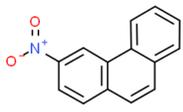
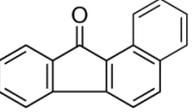
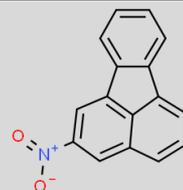
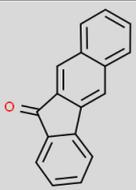
- Bamford, H. A., Bezabeh, D. Z., Schantz, M. M., Wise, S. A. & Baker, J. E. (2003). Determination and comparison of nitrated-polycyclic aromatic hydrocarbons measured in air and diesel particulate reference materials. *Chemosphere*, 50, 575–587.
- Bandowe, B. A. M. & Meusel, H. (2017). Nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons (nitro-PAHs) in the environment—a review. *Science of the Total Environment*, 581–582, 237–257.
- Bolton, J. L., Trush, M. A., Penning, T. M., Dryhurst, G. & Monks, T. J. (2000). Role of quinones in toxicology. *Chemical Research in Toxicology*, 13, 135–160.
- Cai, C. Y., Li, J. Y., Wu, D., Wang, X. L., Tsang, D. C. W., Li, X. D., Sun, J. T., Zhu, L. Z., Shen, H. Z., Tao, S. & Liu, W. X. (2017). Spatial distribution, emission source and health risk of parent PAHs and derivatives in surface soils from the Yangtze River Delta, Eastern China. *Chemosphere*, 178, 301–308.
- Durant, J. L., Busby, W. F., Jr., Lafleur, A. L., Penman, B. W. & Crespi, C. L. (1996). Human cell mutagenicity of oxygenated, nitrated and unsubstituted polycyclic aromatic hydrocarbons associated with urban aerosols. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 371, 123–157.
- Fan, Z. H., Kamens, R. M., Hu, J. X., Zhang, J. B. & McDow, S. (1996). Photostability of nitropolycyclic aromatic hydrocarbons on combustion soot particles in sunlight. *Environmental Science and Technology*, 30, 1358–1364.
- IARC. (2010). Some non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons and some related exposures. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 92, 1–852.
- IARC. (2012). Diesel and gasoline engine exhausts and some nitroarenes. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 105, 1–703.
- Idowu, O., Semple, K. T., Ramadass, K., O'Connor, W., Hansbro, P. & Thavamani, P. (2019). Beyond the obvious: Environmental health implications of polar polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environment International*, 123, 543–557.
- Keyte, I. J., Harrison, R. M. & Lammel, G. (2013). Chemical reactivity and long-range transport potential of polycyclic aromatic hydrocarbons—a review. *Chemical Society Reviews*, 42, 9333–9391.
- Lammel, G., Sehili, A. M., Bond, T. C., Feichter, J. & Grassl, H. (2009). Gas/particle partitioning and global distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons—a modelling approach. *Chemosphere*, 76, 98–106.
- Lammel, G., Kitanovski, Z., Kukučka, P., Novák, J., Arangio, A., Codling, G.P., Filippi, A., Hovorka, J., Kuta, J., Leoni, C., Příbylová, P., Prokeš, R., Sářka, O., Shahpoury, P., Tong, H.J. & Wietzoreck, M. (2020). Levels, phase partitioning, mass size distributions and bioaccessibility of oxygenated and nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons (OPAHs, NPAHs) in ambient air. *Environmental Science and Technology*, 54, 2615–2625.
- Lundstedt, S., White, P.A., Lemieux, C.L., Lynes, K.D., Lambert, L.B., Öberg, L. et al. (2007). Sources, fate, and toxic hazards of oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) at PAH-contaminated sites. *Ambio*, 36, 475–485.
- Nežiková, B., Degrendele, C., Bandowe, B.A.M., Holubová Šmejkalová, A., Kukučka, P., Martiník, J., Prokeš, R., Příbylová, P., Klánová, J. & Lammel, G. (2021). Atmospheric concentrations of nitrated and oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons and oxygen heterocycles are declining in Central Europe. *Chemosphere*, 269, 128738.
- Persson, L., Carney Almroth, B. M., Collins, C. D., Cornell, S., de Wit, C. A., Diamond, M. L., Fantke, P., Hassellöv, M., MacLeod, M., Ryberg, M. W., Søgaard Jørgensen, P., Villarrubia-Gómez, P., Wang, Z. & Hauschild, M. Z. (2022). Outside the safe operating space of the planetary boundary for novel entities. *Environmental Science and Technology*, 56, 1510–1521.
- Ruby, M. V., Lowney, Y. W., Bunge, A. L., Roberts, S. M., Gomez-Eyles, J. L., Ghosh, U., Kissel, J. C., Tomlinson, P. & Menzie, C. (2016). Oral bioavailability, bioaccessibility, and dermal absorption of PAHs from soil—state of the science. *Environmental Science and Technology*, 50, 2151–2164.
- Semple, K. T., Morriss, A. W. J. & Paton, G. I. (2003). Bioavailability of hydrophobic organic contaminants in soils: Fundamental concepts and techniques for analysis. *European Journal of Soil Science*, 54, 809–818.
- Tomaz, S., Shahpoury, P., Jaffrezo, J.-L., Lammel, G., Perraudi, E., Villenave, E. & Albinet, A. (2016). One-year study of polycyclic aromatic compounds at an urban site in Grenoble (France): Seasonal variations, gas/particle partitioning and cancer risk estimation. *Science of the Total Environment*, 565, 1071–1083.
- Vikelsøe, J., Thomsen, M., Carlsen, L. & Johansen, E. (2002). Persistent organic pollutants in soil, sludge and sediment. A multianalytical field study of selected organic chlorinated and brominated compounds. National Environmental Research Institute, Denmark. NERI Technical Report No. 402, 100 pp. <http://technical-reports.dmu.dk>.
- Wietzoreck, M., Bandowe, B. A. M., Hofman, Martiník, J., Nežiková, B., Kukučka, P., Příbylová, P. & Lammel, G. (2022). Nitro- and oxy-PAHs in grassland soils from decade-long sampling in central Europe. *Environmental Geochemistry and Health*, 44, 2743–2765.
- Wilcke, W. & Amelung, W. (2000). Persistent organic pollutants (POPs) in native grassland soils along a climosequence in North America. *Soil Science Society of America Journal*, 64, 2140–2148.
- Wilcke, W., Kiesewetter, M. & Bandowe, B. A. M. (2014). Microbial formation and degradation of oxygen-containing polycyclic aromatic hydrocarbons (OPAHs) in soil during short-term incubation. *Environmental Pollution*, 184, 385–390.

Korrespondenzadresse

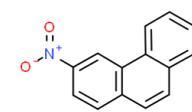
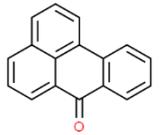
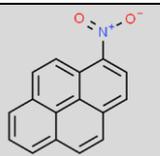
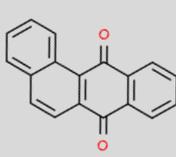
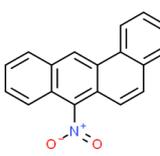
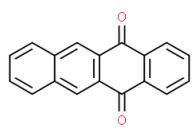
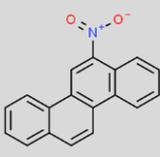
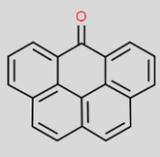
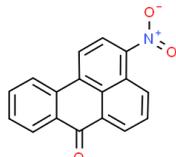
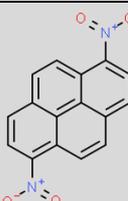
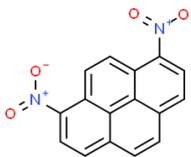
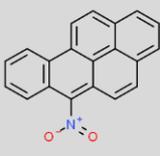
Dr. Marco Wietzoreck
AG Lammel (Organic Pollutants & Exposure)
Multiphase Chemistry
Max Planck Institute for Chemistry
Hahn-Meitner-Weg 1
55128 Mainz
Tel.: +49 6131-305-7602
E-Mail: m.wietzoreck@mpic.de

Appendix A

Table 1: Target compounds including acronyms and structural formulae

Compound	Acronym	Structure	Compound	Acronym	Structure
1-Nitronaphthalene	1-NNAP		1,4-Naphthoquinone	1,4-O ₂ NAP	
2-Nitronaphthalene	2-NNAP		Naphthalene-1-aldehyde	1-(CHO)NAP	
3-Nitroacenaphthene	3-NACE		Dibenzofuran	DBF	
5-Nitroacenaphthene	5-NACE		9-Fluorenone	9-OFLN	
2-Nitrofluorene	2-NFLN		6H-Benzo(c)-chromen-6-one	6-OBCC	
9-Nitroanthracene	9-NANT		9,10-Anthraquinone	9,10-O ₂ ANT	
9-Nitrophenanthrene	9-NPHE		9,10-Phenanthroquinone	9,10-O ₂ PHE	
3-Nitrophenanthrene	3-NPHE		11H-Benzo(a)-fluoren-11-one	11-OBaFLN	
2-Nitrofluoranthene	2-NFLT		11H-Benzo(b)fluoren-11-one	11-OBbFLN	

Originalbeiträge

Compound	Acronym	Structure	Compound	Acronym	Structure
3-Nitrofluoranthene	3-NFLT		Benzanthrone	BAN	
1-Nitropyrene	1-NPYR		Benz(a)anthracene-7,12-dione	7,12-O ₂ BAA	
7-Nitrobenzo(a)-anthracene	7-NBAA		5,12-Naphthacenequinone	5,12-O ₂ NAC	
6-Nitrochrysene	6-NCHR		6H-Benzo(cd)-pyren-6-one	6-OBPYR	
1,3-Dinitropyrene	1,3-N ₂ PYR		3-Nitrobenzanthrone	3-NBAN	
1,6-Dinitropyrene	1,6-N ₂ PYR				
1,8-Dinitropyrene	1,8-N ₂ PYR				
6-Nitrobenzo(a)-pyrene	6-NBAP				

Professur für Instrumentelle Analytik und Umweltmesstechnik, Fakultät Maschinenbau & Verfahrenstechnik, Hochschule Offenburg

Ausrichtung und Forschungsschwerpunkte



Abb.1 Prof. Dr. Bernd Spangenberg

Nach dem Studium der Chemie an der Universität Marburg und der Promotion in pharmazeutischer Chemie arbeitete Prof. Spangenberg für mehrere Jahre in der pharmazeutischen Industrie in Deutschland und in der Schweiz als Laborleiter, kommissarischer Kontrollleiter und Forschungsleiter. Hier war er für die analytische Methodenentwicklung und in der Freigabeanalytik tätig. Ein spezieller Aufgabebereich war die Rohstoffanalytik von Pestiziden für Phytopräparate.

Im Jahre 1991 übernahm er die Professur für Umweltmesstechnik an der Hochschule Offenburg im Fachbereich Verfahrenstechnik, die er bis 2021 innehatte. Seit Oktober 2021 ist er als Seniorprofessor in diesem Bereich tätig. Seine Forschungsschwerpunkte sind Detektionssysteme in der Chromatographie, speziell der Planarchromatographie und hier insbesondere die Datentransformation der Messwerte zu den Auswertedaten. Während in der UV-VIS, HPLC, IC oder Kapillarelektrophorese klare Lösungen vorliegen, gilt dies für die Dünnschichtchromatographie (HPTLC), Gelelektrophorese, Teststreifenanalytik und andere Schnelltestverfahren (wie COVID-19-Schnelltests) nicht, da hier immer in lichtstreuenden Medien gearbeitet wird. Bei klaren Lösungen benutzt man das bekannte Bouguer-Lambert-Beer'sche Gesetz zur Datentransformation. Für die lineare Datentransformation in streuenden Medien wurde in Offenburg die erweiterte Kubelka-Munk-Gleichung entwickelt, die auch die Fluoreszenzmessungen in streuenden Medien beschreibt

(<https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-642-55102-4?#toc>). Bei einem Forschungssemester im Jahr 2003 am European Commission, Joint Research Centre, Institut for Reference Materials and Measurements (IRMM) in Geel, Belgien entwickelte Bernd Spangenberg die planarchromatographische Analytik für Sucralose, was zur Freigabe dieses Süßstoffes in der EU führte. Die Anwendung der erweiterten Kubelka-Munk-Gleichung erlaubt auch die Verwendung von Flachbettscannern in der Analytik, was z. B. beim BioTracer der Fa. Duravit (<https://www.kma-online.de/aktuelles/it-digital-health/detail/erstes-app-gesteuertes-wc-mit-urinanalyse-a-34286>) verifiziert wurde.

Ein weiteres Forschungsgebiet fand sich in der Dioden-Array-Dünnschichtchromatographie, die bei der Identifizierung bekannter phytopharmazeutischer Substanzen gute Dienste leistet und auch zur Auswertung von 2D-Trennungen eingesetzt werden kann. Schwerpunkt der Forschung in den letzten

Jahren war die effektbasierte Analytik. Sie kommt in der Pflanzenanalytik zur Anwendung, ebenso wie in der Umweltanalytik, z.B. zur Spurenanalytik Acetylcholinesterase-hemmender Phosphorsäureester, oder zur Bestimmung von Herbiziden durch Chloroplaste direkt auf der Dünnschichtplatte. Besonders interessant ist der p-YES-Test, der planare Yeast Estrogen Screen Test, der eine sehr empfindliche Quantifizierung von Estradiol und Ethinylestradiol in Wasser erlaubt.



Abb. 2 Studierende des Offenburger Bachelorstudienganges Umwelttechnologie bestimmen komplexometrisch die Wasserhärte eigener Proben



Abb. 3 Studierende des Bachelorstudienganges Biotechnologie bei der Gelelektrophorese.



Abb. 4 Bestimmung von Cr(VI) und Cr(III) mittel IC-ICP.

Ausstattung der Analytik

Die Geräteausstattungen der Analytischen Chemie und der Instrumentellen Analytik reichen von spektrometrischen Verfahren (ATR-IR, UV-VIS-NIR, DART-TOF, ICP-OES, TOC), elektrochemischen Methoden (Polarographie), den chromatographischen Techniken (HPTLC, GC, HPLC, IC, sowie CE zur DNA-Sequenzierung) bis zu Kopplungstechniken (GC-MS, HPLC-TOF-MS, Diodenarray HPTLC-FL-UV-VIS, IC-ICP). Zur Untersuchung von Materialproben stehen Zeiss-Mikroskope, Wärmekameras und ein Raster-Elektronenmikroskop zur Verfügung.

Institut

Über die Vorlesung „Bionik“ knüpfte Prof. Spangenberg Kontakte zur Bauindustrie und gründete 2015 das Institut für Nachhaltige Silikatforschung in Offenburg (NaSiO). Im Rahmen eines Forschungsverbundes zur Optimierung mineralischer Dämmsysteme auf Druckfestigkeit und Feuerbeständigkeit wurde eine Alternative zu Portlandzement entwickelt, bei deren Produktion 70 % weniger CO₂ emittiert wird.

Gremienarbeit

Bernd Spangenberg ist seit 2001 Mitglied der Fachbereichstage Verfahrenstechnik und seit 2007 als Editor-in-Chief des Journal of Planar Chromatography tätig. Er ist Mitglied im Arbeitskreis Planar Yeast Estrogen Screen (p-YES) des DIN-Normenausschusses Wasserwesen (NA 119-01-03-05-13).

Kontakt

Prof. Dr. rer. nat. Bernd Spangenberg,
Instrumentelle Analytik, Hochschule Offenburg,
Fakultät Maschinenbau und Verfahrenstechnik,
Badstraße 24, 77652 Offenburg
E-Mail: Spangenberg@HS-Offenburg.de
Internet: <https://www.hs-offenburg.de/>

Protokoll der Mitgliederversammlung am 7. September 2022 in Emden

1. Begrüßung/Protokoll

Stefan Hahn begrüßt die Anwesenden. Es gibt keine weiteren Anmerkungen zum Protokoll der letzten Mitgliederversammlung oder zur heutigen Tagesordnung.

2. Bericht des Vorstands

Stefan Hahn berichtet zur Finanzlage und zur Mitgliederentwicklung. Die Mitgliederzahlen liegen in den letzten 10 Jahren stabil bei über 800 Mitgliedern. Im Jahr 2022 ist ein leichter Anstieg auf fast 860 Mitglieder zu verzeichnen. Generell nimmt der relative Anteil der studentischen und Jungmitglieder stetig zu (2022: 30%), es gelingt jedoch offensichtlich nicht, die Personen nach Abschluss des Studiums zu halten. Die Geschlechterverteilung liegt über alle FG-Mitglieder bei ca. 1:2 (weiblich : männlich), bei den jungen Mitgliedern ist das Verhältnis fast ausgewogen.

Die finanziellen Rücklagen sind seit 2019 angestiegen, dies liegt vor allem daran, dass während der Corona-Pandemie weniger Ausgaben angefallen sind.

In diesem Herbst steht die Vorstandswahl an, die am 12. September beginnt. Es können 7 Personen in den Vorstand gewählt werden, 8 Personen stehen zur Wahl.

Die Fachgruppe hat in 2022 einen Vertrag mit dem SETAC GLB geschlossen, um zukünftig bis zur möglichen Kündigung gemeinsame Tagungen zu veranstalten, die auch entsprechend benannt werden können. Die FG zahlt dafür jährlich einen festen Betrag an den SETAC GLB, insbesondere für die ermäßigten Tagungskosten für FG-Mitglieder. Die GDCh Geschäftsstelle finanziert den Übergang, zukünftig muss sich die Fachgruppe um Sponsoren zur Finanzierung bemühen. Inhaltlich wird die Tagung von beiden Gesellschaften gemeinsam gestaltet.

Es gab erfreulich viele Bewerbungen von hoher Qualität für den Paul-Crutzen-Preis. Aus diesem Grund hat sich der Vorstand dazu entschieden den Preis in diesem Jahr auf zwei Personen aufzuteilen.

Der Vorstand hat den Flyer über die Fachgruppe überarbeitet, dieser ist auf der Homepage zu finden:

https://www.gdch.de/fileadmin/downloads/Netzwerk_und_Strukturen/Fachgruppen/Umweltchemie_Oekotoxikologie/PDF/Flyer/FG_UCOET_Flyer_A4_2022_web.pdf .

Im Postgradualstudiengang Ökotoxikologie (PGS) haben im letzten Jahr 7 Kurse stattgefunden, 10 Abschlüsse wurden erreicht. Die finanziellen Rücklagen sind von 2020 auf 2022 gestiegen. Diese Rücklagen werden zur Sicherheit benötigt, falls

sich einmal zu wenig Studierende für einen Kurs anmelden und sich dieser finanziell nicht trägt.

3. jUCÖT

Dominik Nerlich berichtet von der Arbeit der jUCÖT. So wurde beispielsweise das Junge Umweltchemie Forum (JUF) organisiert, das eigentlich im Vorfeld der Umwelt 2022 stattfinden sollte, jedoch leider aufgrund zu geringer Anmeldezahlen abgesagt werden musste. Dies liegt vermutlich daran, dass aufgrund der relativ kurzfristigen Organisation der Umwelt 2022 erst spät mit der Werbung begonnen werden konnte und der Anmeldezeitraum in den Semesterferien lag. Der Perspektiventag findet am 15. November 2022 bei der ibacon GmbH in Roßdorf statt.

In diesem Jahr finden noch die ersten offiziellen Vorstandswahlen des jUCÖT statt. Für das nächste Jahr werden wieder ein JUF und ein Perspektiventag geplant. Es wäre schön, wenn die Personen aus der FG, die in der Lehre tätig sind, gezielt auf den wissenschaftlichen Nachwuchs zugehen würden, um Werbung für die Veranstaltungen zu machen.

4. Aus den Arbeitskreisen

In den Arbeitskreisen stehen in diesem Jahr die wegen Corona verschobenen Vorstandswahlen an, die auf den kommenden Sitzungen durchgeführt werden sollen. Der FG-Vorstand dankt allen derzeitigen Vorsitzenden dafür, dass sie die Arbeitskreise während der Pandemie weitergeführt haben.

Der **AK Atmosphärenchemie** tagt zusammen mit dem Arbeitsausschuss Feinstäube (AAF, von GDCh, DECHEMA und KRdL) und dem Gemeinschaftsausschuss Chemie, Luftqualität, Klima (CLK, von GDCh, DECHEMA und DBG). In diesem Jahr gab bzw. gibt es gemeinsame Sitzungen zu den Themen „Effekte des Corona-Lockdowns auf Spurengase“, „Ausbreitungsmechanismen von Viren: Bedeutung des Aerosolpfads“ und „Diskussion der neuen WHO Air Quality Guideline von 2021“. Der AK bearbeitet derzeit eine Revision der Stellungnahmen der Ausschüsse zu Feinstaub und Luftqualität.

Der **AK Boden** hatte im August seine erste Sitzung nach der Corona-Pandemie. Der Workshop zu PAK, der ursprünglich für 2020 geplant war, soll nun in 2023 stattfinden. Des Weiteren werden aktuelle Diskussionen zur neuen BBodSchV aufgegriffen (z.B. Messunsicherheit, Probenahme, Resorptionsverfügbarkeit).

Der **AK Chemikalienbewertung** hat sich in der vergangenen Zeit virtuell getroffen; eine erste geplante Präsenzveranstaltung im Juni wurde aufgrund der Ferienzeit auf den Oktober verschoben. Bei der ersten Sitzung des Jahres wurden Ergebnisse aus dem Projekt „Reviewing OECD Test Guidelines“ und der Prozess zur Aktualisierung der OECD Test Guidelines vorgestellt. Der AK erstellt von jeder Sitzung ein kurzes Spotlight für die Mitteilungen und die Homepage. Es ist

geplant, den ursprünglich für 2020 vorgesehenen gemeinsamen AK-Workshop durchzuführen.

Der **AK Umweltmonitoring** hat sich während der Pandemie häufig virtuell getroffen. Diese Treffen wurden sehr gut angenommen. Auf den Treffen gab es Beiträge von mehreren Vortragenden zu einem Schwerpunktthema, beispielsweise Monitoring von Pflanzenschutzmitteln oder Umweltmonitoring mit Schwebstoffen. Der AK hat auf der Jahrestagung Umwelt 2022 eine Session zum Moosmonitoring organisiert, zudem wurden die AK-Mitglieder erfolgreich dazu aufgerufen, Beiträge zu Umweltmonitoring-Themen einzureichen und sich als Session-Chairs zu beteiligen. Winfried Schröder hat Beitragsserien in "Environmental Monitoring" (ESEU, Springer) und "Umweltmonitoring" (Handbuch Umweltwissenschaften, Wiley) initiiert.

5. Mitteilungen

Klaus Fischer berichtet von den Mitteilungen. Die Zahl der Originalbeiträge ist auf einem konstanten Level, die Eigeninitiative aus der FG ist leider relativ gering. Auf der Umwelt 2022 werden die Mitteilungen als mögliche Alternative zur Publikation der Tagungsbeiträge beworben. Herr Fischer würde sich über Anregungen der studentischen und Jungmitglieder freuen, wie die Mitteilungen noch besser genutzt werden können. Bei Google werden Beiträge aus den Mitteilungen bei den Suchergebnissen oft relativ weit oben angezeigt. Stefan Hahn wirbt dafür, dass Themen für Editorials gerne auch aus der Fachgruppe beigetragen werden können.

6. Veranstaltungen

Die ICCE 2023 findet vom 11.-16. Juni 2023 in Venedig statt. Das GDCh-Wissenschaftsforum findet vom 4.-6. September 2023 in Leipzig statt, die Umwelt 2023 voraussichtlich in der darauffolgenden Woche in Muttenz in der Schweiz. Die jUCÖT planen ein weiteres JUF und den Perspektiventag. Der AK Boden plant den PAK-Workshop.

7. Verschiedenes

Adolf Eisenträger wirbt für eine engagierte Weiterentwicklung des PGS.

Protokollführung: Stefanie Wieck

Bericht aus dem Fachgruppenvorstand

Am 05. September 2022 kam der Fachgruppen-Vorstand zur Hybridsitzung (online und vor Ort in Emden) mit den Arbeitskreisleitern von den AKs Atmosphäre und Umweltmonitoring zusammen. Die Arbeit in den AKs wurde von den jeweiligen Leitern oder kommissarisch von Stefan Hahn vorgestellt. Da in den kommenden Monaten die Wahlen der AK-Leiter anstehen, wurde um Unterstützung seitens der Fachgruppe bei der Vorstellung der Kandidaten gebeten, z.B. Versand der Lebensläufe per e-mail an die AK Mitglieder, etc. Die Fachgruppe sagte ihre Unterstützung zu. Die jUCÖT Vertreterin stellte den kommenden Perspektiventag am 15. November bei Ibacon vor.

Bericht von der Sitzung des FG-Arbeitskreises „Chemikalienbewertung“ am 13. Oktober 2022

Der Arbeitskreis Chemikalienbewertung traf sich am 13.10.22 in der GDCh Geschäftsstelle in Frankfurt zu einer Sitzung zum Thema „Zuckerersatzstoffe in der Umwelt“.

Zunächst präsentierte Thomas Braunbeck, Aquatische Ökologie und Toxikologie, Universität Heidelberg, das „Wasser-Netzwerk in Baden-Württemberg“, um dann die Ressource Wasser im Fokus zahlreicher Herausforderungen zu diskutieren. Trotz reduzierter Toxizität von Abwassereinleitungen in den letzten Jahrzehnten wird das Ziel des guten ökologischen Zustands der Fließgewässer in Deutschland bis 2027 deutlich verfehlt. Neben prioritär gefährlichen Stoffen trägt auch ein Cocktail von Arzneimitteln und Nahrungsmittelzusatzstoffen zu Problemen in der aquatischen Umwelt bei. Wesentlicher Indikator für schädliche Substanzen in der Umwelt ist dabei die Biodiversität, für die weniger die absolute Artenzahl als vielmehr die relativen Anteile von Arten mit bestimmten Funktionen im Ökosystem relevant sind.

Zunehmender Verbrauch von natürlichen und künstlichen Süßstoffen führt zu steigenden Konzentrationen in Kläranlagen und Flüssen. Einige Zuckerersatzstoffe können auch in Multi-barrieren-Trinkwasseraufbereitungsanlagen nur unzureichend eliminiert werden und zeigen sich als Abwasserindikator in Uferfiltraten und Grundwasserleitern. Die geringen Effekte von Zuckerersatzstoffen in klassischen ökotoxikologischen Tests wurden Befunden aus nicht-klassischen Testsystemen gegenübergestellt. So wurden subletale Effekte auch bei sehr niedrigen, z.T. umweltrelevanten Konzentrationen beschrieben, z.B. auf das Verhalten von adulten Fischen, die mit Veränderungen in Neurotransmittern im Gehirn einhergehen. Für Sucralose wurden subletale Effekte mit Missbildungen bei Embryonen des Zebrafischblings, oxidativer Stress, Gentoxizität und Apoptose berichtet.

Aus der Diskrepanz der Wirkungen in klassischen und nicht-klassischen ökotoxikologischen Tests ergab sich eine Diskus-

sion, inwieweit die bisherigen Teststrategien hinsichtlich subletaler Effekte erweitert und Kombinationswirkungen von Kontaminanten berücksichtigt werden können.

Anschließend stellte Nikola Bitsch ihre Abschlussarbeit im Rahmen des Postgradualstudienganges „Fachökotoxikologie“ zur „Entwicklung einer Umwelt-Risiko-Bewertung für Lebensmittelzusatzstoffe am Beispiel von Acesulfam K“ vor. Lebensmittelzusatzstoffe werden von der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) einer Sicherheitsbewertung unterzogen, um in die Positivliste aufgenommen zu werden. Dabei werden jedoch nur die Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit bewertet. Trotz chronischer Umweltexposition in nicht unerheblichen Mengen, ist für Lebensmittelzusatzstoffe momentan keine Umwelt-Risikobewertung erforderlich.

Ausgehend von Modellen, die bereits für andere Vollzüge verwendet werden, wurden geeignete Bausteine für die Umwelt-risikobewertung ausgewählt bzw. angepasst. Der künstliche Süßstoff Acesulfam K wurde für die Validierung des Modells ausgewählt, da in den vergangenen Jahren Bedenken hinsichtlich seiner Persistenz in der Umwelt und einer daraus resultierenden potenziellen Umweltgefährdung aufkamen. Gleichzeitig liegt für diesen Stoff ein umfassender Datensatz zur Ökotoxikologie und zum Umweltverhalten vor. Ein Vergleich der mit dem Modell abgeleiteten Umweltexposition mit gemessenen und in der Literatur angegebenen Umweltkonzentrationen von Acesulfam K zeigt, dass die modellierten Werte zumindest im gleichen Größenbereich sind. Im Gegensatz dazu liegen mit EUSES modellierte Expositionswerte deutlich unter den in der Umwelt gemessenen Konzentrationen. Die Risikocharakterisierung zeigt, dass selbst für eine hochpersistente Substanz wie Acesulfam K ein geringes Risiko für die Umwelt besteht. Aufgrund der geringen Lipophilie (log Kow: -2.35 (gemessen)) ist Bioakkumulation („B“) nicht zu erwarten. Higher-Tier-Tests für Wasser/Sediment und Boden sind nicht erforderlich.

Die nächste Sitzung des Arbeitskreises Chemikalienbewertung soll im Frühjahr 2023 stattfinden. Für die Zukunft sind 2 – 3 Sitzungen pro Jahr vorgesehen, von denen mindestens eine in Präsenz stattfinden soll. Fokussierte thematische Treffen sollen online angeboten werden. Zusätzlich sind zukünftig hybride Treffen aus den Sitzungsräumen der GDCh möglich. Interessenten und Gäste sind herzlich willkommen.

Während der Sitzung des Arbeitskreises Chemikalienbewertung am 13.10.22 in Frankfurt fanden die Wahlen des AK-Vorstandes statt. Die beiden Kandidaten, Dr. Marion Letzel, Bayerisches Landesamt für Umwelt, Augsburg, und Dr. Kevin Klipsch, EBRC Consulting GmbH, Hannover, wurden einstimmig von allen aktiv teilnehmenden Mitgliedern des Arbeitskreises Chemikalienbewertung gewählt. Beide nahmen die Wahl an.

Verleihung des Paul-Crutzen-Preises 2022

Der Preis wurde anlässlich der Fachgruppen-Jahrestagung „Umwelt 2022“ an Dr. Steffen Breinlinger und Dr. Jennifer Susanne Strehse verliehen. Die Preisverleihung wurde mit folgenden Laudationes begründet:



Dr. Steffen Breinlinger

Der Preis wird Herrn Dr. Dipl.-Pharm. Steffen Breinlinger verliehen in Würdigung der im Rahmen seiner Dissertation an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen und der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg angefertigten Publikation mit dem Titel:

“Hunting the eagle killer: A cyanobacterial neurotoxin causes vacuolar myelinopathy”, *Science* 2021, 371, 1335-1343

Mit dieser Arbeit gelang es Dr. Breinlinger, ein neues cyanobakterielles Toxin als „Gift des Adlermörders“ – so der Name des Toxins, Aetokthonotoxin – zu identifizieren, das von einem auf der invasiven Wasserpflanze *Hydrilla verticillata* wachsenden Cyanobakterium produziert wird. Dr. Breinlinger konnte zeigen, dass die Toxin-Produktion von der Verfügbarkeit von Bromid abhängt, das von der Wirtspflanze angereichert wird. Diese Arbeit wird mit dem Paul-Crutzen-Preis geehrt, weil Dr. Breinlinger auf beeindruckende Art und Weise die Identifizierung des Toxins durch die Kombination einer Vielzahl von Methoden und Techniken wie HPLC-HRMS, präparativen Trenntechniken, Strukturaufklärung, bildgebende Massenspektrometrie, Kultivierungsexperimenten mit Cyanobakterien sowie Entwicklung und Einsatz eines *C. elegans*-Assays erreichte. Damit trug er zur Lösung eines jahrzehntealten Rätsels und zum besseren Verständnis komplexer ökotoxikologischer Probleme bei.



Preisverleihung an Frau Dr. Strehse (Mitte) durch Herrn Dr. Hahn (FG-Vorsitzender) und Frau Dr. Wieck, stellvertretende FG-Vorsitzende

Der Preis wird Frau Dr. Jennifer Susanne Strehse verliehen in Würdigung der im Rahmen ihrer Arbeiten an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel angefertigten Publikation mit dem Titel:

“The explosive trinitrotoluene (TNT) induces gene expression of carbonyl reductase in the blue mussel (*Mytilus* spp.) – A new promising biomarker for sea-dumped World War relicts?”, *Archives of Toxicology* 2020, 94, 4043-4054

Die Freisetzung von Chemikalien aus alter Munition in Nord- und Ostsee sorgt für wachsende Besorgnis in der Fachwelt. Trinitrotoluol, besser bekannt unter seiner Abkürzung TNT, gilt dabei besondere Aufmerksamkeit. Für das Risikomanagement sprengstofftypischer Verbindungen werden geeignete Nachweismethoden benötigt. Frau Dr. Strehse entwickelte in ihrer ausgezeichneten Arbeit einen spezifischen molekularen Biomarker in Miesmuscheln, mit dem eine Exposition der Filtrierer gegenüber TNT nachgewiesen werden kann. Diese Arbeit wird mit dem Paul-Crutzen-Preis geehrt, weil Frau Dr. Strehse auf beeindruckende Weise interdisziplinäre Erkenntnisse aus den Bereichen Umweltmonitoring, Ökotoxikologie, Analytik, Genetik und Bioinformatik verknüpfte und die Ergebnisse aus intensiver Laborarbeit und Freilandexperimenten kombinierte. Das Resultat ist ein relevanter Baustein zur Beobachtung und zum Management von Munition im Meer, der dazu beiträgt, das Risiko von Schäden an Umwelt oder menschlichen Gesundheit zu mindern – ein Problem, das uns weltweit noch lange beschäftigen wird.

Tagungen

„Wasser 2023“ - Jahrestagung der Wasserchemischen Gesellschaft vom 15. bis 17. Mai 2023 in Augsburg



© Regio Augsburg Tourismus GmbH

Die "Wasser 2023" ist die zentrale Konferenz zu allen Themen der Wasserqualität mit neuesten Ergebnissen. Nach drei Jahren der Abstinenz, in denen der persönliche Austausch nicht möglich war, wird die Jahrestagung der Wasserchemischen Gesellschaft im Mai 2023 definitiv als Präsenzveranstaltung in der Wasserstadt Augsburg stattfinden.

Ziel der Tagung

Die WASSER 2023 ist die zentrale Konferenz zu allen Themen der Wasserqualität mit den neuesten Ergebnissen. Profis aus dem Bereich der Wasserchemie sowie Fachleute anderer Disziplinen des Wasserfachs, die Wasser zu ihrer Profession gemacht haben, treffen sich zu einem Erfahrungs- und Gedankenaustausch. Die persönliche Begegnung und die Diskussion aktueller fachlicher Entwicklungen stehen hier immer wieder im Vordergrund.

Themenschwerpunkte:

- Abwasserreinigung
- Analytik
- Digitalisierung Wasser 4.0
- Extremereignisse / Klimawandel
- Gewässer / Grundwasser / Sedimente
- Meereschemie
- Mikrobiologie und Hygiene
- Nanopartikel / Mikroplastik
- Ökotoxikologie
- Spurenstoffe
- Trinkwasseraufbereitung

Weitere Informationen: <https://www.wasserchemische-gesellschaft.de/de/wasser-2023/seiten/wasser-2023>

ICCE 2023: The 18th EuChemS International Conference on Chemistry and the Environment, 11-15 June 2023, Venice



Towards a pollution free society

The Environmental Chemistry Division of the Italian Chemical Society and the University Ca' Foscari of Venice will organize the 18th ICCE Conference 2023 in Venice (Italy), a biennial conference under the auspice of the Division of Chemistry and the Environment (DCE) of the European Chemical Society (EuChemS).

ICCE 2023 will address scientists in academia, industry, consultancies, and in governmental institutions alike, providing a unique and inspiring information and communication platform for environmental scientists and a forum of professional exchange with collaborators and colleagues.

Conference topics will include analysis and modelling of environmental contaminants, impacts of climate change on local to global circulation of chemicals, nano-size particulate materials and microplastics in the environment, atmospheric pollution, environmental risk and impact assessment, role of chemistry in the circular economy, emerging contaminants, water pollution, innovations in water and wastewater treatment, biotransformation of organic pollutants, green chemistry, ecotoxicology, LCA, environmental sustainability, environmental impacts on cultural heritage, university education in environmental chemistry, and many other important topics.

Further information: <https://icce2023.com/>

Kurznachrichten

Chemical Science Article: Chemistry Must Respond to the Crisis of Transgression of Planetary Boundaries

Abstract. Recent assessments alarmingly indicate that many of the world's leading chemicals are transgressing one or more of the nine planetary boundaries, which define safe operating spaces within which humanity can continue to develop and thrive for generations to come. The unfolding crisis cannot be ignored and there is a once-in-a-century opportunity for chemistry – the science of transformation of matter – to make a critical difference to the future of people and planet. How can chemists contribute to meeting these challenges and restore stability and strengthen resilience to the planetary system that humanity needs for its survival? To respond to the wake-up call, three crucial steps are outlined: (1) urgently working to understand the nature of the looming threats, from a chemistry perspective; (2) harnessing the ingenuity and innovation that are central to the practice of chemistry to develop sustainable solutions; and (3) transforming chemistry itself, in education, research and industry, to re-position it as 'chemistry for sustainability' and lead the stewardship of the world's chemical resources. This will require conservation of material stocks in forms that remain available for use, through attention to circularity, as well as strengthening engagement in systems-based approaches to designing chemistry research and processes informed by convergent working with many other disciplines.

Stephen A. Matlin et al., Chem. Sci., 2022, 13, 11710 (Open Access):
<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2022/SC/D2SC03603G>

Rat der EU verabschiedet förmlich weitere Beschränkungen für „ewige Chemikalien“ in Abfällen

Der Rat hat am 24.10.2022 förmlich eine Verordnung zur Senkung der Grenzwerte für den Gehalt an persistenten organischen Schadstoffen in Abfällen angenommen. [...]. Die Verordnung wurde angenommen, nachdem am 21. Juni 2022 mit dem Europäischen Parlament eine vorläufige politische Einigung erzielt worden war.

Hintergrund und weiteres Vorgehen

Die Verordnung zielt darauf ab, die EU-Rechtsvorschriften mit den internationalen Verpflichtungen der EU in Einklang zu bringen, insbesondere mit jenen im Rahmen des Stockholmer Übereinkommens über persistente organische Schadstoffe

(POP). Die neuen Beschränkungen entsprechen den Zielen des europäischen Grünen Deals, schadstofffreie Materialkreisläufe zu erreichen, und dem neuen Aktionsplan für die Kreislaufwirtschaft. Dazu werden im Rahmen der neuen Vorschriften einige Stoffe in Anhang IV der POP-Verordnung (Verordnung (EU) 2019/1021 über persistente organische Schadstoffe) aufgenommen und die Konzentrationsgrenzwerte für einige Stoffe in den Anhängen IV und V dieser Verordnung aktualisiert.

Der Vorschlag betrifft hauptsächlich die folgenden Stoffe:

Perfluorooctansäure (PFOA) und ihre Salze sowie verwandte Verbindungen – Stoffe, die in wasserdichten Textilien und Feuerlöschschaum vorkommen

Polybromierte Diphenylether (PBDE) – Flammschutzmittel, die in Kunststoffen und Textilien vorkommen, die in elektrischen und elektronischen Geräten, Fahrzeugen und Möbeln verwendet werden

Hexabromcyclododecan (HBCDD) – Flammschutzmittel, das in einigen Kunststoff- und Textilabfällen vorkommt, insbesondere in Polystyrol-Dämmung aus dem Abbruch von Gebäuden

Kurzkettige Chlorparaffine (SCCP) – Flammschutzmittel, die in einigen Gummi- und Kunststoffabfällen vorkommen, wie Gummiförderbänder, Schläuche, Kabel und Dichtungen

Polychlorierte Dibenzo-p-dioxine und Dibenzofurane (PCDD/F) – Stoffe, die nicht absichtlich erzeugt oder Materialien zugesetzt werden, die aber als Verunreinigungen in bestimmten Aschen und anderen Industrieabfällen vorkommen

Dioxinähnliche PCB – diese PCB, die Dioxinen ähnlich sind, können als Verunreinigungen in bestimmten Aschen und Industrieölen vorkommen. Grenzwerte für diese spezifischen PCB werden zusammen mit denen für Dioxine vorgeschlagen

Perfluorhexansulfonsäure (PFHxS) und ihre Salze sowie verwandte Verbindungen – diese Stoffe kommen in wasserdichten Textilien, antihafbeschichtetem Kochgeschirr und Feuerlöschschaum vor. Die beiden gesetzgebenden Organe kamen überein, diesen Stoff in die Verordnung aufzunehmen, nachdem die Konferenz der Vertragsparteien des Stockholmer Übereinkommens im Juni 2021 beschlossen hatte, seine Herstellung und Verwendung einzuschränken.

Die Verordnung tritt am zwanzigsten Tag nach ihrer Veröffentlichung im Amtsblatt der Europäischen Union in Kraft. Die Verordnung kommt sechs Monate nach ihrer Veröffentlichung im Amtsblatt der Europäischen Union zur Anwendung.

EU-Pressemitteilung (gekürzt) vom 24. Oktober 2022 10:30h
Weitere Informationen:

<https://www.consilium.europa.eu/de/press/press-releases/2022/10/24/council-formally-adopts-further-restrictions-to-forever-chemicals-in-waste/>

Kalifornien verklagt PFAS-Hersteller 3M und DuPont

PFAS-Fabrikanten sollen für die Entfernung «ewiger Chemikalien» bezahlen. Es könnte die teuerste Klageserie der USA werden.

Es ist nicht die erste Klage, aber die bisher umfangreichste: Kalifornien klagt gegen 18 Hersteller von per- und polyfluorierten Alkylsubstanzen (PFAS), darunter die Konzerne 3M und DuPont. Der US-Bundesstaat macht geltend, dass die 18 beklagten PFAS-Fabrikanten jahrzehntelang von der Gefährlichkeit der «ewigen Chemikalien» wussten, ohne etwas dagegen zu unternehmen. Nun sollen sie für die Entfernung der Giftstoffe aus Wasser und Boden bezahlen.

Bisher grösste PFAS-Klage eines Bundesstaats

Die am 10. November eingereichte Klage Kaliforniens ist der bisher umfangreichste Anspruch, der durch einen US-Gliedstaat eingereicht wurde. Zuvor hatten bereits North Carolina, New Jersey und New York Klage gegen grosse Konzerne wie DuPont, Chemours und 3M eingereicht. Hersteller wie 3M und DuPont sehen sich zudem mehr als 2000 Klagen von Wasserversorgern, Feuerwehren und anderen Organisationen gegenüber. Kalifornien sieht sich besonders betroffen. «Nirgendwo in diesem Land gibt es einen Fall dieses Ausmasses, dieser Grösse und mit diesen Auswirkungen», zitiert das «Wall Street Journal» den kalifornischen Generalstaatsanwalt Rob Bonta. Es geht um hunderte Millionen Dollar. «PFAS sind in Kalifornien so allgegenwärtig wie schädlich», so Bonta in einer Pressemitteilung. «Nach einer jahrzehntelangen Täuschungskampagne befinden sich PFAS in unseren Gewässern, unserer Kleidung, unseren Häusern und sogar in unseren Körpern.» Der Schaden, den 3M, DuPont und andere Hersteller von PFAS angerichtet hätten, sei «geradezu atemberaubend». Ohne drastische Massnahmen werde Kalifornien für Generationen unter den giftigen Chemikalien leiden. Die Schädlichkeit von PFAS sei speziell 3M seit den 1950er-Jahren bekannt. Die Hersteller hätten dazu bis in jüngste Zeit gegen Verbraucherschutz- und Umweltgesetze verstossen. Das zeige eine gerade beendete Untersuchung.

Sanierung könnte die Hersteller hunderte Milliarden kosten

Als erster Bundesstaat erreichte Minnesota 2018 einen Vergleich in Höhe von 850 Millionen Dollar. Die gesamte Prozessserie könnte laut «Politico» zur teuersten juristischen Auseinandersetzung in der Geschichte der USA werden. Das Trinkwasser im ganzen Land von PFAS zu befreien koste nach ersten Schätzungen rund 400 Milliarden.

Nachricht (gekürzt) übernommen aus Infosperber, Daniela Gschweng / 23.11.2022

Vollständiger Text:

<https://www.infosperber.ch/wirtschaft/uebriges-wirtschaft/kalifornien-verklagt-pfas-hersteller-3m-und-dupont/>

Weitere Informationen:

- Attorney General Bonta Sues Manufacturers of Toxic Forever Chemicals: <https://oag.ca.gov/news/press-releases/attorney-general-bonta-sues-manufacturers-toxic-forever-chemicals>
- <https://www.politico.com/news/2022/09/13/the-battle-over-who-pays-to-clean-up-chemicals-00056136>



DVGW-Forschungsvorhaben: DVGW Entwicklung eines Verfahrens für die diskriminierungsarme Anreicherung zur effektdirigierten Analytik von Wasserproben (Akronym: DA-EDA)

Vorhabenbeschreibung: Die bisherige Bewertung von Oberflächen- und Trinkwasser basiert auf der Bestimmung von Einzelstoffen. Für neu vorkommende Stoffe erfolgt eine Bewertung der Einzelstoffe und Ableitung eines gesundheitlichen Orientierungswertes auf Basis effektbasierter Methoden (EBM). Ein grosser Nachteil von vielen EBM ist ihre zu geringe Sensitivität. Vor diesem Hintergrund ist eine Festphasenextraktion (SPE) möglichst aller in der Wasserprobe enthaltenen organischen Spurenstoffe notwendig. Dies erfolgt für die Einzelstoffanalytik als auch die EBM mit sehr unterschiedlichen, spezifischen Anreicherungsverfahren.

Das Forschungsziel ist die Entwicklung eines speziell an die Methoden der wirkungsbezogenen Analytik angepassten diskriminierungsarmen Anreicherungsverfahrens für Roh- und Trinkwasser. Es wird eine Sorbentienkombination entwickelt, welche in verschiedenen Kartuschenformaten als Multi-Layer-SPE im Labor als auch für eine vor-Ort Anreicherung eingesetzt werden kann. Dies schafft die notwendige Grundlage für eine ausreichend sensitive Bestimmung der toxischen Wirkung einer Gesamtwasserprobe und ermöglicht eine sichere Aussage zur Unbedenklichkeit für Mensch und Umwelt. Es wird ein Verfahren entwickelt, um ein breites Stoffspektrum möglichst diskriminierungsfrei für unterschiedliche Endpunkte als auch die instrumentelle Einzelstoffanalytik anreichern zu können.

Aus dem Forschungsvorhaben werden Empfehlungen für die Normung dieses Verfahrens erarbeitet. Ein einzelnes standardisiertes Verfahren führt zu einer erheblichen Zeit- und Ressourceneinsparung, da künftig nicht für jeden untersuchten Endpunkt eigene Anreicherungsverfahren durchgeführt werden müssen. Die grosse Relevanz dieses Projektes für KMU wird insbesondere in der Betrachtung der Marktsituation für Hersteller von Anreicherungsmaterialien und Vertreiber von automatisierten Analysesystemen deutlich. Die Anwendung

soll in Laboratorien der Lebensmittel-, Pharma-, Umwelt- und Wasseranalytik erfolgen.

AiF-Vorhaben-Nr.: 21954 N, Laufzeit: 01.02.2022 - 30.04.2024

DVGW - Deutscher Verein des Gas- und Wasserfaches e.V., IWW Rheinisch-Westfälisches Institut für Wasserforschung gemeinnützige GmbH, Institut für Energie- und Umwelttechnik e.V.



Neue EU-Richtlinien für das Sedimentmanagement

Die Europäische Wasserrahmenrichtlinie (WRRL) ist im Jahr 2000 in Kraft getreten. Obwohl die WRRL Sedimente erwähnt, geht sie nicht speziell auf deren Management ein. Die Ziele der WRRL – ein guter Zustand von Grundwasser und Oberflächengewässern – lassen sich jedoch nur dann erreichen, wenn auch Sedimente berücksichtigt werden. Um dies zu fördern, wurde im Jahr 2002 das europäische Sedimentnetzwerk SedNet gegründet. Die Expertinnen und Experten von SedNet haben jetzt entscheidend zu Richtlinien für das Sedimentmanagement im Rahmen der WRRL beigetragen. Diese Richtlinien wurden durch die Arbeitsgruppe ECOSTAT der Gemeinsamen Umsetzungsstrategie der WRRL erarbeitet, die die Umsetzung der WRRL im Hinblick auf den ökologischen Zustand unterstützt

Entwicklung und Umsetzung eines integrierten Sedimentmanagementplans

Zunächst sollten die Verantwortlichen die Gesamtziele zur Sedimentmenge und -qualität auf Ebene des Flusseinzugsgebiets definieren. Um zu den Zielen für einzelne Gewässerabschnitte zu gelangen, wird ein Skalierungsansatz eingesetzt, der die Abhängigkeit des kleineren Massstabs vom grösseren beschreibt. Als Grundlage dafür sind eine genaue Charakterisierung und Analyse des Systems notwendig. Die Ziele und Massnahmen sollten auf einem guten Verständnis der Prozesse im Einzugsgebiet sowie auf einer Analyse der Probleme und der Ursache-Wirkungs-Beziehungen beruhen. Die Massnahmen, die für das Sedimentmanagement festgelegt werden, müssen mit den Zielen für das Einzugsgebiet und für jeden einzelnen Wasserkörper übereinstimmen. Bei der Planung und der Auswahl von Massnahmen sollten die Probleme wenn möglich an der Quelle bekämpft werden, um aufwändige Sanierungen zu vermeiden. Die Planung für ein integriertes Sedimentmanagement kann nur dann erfolgreich sein, wenn dieses gut umgesetzt, überwacht und bewertet wird. Daher ist es wichtig, ausreichend personelle und finanzielle Ressourcen bereitzustellen.

Nachricht (gekürzt) des Ökotoxzentrums Schweiz

(<https://www.oekotoxzentrum.ch/news-publikationen/news/neue-eu-richtlinien-fuer-das-sedimentmanagement/>)

EU-Richtlinie:

https://environment.ec.europa.eu/system/files/2022-09/CISdocumentsedimentfinalTO_BE_PUBLISHED_1430554724.pdf



IUTA-Forschungsprojekt: Entwicklung eines Verfahrens zur rezeptorspezifischen Anreicherung von Hormonen und endokrinen Disruptoren

Vorhabenbeschreibung: Durch die Verwendung einer Vielzahl an Chemikalien und der Einleitung von Abwasser in Oberflächengewässer werden die Ökosystemfunktionen, wie die Selbstreinigungskraft von Gewässern, die dort vorkommenden Organismen bzw. ganze Populationen negativ beeinträchtigt. Um die Gesamtheit dieser Beeinträchtigungen erfassen zu können, hat sich die wirkungsbezogene Analytik etabliert. In der wirkungsbezogenen Analytik werden modifizierte Zellsysteme oder Biosensoren genutzt, um biologische (Aus-) Wirkungen und Effekte einer Probe zu beschreiben.

In diesem Forschungsvorhaben soll ein Passivsammler durch die Immobilisierung eines Rezeptors auf einem Trägermaterial entwickelt werden, der eine selektive Anreicherung aller Substanzen aus Gewässern, die an der rezeptorspezifischen Wirkung beteiligt sind, erlaubt. Durch diese Art des Passivsammlers sollen weitere Anreicherungs- und Aufreinigungsverfahren im Labor entfallen. Die wirkungsbezogene Analytik wird dadurch wesentlich vereinfacht und kostengünstig darstellbar.

Eine zuverlässige Analytik der Wirkung in Abwässern ist für die Auslegung, Planung und Kontrolle von Abwasserreinigungs- und Trinkwasseraufbereitungsanlagen notwendig, so dass neben verschiedenen Laboratorien und Behörden auch Anlagenbauer und -zulieferer direkten Nutzen aus den Ergebnissen des Vorhabens ziehen. Die Entwicklung eines Passivsammlers ist insbesondere für KMU aus dem Bereich der Analytik und Analysentechnik ein wichtiges Geschäftsfeld, sodass bestehende Geschäftsfelder deutlich erweitert werden können.

AiF-Vorhaben-Nr.: 22369 N, Laufzeit: 01.04.2022 - 31.03.2024, Institut für Energie- und Umwelttechnik e.V., www.iuta.de

Kunststoffe in der Umwelt – Zusammenfassende Informationen vom Schweizer Bundesamt für Umwelt (BaFu)

Auf der Homepage des BaFu (s.u.) finden sich umfangreiche Informationen sowie Links zu Forschungsberichten und Faktendatenblättern u.a. zu folgenden Themen:

- Kunststoff - Vielseitiger Werkstoff und damit verbundene Umweltbelastung
- Makro- und Mikroplastik
- Wie Kunststoffe in die Umwelt gelangen
- Forschungsbedarf über Kunststoffe in der Umwelt
- Aktueller Wissensstand für die Öffentlichkeit zusammengefasst
- Kunststoffeinträge in die Umwelt so weit wie möglich reduzieren
- Engagement auf internationaler Ebene
- Mit Blick nach Europa: EU-Kunststoffstrategie

(<https://www.bafu.admin.ch/bafu/de/home/themen/abfall/fachinformationen/abfallpolitik-und-massnahmen/kunststoffe-in-umwelt.html>)



EU-Horizon-Projekt MINAGRIS

Mikro- und Nanoplastik in landwirtschaftlichen Böden: Quellen, Umweltverhalten und Auswirkungen auf das Ökosystem

Zusammenfassung. Die Verwendung von Kunststoffen in der Landwirtschaft kann aufgrund der dadurch höheren Anreicherung von Mikro- und Nanoplastik im Boden schädliche Auswirkungen auf verschiedenste Bereiche des Ökosystems haben. In diesem Projekt wird die Verwendung von Kunststoffen in der Landwirtschaft, beispielsweise im Gemüseanbau und nach langjähriger Kompostanwendung, näher untersucht. Das Ziel dieses Projekts ist es, genauere Daten zum Verschmutzungsgrad von landwirtschaftlichen Flächen mit Kunststoffen zu erlangen sowie die Verwendung von nachhaltigeren Kunststoffen in der Landwirtschaft in der Zukunft zu erleichtern.

Weitere Informationen:

<https://www.ages.at/forschung/projekte/minagris>
<https://minagris.eu/index.php>



Konferenz soll Abkommen gegen Plastikmüll aushandeln

In Uruguay verhandeln Vertreter von Regierungen und Organisationen von heute (28.11.2022) an erstmals über ein global verbindliches Abkommen gegen Plastikmüll.

Im Ferienort Punta del Este findet bis Freitag (2.12.2022) die erste Verhandlungsrunde der von der UNO organisierten Konferenz statt. Ziel ist ein Vertrag zur Eindämmung der Verschmutzung durch Einweg- und Mikroplastik. Laut den Vereinten Nationen nimmt die Verschmutzung durch Kunststoff rapide zu. Ohne die notwendigen Maßnahmen könnte demnach die Menge an Plastikabfällen, die in Meere und andere Gewässer gelangt, bis 2040 auf bis zu 37 Millionen Tonnen pro Jahr steigen. Das wäre im Vergleich zum Jahr 2016 mehr als eine Verdopplung.

(Deutschlandfunk-Nachricht:

<https://www.deutschlandfunk.de/konferenz-soll-abkommen-gegen-plastikmuell-aushandeln-100.html>)

UNEP-Konferenzhomepage:

<https://www.unep.org/events/conference/inter-governmental-negotiating-committee-meeting-inc-1>



Neue Veröffentlichungen aus dem Umweltbundesamt

Press release (46/2022) from the Coordination Centre for Effects at the German Environment Agency: Ecosystems more sensitive to nitrogen pollution than previously assumed – UBA-Texte 110/2022

(25.10.2022) The report (Review and revision of empirical critical loads of nitrogen for Europe, UBA-Texte 110/2022) provides revised and updated empirical threshold values (critical loads) for harmful nitrogen inputs to natural ecosystems. It is based on an analysis of new scientific data from the past 10 years by a team of 45 leading European nitrogen and ecosystem experts. In 40% of the ecosystem types reviewed, critical loads of nutrient nitrogen had to be adjusted downwards (more sensitive), in considerably less ecosystem types the value was adjusted upwards.

Excess reactive nitrogen inputs disturb the nitrogen balance of ecosystems and endanger plant communities, soils, and biodiversity. Due to anthropogenic emissions, the current global biogeochemical flows of reactive nitrogen have been shifted far beyond the proposed planetary boundary, which is set to avoid the risk of generating irreversible changes to ecosystems and their biodiversity due to nitrogen pollution.

The revised nitrogen threshold values emphasize even more the need to reduce the amount of reactive nitrogen entering the environment. Nitrogen is primarily emitted from agriculture, i.e. from livestock manure and fertilized fields (primarily as ammonia), but also from combustion processes in vehicles and industry (as nitrogen oxides). Mitigation is most urgently needed where sensitive ecosystems are located within or around agricultural regions with intensive farming of livestock or close to high-traffic motorways or heavy industry. In the Netherlands, the country with the highest livestock density in Europe, the government recently announced plans to compensate farmers for reducing their number of livestock in order to lower nitrogen pollution, in response to a court decision. This may serve as an example for other countries with high livestock densities, such as parts of Belgium and Germany, which also need to increase their efforts to reduce nitrogen pollution to protect sensitive ecosystems.

Further information:

The report was published on 24 October 2022 by the Coordination Centre for Effects, which operates under the Geneva Air Convention and is hosted by the German Environment Agency.

About the CCE:

The CCE is an organizational entity under the CLRTAP, the Convention on Long-range Transboundary Air Pollution of the United Nations Economic Commission for Europe (UNECE). The CLRTAP was signed in 1979 and came into force in 1983. It was the first international legally binding instrument to deal with problems of air pollution at a broader scale. The goal of the convention is to control air pollution and its effects and to develop an extensive programme for the monitoring and evaluation of the long-range transport of air pollutants.

(<https://www.umweltbundesamt.de/presse/pressemitteilungen/ecosystems-more-sensitive-to-nitrogen-pollution>)

UBA-Texte 110/2022:

<https://www.umweltbundesamt.de/publikationen/review-revision-of-empirical-critical-loads-of>

Scientific Opinion Paper „Auf dem Weg zu einem nachhaltigen Pflanzenschutz“

Bewertung des Verordnungsentwurfs zur nachhaltigen Anwendung von Pflanzenschutzmitteln 2022/0196 (COD) mit Fokus auf den Umweltschutz

Im Verordnungsentwurf zur „Nachhaltigen Anwendung von Pflanzenschutzmitteln“ (SUR) konkretisiert die Europäische Kommission das 50 % Pestizidreduktionsziel der Farm-to-Fork-Strategy. Durch eine rechtsverbindliche Umsetzung des integrierten Pflanzenschutzes werden die Weichen für eine nachhaltige Landwirtschaft neu gestellt. Doch damit die Vorgaben auch in der Praxis wirken, zum Artenerhalt beitragen und resiliente Ökosysteme in Agrarlandschaften hervorbringen kann, braucht es noch weitere Voraussetzungen. Dieses Scientific

Opinion Paper erklärt aus der Umweltperspektive vier Verbesserungsvorschläge zur SUR, die dafür notwendig sind. Download:

<https://www.umweltbundesamt.de/publikationen/auf-dem-weg-zu-einem-nachhaltigen-pflanzenschutz>

UBA-Broschüre: Die Wasserrahmenrichtlinie - Gewässer in Deutschland 2021 - Fortschritte und Herausforderungen

Die Wasserrahmenrichtlinie (WRRL) fordert den umfassenden Schutz des oberirdischen und unterirdischen Wassers. Die zehn Flussgebietsgemeinschaften Deutschlands stellen dazu alle sechs Jahre Bewirtschaftungspläne und Maßnahmenprogramme auf. Das Umweltbundesamt und das Bundesumweltministerium haben diese Berichte für Deutschland ausgewertet und stellen die Ergebnisse in dieser gemeinsamen Broschüre vor. Sie erfahren wie wir Gewässer nutzen, welche Belastungen daraus resultieren und wie sie sich auf die Gewässer auswirken. Sie werden über den aktuellen Zustand der Gewässer informiert und welche Maßnahmen geplant sind, um den Zustand zu verbessern.

Download:

<https://www.umweltbundesamt.de/publikationen/die-wasserrahmenrichtlinie-gewaesser-in-deutschland>

UBA-Texte 105/2022: PROSOIL – Protection of soil organisms: Development of toxicity criteria for soil organisms in the framework of classification of substances and PBT assessment

The European CLP Regulation as well as the Globally Harmonized System (GHS) only provide criteria for aquatic toxicity with regard to environmental hazards. Legal requirements for the use of terrestrial toxicity data are missing, although data from substance regulations (pesticides, pharmaceuticals, biocides or REACH chemicals) are available. The goal was to develop data-based proposals for possible criteria for soil organisms. In the project, available toxicity data for soil organisms were compiled and analyzed in a comprehensive database. Based on the toxicity distributions for different organisms, sensitive toxicity ranges for organism groups were identified using various statistical methods and possible criteria and categories were defined. Substances falling into the defined categories were identified and compared to existing aquatic classifications to highlight potential consequences and benefits. The findings and analyses provide an important contribution to support current processes to develop toxicity criteria for the terrestrial environmental compartment and implement them in regulations and guidance documents.

Download:

<https://www.umweltbundesamt.de/publikationen/prosoil-protection-of-soil-organisms-development-of>

UBA-Texte 95/2022: Steroid hormones in the aquatic environment - Insights from new analytical methods for corticosteroids and progestogens

Endocrine active substances such as steroid hormones gain increasing focus in environmental research as they cause endocrine disruption in aquatic organisms exposed to environmentally relevant concentrations. Data about occurrence and fate of steroid hormones are scarce. Based on the recently published method (FKZ 3715 67 413) the occurrence of 60 steroids in wastewater treatment plant effluents and surface waters were reported. To understand stability and degradation pathways, degradation studies were conducted that allowed comparability of transformation processes under standardised aerobic conditions. Several of the newly identified transformation products are persistent and some of them could be detected in wastewater treatment plant effluent and surface waters. Steroid hormones and their transformation products should be included more in future environmental measurements and studies.

Download:

<https://www.umweltbundesamt.de/publikationen/steroid-hormones-in-the-aquatic-environment>

UBA-Texte 94/2022: Trends of pharmaceutical residues in rivers, suspended particular matter and fish – New insights by new analytical methods for active substances, their metabolites and transformation products

Environmental research is detecting ever more pharmaceutical residues in the aquatic environment as analytical methods become increasingly sensitive. The physicochemical properties of some active substances suggest an accumulation in sediment, suspended matter and biota. Hence, these matrices could be interesting alternative matrices for monitoring of pharmaceutical residues in surface waters. Against this background, modern analytical detection methods for different matrices from water to sediment and suspended matter to biota (fish) were developed and published in 2019 (FKZ 3715 67 413). In the current project sampling concepts were combined with retrospective analyses. In this report, the results of the developed methods from investigations of water, sediment, suspended matter and biota samples from different locations and the German environmental specimen bank are presented in terms of occurrence and distribution.

Download:

<https://www.umweltbundesamt.de/publikationen/trends-of-pharmaceutical-residues-in-rivers>

UBA-Texte 93/2022: Minimierung der Verwendung von Biozidprodukten - Bewertung und Empfehlung von biozidfreien Alternativen

Nicht-chemische Methoden sind wichtige Werkzeuge zur gebotenen Reduzierung des Biozideinsatzes. Mit dem Projekt werden Maßnahmen zur Förderung von biozidfreien Alternativen beschrieben. Dazu gehören Konzepte für spezifische App-Entwicklungen, die Analyse bestehender Umweltlabel hinsichtlich ihrer Vergabekriterien mit Biozidbezug. Eine Fallstudie zeigt das große Potenzial von Nützlingen zur Minimierung des Biozideinsatzes im Vorratsschutz, im bekämpfenden Holzschutz, im Materialschutz in Museen, bei der Bekämpfung von Stallfliegen und dem Eichenprozessionsspinner auf. Mit einem EU-Workshop wurde ein Erfahrungsaustausch der zuständigen Behörden zu Informationsangeboten zu Bioziden und deren Alternativen gestartet.

Download:

<https://www.umweltbundesamt.de/publikationen/minimierung-der-verwendung-von-biozidprodukten>

Unsere neuen Mitglieder

Neuaufnahmen in die Fachgruppe Umweltchemie und Ökotoxikologie vom 23.08. bis 17.11.2022

Arnold, Lukas, FG-Eintritt: 30.09.2022

Baumann, Fabienne (B.Sc.), FG-Eintritt: 16.11.2022

Bölzle, Fabian, Marvin, FG-Eintritt: 09.11.2022

Castanon de Pascual Teresa, Cristina, FG-Eintritt: 04.10.2022

Chronakis, Michail Ioannis, FG-Eintritt: 15.09.2022

Dr. Elshorbany, Yasin, FG-Eintritt: 15.09.2022

Fröhlich, Laura, FG-Eintritt: 24.08.2022

Hufgard, Josefin (B.Sc.), FG-Eintritt: 17.10.2022

Ilogu, Denise, FG-Eintritt: 18.10.2022

Janssen, Elisabeth (PD Dr.habil.), FG-Eintritt: 23.09.2022

Krengel, Markus (Dipl. Chem.), FG-Eintritt: 13.09.2022

Ledwig, Simon (M.Sc.), FG-Eintritt: 18.10.2022

Neves, Nelson (B.Sc.), FG-Eintritt: 10.11.2022

Dr. Nowak, Nora, FG-Eintritt: 02.09.2022

Rappl, Christina, FG-Eintritt: 23.09.2022

Sberna, Lorena, FG-Eintritt: 10.11.2022

Schneider, Carl, FG-Eintritt: 18.10.2022

Solbach, Paul, FG-Eintritt: 18.10.2022

von der Au, Marcus, FG-Eintritt: 14.09.2022

Wagner, Kenneth (B.Sc.), FG-Eintritt: 25.08.2022

Wimmer, Benedikt (M.Sc.), FG-Eintritt: 01.11.2022

Geburtstage

Der Vorstand und die Redaktion der Mitteilungen unserer Fachgruppe Umweltchemie und Ökotoxikologie gratulieren unseren Jubilaren aufs herzlichste

Geburtstagsliste Januar bis März 2023

65 Jährige

Dr. Barbara Guhl, Geburtstag 18.01.1958

Dr. Ulrich Größmann, Geburtstag 22.01.1958

Prof. Dr. Michael Braungart, Geburtstag 07.02.1958

Dr. Heinz Rüdell, Geburtstag 05.03.1958

Prof. Dr. Bernd Rudolph, Geburtstag 18.03.1958

70 Jährige

Prof. Dr. Dr.med. Dieter Schrenk, Geburtstag 11.01.1953

Prof. Dr. Wilhelm Püttmann, Geburtstag 31.01.1953

Dr. Ralf Trapp, Geburtstag 26.02.1953

Dr. Elske Schopenhauer, Geburtstag 28.02.1953

Dr. Beatrice Schwarz-Schulz, Geburtstag 09.03.1953

Dr. Hermann Fischer, Geburtstag 16.03.1953

75 Jährige

Prof. Dr. Ulrich Ziegler, Geburtstag 02.02.1948

85 Jährige

Prof. Dr. Alfred Golloch, Geburtstag 29.01.1938

Prof. Dr. Horst Bruchertseifer, Geburtstag 17.02.1938