

5 Zusammenfassung

Sedimente stellen in allen Oberflächengewässern Senken für organisches Material dar. Gebundene Schadstoffe werden am Gewässerboden akkumuliert und bilden dadurch ein Gefährdungspotential insbesondere für Bodenlebewesen. Die an Schwebstoffe adsorbierten Schadstoffe erreichen in den Gewässern eine hohe Mobilität. Von Kleinstorganismen aufgenommen, kann über die Nahrungskette eine Akkumulation der Schadstoffe in jeder trophischen Stufe erfolgen. Die Gefährdung durch akkumulierte anthropogene Substanzen ist von vielen verschiedenen Faktoren abhängig, wobei die Bioverfügbarkeit der Stoffe für die einzelnen Organismen sicherlich eine wesentliche Rolle spielt. Die Zusammensetzung und Belastung von Gewässersedimenten ist vielfältig und komplex, da sich nicht nur anthropogene Stoffe ablagern sondern ebenso Produkte aus biogener Aktivität hohe Gehalte aufweisen.

Infolgedessen müssen analytische Methoden so konzipiert werden, daß organische Schadstoffe zunächst unter Ausnutzung von substanzspezifischen Verteilungsgleichgewichten angereichert werden. Daran müssen sich geeignete Aufreinigungs- und Fraktionierungsschritte anschließen, um eine weitgehende Abtrennung der interessierenden Xenobiotika von der Matrix und koeluvierenden Verbindungen zu erreichen. Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit durchgeführten analytischen Arbeiten der vorliegenden Studie gliedern sich folgendermaßen:

- (1) Methodische Arbeiten zur Erfassung eines möglichst vielfältigen Spektrums nicht-ionischer organischer Inhaltsstoffe in Sedimenten.
- (2) Quantitative Analysen von Zielverbindungen. Untersucht wurde Vorkommen und Verbleib der in Antifoulingfarbanstrichen verwendeten Biozide Irgarol 1051, TBT, TPT sowie der zinnorganischen Transformationsprodukte in Sedimenten ausgewählter Häfen der norddeutschen Ost- und Nordseeküste.
- (3) Mit Hilfe von GC-MS-Methoden wurde eine qualitative Bestandsaufnahme der organischen Inhaltsstoffe dreier Nordseesedimentproben vorgenommen. Ferner wurden diese Probenextrakte mit Hilfe unterschiedlich selektiver Detektionstechniken (ECD, AFID) untersucht, hierbei galt das Interesse vornehmlich stickstoff- und phosphorhaltigen Verbindungen.
- (4) Die erarbeitete Analysenmethode wurde mit biologisch-ökotoxikologischen Testverfahren kombiniert. Im Sinne einer Toxizitätsgeleiteten Analyse wurde eine Auswahl dreier mäßig belasteter Elbesedimente sowohl chemisch als auch bioanalytisch auf Schadstoffe, die eine akute aquatische Toxizität aufweisen, untersucht. Über spezifischere Biotests wurden die Probenextrakte auf Mutagenität und das Vorkommen endokrin wirksamer Substanzen hin überprüft.
- (5) Ein weiterer Teil der durchgeführten Arbeiten beschäftigte sich mit dem Vorkommen sowie der Anreicherung und Transformation synthetischer Moschusverbindungen in der Umwelt. Diese

Substanzklasse gelangt vornehmlich über die Kläranlagen in die Oberflächengewässer. Anhand einer Prozeßstudie innerhalb eines Schönungsteiches, welcher sich an eine kommunale Kläranlage anschließt, konnte das Schicksal der polycyclischen Moschusduftstoffe verfolgt und erweiterte Kenntnisse zu dieser Problematik unter Zuhilfenahme enantioselektiver Untersuchungsmethoden gewonnen werden.

- (6) Die Nitromoschus-Transformationsprodukte wurden für toxikologische Untersuchungen synthetisiert, wodurch ergänzende Daten für eine Riskoeinschätzung dieser Verbindungen im Hinblick auf eine potentielle Gefährdung von Mensch und Umwelt gewonnen werden konnten.

Anhand einer umfassenden qualitativen Bestandsaufnahme und sequentiellen Aufarbeitung einer Nordseesedimentprobe konnte belegt werden, daß die repräsentativ ausgewählten Zielverbindungen über die erarbeitete Methode vollständig erfaßt werden. Insgesamt wurde im entwicklungs-methodischen Abschnitt der vorliegenden Arbeit erkannt, daß für eine vollständige Erfassung sedimentgebundener Inhaltsstoffe eine sequentielle Extraktion über Lösungsmittel unterschiedlicher Polarität notwendig ist. Nach Vergleich verschiedener Extraktionsmittel erwies sich die Kombination Aceton und *n*-Hexan entsprechend den gestellten Anforderungen als am besten geeignet. Über verschiedene chromatographische Trennverfahren gelang es zum einen, makromolekulare Begleitstoffe von den sogenannten Analyten zu trennen, zum anderen erfolgte über eine semipräparative Kieselgelchromatographie eine Separation der Analyten in Substanzklassen mit steigender Polarität.

Für eine spezifische und sensitive Erfassung verschiedener Verbindungsgruppen wurden die Probenextrakte mit Hilfe unterschiedlicher Detektionstechniken vermessen. Die Nachweisempfindlichkeit der Methode ließ sich für chlororganische Substanzen bzw. Verbindungen mit elektronegativen Atomen durch den Einsatz eines ECD-Detektors deutlich erhöhen. Stickstoff- und phosphororganische Verbindungen wurden hingegen bei Verwendung des AFID-Detektors etwa 100 bis 1000mal empfindlicher als durch eine GC-MS-Analyse nachgewiesen, wodurch z.B. die Analyse des in Antifoulingfarbenstrichen enthaltenen Biozids Irgarol 1051 sehr erleichtert wurde. In die Hafengewässer werden hohe Gehalte des Biozids Irgarol 1051[®] über die Farbenstriche der Bootsrümpfe eingetragen. Irgarol stellt eine Alternative zu dem mittlerweile im Sportbootbereich (Bootslänge < 25 m) verbotenen zinnorganischen TBT dar. Ein Vergleich der vorgefundenen Irgarolkonzentrationen im Wasser mit Resultaten extern ermittelter toxikologischer Daten zeigte, daß in nahezu allen untersuchten Ostseehäfen die ermittelten Gehalte bereits Schädigungen aquatischer Pflanzen und Lebensgemeinschaften auszulösen vermögen. Die Belastungen sowohl im Wasser als auch im Sediment unterliegen saisonalen Schwankungen, den jahreszeitlich bedingten Einträgen durch die Spoorbootnutzung entsprechend. Mit einer Halbwertszeit von 201 Tagen in Seewasser gilt Irgarol im Gegensatz zu TBT oder auch TPT als weniger persistent, dennoch zeigen die zum Teil enormen Gehalte in Sedimenten, daß es ebenso zu einer Akkumulation kommt. Unter anaeroben Bedingungen ist zudem der Abbau nicht möglich. Parallel zur Untersuchung auf Irgarol wurden die Sedimente in der Sommerprobenahmeserie zusätzlich auf eine Belastung mit zinnorganischen Substanzen TBT, TPT sowie deren Transformationsprodukten vergleichend überprüft. Es konnte

hierfür festgestellt werden, daß auch 10 Jahre nach dem Bann der toxischen zinnorganischen Komponente für Farbanstriche von Sportbooten die TBT-Konzentrationen in den untersuchten Hafensedimenten kaum abgenommen haben. Immer noch liegen die Gehalte in Bereichen einiger 100 bis zu 17.000 ng/g TG. Berechnet man das Verhältnis im Vergleich zu Irgarol, wurden dementsprechend etwa 700mal höhere Gehalte an TBT im Sediment analysiert.

Neben der zielgerichteten Analyse von Hafensedimenten wurden auch nicht-zielgerichtete Untersuchungen von drei ausgewählten Nordseesedimenten mit Hilfe massenspektrometrischer Methoden durchgeführt. Über die großen Fließgewässer Elbe, Rhein, Weser und Ems gelangt immer noch der größte Teil organischer Kontaminanten oder allgemein Schadstofffrachten in die Nordsee. Deshalb wurden zwei Proben aus dem Bereich des Elbe-Ästuars gewählt sowie eine Probe, die im Einflußbereich des Rheins und der Weser lag. Die Proben waren durch hohe Konzentrationen an aliphatischen und aromatischen Kohlenwasserstoffen gekennzeichnet, wobei insbesondere sehr hohe Gehalte an alkylierten polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen detektiert wurden. Viele der identifizierten Sedimentinhaltsstoffe waren biogener Herkunft oder deren Transformationsprodukten zuzuordnen und spiegeln daher die natürliche Belastung und biologische Aktivität der Nordsee wider. Hierbei verdeutlichten hohe Gehalte an alkylierten Thiophenen, Thiazolen und stickstoffhaltigen Heterozyklen gleichermaßen auch den petrogenen Charakter der Sedimente. Besonders auffällig waren die hohen Gehalte an bromierten Verbindungen in der Nordseeprobe 3, die größten Signale in den polaren Fraktionen der GC-MS-Chromatogramme wurden durch Dibrom- und Bromindol erzeugt. Ferner wurde in allen Nordseesedimentproben Monobromphenol nachgewiesen. Häufig geht der Ursprung bromierter Verbindungen auf biogene Aktivität bzw. Rückstände zurück, so ist auch für das Auftreten der haloaromatischen Phenole anzunehmen, daß diese über eine Wurmspezies produziert und ins Sediment abgesondert werden. Neben den natürlicher Weise in Sedimenten vorkommenden Substanzen wurden auch anthropogene Komponenten erkannt. Identifiziert wurden u.a. unterschiedliche Isomere chlorierter Aniline und Nitroaromaten. Die am weitesten verbreiteten synthetischen Duftstoffe Tonalid[®] und Galaxolid[®] waren in zwei der drei Proben nachweisbar, ebenso eines der Transformationsprodukte, das HHCB-Lacton. In allen Sedimenten wurden die ubiquitär in Umweltproben meßbaren organischen Phosphorsäureester (TBP, TrBP, TCEP, TCPP) sowie verschiedene Phthalsäureester nachgewiesen. Ferner traten chlororganische Verbindungen in geringen Gehalten auf. Unterschiedlich stark chlorierte Biphenyle waren neben den Chlorbenzolen am höchsten konzentriert. Überdies wurden in einer Probe verschiedene HCH-Isomere sowie DDT, DDD, DDE, Dichlorbenzophenon und chlorierte PAH vorgefunden.

Insgesamt konnte aufgezeigt werden, daß sich die erarbeitete Analysemethode für eine breite nicht-zielgerichtete Erfassung organischer Inhaltsstoffe anwenden läßt. Während sich die herkömmlichen spezifischeren Analyseverfahren ausschließlich für die Erfassung einer Substanzklasse (z.B. chlororganische Pestizide, PAH) eignen und dadurch zumeist eine höhere Empfindlichkeit erreichen, konnte mit Hilfe von GC-MS-Methoden in den fraktionierten Extrakten unterschiedliche Verbindungsklassen parallel identifiziert werden. Es wurden überdies organische Verbindungen unterschiedlicher chemischer Struktur und Eigenschaften ausreichend empfindlich nachgewiesen.

In einem weiteren Teilabschnitt der vorliegenden Arbeit wurde eine Kombination des chemischen Analyseverfahrens mit bioanalytischen Methoden im Sinne eines Toxizitätsgeleiteten Screening angestrebt. Diese methodische Erweiterung sollte im Hinblick auf eine Erfassung des Qualitätszustandes eines Sedimentes erfolgen. Zu diesem Zweck wurden drei schwebstoffbürtige Elbsedimente extrahiert. Über ein abgestuftes Testverfahren wurden die Extrakte der wässrigen Phase und des Restsedimentes durch Lösungsmittelwechsel zu DMSO für die toxikologischen Untersuchungen bereitgestellt. Jeder methodische Verfahrensschritt bildete hierbei eine Untersuchungsstufe, beginnend mit den Rohextrakten (Stufe I). Über die Abtrennung des elementaren Schwefels durch die Größenausschlußchromatographie (Stufe II) erfolgte abschließend ein toxikologisches und chemisches Screening der Fraktionen, die über Kieselgelchromatographie erhalten wurden (Stufe III). Eine chemische Analyse der organischen Extraktinhaltsstoffe über GC-MS und GC-AFID erfolgte jeweils parallel in einem Aliquot der Probenextrakte. Es fand eine Prüfung auf akute aquatische Toxizität über den Leuchtbakterientest statt sowie die Analyse über spezifischere Testsysteme auf eine mutagene und endokrine Wirkung (Ara-Test, MCF7-Luc-Reporter-Gen-Assay). Alle drei untersuchten Proben erwiesen sich als toxisch, wobei jeweils unterschiedliche Wirkungen analysiert wurden. Die chemische Analyse der jeweiligen Fraktionen, die einen Effekt auslösten, ergab im Hinblick auf potentiell mutagene Verbindungen nur einzelne Hinweise, wobei vor allem das Augenmerk auf nitroaromatische Komponenten gerichtet wurde. Toxische Wirkungen wurden im wesentlichen für die zwei sehr unterschiedlichen Fraktionen 3 und 5 erhalten. Die Zusammensetzung der Fraktion drei war sehr komplex, hier wurden Verbindungen unterschiedlichster Polarität und chemischer Struktur identifiziert (von DDT bis Chlornitrobenzol), während in der fünften Fraktion bereits ausschließlich polare Verbindungen enthalten waren, unter anderem vermutlich mutagene Nitroverbindungen. Ferner erfolgte eine sequentielle Untersuchung eines Probenextraktes auf eine hormonelle Wirkung. Hier wurde ebenfalls einzig eine potentielle Aktivität für die Fraktionen 3 und 5 gemessen. In Fraktion drei des entsprechenden Elbe-Schwebstoff-Extraktes wurden eine Reihe höher kondensierter aromatischer Kohlenwasserstoffe, Furane sowie sauerstoff- und schwefelhaltige PAH identifiziert, denen allgemein bereits durch ihre strukturelle Ähnlichkeit zu hormonell aktiven Verbindungen ein endokrines Potential zugeschrieben wird. In Fraktion 5 war der beobachtete Effekt möglicherweise auf das Auftreten von phenolischen Verbindungen u.a. auch Alkylphenolen sowie einer Reihe an hochmolekularen Sterolen, die aufgrund ihrer komplexen Struktur nicht eindeutig identifiziert werden konnten, zurückzuführen.

Der letzte Abschnitt der vorliegenden Arbeit befaßte sich mit Untersuchungen zur abiotischen und biotischen Transformation von polycyclischen Moschusduftstoffen. Die Verbindungen werden ubiquitär in Umweltproben vorgefunden und zeichnen sich vor allem durch ein hohes Bioakkumulationspotential aus. Anhand einer Prozeßstudie, durchgeführt bereits im Jahre 1997 im Schönungsteich des Klärwerks Neumünster, wurden speziell das Anreicherungsverhalten und stereoselektive Prozesse eines Galaxolid®-Metaboliten (HHCB-Lacton) im Vergleich zur Muttersubstanz studiert. Es wurden Probenextrakte verschiedener Fischarten aus dem Schönungsteich u.a. auch über enantioselektive GC untersucht. Ein Metabolit des HHCB, das HHCB-Lacton, wird oxidativ in der Umwelt gebildet und ist relativ stabil, so daß neben der Transformation auch eine Anreicherung der Verbindung in Organismen zu beobachten war (passive Akkumulation in SPMD). Aus den experimentell im Wasser

und in Fischen bestimmten Konzentrationen wurden sowohl für Galaxolid[®] als auch für das Lacton Bioakkumulationsfaktoren (BAF) berechnet, die jeweils auf das Frischgewicht (BAF_{FG}) und den Lipidgehalt (BAF_L) bezogen wurden. In allen Fällen wurden für das Lacton deutlich höhere BAF als für Galaxolid[®] gefunden, obwohl der experimentell bestimmte log K_{OW} des Lactons mit 4,0 deutlich unter dem des Galaxolids[®] liegt. Lediglich für SPMD wurde ein kleinerer Faktor für das Lacton ermittelt. Die vorgefundenen Bioakkumulationsfaktoren für Galaxolid[®] ließen sich größtenteils durch passive Biokonzentration allein erklären, hingegen überstiegen die höchsten vorgefundenen Lactonkonzentrationen die durch passive Biokonzentration zu erwartenden Werte. Die erhaltenen Resultate bestärken insgesamt die Annahme eines enzymatischen Abbaus des HHCB im Fisch zum HHCB-Lacton. Sowohl für die Muttersubstanz als auch für den Metaboliten, konnten speziesabhängige Unterschiede in der fettbezogenen Konzentration und den Enantiomerenverhältnissen beobachtet werden. Möglicherweise sind unterschiedliche und vor allem artspezifische Abbauwege für Galaxolid[®] und HHCB-Lacton in Fischen gegeben, wobei einige Fischarten sehr selektive Abbauwege aufweisen und für andere anscheinend eine nichtselektive Biotransformation bevorzugt ist.

Die polaren Transformationsprodukte der Nitromoschusverbindungen sind mittlerweile ebenso ubiquitär in der Umwelt vorzufinden wie ihre Mutterverbindungen. Sie wurden in Wasser, Biota, Sediment und Klärschlamm nachgewiesen. Über ihre toxikologischen Wirkungen ist bislang nur wenig bekannt bzw. untersucht worden. Daher erschien es sinnvoll, Moschus-xylol-amin und Moschusketon-amin zu synthetisieren und toxikologisch arbeitenden Gruppen zur Verfügung zu stellen. Die Metabolite wurden jeweils auf mutagene als auch auf endokrine Wirkung hin untersucht.

6 Summary

The aim of the present work was to perform chemical analyses of North Sea sediments in order to enhance the knowledge about their impact by xenobiotics. Because of the complexity of the investigated samples various analytical approaches were involved:

- ❑ In the first part, a method for sediment analysis of organic micropollutants was developed. For this purpose, different chromatographic techniques were used and specific gas chromatographic detection modes were tested in order to get hold of a wide variety of non-ionic organic substances.
- ❑ Quantitative analysis of the following target compounds was performed: Irgarol 1051[®], TBT, TPT (contained in antifouling paints) as well as tinorganic transformation products were analysed in harbour sediments of the North and Baltic Sea. The study included a seasonal dependent screening of Irgarol in water and sediment samples. The concentration of Irgarol in water samples of the investigated Baltic Sea harbours attained levels of moderate acute toxicity for algae communities. A seasonal dependency due to sailing activity with highest levels of Irgarol in the early summer months was also observed.
- ❑ Using GC-MS methods three sediment samples of the German Bight were analysed qualitatively in a non-target-screening approach. In the extracts of the sediment samples different classes of compounds from biogenic and anthropogenic origin were identified. High contents of bromo-

indoles and -phenols, alkylbenzenes, polycyclic aromatic hydrocarbons were determined. Furthermore, persistent organic pollutants such as chlorobenzenes, DDT and its metabolites, chloronitroaromatics, chloroanilines as well as phosphororganic substances and synthetic musk compounds were identified. In addition, these extracts were investigated using other detection methods (ECD, AFID). The main focus was laid on N and P containing compounds.

- In a next step, the newly developed analytical method was combined with biological-ecotoxicological test methods. Following the idea of a bioassay directed analysis, 3 medium contaminated sediments of the river Elbe were analysed. Acute toxicity, mutagenicity as well as endocrine disrupting properties were the toxicological endpoints of the tests used in the present work. The main toxic effects were located in only two fractions obtained by fractionation of sediment extracts over silica columns. The concentration levels of the main identified compounds are probably not responsible for the observed mutagenic effects. For some substances, which were analysed in the corresponding fractions, mutagenic or endocrine activity is well known. Nevertheless, other unidentified substances could also contribute to the toxic effects.

- Another part of this study dealt with the occurrence, bioaccumulation and transformation of synthetic musks in the aquatic environment. They enter the surface water mainly through waste water treatment plants. In a process study different kinds of samples were collected in a pond affiliated to the treatment plant, including water, SPMD, mussel, and various fish samples. Emphasis was placed upon metabolism processes of polycyclic musks in different fish species. The measured concentrations were normalised to lipid content, and therefore, a species dependency of concentrations was attained. Furthermore, highest deviations of enantiomeric ratios of the investigated polycyclic musks were obtained by application of enantioselective gas chromatography, especially for HHCB and its transformation product, HHCB-Lacton.

- In order to provide additional data for a risk assessment of nitromusks, the transformation products of musk xylene and musk ketone were synthesised thus enabling toxicological investigations with these metabolites. In the present work, results of mutagenicity and endocrine disrupting testing are for the first time presented for 2-Amino-MX, 4-Amino-MX, and 2-Amino-MK.