

Sind die spezifischen Ergebnisse aus Biokonzentrationstests mit Metallen auf die Anwesenheit von Nanopartikeln zurückzuführen?

Hintergrund

Bioakkumulationsstudien mit Metallverbindungen ergeben häufig Biokonzentrationsfaktoren (Verhältnis aus der Konzentration im Gesamtfisch zur Konzentration im Wasser = BCF), die von der Expositionskonzentration abhängen. Dies widerspricht der Theorie der Biokonzentration, die von einer konzentrationsabhängigen Aufnahme und Elimination ausgeht und deshalb die Konzentrationsunabhängigkeit des BCF fordert. Organische Stoffe werden manchmal mit steigender Konzentration im Wasser stärker angereichert, was auf die Begrenzung des metabolischen Umsatzpotenzials zurückgeführt werden kann; für Metalle wird häufig ein höherer BCF bei niedrigerer Konzentration im Umgebungswasser bestimmt. Diese abweichende Charakteristik von Biokonzentrationstests mit Metallverbindungen wird häufig als Folge von Prozessen der organismischen Metallregulation interpretiert, die bei niedrigen Umgebungskonzentrationen aktiv die Konzentration essenzieller Elemente erhöhen und bei hohen Umgebungskonzentrationen erniedrigen. Nicht essenzielle Elemente können koreguliert werden. Ergebnisse aus zwei Biokonzentrationsstudien mit schwerlöslichen Metallsalzen ließen eine andere Interpretation

zu, nach der nicht gelöste Substanz für die Ergebnisse verantwortlich ist und somit keine Biokonzentration im oben genannten Sinne vorliegt.

Projektbeschreibung

Mit zwei schwerlöslichen Metallverbindungen aus derselben chemischen Hauptgruppe wurden GLP-Studien nach OECD 305 durchgeführt. In Vorversuchen wurden die Bedingungen ermittelt, unter denen die höchstmögliche Konzentration gelöster Substanz (operational definiert als Konzentration in 0.45 µm gefilterten Wasserproben) im Durchfluss erreicht wurde. Die Stammlösung wurde unter sauren Bedingungen angesetzt und zum Testmedium (aktivkohlegefiltertes Leitungswasser) dosiert, so dass in den Testgefäßen mit Fischen ein pH-Wert um 7 erreicht wurde. Die Testlösung war klar. In der zweiten Studie wurden überzählige Fische nach erfolgter Aufnahme in Magen-Darm-Trakt, äußere Gewebe (Haut, Kiemen und Kopf) und innere Gewebe aufgeteilt, um die spezifische Aufnahme in diese Gewebegruppen zu untersuchen. Außerdem wurde die Adsorption des Metalls an Fischfutter unter Versuchsbedingungen simuliert.

Ergebnisse

In beiden Tests ergaben sich charakteristische Abhängigkeiten des BCF von der Umgebungskonzentration (Fig. 1). Die getrennte Untersuchung der einzelnen Gewebegruppen zeigte, dass die Akkumulation im Ganzfisch weder auf Adsorption der Metalle an äußere Gewebe noch auf eine Biokonzentration im Fisch über die Kiemen zurückzuführen war (Fig. 2). Die einzige Gewebegruppe mit einer konzentrationsabhängigen Aufnahme war der Magen-Darm-Trakt. Aus diesem, der als Teil des äußeren Fischgewebes betrachtet werden kann, kam es nicht zu einer signifikanten Aufnahme in das innere Fischgewebe. Die gemessene Adsorption des Metalls an das Futter kann in der niedrigen und hohen Testkonzentration nur 10 % bzw. 2 % der Metallkonzentration im Darm erklären.

Fazit

Der einzig bedeutsame Aufnahmeweg für die untersuchten schwerlöslichen Metallverbindungen scheint die orale Aufnahme mit Adsorption an Zellwänden und Schleim im Darm zu sein, was auf Partikelaufnahme hindeutet. Dies können entweder Futterpartikel mit adsorbiertem Metall sein oder Nanopartikel, die mit dem Wasser aufgenommen wurden: die 0.45 µm-Filtration ist nicht in der Lage, zwischen gelöster und nanopartikulärer Fraktion zu unterscheiden. Die hohe Anreicherung im Darm kann nicht durch die Anwesenheit von Futterresten erklärt werden, sondern mit der konzentrationsabhängigen Assoziation des Metalls mit Oberflächenstrukturen im Darm, die wahrscheinlich auf mit dem Wasser aufgenommene Nanopartikel zurückzuführen ist. Diese scheinen nicht bioverfügbar zu sein.

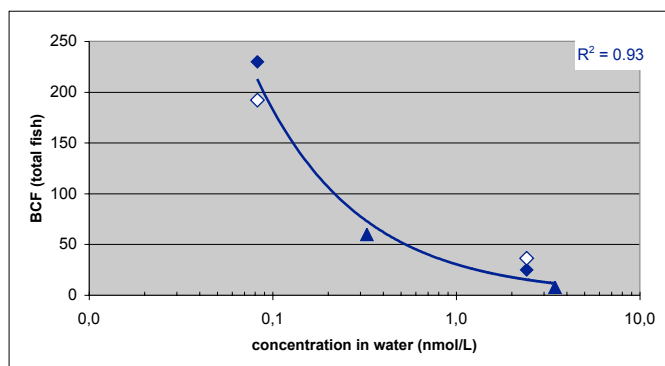


Figure 1: Concentration dependency of the BCF. Data of independent tests with two metal compounds (1: triangles, 2: diamonds; open diamonds: Total fish data of dissected (additional) fish)

Are Nanoparticles Responsible for the Specific Results of Metal Bioconcentration Tests?

Background

Metal bioconcentration tests tend to result in bioconcentration factors (concentration of a chemical in fish divided by its concentration in water = BCF) that depend on the exposure concentration. This is not in line with the bioconcentration theory, which assumes that uptake and depuration are dependent on the concentration in water and consequently that the BCF is independent of exposure. Whereas organic chemicals are sometimes increasingly accumulated with increasing concentration due to limited metabolic potential, in the case of metals a higher BCF is often determined at lower concentrations. The deviating results of bioconcentration tests with metal compounds are sometimes interpreted as consequence of metal regulation processes actively enhancing the internal concentration of essential metals at low ambient water concentrations and reducing it at high ambient concentrations. Non-essential metals may be co-regulated.

Objective

Results of bioconcentration tests with two poorly soluble metal compounds indicate an alternative interpretation. The aim of a joint re-evaluation was to demonstrate evidence that ingestion of non-dissolved material was responsible for the findings.

Approach

Independent GLP studies were performed with two poorly soluble metal salts of the same element group according to OECD 305. In pre-tests the conditions for achieving the highest dissolved metal concentrations possible (opera-

tionally defined as concentration in 0.45 μm membrane filtered water samples) were determined. The stock solutions were prepared under acid conditions and dosed to the purified drinking water, resulting in a pH of around 7 in the test chambers stocked with fish. The test solution was clear. At the end of the uptake phase of the second test, surplus fish were dissected to establish the specific accumulation in the intestines, the outer parts (skin, gills and head) and the inner tissue. Furthermore, a feed adsorption test was carried out at the two test concentrations to investigate the metal accumulation in feed.

Results

Both tests resulted in characteristic dependencies of the BCF (Fig. 1). When separating the inner tissues, the intestinal tract and the outer parts, it became obvious that the accumulation in the fish as a whole was due neither to adsorption of the metals by outer parts nor to bioconcentration via the gills in the inner fish (Fig. 2). The only parts showing bioaccumulation dependent on the exposure concentration were the intestines. There is obviously no significant transfer from the guts, which can be regarded as external part of the fish, into the inner fish tissue. Adsorption to feed was demonstrated, but only explains 10 % of the metal

concentration in the guts at the low and 2 % at the high treatment.

Conclusion

For the investigated poorly soluble metal compounds adsorption to cell membranes and mucus via ingestion seems to be the only significant uptake route, being most relevant for particles. This may be either food particles with adsorbed metal or metal nanoparticles ingested with the water, as the 0.45 μm filtration is not able to differentiate between dissolved and nanoparticle fractions. The "BCF" for the total fish (Fig. 1), which in fact is not due to bioconcentration, cannot be explained by the presence of feed residues, but with concentration-dependent association of the metal with intestinal surface layers, most probably caused by drinking water with nanoparticles. These do not seem to be bioavailable.

The studies were conducted for industrial firms.

Contact/Ansprechpartner

Dr. Christoph Schäfers
Tel: +49 2972 302-270
christoph.schaefers@ime.fraunhofer.de

Figure 2: Accumulation of a poorly soluble metal in different fish tissues

