

Final Draft
of the original manuscript:

Ahrens, L.; Siebert, U.; Ebinghaus, R.:

**Rekonstruktion der Belastung der Deutschen Bucht mit
polyfluorierten organischen Substanzen anhand von
Robbengewebeproben**

In: Mitteilungen der Fachgruppe Umweltchemie und Oekotoxikologie [Online
Ressource] (2009) Wiley
2009 Vol. 15(1): 2-5

DOI: -

Rekonstruktion der Belastung der Deutschen Bucht mit polyfluorierten organischen Substanzen anhand von Robbengewebeproben

Lutz Ahrens^{1,2} (lutz.ahrens@gkss.de), Ursula Siebert³ (ursula.siebert@ftz-west.uni-kiel.de),
Ralf Ebinghaus¹ (ralf.ebinghaus@gkss.de)

¹ GKSS Forschungszentrum Geesthacht GmbH, Geesthacht

² Leuphana Universität Lüneburg, Lüneburg

³ Forschungs- und Technologiezentrum Westküste (FTZ), Büsum

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde die Belastung der Deutschen Bucht mit polyfluorierten organischen Substanzen (PFCs) anhand von Robbengewebeproben rekonstruiert. Zusätzlich wurde die PFC-Gesamtbelastung von Seehunden (*Phoca vitulina*) abgeschätzt. Insgesamt konnten 17 PFCs nachgewiesen werden (i.e. C₄-C₁₀ Perfluorsulfonate (PFSA), Perfluoroctansulfonat (PFOSi), Perfluoroctansulfonamid (FOSA) and C₈-C₁₅ Perfluorcarbonsäuren (PFCAs). Die Σ PFC-Gesamtbelastung in Seehunden wurde auf $2665 \pm 1207 \mu\text{g}$ absolut abgeschätzt, hierbei hatte PFOS mit über 95% den größten Anteil. Auf die einzelnen Organe verteilten sich die PFCs wie folgt: Blut \approx Leber > Muskel > Lunge > Niere \approx Fett > Herz \approx Gehirn \gg Thymus > Schilddrüse, wobei auf Blut und Leber etwa drei Viertel der PFCs entfielen. PFCs in Seehundleberproben zeigten signifikant abnehmende Konzentrationen für C₅-C₇ PFSA, PFOSi, Perfluoroctansäure (PFOA) und FOSA zwischen 1999 und 2008. Dagegen konnten für C₁₀ PFSA leicht ansteigende Konzentrationen gefunden werden. Die Ursache für diese überwiegend abnehmende Belastung in Seehunden könnte die Produktionsumstellung auf kürzerkettige PFCs sein, die generell ein geringeres Bioakkumulationspotential haben.

1. Einleitung

Polyfluorierte organische Substanzen (PFCs) gehören zu den neuartigen Problemstoffen, die auch als „PCBs des 21. Jahrhunderts“ bezeichnet werden [1]. PFCs zeichnen sich durch ihre Persistenz, Toxizität und ihr Potential zur Bioakkumulation aus, zudem besitzen einige flüchtige PFCs das Potential zum Ferntransport in der Atmosphäre [2,3]. Aufgrund ihrer einzigartigen Eigenschaften finden sie seit ca. 50 Jahren vielfältige Anwendung in industriellen und kommerziellen Produkten wie u.a. Beschichtungen für Lebensmittelverpackungen, Imprägniermitteln für Textilien, Hilfsmittel in der Polymerchemie (z.B. Teflon®) oder Bestandteil von Feuerlöschschäumen [4]. Weltweit werden jährlich mehrere tausend Tonnen PFCs hergestellt. Die bekanntesten Vertreter der PFCs sind das Perfluoroctansulfonat (PFOS) und die Perfluoroctansäure (PFOA), die bereits ubiquitär in der Umwelt gefunden wurden. Aufgrund ihrer unerwünschten Eigenschaften stellte das Unternehmen 3M die Produktion von Perfluoroctylsulfonylfluorid (POSF) im Jahre 2000 ein, welches die Vorläuferverbindung für zahlreiche PFCs ist [5]. Des Weiteren handelte die Umweltbundesbehörde der USA (EPA) mit den acht größten Fluorpolymer- und Fluortelomerunternehmen ein freiwilliges Abkommen zur Eliminierung der Emissionen und Verwendung von PFOA bis 2015 aus [6]. In der Europäischen Union wird die Verwendung von PFOS durch eine Richtlinie des Europäischen Parlamentes seit dem Juni 2008 eingeschränkt [7].

Zur Überprüfung der Auswirkungen von Emissionsveränderungen von PFCs auf die in der marinen Umwelt gefundenen Konzentrationen in Organismen sind Langzeitdaten notwendig. Im vorliegenden Beitrag betrachten wir das Verteilungsmuster von PFCs in Seehunden (*Phoca vitulina*) und vergleichen zeitliche Trends von PFCs in Seehunden mit anderen zeitlichen Trend-Studien. Für diese Untersuchung wurde eine Methode entwickelt mit der

insgesamt 40 verschiedene PFCs in Gewebeproben untersucht werden können. Die Extraktion der Gewebeproben erfolgt mittels Ultraschallextraktion und anschließender Aufreinigung über ENVI-Carb Kartuschen. Alle Extrakte werden mittels Flüssigkeitschromatographie – negativ Elektrospray Ionisation – Tandem Massenspektrometrie (HPLC-(-)ESI-MS/MS) untersucht. Diese Untersuchung ist wichtig, um zukünftige PFC-Belastungen von marinen Säugetieren abschätzen zu können, welche sich potentiell negativ auf sie auswirken können.

2. Material und Methoden

Die in dieser Studie untersuchten Seehunde stammen aus der Deutschen Bucht aus den Jahren 1988 bis 2008 (Abb. 1). Die gestrandeten Seehunde wurden am Forschungs- und Technologiezentrum Westküste (FTZ) nach dem Protokoll von Siebert et al. (2007) [8] obduziert. Exemplarisch wurden von vier Seehunden des Jahres 2007 von allen relevanten Gewebearten Teilproben entnommen und auf PFCs untersucht, um eine Gesamtbilanz der aktuellen Körperbelastung aufstellen zu können. Des Weiteren wurden Leberproben von Seehunden aus den vergangenen 10 Jahren (1999 bis 2008) untersucht, um einen zeitlichen Trend von PFCs in der marinen Umwelt zu rekonstruieren.

Die Leberproben wurden mit Acetonitril über Flüssig-Flüssig-Extraktion extrahiert und über ENVI-Carb Kartuschen von Supelco aufgereinigt [9,10]. Anschließend wurden die Extrakte auf die Zielsubstanzen Perfluorcarbonsäuren (PFCAs), die Perfluorsulfonate (PFSAs), Perfluorsulfinate (PFSiAs) und deren Vorläufersubstanzen, die fluorierten Sulfonamide und Sulfonamidethanole (FASAs/FASEs), Fluortelomersäuren (FTCAs) und die ungesättigten Fluortelomersäuren (FTUCAs) mittels HPLC-(-)ESI-MS/MS untersucht [10]. Zur Vermeidung von Blindwerten wurde so weit wie möglich auf die Verwendung von fluorierten Materialien (wie z.B. Teflon®) verzichtet.

Die Blindwerte der Methode lagen alle unter der methodischen Bestimmungsgrenze (MQL) von wenigen zehn pg/g Nassgewicht (w.w.). Wiederfindungsraten von dotierten Leberproben lagen zwischen 56% und 135% für die 40 untersuchten Substanzen (Mittelwert 95% ± 22). Zeitliche Trends wurden über eine lineare Regression von logarithmierten mittleren Konzentrationen mittels ANOVA ermittelt. Verdopplungs- und Halbwertszeiten wurden über $t_{1/2} = \ln(2)/m$ berechnet, wobei m die Steigung der logarithmierten Konzentrationen gegen die Zeit darstellt.

3. Ergebnisse und Diskussion

Insgesamt konnten 17 Zielsubstanzen nachgewiesen werden (i.e. C₄-C₁₀ PFSAs, Perfluorooctansulfonat (PFOSi), Perfluorooctansulfonamid (FOSA) und C₈-C₁₅ PFCAs). Die mittleren Σ PFC-Konzentrationen lagen bei 2042 ng/g w.w. (237-3810 ng/g w.w.) für die jünger als sieben Monate alten Seehunde und bei 947 ng/g w.w. (13-2537 ng/g w.w.) für Seehunde, die mindestens sieben Monate alt waren. Von allen quantifizierten PFCs war PFOS die dominierende Substanz mit einer maximalen Leberkonzentration von 3676 ng/g w.w.

Die Berechnung der Gesamtkörperverteilung basiert auf der individuellen Konzentration in den Gewebeproben multipliziert mit der Gewebemasse. Die Σ PFC Gesamtbelastung in Seehunden wurde auf 2665 ± 1207 µg abgeschätzt, wobei PFOS mit über 95% den größten Anteil hatte. Auf die einzelnen Organe verteilten sich die PFCs wie folgt: Blut ≈ Leber > Muskel > Lunge > Niere ≈ Fett > Herz ≈ Gehirn >> Thymus > Schilddrüse, wobei allein auf Blut und Leber drei Viertel der Summe entfielen (Abb. 2) [10]. Diese spezifische Verteilung ist darauf zurückzuführen, dass PFCs an Blutproteine binden und sich darüber in den unterschiedlichen Organen anreichern können.

Die Verteilung der einzelnen PFCs im Lebergewebe von Seehunden wird in Abb. 3 gezeigt. PFSAs konnten mit einer Kettenlänge von C₄-C₁₀ nachgewiesen werden, wobei PFOS die dominierende Verbindung war. Dagegen waren von den PFCAs nur die längerkettigen (C₈-C₁₅) nachweisbar, was auf ein höheres Bioakkumulationspotential der PFSAs schließen lässt. Der Nachweis von PFOSi und FOSA deutet auf eine unvollständige Biotransformation von Ethyl-perfluorooctansulfonamidoethanol (EtFOSE) zu PFOS hin, wobei PFOSi und FOSA als Zwischenprodukte des Abbauweges in Betracht kommen [11].

Beim Vergleich des Alters der Seehunde mit den nachgewiesenen Konzentrationen konnten für einige PFCs signifikant verschiedene Konzentrationen in jüngeren (jünger als sieben Monate) im Vergleich zu älteren (älter als sieben Monate) Tieren gefunden werden (Abb. 4). Hierbei wurden signifikant höhere Konzentrationen von C₆-C₈ PFSAs, C₁₂ PFCA and FOSA in den jüngeren Tieren gefunden. Einzig von der Perfluordecansäure (PFDA) konnten signifikant geringere Konzentrationen in den jüngeren Tieren gefunden werden [12]. Der transplazentale Transfer von PFCs in den Fötus oder die unterschiedliche Nahrungsaufnahme von jüngeren Seehunden im Vergleich zu älteren Seehunden könnte ein Erklärung für die gefundenen Unterschiede sein. Um dieses zu bestätigen sind weitere Daten über PFC Konzentrationen in marinen Säugetieren sind notwendig.

Im Zeitraum von 1999 bis 2008 zeigten Seehunde signifikant abnehmende Konzentrationen für C₅-C₇ PFSAs, PFOSi, PFOA und FOSA (Abb. 5). Dagegen konnten für Perfluordecansulfonat (PFDS) leicht ansteigende Werte gefunden werden. PFOS Konzentrationen nahmen um 49% im Zeitraum von 1999 bis 2008 ab, welches übereinstimmt mit abnehmenden Konzentrationen seiner Vorläufersubstanzen PFOSi und FOSA um 83% bzw. 104% in derselben Periode. PFOA Konzentrationen nahmen zwischen 1999 und 2008 um 86% ab, wogegen die längerkettigen PFCAs (C₉-C₁₅) keinen signifikanten zeitlichen Trend aufwiesen. Die Halbwertszeiten von C₅-C₇ PFSAs, PFOSi und FOSA in Seehunden liegen ca. bei 5 Jahren, wogegen PFDS Verdopplungszeiten von 26 Jahren aufweist [12].

Bisherige zeitliche Trend-Studien zeigten in der Regel ansteigende PFC Konzentrationen in Lebewesen (Abb. 6) [13-15]. In Eisbären (*Ursus maritimus*) wurden ansteigende Konzentrationen von PFOS und längerkettigen PFCAs zwischen 1984 und 2006 gefunden [16]. Ansteigende Konzentrationen von PFOS und PFCAs wurden ebenfalls in der Dickschnabellumme (*Uria lomvia*) zwischen 1975 und 2004 aus Kanada beobachtet, wogegen zwischen 1993 und 2003 die Konzentrationen im Eissturmvogel (*Fulmaris glacialis*) relativ konstant waren [17]. Ergebnisse in einer Langzeitstudie in Trottellummen (*Uria aalge*) aus der Ostsee zeigten einen 30-fachen Anstieg der PFOS-Konzentrationen, mit abnehmenden Konzentrationen nach 2002 [18]. Neuerdings wurden auch abnehmende Konzentrationen von FOSA gefunden [19,20] und ebenfalls abnehmende Konzentrationen von PFOS in Ringelrobben aus Kanada [19]. Neben den abnehmenden Trends von FOSA und PFOS konnte in dieser Studie ebenfalls von weiteren PFCs abnehmende Konzentrationen in Seehunden aus der Deutschen Bucht gefunden werden. Die Ursachen für diese Ergebnisse könnten in der Produktionseinstellung von POSF oder auch in der Produktionsumstellung auf kürzerkettige PFCs sein, die generell ein geringeres Bioakkumulationspotential haben. Die Auswirkungen der zukünftigen Verminderung von PFOA Emissionen und der Restriktion von PFOS in der Europäischen Union muss durch weitere zeitliche Trend-Studien untersucht werden.

Danksagung

Der Deutschen Bundesstiftung für Umwelt (DBU) wird für das Promotionsstipendium und dem Ministerium für Landwirtschaft, Umwelt und ländliche Räume Schleswig-Holstein für die finanzielle Unterstützung der pathologischen Untersuchungen gedankt.

Literatur

- [1] K. S. Betts. Potential explanation for fluorinated compounds persistence, *Environ. Sci. Technol.*, A-Pages, 2003, 37, 312A-313A.
- [2] J. W. Martin, S. A. Mabury, K. R. Solomon and D. C. G. Muir. Bioconcentration and tissue distribution of perfluorinated acids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Environ. Toxicol. Chem.*, 2003, 22, 196-204.
- [3] A. Jahnke, U. Berger, R. Ebinghaus and C. Temme. Latitudinal gradient of airborne polyfluorinated alkyl substances in the marine atmosphere between Germany and South Africa (53° N-33° S), *Environ. Sci. Technol.*, 2007, 41, 3055-3061.
- [4] E. Kissa. Fluorinated surfactants and repellents, Marcel Dekker, 2001, 97.
- [5] K. Prevedouros, I. T. Cousins, R. C. Buck and S. H. Korzeniowski. Sources, Fate and transport of perfluorocarboxylates, *Environ. Sci. Technol.*, 2006, 40, 32-44.
- [6] U.S. Environmental Protection Agency, 2006. PFOA Stewardship Program. Docket EPA-HQ-OPPT-2006-0621.
- [7] European Parliament and Council, Official Journal of the European Union, 12. December 2006, Directive 2006/122/ECOF.
- [8] U. Siebert, P. Wohlstein, K. Lehnert and W. Baumgärtner. Pathological findings in Harbour Seals (*Phoca vitulina*): 1996-2005, *J. Comp. Path.*, 2007, 137, 47-58.
- [9] C. R. Powley, S. W. George, T. W. Ryan and R. C. Buck. Matrix effect-free analytical methods for determination of perfluorinated carboxylic acids in environmental matrixes, *Anal. Chem.*, 2005, 77, 6353-6358.
- [10] L. Ahrens, U. Siebert and R. Ebinghaus. Total body burden and tissue distribution of polyfluorinated compounds in harbor seals (*Phoca vitulina*) from the German Bight, *Marine Poll. Bull.*, 2008, in press.
- [11] K. R. Rhoads, E. M.-L. Janssen, R. G. Luthy and C. S. Criddle. Aerobic biotransformation and fate of n-ethyl perfluorooctane sulfonamidoethanol (n-EtFOSE) in activated sludge, *Environ. Sci. Technol.*, 2008, 42, 2873-2878.
- [12] L. Ahrens, U. Siebert and R. Ebinghaus. Temporal trends of polyfluoroalkyl compounds in harbor seals (*Phoca vitulina*) from the German Bight, 1999-2008, *Chemosphere*, submitted.
- [13] G. W. Olsen, H.-Y. Huang, K. J. Helzlsouer, K. J. Hansen, J. L. Butenhoff and J. H. Mandel. Historical comparison of perfluorooctanesulfonate, perfluorooctanoate, and other fluorochemicals in human blood, *Environ. Health Perspect.*, 2005, 113, 539-545.
- [14] R. Bossi, F. F. Riget and R. Dietz. Temporal and spatial trends of perfluorinated compounds in ringed seal (*Phoca hispida*) from Greenland, *Environ. Sci. Technol.*, 2005, 39, 7416-7422.
- [15] J. W. Martin, D. M. Whittle, D. C. G. Muir and S. A. Mabury. Perfluoroalkyl contaminants in a food web from Lake Ontario, *Environ. Sci. Technol.*, 2004, 38, 5379-5385.
- [16] R. Dietz, R. Bossi, F. F. Riget, C. Sonne and E. W. Born. Increasing perfluoroalkyl contaminants in east Greenland Polar Bears (*Ursus maritimus*): a new toxic threat to the Arctic bears, *Environ. Sci. Technol.*, 2008, 42, 2701-2707.
- [17] C. Butt, S. A. Mabury, D. C. Muir and B. M. Braune. Prevalence of long-chained perfluorinated carboxylates in seabirds from the Canadian Arctic between 1975 and 2004, *Environ. Sci. Technol.*, 2007, 41, 3521-3528.
- [18] K. Holmström, U. Järnberg and A. Bignert. Temporal trends of PFOS and PFOA in Guillemot Eggs from the Baltic Sea, 1968-2003, *Environ. Sci. Technol.*, 2005, 39, 80-84.

- [19] C. Butt, D. C. Muir, I. Stirling, M. Kwan and S. A. Mabury. Rapid response of Arctic Ringed Seals to changes in perfluoroalkyl production, *Environ. Sci. Technol.*, 2007, 41, 42-49.
- [20] K. Hart, K. Kannan, T. Isobe, S. Takashani, T. Yamada, A. Miyazaki and S. Tanabe. Time trends and transplacental transfer of perfluorinated compounds in Melon-Headed Whales stranded along the Japanese Coast in 1982, 2001/2002, and 2006, *Sci. Total Environ.*, 2008, 403, 215-221.

Korrespondenzadresse:

Lutz Ahrens
 GKSS Forschungszentrum Geesthacht GmbH
 Institut für Küstenforschung
 Abteilung Umweltchemie
 Max-Planck-Str. 1
 D-21502 Geesthacht
 Tel: +49-4152-87-2353
 Fax: +49-4152-87-2332

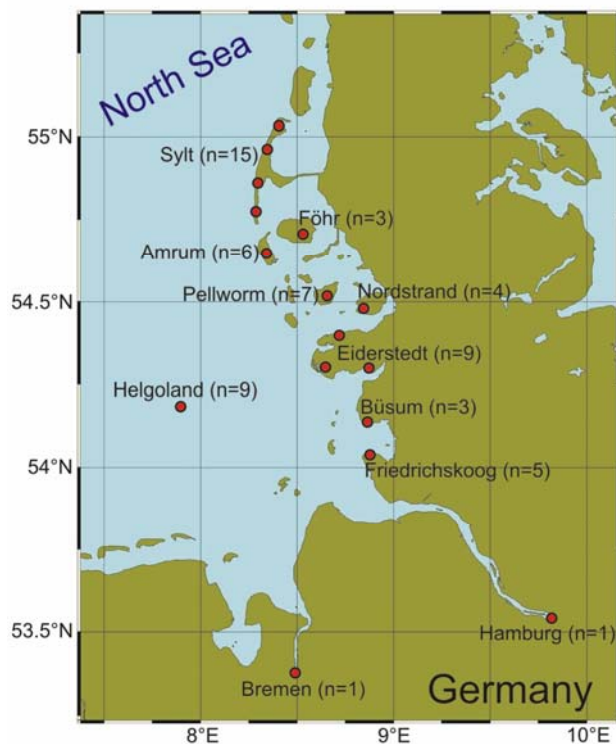


Abb.1: Fundstellen der Seehunde (*Phoca vitulina*) in der Deutschen Bucht (n = 63).

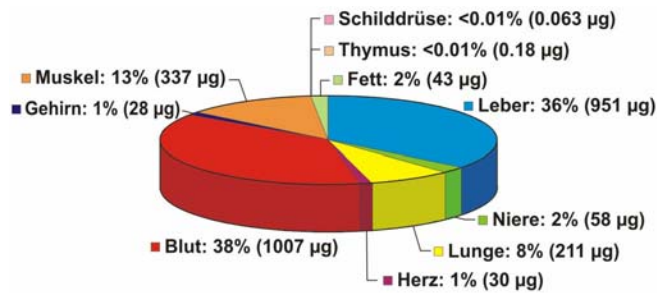


Abb.2: PFC Verteilung (%) und Gesamtbelastung (µg) im Gewebe von Seehunden aus der Deutschen Bucht [10].

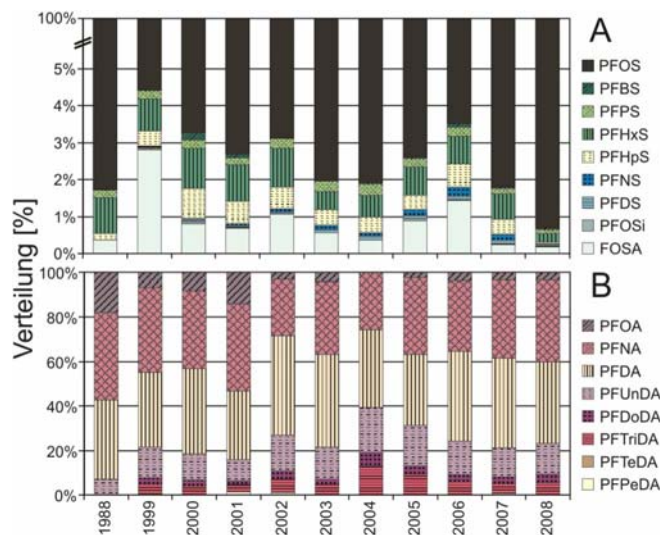


Abb.3: Verteilung von perfluorierten Sulfonaten, Sulfinaten und Sulfonamiden (A) und perfluorierten Carbonsäuren (B) im Lebergewebe von Seehunden des Zeitraums 1988 bis 2008 (n = 44).

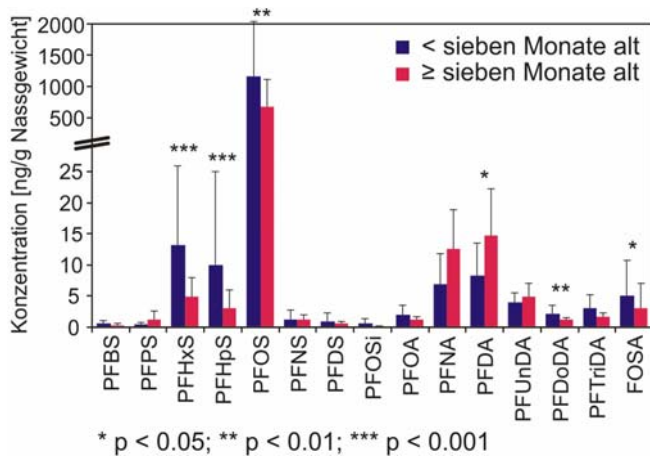


Abb.4: Vergleich von PFCs in Leberproben von Seehunden, die jünger bzw. älter als sieben Monate alt waren.

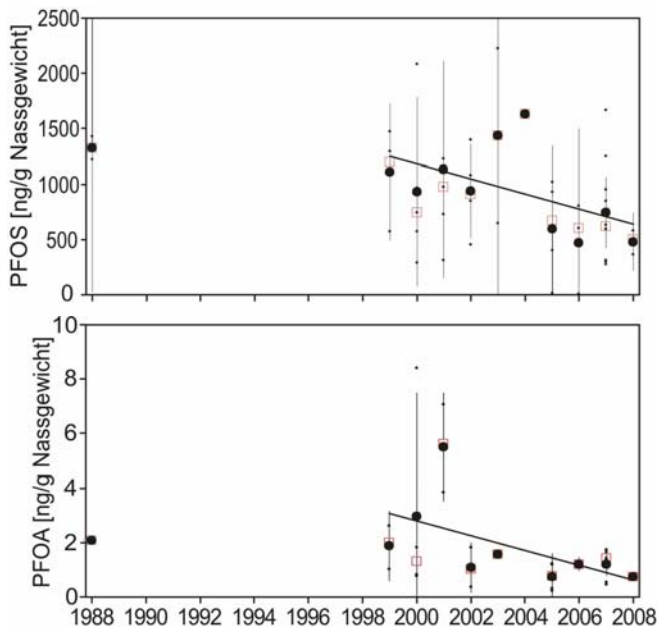


Abb.5: Zeitliche Trends von PFOS und PFOA in Seehunden aus der Deutschen Bucht. (Einzelwerte: kleine Punkte, Mittelwerte: große Punkte, Mediane; Quadrate, und 95% Konfidenzintervalle, $n = 44$) [12].

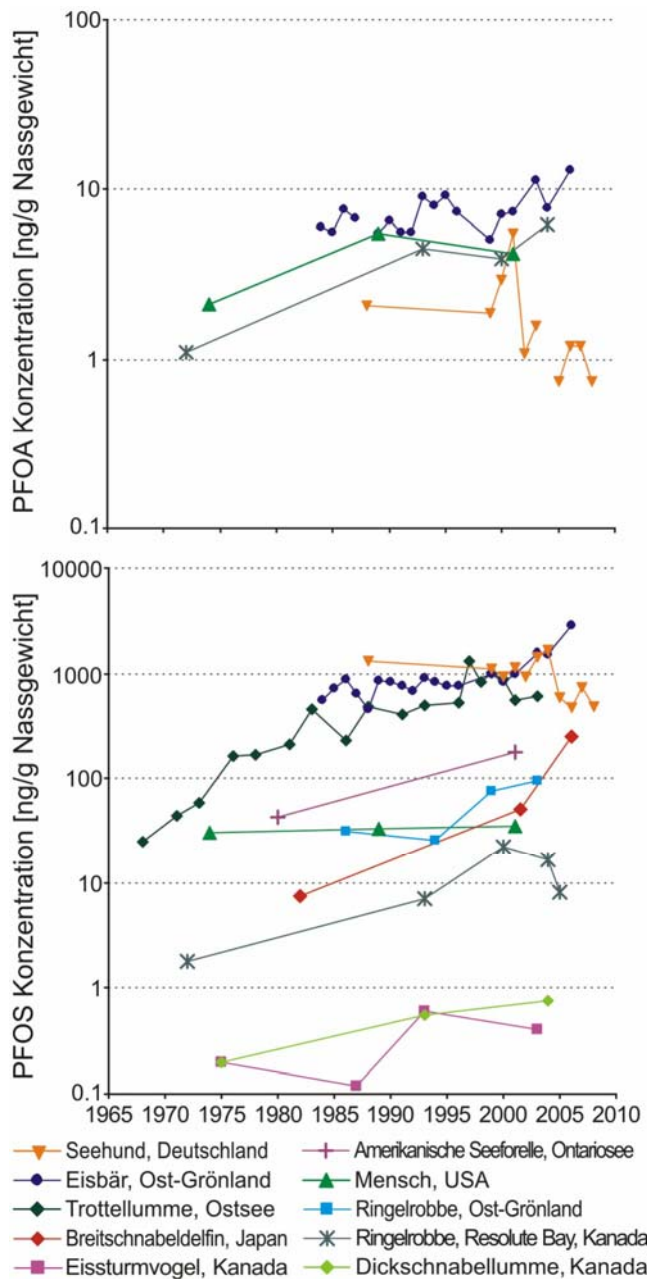


Abb.6: Zeitliche Trends von PFOA und PFOS in Seehunden [12], Eisbären [16], Trottellummen [18], Breitschnabeldelfinen [20], Amerikanische Seeforellen [15], Menschen [13], Eissturmvögeln [17], Dickschnabellummen [17], und Ringelrobben aus Ost-Grönland [14] und Kanada [19].