

Für Mensch & Umwelt

Umwelt   
Bundesamt

28. Wasserhygienetage Bad Elster, 05. bis 07. Februar 2020

# „Biotestbasierte Prüfstrategie zur Erfassung von Gefährdungspotenzialen in Migrationswässern“

Ralf Junek

Fachgebiet II 3.6 / Toxikologie des Trink- und Badebeckenwassers

## Projektpartner

- **VRH – Verein Rohrleitungssysteme in der Haustechnik e.V.**  
**Alexander Link, Roland Widler, Marcus Bohl, Christian Ragoss**

- **Umweltbundesamt**

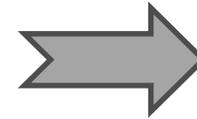
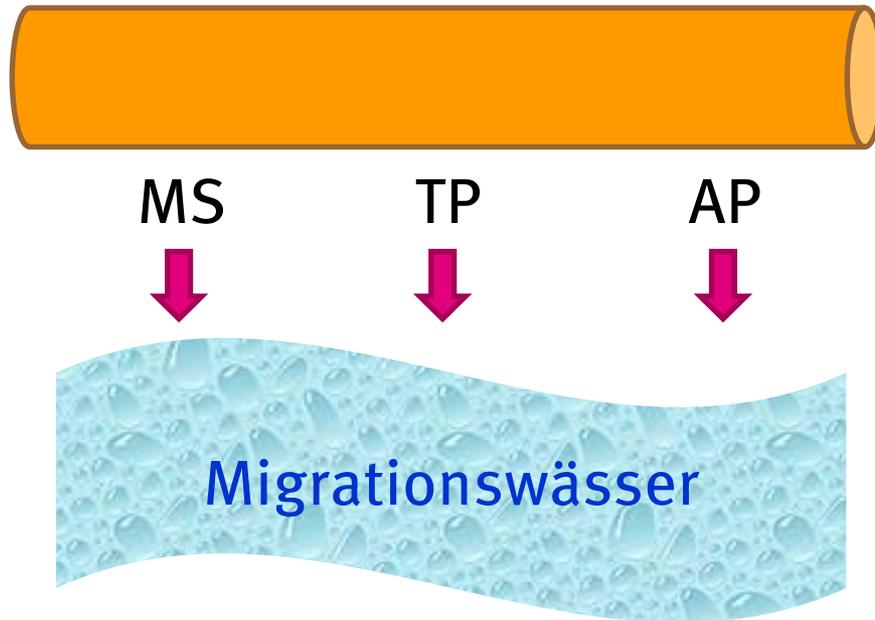
**Fachgebiet II 3.6 / Toxikologie des Trink- und Badebeckenwassers**

**Tamara Grummt, Ralf Junek**

**Fachgebiet II 3.4 / Trinkwasserverteilung**

**Thomas Rapp, Ramona Schuster**

# Ausgangspunkt



Identifikation  
toxikologischer  
Gefährdungs-  
potenziale

# Aktuelles Vorgehen

- Erfassung und Bewertung der Ausgangsstoffe und möglicher Reaktionsprodukte von Materialien in Kontakt mit Trinkwasser
- Herstellung von Migrationswässern nach DIN 12873-1
- Überprüfung der Stoffübergänge aus dem Material in die Migrationswässer mittels Einzelstoffanalytik
- Festsetzung von maximal erlaubten Stoffübergängen entsprechend der toxikologischen Bewertung für diese Einzelstoffe entsprechend der KTW-Bewertungsgrundlage des UBA

**Und das soll auch so beibehalten werden!**

# Grenzen dieses Vorgehens

- **Vielzahl von Ausgangsstoffen und Reaktionsprodukten bei bestimmten Werkstoffen**
- **Vielzahl von migrierenden Stoffen im sehr niedrigen Konzentrationsbereich**
- **Auftreten von unvorhersehbaren Reaktions- und Abbauprodukten**
- **Komplexe Stoffgemische**

**Erfassung und Bewertung aktuell schwer möglich!**

# Lösungsweg: Ergebnisse Tox-Box



→ Harmonisierte Teststrategie

→ Anwenderbezogene Kriterien

# Untersuchungsprogramm

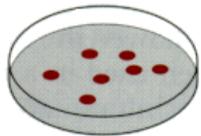
- 6 Messreihen / Migrationswässer unterschiedlicher Materialien nach DIN 12873-1
- Tox-Box-Programm
  - Genotoxizität
  - Neurotoxizität
  - endokrine / hormonelle Wirkungen
- Festlegung einer Test- und Bewertungsstrategie

# Teststrategie Genotoxizität

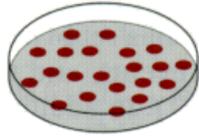
## In-vitro-Kurzzeittest

### Bakterieller Test

Ames I



Kontrolle



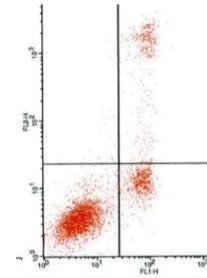
*gentoxisch*

### Zytotoxizität

reaktive  
Sauerstoffspezies  
(ROS)

### Zellkultur

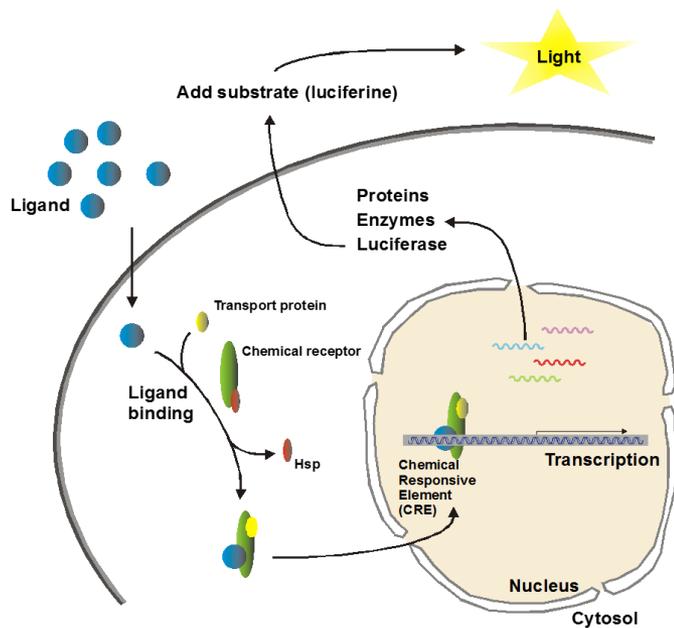
Mikrokerne



FACS

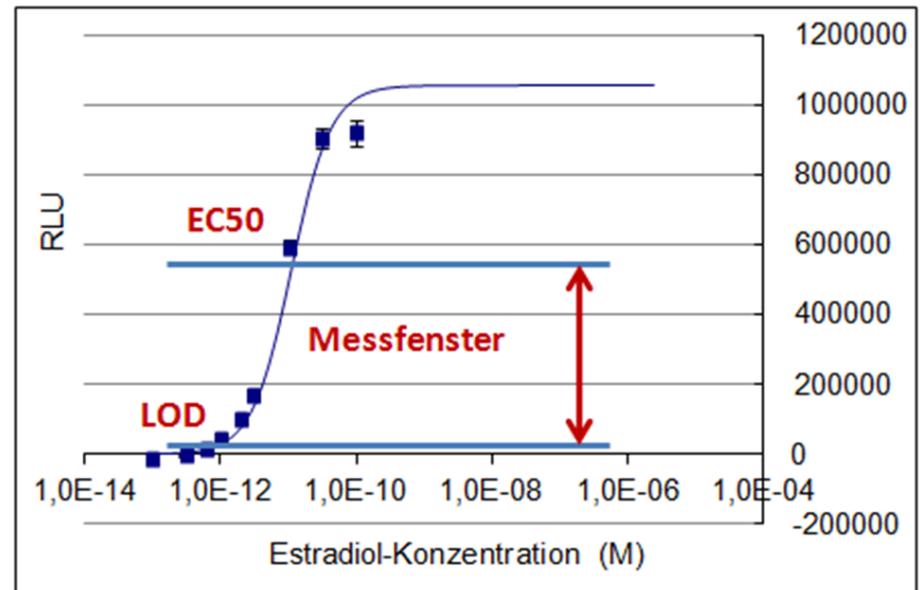
# Teststrategie hormonelle Wirkung

## Estrogenartige Aktivität (ER $\alpha$ -CALUX) Migrationswasser + Extrakt



BDS 2008

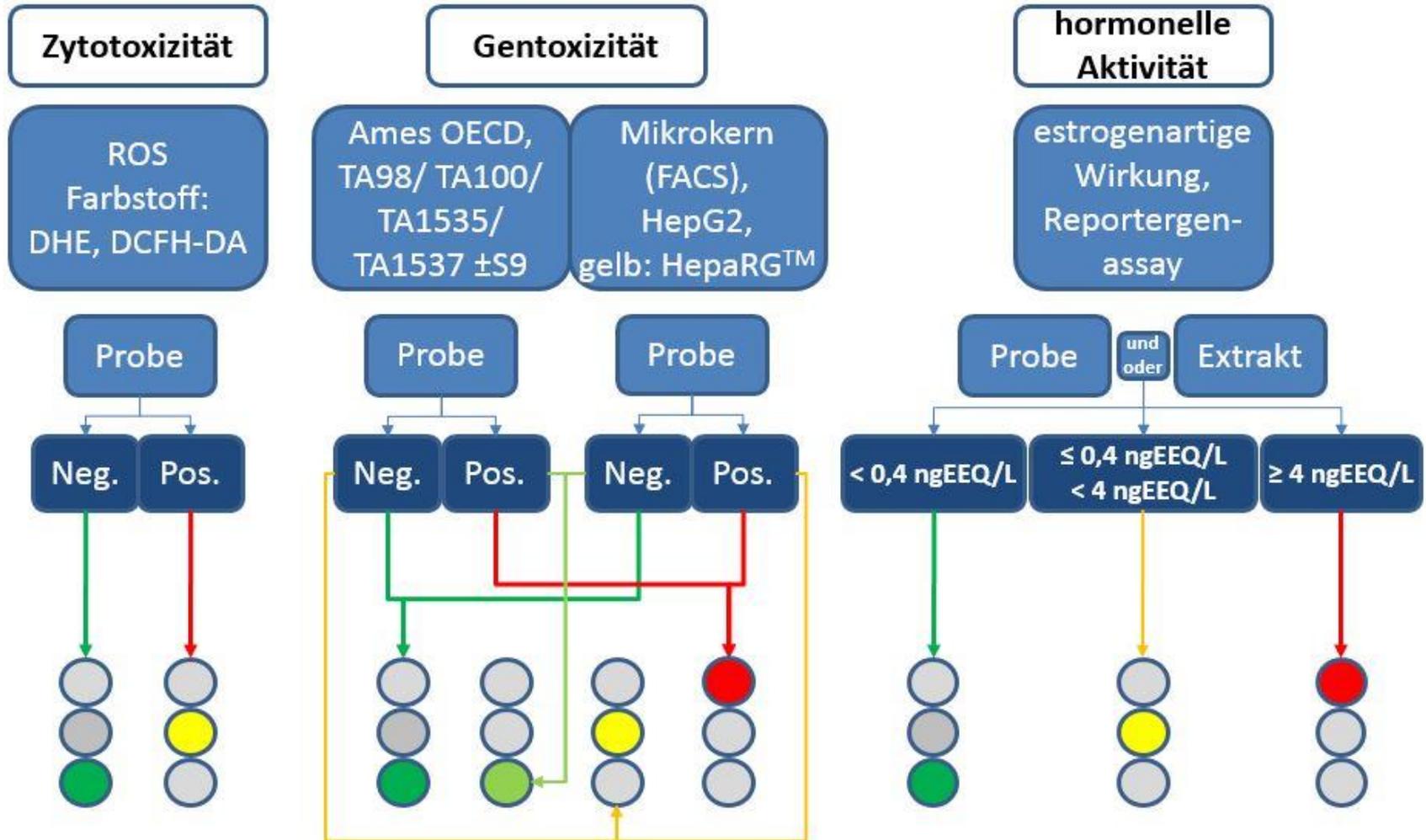
Dosis-Wirkungskurve zur Quantifizierung der Wirkung



# Bewertungskriterien

Ampel	Ergebnis	Bewertung
	Positiv in einer der spezifischen In-vitro-Teststrategien (Kombination von 2-3 In-vitro-Testverfahren für Genotoxizität, Zytotoxizität oder endokriner Wirkung)	Endpunkt-spezifisches toxikologisches Gefährdungspotenzial
	Positiv in einzelnen In-vitro-Testverfahren	Verdacht auf toxikologisches Gefährdungspotenzial
	Kein positives Ergebnis	Kein toxikologisches Gefährdungspotenzial

# Bewertungskriterien



DHE positiv > 10% Fluoreszenz  
 DCFH-DA positiv > 20 nM DCF

AMES: positiv IF ≥ 1,2 / Mikrokern positiv IF ≥ 2

# Ergebnisse I

Prüfbedingung: 24 h / 85°C

	Probe- nummer Material	O/V dm(-1)	TOC		Toxikolog. Bewertung						Σ	Vgl. mit KTW- Zulassung		
			mg/dm2 x d	mg/l	gentox.			Estrogene Aktivität					zytotox. ROS	
Rohr-1	Probe 1	33												
	Probe 2	33												
Rohr-2	Probe 1	33												
	Probe 2	33												
Rohr-3.1	Probe 1	27												
	Probe 2	27	1,11	29,97										
Rohr-3.2	Probe 1	27	9,28	246,85										
Rohr 4	Probe 1	25												
	Probe 2	25	0,08	2,01										
Rohr 5	Probe 1													
	Probe 2													
Rohr 6	Probe 1	29	0,06	1,83										
Rohr 7	Probe 1	28	12,95	360										
	Probe 2	28	5,25	146										
Rohr 8	Probe 1	28	0,03	0,77										
	Probe 2	28	0,03	0,79										
Rohr 9	Probe 1													

## Zusammenfassung I

- Toxikologische Gefährdungspotenziale nachweisbar, aber
- keine gentoxischen Wirkungen in Materialien mit KTW-Zulassung
- Rohrwerkstoffe mit KTW-Zulassung zeigen keine estrogenartige Aktivität selbst bei 85°C
- Neurotoxizität kein bewertungsrelevanter Endpunkt mit dem derzeit verfügbaren Methodenspektrum

# Ergebnisse II

## Reproduzierbarkeit der estrogenartigen Aktivität im unteren Nachweisbereich

Werkstoffe	Migrationstests u. -Bedingungen				Bewertung = estrogen Aktivität Extrakt			MW Extrakte (ngEEQ/L)	Bewertung
	Parallelen	O/V (dm-1)	T (°C)	MigrSt x t(h)	GRÜN	GELB	ROT		
Positivkontrolle	1 Probe	37	60	1 x 24			x	32,9	
	1 Probe			3 x 24			x	76,9	
	1 Probe			7 x 24			x	65,9	
	1 Probe	23	23	1 x 72			x	29,6	
1 Probe	3 x 72					x	25,6		
Rohr mit TW-Zulassung	1 Probe	29	60	1 x 24	x			< LOD	
	1 Probe			3 x 24	x			< LOD	
	1 Probe			7 x 24	x			< LOD	
	1 Probe	23	23	1 x 72	x			< LOD	
1 Probe	3 x 72			x			< LOD		
Elastomer 1.1 untervulk	1 Probe	5	60	1 x 24		x		0,6	
	1 Probe			3 x 24		x		0,5	
	1 Probe			7 x 24		x		0,8	
	1 Probe	23	23	1 x 72		x		0,6	
1 Probe	3 x 72				x		1,1		
Elastomer 1.2 untervul. neue Probe	5 Proben	5	60	0 x 24		x (5x)		0,68	
	5 Proben			7 x 24	x (1x)	x (4x)		0,63	
	5 Proben			24 x 24	x (4x)	x (1x)		0,38	
	5 Proben	23	23	0 x 24	x (5x)			0,15	
	5 Proben			3 x 72	x (1x)	x (4x)		0,54	
	5 Proben			9 x 72	x (5x)			0,34	

## Ergebnisse II

Werkstoff	Migrationstests u. -Bedingungen				Bewertung = estrogenere Aktivität/Extrakte			MW Extrakte (ngEEQ/L)	Gesamt
	Parallelen	O/V (dm-1)	T (°C)	MigrSt x t(h)	GRÜN	GELB	ROT		
Elastomer 3.2 optimal vulk	1 Probe	5	60	1 x 24	x			< LOD	
	1 Probe			3 x 24	x			< LOD	
	1 Probe			7 x 24	x			< LOD	
Elastomer 4 optimal vulk	1 Probe	50	60	1 x 24		x		0,8	
	1 Probe			3 x 24		x		0,6	
	1 Probe			7 x 24		x		0,6	
	4 Proben	5	60	0 x 24	x (1x)	x (3x)		0,42	
	5 Proben			7 x 24	x (4x)	x (1x)		0,37	
	5 Proben			24 x 24	x (5x)			0,14	
	5 Proben		23	0 x 24	x (4x)	x (1x)		0,18	
	5 Proben			3 x 72	x (5x)			0,27	
	5 Proben			9 x 72	x (5x)			0,11	

## Zusammenfassung II

- Positivkontrollwerkstoff zeigt eine sehr hohe estrogenartige Aktivität
- Estrogenartige Wirkungen verlieren sich zeitabhängig bei Materialien mit KTW-Zertifikat
- klare Unterschiede zwischen Werkstoffen und z.T. Herstellvarianten messbar
- Vulkanisierungsgrad bestimmt Art und Höhe der estrogenartigen Wirkung: estrogenartige Aktivität schlecht vernetzter Mischungen können durch optimierte Vulkanisation verschwinden

Für Mensch & Umwelt

Stand: 28. Februar 2018

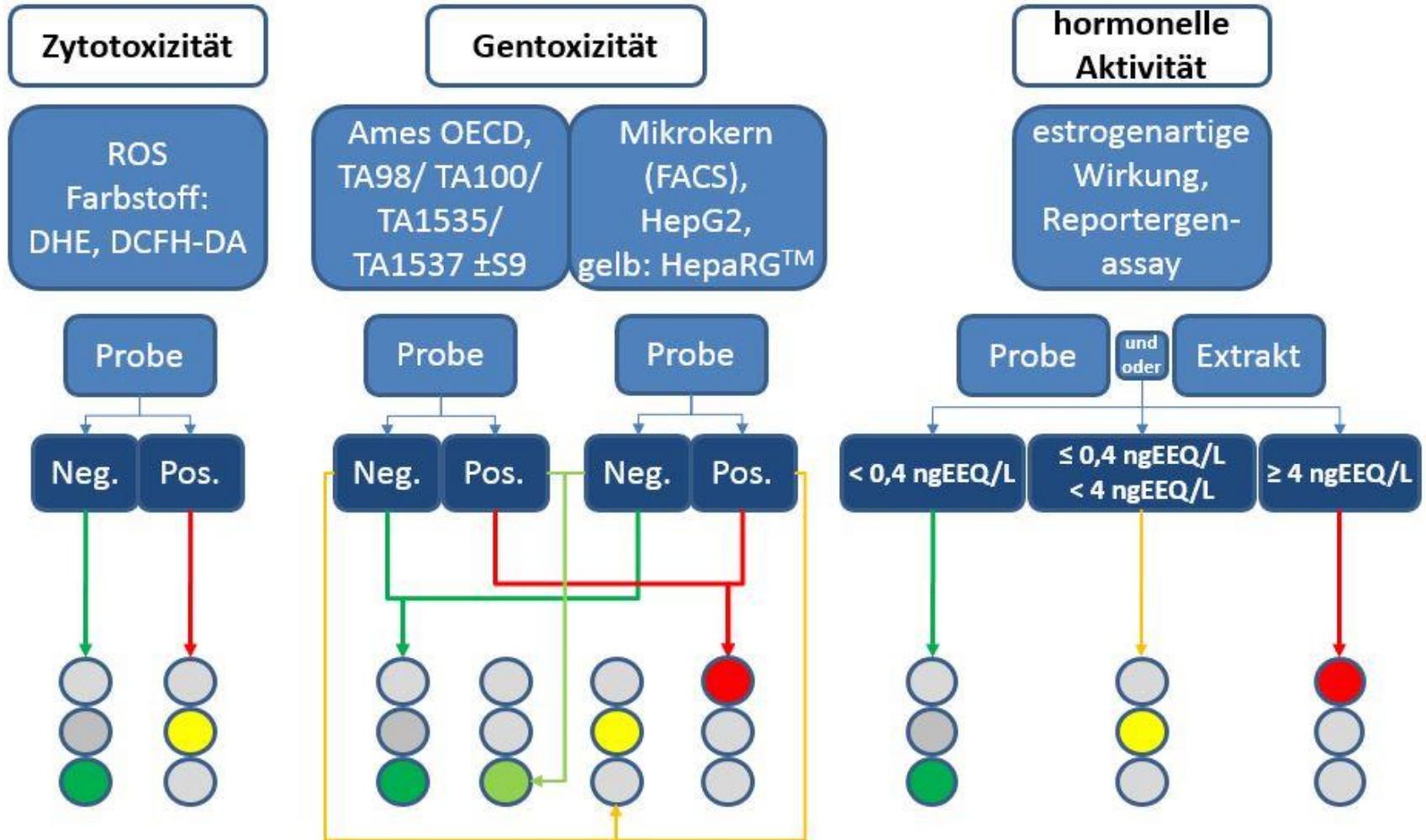
## Bioassays zur Prüfung von Materialien in Kontakt mit Trinkwasser

### Bewertung von unvorhersehbaren Substanzen

Im Projekt „Biotestbasierte Prüfstrategie zur Erfassung von Gefährdungspotenzialen in Migrationswässern“ hatten das Umweltbundesamt (UBA) und der Verein für Rohrleitungssysteme in der Haustechnik e.V. (VRH) das gemeinsame Ziel eine auf etablierten Biotests basierende Prüfstrategie zu entwickeln. Diese In-vitro-Teststrategie erfasst die Zytotoxizität, die Gentoxizität und die estrogenartige Wirkung von Migrationswässern. Diese Wirkungen gelten nicht nur in Migrationswässern, sondern in allen Produkten als unerwünscht. Zudem sind sie aufgrund ihrer Effekte auf Mensch und Umwelt bewertungsrelevant. Die Migrationswässer von organischen Werkstoffen in Kontakt mit Trinkwasser enthalten auch bisher nicht bewertete Reaktions- und Abbauprodukte sowie Verunreinigungen der Ausgangsstoff, die bei dem neuen Ansatz mit berücksichtigt werden.

[https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/479/publikationen/2018-02-28-factsheet\\_bioassays\\_fuer\\_eine\\_hygienisch\\_einwandfreie\\_trinkwasserinstallation\\_0.pdf](https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/479/publikationen/2018-02-28-factsheet_bioassays_fuer_eine_hygienisch_einwandfreie_trinkwasserinstallation_0.pdf)

# Teststrategie



# FAZIT

- Tox-Box-Strategie anwendbar auf Migrationswässer
- Entwicklungsarbeiten bezüglich der endokrinen Wirkungen notwendig
- Bewertung von Stoffgemischen (Gesamtfracht/z.B. TP, AP) möglich
- Identifikation der effektverursachenden Substanz(en) ist anzustreben

Für Mensch & Umwelt

Umwelt   
Bundesamt

**Anschlussprojekt:  
„Validierung der biotestbasierten Prüfstrategie  
zur Bewertung von unerwarteten  
Migrationsstoffen aus organischen Materialien  
im Kontakt mit Trinkwasser“**

## Projektpartner

- **Figawa – Bundesvereinigung der Firmen im Gas- und Wasserfach e. V.**
- **VRH - Verein Rohrleitungssysteme in der Haustechnik e.V.**
- **KRV – Kunststoffrohrverband e.V.**
- **Teppfa – The European Plastic Pipe and Fittings Association**
- **Joint drinking water regulatory group of Plastics Europe & Cefic-FCA, Cefic AISBL**
- **Umweltbundesamt, Koordiniert von FG II 3.6 unter Mitwirkung von FG II 3.4**

## Motivation

- **Validierung der Teststrategie aus dem Vorgängerprojekt**
- **Nach erfolgreicher Validierung der Teststrategie eröffnet UBA die Möglichkeit bei der Produktprüfung im Trinkwasserbereich unerwartete Substanzen (NIAS- non intentionally added substances) im Konzentrationsbereich bis zu 2,5 µg/l (berechnet als  $c_{\text{tap}}$ ) nach diesem Verfahren zu bewerten.**
- **Schließen der Bewertungslücke für nicht gelistete Substanzen, die über 0,1 µg/l in das Trinkwasser migrieren**

## Motivation

- **Methoden anwendbar für alle organischen Materialien im Kontakt mit Trinkwasser.**
- **wirkungsbasierte Teststrategie zur Ergänzung der Bewertung der Ausgangsstoffe entsprechend der Bewertungsgrundlage für Kunststoffe und andere organische Materialien im Kontakt mit Trinkwasser**
- **Beachtung, das Methoden später auch durch kommerzielle Labore anwendbar sind.**

## Vorgehensweise

- Stoffgebundene Validierung der Teststrategie
- Auswahl der Stoffe
- Hauptziel: Steigerung der Sensitivität
  - .....➤ Genotoxizität
- Erweiterung der Testung nach Stand der Wissenschaft
  - .....➤ hormonelle Aktivität

## Mögliche Anwendungen der Teststrategie

### ➤ **Bei der Stoffbewertung:**

Beurteilung von Verunreinigungen, Reaktions- und Abbauprodukte von Ausgangsstoffen im Migrationswasser bis 2,5 µg/l,

**für den Ausgangsstoff selbst ist ein Stoffantrag notwendig**

### ➤ **Bei der Produktprüfung:**

Beurteilung von nicht identifizierten Peaks bzw. Summe der Peaks des GC-MS-Screening bis 2,5 µg/l

# Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit

Ralf Junek

[Ralf.Junek@uba.de](mailto:Ralf.Junek@uba.de)

Fachgebiet II 3.6

Toxikologie des Trink- und Badebeckenwassers

Umweltbundesamt

Heinrich-Heine-Str. 12

08645 Bad Elster