

# Toxikologische Bewertung von PFAS/iPMT im Wasserkreislauf mit zellbasierten Biotests (EU-Projekt PROMISCES)

Preventing Recalcitrant Organic Mobile Industrial chemicals  
for Circular Economy in the Soil-sediment-water system

---

WASSERKURS BERLIN

01.—03.11.2023

Anna Mittag – FG II 3.6

Jochen Kuckelkorn – FGL II 3.6 Toxikologie des Trink- und Badebeckenwassers



# Überblick: Projekt

---

- Industrie beeinflusst/verhindert Kreislaufwirtschaft in der EU
- Untersuchung komplexer Umweltmatrizes auf persistente mobile (PM-)Substanzen
- Verständnis über Herkunft, Wege und Schicksale von PM-Substanzen gewinnen
- Berücksichtigung verschiedener Kreislaufwirtschaftsrouten
- Entwicklung von Technologien zur Entfernung von PM-Substanzen aus Böden, Sedimenten, Oberflächen- und Grundwasser
- Umsetzung der PROMISCES-Ergebnisse in Leitlinien für ein Management von PM-Stoffen
- Ziel: Aufbau einer schadstofffreien Kreislaufwirtschaft für Gewässer, Böden und Sedimente im privaten und öffentlichen Sektor



# Arbeitspakete

---

**AP 1:** Entwicklung und Implementierung analytischer und toxikologischer Methoden und daraus abgeleiteter Überwachungsstrategien

- **1.3.1:** Verbesserung von *in vitro*-Teststrategien für ausgewählte nicht regulierte PFAS und PM(T) in Umweltmedien und Trinkwasser

**AP 2:** Schicksal, Transport und Exposition von PM-Substanzen in der Umwelt

**AP 3:** Demonstration von schadstofffreien Lösungen für Stoffkreisläufe und das Boden-Grundwasser-Kontinuum

**AP 4:** Demonstration von Lösungen für schadstofffreie Wasserkreisläufe

**AP 5:** Entscheidungsunterstützung für das Risikomanagement von PM-Substanzen in einer Kreislaufwirtschaft

**AP 6:** Kommunikation, Verbreitung und Verwertung

**AP 7:** Projektmanagement und Koordination

**AP 8:** Ethische Anforderungen



# Auswahl PFAS und PM(T)-Substanzen

Nr.	Substanz	Synonym	CAS	Lösungsmittel
1	Scotchgard Pre-2002 Formulation (Tech mix)	tech-1	Tech Mix	Methanol
2	Scotchgard Post-2002 Formulation (Tech mix)	tech-2	Tech Mix	Methanol
3	Ammonium perfluoro(2-methyl-3-oxahexanoate) (GenX)	GenX	62037-80-3	Methanol
4	2:2 fluorotelomer alcohol	2:2 FTOH	54949-74-5	DMSO
5	1H,1H,2H,2H-Perfluorohexanesulphonic acid	4:2 FTSA et H4-PFHxS	757124-72-4	DMSO
6	Perfluorooctane sulfonic acid	PFOS	1763-23-1	DMSO
7	4,8-dioxa-3H-perfluorononanoic acid	ADONA	919005-14-4	Methanol
8	Bis[2-(perfluorohexyl)ethyl]phosphate)	6:2 diPAP	57677-95-9	Methanol
9	N,N-Dimethyl-3-((perfluorohexyl)ethylsulfonyl)aminopropanamine N-oxide	6:2 FTSAM (DPOSA)	80475-32-7	Methanol
10	2H-Perfluoro-2-decenoic Acid	8:2 FTUCA	70887-84-2	Methanol
11	N-Ethyl perfluorooctane sulfonamidoacetic acid	EtFOSAA	2991-50-6	Methanol
12	N-Methyl perfluorooctane sulfonamidoacetic acid	MeFOSAA	2355-31-9	Methanol
13	Perfluorooctane sulfonamidoacetic acid	FOSAA	2806-24-8	Methanol
14	Perfluorododecanoic acid	PFDoDA	307-55-1	Methanol
15	N-Methyl perfluorooctane sulfonamide	MeFOSA	31506-32-8	Methanol
16	perfluorodecane sulfonic acid	PFDS	335-77-3	Methanol
17	2-[Dimethyl-[3-(3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,8-tridecafluorooctylsulfonylamino)propyl]azaniumyl]acetate	6:2 FTAB et CDPOS et Capstone B	34455-29-3	Methanol
18	perfluorononane sulfonic acid	PFNS	98789-57-2	Methanol
19	1H,1H,2H,2H-Perfluorododecan-1-ol	10:2 FTOH	865-86-1	Methanol
20	3-perfluoro-methoxypropanoic acid	PFMOPrA	377-73-1	DMSO
21	2-perfluoro-propoxypropanoic acid	PFPrOPrA (GenX)	13252-13-6	DMSO
22	perfluoro-4-methoxybutanoic acid	PFMOBA	863090-89-5	DMSO
23	N-Methyl perfluorobutane sulfonamide	MeFBSA	68298-12-4	DMSO
24	Perfluorobutylsulphonamide	PFBSA	30334-69-1	DMSO
25	Perfluorobutanesulfonylamide(N-methyl)acetate	N-MeFBSAA	159381-10-9	DMSO
26	Perfluorohexane sulfonic acid	PFHxS	355-46-4	DMSO
27	Perfluoropentane sulfonic acid	PFPeS	2706-91-4	DMSO
28	3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,8-tridecafluorooctane-1-sulfonic acid	6:2 FTSA et H4-PFOS	27619-97-2	DMSO
29	perfluoro(3,7-dimethyloctanoic acid)	P37DMOA	172155-07-6	DMSO
30	7H-perfluoro heptanoic acid	HPFHpA	1546-95-8	DMSO
31	Perfluoroheptane sulfonic acid	PFHpS	375-92-8	DMSO

Nr.	Substanz	Synonym	CAS	Lösungsmittel
32	N-Ethyl perfluorooctane sulfonamide	EtFOSA	4151-50-2	DMSO
33	1H,1H,2H,2H-Perfluorohexan-1-ol	4:2 FTOH	2043-47-2	DMSO
34	Perfluoroundecanoic acid	PFUnDA	2058-94-8	DMSO
35	2H,2H,3H,3H-Heptadecafluoroundecanoic Acid	4H- PFUnDA	34598-33-9	DMSO
36	1H,1H,2H,2H-Perfluorooctan-1-ol	6:2 FTOH	647-42-7	DMSO
37	1H,1H,2H,2H-Perfluoro-1-decanol	8:2 FTOH	678-39-7	DMSO
38	Perfluorooctane sulfonamide	PFOSA	754-91-6	DMSO
39	perfluorobutanesulfonic acid	PFBS	375-73-5	DMSO
40	perfluoropentanoic acid	PFPeA	2706-90-3	DMSO
41	perfluorooctanoic acid	PFOA	335-67-1	DMSO
42	perfluorodecanoic acid	PFDCa	335-76-2	DMSO
43	perfluorobutanoic acid	PFBA	375-22-4	DMSO
44	perfluoroheptanoic acid	PFHpA	375-85-9	DMSO
45	perfluorononanoic acid	PFNA	375-95-1	DMSO
46	perfluorohexanoic acid	PFHxA	307-24-4	DMSO
47	2-Phenylphenol		90-43-7	DMSO
48	3,4-dichloroaniline		95-76-1	DMSO
49	4,4'-Sulfonyldiphenol		80-09-1	DMSO
50	4-chloroaniline		106-47-8	DMSO
51	Benzoic acid		65-85-0	DMSO
52	Methyl paraben		99-76-3	DMSO
53	Tri n-butyl phosphate		126-73-8	DMSO
54	triphenyl phosphate		115-86-6	DMSO
55	Triclosan		3380-34-5	DMSO
56	1H-Benzotriazol		95-14-7	DMSO
57	5,6-Dimethyl-1H-benzotriazole		4184-79-6	DMSO
58	5-Chlorobenzotriazole		94-97-3	DMSO
59	5-Methyl-1H-benzotriazole		136-85-6	DMSO
60	Benzothiazole		95-16-9	DMSO
61	Benzothiazole-2-sulfonic acid		21465-51-0	DMSO
62	Galaxolide		1222-05-5	DMSO
63	Oxybenzone		131-57-7	DMSO



# Übersicht: *in vitro* Bioassays

Zell-basierter Endpunkt	Bioassay
Zytotoxizität	RTCA, ATP
Oxidativer Stress	ROS Detektion (DCFH-DA)
Östrogenität (ER)	ER $\alpha$ CALUX
Hemmung der Androgenität (anti-AR)	Anti-AR CALUX
Hemmung der Transportaktivität von Schilddrüsenhormonen	TTR-TR $\beta$ CALUX

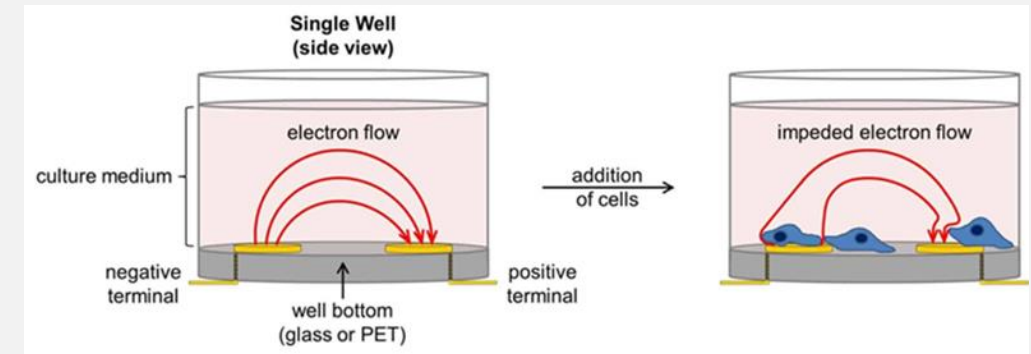


# Übersicht: *in vitro* Bioassays

Zell-basierter Endpunkt	Bioassay
Zytotoxizität	RTCA, ATP
Oxidativer Stress	ROS Detektion (DCFH-DA)
Östrogenität (ER)	ER $\alpha$ CALUX
Hemmung der Androgenität (anti-AR)	Anti-AR CALUX
Hemmung der Transportaktivität von Schilddrüsenhormonen	TTR-TR $\beta$ CALUX

## Real-time cell analysis

- Messung der elektrischen Impedanz zur Echtzeit-Zellanalyse
- Größe der Impedanz abhängig von Zellzahl, -größe und -form



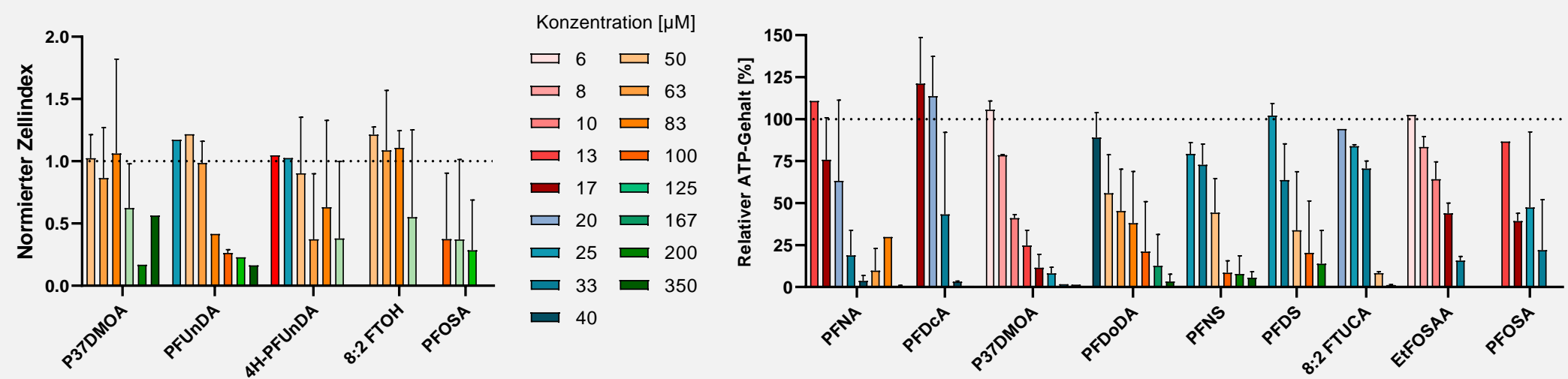
## ATP

- Messung des intrazellulären Adenosintriphosphats als Parameter für Mitochondrienfunktion



# Ergebnisse Zytotoxizität

Es konnten in Bezug auf die Zellproliferation mit dem RTCA und dem ATP-Test Effekte festgestellt werden.



PFAS mit stärksten Effekten im RTCA (24 h) und ATP-Test (72 h)

Substanz	Zytotox	
	RTCA	ATP
tech-1		
tech-2		
PFBA		
PfMOBA		
PfPrOPrA (GenX)		
PfMOPrA		
PfPeA		
PfHxA		
PfHpA		
HPFHpA		
PFOA		
P37DMOA		
PfNA		
PfDcA		
PfUnDA		
4H- PFUnDA		
PfDoDA		
PfBS		
PfPeS		
PfHxS		
PfHpS		
PfOS		
6:2 FTSA et H4-PFOS		
PfNS		
PfDS		
2:2 FTOH		
4:2 FTOH		
6:2 FTOH		
8:2 FTOH		
10:2 FTOH		
8:2 FTUCA		
4:2 FTSA et H4-PFHxS		
6:2 FTSAM (DPOSA)		
6:2 diPAP		
ADONA		
GenX		
6:2 FTAB et CDPOS et Capstone B		
PfBSA		
MeFBSA		
N- MeFBSAA		
PfOSA		
EtFOSA		
MeFOSA		
FOSA		
MeFOSAA		
EtFOSAA		

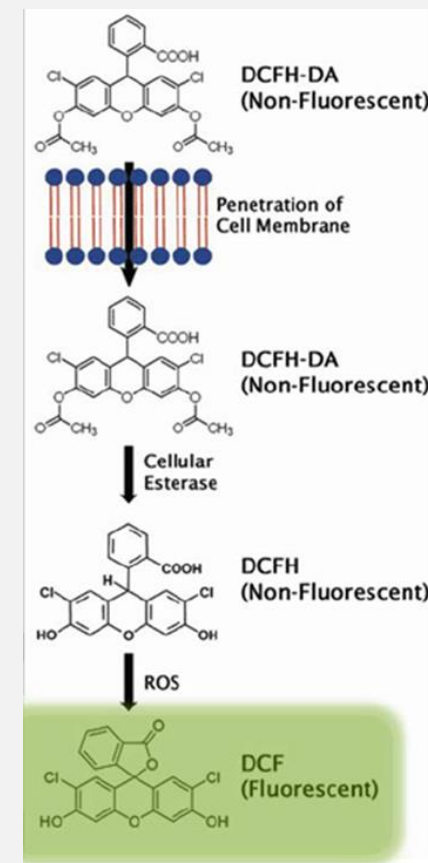


# Übersicht: *in vitro* Bioassays

Zell-basierter Endpunkt	Bioassay
Zytotoxizität	RTCA, ATP
Oxidativer Stress	ROS Detektion (DCFH-DA)
Östrogenität (ER)	ER $\alpha$ CALUX
Hemmung der Androgenität (anti-AR)	Anti-AR CALUX
Hemmung der Transportaktivität von Schilddrüsenhormonen	TTR-TR $\beta$ CALUX

## DCFH-DA-Assay

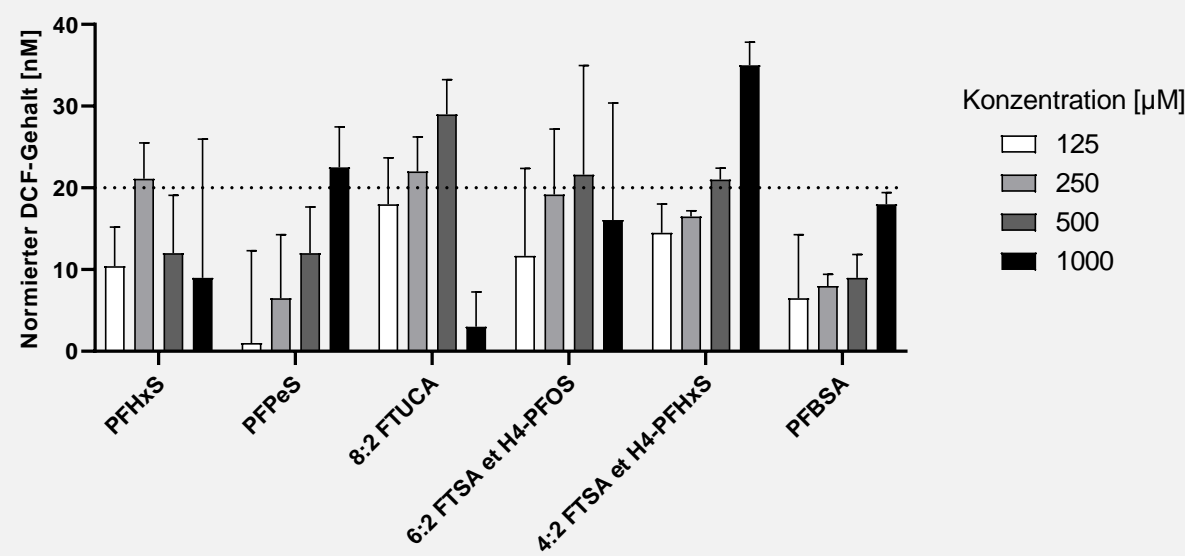
- Detektion von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) mittels 2',7'-dichlorofluorescein-diacetate





# Ergebnisse oxidativer Stress

- Es konnten in Bezug auf die Bildung von ROS vereinzelt Effekte gemessen werden.



ROS-Bildung durch PFAS (4 h Inkubation)

Substanz	ox. Stress
	ROS-DCF
tech-1	Green
tech-2	
PFBA	
PFMOBA	
PFPrOPrA (GenX)	
PFMOPrA	
PFPeA	
PFHxA	
PFHpA	
HPFHpA	
PFOA	
P37DMOA	
PFNA	
PFDoA	
PFUnDA	
4H- PFUnDA	
PFDoDA	
PFBS	Yellow
PFPeS	
PFHxS	
PFHpS	
PFOS	
6:2 FTSA et H4-PFOS	Green
PFNS	
PFDS	
2:2 FTOH	
4:2 FTOH	
6:2 FTOH	Green
8:2 FTOH	
10:2 FTOH	
8:2 FTUCA	
4:2 FTSA et H4-PFHxS	
6:2 FTSAM (DPOSA)	Pink
6:2 diPAP	
ADONA	
GenX	
6:2 FTAB et CDPOS et Capstone B	
PFBSA	Yellow
MeFBSA	
N- MeFBSAA	
PFOSA	
EtFOSA	
MeFOSA	
FOSAA	
MeFOSAA	
EtFOSAA	

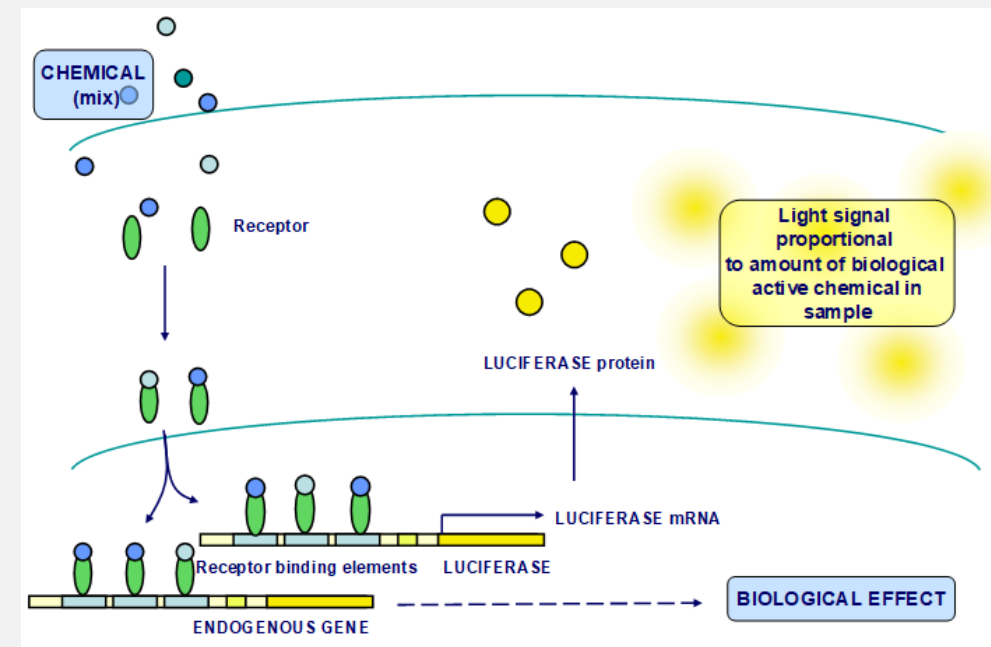


# Übersicht: *in vitro* Bioassays

Zell-basierter Endpunkt	Bioassay
Zytotoxizität	RTCA, ATP
Oxidativer Stress	ROS Detektion (DCFH-DA)
Östrogenität (ER)	ER $\alpha$ CALUX
Hemmung der Androgenität (anti-AR)	Anti-AR CALUX
Hemmung der Transportaktivität von Schilddrüsenhormonen	TTR-TR $\beta$ CALUX

## CALUX

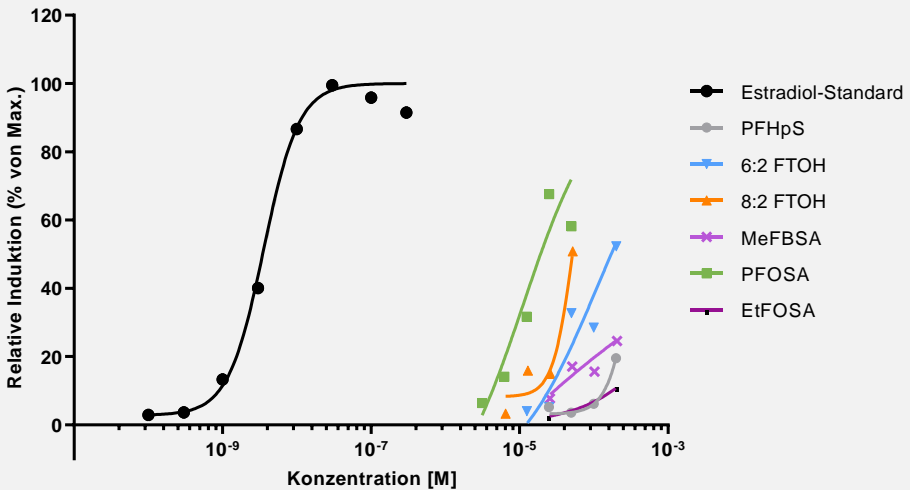
- von **Chemically Activated Luciferase eXpression**
- Aktivierung eines Reportergens führt in modifizierten Zellen zur Produktion des Enzyms Luciferase



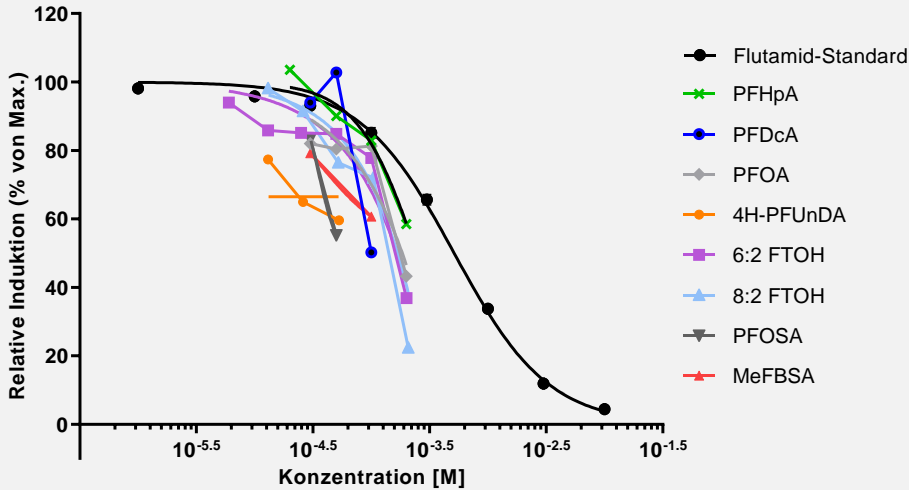


# Ergebnisse endokrine Wirkung

- Es konnten endokrine Effekte in Bezug auf die Bindung an den Estrogenrezeptor bzw. die Hemmung des Androgenrezeptors gemessen werden.



PFAS mit Effekten im ERα CALUX



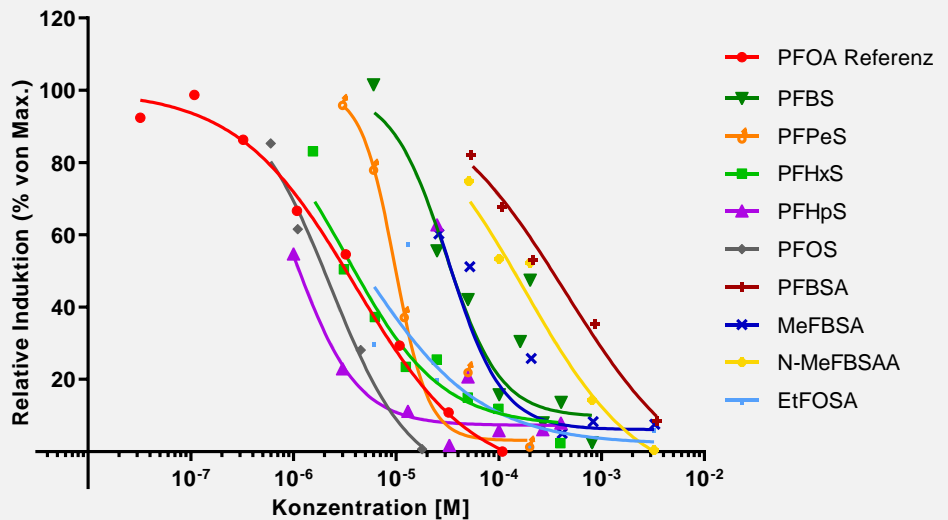
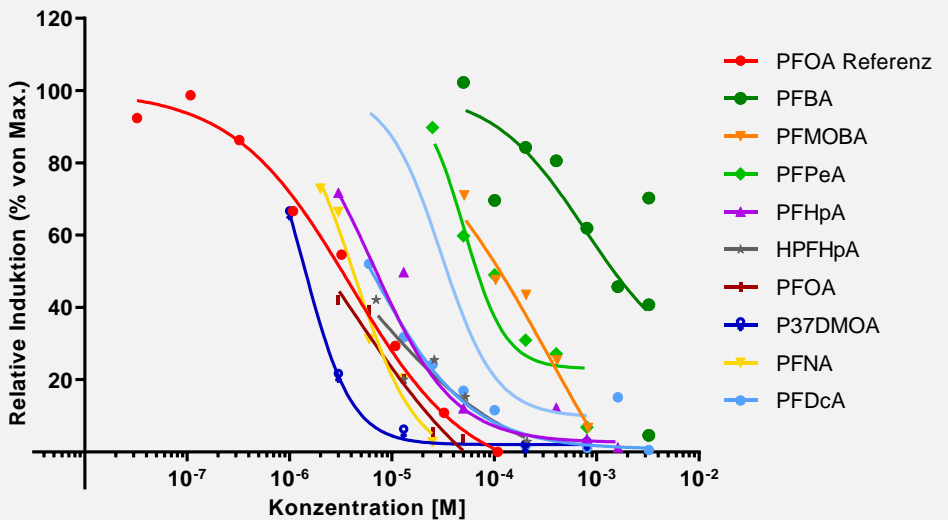
PFAS mit stärksten Effekten im anti-AR CALUX

Substanz	Rezeptor-Bindung	
	ERα Calux	anti-AR Calux
tech-1		
tech-2		
PFBA		
PFMOBA		
PFPrOPrA (GenX)		
PFMOPrA		
PFPeA		
PFHxA		
PFHpA		
HPFHpA		
PFOA		
P37DMOA		
PFNA		
PFDcA		
PFUnDA		
4H- PFUnDA		
PFDODA		
PFBS		
PFPeS		
PFHxS		
PFHpS		
PFOS		
6:2 FTSA et H4-PFOS		
PFNS		
PFDS		
2:2 FTOH		
4:2 FTOH		
6:2 FTOH		
8:2 FTOH		
10:2 FTOH		
8:2 FTUCA		
4:2 FTSA et H4-PFHxS		
6:2 FTSAM (DPOSA)		
6:2 diPAP		
ADONA		
GenX		
6:2 FTAB et CDPOS et Capstone B		
PFBSA		
MeFBASA		
N- MeFBASA		
PFOSA		
EtFOSA		
MeFOSA		
FOSAA		
MeFOSAA		
EtFOSAA		



# Ergebnisse endokrine Wirkung

- Es konnten endokrine Effekte in Bezug auf die inhibierende Wirkung zur Bindung des T4 an das TTR-Molekül gemessen werden.



PFAS mit stärksten Effekten im TTR-TRβ CALUX

Substanz	Rezeptor-Bindung
	TTR-TRβ Calux
tech-1	
tech-2	
PFBA	
PfMOBA	
PfPrOPrA (GenX)	
PfMOPrA	
PFPeA	
PFHxA	
PFHpA	
HPFHpA	
PFOA	
P37DMOA	
PFNA	
PFDA	
PFUnDA	
4H- PFUnDA	
PFDoDA	
PFBS	
PFPeS	
PFHxS	
PFHpS	
PFOS	
6:2 FTSA et H4-PFOS	
PFNS	
PFBSA	
MeFBSA	
N-MeFBSAA	
EtFOSA	
2:2 FTOH	
4:2 FTOH	
6:2 FTOH	
8:2 FTOH	
10:2 FTOH	
8:2 FTUCA	
4:2 FTSA et H4-PFHxS	
6:2 FTSAM (DPOSA)	
6:2 diPAP	
ADONA	
GenX	
6:2 FTAB et CDPOS et Capstone B	
PFBSA	
MeFBSA	
N- MeFBSAA	
PFOSA	
EtFOSA	
MeFOSA	
FOSAA	
MeFOSAA	
EtFOSAA	



## Übersicht der Ergebnisse

- v. a. Zytotox.-Modul sowie TTR-TRβ CALUX zur Bewertung geeignet
- keine einheitlichen toxischen Wirkungen
- keine allgemeinen Aussagen zur Toxizität von PFAS möglich

Substanz	Synonym	Zytotox		ox. Stress	Rezeptor-Bindung		
		RTCA	ATP	ROS-DCF	ERα Calux	anti-AR Calux	TTR-TRβ Calux
Scotchgard Pre-2002 Formulation (Tech mix)	tech-1						
Scotchgard Post-2002 Formulation (Tech mix)	tech-2						
perfluorobutanoic acid	PFBA						
perfluoro-4-methoxybutanoic acid	PFMOBA						
2-perfluoro-propoxypropanoic acid	PFPrOPrA (GenX)						
3-perfluoro-methoxypropanoic acid	PFMOPrA						
perfluoropentanoic acid	PFPeA						
perfluorohexanoic acid	PFHxA						
perfluoroheptanoic acid	PFHpA						
7H-perfluoro heptanoic acid	HPFHpA						
perfluorooctanoic acid	PFOA						
perfluoro(3,7-dimethyloctanoic acid)	P37DMOA						
perfluorononanoic acid	PFNA						
perfluorodecanoic acid	PFdCA						
Perfluoroundecanoic acid	PFUnDA						
2H,2H,3H-Heptadecafluoroundecanoic Acid	4H- PFUnDA						
Perfluorododecanoic acid	PFDoDA						
perfluorobutanesulfonic acid	PFBS						
Perfluoropentane sulfonic acid	PFPeS						
Perfluorohexane sulfonic acid	PFHxS						
Perfluoroheptane sulfonic acid	PFHpS						
Perfluorooctane sulfonic acid	PFOS						
3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,8-tridecafluorooctane-1-sulfonic acid	6:2 FTSA et H4-PFOS						
perfluorononane sulfonic acid	PFNS						
perfluorodecane sulfonic acid	PFDS						
2:2 fluorotelomer alcohol	2:2 FTOH						
1H,1H,2H,2H-Perfluorohexan-1-ol	4:2 FTOH						
1H,1H,2H,2H-Perfluorooctan-1-ol	6:2 FTOH						
1H,1H,2H,2H-Perfluoro-1-decanol	8:2 FTOH						
1H,1H,2H,2H-Perfluorododecan-1-ol	10:2 FTOH						
2H-Perfluoro-2-decenoic Acid	8:2 FTUCA						
1H,1H,2H,2H-Perfluorohexanesulphonic acid	4:2 FTSA et H4-PFHxS						
N,N-Dimethyl-3-((perfluorohexyl)ethylsulfonyl)aminopropanamine N-oxide	6:2 FTSAM (DPOSA)						
Bis[2-(perfluorohexyl)ethyl]phosphate	6:2 diPAP						
4,8-dioxa-3H-perfluorononanoic acid	ADONA						
Ammonium perfluoro(2-methyl-3-oxahexanoate) (GenX)	GenX						
2-[Dimethyl-[3-(3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,8-tridecafluorooctylsulfonylamino)propyl]azaniumyl]acetate	6:2 FTAB et CDPOS et Capstone B						
Perfluorobutylsulphonamide	PFBSA						
N-Methyl perfluorobutane sulfonamide	MeFBSA						
Perfluorobutanesulfonylamide(N-methyl)acetate	N- MeFBSAA						
Perfluorooctane sulfonamide	PFOSA						
N-Ethyl perfluorooctane sulfonamide	EtFOSA						
N-Methyl perfluorooctane sulfonamide	MeFOSA						
Perfluorooctane sulfonamidoacetic acid	FOSAA						
N-Methyl perfluorooctane sulfonamidoacetic acid	MeFOSAA						
N-Ethyl perfluorooctane sulfonamidoacetic acid	EtFOSAA						



# Ausblick: Verwertung der Ergebnisse

---

- Etablierung einer spezifischen *in vitro* Testbatterie mit relevanten toxikologischen Endpunkten für PFAS zur wirkungsorientierten Bewertung von (Trink-)Wasserproben
- Identifikation weiterer toxikologisch relevanter, noch nicht regulierter PFAS
- Priorisierung von PFAS anhand von relativen Potenzfaktoren/Äquivalentkonzentrationen auf Basis der *in vitro* Daten
- Mögliche Anpassung des Leitfadens „Gefährdungsbasiertes Risikomanagement für anthropogene Spurenstoffe zur Sicherung der Trinkwasserversorgung“



# Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!

**Dr. Anna Mittag**

[Anna.Mittag@uba.de](mailto:Anna.Mittag@uba.de)

Wissenschaftliche Mitarbeiterin

Fachgebiet II 3.6

Toxikologie des Trink- und Badebeckenwassers

Umweltbundesamt – DG Bad Elster

