

## EIGNUNG DER SPME FÜR BIOKONZENTRATIONSSTUDIEN MIT FISCHEN NACH OECD TG 305

### SUITABILITY OF SPME FOR FISH BIOCONCENTRATION STUDIES ACCORDING TO OECD TG 305

#### Hintergrund und Ziele

Der Biokonzentrationsfaktor (BCF) ist definiert als das Verhältnis der Konzentration eines Stoffes im Fisch zur Konzentration im Wasser im Gleichgewichtszustand zwischen Aufnahme und Elimination. Die an Fischen gemessenen BCF-Werte und n-Ok-tanol-Wasser Verteilungskoeffizienten ( $K_{ow}$ ) hydrophober organischer Chemikalien (HOC) zeigen bis  $\log K_{ow}$  5-6 eine lineare Beziehung. Für Substanzen höherer Lipophilie werden jedoch keine zunehmenden, sondern sogar sinkende BCF-Werte beobachtet (hydrophobicity cutoff). Für diesen Effekt werden sterische Effekte oder Messungsartefakte als Gründe angeführt. Es gibt Hinweise, dass die Präsenz gelöster organischer Substanz im Wasser zu gebundenem, nicht verfügbarem HOC führen kann, was die Überschätzung des bioverfügbaren Anteils von HOC und damit die Unterbestimmung der wahren Anreicherung zur Folge haben kann. Dies wurde unterstützt durch die Bestimmung der Konzentration frei gelöster Substanz im Wasser durch Festphasenmikroextraktion (SPME). Das Standardverfahren für die Messung von Substanzkonzentrationen in BCF-Tests nach OECD TG 305 ist jedoch die Flüssig-Flüssig-Extraktion (LLE), die zur Bestimmung der absoluten Analytkonzentration im Wasser führt. Für BCF-Studien mit Fischen sind bis zu  $5 \text{ mg L}^{-1}$  partikuläre Substanz und  $2 \text{ mg L}^{-1}$  organischer Kohlenstoff (TOC) im Verdünnungswasser zulässig, bis  $10 \text{ mg L}^{-1}$  im Testsystem. Spezifische Maßnahmen, um die durch die reduzierte Bioverfügbarkeit von Testsubstanzen entstehenden Interpretationsprobleme zu lösen, sind jedoch nicht definiert. Ziel dieser Studie war es zu untersuchen, ob die im Rahmen von BCF-Studien nach OECD TG 305 zulässigen TOC-Gehalte im Testwasser zu einer Überschätzung des bioverfügbaren Anteils von HOC im Wasser führen können, wenn Messungen mit LLE durchgeführt werden.

#### Projektbeschreibung

Wasser mit unterschiedlichen Konzentrationen an organischer gelöster Substanz wurde mit unterschiedlichen Testsubstanzen ( $\log K_{ow}$  5.3-8.1) versetzt und mit SPME analysiert.

Die Ergebnisse wurden mit den Ergebnissen der üblichen LLE-Methode verglichen.

#### Ergebnisse

Die Ergebnisse zeigen, dass die Konzentration frei gelöster, hoch hydrophober Substanz, die der bioverfügbaren Fraktion entspricht, durch Sorption an organische Substanz bereits unter der gemäß OECD TG 305 zulässigen Konzentration von  $2 \text{ mg L}^{-1}$  TOC im Verdünnungswasser signifikant reduziert werden kann. Figure 1 präsentiert den Verlauf der Quotienten aus dem Analytgehalt in reinem Wasser ( $\text{HOC}_{\text{total}}$ ) und bei Anwesenheit verschiedener TOC-Gehalte ( $\text{HOC}_{\text{TOC}}$ ). Aus der Steigung der Geraden kann der Sorptionskoeffizient (KOC) berechnet werden, der die Stärke der Bindung einer Substanz an organische Substanz enthaltende Matrices zum Ausdruck bringt. Die Grafik stellt den Kurvenverlauf für die Testsubstanz Diethylhexyladipat (DEHA) ( $\log K_{ow}$  8.1) bei steigendem TOC-Gehalt (Aldrich Huminsäure) dar.

#### Fazit

SPME kann wichtige Informationen zum Verhältnis von gebundener und frei gelöster Substanz liefern und damit helfen, akzeptable TOC-Konzentrationen für die Durchführung von BCF-Studien nach OECD TG 305 mit hoch lipophilen Substanzen zu bestimmen. SPME sollte jedoch die Messung durch LLE im Rahmen von BCF-Studien nicht ersetzen, um die Vergleichbarkeit früherer und zukünftiger Studien zu ermöglichen.

#### Kooperationspartner / Cooperation partner

PD Dr. Rolf-Alexander Düring, Institut für Bodenkunde und Bodenerhaltung, Justus-Liebig-Universität Gießen



## Background and aims

The bioconcentration factor (BCF) is defined as the steady-state ratio of the concentration of a substance in fish to its concentration in water. BCFs of hydrophobic organic chemicals (HOCs) measured for fish and n-octanol-water partition coefficients ( $K_{ow}$ ) show a curvilinear relationship up to  $\log K_{ow}$  5-6. BCF values for more lipophilic substances tend to level off or decline (hydrophobicity cutoff). This may result from steric effects, but also measurement artefacts. It has been suggested that the overestimation of bioavailable aqueous HOCs by the presence of non-bioavailable HOCs bound to dissolved organic matter might lead to the underestimation of true uptake. This was supported by the determination of freely dissolved aqueous concentrations by solid-phase microextraction (SPME). However, the standard method for sample preparation in BCF tests according to OECD TG 305 is liquid-liquid extraction (LLE) to determine total aqueous concentrations. In fish BCF studies, the presence of up to 5 mg L<sup>-1</sup> particulate matter and organic carbon up to 2 mg L<sup>-1</sup> total organic carbon (TOC) are accepted in the dilution water, and up to 10 mg L<sup>-1</sup> in the test vessels. However, specific measures to circumvent the problems caused by the presence of non-bioavailable fractions of test chemicals for the estimation of BCFs are not defined. The aim of this study was to investigate whether the permitted concentrations of TOC in the test water according to OECD TG 305 may lead to the overestimation of bioavailable aqueous HOCs when measured by LLE.

## Approach

Water with different concentrations of organic matter was spiked with different test substances ( $\log K_{ow}$  5.3 - 8.1) and analyzed at equilibrium conditions. Analysis of samples with SPME was compared to conventional sample preparation with LLE.

## Results

The results showed that the freely dissolved concentration of highly hydrophobic analytes (which corresponds to the bioavailable fraction) can be significantly reduced due to sorption to organic matter, when this is present below the permitted concentration of 2 mg L<sup>-1</sup> TOC in the dilution water according to OECD TG 305. Figure 1 presents the trajectory of quotients from total and TOC-bound analytes which lead to the sorption coefficient KOC. The diagram represents the distribution of freely dissolved and TOC-bound analyte, for the test substance diethylhexyladipate (DEHA) with increasing levels of TOC (Aldrich Humic Acid).

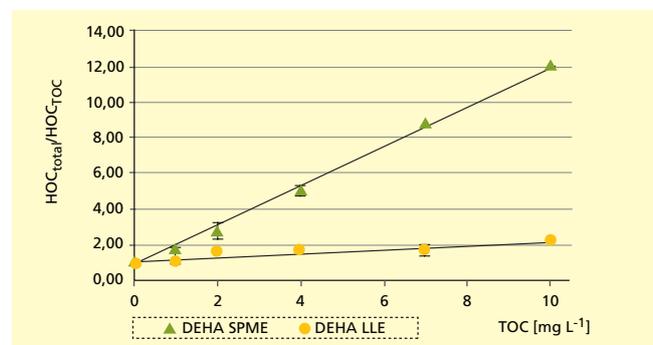


Figure 1: DEHA = diethylhexyladipate;  $HOC_{total}$  = total concentration of analyte in water;  $HOC_{TOC}$  = concentration of freely dissolved analyte

## Conclusion

SPME can provide important information about the ratio between bound and freely dissolved compounds and can help to estimate acceptable TOC concentrations for highly lipophilic substances prior to a BCF study. However, SPME measurements should not replace LLE procedures as the standard method for sample preparation to keep the results of BCF studies comparable.

## Contact / Ansprechpartner

Dr. Christian Schlechtriem

Tel: +49 2972 302 - 186

christian.slechchtriem@ime.fraunhofer.de