

BIOKONZENTRATIONSTUDIEN MIT DEM MEXIKANISCHEN FLOHKREBS *HYALELLA AZTECA*

BIOCONCENTRATION STUDIES WITH THE FRESHWATER AMPHIPOD *HYALELLA AZTECA*

Hintergrund und Ziele

Das maßgebliche Kriterium zur Bewertung der Bioakkumulation von Chemikalien im Rahmen der REACH-Regulation (Annex XIII) ist der Biokonzentrationsfaktor (BCF), der die Aufnahme einer Substanz aus dem umgebenden Medium (Wasser) reflektiert. BCF-Werte werden üblicherweise anhand von Durchflussstudien mit Fischen nach OECD 305 (2012) bestimmt. Fisch-Bioakkumulationsstudien sind zeitaufwendig, teuer, und haben einen hohen Bedarf an Versuchstieren. Ziel dieser Studie war es, die Eignung des Mexikanischen Flohkrebse *Hyalella azteca* für Biokonzentrationsstudien zu untersuchen.

Projektbeschreibung

Die Biokonzentration einer hoch lipophilen Testsubstanz wurde untersucht. Um den Einsatz von Lösungsvermittlern zu vermeiden, wurde eine durch Säulenelution generierte Testlösung verwendet. Während der Studie aus dem Versuchsbecken entnommene Tierproben wurden auf ihren Gehalt an Testsubstanz untersucht. Der kinetische Versuchsaufbau ermöglichte die Bestimmung der Aufnahme- und Eliminationsrate, die zur Bestimmung eines kinetischen BCF verwendet wurden. Das Ergebnis wurde mit den Daten aus einer Fisch-Biokonzentrationsstudie mit Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) verglichen, die zuvor mit der gleichen Testsubstanz gemäß der revidierten Richtlinie OECD 305 (2013) durchgeführt worden war. In beiden Studien wurden zusätzlich Tierproben entnommen, um den Lipidgehalt der Tiere zu bestimmen. Die ermittelten Gewebskonzentrationen wurden auf einen Lipidgehalt von 5 % hin normalisiert, um die Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten.

Ergebnisse

Die Entnahme von 3 x 10 Flohkrebse (männliche Tiere) zu den unterschiedlichen Samplingzeitpunkten ergab eine ausreichende Probenmenge zur Untersuchung der Gewebskonzentrationen.

Die Gewebsegehalte der Versuchstiere erreichten das Konzentrationsgleichgewicht nach einer wesentlich kürzeren Zeit im Vergleich zur Fischstudie. Ebenso wurde eine wesentlich kürzere Eliminationsphase benötigt, um eine 90 %ige Abnahme der zuvor akkumulierten Gewebskonzentration zu erzielen. Aufnahme- und Eliminationsraten wurden bestimmt. Der in der Durchflussstudie mit *H. azteca* ermittelte Biokonzentrationsfaktor stimmt mit dem Ergebnis der Fischstudie weitgehend überein (Figure 1).

Fazit

H. azteca hat ein hohes Potenzial, Fische als Versuchstiere für Bioakkumulationsstudien zu ersetzen. Biokonzentrationsstudien mit den wirbellosen Tieren sind durchführbar und führen zu vergleichbaren Ergebnissen wie Studien mit Fischen. Der Einsatz von *H. azteca* würde den Aufwand und die Kosten zur Durchführung von BCF-Studien erheblich senken. Die Untersuchung weiterer Substanzen ist erforderlich, um die Eignung des BCF-Tests mit *H. azteca* für die regulatorische Stoffbewertung zu bestätigen.

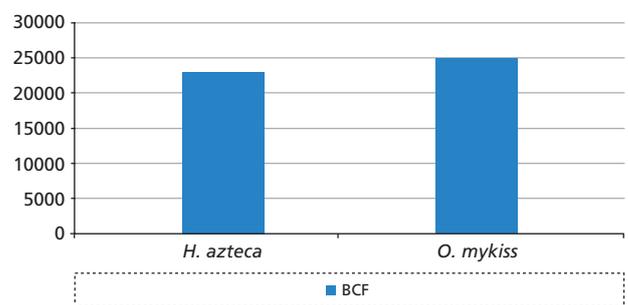


Figure 1: Bioconcentration of a highly lipophilic test substance in the amphipod *H. azteca* and the rainbow trout *O. mykiss*. Steady-state BCF values are presented.

Auftraggeber / Sponsor

Die Untersuchungen wurden aus Mitteln der Fraunhofer-Gesellschaft finanziert



Background and aims

The ultimate decisive bioaccumulation criterion as part of the REACH regulations (Annex XIII) is the bioconcentration factor (BCF) reflecting the uptake of a test substance from the contaminated surrounding medium. Bioconcentration factors for regulatory purposes are usually determined by fish flow-through tests according to TGD OECD 305. Fish bioaccumulation studies are time-consuming, expensive and use many animals. Alternative methods that replace the use of fish for BCF testing would therefore be valuable. The aim of this study was to investigate whether the freshwater amphipod *Hyalella azteca* can be used as an alternative test organism for the measurement of bioconcentration factors.

Approach

We investigated the uptake and accumulation of highly lipophilic test substances from water using column-generated concentrations to avoid the use of solvents. Animals collected during the bioaccumulation study were analyzed for tissue concentrations of these substances. Based on the kinetic study design, the depuration and uptake rates were determined and used to calculate a kinetic BCF estimate. The results were compared with BCF values obtained from a fish bioconcentration study in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) which was previously carried out according to the revised TGD OECD 305. In both studies, additional animals were collected for lipid analysis. Tissue concentrations were normalized to a lipid content of 5% so that the results from bioaccumulation tests using fish and *H. azteca* were comparable.

Results and Discussion

Bioconcentration factors determined in the *H. azteca* bioaccumulation study were similar to those obtained in the fish test (Fig. 1). However, the steady-state tissue concentration of each substance was reached in the *H. azteca* study within a significantly shorter uptake period. The collection of 3 x 10 adult

amphipods (male) at each sampling point resulted in a pooled biomass that was sufficient to quantify tissue concentrations. Therefore the uptake and elimination rates could be determined in *H. azteca* in the same manner as bioconcentration testing in rainbow trout, but the depuration period required to achieve 90% elimination of the accumulated test substances was significantly shorter.

Conclusion

H. azteca can be used to investigate the bioaccumulation of test substances from water (bioconcentration) and appears to be a suitable alternative test organism for bioaccumulation studies. The estimated BCF obtained in the *H. azteca* study was similar to that obtained in a fish test. Bioaccumulation studies in *H. azteca* promote animal welfare by using an invertebrate species while improving the efficiency and reducing the costs for BCF testing. Investigations using additional substances will be required to verify the suitability of BCF tests with *H. azteca* for regulatory purposes.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Christian Schlechtriem
Tel: +49 2972 302-186
christian.schlechtriem@ime.fraunhofer.de

Figure 2: *Hyalella azteca*.