

# SÄULENAPPLIKATION ZUR HERSTELLUNG VON TESTLÖSUNGEN HOCH LIPOPHILER SUBSTANZEN

## COLUMN GENERATED CONCENTRATIONS OF HIGHLY-LIPOPHILIC TEST SUBSTANCES

### Hintergrund und Ziele

Hoch lipophile Testsubstanzen (HLS;  $\log K_{ow} > 5$ ) sind gekennzeichnet durch eine niedrige Wasserlöslichkeit und ein hohes Adsorptionspotential. Spezielle Methoden zur Herstellung von Testmedien sind daher erforderlich, wenn HLS im Rahmen von ökotoxikologischen Studien untersucht werden. Der Einsatz von Lösungsvermittlern zur Steigerung der Löslichkeit dieser Substanzen kann die Ergebnisse der Studien beeinflussen und sollte daher vermieden werden. Testlösungen mit HLS können durch die Herstellung von Water Accommodated Fractions (WAF) erzielt werden. Entsprechende Methoden wurden durch CONCAWE (1992) und ASTM (1997), und modifiziert durch Schäfers *et al.* (2009), beschrieben. Die Herstellung von WAFs erfolgt durch langsames Rühren der Testsubstanz im Testmedium bis stabile Konzentrationen erreicht werden. Die kontinuierliche Produktion von WAFs ist auf diese Weise jedoch nicht möglich, wodurch der Einsatz auf semi-statische Tests begrenzt wird. Ziel dieser Studie war es zu prüfen, ob Testlösungen mit konstanten HLS-Konzentrationen durch eine modifizierte Säulenelutionstechnik gemäß OECD 105 (1995) erzielt werden können, die im Rahmen von Durchflussstudien (z. B. nach OECD 305) eingesetzt werden können.

### Projektbeschreibung

Glassäulen (Höhe: 60 cm, Innendurchmesser: 5 cm; Figure 4) wurden mit einer adsorptiven Matrix (Florisil) gefüllt, die zuvor mit Hexachlorbenzol (HCB,  $\log K_{ow} = 5,2$ ) oder PCB 153 ( $\log K_{ow} = 7,8$ ) angereichert wurde. Die Wasserflussrate wurde in Abhängigkeit von der Testsubstanz zwischen 1 und 10 mL/min eingestellt. Die durch die Säulentechnik generierten Konzentrationen wurden regelmäßig gemessen (GC/MS) und über einen Zeitraum von 56 Tagen erfasst. Die aus der Säule austretende Lösung wurde mit Leitungswasser in einer Mischkammer verdünnt, um die Einstellung gewünschter Testkonzentrationen für eine Durchflussstudie nach OECD 305 zu erzielen.

### Ergebnisse

Testmedien mit konstanten Konzentrationen konnten mit der Säulenelutionstechnik über einen Zeitraum von acht Wochen für HCB (0,4 µg/L) und PCB 153 (30 ng/L) erzielt werden (Figure 1, 2). Die Produktionsmenge von zwei Glassäulen erlaubte dabei den siebenfachen täglichen Austausch der Testmedien in 80 L fassenden Versuchsbecken. Die gemessenen Abweichungen von der Durchschnittskonzentration der Testmedien waren dabei stets kleiner als  $\pm 20\%$ .

### Fazit

Die Säulenelutionstechnik ermöglicht die Herstellung konstanter HLS-Konzentrationen über einen langen Versuchszeitraum und eignet sich daher für den Einsatz im Rahmen von Durchflussstudien. Die Lösungskonzentrationen liegen stets unterhalb der substanzspezifischen Wasserlöslichkeit. Der Einsatz von Lösungsvermittlern ist nicht erforderlich.

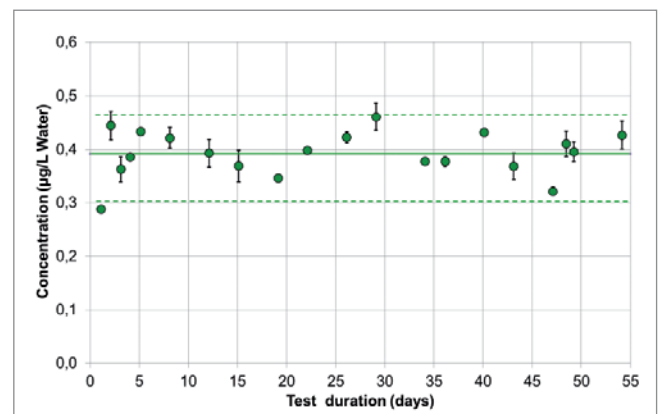
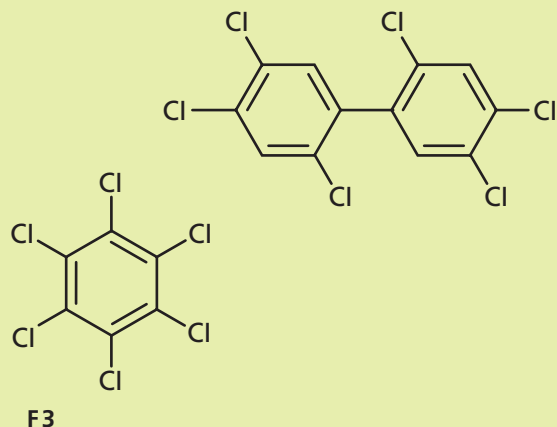


Figure 1: Constant HCB concentrations (mean  $\pm 20\%$ ) generated using the column-elution technique, and verified by GC-MS after SPME.

### Auftraggeber / Sponsor

Umweltbundesamt (UBA), FKZ 3710 63 402 2



## Background and aims

Highly-lipophilic test substances (HLS) are characterized by  $\log K_{ow}$  values  $>5$ , poor solubility in water and a high potential for adsorption. Aqueous ecotoxicology studies of such substances for regulatory purposes therefore require specific methods for the preparation of test media. The use of solvents and solubilizing agents for the preparation of concentrated stock solutions is not recommended because these may cause test artifacts. Alternatively, HLS test solutions can be prepared using water-accommodated-fraction (WAF) methods according to CONCAWE (1992) and the ASTM standard D6081-97 (ASTM, 1997), with possible modifications as described by Schäfers et al. (2009). WAFs are prepared by stirring the test substance in test media under slow-stir conditions until stable concentrations are reached. However, this only allows the batch preparation of test solutions and is not suitable for flow-through tests where a continuous supply of test media is required. The aim of this study was to determine whether constant concentrations of HLS can be generated and maintained using a column-elution technique similar to OECD 105 (1995).

## Approach

Glass columns (height: 60 cm; inner diameter: 5 cm) as shown in Fig. 4 were filled with a carrier material (Florisil) loaded with hexachlorobenzene (HCB;  $\log K_{ow} = 5.2$ ) or PCB 153 ( $\log K_{ow} = 7.8$ ) and the water flow rate was adjusted to 1–10 mL/min, depending on the compound. HLS concentrations generated on the column were measured regularly by GC/MS over a period of 56 days. The column outlet was diluted with fresh water in a mixing chamber to achieve the desired HLS concentrations.

## Results

Constant concentrations were achieved for HCB (0.4  $\mu\text{g/L}$ ) and PCB 153 (30 ng/L) over a period of 8 weeks (Fig. 1, 2). The diluted outlet of two columns was sufficient to achieve a seven-fold replacement of test medium in experimental tanks with a

volume of 80 L, with a deviation in the measured concentrations of  $\pm 20\%$  compared to the estimated time-weighted average concentration.

## Conclusion

The column-elution technique is suitable for delivering constant concentrations of HLS at low ppb levels and below water solubility for flow-through tests, without the need for solvents or solubilizing agents.

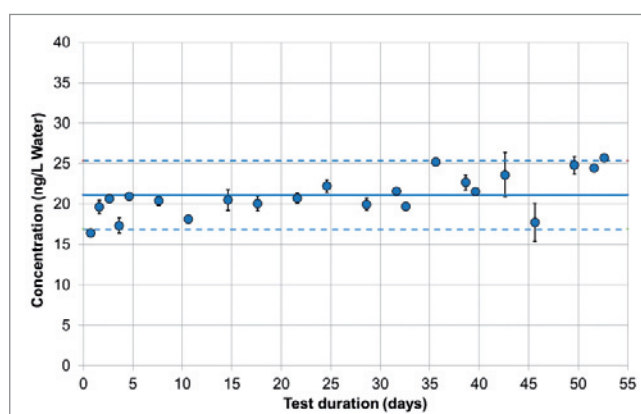


Figure 2: Constant PCB 153 concentrations (mean  $\pm 20\%$ ) generated using the column-elution technique, and verified by GC-MS after SPME.

## Contact / Ansprechpartner

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

Dr. Josef Müller  
 Tel: +49 2972 302-216  
 josef.mueller@ime.fraunhofer.de

Figure 3: HCB (left) and PCB 153 molecules.

Figure 4: Glass columns filled with carrier material.