



Mischungstoxizität von Nanomaterialien und Chemikalien

Dana Kühnel (dana.kuehnel@ufz.de), Steffi Böhme (steffi.boehme@ufz.de)

Zusammenfassung

Nanomaterialien (NM) finden aufgrund ihrer Eigenschaften vielfältige Anwendung in Produkten und können so in die Umwelt freigesetzt werden. Dort können sie mit einer Reihe von Chemikalien interagieren. Dabei können NM als Vektoren dienen und eine Aufnahme der Chemikalien in Organismen begünstigen, und in der Folge zu einer Verstärkung der Toxizität führen. Dieser Mechanismus wird als „Trojanischer Pferd“-Effekt bezeichnet. Dabei ist bisher unklar, ob es sich dabei um einen generellen Mechanismus handelt und wie die NM-Chemikalie-Interaktion durch die jeweiligen physikalisch-chemischen Eigenschaften beeinflusst werden. Deshalb wurden insgesamt 119 Studien evaluiert, die sich mit Mischungseffekten von NM und Chemikalien in ökotoxikologischen *in vitro* und *in vivo* Modellen beschäftigen. Anhand der Daten zur Akkumulation und den auftretenden Effekten nach einer Exposition zu NM-Chemikalie-Mischungen wurde deutlich, dass neben dem „Trojanischen Pferd“-Effekt noch diverse andere Mechanismen existieren.

Einleitung

In den vergangenen Jahren wurden NM in verschiedensten Umweltkompartimenten nachgewiesen. Dazu gehören Abwässer von Kläranlagen, Klärschlamm oder Oberflächenwasser (Baun et al. 2008; Brausch et al. 2010). Das Auftreten und die Verteilung von NM in der Umwelt führen zu einer potentiellen Interaktion mit ebenfalls anwesenden Chemikalien. Diese Mischungen weisen ein bisher nicht gut beschriebenes Gefährdungspotential auf, welches bisher schlecht aus den Wirkungen der Einzelsubstanzen abgeschätzt werden kann (Hartmann und Baun 2010). Dabei kann das NM als Substanzträger für verschiedene organische Chemikalien oder Schwermetalle fungieren und deren Aufnahme in Organismen erleichtern. Dieser „Trojanisches Pferd“-Effekt von NM wurde erstmals 2007 durch Limbach et al. postuliert. In diesem Mechanismus einbezogen wurden sowohl eine erhöhte Akkumulation der Chemikalie, als auch Veränderungen auf Ebene der biologischen Effekte.

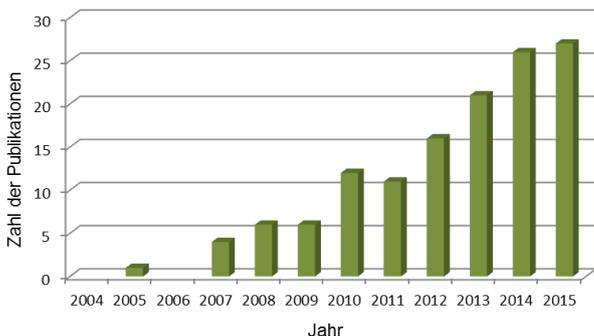
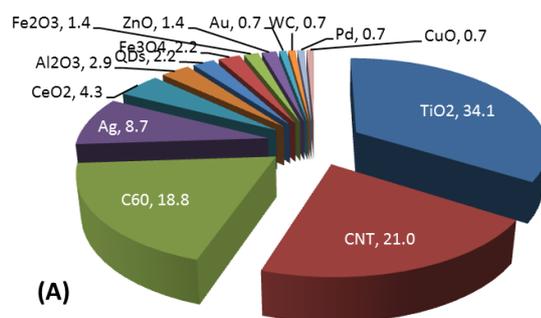


Abb. 1: Zahl der Publikationen in den Jahren 2004-2015 zu Nanomaterialien-Chemikalien Mischungseffekten

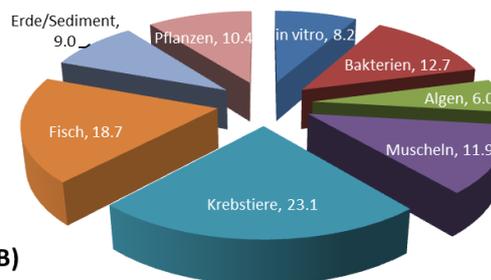
Um die Aussagen zur Wirkung verschiedener NM-Chemikalien-Mischungen systematisch zu betrachten, wurde 119 Literaturstellen (Abb. 1) ausgewertet (Böhme et al.). Dabei ging es vor allem darum, speziess- und chemikalienübergreifende Mischungseffekte zu identifizieren, prinzipielle Mechanismen aufzuzeigen und so zu einer einheitlichen Nomenklatur beizutragen.

Kriterien zur Beurteilung der Studien

Zunächst wurden die identifizierten Mischungsstudien nach untersuchter Chemikalie bzw. NM und nach dem eingesetzten biologischen Modell kategorisiert. Folgende Chemikalien wurden berücksichtigt: polare und unpolare Substanzen, Arzneimittel und Hormone, organometallische Verbindungen, sowie amphiphile Stoffe und Schwermetalle. Die Nanomaterialien wurden in folgende Klassen unterteilt: kohlenstoffhaltige Materialien (SWCNTs, MWCNTs, C₆₀), Metall- oder Metalloxidpartikel (z.B. AuNPs, TiO₂), halbleitende Nanokristalle (z.B. quantum dots) sowie Polymere. Die meisten Studien wurden an den Kohlenstoff-basierten NM CNT und C₆₀, sowie an TiO₂ durchgeführt (**Abb. 2A**). Die Verteilung der Mischungsstudien nach den eingesetzten biologischen Testmodellen zeigt, dass der Großteil der Studien an Krebsstieren (z.B. Daphnien) und an Fischen durchgeführt wurde (**Abb. 2B**).



(A)



(B)

Abb. 2: Prozentuale Verteilung von genutzten Nanomaterialien **(A)** und biologischen Testsystemen **(B)** in Mischungsstudien.

In einem zweiten Schritt wurden die Studien hinsichtlich der durchgeführten Experimente kategorisiert: (1) Akkumulationsstudien, (2) Toxizitätsstudien und (3) Studien, die sowohl die Akkumulation als auch die Toxizität der Mischung untersuchten. Dabei wurde jeweils die Änderung der Akkumulation oder des biologischen Effekts der Mischung zur Wirkung der Einzelsubstanz verglichen.

Akkumulationsverhalten der Chemikalie in Anwesenheit eines Nanomaterials

Eine Ko-Exposition von Chemikalien und NM kann eine erhöhte Akkumulation der Chemikalie im biologischen Testsystem verursachen. Limbach et al. waren die ersten, die 2007 beschrieben, wie NM als potentielle Träger für Chemikalien fungieren können und so deren Aufnahme in Zellen erleichtern. Insgesamt 85 der ausgewählten Studien (entspricht 71 %) haben die Aufnahme der Chemikalien in Organismen quantitativ untersucht. Lediglich 24 % der 85 Studien haben parallel ebenfalls die NM-Aufnahme analysiert.

Die Mehrheit der Studien ermittelte eine erhöhte Akkumulation der Chemikalie im Testsystem nach Co-Exposition mit NM (Abb. 3), und bestätigt damit, das NM als „Trojanisches Pferd“ agieren können. Allerdings wird in 25 der Studien eine Verringerung der Chemikalienaufnahme bei Co-Exposition mit einem NM beschrieben. In 10 Studien wurde eine unveränderte Akkumulation der Chemikalie in Anwesenheit eines NM beobachtet.

Eine entscheidende Rolle für die Modulation der Chemikalienaufnahme in den Organismus spielt dabei die Adsorptionsstärke zwischen dem NM und der Chemikalie. Beispielsweise wurde in der Studie von Dalai et al. (2014) beobachtet, dass Chrom(VI) stärker von TiO₂- (94 %) als von Al₂O₃-Nanopartikeln (79 %) adsorbiert wird. Interessanterweise wurde in dieser Studie jedoch auch eine 10-mal höhere Aufnahme der TiO₂-Partikel im Gegensatz zu Al₂O₃-Partikeln in Algenzellen (*S. obliquus*) beobachtet, so dass auch die Partikeleigenschaften die Aufnahme in Organismen beeinflussen. Die erhöhte Adsorption von Chrom(VI) induzierte gleichzeitig eine erhöhte TiO₂-Partikel-Agglomeration, so dass letztendlich die Mischung zu einer geringeren Verfügbarkeit von Chrom(VI) für die Algen im Vergleich zur Einzelsubstanz führte.

Im Gegensatz dazu wurden für Mischungen von organischen Chemikalien und kohlenstoffhaltigen NM eher eine reduzierte Aufnahme der Chemikalien (bis zu -40 %) beobachtet (De La Torre-Roche et al. 2013; Farkas et al. 2015). Diese Beobachtung wird häufig darauf zurückgeführt, dass die Chemikalie durch die Anwesenheit des NM oder im Organismus modifiziert wird und Abbauprodukte bzw. Metabolite der Ausgangschemikalie gebildet werden. Beispielsweise beobachteten Fang et al. (2015) in Anwesenheit von TiO₂-Partikeln eine Umwandlung der Chemikalie PCP in Tetrachlorohydroquinon.

Außerdem kann die Bioverfügbarkeit der Chemikalie durch das spezifische Verhalten von NM in wässrigen, elektrolythaltigen Lösungen beeinflusst werden. Bestimmte NM neigen unter diesen Bedingungen zu einer Agglomeration, welche je

nach den Versuchsbedingungen zu einer Sedimentation der Partikel führt. Dieser Vorgang führt dazu, dass die Chemikalie für die Organismen nicht mehr verfügbar ist. Das kann insbesondere für Meerwasser mit hoher ionischer Stärke beobachtet werden. So zeigte sich bei der Co-Exposition von Muscheln mit B(a)P und TiO₂, dass der Großteil der Chemikalie durch die Partikel gebunden wurde, welche allerdings durch die schnelle Sedimentation nicht mit den Testorganismen in Kontakt kamen (Farkas et al. 2015).

NM können ebenso indirekt die Aufnahme von Chemikalien erhöhen, indem sie Pflanzenzellen schädigen oder anderweitig die Aufnahme von Chemikalien in Zellen erleichtern, ohne dass die chemischen Substanzen hierbei an die NM binden (Hartmann et al. 2012). Dieser Mechanismus wurde für CNTs, die die Pflanzenzellen des Weizen (*Triticum L.*) schädigen und so die Chemikalie Phenanthren ungehindert in die Zelle eindringen lassen, nachgewiesen (Wild und Jones 2009).

Zusammenfassend beeinflusst die Anwesenheit von NM die Aufnahme von Chemikalien, wenn (i) eine Adsorption der Chemikalie an der Partikeloberfläche stattfindet und (ii) die NM vom biologischen System aufgenommen werden. Wenn beide Konditionen erfüllt sind, kann man von einem „Trojanischen Pferd“-Effekt sprechen. Sofern aber die Chemikalie von NM oder vom Organismus modifiziert wird oder indirekte Effekte die Aufnahme der Chemikalie erleichtern, kann nicht von einem solchen Effekt gesprochen werden.

Veränderungen in toxikologischen Effekten aufgrund einer NM-Chemikalien Mischungsexposition

Insgesamt wurden 119 Studien gefunden, die sich mit den biologischen Auswirkungen von NM-Chemikalien-Mischungen auf verschiedene Testsysteme befasst haben. Die Mehrheit dieser Studien beschrieb eine erhöhte Toxizität (66 %) infolge einer Mischungsexposition (Abb. 3). Von den restlichen Studien beschrieben 19 % eine reduzierte und 15 % eine unveränderte Toxizität der Chemikalie in Anwesenheit des NM.

In Studien, in denen eine erhöhte Toxizität beobachtet wurde, wurden verschiedenste NM-Chemikalien-Mischungen untersucht: metallisches NM / Schwermetall (Han et al. 2011), metallisches NM / organische Chemikalie (Falfushynska et al. 2015), kohlenstoffhaltiges NM / Schwermetall (Chai et al. 2013) und kohlenstoffhaltiges NM / organische Chemikalie (Hu et al. 2013). Bei der Mehrzahl dieser Studien (mit Ausnahme von Mischungen bestehend aus einem metallischen NM mit einer organischen Chemikalie) stand die erhöhte Toxizität in direktem Zusammenhang mit einer erhöhten Akkumulation der Chemikalie im biologischen Testsystem. Dabei zeigte sich, dass insbesondere die Chemikalie für die erhöhte Toxizität verantwortlich ist (Dalai et al. 2014). Eine Erklärung dafür ist, dass die untersuchten NM alleine kaum toxische Effekte hervorrufen.

Akkumulation				Toxizität			
Mischung	Erhöhung	Reduzierung	Gleichbleibend	Mischung	Erhöhung	Reduzierung	Gleichbleibend
Metallisches NM & Schwermetall	68.6 %	17.1 %	14.3 %	Metallisches NM & Schwermetall	64.3 %	23.8 %	11.9 %
Metallisches NM & organische Chemikalie	41.7 %	41.7 %	16.7 %	Metallisches NM & organische Chemikalie	74.2 %	12.9 %	12.9 %
Kohlenstoffhaltiges NM & Schwermetall	86.7 %	13.3 %	0.0 %	Kohlenstoffhaltiges NM & Schwermetall	84.6 %	7.7 %	7.7 %
Kohlenstoffhaltiges NM & organische Chemikalie	34.8 %	52.2 %	13.0 %	Kohlenstoffhaltiges NM & organische Chemikalie	50.0 %	25.0 %	25.0 %
Anzahl Studien insgesamt	50	25	10	Anzahl Studien insgesamt	75	22	17

Abb. 3: Prozentuale Verteilung von Erhöhung, Reduzierung und gleichbleibender Akkumulation bzw. Toxizität der jeweiligen Mischungsexposition. Die Kategorisierung der Mischungseffekte (Akkumulation/Toxizität) erfolgte immer in Bezug auf die entsprechende Exposition mit den Einzelsubstanzen und bezieht sich lediglich auf die eingesetzte Chemikalie. Die Gesamtzahl an Studien, die in die entsprechenden Kategorien `Erhöhung`, `Reduzierung` und `gleichbleibend` eingeordnet wurden, sind in der letzten Zeile aufgeführt

Die Studien, in welchen keine Veränderungen in der toxischen Wirkung auftrat, zeigten eine verstärkte (Hartmann et al. 2012) oder keinerlei Aufnahme (Tedesco et al. 2010) der Chemikalie. Eine verringerte Toxizität trat oftmals dann auf, wenn die Chemikalie aufgrund von Transformationsprozessen zu weniger toxischen Produkten abgebaut wurde. Beide Fälle können durch eine schwache bis ausbleibende Wechselwirkung zwischen NM und Chemikalie begründet werden, so dass sich die internen Konzentrationen der Chemikalie bei Einzel- und Co-Exposition nicht unterscheiden (Vale et al. 2014). Die Sedimentation (Farkas et al. 2015), Agglomeration, Löslichkeit (Stanková 2015) und Modifizierung (Tourinho et al. 2015) von NM im Testmedium (insbesondere im Boden und Meerwasser) können die Wechselwirkung zwischen NM und Chemikalie zusätzlich einschränken.

Zusammenfassung

Nanomaterialien und andere Substanzen, wie z.B. organische Chemikalien oder Schwermetalle, können in die Umwelt freigesetzt und so zusammen in aquatischen und terrestrischen Kompartimenten wiedergefunden werden. Deshalb ist es notwendig, gemeinsame Effekte dieser Stoffgruppen mit Hinblick auf ökotoxikologische Folgen zu untersuchen. Insgesamt konnte in dieser Literaturstudie anhand von 119 Beispielen für untersuchte Mischungseffekte ein deutlicher Einfluss von NM auf die Akkumulation und Toxizität von Chemikalien identifiziert werden. Dabei zeigte sich, dass die Modulation des toxikologischen Effekts von verschiedenen Faktoren abhängig ist. Dazu gehören die Eigenschaften der jeweiligen Substanz, ihre Sorptionsaffinität zum NM, die resultierende Bioverfügbarkeit und die Aufnahme und Verteilung durch das biologische System.

Um die Mischung von NM und Chemikalien ausreichend zu charakterisieren ist es daher notwendig, die Adsorptionspro-

zesse in Hinblick auf den zeitlichen Verlauf und die Bindungsstärke genauer zu untersuchen. Dadurch wird es möglich, präzisere Voraussagen über eine Aufnahme der Chemikalie durch das NM in den Organismus zu treffen. In einem zweiten Schritt sollte dann sowohl die Akkumulation der Chemikalie als auch des NM nach Mischungs- und Einzelsubstanzexposition quantitativ bestimmt werden. Für die anschließende Untersuchung von auftretenden Mischungseffekten sollten umweltrelevante bis hin zu nicht toxischen Einzelkonzentrationen berücksichtigt werden. Dabei muss beachtet werden, dass es zu organismenspezifischen internen Modifizierungen kommen kann und damit die bioaktive Substanz möglicherweise nicht mehr der eingesetzten ursprünglichen Chemikalie entspricht. Gleichzeitig ist es methodisch eine Herausforderung, zwischen der Reduktion des internen Chemikaliengehaltes durch Transformationsprozesse und einer durch das NM verringerten Aufnahme zu unterscheiden. Dafür wird es in Zukunft notwendig sein, analytische Techniken insbesondere auf dem Gebiet des Imaging und der Quantifizierung weiter zu entwickeln.

Literatur

- Baun, A.; Hartmann, N. B.; Grieger, K.; Kusk, K. O. *Ecotoxicology* 2008 17(5), 387-395.
 Böhme, S.; Altenburger, A.; Kühnel, D. submitted 2016.
 Brausch, K. A.; Anderson, T. A.; Smith, P. N.; Maul, J. D. *Environ. Toxicol. Chem.* 2010, 29(11), 2600-2606.
 Chai, M.; Shi, F.; Li, R.; Liu, L.; Liu, Y.; Liu, F. *Plant. Growth. Regul.* 2013, 71(2), 171-179.
 Dalai, S.; Pakrashi, S.; Bhuvaneshwari, M.; Iswarya, V.; Chandrasekaran, N.; Mukherjee, A. *Aquat. Toxicol.* 2014, 146, 28-37.
 De La Torre-Roche, R.; Hawthorne, J.; Musante, C.; Xing, B.; Newman, L. A.; Ma, X.; White, J. C. *Environ. Sci. Technol.* 2013, 47(2), 718-725.
 Falfushynska, H.; Gnatyshyna, L.; Yurchak, I.; Sokolova, I.; Stoliar, O. *Aquatic. Toxicol.* 2015, 162, 82-93.

- Fang, Q.; Shi, X.; Zhang, L.; Wang, Q.; Wang, X.; Guo, Y.; Zhou, B. *J. Hazard. Mat.* 2015, 283, 897-904.
- Farkas, J.; Bergum, S.; Nilsen, E. W.; Olsen, A. J.; Salaberria, I.; Ciesielski, T. M.; Bączek, T.; Konieczna, L.; Salvenmoser, W.; Jenssen, B. M. *Sci. Total. Environ.* 2015, 511, 469-476.
- Han, Z.-X.; He, G.-D.; Wang, J.-H.; Lv, C.-X. *Int. J. Green. Nanotechnol.* 2011, 3(3), 229-237.
- Hartmann, N. B.; Baun, A. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 2010, 6, 311-313.
- Hartmann, N. B.; Legros, S.; Von der Kammer, F.; Hofmann, T.; Baun, A. *Aquat. Toxicol.* 2012, 118, 1-8.
- Hu, C.; Cai, Y.; Wang, W.; Cui, Y.; Li, M. *Environ. Sci.* 2013, 15(11), 2125-2130.
- Limbach, L. K.; Wick, P.; Manser, P.; Grass, R. N.; Bruinink, A.; Stark, W. J. *Environ. Sci. Technol.* 2007, 41(11), 4158-4163.
- Stanková, R., Masterarbeit 2015, Norwegische Universität für Wissenschaft und Technologie, Department für Chemie.
- Tedesco, S.; Doyle, H.; Blasco, J.; Redmond, G.; Sheehan, D. *Comp. Biochem. Physiol. C* 2010, 151(2), 167-174.
- Tourinho, P. S.; Waalewijn-Kool, P. L.; Zantkuijl, I.; Jurkschat, K.; Svendsen, C.; Soares, A. M. V. M.; Loureiro, S.; van Gestel, C. A. M. *Ecotox. Environ. Safe.* 2015, 113, 201-206.
- Vale, G.; Franco, C.; Diniz, M. S.; dos Santos, M. M. C.; Domingos, R. F. *Ecotox. Environ. Safe.* 2014, 109, 161-168.
- Wild, E.; Jones, K. C. *Environ. Sci. Technol.* 2009, 43(14), 5290-5294.

Korrespondenzadresse

Dana Kühnel
Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung (UFZ)
Department Bioanalytische Ökotoxikologie
Permoserstraße 15
04318 Leipzig
Tel.: 0341 235 1515
dana.kuehnel@ufz.de