

EU-Projekt COMPREHEND

Erste Ergebnisse

Walter Giger, EAWAG

Fischnetz Fachtagung

EAWAG Akademie , 5. Mai 2000

Uebersicht

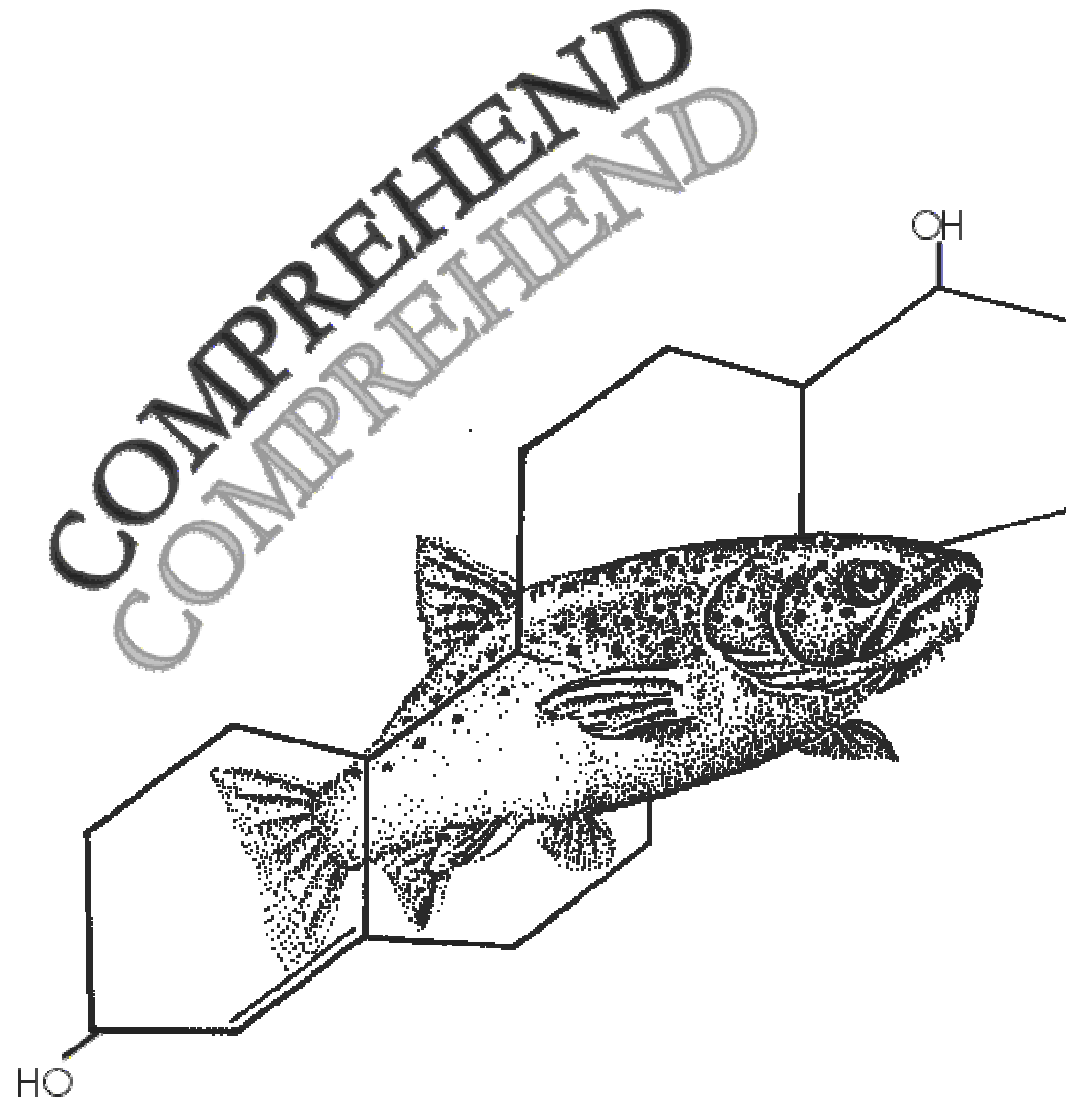
- **EU-Forschungsprojekte**
- **EU-Projekt COMPREHEND**
 - ◆ Titel, Akronym, Partner, Organisation
 - ◆ Ziele, Aufgaben, erwartete Ergebnisse
- **CH-COMPREHEND:**
Projekte an der EAWAG und in der Schweiz
 - ◆ Chemische und biochemische (ökotoxikologische) Analysen
 - ◆ Fischuntersuchungen

EU-Forschung

- IV. Rahmenprogramm:
Umwelt und Klima, 1994–1998
Zusatzprojekte 1999–2001
- Leitung und Kordination durch EU-Institute
- Schweizer Teilnahme möglich
- CH-Finanzierung direkt durch das Bundesamt für Bildung und Wissenschaft (BBW)
- Bilaterale Abkommen Schweiz – EU
 - ◆ Europa-Parlament 4. Mai 2000
 - ◆ CH- Abstimmung vom 21. Mai 2000

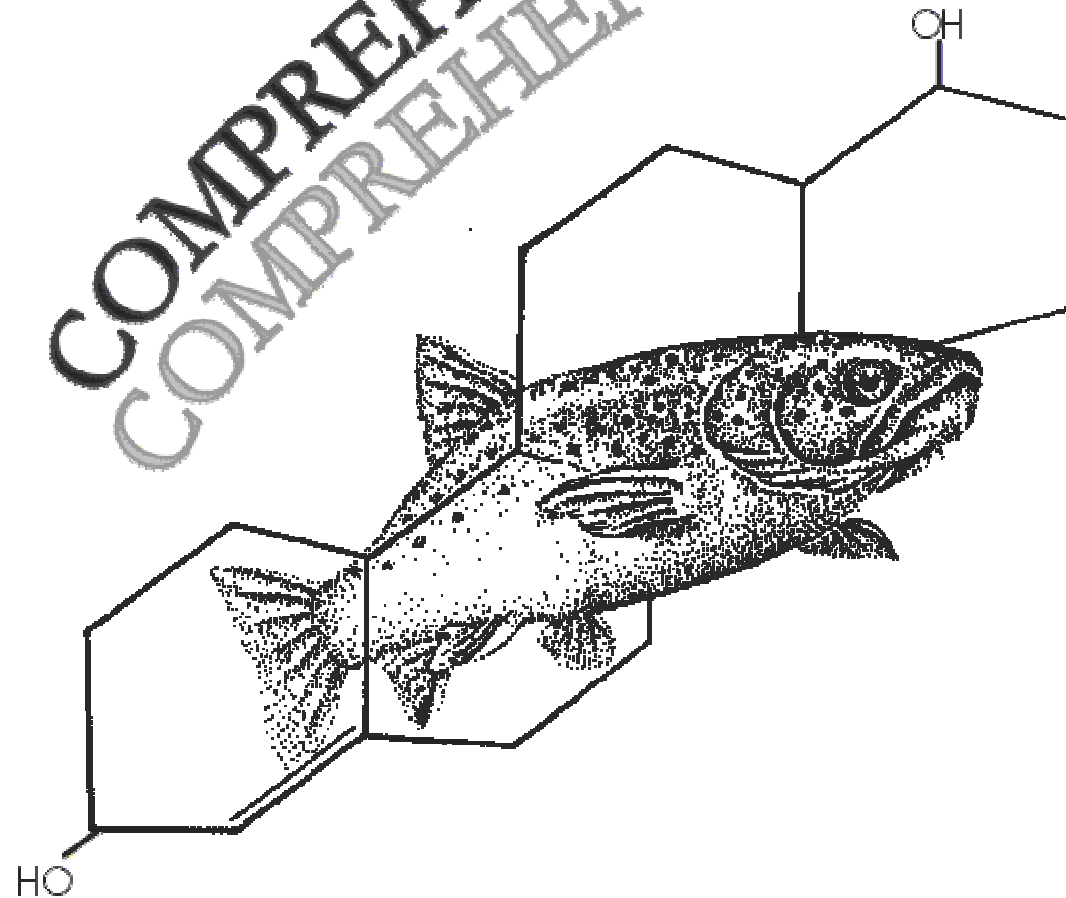
EU-Projekt COMPREHEND

comprehend, engl.:
begreifen,
einsehen,
verstehen



EU-Projekt COMPREHEND

- Community Programme of Research on Environmental Hormones and Endocrine Disrupters





COMPREHEND

- Januar 1999 – Dezember 2001
- Leitung und Koordination:
Prof. Alan Pickering
Institute for Freshwater Ecology (IFE)
England
- Partner: England (3), Holland (3), Norwegen,
Schweden (3), Finnland, Schweiz, Frankreich
- Objectives 1– 6, Tasks 1 – 14,
Deliverables, Milestones
- Internet: <http://ife.ac.uk/comprehend>
- Start-Workshop: Monte Verità-Konferenz 1999
(<http://www.eawag.ch/courses/eedc>)

Ziele, Aufgaben

- “Europaweite” Bestandesaufnahme der Wirkungen auf Fische
 - ◆ Beurteilung von Kläranlagenausläufen
 - ◆ Vitellogeninbestimmung (Eidotterprotein)
- Identifikation von estrogenen (endokrinen, hormonwirksamen) Stoffen
 - ◆ Kopplung: chemische Analytik und biologische Effekte
- Verteilung von hormonwirksamen Stoffen
 - ◆ Effekte von suspendierten Stoffen
- Entwicklung und Verbesserung von *in vitro* und *in vivo* Testmethoden

COMPREHEND in der Schweiz

- **Chemische Analysen**
 - ◆ Alkyl-/Nonylphenol-Verbindungen
 - ◆ Steroidhormone
- **Identifikation von hormonwirksamen Stoffen**
 - ◆ Fraktionierungsmethoden,
Toxicity Identification and Evaluation (TIE)
- **Oekotoxikologische Wirkungs-Analysen
(biochemische, zellbiologische und
molekularbiologische Methoden)**
 - ◆ Vitellogeninbestimmungen in Fischblutplasma
 - ◆ Fisch- und Hefezellensysteme
 - ◆ Proteinuntersuchungen

CH-COMPREHEND (Fortsetzung)

■ Fischuntersuchungen

- ◆ Exposition von Fischen im Ablauf von Kläranlagen
- ◆ Exposition von Fischeiern
- ◆ Populations-Studien
 - ✦ Europäische Forelle (brown trout)
 - ✦ Gründling (gudgeon)

Ausgewählte Kläranlagen und Gewässer

- Kläranlage Rontal, Ron/Reuss (LU)
- Kläranlage Zürich Glatt, Glatt (ZH)
- Kläranlage Surental, Sur (LU)
- Kläranlage Teufenthal, Wyna (AG)

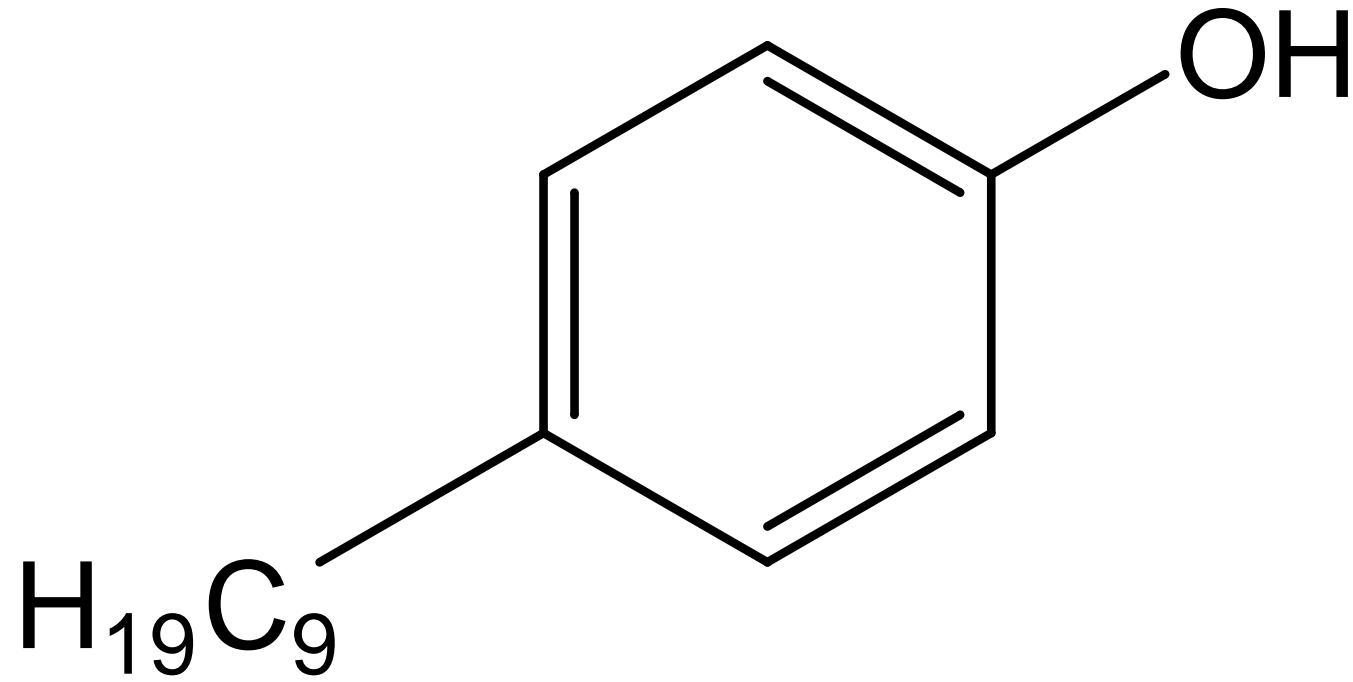
- Vierwaldstättersee, Kastanienbaum (Referenz)

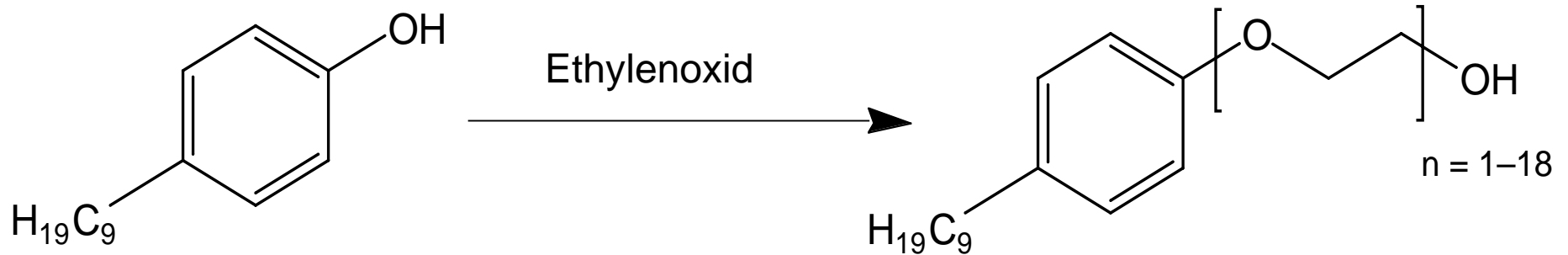
Nonylphenolverbindungen

Felix Wettstein, Marijan Ahel, Eva Molnar, Walter Giger

- EAWAG-Studien seit 1978 (22 Jahre !!)
- Persistente, toxische Metaboliten von nichtionischen Tensiden in gereinigtem Abwasser und Faulschlamm
- CH-Stoffverordnung, 1986:
Verbot der NPnEO-Tenside in Waschmitteln
- Freiwilliges Phasing-out durch die Detergentienhersteller (Haushaltreinigungsmittel)
- Seit 1997 erneute Untersuchungen an der EAWAG:
Erfolgskontrolle für Risikoreduktionsmassnahmen,
Projekt HORSa (BUWAL)

4-Nonylphenol



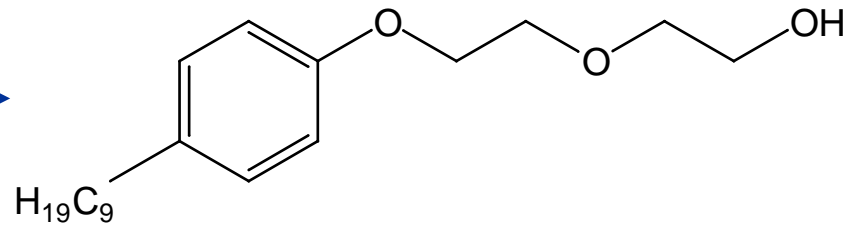
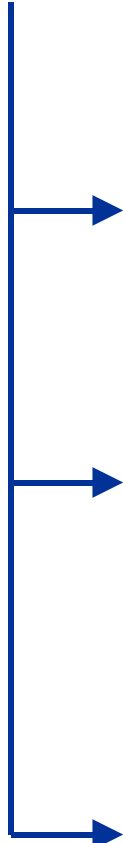
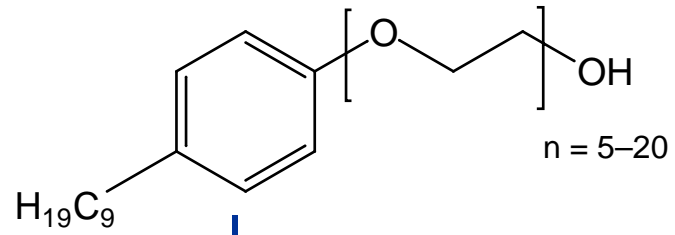


NPnEO, Nonylphenolpolyethoxylate

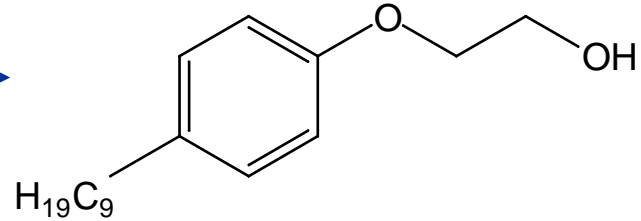
Nichtionische Tenside

CH-Stoff-VO, 1986

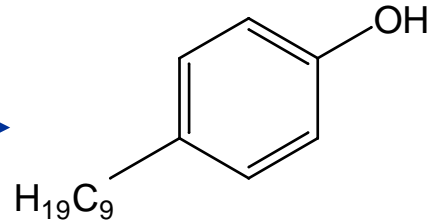
1997: 77'600 t in Westeuropa
6'800 t in Deutschland



NP2EO



NP1EO



NP

Ablauf Kläranlage Rontal (Sep. 1999)

NP	0.89 – 1.6 µg/L
NP1EO	0.90 – 2.6 µg/L
NP2EO	1.1 – 3.6 µg/L

Ablauf Kläranlage Zürich Glatt (Okt./Nov. 1999)

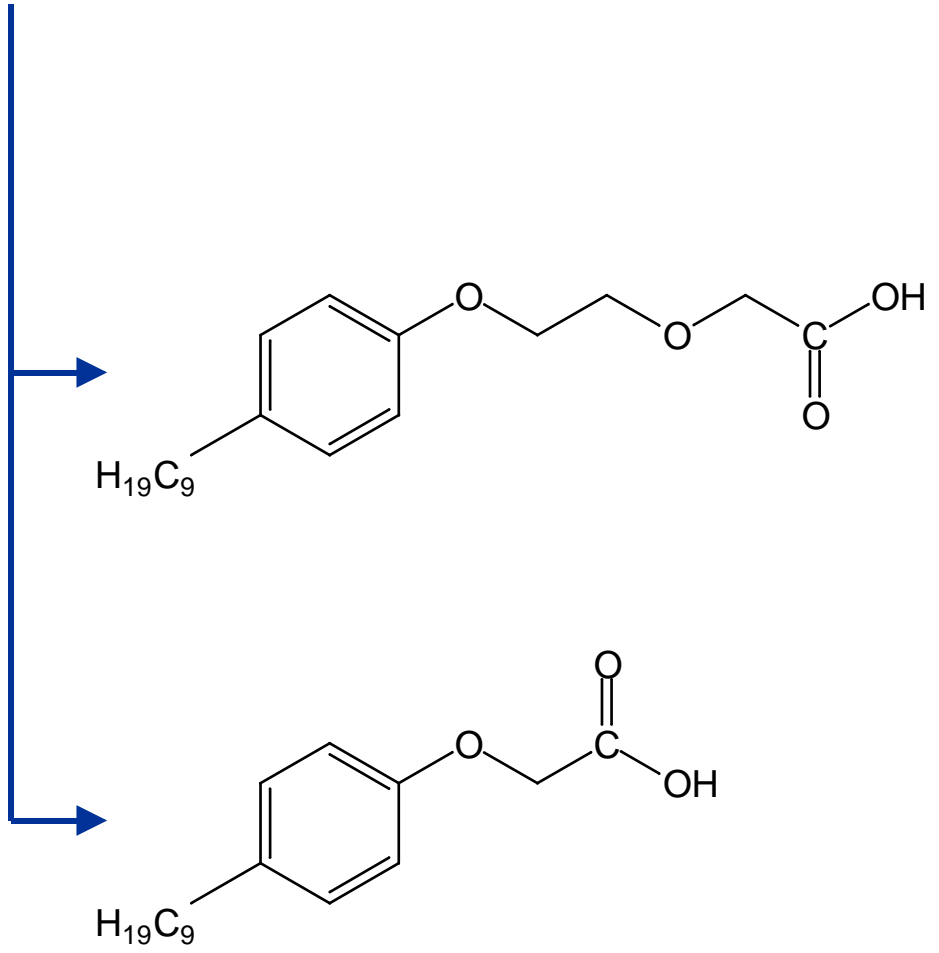
NP	0.16 – 0.28 µg/L
NP1EO	0.31 – 0.65 µg/L
NP2EO	0.41 – 0.85 µg/L

Vierwaldstättersee, Reuss (oberhalb Rontal), Glatt

NP, NP1EO, NP2EO	< 0.1 µg/L
------------------	------------

PNEC (EU, 2000): 0.33 µg/L

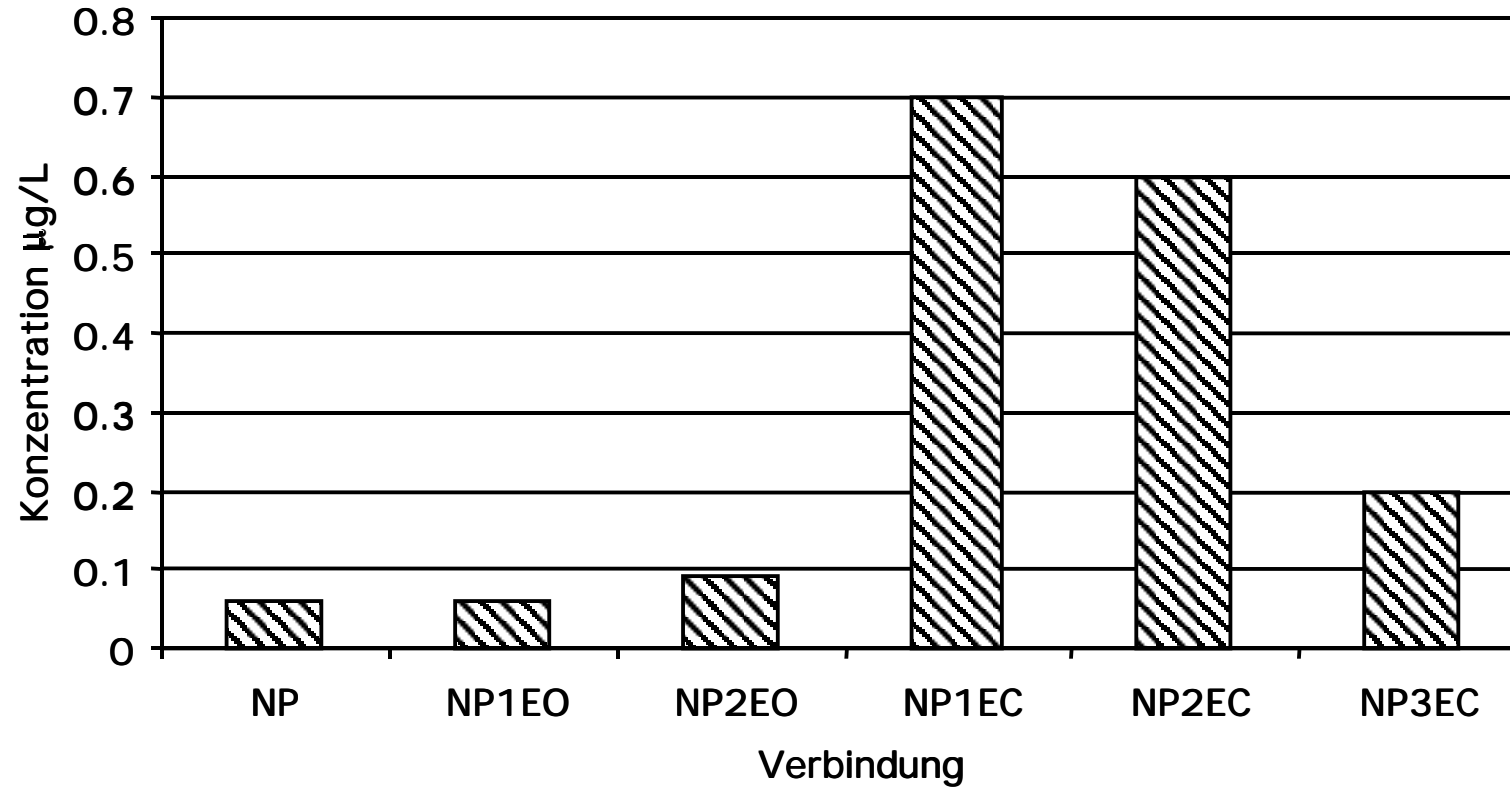
Estrogene Wirkung: > 1 – 10 µg/L



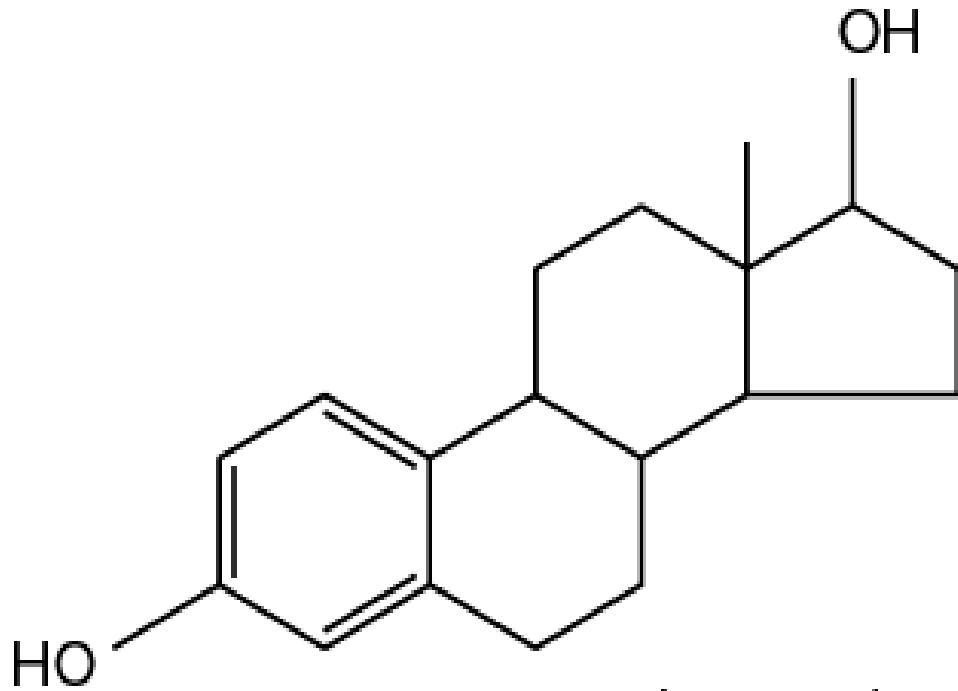
NP2EC

NP1EC

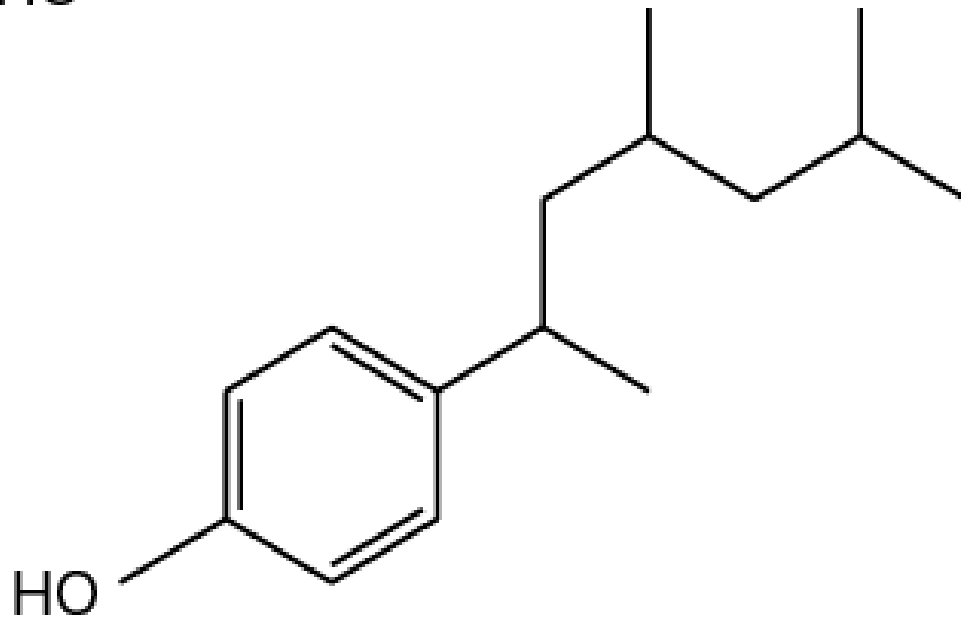
NP-Verbindungen in der Glatt (ZH), September 1998



[Ahel et al., Wat. Sci. Technol., 2000, in press]



17 β -Estradiol



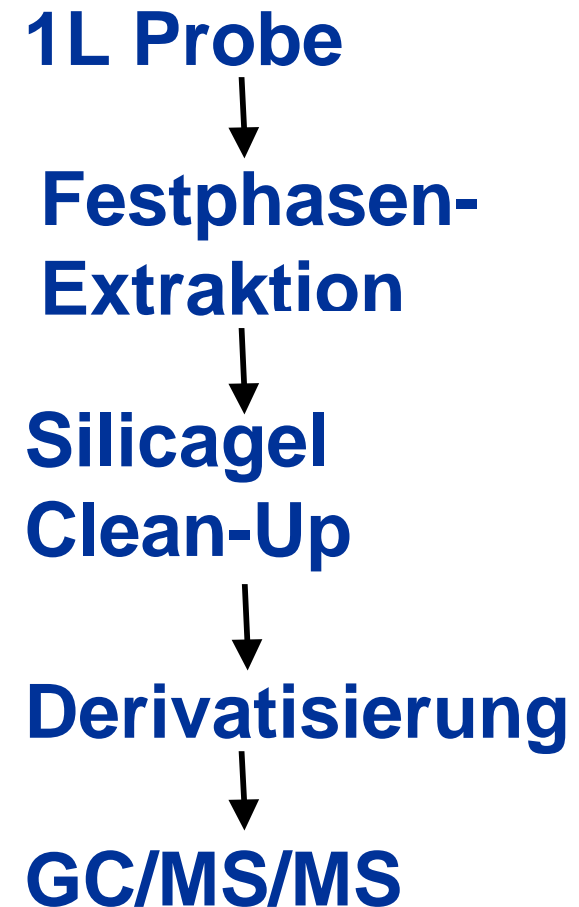
4-Nonylphenol,
ein Isomer

Steroidhormone

Hansruedi Aerni, Dolores Marazuela, Marc Suter

- natürliche Steroidhormone: 17β -Estradiol, Estron
- synthetische Steroidhormone: Ethinylestradiol
- Phytoestrogene: β -Sitosterol
- Bestimmungsgrenzen: \longrightarrow 1 ng/L (!!!)

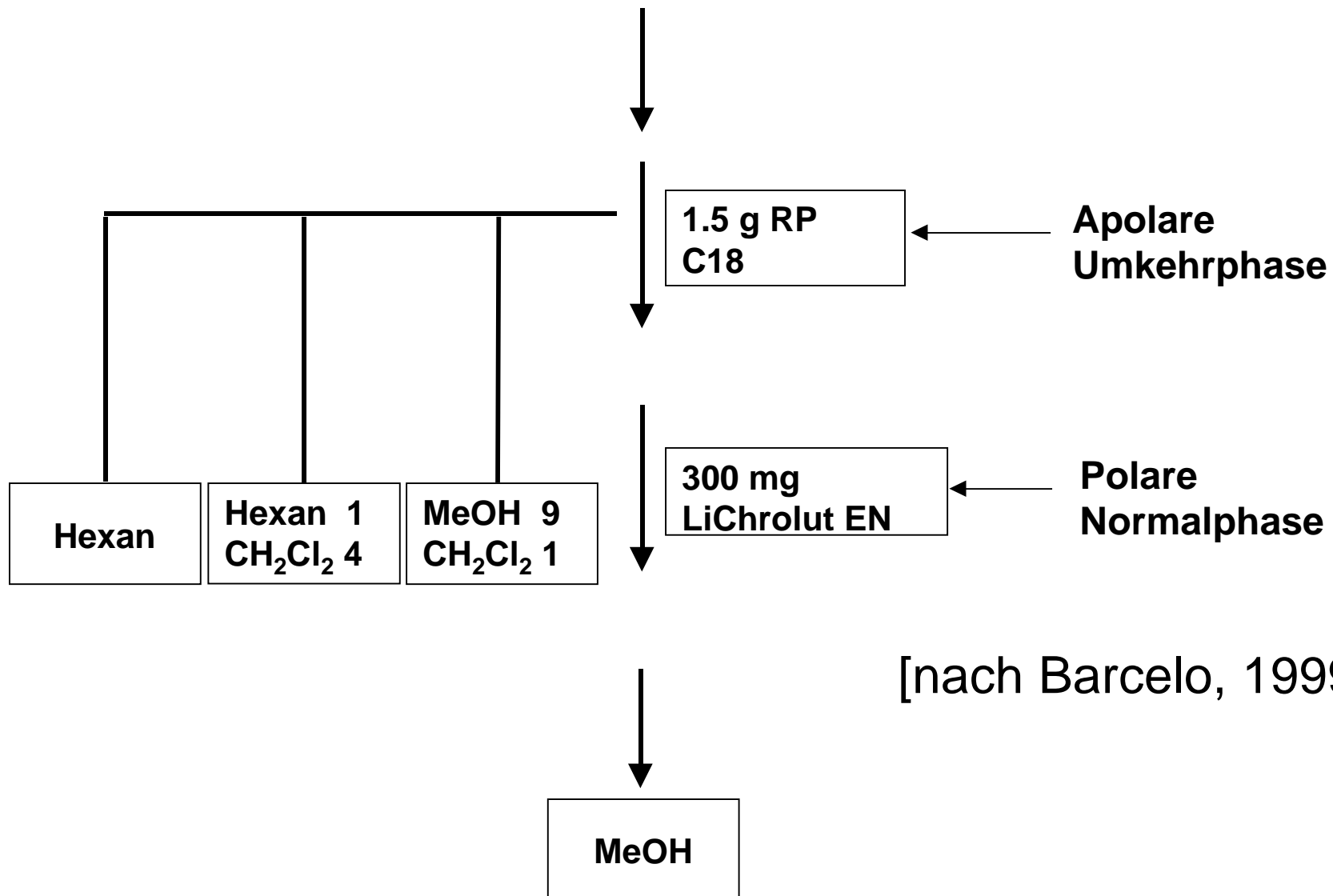
Bestimmung von Steroidhormonen



Fraktionierung, TIE

- Auftrennung der organischen Verunreinigungen in Extrakten aus Kläranlagenabläufen
- Biologische Wirkungs-Analysen
- Chemische Analysen
- Identifikation der hormonaktiven Substanzen

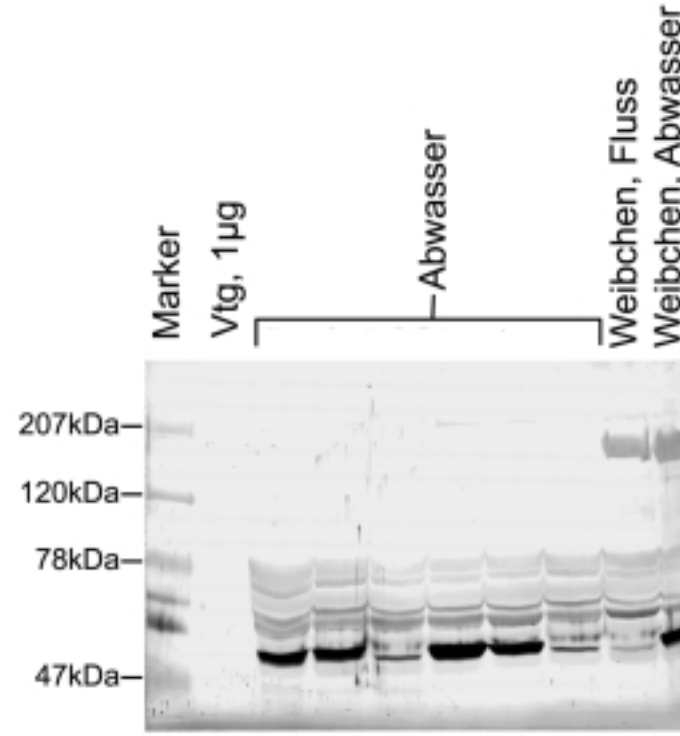
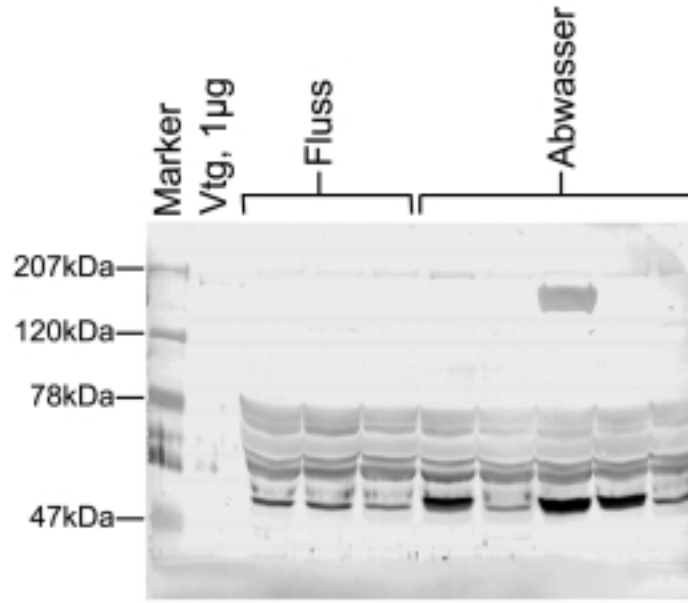
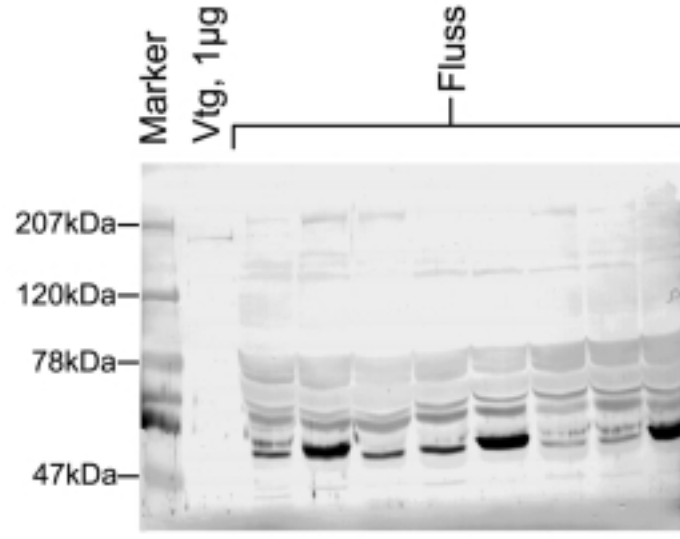
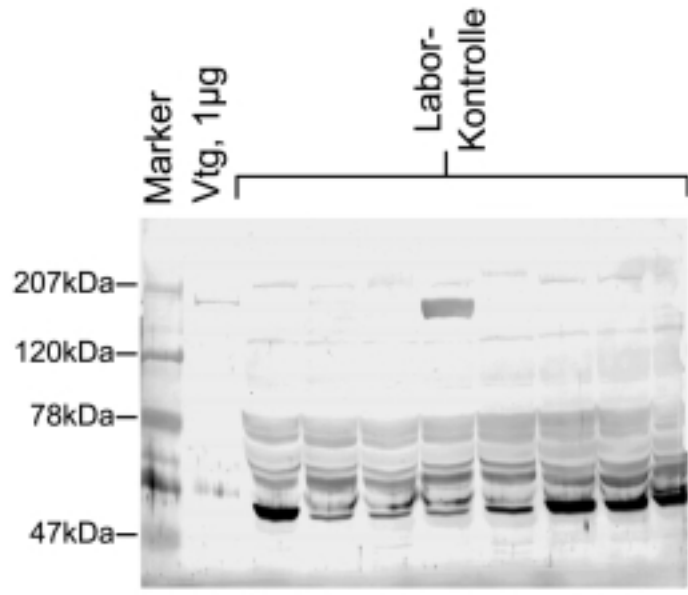
TIE: toxicity identification and evaluation

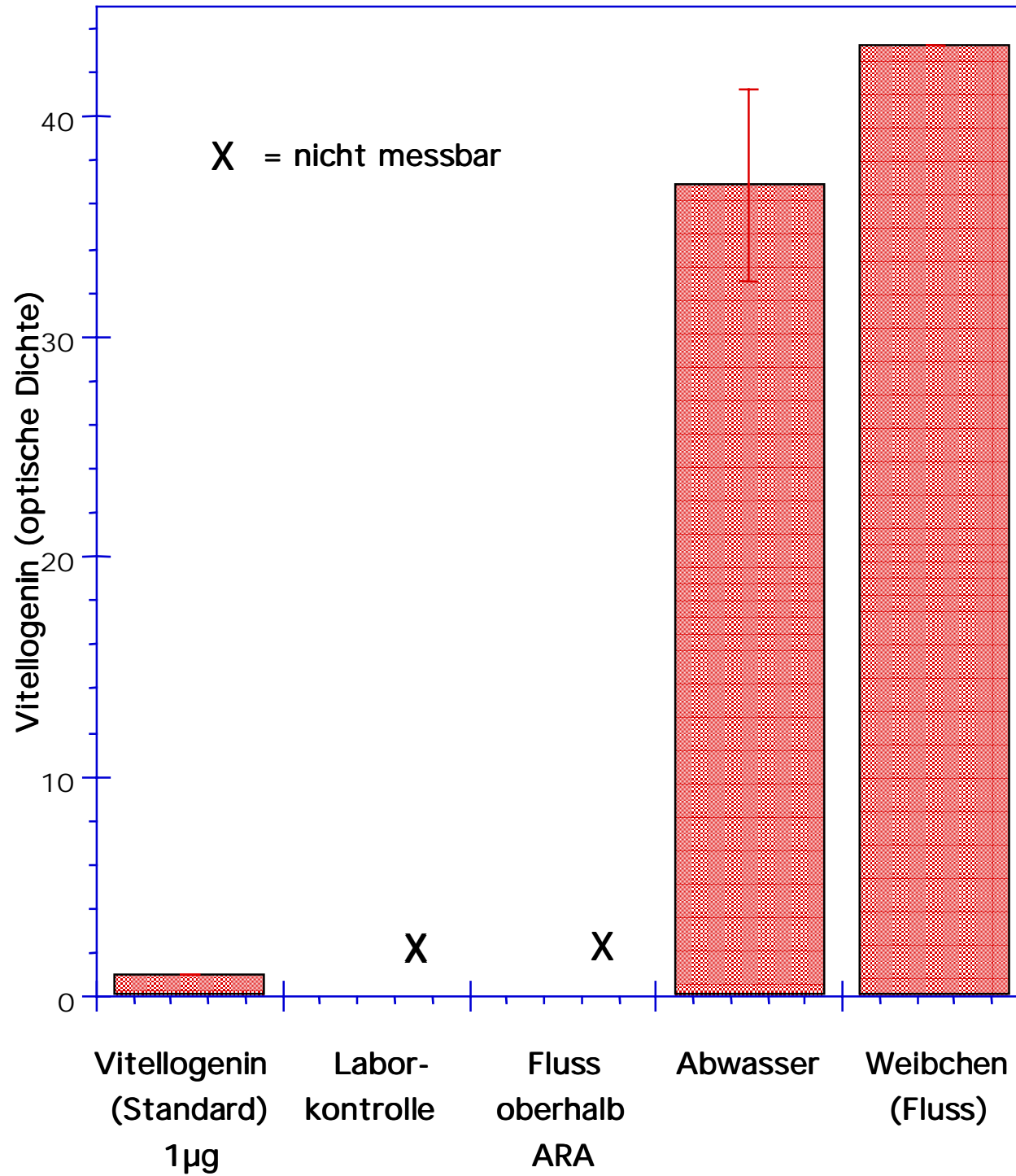


Vitellogeninbestimmungen

Andreas Hungerbühler, Karl Fent

- Regenbogenforellen nach 13 Tagen Exposition in Kläranlagenablauf (Rontal) sowie in Fluss- und Seewasser
- Vitellogeninbestimmung im Blutplasma der Fische durch Western Blot Analysen





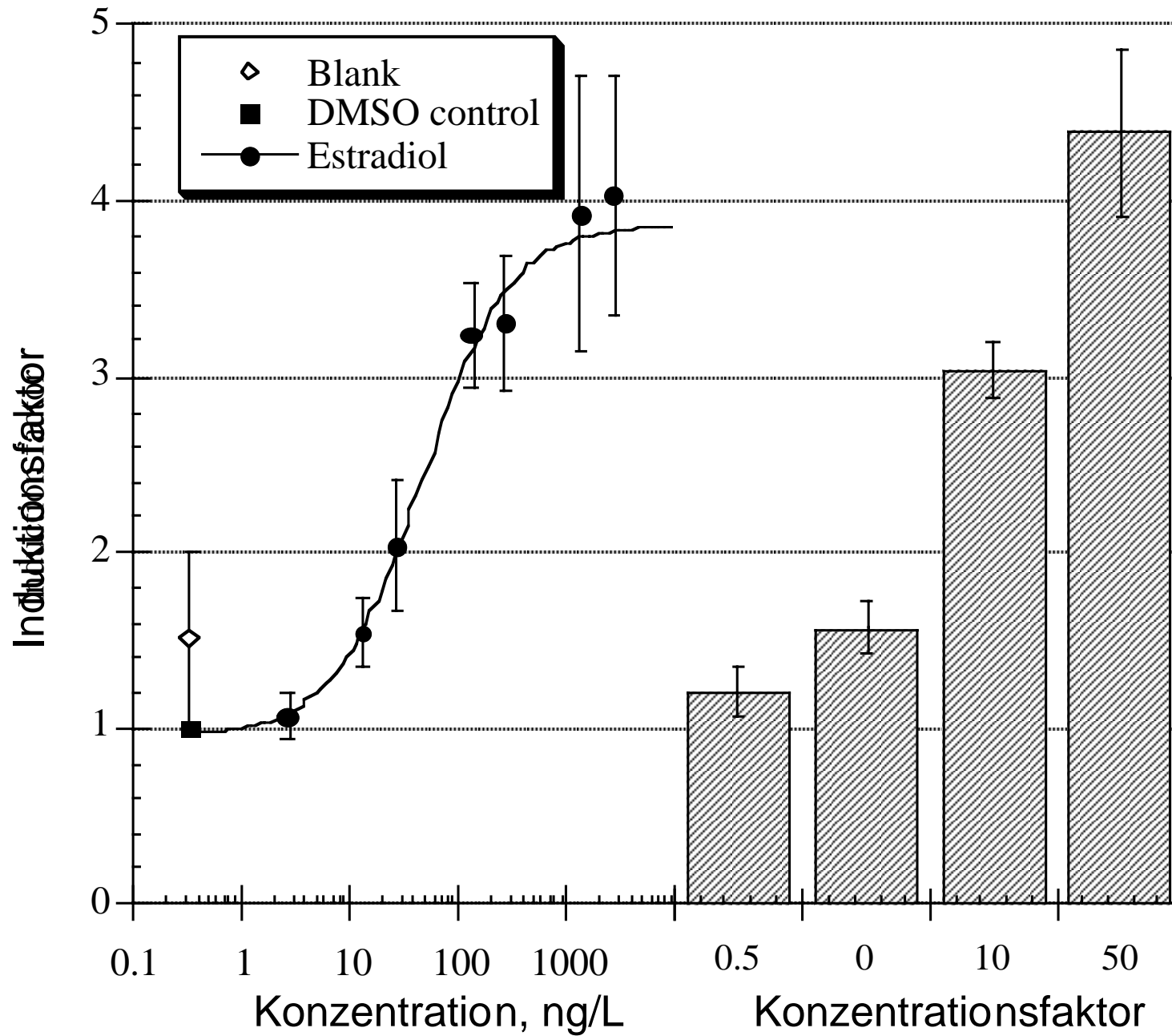
In vitro Tests mit Fischzellen

Gabriele Ackermann, Eva Brombacher, Karl Fent

- Entwicklung von Biosensoren für estrogenen Wirkungen
- Fischzelllinien, Estrogen-Rezeptor, Transkriptionsinduktion, Reporter-Expression
- Nachweis der estrogenen Aktivität von Einzelsubstanzen und Gemischen wie Abwasser-Extrakten

Estradiol

Kläranlage Surental



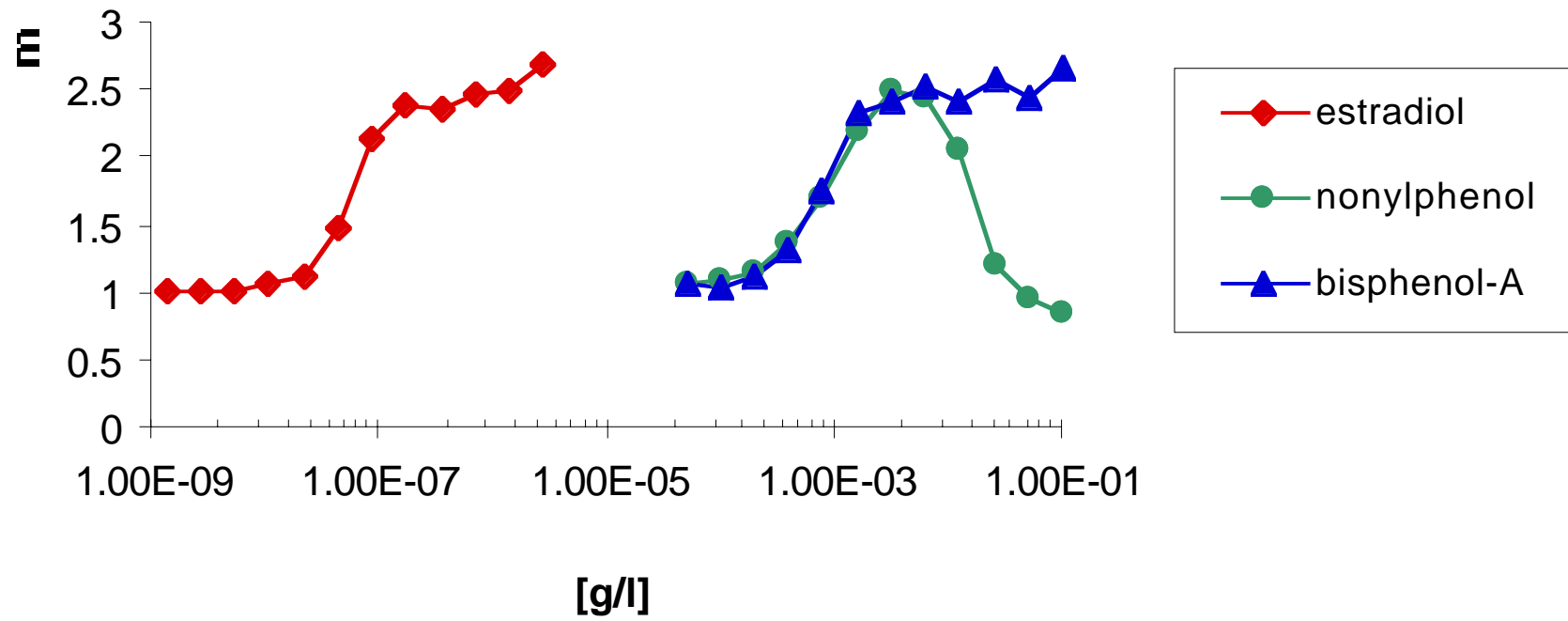
Hefezellensystem

Barbara Rutishauser, Rik Eggen

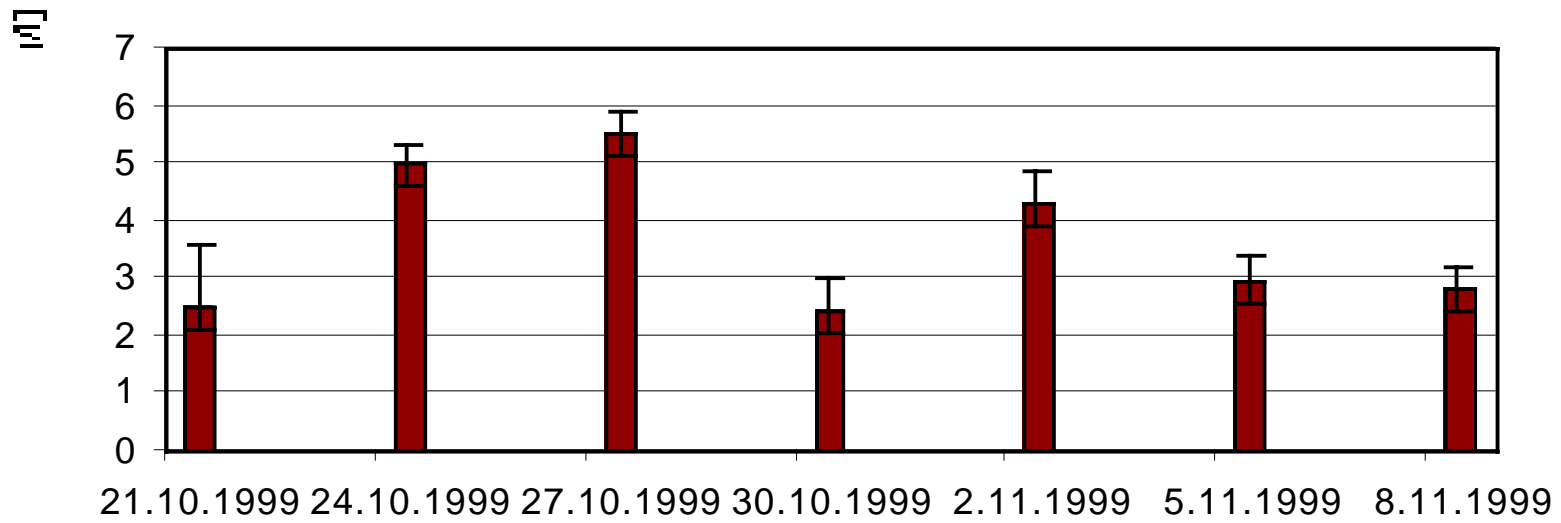
- Übernahme einer Nachweistechnik für oestrogene Wirkungen von der Brunel Universität in England
- Bestimmung der oestrogenen Aktivität mit einem Hefezellensystem

Hefezellensystem

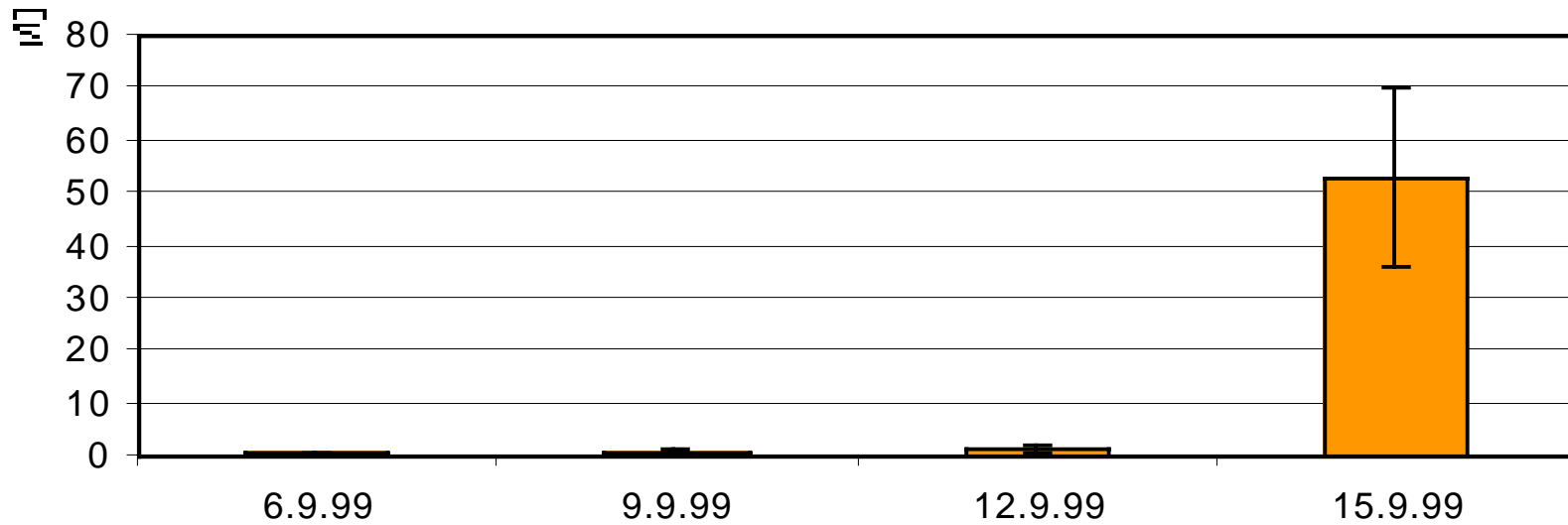
β -Estradiol, Nonylphenol und Bisphenol-A



Estrogenic activity in the effluent of the Glatt-STW as determined in the SPE samples



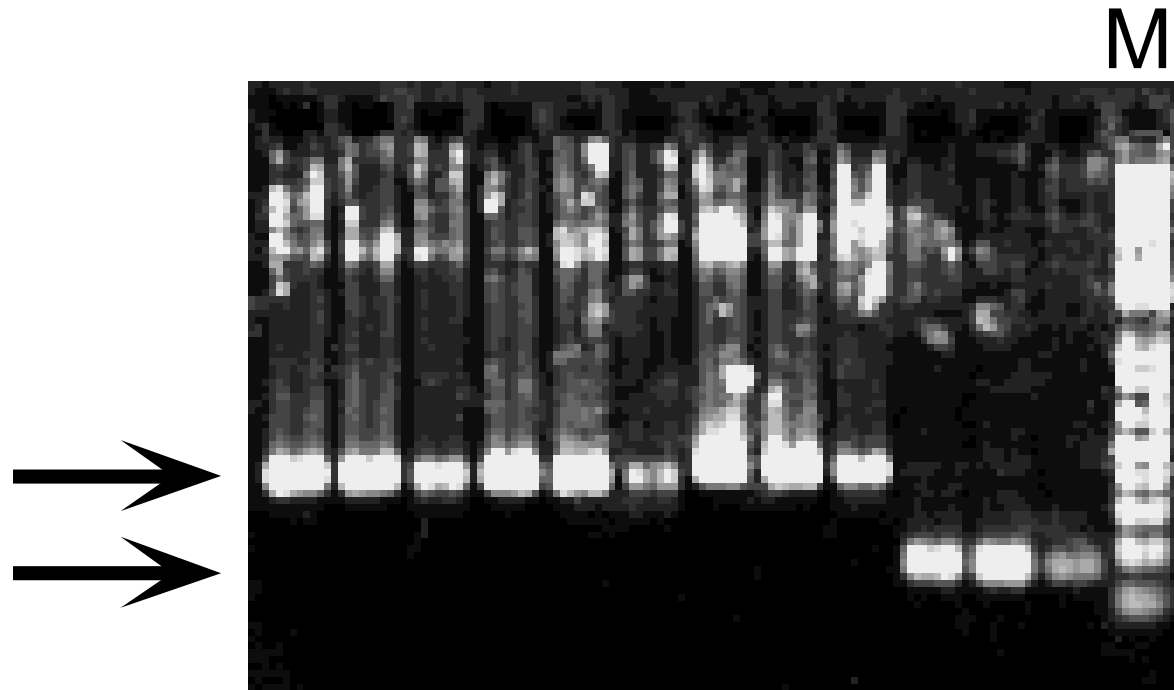
Estrogenic activity of the Rontal STW effluent as determined in the SPE samples



Molekularbiologische Studien

Monika Andersson Lendhal, Monika Haugg,
Maja Pesonen, Karl Fent

- Untersuchung der Wirkung von oestrogenen Substanzen auf Proteine (rab proteins)
- Suche nach Genen, die durch Estradiol bzw. durch den Estrogen-Rezeptor induziert werden mittels der Differential Display Technik.



┌───┬───┬───┬───┐
3₁ 3₃ 2₃ pGEM

PCR amplification of
plasmid DNA clones

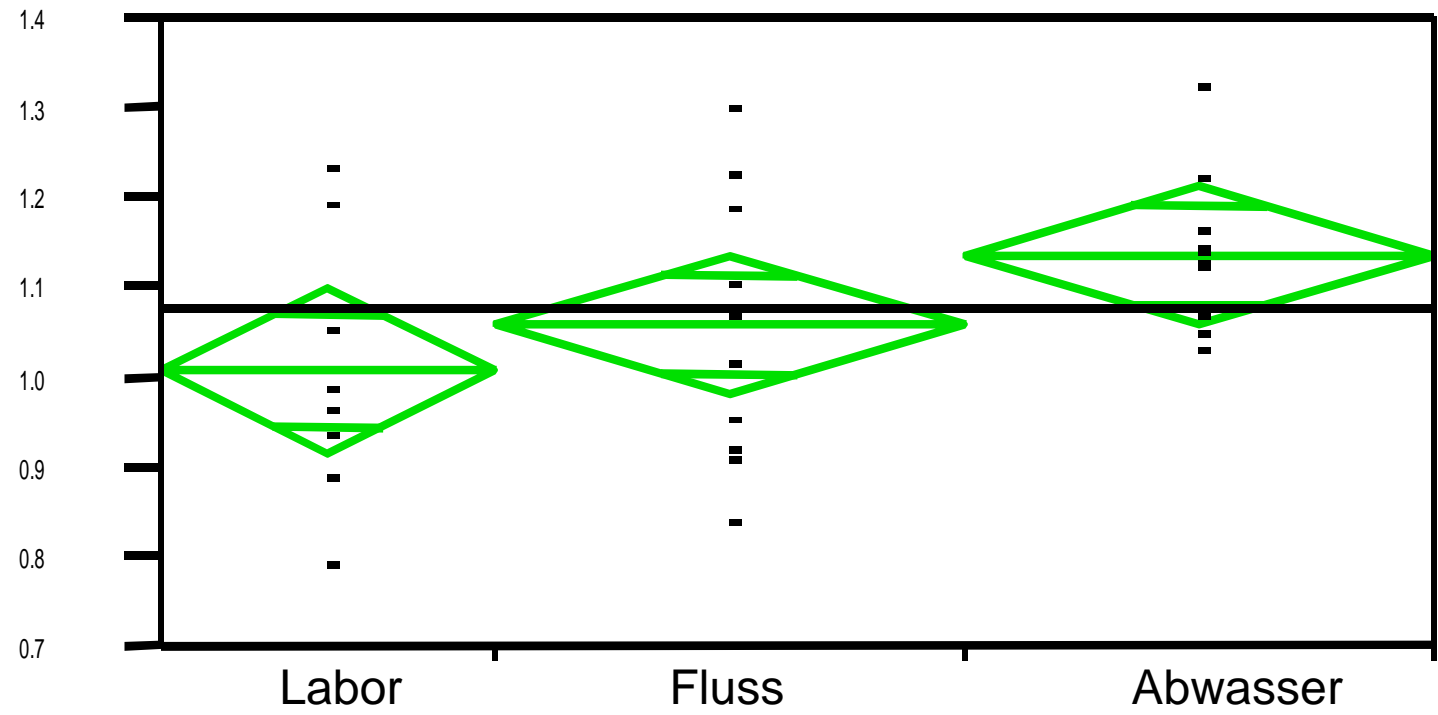
Fisch-Expositionsstudien

Bernd Kobler, Armin Peter

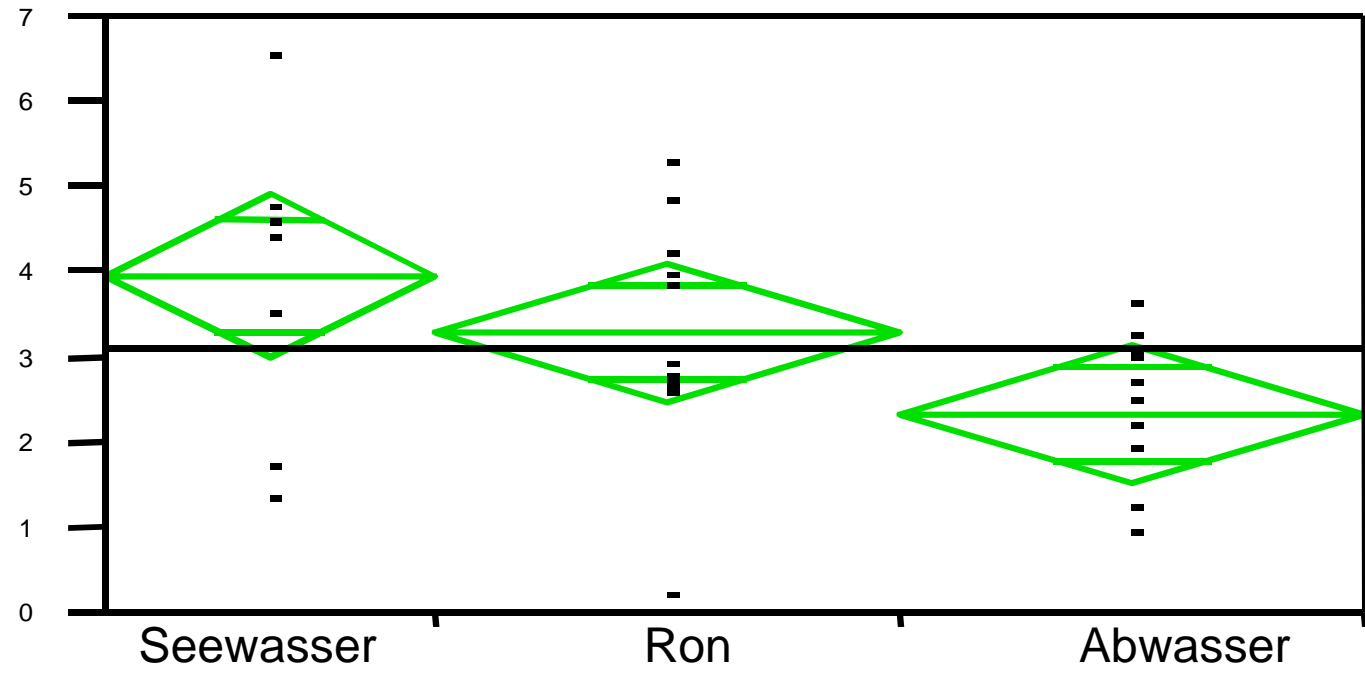
- Regenbogenforellen gehalten im Ablauf der Kläranlage Rontal sowie in Wasser aus der Ron und dem Vierwaldstättersee (als Referenz),
3. – 16.9.1999
- Vitellogeninbestimmung im Blutplasma
- Gonadosomatic Index System (Gonadenindex)
- Hepatosomatic Index System (Leberindex)



Leberindex



Gonadenindex



Fischpopulations-Studien

- Europäische Forelle (*Salmo trutta fario*) in der Wyna, Einfluss der Kläranlage Teufental (AG)
- Gründling (*Gobio gobio*) in der Sure, Einfluss der Kläranlage Surental (LU)
- Drei Untersuchungen pro Jahr an fünf Stellen pro Fluss

Gründling

(*Gobio gobio*, engl. gudgeon)



