Entwicklung eines sensitiven Verfahrens zur rezeptorspezifischen Anreicherung von Hormonen und endokrinen Disruptoren (RezAH)

Durch die Verwendung einer Vielzahl an Chemikalien und deren Einleitung über das Abwasser in Oberflächengewässer werden die Ökosystemfunktionen, wie die Selbstreinigungskraft von Gewässern sowie vorkommende Organismen, beeinträchtigt. Ein naturnaher ökologischer und chemischer Zustand, wie in der europäischen Wasserrahmenrichtlinie (WRRL) gefordert, ist oft nicht gegeben. Um den aktuellen Zustand der Gewässer und auch Maßnahmen zur Verbesserung bewerten zu können, sind Analysen essenziell. Hierbei stellt die Probenahme den entscheidenden Faktor mit dem größten Fehlerpotential im Analysenprozess dar.
Der Großteil der Untersuchungen von Gewässern erfolgt aktuell mittels instrumenteller Analytik, wobei spezifisch die Konzentration einzelner bekannter Substanzen bestimmt wird. Diese Verfahren sind von Vorteil, wenn zum Beispiel Einleitungen von bekannten Substanzen in Gewässer überwacht werden sollen. Allerdings sind diese Verfahren ungeeignet, um die Gesamtheit einer Probe zu erfassen, da lediglich eine vorher definierte Liste an Substanzen untersucht wird.
Diese Lücke schließt die wirkungsbezogene Analytik. In der wirkungsbezogenen Analytik werden modifizierte Zellsysteme oder Biosensoren genutzt, um biologische (Aus-)Wirkungen und Effekte einer Probe zu untersuchen. Dabei ist auch für die wirkungsbezogene Analytik oft eine Anreicherung und Aufreinigung der Probe notwendig. Die für die instrumentelle Analytik eingesetzten Verfahren, wie die Flüssig-Flüssig-Extraktion oder die Festphasenextraktion, sind für eine wirkungsbezogene Analytik jedoch nicht ohne Einschränkungen geeignet, auch wenn sie zurzeit mangels einer Alternative oft eingesetzt werden. Es ist jedoch völlig unstrittig, dass durch diese Vorgehensweise potenziell am Effekt beteiligte Komponenten und Substanzen aus der Probe entfernt werden. Diese Diskriminierung kann zu einem gewissen Grad minimiert, aber nicht ausgeschlossen werden.

Um die Vorteile einer wirkungsbezogenen Analytik voll ausschöpfen zu können und die Qualität dieser Analytik wesentlich zu verbessern, muss daher eine diskriminierungsfreie Anreicherung entwickelt werden. Dafür sind alle Substanzen, die an der Wirkung beteiligt sind, anzureichern und alle Substanzen, die ggf. eine Störung der analytischen Aussage verursachen, abzutrennen. Da die Wirkung sich z. B. im Falle der estrogenen Effekte über die Bindung an den Estrogenrezeptor definiert, kann dieser nicht nur für die Detektion, sondern bereits zur Sammlung und Anreicherung der wirkungsrelevanten Substanzen optimal genutzt werden. Durch die Immobilisierung des Rezeptors auf einem Trägermaterial wird ein wirkungsbezogener Passivsammler hergestellt, der bereits bei der Probenahme eine selektive Anreicherung der Substanzen im Gewässer erlaubt.

Im Rahmen eines IGF-Vorhabens 22369 N (Laufzeit bis 31.03.2025) wird dazu der Estrogenrezeptor zunächst stabil auf eine geeignete Oberfläche aufgebracht und das System hinsichtlich Anreicherung, Elution, Sammelrate und der Wiederfindung von Estrogenen im Labor charakterisiert. Anschließend erfolgen Untersuchungen zur Biofilmbildung und der reale Einsatz im Gewässer.

Im Labor erfolgten erste Versuche zur Modifizierung von Metalloberflächen auf der Basis von Phosphonaten, an die ein Maleimidester gebunden wurde. Die Bindung des Hormonrezeptors an diese Gruppe wurde in einem ersten Schritt durch das Enzym Phytase simuliert. Im Gegensatz zum Estrogenrezeptor ist Phytase sehr günstig und

kann außerdem über eine einfache Enzym-Substrat-Reaktion nachgewiesen werden. Phytase konnte auf allen geprüften Oberflächen nachgewiesen werden.
In weiteren Laborversuchen ist vorgesehen, die Immobilisierung des Estrogen-rezeptors auch auf Textilien zu erproben. Die Textilien sind kostengünstig (Baumwolle, PA, PET), chemisch beständig, zeigen einen hervorragenden Durchfluss und eine gute Durchströmbarkeit. Beim DTNW in Krefeld werden zurzeit im Rahmen des IGF-Vorhabens 22880BG Peptidasen auf textilen Oberflächen fixiert, um diese dann zur Reduzierung von Weintrübungen einsetzen zu können. Peptidasen sind ähnlich große Moleküle wie Hormonrezeptoren, sodass diese Erfahrungen und Ergebnisse auf die Immobilisierung der Bindungsstelle der Hormonrezeptoren übertragen werden können. Diese Arbeiten werden zurzeit vorbereitet.

Förderhinweis:
Das Forschungsvorhaben IGF-Nr. 22369 N der Forschungsvereinigung Umwelt-technik wird über die Arbeitsgemeinschaft industrieller Forschungsvereinigungen (AiF) im Rahmen des Programms zur Förderung der industriellen Gemeinschaftsforschung und -entwicklung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Klimaschutz aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Gefördert durch:

Bundesministerium
für Wirtschaft
und Klimaschutz

aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages