



seit 1558

Friedrich-Schiller-Universität Jena · Postfach · D-07740 Jena

Herrn Dr. Gerold Heinrichs
PT-DLR, Internationales Büro
des BMBF
Heinrich Konen Str. 1

53227 Bonn

Tel: (0228) 3821 416
Fax: (0228) 3821 444
E-mail: grazyna.sniegocka@dlr.de

Biologisch Pharmazeutische Fakultät

Institut für
Ernährungswissenschaften
Lehrstuhl Lebensmittelchemie

**Univ.-Prof.
Dr. Bernd Luckas**

Dornburger Straße 25
D-07743 Jena

Telefon: + 49 [0] 3641-94 96 50
Telefax: + 49 [0] 3641 94 96 52

E-Mail: bernd.luckas@uni-
jena.de
www.uni-jena.de/biologie/ieu/lc

Jena, 14. Dezember 2006

Abschlussbericht für das Projekt AUS 04/001

„Monitoring von Algen- und cyanobakteriellen Toxinen in Trinkwasser und Seen“

In dem Projekt AUS 04/001 zwischen Australien und der Bundesrepublik Deutschland wurden Cyanobakterien und Algen, die sowohl im Süßwasser als auch im Meer und den Küstengebieten vorkommen, im Hinblick auf die Bildung von Toxinen untersucht. Besonderes Augenmerk wurde auf eine mit Algenblüten (Harmful algal blooms, HABs) verbundene Kontamination des Wassers und die Akkumulation der Toxine in Krusten- und Schalentieren gelegt, denn immer wieder hatte sich gezeigt, dass bei der plötzlichen Bildung von Algenteppichen das Wasser aber auch aquatische Organismen sehr stark mit Toxinen belastet sind.

Die sowohl von der toxischen Wirkung als auch von ihrer chemischen Struktur her sehr unterschiedlichen von cyanobakteriellen und Algentoxine müssen möglichst schnell und eindeutig mit der gesetzlich vorgeschriebenen Empfindlichkeit im Wasser und in darin lebenden Organismen bzw. in Erzeugnissen der Aquakulturbetriebe nachgewiesen werden, um den Konsumenten vor gesundheitlichen Gefahren nach dem Verzehr dieser Lebensmittel zu schützen. Dabei erfolgte bisher die Kontrolle auf bestimmte Algen- und cyanobakterielle Toxine weltweit vor allem durch biologische Tests. Allerdings wurde in Australien und in Deutschland relativ früh, d.h. vor etwa 10 Jahren, mit der Etablierung chromatographischer Verfahren begonnen, die einen Nachweis der Toxine mit physikalisch-chemischen Methoden gestatten, da es weltweit wachsende Widerstände gegen Tierversuche gibt.

Diese demnächst international verbindlichen neuen Analysenverfahren sollen zukünftig verstärkt auch in anderen Instituten der Partnerländer, die sich mit der Kontrolle von Wasser und Lebensmitteln hinsichtlich einer Toxinbelastung befassen, eingesetzt werden. Dazu war es jedoch erforderlich, die unabhängig voneinander am Queensland Health Scientific Service Brisbane und an der FSU Jena zum Monitoring von Gewässern auf cyanobakterielle und Algentoxine entwickelten Analysenverfahren vor dem Einsatz in der Routineanalytik noch weiter zu optimieren. Diese Verfahren beruhen vorrangig auf dem Einsatz der LC/MS-MS- Kopplung, da nur hiermit die eindeutige und exakte Bestimmung einzelner Toxine einer jeweiligen Toxingruppe gelingt. Außerdem waren besonders bei der Untersuchung von Wasserproben Methoden zur Anreicherung der nur in sehr geringen Konzentrationen vorliegenden Analyten zu entwickeln.

Deshalb mussten im Rahmen des Projektes grundlegende Arbeitsschritte im Zusammenhang mit dieser speziellen Schadstoff-Spurenanalytik im Hinblick auf eine verlustfreie Probenaufarbeitung des Probenmaterials sowie bzgl. optimaler analytischer Bedingungen zur Erfassung der Toxine überprüft werden.

In Australien spielen cyanobakterielle Toxine (Blaualgtoxine) eine besondere Rolle, und hier kommt es immer wieder zur massenhaften Vermehrung toxischer Cyanobakterien der Gattungen *Microcystis* und *Cylindrospermopsis* in Oberflächengewässern. Deshalb wurde während des Aufenthaltes der deutschen Partner im Jahre 2005 in Brisbane (Frau Susann Hiller und Herrn Marc Diener) der Erfassung von cyanobakteriellen Toxinen besondere Aufmerksamkeit geschenkt, wobei zu Beginn der Kooperation die Anreicherung der Toxine aus Gewässerproben im Vordergrund stand.

Da die Gehalte im Trinkwasser für eine direkte Kontrolle von Wasserproben speziell auf die Anwesenheit von PSP-Toxinen zu niedrig sind, wurden verschiedene Solid Phase Extraction (SPE)-Kartuschen hinsichtlich ihrer Eignung für die Toxin-Anreicherung aus verschiedenen Wasserproben (Süß-, Brack- und Meerwasser) hin untersucht. Die aufbereiteten Proben wurden anschließend mittels LC/MS-MS analysiert. Beim Vergleich der unterschiedlichen SPE-Materialien erfüllte lediglich ein Kartuschen-Typ die Anforderungen, und folglich wurden die weiteren Versuchen ausschließlich mit diesem Kartuschen-Typ mit Wässern unterschiedlichen Ursprungs durchgeführt. Dabei konnten frühere Ergebnisse, die zeigten, dass vor allem Salzwasser problematisch ist, bestätigt werden. Allerdings wurden nach Einführung von Kartuschenmaterial aus der gleichen Produktcharge für die Süß- und Brackwasseranalytik zufrieden stellende Ergebnisse (hohe Wiederfindungsraten und Reproduzierbarkeit) erhalten. Damit wurden die für den Projektabschnitt 2005 avisierten Ziele insgesamt erreicht. Die Probenaufarbeitung über SPE-Kartuschen konnte so optimiert werden, dass beide Partner nun Proben von Süß- und Brackwasser nach Durchführung eines harmonisierten Anreicherungsverfahrens hinsichtlich der Präsenz von PSP-Toxinen analysieren können. Auch wurden die HPLC- Methode sowie die auf der Kopplung LC/MS-MS basierende Analysenmethode für PSP-Toxine modifiziert. Allerdings sollten im Jahr 2006 vor allem die LC/MS-MS-Bestimmung von PSP-Toxinen weiterhin vor allem hinsichtlich der Sensitivität, der Stabilität und der Reproduzierbarkeit verbessert werden. Außerdem waren im zweiten Abschnitt des AUS 04/001-Projektes Experimente mit einem erweiterten Toxinspektrum fortzuführen, um eine zukünftig eine LC/MS-MS-basierte Multikomponentenmethode als Screening-Verfahren zur Verfügung zu haben.

Folglich standen 2006 im Mittelpunkt des Projektes die von Cyanobakterien der Süß- und Brackwässer gebildeten hepatotoxischen Microcystine und Nodularine neben den PSP-Toxinen und den in Australien vergleichsweise häufig vorkommenden Cylindrospermopsinen. Dabei stammte das untersuchte Probenmaterial aus unterschiedlichsten Gewässern Australiens und Deutschlands (Küstengewässer aber auch Flüsse und Seen), und während des Besuches der Jenaer Partner (Herr Prof. Bernd Luckas und Frau Katrin Erler) zum Projektabschluss im Herbst 2006 in Brisbane wies die australische Seite darauf hin, dass im Rahmen eines Folgeprojektes großes Interesse an einer Fokussierung der Probennahme auf die sehr lange Küstenlinie Australiens bestünde, da es vor allem hier mit großer Regelmäßigkeit zu gefährlichen Algenblüten käme. Beispielhaft wurden Blüten von *Nodularia* sowie Vergiftungsfälle durch *Ciguatera* genannt und betont, dass erst durch die gemeinsam durchgeführten Analysen unter Einsatz modernster Analysentechnik eine klare Ursachenermittlung möglich wurde.

Neben der gemeinsamen Entwicklung moderner Analysenverfahren zur Erfassung von cyanobakteriellen und Algentoxinen wurde auch das zukünftige gemeinsame Vorgehen bei der weitgehenden Minimierung der Gefährdung durch Toxine in Lebensmitteln aus dem Meer und aus Aquakulturen diskutiert. Es bestand Einigkeit darüber, dass die auf diesem Gebiet bereits im Rahmen des Projektes AUS 04/001 erfolgreich praktizierte Zusammenarbeit auch zukünftig fortgesetzt werden sollte.

Unabhängig von dieser geplanten weiteren Zusammenarbeit ist zu konstatieren, dass das wesentliche Ziel des Projektes AUS 04/001, die Etablierung von physikalisch-chemischen Methoden zum Monitoring von Gewässern hinsichtlich einer Belastung mit Toxinen dank der intensiven und von beiden Seiten unbürokratisch gestalteten Zusammenarbeit erreicht werden konnte.