

IDENTIFIKATION GIFTIGER INHALTS- STOFFE – EIN WICHTIGER SCHRITT ZUR GEFÄHRDUNGS- ABSCHÄTZUNG UND SANIERUNG

Werner Brack und Rolf Altenburger

Effektorientierte Schadstoff- identifikation – Wozu?

Umweltausschnitte – Grund- und Oberflächenwasser, Sedimente und Böden – in Industrieregionen wie der von Bitterfeld-Wolfen sind oft mit einer unüberschaubaren Vielfalt von Umweltchemikalien belastet. Zu den Produktionsrückständen, die oft sehr sorglos in die Umwelt abgegeben wurden, kommen vielfältige Ab- und Umbauprodukte, die erst unter Umweltbedingungen, z.B. durch die Tätigkeit von Mikroorganismen, durch Sonneneinstrahlung oder veränderte pH- und Redoxbedingungen entstanden sind.

Eine vollständige Erfassung des potenziell gefährlichen Schadstoffinventars mit ausschließlich chemischer Analytik ist nicht möglich. Chemische Analyseverfahren können zwar bekannte Verbindungen oft in sehr geringen Konzentrationen und mit großer Genauigkeit nachweisen. Unbekannte oder unerwartete Substanzen werden in der Regel jedoch nicht erfasst. Eine Gefährdungsabschätzung auf Grund chemischer Analytik allein erscheint daher sehr problematisch. Die Frage, ob überhaupt die ökotoxikologisch re-

levanten Stoffe erfasst wurden, das heißt die, die auf Organismen, die der entsprechenden Belastung ausgesetzt sind, wirken, kann in der Regel nicht beantwortet werden. Richtet man sein Augenmerk bei der Sanierung also auf die »falschen« Substanzen, wird diese aus Sicht einer wirklichen Gefährdungsreduzierung oft erfolglos bleiben, auch wenn die Konzentration der anvisierten Schadstoffe tatsächlich reduziert werden kann.

Biologische Wirkungstests sind eine Alternative beziehungsweise unverzichtbare Ergänzung zur rein chemischen Analyse, wenn Gefährdungen abgeschätzt werden sollen. Dabei werden Testorganismen im Labor den belasteten Umweltkompartimenten oder daraus extrahierten Schadstoffgemischen ausgesetzt. Aus der beobachteten Wirkung werden dann ein Gefährdungspotential und möglicherweise Sanierungsbedarf abgeleitet. Einzelne Biotests erkennen jedoch immer nur ein bestimmtes Spektrum möglicher Wirkungen.

Es ist naheliegend, dass etwa die Wirkung von Unkrautvernichtungsmitteln auf die pflanzliche Fotosynthese nur mit grünen Pflanzen erkannt werden kann oder dass Belastungen, die das Erbgut verändern, nur mit spezifisch darauf zugeschnittenen Tests, nicht aber mit Sterblichkeitsuntersuchungen, erfasst werden können. Um möglichst viele relevante Wirkungen in die Gefährdungsabschätzung zu integrieren, müssen demnach eine Reihe einzelner Biotests mit verschiedenen Wirktypen zu einer »Biotestbatterie« kombiniert werden. Leider liefern biologische Wirkungstests in der Regel keine Hinweise auf die Ursachen der beobachteten Wirkungen. Diese sind jedoch erforderlich, sollen gezielte Sanierungsmaßnahmen durchgeführt werden.

Um das Gefährdungspotential komplexer Schadstoffgemische in der Umwelt abschätzen, gezielte Sanierungsmaßnahmen treffen und deren Erfolg überwachen zu können, ist daher sowohl eine Messung möglicher Wirkungen in einer geeigneten Testbatterie als auch eine Identifikation der verursachenden Substanzen erforderlich.

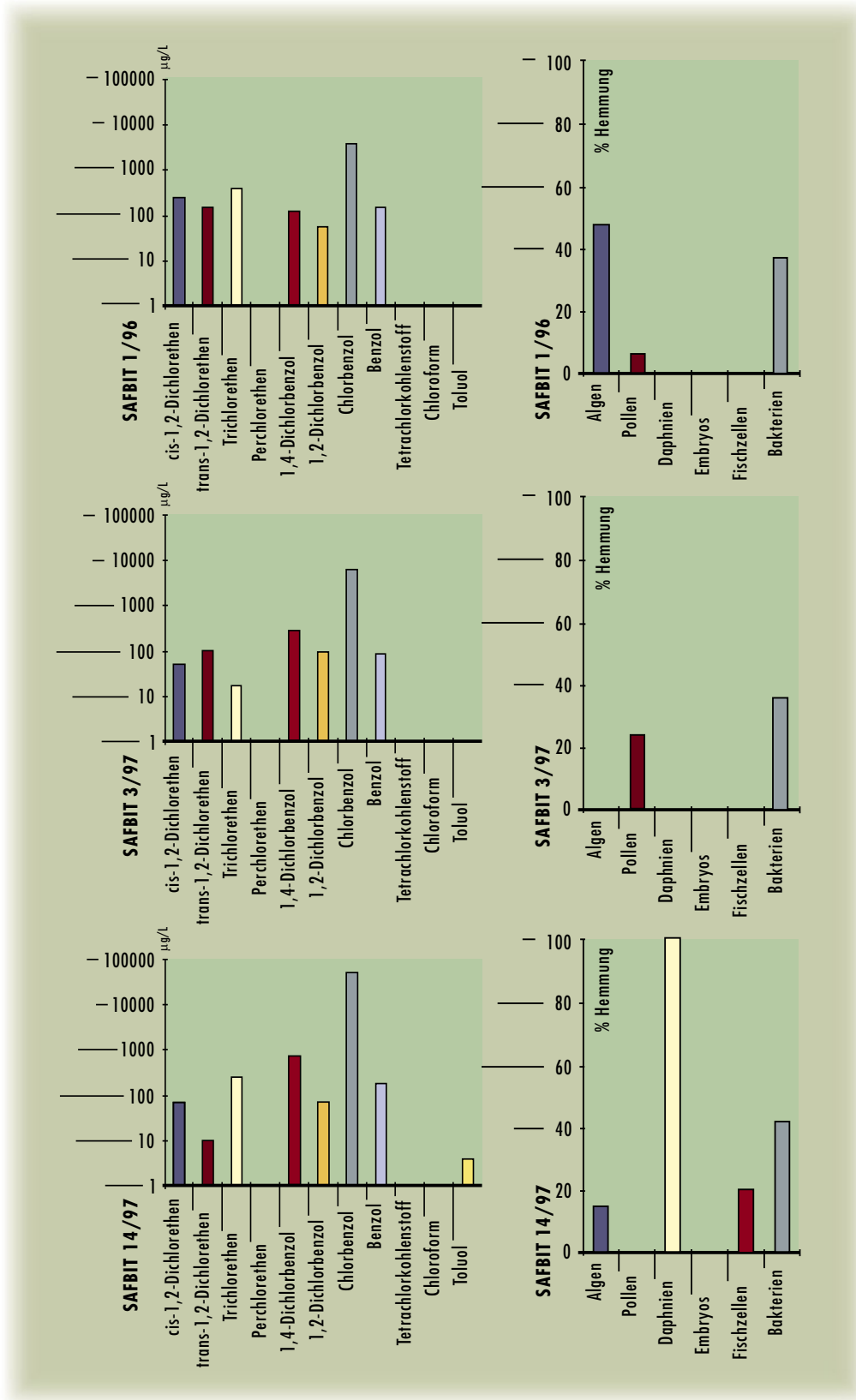


Bild 1: Die chemischen Analysen (links) zeigen ein scheinbar relativ einheitliches Schadstoffspektrum. Die gleichen Proben zeigen jedoch sehr unterschiedliche biologische Wirkungen (rechts). Das legt die Vermutung nahe, dass die ökotoxikologisch relevanten Stoffe, die in geringen Mengen die Giftigkeit des Wassers bestimmen, nicht erfasst wurden.

Sequentielle Teststrategie zur Identifizierung wirksamer Verbindungen in der Umwelt

Werden chemische Analytik und biologische Wirkungstestung parallel angewandt, um die Belastungssituation eines Umweltkompartiments zu charakterisieren, ergeben sich häufig sehr unterschiedliche und scheinbar widersprüchliche Befunde, wie das Bild 1 für kontaminiertes Grundwasser in Bitterfeld zeigt.

Um eine schlüssige Charakterisierung des Gefährdungspotentials belasteter Umweltkompartimente und eine Identifizierung wirksamer Verbindungen zu erreichen, müssen biologische Wirkungstests und chemische Analytik über physikalisch-chemische Fraktionierungsverfahren miteinander verknüpft werden. Für derartige Verfahren wurde der Begriff sequentielle Teststrategie geprägt. Dabei wird folgendermaßen vorgegangen (Bild 2):

Die zu untersuchende Umweltprobe, z.B. ein belastetes Grundwasser oder ein Sedimentextrakt, wird in der Biotestbatterie auf mögliche Wirkungen getestet. Zeigen bestimm-

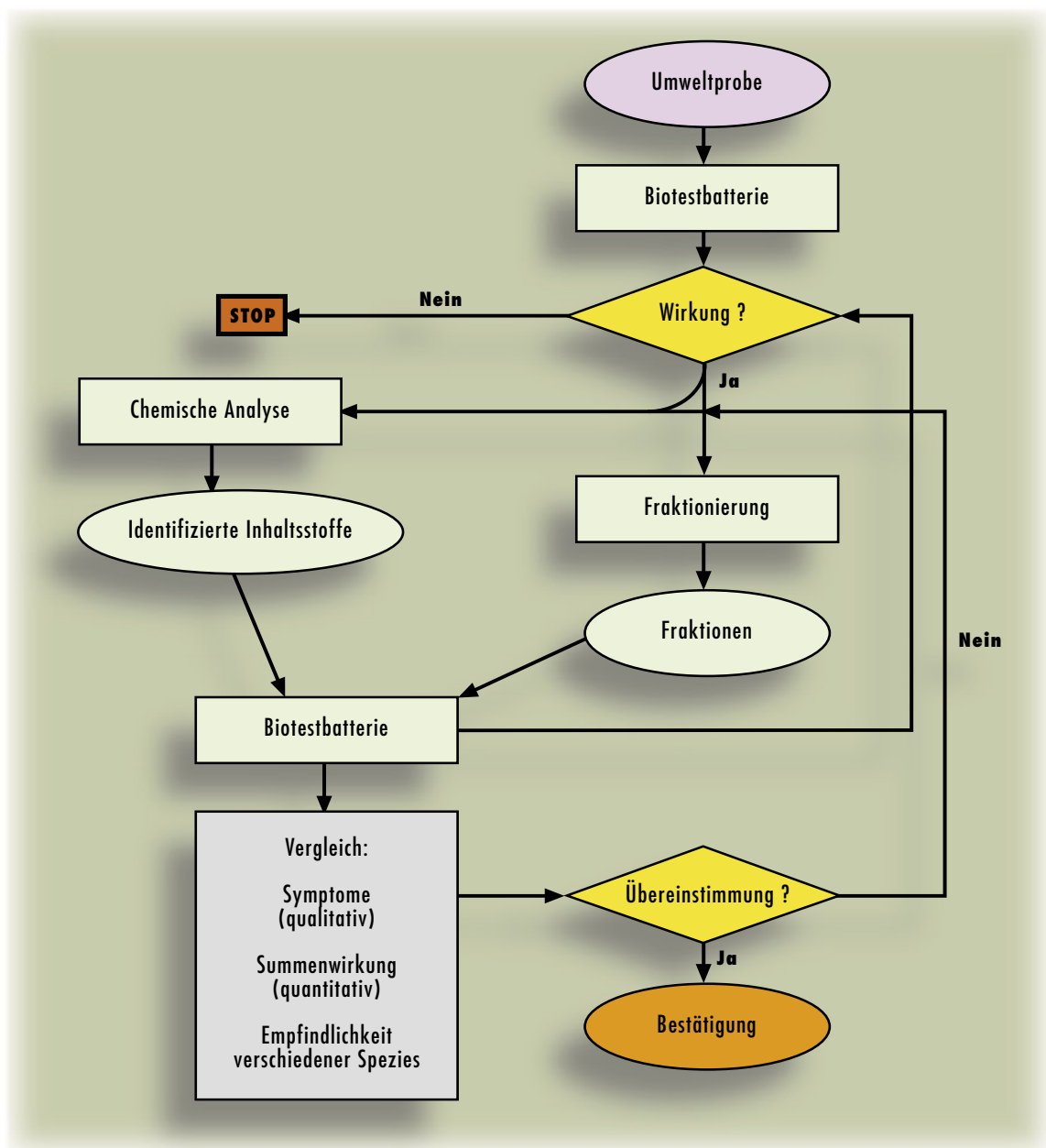


Bild 2: Sequentielle Teststrategie zur Identifizierung wirksamer Verbindungen in der Umwelt (Grundprinzip)

te Biotests Effekte, so wird die Probe einer Fraktionierung unterzogen, das heißt, verschiedene Schadstoffgruppen werden z.B. mit chromatografischen Methoden voneinander getrennt. Die Fraktionen werden in den Biotests, die bei der Ausgangsprobe Wirkungen zeigten, erneut getestet. Nicht wirksame Fraktionen werden aussortiert, wirksame Fraktionen einer erneuten Auftrennung und Biotestung unterzogen. Dieses Vorgehen wird so oft wiederholt, bis die abgetrennten Fraktionen nur noch eine überschaubare Menge von potenziell wirksamen Verbindungen enthalten, die dann chemisch identifizierbar sind. In einem letzten Schritt werden die in den wirksamen Fraktionen gefundenen Substanzen als reine Stoffe in den entsprechenden Konzentrationen erneut auf ihre biologische Wirkung getestet. Bei qualitativer und quantitativer Übereinstimmung der Wirkung gilt der identifizierte Schadstoff als bestätigt. Andernfalls müssen weitere Fraktionierungs- und/oder Analysenverfahren eingesetzt werden.

Beispiel: Grundwasserkontaminationen in Bitterfeld

Bild 1 zeigt die Ergebnisse von chemisch-analytischen und biologischen Wirkungsuntersuchungen an drei Brunnen in Bitterfeld, die Grundwasser aus jeweils etwa 20 Metern Tiefe fördern. Nach der chemischen Stoffanalyse ergibt sich für diese drei Brunnen ein relativ konstantes Verschmutzungsmuster, bei dem insbesondere Chlorbenzol bei den gemessenen Belastungen mengenmäßig eine hervorragende Rolle einnimmt. Dieses Bild der Grundwasserbelastung findet sich auch an vielen anderen Stellen im Bereich der jüngeren Bitterfelder Grundwasserleiter. Auch in der Gesamtbilanz der organischen Verschmutzungen stellt Chlorbenzol zusammen mit einer Reihe ähnlicher leichtflüchtiger Verbindungen die Hauptlast chemischer Stoffbelastungen. Im Gegensatz zu diesen Befunden zeigen nun die in Bild 1 zusammenfassend dargestellten biologischen Wirkungsuntersuchungen, dass in jedem dieser Grundwässer andere toxische Effekte in den Vordergrund treten. Mal ist die Pflanzengiftigkeit (Algentoxizität) auffallend, in einer anderen Probe sind vor allem die Bakterien betroffen, und schließlich ist es der kleine Krebs *Daphnia magna*, der besonders empfindlich auf die Wasserprobe reagiert. Dies legt nun den Verdacht nahe, dass weitere, bislang nicht identifizierte toxische Stoffe in geringen Mengen die Giftigkeit des Grundwassers bestimmen.

In den weiteren Studien wurde unter anderem die räumliche Verteilung der Grundwässer, die toxische Effekte auslösen, und damit die mögliche Herkunft toxischer Belastungen untersucht. Bild 3 zeigt beispielhaft, wie die Intensität pflanzentoxischer Effekte von Grundwasserproben für 13 unterschiedliche Brunnen eines Bitterfelder Ausschnittes räumlich verteilt ist. Klar erkennbar ist, dass die Brunnen in der Nähe der ehemaligen Chemie-Produktionstätten die höchsten toxischen Potenzen ausweisen, und dass mit dem Abstand vom Werksgelände dieses Potential abnimmt. Dieses Bild wird durch die Wirkungsuntersuchungen mit weiteren Biosystemen gestützt und passt auch mit der detail-

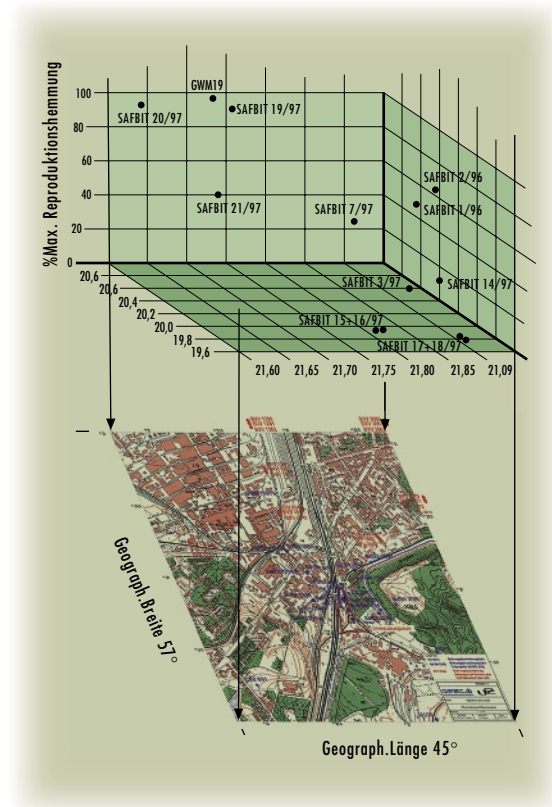


Bild 3: Räumliche Verteilung der Intensität pflanzentoxischer Effekte von Grundwasserproben für 13 unterschiedliche Brunnen in Bitterfeld

liert untersuchten Strömungsrichtung des Grundwassers, das in diesem Geländeausschnitt von Nordwest nach Südost verläuft, zusammen.

Soll die Ausbreitung toxischer Kontaminationen des Grundwassers verhindert oder saniert werden, wäre es hilfreich, die Stoffe zu kennen, die für die toxischen Effekte hauptverantwortlich sind. Entlang der vermuteten Hauptkontaminationsquelle, dem Gelände der ehemaligen Chemie-Produktionstätten, wurden daher aus unterschiedli-

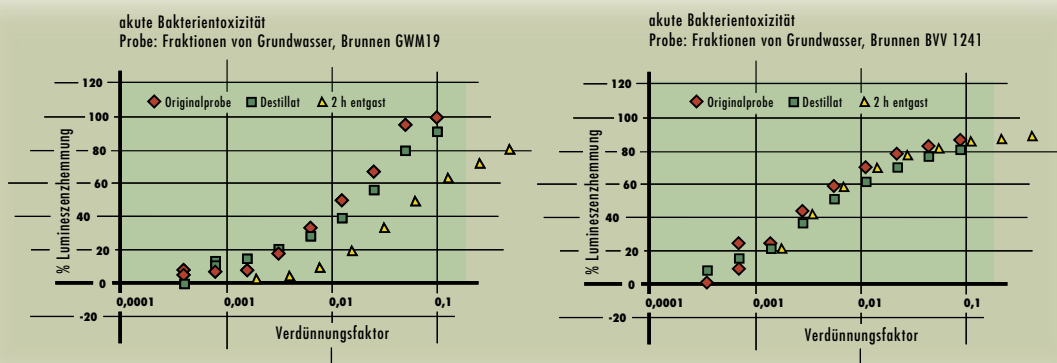


Bild 4: Untersuchung der Toxizität von Grundwasserproben im Original und nach der Destillation bzw. Begasung

chen Grundwasserbrunnen Proben gezogen und diese im oben dargestellten Sinne fraktioniert. In Bild 4 werden die Ergebnisse für zwei Brunnen und einen Fraktionierungsschritt verglichen. Dabei sollte die Frage geklärt werden, ob das toxische Potential des Grundwassers vor allem bei den leichtflüchtigen organischen Verbindungen liegt. Dafür wurden die Grundwasserproben jeweils im Original und nach Destillation bzw. Begasung – also Vertreibung von leichtflüchtigen Bestandteilen – auf ihre Toxizität untersucht. Bild 4 zeigt nun, dass in dem einen dargestellten Falle die Toxizität des Originalgrundwassers um etwa den Faktor 5 durch Vertreibung von leichtflüchtigen Stoffen reduziert werden kann und sich als entsprechend hohe Toxizität im Destillat wiederfinden lässt. Im Falle der zweiten Grundwasserprobe, die nur circa 100 Meter von der ersten Probenstelle entfernt ist, ergeben sich jedoch völlig andere Befunde. Hier bleibt die Giftigkeit des Grundwassers auch nach Vertreibung leichtflüchtiger Stoffe vollständig erhalten. Das zeigt deutlich, dass die Verschmutzungen des Grundwassers schon kleinräumig von sehr unterschiedlicher Art und Zusammensetzung sein müssen. Auch das Ausmaß der Verschmutzung kann der Abbildung entnommen werden. Grundwasser dieser beiden Brunnen führt noch in Verdünnungen von 1:1000 (das heißt beispielsweise 1 Liter Grundwasser verdünnt mit 999 Litern sauberen Wassers) zu deutlichen akuten toxischen Effekten.

Aus der Unterschiedlichkeit der Belastungen mit toxischen Stoffen ergibt sich nun, dass bei der Sanierung von derartig verschmutztem Grundwasser damit gerechnet werden muss, dass eingesetzte Sanierungstechniken nicht gleichbleibend zuverlässig funktionieren. Schwankungen in Art und Zusammensetzung der zu reinigenden Grundwässer können den Sanierungserfolg in erheblichem Maße beein-

trächtigen. Die Sanierungsverfahren, die im Rahmen des Projektes SAFIRA am Modellstandort in Bitterfeld entwickelt werden, müssen also – sollen sie zum Sanierungserfolg führen – von ökotoxikologischen Wirkungsuntersuchungen begleitet werden. Wie so etwas im Prinzip funktionieren kann, ist in Bild 5 dargestellt. Grundwasser wird vor und nach Eintritt in einen Sanierungsreaktor auf toxische Effekte untersucht. Die toxischen Effekte nehmen deutlich ab, allerdings stammen die Ergebnisse aus Sanierungsver-

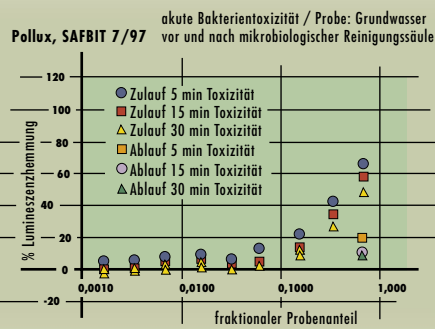


Bild 5: Bakterientoxizität von Bitterfelder Grundwasser vor und nach mikrobiologischer Reinigung

suchen im kleinen Maßstab. Zukünftig müssen die Toxizitätstests so weiterentwickelt werden, dass die *in situ*-Versuche im großen Maßstab weitgehend automatisiert und kontinuierlich überwacht werden.



Ein weiteres Beispiel: Sedimente des Spittelwassers

Das Spittelwasser ist ein kleiner Bach, der die Industrieregion Bitterfeld-Wolfen entwässert und von der ansässigen Industrie als Abwasserkanal missbraucht wurde. Die Schadstofffracht dieses Baches, der in die Mulde mündet, trägt einen Großteil zu deren Belastung bei. Auch die Elbe ist nach Zufluss der Mulde wesentlich höher belastet.

Die Sedimente eines Gewässers zeichnen sich dadurch aus, dass dort organische Schadstoffe und Schwermetalle über lange Zeit angereichert werden. Die Schadstoffe werden dabei aber nicht irreversibel festgelegt, sondern belasten durch Rücklösung der Schadstoffe oder durch Aufnahme von Sedimentpartikeln durch Organismen das Ökosystem kontinuierlich. Dies führt dazu, dass die Belastung auch nach Ende der Einleitungen ins Gewässer noch lange Zeit bestehen bleibt.

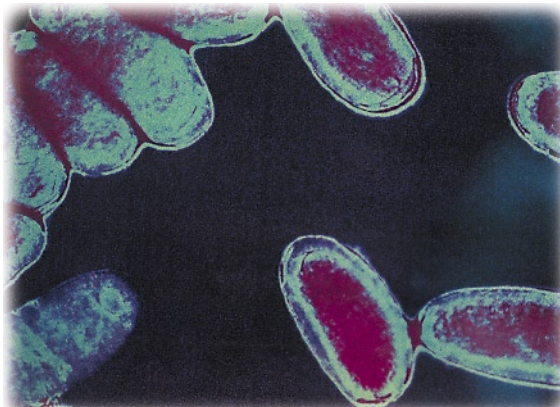
Dies trifft auch für das Spittelwasser zu. Obwohl die meisten Produktionsanlagen vor etwa 10 Jahren geschlossen wurden, sind die Sedimente des Baches, aber auch der darüberliegende Wasserkörper, noch immer sehr stark belastet. Auf Grund vielfältiger Altablagerungen in Bitterfeld-Wolfen ist auch heute noch von bedeutenden Schadstoffeinträgen ins Spittelwasser auszugehen.

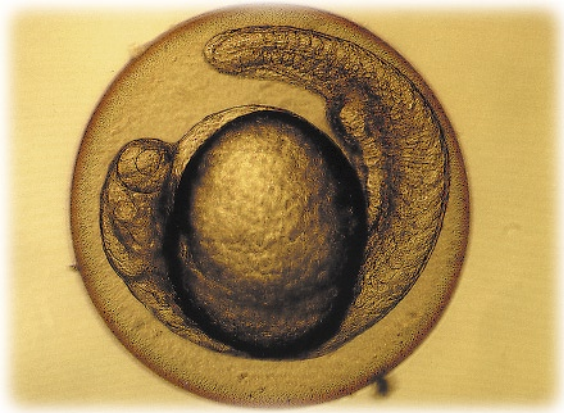
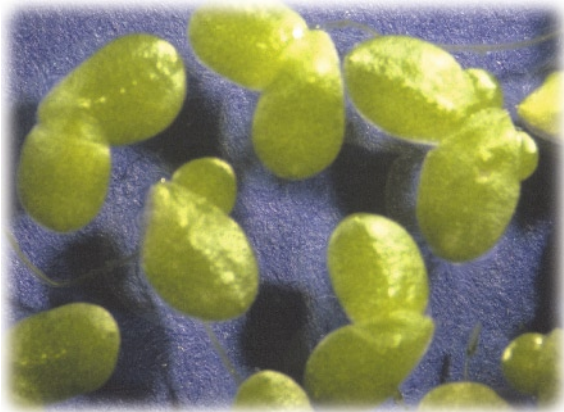
Mit Hilfe der sequentiellen Teststrategie konnten toxische Verbindungen in Extrakten des Spittelwassersediments auf der Basis eindeutiger Ursache-Wirkungs-Beziehungen

Bild 6 und 7: Sedimentprobenahme am Spittelwasser (Fotos: Sektion Chemische Ökotoxikologie)

Bild 8: Beispiele aus der Biotestbatterie (Fotos: Uwe Enzenbach und Ralf Altenburger, UFZ)

a) Wasserfloh, b) Leuchtbakterien





nachgewiesen werden. Dabei wurde ein zweistufiges Fraktionierungsverfahren aus Säulenchromatografie und Normalphasen-HPLC mit einer Biotestbatterie aus Leuchtbakterientest, Wasserflohtest, Algenwachstumstest, Fischeientwicklungstest und Tests mit Fischzelllinien auf Zelltoxizität, dioxinähnliche Wirkung und Genotoxizität kombiniert (Bild 10). Es wird deutlich, dass jeder Test andere Fraktionen als besonders wirksam erkennt, das heißt, dass die Wirkung gegenüber verschiedenen Organismen auf unterschiedliche Schadstoffe zurückgehen muss. Diese wirkungsauslösenden Substanzen wurden gaschromatografisch mit massenspezifischer Detektion analysiert. Die identifizierten Schadstoffe wurden in Einzelstofflösungen



c) Wasserlinsen, d) Ei des Zebraflohkäfers e) Zebraflohkäfer
 Bild 9: Säulenchromatografische Trennung eines Sedimentextraktes
 (Foto: Norma Neuheiser, UFZ)

in solchen Konzentrationen getestet, die denjenigen in den wirksamen Fraktionen entsprechen. So wurden die identifizierten Substanzen als Ursache für die gemessenen Wirkungen bestätigt oder ausgeschlossen. Auf diese Weise konnten eine Reihe giftiger Verbindungen als Ursache für messbare Wirkungen der Sedimentextrakte in verschiedenen Biotests identifiziert werden, die in der Routineanalytik normalerweise nicht erfasst werden, wie z.B. N-Phenyl- β -naphthylamin, Prometryn, Methylparathion und Tributylzinn. N-Phenyl- β -naphthylamin, ein Altstoff aus der Gummiherstellung, hat beispielsweise eine Giftigkeit auf Grünalgen, die der hochwirksamer Unkrautvernichtungsmittel wie Atrazin nahekommt. Literaturdaten zur Giftigkeit dieser Verbindungen liegen bisher keine vor. Bei Gefährdungsabschätzungen wird der Stoff daher trotz seiner hohen Wirkpotenz nicht berücksichtigt. Prometryn und Methylparathion sind als hochwirksame Unkraut- bzw. Insektenvernichtungsmittel bekannt. Ihre bedeutende Rolle für die Giftigkeit des Spittelwassersediments war bisher nicht erkannt. Trotz der Einstellung der Produktion in Bitterfeld 1990 bzw. 1991 liegen die Konzentrationen im Sediment

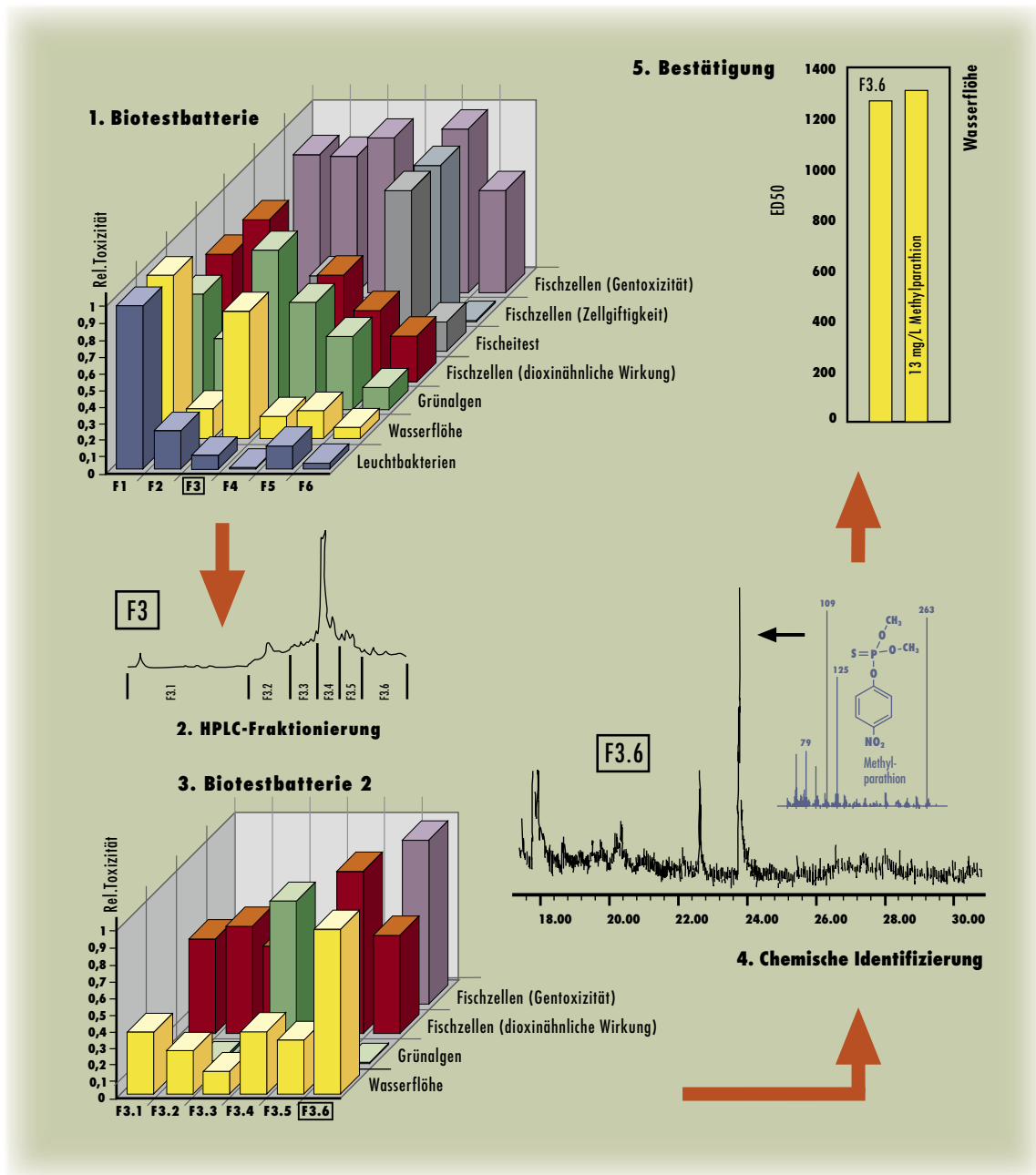


Bild 10: Sequentielle Teststrategie: Über physikalisch-chemische Fraktionierungsverfahren werden biologische Wirkungstests und chemische Analytik miteinander verknüpft.

noch immer in einem Bereich, der für viele Organismen akut giftig ist. Organozinnverbindungen wie das sehr giftige Pestizid Tributylzinn, das vor allem Schiffsfarben gegen unerwünschten Aufwuchs zugesetzt wurde, wurden seit etwa 1965 in Bitterfeld produziert.

Die aufgezeigten Beispiele machen deutlich, wie wichtig es ist, Gefährdungsabschätzungen und Sanierungsmaßnahmen nicht ausschließlich auf chemischer Analytik oder biologischer Wirkungstestung aufzubauen, sondern diese in Form von sequentiellen Teststrategien zu verknüpfen. Ziel muss sein, Wirkungen und deren Ursachen ausfindig zu machen. Erst dann sind gezielte Sanierungsmaßnahmen und eine sachgerechte Überwachung des Sanierungserfolgs möglich.

English Abstract

Identifying toxic substances — an important step towards hazard assessment and remediation

Werner Brack and Rolf Altenburger

The benefits of effect-based pollutant identification

Environmental compartments such as the groundwater, surface water, sediments and soils in industrial regions like Bitterfeld-Wolfen are often polluted by a complex mixture of environmental chemicals. In addition to production residues and unwanted by-products often carelessly disposed of in the environment, diverse degradation and conversion products also occur under certain environmental conditions, such as insolation, altered pH or redox conditions, and the activity of microorganisms. Chemical analysis is unable to identify all the potentially hazardous pollutants contained in a sample. Although techniques of chemical analysis can often detect known compounds at very low concentrations with great accuracy, unknown or unexpected substances generally go unnoticed. Consequently, chemical analysis is by itself inadequate for hazard assessment, as it remains uncertain whether all the ecotoxicologically relevant substances (i.e. those substances which affect organisms exposed to them) really have been detected. Even if the concentrations of the substances targeted are slashed, remediation which focuses on the 'wrong' substances may fail to sufficiently eliminate the potential hazard.

Biological effect tests provide an alternative or an indispensable addition to purely chemical analysis whenever hazards need to be assessed. In the laboratory, test organisms are exposed to the polluted environmental compartments or extracted mixtures of pollutants. The hazard potential and possibly the need for remediation can then be deduced from the effects observed. However, individual biotests can only identify a certain range of possible effects. Accordingly, the impact of, say, weed killer on photosynthesis can only be identified using green plants, while contaminants which alter the genetic make-up can only be detected by using specially tailored tests, not mortality studies. In order to integrate as many relevant effects as possible into hazard assessment, a whole series of individual biotests must therefore be combined with various effect descriptions to create a 'biotest battery'.

Unfortunately, biological effect tests generally do not indicate the reasons for the effects observed. Yet such information is necessary if focused remediation measures are to be carried out.

In order to evaluate the hazard potential of complex mixtures of pollutants in the environment, draw up focused remediation measures and monitor the success, possible effects must be measured in a suitable test battery, and the substances responsible identified.