



Auswahl und Nutzung von Referenzmatrices zur Bestimmung von Stoffeigenschaften und des Umweltverhaltens von Stoffen

Werner Kördel, werner.koerdel@ime.fraunhofer.de;

Karlheinz Weinfurtnner, karlheinz.weinfurtnner@ime.fraunhofer.de; beide Schmallenberg

Abstract

Zur Abschätzung des Umweltverhaltens und der Wirkungen von Stoffen (z.B. Allgemeinchemikalien und Wirkstoffe wie Pflanzenschutzmittel, Arzneimittel und Biozide) auf Ökosysteme bedarf es eines Satzes valider Testergebnisse. Testdaten können gruppiert werden in intrinsische Stoffeigenschaften wie Wasserlöslichkeit und Dampfdruck und extrinsische Eigenschaften wie Adsorption /Desorption, Bioabbau oder Wirkungen auf Bodenorganismen. Diese Testergebnisse werden teilweise stark von den Eigenschaften des Testböden mit beeinflusst. Es gilt daher ein durchgängiges Konzept für die Auswahl, Aufarbeitung und Bereitstellung solcher Referenzmatrices wie z.B. Referenzböden zu entwickeln. Wesentliche Kriterien dabei sind die Rückführbarkeit der erarbeiteten Daten auf reale Umweltausschnitte sowie Eignung der Referenzmatrices für die Testung möglichst vieler Stoffeigenschaften und die Repräsentativität (Verallgemeinerungsmöglichkeit) der erarbeiteten Daten.

Einleitung

Für eine Beurteilung des Umweltrisikos von Stoffen benötigt man verlässliche Daten zur Abschätzung bzw. Modellierung der Verteilung und des Verhaltens (fate) in und zwischen den Kompartimenten. Eine Grundlage dafür sind die physikalisch-chemischen Eigenschaften wie z.B. Dampfdruck, Schmelzpunkt, Wasserlöslichkeit oder Verteilung zwischen Fett- und Wasserphase (n-Octanol/Wasser). Diese sogenannten intrinsischen Stoffeigenschaften hängen allein vom betrachteten Stoff ab und können somit jederzeit von einem anderen Labor verifiziert werden. Die Bestimmungsverfahren sind in international anerkannten Richtlinien (z.B. OECD-Testrichtlinien) festgelegt.

Anders verhält es sich mit Stoffeigenschaften, die nicht nur von dem untersuchten Stoff selbst, sondern auch von der Matrix, in der der Test durchgeführt wird, abhängen. Typische Beispiele hierfür sind z.B. die Bestimmung der Sorption eines Stoffes an Böden oder Sedimente oder der Abbau/Metabolismus eines Stoffes in diesen Kompartimenten. Es ist Lehrbuchwissen, dass die Sorption eines Stoffes stark von dem Boden- bzw. Sedimenteigenschaften abhängt. Analoges gilt für die Abbau/Metabolismusprozesse in Böden und Sedimenten. Auch die Wirkung eines Stoffes auf Organismen hängt von der verwendeten Matrix ab. So können z.B. für einen Stoff die NOEC-Werte im Regenwurmtest stark differieren, je nachdem in welchem Boden bzw. Bodensubstrat der Test durchgeführt wurde.

Diese Eigenschaften wurden als extrinsische

Stoffeigenschaften bezeichnet. Es stellt sich somit das Problem: Wie können erarbeitete Daten miteinander verglichen werden, die an verschiedenen Orten mit sich voneinander unterscheidenden Matrices gewonnen wurden? Man kann die Frage auch anders stellen: Wie stark können bzw. müssen diese zur Testung genutzte Matrices standardisiert werden, und wie viel verschiedene Matrices müssen eingesetzt werden, um eine verlässliche Expositionsabschätzung durchführen zu können? Erschwerend kommt hinzu, dass Böden und Sedimente dynamische Systeme mit teilweise hoher zeitlicher und räumlicher Variabilität darstellen. Bei einer zweiten Boden- oder Sedimentprobenahme wird diese sich mehr oder weniger deutlich von der ersten unterscheiden. Dieses Problem stellt sich auch, wenn in Böden oder Sedimenten verfügbare oder mobile Stoffanteile bestimmt werden sollen. So wird z.B. in ISO 17402 (Soil quality – Guidance for the selection and application of methods for the assessment of bioavailability of contaminants in soil and soil materials) ausgeführt, dass das Wissen hinsichtlich geeigneter Bestimmungsverfahren zur Erfassung verfügbarer/bioverfügbarer Anteile von Kontaminanten noch sehr begrenzt ist und standardisierte und erprobte Methoden für die meisten Expositionspfade nicht verfügbar sind. Zu vergleichbaren Ergebnissen kommen auch Harmsen et al. (2005).

Konzept zur Auswahl und Nutzung von Referenzmatrices

Ziel der Auswahl und Festlegung von Referenzmatrices ist es, die Komplexität und Variabilität eines zu betrachtenden Umweltkompartiments bzw. des Ausschnitts so zu reduzieren, dass sich aus Sicht der mit der Referenzmatrix durchzuführenden Laborversuche ein handhabbares und überschaubares Untersuchungsobjekt ergibt. Bei dieser Reduktion ist jedoch darauf zu achten, dass die Rückführbarkeit der Ergebnisse auf reale Umweltbedingungen nicht verloren geht. Abbildung 1 verdeutlicht das prinzipielle Vorgehen am Beispiel von Referenzböden. Für Böden bedeutet dies die Auswahl von wenigen Referenzböden mit hoher Repräsentativität aus der Vielzahl natürlicher Böden. Dieses Vorgehen entspricht dem in der Bodenbiologie, wo begründet ausgewählte „Stellvertreterorganismen“ getestet werden. Von diesen Ergebnissen wird auf die Auswirkung auf das Ökosystem Boden geschlossen. Die Vorgehensweise wird in Kapitel III weiter ausgeführt. Das Modell kann dann leicht auf andere Matrices wie z.B. Sedimente übertragen werden.

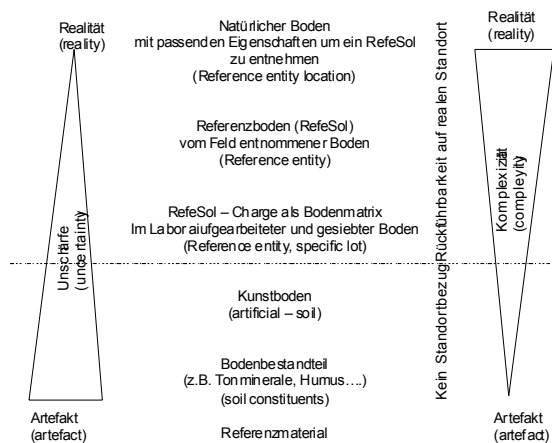


Abb. 1: (→ [Grafik vergrößern](#)) Grundsätzliche Strategie zur Auswahl von Referenzmaterialien

Da Referenzböden für Labortest vorgesehen sind und von daher aus dem Feld entnommen, zum Labor transferiert und dort gesiebt werden, werden sie zur Bodenmatrix mit definierten Eigenschaften. Wie bereits gesagt, darf durch die Bodenaufarbeitung nicht der direkte Bezug zum Standort, auf dem die Böden entnommen wurden, verloren gehen. Mahlen des Bodens und signifikante Veränderungen der Bodeneigenschaften sind somit untersagt. Im Rahmen des Bodenschutzes und der Stoffbewertung werden diese Bodenmatrices eingesetzt, um extrinsische Eigenschaften wie den Abbau/Metabolismus von Stoffen in Böden, Sorption und Mobilität bzw. ökotoxikologische Effekte zu bestimmen. Es geht also nicht darum, Referenzböden zu Referenzmaterialien zu machen, um sie dann für die Qualitätssicherung analytischer Messungen zu nutzen.

Um die Komplexität z.B. von Böden weiter zu verringern, wurden sogenannte „Artificial Soils“ eingeführt, oder man benutzt einzelne Bodenbestandteile wie isolierte Tonminerale oder Huminstoffe für die Untersuchungen. Der Kunstboden (artificial soil) erweckt den Eindruck eines hoch standardisierten Bodenmaterials. Betrachtet man jedoch die Rezeptur genauer, so wird deutlich, dass dieser Kunstboden weit von einer Standardisierung entfernt ist. Der verwendete Torf kann sich je nach Herkunft oder Bezugsquelle deutlich in seinen Eigenschaften unterscheiden. Torf kann zudem nicht Humus in landwirtschaftlich genutzten Böden gleichgesetzt werden. Des Weiteren bestehen natürliche Böden nicht nur aus Sand und Kaolin. Lehmenteile werden nicht berücksichtigt. Für die Extrapolation von Daten, die mit dem Kunstboden erhalten wurden, besteht die Frage, für welche natürlichen Böden er repräsentative Eigenschaften hat; welche Aussageschärfe hat eine Modellierung. Analoges gilt für die Testung mit Bodenbestandteilen. Dabei soll nicht übersehen werden, dass solche Untersuchungen, z.B. um Wirkmechanismen oder spezielle Prozesskinetiken zu erfassen, durchaus sinnvoll sein können.

Beispiel: Referenzböden (RefeSols)

In der Vergangenheit wurden in Deutschland und Europa verschiedene Ansätze vorgeschlagen bzw. verfolgt, um Böden für die Testung von Substanzeigenschaften begründet auszuwählen und zur Verfügung zu stellen. Der bekannteste Ansatz dürfte der der EUROSOLS zur Bestimmung der Adsorption/Desorption sein (Gawlik und Muntau, 1999). Diese Ansätze sind in der Veröffentlichung von Bussian et al. (2005) zusammengestellt und kommentiert. Wesentlich ist, dass diese Konzepte verschiedene Philosophien verfolgen und oft – so wie die EUROSOLS – nur für die Testung einer oder weniger Stoffeigenschaften entwickelt wurden. Ziel sollte es jedoch sein, dass alle – zumindest möglichst viele – verschiedene Tests mit einem Referenzboden durchgeführt werden können, um so die erarbeiteten Daten miteinander vergleichen zu können und ohne Verlust von Aussageschärfe in einer Modellierung zusammengeführt werden können.

Für die Auswahl der Böden sollte zunächst festgelegt werden, welche Bereiche abgedeckt werden sollen. Die vom Fraunhofer-Institut für Molekularbiologie und Angewandte Oekologie ausgewählten RefeSols beziehen sich daher zunächst nur auf landwirtschaftlich genutzte Böden Deutschlands bzw. Mitteleuropas. Wichtige Auswahlkriterien waren:

- Bodenparameter, welche maßgeblich die Ergebnisse der mit dem Referenzböden durchzuführenden Untersuchungen beeinflussen wie z.B. C_{org} , pH, Tongehalt
- Repräsentativität des Bodens
- Eignung des Bodens, möglichst das gesamte Spektrum an Prüfungen mit ihm durchführen zu können
- Optimale Abbildung der Variation an Bodeneigenschaften durch ein Spektrum an Referenzböden

Am Ende des Auswahlprozesses können dann definierte Standorte der ausgewählten Referenzböden festgelegt sowie Gebiete angegeben werden, wo sie zu finden sind.

Es wurde bereits erwähnt, dass Böden zeitlich und räumlich dynamische Systeme darstellen. Eine zweite Probenahme wird daher nicht zu einem neuen Batch mit identischen Eigenschaften führen, wenngleich die neue Charge vergleichbare Ergebnisse erzielen soll. Bodeneigenschaften können nur als Bereiche angegeben werden (siehe z.B. OECD TG 106). Es gilt nun auszuloten, die Bereiche eng genug zu wählen, um die Vergleichbarkeit sicher zu stellen, sie jedoch breit genug zu halten, um eine zweite Probenahme zu ermöglichen. Solche Bereiche in Bodeneigenschaften sind für die RefeSols im Abschlussbericht zum UBA Forschungsvorhaben FKZ 203 74 277 (Kördel et al., 2006) bzw. in Bussian et al. (2005) angegeben.

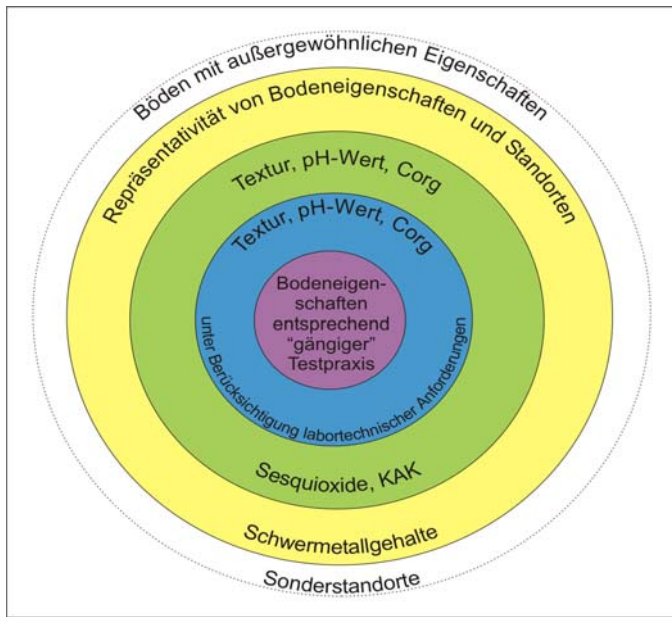


Abb. 2: (→ [Grafik vergrößern](#)) Kriterien zur Auswahl der deutschen Referenzböden (RefeSols)

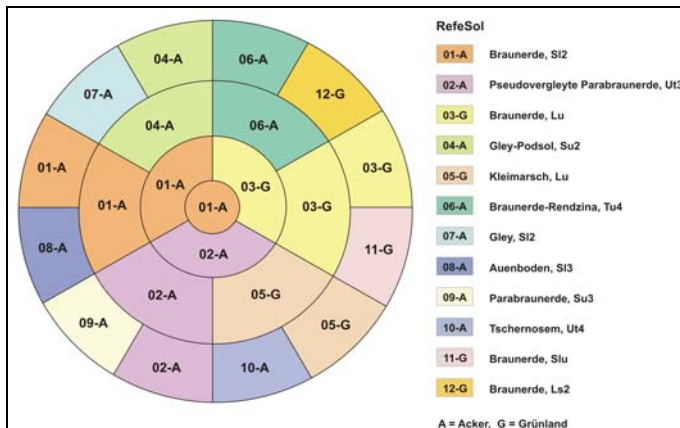


Abb. 3: (→ [Grafik vergrößern](#)) RefeSol-System für landwirtschaftlich genutzte Referenzböden Deutschlands

Abb. 2 zeigt das Schema für die Auswahl der in Abb. 3 zusammengestellten Referenzböden. Das RefeSol-System geht aus Praktikabilitätsgründen von einem lehmigen Sand (Ackerstandort) als zentralem Boden aus. Von innen nach außen erfolgt eine Differenzierung und Variierung der Bodeneigenschaften entlang der in Abbildung 2 aufgeführten Kriterien, was zu einem Kranz von 12 Böden führt, wovon in der Regel jedoch nur die inneren 3 bis 6 Böden zur Testung verwendet werden. Die weite Verbreitung und die Einsetzbarkeit für praktisch alle Tests begründen die Auswahl des zentralen Bodens. In dem zweiten Kranz werden die wichtigsten Bodeneigenschaften wie Textur, pH und Corg variiert. Bei dem experimentellen Einsatz dieser drei zentralen Böden (Abb. 3) erhält man somit erste Anhaltspunkte, wie die gemessenen Werte von den Bodeneigenschaften beeinflusst werden.

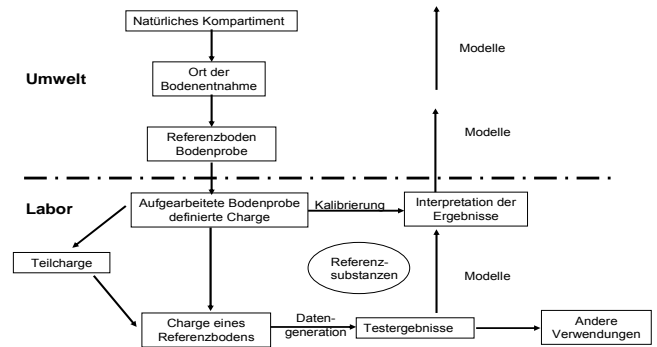


Abb. 4: (→ [Grafik vergrößern](#)) Herstellung definierter Chargen an Referenzböden

Abbildung 4 verdeutlicht die prinzipielle Vorgehensweise, um einen für die Labortestung vorbereiteten Referenzboden zu erhalten. Nach Festlegung des Entnahmeortes erfolgt die Beprobung. Man erhält das Ausgangsmaterial für eine spätere Charge eines Referenzbodens. Nach Überführung ins Labor, Siebung und Charakterisierung liegt eine definierte Charge vor. Diese kann nun weiter unterteilt werden, z.B. in eine luftgetrocknete und feldfrische Teilcharge.

Da biologische Test und insbesondere Tests zur Abbaubarkeit der untersuchten Stoffe feldfrische Böden verlangen, bedarf es nicht nur einer Lagerung im luftgetrockneten Zustand, sondern auch als feldfrische Böden. Dies bedeutet, dass Lagerstabilitäten strikt zu kontrollieren und Verfallsdaten anzugeben sind. Eckdaten zur Lagerung enthält z.B. ISO 18512. Die mittlerweile vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass bei sachgerechter Lagerung unter Freilandbedingungen auch „feldfrische“ Böden bis zu zwei Jahre ohne signifikante Änderungen in den Bodeneigenschaften gelagert werden können.

Diese Teilchargen stehen dann als gut charakterisierte Bodenmatrices für die Testung zur Verfügung. Wesentlich ist, dass bei Aufarbeitung der Proben und Lagerung nie der Bezug zu der ursprünglich am Standort entnommenen Bodenmenge verloren geht. Dies stellt sicher, dass die erarbeiteten Daten als Eingabedaten für Modelle geeignet sind, um das Umweltverhalten eines Stoffes bezogen auf reale Umweltkompartimente bzw. Umweltausschnitte zu prognostizieren.

Wieviele Böden in die Testung eingesetzt werden müssen, hängt von der benötigten Aussageschärfe in einer Risikobewertung ab.

Wie bereits ausgeführt, wird eine neue Charge nicht völlig identisch mit der alten sein. Wesentlich ist, dass die Werte für die Bodencharakterisierung in dem vorgegebenen Wertebereich liegen. Ein zweiter Gesichtspunkt ist wichtig: die

Nutzung von Referenzsubstanzen, was bereits routinemäßig bei einigen biologischen Tests erfolgt. Der Einsatz von Referenzsubstanzen belegt zum einen die Vergleichbarkeit verschiedener Chargen für spezifische Tests und kann des Weiteren als unverzichtbares Element der Qualitätssicherung genutzt werden; siehe z.B. Emons et al., 2004; Terytze et al., 2003 und Fajgeli, 2007.

In einer internationalen Projektgruppe wird derzeit eine ausführliche Publikation zum Thema „Auswahl und Nutzung von Referenzmatrices“ erarbeitet und in 2008 veröffentlicht werden.

Literatur

- Bussian, B.; W. Kördel, G. Kuhnt, S. Ohnsorge, K. Weinfurtner (2005): Das RefeSol-Projekt, Grundlagen eines deutschen Referenzbodensystems. *Wasser und Abfall*, 11, 20-26
- Emons, H.; T.P.J. Linsinger, B.M. Gawlik (2004): Reference materials: terminology and use. Can't one see the forest for the trees? *Trends in Analytical Chemistry*, 23 (6), 442-449
- Fajgeli, A. (2007): Assuring Quality of Analytical Measurement Results: The IUPAC Role. *Chemistry International*, May-June 2007, 12-15
- Gawlik, B. M.; H. Muntau (Eds), 1999: EUROSOILS II, Laboratory Reference Materials for Soil – Related Studies. Joint Research Centre, ISPRA, Italien.
- Harmsen, J.; W. Rulkens, H. Eijsackers, (2005): Bio-availability: concept for understanding or tool for predicting? *Land Contamination & Reclamation* 13 (2), 161–171
- ISO 18512 Long and short term storage of soil samples.
- ISO 17402 Soil quality – Guidance for the selection and application of methods for the assessment of bioavailability of contaminants in soil and soil materials.
- Terytze, K.; W. Kördel, K. Hund-Rinke, D. Hennecke, V. Wachendörfer: Ansätze einer Handlungsanleitung zur Abschätzung tolerierbarer stofflicher Einträge auf Böden durch betriebsbedingte Emissionen. In: Rosenkranz, D.: Bodenschutz: Ergänzbare Handbuch der Maßnahmen und Empfehlungen für Schutz, Pflege und Sanierung von Böden, Landschaft und Grundwasser. Loseblattausgabe, Berlin: E. Schmidt, Kennzahl 5670 (38. Lieferung Juli 2003)
- Kördel, W., Weinfurtner, K., Hennecke, D., Hund-Rinke, K., Römbke, J. (2006): Überprüfung und Fortschreibung vorhandener Untersuchungsmethoden zum Anhang I der Bundesbodenschutz- und Altlastenverordnung (BBodSchV) nach dem Stand der Wissenschaft und Technik und Evaluierung neuer Methoden zur Bestimmung weiterer Prüfwerte. UBA-Forschungsbericht FKZ 203 74 277

Korrespondenzadresse:

Dr. Werner Kördel
Fraunhofer-Institut für Molekularbiologie und Angewandte Ökologie (IME)
Auf dem Aberg 1, D-57392 Schmallenberg
Tel: 49-2972-302-217
FAX: 49-2972-302328