



Klärwerk Emschermündung (Quelle: Wikipedia)

Umweltanalytik

Kein Schlamm(m)assel im Klärwerk

Wie gut eine Kläranlage arbeitet, lässt sich präzise nicht mit Augenmaß, sondern nur mit den Werkzeugen der analytischen Chemie bestimmen. Australische und neuseeländische Forscher gingen der Frage nach, wie sich Konzentration und Verbleib von im Abwasser enthaltenen hormonaktiven Substanzen (EDC) effizient und sensitiv untersuchen lassen. Statt Abwasser und Klärschlämme aufwändig zu extrahieren, setzen sie auf die StirBarSorptiveExtraktion (SBSE) mit dem GERSTEL-Twister und anschließender Thermodesorptions-GC/MS-Analyse.

Seit die Klärschlammverordnung (Abf-KlärV) verschärft wurde, steht der sedimentierte Rückstand der Abwasseraufbereitung unter strenger Beobachtung und darf nur nach eingehender Prüfung und unter Einhaltung strenger Unbedenklichkeitskriterien auf deutschen Äckern als Dünger ausgebracht werden. Laut § 3 der Biostoffverordnung (BioStoffV) fällt Klärschlamm in die minderschwere Risikogruppe 2 (von vier Gruppen). Dass von ihm ein Risiko für Mensch und Umwelt ausgeht, ist unstrittig, handelt es sich doch um eine Ansammlung keimbelasteter Rückstände, die zwar reich an wertvollen Pflanzennährstoffen, namentlich Stickstoff und Phosphor, sind, doch spült die Kanalisation noch anderes ins Klärbecken, das, einmal auf den Acker gebracht, sich im Boden anreichert, ins Grundwasser sickert oder Feldfrüchte kontaminieren könnte. Gemeint sind:

Krankheitskeime, Arzneimittelrückstände, Inhaltsstoffe von Körperpflegeprodukten oder Chemikalien, die über Toilette und Abfluss entsorgt wurden, um nur einige Beispiele zu nennen.

Die Herausforderungen sind hoch, und wie gut oder wie schlecht eine Abwasserreinigungsanlage (ARA) sämtliche Rückstände und Schadstoffe aus dem Abwasser zu entfernen in der Lage ist, lässt sich nicht ausschließlich durch Inaugenscheinnahme feststellen. Dafür bedarf es exakter analytischer Methoden. Benjamin Tan vom National Research Center for Environmental Toxicology in Queensland, Australien, und Kollegen haben anhand realer Abwasser- und Klärschlammproben untersucht, inwieweit sich hormonaktive Substanzen, so genannte endokrin disruptive Chemikalien (EDCs), abbauen lassen. Ziel der Wissenschaftler war es, eine Methode zu entwickeln, ausgewähl-

te EDCs, darunter Steroid-Sexualhormone, Phthalate, Alkylphenole und Tamoxifen, schnell und sensitiv nachzuweisen. Erschienen ist ihr Bericht im Fachmagazin *Water Research* (2008 Jan; 42(1-2):404-12).

Zu den EDCs werden verschiedene Substanzen gerechnet u.a. bestimmte Pestizide und Chemikalien, polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAKs) und polychlorierte Biphenyle (PCBs). Sie stehen in dem Verdacht, biologische Funktionen natürlicher Hormone nachzuahmen beziehungsweise zu blockieren und Reproduktion, Wachstum und Entwicklung eines Organismus zu beeinträchtigen. Während der negative Einfluss von EDCs in der Fauna als belegt gilt, mangelt es an gesicherten Erkenntnissen über die Gefährdung des Menschen. Dessen ungeachtet postulieren Diskussionen über Unfruchtbarkeit, Prostata-, Hoden- und Brustkrebs, verlangsamte intellektuelle Entwicklung bei Kindern oder verfrühte Pubertät immer wieder auch den negativen Einfluss von EDCs, die über Trinkwasser und Nahrung in den Organismus gelangen.

Hinweise auf eine eventuelle Gefährdung sollten genügen, Lebensmittel und Trinkwasser auf das Vorhandensein entsprechend eingestufte Substanzen genau zu überprüfen. Und es ist wichtig zu wissen, wie viele der verschiedenen EDCs im Wasserkreislauf bleiben beziehungsweise wie gut Kläranlagen nicht nur ihre Filterfunktion erfüllen, sondern auch EDCs abbauen. Was nämlich, wenn sie sich durch Adsorption an den Klärschlamm dem biologischen oder chemischen Abbau entziehen, anreichern und auf die Felder gelangen?

Klärschlamm im Blick

Zwar existierten zahlreiche analytische Methoden zur Bestimmung von EDCs aus wässrigen Matrices wie Abwasser und Flusswasser, bemerken Tan et al. jedoch seien bislang nur wenige Methoden veröffentlicht worden, die zugleich auf den Nachweis von EDCs aus Klärschlamm eingehen. Die Wissenschaftler beschlossen, eine Methode zu entwickeln, um diese Lücke zu schließen. Auf Effizienz und Nachweisstärke bedacht, entschieden sie sich bei der Vorgehensweise für die StirBarSorptiveExtraktion (SBSE) mit dem GERSTEL-Twister und anschließender Thermodesorptions-GC/MS-Analyse. Hauptvorteile dieser Kombination sind laut den Wissenschaftlern die hohe Empfindlichkeit und der Nachweis eines breiten Spektrums an Verbindungen, darunter flüchtige Aromaten, halogenierte Lösemittel, PAKs, PCBs, Pestizide, Konservierungsmittel, Geruchsverursacher und Organozinnverbindungen. Darüber hinaus lasse sich die SBSE durch In-situ-Acylierung mit Erfolg für die Bestimmung von Alkylphenolen und natürlichen Östrogenen in Flusswasser und biologischen Proben einsetzen. „Die Methode hat das Potenzial“, schreiben Tan et al., „die Extraktions- und Analysezeit im Vergleich mit der üblichen SPE oder Flüssig-flüssig-

Extraktion erheblich zu reduzieren.“ Darüber hinaus erfordere diese Methode zum einen keine organischen, teils toxischen Lösemittel, zum anderen nur geringe Probenmengen – wenige Gramm Schlamm oder Milliliter wässriger Lösung genügen, um aussagekräftige Ergebnisse zu produzieren.

Probenvorbereitung und Analyse

Tan et al. wählten eine zweigleisige Vorgehensweise. Zum einen untersuchten sie mit EDC dotierte Klärschlamm. Sie verwendeten dafür Standardlösungen unter anderem von folgenden, zu den EDC gezählten Verbindungen: Benzylbutylphthalat, Dibutylphthalat, Diethylphthalat, di-(2-Ethylhexyl)Phthalat, 4-tert-Octylphenol, Nonylphenol, 4-Cumylphenol, Bisphenol A, Östron, 17 β -Östradiol, und Tamoxifen. Die Quantifizierung erfolgte mittels 4-n-Nonylphenol und 17 β -Östradiol-2,4,16,16-d₄ als interne Standards, „weil sie ähnliche physikochemische Eigenschaften besitzen wie die interessierenden Verbindungen und nicht ohne weiteres in Umweltproben gefunden werden“, schreiben Tan et al. Und so gingen die Wissenschaftler bei der Probenvorbereitung vor: 1 g Klärschlamm wurde in einem 20 mL-Standard-Vial mit 10 mL Wasser verdünnt, mit den internen Standards sowie mit 5 g Natriumkarbonat und 0,5 mL Essigsäureanhydrid als Derivatisierungsreagenz versetzt. Der Twister wurde nach Konditionierung in die präparierte Probenlösung gegeben, die er für die Dauer von fünf Stunden bei 24 °C und mit 500 U/min durchmischte. Während dieser Zeit erfolgte die Extraktion der Analyten in den PDMS-Sorptionsmantel des Twisters. Der Twister wurde dem Vial entnommen, trockengetupft und im GERSTEL-Thermal-DesorptionSystem (TDS) ausgeheizt, wodurch die Analyten desorbierten, im Kalt-AufgabeSystem (KAS) cryofokussiert und endlich temperaturprogrammiert auf die Trennsäule überführt wurden. Die Analyse erfolgte auf einem Agilent GC 6890 mit

MSD 5973.

„Die SBSE-Methode überzeugt durch eine akzeptable Wiederfindungsrate und Reproduzierbarkeit, wobei die meisten relativen Standardabweichungen für die Zielverbindungen unter 15 Prozent lagen“, bilanzieren Tan et al. Deutlich sei geworden, dass sich die Wiederfindungsrate der EDCs durch Anhängen einer Acyl-Gruppe (Acylierung) steigern ließ. Die Reaktion der Acylierung mit Essigsäureanhydrid funktioniere gut unter alkalischen Bedingungen; ein entsprechender basischer pH-Wert (pH > 11) sei mit Natriumkarbonat erreicht worden. Die Derivatisierung steigere den log K_{OW}-Wert beziehungsweise verringere die Polarität der natürlichen Hormone und Alkylphenole durch Einfügen einer Acylgruppe in das Molekül. Die Forscher bemerkten, dass semi-polare Verbindungen wie Östrogene und Alkylphenole dahin tendierten, an die aktiven Oberflächen des GC/MS-Systems, was ihre Detektion beziehungsweise die Auswertung der Peaks erschwere. Die Derivatisierung reduziere die Adsorptionsneigung jedoch und verbessere Trennung und Detektion der Komponenten, schreiben Tan und Kollegen.

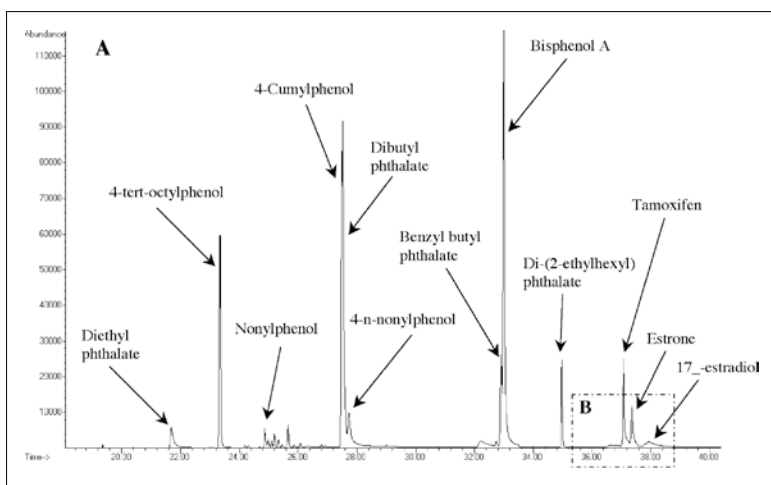
Übertragen der Methode in die Praxis

Um die Tauglichkeit ihrer Methode in der Praxis zu testen, analysierten Tan et al. ausgewählte EDCs in Wasser und Feststoffen aus dem Roheinfluss sowie Schlamm aus den anaeroben, aeroben und anoxischen Bereichen des Bioreaktors einer ARA in Südost-Queensland, Australien. Die Anlage verfüge laut den Forschern über eine moderne tertiäre Behandlungseinrichtung, zu der Einlass-Screening und Grobkornentfernung gehören, ferner ein alternierender Bioreaktor, Nach-Nitrierung/Entnitrierung, Klärung, tertiäre Sandfiltration, Ozonisierung, biologisch aktivierte Karbonfiltration und UV-Desinfektion. Die ARA beziehe ihre Eingänge aus Siedlungsabwässern und habe eine Kapazität von einem 5000-Menschen-Äquivalent oder 1300 m³ pro Tag. Proben wurden zu zwei verschiedenen Zeitpunkten genommen (November 2004, März 2005).

Ergebnis: „Bei den EDCs, die wir in Feststoffen und Schlamm der Abwasserreinigungsanlage gefunden haben, handelt es sich mehrheitlich um Phthalate, Alkylphenole und Hormone“, resümieren die Wissenschaftler. Wie zu erwarten, ließen sich in den Eingangswasser- und Eingangsschlammproben deutlich höhere Konzentrationen nachweisen, die infolge der verschiedenen Behandlungs- und Entfernungsprozesse in der ARA abnahmen. Die meisten der EDCs wurden im Vergleich mit der Schlammphase in höheren Konzentrationen in der Wasserphase gefunden. Das sei jedoch nicht überraschend, schreiben Tan et al., da die meisten der beobachteten Verbindungen von semipolarer Natur seien. Es zeigte sich ferner, dass die Mehrzahl der EDCs während der Schlammaktivierung entfernt werde. Mit der SBSE (GERSTEL-Twister), In-situ-Derivatisierung und anschließender Thermodesorptions-GC/MS-Analyse ließen sich östrogenartige Substanzen in Spuren sowohl in Wasser als auch in Schlamm nachweisen. Die Methode, resümieren die Wissenschaftler, habe vor allem zwei praktische Vorteile, nämlich kleine Probenvolumina (10 mL wässrige oder <1 g Schlammprobe) sowie das einfache Extraktionsverfahren, für das weder Lösemittel noch aufwändige Probenvorbereitungsschritte erforderlich seien, die sich eventuell negativ auf die Wiederfindungsrate auswirken könnten. Darüber hinaus ließen sich mit der SBSE die EDCs mit sehr niedrigen Nachweisgrenzen detektieren, auch wenn es sich nur um sehr kleine Probenvolumina handle.

Das Fazit der Experten

„Die SBSE in Kombination mit Thermodesorption und GC/MS-Analyse, wurde mit Erfolg beim Nachweis einer Reihe hormonaktiver Verbindungen (EDCs) in Wasser, Feststoffen und Schlamm angewendet“, bilanzieren Tan et al. Zu den Ziel-EDCs ihrer Untersuchung gehörten Steroid-Sexuallhormone, Phthalate, Alkylphenole und Tamoxifen. Die Wiederfindung von EDCs beim Arbeiten mit dieser Analystechnik erreichte Werte von 44 bis 128 Prozent. Das Detektionslimit (LOD) für die Verbindungen lag bei 2,0 ng/L für Wasserproben und 0,02 ng/g für Feststoffproben, wohingegen das Quantifizierungslimit 5,0 ng/L für Wasserproben und 0,06 ng/g für Feststoffproben betrug. Der praktische Einsatz der Methode bei der Analyse von EDC in einer Abwasserreinigungsanlage in Südost-Queensland ergab, dass die einfließenden Rohwässern und Feststoffe große Mengen Phthalate, Alkylphenole und weibliche Hormone enthielten. „Deren Konzentrationen hatte sich in dramatischer Weise verringert, nachdem das Material die verschiedenen Behandlungszonen (anaerob, aerob und anoxisch) des Bioreaktors durchlaufen hatte“, beschließen die Wissenschaftler ihren Bericht.



Trennung einer Mischung ausgewählter EDCs nach SBSE mit dem GERSTEL-Twister. Zum Einsatz kam ein Agilent GC 6890 mit MSD 5973.