

Übersichtsbeiträge

Schnelle Vor-Ort-Analytik zur Untersuchung von Rüstungsaltslasten

¹Klaus-Michael Wollin, ²Karsten Levsen

¹Niedersächsisches Landesamt für Ökologie, Göttinger Str. 14, D-30449 Hannover

²Fraunhofer Institut für Toxikologie und Aerosolforschung, Nikolai-Fuchs-Str. 1, D-30625 Hannover

Korrespondenzautor: Prof. Dr. Karsten Levsen

Zusammenfassung. Eine Übersicht über Methoden zur schnellen Vor-Ort-Analytik (field screening Techniken) für Explosivstoffe wird gegeben, für die in der Regel kommerzielle Testkits verfügbar sind. Diese Methoden umfassen Immunoassays, photometrische Verfahren, Bio- und chemische Sensoren sowie die Dünnschichtchromatographie. Neben der Beschreibung der Grundlagen dieser Verfahren und ihrer Validierung wird ihre Anwendung auf Wasser- und Bodenproben im Bereich von Rüstungsaltslasten dargestellt. Eine Auswertung von Feldstudien zeigt, daß diese Techniken erfolgreich sowohl zur Erkundung von Verdachtsflächen wie auch zur Begleitung der Sanierung von Rüstungsaltslasten eingesetzt werden können. Die beschriebenen Methoden zur Vor-Ort-Analytik erlauben in der Regel kurze Analysenzeiten und einen hohen Probendurchsatz und führen zu einer merklichen Reduktion der Zahl der Proben, die der nachfolgenden Laboranalytik zugeführt werden müssen, und damit auch der Kosten.

Schlagwörter: Erkundung; Nitramine; Nitroaromaten; Prüferte; Rüstungsaltslasten; Sanierung, Schnelle Vor-Ort-Analytik; sprengstofftypische Verbindungen (STV)

Abstract

Field Screening Methods for Explosives from Military Contaminated Sites

Field screening methods for the analysis of explosives (for which commercial test kits are generally available) are reviewed. These techniques include immunoassays, photometric methods, bio and chemical sensors as well as thin layer chromatography. Basic aspects of these techniques are discussed, their validation is presented and their application to water and soil samples from hazardous ammunition waste sites is described. An evaluation of field studies with commercial test kits demonstrates that these techniques can be applied successfully for both the exploration of suspected contaminated sites and their sanitation. These methods are used on-site. In general, they allow short analysis times and a high sample throughput, thus leading to a significant reduction of the number of samples to be analysed in the laboratory and the costs.

Keywords: Evaluation; explosives and related compounds (ERCs); guideline values for ERCs; military contaminated sites; nitramines; nitroaromatics; rapid field screening; remediation

1 Einleitung

Methoden zur schnellen Vor-Ort-Analytik von Umweltschadstoffen beanspruchen in jüngerer Zeit ein deutlich gestiegenes Interesse. Die Ursachen dieser Entwicklung sind vor allem auf die spezifischen Vorteile, die diese Verfahren gegenüber klassischen Labormethoden aufweisen, und das vielfältiger gewordene Angebot kommerzieller Testkits und neuer instrumenteller Entwicklungen zurückzuführen. Maßgeblich trug dazu bei, daß nunmehr auch für *organische* Prioritätskontaminanten, darunter *sprengstofftypische Verbindungen*, entsprechende Anwendungen verfügbar sind. Schnelle Vor-Ort-Analytik zeichnet sich durch folgende Stärken aus:

- Die Untersuchung des Probenmaterials kann unmittelbar im Anschluß an die Probenahme erfolgen; Verfälschungen des Analyseergebnisses infolge nichtproblemgerechter Bedingungen bei Probentransport und -lagerung werden minimiert oder können ausgeschlossen werden. Die häufig notwendige Stabilisierung der Proben entfällt.
- In der Regel sind kurze Analysezeiten und ein hoher Probendurchsatz gegeben.

- Bei geringer Kenntnis über das tatsächliche Ausmaß einer Belastung kann die Probenahmestrategie unmittelbar vor Ort angepaßt werden.
- Akute Gefährdungspotentiale lassen sich aufgrund zeitnahe Analytik und Bewertung direkt einschätzen (Überwachung von Warnschwellen).
- Durch gezielte Auswahl von Proben für die nachfolgende Laboranalytik werden Kosten reduziert, bei gleichbleibendem Kostenrahmen kann die Untersuchungsichte erhöht werden.
- Die zeitnahe Analytik ermöglicht allgemein zeitnahe Aktionen. Verfahren der *Vor-Ort-Analytik* können als *field-screening-Techniken* im engeren Sinne verstanden werden. Methodenorientiert zählen zu ihnen die mobile Laboranalytik, die portable instrumentelle Analytik, Sonden-/Sensor- wie auch nichtinvasive Systeme. Ihre Einsatzfelder sind entsprechend vielfältig. Ein bedeutsames Anwendungsgebiet der Vor-Ort-Analytik ist in der Erkundung und Sanierung von Altstandorten, zu ihnen zählen Rüstungsaltslasten als eine spezielle Kategorie, sowie Altablagerungen zu sehen. Eine umfassende und weithin akzeptierte Definition der Begriff "Schnelle Vor-Ort-Analytik", "field-screening-Verfahren"

oder "Schnellmethoden" existiert bislang nicht. Methoden zur schnellen Vor-Ort-Analytik explosivstoffbezogener Kontaminanten aus *Rüstungsaltslasten* werden von uns anhand folgender Kriterien beurteilt:

- ausreichende Methodvalidierung unter Berücksichtigung von Merkmalen der analytischen Richtigkeit
- grundsätzlich einfache und kostengünstige, mit portablen Geräten realisierbare instrumentelle Unterstützung des Verfahrens
- kommerzielle Verfügbarkeit

Nachfolgend wird eine Sachstandsübersicht zu Methoden der schnellen Vor-Ort-Analytik von sprengstoffbezogenen Kontaminanten im Sinne der v.g. Definition gegeben. Der Schwerpunkt liegt auf Verfahren zur Erfassung von 2,4,6-Trinitrotoluol (TNT) und Hexogen (RDX), zwei Sprengstoffen, die besonders häufig auf Rüstungsaltsstandorten anzutreffen sind und als Leitparameter für sprengstofftypische Verbindungen (STV) gelten können.

Die recherchierten Verfahren werden besonders unter dem Aspekt ihrer Praxistauglichkeit bei der Untersuchung und Sanierung derartiger Altstandorte gewürdigt.

2 Rahmenbedingungen der Vor-Ort-Analytik bei der Bearbeitung von Rüstungsaltslasten

Maßnahmen zur Erkundung von Rüstungsaltslasten und ihre Sanierung erfordern die Untersuchung einer Vielzahl von Boden-, Wasser- und ggf. auch Luftproben. Allein die Kosten der chemischen Analytik können etwa 70% des Gesamtaufwands einer Standorterkundung beanspruchen. Die Begründung eines für die realistische Gefahrenbeurteilung hinreichenden Probenumfangs ist mit Blick auf die dominante Kostenwirksamkeit der Probenahme und Analytik daher von erheblicher Bedeutung.

Besonders Bodenuntersuchungen gelten aufgrund der oftmals heterogenen Schadstoffverteilung als problematisch. Dieses trifft bereits für die *orientierende* Untersuchung von Verdachtsflächen zu, wenn die in der *historischen Erkundung* des Standortes ermittelten mutmaßlichen Kontaminations-schwerpunkte erstmals beprobt werden. Bei unzureichender Vorinformation über die Genese des Rüstungsaltsstandortes wird man bereits in der *Orientierungsuntersuchung* die urteilsbegründete Probenahme durch eine statistisch begrün-

dete Strategie ersetzen müssen, die grundsätzlich zu höheren Probenzahlen führt. Die räumliche Eingrenzung bereits bekannter Kontaminationsschwerpunkte, wie sie in *Detail-* oder *Sanierungsuntersuchungen* vorgenommen wird, steigert den Untersuchungsaufwand noch einmal erheblich. Praktisch existiert bei Bodenuntersuchungen damit immer ein Zielkonflikt zwischen der Anzahl zu analysierender Proben und den verfügbaren finanziellen Mitteln. Ob es sinnvoll und möglich ist, die allein aus Kostengesichtspunkten meist attraktiven Schnelltests einzusetzen, entscheiden schließlich die Anforderungen an die Richtigkeit der Vor-Ort-Analytik. So genügen in der Erkundungsphase u.U. noch qualitative oder halbquantitative Informationen (Ja-Nein-Antworten zur Kontaminationssituation), um für als belastet erkannte Proben die Laboranalytik zu veranlassen. Bei Sanierungen wäre dagegen mit Blick auf die Gewährleistung von Sanierungszielen auch von Schnelltests eine Einzelstoffquantifizierung mit entsprechender analytischer Richtigkeit zu verlangen.

2.1 Vor-Ort-Analytik und Boden-Handlungswerte für STV

Die Bodenanalytik zählt zum Standarduntersuchungsumfang eines Rüstungsaltsstandortes, da in der Regel für derartige Flächen vielfältige und häufig auch sensible Bodennutzungen anzutreffen sind. Eine Vor-Ort-Methode muß von ihrer analytischen Empfindlichkeit her in der Lage sein, nutzungsbezogene Bodenhandlungswerte prioritärer Sprengstoffkontaminanten, wie sie beispielhaft **Tabelle 1** für TNT sowie Hexogen und den Direktpfad Boden → Mensch (orale bzw. orale-dermale Exposition) zeigt, zuverlässig überprüfen zu können. Bodenwerte von 1 mg/kg STV markieren damit bei ausschließlich oraler Exposition im Direktpfad Boden → Mensch eine untere Grenze zu analysierender Einzelstoffkonzentrationen (Man beachte jedoch, daß es auf dem Pfad Boden/Nutzpflanze zu einer zum Teil hohen Anreicherung kommen kann).

2.2 Vor-Ort-Analytik und STV-Handlungswerte für Grund-, Oberflächen- und Trinkwasser

Explosivstoffbezogene Kontaminanten besitzen aufgrund ihrer Mobilität und Persistenz ein hohes Gefährdungspotential für das Schutzgut Grundwasser. Auch Oberflächen-

Tabelle 1: Handlungswerte für sprengstofftypische Verbindungen in Böden

Stoff	Handlungswert (mg/kg)	Anmerkung
2,4,6-Trinitrotoluol (TNT)	15 [1]	$C_{2,4,6-TNT}$ oder Äquivalent-Summenkonzentration aus 23 Nitroaromaten inklusive TNT (standortspezifisch)
	25 [2]	$C_{2,4,6-TNT}$ oder Äquivalent-Summenkonzentration aus 7 Nitroaromaten inklusive TNT (standortspezifisch)
	1 / 2 / 20 [3]	Vorsorge- / Besorgnis- / Gefahrenwert
	1 / 5 / 20 [4]	P-M1, P-M2, P-M3 (Σ aus 4 TNT-Isomeren)
Hexogen (RDX)	5 [2]	(standortspezifisch)
	1 / 12 / 120 [3]	Vorsorge- / Besorgnis- / Gefahrenwert
	10 / 50 / 200 [4]	P-M1, P-M2, P-M3

Tabelle 2: Handlungswerte für sprengstofftypische Verbindungen in Grund-, Oberflächen- und Trinkwasser

Stoff	Handlungswert (µg/L)	Anmerkung
2,4,6-Trinitrotoluol (TNT)	0,1 / 1 [3]	Vorsorgewert / toxikologisch gestützter Richtwert (Grund-/Trinkwasser)
	1 [4]	P-W (Σ aus 4 TNT-Isomeren) (Grundwasser)
	40 / 557 [5]	criterion continuous concentration / criterion maximum concentration (aquatic life protection)
Hexogen (RDX)	0,1 / 3 [3]	Vorsorgewert / toxikologisch gestützter Richtwert (Grund-/Trinkwasser)
	3 [4]	P-W (Grundwasser)
	5,18 mg/L [6]	Final Acute Value (aquatic life protection)

wasser-, Sickerwasser-, Eluat- sowie Trinkwasserproben sind zu analysieren. **Tabelle 2** zeigt verschiedene Handlungswerte für TNT und Hexogen, die als mögliche untere Anwendungsgrenzen der Vor-Ort-Methoden von Bedeutung sind.

3 Methoden der Vor-Ort-Analytik

3.1 Immunoassay

Immunoassays sind Analysenmethoden, die auf sehr selektiven Bindungsreaktionen von Antikörpern mit dem Zielanalyten beruhen. Diese Bindungen bauen auf dem "Schlüssel-Schloß"-Prinzip auf, d.h., der Antikörper erkennt insbesondere die geometrische Form des Analyten. Immunoassays spielen seit längerer Zeit in der Klinischen Chemie eine wichtige Rolle und haben in den letzten Jahren eine rasche Verbreitung auch in der Umweltanalytik gefunden. Antikörper sind Proteine, die vom Immunsystem der Vertebraten als Antwort auf (in der Regel große) Fremdstoffe im Körper gebildet werden. Um-

weltchemikalien sind als Moleküle zu klein, um selbst eine Antikörperbildung zu induzieren, wenn sie in ein Versuchstier injiziert werden. Sie werden deshalb in der Regel an größere Transportproteine gebunden, um die Antikörperproduktion zu stimulieren. Diese Konjugate aus Proteinen und Analytmolekül werden Haptene genannt. Das Design eines Haptens – insbesondere die Orientierung des Analytenmoleküls – und der Abstand zwischen Analyt und Transportprotein entscheiden über seine Spezifität.

In der Umweltanalytik werden Immunoassays in der Regel als kompetitive "enzyme linked immunosorbent assays" (ELISA) konzipiert, bei der der Targetanalyt über ein Spacermolekül an ein Enzym gebunden wird. Die korrespondierenden Antikörper werden auf einer festen Oberfläche gebunden (z.B. Microwell einer Titerplatte, Innenwand des Teströhrchens oder Oberfläche eines Latexkügelchens / Magnetpartikels). Der Ablauf des Assays (mit solchen Latexkügelchen) wird in **Abb. 1** schematisch dargestellt [7]: Zur Probe mit dem freien Targetanalyten wird eine definierte

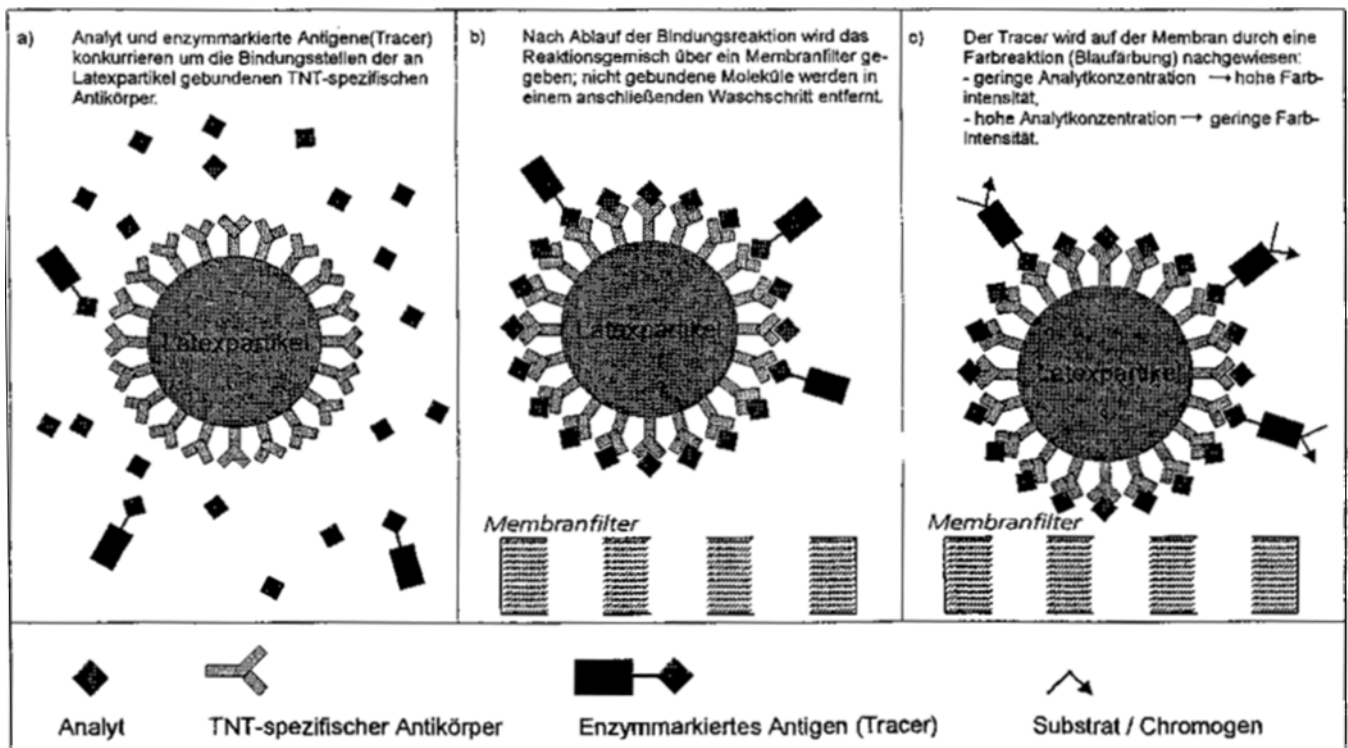


Abb. 1: Schematischer Ablauf eines Immunoassays zur Bestimmung von 2,4,6-Trinitrotoluol

Menge Antigen als Tracer (d.h., das oben definierte Analyt-Enzym-Konjugat) hinzugefügt. Wie in der Abbildung dargestellt, konkurrieren das Enzym-markierte Antigen und der freie Analyt um die (Analyt-spezifischen) Bindungen des Antikörpers (a). Nach Ablauf der Bindungsreaktion wird filtriert und nicht gebundene Moleküle werden in einem Waschschritt entfernt (b). Das Antigen wird mit einem geeigneten Substrat angefärbt (c) und durch Vergleich der Farbintensität mit einer Standardfarbskala bzw. einem Photometer nachgewiesen und quantifiziert. Dabei ist die Menge des Analyt-Enzym-Konjugats (Antigen), das auf dem Antikörper zurückbleibt, umgekehrt proportional der Target-Analytmenge in der Probe, d.h. je intensiver die Färbung ist, desto geringer ist die Konzentration an freiem Analyten.

Immunoassays für die Bestimmung von 2,4,6-Trinitrotoluol in Boden- oder Wasserproben sind von Eck et al. [8], Fetterolf [9] und Keuchel et al. [10-14] entwickelt worden. Keuchel et al. [10,11] synthetisierten z.B. das Enzym-Analyt-Konjugat (den Tracer) aus 2,4,6-Trinitrobenzolsulfonsäure, die an Meerrettich-Peroxidase gebunden wurde. Die Farbreaktion des Enzyms wurde mit Wasserstoffperoxyd/Tetramethylbenzidin induziert. Abb. 2 zeigt eine typische Kalibrationskurve für Trinitrotoluol, bei der die Absorbanz mit zunehmender TNT-Konzentration abnimmt [10]. Ursprünglich als Mikrotiterplattenanwendung entwickelt, haben diese Autoren den Assay auch auf Basis der Immunofiltration modifiziert [14].

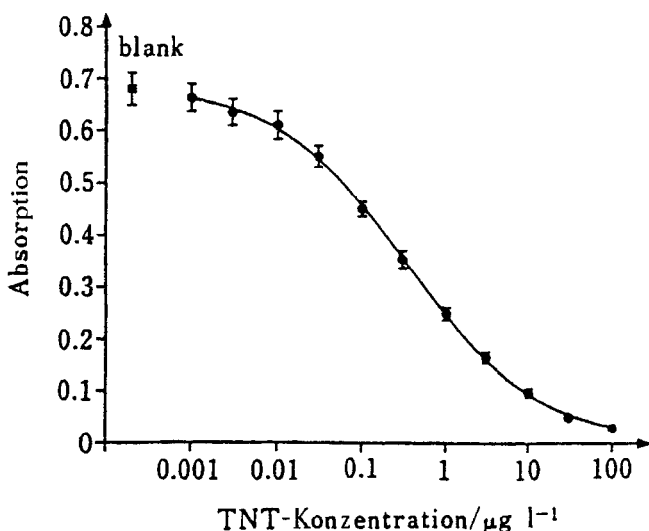


Abb. 2: Typische Kalibrationskurve eines Immunoassays für 2,4,6-Trinitrotoluol (nach [10])

Immunoassays erlauben in der Regel, insbesondere im Vergleich zu photometrischen Verfahren, eine spezifische Bestimmung einer Verbindung. Trotzdem kommt es bei strukturell sehr ähnlichen Verbindungen wie den hier zu diskutierenden sprengstoffbezogenen Nitroaromaten und ihren Abbauprodukten zu Kreuzreaktionen. Die Kreuzreaktion wird normalerweise bei 50% der Inhibition des Antikörpers auf der Konzentrations-/Responsekurve als $CR_{50\%}$ bestimmt und verdeutlicht die Störung der Quantifizierung der eigentlichen Zielsubstanz. Naturgemäß treten bei der TNT-Bestimmung deutlich ausgeprägte Kreuzreaktivitäten z.B. durch 1,3,5-Trinitrobenzol (TNB) (23-

47%), Tetryl (6,5-35%), Hexyl (30%), Pikrinsäure (PA) (10%), 2-Amino-4,6-dinitrotoluol (2-A-4,6-DNT) (0,5-11%), 2,4-Dinitrotoluol (2,4-DNT) (<1-5,5%) und auch 3,5-Dinitrotoluol (3,5-DNT) (10%) auf (\rightarrow Tabelle 3, S. 357). Die Konzentration wird daher üblicherweise in der Form (gruppenspezifischer) 2,4,6-TNT-Äquivalente angegeben. Die Kreuzreaktionen limitieren die analytische Richtigkeit der Bestimmung der Zielverbindung. Diesem offensichtlichen Nachteil steht der Vorteil gegenüber, daß eine qualitative Erfassung auch anderer Nitroaromaten möglich ist. Kommerzielle Immunoassay-Testkits für TNT und RDX werden mittlerweile von mehreren Herstellern/Vertriebsfirmen in unterschiedlichen Formaten (Röhrchen- oder Mikrotiterplatten) angeboten. Tabelle 3 informiert beispielhaft über die relevanten Leistungsmerkmale kommerzieller Testkits für TNT und Hexogen nach Angaben der Hersteller-/Vertriebsfirmen.

3.2 Photometrie

Die Photometrie nutzt die Tatsache aus, daß organische Verbindungen mit chromophoren Gruppen bereits eine Eigenabsorption im sichtbaren oder langwelligen UV-Bereich besitzen oder sich diese Verbindungen durch in der Regel spezifische Reaktionen in farbige Derivate umsetzen lassen, deren Absorption bestimmt wird. Die Konzentration läßt sich durch Vergleich der Farbintensität mit einer Standardfarbskala (Kolorimetrie) oder durch Messung der Absorption in einem Spektralphotometer (Photometrie) bestimmen. Im Folgenden werden beide Methoden unter dem Begriff Photometrie zusammengefaßt. Kleine tragbare Photometer für die Vor-Ort-Bestimmung von Schadstoffen sind im Handel erhältlich und für die quantitative bzw. semiquantitative Bestimmung grundsätzlich besser geeignet als Farbskalen.

Für Explosivstoffe wurden neben der direkten photometrischen Bestimmung der underivatisierten Verbindungen [15] insbesondere spezifische Farbreaktionen zum photometrischen Nachweis dieser Verbindungen eingesetzt.

TNT, DNT, RDX

Photometrische Schnellmethoden zur Bestimmung von Trinitrotoluol bauen überwiegend auf zwei Farbreaktionen auf:

- Reagiert TNT im basischen Milieu mit Aceton, so entsteht das intensiv rot gefärbte *Janowsky-Anion* entsprechend Abb. 3. Auch andere Nitroaromaten wie z.B. das 2,4-DNT gehen diese Reaktion ein, Voraussetzung ist eine Substitution des benzolischen Ringsystems durch mindestens zwei Nitrogruppen in 1,3-Position in einem nicht substituierten Ring zueinander. Selektivität und analytische Richtigkeit des TNT-Nachweises sind folglich im Sinne einer gruppenspezifischen Reaktion begrenzt.

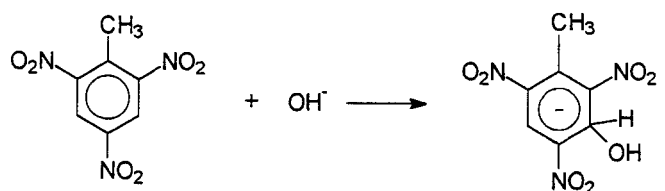


Abb. 3: Janowsky-Anion, Ergebnis der Reaktion von TNT im basischen Milieu mit Aceton

Tabelle 3: Immunoassay-Testkits für sprengstofftypische Verbindungen

Stoff	Testkit Hersteller	Matrix	Arbeitsbereich	Nachweisgrenze	Präzision	Kreuzreaktivitäten (%)
2,4,6-TNT	D TECH TNT Strategic Diagnostics Inc.	Boden	0,5 - 5 mg/kg	0,5 mg/kg (MDL ^c)		Tetryl 33,8 1,3,5-TNB 22,9 2-A-4,6-DNT 11
		Wasser	5 - 45 (60) µg/L	5 µg/L (MDL)	CV 6,4% (10 ppb)	2,4-DNT < 0,1
					CV 4,9% (5 ppb) CV 2,9% (2,5 ppb)	
2,4,6-TNT	EnviroGard TNT Millipore	Boden	0,2-15 mg/kg			2,6-DNT 20 4-A-2,6-DNT 17 1,3,5-TNB 3 2,4-DNT 2
2,4,6-TNT	TNT RaPID Assay Ohmicron	Boden	0,25-5,0 mg/kg	0,07 mg/kg (LDD ^d)		1,3,5-TNB 65,4 2,4-DNT 6,5
		Wasser	0,25-5,0 µg/L	0,07 µg/L (LDD)	CV 7,8% (0,35 ppb)	
					CV 4,3% (0,77 ppb) CV 2,9% (2,17 ppb) CV 3,4% (3,96 ppb)	Tetryl 4,8 2,4-DNT 4,1 2-A-4,6-DNT 3,2
2,4,6-TNT	Idetek Quantix	Boden	0,25-100 mg/kg	0,25 mg/kg		1,3,5-TNB 47 Tetryl 6,5 2,4-DNT 2 4-A-2,6-DNT 2
2,4,6-TNT	TNT ELISA Immunolab ^a	Boden	n.n. ^b	5 µg/kg		2-NPh, 3-NPh, 4-NPh, 2-Nbenzaldehyd, 2,4-DNPh und 3,5-DNBenzoessäure alle < 0,1
		Wasser	0,4-100 µg/L	0,5 µg/L		3-Nbenzaldehyd 2,6 PA 0,5 2,4,6-TNBenzol sulfonsäure 0,5
Hexogen	D TECH TNT Strategic Diagnostics Inc	Boden Wasser	0,5-6,0 mg/kg 5-45 (60) µg/L	0,5 mg/kg (MDL) 0,5 µg/L (MDL)	V 7%	HMX < 4,4

^a Weitere Kreuzreaktivitäten nach Angaben von Coring-System (Vertriebsfirma): 1,3-DNB 650%; 2,4-DNT 60%, bezogen auf 100% TNT

^b n.n. = nicht angegeben

^c MDL = Method Detection Limit = Methodennachweisgrenze

^d LDD = Least Detectable Dose = kleinste nachweisbare Dosis

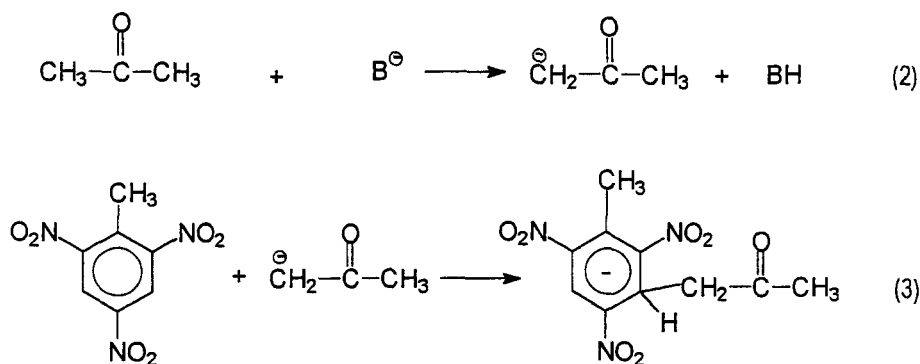


Abb. 4: Meisenheimer-Anion, Ergebnis der Reaktion von TNT mit starken Basen in Abwesenheit von Aceton

b) In Abwesenheit von Aceton reagiert TNT mit starken Basen zu dem rot gefärbten *Meisenheimer*-Anion entsprechend Abb. 4.

Auf der Janowsky-Reaktion beruht ein von Haas und Stork beschriebener Test zur Vorort-Bestimmung von TNT in Bodenproben [16], der noch heute häufig in Deutschland eingesetzt wird. Das Testprotokoll ist äußerst einfach: Der zu prüfende Boden wird auf einem Rundfilterpapier mit Ace-

ton benetzt und dazu 1 M NaOH gegeben; die Farbreaktion erfolgt sofort. Als rein qualitativer und extrem kostengünstiger Feldtest wird diese Variante der Janowsky-Reaktion bei Standorterkundungen gern genutzt. In Abhängigkeit von der Bodenmatrix können im günstigsten Fall Konzentrationen ab 2 mg/kg TNT erfasst werden.

Die Janowsky-Reaktion wurde auch von Jenkins [17] sowie Jenkins und Walsh [18-19] zur Entwicklung eines photo-

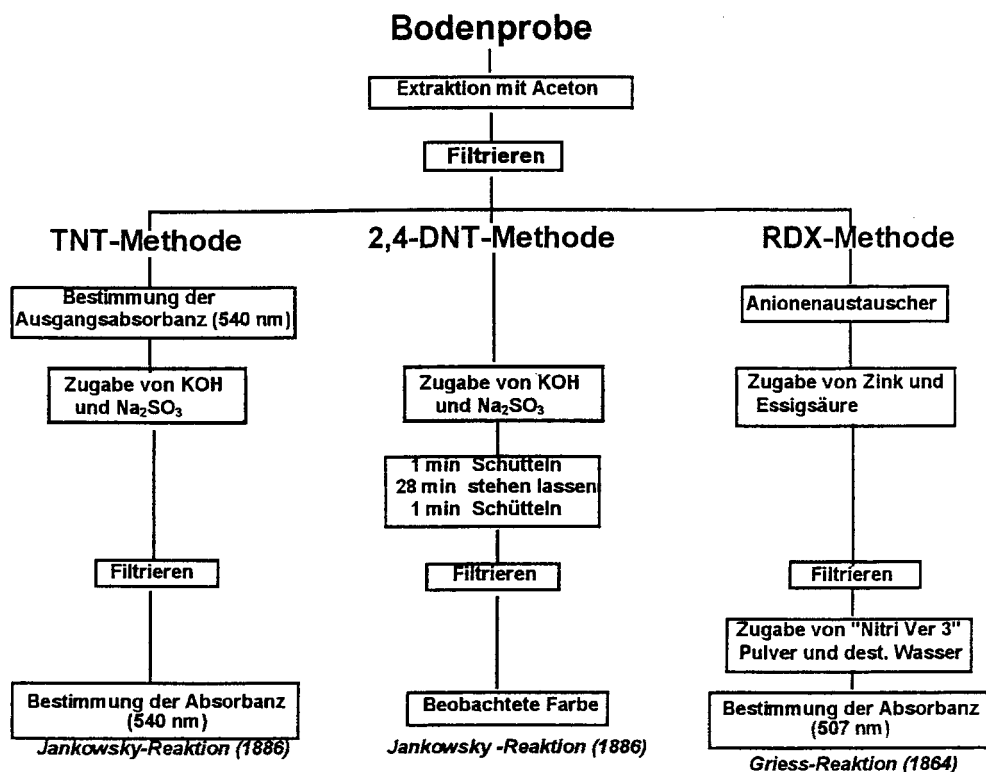


Abb. 5: Photometrisches Screeningverfahren zur Bestimmung von TNT und 2,4-DNT

metrischen Screeningverfahrens zur Bestimmung von TNT und 2,4-DNT verwandt. Im gleichen Test kann mit Hilfe der Griessreaktion auch RDX erfasst werden. Der dreiteilige Test ist in Abb. 5 dargestellt.

Der Acetonextrakt des Bodens wird mit Kaliumhydroxid und Natriumsulfit versetzt, wobei TNT zum rot gefärbten Janowsky-Anion umgesetzt wird, während in einem zweiten Aliquot mit der gleichen Reaktion 2,4-DNT nachgewiesen wird, das einen blau-violetten Farbkomplex liefert. Die DNT-Bestimmung erfordert gegenüber TNT, dessen Farbentwicklung nach 3 min beendet ist, eine 10fach längere Reaktionszeit. Bei Anwesenheit sehr viel höherer TNT-Konzentrationen in der Probe ist die DNT-Bestimmung allerdings nicht möglich. 2,4-DNT, das in verschiedenen einbasigen Pulvern Hauptbestandteil ist, soll auf diese Weise in belasteten Böden dagegen erfasst werden können. Das dritte Aliquot dient zur Bestimmung von RDX mit Hilfe der Griess-Reaktion. Hierzu wird RDX mit Zink zur salpetrigen Säure reduziert, die mit aromatischen Aminen eine stark rosa gefärbte Azoverbindung liefert. Die Stoffquantifizierung vor Ort erfolgt mit einem tragbaren Photometer. Gemessen wird im jeweiligen Absorptionsmaximum (TNT 540 nm; 2,4-DNT 570 nm; RDX 507 nm). Dabei werden Bestimmungsgrenzen von 1 mg/kg TNT bzw. 2 mg/kg 2,4-DNT und 1 mg/kg RDX erreicht. Dieser Test wurde in mehreren Feldstudien in den USA geprüft und die quantitativen Ergebnisse mit denen einer HPLC-Bestimmung im Labor verglichen, wobei die Feldtauglichkeit des Tests erwiesen wurde (→ Kapitel 4).

Beim photometrischen TNT-Nachweis auf der Grundlage der Janowsky-Reaktion kommt es zu erheblichen Interferenzen mit anderen Nitroaromaten. Diese Interferenzen sind zwar von Nachteil für die selektive Bestimmung der Ziel-

verbindung (z.B. TNT; 2,4-DNT), von Vorteil ist hingegen, daß damit auch andere Explosivstoffe erfasst werden können, wobei es je nach Verbindung zu unterschiedlich gefärbten Produkten (z.B. 1,3-DNB purpur, 1,3,5-TNB rot, 2-A-4,6-DNT fahl-gelb, PA rötlich-orange, 2,4-DNPhenol gelblich-orange, Tetryl orange) kommt. Analoges gilt für den photometrischen Test zur Bestimmung von RDX, bei dem Octogen (HMX), aber auch Nitratester wie PETN und Nitroglycerin erfasst werden.

Seit 1993 ist ein kommerzieller Testkit von Ensys Inc. verfügbar, der (aufbauend auf den Methoden von Jenkins [17] sowie Jenkins und Walsh [18-19]) die Bestimmung von TNT in Böden erlaubt. Der Arbeitsbereich umfaßt 1-30 ppm TNT/TNB/DNT, als relative Standardabweichung werden 8% angegeben. Die Empfindlichkeit des Tests beträgt – bezogen auf den jeweiligen Einzelstoff – 1 ppm TNT (genannt werden auch 0,7 ppm); 0,5 ppm 2,4-DNT; 2,1 ppm 2,6-DNT; 0,5 ppm 1,3,5-TNB; 0,9 ppm Tetryl und ca. 0,5 ppm 1,3-DNB (minimum sensitivity). Analoge Angaben für den RDX-Bodentest sind: Arbeitsbereich 1-30 ppm RDX/HMX, relative Standardabweichung 8%, minimum sensitivity 0,8 ppm. Eine Validierung dieses Tests wird weiter unten beschrieben. Auf der Bildung des Meisenheimer-Anions (→ Abb. 4) beruht eine Screeningmethode, die von Heller et al. [20] speziell für die Bestimmung von TNT entwickelt und von Erickson et al. [21] verbessert wurde. Für die Vor-Ort-Untersuchungen von Wasserproben wurden Teströhrchen entwickelt, die aus zwei Zonen bestehen: Die erste Schicht besteht aus Glaskügelchen, die mit Erdalkalioxiden imprägniert wurden. Darauf folgt eine Schicht mit einem Ionenaustauscher. Die Wasserprobe wird mit einer Glassicherheitspipette durch das Teströhrchen gedrückt, wobei in der basischen Schicht das

farbige Anion entsteht, das von dem nachfolgenden Ionenaustauscher zurückgehalten wird. Die Länge der Färbung des Ionenaustauschers ist dabei ein Maß für die TNT-Konzentration. Der Test ist zur Identifizierung von TNT ab 40 µg/L gut, jedoch zur Quantifizierung dieser Verbindung weniger geeignet, da die Konzentrationbestimmung über die Länge der Farbzone umständlich und schlecht reproduzierbar ist [22-23]. Kommerzielle Prüfröhrchen wurden von Supelco (Bellefonte, Pennsylvania) angeboten [23]. Die ursprünglich auf die Untersuchung von Wasserproben beschränkte Anwendung der Meiserheimer-Ion-Bildungsreaktion [20] wurde von Erickson et al. dahin gehend erweitert, daß auch TNT in Bodenproben bestimmt werden kann [21]. Mit einer etwa zur gleichen Zeit davon unabhängig von Medary [24] vorgeschlagenen Methode lassen sich nach Extraktion des Bodens mit Methanol und Reaktion mit 10%iger NaOH noch 4-8 mg/kg TNT (MDL) bestimmen.

Pikrinsäure, Ammoniumpikrat

Ammoniumpikrat (Ammonium-2,4,6-trinitrophenolat) wurde u.a. in Deutschland und in den USA als Explosivstoff zur Herstellung von Granaten, Bomben und Sprengköpfen eingesetzt, während Pikrinsäure (2,4,6-Trinitrophenol) u.a. zur Füllung von Minen diente.

Obwohl beide Explosivstoffe heutzutage nicht mehr verwandt werden, wird geschätzt, daß sie bis zu 8% zu den Explosivstoffaltlasten in den USA beitragen. Darüber hinaus entsteht Pikrat bei der Hydrolyse des Sprengstoffes Tetryl und ist deshalb in Tetryl-belasteten Boden- und Wasserproben zu erwarten. Ein Screeningverfahren zur Vor-Ort-Bestimmung dieser Verbindungen ist grundsätzlich wünschenswert, da eine Bestimmung mit klassischen chromatographischen Methoden im Labor schwierig ist. Von Thorne und Jenkins [25] wurde für die Vor-Ort-Bestimmung dieser Verbindungen eine Methode entwickelt, bei der Ammoniumpikrat und Pikrinsäure nach Extraktion des Bodens mit Aceton und Verdünnung des Extrakts mit Wasser in das intensiv gelb gefärbte Pikrat anion überführt werden (\rightarrow Abb. 6), das photometrisch bei $\lambda = 400$ nm bestimmt wird. Huminstoffe, aber auch andere Explosivstoffe auf Nitroaromatenbasis stören und müssen abgetrennt werden. Für Bodenproben werden Bestimmungsgrenzen von 1,3 mg/kg erreicht; die modifizierte Methode für die Wasseruntersuchung liefert Bestimmungsgrenzen von 3,6 µg/L. Die Verfügbarkeit eines photometrischen Screeningverfahrens für die direkte und unabhängige Bestimmung der Pikrinsäure ist auch deshalb wichtig, weil einige kommerzielle Immunoassays für TNT die erwartete hohe Querreaktivität zu Pikrinsäure zeigen.

3.3 Biosensoren

Biosensoren stellen eine Untergruppe der chemischen Sensoren dar, bei denen der Analytnachweis über einen biologischen Mechanismus erfolgt. Im Gegensatz zu anderen bioanalytischen Methoden, wie z.B. Immunoassays, erfolgt die Erfassung des Analyten direkt und in einem Schritt. Des Weiteren lassen sich Biosensoren regenerieren und damit wiederholt einsetzen [26]. Ein Biosensor besteht aus zwei Elementen, einem Element, das die biologische Erkennung des Analyten erlaubt (unter Verwendung von Mikroorganismen, Antikörpern oder Enzymen) und einem zweiten Element, das aus einem physikalischen Umwandler besteht, der die biologische Erkennung in ein physikalisches (elektrisches, optisches oder akustisches) Signal umwandelt.

Ein erster Biosensor für die Erfassung von TNT in Grundwasser wurde von Shriver-Lake et al. [27] vorgestellt. Er beruht auf dem Prinzip des kompetitiven Immunoassays. Es wird ein mit einem Fluorophor markiertes Trinitrobenzolsulfonsäurederivat (Sulfoindocyanin-5-ethylendiamino-trinitrobenzolsulfonsäure) als TNT-Analoges eingesetzt. Das Laserlicht erregt das Fluorophor des Antigens, während konkurrierende TNT-Analyten das Fluoreszenzsignal schwächen. Nach jeder Messung läßt sich der Antikörper durch einen speziellen Puffer auf Ethanolbasis regenerieren, so daß mit dem Sensor viele Proben gemessen werden können. Im Vergleich zum konventionellen Immunoassay wird die Analysenzeit reduziert, während die Nachweisgrenzen (bei wäßrigen Proben) in etwa vergleichbar sind (20 µg/L). Von dieser Arbeitsgruppe wurde ein tragbarer Biosensor mit Faseroptik vorgestellt und im Feld getestet [28]. Vier Proben können parallel in < 16 min bearbeitet werden. Kreuzreaktionen mit 1,3,5-Trinitrobenzol führen jedoch zu zu hohen TNT-Werten [28]. Eine Modifizierung dieses Biosensors erlaubt nun auch die zusätzliche Bestimmung von Hexogen [29].

3.4 Chemische Sensoren

Unter den chemischen Sensoren spielen elektrochemische Sensorsysteme in der Analytik eine besonders große Rolle, da viele Stoffe elektrochemischen Reaktionen zugänglich sind, d.h., sich oxidieren und reduzieren lassen, wobei Elektronen freigesetzt oder aufgenommen werden und das mit dem Elektronenübergang an der Oberfläche der Elektrode verbundene elektrische Signal mit Methoden z.B. der Potentiometrie oder Amperometrie leicht detektierbar ist.

Für die Vor-Ort-Bestimmung von TNT (und andere Nitroaromaten) wurde ein tragbarer, elektrochemischer Sensor

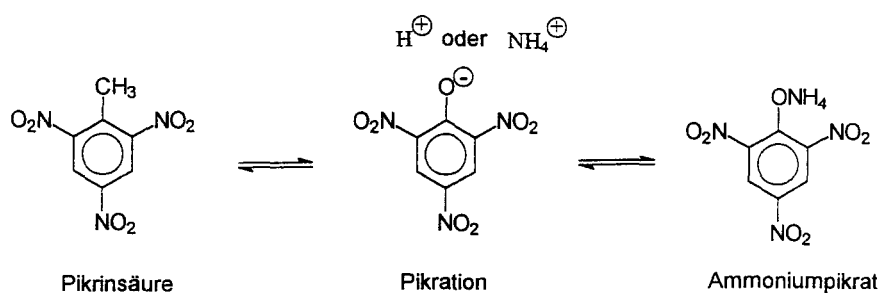


Abb. 6: Pikrat anion, Ergebnis der Überführung von Ammoniumpikrat und Pikrinsäure nach Extraktion des Bodens mit Aceton (und Verdünnung des Extrakts mit Wasser)

entwickelt, der nach dem Prinzip der zyklischen Voltammetrie arbeitet [30-31]. Hierbei wird das Potential der Arbeitselektrode repetitierend dreiecksförmig mit der Zeit variiert. Die dabei erzeugte Strom-Spannungs-Kurve zeigt die Oxidations- und Reduktionsprozesse des Analyten in der Probenlösung an. So führt die Reduktion von TNT zu einer besonders ausgeprägten Stromspitze bei 0,2 V, wobei die Lage des zugehörigen Potentials U der Strom-Spannungs-Kurve eine Identifizierung der Verbindung erlaubt, während die Höhe der Stromspitze ein Maß für die Konzentration ist. Eine weitere Stromspitze wird bei 0,7 V beobachtet, die einer oxidativen Umwandlung des TNT zuzuordnen ist. Bei der Untersuchung von Böden wird die Bodenprobe in einer Mineralsäure aufgeschlämmt und die Sonde in die Suspension getaucht. Der eigentliche TNT-Nachweis erfolgt innerhalb weniger Sekunden, der gesamte Zeitbedarf zur Untersuchung einer Bodenprobe beträgt ca. 5-10 min. Die Nachweisgrenze liegt bei ungefähr 1 mg/kg. Andere Nitroaromaten (DNT, 1,3-DNB) werden miterfaßt, während Aminonitroaromaten (2-A-NT) und aromatische Amine (2,4-DAT) in der gleichen Messung, jedoch getrennt von den Nitroaromaten bei einem anderen Potential detektierbar sind. Erprobungen in Feldversuchen haben in der Zwischenzeit stattgefunden und dokumentieren die grundsätzliche Eignung.

Buttner et al. beschreiben den Einsatz eines amperometrischen Gas-Sensors zur (indirekten) *in situ*-Bestimmung von TNT, RDX, HMX und anderen Explosivstoffen in Böden [32]. Die auf einer Edelmetalloberfläche erhitzten Explosivstoffe liefern charakteristische Produkte, die sehr effizient mit Hilfe des amperometrischen Gas-Sensors selektiv und empfindlich gemessen werden können. Die Erprobung unter Feldbedingungen zeigte, daß diese Methode brauchbar für die *in situ*-Analyse von Explosivstoffen ist.

3.5 Dünnschichtchromatographie

Die Dünnschichtchromatographie (DC) wurde schon früh in der Analytik insbesondere von Abwässern der Explosivstoffherstellung, aber auch sonstiger Rüstungsaltslasten genutzt [16,33-35]. Sieht man von dem Einsatz instrumentell aufwendiger automatischer Verfahren wie der "Automated Multiple Development" (AMD) [36] ab und verzichtet auf den Einsatz von Scannern zur Quantifizierung, so kann man die DC als Schnellverfahren bezeichnen, das auch vor Ort eingesetzt werden kann. Dies gilt zumindest für den von Hiller und Voigt [37] zur Untersuchung von Grund- und Oberflächenwasserproben vorgeschlagenen Tüpfeltest, bei dem der in Diisopropylether aufgenommene Probenextrakt (nach Flüssig-flüssig- oder Festphasenextraktion der Wasserprobe) auf Kieselgel 60_{F254}-HPTLC-Platten aufgetragen wird und daran anschließend die Nitroaromaten (einschließlich Pikrinsäure und Hexogen) nach Reduktion zu den Aminen, Diazotierung und Kupplung mit 1-Naphthyl-ethylen-diammonium-dichlorid (NEDA) zu roten bis violetten Farbstoffen umgesetzt werden. Untersucht wurden insgesamt 25 Nitro- und Aminoaromaten. TNT kann z.B. in absoluten Mengen von 10 ng identifiziert werden, allgemein werden Nachweisgrenzen im Bereich von 0,1 µg/L erreicht. Aufwendiger sind Auftrennung und Nachweis der Einzelstoffe. Die Trennung aller 25 Einzelstoffe war mit Hilfe der eindimensionalen dünn-schichtchromatographischen Ent-

wicklung nicht möglich; diese Technik eignet sich eher für Gemische mit nur wenigen Nitroaromaten. Hier stimmen die Retentionszeiten der DC-Trennung von vier Isomeren des DNT sowie TNT mit denen früherer Untersuchungen [16] jedoch gut überein. Bei zweidimensionaler Entwicklung mit Toluol/Methanol (90:10) und Dibutylether/*n*-Hexan/Eisessig/Methanol (78:16:4:3) ist dagegen die Auftrennung der 25 Nitro(amino)aromaten, darunter auch Nitrokresole, sowie Hexogen möglich [37].

3.6 Anwendung der Screeningverfahren auf Wasser- und Bodenproben

Die beschriebenen Schnell- oder Screeningverfahren wurden zum Teil für die Untersuchung von Wasserproben, zum Teil für die Untersuchung von Bodenproben entwickelt. Sie lassen sich jedoch in der Regel zur Untersuchung der jeweils anderen Matrix modifizieren. Inwieweit es sich tatsächlich um *einfache* und vor allem *schnelle* Methoden handelt, bestimmt vor allem der Umfang der Probenaufbereitung. So ist zur Untersuchung von Bodenproben die Extraktion mit einem organischen Lösungsmittel in der Regel unumgänglich. Bodenproben (je nach Test 2-20 g) werden in den meisten Fällen mit Aceton (seltener Methanol) durch manuelles Schütteln bis hin zu 3 min extrahiert und der Bodensatz nachfolgend abfiltriert. Richtigkeit und Verfahrenspräzision lassen sich deutlich verbessern, wenn eine exakte Wägung des eingesetzten Bodenmaterials erfolgt [19,25,38] und der Boden getrocknet wird [38]. Vor-Ort-Methoden für die Wasseruntersuchung setzen häufig eine Probenextraktion (Flüssig-flüssig- oder Festphasenextraktion) [23,25], ggf. mit nachfolgender Aufkonzentrierung des Extraktes und Umlösen, voraus [23]. Mit einem erweiterten Aufwand der Probenvorbereitung sind in dieser Beziehung die Grenzen zur Laboranalytik fließend. Mehrere der beschriebenen Methoden sind direkt auf wäßrige Proben anwendbar. Das gilt für den Immunoassay [10-14] und die photometrische Methode von Heller et al. [20]. Bei dem von Jenkins und Walsh [23] beschriebenen Screening-Test zur gleichzeitigen photometrischen Bestimmung von TNT (Janowsky-Reaktion) und RDX (Griess-Reaktion) müssen jedoch die Explosivstoffe aus dem Wasser entfernt werden und in Aceton vorliegen. Die Autoren haben deshalb zunächst eine Festphasenextraktion der Wasserprobe mit Kartuschen oder modifizierten Membranen entwickelt, wozu als Adsorber Polystyroldivinylbenzopolymere zum Einsatz kamen. Hierdurch kommt es zur gleichen Zeit zu einer Anreicherung der Proben und einer Herabsetzung der Nachweisgrenzen (s.u.) [23]. RDX bricht bei der Verwendung dieses Festphasenmaterials leicht durch. Die Autoren haben aus der Not eine Tugend gemacht, um beide Explosivstoffe gleichzeitig zu extrahieren, aber getrennt zu bestimmen. Hierzu wurden zwei Extraktionsmembranen übereinander angeordnet und eine so große Wasserprobe (2 L) angereichert, daß RDX teilweise durch die erste Extraktionsmembran durchbricht, jedoch weitgehend auf der zweiten zurückgehalten wird, TNT hingegen vollständig auf der ersten Membran verbleibt. Die beiden Membranen werden nun getrennt eluiert und die beiden Extrakte getrennt vermessen (da der TNT-Test sehr spezifisch ist, gelingt die selektive Erfassung von TNT von der ersten Membran auch in Gegenwart von Resten an RDX) [23].

4 Validierung der Screening-Verfahren, Feldstudien

Screening-Verfahren, für die kommerzielle Kits angeboten werden, wurden von den Herstellern und Nutzern insbesondere hinsichtlich Präzision, Arbeitsbereich und Nachweisgrenzen, aber auch in umfangreichen Feldstudien bezüglich Richtigkeit und Selektivität validiert. Daten liegen besonders für TNT- und RDX-Screeningverfahren vor, auf die die folgende Diskussion beschränkt werden soll. Zu beantworten ist die Frage, wie zuverlässig die Bestimmung der Zielanalyten durch Vor-Ort-Methoden vor dem Hintergrund komplex zusammengesetzter Schadstoffinventare in Realproben aus Rüstungsaltslasten ist. So sind hinsichtlich möglicher Störungen der Screening-Methoden und als Voraussetzung einer weitergehenden Betrachtung die typischen *Kontaminationsprofile* für bestimmte Kategorien von Rüstungsaltslasten wie TNT-Fabriken oder Munitionsanstalten (mit deren charakteristischen Teilfertigungsbereichen) mittlerweile gut bekannt.

Die U.S. EPA Office of Solid Waste (OSW) Method Section hat für die Entwicklung von Screening-Methoden umfangreiche Anforderungen mit Blick auf deren Anwendung in Umweltqualität-Regulierungsprogrammen definiert [39]. Validierungskriterien der OSW für Immunoassays, die grundsätzlich auch auf andere Methoden zu übertragen wären, sind folgende:

- Kreuzreaktivitäten mit ähnlichen Analyten
- Kreuzreaktivitäten mit unterschiedlichen Analyten, die jedoch als Kontaminanten auf Altslasten erwartet werden können
- Verhältnis der falsch negativen/falsch positiven Ergebnisse
- Zuverlässigkeitsdaten für dotierte Proben auf der Basis von unbelasteten realen Matrices und SW-846-Standardanalytismethoden und
- Zuverlässigkeitsdaten für belastete Realproben auf der Basis von SW-846-Standardanalytismethoden

Als Hauptproblem ist die Frage möglicher Interferenzen/Kreuzreaktivitäten in realen Proben zu sehen, wobei wie oben beschrieben, massive Interferenzen oder Kreuzreaktivitäten ähnlicher Analyte im Einzelfall eine wünschenswerte Situation sein kann. OSW-Screeningverfahren sollten üblicherweise 0% falsch negative und 10% falsch positive Resultate der Handlungsschwellenkonzentration liefern, falsch positive bis zu 25% können noch toleriert werden. Falsch positive Ergebnisse >25% machen den Kostenvorteil der Screeningmethode zunichte; falsch negative >5% schränken die Verwendung zu Regulierung von Schwellenkonzentrationen deutlich ein.

Von einigen kommerziell verfügbaren Screeningmethoden wurden mittlerweile von der U.S.EPA umfangreiche Validierungen durchgeführt, die Verfahren liegen als draft methods vor.

4.1 Wasserproben

Für kommerziell verfügbare Immunoassays zur Bestimmung von TNT im Wasser werden je nach Hersteller Nachweisgrenzen von 0,07-5 µg/L angegeben (→ *Tabelle 3*), teilweise wurden in der Literatur bei anderen Assays auch deutlich niedrigere Nachweisgrenzen, z.B. 0,02 µg/L, berichtet [10]. Die Präzision des Immunoassays ist in der Regel gut. Sie

liegt je nach Testkit und insbesondere je nach Konzentration bei 3-8% (→ *Tabelle 3*). Für die oben beschriebene photometrische Bestimmung nach Anreicherung der Proben wurden Nachweisgrenzen von ~1 µg/L für TNT bzw. ~4 µg/L für RDX [23] angegeben. Diese Nachweisgrenzen reichen nicht immer aus, um die für die Bundesrepublik Deutschland empfohlenen (toxikologisch gestützten) Richtwerte für TNT von 1 µg/L bzw. für RDX von 3 µg/L in Trinkwasser und Grundwasser [3] zu verifizieren. Sie sind völlig unzureichend, um die Vorsorgewerte für Trinkwasser und Grundwasser (jeweils 0,1 µg/L für TNT und RDX) zu überprüfen. Mit Hilfe der klassischen Laboranalytik lassen sich bei Einsatz der HPLC Nachweisgrenzen von ≤ 0,1 µg/L erreichen. Auffallend ist, daß kaum Daten zur Methodevaluierung der Vor-Ort-Bestimmung von Sprengstoffen in der Matrix Wasser publiziert wurden. Keuchel et al. [40] fanden im Methodenvergleich zwischen Immunoassay (TNT-ELISA) und Gaschromatographie für 19 reale Proben einen hochsignifikanten Zusammenhang der linearen Regression ($r = 0,973$), dagegen im untersuchten Bereich der TNT-ELISA-Konzentration von 0,06-39,5 µg/L eine Überbestimmung durch den ELISA von durchschnittlich 23% gegenüber der Gaschromatographie. Ähnlich sind Ergebnisse der gleichen Arbeitsgruppe zur Untersuchung von 8 Grundwasserproben mit Hilfe der Immunofiltration und GC zu sehen; auch hier sind für 4 quantitative Angaben oberhalb der jeweiligen Bestimmungsgrenzen (GC: 0,1 µg/L, Immunofiltration: 1,0 µg/L) im Bereich von 4,4-21,6 µg/L wiederum Überbestimmungen durch die Immunofiltration zu beobachten [14].

4.2 Bodenproben

Zur Gefahrenabschätzung von Rüstungsaltslasten werden in der Regel sehr viel mehr Boden- als Wasser(Grundwasser-, Oberflächenwasser-)proben untersucht, so daß Screeningverfahren für die Bodenanalytik noch wichtiger als für die Wasseranalytik sind.

Validierung

Mit kommerziellen Immunoassays lassen sich (je nach Testkit) Nachweisgrenzen von 0,07-0,5 mg/kg (→ *Tabelle 3*), mit photometrischen Screeningverfahren solche von 0,7-1,0 mg/kg für TNT in Bodenproben erreichen. Die Nachweisgrenze für die klassische TNT-Laboranalytik (Ultraschallextraktion, HPLC-Bestimmung) liegt bei etwa 0,3 mg/kg. Damit sind sowohl Immunoassays als auch photometrische Screeningverfahren geeignet, die unteren Handlungswerte für TNT in kontaminierten Böden von 1-5 mg/kg [3-4] (→ *Tabelle 1*) regulieren zu können. Auch im Fall des Hexogens lassen sich unter Berücksichtigung der mitgeteilten analytischen Empfindlichkeiten untere Handlungswerte von 1-12 mg/kg [2-4] mittels Immunoassay und Photometrie hinreichend sicher überwachen. Diese Finschätzung gilt vornehmlich für Rüstungsaltslasten mit vergleichsweise überschaubaren oder bekannten Kontaminationsprofilen und der daraus resultierenden Möglichkeit, den Einfluß interferierender oder kreuzreagierender Stoffe in dem erforderlichen Umfang abschätzen zu können.

Während einige Tests quantitative Bestimmung erlauben (d.h., einen Konzentrationswert liefern), haben andere, vor allem frühere Tests (im besonderen Immunoassays) einen

semiquantitativen Charakter: Sie erlauben nur die Bestimmung eines Konzentrationsbereiches [41]. Bei der Validierung dieser Tests (an Realproben) sind grundsätzlich beim Immunoassay das Auftreten von Kreuzreaktionen bzw. bei photometrischen Tests mögliche Interferenzen zu beachten, die bereits in Kapitel 3 ausführlich behandelt wurden. Von Bedeutung für den Feldeinsatz ist auch der Arbeitsbereich, der für die verschiedenen, kommerziell angebotenen Testkits sehr unterschiedlich ist. Es werden Bereichsfaktoren von 10-400 berichtet (→ *Tabelle 3*). Bei kleinen Arbeitsbereichen müssen stark belastete Proben – wenn eine *quantitative* Bestimmung verlangt wird – (z.T. mehrfach) verdünnt werden, was die Analysenzeiten verlängert und die Materialkosten erhöht. Das Verdünnen und wiederholte Messen ist bei photometrischen Verfahren wesentlich einfacher als bei Immunoassays [41]. Immunoassays als Mikrotiterplattentest erfordern deutliche höhere Bearbeitungszeiten, erlauben andererseits aber einen größeren Probedurchsatz. Schließlich müssen bei allen Tests mögliche Matrix-Effekte berücksichtigt werden. Insbesondere Huminstoffe können das Ergebnis sowohl der photometrischen Tests als auch von Immunoassays beeinflussen [41].

Feldstudien

Die Ergebnisse, die mit kommerziell verfügbaren Screeningverfahren zur Bestimmung insbesondere von TNT in Bodenproben erzielt wurden, sind in ausführlichen Feldstudien mit denen der klassischen Laboranalytik (HPLC, GC) verglichen worden, um zu verifizieren, ob

- die Schnellverfahren eine sichere Identifizierung von belasteten Proben oberhalb der Methodennachweisgrenze (MDL = method detection limit) (positives Resultat) oder den Nachweis der Abwesenheit einer Belastung (negatives Resultat) erlauben und
- diese Schnellverfahren eine quantitative oder zumindest semiquantitative Bestimmung der Schadstoffe erlauben.

Über mehrere solcher Feldstudien wurde in den USA [41-45], aber auch in Deutschland [7,46-47] berichtet. In einer US-Studie wurden 99 Bodenproben auf der einen Seite mit Hilfe der HPLC auf TNT hin im Labor analysiert und auf der anderen Seite mit zwei kommerziell verfügbaren Schnellverfahren (Immunoassay, photometrisches Verfahren) vor Ort untersucht [42]. Mit Hilfe der Laboranalytik konnte in 25 Proben TNT oberhalb der MDL bestimmt werden. Die Ergebnisse der Schnellverfahren hingen von der Schadstoffkonzentration ab: 14 Proben mit TNT-Konzentrationen $>1 \mu\text{g/g}$ konnten mit beiden Schnellverfahren eindeutig positiv identifiziert werden. Im Konzentrationsbereich von $0,3\text{-}1,0 \mu\text{g/g}$ konnten nur 8 (Immunoassay) bzw. 9 (Photometrie) von 11 Proben als belastet identifiziert werden. Von den 66 unbelasteten Proben wurden je nach Methode 2-3 falsch positive Resultate erzielt. In keinem Fall wurden falsch negative Resultate gefunden.

Ähnliche Ergebnisse wurden bei der vergleichenden Untersuchung von 197 Bodenproben einer Rüstungsaltpaste in Norddeutschland mit Hilfe eines kommerziellen Immunoassays erhalten [7]. Die Methode ergab falsch positive Resultate bei der Bestimmung von TNT für ~ 9% der Proben, jedoch keine falsch negativen Ergebnisse. Die Rang-Korrelation nach Spearman zwischen der HPLC (GC/MS)- und Immunoassay-Schnelltest-Analytik ergab hier einen hochsignifikanten Zusammenhang.

In der oben erwähnten amerikanischen Studie wurde auch die quantitative Übereinstimmung zwischen klassischer und der schnellen Vor-Ort Analytik verglichen. Sie war schlechter als erwartet [42]. Im allgemeinen gaben hier die Schnellmethoden (sowohl Immunoassay als auch Photometrie) zu hohe Analysenwerte, was offensichtlich an ihrer eingeschränkten Selektivität liegt. Dieses liegt bei den Immunoassays vermutlich an den oben erwähnten Querempfindlichkeiten zu anderen Nitroaromaten und ihren Abbauprodukten, während bei den photometrischen Verfahren interferierende Farbreaktionen mit anderen Schadstoffen zu erhöhten Analysenwerten führen.

In drei weiteren Feldstudien [43-45] wurden alle in den letzten Jahren kommerziell verfügbaren Screening-Tests mit der klassischen HPLC verglichen. Die ausführliche und zusammenfassende Dokumentation des Methodenvergleichs der verschiedenen kommerziellen Testkits (Immunoassay und Photometrie) mit der USEPA SW-846 Method 8330 (HPLC) auf der Grundlage der Untersuchungen in [43-45] wurde von Crockett et al. vorgenommen [41]. Die Auswertung der Ergebnisse [41] getrennt nach Konzentrationsbereichen $\text{MDL} < \text{TNT (RDX)} \leq 100 \text{ mg/kg}$ und $100 < \text{TNT (RDX)} < 1000 \text{ mg/kg}$ zeigt, daß sowohl photometrische Tests als auch die auf dem Markt verfügbaren Immunoassays für eine schnelle Vor-Ort-Analyse auf TNT und RDX in kontaminierten Böden grundsätzlich geeignet sind, wobei diese Explosivstoffe als Leitkomponenten für sprengstofftypische Verbindungen angesehen werden können.

Das in jüngster Zeit vorgestellte Verfahren unter Nutzung der cyclischen Voltammetrie [30-31] kann nach [47] in Abhängigkeit von der jeweiligen Bodenmatrix zu Minderbefunden führen, die vermutlich auf eine unvollständige Lösung des TNT (Aufschlammung in mineralisierter wässriger Lösung) zurückzuführen sind. Allgemein war die analytische Richtigkeit weniger befriedigend; so wurden Konzentrationsabweichungen von ein bis zwei Größenordnungen beobachtet. Störungen durch Eisenionen konnten ausgeschlossen werden.

Zum Einsatz des *qualitativen* Janowsky-Farbttests schließlich liegen Ergebnisse aus der Detail- und Sanierungsuntersuchung einer niedersächsischen Rüstungsaltpaste vor. Der Vergleich an 290 Bodenproben, die mit dem Janowsky-Test, dem D-Tech-Immunoassay sowie der HPLC (für $c > 5 \text{ mg TNT}$) untersucht wurden, ergab, daß mit dem Immunoassay TNT-Konzentrationen in

- 91 Proben von $0,5 \text{ mg/kg}$
- 14 Proben von $1,5 \text{ mg/kg}$
- 12 Proben von $3,0 \text{ mg/kg}$
- 28 Proben $\geq 5,0 \text{ mg/kg}$

erfaßt, durch den Janowsky-Test in all diesen Proben dagegen keine TNT-Kontamination nachgewiesen werden konnten. Mit Bezug auf einen (diskutierten) Handlungswert von 5 mg/kg TNT sind damit rund 10% aller Ergebnisse des Janowsky-Tests als falsch negativ einzuschätzen. Entsprechend sind es 14 bzw. 19% der Bodenproben, in denen durch die Farbreaktion Konzentrationen $c \geq 3,0 \text{ mg/kg TNT}$ oder $c \geq 1,5 \text{ mg/kg TNT}$ nicht erkannt wurden. Der Einschätzung, daß "*der Janowsky-Schnelltest bereits bei geringen Konzentrationen von 3 bis 5 mg/kg (TNT) reagierte*", mithin auch den Handlungswert regulieren würde, konnte also nicht gefolgt werden [48].

Der *qualitative* Janowsky-Farbstest sollte zu einer ersten, grob-orientierenden Vor-Ort-Analytik verwendet werden können, weitergehende quantitative Aussagen oder gar die Regulierung von Sanierungszielen sind dagegen nicht sinnvoll.

5 Zusammenfassung

Die schnelle Vor-Ort-Analytik von Sprengstoffen hat mittlerweile nicht nur ein breites Interesse bei potentiellen Anwendern gefunden, sondern zugleich auch eine Reife in der Methodik erreicht, die ihren Einsatz bei der technischen Erkundung von Verdachtsflächen wie auch zur Sanierung von Rüstungsaltslasten vollauf rechtfertigt. Dazu existieren nunmehr kommerzielle Lösungen, die von der semiquantitativen Einzelstoffbestimmung bis hin zur Ermittlung diskreter Stoffkonzentrationen reichen, und die damit auf die unterschiedlichen Anforderungen der jeweils zu gewährleistenden Bearbeitungstiefe von Standorterkundungen bzw. Sanierungen reagieren können. Methoden der schnellen Vor-Ort-Analytik können in diesem Sinne optimal gewählt und eingesetzt werden. Solange allerdings offizielle Zertifizierungen von Methoden der schnellen Vor-Ort-Analytik (noch) nicht vorliegen, entscheidet häufig die Sachkunde der Nutzer über deren Einsatz. Für die Zukunft dürften vor allem Weiterentwicklungen interessant sein, die im Sinne von *in situ*- oder Echtzeit-Messungen die analytikbedingten Anteile des Gesamtaufwands der standortbezogene Arbeiten noch weiter reduzieren können.

6 Literatur

- [1] GÜNTHER, P.; BARKOWSKI, D.; MACHTOLF, M. (1996): Standort- und nutzungsbezogene Gefährdungsabschätzung durch Expositionsbeurteilungen – dargestellt am Beispiel des Rüstungsaltsstandortes DAG-Gelände in Stadallendorf. *Altslasten-spektrum* 2, 61-71
- [2] SCHNEIDER, K.; OLTMANN, J.; HASSAUER, M.; KALBERLAH, F. (1995): Toxikologische Bewertung von Rüstungsaltslasten. In: Rippen, G. (Hrsg.): *Handbuch Umwelt-Chemikalien: Stoffdaten, Prüfverfahren, Vorschriften*. ecomed Verlag, Landsberg, 28. Erg. Lfg. 3/95, 3-99
- [3] WOLLIN, K.-M.; HÖRING, H.; DIETER, H.H. (1996): Kriterien zur toxikologischen (Summen-)Bewertung sprengstofftypischer Verbindungen (STV) aus Rüstungsaltslasten. In: Rippen, G. (Hrsg.): *Handbuch Umwelt-Chemikalien: Stoffdaten, Prüfverfahren, Vorschriften*. ecomed Verlag, Landsberg, 34. Erg. Lfg. 5/96, 139-153
- [4] Von der TRENCK, K.T.; RUF, J.; JARONI H. (1995): Orientierungswerte für umweltrelevante Schadstoffe in Rüstungsaltslasten. In: Rippen, G. (Hrsg.): *Handbuch Umwelt-Chemikalien: Stoffdaten, Prüfverfahren, Vorschriften*. ecomed Verlag, Landsberg, 28. Erg. Lfg. 3/95, 101-138
- [5] RYON, M.G. (1987): Water quality criteria for 2,4,6-trinitrotoluene (TNT). ORNL Final Report 6304
- [6] ETNIER, E. L. (1986): Water quality criteria for hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine (RDX). ORNL Final Report 6178
- [7] WOLLIN, K.-M. (1996): Schnelle Vor-Ort-Analytik mittels TNT-Immunoassay GIT Fachz. Lab. 11/96, 1144-1149
- [8] ECK, D.L.; KURTH, M.J.; MACMILLAN, C. (1990): Trinitrotoluene and other nitroaromatic compounds. In: Van Emon, J.M.; Mumma, R.O. (Hrsg.): *Immunochemical methods for environmental analysis* (chapter 8.1-8.3). ACS Symposium Series 442, 79-94
- [9] FETTEROLF, D.D. (1993): Antibody-based field test kit for explosives. In: Yinon, J. (Hrsg.): *Advances in analysis and detection of explosives*. Kluwer Academic Press, Dordrecht, 19-28
- [10] KEUCHEL, C.; WEIL, L.; NIESSNER, R. (1992): Enzyme-linked immunoassay for the determination of 2,4,6-trinitrotoluene and related nitroaromatic compounds. *Anal. Sci.* 8, 9-12
- [11] KEUCHEL, C.; WEIL, L.; NIESSNER, R. (1993): Einsatz von Enzym-Immunoassays als Screening-Verfahren für die Bestimmung von Trinitrotoluol im Grundwasser. *Vom Wasser* 81, 7-15
- [12] KEUCHEL, C.; WEIL, L.; NIESSNER, R. (1992): Development of an immunoassay for the determination of 2,4,6-trinitrotoluene – Probing the influence of humic acids. *SPI* 1716, 44-58
- [13] KEUCHEL, C.; WEIL, L.; NIESSNER, R. (1992): Effect of the variation of the length of the spacer in a competitive enzyme immunoassay. *Fresenius J. Anal. Chem.* 343, 143-144
- [14] KEUCHEL, C.; NIESSNER, R. (1994): Rapid field test for determination of 2,4,6-trinitrotoluene in water and soil with immunofiltration. *Fresenius J. Anal. Chem.* 350, 538-543
- [15] ROTH, M.; BOYCE, A.E. (1978): Continuous monitoring of pink water from carbon adsorption process. Army Armament Research and Development Command Dover NJ, Large Caliber Weapon System Lab., Report ARLCD-TR-77047, AD-E 400161
- [16] HAAS, R.; STORCK, G. (1989): Konzept zur Untersuchung von Rüstungsaltslasten: 1. Untersuchung ehemaliger TNT-Fabriken und Füllstellen. *Fresenius' Z. Anal. Chem.* 335, 839-846
- [17] JENKINS, T.F. (1990): Development of a simplified field method for the determination of TNT in soil. *US Cold Regions Research and Engineering Laboratory, Special Report* 90-38
- [18] JENKINS, T.F.; WALSH, M.E. (1991): Field screening method for 2,4-dinitrotoluene in soil. *US Cold Regions Research and Engineering Laboratory, Special Report* 91-17
- [19] JENKINS, T.F.; WALSH, M.E. (1992): Development of field screening methods for TNT, 2,4-DNT and RDX in soil. *Talanta* 39, 419-428
- [20] HELLER, C.A.; GRENI, S.R.; ERICKSON, E.D. (1982): Field detection of 2,4,6-trinitrotoluene in water by ion-exchange resins. *Anal. Chem.* 54, 286-289
- [21] ERICKSON, E.D.; KNIGHT, D.J.; BURDICK D.J.; GRENI S.R. (1984): Indicator tubes for the detection of explosives. *China Lake, Calif., Naval Weapons Center Report*, NWC TP-6569
- [22] JENKINS, T.F.; SCHUMACHER, P.W. (1990): Evaluation of a field kit for detection of TNT in water and soils. *U.S. Army Toxic and Hazardous Materials Agency, Special Report* 90-20
- [23] JENKINS, T.F.; THORNE P.G.; WALSH M.E. (1994): Field screening method for TNT and RDX in groundwater. *Cold Regions Research and Engineering Laboratory, Special Report* 94-14
- [24] MEDARY, R.T. (1992): Inexpensive, rapid field screening for 2,4,6-trinitrotoluene in soil. *Anal. Chim. Acta* 258, 341-346
- [25] THORNE, P.G.; JENKINS, T.F. (1995): Development of a field method for quantifying ammonium picrate and picric acid in soil and water. *US Cold Regions Research and Engineering Laboratory, Special report* 95-20
- [26] ROGERS, K.R.; GERLACH, C.L. (1996): Environmental biosensors: A status report. *Environ. Sci. Technol.* 30, 486A-491A
- [27] SHRIVER-LAKE, L.C.; BRESLIN, K.A.; CHARLES, P.T.; CONRAD, D.W.; GOLDEN, J.P.; LIGLER, F.S. (1995): Detection of TNT in water using an evanescent wave fiber-optic biosensor. *Anal. Chem.* 67, 2431-2435
- [28] SHRIVER-LAKE, L. C.; DONNER, B.L.; LIGLER, F.S. (1997): On-site detection of TNT with a portable fiber optic biosensor. *Environ. Sci. Technol.* 31, 837-841
- [29] BART, L.L.; JUDD, J.C.; HOFFMANN, K.E.; WILKINS, A.M.; KUNSTERBECK, A.W. (1997): Application of a portable immunosensor to detect the explosives TNT and RDX in groundwater samples. *Environ. Sci. Technol.* 31, 1501-1511
- [30] KRAUSA, M.; DOLL, J.; SCHORB, K.; HAMBITZER, G. (1996): Elektrochemischer Detektor zur schnellen Bestimmung von Nitro- und Aminoaromaten in Böden und Wässern. *Terra Tech* 5, 36-38
- [31] KRAUSA, M.; DOLL, J.; SCHORB, K.; HAMBITZER, G. (1998): Potentiodynamische Detektion von Nitro- und Aminoaromaten. *CLB* 49, 59-62
- [32] BUTTNER, W.J.; FINLAY, M.; VICKERS, W.; DAVIS, W.M.; CEPEDAS, E.R.; COOPER, S.; ADAMS, J.W. (1997): In situ detection of trinitrotoluene and other nitrated explosives in soils. *Anal. Chim. Acta* 341, 63-71

- [33] EPSTEIN, J.; SOMMER, H.Z.; HACKLEY, B.E. (1978): Environmental quality standards research on wastewaters of army ammunition plants. Army Armament Research and Development Command Aberdeen Proving Ground Md, Chemical Systems Lab., ARCSL-TR-77025, AD-E410040
- [34] KANEKAR, P.; GODBOLE, S.H. (1981): Thin layer chromatographic (TLC) method for quantitative estimation for alpha-Trinitrotoluene (alpha-TNT). *Biovigyanam* 7, 115-119
- [35] SOHR, H.; JANES, W.; BONGARTZ, A. (1994): Analytik von Nitroverbindungen aus militärischen Altlasten mittels der Dünnschichtchromatographie. *Camag Bibliography Service No. 72*, 8-11
- [36] STEUCKART, C.; BERGER-PREISS, E.; LEVSEN, K. (1994): The analysis of explosives and their biodegradation products in contaminated soil and water from former ammunition plants by automated multiple development high performance thin-layer chromatography. *Anal. Chem.* 66, 2570-2577
- [37] HILLER, H.; VOIGT, B. (1995): Dünnschichtchromatographische Bestimmung von Nitroaromaten und aromatischen Aminverbindungen in Wässern. *Terra Tech* 1, 29-31
- [38] Ensys Corporation (1995): TNT and RDX soil test system, Users guide.
- [39] LESNIK, B. (1994): Immunoassay Methods: Development and implementation programme at the USEPA. *Food and Agricultural Immunology* 6, 251-259
- [40] KEUCHEL, C.; WEIL, L.; NIEßNER, R. (1994): Immunologischer Test auf organische Nitroverbindungen im Wasser. Abschlussbericht, TU München, Januar 1994
- [41] CROCKETT, A.B.; CRAIG, H.D.; JENKINS, T.F.; SISK, W.E. (1996): Field sampling and selecting on-site analytical methods for explosives in soil. EPA-Report 540/R-97/501, November 1996
- [42] MYERS, K.F.; McCORMICK, E.F.; STRONG, A.B.; THORNE, P.G.; JENKINS, T.F. (1994): Comparison of commercial colorimetric and enzyme immunoassay field screening methods for TNT in soil. US Army Corps of Engineers. Waterways Experiment Station. Technical Report IRRP-94-7
- [43] WALSH, M.E.; JENKINS, T.F.; THORNE, P.G. (1995): Laboratory and analytical methods for explosives residues in soil. *J. Energ. Mat.* 13, 357-383
- [44] USEPA (1995): Field screening technologies Umatilla explosive washout lagoon soils. USEPA, region 10, Seattle, Washington, unveröffentlichter Bericht (zitiert nach [41])
- [45] HAAS R.A.; SIMMONS B.P. (1995): Measurement of trinitrotoluene (TNT) and hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine (RDX) in soil by enzyme immunoassay and high performance liquid chromatography (EPA method 8330). California Environmental Protection Agency, Department of Toxic Substances Control, Hazardous Material Laboratory
- [46] BONGARTZ, A.; GAIL-ELLER, R. (1995): Validierung und Felderprobung eines TNT-Schnelltests anhand von Altlastenuntersuchungen auf dem Gelände einer ehemaligen Munitionsanstalt. UTA 4/95, 364-373
- [47] Dresdner Grundwasser Consulting GmbH (1997): Vergleichende Untersuchungen von Verfahren zum Nachweis von Nitroaromaten und Nitraminen im Boden aus Rüstungsaltslasten unter Labor- und Feldbedingungen. Abschlussbericht zum F+E-Vorhaben 48/97, Dezember 1997
- [48] WOLLIN, K.-M. (1998): Unveröffentl. Ergebnisse

Eingegangen am: 11.01.1999
Akzeptiert am: 09.03.1999

Rüstungsaltslasten in der UWSF (1995-1999)

Titel	Autor(en)	Ausgabe
Originalarbeiten: Analytik sprengstofftypischer Substanzen – Ein Methodenvergleich	Eduard Alter, Gerhild Donnevert, Claudia Sabel	UWSF 10 (2) 66-74 (1998)
Originalarbeiten: Arsenaufnahme von Wildpflanzen auf einem kampfstoff-kontaminierten Rüstungsaltslastenstandort	Frank-Albert Pitten, Gerald Müller, Peter König, Dieter Schmidt, Axel Kramer	UWSF 10 (2) 75-80 (1998)
Originalarbeiten: Die Wirkung von Sprengstoffen in Böden einer militärischen Altlast auf die Populationsentwicklung von <i>Folsomia candida</i> (Willem: 1902) (<i>Collembola</i> , <i>Insecta</i>)	Werner Kratz, Franz Riesbeck	UWSF 10 (3) 143-146 (1998)
Originalarbeiten: Biologische Sanierung von Rüstungsaltslasten: Abreicherung von 2,4,6-Trinitrotoluol in Rhizosphärenböden	Andreas Klunk, Elisabeth Göрге, Dietrich Werner	UWSF 8 (5) 243-247 (1996)
Originalarbeiten: Aufnahme von 2,4,6-Trinitrotoluol in Pflanzen: Freilandversuche auf dem Gelände einer ehemaligen Sprengstoff-Fabrik in Stadtallendorf	Elisabeth Göрге, Sebastian Brandt, Dietrich Werner	UWSF 7 (3) 139-148 (1995)
Kurze Originalmitteilungen: Aquatische Ökotoxizität von Phenylarsinverbindungen: 1. Neben- und Umwandlungsprodukte von Blaukreuzkampfstoffen	Rainer Haas, Marco Müller, Lothar Kaminski	UWSF 8 (2) 62-63 (1996)
Kurze Originalmitteilungen: Aquatische Ökotoxizität von Phenylarsinverbindungen: 2. Chemische Kampfstoffe der Blaukreuzgruppe	Rainer Haas, Marco Müller, Klaus Steinbach, Eberhard v. Löw	UWSF 8 (3) 121 (1996)
Kurze Originalmitteilungen: Chemische Reaktionen von Phenylarsinverbindungen 1. Umsetzung mit Alkoholen zu Diphenylarsinverbindungen	Rainer Haas	UWSF 8 (4) 183 (1996)
Kurze Originalmitteilungen: Analytik von Umwandlungsprodukten des Schwefelosts (S-LOST)	Rainer Haas, Torsten C. Schmidt	UWSF 8 (5) 241-242 (1996)
Kurze Originalarbeit: Rüstungsaltslast "Grauerort" bei Stade	Rainer Haas, Bern Passarge	UWSF 7 (1) 2 (1995)
Übersichtsbeiträge: Explosivstoffe in Altlasten der Rüstungsproduktion	Uwe Dornberger, Thomas Welsch	UWSF 7 (5) 302-316 (1995)
Diskussionsbeiträge: Kriterien zur toxikologischen Bewertung sprengstofftypischer Verbindungen (STV)	Klaus-Michael Wollin, Helmut Höring, Hermann H. Dieter	UWSF 8 (5) 261-266 (1996)