

Human- und ökotoxikologische Bewertung von Markierungsmitteln in Gewässern

**Empfehlungen
eines Arbeitskreises
beim Umwelt-
bundesamt**

Arbeitskreis „Human- und ökotoxikologische Bewertung von Markierungsmitteln in Gewässern“

Kurzfassung

Unsicherheiten bei der Zulassung von Markierungsversuchen in Gewässern waren Anlaß, einen Arbeitskreis beim Umweltbundesamt (Institut für Wasser-, Boden- und Lufthygiene) für deren human- und ökotoxikologische Bewertung einzuberufen. Insgesamt 17 Markierungsmittel für Gewässer wurden von dem Arbeitskreis bewertet. Basis der Bewertung sind die Ergebnisse toxikologischer Tests, Literaturrecherchen und das Expertenwissen des Arbeitskreises. Human- oder ökotoxikologisch bedenkliche Mittel sollen künftig nicht mehr eingesetzt werden. Trotzdem stehen ausreichend Markierungsmittel zur Verfügung, um die Aufgaben der hydrogeologischen und hydrologischen Markierungstechnik ohne nachhaltigen Einfluß auf die Gewässer lösen zu können.

Abstract

Uncertainties which arose in the authorization of tracing experiments in ground and surface waters prompted a working group to be convened at the Umweltbundesamt (Federal Environmental Agency - Institute for Water, Soil and Air Hygiene) for their toxicological and ecotoxicological assessment. A total of 17 tracers for use in water were assessed by the working group on the basis of the results of toxicological tests, available literature and the group's own expert knowledge. The use of tracers posing as risk to the environment or human health is to be terminated in the future. Nevertheless, a number of tracers remain available which allow hydrogeological and hydrological techniques to be performed for water pollution control purposes with no adverse environmental impact.

Arbeitskreis „Human- und ökotoxikologische Bewertung von Markierungsmitteln in Gewässern“
beim Umweltbundesamt,
Institut für Wasser-, Boden- und Lufthygiene
(Außenstelle Langen),
Postfach 1468, 63204 Langen,
Telefon: 06103-704165, Telefax: 06103-704147

Eingang des Beitrages: 28.04.97

Einleitung

Markierungsversuche in Grundwasser und Oberflächengewässern sind für eine zweckmäßige Bewirtschaftung von Gewässern, für ihren Schutz und für wissenschaftliche Untersuchungen notwendig. In der Regel geht es hierbei um die Erfassung von Strömungs-, Transport- und Vermischungsvorgängen. Dies ist auch eine Voraussetzung für die Vorbereitung nachhaltiger Schutzmaßnahmen. Anwendungsbeispiele sind die Abgrenzung von Wasserschutzgebieten und Einzugsgebieten von Trinkwassergewinnungsanlagen, die Verfolgung der Ausbreitungspfade von Schadstoffen oder die Simulation von Störfällen. Einen umfassenden Überblick über die Markierungstechnik in Gewässern gibt Käss (1992). Markierungsversuche stellen aber auch eine potentielle Gewässerbelastung dar, deren Vermeidbarkeit sorgfältig zu prüfen ist. Bei einem Markierungsversuch wird stoßartig oder über eine begrenzte Dauer ein Markierungsmittel in ein Gewässer eingegeben. Dieses breitet sich mit der Wasserströmung aus und ist dann zeitlich befristet an Beobachtungsstellen meßbar.

Zur Gewässermarkierung sind nur Mittel mit bestimmten Eigenschaften geeignet. Sie sollen natürlicherweise gar nicht oder nur in geringen Konzentrationen im Gewässer vorhanden sein, sie müssen analytisch leicht faßbar und ausreichend persistent sein und sich optimal mit der Wasserströmung ausbreiten. Auf die chemischen und physikalischen Eigenschaften der nachfolgend angesprochenen Markierungsstoffe sowie auf die daraus resultierende Tauglichkeit zur Gewässermarkierung wird hier nicht weiter eingegangen. Diese Informationen sind bei Käss (1992) dokumentiert.

Ein entscheidendes Kriterium für die Eignung eines Markierungsmittels ist seine Human- und Ökotoxizität. Hierbei ist zu bedenken, daß ein Großteil der Markierungsversuche im Einzugsgebiet von Trinkwassergewinnungsanlagen stattfindet. Da markiertes Grundwasser durch Quellen und Effluenz in oberirdische Gewässer und solches Wasser durch Uferfiltration und direkte Oberflächenwasserentnahme in die Trinkwasserversorgung gelangen kann, sollten in Geländeversuchen grundsätzlich nur human- und ökotoxikologisch geprüfte und vertretbare Mittel eingesetzt werden.

Über viele Markierungsmittel liegen nur lückenhafte oder schwer vergleichbare toxikologische Daten vor (z. B. SMART und LAIDLAW 1977, SMART 1984; Übersicht bei Käss 1992). Sie reichen für eine anwendungsorientierte toxikologische Bewertung

tung nicht aus. Von den mit der Zulassung befaßten Behörden wurden deshalb Markierungsversuche bisher zum Teil abgelehnt oder nur mit beträchtlichen Einschränkungen genehmigt. Auflage kann beispielsweise die Einhaltung sehr geringer Konzentrationen des Markierungsmittels sein, was im Rahmen der Versuchsplanung und -durchführung aus hydrogeologischen, hydrologischen oder analytischen Gründen oft nicht möglich ist.

Diese Unsicherheiten waren Veranlassung, einen Arbeitskreis mit Fachleuten aus den Gebieten Hydrogeologie, Hydrologie, Human- und Ökotoxikologie, Bodenkunde und Chemie in das Umweltbundesamt - Institut für Wasser-, Boden- und Lufthygiene (WaBoLu) - einzuberufen, dessen Ziel es war, die am häufigsten eingesetzten Markierungsmittel bezüglich ihrer Human- und Ökotoxizität zu bewerten. Die Bewertung möglicher Ab- und Umbauprodukte war nicht Ziel des Arbeitskreises; hier besteht noch Handlungsbedarf.

Im Arbeitskreis wirkten mit (alphabetische Reihenfolge):

- für die Arbeitsgemeinschaft der Leitenden Medizinalbeamtinnen und -beamten der Länder (AGLMB): Prof. Dr. Henseling;
- Dipl.-Ing. (Chem.) Behrens (Univ. München);
- für die Bundesanstalt für Gewässerkunde: Dipl.-Ing. Hanisch;
- für den Deutschen Verband für Wasserwirtschaft und Kulturbau (DVWK): Prof. Dr. Käß;
- für den Deutschen Verein des Gas- und Wasserfachs (DVGW): Prof. Dr. Beims;
- Prof. Dr. Eikmann, Dr. Tilkes (Univ. Gießen);
- für das Geologische Landesamt Baden-Württemberg: Frau Dr. Dietze, Dr. Schloz;
- Prof. Dr. Leibundgut (Univ. Freiburg);
- für das Umweltbundesamt: PD Dr. Dieter, Frau Dr. Grummt, Dr. Kerndorff, Prof. Dr. Müller-Wegener, Frau Dr. Rönnefahrt, Dipl.-Chem. Scharenberg, PD Dr. Schleyer.

Die Untersuchungen wurden vom Geologischen Landesamt und Ministerium für Umwelt und Verkehr Baden-Württemberg, von der Bundesanstalt für Gewässerkunde und vom Umweltbundesamt finanziert.

Untersuchungsmethoden

Die experimentellen Prüfungen zur Geno- und Ökotoxizität der Markierungsmittel (Tab. 1) wurden durch das Institut für Wasser-, Boden- und Lufthygiene durchgeführt. Hierfür wurden die handelsüblichen Markierungsmittel benutzt, wobei es sich oft nicht um Reinsubstanzen, sondern um Mittel mit teilweise erheblichen Beimengungen handelte.

Für Substanzen mit geringer oder vermeidbarer Exposition für den Menschen (eine Prämisse, von der im Falle der Markierungsmittel ausgegangen werden kann) wird zur Erfassung der genotoxikologischen Wirkungen eine Kombination von zwei bis drei In-Vitro-Testverfahren mit relevanten genetischen Endpunkten als ausreichend angesehen (KIRKLAND 1993, KRAMERS et al. 1991). Mit dem Salmonella/Mikrosomen-Test (Genmutation) und der Analyse von Chromosomenaberrationen in der Säugerzellkultur wurden zwei ausreichend validierte und für die Chemikalienprüfung festgeschriebene Testverfahren eingesetzt.

Für die ökotoxikologische Bewertung wurden die akute Daphnientoxizität nach DIN 38412 - Teil 11 und die akute Fischtoxizität gemäß DIN 38412 - Teil 31 ermittelt, letztere in Abänderung der Richtlinie an Zebraabhräbungen. Der in der Grundstufe für die ökotoxikologische Bewertung von Chemikalien (ChemG) geforderte Algentest lieferte wegen Störungen durch die Fluoreszenz der meisten Markierungsmittel keine eindeutigen Ergebnisse und konnte daher nicht für die ökotoxikologische Bewertung herangezogen werden. Die Auswahl der Testkonzentrationen orientierte sich an den versuchsbedingten Konzentrationsverläufen, wie sie in der Markierungspraxis auftreten. Die höchsten getesteten Konzentrationen lagen im mg/l-Bereich.

Untersuchungsergebnisse und Bewertung

Fluoreszenzfarbstoffe

In Tabelle 1 sind die Untersuchungsergebnisse der im Auftrag des Arbeitskreises durchgeführten toxikologischen Tests zusammengestellt. Fluoreszenzfarbstoffe, die weder bei den Geno- noch bei den Ökotoxizitätstests Effekte zeigten, wurden vom Arbeitskreis als unbedenklich zur Gewässermarkierung eingestuft. Dies sind: Uranin, Eosin gelblich, Amidorhodamin G, Natriumnaphthionat, Pyranin, Tinopal CBS-X und Tinopal ABP flüssig. Im folgenden werden die Fluoreszenzfarbstoffe behandelt, für die sich bei mindestens einem der Tests Effekte nachweisen ließen.

- *Sulforhodamin B* ist humantoxikologisch unbedenklich, aber ökotoxikologisch bedenklich. Der EC_0 (EC = effect concentration, Index = Prozent der betroffenen Individuen) beträgt 0,16 mg/l gegenüber Daphnien bei einer Exposition von 48 Stunden (EC_{50} (48h) = 0,7 mg/l). Ein Einsatz zur Gewässermarkierung ist daher nur nach spezieller Prüfung jedes einzelnen Versuchs vertretbar.
- *Rhodamin WT* ist wegen genotoxischer Eigenschaften zur Gewässermarkierung nicht zu empfehlen.
- *Rhodamin B* und *Rhodamin 6G* sind wegen genotoxischer und ökotoxischer Eigenschaften nicht zur Gewässermarkierung zu empfehlen. Bereits bei früheren Untersuchungen sind mutagene und karzinogene Wirkungen festgestellt worden (MULL et al., 1988).

Salze

Die zur Gewässermarkierung verwendbaren Kationen Lithium und Strontium sind Spurenbestandteil jedes natürlichen Gewässers, die bei routinemäßig durchgeführten Wasseranalysen in der Regel nicht bestimmt werden. Durchschnittlich beträgt der Strontiumgehalt in Grund- und Oberflächengewässern etwa das Hundertfache des Lithiumgehalts.

- *Lithiumsalze*: Für Lithium (Li) sind aus der Humanmedizin pharmakologische Wirkungen bekannt, die insbesondere bei psychischen Störungen therapeutisch genutzt werden (SCHRAUZER und KLIPPEL 1991). Desweiteren gibt es zu Lithiumchlorid Hinweise auf ökotoxikologische Bedenken, die vom Arbeitskreis nicht abschließend geklärt werden konnten. Die Konzentrationen von Lithium in Grundwasser-Wiederaustritten und in Oberflächengewässern sollten bei Markierungsversuchen deshalb möglichst gering gehalten werden. Im Trinkwasser hält der Arbeits-

kreis eine kurzfristige, höchstens eine Woche andauernde Maximalkonzentration von 5 mg/l Li, längerfristig nicht mehr als 0,5 mg/l Li, für unbedenklich. Erfahrungsgemäß kann diese Vorgabe bei Markierungsversuchen mit Lithiumsalzen problemlos eingehalten werden.

- **Strontium-Salze:** Salinar geprägte Grundwässer, sogenannte Gipswässer, weisen natürlicherweise erhöhte Strontiumgehalte (Sr) auf. Ferner sind aus Nordhessen Trinkwässer mit einem Strontiumgehalt bis zu 15 mg/l bekannt, die aus Grundwasserleitern im Unteren Muschelkalk oder im Keuper gewonnen werden. Der Arbeitskreis hat keine Bedenken gegen Markierungsversuche mit Strontiumsalzen, wenn im Trinkwasser 15 mg/l Sr nicht wesentlich überschritten werden.
- **Bromide:** Auch Bromid ist ein ständiger Spurenbestandteil natürlicher Gewässer. Allerdings können Markierungsversuche mit Bromsalzen in Wasserversorgungsanlagen auf Chlorierungs- oder Ozonierungsbasis zur Entstehung von erhöhten Gehalten des genotoxischen Bromats und potentiell karzinogenen bromorganischen Verbindungen führen. In solchen Fällen rät der Arbeitskreis vom Einsatz von Bromiden als Markierungsmittel ab.

Aktivierungsanalytische Tracer

Zur Verwendung kommen solche gut aktivierbaren Elemente, die sich in natürlichen Gewässern normalerweise weit unterhalb der Nachweisgrenze für herkömmliche Analysenverfahren finden. Zur Gewässermarkierung werden Selten-erdmittel sowie das Element Indium (In) angewandt. Sie werden zur Grundwassermarkierung meist in Mengen von weniger als 10 bis einigen 100 g als anionische hochstabile Komplexe eingesetzt. An entnommenen Wasserproben werden ihre Konzentrationen nach der Aktivierung - meist mit Neutronen im Forschungsreaktor - über die Messung der aus ihnen gebildeten kurzlebigen Radioaktivität bestimmt.

Toxikologisch liegen die an Wiederaustrittsstellen zu erwartenden Elementkonzentrationen weit unterhalb bekannter wirksamer Werte. Zu berücksichtigen sind aber die Komplexbildner Ethylendiamintetraacetat (EDTA) und Diethylentriaminpentaacetat (DTPA). Für den Komplexbildner EDTA gibt es einen nichtgesetzlichen Richtwert des UBA (Trinkwasserkommission) von 10 µg/l im Trinkwasser, der allerdings nicht toxikologisch, sondern ausschließlich hygienisch und ökologisch begründbar ist. Der Arbeitskreis sieht die Gewässermarkierungen mit diesen Tracern als unbedenklich an, wenn sichergestellt ist, daß die Konzentration der Komplexbildner im Trinkwasser 10 µg/l nicht übersteigt.

Triftkörper

Diese Markierungsmittel werden vorzugsweise in Karstgebieten eingesetzt. Sie bieten den Vorteil, an Wiederaustrittsstellen selbst in höheren Konzentrationen unsichtbar zu bleiben. Die Ergebnisse von Triftversuchen sind stark von der filtrierenden Wirkung des durchflossenen Gesteins abhängig.

- **Fluoreszierende Mikrokügelchen aus Polystyrol** sind bisher in verschiedenen Karstgewässern mit gutem Erfolg erprobt worden. Fließwege von pathogenen Keimen können mit Kügelchen von 1 µm Durchmesser nachvollzogen werden. In der Praxis wurden Konzentrationen von 100 Kügelchen in 1 Liter Untersuchungswasser selten und dann nur kurzzeitig überschritten. Der Fluoreszenzfarbstoff, mit dem die Kügelchen eingefärbt sind, ist unlösbar mit dem Polystyrol verbunden. Solche Kügelchen werden auch in der Humanmedizin bei Kreislaufuntersuchungen verwendet. Die wäßrigen Überstände erwiesen sich als nicht genotoxisch (Tab. 1). Der Arbeitskreis empfiehlt, entsprechend sachgerecht begründete und sorgfältig geplante Versuche mit fluoreszierenden Mikrokügelchen zu genehmigen.
- **Lycopodium-Sporen:** Sporen vom Keulenbärlapp (*Lycopodium clavatum*) werden vorzugsweise in Karstgebieten mit

Markierungsmittel	Genotoxizität		Ökotoxizität	
	Salmonella/ Mikrosomentest	zytogenetische Analyse	Fischtest	Daphnien- test
Uranin	-	-	-	k. T. ¹⁾
Eosin gelblich	k. T. ¹⁾	k. T. ¹⁾	-	k. T. ¹⁾
Sulforhodamin B	-	-	-	+
Amidorhodamin G ²⁾	-	-	-	-
Rhodamin WT	+	+	-	-
Rhodamin B	-	+	-	-
Rhodamin 6G	+	+	+	-
Natriumnaphthionat	-	-	-	-
Pyranin	-	-	-	-
Tinopal CBS-X	-	-	-	-
Tinopal ABP flüssig	-	-	-	-
Polystyrolkügelchen	-	-	k. T.	k. T.
Bärlapp-Sporen	-	-	k. T.	k. T.

Tab. 1: Zusammenstellung von Ergebnissen der vom Arbeitskreis veranlaßten toxikologischen Tests von Markierungsmitteln

- : Genotoxizität: Testergebnis ohne Befund (negativer Befund)
Ökotoxizität: LC₅₀ (Fisch) bzw. EC₅₀ (Daphnien) > 10 mg/l
+ : Genotoxizität: Testergebnis mit Befund (positiver Befund);
Ökotoxizität: LC₅₀ (Fisch) bzw. EC₅₀ (Daphnien) < 10 mg/l
k. T.: keine Tests durchgeführt

¹⁾ Testergebnisse aus der Literatur negativ

²⁾ Amidorhodamin G wurde in der Bundesanstalt für Gewässerkunde im Algentest nach DIN 38412 - Teil 33 in modifizierter Form mit Farbkorrekturküvetten getestet. Das Testergebnis war ohne Befund (-).

schwer zugänglichen Quellaustritten eingesetzt. Sie bieten dort den Vorteil, daß sie mit Planktonnetzen über längere Beobachtungszeiten akkumuliert werden können. Zur besseren Probendurchmusterung können sie mit Fluoreszenzfarbstoffen angefärbt werden. Acridinorange hat sich als der am besten haftende Farbstoff erwiesen. Schüttelversuche haben ergeben, daß von mit Acridinorange angefärbten Sporen keine nachweisbaren Anteile in die wäßrige Phase übergehen. Die Prüfung dieser wäßrigen Phasen ergab keine genotoxischen Effekte (Tab. 1). Es bestehen daher keine Bedenken gegen Markierungsversuche mit acridinorangegefärbten Bärlappsporen.

Tab. 2: Überblick über die vom Arbeitskreis behandelten 17 Markierungsmittel, ihre toxikologische Bewertung und Bewertungsgrundlage

Markierungsmittel	Toxikologische Bewertung	Bewertungsgrundlage ¹⁾
Uranin	unbedenklich	T, L
Eosin gelblich	unbedenklich	L, W
Sulforhodamin B	ökotoxikologisch bedenklich	T
Amidorhodamin G	unbedenklich	T
Rhodamin WT	nicht zu empfehlen	T
Rhodamin B	nicht zu empfehlen	T, L
Rhodamin 6G	nicht zu empfehlen	T, L
Natriumnaphtionat	unbedenklich	T
Pyranin	unbedenklich	T
Tinopal CBS-X	unbedenklich	T
Tinopal ABP flüssig	unbedenklich	T
Lithium-Salze	mit Einschränkungen unbedenklich	L, W
Strontium-Salze	mit Einschränkungen unbedenklich	L, W
Bromide	mit Einschränkungen unbedenklich	L, W
Aktivierungs-analytische Tracer	mit Einschränkungen unbedenklich	L, W
Fluoreszierende Polystyrol-Mikrokügelchen	unbedenklich	T, W
Acridinorange-gefärbte Bärlappsporen	unbedenklich	T, W

¹⁾ T: Toxikologische Tests
L: Literaturrecherche
W: Expertenwissen des Arbeitskreises

Schlußbemerkungen

Grundsätzlich handelt es sich bei Markierungsversuchen um einen gezielten Eintrag zum Teil xenobiotischer Substanzen in Gewässer und damit um eine potentielle Gewässerbelastung. Jeder einzelne Versuch bedarf daher einer sorgfältigen Begründung und Planung bezüglich Notwendigkeit, Art und Menge des einzusetzenden Markierungsmittels und Ergebnissicherheit. Zu erwartender Nutzen der Versuchsergebnisse und mögliche Beeinträchtigungen der Gewässer sind sorgfältig abzuwägen. Prinzipiell gilt ein Minimierungsgebot bezüglich Anzahl der Versuche, Anzahl der eingesetzten Markierungsmittel, einzusetzender Markierungsmittelmenge, zu erwartender Austrittskonzentrationen und Belastungsdauer. Besondere Sorgfalt ist bei Markierungsversuchen im Einzugsgebiet von Trinkwassergewinnungsanlagen erforderlich. Die Sichtbarkeitsschwelle von färbenden Markierungsmitteln darf im Trinkwasser nicht überschritten werden (TrinkwV, Anlage 4, Färbung).

Mit den hier human- und ökotoxikologisch als unbedenklich oder als mit Einschränkungen unbedenklich bewerteten Mitteln (Tab. 2) steht eine ausreichende Anzahl zur Verfügung, um nahezu jeden Anwendungsfall bewältigen zu können. Neu entwickelte Markierungsmittel sind künftig grundsätzlich vor ihrer Ausbringung in Gewässer human- und ökotoxikologisch zu bewerten.

Eine detaillierte Darstellung der ermittelten Daten wird in der Reihe UBA-Texte vorbereitet und über die UBA-Bibliothek zu beziehen sein.

Literatur

- KÄSS, W. (1992): Geohydrologische Markierungstechnik. - 519 S., 234 Abb., 30 Tab., 4 Farbtafeln; Berlin, Stuttgart.
- KIRKLAND, D.J. (1993): Genetic toxicology testing requirements: official and unofficial views from Europe. - *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 21: 8-14.
- KRAMERS, P.G.N., KNAAP, A.G.A.C., VAN DER HEIJDEN, C.A., TAALMAN, R.D.F.M., MOHN, G.R. (1991): Role of genotoxicity assays in the regulation of chemicals in The Netherlands: considerations and experiences. - *Mutagenesis*, 6: 487-493.
- MULL, D.S., LIEBERMANN, T.D., SMOOT, J.L., WOOSLEY, L.H. (1988): Application of dye-tracing techniques for determining solute-transport characteristics of ground water in karst terranes. - 103 S., 18 Abb., 6 Tab.; Atlanta (Georgia, USA).
- SCHRAUZER, G.N., KLIPPEL, K.-F. (1991): Lithium in biology and medicine - new applications and developments. - *Proc. Int. Symp., held at the European Academy Nonnweiler/Trier 25.-27. May 1990*: 290 S.; Weinheim, New York, Basel, Cambridge.
- SMART, P.L. (1984): A review of the toxicity of twelve fluorescent dyes used for water tracing. - *The NSS Bulletin*, 46: 21-33.
- SMART, P.L., LAIDLAW, I.M.S. (1977): An evaluation of some fluorescent dyes for water tracing. - *Water Resources Research*, 13: 15-33.

