



Geringfügigkeitsschwellenwerte (GFS-Werte) aus ökotoxikologischen Daten – Ausgleichsfaktoren nach TGD 2011 und TGD 2016

**Für eine zügige und sichere Ableitung in der Praxis
mit vielen Fallbeispielen**

**Regine Gühr (HLNUG)
Dr. Gerd Rippen (Göttingen)**

Wiesbaden, Februar 2018



Impressum

Geringfügigkeitsschwellenwerte (GFS-Werte) aus ökotoxikologischen Daten – Ausgleichsfaktoren nach TGD 2011 und TGD 2016

Dieses Dokument wurde erarbeitet von:

Regine Gühr Hessisches Landesamt für Naturschutz, Umwelt und Geologie
Dr. Gerd Rippen Göttingen

Herausgeber, © und Vertrieb:

Hessisches Landesamt für Naturschutz, Umwelt und Geologie
Rheingaustraße 186
65203 Wiesbaden

Telefon: 0611 69 39-111

Telefax: 0611 69 39-555

E-Mail: vertrieb@hlnug.hessen.de

www.hlnug.de

Der Herausgeber übernimmt keine Gewähr für die Richtigkeit, Genauigkeit und Vollständigkeit der Angaben sowie für die Beachtung privater Rechte Dritter. Nachdruck – auch auszugsweise – nur mit schriftlicher Genehmigung des Herausgebers.

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung	4
2	Einleitung	5
3	Datenbasis und Aufbereitung der ökotoxikologischen Daten	8
4	Auswahl der ausschlaggebenden Daten, Umgang mit Datenlücken und Sonderstellung der Alge bei der Festlegung von Ausgleichsfaktoren	13
4.1	Auswahl der ausschlaggebenden Daten und AF-Ableitung im Regelfall	13
4.2	Ausnahmefälle	15
4.3	Hinweise zu Algen- und Bakterientests	16
5	Festlegung der Ausgleichsfaktoren für die Ableitung von GFS _{aquat}	19
5.1	Allgemeines	19
5.2	Ableitung der Ausgleichsfaktoren	21
	AA Der Basisdatensatz (akute Daten für Fisch, Daphnie, Alge) ist nicht vollständig	21
	A Der Basisdatensatz (akute Daten für Fisch, Daphnie, Alge) ist vollständig, chronische Daten für trophische Standardebenen sind nicht vorhanden	21
	B Der Basisdatensatz (akute Daten für Fisch, Daphnie, Alge) ist vollständig, chronische Daten sind für eine trophische Standardebene vorhanden	22
	C Der Basisdatensatz (akute Daten für Fisch, Daphnie, Alge) ist vollständig, chronische Daten sind für zwei trophische Standardebenen (Fisch und/oder Daphnie und/oder Alge) vorhanden	24
	D Basisdatensatz (akute Daten für Fisch, Daphnie, Alge) vollständig, chronische Daten sind für drei trophische Ebenen vorhanden	30
	E Schätzung/Berechnung von Ökotoxizitätsdaten	34
6	Literaturverzeichnis	35
	Anhang 1: Qualitätskriterien	41
	Anhang 2: Testorganismen, Testdauer und Endpunkte von Organismen verschiedener trophischer Stufen	46
	Anhang 3: Verwendung verschiedener Endpunkte ökotoxikologischer Tests zur Ableitung von GFS _{aquat}	51
	Anhang 4: Ausgleichsfaktoren zur Anwendung auf Daten zur aquatischen Toxizität	54
	Anhang 5: Beispiele	56
	Anhang 6: Was sind chronische Tests?	68

1 Zusammenfassung

In den Technical Guidance Documents for Deriving Environmental Quality Standards (TGD) 2011 und 2016 (Entwurf) werden Regeln beschrieben, mit denen aus toxikologischen und ökotoxikologischen Daten sogenannte Umweltqualitätsnormen (UQN) für chemische Stoffe zum Schutz des Menschen und aquatischer Lebensräume erstellt werden können. Die in Englisch publizierten Richtlinien werden auch in Deutschland zur Ableitung der sogenannten Geringfügigkeitsschwellenwerte (GFS-Werte) nach den Vorgaben der Bund-/Länder-Arbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA) herangezogen. Ein wesentlicher Teil ist die Berechnung von Ausgleichsfaktoren (Assessment factor, AF), mit denen die stoffbezogenen GFS-Werte je nach Umfang und Güte der vorliegenden ökotoxikologischen Untersuchungen ermittelt werden. Grundvoraussetzung zur Ableitung ist das Vorliegen eines validen Basisdatensatzes mit den Ergebnissen von Kurzzeittests zu Fischen, Wirbellosen (meist Wasserflöhe, Daphnien) und Algen. Da diese Daten keinen ausreichenden Schutz vor Langzeitwirkungen gewährleisten, wird je nach verfügbaren chronischen Daten mit einem gestaffelten System von Ausgleichsfaktoren (zwischen 1000 und 10) eine UQN bzw. ein GFS-Wert abgeleitet.

Die vorliegende Arbeit beschreibt detailliert die in den TGD beschriebenen Anforderungen an ökotoxikologische Datensätze, mit denen für einen Stoff der jeweils geeignete Ausgleichsfaktor abgeleitet wird; humantoxikologische Daten sind nicht Gegenstand der Betrachtungen. Die dazu in den TGD über ca. 200 Seiten auf Tabellen, Fußnoten Zusatzerläuterungen und Anhänge verteilten Inhalte werden interpretiert, ins Deutsche übersetzt und zielorientiert in thematische Gruppen zusammengeführt. Widersprüche und Unklarheiten im englischen Text werden aufgezeigt und mit Vorschlägen und Beispielen zielorientierte Lösungen aufgezeigt. Die zu jeder Variante entworfenen Fallbeispiele erleichtern die zügige, transparente Ableitung eines angemessenen Ausgleichsfaktors in der Praxis. Unterschiede zwischen der Ableitung von UQN/GFS-Werten einerseits und den für den Vollzug der europäischen Chemikaliengesetzgebung REACH ermittelten „Predicted No-Effect Concentrations“ (PNEC) andererseits werden an Hand der TGD formuliert.

Mit einer Fülle ergänzender aktueller Literatur werden Qualitätskriterien erläutert wie die allgemeine Validität ökotoxikologischer Tests, der Einfluss der Dissoziationskonstante chemischer Stoffe in Wechselwirkung mit dem pH-Wert einer Testlösung oder die mögliche Bedeutung der Testsubstanz-Reinheit. Die in den TGD 2016 präferierten Testorganismen und Prüfverfahren werden zusammen mit zahlreichen weiteren häufig eingesetzten Richtlinien aufgelistet und ihre Bedeutung für die AF-Ableitung aufgezeigt. Aktuelle Prüfrichtlinien zu Kurzzeittests, zum Beispiel an Embryos, gehen in ihrer Aussagekraft weit über den Endpunkt Mortalität hinaus; sie ermöglichen oft bereits fundierte Aussagen zur Überlebensfähigkeit der getesteten Spezies unter dem Einfluss eines chemischen Stoffes. Die Richtlinien mit Endpunkten werden aufgeführt und ihre Aussagekraft bezüglich chronischer Wirkungen dargelegt.

2 Einleitung

Die Geringfügigkeitsschwelle (GFS) wird definiert als Konzentration, bei der trotz einer Erhöhung der Stoffgehalte gegenüber regionalen Hintergrundwerten keine relevanten ökotoxischen Wirkungen auftreten können und die Anforderungen der Trinkwasserverordnung oder entsprechend abgeleiteter Werte eingehalten werden. Damit soll das Grundwasser

- überall für den menschlichen Gebrauch als Trinkwasser nutzbar bleiben und
- als Lebensraum intakt gehalten werden, unter anderem weil Grundwasser Bestandteil des Naturhaushalts ist und den Basisabfluss von Oberflächenwasser bildet oder den Charakter grundwasserabhängiger Landökosysteme beeinflusst [LAWA 2016].

Die Grundprinzipien für die Ableitung von GFS für das Grundwasser werden von der Bund-/Länder-Arbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA) beschrieben; gesetzlich geregelte Werte gelten als festgelegt und haben somit Vorrang gegenüber Werten auf der Basis einer gutachterlichen Bewertung. Das Gleiche gilt für in der Fachöffentlichkeit, insbesondere auf EU-Ebene, diskutierte und akzeptierte Stoffbewertungen [LAWA 2016]. Ist eine Aktualisierung erforderlich oder gibt es keine anerkannten Werte, richtet sich die Vorgehensweise für die Ableitung der GFS-Werte – analog zu den Environmental Quality Standards (EQS, Umweltqualitätsnormen, UQN)¹ – nach den Technical Guidance Documents for Deriving Environmental Quality Standards (TGD) 2011, in Teilen aktualisiert 2016 (Entwurf). Die Datenbasis dafür ist eine Literaturrecherche auf toxische Wirkungen gegenüber aquatischen Organismen. Die parallel dazu erforderliche Bewertung der humantoxikologischen Eigenschaften ist nicht Gegenstand der folgenden Ausführungen. Gemeinsames Ziel von GFS-Werten, PNEC und UQN ist es, diejenige Konzentration zu ermitteln, die für ein aquatisches Ökosystem kein inakzeptables Risiko darstellt.

Die Ableitung von GFS-Werten und UQN nach TGD 2011 und 2016 unterscheidet sich konzeptionell von der Ableitung von Predicted No Effect Concentrations (PNEC) in Risikoabschätzungen für Chemikalien² oder des Risikoindikators zur Bewertung von Pflanzenschutzmitteln gemäß der Richtlinie

¹ Umweltqualitätsnorm (UQN): Konzentration eines bestimmten Schadstoffs oder einer Schadstoffgruppe, die in Wasser, Sedimenten oder Biota aus Gründen des Gesundheits- und Umweltschutzes nicht überschritten werden darf wenn ein guter chemischer Zustand zu erreichen ist. Es werden zwei unterschiedliche Wassernormen vorgeschlagen:

- ein Schwellenwert für die Durchschnittskonzentration des jeweiligen Stoffs, über einen Zeitraum von 1 Jahr auf der Basis von Messdaten berechnet. Durch diese Norm soll der Schutz vor einer Langzeitexposition gegenüber Schadstoffen in der aquatischen Umwelt sichergestellt werden.

- eine zulässige Höchstkonzentration des betroffenen Stoffs, d. h. der Höchstwert für jede Einzelmessung. Durch diese Norm soll der Schutz vor einer Kurzzeitexposition, d. h. Schadstoffbelastungsspitzen, sichergestellt werden.

Bei den vorgeschlagenen Qualitätsnormen wird zwischen Binnenoberflächengewässern (Flüsse und Seen) und sonstigen Oberflächengewässern (Küsten- und Hoheitsgewässer) unterschieden.

² „A PNEC derived as part of a risk assessment will provide a key step in the derivation of an EQS and, in some cases, the PNEC from a risk assessment will be identical to the EQS. However, for the reasons outlined above, it will not be sufficient to simply adopt the PNEC as the EQS as a matter of course. Nevertheless, the process of deriving environmental standards is similar to that used in the effects (i.e. hazard) assessment that is required for a risk assessment for chemicals.“ [TGD 2011, S. 12]

des Rates 91/414/EWG über das Inverkehrbringen von Pflanzenschutzmitteln (Toxicity Exposure Ratio, TER) [EU 1991].³

PNEC-Werte sind Hilfsgrößen für die Risikoabschätzung, UQN sind rechtlich bindende Grenzwerte, die nicht überschritten werden dürfen. Abweichungen zwischen der UQN-Ableitung und der Ableitung einer PNEC nach [EU 1991] finden sich in den nachfolgend aufgeführten Punkten. Die UQN-Ableitung beinhaltet gemäß [TGD 2011, S. 11/12, 22 und 27; TGD 2016 Kap. 1.2, 2.6.1.2, 2.8.2]:

- das Konzept eines umfassenden Schwellenwertes, der alle Rezeptoren und Wirkungspfade schützen soll^{4, 5}, denn es basiert auf der Wasserrahmenrichtlinie, wonach auch die empfindlichsten Gewässer Europas (Seen, Flüsse, Brackwassergebiete, Meere, Grundwasser) zu schützen sind⁶,
- das weitgehende Fehlen einer Möglichkeit, die UQN im Licht neuer Daten zu korrigieren⁷,
- keine Verfeinerung der Standard-Ableitung bei Überschreitung der UQN⁸,
- keinen Ersatz ökotoxikologischer Laborversuche durch Freiland- oder Mesokosmosversuche wie bei der Insektizid-Zulassung⁹,
- keine Bewertung für konkrete Eintrags-Szenarien, stattdessen Schutz aller Wasserkörper in der EU¹⁰,
- keine Berücksichtigung einer „Erholung“ nach eventuellen erhöhten Einträgen der Prüfsubstanz¹¹,

³ „Although a risk assessment under 91/414/EEC should not be used directly to set a QS, the list of endpoints produced for the review process and published on the internet by the Commission, provides a valuable data set. These data must, however, be supplemented with other ecotoxicity data where they are available, and also meet quality criteria.“ [TGD 2011, S. 27]

⁴ „It is important to highlight some conceptual differences between EQS derivation and the estimation of a PNEC (Predicted No Effect Concentration) from chemical risk assessment or TER (Toxicity Exposure Ratio) for a pesticide. For example:

“• the concept of an overall threshold ...that protects all receptors and routes is a feature of EQS derivation that does not normally apply in chemical risk assessment“ [TGD 2011, S. 11]

⁵ „**All available data for any taxonomic group or species should be considered, provided the data meet quality requirements for relevance and reliability** ... This may include data for alien species and even exotic species, although care should be taken with data generated from experiments using species from extreme environments (e.g. thermophiles, halophytes).“ [TGD 2011 S. 22]

⁶ “an underlying requirement of the WFD (*Water Framework Directive*) is to protect the most sensitive waters in Europe.“ [TGD 2011, S. 11]

⁷ “whereas there are opportunities to refine a risk assessment in the light of new data, this is often not the case in EQS derivation; although additional data may sometimes be voluntarily provided, we cannot usually demand the commissioning of new studies so have to utilise what is available to us“ [TGD 2011, S. 11]

⁸ “an exceedance of the EQS will not normally trigger a refinement of the standard“ [TGD 2011, S. 11]

⁹ “in EQS derivation, field and mesocosm data have an important role as lines of evidence in helping define the standard (through helping reduce uncertainty) but would not be regarded as ‘higher tier’ data that would replace laboratory-based ecotoxicity data as done in the assessment of the impact of pesticides.“ [TGD 2011, S. 12]

¹⁰ „The 91/414/EEC assessment is based on a field margin ditch scenario close to the point of application, which would not normally apply under the WFD: the WFD seeks to provide protection to all waterbodies, including lakes, rivers, transitional and coastal waters.“ [TGD 2011, S. 27]

¹¹ „The 91/414/EEC assessment makes an allowance for recovery from impacts. This does not feature at all in the Annex V methodology under WFD“ [TGD 2011, S. 27]

- keinen direkten Vergleich von errechneten Eintragskonzentrationen (predicted environmental concentrations, PEC) mit der Ökotoxizität PNEC am Ort des Eintrags (PEC/PNEC)¹², stattdessen Verwendung von Ausgleichsfaktoren¹³,
- eine unterschiedliche Bewertung von Toxizitätsdaten zu Algen¹⁴,
- die erlaubte Extrapolation von Daten zur akuten Ökotoxizität auf chronische Toxizität (bei der Pflanzenschutzmittel-Zulassung sind chronische Tests verbindlich)¹⁵.

Die folgenden Ausführungen befassen sich ausschließlich mit der Ableitung von Geringfügigkeits-schwellenwerten chemischer Stoffe zum Schutz aquatischer Lebensgemeinschaften (GFS_{aquat}) nach den Vorgaben der TGD (2011, 2016) für UQN. Im Vordergrund steht die Bestimmung des jeweiligen Ausgleichsfaktors auf Basis der vorhandenen Datenlage zur aquatischen Ökotoxikologie. Über einen Abgleich der so ermittelten UQN_{aquat}/GFS_{aquat} mit einer separaten Beurteilung der gesundheitlichen (humantoxischen) Wirkung wird in einer gesonderten Betrachtung der niedrigere Wert als GFS-Wert bestimmt.

¹² „Under 91/414/EEC the risk is expressed as a Toxicity Exposure Ratio (TER), based on a direct comparison of toxicity values (without assessment factors) to predictions of concentrations in the environment (PEC). Hence risk assessment under 91/414/EEC does not use AFs applied to the toxicity side of the risk equation, but to the risk quotient, yielding a TER.“ [TGD 2011, S. 27]

¹³ Synonym zu dem Begriff Ausgleichsfaktor (TGD: assessment factor) werden in anderen Veröffentlichungen auch die Begriffe Sicherheitsfaktor oder Übertragungsfaktor verwendet.

¹⁴ „Algal toxicity data are dealt with differently under REACH and 91/414/EEC. This can lead to different outcomes when algae are the critical data determining the threshold (Lepper, 2005).“ [TGD 2011, S. 27]

¹⁵ „Under 91/414/EEC, acute toxicity data are never used to extrapolate to chronic toxicity values; risk assessment for chronic exposure is carried out using only chronic toxicity data because this is a minimum requirement for registration.“ [TGD 2011, S. 27]

3 Datenbasis und Aufbereitung der ökotoxikologischen Daten

Über eine ausführliche Literaturrecherche in Datenbanken werden ökotoxikologische Daten erhalten und den trophischen Ebenen zugeordnet. Voraussetzung für die Ableitung einer/eines UQN_{aquat}/GFS_{aquat} einer chemischen Substanz gemäß TGD (2011, 2016) ist im Regelfall der sogenannte Basisdatensatz. Er besteht aus Daten zur akuten Toxizität von Organismen der drei trophischen Ebenen Fische, Wirbellose (Invertebraten, z.B. Daphnien) und Algen. In **Tabelle 1** sind bevorzugte Testorganismen des Basisdatensatzes (Standardorganismen) mit der vorgesehenen Testdauer und den empfohlenen Endpunkten [TGD 2011, S. 136-138] aufgeführt. Die vollständige Tabelle für akute und chronische Testorganismen findet sich in Anhang 2.

Die Begriffe Standard- bzw. Nicht-Standard-Organismen sind in den TGD nicht eindeutig definiert. In TGD 2011 werden die beiden Bezeichnungen ausschließlich auf S. 38, b) 2. Absatz, S. 39, d) 3. Zeile, sowie S. 83, 3. Abs., zweitletzte Zeile aufgeführt. Eindeutig Standard-Organismen sind Organismen, die bei den trophischen Standardebenen verwendet werden können, das sind Fische, Algen und Daphnien.

Im Entwurf zur Novellierung der TGD (2016) sind die Wasserlinse (*Lemna sp.*) und das Ährige Tausendblatt (*Myriophyllum spicatum*) gleichberechtigt zu den Algen aufgeführt. Dort werden auch ausdrücklich die Ergebnisse der chronischen 28-d-Tests an der Neuseeländischen Zwergdeckelschnecke (*Potamopyrgus antipodarum*; OECD 242) und der Spitzschlammschnecke (*Lymnaea stagnalis*; OECD 243) für die Ableitung von UQN zugelassen¹⁶ [TGD 2016 S. 145/146], d. h. sie werden den Standard-Organismen zugeordnet. Weitere Wirbellose, insbesondere kleine Krebstiere sind ebenfalls als Ersatzorganismen für die Daphnien anzusehen.

¹⁶ „The NOEC or the EC10 from this test can be used for the derivation of AA-EQSS.“ [TGD 2016 S. 146 Mitte]

Tabelle 1: Standardorganismen für akute Tests, Testdauer und Endpunkte des Basisdatensatzes

Taxonomische Gruppe / Testorganismus	Test	Anm.	Tage*	bevorzugte Endpunkte	Einordnung für Abl. GFS
Fische					
div. Fischarten	OECD 203 (1992)	1)	4	Mortalität	akut
Zebrabärbling (<i>Danio rerio</i> ; Embryo)	"Fischeitest"; OECD 236 (2013b)	5)	4	Mortalität des Embryos	akut
Krebstiere					
Wasserfloh (<i>Daphnia</i> sp.)	OECD 202 (2004a)		2	EC ₅₀ (Immobilisierung)	akut
Algen					
div Algen und Cyanobakterien	OECD 201 (2011a)	2) 3) 4)	3	EC ₅₀ (Wachstumsrate, Biomasse)	akut
Wasserpflanzen					
Wasserlinse (<i>Lemna</i> sp.)	OECD 221 (2006b)	3)	7	EC ₅₀ (Fronzzahl, Biomasse)	akut
Ähriges Tausendblatt (<i>Myriophyllum spicatum</i>)	OECD 238 (2014)	3)	14	EC ₅₀ (Wachstumsrate, Biomasse)	akut

Anmerkungen:

* übliche Testdauer in Tagen

- 1) empfohlen nach OECD 203 (1992): Zebrabärbling (*Danio rerio*), Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*), Karpfen (*Cyprinus carpio*), Dickkopfelritze (Fathead Minnow, *Pimephales promelas*), Blauer Sonnenbarsch (*Lepomis macrochirus*), Medaka (Japan. Reisfisch, *Oryzias latipes*), Guppy (*Poecilia reticulata*) sowie die marinen Spezies Edelsteinkärppling (*Cyprinodon variegatus*) und Gezeitenährenfisch (*Menidia peninsulae*)
- 2) empfohlen nach OECD 201 (2011a): Grünalgen (*Pseudokirchneriella subcapitata*, *Desmodesmus subspicatus*), Kieselalgen (Diatomeen, *Navicula pelliculosa*), Cyanobakterien (Blualgen, *Anabaena flos-aquae*, *Synechococcus leopoliensis*)
- 3) bei Tests mit Algen oder Wasserpflanzen pH-Werte beachten! Ggf. Puffer (s. **Anhang 1**)
- 4) Wachstumsrate ist bevorzugter Endpunkt
- 5) Symptome für Mortalität in diesem Test: Koagulation, keine Somitenbildung, keine Schwanzablösung vom Dottersack, kein Herzschlag

Generell sollen nur Daten aufgeführt werden, die ein Mindestmaß an wissenschaftlicher Qualität (Validität) und damit an Vertrauenswürdigkeit/Zuverlässigkeit erfüllen. Dazu gehört auch die Berücksichtigung spezieller Eigenschaften der Testsubstanzen in den Tests. So sind Prüfungen von Substanzen, die unter Umweltbedingungen ionisiert vorliegen, entsprechend durchzuführen und zu protokollieren, d. h. der pH-Wert muss kontrolliert oder auch unter Modifikation der vorgeschriebenen Prüfbedingungen durch Pufferung im physiologisch vertretbaren Rahmen gehalten werden (s. **Anhang 1**).

Ist ein valider Basisdatensatz vorhanden, sind auf Grundlage weiterer ökotoxikologischer Daten aus einer Literaturrecherche Ausgleichsfaktoren zu wählen. Alle verfügbaren Daten zu jeder taxonomischen Gruppe oder Spezies mit den Endpunkten LC₅₀, EC₅₀, LC₁₀, EC₁₀ oder NOEC sollen berücksichtigt

werden, sofern sie die Qualitätskriterien (**Anhang 1**) erfüllen. Zur möglichen Verwendung weiterer Endpunkte gibt die TGD (2011, 2016) ausführliche Vorgaben (s. **Anhang 3**). Dies kann auch fremde oder sogar exotische Spezies umfassen, obwohl bei extremen Testbedingungen (wie für thermophile oder halophile Organismen) Vorsicht angesagt ist. Eine Liste häufiger getesteter Arten mit üblichen Testdauern findet sich im **Anhang 2**. Ergänzend ist angegeben, wie die Testergebnisse aufgrund der Testdauer einer akuten, chronischen oder „in-between“-Wirkung zuzuordnen sind. Die Angaben chronischer Wirkdaten erfolgen im Regelfall als No-observed effect concentration (NOEC) oder als EC₁₀-Werte; beide werden im Folgenden – wie auch in [LAWA 2016] – zwecks besserer Lesbarkeit als NOEC zusammengefasst. Eine Diskussion der zu bevorzugenden Angaben sowie weiterer in der Literatur auch vorkommender Angaben mit – falls nötig – ihrer Umformung in chronische NOEC ist im **Anhang 3** zu finden [aus TGD S. 143-144]. Aus dieser Tabelle ist auch die Relevanz in der Literatur zu findender Endpunktdarstellungen ökotoxikologischer Tests für die Ableitung des Ausgleichsfaktors und der GFS_{aquat} zu erkennen. NOEC-Angaben aus akuten Tests werden nicht berücksichtigt; das Gleiche gilt für L(E)C₅₀-Angaben aus chronischen Tests (s. **Anhang 3** und TGD 2011 Table 5, S. 143; TGD 2016, S. 154). Die Verwendung von EC₁₀ bzw. NOEC wird in TGD 2016 diskutiert, u.a. auf S. 155.¹⁷

Die Ergebnisse der Datenrecherche werden eingeteilt nach

- Süßwasserorganismen und marinen (Salzwasser-) Organismen
- Kurz- und Langzeittests (akute und chronische Wirkungen), falls erforderlich getrennt nach Meeres- und Süßwasserorganismen. Nur Tests, welche die empfindlichsten Stadien des Wachstums und/oder der Reproduktion erfassen, sollten zur Ableitung von GFS_{aquat} herangezogen werden, ansonsten werden sie als unterstützende Daten mit aufgeführt.¹⁸ Genauere Informationen sind im **Anhang 6** (Was sind chronische Tests?) zusammengefasst. Eine Liste von OECD-Prüfrichtlinien findet sich in den TGD (2011), S. 136-138¹⁹ bzw. aktualisiert in TGD (2016), S. 145-149.

¹⁷ „h) In new guidance on biocidal products regulation (BPR) (ECHA 2015) it reads “the choice between the NOEC or ECx point estimates is subject of continuing debate. OECD (1998) favours the use of an ECx. Extensive information on the implications of either choice for test set-up and statistical evaluation is given by OECD (2006).” Please note that substances with a flat dose-response relationship may cause significant effects well below the (reliable) EC10. In these cases the choice between NOECs or EC10 may have a strong influence on the resulting AA-EQS and a reason for preferring one over the other. This reasoning should consider the case-specific concentration-response data but also general considerations regarding the choice of EC10 or NOEC values given in this TGD and/or current changes in related TGDs.” [TGD 2016, S. 155, Anmerkung h]

¹⁸ Supporting data are those data that are not described as critical data. They include data that are not among the most sensitive species/endpoints...” [TGD 2011, S. 24 letzter Absatz]

¹⁹ Im Einzelnen sind dort u.a. die folgenden chronischen Tests aufgeführt [TGD 2011, S. 137]:

“Fish, Early-life Stage Toxicity Test. This test with fish is a chronic test which covers the life cycle of fish from eggs to free feeding juvenile fish. The recorded endpoints are mortality at all stages, time to hatch, hatching success, length, weight and any morphological or behavioural abnormalities.

OECD guideline 211: Daphnia magna Reproduction Test. This is a chronic test with water fleas. The most important endpoint is the number of young per female (both young and parent alive). Other endpoints are the survival of the parent animals and time to production of first brood.

OECD guideline 212 (1998c): Fish, Short-term Toxicity Test on Embryo and Sac-fry Stages. In the guideline it is stated that this test can be used as a screening test for chronic toxicity. Especially for species that cannot be kept under laboratory circumstances for a period long enough to perform a full early-life stage (ELS) test, this test can be a useful alternative. Because the sensitive life stages from egg to sac-fry are covered in this test, it can be considered a chronic test. However, it is expected to be less sensitive than the full ELS test. The same endpoints are recorded as for the full ELS test.

OECD guideline 215: Fish, Juvenile Growth Test. Because the recorded endpoint is growth during 28 days and the criterion is the NOEC or EC₁₀, the test can be regarded as chronic.

- den trophischen Standardebenen
 - Fische
 - Wirbellose (Basissatz: Wasserflöhe, z.B. *Daphnia magna* oder *Daphnia pulex* und andere kleine Krebstiere)
 - Algen und aquatische Pflanzen (Basissatz: Algen, empfohlene Spezies gemäß OECD-Prüfrichtlinie 201 (OECD 2011a): Grünalgen *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Desmodesmus subspicatus*; Kieselalgen (Diatomeen) *Navicula pelliculosa*; Cyanobakterien (Blaualgen) *Anabaena flos-aquae*, *Synechococcus leopoliensis*; daneben Wasserpflanzen wie *Lemna* sp. (siehe **Anhang 2**)
- den weiteren trophischen Ebenen bzw. taxonomischen Gruppen
 - Insektenlarven
 - Bakterien (auch Protozoen u.a.), die keine Primärproduzenten sind
 - Amphibien
 - terrestrische Organismen, wenn ein Bezug zum Wasser (z.B. Konzentration im Gießwasser) herstellbar ist.
- Innerhalb jeder Ebene wird zunächst sortiert nach den Spezies des Basissatzes (siehe **Tabelle 1**), dann nach den Organismen, zu denen LC₅₀/EC₅₀-Werte (akut) bzw. NOEC, LC₁₀/EC₁₀-Werte²⁰ o. ä. (chronisch) vorliegen.

Gemäß [TGD 2016 S. 150, 1. Abs.] werden die Testorganismen nach Spezies alphabetisch sortiert und in taxonomischen Gruppen zusammengefasst, wobei die Speziesnamen in Latein und Kursivschrift und die taxonomischen Gruppen im Fettdruck aufgeführt werden. Weitere Informationen zur Angabe der Toxizitätstests siehe TGD 2016, S. 150-152.

Nicht relevante Daten für die Ableitung einer GFS_{aquat} sollten zur Überprüfbarkeit der Vollständigkeit der Literaturrecherche separat in einem Anhang dargestellt werden.

Wenn zahlreiche Daten zu derselben Spezies und mit demselben Endpunkt vorliegen (z.B. mehrere Studien zur akuten Toxizität von Daphnien), sollten Unterschiede in der Toxizität als zufällige Streuung angesehen und zu einem geometrischen Mittelwert zusammengeführt werden, es sei denn, es gibt klare systematische Unterschiede wie unterschiedliche Testbedingungen, Expositionszeiten, Entwicklungsstadien der Organismen oder Metall-Bindungsformen (Speziation) [TGD 2011 S. 150-151].

FETAX (Frog Embryo Teratogenesis Assay Xenopus): This test is a rather short test of 96 hours duration, possibly extended with a few hours, if the larvae have not reached a certain developmental stage. However, considering the sensitive endpoints (next to mortality also development and malformation) and the sensitive life stage (embryonic stages), this test can be considered as chronic for the derivation of EQSs.

²⁰ Der Endpunkt Mortalität (LC₁₀) ist bei chronischer Exposition nur sinnvoll, wenn in den zu Grunde liegenden Tests geprüft wurde, dass keine subletalen Wirkungen bei niedrigeren Konzentrationen aufgetreten sind. Relevante Endpunkte sind in den TGD und in den jeweiligen OECD-Prüfrichtlinien aufgeführt [TGD 2011, S. 134, 137]. Im Folgenden soll die Mortalität als ein Endpunkt in der Bezeichnung EC_x inbegriffen sein. Zur Diskussion EC₁₀/NOEC siehe Anhang 6 und TGD 2016.

Die so aufbereiteten ökotoxikologischen Daten werden mittels Ausgleichsfaktoren zu einer GFS_{aquat} verdichtet. Welche Daten ausgewählt und welche Ausgleichsfaktoren jeweils anzusetzen sind, wird im Folgenden beschrieben.

4 Auswahl der ausschlaggebenden Daten, Umgang mit Datenlücken und Sonderstellung der Alge bei der Festlegung von Ausgleichsfaktoren

4.1 Auswahl der ausschlaggebenden Daten und AF-Ableitung im Regelfall

Die GFS_{aquat} einer chemischen Substanz ergibt sich aus dem niedrigsten Testergebnis (für die empfindlichste Art), dividiert durch einen Ausgleichsfaktor. Die Höhe des Ausgleichsfaktors (AF) ist von der Quantität und Qualität der Toxizitätsdaten abhängig.

Je mehr Daten von verschiedenen Spezies aus verschiedenen trophischen Ebenen und längerer Expositionsdauer vorhanden sind, desto besser repräsentiert der Datensatz das Ökosystem und desto niedriger kann der Faktor ausfallen [TGD 2011 S. 10-11]. Dieser Faktor ist beim Vorliegen aller erforderlichen Daten 10 und wird mit wachsenden Datenlücken entsprechend größer.

Der bei Vorhandensein einer erheblichen Zahl von Datensätzen²¹ auch mögliche probabilistische Ansatz („species sensitivity distribution (SSD) method“) [TGD 2011, S. 41-43] wird hier nicht betrachtet. Die folgenden Ausführungen betrachten zudem nur den Süßwasserbereich [TGD 2011 Kapitel 3.3.1], nicht die in den TGD 2011 auch vorhandenen Ableitungen für Küstengewässer und Meere [TGD 2011 Kapitel 3.3.2].

Welche akuten und chronischen Toxizitätstests bei der Ableitung des Ausgleichsfaktors zum Beispiel Eingang finden können, ist im **Anhang 2** dargestellt [TGD 2011 S. 136-138, 143-144].

Als allgemeine Regel (im Standardfall) sollten folgende AF in Abhängigkeit von den vorliegenden ökotoxikologischen Daten gesetzt werden (siehe **Anhang 4**) [TGD 2011 S. 36f.]:

- AF 1000: aus den 3 trophischen Ebenen des Basissatzes (Fisch, Wirbellose (bevorzugt Daphnie) und Alge) liegen mindestens jeweils eine akute LC_{50} bzw. EC_{50} , d.h. 3 Kurzzeit-Tests vor
- AF 100: eine chronische EC_{10} oder NOEC von Fisch oder Daphnie, eingeschränkt Alge, liegt zusätzlich zum Basisdatensatz mit den akuten Daten vor
- AF 50: 2 chronische EC_{10} oder NOEC für 2 trophische Ebenen (i.a. Fisch und/oder Daphnie und/oder Alge (gestützt durch zweite Algenart)) liegen zusätzlich zum Basisdatensatz mit den akuten Daten vor
- AF 10: mindestens 3 chronische EC_{10} oder NOEC von mindestens 3 trophischen Ebenen (in der Regel die des Basissatzes) liegen zusätzlich zum Basisdatensatz mit den akuten Daten vor

²¹ “preferably more than 15, but at least 10 NOECs/ EC_{10} s, from different species covering at least 8 taxonomic groups” [TGD 2011 S. 41]

Nur in Einzelfällen, z.B. bei Vorliegen ausreichender Daten aus Feldversuchen oder Daten von Modellökosystemen, können kleinere Ausgleichsfaktoren eingesetzt werden.

Nicht alle vorliegenden Ökotoxizitätsdaten finden Berücksichtigung bei der Ableitung der AF, wohl aber bei der Zusammenstellung der empfindlichsten Spezies, auf die der AF bei der GFS_{aquat} -Ableitung angewendet wird. D.h. wenn ein Bakterientest den empfindlichsten EC_{50} -Wert liefert als akuter Toxizitätstest, wird dieser Test bei der Ableitung eventuell der Wert sein, auf den der AF angewendet wird; in die Ableitung des AF selbst findet er jedoch keinen Eingang²².

Es wird also unterschieden hinsichtlich der Relevanz der einzelnen Ökotoxizitäts-Tests

- für die Ableitung des AF und für die dazu nötige Auswahl der empfindlichsten Spezies einerseits (s. **Kapitel 4**) und
- nur für die Auswahl der empfindlichsten Spezies, auf die der AF angewendet wird andererseits.

Die drei o.g. trophischen Ebenen müssen z. B. bei der Überprüfung auf AF-1000 abgedeckt sein, die empfindlichste Spezies jedoch kann von einer anderen trophischen Ebene stammen, auf die dann der AF angewendet und mit welcher die GFS_{aquat} abgeleitet wird (Ausnahme: $NOEC_{\text{Alge}_{\text{min}}}$ ist der niedrigste Test und ungestützt (weder gestützt durch Alge 2 oder eine $NOEC$ anderer trophischer Ebenen): Auf ihn wird der AF nicht angewandt [TGD S. 37, 5. Abs.]. Er bleibt in jeder Hinsicht unberücksichtigt.

Im Ausnahmefall kann bei einem vollständigen akuten Basisdatensatz der AF sowohl über 1000 liegen als auch mit entsprechenden unterstützenden Belegen und Zusatzinformationen unter 1000; der niedrigste mögliche AF ist hierbei auf 100 begrenzt [TGD 2011 S. 38, Fußnote a)].

Anmerkungen der Autoren:

Der Begriff „supported“ („gestützt“) ist in den TGD nicht erläutert. Stützen ist möglich durch allein das Vorhandensein eines zweiten Testergebnisses, das einen ersten begleitet. Über die Höhe bzw. Anforderungen an die Höhe des zweiten Testergebnisses sagen TGD 2011 und 2016 nichts aus.

Wie in TGD 2011 (S. 37) dargelegt, beinhaltet bereits ein Ausgleichsfaktor 100 erhebliche Unsicherheiten; dies gilt erst recht für AF 1000. Wenn also selbst die oben beschriebenen Voraussetzungen für einen Ausgleichsfaktor AF 1000 nicht erfüllt sind, d.h. von den drei wesentlichen trophischen Ebenen weniger als jeweils eine akute LC_{50} bzw. EC_{50} , d.h. weniger als drei Kurzzeit-Tests vorliegen, ist es nicht empfehlenswert, eine GFS_{aquat} mit einem größeren Faktor als 1000 abzuleiten.

Wenn die mit einem AF abgeleiteten GFS_{aquat} in Einzelfällen in sehr niedrigen Konzentrationsbereichen liegen, werden sie nach der LAWA-Vorgehensweise in einem nachfolgenden Schritt nach unten

²² „Studies with bacteria (e.g. growth tests) are regarded as short-term tests. ... EC_{50} values from bacterial tests may be used but they cannot substitute any of the other trophic levels (acute data on algae, Daphnia, fish) for completion of the base set. The same principle applies to toxicity data using protozoans.“ [TGD 2011 S. 40]

auf **0,01 µg/L** begrenzt, sofern es sich nicht um rechtsverbindliche Werte oder um Werte handelt, bei denen eine Wirkung nachgewiesen ist [LAWA 2016, S. 8].

Prinzipiell sollte bei der Anwendung eines AF ≥ 100 im Bericht aufgezeigt werden, über welche Ökotoxizitätstests der AF gesenkt werden kann [TGD 2011 S. 37].

4.2 Ausnahmefälle

Ausnahmsweise können die Ausgleichsfaktoren im Einzelfall nach oben oder unten geändert werden. Dazu sollten eine oder mehrere der folgenden Rahmenbedingungen erfüllt sein [TGD 2011 S. 37-38]:

- Das Vorhandensein von Daten zu eng strukturverwandten Verbindungen kann zeigen, dass ein höherer oder niedrigerer Faktor angemessen ist,
- Wissen über den Wirkungsmechanismus (einigen Substanzen können aufgrund ihrer Struktur unspezifische Wirkungen zugeordnet werden),
- das Vorhandensein von Testdaten für eine breite Auswahl von Spezies, die außer denen des Basisdatensatzes zusätzliche taxonomische Gruppen abdecken,
- das Vorhandensein von Testdaten zu einer Vielzahl von Spezies, die die taxonomischen Gruppen des Basisdatensatzes über mindestens 3 trophische Ebenen abdecken. In einem solchen Fall können die Ausgleichsfaktoren nur dann herabgesetzt werden, wenn vielfältige Angaben zu Wirkungen („multiple data points“) für die sensitivste taxonomische Gruppe vorhanden sind.
- Der Basisdatensatz kann ausnahmsweise als vollständig angesehen werden, wenn die fehlende trophische Ebene nicht der potentiell empfindlichsten Spezies entspricht, d.h. wenn z. B. bei der Beurteilung eines Herbizids Daten zu den weniger empfindlichen Daphnien fehlen oder wenn angenommen werden kann, dass die verfügbaren Daten potenziell sensitiv sind und daher verwendet werden können (z.B. Insektendaten und Daphniendaten bei der Beurteilung eines Insektizids, wo Algendaten fehlen)²³ [TGD 2011 S. 40, Nr. 4].
- Obwohl sich die folgenden Ausführungen zum Basisdatensatz speziell auf Daphnien beziehen, ist das Heranziehen aller zuverlässigen Daten für kleine Crustaceen (Krebstiere) vertretbar und akzeptabel. In der Praxis sind Daten für Daphnien am häufigsten verfügbar, aber andere Wasserfloh- oder Flohkrebs-Spezies wie *Ceriodaphnia*, *Gammarus* oder im Falle einer marinen Umgebung die Schwebegarnele *Americamysis bahia* oder der Ruderfußkreb *Acartia tonsa* können ebenfalls herangezogen werden²⁴ [TGD 2011 S. 40, Nr. 4].

²³ „If there is evidence that the missing trophic level would not be the potentially most sensitive species (e.g. *Daphnia* in case of a herbicide) or when it can be assumed that the available species are potentially sensitive (i.e. insect and *Daphnia* data in case of an insecticide, where algae are missing), the assessment scheme can be followed as if the base set were complete.“ [TGD 2011 S. 40, Nr. 4 Satz 5].

²⁴ „In practice, *Daphnia* data will be the most readily available, but other species such as *Ceriodaphnia*, *Gammarus*, or *Acartia*, the latter in the case of the marine environment, can be considered to fill the gap when data for *Daphnia* are missing.“ [TGD 2011 S. 40, Nr. 4 Satz 3]

- Für Insektizide sind Daphnien möglicherweise nicht die sensitivste Spezies. Im Kontext der Pesticid-Zulassung sollen Insekten getestet werden, wenn die Daphnientoxizität niedrig ist (z.B. bei 48h-EC₅₀ > 1 mg/L; 21-d-NOEC > 0,1 mg/L). Erst zusätzliche Informationen zur Toxizität gegenüber Insekten erlauben dann z.B einen AF von 10, auch wenn akute und chronische Daten für die drei trophischen Ebenen Fische, Wasserflöhe und Algen vorliegen²⁵ (TGD 2011 S. 40 Nr. 5).
- **Wenn es für eine Substanz Hinweise auf Störungen des endokrinen (Hormon-) Systems von Säugern, Vögeln, aquatischen oder anderen wildlebenden Tieren gibt, ist zu entscheiden, ob der abgeleitete Ausgleichsfaktor zum Schutz vor diesen Wirkungen ausreichend ist oder erhöht werden muss²⁶ [TGD 2011 S. 40].**
- Andererseits kann der Ausgleichsfaktor reduziert werden, wenn Endpunkte ökotoxikologischer Tests besonders relevante Wirkungsmechanismen erfasst haben, wie z.B. die Reproduktion von Fischen in einer Lebenszyklus-Studie oder reproduktionstoxische Wirkungen an Amphibien (beide können auch für Wirbeltiere relevant sein), die Wirkung von Bakteriziden auf Cyanobakterien (blaugrüne Algen) oder Tests an Insekten, wenn die Testsubstanz die Acetylcholinesterase-Aktivität²⁷ hemmt²⁸ [TGD 2011 S. 28, 5. Absatz].

4.3 Hinweise zu Algen- und Bakterientests

Bei der Ableitung eines AF gilt: Sollten die vorliegenden EC₅₀- und NOEC-Angaben für eine Algenart über zwei verschiedene Tests erhalten worden sein, muss der NOEC nicht durch eine zweite Algenart gestützt werden; wurden sie jedoch über einen einzigen Test erhoben, gilt folgendes [TGD 2011 S. 37, 5. Absatz]:

- Ein NOEC aus einem Algen-Test sollte bei der Ableitung eines AF nur verwendet werden, wenn er durch NOEC von Spezies anderer trophischer Ebenen (Fische, Daphnien) gestützt wird [TGD 2011 S. 37, 5. Abs.].²⁹ Er wird dann als gleichberechtigter NOEC gewertet, es sei denn, das Ergebnis des

²⁵ „Insect growth regulators:

For this specific type of pesticides, Daphnia may not be the most sensitive species. Within the context of pesticide authorisation, it is advised that insects should be tested when for an insecticide the toxicity to Daphnia is low (i.e. 48 h EC₅₀ > 1 mg/L, 21 d NOEC > 0.1 mg/L; EC, 2002). This means that where the presence of acute and chronic data for algae, Daphnia and fish normally allows for an AF of 10, in this case additional information from insects is considered necessary". [TGD 2011, S. 40]

²⁶ „When there are indications that a substance may cause adverse effects via disruption of the endocrine system of mammals, birds, aquatic or other wildlife species, the assessor should consider whether the assessment factor would be sufficient to protect against effects caused by such a mode of action, or whether a larger AF is needed..." [TGD 2011 S. 40]

²⁷ Die Gedächtnisleistung im Gehirn wird von speziellen Nervenzellen erbracht, die sich untereinander durch einen Botenstoff, den sog. Neurotransmitter Acetylcholin verständigen. Dessen Auftreten wird bei Insekten und beim Menschen vom Enzym Acetylcholinesterase reguliert.

²⁸ „On the other hand, uncertainty is reduced when there are relevant test endpoints from ecotoxicity studies that are highly relevant to a substance's mode of toxic action. An example would be fish life cycle studies for a chemical that is known to affect the reproductive physiology of vertebrates. Similarly, if a substance has a specific mode of toxic action, and reliable data for taxa that would be expected to be particularly sensitive are available (e.g. data for a range of insects for an insecticide that acts by inhibiting acetyl cholinesterase activity, or data for blue-green algae when dealing with chemicals that have bactericidal properties) then, again, an important aspect of uncertainty is reduced. Under these conditions, a smaller AF than the default value may be justified.“

²⁹ „In general an algal NOEC should not be used unsupported by long term NOECs of species of other trophic levels.“ [TGD 2011 S. 37, 5. Absatz Satz 4]

akuten Algen-Tests ist der niedrigste Wert; dann muss er durch eine zweite Algen-NOEC gestützt werden.

- Der Algen-Wachstumshemmtest ist im Prinzip ein Mehrgenerationentest, der deshalb sowohl als Kurz- als auch als Langzeittest berücksichtigt werden kann.³⁰ Bei der Ableitung eines Ausgleichsfaktors wird der damit erhaltene EC50-Wert als Kurzzeittest gewertet. Falls der akute Algentest (EC_{50akut}) der sensitivste im Basisdatensatz ist, sollte die NOEC aus demselben Test durch eine zweite NOEC einer weiteren Algenspezies gestützt werden.³¹
- Wurde ein Algentest mit zu langer Inkubationszeit durchgeführt, wird das als fundamentaler Ausführungsmangel gewertet und der damit als nicht valide eingestufte Test³² kann bei der AF-Ableitung nicht herangezogen werden. Die Testdauer beträgt bei den Algen in der Regel 3 Tage.

Anmerkung der Autoren: im Gegensatz zu TGD 2003, wo für die vorgeschriebene Dauer chronischer und akuter Algentests jeweils 3 Tage und länger angegeben wurde, wird in TGD 2011 und im Algen-Wachstumshemmtest nach OECD 201 (2011) eine Testdauer von 3 Tagen vorgeschrieben.

- Cyanobakterien (veraltet: Blaualgen, blaugrüne Algen, Cyanophyta) werden aufgrund ihrer autotrophen Ernährung als Primärproduzenten behandelt und erhalten damit den gleichen Status wie Grünalgen³³ [TGD 2011 S. 37, 40].
- Wenn keine Daten für Algen oder Cyanobakterien vorliegen, können auch Ökotoxizitätsdaten von Makrophyten zur Vervollständigung des Basisdatensatzes herangezogen werden, d.h. von makroskopisch wahrnehmbaren höheren und niederen Pflanzen, die im Wasser wachsen³⁴ [TGD S. 40, Nr. 4 Satz 4].
- Studien mit Bakterien, die keine Primärproduzenten sind, und Protozoen werden grundsätzlich als Kurzzeittests eingeordnet, d.h. damit erhaltene NOEC-/EC₁₀-Werte werden in der GFS-Ableitung (außer bei der SSD-Methode) nicht berücksichtigt [TGD 2011 S. 37 u. S. 40]. Die getesteten Bakterien dürfen keine adaptierten Kulturen sein [TGD 2011 S. 40].

³⁰ „For algae, the standard exposure time is 72 hours. In this time, the algae regenerate several times. However, the EC50 of this test is considered as acute, while the NOEC or EC10 of the same test is regarded as a chronic value.“ [TGD 2011 S. 134, 6. Absatz Satz 5 und 6]

³¹ „...for the purposes of applying the appropriate assessment factors, the EC50 is treated as a short term toxicity value. The NOEC from this test may be used as an additional NOEC when other long-term data are available... if the short term algal toxicity test is the most sensitive of the short term tests, the NOEC from this test should be supported by the result of a test on a second species of algae.“ [TGD 2011 S. 37, 5. Absatz Satz 5]

³² In general, when a test has fundamental shortcomings, it should be classified as not reliable (3). This applies to situations where the test was incubated too long (e.g. for algae)... [TGD 2011 S. 133 letzter Satz]

³³ „Blue-green algae should be counted among the primary producers due to their autotrophic nutrition (ECHA, 2008). Thus, cyanobacteria (blue-green algae or Cyanophyta) belong to the trophic level of primary producers. This means that data from (both chronic and acute) tests with cyanobacteria are considered as additional algal data and are treated in the same way (i.e. if they represent the lowest endpoint, the AF will be based on cyanobacteria, even when data for green algae are present). They can also be used to complete the base set where there are no algal data.“ [TGD 2011 S. 40, 5. Absatz].

³⁴ A similar approach can be followed when data for algae or cyanophytes are missing, but macrophyte data are present. [TGD 2011 S. 40, Nr. 4 Satz 4].

- EC_{50} -Werte von Bakterien- oder Protozoen-Tests können zur Ergänzung des Basisdatensatzes verwendet werden, aber sie können diese drei trophischen Ebenen nicht ersetzen [TGD 2011 S. 40]. Sollten die Bakterien die empfindlichste Spezies darstellen, darf dieser Bakterienwert nicht einbezogen werden bei der Ableitung des Ausgleichsfaktors, aber sehr wohl als empfindlichste Spezies, auf die der erhobene AF angewendet wird.

Anmerkung der Autoren: Bei den früheren Tests beziehen sich die abgeleiteten NOEC meistens auf den Endpunkt Biomasse. Neuere Angaben errechnen sich über die Wachstumsrate; in Zukunft soll die Wachstumsrate zugrunde gelegt werden, denn dieser Parameter ist weniger anfällig gegen Abweichungen in den Prüfbedingungen [OECD 2011; Bergtold und Dohnen 2010]. Der Unterschied in den über die verschiedenen Endpunkte resultierenden EC_{10} macht einen Faktor 2-3 aus. Auch gibt es einen großen Unterschied zwischen NOEC und EC_{10} ; der NOEC kann je nach den gewählten Konzentrationsintervallen viel niedriger ausfallen als der EC_{10} (s. auch **Anhang 3**). Im Hinblick auf die Vergleichbarkeit der Daten untereinander und entsprechende Umrechnungen siehe TGD 2016, S. 145.

Nach dieser Betrachtung der oben genannten Besonderheiten werden im Folgenden die unterschiedlichen Datengrundlagen und ihre Bedeutung für den anzusetzenden Ausgleichsfaktor dargestellt.

5 Festlegung der Ausgleichsfaktoren für die Ableitung von GFS_{aquat}

5.1 Allgemeines

Die nachfolgend aufgeführte Abbildung für die Ableitung des Ausgleichsfaktors ist sehr stark vereinfacht und gilt nur für Standardfälle unter bestimmten Voraussetzungen. Die detaillierten Voraussetzungen für die Festlegung eines AF nach TGD 2011 sind im Nachfolgenden aufgeführt.

Dieselbe Vorgehensweise wird (mit identischem Wortlaut) zur Bewertung von Industriechemikalien von der Europäischen Chemikalienagentur (ECHA) vorgeschrieben (allerdings ohne den Anspruch eines Schutzes aller Gewässer der EU (s. Einleitung) [ECHA 2008 S.19-20].

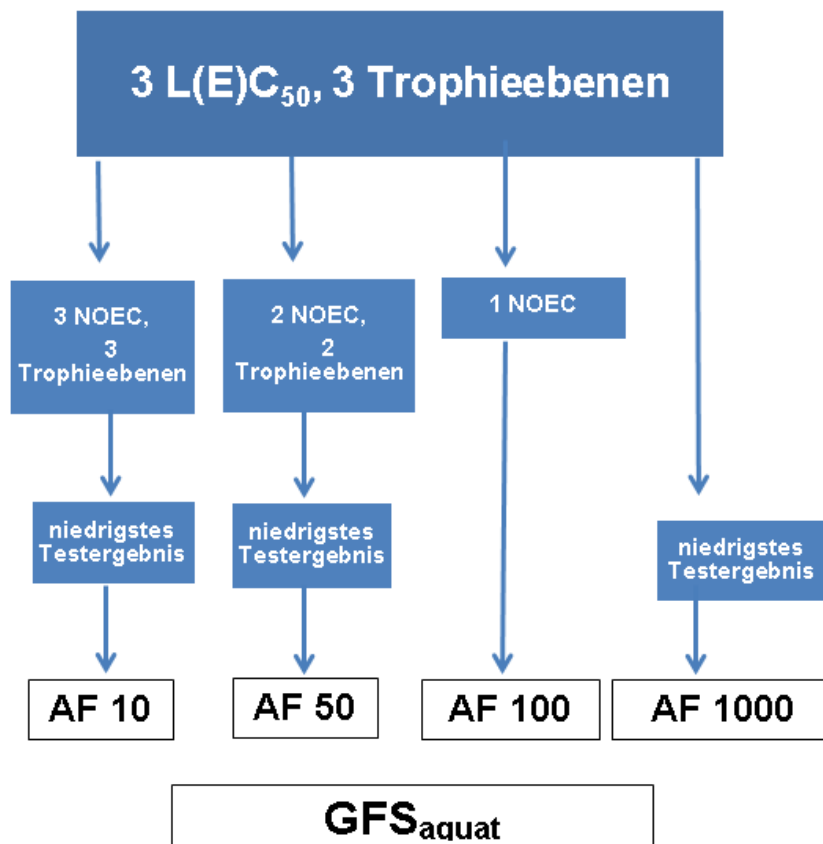


Abbildung 1: Abhängigkeit des Ausgleichsfaktors (AF) von der Datenlage

Es gelten die folgenden allgemeinen Regeln:

1. Liegen für die trophischen Ebenen des Basisdatensatzes neben akuten auch chronische Daten vor, verringert sich die Unsicherheit und der AF sinkt.
2. Bei einer Datenlage von
 - Basisdatensatz (A) oder
 - Basisdatensatz + 1 NOEC (B) oder
 - Basisdatensatz + 2 NOEC (C)

wird bei der AF-Ableitung nur die Vollständigkeit des Basisdatensatzes mit den drei trophischen Ebenen Fisch, Daphnie und Alge und darauf aufbauend das Vorhandensein valider chronischer Tests betrachtet; letztere müssen als NOEC/EC₁₀ quantifizierbar sein³⁵.

Der darüber abgeleitete AF wird anschließend auf den validen Datensatz der empfindlichsten Spezies aller vorhandenen trophischen Ebenen angewendet (Ausnahme NOEC von Alge in bestimmten Fällen; siehe Kap. 3.3) und daraus die GFS_{aquat} berechnet.

3. Das Vorliegen von NOEC aus mindestens einer vierten trophischen Ebene erhöht die Sicherheit und wird relevant für die Reduktion des AF ab (C) (2 NOEC im Basisdatensatz + NOEC von 4. troph. Ebene)
4. Liegen NOEC_{min} und LC_{50min} für die gleiche trophische Ebene vor, erhöht das die Sicherheit die empfindlichste Spezies getestet zu haben und der AF kann sich in bestimmten Fällen verringern: siehe hierzu (B) (Basisdatensatz + 1 NOEC), AF 100
5. Einen Einfluss auf den AF hat zudem noch die Höhe des LC_{50min} und NOEC_{min} der trophischen Ebenen des akuten und chronischen Datensatzes zueinander. Liegt der LC_{50min} niedriger als der NOEC_{min}, verstärkt das die Unsicherheit, denn die Wahrscheinlichkeit, die sensitivste Spezies vorliegen zu haben, ist verringert. Deshalb wird der AF erhöht. Siehe hierzu (B2), AF 100 oder 1000
6. Bei Vorliegen von
 - Basisdatensatz + mindestens 3 NOEC (D)kann der Ausgleichsfaktor weiter reduziert werden; hier kommt es wesentlich auf die trophischen Ebenen und die Prüfergebnisse an, ob ein AF 10 oder 50, in Ausnahmefällen AF 100 ange-setzt werden muss.

³⁵ In Anlehnung an [LAWA 2016] wird im Folgenden an Stelle von NOEC/EC₁₀ nur NOEC genannt. Dies dient der Übersichtlichkeit; in der Fachöffentlichkeit wird dagegen die Verwendung von EC₁₀ klar favorisiert. Im Anhang 3 werden die Argumente dargestellt.

5.2 Ableitung der Ausgleichsfaktoren

Die folgenden Ausführungen sind tabellarisch in TGD 2011 in Tabelle 3.2 auf den Seiten 38-39 zu finden, in TGD 2016 in Tabelle 3, S. 43-44, und eine Übersetzung dazu im **Anhang 4**.

AA Der Basisdatensatz (akute Daten für Fisch, Daphnie, Alge) ist nicht vollständig

Unter Umständen kann auch bei unvollständigem Basisdatensatz verfahren werden wie unter (A), wenn gemäß [TGD, S. 40, Nr. 4] bestimmte Voraussetzungen erfüllt sind (siehe hierzu **Abschnitt 3.2** (Ausnahmefälle) mit Hinweisen bezüglich fehlender oder zusätzlicher Daten).

Allgemein: Bei all den nachfolgenden Entscheidungen sollte – auch bei Unklarheiten – immer berücksichtigt werden, dass die weiteren Stoffeigenschaften wie Bioakkumulation³⁶ oder die spezifische Wirkung der Substanz z. B. als Herbizid oder Insektizid u.a. bei der Festlegung des AF ebenfalls eine wichtige Rolle spielen und herangezogen werden sollten!

A Der Basisdatensatz (akute Daten für Fisch, Daphnie, Alge) ist vollständig, chronische Daten für trophische Standardebenen sind nicht vorhanden

Beispielberechnungen finden sich in **Anhang 5** entsprechend der hier vorgenommenen Gliederung.

Vorbemerkung:

Die akute Toxizität gegenüber Fischen wird üblicherweise als LC₅₀-Wert ermittelt (Endpunkt Mortalität), die akute Toxizität gegenüber Wasserflöhen (Daphnien) und Algen mit EC₅₀ (Endpunkt Schwimmfähigkeit, Immobilisierung bzw. Endpunkt Wachstumsrate, mit Einschränkung Biomasse). Andere Angaben sollten auf ihre Gleichwertigkeit geprüft und ggf. analog verwendet werden (siehe **Kapitel 3**).

Relevant sind hier die Angaben zur Verwendung von AF 1000, bezogen auf akute Daten (Standardfall), oder AF 100 bei unterstützenden Daten:

AF 1000: LC₅₀ (Fisch) + EC₅₀ (Wirbellose, bevorzugt Daphnie) + EC₅₀ (Alge)

→ **Beispiel A1**

³⁶ Nach REACH ist eine Substanz bioakkumulierend, wenn sie sich in Lebewesen anreichert, wodurch Konzentrationen in einem Gewebe erreicht werden, die ggf. toxische Effekte auslösen [REACH-Portal 2013].

„A BMF (*Biomagnification factor*) greater than 1 or, in the absence of this information, a BCF (*Bioaccumulation factor*) greater than or equal to 100 is used as an indication of the potential for bioaccumulation....If neither BMF or BCF data are available, the octanol–water partition coefficient (Kow), can be used as a surrogate for bioaccumulation potential. A log Kow of ≥ 3 would be expected to capture substances with a BCF of ≥ 100 . Other evidence of bioaccumulation potential should also be taken into account where available, such as structural features of the molecule or monitoring data from top predators. In addition, factors mitigating bioaccumulation potential should be considered. These include rapid degradation and molecular size. Rapid degradation may lead to relatively low concentrations of a substance in the aquatic environment and thus low concentrations in aquatic organisms. Information on molecular size can be an indicator of limited bioaccumulation potential of a substance as very bulky molecules will pass less easily through cell membranes.“ [TGD 2011 S. 18]

Weitere Erläuterungen siehe Appendix 3 in TGD 2011 (S. 185) und TGD 2016 (S. 195)

³⁶ „A factor of 10 cannot be decreased on the basis of laboratory studies.“ [TGD 2011 S. 39 Anmerkung d)]

Basisdatensatz: Mindestens jeweils eine akute LC₅₀/EC₅₀ (3 Kurzeittests) aus den 3 trophischen Ebenen Fisch, Wirbellose (bevorzugt Daphnie) und Alge sind vorhanden (Standardorganismen). Darüber wird der AF 1000 festgelegt [TGD 2011 S. 37, 4. Absatz].

Liegen nur akute Tests vor, wird ein Ausgleichsfaktor von 1000 auf den niedrigsten L(E)C₅₀ aller relevanten verfügbaren Toxizitätstests – auch jenseits des Basisdatensatzes - für die Ableitung der GFS_{aquat} angewendet. Bei den getesteten Spezies, auf die der AF angewendet wird, werden Standard- und Nicht-Standard-Organismen gleichwertig berücksichtigt³⁷ [TGD 2011 S. 37 Absatz 4].

→ **Beispiel A2**

B Der Basisdatensatz (akute Daten für Fisch, Daphnie, Alge) ist vollständig, chronische Daten sind für eine trophische Standardebene vorhanden

Vorbemerkung:

Die chronische Toxizität gegenüber Fischen, Daphnien oder Algen wird meist als No-observed Effect Concentration (NOEC) ermittelt (jeweils Endpunkt mit niedrigster Wirkkonzentration) oder als EC₁₀. Im Folgenden wird zwecks Übersichtlichkeit nur der NOEC genannt (s. auch **Anhang 3**).

Relevant sind hier die Angaben zur Verwendung von AF 1000, bezogen auf akute Daten (Standardfall), oder AF 100, bezogen auf chronische Daten (erweiterter Fall)³⁸. Gemäß [TGD 2011 S. 38] gilt:

(B1), AF 100:

Ein AF 100 bezieht sich auf die niedrigste chronische NOEC. Voraussetzung für einen AF 100 sind³⁹:

- a) Die niedrigste chronische NOEC liegt entweder für Fisch oder Daphnie vor und
- b) auch die niedrigste akute LC₅₀/EC₅₀ stammt von derselben trophischen Ebene wie die niedrigste chronische NOEC.

Also gilt für die sensitivsten Werte eine der nachfolgend aufgeführten zulässigen Kombinationen:

(B1), AF 100:

NOEC_{min} Fisch + LC_{50 min} Fisch oder

³⁷ „When only short term toxicity data are available an assessment factor of 1000 will be applied to the lowest L(E)C₅₀ of the relevant available toxicity data, irrespective of whether or not the species tested is a standard test organism“ [TGD 2011 S. 37, 4. Absatz; S. 38, Table 3.2]

³⁸ „The base set (acute data for fish, Daphnia, algae) is complete, but chronic data are only available for one trophic level of the base set: This relates to footnotes a and b because we have to decide whether to use an AF of 100 applied to chronic data or 1000 applied to acute data.“ [TGD 2011 S. 39 Nr.1 Satz 1]

³⁹ „An assessment factor of 100 is applied to a single long-term result (e.g. EC₁₀ or NOECs) (fish or Daphnia) if this result was generated for the trophic level showing the lowest L(E)C₅₀ in the shortterm tests.“ [TGD 2011 S. 38, Anmerkung b) 1. Absatz]

„An AF of 100 is applied to the lowest chronic NOEC or EC₁₀ but (a) it has to be either Daphnia or fish and (b) the NOEC or EC₁₀ should be from the same trophic level as that of the lowest acute L(E)C₅₀.“ [TGD 2011 S. 39, Nr. 1 Satz 2]

NOEC_{min} Daphnie + EC_{50min} Daphnie

→ Beispiele B1a und B1b (AF 100)

c) Besonderheit (siehe **Abschnitt 3.3**: Hinweise zu Algen- und Bakterientests)

Sollte die EC_{50min} vom akuten Algentest stammen, dann zählt die gleichzeitig gewonnene NOEC bei der Ableitung des AF nicht als vollwertige NOEC wie bei Fisch oder Daphnie, und es gilt AF 1000 auf den niedrigsten Akutwert.

→ Beispiel B1c (AF 1000)

Wird diese Algen-NOEC jedoch gestützt („supported“) durch das Ergebnis (die NOEC) eines zweiten Algentests⁴⁰, dann findet sie hier Berücksichtigung bei der Ableitung des Ausgleichsfaktors AF 100:

(B1), AF 100: NOEC_{min} Alge 1 + EC_{50min} Alge 1 + NOEC Alge 2

→ Beispiel B1d (AF 100)

(B2), AF 100 oder AF 1000:

Treffen a) + b) + c) nicht zu, d.h. liegen die relevanten akuten und chronischen Minimumwerte nicht auf derselben trophischen Standardebene, wird das Ergebnis „AF 100 auf die niedrigste chronische NOEC für Fisch und Daphnie“ verglichen mit „AF 1000 auf die niedrigste akute LC₅₀/EC₅₀“. Der niedrigere Wert, entweder LC₅₀/EC₅₀/1000 oder NOEC/100, wird für die GFS_{aquat}-Ableitung ausgewählt⁴¹ [TGD S. 39, Nr. 1].

Entscheidung aus Vergleich, niedrigerer Wert gilt:

NOEC_{min} Fisch /100 oder L(E)C_{50min} Daphnie oder Alge /1000 bzw. L(E)C_{50min} vierte trophische Ebene/1000

NOEC_{min} Daphnie /100 oder L(E)C_{50min} Fisch oder Alge /1000 bzw. L(E)C_{50min} vierte trophische Ebene/1000

→ Beispiele B2a und B2b

Im Allgemeinen gilt: NOEC von Algen müssen von NOEC anderer trophischen Ebenen gestützt („supported“) werden⁴². Sie können sonst nicht mit dem AF 100 berücksichtigt werden. Auch die

⁴⁰... if the short term algal toxicity test is the most sensitive of the short term tests, the NOEC from this test should be supported by the result of a test on a second species of algae [TGD S. 37, 5. Absatz Satz 5]

⁴¹„An AF of 100 is applied to the lowest chronic NOEC or EC10 but (a) it has to be either Daphnia or fish and (b) the NOEC or EC10 should be from the same trophic level as that of the lowest acute L(E)C50. If (a) and (b) are not the case, an AF of 1000 is applied to the lowest L(E)C50 and the two results are compared: lowest L(E)C50/1000 versus NOEC (or EC10)/100; the lowest value is selected as QS_{fw,eco}.“ [TGD 2011 S. 39, Nr. 1 Satz 2 und 3].

⁴² „In general an algal NOEC should not be used unsupported by long term NOECs of species of other trophic levels.“ [TGD 2011 S. 37, 5. Absatz Satz 4]

NOEC einer zweiten Algenart kann diesen Grundsatz nicht ändern – es sei denn, der EC₅₀ (Alge) ist der niedrigste Kurzzeitwert (siehe (B1), **Beispiel B1d**).

→ **Beispiele B2c und B2d**

Sonderfall:

Sollte der L(E)C_{50 min}-Wert von einer vierten trophischen Ebene stammen, wird der AF 1000 auf diesen Wert angewendet. Auf die AF-Ableitung selbst (Entscheidung AF 100 oder AF 1000) haben Werte, die zu keiner Standardebene gehören, keinen Einfluss⁴³ [TGD S.38 Anmerkung b]. Zu beachten ist hierbei, dass die GFS, abgeleitet auf der Basis des L(E)C_{50 min}-Wertes von einer 4. trophischen Ebene, nicht höher sein darf als die auf der verfügbaren NOEC basierende.

→ **Beispiel B2e**

C Der Basisdatensatz (akute Daten für Fisch, Daphnie, Alge) ist vollständig, chronische Daten sind für zwei trophische Standardebenen (Fisch und/oder Daphnie und/oder Alge) vorhanden

Zu entscheiden ist, ob ein Ausgleichsfaktor von 100 oder von 50, im Ausnahmefall 10 angewandt wird.

(C1), AF 50

Ein Ausgleichsfaktor von 50 wird auf die niedrigste chronische NOEC angewendet, wenn die niedrigste akute L(E)C₅₀ zu deren trophischer Standardebene gehört (s. Fall 1) oder zur Standardebene einer zweiten vorhandenen NOEC_{chron}⁴⁴ (s. Fall 2) [TGD S. 38, Anmerkung c) bzw. TGD S. 39 Nr. 2]. D. h. die beiden vorliegenden NOEC müssen mit trophischen Ebenen des Basisdatensatzes übereinstimmen und bei einem AF 50 können NOEC_{min} und L(E)C_{50min} – aber müssen nicht – auf derselben trophischen Ebene liegen; eine der beiden NOEC-Standardebenen muss aber zur Ebene der L(E)C_{50min} gehören. Dabei gilt NOEC_{min} ≤ L(E)C_{50min}.

Anmerkung der Autoren:

Bisher war es immer so, dass der AF aufgrund der Datenlage abgeleitet und dann, auf die empfindlichste Spezies der gesamten vorliegenden Daten bezogen, die GFS_{aquat} berechnet wurde. Bei AF 50

⁴³ „An assessment factor of 100 can also be applied to the lowest of two long-term results (e.g. EC10 or NOECs) covering two trophic levels when such results have not been generated from that showing the lowest L(E)C50 of the short-term tests. This should, however, not apply in cases where the acutely most sensitive species has an L(E)C50 value lower than the lowest long term result (e.g. EC10 or NOECs) value. In such cases the QS might be derived by using an assessment factor of 100 to the lowest L(E)C50 of the short-term tests.“ [TGD 2011 S. 38 Anmerkung b) Satz 4-6]

⁴⁴ „An assessment factor of 50 applies to the lowest of two long term results (e.g. EC10 or NOECs) covering two trophic levels when such results have been generated covering that level showing the lowest L(E)C50 in the short-term tests.“ [TGD 2011 S. 38, Anmerkung c)]
The base set is complete, but chronic data are only available for two trophic levels from the base set: This relates to footnotes b and c. An assessment factor of 50 is applied to the lowest chronic NOEC or EC10, if such chronic data are available from two trophic levels from the base set. The trophic levels of the NOECs and/or EC10s should include the trophic level of the lowest acute L(E)C50. [TGD 2011 S. 39 Nr. 2 Satz 4]

ist es so, dass der AF auf die niedrigste NOEC der Standardebene angewendet wird, unabhängig von der sonst vorliegenden Datenlage (z.B. NOEC_{min} von einer Nicht-Standardebene).

Fall 1

Wenn L(E)C_{50min} mit NOEC_{min} derselben trophischen Standardebene übereinstimmt, dann gilt AF 50:

L(E)C_{50min} Fisch + NOEC_{min} Fisch + NOEC Daphnie/Alge

L(E)C_{50min} Daphnie + NOEC_{min} Daphnie + NOEC Fisch/Alge

Bedingung für AF 50: NOEC_{min} ≤ L(E)C_{50min}

→ **Beispiel C1a**

Zusatzklausel:

Die EC_{50min} der Alge 1 darf nicht zusammen mit der NOEC_{min} der Alge 1 über den gleichen Test erhalten worden sein. Wenn doch, kann die NOEC_{min} nur als zusätzlich gewertet werden. D.h. es muss neben dem NOEC der ersten Alge und der NOEC für Fisch oder Daphnie noch eine zweite stützende NOEC zu einer Algenspezies vorliegen (s. **Abschnitt 3.3**)⁴⁵ [TGD, S.37, 5. Absatz Satz 5]. Der AF 50 wird dann auf die niedrigere der beiden NOEC (Alge) angewendet.

Mit Zusatzklausel

EC_{50min} Alge 1 + NOEC_{min} Alge 1 + NOEC Fisch/Daphnie + NOEC Alge 2

Bedingung für AF 50: NOEC_{min} ≤ L(E)C_{50min}

→ **Beispiel C1b**

Fall 2

Wenn zu einer L(E)C_{50min} die NOEC derselben und zusätzlich die NOEC_{min} einer zweiten trophischen Standardebene vorhanden ist, gilt ebenfalls AF 50:

L(E)C_{50min} Daphnie + NOEC_{min} Fisch + NOEC Daphnie

L(E)C_{50min} Fisch + NOEC_{min} Daphnie + NOEC Fisch

Bedingung für AF 50: NOEC_{min} ≤ L(E)C_{50min}

→ **Beispiel C1c**

⁴⁵ „...if the short term algal toxicity test is the most sensitive of the short term tests, the NOEC from this test should be supported by the result of a test on a second species of algae.“ [TGD, S.37, 5. Absatz, Satz 5]

oder – mit Zusatzklausel (s.o.)

EC_{50min} Alge 1 + NOEC Alge 1 + $NOEC_{min}$ Fisch/Daphnie + NOEC Alge 2

→ **Beispiel C1d**

bzw. (ohne NOEC Alge 2) → Beispiel C1e

Hinweise:

- Ist die EC_{50} Alge nicht der niedrigste Akutwert, braucht der $NOEC_{min}$ Alge für AF 50 nur von der NOEC einer zweiten trophischen Ebene gestützt zu werden, nicht aber von der NOEC einer zweiten Algenart. Der AF wird dann auf $NOEC_{min}$ Alge angewendet.

→ **Beispiel C1e**

- Ist die EC_{50} Alge dagegen der niedrigste Akutwert (EC_{50min}) und die $NOEC_{min}$ Alge nicht durch den NOEC einer zweiten Algenart gestützt, kann die $NOEC_{min}$ Alge nicht gewertet werden, und es gilt B2 mit AF 100 auf die verbleibende NOEC bzw. im Vergleich AF 1000 auf die EC_{50min} Alge.

→ **Beispiel C1f**

- Beim Vorhandensein von akuten und chronischen Toxizitätstests mit einer Algenart und einer aquatischen Pflanze wie der Wasserlinse *Lemna* sp. werden, falls verfügbar, für beide sowohl EC_{50} als auch der NOEC herangezogen, denn Daten zu Cyanobakterien oder zu einer höheren Wasserpflanze können im Basisdatensatz für die trophische Standardebene der Alge verwendet werden (s. **Abschnitt 3.3**).

Fall 3: AF 50 oder 100

Sollten **Fall 1** oder **Fall 2** nicht zutreffen, d.h. die $L(E)C_{50min}$ nicht durch eine $NOEC_{min}$ d.h. NOEC der gleichen oder der zweiten trophischen Standardebene abgedeckt sein, wird dennoch ein AF 50 gesetzt, wenn 3 NOEC von 3 trophischen Ebenen vorliegen und $NOEC_{min} \leq L(E)C_{50min}$ ist⁴⁶ [TGD S. 38/39 Anmerkung c)], d. h. es liegt eine NOEC von einer vierten trophischen Ebene vor.

Bei vollständig gefülltem Basisdatensatz gelten – hier auszugsweise nur für die Alge aufgeführt – folgende Aussagen:

EC_{50min} Alge + $L(E)C_{50}$ Daphnie + $NOEC_{min}$ Fisch + NOEC Daphnie + NOEC vierte troph. Ebene

EC_{50min} Alge + $L(E)C_{50}$ Fisch + $NOEC_{min}$ Daphnie + NOEC Fisch + NOEC vierte troph. Ebene

⁴⁶ "An assessment factor of 50...also applies to the lowest of three long term results (e.g. EC10 or NOECs) covering three trophic levels when such results have not been generated from that trophic level showing the lowest $L(E)C_{50}$ in the short-term tests." [TGD 2011 S. 38/39 Anmerkung c) Satz 2]

EC_{50min} Alge + $L(E)C_{50}$ Fisch + NOEC Daphnie + NOEC Fisch + $NOEC_{min}$ vierte troph. Ebene

Bedingung für AF 50: $NOEC_{min} \leq EC_{50min}$

→ Beispiel C1g

Bei $NOEC_{min} > L(E)C_{50min}$ wird AF 100 angewendet auf $L(E)C_{50min}$ ⁴⁷ [TGD S.38/39 Anmerkung c)].

→ Beispiel C1h

(C 2), AF 100:

Im **Fall 3 (mit 3 NOEC)** wird AF 100 angewendet auf $L(E)C_{50min}$ ⁴⁸, wenn $NOEC_{min} > L(E)C_{50min}$ ist [TGD S.38/39 Anmerkung c)].

Liegen 2 NOEC zu den trophischen Ebenen des Basisdatensatzes vor, ist die trophische Standardebene des $L(E)C_{50min}$ nicht von einer NOEC oder $NOEC_{min}$ abgedeckt [TGD 2011 S. 38, Anmerkung b, 3. Absatz; TGD 2011 S. 39 Nr. 2] und ist auch keine NOEC von einer 4. trophischen Ebene vorhanden ist, gilt AF 100. Der AF 100 bezieht sich:

1. auf $NOEC_{min}$, wenn $NOEC_{min}$ kleiner ist als der $L(E)C_{50min}$.
2. auf den niedrigsten akuten $L(E)C_{50}$, wenn dieser niedriger ist als die niedrigste chronische NOEC, d. h. $L(E)C_{50min} < NOEC_{min}$.

Hinweis:

Liegen innerhalb einer trophischen Ebene mehrere chronische NOEC vor, so gilt die Betrachtung für den niedrigsten Wert jeder Ebene.

(C 2), AF 100 auf die niedrigste NOEC:

$L(E)C_{50min}$ Fisch + NOEC Daphnie + NOEC Alge, wobei $NOEC_{min} < L(E)C_{50min}$

oder

$L(E)C_{50min}$ Daphnie + NOEC Fisch + NOEC Alge, wobei $NOEC_{min} < L(E)C_{50min}$

oder

EC_{50min} Alge + NOEC Daphnie + NOEC Fisch, wobei $NOEC_{min} < L(E)C_{50min}$

⁴⁷ „This should however not apply in cases where the acutely most sensitive species has an $L(E)C_{50}$ value lower than the lowest long term result (e.g. EC_{10} or NOECs) value. In such cases the QS might be derived by using an assessment factor of 100 to the lowest $L(E)C_{50}$ of the short-term tests. [TGD 2011 S. 38/39 Anmerkung c) Satz 3 und 4].

⁴⁸ „This should however not apply in cases where the acutely most sensitive species has an $L(E)C_{50}$ value lower than the lowest long term result (e.g. EC_{10} or NOECs) value. In such cases the QS might be derived by using an assessment factor of 100 to the lowest $L(E)C_{50}$ of the short-term tests. [TGD 2011 S. 38/39 Anmerkung c) Satz 3 und 4].

→ Beispiele C2a, C2b und C2c

(C 3), AF 100 auf den niedrigsten L(E)C₅₀:

L(E)C_{50min} Fisch + NOEC Daphnie + NOEC Alge, wobei L(E)C_{50min} < NOEC_{min}

oder

L(E)C_{50min} Daphnie + NOEC Fisch + NOEC Alge, wobei L(E)C_{50min} < NOEC_{min}

oder

L(E)C_{50min} Alge + NOEC Daphnie + NOEC Fisch, wobei L(E)C_{50min} < NOEC_{min}

→ Beispiel C2d

(C4), AF 10:

Die Anwendung eines AF 10 beim Vorhandensein von nur drei NOEC zum Basisdatensatz ist unter gleichzeitiger Einhaltung der drei folgenden Voraussetzungen möglich⁴⁹ [TGD 2011 S. 39 d]):

- Es liegen 2 NOEC zu den Standard-Organismen des akuten Basisdatensatzes vor.
- Es steht mit hoher Wahrscheinlichkeit fest, dass eine Spezies der empfindlichsten trophischen Ebene auf chronische Wirkungen untersucht worden ist, d.h. ein weiteres chronisches Ergebnis von einer zusätzlichen taxonomischen Gruppe nicht niedriger sein würde als das schon verfügbare.
- Die Testsubstanz besitzt kein Bioakkumulationspotenzial⁵⁰.

→ Beispiel C2e

⁴⁹ „It may sometimes be possible to determine with high probability that the most sensitive species has been examined, i.e. that a further long-term result (e.g. EC10 or NOECs) from a different taxonomic group would not be lower than the data already available. In those circumstances, a factor of 10 applied to the lowest long term result (e.g. EC10 or NOECs) from only two species would also be appropriate. This is particularly important if the substance does not have a potential to bioaccumulate.“ [TGD 2011 S. 39, Anmerkung d) Satz 6-8].

⁵⁰ Nach REACH ist eine Substanz bioakkumulierend, wenn sie sich in Lebewesen anreichert, wodurch Konzentrationen in einem Gewebe erreicht werden, die ggf. toxische Effekte auslösen [REACH-Portal 2013].

„A BMF (*Biomagnification factor*) greater than 1 or, in the absence of this information, a BCF (*Bioaccumulation factor*) greater than or equal to 100 is used as an indication of the potential for bioaccumulation....If neither BMF or BCF data are available, the octanol–water partition coefficient (Kow), can be used as a surrogate for bioaccumulation potential. A log Kow of ≥ 3 would be expected to capture substances with a BCF of ≥ 100 . Other evidence of bioaccumulation potential should also be taken into account where available, such as structural features of the molecule or monitoring data from top predators. In addition, factors mitigating bioaccumulation potential should be considered. These include rapid degradation and molecular size. Rapid degradation may lead to relatively low concentrations of a substance in the aquatic environment and thus low concentrations in aquatic organisms. Information on molecular size can be an indicator of limited bioaccumulation potential of a substance as very bulky molecules will pass less easily through cell membranes.“ [TGD 2011 S. 18]

Können diese Bedingungen nicht belegt werden, gilt (C1) mit AF 50.⁵¹

→ Beispiel C2f

Hinweis:

Ein Ausgleichsfaktor unter 10 ist auf Basis von Labortests bei der deterministischen Vorgehensweise nicht möglich⁵² – im Gegensatz zur SSD-Methode [TGD 2011 S. 39 Anmerkung d) mit Fußnote 10].

⁵¹ „If it is not possible to make this judgment, then an assessment factor of 50 should be applied to take into account any interspecies variation in sensitivity.“ [TGD 2011 S. 39, Anmerkung d) Satz 9].

⁵² „A factor of 10 cannot be decreased on the basis of laboratory studies.“ [TGD 2011 S. 39 Anmerkung d)]

D Basisdatensatz (akute Daten für Fisch, Daphnie, Alge) vollständig, chronische Daten sind für drei trophische Ebenen vorhanden

Liegen akute und chronische Daten für drei trophische Ebenen vor, ist eine Extrapolation auf das Ökosystem mit einer relativ großen Sicherheit möglich, so dass ein Ausgleichsfaktor von 10 oder 50 angewandt werden kann, nur im Ausnahmefall von 100. Die Höhe der Ausgleichsfaktoren hängt neben der Datenlage auch stark davon ab, ob die mutmaßlich empfindlichste Spezies getestet wurde.

AF < 10:

Bei deterministischer UQN/GFS-Ermittlung kann beim Vorliegen von ausschließlich Labortests ein AF 10 nicht unterschritten werden. Wird jedoch die SSD-Methode angewendet, die ebenfalls auf Labortests basiert, kann ein AF < 10 (AF=1-5) Anwendung finden [TGD 2011 S. 39, Anmerkung d) mit Fußnote 10]. Siehe auch (C4).

(D1), AF 10:

Tabelle 3.2 mit Anmerkung d) der TGD 2011 (S. 39) nennt die folgenden Bedingungen für einen AF 10:

- Wenn neben dem akuten Basisdatensatz (nicht genannte Grundvoraussetzung) chronische Daten (z.B. EC₁₀ oder NOEC) von mindestens drei Spezies (normalerweise Fisch, Daphnie und Algen oder von einem Nicht-Standardorganismus) aus drei trophischen Ebenen vorhanden sind⁵³, wird ein AF 10 angewendet⁵⁴ auf das niedrigste verfügbare chronische Ergebnis.⁵⁵ Voraussetzung sind somit chronische Daten von mindestens drei trophischen Ebenen, diese müssen nach dieser Formulierung in Anmerkung d) nicht zu den Standardebenen gehören.
- Mindestens eine der NOEC muss zur trophischen Ebene des niedrigsten L(E)C₅₀ gehören [TGD 2011, S. 39/40, Nr. 3, Satz 3]:⁵⁶

In den ergänzenden Erläuterungen zur Tabelle 3.2 der TGD (2011) wird abweichend dazu ausgeführt: Wenn neben dem akuten Basisdatensatz für alle drei Standardebenen auch chronische Daten vorhanden sind, wird ein AF 10 auf die niedrigste verfügbare chronische NOEC angewendet⁵⁷ [S. 39, Nr. 3, Satz 2]. Voraussetzung sind nach dieser Formulierung also chronische Daten von allen drei Standardebenen. **Dieser Einschränkung wird hier nicht gefolgt**, denn Ziel ist es (logischerweise) gemäß

⁵³ "Long-term results (e.g. EC10 or NOECs) from at least three species (normally fish, *Daphnia* and algae) representing three trophic levels" [TGD 2011, S. 38, Table 3.2, 5. Zeile]

⁵⁴ „An assessment factor of 10 will normally only be applied when long-term toxicity results (e.g. EC10 or NOECs) are available from at least three species across three trophic levels (e.g. fish, *Daphnia*, and algae or a non-standard organism instead of a standard organism).“ [TGD 2011, S. 39, Anmerkung d) Satz 1]

⁵⁵ „When examining the results of long-term toxicity studies, the QS_{tw,eco} should be calculated from the lowest available long term result.“ [TGD 2011, S. 39, Anmerkung d) Satz 2]

⁵⁶ „The trophic levels of NOECs and/or EC10s should include the trophic level of the lowest acute L(E)C50.“ [TGD 2011, S. 39/40 Nr. 3 Satz 3].

⁵⁷ „The base set is complete and chronic data for each of the trophic levels of the base set are available:

...An assessment factor of 10 is applied to the lowest chronic NOEC or EC10 if chronic data are available from all three trophic levels of the base set.“ [TGD 2011, S. 39 Nr. 3 Satz 2].

den weiteren Ausführungen der Anmerkung d), dass mit den getesteten Spezies eine der sensitivsten Organismengruppen erfasst wird.⁵⁸ Eine Beschränkung auf die drei Standardebenen ist für diese Zielsetzung nicht nötig, unter Umständen sogar kontraproduktiv.

Hinweis:

Liegen innerhalb der trophischen Ebenen mehrere chronische NOEC vor, so werden die jeweils niedrigsten NOEC der Ebenen miteinander verglichen und der AF auf die niedrigste davon angewendet.

AF 10:

$L(E)C_{50min}$ Fisch + NOEC Fisch + $NOEC_{min}$ Daphnie + NOEC Alge

oder

$L(E)C_{50min}$ Daphnie + NOEC Daphnie + $NOEC_{min}$ Fisch + NOEC Alge

→ Beispiele D1a und D1b

oder

$L(E)C_{50min}$ Alge 1 + NOEC Alge 1 + NOEC Fisch + NOEC Daphnie + NOEC Alge 2

→ Beispiel D1c

→ Beispiel D1d (ohne Alge 2: AF 100)

oder

$L(E)C_{50min}$ Spezies v. 4. troph. Ebene* + NOEC Spezies 4. troph. Ebene +

NOEC aus 2 troph. Ebenen des Basisdatensatzes

oder

$L(E)C_{50min}$ sensitivste Spezies + $NOEC_{min}$ sensitivste Spezies + NOEC Daphnie + NOEC Fisch

→ Beispiel D1e

Anmerkung der Autoren:

Eine Spezies einer vierten trophischen Ebene ist empfindlicher als die des akuten und chronischen Basisdatensatzes: Bei den Fallgruppen zuvor wurde so gehandelt, dass der AF über den Basisdatensatz

⁵⁸ „Extrapolation to the ecosystem can be made with much greater confidence, and thus a reduction of the assessment factor to 10 is possible. This is only sufficient, however, if the species tested can be considered to represent one of the more sensitive groups. This would normally only be possible to determine if data were available on at least three species across three trophic levels.“ [TGD 2011, S. 39, Anmerkung d) Sätze 3-5]

und seine Sonderfälle ermittelt wurde; dann wurde er auf die empfindlichste Spezies, z.B. aus einer vierten trophischen Ebene, angewendet. Hier wird abweichend davon gehandelt.

(D2), AF 50:

Wenn neben dem akuten Basisdatensatz chronische Daten von mindestens drei trophischen Ebenen vorliegen, aber für die Ebene mit dem niedrigsten L(E)C₅₀-Wert keine NOEC, wird AF 50 angewandt auf den niedrigsten vorhandenen chronischen NOEC, wenn dieser niedriger ist als die niedrigste akute L(E)C₅₀⁵⁹ [TGD 2011 S. 38 Anmerkung c); S. 39/40, Nr. 3].

AF 50:

AF 50:NOEC_{min} (Fisch/Daphnie oder Alge oder ggf. 5. trophische Ebene)

< L(E)C_{50min} 4. troph. Ebene

→ **Beispiel D2**

(D3), AF 100:

Wenn neben dem akuten Basisdatensatz chronische Daten von mindestens drei trophischen Ebenen vorliegen, aber für die Ebene mit dem niedrigsten L(E)C₅₀-Wert (z.B. 4. trophische Ebene) keine NOEC, wird ein AF 100 auf die niedrigste akute L(E)C₅₀ angewendet, wenn dieser niedriger ist als NOEC_{min}⁶⁰ [TGD 2011 S. 38 Anmerkung c); S. 39/40, Nr. 3].

AF 100:

L(E)C_{50min} (z. B. 4. troph. Ebene) < NOEC_{min} von z. B. Fisch, Daphnie und Alge, (bei vorliegenden 3 NOEC Daphnie, Fisch, Alge oder 5. troph. Ebene)

→ **Beispiele D3a und D3b**

⁵⁹ „If acute toxicity data are available for trophic levels not covered in the chronic toxicity data, and the trophic level of the lowest L(E)C₅₀ is not included in that of the NOECs and/or EC10s then

- an assessment factor of 50 is applied to the lowest NOEC or EC10 if the lowest L(E)C₅₀ is higher than the lowest NOEC or EC10....“ [TGD 2011 S. 39/40, Nr. 3, Satz 4, 1. Spiegelstrich]

„An assessment factor of 50 ...applies to the lowest of three long term results (e.g. EC10 or NOECs) covering three trophic levels when such results have not been generated from that trophic level showing the lowest L(E)C₅₀ in the short-term tests.“ [TGD 2011 S. 38/39 Anmerkung c) Satz 2]

⁶⁰ „If acute toxicity data are available for trophic levels not covered in the chronic toxicity data, and the trophic level of the lowest L(E)C₅₀ is not included in that of the NOECs and/or EC10s then ...

- an assessment factor of 100 is applied to the lowest L(E)C₅₀ if the lowest L(E)C₅₀ is lower than the lowest NOEC or EC10“ [TGD 2011 S. 40, Nr. 3, Satz 4, 2. Spiegelstrich]

„An assessment factor of 50 ...applies to the lowest of three long term results (e.g. EC10 or NOECs) covering three trophic levels ... This should however not apply in cases where the acutely most sensitive species has an L(E)C₅₀ value lower than the lowest long term result (e.g. EC10 or NOECs) value. In such cases the QS might be derived by using an assessment factor of 100 to the lowest L(E)C₅₀ of the short-term tests.“ [TGD 2011 S. 39 oben, Anmerkung c) Satz 3 und 4]

Anmerkung der Autoren:

Obwohl in dem o.a. Fall sogar mindestens drei NOEC und L(E)C₅₀ von vier verschiedenen trophischen Ebenen vorliegen, liegt der AF nicht bei 10, sondern bei 50 oder 100, je nach Höhe der L(E)C_{50min} und ob sie durch einen NOEC abgedeckt ist oder nicht: Die Minimum-Werte der zusätzlichen vierten trophischen Ebene weisen darauf hin, dass im Basisdatensatz mit je drei NOEC und EC₅₀ von den drei Standardebenen nicht die empfindlichste Spezies getestet wurde, was aber die Voraussetzung für einen AF 10 ist. Außerdem ist in diesem Fall die Ebene mit dem L(E)C_{50min} nicht durch eine NOEC abgesichert, was die Unsicherheit erhöht.

Hinweise:

- Bei der AF-Ableitung für Insektizide wird empfohlen, zusätzlich Daten zur Toxizität von Insektenlarven einzubeziehen, wenn die Daphnientoxizität gering ist (EC₅₀ > 1 mg/L, NOEC > 0,1 mg/L)⁶¹ [TGD 2011 S. 40 Nr. 5].
- Die Unsicherheit der AF-Ableitung ist geringer, wenn die getesteten Endpunkte besonders relevant für den Wirkmechanismus der Testsubstanz sind. Beispiele sind eine Lebenszyklus-Studie an Fischen, wenn reproduktionstoxische Wirkungen an Wirbeltieren bekannt sind, Tests an Insekten, wenn die Testsubstanz die Acetylcholinesterase-Aktivität⁶² hemmt, oder Daten zu Cyanobakterien (blaugrünen Algen) bei bakteriziden Substanzen. Wenn Ergebnisse aus solchen spezifischen Tests vorliegen, kann ein geringerer Ausgleichsfaktor angemessen sein [TGD 2011 S. 28, 5. Absatz].

⁶¹ „Insect growth regulators:

For this specific type of pesticides, Daphnia may not be the most sensitive species. Within the context of pesticide authorisation, it is advised that insects should be tested when for an insecticide the toxicity to Daphnia is low (i.e. 48 h EC₅₀ > 1 mg/L, 21 d NOEC > 0.1 mg/L; EC, 2002). This means that where the presence of acute and chronic data for algae, Daphnia and fish normally allows for an AF of 10, in this case additional information from insects is considered necessary". [TGD 2011, S. 40]

⁶² Die Gedächtnisleistung im Gehirn wird von speziellen Nervenzellen erbracht, die sich untereinander durch einen Botenstoff, den sog. Neurotransmitter Acetylcholin verständigen. Dessen Auftreten wird bei Insekten und beim Menschen vom Enzym Acetylcholinesterase reguliert.

E Schätzung/Berechnung von Ökotoxizitätsdaten

Fehlende experimentelle Daten können eine große Unsicherheit bei der Ableitung von GFS_{aquat} bewirken. Eine Möglichkeit zum Schließen von Lücken ist die Anwendung von Berechnungs-/Schätzmethoden. Diese Berechnungen/Schätzungen können die experimentellen Daten ergänzen, damit Unsicherheiten und die Höhe der AF reduziert werden. TGD 2011 und TGD 2016 betonen jedoch, dass **Berechnungen/Schätzungen von Toxizitätsdaten nicht als sogenannte „kritische Daten“ verwendet werden sollen.**⁶³ Auch wird darauf hingewiesen, dass solche Ersatzmethoden nur für eine begrenzte Zahl von Substanzen/Substanzgruppen geeignet sind.⁶⁴

Zur Verfügung stehen einfache Algorithmen oder Computermodelle für Struktur-Eigenschafts-Beziehungen (Quantitative Structure-Activity Relationships, QSAR) sowie analoge Methoden wie Gruppenbildung oder „Read across“, d. h. die Verwendung von Daten zu eng strukturverwandten Substanzen [TGD 2011 Kap. 6, S. 111; TGD 2016 Kap. 6].

⁶³ „Predictive and analogue methods may be used for generating supporting data but are not suitable for predicting toxicity to be used as critical data.“ [TGD 2011 S. 26 und TGD 2016, jeweils Abschnitt 2.6 letzter Absatz]

„Use of non-testing methods to reduce uncertainty.

Emphasis is placed on experimental toxicity data for deriving an EQS. However, non-testing methods (e.g. QSARs, read-across methods) are also available which can be used to predict toxicity of certain organic chemicals and endpoints. They should not be used to generate critical data to derive an EQS,...“ [TGD 2016, Abschnitt 3.3.1.1 letzter Abschnitt]

⁶⁴ „Furthermore, the range of substances to which these models can be applied is limited to chemicals with certain physicochemical and mode of action properties and are not suitable for all substances.“ [TGD 2011 S. 26 und TGD 2016, jeweils Abschnitt 2.6 letzter Absatz]

6 Literaturverzeichnis

ASTM (2004): ASTM Standard Guide for Conducting the Frog Embryo Teratogenesis Assay - Xenopus (FETAX). E 1439-98. ASTM International, West Conshohocken, PA: 2004.

<ftp://185.72.26.245/Astm/2/01/Section%2011/ASTM1106/PDF/E1439.pdf>

ASTM (2010): ASTM Standard Test Method for Measuring the Toxicity of Sediment-Associated Contaminants with Freshwater Invertebrates. E1706-05 (2010). ASTM International, West Conshohocken, PA: 2010.

ASTM (2014): ASTM Standard Test Method for Measuring the Toxicity of Sediment-Associated Contaminants with Estuarine and Marine Invertebrates. E1367-03 (2014). ASTM International, West Conshohocken, PA: 2014. <https://www.astm.org/Standards/E1367.htm>

Azimonti et al. (2015): Comparison of NOEC values to EC10/EC20 values, including confidence intervals, in aquatic and terrestrial ecotoxicological risk assessment. EFSA Supporting Publication 12 (2015). 274 Seiten. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/sp.efsa.2015.EN-906/epdf>

Beasley et al. (2015): Beasley, A.; Belanger, S.E.; Brill, J.L.; Ottery, R.R.: Evaluation and Comparison of the Relationship Between NOEC And EC10 Or EC20 Values in Chronic Daphnia Toxicity Testing. Environ. Toxicol. Chem. 34 (2015) 2378–2384

Bergtold, M.; Dohmen, G.P. (2010): Biomass or Growth Rate Endpoint for Algae and Aquatic Plants: Relevance for the Aquatic Risk Assessment of Herbicides. Integr. Environ. Assess. Manag. 7 (2010) 237-247

Chapman et al. (1996): Chapman, P.M.; Caldwell, R.S.; Chapman, P.F.: Letter to the Editor. A Warning: NOECs are Inappropriate for Regulatory Use. Environ. Toxicol. Chem. 15 (1996) 77-79

DIN EN ISO 15088:2009-06: Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der akuten Toxizität von Abwasser auf Zebrafisch-Eier (*Danio rerio*)

DIN ISO 10872:2012-10: Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der toxischen Wirkung von Sediment- und Bodenproben auf Wachstum, Fertilität und Reproduktion von *Caenorhabditis elegans* (Nematoda)

ECHA (2008): Europäische Chemikalienagentur (ECHA): REACH Guidance Document: Guidance on information requirements and chemical safety assessment - Chapter R.10: Characterisation of dose [concentration]-response for environment. Mai 2008.

https://echa.europa.eu/documents/10162/13632/information_requirements_r10_en.pdf

ECHA (2017): European Chemicals Agency (ECHA): Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment. Chapter R.7b: Endpoint specific guidance. Version 4.0. Juni 2017.

https://echa.europa.eu/documents/10162/13632/information_requirements_r7b_en.pdf

EU (1991): Richtlinie des Rates über das Inverkehrbringen von Pflanzenschutzmitteln vom 15. Juli 1991. Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften L 230/1-32 vom 18.08.1991; mit den danach verabschiedeten Ergänzungen

Fraunhofer IME (2014): Fraunhofer-Institut für Molekularbiologie und Angewandte Oekologie IME: Inter-Laborvergleich von 10- bis 42-Tage-Tests mit *Hyalomma azteca* (Auszug aus dem Jahresbericht 2014).

http://www.ime.fraunhofer.de/content/dam/ime/de/documents/AE/2014_2015_Inter-Laborvergleich-Tests%20mit%20Hyalomma%20azteca.pdf

HLUG (2014): Hessisches Landesamt für Umwelt und Geologie (HLUG): Handbuch Altlasten Band 3, Teil 8 – Ökotoxikologische Verfahren als Bewertungshilfe bei Altlastenverfahren. Wiesbaden: 2014.

http://www.hlnug.de/fileadmin/dokumente/altlasten/handbuch/Handbuch-Altlasten-Band3-Teil8_web.pdf

- Hoekstra, J.A.; van Ewijk, P.H. (1993): Alternatives to the No-Observed-Effect-Level. *Environ. Toxicol. Chem.* 12 (1993) 187-194
- Holdway, D.A. (2005): Hydra Population Reproduction Toxicity Test Method. Chapter 11. In: Blaise, C.; Féraud, J.-F.: *Small-scale Freshwater Toxicity Investigations. Toxicity Test Methods.* S. 395-411. Springer: 2005
- Hunt, P.R. (2017): The *C. elegans* Model in Toxicity Testing. *J. Appl. Toxicol.* 37 (2017) 50-59
- Ivey et al. (2016): Ivey, C.D.; Ingersoll, C.G.; Brumbaugh W.G.; Hammer, E.J.; Mount, D.R.; Hockett, J.R.; Norberg-King, T.J.; Soucek, D.; Taylor, L.: Using an Interlaboratory Study to Revise Methods for Conducting 10-D to 42-d Water or Sediment Toxicity Tests with *Hyalella azteca*. *Environ Toxicol Chem.* 35 (2016) 2439-2447
- Iwasaki et al. (2015): Iwasaki, Y.; Kotani, K.; Kashiwada, S.; Masunaga, S.: Does the Choice of NOEC or EC10 Affect the Hazardous Concentration for 5% of the Species? *Environ. Sci. Technol.* 49 (2015) 9326-9330
- Jager, T. (2011): Some good reasons to ban ECx and related concepts in ecotoxicology. *Environ. Sci. Technol.* 45 (2011) 8180-8181
- Jager, T. (2012): Letter to the Editor – Bad Habits Die Hard: The Noec’s Persistence Reflects Poorly on Ecotoxicology. *Environ. Toxicol. Chem.* 31 (2012) 228-229
- Jahnel et al. (2006): Jahnel, J.; Neamatu, M.; Schudoma, D.; Frimmel, F.H.: Bestimmung von Umweltqualitätsnormen für potenziell gewässerrelevante Stoffe. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.* 34 (2006) 389-397
- Jung et al. (2013): Jung, E.S.; Wess, R.A.; Schmidt, T.; Liedke, A.: NOEC versus EC₁₀, Reloaded on a Recent Case of DPP IV Inhibitors. Poster auf dem 49th Congress of the European Societies of Toxicology. CH-Interlaken, 1.-4.9.2013
- Kase et al. (2016): Kase, R.; Korkaric, M.; Werner, I.; Ågerstrand, M.: Criteria for Reporting and Evaluating Ecotoxicity Data (CRED): Comparison and Perception of the Klimisch and CRED Methods for Evaluating Reliability and Relevance of Ecotoxicity Studies. *Environ. Sci. Europe* 28:7 (2016); DOI: 10.1186/s12302-016-0073-x. 14 Seiten. <http://www.enveurope.com/content/28/1/7>;
- Kase et al. (2016): Kase, R.; Korkaric, M.; Werner, I.; Ågerstrand, M.: Erratum: Criteria for Reporting and Evaluating Ecotoxicity Data (CRED): Comparison and Perception of the Klimisch and CRED Methods for Evaluating Reliability and Relevance of Ecotoxicity Studies. *Environ. Sci. Europe* 28:11 (2016); DOI 10.1186/s12302-016-0079-4. 1 Seite. <https://enveurope.springeropen.com/track/pdf/10.1186/s12302-016-0079-?site=enveurope.springeropen.com>
- Klimisch et al. (1997): Klimisch, H.-J.; Andreae, M.; Tillman, U.: A systematic approach for evaluating the quality of experimental toxicological and ecotoxicological data. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 25 (1997) 1-5
- LAWA (2016): Bund-/Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA): Ableitung von Geringfügigkeitsschwellenwerten für das Grundwasser. Aktualisierte und überarbeitete Fassung. 2016. Stuttgart: Januar 2017. http://www.lawa.de/documents/Geringfuegigkeits_Bericht_Seite_001-028_6df.pdf
- Lepper, P. (2005). Manual on the methodological framework to derive environmental quality standards for priority substances in accordance with Article 16 of the Water Framework Directive (2000/60/EC). Fraunhofer-Institut für Molekulare Biologie und Angewandte Ökologie: Schmallenberg: 2005
- McCahon und Pascoe (1988): McCahon, C.P.; Pascoe, D.: Use of *Gammarus pulex* (L.) in safety evaluation tests: Culture and selection of a sensitive life stage. *Ecotoxicol. Environ. Safety* 15 (1988) 245-252

Moermond et al. (2016): Moermond, C.T.A.; Kase, R.; Korkaric, M.; Ågerstrand, M.: (2016): CRED: Criteria for Reporting and Evaluating Ecotoxicity Data. Environ. Toxicol. Chem. 35 (2016) 1297-1309.
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/etc.3259/epdf>

Moewus, F.; Banerjee, B. (1951): Über die Wirkung von cis-Zimtsäure und einigen isomeren Verbindungen auf Chlamydomonas-Zygoten. Z. Naturforsch. 6 b (1951) 270-273

OECD (1992): OECD Guideline for the Testing of Chemicals No. 203: Fish, Acute Toxicity Test. Adopted July 1992. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-2-effects-on-biotic-systems_20745761

OECD (1998a): Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). Report of the OECD Workshop on Statistical Analysis of Aquatic Toxicity Data. Self-published on January 28th, Paris, France. Document reference ENV/MC/CHEM(98)18. Series of Testing and Assessment (STA) Number 10. 133 p.

OECD (1998b): Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD): Detailed Review Paper on Aquatic Testing Methods for Pesticides and Industrial Chemicals.
Part 1: Report. OECD Environmental Health and Safety Publications. Series on Testing and Assessment No. 11. ENV/MC/CHEM(98)19/PART1. 260 Seiten. F-Paris: 1998
PART 2: Report of the OECD Workshop on Statistical Analysis of Aquatic Toxicity Data. Annexes. ENV/MC/CHEM(98)19/PART2. 303 Seiten. F-Paris: 1998

OECD (1998c): OECD Guideline for the Testing of Chemicals No. 212: Fish, Short-term Toxicity Test on Embryo and Sac-Fry Stages. Adopted September 1998. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-2-effects-on-biotic-systems_20745761

OECD (2000a): OECD Guideline for the Testing of Chemicals No. 215: Fish, Juvenile Growth Test. Adopted January 2000. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-2-effects-on-biotic-systems_20745761

OECD (2000b): OECD Series on Testing and Assessment. Number 23 - Guidance Document on Aquatic Toxicity Testing of Difficult Substances and Mixtures. Paris: 2000. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/guidance-document-on-aquatic-toxicity-testing-of-difficult-substances-and-mixtures_9789264078406-en

OECD (2004a): OECD Guideline for the Testing of Chemicals No. 202: *Daphnia* sp., Acute Immobilisation Test. Adopted April 2004. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-2-effects-on-biotic-systems_20745761

OECD (2004b): OECD Guideline for the Testing of Chemicals No. 219: Sediment-Water Chironomid Toxicity Using Spiked Water. Adopted April 2004. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-2-effects-on-biotic-systems_20745761

OECD (2006a): Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD): Current Approaches in the Statistical Analysis of Ecotoxicity Data: A Guidance to Application. Self-published on May 09th, Paris, France. Document reference ENV/JM/MONO(2006)18. Series of Testing and Assessment (STA) No. 54. 147 Seiten

OECD (2006b): OECD Guideline for the Testing of Chemicals No. 221: *Lemna* sp. Growth Inhibition Test. Adopted March 2006. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-2-effects-on-biotic-systems_20745761

OECD (2007): OECD Guideline for the Testing of Chemicals (OECD): Validation Report of the Full Life-Cycle Test with the Harpacticoid Copepods *Nitocra Spinipes* and *Amphiascus Tenuiremis* and the Calanoid Copepod *Acartia Tonsa* - Phase 1. Series on Testing and Assessment: Ecotoxicity Testing. ENV/JM/MONO(2007)26. <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/seriesontestingandassessmentecotoxicitytesting.htm>

OECD (2008): OECD Environment Directorate: Series on Testing and Assessment Number 95: Detailed Review Paper on Fish Life-Cycle Tests. Paris: 2008. [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2008\)22&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2008)22&doclanguage=en)

OECD (2009a): OECD Guideline for the Testing of Chemicals No. 230: 21-day Fish Assay: A Short-Term Screening for Oestrogenic and Androgenic Activity, and Aromatase Inhibition. Adopted September 2009. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-2-effects-on-biotic-systems_20745761

OECD (2009b): OECD Guideline for the Testing of Chemicals No. 231: The Amphibian Metamorphosis Assay. Adopted September 2009. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-2-effects-on-biotic-systems_20745761

OECD (2011a): OECD Guidelines for the Testing of Chemicals (OECD) No. 201: Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test; Adopted: 23 March 2006 Annex 5 corrected: 28 July 2011; S.1-25

OECD (2011b): OECD Guideline for the Testing of Chemicals No. 234: Fish Sexual Development Test. Adopted July 2011. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-2-effects-on-biotic-systems_20745761

OECD (2011c): OECD Guideline for the Testing of Chemicals No. 235: *Chironomus* sp., Acute Immobilisation Test. Adopted July 2011. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-2-effects-on-biotic-systems_20745761

OECD (2011d): OECD Environment, Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment No. 148: Guidance Document on the Androgenised Female Stickleback Screen. ENV/JM/MONO(2011)29. Paris: 18.08.2011. <http://www.oecd.org/env/ehs/testing/48532191.pdf>

OECD (2012a): OECD Guideline for the Testing of Chemicals No. 211: *Daphnia magna* Reproduction Test. Adopted October 2012. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-2-effects-on-biotic-systems_20745761

OECD (2012b): OECD Guideline for the Testing of Chemicals No. 229: Fish Short Term Reproduction Assay. Adopted October 2012. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-2-effects-on-biotic-systems_20745761

OECD (2013a): OECD Guideline for the Testing of Chemicals No. 210: Fish, Early-life Stage Toxicity Test. Adopted July 2013. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-2-effects-on-biotic-systems_20745761

OECD (2013b): OECD Guideline for the Testing of Chemicals No. 236: Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test. Adopted July 2013. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-2-effects-on-biotic-systems_20745761

OECD (2013c): Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD): OECD Guideline for the Testing of New Chemicals. Draft New Testguideline: Mysid Two-Generation Test. http://www.oecd.org/env/ehs/testing/OECD%20TG%20Mysid%202-gen_Draft%20for%20REVIEW_15%20July%202013.pdf

OECD (2014): OECD Guideline for the Testing of Chemicals No. 238: Sediment-Free *Myriophyllum Spicatum* Toxicity Test. Adopted September 2014. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-2-effects-on-biotic-systems_20745761

OECD (2015a): OECD Guideline for the Testing of Chemicals No. 240: Medaka Extended One Generation Reproduction Test (MEOGRT). Adopted July 2015. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-2-effects-on-biotic-systems_20745761

OECD (2015b): OECD Guideline for the Testing of Chemicals No. 241: The Larval Amphibian Growth and Development Assay (LAGDA). Adopted March 2006. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-2-effects-on-biotic-systems_20745761

OECD (2016a): OECD Guideline for the Testing of Chemicals No. 243: *Lymnaea stagnalis* Reproduction Test. Adopted July 2016. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-2-effects-on-biotic-systems_20745761

OECD (2016b): OECD Guideline for the Testing of Chemicals No. 242: *Potamopyrgus antipodarum* Reproduction Test. Adopted March 2006. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-2-effects-on-biotic-systems_20745761

Pesch, C.E.; Hoffman, G.L. (1983): Interlaboratory Comparison of a 28-Day Toxicity Test with the Polychaete *Neanthes arenaceodentata*. In: Bishop, W.E.; Cardwell, R.D.; Heidolph, B.B. (Hrsg.): Aquatic Toxicology and Hazard Assessment: Sixth Symposium, ASTM STP 802. S. 482-493. Philadelphia: 1983

REACH-Portal (2013): Leitfäden, Checklisten und Dokumente zur Umsetzung der neuen Chemikalienverordnung. <http://www.reach-portal.de/component/glossary/Glossar-1>. Stand Dezember 2013

Ruppert et al. (2017): Ruppert, K.; Geiß, C.; Askem, C.; Benstead, R.; Brown, R.; Coke, M.; Ducrot, V.; Egeler, P.; Holbech, H.; Hutchinson, T.H.; Kinnberg, K.L.; Lagadic, L.; Le Page, G.; Macken, A.; Matthiessen, P.; Ostermann, S.; Schimera, A.; Schmitt, C.; Seeland-Fremer, A.; Smith, A.J.; Weltje, L.; Oehlmann, J.: Development and Validation of an OECD Reproductive Toxicity Test Guideline with the Mudsail *Potamopyrgus antipodarum* (Mollusca, Gastropoda). *Chemosphere* 181 (2017) 589-599

SCHEER (2017): Scientific Committee on Health, Environmental and Emerging Risks (SCHEER): Scientific Advice on Guidance Document N° 27: Technical Guidance for Deriving Environmental Quality Standards. Luxemburg: 2017. https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/scientific_committees/scheer/docs/scheer_o_012.pdf

Shieh et al. (2001): Shieh, J.N.; Chao, M.R.; Chen, C.Y.: Statistical comparisons of the no-observed-effect concentration and the effective concentration at 10% inhibition (EC10) in algal toxicity tests. *Water Sci. Technol.* 43 (2001) 141-146

TGD 2011: Common Implementation Strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC), Guidance Document No. 27; Technical Guidance For Deriving Environmental Quality Standards. Technical Report – 2011 – 055. European Communities 2011, S. 1-204. <https://circabc.europa.eu/sd/a/0cc3581b-5f65-4b6f-91c6-433a1e947838/TGD-EQS%20CIS-WFD%2027%20EC%202011.pdf>

TGD 2016: Common Implementation Strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC), Guidance Document No. 27; Technical Guidance For Deriving Environmental Quality Standards. Technical Report. European Communities 2016, S. 1-207 DRAFT-Report

U.S. EPA (1996/2017): U.S. Environmental Protection Agency (EPA), Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances: Draft Test Guideline: Oyster Acute Toxicity Test (Shell Deposition). Ecological Effects Test Guidelines OPPTS 850.1025. EPA 712-C-96-115. April 1996. <https://www.epa.gov/test-guidelines-pesticides-and-toxic-substances/draft-test-guideline-oyster-acute-toxicity-test>. Letzte Aktualisierung 12.06.2017

U.S. EPA (1996): U.S. Environmental Protection Agency (EPA), Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances: Draft Test Guideline: Bivalve Acute Toxicity Test (Embryo-Larval). Ecological Effects Test Guidelines OPPTS 850.1055. EPA 712-C-96-115. April 1996. Bivalve Acute Toxicity Test (Embryo-Larval).

U.S. EPA (2002): U.S. Environmental Protection Agency (EPA): Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms. Fifth Edition. EPA-821-R-02-012. Washington: October 2002. https://www3.epa.gov/region6/water/npdes/wet/wet_methods_manuals/atx.pdf

van Dam et al. (2014): van Dam, R.A.; Humphrey, C.L.; Harford, A.J.; Sinclair, A.; Jones, D.R.; Davies, S.; Storey, A.W.: Site-specific Water Quality Guidelines: 1. Derivation Approaches Based on Physicochemical, Ecotoxicological and Ecological Data. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 21 (2014) 118-130

Wannous, G. (2011): *Caenorhabditis elegans* - Testsysteme für Freiland und Labor. Dissertation. Trier: 2011. http://ubt.opus.hbz-nrw.de/volltexte/2011/648/pdf/Caenorhabditis_elegans.pdf

Warne, M.St.J.; van Dam, R. (2008): NOEC and LOEC Data Should No Longer Be Generated or Used. *Australasian J. Ecotoxicol.* 14 (2008) 1-5

Anhang 1: Qualitätskriterien

Allgemeine Einstufung der Validität

Die wissenschaftliche Qualität experimenteller Studien wird bisher üblicherweise mit einem von Klimisch et al. (1997) entwickelten Schema nach 4 Validitätsstufen bewertet⁶⁵ [TGD 2011 S. 133]:

- **1: vertrauenswürdig ohne Einschränkung:**

Studien, die nach international anerkannten Richtlinien oder in Anlehnung daran durchgeführt wurden (vorzugsweise nach GLP) oder Studien, deren dokumentierte Parameter internationalen Richtlinien (z.B. gemäß OECD) ganz oder annähernd entsprechen.

- **2: vertrauenswürdig mit Einschränkung(en):**

Studien oder Daten aus der Literatur (meist nicht nach GLP durchgeführt), bei denen die Parameter zwar nicht internationalen Richtlinien entsprechen, deren Testdesign jedoch ausreicht, um die Daten zu akzeptieren oder Studien, deren Testdesign keinen international anerkannten Richtlinien entspricht, die jedoch ausreichend sind.

- **3: nicht vertrauenswürdig:**

Studien oder Daten aus der Literatur, bei denen es zu Beeinträchtigungen zwischen Testsystem und Substanz gekommen ist, oder Studien, bei denen das Testsystem/die Testorganismen nicht relevant für die Art der Exposition sind oder Studien, die nach einer Methode durchgeführt wurden, die wissenschaftlich nicht akzeptabel ist oder deren Dokumentation ungenügend für die Beurteilung ist und einem Expertenurteil nicht standhalten.

- **4: Vertrauenswürdigkeit nicht bestimmbar:**

Studien oder Daten aus der Literatur, über die nur unzureichende experimentelle Details bekannt sind und die nur in Sekundärliteratur oder in Abstracts aufgeführt sind.

Studien oder Daten mit der Validität 1 oder 2 sind für die Herleitung der GFS_{aquat} geeignet, Studien oder Daten, die mit 3 oder 4 bewertet wurden, dagegen nicht.

⁶⁵ „A1.3.2.1. Study quality: validity codes

Studies are quality assessed according to the scheme developed by Klimisch *et al.* (1997).

The quality codes assigned are:

1 = reliable without restrictions: 'studies or data...generated according to generally valid and/or internationally accepted testing guidelines (preferably performed according to GLP) or in which the test parameters documented are based on a specific (national) testing guideline... or in which all parameters described are closely related/comparable to a guideline method.'

2 = reliable with restrictions: 'studies or data...(mostly not performed according to GLP), in which the test parameters documented do not totally comply with the specific testing guideline, but are sufficient to accept the data or in which investigations are described which cannot be subsumed under a testing guideline, but which are nevertheless well documented and scientifically acceptable.'

3 = not reliable: 'studies or data...in which there were interferences between the measuring system and the test substance or in which organisms/test systems were used which are not relevant in relation to the exposure (e.g., unphysiologic pathways of application) or which were carried out or generated according to a method which is not acceptable, the documentation of which is not sufficient for assessment and which is not convincing for an expert judgment.'

4 = not assignable: 'studies or data...which do not give sufficient experimental details and which are only listed in short abstracts or secondary literature (books, reviews, etc.).' [TGD 2011 A 1.3.2.1, S. 133]

Im Einzelnen werden als Ausschlusskriterien („not reliable“) in TGD 2011 die folgenden Mängel einer Studie genannt⁶⁶:

- zu lange Inkubationszeit (z. B. in Algentests),
- zu geringer Sauerstoffgehalt,
- zu hohe Mortalität der Kontrollorganismen,
- Überschreitung der Wasserlöslichkeit der Testsubstanz,
- Lösungsmittel oder Emulgator in hoher Konzentration,
- pH-Wert außerhalb des geeigneten Bereichs (s. unten),
- unrealistische UV-Intensität des Lichts,
- unklare Identität der Testsubstanz,
- Abweichungen der realen Testkonzentration von der nominalen wegen signifikanter, aber nicht quantifizierter Verluste (z. B. durch Verflüchtigung oder Transformation).

Als Alternative zu Klimisch et al. (1997) wird in TGD 2016 (Appendix 4) für Experimentalstudien zur aquatischen Toxizität die sogenannte CRED-Methode vorgestellt (CRED: Criteria for Reporting and Evaluating Ecotoxicity Data), publiziert von Moermond et al. (2016) und Kase et al. (2016). CRED stuft die Studien wie Klimisch et al. in 4 Kategorien ein:

- 1 = reliable without restrictions
- 2 = reliable with restrictions:
- 3 = not reliable
- 4 = not assignable

Sie unterscheidet sich von Klimisch et al. (1997) durch eine konkrete Liste von Entscheidungskriterien, mit welchen die Relevanz und Zuverlässigkeit einer wissenschaftlichen Arbeit transparenter als bisher bewertet werden kann.

Die CRED-Methode wird auch in einer aktuellen Stellungnahme zur TGD 2016 des Scientific Committee on Health, Environmental and Emerging Risks [SCHEER 2017] positiv bewertet.

Einfluss des pH-Wertes auf das Testergebnis

In der Praxis (z. B. GFS_{aquat}-Ableitung für Salicylsäure, Zimtsäure und ähnliche phytotoxische Substanzen oder für Perfluorierte Tenside) hat sich herausgestellt, dass der für die jeweiligen ökotoxikologischen Tests gewählte pH-Wert eine wesentliche Rolle in der Interpretation und Validität von Untersuchungsergebnissen ionisierbarer Substanzen spielen kann:

⁶⁶ „In general, when a test has fundamental shortcomings, it should be classified as not reliable (3). This applies to situations where the test was incubated too long (e.g. for algae), the oxygen content was too low, control mortality was too high, solubility of the test substance was exceeded (see Section 0 for more detail), a co-solvent or emulsifier has been used in high concentrations (see Section 0), pH was out of the appropriate range (see Section 0 for specific guidance), the light used had an unrealistic UV intensity, the identity of the substance is not clear (see Section 0 for more guidance), or the actual concentrations are unknown because of significant but unquantified losses.“ [TGD 2011 S. 133/134]

Das in einem Ökotoxizitätstest eingesetzte Wasser (Medium) enthält zwecks optimaler Lebensbedingungen der Testorganismen anorganische Ionen. Jedes Medium besitzt eine mehr oder weniger große Pufferkapazität, d.h. der pH-Wert bleibt in einem bestimmten Rahmen konstant, auch unter Einfluss des CO₂ der Umgebungsluft oder bei Zugabe einer schwachen Säure oder Base. Je nach der Dissoziationskonstante der Testsubstanz (dem pK_a-Wert) kann auch bei einem umweltrelevanten pH-Wert die Testsubstanz bereits teilweise dissoziiert vorliegen, und der Dissoziationsgrad variiert beträchtlich schon bei geringfügig anderen pH-Werten. Die Ionen können eine andere (meist geringere) Toxizität besitzen als die undissoziierte Substanz.

Auch kann die Testsubstanz selbst den pH-Wert des Mediums (konzentrationsabhängig) mehr oder weniger verändern.⁶⁷ Indirekte Effekte können die Ergebnisse zusätzlich verfälschen⁶⁸ [TGD 2011 S. 135], so z.B.

- pH-Wert-abhängige Hydrolysegeschwindigkeit,
- pH-Wert-abhängige Komplexbildung (vor allem von Schwermetallen mit Hydroxid- und/oder Carbonat-Ionen),
- Ausfällung gering löslicher Verbindungen/Komplexe der Testsubstanz.

Diese Prozesse führen meist zu einer reduzierten Verfügbarkeit der Testsubstanz für die zu testenden Organismen und damit zum Ergebnis einer scheinbar geringeren Toxizität.

Die Kenntnis des pK_a-Wertes ist somit bei organischen Säuren und Basen unabdingbare Voraussetzung zur Bewertung der Validität von Prüfergebnissen^{69,70}; der pH-Wert des Mediums nach

⁶⁷ „In some cases, the compound itself may alter the pH strongly. In such cases, it should always be checked whether any observed toxicity might be caused by this change in pH. If so, the test must not be used because the buffering capacity of the environment will usually prevent such a pH effect in the field.“ [TGD 2011 A 1.3.2.5, S. 135]

⁶⁸ „Attention should be paid to possible relationships between pH and toxicity of the tested compound, for example, due to a reduced availability (speciation, precipitation, hydrolysis, etc.) of the test compound. The toxicity of a compound may be influenced by its degree of ionisation. As a rule, hydrophobicity, and consequently bioaccumulation and toxicity, will increase with decreasing ionisation. The degree of ionisation of a compound in a toxicity test is determined by several factors:

- the pK_a (s) of the test compound,
- the concentration of the test compound,
- pH of the test compartment (water, sediment),
- the buffering capacity of the test-matrix.

⁶⁹ „For compounds containing functional groups with acidic or basic properties, the pK_a value(s) should be reported in the table with physicochemical properties (Section 0).“ [TGD 2011 A 1.3.2.5, S. 135]

⁷⁰ „3.10 Ionised substances.

Relatively small changes in pH can significantly alter the balance between the dissociated and non-dissociated forms of some organic acids and bases. Altered dissociation equilibrium may in turn significantly affect the water solubility and partition coefficient of the substance, and thus also its bioavailability and measurable toxicity. It is, therefore, essential that the relevant dissociation constants (pK_a values) are known prior to commencement of testing.

Design of the toxicity test should take into account the effects on dissociation equilibrium that adjustments to the pH may cause. A preliminary test, to determine the potential for differing toxicity of the two or more forms of the substance, should be considered where the pK_a for the test substance falls within the normal pH range of a test. The definitive test should be conducted at a pH consistent with the more toxic form of the substance whilst remaining within the range required to maintain the health of the control organisms. Where the substance itself causes a change to the pH of the test medium, the pH should be adjusted to lie within the specified range for the test using acid, alkali or other suitable buffer. It should be noted that the use of buffers can affect the result of the test - particularly for algae. Furthermore, this can cause sedimentation and/or degradation of the test substance. The suitability of any proposed buffer system should therefore be assessed prior to use in the definitive test. Adjustments to pH may be carried out in the stock solutions used to

Zugabe der Testsubstanz (in den eingesetzten Konzentrationen) sollte gemessen werden und im Prüfbericht erwähnt sein⁷¹ [TGD 2011 S. 135]. Dies gilt insbesondere für Algentests⁷² [OECD 2011a].

Ausführliche Hinweise zur Vorgehensweise bei der Prüfung ökotoxischer Wirkungen sind im OECD Guidance Document on Aquatic Toxicity Testing of Difficult Substances and Mixtures zu finden⁷³ [OECD 2000b].

Reinheit und Identität der Testsubstanz

Die Reinheit der Testsubstanz kann das Prüfergebnis besonders dann beeinflussen, wenn ein Nebenbestandteil höhere Toxizität besitzt. Bei der Zimtsäure zum Beispiel beträgt die Wirksamkeit der *trans*-Zimtsäure auf die Hemmung von *Chlamydomonas*-Zygoten⁷⁴ nur ca. 1 Prozent im Vergleich zur *cis*-Zimtsäure; im Kressewurzel-Test wurde nicht nur ein quantitativer, sondern auch ein qualitativer

prepare the test media or in the media itself, as judged appropriate. In either case the procedure should be applied to all treatments, including the controls.

Growth of algal test cultures can cause increase of pH due to consumption of HCO₃ ions. Maintenance of stable pH when testing an ionised substance is therefore important to ensure that the balance between dissociated and non-dissociated forms of the substance is maintained. Strategies for maintaining the concentration of HCO₃ ions and therefore reducing pH shifts have been discussed in Section 3.4.“ [OECD 2000b Nummer 30]

⁷¹ „In practice, a compound’s potential to ionise (pKa in physicochemical table) should be checked. The presence of one or more pKa value(s), or ionisable group(s), triggers attention for pH effects in toxicity studies. If toxicity test results show that toxicity is dependent on the pH of the test medium, the results are rejected if the pH falls outside the range of what can be expected naturally.

Test results should be rejected when the toxicity in a given study is not caused by the compound alone, but also by a pH change. Hence, results from tests with ionisable compounds performed in buffered media (providing sufficient buffering capacity) are more reliable than those performed without a buffer. Studies that explicitly measure pH after addition of the toxicant are most useful in this respect.“ [TGD 2011 A 1.3.2.5, S. 135]

⁷² “The pH of the control medium should not increase by more than 1.5 units during the test. For metals and compounds that partly ionise at a pH around the test pH, it may be necessary to limit the pH drift to obtain reproducible and well defined results. A drift of < 0.5 pH units is technically feasible and can be achieved by ensuring an adequate CO₂ mass transfer rate from the surrounding air to the test solution, e.g. by increasing the shaking rate. Another possibility is to reduce the demand for CO₂ by reducing the initial biomass or the test duration.“ [OECD 2011a, Nummer 30]

⁷³ „3.10 Ionised substances.

Relatively small changes in pH can significantly alter the balance between the dissociated and non-dissociated forms of some organic acids and bases. Altered dissociation equilibrium may in turn significantly affect the water solubility and partition coefficient of the substance, and thus also its bioavailability and measurable toxicity. It is, therefore, essential that the relevant dissociation constants (pKa values) are known prior to commencement of testing.

Design of the toxicity test should take into account the effects on dissociation equilibrium that adjustments to the pH may cause. A preliminary test, to determine the potential for differing toxicity of the two or more forms of the substance, should be considered where the pKa for the test substance falls within the normal pH range of a test. The definitive test should be conducted at a pH consistent with the more toxic form of the substance whilst remaining within the range required to maintain the health of the control organisms.

Where the substance itself causes a change to the pH of the test medium, the pH should be adjusted to lie within the specified range for the test using acid, alkali or other suitable buffer. It should be noted that the use of buffers can affect the result of the test - particularly for algae. Furthermore, this can cause sedimentation and/or degradation of the test substance. The suitability of any proposed buffer system should therefore be assessed prior to use in the definitive test. Adjustments to pH may be carried out in the stock solutions used to prepare the test media or in the media itself, as judged appropriate. In either case the procedure should be applied to all treatments, including the controls.

Growth of algal test cultures can cause increase of pH due to consumption of HCO₃ ions. Maintenance of stable pH when testing an ionised substance is therefore important to ensure that the balance between dissociated and non-dissociated forms of the substance is maintained. Strategies for maintaining the concentration of HCO₃ ions and therefore reducing pH shifts have been discussed in Section 3.4.“ [OECD 2000b Nummer 30]

⁷⁴ Zygote: Zelle, die durch die Verschmelzung von Geschlechtszellen entsteht. Bei dieser Befruchtung vereinigen sich die Zellkerne der beiden Keimzellen.

Unterschied zwischen *trans*- und *cis*-Zimtsäure beobachtet (*trans*- wachstumshemmend, *cis*- wachstumsfördernd) [Moewus und Banerjee 1951]. Die starke Phytotoxizität des im technischen Produkt vorherrschenden *trans*-Isomers kann also durchaus nur auf der Wirkung eines Restgehaltes von 1 % oder mehr der *cis*-Zimtsäure beruhen.

Ein Minimum von 80 % Reinheit wird für erforderlich gehalten; bei weniger als 90 % soll das Prüfergebnis entsprechend korrigiert werden⁷⁵ [TGD 2011 S. 135].

⁷⁵ „A1.3.2.6. Purity and identity of the test substance

In some tests the identity of the test substance is largely unknown or the purity of the test substance is very low. Depending on the nature of the impurities present, if these have been identified at all, a minimum purity of 80% is required, unless it is known that the impurities do not cause any toxic effects by themselves and do not influence the toxicity of the substance of interest. When the purity of the tested compound is <90%, the test result should be corrected for purity. For pesticides, toxicity should be expressed in terms of the concentration of active ingredient.“ [TGD 2011 S. 135]

Anhang 2: Testorganismen, Testdauer und Endpunkte von Organismen verschiedener trophischer Stufen

Tabelle 2.1: Testorganismen, Testdauer und Endpunkte von Organismen verschiedener trophischer Stufen (fett: in [TGD 2016 S. 145-149] als häufigste Tests aufgeführt; kursiv: in TGD 2016 aufgeführt, aber von geringerer Relevanz)

Taxonomische Gruppe / Testorganismus	Test	Anm.	Tage*	bevorzugte Endpunkte	Einordnung für Abl. GFS
Fische					
div. Fischarten	OECD 203 (1992)	1)	4	Mortalität	akut
div. Fischarten	OECD 210 (2013a)	1)	14-60 nach dem Schlüpfen, je nach Art	NOEC/EC ₁₀ (Mortalität, morpholog. Veränderungen, Verhaltensänderungen, Reproduktion)	chronisch
Zebrabärbling (<i>Danio rerio</i>; Embryo)	Fischeitest; OECD 236 (2013b)	14)	4	Mortalität des Embryos	akut
Medaka (Japan. Reisfisch, <i>Oryzias latipes</i>)	OECD 240 (2015a)		130	NOEC (Mehrgenerationen-Reproduktion)	chronisch
Medaka, Zebrabärbling, Dreistachliger Stichling (<i>Gasterosteus aculeatus</i>)	OECD 234 (2011b)		60	NOEC (Schlupferfolg, Mortalität, endokrine Wirkungen)	chronisch
div. Fischarten (Embryonal-/ Dottersack-Stadium)	OECD 212 (1998c)	3)	6-55 je nach Art	NOEC/EC ₁₀ (Reproduktionsparameter)	chronisch
Regenbogenforelle (<i>Oncorhynchus mykiss</i>), Zebrabärbling, Medaka u.a.	OECD 215 (2000)	4)	≥ 28	NOEC/EC ₁₀ (Mortalität, Wachstum, sichtbare Wirkungen)	chronisch
<i>Medaka, Dickkopfelritze (Fathead Minnow, <i>Pimephales promelas</i>), Zebrabärbling</i>	<i>OECD 229 (2012b)</i>	12)	21	<i>Mortalität, endokrine Wirkungen</i>	<i>chronisch</i>
<i>Medaka, Dickkopfelritze, Zebrabärbling</i>	<i>OECD 230 (2009a)</i>	12)	21	<i>Mortalität, Geschlechtscharakteristika, Vitellogenin</i>	<i>chronisch</i>

Taxonomische Gruppe / Testorganismus	Test	Anm.	Tage*	bevorzugte Endpunkte	Einordnung für Abl. GFS
<i>Dreistachliger Stichling</i>	OECD (2011d)	12)	21	(anti)androgene Wirkungen	chronisch
Zebrabärbling (Embryo)	DIN 38415-T6, erw.	2)	2	LC ₅₀ /EC ₅₀ (nicht-letale Missbildungen)	akut/subletal
Krebstiere					
Wasserfloh (<i>Daphnia</i> sp.)	OECD 202 (2004a)		2	EC₅₀ (Immobilisierung)	akut
Wasserfloh (<i>Daphnia magna</i>)	OECD 211 (2012a)		21	NOEC/EC₁₀ (Reproduktion)	chronisch
Wasserfloh (<i>Ceriodaphnia dubia</i>)	U.S. EPA (2002)		7	NOEC/EC ₁₀ (Reproduktion)	chronisch
Schwebegarnele (<i>Americamysis bahia</i>)	OECD (2013c) Entwurf		60	NOEC/EC ₁₀ (Reproduktion)	chronisch
Schwebegarnele	U.S. EPA 2002		4	LC ₅₀ /NOEC (Mortalität)	akut/chronisch
Ruderfußkrebs (<i>Acartia tonsa</i>)	OECD 2007		4 und 19-35	LC ₅₀ und NOEC (Reproduktion)	akut/chronisch
Salinenkrebs (<i>Artemia salina</i>)		5)		LC ₅₀ /NOEC (Mortalität)	akut/chronisch
Gewöhnlicher Flohkrebs (<i>Gammarus pulex</i>)	McCahon und Pascoe (1988)		2	Mortalität	akut
Mexikanischer Flohkrebs (<i>Hyalella azteca</i>)	ASTM E1706-05 (2010); Ivey et al. 2016	6)	10 und 28	Mortalität, Wachstum	akut
Mexikanischer Flohkrebs	ASTM E1706-05 (2010)	6)	42	Mortalität, Wachstum, Reproduktion	chronisch
Flohkrebs (<i>Leptocheirus plumulosus</i>)	ASTM E1367-03 (2014)		28	Reproduktion	chronisch
Schlickkrebs (<i>Corophium</i> sp.)	Sediment/Wasser	13)	28		chronisch
Algen					

Taxonomische Gruppe / Testorganismus	Test	Anm.	Tage*	bevorzugte Endpunkte	Einordnung für Abl. GFS
div Algen und Cyanobakterien	OECD 201 (2011a)	7) 8) 11)	3	EC ₅₀ (Wachstumsrate, Biomasse)	akut
div Algen und Cyanobakterien	OECD 201 (2011a)	7) 8) 9) 11)	3	(NOEC), EC ₁₀ (Wachstumsrate, Biomasse)	chronisch
Wasserpflanzen					
Wasserlinse (<i>Lemna</i> sp.)	OECD 221 (2006b)	8)	7	EC ₅₀ (Fronzzahl, Biomasse)	akut
Wasserlinse	OECD 221 (2006b)	8) 9)	7	(NOEC), EC ₁₀ (Fronzzahl, Biomasse)	chronisch
Ähriges Tausendblatt (<i>Myriophyllum spicatum</i>)	OECD 238 (2014)	8)	14	EC ₅₀ (Wachstumsrate, Biomasse)	akut
Ähriges Tausendblatt	OECD 238 (2014)	8) 9)	14	(NOEC), EC ₁₀ (Wachstumsrate, Biomasse)	chronisch
Weichtiere (Mollusken)					
Neuseeländische Zwergdeckelschnecke (<i>Potamopyrgus antipodarum</i>)	OECD 242 (2016b), Ruppert et al. (2017)		28	NOEC/EC ₁₀ (Mortalität, Reproduktion)	chronisch
Spitzschlammschnecke (<i>Lymnaea stagnalis</i>)	OECD 243 (2016a)		28	NOEC/EC ₁₀ (Reproduktion)	chronisch
Amerikanische Auster (<i>Crassostrea virginica</i>)	U.S. EPA 1996/2017		4	EC ₅₀ (Schalenwachstum)	akut
Am. Auster, Miesmuschel (<i>Mytilus edulis</i>), Pazifikauster (<i>Crassostrea gigas</i>), Venusmuschel (<i>Mercenaria mercenaria</i>)	U.S. EPA 1996		2	NOEC/EC ₅₀ (Embryo/Larven-Entwicklung)	akut/(chronisch)
Amphibien					
Krallenfrosch (<i>Xenopus laevis</i>)	OECD 231 (2009b)		21	NOEC (Mortalität, Entwicklung: sichtbare Veränderungen, Missbildungen, Schilddrüse)	chronisch

Taxonomische Gruppe / Testorganismus	Test	Anm.	Tage*	bevorzugte Endpunkte	Einordnung für Abl. GFS
Krallenfrosch	OECD 241 (2015b)		ca. 60 (bis Ende der Meta-morphose)	NOEC (Mortalität, Entwicklung: sichtbare Veränderungen, Missbildungen, histolog. Parameter)	chronisch
<i>Krallenfrosch</i>	<i>FETAX, ASTM (2004) E 1439-98</i>		4	<i>LC₅₀/EC₅₀ (Wachstum, Missbildungen)</i>	<i>akut/(chronisch)</i>
Insekten					
Zuckmückenlarven (<i>Chironomus</i> sp.)	OECD 235 (2011c)		2	EC₅₀ (Immobilisierung)	akut
Zuckmückenlarven	OECD 219 (2004b)		20-28 bzw. 65 (C. tentans)	NOEC/EC ₁₀ (Mortalität, Emergenz, Wachstum)	chronisch
Polychaeten					
Ringelwurm (<i>Neanthes arenaceodentata</i>)	Sediment/Wasser	13)	12-18		subakut/chronisch
Wattwurm (<i>Arenicola marina</i>)	Sediment/Wasser	13)	10		subakut
Wattwurm	Sediment/Wasser	13)	28		chronisch
Nesseltiere					
Grüne Hydra (<i>Hydra viridissima</i>)	Holdway (2005)	10)	7	NOEC (Zahl der Nachkommen)	chronisch
Stachelhäuter					
Herzseeigel (<i>Echinocardium cordatum</i>)	Sediment/Wasser	13)	14		akut/subchronisch
Fadenwürmer (Nematoden)					
Fadenwurm (<i>Caenorhabditis elegans</i>)	ASTM STP 1333 (1998)		3	LC ₅₀	akut
Fadenwurm	Wannous 2011, DIN ISO 10872		4	NOEC/EC ₁₀ (Reproduktion)	chronisch
Fadenwurm	DIN ISO 10872, Hunt 2017				

Anmerkungen:

* übliche Testdauer in Tagen

- 1) empfohlen nach OECD 203 (1992) und OECD 210 (2013a): Zebrabärbling (*Danio rerio*), Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*), Karpfen (*Cyprinus carpio*), Dickkopfelritze (Fathead Minnow, *Pimephales promelas*), Blauer Sonnenbarsch (*Lepomis macrochirus*), Medaka (Japan. Reisfisch, *Oryzias latipes*), Guppy (*Poecilia reticulata*); zusätzlich nach OECD 203 die marinen Spezies Edelsteinkärpfling (*Cyprinodon variegatus*) und Gezeitenährenfisch (*Menidia peninsulae*)
- 2) Hinweise auf subletale Wirkungen
- 3) empfohlen nach OECD 212 (1998): Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*), Zebrabärbling (*Danio rerio*), Karpfen (*Cyprinus carpio*), Dickkopfelritze (Fathead Minnow, *Pimephales promelas*), Blauer Sonnenbarsch (*Lepomis macrochirus*), Medaka (Japan. Reisfisch, *Oryzias latipes*), Guppy (*Poecilia reticulata*) sowie die marinen Spezies Edelsteinkärpfling (*Cyprinodon variegatus*), Ährenfisch (*Menidia* sp.), Hering (*Clupea harengus*) und Kabeljau (*Gadus morhua*)
- 4) begrenzte Relevanz, da kein Early-Life-Stadium erfasst
- 5) häufig getestet, jedoch nur eingeschränkt zu berücksichtigen: Der Salinenkrebs repräsentiert nur einen spezifischen (salinen) Lebensraum und wird deshalb von der OECD nicht als Testorganismus empfohlen [OECD 1998b]
- 6) Fraunhofer IME 2014
- 7) empfohlen nach OECD 201 (2011a): Grünalgen (*Pseudokirchneriella subcapitata*, *Desmodesmus subspicatus*), Kieselalgen (Diatomeen, *Navicula pelliculosa*), Cyanobakterien (Blualgen, *Anabaena flos-aquae*, *Synechococcus leopoliensis*)
- 8) bei Tests mit Algen oder Wasserpflanzen pH-Werte beachten! Ggf. Puffer
- 9) Statt der No-observed effect concentration wird in der Prüfrichtlinie EC_x empfohlen, vorzugsweise EC₁₀
- 10) pflanzt sich geschlechtlich sowie ungeschlechtlich durch Knospenbildung fort.
- 11) Wachstumsrate ist bevorzugter Endpunkt
- 12) von geringer Relevanz für EQS-Ableitung (TGD 2016, S. 147]
- 13) als Zusatzinformation wertvoll
- 14) Symptome für Mortalität in diesem Test: Koagulation, keine Somitenbildung, keine Schwanzablösung vom Dottersack, kein Herzschlag

Ausführlichere Listen von OECD-Prüfmethoden und ISO-Normen mit den entsprechenden Endpunkten finden sich in [OECD 2006a] und [ECHA 2017].

Anhang 3: Verwendung verschiedener Endpunkte ökotoxikologischer Tests zur Ableitung von GFS_{aquat}

Tabelle 3.1: Verwendung von Endpunkten aus Ökotoxizitätstests bei der Ableitung von UQN_{aquat} [TGD 2011 S. 143-144, TGD 2016, S. 154-156]

Testtyp	Kriterium	zur GFS-Wert-Abl.?	Anm.	Aktion
akut	NOEC	nein	a	dokumentieren, evtl. als Zusatzinformation wertvoll
akut	EC ₁₀ oder LC ₁₀	nein	a	dokumentieren, evtl. als Zusatzinformation wertvoll
akut	EC ₅₀ oder LC ₅₀	ja		dokumentieren
akut	EC _x oder LC _x	nein		dokumentieren, evtl. als Zusatzinformation wertvoll
akut	LOEC	nein		weglassen, wenn NOEC aus demselben Experiment vorhanden; ansonsten dokumentieren als Zusatzinformation
akut	MATC	nein	b	weglassen, wenn NOEC aus demselben Experiment vorhanden; ansonsten dokumentieren als Zusatzinformation
akut	TLm	ja	c	dokumentieren
chronisch	NOEC	ja		dokumentieren; LOEC weglassen falls aus dem gleichen Experiment vorhanden
chronisch	EC ₁₀ oder LC ₁₀	ja		dokumentieren
chronisch	EC ₅₀ oder LC ₅₀	nein	a	dokumentieren, evtl. als Zusatzinformation wertvoll
chronisch	EC _x (x < 10)	nein		weglassen, wenn NOEC aus demselben Test vorhanden; wenn mehr als ein EC _x vorhanden, EC ₁₀ aus einer zuverlässigen Konzentrations-Wirkungs-Beziehung ableiten; ansonsten dokumentieren als Zusatzinformation
chronisch	EC _x (10 < x < 20)	ja		weglassen, wenn NOEC aus demselben Test vorhanden; wenn mehr als ein EC _x vorhanden, EC ₁₀ aus zuverlässiger Konzentrations-Wirkungs-Beziehung ableiten; falls EC _x (10 < x < 20) niedrigste gemessene Wirkkonzentration: NOEC = EC _x /2 mit Vermerk dokumentieren
chronisch	EC _x (x ≥ 20)	nein		weglassen, wenn NOEC aus demselben Test vorhanden; wenn mehr als ein EC _x vorhanden, EC ₁₀ aus einer zuverlässigen Konzentrations-Wirkungs-Beziehung ableiten

Testtyp	Kriterium	zur GFS-Wert-Abl.?	Anm.	Aktion
chronisch	MATC als Einzelwert ohne weitere Info	ja		weglassen, wenn NOEC aus demselben Test vorhanden; wenn keine weitere Info: $NOEC = MATC/\sqrt{2}$ mit Vermerk dokumentieren
chronisch	MATC als Intervall	ja		weglassen, wenn NOEC aus demselben Test vorhanden; wenn keine weitere Info: niedrigsten Wert des Intervalls als NOEC mit Vermerk dokumentieren
chronisch	MATC mit spacing factor	ja	d	weglassen, wenn NOEC aus demselben Test vorhanden; wenn keine weitere Info: $NOEC = \sqrt{\text{spacing factor}}$ mit Vermerk dokumentieren

Anmerkungen:

- a) Für Tests mit Algen oder Wasserlinsen (*Lemna sp.*) werden sowohl EC_{50} als auch $EC_{10}/NOEC$ in der GFS-Wert-Ableitung verwendet
- b) MATC: geometrisches Mittel aus NOEC und LOEC
- c) T_{Lm} (median treshold limit) wird als LC₅₀ verwendet
- d) spacing factor: Differenzfaktor aus Toxizitätsdaten eines Tests bei Verwendung mehrerer Konzentrationsreplikate

Die Angabe chronischer Wirkdaten (s. auch **Anhang 6**) erfolgt im Regelfall als No-observed effect concentration (NOEC) oder EC_{10} -Wert; beide werden im fortlaufenden Text – wie auch in [LAWA 2016] – zwecks besserer Lesbarkeit als NOEC zusammengefasst. Weitere in der Literatur auch vorkommende Angaben sind mit ihrer Umformung in NOEC in der folgenden **Tabelle** zu finden. Die abgeleiteten Daten sollten ausdrücklich gekennzeichnet sein.

Tabelle 3.2: Extrapolation von NOEC- und LC₅₀-Werten aus anderen experimentellen Werten längerfristiger Untersuchungen (siehe TGD 2011 S. 143/144; TGD 2016, 154/155)

Experimenteller Wert aus längerfristigen Untersuchungen	Extrapolierter NOEC-Wert
EC_{10}	$NOEC_{extrap.} = EC_{10}$
TGK (Toxische Grenzkonzentration) ⁷⁶	$NOEC_{extrap.} = TGK$
MATC (Maximal Acceptable Toxicant Concentration ⁷⁷)	$NOEC_{extrap.} = MATC/\sqrt{2}$
LOEC (Lowest Observed Effect Concentration, Effekt < 20 %)	$NOEC_{extrap.} = LOEC/2$
EC_x (mit $10 < X < 20$)	$NOEC_{extrap.} = EC_x/2$

Von den Fachleuten eines OECD-Workshops on Statistical Analysis of Aquatic Toxicity Data wurde bereits 1998 die NOEC zur Beschreibung von Langzeitwirkungen auf aquatische Organismen für

⁷⁶ Toxische Grenzkonzentration (TGK): Minimale Konzentration, ab welcher eine Hemmwirkung auf das Wachstum, die Reproduktion o.a. beobachtet wird.

⁷⁷ Maximal Acceptable Toxicant Concentration (MATC): höchste Konzentration, der ein Testorganismus ohne Schädigung ausgesetzt werden kann, berechnet als geometrischer Mittelwert zwischen NOEC und LOEC.

ungeeignet gehalten [OECD 1998a], u.a. weil NOEC keine statistische Grundlage haben.⁷⁸ Die Kritik an den NOEC ist in weiteren Publikationen zu finden, auch weil damit nicht garantiert werden kann, dass tatsächlich mit statistischer Sicherheit keine Wirkung hervorgerufen wird (NEC, No-Effect Concentration) [Hoekstra und van Ewijk 1993; Warne und van Dam 2008; van Dam 2012; Jager 2011, 2012; Azimonti et al. 2015]. Shieh et al. (2001) waren andererseits der Auffassung, dass NOEC einen besseren Schutz für Algen böten als EC₁₀-Werte. In OECD (1998a) und OECD (2006) werden die Nachteile der NOEC-Werte ausführlich diskutiert und die Vorteile statistisch ermittelter EC_x-Werte aufgeführt. Auch nach ECHA (2008) sollte die EC₁₀ gegenüber der NOEC bevorzugt werden⁷⁹. Dies wird durch andere AutorInnengruppen an Beispielen bekräftigt [Jung et al. 2013, Beasley et al. 2015; Chapman et al. 1996]; Azimonti et al. 2015 und Iwasaki et al. (2015) fanden nur geringe Unterschiede zwischen NOEC und EC₁₀.

⁷⁸ „It was concluded that the NOEC, as the main summary parameter of aquatic ecotoxicity tests, is inappropriate for a number of reasons (see detailed discussion in the report) and should therefore be phased out. It was recommended that the OECD should move towards a regression-based estimation procedure. The time course of effects should be incorporated in the analytical procedures, and the OECD should initiate a study of the available time-dependent regression models (both mechanistic and empirical) in order to select those which best meet its needs. The study should also address the issue of appropriate values of x for EC_x and the optimal experimental designs.“ [OECD 1998a]

⁷⁹ „Long-term studies: An EC₁₀ for a long-term test which is obtained using an appropriate statistical method (usually regression analysis) will be used preferentially.“ [ECHA 2008, S.11]

Anhang 4: Ausgleichsfaktoren zur Anwendung auf Daten zur aquatischen Toxizität

(allgemeine Regel, Standardfall: Table 3.2 in TGD 2011 (S. 38-39); Table 3 in TGD 2016 (S. 43-44))

Tabelle 4.1: Ausgleichsfaktoren zur Anwendung auf aquatische Toxizitätsdaten für die Ableitung von UQN_{aquat} (Süßwasser):

Vorhandene Daten	Ausgleichsfaktor
Wenigstens eine akute L(E)C ₅₀ von jeder der drei trophischen Ebenen (Fisch, Invertebraten (bevorzugt <i>Daphnia</i>) und Algen) (d.h. Basidatensatz)	1000 ^{a)}
Eine chronische EC ₁₀ oder NOEC (entweder Fisch oder <i>Daphnia</i>)	100 ^{b)}
Zwei chronische Angaben (z.B. EC ₁₀ oder NOECs) von Spezies, die zwei trophische Ebenen repräsentieren (Fisch und/oder <i>Daphnia</i> und/oder Alge)	50 ^{c)}
Chronische Daten (z.B. EC ₁₀ oder NOECs) von wenigstens drei Spezies (normal Fisch, <i>Daphnia</i> und Alge), die drei trophische Ebenen repräsentieren	10 ^{d)}
SSD-Methode (Spezies sensivity distribution)	5 - 1 (Einzelfallentscheidung) ^{e)}
Felddaten oder Modellökosysteme	auszuwerten im Einzelfall ^{f)}

Anmerkungen:

a) Ein Faktor 1000 bei der Anwendung auf Kurzzeitdaten ist ein konservativer und schützender Faktor, der absichern soll, dass Substanzen mit dem Potential nachteiliger Effekte identifiziert werden. Es wird angenommen, dass die im Text identifizierten Unsicherheiten einen signifikanten Beitrag zur Gesamtunsicherheit leisten. Für jede Substanz mag es Belege geben, dass dem nicht so ist oder dass eine Teilkomponente der Unsicherheit wichtiger ist als alle anderen. Unter diesen Umständen kann es notwendig sein, den Faktor zu variieren. Diese Abänderung kann je nach den verfügbaren Belegen zu einem höheren oder niedrigeren Ausgleichsfaktor führen. Ein Faktor unter 100 sollte bei der Ableitung einer UQN_{aquat} auf der Basis von Kurzzeitdaten nicht angewendet werden.

Die Verwendung eines von 1000 abweichenden Faktors sollte nicht als normal betrachtet und vollständig durch stützende Belege begleitet werden.

b) Ein Ausgleichsfaktor 100 wird auf ein einzelnes Langzeitergebnis (z. B. EC₁₀ oder NOEC, Fisch oder *Daphnie*) angewendet, wenn das Ergebnis von derselben trophischen Ebene stammt wie die niedrigste L(E)C₅₀ in den Kurzeittests.

Wenn das einzige Langzeitergebnis (z. B. EC₁₀ oder NOEC) von einer Spezies stammt (Standard- oder Nicht-Standard-Organismus), für die nicht die niedrigste L(E)C₅₀ aus den Kurzeittests vorliegt, wird die Anwendung eines Ausgleichsfaktors 100 nicht als schützend für andere empfindlichere Spezies angesehen. Deshalb wird die Gefährdungsbeurteilung auf den Kurzzeitdaten aufgebaut und ein Ausgleichsfaktor 1000 angewendet. Jedoch darf die resultierende UQN aus den Kurzzeitdaten nicht höher sein als die UQN auf Basis des verfügbaren Langzeitergebnisses.

Ein Ausgleichsfaktor 100 kann auch auf das niedrigste zweier Langzeitergebnisse (z. B. EC₁₀ oder NOEC) aus zwei trophischen Ebenen angewendet werden, wenn diese Ergebnisse nicht von derjenigen (Ebene) stammen, welche die niedrigste L(E)C₅₀ der Kurzzeittests zeigt. Dies sollte jedoch nicht gelten in Fällen, in denen die akut empfindlichste Spezies einen L(E)C₅₀-Wert besitzt, der kleiner ist als der niedrigste Wert der Langzeitergebnisse (z. B. EC₁₀ oder NOEC). In solchen Fällen möge die UQN mit einem Ausgleichsfaktor 100 auf die niedrigste L(E)C₅₀ der Kurzzeittests abgeleitet werden.⁸⁰

- c) Ein Ausgleichsfaktor von 50 wird angewendet auf das niedrigste zweier Langzeitergebnisse (z. B. EC₁₀ oder NOEC), von zwei trophischen Ebenen, wenn diese Ergebnisse die trophische Ebene mit der niedrigsten L(E)C₅₀ in den Kurzzeittests abdecken. AF 50 wird ebenfalls angewendet auf das niedrigste dreier Langzeitergebnisse (z. B. EC₁₀ oder NOEC) von drei trophischen Ebenen, wenn diese Ergebnisse nicht aus der trophischen Ebene mit der niedrigsten L(E)C₅₀ der Kurzzeittests stammen.

Dies sollte jedoch nicht gelten in Fällen, in denen die akut empfindlichste Spezies einen L(E)C₅₀-Wert aufweist, der kleiner ist als der niedrigste Wert der Langzeitergebnisse (z. B. EC₁₀ oder NOEC). In solchen Fällen möge die UQN mit einem Ausgleichsfaktor 100 auf die niedrigste L(E)C₅₀ der Kurzzeittests abgeleitet werden.

- d) Ein Ausgleichsfaktor 10 wird normalerweise nur dann angewendet, wenn Langzeitergebnisse (z. B. EC₁₀ oder NOEC) verfügbar sind von mindestens drei Spezies von drei trophischen Ebenen (z.B. Fisch, Daphnie und Alge oder ein Nicht-Standardorganismus anstelle eines Standardorganismus).

Beim Prüfen der Ergebnisse von Langzeitstudien sollte die UQN_{aquat} über das niedrigste verfügbare Langzeitergebnis berechnet werden. Eine Extrapolation auf das Ökosystem kann so mit viel größerem Vertrauen durchgeführt werden, und deshalb ist eine Reduktion des Ausgleichsfaktors auf 10 möglich. Dies ist jedoch nur hinreichend, wenn die getesteten Spezies eine der empfindlicheren Gruppen repräsentieren. Dies lässt sich normalerweise nur dann erkennen, wenn Daten von wenigstens drei Spezies aus drei trophischen Ebenen vorhanden sind. Manchmal lässt sich mit hoher Wahrscheinlichkeit feststellen, dass die empfindlichste Spezies untersucht wurde, z.B. dass ein weiteres Langzeitergebnis (z. B. EC₁₀ oder NOEC) von einer anderen taxonomischen Gruppe nicht niedriger liegen würde als die schon verfügbaren Daten. Unter diesen Umständen wäre auch ein Faktor 10 auf das niedrigste Langzeitergebnis (z. B. EC₁₀ oder NOEC) von nur zwei Spezies angebracht. Dies ist besonders wichtig, wenn die Substanz kein Bioakkumulationspotential besitzt. Ist eine solche Einschätzung nicht möglich, sollte ein Ausgleichsfaktor 50 angewendet werden, damit jegliche Interspeziesvariation in der Empfindlichkeit berücksichtigt wird. Bei der deterministischen Betrachtungsweise kann ein Faktor 10 auf der Basis von Labortests nicht unterschritten werden. Wird die SSD-Methode angewendet, die ebenfalls auf Labortests basiert, kann ein kleinerer Ausgleichsfaktor als 10 (1 bis 5) angewendet werden.

- e) Grundlegende Betrachtungen und Mindestanforderungen sind im Abschnitt 2.6.1.2 [TGD 2011] ausgeführt.

- f) Der Ausgleichsfaktor bei Mesokosmos-Studien oder (teilweise) Felddaten muss im Einzelfall eingeschätzt werden (siehe Abschnitt 3.3.1.3 mit weiterer Anleitung [TGD 2011]).

⁸⁰ „This should, however, not apply in cases where the acutely most sensitive species has an L(E)C₅₀ value lower than the lowest long term result (e.g. EC₁₀ or NOECs) value. In such cases the QS might be derived by using an assessment factor of 100 to the lowest L(E)C₅₀ of the short-term tests.“ [TGD 2011 und 2016, Fußnote b]

Anhang 5: Beispiele

- (A): Der Basisdatensatz (akute Daten für Fisch, Daphnie, Alge) ist vollständig, es sind keine bzw. keine verwendbaren chronischen Daten für trophische Ebenen des Basisdatensatzes vorhanden**

Beispiel A1: Basisdatensatz; keine chronischen Daten vorhanden

A1	L(E)C ₅₀ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	100	-
Daphnie	70	-
Alge	40	-

→ **AF 1000** auf den niedrigsten akuten Wert: $GFS_{\text{aquat}} = \underline{0,04 \text{ mg/L}}$

Beispiel A2: Basisdatensatz; keine chronischen Daten vorhanden

A2	L(E)C ₅₀ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	100	-
Daphnie	70	-
Alge	40	-
Hydra	30	-

→ **AF 1000** auf den niedrigsten akuten Wert, auch wenn kein Standardorganismus: $GFS_{\text{aquat}} = \underline{0,03 \text{ mg/L}}$

- (B): Der Basisdatensatz (akute Daten für Fisch, Daphnie, Alge) ist vollständig, chronische Daten sind für eine trophische Ebene des Basisdatensatzes vorhanden**

Beispiele B1a und B1b: Basisdatensatz + chronische Daten für eine trophische Ebene (Fisch oder Daphnie) vorhanden, auch L(E)C₅₀ derselben Ebene am niedrigsten

B1a	L(E)C ₅₀ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	40	10
Daphnie	100	-
Alge	100	-

→ **AF 100** auf den niedrigsten chronischen Wert: $GFS_{\text{aquat}} = \underline{0,1 \text{ mg/L}}$

B1b	L(E)C ₅₀ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	100	-
Daphnie	40	10
Alge	100	-

→ **AF 100** auf den niedrigsten chronischen Wert: $GFS_{\text{aquat}} = \underline{0,1 \text{ mg/L}}$

Beispiel B1c: Basisdatensatz + chronische Daten für die trophische Ebene Alge vorhanden, EC₅₀ für Alge am niedrigsten, NOEC aus demselben Test

B1c	L(E)C ₅₀ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	100	-
Daphnie	70	-
Alge 1	40	20*

→ **AF 1000** auf den niedrigsten akuten Wert: GFS_{aquat} = **0,04 mg/L**, da NOEC der Alge nicht gestützt

*Sonderfall Alge: Nicht durch andere NOEC gestützte NOEC Alge aus demselben Test wird nicht angewendet: die NOEC Alge darf bei der Ableitung des AF nicht genutzt werden, weil keine anderen Langzeitdaten verfügbar sind. Er ist damit ungestützt.

Beispiel B1d: Basisdatensatz + chronische Daten für die trophische Ebene (Alge) vorhanden, EC₅₀ für Alge am niedrigsten

B1d	L(E)C ₅₀ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	100	-
Daphnie	100	-
Alge 1	40	5
Alge 2	100	40

NOEC aus demselben Test durch zweite Algenart gestützt, deshalb → **AF 100** auf den niedrigsten chronischen Wert: GFS_{aquat} = **0,05 mg/L**

Beispiele B2: Basisdatensatz + chronische Daten für eine trophische Ebene (Fisch oder Daphnie) vorhanden, Akute und chronische Minimumwerte liegen nicht auf derselben trophischen Standardebene

B2a	L(E)C ₅₀ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	40	-
Daphnie	100	10
Alge	100	-

→ **Vergleich AF 100** auf den niedrigsten akuten Wert (0,1 mg/L) oder **AF 1000** auf den niedrigsten chronischen Wert (0,04 mg/L): GFS_{aquat} = **0,04 mg/L**

B2b	L(E)C ₅₀ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	40	-
Daphnie	100	10
Alge	30	-

→ **Vergleich AF 100** auf den niedrigsten chronischen Wert (0,1 mg/L) oder **AF 1000** auf den niedrigsten akuten Wert (0,03 mg/L) der anderen trophischen Ebene: $GFS_{\text{aquat}} = \underline{\underline{0,03 \text{ mg/L}}}$

Beispiel B2c: Basisdatensatz + chronische Daten für die trophische Ebene Alge vorhanden, EC₅₀ für Alge nicht am niedrigsten

B2c	L(E)C ₅₀ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	100	-
Daphnie	40	-
Alge 1	50	10

NOEC der Alge nicht gestützt durch NOEC anderer trophischer Ebenen → **AF 1000** auf den niedrigsten akuten Wert: $GFS_{\text{aquat}} = \underline{\underline{0,04 \text{ mg/L}}}$

Beispiel B2d: Basisdatensatz + chronische Daten für die trophische Ebene Alge vorhanden, EC₅₀ für Alge nicht am niedrigsten, NOEC einer zweiten Algenart liegt vor

B2d	L(E)C ₅₀ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	100	-
Daphnie	40	-
Alge 1	50	10
Alge 2	100	40

→ Alge 1 wird durch Alge 2 gestützt, aber keine Stützung von NOEC Alge durch NOEC anderer trophischer Ebene⁸¹, Alge 1 nicht EC_{min}, daher keine Berücksichtigung der Algen-NOEC:

AF 1000 auf den niedrigsten akuten Wert (0,04 mg/L): $GFS_{\text{aquat}} = \underline{\underline{0,04 \text{ mg/L}}}$.

Sind weitere Stoffeigenschaften (niedriger BCF; keine spezifische Wirkung, z.B. Herbizid, Insektizid) bekannt, kann auch ein AF 100 auf den niedrigsten chronischen Wert (10 mg/L) gesetzt werden: 0,1 mg/L

⁸¹ "The NOEC from this test may be used as an additional NOEC when other long-term data are available. In general an algal NOEC should not be used unsupported by long term NOECs of species of other trophic levels." [TGD 2011 S. 37]

Beispiel B2e: Basisdatensatz + chronische Daten für eine trophische Ebene (Fisch oder Daphnie) vorhanden, akuter Minimumwert stammt von einer vierten trophischen Ebene

B2e	L(E)C ₅₀ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	40	-
Daphnie	100	10
Alge	100	-
Insektenlarve	30	-

→ **Vergleich AF 100** auf den niedrigsten chronischen Wert (0,1 mg/L) oder **AF 1000** auf den niedrigsten akuten Wert (0,03 mg/L) der vierten trophischen Ebene: $GFS_{\text{aquat}} = \underline{0,03 \text{ mg/L}}$

(C) Der Basisdatensatz (akute Daten für Fisch, Daphnie, Alge) ist vollständig, chronische Daten sind für zwei trophische Ebenen (Fisch und/oder Daphnie und/oder Alge) des Basisdatensatzes vorhanden

Beispiel C1a (Fall 1): Basisdatensatz + chronische Daten für zwei trophische Standard-ebenen, niedrigster akuter Wert von derselben chronisch getesteten Standardebene, $NOEC_{\text{min}} \leq L(E)C_{50\text{min}}$.

C1a	L(E)C ₅₀ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	100	15
Daphnie	40	5
Alge	70	-

→ **AF 50** auf den niedrigsten chronischen Wert: $GFS_{\text{aquat}} = \underline{0,1 \text{ mg/L}}$

Beispiel C1b (Fall 1 mit Zusatzklausel): Basisdatensatz + chronische Daten für zwei trophische Standardebenen vorhanden, davon niedrigster Akutwert zu Alge 1, zusätzlich NOEC für zweite Algenart vorhanden

C1b	L(E)C ₅₀ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	500	-
Daphnie	100	40
Alge 1	70	10
Alge 2	100	20

$NOEC_{\text{min}}$ Alge 1 gestützt durch NOEC anderer trophischer Ebene und zweite Algenart, daher vollwertig → **AF 50** auf den niedrigsten chronischen Wert: $GFS_{\text{aquat}} = \underline{0,2 \text{ mg/L}}$

Beispiel C1c (Fall 2): Basisdatensatz + chronische Daten für zwei trophische Standardebenen, niedrigster akuter Wert von einer der beiden chronisch getesteten Standardebenen, $NOEC_{min} \leq L(E)C_{50min}$.

C1c	L(E)C ₅₀ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	100	20
Daphnie	70	40
Alge	100	-

→ **AF 50** auf den niedrigsten chronischen Wert: $GFS_{aquat} = \underline{0,4 \text{ mg/L}}$

Beispiel C1d (Fall 2 mit Zusatzklausel): Basisdatensatz + chronische Daten für zwei trophische Standardebenen, niedrigster akuter Wert von einer der beiden chronisch getesteten Standardebenen (hier: Alge), $NOEC_{min} \leq L(E)C_{50min}$.

C1d	L(E)C ₅₀ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	100	-
Daphnie	100	10
Alge 1	70	40
Alge 2	100	50

NOEC Alge 1 und EC₅₀ Alge 1 aus demselben Test, NOEC Alge 1 gestützt durch NOEC Daphnie; EC₅₀ Alge 1 niedrigster Akut-Wert, Stützung durch NOEC Alge 2 vorhanden → **AF 50** auf den niedrigsten chronischen Wert: $GFS_{aquat} = \underline{0,2 \text{ mg/L}}$

Beispiel C1e (Fall 2): Basisdatensatz + chronische Daten für zwei trophische Standardebenen, niedrigster akuter Wert von einer der beiden chronisch getesteten Standardebenen (nicht Alge), $NOEC_{min} \leq L(E)C_{50min}$.

C1e	L(E)C ₅₀ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	100	-
Daphnie	70	40
Alge	100	10

NOEC Alge und EC₅₀ Alge aus demselben Test, NOEC Alge gestützt durch NOEC Daphnie; EC₅₀ Alge nicht der niedrigste Akut-Wert, also keine Stützung durch NOEC zweiter Alge nötig → **AF 50** auf den niedrigsten chronischen Wert: $GFS_{aquat} = \underline{0,2 \text{ mg/L}}$

Beispiel C1f (Fall 2): Basisdatensatz + chronische Daten für zwei trophische Standardebenen, niedrigster akuter Wert von einer der beiden chronisch getesteten Standardebenen (nicht Alge), $NOEC_{min} \leq L(E)C_{50min}$.

C1f	L(E)C ₅₀ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	50	-
Daphnie	100	20
Alge	40	5

NOEC Alge und EC₅₀ Alge aus demselben Test, EC₅₀ Alge niedrigster Akutwert, aber NOEC Alge nicht gestützt durch NOEC zweiter Alge, also nicht vollwertig:

→ **B2b:** NOEC Daphnie, EC_{50min} Alge → „AF 100 auf die NOEC Daphnie“ (→ 0,2 mg/L) vergleichen mit „AF 1000 auf die EC_{50min} Alge“ (→ 0,04 mg/L) → $GFS_{aquat} = \underline{0,04 \text{ mg/L}}$

Beispiel C1g (Fall 3): Basisdatensatz + chronische Daten für zwei trophische Standardebenen vorhanden, $NOEC_{min}$ nicht durch einen L(E)C_{50min} derselben oder der zweiten trophischen Standardebene abgedeckt, dritte NOEC von vierter trophischer Ebene vorhanden

C1g	L(E)C ₅₀ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	500	100
Daphnie	100	10
Alge	70	-
Insektenlarve	-	20
Amphibie	50	-

3 NOEC von 3 trophischen Ebenen, $NOEC_{min} < L(E)C_{50min}$: → **AF 50** auf den niedrigsten chronischen Wert: $GFS = \underline{0,2 \text{ mg/L}}$

Beispiel C1h (Fall 3): Basisdatensatz + chronische Daten für zwei trophische Standardebenen vorhanden, $NOEC_{min}$ nicht durch einen L(E)C_{50min} derselben oder der zweiten trophischen Standardebene abgedeckt, dritte NOEC von vierter trophischer Ebene vorhanden

C1h	L(E)C ₅₀ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	500	100
Daphnie	100	10
Alge	70	-
Insektenlarve	-	20
Schnecke	5	-

3 NOEC von 3 trophischen Ebenen, $L(E)C_{50min} < NOEC_{min}$: → **AF 100** auf den niedrigsten akuten Wert: $GFS_{aquat} = \underline{0,05 \text{ mg/L}}$

Beispiel C2a: Basisdatensatz + chronische Daten für Vertreter zweier trophischen Ebenen vorhanden, niedrigster akuter Wert nicht von einer der beiden chronisch getesteten Standardebenen, $NOEC_{min}$ kleiner $L(E)C_{50min}$, keine dritte NOEC

C2a	LC(E)C ₅₀ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	50	-
Daphnie	70	5
Alge	100	20

NOEC Alge, gestützt durch NOEC Daphnie, aus demselben Test wie EC₅₀ Alge, braucht aber nicht zusätzlich von zweiter Algenart gestützt zu werden, da EC₅₀ Alge nicht niedrigster Akutwert: → **AF 100** auf den niedrigsten chronischen Wert: $GFS_{aquat} = \underline{0,05 \text{ mg/L}}$

Beispiel C2b: Basisdatensatz + chronische Daten für Vertreter zweier trophischen Ebenen vorhanden, niedrigster akuter Wert nicht von einer der beiden chronisch getesteten Standardebenen, $NOEC_{min}$ kleiner $L(E)C_{50min}$, keine dritte NOEC

C2b	L(E)C ₅₀ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	100	20
Daphnie	70	5
Alge	50	-

zwei NOEC von Fisch und Daphnie, → **AF 100** auf den niedrigsten chronischen Wert: $GFS_{aquat} = \underline{0,05 \text{ mg/L}}$

Beispiel C2c: Basisdatensatz + chronische Daten für Vertreter zweier trophischen Ebenen vorhanden, niedrigster akuter Wert nicht von einer der beiden chronisch getesteten Standardebenen, $NOEC_{min}$ kleiner $L(E)C_{50min}$, keine dritte NOEC

C2c	L(E)C ₅₀ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	70	-
Daphnie	100	40
Alge	100	10

NOEC Alge gestützt durch NOEC Daphnie, aus demselben Test wie EC₅₀ Alge, braucht aber nicht zusätzlich von zweiter Algenart gestützt zu werden, da EC₅₀ Alge nicht niedrigster Akutwert: → **AF 100** auf den niedrigsten chronischen Wert: $GFS_{aquat} = \underline{0,1 \text{ mg/L}}$

Beispiel C2d: Basisdatensatz + chronische Daten für zwei trophische Ebenen vorhanden, niedrigster akuter Wert nicht von einer der beiden chronisch getesteten Standardebenen, $NOEC_{min}$ größer $L(E)C_{50min}$

C2d	LC(E)C ₅₀ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	5	-
Daphnie	20	10
Alge	30	8

NOEC Alge gestützt durch NOEC Daphnie, aus demselben Test wie EC₅₀ Alge, braucht aber nicht zusätzlich durch NOEC einer zweiten Algenart gestützt zu werden, da EC₅₀ Alge nicht niedrigster Akutwert: → **AF 100** auf den niedrigsten akuten Wert: $GFS_{aquat} = \underline{0,05 \text{ mg/L}}$

Beispiel C2e: Basisdatensatz + chronische Daten für zwei trophische Standardebenen vorhanden, niedrigster akuter Wert von einer der beiden chronisch getesteten Standardebenen, $NOEC_{min}$ kleiner $L(E)C_{50min}$; $K_{ow} \approx 30$

C2e	LC(E)C ₅₀ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	100	-
Daphnie	20	5
Alge	30	10
Hydra	100	20
Insekten	50	-
Muschel	100	-

hohe Wahrscheinlichkeit, dass Spezies der empfindlichsten trophischen Ebene auf chronische Wirkungen untersucht wurde, nur geringe Bioakkumulation, NOEC Alge ist aus demselben Test wie EC₅₀ Alge und gestützt durch NOEC Daphnie braucht deshalb nicht zusätzlich durch NOEC einer zweiten Algenart gestützt zu werden, da EC₅₀ Alge nicht niedrigster Akutwert: → **AF 10** auf den niedrigsten chronischen Wert: $GFS_{aquat} = \underline{0,5 \text{ mg/L}}$

Beispiel C2f: Basisdatensatz + chronische Daten für zwei trophische Standardebenen vorhanden, niedrigster akuter Wert von einer der beiden chronisch getesteten Standardebenen, $NOEC_{min}$ kleiner $L(E)C_{50min}$; $K_{ow} > 1000$

C2f	$L(E)C_{50}$ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	100	-
Daphnie	20	5
Alge	30	10
Hydra	100	20
Insekten	50	-
Muschel	100	-

hohe Wahrscheinlichkeit, dass Spezies der empfindlichsten trophischen Ebene auf chronische Wirkungen untersucht wurde, NOEC Alge ist aus demselben Test wie EC_{50} Alge und gestützt durch NOEC Daphnie braucht deshalb nicht zusätzlich durch NOEC einer zweiten Algenart gestützt zu werden, da EC_{50} Alge nicht niedrigster Akutwert, aber hohe Bioakkumulation: → **AF 50** auf den niedrigsten chronischen Wert: $GFS_{aquat} = \underline{0,1 \text{ mg/L}}$

(D) Der akute Basisdatensatz (akute Daten für Fisch, Daphnie, Alge) ist vollständig und chronische Daten sind für alle drei trophischen Ebenen des Basisdatensatzes vorhanden

Beispiel D1a: Basisdatensatz + chronische Daten für Vertreter der drei trophischen Standardebenen vorhanden, niedrigster akuter Wert von einer dieser drei Ebenen

D1a	$L(E)C_{50}$ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	100	10
Daphnie	20	10
Alge	30	8

NOEC Alge gestützt durch NOEC Daphnie, aus demselben Test wie EC_{50} Alge, braucht aber nicht zusätzlich durch NOEC einer zweiten Algenart gestützt zu werden, da EC_{50} Alge nicht niedrigster Akutwert: → **AF 10** auf den niedrigsten chronischen Wert: $GFS_{aquat} = \underline{0,8 \text{ mg/L}}$

Beispiel D1b: Basisdatensatz + chronische Daten für Vertreter der drei trophischen Standardebenen vorhanden, niedrigster akuter Wert von einer dieser drei Ebenen

D1b	L(E)C ₅₀ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	500	5
Daphnie	20	10
Alge	30	20

NOEC Alge gestützt durch NOEC Daphnie, aus demselben Test wie EC₅₀ Alge, braucht aber nicht zusätzlich durch NOEC einer zweiten Algenart gestützt zu werden, da EC₅₀ Alge nicht niedrigster Akutwert: → **AF 10** auf den niedrigsten chronischen Wert: GFS_{aquat} = **0,5 mg/L**

Beispiel D1c: Basisdatensatz + chronische Daten für Vertreter der drei trophischen Standardebenen vorhanden, niedrigster akuter Wert von einer dieser drei Ebenen (hier Alge)

D1c	L(E)C ₅₀ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	500	50
Daphnie	100	30
Alge 1	20	5
Alge 2	30	10

NOEC Alge gestützt durch NOEC Daphnie, aus demselben Test wie EC₅₀ Alge, EC₅₀ Alge 1 niedrigster Akutwert, Stützung durch NOEC Alge 2 vorhanden: → **AF 10** auf den niedrigsten vorhandenen chronischen Wert: GFS_{aquat} = **0,5 mg/L**

Beispiel D1d: Basisdatensatz + chronische Daten für Vertreter der drei trophischen Standardebenen vorhanden, niedrigster akuter Wert von einer dieser drei Ebenen (hier Alge)

Spezies	L(E)C ₅₀ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	500	50
Daphnie	100	30
Alge	20	5

NOEC Alge zwar gestützt durch NOEC Daphnie, aber aus demselben Test wie EC₅₀ Alge und EC₅₀ Alge niedrigster Akutwert, deshalb NOEC Alge nicht vollwertig: Fall C2, d. h. 2 NOEC, keine passende NOEC zu L(E)C_{min}, keine NOEC einer 4. trophischen Ebene → **AF 100** auf den niedrigsten vorhandenen chronischen oder akuten Wert, je nachdem welcher niedriger ist: GFS_{aquat} = **0,2 mg/L**

Beispiel D1e: Basisdatensatz + chronische Daten für Vertreter dreier trophischer Ebenen (nicht zwingend Standardebenen) vorhanden, niedrigster akuter Wert von einer dieser drei Ebenen

D1d	L(E)C ₅₀ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	500	-
Daphnie	30	10
Alge	30	20
Hydra	20	5

NOEC Alge gestützt durch NOEC Daphnie, aus demselben Test wie EC₅₀ Alge, braucht aber nicht zusätzlich durch NOEC einer zweiten Algenart gestützt zu werden, da EC₅₀ Alge nicht niedrigster Akutwert: → **AF 10** auf den niedrigsten vorhandenen chronischen Wert: GFS_{aquat} = **0,5 mg/L**

Beispiel D2: Basisdatensatz + chronische Daten für Vertreter dreier trophischer Ebenen (nicht zwingend Standardebenen) vorhanden, niedrigster akuter Wert nicht von einer dieser drei Ebenen

D2	L(E)C ₅₀ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	100	10
Daphnie	20	10
Alge	30	8
Insektenlarve	10	-

Zu EC_{50min} Insektenlarve kein entsprechender NOEC, NOEC Alge gestützt durch NOEC Daphnie, aus demselben Test wie EC₅₀ Alge, braucht aber nicht zusätzlich durch NOEC einer zweiten Algenart gestützt zu werden, da EC₅₀ Alge nicht niedrigster Akutwert, NOEC_{min} < L(E)C_{50min}: → **AF 50** auf den niedrigsten vorhandenen chronischen Wert: GFS_{aquat} = **0,16 mg/L**

Beispiel D3a: Basisdatensatz + chronische Daten für Vertreter dreier trophischer Standard-ebenen vorhanden, niedrigster akuter Wert nicht von einer dieser drei Ebenen und dazu keine NOEC vorhanden.

D3a	L(E)C ₅₀ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	100	30
Daphnie	20	10
Alge	30	10
Muschel	8	-

Zu EC_{50min} Muschel kein entsprechender NOEC, NOEC Alge gestützt durch NOEC Daphnie, aus demselben Test wie EC₅₀ Alge, braucht aber nicht zusätzlich durch NOEC einer zweiten Algenart gestützt zu werden, da EC₅₀ Alge nicht niedrigster Akutwert, L(E)C_{50min} < NOEC_{min}: → **AF 100** auf den niedrigsten akuten Wert Muschel: GFS_{aquat} = **0,08 mg/L**

Beispiel D3b: Basisdatensatz + chronische Daten für Vertreter dreier trophischer Ebenen (nicht zwingend Standardebenen) vorhanden, niedrigster akuter Wert nicht von einer dieser drei Ebenen und dazu keine NOEC vorhanden.

D3b	L(E)C ₅₀ [mg/L]	NOEC [mg/L]
Fisch	100	30
Daphnie	20	10
Alge	30	-
Frosch	-	30
Muschel	8	-

Zu EC_{50min} Muschel kein entsprechender NOEC, L(E)C_{50min} < NOEC_{min}: → **AF 100** auf den niedrigsten akuten Wert Muschel: GFS_{aquat} = **0,08 mg/L**

Anhang 6: Was sind chronische Tests?

Eine chronische NOEC für aquatische Organismen zur Verwendung für die Ableitung eines AF sollte die vollständige Entwicklung (alle sensitiven Lebensabschnitte werden erfasst) einer Nachkommen-Generation (Reproduktion) umfassen oder mindestens eine oder mehrere sensitive Lebensabschnitte. Die dafür anzusetzende (Mindest-)Testdauer ist praktisch nur durch vergleichende Untersuchungen zu ermitteln. Hinweise darauf geben TGD 2011 (S. 134, 136-138) und TGD 2016 (Abschnitt A1.3.2.3, S. 142-149). Zum Beispiel werden die häufigsten chronischen Fischtests am Embryo-Larven-Stadium durchgeführt (Early life-stage tests (ELS)); die betrachteten Endpunkte sind Schlüpfen (u.a. Schlüpfen- und Wachstumsparmeter (Länge, Gewicht). Oft hängt die Reproduktionszeit stark von der Tierart ab: Für *Daphnia magna* beträgt sie z. B. 21 Tage, für *Ceriodaphnia dubia* 7 Tage⁸² [TGD 2011 S. 134; TGD 2016, S. 142]. Nähere Ausführungen zu Fischtests über die gesamte Lebensdauer (Life-cycle tests) sind in OECD (2008) zu finden.

Die bis 2011 entwickelten Standardtests für Fische sahen einen Prüfzeitraum von 21 oder meist 28 Tagen vor. Diese Voraussetzung wird von neueren Tests nicht immer erfüllt. Seit Veröffentlichung der TGD 2011 wurden wichtige Prüfrichtlinien herausgegeben, welche über die bisher praktizierten akuten und chronischen Tests hinaus grundlegende Informationen über Wirkungen auf Organismen liefern (können), beispielsweise die OECD-Guideline 229 (Fish Short Term Reproduction; 2012b), die OECD-Guideline 234 (Fish Sexual Development Test; OECD 2011b) oder die OECD-Guideline 236 (Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test; 2013b). Mit diesen Kurzzeittests werden Wirkungen auf frühe Entwicklungsstadien festgestellt, die bis dato nur mit den „klassischen“ chronischen Tests erfasst wurden, wie nach OECD-Guideline 210 (Fish, Early-life Stage Toxicity Test; 2013a).

Chronische Wirkungen an Fischen erfasst man auch mit der OECD-Guideline 212 (Fish, Short-Term Toxicity Test on Embryo and Sac-Fry Stages; OECD 1998c). Gemäß TGD kann dieser Test als chronisch gewertet werden, weil die sensitiven Lebensstadien vom Ei bis zum Dottersack-Stadium erfasst werden; er wird allerdings als weniger empfindlich angesehen [TGD 2011, S. 137].⁸³ Auch der 48-h-

⁸² „A chronic toxicity study is defined as a study in which: (i) the species is exposed to the toxicant for at least one complete life cycle, or (ii) the species is exposed to the toxicant during one or more sensitive life stages. This definition is in line with REACH guidance, which states that NOECs from chronic/long-term studies should preferably be derived from full life-cycle or multi-generation studies (ECHA, 2008). True chronic studies cover all sensitive life stages. Unfortunately, no clear guidance is provided on individual studies, whether these are to be considered as chronic studies or as acute studies. What is considered chronic or acute is very much dependent on 1) the species considered and 2) the studied endpoint and reported criterion.

For most common species, toxicity studies with fish are considered acute if mortality is determined after 96 hours (standard acute test) or after 14 days (prolonged acute toxicity test). The most common chronic toxicity tests for fish are early life-stage tests (ELS), in which eggs or larvae are exposed and the effects on hatching, malformation and growth are considered. Reproduction studies and most ELS tests for fish, but also for other species such as amphibians (FETAX test) or echinoderms, can be considered as chronic toxicity studies. For daphnids, the standard exposure time for acute toxicity is 48 hours, but with regard to chronic toxicity, there is a factor of three difference between the tests with *Daphnia magna* (21 days) and *Ceriodaphnia dubia* (7 days), the latter having a much shorter reproduction time.“ [TGD 2011 S. 134]

⁸³ „OECD guideline 212 (1998c): Fish, Short-term Toxicity Test on Embryo and Sac-fry Stages. In the guideline it is stated that this test can be used as a screening test for chronic toxicity. Especially for species that cannot be kept under laboratory circumstances for a period long enough to perform a full early-life stage (ELS) test, this test can be a useful alternative. Because the sensitive life stages from egg to sac-fry are covered in this test, it can be considered a chronic test. However, it is expected to be less sensitive than the full ELS test. The same endpoints are recorded as for the full ELS test.“ [TGD 2011, S. 137]

Fischart mit dem Zebraquarienfisch *Danio rerio* (DIN EN ISO 15088:2009-06) „deckt neben der Erfassung von akuten toxischen Wirkungen auch das breite Spektrum der fruchtschädigenden Wirkungen ab. Er kann deshalb als Bestandteil einer Testbatterie mit chronischer subletaler Ausrichtung eingesetzt werden“ [HLUG 2014]. Im **Anhang 2** sind die in TGD 2016 referierten Prüfrichtlinien hervorgehoben.

Kurzzeittests können allerdings nicht immer ein vollständiger Ersatz für Langzeittests an Fischen sein, so können bei Stoffen mit oberflächenaktiven Eigenschaften wie z.B. den perfluorierten Verbindungen spezifische Schädigungen auf adulte Fische nicht bzw. nicht ausreichend erfasst werden; Beispiel ist eine Beeinträchtigung der Kiemenfunktion durch Senkung der Oberflächenspannung des Wassers in frühen Entwicklungsstadien.

Allgemein gilt:

Testsubstanz-bedingte Verhaltensänderungen, anatomische Veränderungen oder Wirkungen auf subzellulärer Ebene wie Änderungen der Enzyminduktion oder Genexpressionen sind unbrauchbar für eine GFS-Ableitung. Relevant sind dagegen Endpunkte wie z.B. anatomische Änderungen in der Entwicklung der Geschlechtsorgane, die eine erfolgreiche Reproduktion verhindern, oder Verhaltensänderungen, welche die Konkurrenzfähigkeit mindern oder die Meidung des üblichen Habitats bewirken⁸⁴ [TGD 2011, S. 24; TGD 2016, S. 30]. Mit anderen Worten: Für statistisch signifikante Wirkungen, die das Überleben, die Entwicklung, das Wachstum oder die Fortpflanzung betreffen, wird eine Populationsrelevanz unterstellt; die entsprechenden Wirkdaten sollten deshalb in die Beurteilung chronischer Wirkungen einbezogen werden.

⁸⁴ „...data from studies describing endpoints that do not include direct measurements of survival, development or reproduction but, rather, describe e.g. behavioural effects, anatomical differences between control and treatment groups, effects at the tissue or sub-cellular level, such as changes in enzyme induction or gene expression. Generally these are unsuitable as the basis for EQS derivation. However, some other endpoints are relevant. For example, anatomical changes to gonad development that would prevent successful reproduction, or changes in behaviour if the effect described would impair competitive fitness may be relevant. Avoidance reactions may also be relevant if populations are likely to avoid a contaminated habitat where they would normally be present.“ [TGD 2011 S. 24; TGD 2016 Abschnitt 2.5.2, S.28]