



## Handbuch Altlasten

# Ökotoxikologische Verfahren als Bewertungshilfe bei Altlastenverfahren

Band 3, Teil 8



Handbuch Altlasten, Band 3 Teil 8

# **Ökotoxikologische Verfahren als Bewertungshilfe bei Altlastenverfahren**

**Studie über die grundlegende Anwendbarkeit etablierter aquatischer ökotoxikologischer  
Testverfahren zur Beurteilung von Grundwasserverunreinigungen bei Altlasten**

Wiesbaden, 2014

Hessisches Landesamt für Umwelt und Geologie

## Impressum

Handbuch Altlasten, Band 3 Teil 8

ISBN 978-3-89026-817-0

### Ökotoxikologische Verfahren als Bewertungshilfe bei Altlastenverfahren

Erarbeitung des zugrundeliegenden Leitfaden-Entwurfs:

Dr. Petra Stahlschmidt-Allner  
Vera Delov  
Mariana Batzke  
Sabine von der Gönna

GOBIO GmbH  
Scheidertalstraße 69a  
65326 Aarbergen/Kettenbach  
Telefon +49(0) 6120 926434  
[stahlschmidt@gobio-gmbh.de](mailto:stahlschmidt@gobio-gmbh.de)  
Internet: [www.gobio-gmbh.de](http://www.gobio-gmbh.de)

Bearbeitung:	Gerd Nickel	Regierungspräsidium Kassel
	Tilman Oerter	Regierungspräsidium Gießen
	Sonja Schuster	Regierungspräsidium Darmstadt
	Dr. Petra Stahlschmidt-Allner	GOBIO GmbH
	Karin Teichmann	Regierungspräsidium Darmstadt
	Marie-Anne Feldmann	Hessisches Landesamt für Umwelt und Geologie (Leitung)

Titel-Abbildung: Daphnie, Foto GOBIO GmbH

Layout: Melanie Görger

Herausgeber, © und Vertrieb:

Hessisches Landesamt für Umwelt und Geologie  
Postfach 3209, 65022 Wiesbaden

Telefon: 0611 6939-111

Telefax: 0611 6939-113

E-Mail: [vertrieb@hlug.hessen.de](mailto:vertrieb@hlug.hessen.de)

[www.hlug.de](http://www.hlug.de)

# Inhalt

Vorwort	5
1 Einleitung	6
2 Wasser	7
2.1 Grundwasser	7
2.2 Oberflächengewässer	8
2.3 Verbindung zwischen Grundwasser und Oberflächengewässer	9
2.3.1 Hyporheisches Interstitial	9
2.3.2 Quellen	11
2.4 Vergleich zwischen Grundwasser und Oberflächengewässer	11
3 Grundwasserfauna	12
3.1 Unterteilung der Grundwasserfauna nach Lebensräumen	13
3.2 Zusammensetzung der Grundwasserlebensgemeinschaft	13
3.3 Ökologische Bedeutung der Grundwasserfauna	15
4 Grundlagen der Ökotoxikologie	16
4.1 Begriffe	16
4.2 Ökotoxikologische Umweltrisikobeurteilung	18
5 Verfahren zur Erfassung von akuten und chronischen Schadwirkungen in der Ökotoxikologie	18
5.1 Anwendung von Ökotoxizitätstests für aquatische Ökosysteme	19
5.2 Ausführung und Aussagen von Ökotoxizitätstests	21
5.3 Einsatzbereiche von Ökotoxizitätstests	22
5.4 Anwendbarkeit auf das Grundwasser	22
6 Bewertungsansätze für ökotoxikologische Testmethoden aus anderen Fachbereichen	23
6.1 Beurteilung von Abfällen	24
6.2 Umgang mit Baggergut im Bereich von Bundeswasserstraßen	26
6.3 Bewertungsmaßstäbe aus dem Abwasserbereich	27
6.4 Gegenüberstellung der vorhandenen Schwellenwerte	29
6.5 Beurteilungsmaßstäbe für Boden	29
7 Ansätze für eine ökotoxikologische Bewertung von Schadstoffeinträgen aus Altlasten in das Grundwasser	30
7.1 Empfehlung eines Beurteilungsmaßstabs für Grundwasserproben	30
7.2 Einsatzmöglichkeiten und Grenzen von ökotoxikologischen Tests in der Altlastenbearbeitung	34
8 Sonderfall: Exfiltration von belastetem Grundwasser in Oberflächengewässer	35
8.1 Ökologischer Zustand eines Oberflächengewässers	36
8.2 Bewertung der Exfiltration	36
9 Sonderfall: Empfehlungen bei Nutzung des Grundwassers als Trinkwasser	38
10 Anwendungsbeispiele aus der Praxis	40

11 Zusammenfassung .....	42
12 Ausblick .....	43
Anhang 1: Glossar .....	44
Anhang 2: Bewertung des ökologischen Zustands von Fließgewässern .....	48
Anhang 2.1 Ökologischer Zustand eines Fließgewässers .....	48
Anhang 2.2 Erhebung des ökologischen Zustandes am Beispiel der Oberen Weil .....	50
Anhang 3: Ökotoxikologische Kenngrößen und Qualitätsnormen .....	53
Anhang 4: Planung und Durchführung von ökotoxikologischen Tests –	
Randbedingungen für Probenahme und Analytik .....	56
Anhang 4.1 Planung und Durchführung der Probenahme .....	56
Anhang 4.2 Proben- und Testvorbereitung und -durchführung .....	56
Anhang 4.3 Anforderungen an Untersuchungsstellen .....	58
Anhang 5: Testverfahren .....	59
Anhang 5.1 Standardisierte Testverfahren .....	59
Anhang 5.1.1 Fischeitest .....	59
Anhang 5.1.2 Daphnientest .....	64
Anhang 5.1.3 Algentest .....	65
Anhang 5.1.4 Leuchtbakterientest .....	66
Anhang 5.1.5 <i>umu</i> – Test .....	67
Anhang 5.1.6 Wasserlinsen-Wachstumshemmtest .....	68
Anhang 5.2 Suborganismische Testverfahren .....	68
Anhang 5.2.1 Mikrokerntest .....	68
Anhang 5.2.2 Comet-Assay .....	69
Anhang 5.2.3 Ames-Test .....	69
Anhang 5.3 Kontakttests .....	69
Anhang 5.3.1 Nematoden Kontakttest .....	70
Anhang 5.3.2 Bakterienkontakttest .....	70
Anhang 5.3.3 Fischeitest als Sedimentkontakttest .....	71
Anhang 6: Literatur .....	72

## Vorwort



Das zentrale Thema der Altlastenbearbeitung ist die Überprüfung der von einem Standort ausgehenden Gefahren für die Umwelt. Üblicherweise werden dafür chemische Analysen von Proben herangezogen, die aus den Umweltkompartimenten Wasser, Boden

und Bodenluft gewonnen werden. Oft sind nicht alle tatsächlich verwendeten Stoffe bekannt oder es liegen keine ausreichenden Beurteilungsgrundlagen für einzelne Substanzen vor. Diese Informationslücken bleiben häufig unberücksichtigt, ebenso wie mögliche Wechselwirkungen der Stoffe untereinander, sowie Abbauprodukte, die durch chemische und/oder biologische Prozesse entstanden sind.

Dem Pfad Boden-Grundwasser kommt in diesem Zusammenhang eine besondere Bedeutung zu, denn das Grundwasser ist ein sehr empfindliches Schutzgut.

Es bedarf einer integralen Betrachtung möglicher Schadwirkungen von Stoffgemischen auf aquatische Systeme. Solche Wirkungen werden für Oberflächengewässer bereits durch standardisierte ökotoxikologische Testverfahren untersucht. Deshalb wird in dieser Studie betrachtet, ob etablierte aquatische ökotoxikologische Testverfahren auch auf Grundwasserproben angewendet werden können, um von Altlasten ausgehende Verunreinigungen zu beurteilen.

Die Studie liefert einen Überblick über theoretische Grundlagen und mögliche Einsatzbereiche, zeigt aber auch Grenzen ökotoxikologischer Testverfahren als begleitendes Instrument zur Altlastenbearbeitung auf. Sie wurde von einer Arbeitsgruppe auf der Grundlage eines Leitfaden-Entwurfs „Experimentelle ökotoxikologische Bewertung von Altlasten“ des Institutes GOBIO GmbH erarbeitet (STAHLSCHEIDT-ALLNER et al. 2008). Der Arbeitsgruppe gehörten neben der Verfasserin des Leitfaden-Entwurfs Vertreterinnen und Vertreter aus den Altlasten- und Bodenschutzdezernaten der drei Regierungspräsidien und des HLUG an.

Die Studie eröffnet mit der Betrachtung der Stoffwirkungen eine neue Sicht auf die Altlastenbearbeitung. Da es sich um Neuland handelt, können nicht alle auftauchenden Fragen durch die Arbeit beantwortet werden. Sie ist deshalb als erster Schritt auf dem Weg zu einer facettenreicheren und damit umfassenderen Beurteilung von Altlasten zu verstehen. Möge sie Anstoß sein für interessante Diskussionen und vor allem für weitere Forschungen und Entwicklungen.



Dr. Thomas Schmid  
Präsident des Hessischen Landesamtes für Umwelt und Geologie

## 1 Einleitung

Im Rahmen der Altlastenbearbeitung werden für die Überprüfung der von einem Standort ausgehenden Gefahren für die Umwelt in der Regel chemische Analysen von Wasser-, Boden- und Bodenluft-Proben zur Beurteilung herangezogen.

Die Festlegung des Analysenumfanges richtet sich dabei üblicherweise nach den zugänglichen Informationen über die Stoffe, die an dem zu beurteilenden Standort eingesetzt und/oder abgelagert worden sind.

Bei Altlasten handelt es sich um Flächen, die oft mit sehr heterogenen Schadstoffgemischen belastet sind. Vielfach sind nicht alle tatsächlich eingesetzten Substanzen bekannt oder es liegen keine ausreichenden Bewertungsgrundlagen vor. Bei der Beurteilung eines Standortes müssen diese Informationslücken häufig unberücksichtigt bleiben. Auch mögliche Wechselwirkungen der Stoffe untereinander sowie Abbauprodukte, die durch chemische und/oder biologische Prozesse entstanden sind, können oft nicht genauer betrachtet werden. Es muss mit Schädwirkungen gerechnet werden, die unterschiedliche Organismen (Tiere, Pflanzen, Pilze, Bakterien) in deren Lebensfunktionen wie z.B. Stoffwechsel, Fortpflanzung und Wachstum beeinträchtigen können. Der üblicherweise auf chemisch-analytischem Wege erfolgende Nachweis der Gehalte einzelner Schadstoffe sagt über die komplexe Schädwirkung von Gemischen auf die belebte Umwelt unter Umständen nur wenig aus.

Dies war auch bei einer Sonderabfalldeponie, durch die diese Studie initiiert wurde, der Fall (siehe Beispiel in Kapitel 10). Hier ging es darum, ergänzend zu den üblichen Untersuchungen einen Weg zu finden, um die Wirkung von Sickerwässern, also Schadstoffgemischen, besser einschätzen zu können. Es bedurfte einer integralen Betrachtung möglicher Schädwirkungen von Stoffgemischen auf aquatische Systeme.

Zur Klärung der **Wirkungen** von Schadstoffgemischen aus dem Einflussbereich von Altlasten insbesondere auf das Grundwasser gibt es derzeit noch keine allgemein anerkannten Methoden und Beurteilungsmaßstäbe.

Allerdings werden solche Wirkungen an Oberflächengewässern bereits durch standardisierte ökotoxikologische Testverfahren untersucht. Sie werden

zur Erfassung der aquatischen Toxizität, z.B. im Zusammenhang mit Abwassereinleitungen, eingesetzt. Dabei wird nicht unterschieden, ob die Schadstoffe noch an Feststoffe (z.B. Bodenpartikel) gebunden sind, oder ob sie in gelöster Form vorliegen und somit bioverfügbar sind. Beobachtet wird die Schädstoffwirkung auf Organismen, die im Wasser leben.

In der vorliegenden Arbeit wird betrachtet, ob die für Oberflächengewässer entwickelten ökotoxikologischen Testverfahren auch für die Beurteilung von Grundwasserkontaminationen geeignet sind.

Die Studie liefert einen Überblick über theoretische Grundlagen und mögliche Einsatzbereiche, zeigt aber auch Grenzen ökotoxikologischer Testverfahren, wenn sie als begleitendes Instrument zur Altlastenbearbeitung eingesetzt werden.

Es werden die ökotoxikologischen Verfahren und die von der Arbeitsgruppe ausgearbeitete Empfehlung unter fachlichen Aspekten beschrieben. Damit steht ein Instrumentarium zur Verfügung, mit dem bei Einzelfällen mit unbekanntem Stoffen oder mit Schadstoffgemischen ergänzend zur üblichen Vorgehensweise zusätzliche Informationen gewonnen werden und weitere Aspekte in die Beurteilung einfließen. Dieser Weg bleibt Einzelfällen vorbehalten, er wird nicht in das „Standard-Altlastenverfahren“ eingebunden werden.

Im Vordergrund steht die Beantwortung folgender Fragen:

- Sind aquatische Organismen im Grundwasser mit denen in Oberflächengewässern vergleichbar?
- Lassen sich die für Oberflächengewässer entwickelten Methoden und Bewertungsmaßstäbe näherungsweise auf das Grundwasser übertragen?
- Welche standardisierten Testverfahren stehen zur Verfügung?
- Welche Ergebnisse liefern die Verfahren und wie sind diese dann zu bewerten?
- In welchen Fällen der Altlastenbearbeitung können ökotoxikologische Verfahren weiterhelfen und welche Randbedingungen sind hierbei zu beachten?

Zum Abschluss werden ergänzend Anwendungsbeispiele aufgeführt.

## 2 Wasser

Diese Studie beschäftigt sich mit Methoden, die für die Bewertung von Oberflächengewässern entwickelt wurden und deren Anwendbarkeit auf das Grundwasser. Deshalb werden im Folgenden die Gemeinsamkeiten und Unterschiede sowie die Verbindungen zwischen Grundwasser und Oberflächengewässer betrachtet.

### 2.1 Grundwasser

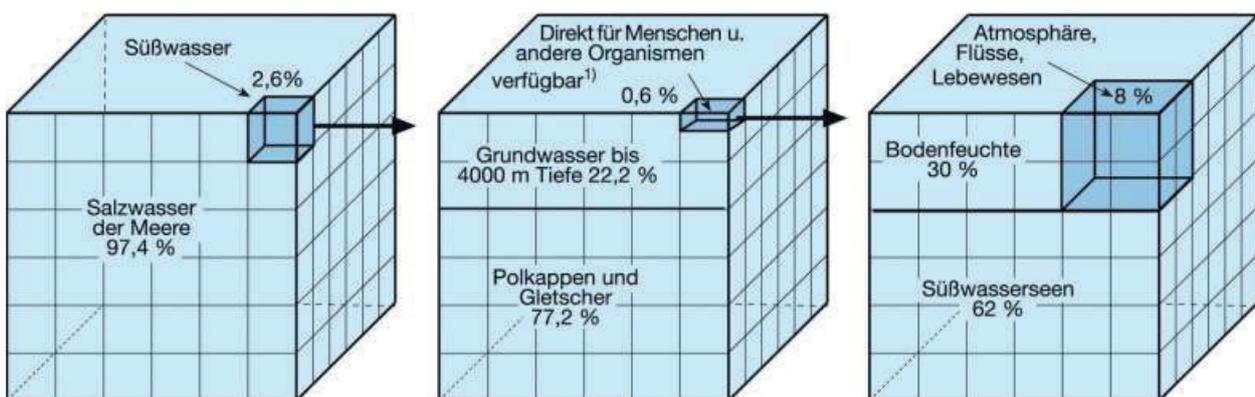
Als Grundwasser<sup>1</sup> wird das unterirdische Wasser in der Sättigungszone bezeichnet, das in unmittelbarer Berührung mit dem Boden oder dem Untergrund steht (§ 3 Ziffer 3 WHG 2009). Es entsteht dadurch, dass Niederschläge versickern oder Wasser aus Oberflächengewässern in den Boden infiltriert. Grundwasser ist mit einem rechnerischen Anteil von nur ca. 0,58 % am Gesamtwasservorkommen eine äußerst knappe Ressource. Wiederum ein Anteil von ca. 0,6 % des Süßwassers ist überhaupt für Organismen – und damit auch für den Menschen – verfügbar.

Diese Zahlen verdeutlichen die besondere Schutzwürdigkeit des Grundwassers.

Die Beschaffenheit des Grundwassers hängt von verschiedenen Prozessen ab, die während der Durchsickerung des Niederschlags- bzw. Oberflächenwassers durch den Boden und bei der Wasserbewegung innerhalb des Grundwasserleiters stattfinden. Dabei kommt es sowohl im Sickerwasser- als auch im Grundwasserbereich zu verschiedenen physikalischen, chemischen und biologischen Reinigungsprozessen, zwischen denen Wechselwirkungen bestehen. Zum einen wirken Boden und Gestein wie ein mechanischer Filter, d.h. im Wasser suspendierte, gröbere Stoffe werden zurückgehalten.

Zum anderen gibt es physikalisch-chemische Effekte, die molekular gelöste Stoffe (auch Schadstoffe) aus dem Wasser entfernen. Zu diesen Effekten zählen unter anderem die Adsorption an Gesteinsoberflächen, der Ionenaustausch, insbesondere in Tonmineralien, und die Einlagerung in Gesteinspartikeln. Chemische Vorgänge sind z. B. Oxidations- und Reduktionsreaktionen. An biologischen Prozessen sind beispielhaft die Aufnahme von im Sickerwasser gelösten Stoffen durch Pflanzen zu nennen sowie der Abbau und die Mineralisation von organischen Stoffen durch Bakterien.

Abbildung 2 zeigt die Prozesse, die im Grundwasser stattfinden können.



1) Experten des Internationalen Wassermanagement Instituts haben errechnet, dass die leicht zugängliche und wirtschaftlich günstig nutzbare Süßwassermenge auf der Erde lediglich 9000 km<sup>3</sup> beträgt.

Abb. 1: Wasservorkommen auf der Erde. (Quelle: [www.diercke.de](http://www.diercke.de))

<sup>1</sup> In dieser Ausarbeitung werden Karst- und Kluftgrundwasser nicht betrachtet, denn sie gehorchen eigenen Gesetzmäßigkeiten.

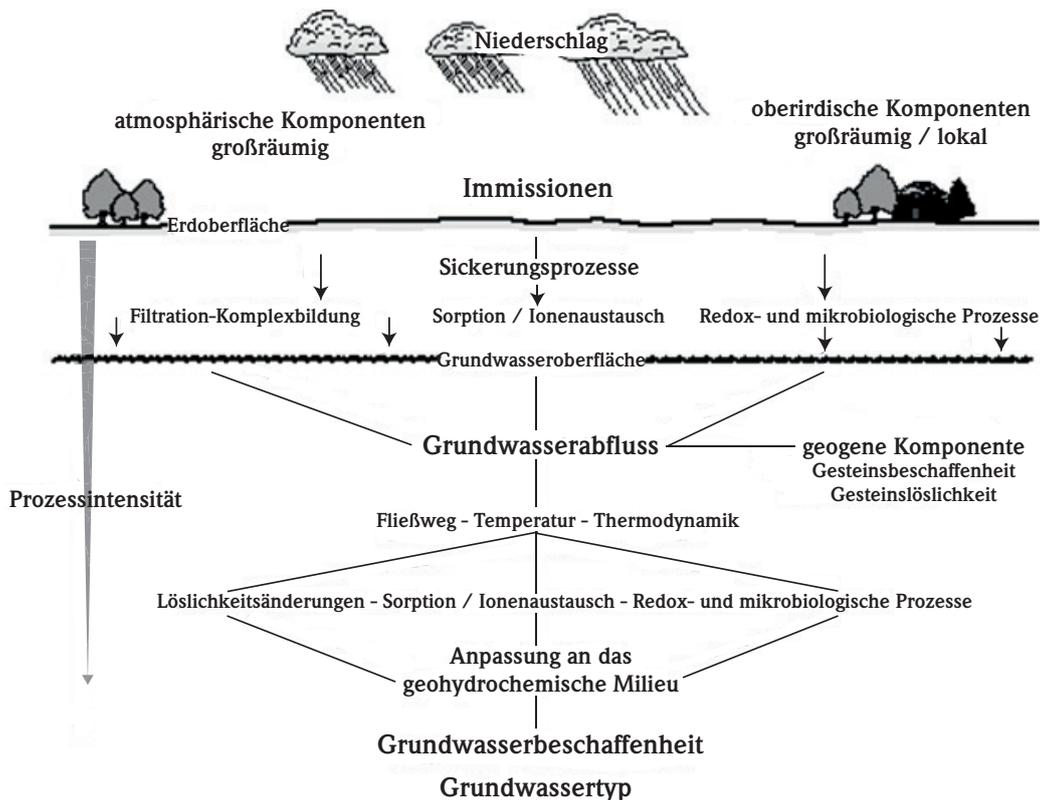


Abb. 2: Prozesse im Grund- und Sickerwasser (nach [www.geodt.com](http://www.geodt.com)).

Im Allgemeinen nimmt mit zunehmender Tiefe der grundwasserführenden Schicht der Sauerstoff- und Nährstoffgehalt im Grundwasser durch mikrobiologische Prozesse ab, gleichzeitig nimmt der Kohlendioxidgehalt zu. So ist das Grundwasser durch eine spezielle, an die dort herrschenden Lebensbedingungen angepasste Fauna besiedelt. Dabei handelt es sich vor allem um kleine Krebstiere, Würmer, Milben und Schnecken, die gut an diesen Lebensraum (unter anderem permanente Dunkelheit, geringer Lückenraum, begrenztes Nahrungsangebot) angepasst sind. Auch wenn ein großer Teil des organischen Materials bereits während der Bodenpassage des Sickerwassers abgebaut oder zurückgehalten wird, so kommt der Grundwasserfauna und den Mikroorganismen durch den stattfindenden (Schad-) Stoffabbau und die Offenhaltung der Porenräume eine wichtige Rolle im Grundwasserökosystem zu. Da die Lebensbedingungen im Grundwasser vergleichsweise konstant sind, ist dessen Fauna gegenüber Störungen besonders empfindlich. Eine vielfältige Grundwasserfauna ist daher in der Regel ein Zeichen für eine gute Wasserqualität und ein intaktes Grund-

wasserökosystem (AVRAMOV et al. 2010). Weitere Informationen zur Grundwasserfauna enthält das Kapitel 3.

## 2.2 Oberflächengewässer

Oberflächenwasser umfasst sämtliche oberirdischen Wasservorkommen, die in Bächen und Flüssen (Fließgewässer), Teichen, Seen und Feuchtgebieten (stehende Gewässer) anzutreffen sind. Dabei kann es sich um Wasser aus Quellen (Grundwasser) oder aus Niederschlägen handeln, die nicht versickert sind. In dieser Studie wird der Begriff Oberflächengewässer im Sinne von Fließgewässer verwendet.

Nur wenige Fließgewässer befinden sich noch in einem natürlichen oder naturnahen Zustand. Dieser wird meist charakterisiert durch den kleinteiligen Wechsel unterschiedlicher Lebensräume wie Sand, Kies, Feinsediment, Pflanzengesellschaften, Stromschnellen, Kehrströmungen, strömungsberuhigte Zonen, Flachwasser und Auskolkungen. Wei-

tere wichtige Strukturmerkmale von Gewässern sind Beschaffenheit und Bewuchs des Ufers, insbesondere Ufergehölz. Die unterschiedlichen Habitate werden von unterschiedlichen Organismen besiedelt. Strukturelle Diversität des Gewässers ist Grundlage für Biodiversität, eines der zentralen Qualitätskriterien der EU-Wasserrahmenrichtlinie (WRRL 2000). Die Nutzung von Oberflächengewässern als Wasserstraßen und die Beeinträchtigung durch wasserbauliche Maßnahmen, z. B. im Zuge der Gewässerunterhaltung, haben dazu geführt, dass viele Strukturmerkmale natürlicher Gewässer nicht mehr vorliegen. Sohl- und Uferverbau bedingen eine stark verminderte Tiefen- und Breitenvarianz der Gewässer. Das Wasser fließt gleichförmig und in der Folge ist auch der Lebensraum gleichförmig strukturiert.

Wasserlebende Insektenlarven sind von entscheidender Bedeutung für die Biologie der Gewässer und tragen wesentlich zur Biodiversität bei. Das Ufergehölz ist als Lebensraum der meisten erwachsenen Insekten mit wasserlebenden Larven deshalb unentbehrlich für ein funktionierendes limnisches Ökosystem. In kleineren Gewässern wird der überwiegende Teil der Nährstoffe vom Ufer aus in das Gewässer eingetragen (allochthoner Nährstoffeintrag). Nur in größeren Gewässern und Strömen entstehen die Nährstoffe im Gewässer selbst durch Zersetzen von Algen und Wasserpflanzen (autochthone Nährstoffe).

Neben den Strukturmerkmalen ist auch die Vielfalt an Nährstoffen ein wesentlicher Faktor für Biodiversität, da viele Organismen an die Aufnahme bestimmter Nährstoffe angepasst sind. Sediment aufnehmende Würmer ernähren sich von den „leicht verdaulichen“ Nährstoffen des Biofilms an Partikeloberflächen. Totholzverwertende Insektenlarven schließen mit Hilfe von symbiontischen Darmbakterien die komplexen polymeren Verbindungen des Holzes auf. So erklärt sich, dass in intakten Oberflächen-

gewässern eine Vielzahl von „biochemischen Kompetenzen“ vorhanden ist. Es können sowohl fremde Inhaltsstoffe als auch die Vielzahl der Naturstoffe von den fettartigen Speicherstoffen eines Pflanzensamens bis hin zum Holz der Ufervegetation ab- bzw. umgebaut werden.

## 2.3 Verbindung zwischen Grundwasser und Oberflächengewässer

Das Grundwasser steht mit dem Oberflächenwasser in Wechselwirkung. Die Grundwasseroberfläche kann sowohl höher als auch niedriger als der Pegel eines Oberflächengewässers liegen. Dadurch stellt sich ein Potentialgefälle ein. Je nach der Richtung dieses Potentialgefälles speist entweder das Grundwasser das Oberflächengewässer (Exfiltration beispielsweise bei Niedrigwasser) oder aber es dringt Wasser aus dem Fluss in das Grundwasser ein (Infiltration, Uferfiltrat).

### 2.3.1 Hyporheisches Interstitial

Die wichtigste Schnittstelle zwischen Oberflächenwasser und Grundwasser ist das hyporheische Interstitial, d.h. das Lückensystem der Gewässerseimente. Hier findet ein enger Austausch zwischen Oberflächenwasser und Grundwasser statt. Die Beschaffenheit dieses Lückensystems hat hierauf großen Einfluss. Das derzeit größte Problem vieler

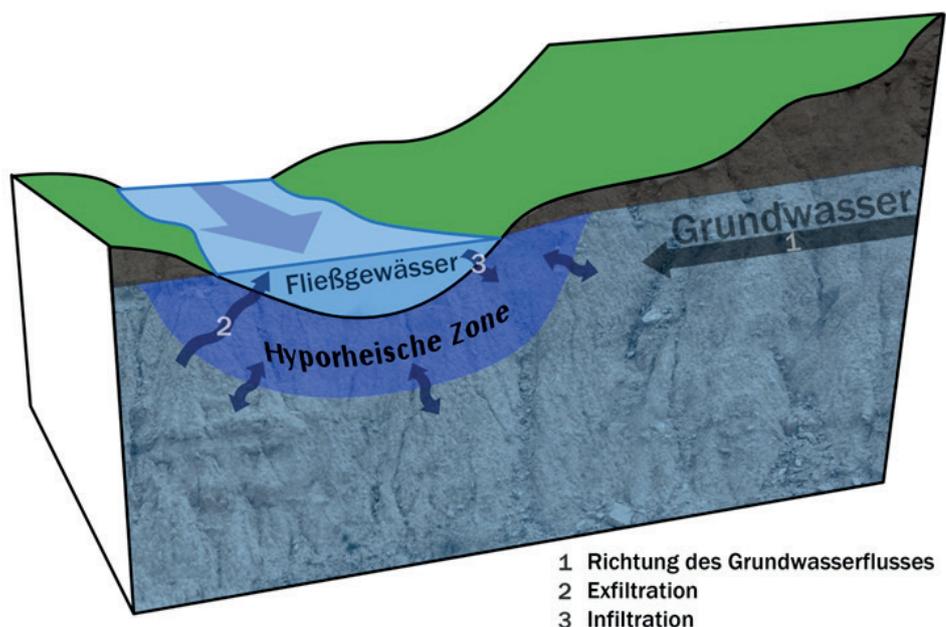


Abb. 3: Hyporheisches Interstitial.

Fließgewässer ist der Eintrag feinsten Sedimente aus dem Einzugsgebiet (Bodenerosion), oft noch in Verbindung mit einer Stauregulierung, wodurch das Lückensystem verstopft (Kolmation). Selbstreinigungskraft, Artenvielfalt und Besiedlungsdichte gehen hierdurch drastisch zurück.

Die hyporheische Zone übernimmt eine zentrale Funktion in jedem Fließgewässer: Ohne ein intaktes hyporheisches Interstitial ist kein funktionsfähiges Fließgewässerökosystem möglich.

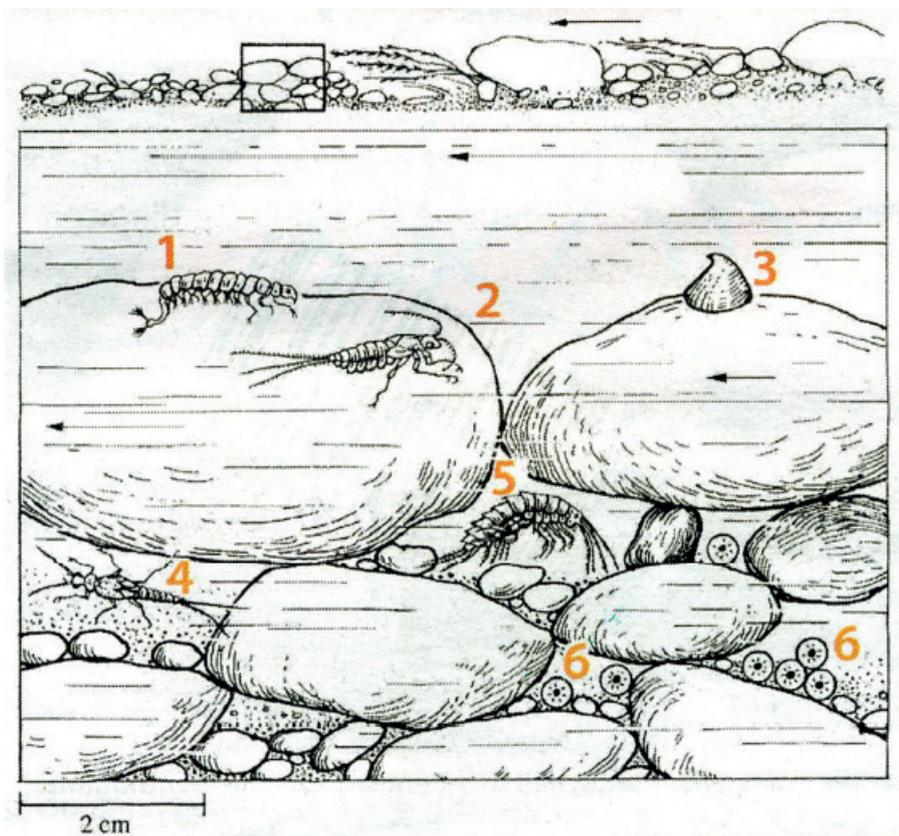
In der hyporheischen Zone finden sich der allergrößte Teil des organischen Materials sowie Bakterien und Fauna. Vor allem erfolgt hier der als Selbstreinigung bezeichnete Abbau organischen Materials.

Die Ausdehnung des hyporheischen Interstitials kann bis weit unter die Gewässersohle reichen (Dezimeter- bis Meterbereich) und seitlich bis über den Uferrand hinaus. Die Fließgeschwindigkeit in ihm

beträgt ca. 1 bis 2 Prozent der Fließgeschwindigkeit des oberirdischen Gewässers.

Für die Bewohner des Gewässerbodens wird die hyporheische Zone bei Gefahr zu einem Rückzugsort und übernimmt so eine wichtige Schutzfunktion. Manche Kleinorganismen, z.B. Junglarven von Insekten oder auch Fische, können sich hier bei Durchzug einer Verunreinigungswelle, bei sedimentumlagernden Hochwasserereignissen oder auch beim Austrocknen des Gewässers zurückziehen. Nach einer solchen größeren Störung können die Organismen von hier aus das Gewässerbett wieder besiedeln.

Das hyporheische Interstitial ist auch ein Temperaturrefugium. In 20 – 30 cm unter der Gewässersohle kühlt in gemäßigten Klimaten das Porenwasser niemals unter 3 – 4 ° C ab. Aus diesem Grund suchen im Winter besonders viele Fließwassertiere das hyporheische Interstitial auf (nach SCHWOERBEL 1993).



**Abb. 4:** Detailausschnitt zum Lebensraum des hyporheischen Interstitials  
(1 - Köcherfliegenlarve,  
2 - Eintagsfliegenlarve,  
3 - Flussnapfschnecke,  
4 - Steinfliegenlarve,  
5 - Bachflohkrebs,  
6 - Forelleneier)  
aus: Patt, Jürging & Kraus (2004).

### 2.3.2 Quellen

Quellwasser wird hydrologisch definiert als Grundwasser, das aus Karst- oder Porengrundwasserquellen zu Tage tritt. Ökologisch betrachtet sind Quellen jedoch eigenständige Lebensräume im Übergangsbereich zwischen Grund- und Oberflächenwasser, dem sogenannten Krenal.

Quellen sind von hochangepassten Lebensgemeinschaften besiedelt. Allein aus Mitteleuropa sind um die 500 Tierarten bekannt, die nur in Quellen vorkommen. Die quellbewohnenden Organismen werden als **Krenobionte** bezeichnet. Das Krenal weist hinsichtlich seiner physikalischen und chemischen Faktoren jahreszeitlich eine hohe Konstanz auf. Deshalb reagieren viele dieser Tiere sehr empfindlich auf Störungen. Quellen sind, außer bei starker Belastung des Grundwassers, nährstoffarme Gewässer.

Eine wesentliche Anpassung an den Lebensraum Quelle ist die Fähigkeit der Organismen Stoffe aus dem Wasser aufzunehmen, selbst dann, wenn diese nur in Spuren vorkommen. Dies führt dazu, dass auch Schadstoffe in hohem Maße in Organismen angereichert werden. Verunreinigungen dieses Lebensraums stellen somit ein höheres Umweltrisiko dar, als dies bei Belastungen der nährstoffreicheren Unterläufe der Fall ist.

### 2.4 Vergleich zwischen Grundwasser und Oberflächengewässer

Im Gegensatz zum Grundwasser ist für Oberflächengewässer wesentlich, dass sie für Stoffeinträge aller Art (z.B. über die Expositionspfade Luft-Oberflächenwasser und Boden-Oberflächenwasser) sehr leicht und schnell erreichbar sind. Auch im natürlichen Zustand gelangt ein breites Spektrum an sehr unterschiedlichen Stoffen in die Oberflächengewässer.

Dieser Stoffeintrag unterliegt starken saisonalen Schwankungen.

Die Lebensgemeinschaften der Fließgewässer sind an diese Umweltbedingungen angepasst. Sie verfügen über ein breites Spektrum an „biochemischen Kompetenzen“.

Zum besseren Verständnis dieses Sachverhaltes ist es hilfreich, sich den Stoffeintrag in ein Oberflächengewässer im Herbst zur Zeit des Laubfalls und der Samenreife zu vergegenwärtigen. Innerhalb von oft nur wenigen Tagen werden durch starke Niederschläge die verschiedensten Speicherfette, -öle, Kohlenhydrate und Mineralstoffe (z. B. Holz und andere Pflanzenfasern, Humus etc.) in ein Gewässer eingetragen und abgebaut.

Die natürlichen Stoffeinträge aus Niederschlag und Oberflächengewässer ins Grundwasser sind demgegenüber sehr viel gleichförmiger. Deshalb sind die Organismen des Grundwassers nur an die Nutzung eines eng begrenzten Stoffspektrums angepasst. Entsprechend ist ihre biochemische Kompetenz deutlich geringer. Das heißt, Stoffwechselprozesse laufen wesentlich langsamer ab als im Oberflächengewässer. Die chemisch-physikalischen Verhältnisse sind so, dass für diesen Teil der aquatischen Umwelt nur mit einer geringen Reduktion der Schadwirkung durch Adsorption oder Bioabbau zu rechnen ist. Dadurch können „oberirdisch“ leicht abbaubare Verbindungen im Grundwasser „quasi persistent“ werden.

Im Gegensatz zu Oberflächengewässern herrschen im Grundwasser weitgehend konstante Temperaturen von 8 - 11 °C. Alle physikochemischen und biologischen Prozesse, die an Licht (z.B. Photosynthese) gebunden sind, finden nicht statt.

In der Regel hat das Grundwasser einen niedrigeren Sauerstoffgehalt als das Oberflächengewässer.

In Tabelle 1 sind die wesentlichen Unterschiede stichpunktartig aufgeführt:

**Tabelle 1:** Einige wesentliche Unterschiede zwischen Oberflächengewässer und Grundwasser.

Kriterium	Fließgewässer	Grundwasser
Lichtverhältnisse	Tageslicht	Dunkelheit
Nahrungsangebot	vielfältig	eher nährstoffarm; Detritus, gelöste Stoffe
Platzangebot	gesamtes Gewässerbett	eingeschränkt in wassergefüllten Poren und Klüften
Temperatur	jahreszeitlich bedingt stark schwankend	konstant
Sauerstoffgehalt	schwankend, eher hoch	eher niedrig, abnehmend mit zunehmender Tiefe
Einfluss der Jahreszeiten	vorhanden	kaum vorhanden
Verschmutzungsempfindlichkeit	eher gering, da „Selbstreinigung“	hoch
Fließgeschwindigkeit	m/s	m/a
Biochemische Kompetenz	hoch	gering

### 3 Grundwasserfauna

Das Grundwasser ist Aufenthaltsraum und Umwelt für zahlreiche Lebewesen und Lebensgemeinschaften. In Europa sind bisher ca. 2 000 Tierarten bekannt (Deutschland: > 500), die im Grundwasser vorkommen. Das Grundwasser gilt als Extremhabitat: Im Unterschied zu oberirdischen Systemen herrschen permanente Dunkelheit, Sauerstoffarmut, Nahrungs- und Platzmangel. Zudem gibt es eine geringe Vielfalt an Lebensräumen und relativ konstante physikalisch-chemische Bedingungen.

Diese Eigenschaften führen bei der Grundwasserfauna zu typischen Anpassungen: Die Lebewesen sind klein und langgestreckt, farblos und oft blind. Dafür besitzen Grundwassertiere ausgeprägte Tast- und Riechorgane. Weitere Kennzeichen der Grundwasserfauna sind verlangsamte Lebensabläufe (reduzierte Stoffwechselaktivitäten) und Fortpflanzungszyklen sowie eine lange Lebenserwartung. Trotz der extremen Bedingungen finden sich im Grundwasser sehr variable Lebensformen. Dazu gehören Mikroorganismen, Vertebraten (Wirbeltiere) und nahezu alle Großgruppen der Invertebraten (Wirbellose).

Wie die Grundwasserbewohner in ihrem Lebensraum überleben, ist neben der Verteilung abiotischer Faktoren (Sauerstoff, Nährstoffe, Redoxverhältnisse) entscheidend von der Zufuhr organischer Substanz abhängig.

Das Verbreitungsgebiet der Grundwasserarten ist räumlich meist sehr eingeschränkt. Die Ursache dafür findet sich in der geringen Verbindung zu anderen Lebensräumen. Aufgrund des hohen Anteils endemischer Arten (Organismen, deren Vorkommen auf einen räumlich begrenzten Standort beschränkt sind) ist eine vergleichende Bewertung des ökologischen Zustands von Grundwasserlebensräumen in Analogie zu den Verfahren der EU-Wasserrahmenrichtlinie für Oberflächengewässer schwierig. Es wird zurzeit an Möglichkeiten gearbeitet, den ökologischen Zustand von Grundwasser-Lebensgemeinschaften zu erfassen. (LAWA-Projekt „Entwicklung biologischer Bewertungsmethoden und –kriterien für Grundwasserökosysteme“; Stand Januar 2014: Der Druck des Berichtes wird vom UBA vorbereitet. (UBA 2014))

### 3.1 Unterteilung der Grundwasserfauna nach Lebensräumen

Entsprechend ihrer bevorzugten Lebensräume können die im Grundwasser und hyporheischen Interstitial lebenden Organismen in verschiedene Lebensgemeinschaften klassifiziert werden (Abb. 5).

Die Organismengemeinschaften, die ausschließlich im Grundwasser leben, werden als Stygofauna bezeichnet. Zu ihnen gehören auch die Tiere, die im hyporheischen Interstitial leben, das physikochemisch vom Oberflächengewässer beeinflusst wird. Hinsichtlich der Affinität der Arten zum Grundwasser unterscheidet man zwischen stygobionten und stygophilen Organismen. Stygobionte Orga-

nismen durchlaufen ihren gesamten Lebenszyklus im Grundwasser und können in oberirdischen Habitaten nicht längere Zeit überleben. Dagegen sind **stygophile Organismen** auch im Oberflächenwasser überlebens- und reproduktionsfähig. Sie bevorzugen allerdings den unterirdischen Lebensraum und durchlaufen dort den gesamten oder Teile ihres Lebenszyklus. Stygophile Arten werden in permanent hyporheisch und gelegentlich hyporheisch unterteilt. Gelegentlich hyporheische Organismen sind insbesondere aquatische Insekten, die ihre Eier im Gewässerbett ablegen, wo sich dann die ersten Larvenstadien entwickeln.

Amphibische Arten brauchen sowohl ober- als auch unterirdische Lebensräume. Man findet im Grundwasser allerdings auch Arten, die dort langfristig nicht überlebensfähig sind. Diese **stygoxenen** Organismen werden passiv ins Grundwasser verfrachtet.

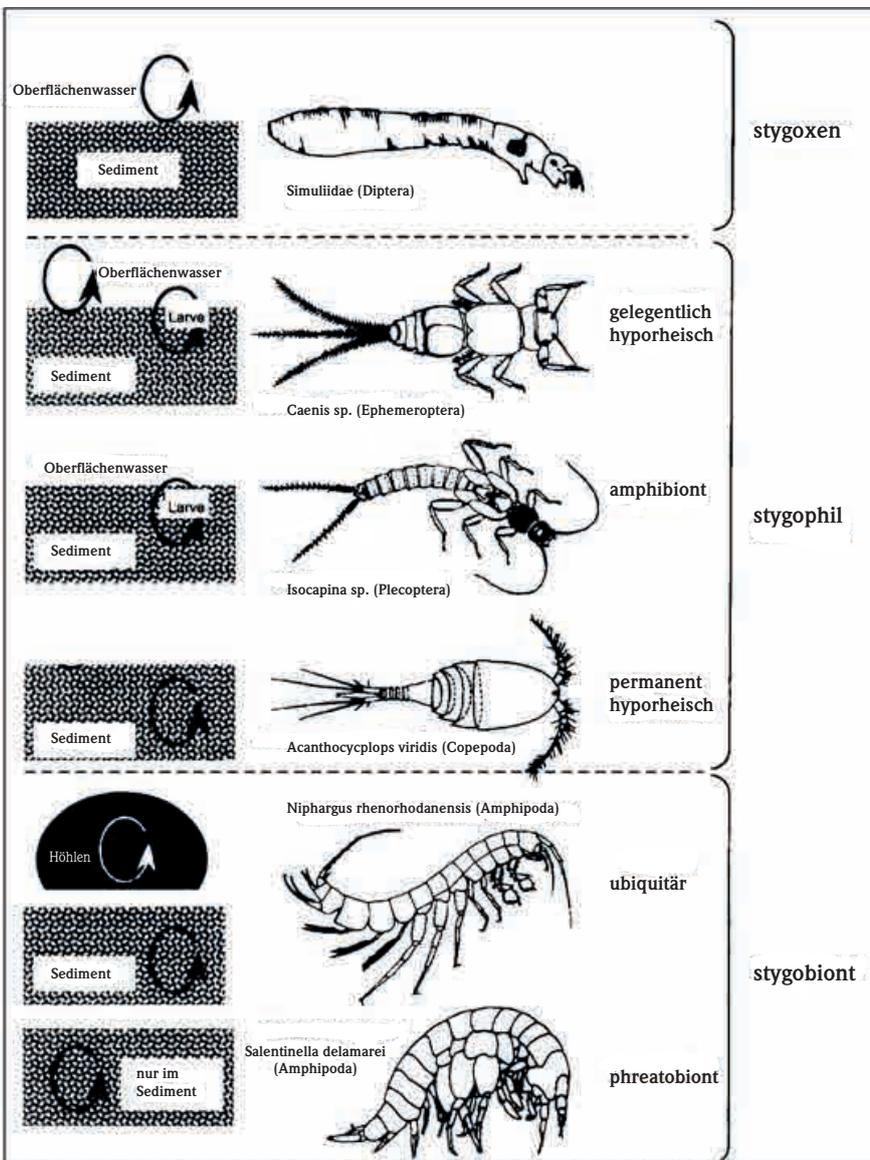


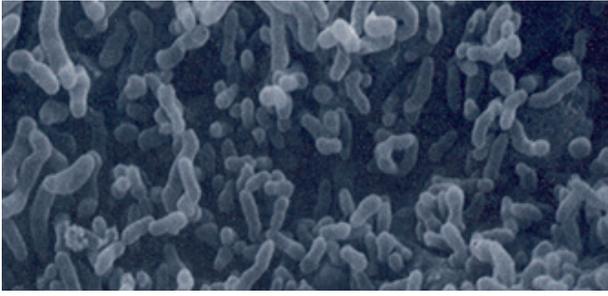
Abb.5: Klassifizierung der Grundwasserfauna anhand räumlicher Aufenthaltspräferenzen. (Griebler & Mösslacher 2003)

### 3.2 Zusammensetzung der Grundwasserlebensgemeinschaft

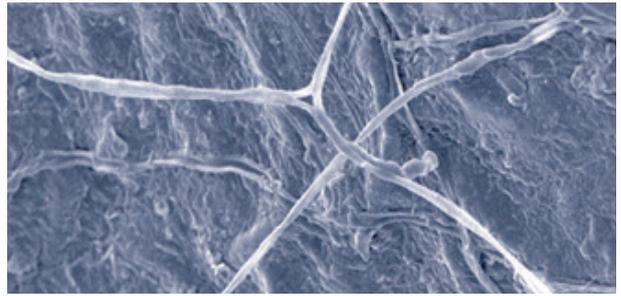
Die Grundwasserlebensgemeinschaft setzt sich hauptsächlich aus Bakterien, Einzellern, Pilzen (in oberflächennahen Bereichen), Rotatorien (Rädertierchen), Turbellaren (Strudelwürmer), Nematoden (Fadenwürmer), Anneliden (Gliederwürmer), Gastropoden (Mollusken), Acari (Milben) und vor allem aus Crustaceen (Kleinkrebse) zusammen.

Daneben treten aber auch Vertreter der Zehnfüßkrebse (Krebse und Krabben) sowie Fische und Lurche als Vertreter der Vertebraten (Wirbeltiere) auf. Die Abbildungen 6 bis 9 zeigen einige ausgewählte typische Vertreter.

Im Unterschied zu Oberflächengewässern wird in unterirdische Schichten keine Energie durch



**Abb. 6:** Bakterien auf Feststoffpartikeln, 5000-fache Vergrößerung. (VDG 2005)



**Abb. 7:** Myzel von aquatischen Pilzen. (VDG 2005)

die Sonne eingetragen. Es fehlt also die Produktion von Biomasse durch Pflanzen, so dass die Organismen auf den Energieeintrag von der Erdoberfläche angewiesen sind. Gelöstes organisches Material gelangt nur zu einem geringen Anteil in tiefere Schichten. Auf dem Weg durch die biologisch aktiven Bodenschichten werden die meisten Nährstoffe bereits aufgebraucht. Unbelastete Grundwassersysteme sind demzufolge nährstoffarm. Im Grundwasser kommen hauptsächlich heterotrophe Organismen vor, die ihre Energie aus organischer Substanz gewinnen. Sie weisen eine langsame Regenerationszeit und geringe Stoffwechselaktivität auf. Autotrophe Organismen, die sich durch anorganische Stoffe ernähren, sind hingegen kaum vorhanden.

Wie Nährstoffe wird auch Sauerstoff von außerhalb in das Grundwasser transportiert. Wenn der Sauerstoffeintrag größer ist als dessen Zehrung, bleibt der Grundwasserleiter im oxischen Bereich. Nimmt die Zehrung aber zu und wird größer als der Sau-

erstoffeintrag, entstehen anoxische Zonen, in denen Organismen der Meio- und Makrofauna (> 0,2 – 80 mm) nicht mehr überleben können.

Durch die geringe Anzahl autotropher Organismen sind Artengemeinschaften im Grundwasser im Vergleich zu denen der Oberflächengewässer in ihrer Zusammensetzung und Diversität stark reduziert. Die Basis von Nahrungsketten bilden meist fest-sitzende heterotrophe Bakterien (Mikrokolonien und Biofilme), die als Destruenten fungieren. Diese werden von Weidegängern gefressen. Die Rolle von Räubern und Endkonsumenten übernehmen allesfressende Makroorganismen. Die Grundlage dieser Nahrungsnetze bildet das gelöste organische Material (DOM, dissolved organic matter), denn es speist die organo-heterotrophe Lebensgemeinschaft (Abb. 10).

Neben dem gelösten organischen Material werden die Grundwasserorganismen auch durch partiku-



**Abb. 8:** *Troglochaetus beranecki*, Annelida, (Ringelwurm). (VDG 2005)



**Abb. 9:** *Niphargus fontanus*, Amphipoda, Crustaceae. (VDG 2005)

läres organisches Material (POM) gespeist. Dieses gelangt durch die schmalen Porenräume nur in sehr geringen Mengen in tiefere Bodenschichten, wird aber auch unterirdisch aus abgestorbenen Organismen (Detritus) und Exkrementen gebildet.

### 3.3 Ökologische Bedeutung der Grundwasserfauna

Die Grundwasserfauna bewerkstelligt den Umbau von organischem und anorganischem Material. Nährstoffe werden im Grundwasser im Wesentlichen durch die dort lebenden Organismen mineralisiert. Durch diese Prozesse werden die Porenräume freigehalten. Die Vertreter der Meio- und Makrofauna wirken durch ihre Grabtätigkeit (Bioturbation) und durch den Bakterienfraß als "Ökosystem-Ingenieure". Sie verhindern durch die Regulation des Bakterienwachstums eine übermäßige Biofilmbildung. Kolmation (Verstopfung des Lückensystems) wird so vermieden und die Durchlässigkeit des Sediments erhöht. Durch die Aufnahme der Stoffe über Mund oder Verdauungstrakt (Ingestion) wird partikuläres organisches Material umgewandelt, oberflächengebundene (Nähr-)Stoffe werden bioverfügbar.

Eine intakte Grundwasserfauna ist von wesentlicher Bedeutung für den qualitativen Zustand des Grund- und damit auch des Trinkwassers. Eine kostengünstige Bereitstellung von Trinkwasser ist an ein intaktes Grundwasserökosystem mit seinen darin lebenden Organismengemeinschaften gekoppelt. Stoffabbauende Mikroorganismen sind ein wesentlicher Faktor der Schadstoffeliminierung.

Voraussetzung hierfür ist allerdings, dass Nährstoffe verfügbar sind und dass eine entsprechend angepasste Grundwasserlebensgemeinschaft mit ihren unterschiedlichen Funktionen (Destruenten, Weidegänger, Räuber, siehe Abb. 10) vorhanden ist.

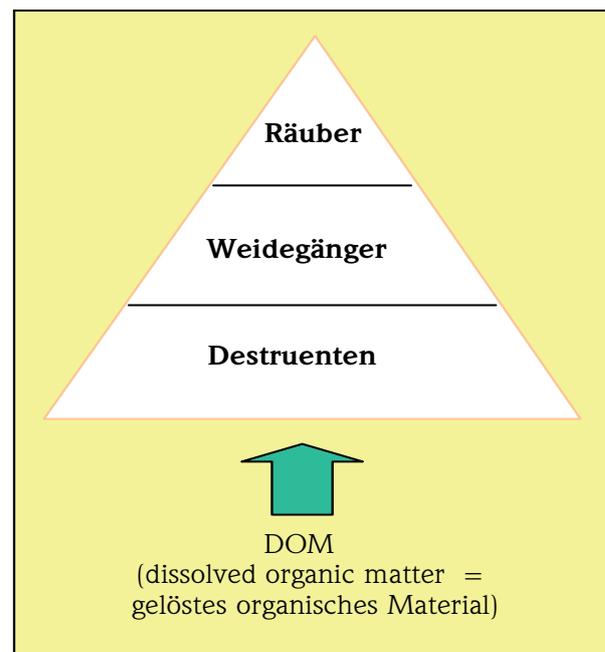
Beim Abbau in das Grundwasser eingetragener Schadstoffe spielen Anpassungsprozesse eine wichtige Rolle. In vielen Fällen ist der Abbau von Stoffen nicht durch eine Organismenart oder -gruppe allein möglich, sondern nur durch das Zusammenwirken verschiedener Organismen mit unterschiedlichem Stoffwechsellpotenzial (z. B. oxidativer Abbau orga-

nischer Schadstoffe, mit Sulfat oder CO<sub>2</sub> als Elektrodenakzeptor).

Obwohl die biologischen Prozesse im Grundwasser gegenüber den Prozessen in Böden und oberirdischen Gewässern stark verlangsamt sind, kommt ihnen eine entscheidende Bedeutung für den ökologischen Zustand und damit für die Grundwasserqualität zu.

Bei einer Beeinträchtigung bzw. Zerstörung der Grundwasserfauna, z. B. durch hohe Schadstoffkonzentrationen, wird die Nahrungskette unter Umständen unterbrochen, so dass Stoffe nicht oder nur unzureichend abgebaut werden.

Neben dem Abbau natürlicher organischer Verbindungen und anthropogener Schadstoffe ist die Grundwasserfauna auch in begrenztem Umfang für den Rückhalt von anorganischen Nährstoffen (wie z. B. Nitrat und Phosphat aus der landwirtschaftlichen Düngung) durch Resorption oder Bioakkumulation bedeutsam.



**Abb. 10:** Schema der Nahrungspyramide des Grundwassers. [nach (Griebler & Mösslacher 2003), S. 266 f, verändert]

Eine weitere wichtige Gruppe von Kontaminanten sind pathogene Mikroorganismen und Viren, die mit dem Sickerwasser von gülle- und mistbesickelten Feldern und von Viehhaltungsbetrieben in den Grundwasserleiter gelangen können. Auch diese können durch eine intakte Grundwasserfauna zurückgehalten bzw. eliminiert werden.

Die Existenz von Nahrungsketten und die Biodiversität der Grundwasserfauna dürfen jedoch nicht dazu verleiten, den Grundwasserlebensgemeinschaften eine den Oberflächengewässern auch nur annähernd vergleichbare Stoffwechsellkapazität und damit ver-

bindende Selbstreinigungskraft zuzuschreiben. Da dieses Ökosystem von der Primärproduktion weitgehend abgekoppelt ist, ist es folglich nicht auf den Eintrag von komplexen Stoffgemischen und deren Umsetzung eingestellt.

## 4 Grundlagen der Ökotoxikologie

Die Ökotoxikologie befasst sich mit den Auswirkungen von Stoffen auf die belebte Umwelt. Sie ist eine multidisziplinäre Umweltwissenschaft und vereinigt Aspekte und Fragestellungen aus Umweltchemie, Biologie, Toxikologie und Ökologie. Die Humantoxikologie befasst sich mit den schädlichen Wirkungen von Stoffen auf den Menschen.

Die Ökotoxikologie liefert die Grundlage, um eine Gefährdungsermittlung für Stoffe durchführen zu können. So sollen die Risiken, die von einer Substanz für Lebewesen, Lebensgemeinschaften und die Umwelt ausgehen, beurteilt werden.

Zum besseren Verständnis werden einige ökotoxikologische Grundgrößen, die zur Voraussage der Wirkung einer Substanz auf die Umwelt (Schwerpunkt: aquatische Umwelt) benötigt werden, kurz erläutert. Zur Vertiefung sei auf die Literatur im Anhang 6 verwiesen.

Anhang 3 enthält weitere Ausführungen zu ökotoxikologischen Kenngrößen und Qualitätsnormen.

### 4.1 Begriffe

#### Toxizität

In der toxikologischen Bewertung wird vor allem die **Wirkung** von Substanzen beurteilt. Hierbei unterscheidet man:

##### 1. akute Toxizität

Die akute Toxizität ist nach einmaliger Verabreichung oder einer kurzen Zeitperiode festzustellen. Sie wird in der Regel an der Sterblichkeit gemessen.

##### 2. chronische Toxizität

Die Toxizität nach Exposition über einen längeren

Zeitraum wird als chronische Toxizität bezeichnet. Die Tests können Tage, Wochen, Monate oder Jahre dauern. Bestimmt wird die subletale (nicht tödliche) Wirkung, wie z.B. Missbildungen, vermindertes Wachstum, verringerte Fruchtbarkeit.

Die Toxizität eines Stoffes ist abhängig von seinem Wirkmechanismus und von der aufgenommenen Menge bzw. Konzentration.

#### Toxikokinetik und Toxikodynamik

In der Ökotoxikologie unterscheidet man Toxikokinetik und Toxikodynamik.

Die **Toxikokinetik** beschäftigt sich mit der Frage: „Was macht der Organismus mit der Substanz?“, d.h. es werden Mechanismen der Aufnahme, Anreicherung, Umwandlung und Ausscheidung von Stoffen durch den Organismus betrachtet.

Die **Toxikodynamik** hingegen beantwortet die Frage: „Was macht die Substanz mit dem Organismus?“. Hier werden Wirkungen von Stoffen (z.B. Toxizität) auf den Organismus betrachtet. (OEHLMANN 2012)

#### Bioverfügbarkeit

In der Pharmakologie meint der Begriff der Bioverfügbarkeit die Menge einer Substanz, die im Blutkreislauf in gelöster Form zur Verfügung steht.

Dies wurde insoweit in die Ökotoxikologie übertragen, als man hierunter zunächst nur den in der wässrigen Phase befindlichen Teil einer Substanz ansprach. Aus diesem Grund messen ökotoxikologische Testverfahren traditionell die Wirkung von **gelösten** Substanzen. Erst in den letzten Jahren hat man begonnen, für Böden und Sedimente so

genannte Kontakttests zu entwickeln, in denen der Testorganismus nicht nur den im Porenwasser gelösten Stoffen ausgesetzt ist. Bei diesen Verfahren ist ein direkter Austausch von Stoffen zwischen der kontaminierten Matrix und dem Organismus möglich (FEILER et al. 2005).

Die Aufnahme einer Substanz in einen Organismus hängt wesentlich davon ab, wie mobil sie ist und ob sie in gelöster Form vorliegt. Deshalb ist ihre Verteilung in den Medien Boden, Luft und Wasser von Bedeutung. Der Austausch von Chemikalien zwischen diesen einzelnen Umweltkompartimenten wird durch Konstanten und Koeffizienten beschrieben. Als Beispiele seien genannt: die Henry-Konstante  $k_H$  ist ein Maß für die Gasaufnahme-fähigkeit einer Wasserphase oder Lösung; der Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizient  $K_{ow}$  als bekanntester Flüssig-Flüssig-Verteilungskoeffizient, der ein Modellmaß für das Verhältnis zwischen Fettlöslichkeit und Wasserlöslichkeit einer Substanz ist.

Diese physikochemischen Eigenschaften bestimmen die Bioverfügbarkeit von Substanzen.

### **Bioakkumulation**

Bioakkumulation ist die Anreicherung einer Substanz in einem Organismus. Dies geschieht einerseits durch die Aufnahme aus dem umgebenden Medium über die „Haut“ und die Atmungsorgane (**Biokonzentration**), außerdem durch die Aufnahme über die Nahrung (**Biomagnifikation**).

Anreicherungsverfahren über die Nahrungskette sind in der aquatischen Umwelt besonders dann sehr effektiv, wenn filtrierende Organismen (wie z.B. Wasserflöhe, viele Insektenlarven) von Räubern gefressen werden. Viele wirbellose Organismen des Gewässerbodens ernähren sich in erster Linie von den Mikroben, die die Pflanzenpartikel besiedeln (Biofilm). Dabei wird eine relativ große Menge an organischem Material mitsamt Besiedlung aufgenommen, von dem nur ein verschwindend geringer Teil als Nahrung genutzt wird. Im Darm der Organismen liegen andere pH-Werte und Redoxverhältnisse vor. Dies kann dazu führen, dass Substanzen, die zuvor im Wasser, an Kornoberflächen, an Pflanzen oder Schwebstoffen etc. stabil adsorbiert waren, in Lösung gehen. So werden mit dem leicht verdaulichen oberflächlichen Biofilm auch Fremdstoffe aufgenom-

men. Diese können je nach Stoffeigenschaften im Organismus angereichert werden. Biomagnifikations-Vorgänge tragen wesentlich zur Verteilung von Schadstoffen in der Umwelt bei.

### **Biotransformation**

In der aquatischen Umwelt werden zahlreiche Stoffe durch Mikroorganismen biotransformiert.

**Biotransformation** umfasst alle Prozesse, bei denen innerhalb eines Organismus körperfremde Substanzen durch enzymatische Stoffwechselreaktionen umgewandelt werden. Beispiel für eine solche Umwandlung ist die Überführung einer Substanz in eine wasserlösliche und damit besser über den Harn ausscheidbare Verbindung. Man spricht in dem Fall auch von einer „Entgiftung“.

Da die zugrunde liegenden enzymatischen Prozesse ungerichtet ablaufen, können im Rahmen der Biotransformation umgekehrt auch inaktive Stoffe in biologisch aktive Verbindungen umgewandelt werden. Man spricht dann von einer Bioaktivierung. Hierzu zählt auch die Umwandlung nichttoxischer Substanzen in Giftstoffe (Biotoxifizierung oder „Giftung“).

### **Bioabbau**

Der Bioabbau ist die Veränderung von organischen Stoffen vor allem durch Mikroorganismen (Bakterien, Pilze, Algen) bis hin zur Mineralisierung. Er findet nicht statt bei persistenten Verbindungen.

Wesentliche Faktoren, die den Bioabbau von Fremdstoffen beeinflussen, sind Sauerstoffgehalt, Licht, Verfügbarkeit und Löslichkeit von organischen Nährstoffen und Nährsalzen, sowie von Kleinstpartikeln als Siedlungssubstrat für Organismen.

Es wird unterschieden zwischen

- a) Primärabbau, bei dem ein Stoff durch Zerlegung in einfachere Bestandteile bestimmte charakteristische Eigenschaften verliert.
- b) Endabbau, d.h. vollständiger Abbau zu stabilen anorganischen Produkten. Dabei entsteht durch die Vermehrung der Mikroorganismen neue Biomasse neben Kohlenstoffdioxid, Wasser und Mineralsalzen.

Verschiedene physikochemische Rahmenbedingungen haben einen Einfluss auf oberflächengebundene Schadstoffe. In Verdauungsorganen der Organismen herrschen pH-, Redox-, und Leitfähig-

keitswerte, die sich erheblich von den Bedingungen der aquatischen Umwelt unterscheiden. Fremdstoffe können bei der Verdauung

- in wasserlösliche Form überführt,
- chemisch umgesetzt (biotransformiert),
- abgebaut,
- oder in Zellen eingelagert und über die Nahrungskette in räuberische Organismen übertragen und so bioakkumuliert werden.

Diese Stoffumsetzungen sind an den ökologischen Zustand des jeweiligen Lebensraumes gebunden. Während im Grundwasser nur eine geringe Besiedlung existiert, sind im Oberflächengewässer wesentlich mehr Organismen vorhanden. Je nach Belastung und Struktur eines Oberflächengewässers kann die Besiedlungsdichte pro m<sup>2</sup> eines Gewässerbodens 1 000 bis über 20 000 Individuen des Makrozoobenthos (Würmer, Kleinkrebse, Insektenlarven, Wasserkäfer, Wanzen) aus 20 bis 60 verschiedenen taxonomischen Gruppen betragen<sup>2</sup>. Diese Organismen verfügen über sehr unterschiedliche Ernährungsstrategien und besiedeln im günstigen Fall alle vorhandenen Mikrohabitate wie Steine, Sand, Kies und Pflanzen. Mit dieser biologischen Vielfalt geht eine Vielfalt der Stoffwechsellkapazität einher, womit es wahrscheinlicher wird, dass ein Fremdstoff umgesetzt wird. Die biologische „Selbstreinigungskraft“ des Gewässers ist an die vielfältige Besiedlung mit Organismen gebunden.

### **Exposition**

Die Exposition bezeichnet die Summe aller Umgebungseinflüsse, die auf einen Gegenstand oder ein Lebewesen einwirken. Diese Einflüsse können biologischer, chemischer oder physikalischer Natur sein.

## **4.2 Ökotoxikologische Umweltrisikobeurteilung**

Die **Umweltrisikobeurteilung** stellt auf das Inverkehrbringen von Substanzen ab. Sie unterscheidet sich damit wesentlich von dem hier verfolgten Ansatz einer ökotoxikologischen Bewertung von Altlasten. Das Verfahren wird daher an dieser Stelle nur der Vollständigkeit halber erwähnt.

Bei der Umweltrisikobeurteilung handelt es sich um ein prognostisches Verfahren. Es erlaubt unter Rückgriff auf verfügbare Toxizitätsdaten sowie Vorhersagen zur Exposition des Ökosystems eine Abschätzung zu voraussichtlichen Auswirkungen von Substanzen auf die Umwelt.

In die Expositionsabschätzung fließen Verwendung, Eintragsmenge und -charakteristik der zu beurteilenden Substanz, deren Verhalten in der Umwelt (Ausbreitung, Abbau und Umwandlung) sowie deren umweltchemischer Nachweis ein. Daraus ergibt sich die zu erwartende Konzentration in der Umwelt (PEC = Predicted Environmental Concentration). Dieser wird das Ergebnis der Wirkungsanalyse gegenübergestellt. Nähere Erläuterungen hierzu finden sich im Anhang 3.

## **5 Verfahren zur Erfassung von akuten und chronischen Schädwirkungen in der Ökotoxikologie**

Im Altlastenbereich werden Gefährdungen durch Schadstoffe ermittelt, indem ihre Konzentration analysiert wird. Toxische Effekte können nur bedingt beurteilt werden, denn es werden hierbei i. W. nur Stoffe betrachtet, nach denen auch gezielt gesucht wird. Über deren Bioverfügbarkeit kann dabei

ebenso wenig ausgesagt werden wie über mögliche Kombinationswirkungen untereinander.

Um schädliche Effekte auf biologische Systeme zu erfassen, bedarf es daher Verfahren, die geeignet sind, die Wirkungen aller bioverfügbaren Stoffe gleichzeitig zu erfassen.

<sup>2</sup> Beispiel: Makrozoobenthos der Donau, (Uni Kassel 2005)

In den vergangenen 30 bis 40 Jahren wurden insbesondere für den aquatischen Bereich eine Reihe ökotoxikologischer Testverfahren entwickelt. Abhängig vom gewählten Testverfahren sowie der Dauer des Tests können auch Aussagen zu akut- oder chronisch-toxischen Effekten sowie zur Bioakkumulation von Schadstoffen getroffen werden.

## 5.1 Anwendung von Ökotoxizitätstests für aquatische Ökosysteme

Die bei Biotests (Ökotoxizitätstests) verwendeten Organismen weisen eine hohe Sensitivität auf, verfügen über kurze Generationszeiten, und sie sind einfach und unter standardisierten Bedingungen zu halten (siehe Tabelle 2).

Die Vergleichbarkeit und Reproduzierbarkeit der mit diesen Tests erzielten Ergebnisse werden über eine entsprechende Standardisierung innerhalb der nationalen und internationalen Normung erreicht. Die Untersuchungsstelle muss für den jeweiligen Test akkreditiert sein (Hinweise zur Akkreditierung in Anhang 4.3).

Um das Ökosystem in seiner Gesamtheit abzubilden, werden die gängigen Monospezies tests häufig zu einer sogenannten "Testbatterie" zusammengefasst, welche die verschiedenen Trophieebenen (Destruenten, Primärproduzenten, Primärkonsumenten, Sekundärkonsumenten) der Nahrungskette im Gewässer repräsentiert.

In der Normung sind unter Berücksichtigung der vorgenannten Randbedingungen inzwischen folgende Organismen etabliert:

- Für die Gruppe der Destruenten (Bakterien, Pilze)
  - ▶ Leuchtbakterien (*Vibrio fischeri*)
- Primärproduzenten (Pflanzen)
  - ▶ Algen (*Scenedesmus subspicatus*)
- Primärkonsumenten (Pflanzenfresser)
  - ▶ Wasserfloh (*Daphnia magna*)
- Sekundärkonsumenten (Fleischfresser)
  - ▶ Fisch(ei) (*Danio rerio*)

Aus Gründen des Tierschutzes wurde der ursprünglich für die Gruppe der Sekundärkonsumenten eingesetzte Fischttest (mit Goldorfen) inzwischen durch

**Tabelle 2:** Standardisierte Testverfahren zur Erfassung der Toxizität im Gewässerschutz.

Test	Dauer	Organismus / Zweck
Fischttest DIN EN ISO 15088:2009-06	48 h	<i>Danio rerio</i> Der Fischttest 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.
Daphnientest DIN 38412-30:1989-03	24 h	<i>Daphnia magna</i> Erfassung der akuten Toxizität gegenüber filtrierenden Wasserorganismen/Fischnährtieren.
Algentest DIN 38412-33:1991-03	72 h	<i>Scenedesmus subspicatus</i> Der Wachstums-/ Vermehrungshemmtest mit Algen erfasst akut toxische und chronische Effekte, die Vermehrung und Wachstum der Algen beeinflussen; der Test erfolgt über mehrere Generationen.
Leuchtbakterientest DIN EN ISO 11348-1:2009-05 DIN EN ISO 11348-2:2009-05 DIN EN ISO 11348-3:2009-05	< 0,5 h	<i>Vibrio fischeri</i> Bestimmung der akuten Bakterien-Toxizität; erfasst Wirkungen auf die Biolumineszenz und stellt ein indirektes Maß für Beeinträchtigungen des bakteriellen Stoffwechsels dar.
umu-Test DIN 38415-3:1996-12 (ISO 13829:2000-03)	2 h	<i>Salmonella typhimurium</i> Test zur Erfassung der Genotoxizität. Dieser Test gibt Hinweise auf das genotoxische Potenzial des Testgutes.
Langzeittest mit Daphnien (OECD 211) ISO 10706:2000-04	21 d	<i>Daphnia magna</i> Der 21-Tage-Test mit <i>Daphnia magna</i> erfasst sowohl akut toxische als auch chronische Effekte, die Wachstum und Vermehrung der Daphnien beeinflussen.
Wasserlinsen-Wachstumshemmtest DIN EN ISO 20079: 2006 – L49	7 d	<i>Lemna minor</i> Bestimmung der toxischen Wirkung von Wasserinhaltsstoffen und Abwasser auf höhere Wasserpflanzen als Primärproduzenten

den Fischeitest der Spezies *Danio rerio* (Zebrafisch) ersetzt. Über den Fisch- bzw. Fischeitest sind auch Aussagen zur Wirbeltiertoxizität möglich.

Hinzugekommen ist in den letzten Jahren der umu-Test auf Gentoxizität. Dieser Test wurde nach der im Rahmen des Verfahrens durch Gentoxine erfolgenden Induktion eines DNA-Reparaturgens, des sogenannten umuC-Gens, benannt.

Die ersten fünf Tests (s. Tabelle 2) sind üblicherweise Bestandteil einer Testbatterie. Während diese über Stunden, also kurzzeitig erfolgen (Akut-Tests), sind chronische Wirkungen erst im Langzeittest festzustellen. Der Daphnientest über 21 Tage ist hierfür geeignet. Es sei hier noch einmal daran erinnert, dass diese Tests für Oberflächengewässer entwickelt wurden und mit Organismen der oberirdischen Gewässer durchgeführt werden. Für Grundwasser gibt es bislang keine solchen Testverfahren.

Sollen weitere toxische Effekte beurteilt werden, wie z.B. bei der Nutzung als Trinkwasser, so ist die Testbatterie zu erweitern. Dann sollten insbesondere suborganismische Testverfahren, die eine direkte dauerhafte Gentoxizität nachweisen können, zur

Anwendung kommen. Zur Untersuchung von chromosomalen oder DNA-Schädigungen eignen sich die in Tabelle 3 genannten Tests.

Die Testverfahren werden in Anhang 5 beschrieben. Da die Überwachung der Trinkwasserqualität in erster Linie den Gesundheitsbehörden obliegt, sind die Testverfahren der Tabelle 3 nur der Vollständigkeit halber im Anhang 5 aufgeführt.

Neben den in Tabelle 2 und 3 genannten Testverfahren wird an der Standardisierung von Verfahren für Sedimentkontakttests (Tabelle 4) gearbeitet. Sie werden hier ergänzend erwähnt. (Arbeiten hierzu laufen z. B. an der RWTH Aachen, Institut für Umweltforschung, Lehr- und Forschungsgebiet Ökosystemanalyse.)

Bei diesen Tests wird der unmittelbar bioverfügbare Anteil der Schadstoffbelastung einer kontaminierten Matrix (Boden/Sediment) ermittelt, indem diese direkt mit verschiedenen Testorganismen in Kontakt gebracht wird (Kontakttest). Dafür wird der Boden oder das Sediment mit unbelastetem Wasser über-

**Tabelle 3:** Suborganismische Testverfahren zur Ermittlung der Gentoxizität.

Test	Dauer	Organismus / Zweck
Mikrokerntest DIN EN ISO 21427-2:2009-08	44 – 48 h	Wirbeltier-Lymphocyten In vitro-Bestimmung von auf die Zellteilung wirkenden Toxinen
Comet-Assay kein durch OECD anerkanntes Verfahren	1 – 24 h	In vitro-Zelltest Erfasst die Schädigung der DNA
Ames-Test DIN 38415-4:1999-12	48 – 72 h	<i>Salmonella typhimurium</i> und <i>Escherichia coli</i> Bestimmung der Mutagenität über die durch Toxine verursachte Rückmutation von veränderten Bakterienstämmen

**Tabelle 4:** Sedimentkontakttests.

Test	Dauer	Organismus / Zweck
Nematodentest DIN ISO 10872:2012-10	96 h	<i>Caenorhabditis elegans</i> (Fadenwurm) Bestimmung der Sedimenttoxizität; erfasst Längenwachstum, Eibildung und Reproduktion
Fischeitest als Sedimentkontakttest DIN Entwurf 38415-T6	48 oder 144 h	Wie für die Flüssigmedien kann der Fischeitest mit den Eiern von <i>Danio rerio</i> auch als Kontakttest angewendet werden. Dies ist im 48-stündigen Akuttest und im 144-stündigen Langzeittest möglich.
Bakterienkontakttest DIN 38412 – 48:2002-09	6 h	<i>Arthrobacter globiformis</i> (Bodenbakterium) Erfasst die Toxizität von Feststoffen gegenüber Bakterien; der Test kann mit Böden und Sedimenten durchgeführt werden.

Die in Tabelle 4 genannten Testverfahren werden in Anhang 5 beschrieben.

schichtet. Die Organismen werden so den Schadstoffen ausgesetzt, die in das Porenwasser diffundieren oder direkt von der Matrixoberfläche (z.B. Bodenkorn) auf die Organismenoberfläche übertragen werden.

## 5.2 Ausführung und Aussagen von Ökotoxizitätstests

Bei der Ausführung aquatischer Tests wird jeweils ausgehend von der Originalprobe eine Verdünnungsreihe angesetzt. Hierzu wird die Originalprobe mit einem Vielfachen ihres eigenen Volumens mit sauberem Wasser versetzt. Dieser Verdünnungsreihe werden die entsprechend dem gewählten Testverfahren (vgl. Tabelle 2) unter definierten Randbedingungen kultivierten Organismen in vorgegebener Anzahl ausgesetzt und deren Reaktion auf die Exposition gemessen (s. Tabelle 5).

Je nach Expositionsdauer können Aussagen zu akut- oder auch chronisch-toxischen Wirkungen getroffen werden.

Es wird so lange verdünnt, bis kein ökotoxikologisch relevanter Effekt mehr beobachtet wird (Schwellenwert). Wann dies der Fall ist, wird über die so genannte "Wirkschwelle" definiert. Hierbei handelt es sich um eine für das jeweilige Testsystem spezifische Größe. Im Algentest wird z.B. eine Reduzierung des Wachstums der Testorganismen um 20 % als rele-

vantes Testergebnis (toxische Wirkung) gewertet. Das Ergebnis wird in so genannten G-Stufen (Probe + Verdünnungswasser) oder als LID-Wert (**l**owest **i**neffective **d**ilution = niedrigste unwirksame Verdünnungsstufe) angegeben.

Die G-Stufe G 4 im Algentest besagt demnach, dass bei einer Verdünnung von 1 Teil Probe mit 3 Teilen sauberem Wasser eine Wachstumshemmung von weniger als 20 % vorliegt. Dies entspricht einem LID-Wert von 25 %. Verdünnt wird mit einem ganzzahligen Vielfachen der Probenmenge.

Je höher die G-Stufe bzw. je niedriger der LID-Wert, desto toxischer ist die Probe.

### 1. Schritt: Erfassung akuter Schädwirkungen

Eine akute Schädwirkung auf Testorganismen liegt dann vor, wenn schon nach kurzer Exposition wesentliche Lebensfunktionen gestört sind, z.B. keine Bewegung mehr möglich ist. Die Organismen können je nach ihren unterschiedlichen Entwicklungsformen, Stoffwechselaktivitäten, Stoffaufnahme, etc. erheblich unterschiedliche Wirkungen zeigen. Innerhalb eines Ökosystems sind diese Wirkungen außerdem zu wichten, z.B. ist bei der Beeinträchtigung des bakteriellen Stoffwechsels mit anderen Störungen für das Ökosystem zu rechnen, als dies bei einer Entwicklungshemmung von Fischembryonen der Fall sein würde.

**Tabelle 5:** Umrechnung von G-Stufen in LID-Werte.

Verhältnis Probe : Verdünnungswasser	G-Stufe	LID-Wert (lowest ineffective dilution) in %
1:0	G 1	100
1:1	G 2	50
1:2	G 3	33,33
1:3	G 4	25
1:5	G 6	16,67
1:7	G 8	12,5
1:15	G 16	6,25
1:31	G 32	3,13
1:65	G 66	1,56

Anmerkung: Entsprechend der DIN-Vorschriften für den Algen- und Daphnientest gilt die unter Berücksichtigung der Volumina für Nährlösung und Inokulum kleinstmögliche Verdünnungsstufe als G 1. Beim umu-Test ist die kleinstmögliche Verdünnungsstufe testbedingt G 1,5.

## 2. Schritt: Erfassung chronischer Schädwirkungen

In einer weitergehenden Prüfung können chronische Schäden mit Langzeittests erfasst werden. Hier geht es um Beeinträchtigungen, die sich erst lange nach der Exposition manifestieren, wie z.B. Tumore oder Störungen der Fortpflanzung, und die nicht unmittelbar zum Tod des Organismus führen. Sie betreffen meist nicht das Individuum, sondern die Population.

## 5.3 Einsatzbereiche von Ökotoxizitätstests

Eine Reihe der über OECD-Richtlinien, ISO- oder DIN-Normen standardisierten Verfahren haben bereits Eingang in gesetzliche Regelungen gefunden. So spielen Biotests z.B. eine Rolle bei der Prüfung von Chemikalien nach dem Chemikaliengesetz (ChemG 2008), bei der Prüfung von Abwässern nach der Abwasserverordnung (AbwV 2004) und nach dem Abwasserabgabengesetz (AbwAG 2009), bei der Zulassung von Pflanzenschutzmitteln nach der Richtlinie über das Inverkehrbringen von Pflanzenschutzmitteln (91/414/EWG 1991) oder auch bei der Zulassung von Bauprodukten (DIBt 2008) (s. Tabelle 6).

Sie sind z.B. zur Untersuchung folgender Problemstellungen geeignet:

- Überwachung der Einleitung von Abwässern und Deponiesickerwasser in Aufbereitungsanlagen oder den Vorfluter
- Untersuchung der gentoxischen/erbgutverändernden Wirkung von Stoffen und Wässern
- Untersuchung des biologischen Abbaus von Stoffen in Abwässern

- Überwachung der Wasserbeschaffenheit und der Gewässergüte
- Untersuchung von Baggergut aus der Unterhaltung von Wasserstraßen
- Vergleich der spezifischen Empfindlichkeit verschiedener Organismen gegenüber denselben Schadstoffen
- Bestimmung von Schädlichkeitsäquivalenten, z.B. zur Berechnung von Abwasserabgaben
- Untersuchung von Feststoffeluat, z.B. zur Risikoabschätzung bei Altlasten
- Untersuchung von Abfällen (Eluat)
- Chemikaliientestung im Rahmen von Zulassungsverfahren
- Untersuchung von Bauprodukten
- Bewertung der Gewässergefährdung von Transportgütern

## 5.4 Anwendbarkeit auf das Grundwasser

Während die standardisierten Testverfahren nach Tabelle 2 im Bereich der Oberflächengewässer bereits seit vielen Jahren angewendet werden und zur Beurteilung von Abwässern z.T. sogar gesetzlich festgeschrieben sind (AbwV 2004), existieren für das Grundwasser weder Erfahrungswerte noch Beurteilungskriterien für den Einsatz von ökotoxikologischen Tests mit Organismen der Oberflächengewässer. Tests mit Grundwasserorganismen gibt es noch nicht, denn es ist bislang nicht gelungen, diese Lebewesen unter standardisierten Bedingungen zu züchten. Folglich können keine Grundwasserorganismen in den standardisierten Tests eingesetzt werden.

**Tabelle 6:** Zusammensetzung von Testbatterien in verschiedenen Einsatzbereichen.

	Fischarttest	Daphnientest (24 h)	Algentest	Leucht-bakterientest	umu-Test	Daphnientest (21 Tage)
Abwasser	x	x	x	x	x	
Sickerwasser von Deponien	x	x		x		
Abfall		x	x	x	x	x
Baggergut		x	x	x		
Chemikalien		x	x	x	x	x

Aus Altlasten können akut-, chronisch- oder genotoxisch wirkende Substanzen in das Grundwasser gelangen. Der Ansatz, sich ökotoxikologische Tests zur Beurteilung schädlicher Einflüsse aus Altlasten zu Nutze zu machen, zielt in erster Linie darauf ab, **Wirkungen** auf die belebte Umwelt zu erfassen.

Unter "belebter Umwelt" ist dabei nicht nur der Mensch als potenzieller Trinkwasserkonsument, sondern auch die im Boden lebenden Organismen, die Grundwasserfauna (vgl. Kap. 3) bzw. bei Exfiltration des Grundwassers in ein Oberflächengewässer auch dessen Fauna und Flora zu verstehen.

Mit den für Oberflächengewässer etablierten und in Tabelle 2 beispielhaft genannten aquatischen Testverfahren werden Lebensfunktionen überprüft, die grundsätzlich bei Organismen in Grund- und Oberflächengewässern gleich ablaufen. Zudem sind nach den Ausführungen in Kapitel 3 im Grund- und Oberflächenwasser vergleichbare taxonomische Gruppen anzutreffen. **Deshalb ist die Anwendung der etablierten Testverfahren auch auf Grundwasserproben statthaft.**

Diese Einschätzung wird auch von der Bund/Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA) vertreten. Bereits 2004 hat die LAWA im Rahmen der Ableitung von Geringfügigkeitsschwellen für das Grundwasser postuliert:

*"Für die Ableitung von Geringfügigkeitsschwellen wird auf ökotoxikologische Daten aus Tests mit Oberflächengewässerorganismen zurückgegriffen. Dies ist angemessen, weil:*

- *es keine normierten Testverfahren mit Grundwasserorganismen gibt,*
- *angenommen werden kann, dass die Lebensgemeinschaften des Grundwassers durch das Empfindlichkeitsspektrum der Organismen in Oberflächengewässern in erster Näherung repräsentiert wird."* (LAWA 2004)

Allerdings müssen die unterschiedlichen Lebensraumbedingungen von Grund- und Oberflächenwasser berücksichtigt werden, und die Grundwasserproben müssen für die Testorganismen, die dem Oberflächengewässermilieu entstammen, vorbereitet werden. Die Probe aus dem Grundwasser muss – je nach einzusetzenden Testorganismen – entgast, belüftet oder beleuchtet werden, um adäquate Versuchsbedingungen herzustellen.

Dessen ungeachtet ist davon auszugehen, dass eine bei Oberflächengewässerorganismen auftretende Schadwirkung auch bei Vertretern der Grundwasserfauna auftreten wird, da mit den Tests grundlegende Lebensfunktionen abgebildet werden.

## 6 Bewertungsansätze für ökotoxikologische Testmethoden aus anderen Fachbereichen

Um eine Bewertung der ökotoxikologischen Testergebnisse für das Grundwasser abzuleiten (s. Kapitel 7), werden hier zunächst die bereits in einem anderen Kontext definierten Schwellenwerte betrachtet. Solche Schwellenwerte existieren

- für die Beurteilung von Abfällen (LfU KA 2004, UBA 2008)
- für den Umgang mit kontaminiertem Baggergut in Bundeswasserstraßen (BfG 2000ff)
- für die Einleitung von Abwasser in Gewässer (AbwV 2004)

Für das Schutzgut Boden wurden in den letzten Jahren im Projekt ERNTE (ERNTE 2006) ökotoxikologische Testsysteme entwickelt und verbessert, allerdings sind darin noch keine Handlungsempfehlungen veröffentlicht.

Die genannten Bewertungsansätze werden im Folgenden kurz vorgestellt.

## 6.1 Beurteilung von Abfällen

Das Europäische Abfallverzeichnis wurde 2002 in deutsches Recht überführt (Abfallverzeichnisverordnung AVV 2001). Es enthält einen Kriterienkatalog zur Einordnung von Abfällen in die Kategorien „gefährlich“ oder „nicht gefährlich“. 14 Gefährlichkeitskriterien werden genannt, die zur Bewertung herangezogen werden. Allerdings fehlten Methoden und Maßstäbe für das aus dem Gefahrstoffrecht stammende Kriterium „H14 ökotoxisch“, so dass sich in der Folge verschiedene Arbeiten damit befasst haben.

Zunächst ist die Literaturstudie der Landesanstalt für Umweltschutz (LfU) Baden-Württemberg „Ökotoxikologische Charakterisierung von Abfall - Literaturstudie“ (LfU KA 2004 – 1) zu nennen. Es wurden etwa 90 Veröffentlichungen über den Einsatz von Biotestverfahren mit aquatischen und terrestrischen Organismen zur ökotoxikologischen Bewertung von festen Abfällen ausgewertet. Aus weiteren rund 70 Publikationen wurden Informationen zu aktuellen methodischen Entwicklungen von Biotests sowie zu Auswertungs- und Bewertungsverfahren zusammengetragen. Diese Literaturstudie spiegelt den Stand von Forschung und Entwicklung auf dem Ge-

biet der ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen im Jahr 2004 wider. Ziel war es, die EU-Vorgaben zur Beurteilung der Ökotoxikologie von Abfällen umzusetzen.

Dazu wurde von der Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg zusätzlich ein Vorschlag erarbeitet, Biotests einzusetzen, die im Routinebetrieb der Abfalleinstufung angewendet werden können (Charakterisierung von Abfall – Verfahrensentwicklung für die Festlegung des Gefährlichkeitskriteriums „ökotoxisch (H14)“; LfU KA 2004 – 2).

Für die Beurteilung des Gefährdungspfades Boden-Grundwasser wird das Eluat<sup>3</sup> von Abfällen betrachtet. Es werden für den Leuchtbakterientest (L, LW), den Daphnientest (D) und den Algentest (A) Toxizitätsschwellen benannt. Eine Gefährdung wird dann als gegeben angenommen, wenn die in Tabelle 7 genannten G-Stufen (niedrigste nichttoxische Verdünnungsstufe) im Eluat überschritten werden.

Während der Bodenpassage des Sickerwassers bis hin zum Grundwasserspiegel erfolgt in der Regel eine Reduktion der Schadstoffe durch Adsorption und Bioabbau, was bei der Festsetzung der Werte berücksichtigt wurde.

**Tabelle 7:** Toxizitätsschwellen für aquatische Testsysteme zur Beurteilung des Pfades Boden-Grundwasser aus der Beurteilung von Abfällen.

Test	Untersuchungsparameter	Toxizitätsschwelle
Leuchtbakterientest <i>Vibrio fischeri</i>	Lumineszenz	$G_L > 8$
Wachstumstest mit Leuchtbakterien <i>Vibrio fischeri</i>	chronische Toxizität	$G_{LW} > 2$
Daphnientest <i>Daphnia magna</i>	Schwimmfähigkeit	$G_D > 4$
Algentest <i>Scenedesmus</i>	Chlorophyll-Fluoreszenz	$G_A > 4$

Toxizitätsschwellen für aquatische Testsysteme zur Beurteilung des Pfades Boden-Grundwasser. Der Wachstumstest mit *Vibrio fischeri* ist durchzuführen, wenn im Lumineszenz-Hemmtest  $G_L$ -Werte von 3-8 erzielt werden. Nach (LfU KA 2004-1), Seite 44

<sup>3</sup> Es wird kein Eluat-Verfahren vorgegeben; unterschiedliche Verfahren werden genannt (LfU KA 2004-2, S. 18 ff, S. 28)

Auswaschungen von Schadstoffen aus dem betrachteten Abfall, die Effekte oberhalb der genannten Toxizitätsschwellen hervorrufen, sind nicht tolerierbar. Wird z.B. die Wirkschwelle im Algentest in der Verdünnung „1 Teil Probe zu 3 Teilen Verdünnungswasser ( $G_A$  4)“ überschritten, kann dem Abfall ein ökotoxisches Potential zugesprochen werden.

Für die ökotoxikologische Charakterisierung von Abfällen fehlte noch die methodische Ausgestaltung des Gefährlichkeitskriteriums (H14 „ökotoxisch“). Diese Lücke wurde durch einen internationalen Ringtest geschlossen. Durch die Ringtests wurde festgestellt, dass die Kombination einer biologischen Testbatterie mit der chemischen Analytik für die ökotoxikologische Charakterisierung von Abfällen nötig ist. Die Ergebnisse sind vom UBA auf Englisch veröffentlicht in: „Biologische Testverfahren zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen“, R. BECKER, G. DONNEVERT & J. RÖMBKE, November 2007 (UBA 2007).

Aufbauend auf den Ergebnissen der Ringversuche wurde vom UBA der Entwurf einer „Handlungsempfehlung zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen“ erarbeitet (UBA 2008). Für die Untersuchung von Abfalleluaten werden Testverfah-

ren für die aquatische Toxizität vorgeschlagen, die zum Teil den in Kapitel 5 genannten entsprechen. Tabelle 8 zitiert aus (UBA 2008) die dort aufgeführte Tabelle 6 für Eluatuntersuchungen und übernimmt die darin verwendete Nomenklatur der DIN/ ISO-Verfahren.

Der Fischeitest ist weder im Entwurf in diesem Testvorschlag des UBA noch in der zwischenzeitlich erschienenen endgültigen Veröffentlichung vom 26.02.2013 enthalten.

Die Ausarbeitung des UBA beinhaltet keine Grenzkonzentrationen und keine Bewertung der in den Tests ermittelten G-Stufen. Das wird in (UBA 2013) auf S. 23 begründet: Eine „Grenzkonzentration“ wird nicht genannt, da „bei umweltoffenen Verwertungen die Höhe der jeweiligen Exposition (und deren Verhältnis zu den gemessenen Wirkungen, ausgedrückt z.B. als EC50-Wert) entscheidend für die Bewertung ist. Darüber hinaus kann es in Abhängigkeit von der Fragestellung wichtig sein, die Erkenntnisse aus der biologischen Wirkungsanalyse auf einen recht langen Zeitraum zu extrapolieren.“ Das heißt, dass es keine generelle Aussage über die Möglichkeit der freien Verwertung von Abfällen gibt, sondern dass jede Verwertungssituation geprüft werden muss, um eine Entscheidung zu treffen.

**Tabelle 8:** Wirkschwellen für die Methoden in der Testbatterie für die Prüfmethode Eluatuntersuchung (aus UBA 2008).

Testorganismus	Referenz	Parameter	Wirkschwelle <sup>1</sup>
Algen	DIN EN ISO 8692	Wachstum	20 %
<i>Daphnia magna</i>	DIN EN ISO 6341	Immobilisation	10 %
<i>Lemna minor</i> (Wasserlinse)	DIN EN ISO/DIS 20079	Wachstum	25 %
<i>Salmonella typhimurium</i> (umu-Test)	ISO 13829	Geninduktion	D min $\geq 2$ <sup>2</sup>
<i>Daphnia magna</i>	(ISO 10706)	Reproduktion	20 %

<sup>1</sup> Wirkschwelle, ab der eine Wirkung (=Effekt im Test) als ökologisch relevant betrachtet wird. Die in dieser Veröffentlichung genannten Wirkschwellen beruhen auf den Erfahrungen des europäischen Ringversuches zur Charakterisierung von Abfällen. (UBA 2008) s. auch Kap. 5; demnach wird z. B. eine Reduzierung des Wachstums im Algenhemmtest um mind. 20 % als relevantes Testergebnis gewertet. In (UBA 2013) ist keine Wirkschwelle mehr angegeben.

<sup>2</sup> D = Induktionsrate; vgl. Testbeschreibung in Anhang 5.1.5; Wirkschwelle hier aus (UBA 2008) zitiert mit 2. Diese Wirkschwelle wird nicht im Rahmen dieser Studie übernommen, die Studie stützt sich auf D = 1,5!

## 6.2 Umgang mit Baggergut im Bereich von Bundeswasserstraßen

Die Bundesanstalt für Gewässerkunde Koblenz (BfG) hat im Jahr 2000 eine „Handlungsanweisung für den Umgang mit Baggergut im Binnenland“ (BfG 2000) herausgegeben und später fortgeschrieben. Darin wird der Umgang mit Baggergut, das bei Bau- und Unterhaltungsmaßnahmen an Wasserstraßen anfällt und Anreicherungen von Schadstoffen aufweisen kann, betrachtet. Es wird u.a. erörtert, nach welchen Kriterien der Umgang mit belastetem Baggergut beurteilt und geregelt werden soll.

Es werden hier wieder die gleichen Tests genannt wie für die Abfallbeurteilung (LfU KA 2004) (Leuchtbakterien-, Algen- und Daphnientests, siehe Kapitel 6.1). Auch hier ist der erst seit 2003 stan-

dardisierte Fischeitest nicht genannt. Die Toxizitätsklasse des Sediments (Baggergut) wird durch die Reaktion des empfindlichsten Organismus innerhalb der Testbatterie bestimmt. Ausgangspunkt der Verdünnungsreihe ist immer das unverdünnte Testgut (Porenwasser oder Eluat). Abweichend von der Systematik der G-Stufen wendet die BfG die pT-Wert Methode an. Der pT-Wert (potentia Toxicologiae = toxiologischer Exponent) ist der negative binäre Logarithmus des ersten nicht mehr toxischen Verdünnungsfaktors einer Verdünnungsreihe mit der Basis 2.

Die daraus abgeleiteten Handhabungskategorien zeigt Tabelle 9.

Zur Vergleichbarkeit der Angaben aus Tabelle 9 mit der Systematik der G-Stufen dient Tabelle 10.

**Tabelle 9:** Toxizitätsklassen zur Sedimentbewertung und Handhabungskategorien für die Baggergutverbringung. Die ökotoxikologische Untersuchung erfolgt im Porenwasser und Eluat. (aus BfG 2009).

höchste Verdünnungsstufe ohne Effekt	Verdünnungsfaktor	pT-Wert	Toxizitätsklassen		Handhabungskategorien	
			7stufiges System	Bezeichnung	4stufige Bewertung	Bezeichnung
Originalprobe	2 <sup>0</sup>	0	0	Toxizität nicht nachweisbar	0	nicht belastet
1:2	2 <sup>-1</sup>	1	I	sehr gering toxisch belastet	I	unbedenklich belastet
1:4	2 <sup>-2</sup>	2	II	gering toxisch belastet	II	
1:8	2 <sup>-3</sup>	3	III	mäßig toxisch belastet	III	kritisch belastet
1:16	2 <sup>-4</sup>	4	IV	erhöht toxisch belastet	IV	
1:32	2 <sup>-5</sup>	5	V	hoch toxisch belastet	V	gefährlich belastet
≤1:64	≤2 <sup>-6</sup>	≥6	VI	sehr hoch toxisch belastet	VI	

**Tabelle 10:** Vergleichbarkeit der Verdünnungsreihen nach G-Stufen sowie pT-Werten.

Verdünnungsverhältnis	G-Stufe	Anteil der unverdünnten Probe (LID-Wert)	Verdünnungsfaktor	pT-Wert	Tox-Klassen	Handhabung
1 : 0	G 1	100,00 %	2 <sup>0</sup>	0	0	nicht belastet
1 : 2	G 3	33,33 %	2 <sup>-1</sup>	1	I	unbedenklich belastet
1 : 4	G 5	20,00 %	2 <sup>-2</sup>	2	II	
1 : 8	G 9	11,11 %	2 <sup>-3</sup>	3	III	kritisch belastet
1 : 16	G 17	5,88 %	2 <sup>-4</sup>	4	IV	
1 : 32	G 33	3,03 %	2 <sup>-5</sup>	5	V	gefährlich belastet
1 : 64	G 65	1,54 %	2 <sup>-6</sup>	6	VI	

Gemäß dem in Tabelle 9 zitierten Bewertungsschema darf Baggergut bis zur Toxizitätsklasse II (= unbedenklich belastet) innerhalb einer Bundeswasserstraße uneingeschränkt verlagert werden. Die genannte Toxizitätsklasse entspricht nach der pT-Wert Systematik einer Verdünnungsstufe von 1 : 4, oder als G-Stufe ausgedrückt: G 5. Das heißt, dass in der 4-fach verdünnten Probe in keinem der Einzeltests der Testbatterie die jeweils definierte Wirkschwelle überschritten wird. Ist bei einer mehr als 8-fachen Verdünnung kein Effekt mehr festzustellen (entspricht G 9), wird Baggergut in die Toxizitätsklassen III und IV (= kritisch belastet) eingestuft. In diesem Fall sehen die Handlungsanweisungen der BfG eine Einzelfallentscheidung vor. Als gefährlich belastet eingestuftes Baggergut (entspricht Toxizitätsklassen V und VI) darf nicht mehr umgelagert werden. Diese Kategorie ist erreicht, wenn mindestens eine

32-fache Verdünnung (entspricht G 33) erforderlich ist, damit kein Effekt mehr auftritt (s. Tabelle 10).

### 6.3 Bewertungsmaßstäbe aus dem Abwasserbereich

In den Anhängen der Abwasserverordnung (AbwV 2004) sind für Abwässer aus verschiedenen Herkunftsbereichen und für definierte Testverfahren Anforderungen (Giftigkeit gegenüber Fischeiern, Daphnien, Leuchtbakterien oder Algen, als G-Stufen benannt) festgesetzt. Hierbei handelt es sich um die Größenordnungen der maximal tolerierten Einleitung von geklärtem industriellem Abwasser unter Berücksichtigung der Abwassermenge und der Schüttung des Vorfluters. Sie sind in Tabelle 11 zusammengestellt.

**Tabelle 11:** Synopse der in den Anhängen zur Abwasserverordnung für Abwässer aus verschiedenen Herkunftsbereichen und definierte Testsysteme festgelegten Anforderungen, die nicht überschritten werden dürfen.

Anhang	Branche	Testverfahren				
		Fischei	Daphnien	Algen	Leucht- bakterien	umu <sup>1</sup>
		G <sub>Ei</sub>	G <sub>D</sub>	G <sub>A</sub>	G <sub>L</sub>	G <sub>M</sub>
Anhang 9	Herstellung von Beschichtungsstoffen und Lackharzen	2				
Anhang 13	Holzfaserplatten	2				
Anhang 19	Zellstoffherzeugung	2				
Anhang 22	Chemische Industrie	2	8	16	32	1,5
Anhang 23	Anlagen zur biol. Behandlung von Abfällen	2	4		4	
Anhang 24	Eisen-, Stahl- und Tempergießerei	2				
Anhang 25	Lederherstellung, Pelzveredelung, Lederfaserstoffherstellung	2				
Anhang 27	Behandlung von Abfällen durch chemische und physikalische Verfahren (CP-Anlagen) sowie Altölaufbereitung	2	4		4	
Anhang 29	Eisen- und Stahlerzeugung	2 - 6 <sup>2</sup>				
Anhang 31	Wasseraufbereitung, Kühlsysteme, Dampferzeugung				12	
Anhang 32	Verarbeitung von Kautschuk und Latizes, Herstellung und Verarbeitung von Gummi				12	
Anhang 33	Wäsche von Abgasen aus der Verbrennung von Abfällen	2				
Anhang 37	Herstellung anorganischer Pigmente	2				
Anhang 38	Textilherstellung, Textilveredelung	2				
Anhang 39	Nichteisenmetallherstellung	4				
Anhang 40	Metallbearbeitung, Metallverarbeitung	2 - 6 <sup>2</sup>				
Anhang 42	Alkalichloridelektrolyse	2				
Anhang 43	Herstellung von Chemiefasern, Folien und Schwammtuch nach dem Viskoseverfahren sowie von Celluloseacetatfasern	2				
Anhang 46	Steinkohleverkokung	2				
Anhang 47	Wäsche von Rauchgasen aus Feuerungsanlagen	2				
Anhang 48	Verwendung bestimmter gefährlicher Stoffe	2				
Anhang 51	Oberirdische Ablagerung von Abfällen	2	4		4	
Anhang 54	Herstellung von Halbleiterbauelementen	2				
Anhang 56	Herstellung von Druckformen, Druckerzeugnissen und grafischen Erzeugnissen	4				
Anhang 57	Wollwäschereien	2	4			

<sup>1</sup> die AbwV verwendet die Bezeichnung G<sub>M</sub> statt G<sub>EU</sub> für den umu-Test<sup>2</sup> je nach Herkunftsbereich/Herstellungsverfahren

## 6.4 Gegenüberstellung der vorhandenen Schwellenwerte

In den vorangegangenen Kapiteln 6.1 bis 6.3 wurden die Bewertungsansätze für ökotoxikologische Testmethoden aus den Fachbereichen Abfall, Baggertgut und Abwasser dargestellt. In Tabelle 12 werden die dort genannten bzw. abgeleiteten Schwellenwerte ohne Anspruch auf Vollständigkeit zusammengefasst.

## 6.5 Beurteilungsmaßstäbe für Boden

Da sich diese Studie mit der Beurteilung von Grundwasserkontaminationen auf aquatische Systeme anhand von ökotoxikologischen Tests bezieht, wird die Beurteilung des Bodens nur der Vollständigkeit halber erwähnt.

Die Qualität von Böden bzw. Bodenmaterialien wurde bisher ausschließlich mithilfe chemischer Kriterien beurteilt. Deshalb hat es sich der Forschungsverbund „ERNTE – Erprobung und Vorbereitung der praktischen Nutzung ökotoxikologischer Testsysteme“ (ERNTE 2006) zur Aufgabe gemacht, die praktische Anwendbarkeit biologischer Methoden unter realen Bedingungen zu verbessern.

Mittelfristig sollen diese Tests routinemäßig zur effizienteren Beurteilung von Böden bzw. Bodenmaterialien in Ergänzung bestehender chemischer Methoden genutzt werden.

Generell ist bei der Verwertung von Materialien in bzw. auf Böden die Wiederverwendung von Bodenaushub auch unter besonderer Beachtung des Schutzes der natürlichen Bodenfunktionen anzustreben. Dabei gibt es zwei Möglichkeiten der Verwertung:

1. Einbringung des Bodenmaterials in die durchwurzelbare Bodenschicht (Schutz der Rückhalte- und Lebensraumfunktion)
2. Einbringung in den Unterboden unterhalb der durchwurzelbaren Bodenschicht (Schutz der Rückhaltefunktion)

Zur Beurteilung der Rückhaltefunktion hat ERNTE zwei ökotoxikologische (Leuchtbakterien- und Algentest) sowie zwei genotoxische Methoden (*umu*-Test, Ames-Test) vorgeschlagen.

Die Beurteilung der Lebensraumfunktion erfolgt über vier Vor-Ort-Tests sowie fünf Langzeit-ISO-Tests.

Handlungsempfehlungen sind in der Veröffentlichung von ERNTE noch nicht enthalten.

**Tabelle 12:** Schwellenwerte: niedrigste nichtgiftige Verdünnungsstufe (G-Stufe) für die ökotoxikologischen Testverfahren.

Test	Pfad		
	Abfall	Baggertgut	Abwasser <sup>1</sup>
Fischeitertest	Keine Angabe	Keine Angabe	$G_{Ei}$ 2 - 6
Daphnientest	$G_D > 4$	$G_D > 8$	$G_D$ 4 - 8
Algentest	$G_A > 4$	$G_A > 8$	$G_A$ 16
Leuchtbakterientest	$G_L > 8$	$G_L > 8$	$G_L$ 4 - 32
<i>umu</i> -Test	Keine Angabe	Keine Angabe	$G_M$ 1,5

<sup>1</sup> angegeben ist die Spannweite der G-Werte; diese sind in den einzelnen Anhängen unterschiedlich (siehe Tabelle 11)

## 7 Ansätze für eine ökotoxikologische Bewertung von Schadstoffeinträgen aus Altlasten in das Grundwasser

Untersucht man die Auswirkungen von Altlasten, ist der Eintrag von Schadstoffen in das Grundwasser und dessen Gefährdung von besonderer Bedeutung. Dabei wird im Wesentlichen oberflächennahes Grundwasser<sup>4</sup> gefährdet oder beeinträchtigt.

Die in Kapitel 5, Tabelle 2 aufgeführten Verfahren dienen dazu, dieses Gefährdungspotential besser zu erkennen. Die ökotoxikologischen Verfahren liefern dabei ergänzende Informationen. Sie ersetzen aber keinesfalls die erforderliche Recherche über die für den Standort bewertungsrelevanten Schadstoffe sowie Untersuchungen im Hinblick auf deren Konzentration, Menge und Fracht.

Bei der Beurteilung der Auswirkungen auf das Grundwasser werden in der Regel die folgenden Punkte abgearbeitet:

### Beurteilung der Schadstoffe:

- Welche Schadstoffe sind bekannt oder aus der Historie zu erwarten?
- Welche Eigenschaften haben sie?
- In welcher Menge und Konzentration liegen sie vor?

### Beurteilung der Ausbreitung:

- Wo ist der Eintrag erfolgt?
- Welche Fracht wird freigesetzt?
- In welche Richtung erfolgt die Ausbreitung? (Grundwasserfließrichtung)
- Mit welcher Geschwindigkeit erfolgt die Ausbreitung? (Abstandsgeschwindigkeit)
- Wie weit ist die Ausbreitung bereits fortgeschritten? (Fahnengeometrie)

### Beurteilung der Nutzungen:

- Liegen Grundwassernutzungen vor? (z.B. Trinkwassergewinnung, Bewässerung)
- In welcher Entfernung und in welcher Richtung befinden sich diese?

Mit der Verbreitung eines Schadstoffgemisches über den Grundwasserabstrom geht häufig eine „Umverteilung“ der relativen Anteile von Einzelkomponenten des Gemisches einher (Chromatografie-Effekt). Mobile Stoffe breiten sich weiter aus, während weniger mobile Stoffe nur in der Nähe des Schadenszentrums zu finden sind. Außerdem können auf

dem Weg zwischen Schadensherd und Fahnen spitze durch Umsetzungsprozesse auch andere Stoffe (Metaboliten) entstehen. Unter Umständen ist die Schädigung innerhalb der Fahne oder in der Fahnen spitze sogar höher als im Schadensherd. Diese Effekte können häufig nicht durch chemische Analysen abgebildet werden.

Allein die Untersuchung des „üblichen“ Parameterumfangs ist oft nicht ausreichend. Ökotoxikologische Tests, die die komplexe Schädigung von Stoffgemischen ermitteln, können in solchen Fällen hilfreich sein. Sie erfassen neben der Wirkung von Einzelsubstanzen weitere Effekte wie summarische Wirkungen oder Metabolitenbildung, die über die chemische Analytik im Einzelnen nicht erfasst werden können. Darüber hinaus erlauben sie eine direkte Aussage über Auswirkungen des Schadstoffeintrags auf das Ökosystem. Ökotoxikologische Tests sind daher neben der chemisch-analytischen Bewertung ein weiterer Baustein, um die Schadstoffsituation eines Standortes genauer und besser beurteilen zu können. Zudem können sie helfen, die Auswirkungen auf weitere Schutzgüter wie den Menschen (Trinkwassernutzung) oder ein Oberflächengewässer besser zu beurteilen.

### 7.1 Empfehlung eines Beurteilungsmaßstabs für Grundwasserproben

In den bisherigen Kapiteln wurde herausgearbeitet, dass

- aquatische Ökosysteme abhängig von Populationsdichte und Spezialisierung der vorkommenden Arten unterschiedlich empfindlich auf Störeinflüsse reagieren,
- eine Reihe normierter ökotoxikologischer Testverfahren existiert, welche überwiegend aquatische Organismen der Oberflächengewässerfauna als Indikator nutzen,
- diese Testverfahren in verschiedenen Bereichen (Abfall, Abwasser, Bundeswasserstraßen) bereits zur Bewertung ökotoxikologischer Einflüsse herangezogen werden,

<sup>4</sup> Diese Ausarbeitung bezieht sich auf Porengrundwasserleiter. Kluft- und Karstgrundwasserleiter werden nicht betrachtet.

- Grundwasserorganismen nicht für Testverfahren zur Verfügung stehen, da sie nicht unter standardisierten Bedingungen gezüchtet werden können,
- über das hyporheische Interstitial (HI) eine Verbindung zwischen Grund- und Oberflächengewässer existiert,
- aufgrund der Verbindung über das HI z.T. die gleichen Arten im Grund- und Oberflächengewässer vorkommen,
- mit den ökotoxikologischen Tests grundlegende Lebensfunktionen überprüft werden, die grundsätzlich in Organismen der Oberflächengewässer und des Grundwassers gleich ablaufen,
- normierte aquatische Biotests insoweit auch hinsichtlich der Beurteilung von Wirkungen auf Grundwasserorganismen und damit das Ökosystem Grundwasser herangezogen werden können.

Gestützt auf diese Erkenntnisse sowie eigene Praxiserfahrung, hat das an der Arbeitsgruppe beteiligte Institut GOBIO ein Bewertungssystem entwickelt. Auf dieser Grundlage hat die Arbeitsgruppe die schrittweise Entwicklung der Bewertungsmatrix (s. Tabelle 14) detailliert und für die Praxis nachvollziehbar beschrieben:

#### **Schritt 1: Literaturrecherche:**

- Welche Fachbereiche greifen bereits auf Ökotoxikologie zurück?
- Welche Tests werden dort angewandt?
- Welche Schwellenwerte sind dort genannt?
- Für welche aquatischen Ökosysteme gelten diese Werte?

#### **Ergebnis:**

Ökotoxikologische Tests werden für die Beurteilung von Abwassereinleitungen in Oberflächengewässer sowie für die Beurteilung von Baggergut in Bundeswasserstraßen eingesetzt. Im Rahmen der Charakterisierung gefährlicher Abfälle werden sie zudem zur Beurteilung des dabei u.a. relevanten Kriteriums H14 (ökotoxisch) herangezogen. Betrachtet wird dort das Eluat der abzulagernden Abfälle. Für diese Anwendungsbereiche existieren Schwellenwerte, die z.T. in entsprechenden Rechtsverordnungen verankert sind (z. B. AbwV 2004). Zur Anwendung gelangen Leuchtbakterien-, Algen- und Daphnientest, sowie in Teilbereichen Fischei- und umu-Test (vgl. Kapitel 6).

#### **Schritt 2: Einordnung aquatischer Ökosysteme nach den Kriterien Empfindlichkeit und Schutzbedürftigkeit:**

- Wo ist das Grundwasser im Vergleich zum Fließgewässer oder zur Quelle einzuordnen?

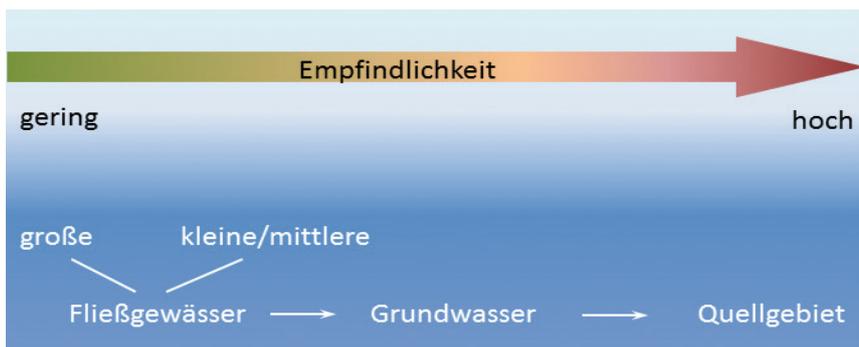
#### **Ergebnis:**

Das **Quellgebiet** ist als sehr empfindliches und damit besonders störanfälliges Habitat einzustufen. Die vorkommenden Arten sind extrem spezialisiert und auf die Konstanz der Umgebungsbedingungen angewiesen (vgl. Kapitel 2.3.2). Das Quellgebiet als Sonderfall eines Grundwasseraustritts mit geringer Populationsdichte wird deshalb in dieser Studie als empfindlichstes aquatisches Ökosystem und damit am einen Ende einer Bewertungsskala angesetzt.

**Fließgewässer** sind am anderen Ende der Skala anzusiedeln. Abhängig von der Wasserführung sind Verdünnungseffekte zu erwarten. Außerdem verfügen sie im Allgemeinen über eine höhere Populationsdichte als Grundwasser und Quellgebiet. Die in Fließgewässern vorkommenden Arten besitzen breit gefächerte biochemische Kompetenzen. Deshalb kann gegenüber dem Quellgebiet für Fließgewässer in erster Näherung grundsätzlich von einer geringeren Empfindlichkeit ausgegangen werden (vgl. Kapitel 2.2 und Abbildung 11).

Der Begriff Fließgewässer umfasst allerdings sowohl große Flüsse wie z.B. Bundeswasserstraßen als auch mittlere Flüsse und kleine Bäche. Deshalb ist für diese Gewässer eine weitergehende Differenzierung erforderlich. Die Arbeitsgruppe erachtet in Anlehnung an die Gewässerstrukturgütekartierung Hessen 1999 eine nach der Gewässerbreite vorzunehmende Grobunterteilung in große sowie kleine und mittlere Fließgewässer für die weitere Betrachtung als ausreichend (s. Tabelle 13). Eine weiter gehende Unterteilung, z.B. nach den Fließgewässertypen für die Umsetzung der Wasserrahmenrichtlinie oder dem ökologischen Zustand eines Gewässers, würde für diese Studie zu weit führen. Die Exfiltration von belastetem Grundwasser in ein Oberflächengewässer wird in Kapitel 8 betrachtet.

Aus diesen Überlegungen ergeben sich Eckpunkte für eine Skala, auf der die Empfindlichkeit der Gewässer eingetragen wird. In dieser Skala wird das Grundwasser zwischen dem Quellgebiet und den Fließgewässern eingeordnet.



hinterlegt. Da für die Testverfahren Fischei- und umu-Test zum Zeitpunkt der Erstellung dieser Studie in den Anwendungsbereichen Abfall- und Baggergutbeurteilung noch keine verbindlichen Werte existierten, bleiben diese Felder leer.

Abb. 11: Einteilung aquatischer Systeme nach ihrer Empfindlichkeit.

Tabelle 13: Charakterisierung von Fließgewässern (in Anlehnung an Gewässerstrukturgütekartierung Hessen 1999).

Gewässer	Gewässerbreite
kleine u. mittlere Fließgewässer	≤ 10 m
große Fließgewässer	> 10 m

**Schritt 3: Erstellung einer Beurteilungsmatrix**

- Welche Werte (G-Stufen) sind nach dieser Systematik für Quellgebiet und Grundwasser anzusetzen?

Auf der einen Seite der Matrix werden bereits existierende Werte aus anderen Fachbereichen für große Fließgewässer und für die Abfallbeurteilung aufgetragen. Auf der anderen Seite der Matrix steht das Quellgebiet als empfindlichstes Habitat.

**Ergebnis:**

Für das Quellgebiet als empfindlichstes Habitat empfiehlt das Institut GOBIO, als Schwellenwerte die Untergrenzen der jeweiligen Testverfahren anzusetzen ("Null-Toleranz").

Das Grundwasser wird in seiner Empfindlichkeit zwischen Quellgebiet und kleine/mittlere Fließgewässer angesiedelt. Diese Empfehlung für den Lückenschluss stützt sich auf Plausibilitätsbetrachtungen sowie die Praxiserfahrung des Instituts GOBIO und wird von der Arbeitsgruppe übernommen.

Tabelle 14 gibt die so entstandene Matrix wieder.

Aus anderen Anwendungsbereichen entnommene Werte sind dort **blau**, die von GOBIO und der Arbeitsgruppe für die Beurteilung ökotoxikologischer Einflüsse aus Altlasten vorgeschlagenen Werte **gelb**

Zusatzinformationen zu Tabelle 14:

**Was bedeutet beim Fischeitest die Fußnote 4 „keine reproduktionstoxischen Einzelbefunde“?** Unter einem reproduktionstoxischen Einzelbefund versteht man eine sichtbare Fehlentwicklung oder Missbildung des Embryos. Als Beispiel ist die Anenzephalie zu nennen, das heißt die Unterdrückung der Entwicklung oder die Fehlbildung einer Kopfregion („ohne Gehirn“; siehe hierzu Anhang 5.1.1 Fischeitest).

Ein solcher Effekt ist auch bei niedrigen G-Stufen kritisch zu bewerten. Taucht ein reproduktionstoxischer Einzelbefund auf, dann ist die Probe auf jeden Fall toxisch, auch wenn alle anderen Testergebnisse ohne toxischen Befund sind.

**Warum wird dem Fischeitest für Grundwasser der Schwellenwert  $G_{EI} 2$  anstatt  $G_{EI} 1,5$  zugeordnet?**

Die Verdünnungsstufen sind ganzzahlig, Details sind in den DIN-Vorschriften enthalten.

Bei Fließgewässern wurde dem Fischeitest  $G_{EI} 2$  zugeordnet, weil dieser Wert als der niedrigste Wert in den Anhängen der AbwV angegeben ist. Da es nur ganzzahlige gibt, wird dem Grundwasser auch  $G_{EI} 2$  zugeordnet.

**Warum sind dem Leuchtbakterientest vergleichsweise höhere Schwellenwerte zugeordnet?**

Beim Leuchtbakterientest ist die niedrigste Verdünnungsstufe  $G_L 2$  (vgl. Testbeschreibung Anhang 5.1.4). In der Praxis hat sich gezeigt, dass Verdünnungen  $< G 4$  auch oft Wirkungen zeigen, aber keine klare Aussage liefern. Deshalb wird auch für den Quellbereich die niedrigste Verdünnung beim Leuchtbakterientest mit 4 angegeben.

Tabelle 14: Bewertungsmatrix (Schwellenwerte).

Test	Pfad Abfall- Boden- Grund- wasser	Bundeswasser- straßen / große Fließgewässer		kleine und mittlere Fließgewässer	Grundwasser	Quell- gebiet
	Eluat von Abfällen <sup>1</sup>	Exfiltration Baggergut <sup>2</sup>	oberfläch- licher Eintrag gereinigtes Abwasser <sup>3</sup>	Eintrag von Schadstoffen aus Altlasten und schädlichen Bodenveränderungen		
Fischarttest DIN EN ISO 15088:2009-06			$G_{Ei} 2-6^4$	$G_{Ei} 2^4$	$G_{Ei} 2^4$	$G_{Ei} 1^4$
Daphnientest DIN 38412-30:1989-03	$G_D 4$	$G_D 4-8$	$G_D 4-8$	$G_D 3$	$G_D 2$	$G_D 1$
Algentest DIN 38412-33:1991-03	$G_A 4$	$G_A 4-8$	$G_A 16$	$G_A 3$	$G_A 2$	$G_A 1$
Leuchtbakterientest DIN EN ISO 11348-1:2009-05	$G_L 8$	$G_L 4-8$	$G_L 4-32$	$G_L 6$	$G_L 4$	$G_L 4$
umu-Test DIN 38415-3:1996-12				$G_{EU} 1,5$	$G_{EU} 1,5$	$G_{EU} 1,5$

**Gelb** hinterlegt: Vorschlag von GOBIO

**Blau** hinterlegt: aus anderen Vorschriften übernommen

<sup>1</sup> nach (LfU KA 2004-1); Fischarttest ist darin noch nicht aufgeführt

Eluatwerte unter Berücksichtigung des Rückhaltevermögens des Bodens bei Bodenpassage siehe Kap. 6.1

<sup>2</sup> nach (BfG 2000); Fischarttest ist darin noch nicht aufgeführt

<sup>3</sup> Anforderungen an das Einleiten von Abwasser in Gewässer gem. Anhänge AbwV (je nach Branche unterschiedlich; siehe Tabelle 11); Schüttung des Vorfluters und Abwassermenge sind zu berücksichtigen

<sup>4</sup> keine reproduktionstoxischen (fruchtbarkeitsgefährdenden) Einzelbefunde (früher teratogen genannt)

### Warum wird beim umu-Test immer der Schwellenwert 1,5 angegeben?

Gentoxische Wirkungen können in der Umwelt nicht akzeptiert werden, so dass der Schwellenwert für sämtliche Anwendungsbereiche immer gleich der niedrigsten Verdünnungsstufe gesetzt ist. Die niedrigste Verdünnungsstufe, die mit dem umu-Test untersucht werden kann, ist die 1,5-fach verdünnte Probe ( $G_{EU} 1,5$ ), da das Einbringen der Testorganismen mit einer Verdünnung der Probe einhergeht (siehe Anhang 5.1.5).

Die hier veröffentlichte Bewertungsmatrix (Tabelle 14) stellt nur ein grobes Schema dar. Die Einteilungen enthalten Verallgemeinerungen, die nicht für jedes aquatische Ökosystem immer und überall zutreffend sind. Ebenso wie die Aussage einer chemischen Analyse von der Auswahl der Parameter abhängt, so ermöglicht auch die ökotoxikologische Testung keine absolute Aussage über eine tatsächliche Beeinträchtigung des Ökosystems. Sie liefert jedoch über die chemische Analyse hinaus eine zusätzliche Information, die zu einer verbesserten Einschätzung der Gefährdungssituation verhelfen kann.

Eine Überschreitung der vorgeschlagenen Schwellenwerte ist als Signal zu verstehen, dass eine weitergehende Sachverhaltsaufklärung erforderlich ist.

## 7.2 Einsatzmöglichkeiten und Grenzen von ökotoxikologischen Tests in der Altlastenbearbeitung

Da der Lebensraum Grundwasser ein noch junges Forschungsgebiet ist, gibt es bislang kaum ökotoxikologische Untersuchungen in Zusammenhang mit Altlasten bzw. Grundwasserverunreinigungen. Erkenntnisse über die Art und das Ausmaß der Schädigung oder Zerstörung der Lebewesen im Grundwasserraum durch den Eintrag von Schadstoffen liegen nur in geringem Umfang vor. Ökotoxikologische Untersuchungen können in verschiedenen Situationen, die im Folgenden beispielhaft aufgeführt sind, zu einem Informationsgewinn beitragen und so eventuell die Entscheidungsfindung erleichtern:

- Beurteilung der Wirkung von Schadstoffgemischen: Bei einer Altlast liegen in der Regel Schadstoffgemische vor (z.B. Sonderabfalldeponie, ehem. Chemische Fabrik). Die Wirkung eines Schadstoffgemisches auf die Umwelt kann

mit den herkömmlichen Verfahren nur schwer beurteilt werden. Die einzelnen Substanzen können sich gegenseitig beeinflussen und unter Umständen eine stärkere Wirkung aufweisen.

- Beurteilung der Wirkung von Schadstoffen, über die keine weiteren Kenntnisse vorliegen
- Hinweise auf Stoffe, die z. B. aus der Nutzungshistorie nicht bekannt sind
- Beurteilung der Wirkung von Metaboliten
- Beurteilung einer Grundwasserverunreinigung im Einzugsgebiet von Trinkwassergewinnungsanlagen (siehe auch Kapitel 9)
- Entscheidungshilfe zur Sanierungsnotwendigkeit, z. B. bei Verfahren, deren Fracht-/Mengenbetrachtung eine „mittlere schädliche Grundwasserverunreinigung“ ergibt (vgl. Handbuch Altlasten Band 3, Teil 7, Arbeitshilfe zur Sanierung von Grundwasserverunreinigungen; HLOG 2008), bzw. zur Beendigung einer Sanierung
- Entscheidungshilfe zur Beendigung der Überwachung oder Nachsorge
- Entscheidungshilfe über den Einsatz von MNA (vgl. Handbuch Altlasten Band 8, Teil 1: Arbeitshilfe zu überwachten natürlichen Abbau- und Rückhalteprozessen im Grundwasser, HLOG 2004)
- Beurteilung der Exfiltration eines belasteten Grundwassers in ein Oberflächengewässer (s. Kapitel 8)

Grundsätzlich sollte eine Testbatterie aus den in Tabelle 14 genannten Tests bestehen. Die hier vorgeschlagenen Tests haben sich im Laufe der letzten 20 Jahre in anderen Bereichen etabliert. Zur Klärung spezifischer Fragestellungen können auch weitere Tests wie z. B. Tests auf Wirbeltiertoxizität zum Einsatz kommen.

Da die Testbatterie verschiedene Trophieebenen und -stufen und damit das gesamte aquatische Ökosystem in seiner Funktion abbildet, ist ein Effekt in **einem einzelnen** Test als Störung des Gesamtsystems zu interpretieren, auch wenn sich in den übrigen Tests unmittelbar keine Auswirkungen zeigen.

Die o.g. Beispiele zeigen, in welchen Fällen ökotoxikologische Testverfahren als sinnvolle Ergänzung zu chemischen Untersuchungsmethoden eingesetzt werden können. Die durch ökotoxikologische Tests angezeigten toxischen Wirkungen können nicht unbedingt über die üblicherweise in der Altlastenpra-

xis untersuchten chemischen Parameter abgebildet werden. Es können allerdings Konflikte bei der Beurteilung einer Grundwasserveränderung entstehen, wenn die chemischen Parameter nur eine geringe Belastung anzeigen, während die ökotoxischen Parameter auf eine schwere Schädigung der Testorganismen hinweisen. Da die Ursache einer toxischen Wirkung nur schwer zu ermitteln ist, besteht in diesem Fall weiterer Klärungsbedarf.

Sofern in ökotoxikologischen Tests keine Wirkungen festgestellt werden, bedeutet dies im Umkehrschluss nicht zwangsläufig, dass im Grundwasser keine Schadstoffe vorhanden sind. Daher ist es wichtig, dass vor der Anwendung von ökotoxikologischen Tests bereits Informationen über chemische Analysen und die Historie des Standortes vorliegen.

Durch die Probenbehandlung sind die ökotoxikologischen Testverfahren nicht in jedem Fall zur Beurteilung von Grundwasserverunreinigungen aussagefähig. So ist z. B. durch die Entgasung und Belüftung einer Probe die Bestimmung der Wirkung leichtflüchtiger Verbindungen nur eingeschränkt möglich. Auch die Beleuchtung der Proben bei der Testdurchführung kann ggf. eine Veränderung der Substanzen bewirken.

Darüber hinaus können geogen vorhandene Stoffe, wie z.B.  $H_2S$  und Calcium, in der Probe eine Rolle spielen, denn die Testorganismen sind nicht an das geogene Milieu angepasst.

Einschränkungen ergeben sich auch aus hohen Salzkonzentrationen in der Probe. Hierzu gibt es in § 6 (4) AbwV eine Sonderregelung, die Toxizität mithilfe eines Korrekturfaktors zu ermitteln. (Siehe hierzu Anhang 4).

Hier genannt sind nur die Effekte, die im Rahmen von einzelnen Untersuchungen festgestellt wurden. Es wäre sinnvoll und wichtig, solche Effekte systematisch zu untersuchen und zu beschreiben.

Es gilt zu bedenken, dass bislang nur wenige Erfahrungen mit der Anwendung von ökotoxikologischen Testverfahren auf Grundwasserproben vorliegen. Das sollte nicht davon abhalten, diesen neuen Weg – ergänzend zur Konzentrationsbetrachtung auch die Wirkungen zu untersuchen – zu gehen. Mit jedem neuen Beispiel werden neue Erkenntnisse gewonnen. So kann mit der Zeit diese zusätzliche Methode zu einer besseren Beurteilung des Einzelfalles führen.

## 8 Sonderfall: Exfiltration von belastetem Grundwasser in Oberflächengewässer

Sofern belastetes Grundwasser aus Altlasten oder schädlichen Bodenveränderungen über das hyporheische Interstitial in ein Oberflächengewässer<sup>5</sup> eintritt, können ökotoxikologische Tests dazu beitragen, die Gefährdungssituation zu beurteilen.

In diesen Fällen ist die Schadwirkung des belasteten Grundwassers auf das Schutzgut Fließgewässer zu betrachten. Die Gefahrenbeurteilung setzt das Verständnis für die Gewässergüte und den ökologischen Zustand des Fließgewässers voraus.

<sup>5</sup> In dieser Ausarbeitung werden nur fließende Oberflächengewässer betrachtet, keine stehenden Gewässer wie Seen oder Teiche. In diesem Text wird Oberflächengewässer stets im Sinne von Fließgewässer verwendet.

In Kapitel 2.2 sind die wesentlichen Merkmale von Fließgewässern aufgeführt. Bei der Beurteilung des Schutzgutes „Oberflächengewässer“ sind insbesondere folgende Kriterien von Bedeutung:

- Charakteristik des Fließgewässers (Gewässertyp, Gewässergröße, Abfluss, Fließgeschwindigkeit)
- Zustand des Fließgewässers (ökologisch, strukturell und chemisch-physikalisch)
- Nutzung des Gewässers (Trinkwassergewinnung, Bundeswasserstraße, Sport-Erholungs-Freizeit)
- Lage der Altlast oder schädlichen Bodenveränderung zum Gewässer
- Art der Exfiltration (flächig oder punktuell)

An diese Betrachtung des Fließgewässers schließt sich die Überprüfung der biologischen Abbaubarkeit der aus dem Grundwasser stammenden Schadstoffe im Fließgewässer sowie deren möglicherweise toxische Biotransformationsprodukte an. Hierzu liefern die an belasteten Grundwasserproben durchgeführten ökotoxikologischen Tests eine Aussage. Die Ergebnisse sollten jetzt unter Berücksichtigung der oben genannten Kriterien und der Gewässercharakteristik mit Blick auf das Oberflächengewässer interpretiert werden.

## 8.1 Ökologischer Zustand eines Oberflächengewässers

Die europäische Wasserrahmenrichtlinie (WRRL 2000) fordert, dass bis zum Jahr 2015 (Fristverlängerung bis 2017 möglich) für die oberirdischen Gewässer ein guter ökologischer und chemischer Zustand erreicht bzw. erhalten wird. In diesem Zusammenhang wurden erstmals biologische Bewertungsansätze für aquatische Ökosysteme eingeführt. Der ökologische Zustand sagt aus, wie weit die Tier- und Pflanzenwelt eines Oberflächengewässers von den Referenzbedingungen eines vergleichbaren, durch menschliche Einflüsse unbeeinträchtigten Bereichs abweicht. Das heißt, ob beispielsweise Fische in der für die jeweilige Landschaft typischen Artenvielfalt und Altersstruktur vorkommen oder nicht. Definiert wird der ökologische Zustand eines Oberflächengewässers über die im Wasser lebende Fauna (Fische und Fischnährtiere) und Flora (Wasserpflanzen und Algen). Ergänzt wird diese „biologische“ Bewertung durch Umweltqualitätsnormen (UQN) für eine Rei-

he von flussgebietspezifischen Schadstoffen, wie z. B. Pflanzenschutzmittel und Schwermetalle (s. Anlage 5 der OGEwV 2011). Die Einstufung in eine bestimmte ökologische Zustandsklasse erfolgt von 1 – sehr gut, über 2 – gut, 3 – mäßig, 4 – unbefriedigend bis hin zu 5 – schlecht.

Sowohl die Gewässerstruktur als auch die chemisch-physikalischen Randbedingungen (z.B. Temperatur und Sauerstoffgehalt) werden hingegen nur unterstützend für die Beurteilung des ökologischen Zustands herangezogen, da diese Einflussfaktoren und Störgrößen sich bereits in der Zusammensetzung der aquatischen Lebensgemeinschaft widerspiegeln.

Limnologische Untersuchungen zur Beschreibung des Gewässerzustandes wurden bzw. werden im Zusammenhang mit der Umsetzung der WRRL systematisch durchgeführt (s. Anhang 2, Fallbeispiel zur Makrozoobenthos-Erhebung). Ökotoxikologische Tests werden bei den Erhebungen im Rahmen der WRRL i.d.R. nicht durchgeführt.

Weist ein Gewässerabschnitt einen guten ökologischen Zustand (Klasse 2) auf, dann bedeutet dies, dass sich sowohl die biologischen Qualitätskomponenten als auch die flussgebietspezifischen Schadstoffe (Anlage 5 der OGEwV 2011) in einem guten Zustand befinden.

Wenn zudem der chemische Zustand des Gewässers nach WRRL (Umweltqualitätsnormen für z.B. PAK, s. Anlage 7 der OGEwV 2011) gut ist, dann kann man von einer erhöhten Empfindlichkeit des hyporheischen Interstitials (siehe nachstehende Abbildung) ausgehen. Ist der ökologische Zustand hingegen als mäßig bis schlecht einzustufen, so ist dies häufig durch eine schlechte Gewässerstruktur (z.B. Sohlverbau, Stauregelung, Bauwerke und Pflegemaßnahmen zur Aufrechterhaltung der Schifffahrt etc.) und/oder durch eine stoffliche Belastung bewirkt. Die hier noch vorkommenden Arten sind weniger empfindlich gegenüber der jeweiligen Belastung (strukturell und/oder stofflich).

## 8.2 Bewertung der Exfiltration

Ein kleines Gewässer mit geringer Schüttung (geringem Abfluss) wird auf einen Schadstoffeintrag empfindlicher reagieren als ein großes Gewässer. Zum einen ist die Verdünnung der Schadstoffe im Gewässer abhängig von der Vorbelastung und von der

Wasserführung. Zum anderen spielt der ökologische Zustand des Gewässers eine große Rolle.

Wie in Kapitel 2 beschrieben, findet die flächige Exfiltration über das hyporheische Interstitial, das heißt die empfindlichste Stelle des Gewässers, statt (Abb. 12).

Hieraus ergibt sich, dass der Zustand des hyporheischen Interstitials ein ganz entscheidendes Kriterium für die Empfindlichkeit des Gewässers ist. Dieser Bereich des Gewässers ist für aquatische Lebensgemeinschaften von besonderer Bedeutung. Hier befinden sich die benthische Invertebraten-Gemeinschaft, die Brut bodenlaichender Fische, die sogenannten Aufwuchsorganismen, ein Teil der Ufervegetation und die aquatischen Makrophyten. Diese Lebensgemeinschaften im hyporheischen Interstitial sind hauptsächlich für die Selbstreinigungskraft des Gewässers verantwortlich. Sie sind dem Grundwasser fast unmittelbar ausgesetzt.

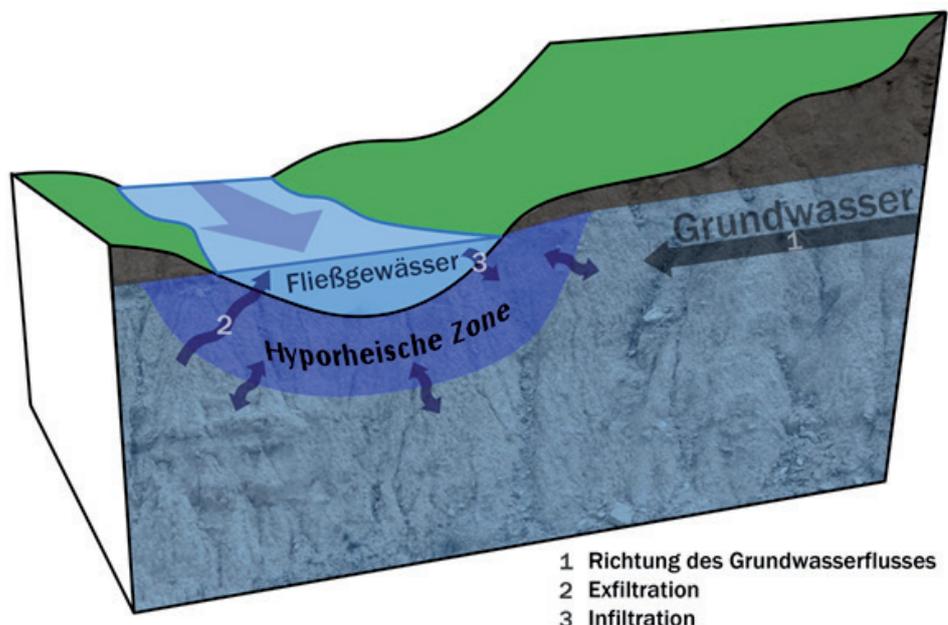
**Deshalb ist es aus ökotoxikologischer Sicht nicht gerechtfertigt, für die Bewertung des Risikos eines Schadstoffeintrages aus dem Grundwasser in ein Fließgewässer ausschließlich die verdünnte Schadstofffracht im Vorfluter heranzuziehen. Im hyporheischen Interstitial selbst findet eine solche Verdünnung nicht statt.**

Wie unter 8.1 beschrieben, deutet ein guter ökologischer Zustand auf ein intaktes hyporheisches Interstitial hin, das generell zu schützen ist. Die Exfiltration in ein Gewässer sollte daher nach einem strengeren Maßstab beurteilt werden. Weist der Gewässerabschnitt hingegen keinen guten ökologischen Zustand (Klassen 3 bis 5) auf, so ist oft auch das hyporheische Interstitial nicht intakt. Dies trifft in der Regel z. B. auf stark strukturveränderte Flüsse wie Bundeswasserstraßen oder staugeregelte Gewässer zu. Durch Pflegemaßnahmen für

die Schifffahrt wie Ausbaggern des Gewässerbettes, oder durch Schleusenbetrieb, wird die Ausbildung eines hyporheischen Interstitials ständig gestört. Es kann also durch ein schadstoffbelastetes Grundwasser nicht in dem Maße geschädigt werden, wie dies bei einem intakten hyporheischen Interstitial der Fall wäre.

Aus den vorgenannten Überlegungen folgt, dass bei einem guten Zustand des Oberflächengewässers und einem damit zu erwartenden intakten hyporheischen Interstitial der G-Wert niedriger anzusetzen wäre als bei einem eher schlechten Zustand. Dies bedeutet für die Anwendung der Tabelle 14, dass die Exfiltration in ein Gewässer, das über ein intaktes hyporheisches Interstitial verfügt, nach dem jeweils nächst-strengeren Maßstab beurteilt wird. So könnte z.B. ein großes Gewässer nach dem Maßstab für kleine bis mittlere Fließgewässer beurteilt werden.

Das jeweilige Gewässer muss dabei stets als Einzelfall betrachtet werden. Sofern der (flächige) Grundwassereintrag lokalisierbar ist, sollte der ökologische Zustand des Vorfluters oberhalb und unterhalb des Eintragsbereiches vergleichend betrachtet werden.



**Abb. 12:** Schematische Darstellung des hyporheischen Interstitials als Kontaktzone zwischen Oberflächenwasser und Grundwasser.

Grundsätzlich ist die Exfiltration von belastetem Grundwasser über ein intaktes hyporheisches Interstitial kritischer zu werten als die Einleitung von (belastetem) Grundwasser z.B. über ein Rohr in die fließende Welle. Erreicht das belastete Grundwasser ohne Passage des sensiblen hyporheischen Interstitials direkt die „fließende Welle“, wäre die Gefährdung aufgrund von Verdünnungsprozessen und vor allem höherer Abbauleistungen infolge größerer biochemischer Kompetenzen geringer einzustufen. Aus fachlichen Erwägungen könnten in einem solchen Fall die Maßstäbe für die Einleitung von Abwasser (AbwV 2004) angelegt werden. Schüttung

und Schadstofffracht wären in die Bewertung einzubeziehen und das Verschlechterungsverbot wäre zu beachten.

Dies wäre im Einzelfall bei der Immissionsbetrachtung im Rahmen des wasserrechtlichen Erlaubnisverfahrens zur Einleitung in ein Oberflächengewässer zu entscheiden (vgl. hierzu auch Anhang 8.3 der Arbeitshilfe zur Sanierung von Grundwasserverunreinigungen).

Diese Ausführungen basieren rein auf altlasten-fachlichen Überlegungen. Sie sind nicht aus rechtlicher Sicht überprüft.

## 9 Sonderfall: Empfehlungen bei Nutzung des Grundwassers als Trinkwasser

Der Beurteilung und der Sanierung einer Grundwasserverunreinigung ist unter dem Gesichtspunkt der Gefahrenabwehr eine höhere Priorität einzuräumen, wenn sich im Abstrom eine Trinkwassergewinnung befindet.

Trinkwasser ist für den menschlichen Verzehr bestimmt, so dass die Gefährdung des Menschen betrachtet werden muss. Da mit den bisher genannten Tests die Wirbeltiertoxizität nicht hinreichend abgebildet wird, sind ergänzende Tests erforderlich, die diesem Sachverhalt Rechnung tragen.

Die Überwachung der Trinkwasserqualität ist in erster Linie die Aufgabe der Gesundheitsbehörden. Testverfahren für die Beurteilung der Trinkwasserqualität werden in Arbeitskreisen, zum Beispiel unter Federführung des UBA, erarbeitet. Weiter unten wird beispielhaft auf einige Arbeitskreise hingewiesen. **Die nachfolgenden Anmerkungen sind nur als Hinweise zu verstehen, die in der Diskussion mit den zuständigen Behörden hilfreich sein können.**

Für eine Gefährdungsabschätzung mit ökotoxikologischen Methoden sollte die Testbatterie um Tests erweitert werden, die auf die spezielle, genetisch verändernde Wirkung von Schadstoffen auf Vertebraten (Wirbeltiere) eingehen. Zeigen die Tests eine Wirkung, dann sind gentoxisch wirkende Substanzen vorhanden.

Folgende ergänzende Elemente einer Testbatterie erhöhen die Sicherheit der Bewertung hinsichtlich einer Gefährdung des Menschen:

- umu-Test mit angereicherter Probe<sup>6</sup>  
Erweist sich eine unverdünnte Probe kontaminierten Grundwassers als nicht gentoxisch, so sollte der umu-Test nochmals mit einer angereicherten Probe durchgeführt werden. Damit könnte berücksichtigt werden, dass die durchschnittliche tägliche Trinkmenge eines Menschen von 2 l Wasser die Dosis erhöht.
- Fischei-Test mit angereicherter Probe  
Auch der Fischeitest sollte mit angereicherten Proben durchgeführt werden, wenn die unverdünnte Probe sich als nicht toxisch erweist.

<sup>6</sup> Verfahren in der chemischen Analytik: Aufkonzentrieren von Spurenstoffen aus/in einer Wasserprobe, um den Stoff nachweisen zu können.

Bei der Auswertung des Fischeitests sind folgende Parameter über die DIN-Vorschrift (siehe Anhang 5.1.1) hinaus besonders zu überwachen:

- zeitlicher Verlauf der Pigmentierung im 12 Stunden-Intervall im Vergleich zur Kontrolle
- Herzfrequenz im 12 Stunden-Intervall im Vergleich zur Kontrolle
- genaue mikroskopische Untersuchung der Wirbelsäule, insbesondere des Längenwachstums
- mikroskopische Untersuchung auf Ödeme
- Beobachtung embryotypischer Bewegungsabläufe

Sofern die tierschutzrechtlichen Voraussetzungen vorliegen, sollte der Test über einen Zeitraum von 144 h durchgeführt werden. Die Fähigkeit zur Kiemenbewegung, die Schwimmfähigkeit der Dottersacklarven und die Funktionen der Schwimmblase sind mit besonderer Sorgfalt zu überwachen.

Diese Beobachtungen sind zusätzlich im Prüfbericht zu dokumentieren. Im Falle von Abweichungen von der Normalentwicklung sind sie fotografisch zu dokumentieren.

Wenn aus der Historie des Standortes oder der Analytik Hinweise auf Belastungen mit Hormonen existieren, können spezielle Tests zur Erfassung von Hormonwirkungen angewendet werden. Dies können zum Beispiel der screening-Test mit transgenen Hefen (E-screening oder YES-assay) oder der *in vivo*-Test mit Goldorfen sein (diese Fische sind aufgrund der Bioakkumulation empfindlicher als Hefen und die Tests können ohne Voranreicherung durchgeführt werden).

Für belastetes Grundwasser, das einer Trinkwassergewinnungsanlage zuströmt, wäre es aus Sicht der Altlastenbearbeitung schlüssig, wenn sehr strenge Ziele formuliert würden. Werden Wirkungen festgestellt, dann muss die Gesundheitsbehörde über die Nutzung als Trinkwasser entscheiden, nicht die Altlasten- und Bodenschutzbehörde.

Im Normenausschuss Wasserwesen (NAW) des DIN befassen sich Untergremien mit suborganismischen Testverfahren; weitere Informationen enthält die Internetseite des DIN (DIN 2013) bzw. des NAW.

Forschungen und Arbeitskreise befassen sich mit dem Problem kritischer Spurenstoffe in Wasser, insbesondere bei Trinkwasser. Auf einige sei an dieser Stelle hingewiesen:

- Arbeitskreis „Biologische Testverfahren“ der Gesellschaft Deutscher Chemiker (GDCh)
- Projekt „Gefährdungsbasiertes Risikomanagement für anthropogene Spurenstoffe zur Sicherung der Trinkwasserversorgung (Akronym: Tox-Box)“, (UBA Tox-Box 2013)
- Projekt „Risikomanagement von neuen Schadstoffen und Krankheitserregern im Wasserkreislauf (RiskWa)“ beim Bundesministerium für Bildung und Forschung (BFBM RiskWa 2013)
- Arbeiten des Normenausschusses Wasserwesen (NAW) im DIN e. V.; einen Überblick über die Aktivitäten des DIN hinsichtlich Wasseruntersuchung findet man auf der Homepage zu biologischen Verfahren und als Unterpunkt zu suborganismischen Testverfahren, u.a. Gentoxizität.

## 10 Anwendungsbeispiele aus der Praxis

Im Rahmen der Altlastenbearbeitung wurden in Hessen in einigen wenigen Fällen ökotoxikologische Testverfahren angewendet. Beispielhaft sollen hier zwei Projekte vorgestellt werden.

### Beispiel Sonderabfalldeponie

In einer ehemaligen **Kiesgrube** wurden seit den 1960er Jahren bis 1972 vor allem Sonderabfälle verkippt. Seit 1973 wurden die Umweltauswirkungen der zum Teil im Grundwasser liegenden Abfälle untersucht. Eine Belastung des Grundwassers wurde festgestellt, die Gefahrenlage, unter anderem für einen im Grundwasserabstrom befindlichen großen Fluss, konnte jedoch nicht eindeutig bewertet werden. Aufgrund der Heterogenität der abgelagerten Abfälle ist unter anderem die Sorge geblieben, dass eine kritische Substanz übersehen werden könnte.

Im Rahmen der Untersuchungen der Deponie wurde immer wieder die Frage gestellt, auf welche Stoffe im Grundwasser zu untersuchen ist. Obwohl Screening-Untersuchungen in der Vergangenheit durchgeführt und die Ergebnisse im Überwachungsprogramm berücksichtigt wurden, blieb die Unsicherheit, ob die altlastentypischen Parameter mit besonderem Schwerpunkt auf die abgelagerten Stoffe für die Gefährdungsabschätzung ausreichen würden.

Gerade bei einer Sonderabfalldeponie stellt sich die Frage, inwieweit die einzelnen Inhaltstoffe der Abfälle im Laufe der Zeit miteinander reagiert haben, ob andere Stoffe durch chemische und physikalische Reaktionen oder durch mikrobiellen Abbau entstanden sind. Diese werden möglicherweise nicht im „normalen“ Überwachungsprogramm erfasst, könnten aber Wirkungen auf die aquatische Umwelt haben.

Andererseits sind Untersuchungen der Vielzahl an bekannten Substanzen, die Bestandteil der dort abgelagerten Abfälle waren, in einem verhältnismäßigen finanziellen Rahmen nicht möglich. Die Frage nach neu entstandenen Verbindungen und Substanzen wäre damit aber auch noch nicht beantwortet. Selbst Screening-Untersuchungen helfen nur in einem sehr begrenzten Rahmen, wie die Untersuchungen der Vergangenheit gezeigt haben.

All diese Überlegungen führten dazu, den bislang üblichen Weg der Einzelstoff- und Konzentrations-

betrachtung um die Untersuchung von Wirkungen zu ergänzen. 2007 wurde die Gefährdungsabschätzung um eine Untersuchung des kontaminierten Grundwassers auf mögliche ökotoxikologische Effekte hin erweitert. Das Grundwasser vom Standort sowie Sickerwasser aus Messstellen in der Deponie wurden dafür mit Fischeitest, Daphnientest, Algentest, Leuchtbakterientest und umu-Test untersucht. Damit wurde zusätzlich die **Wirkung eines Schadstoffgemisches** betrachtet. Eine der Fragestellungen war, ob sich der Schadstoffcocktail möglicherweise gegenüber den Wasserorganismen anders verhält als die Einzelsubstanzen.

Über die ökotoxikologischen Tests werden auch bislang unbekannte Stoffe mit erfasst, die nicht als Einzelsubstanz analysiert wurden, die aber möglicherweise im aquatischen System auch dominante Wirkungen zeigen können.

Die Ergebnisse zeigten, dass neben den bisher bekannten Auswirkungen auf das Grundwasser, die durch die klassischen Parameter und die Überschreitungen der Geringfügigkeitsschwellenwerte dokumentiert sind, in einzelnen Proben auch Wirkungen durch das Stoffgemisch auf das aquatische System vorhanden sind.

Insbesondere konnte nachgewiesen werden, dass das Sickerwasser aus verschiedenen Deponiebereichen unterschiedliche ökotoxische Wirkungen hatte: Diese Nachweise korrelierten gut mit den aus Schürfen gewonnenen Erkenntnissen über die Abfallzusammensetzung und mit der Ablagerungshistorie. Der Kernbereich zeigte starke Wirkungen auf aquatische Systeme, Deponiesickerwasser aus Randbereichen zeigte kaum Wirkungen. Auch im Grundwasserabstrom konnten unterschiedliche Bereiche gefunden werden.

Für die Gefährdungsabschätzung war in diesem Fall außerdem die Beurteilung des Einflusses der Schadstoffe aus dem Sickerwasser der Deponie auf das nahegelegene Oberflächengewässer von Bedeutung. Es war zu betrachten, ob der ökologische Zustand des Gewässers durch den Eintrag aus der Altlast verschlechtert wird. Als geeignetes Mittel wurden hierzu ebenfalls ökotoxikologische Tests herangezogen. Allerdings reicht eine einmalige Untersuchung nicht aus, um eine Entscheidungsgrundlage zu haben.

Die Erkenntnisse aus den Untersuchungen ergaben jedoch weitere Anhaltspunkte, um den Fall besser beurteilen zu können. So waren – neben den klassischen Beurteilungen – auch Überlegungen anzustellen, welche Auswirkungen der Sickerwassereintritt in das Gewässer haben könnte. Wie schon in Kapitel 2.3 geschrieben, ist hierbei das hyporheische Interstitial (HI) der Übergangsort zwischen Grundwasser und Oberflächengewässer und dabei die empfindlichste Stelle des Gewässers. In die Beurteilung sollte also auch eingehen, dass sich – wie im vorliegenden Fall – bei einem großen staugeregelten Gewässer mit Schifffahrt und dazu gehörenden Maßnahmen (z.B. Ausbaggern der Schifffahrtsrinne), das hyporheische Interstitial möglicherweise bereits in einem gestörten Zustand befindet.

Es könnte also durch ein schadstoffbelastetes Grundwasser nicht in dem Maße geschädigt werden, wie dies bei einem intakten hyporheischen Interstitial der Fall wäre.

Anhand der Ergebnisse der Überwachung und der ökotoxikologischen Tests ist heute eine differenziertere Bewertung der Grundwassersituation im Bereich der Sonderabfalldeponie möglich.

Dies wird in die Entscheidung über zu treffende Sicherungsmaßnahmen einfließen.

### Beispiel Altstandort

Das zweite Beispiel befasst sich mit einem **Altstandort**, an dem Spezialchemikalien hergestellt wurden. Diese Stoffe fanden bis Mitte der 1980er Jahre in der Industrie Verwendung.

Der Einsatz dieser Stoffe wurde aufgrund des hohen toxischen Potenzials bereits in den 1970er Jahren eingeschränkt und in den 1980er Jahren verboten. Zum Umweltverhalten der Stoffe sowie deren Abbau- und Nebenprodukte lagen damals nur spärliche Informationen vor. Im Gegensatz zu den Ausgangssubstanzen, die nicht wasserlöslich sind, sind einzelne Abbauprodukte gut wasserlöslich.

Während die auf dem Altstandort durch den Betrieb verursachten nachgewiesenen Bodenbelastungen konventionell durch Bodenaustausch der Hotspots saniert wurden, stellte die Bewertung der von den produzierten Stoffen und ihren Abbauprodukten ausgehenden Grundwassergefährdung eine besondere Herausforderung dar. Zur Ergänzung der Beurteilung wurden Wirkungsbetrachtungen mittels ökotoxikologischer Tests an belastetem Grundwas-

ser vom Standort durchgeführt. Hierbei standen folgende Fragestellungen im Focus:

- Ab welcher Konzentration des Schadstoffgemisches werden aquatische Organismen geschädigt?
- Wie toxisch sind die entstandenen Neben- und Abbauprodukte?
- Welche Wirkung haben die produzierten Verbindungen sowie deren Neben- und Abbauprodukte auf aquatische Organismen in Grund- und Oberflächenwasser?
- Sind die im Grundwasser nachgewiesenen Substanzen akut toxisch, chronisch toxisch und/oder reproduktionstoxisch?

Die Untersuchung erfolgte abgestuft in mehreren Schritten:

#### 1. Schritt:

Zunächst erfolgte die Überprüfung der akuten Toxizität und der Gentoxizität von zwei Grundwasserproben vom Standort mit unterschiedlicher Stoffzusammensetzung über eine Testbatterie, bestehend aus: Algentest, Leuchtbakterientest, Daphnientest, Fischeitest und umu-Test. Eine akute Toxizität wurde nicht gefunden, es ergab sich jedoch ein Hinweis auf chronische Toxizität im Fischeitest.

**Im zweiten Schritt** wurden zwei Grundwasserproben aus den gleichen Grundwassermessstellen auf chronisch toxische und reproduktionstoxische Wirkungen im Daphnientest (*Daphnia magna*) sowie auf chronische neurotoxische Wirkungen im Fischtest (Goldorfen) untersucht. Hier konnten reproduktionstoxische Effekte im Daphnientest und ein Hinweis auf neurotoxische Wirkungen im Fischtest (abgeschwächte Fluchtreaktion) nachgewiesen werden. In der Folge wurde dann unter nicht standardisierten Verfahrensbedingungen ein nochmaliger Fischtest durchgeführt, durch den festgestellt werden konnte, dass die neurotoxische Wirkung (abgeschwächte Fluchtreaktion) reversibel war.

Zur Kontrolle wurde darüber hinaus auch das Grundwasser aus dem Oberstrom untersucht. Hier wurde – völlig unerwartet – eine akut toxische Wirkung festgestellt. Weiterführende Untersuchungen ergaben, dass hier hohe Calciumgehalte vorlagen, welche offenbar ab einer Konzentration von etwa 100 mg/l toxisch (Wachstum/Reproduktion) auf *Daphnia magna* wirken (HOMMEL 2013, Merkblatt 58).

Für den Standort haben die ökotoxikologischen Untersuchungen folgendes ergeben:

- Aufgrund der Hinweise auf chronische und reproduktionstoxische Effekte ist von einer schädlichen Grundwasserverunreinigung auszugehen.
- Eine potenzielle Trinkwassernutzung ist nicht akzeptabel.

Zu beachten ist, dass bei den ökotoxikologischen Untersuchungen offenbar auch Effekte durch unproblematische (oder geogene) Stoffe (z. B. Calcium) hervorgerufen werden können.

Auf dem Standort wird zurzeit eine Sicherung betrieben; es kann kein belastetes Grundwasser abströmen.

## 11 Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wird gezeigt, dass ökotoxikologische Testverfahren im Rahmen der Altlastenbearbeitung ein begleitendes Instrument zur Bewertung einer Umweltbeeinträchtigung sein können. Insbesondere liefern sie Informationen darüber, inwieweit der Lebensraum Grundwasser und damit gegebenenfalls auch der Übergang zum Lebensraum Oberflächengewässer (s. hyporheisches Interstitial) durch einzelne Schadstoffe oder Schadstoffgemische geschädigt werden.

Mit ökotoxikologischen Testverfahren werden die Lebensfunktionen von Organismen und die Wirkungen von Schadstoffen auf Organismen überprüft. Im Hinblick auf den Schutz von Oberflächengewässern gibt es bereits bewährte, standardisierte Methoden, den Schadstoffaustrag aus Abwässern, Baggergut oder Abfällen ökotoxikologisch zu untersuchen und zu bewerten. Da bei diesen Testverfahren Lebensfunktionen überprüft werden, die sowohl im Grundwasser als auch im Oberflächengewässer gleich ablaufen, ist es grundsätzlich statthaft, diese Tests auch für die Untersuchung von Grundwasserverunreinigungen einzusetzen.

Die hier vorgeschlagene Teststrategie zielt nicht darauf ab, Ökosysteme zu simulieren. Es sollen vielmehr biologische Funktionen und Expositionspfade, die für alle Bereiche der aquatischen Umwelt gleichermaßen relevant sind, modellhaft untersucht werden.

Die in dieser Studie beschriebenen standardisierten Testverfahren sind geeignet, die Bearbeitung von Altlasten im Einzelfall gezielt zu unterstützen. Bei komplexen Schadstoffgemischen kann das von einem Standort ausgehende Gefährdungspotenzial besser und zuverlässiger charakterisiert werden, in-

dem man die **Wirkungen** von Schadstoffen auf Organismen untersucht. Die Resultate der ökotoxikologischen Untersuchungen erhöhen die Sicherheit, Risiken zu erkennen, welche die chemische Analytik allein nicht immer abbilden kann.

Es wird daher vorgeschlagen, die Untersuchung von Grundwasserproben aus Altlasten in Einzelfällen an die Praxis aus den o.g. Bereichen anzulehnen. Neben der Bewertung der Auswirkung von komplexen Schadstoffgemischen können ökotoxikologische Untersuchungen auch bei Stoffen, für die kaum Beurteilungsgrundlagen vorhanden sind, oder bei Standorten, für die nur wenige Informationen über die verwendeten Stoffe erhoben werden konnten, hilfreich sein. Ein anderer Einsatzbereich sind Fälle, bei denen Grundwasserverunreinigungen über das hyporheische Interstitial in einem engen Austausch mit einem oberirdischen Vorfluter stehen.

Durch die mit einer Testbatterie erzielten Ergebnisse, ausgedrückt in G-Stufen, wird eine Aussage darüber möglich, ob das aquatische Ökosystem eventuell durch Schadstoffe bzw. Schadstoffgemische beeinträchtigt wird. Hierzu werden Vorschläge unterbreitet und Grenzen für die Anwendbarkeit aufgezeigt. Es wurde ein Bewertungsmaßstab für das Grundwasser herausgearbeitet, der sich an der Schutzbedürftigkeit der Ökosysteme Quelle und Oberflächengewässer orientiert.

Die Erprobung der in dieser Studie aufgezeigten Verfahren und Empfehlungen an geeigneten Fällen aus der Altlastenpraxis wäre wünschenswert. Die dabei gewonnenen Erfahrungen könnten wichtige Informationen zur Verifizierung liefern und in einer Fortschreibung und Weiterentwicklung dieser Studie münden.

## 12 Ausblick

Bei der Erarbeitung der Studie wurde festgestellt, dass es noch erhebliche Wissenslücken gibt. Der hier beschrittene Weg ist neu, da bisher weder allgemeine Grundlagen für die Anwendung von ökotoxikologischen Tests in der Altlastenbearbeitung noch Maßstäbe für die Beurteilung der Ergebnisse existieren. Die Studie gibt deshalb einen Überblick über die Grundlagen und Zusammenhänge der Ökotoxikologie und des Ökosystems Grundwasser. Im Anhang ist auch eine Beschreibung der genannten Testverfahren vorhanden, so dass man sich bei Interesse in diese für die Altlastenbearbeitung neue Materie einarbeiten kann. Damit soll Behörden und Ingenieurbüros die Möglichkeit eröffnet werden, bei Schadstoffgemischen und bei Substanzen, über die noch wenige Kenntnisse vorliegen, weitere Informationsquellen zu erschließen.

Nachfolgend werden einige Aspekte genannt, für die weiterer Forschungsbedarf besteht bzw. die einer näheren Beschreibung bedürfen:

### ökotoxikologische Testverfahren

Bislang ist es noch nicht gelungen, Grundwasserorganismen zu isolieren und als Testorganismen zu züchten. Man ist also darauf angewiesen, ökotoxikologische Tests mit Organismen aus dem Oberflächengewässer durchzuführen. Daraus ergeben sich Einschränkungen für die Interpretation der Ergebnisse von Grundwasserproben. Belichtung und Belüftung beispielsweise, die für die Testorganismen aus dem Oberflächensystem unerlässlich sind, können einzelne Substanzen gegenüber der Originalprobe verändern. Das ist bei der Auswertung der Ergebnisse zu berücksichtigen.

Eine Schwierigkeit beim Einsatz ökotoxikologischer Methoden zur Bewertung von Schadstoffgemischen im Altlastenbereich besteht z. B. auch darin, dass für weit verbreitete und häufig in Altlasten vorkommende Schadstoffe keine Referenzdaten vorliegen. Manche Schadstoffe wurden bisher weder in Einzelsubstanztests untersucht, noch wurden definierte, häufig auftretende Mischungen unter standardisierten Bedingungen getestet. Eine toxische Wirkung kann daher nur schwer auf die Wirkung einer Substanz zurückgeführt werden. Diese Daten wären hilfreich, um experimentell ermittelte Schadwirkungen mit diesen Wirkungsbildern vergleichen

zu können. Auf dieser Grundlage könnte festgestellt werden, ob eine experimentell ermittelte Schadwirkung der chemisch-analytisch erfassten Belastung entspricht. Ist dies nicht der Fall, wäre das ein Hinweis, dass eine weitere Beeinträchtigung von bisher unbekanntem Einzelstoffen oder Stoffgemischen ausgeht.

Auch zur Anwendung ökotoxikologischer Testverfahren auf Grundwasser und zur Beurteilung von Schadstoffgemischen sind weitere Forschungen erforderlich. Unter anderem wäre es notwendig, die in Kapitel 7.2 erwähnten sowie weitere Effekte systematisch zu untersuchen, zu beschreiben und die Erkenntnisse zu veröffentlichen. So kann die Anwendung der ökotoxikologischen Tests auf eine breitere Basis gestellt werden.

### Ökosystem Grundwasser

Eine Bewertung, vergleichbar mit der Beschreibung verschiedener Fließgewässertypen, ist für das Ökosystem Grundwasser derzeit noch nicht möglich. Es gibt für das Grundwasser noch kein Bewertungssystem und keine Beschreibung von Grundwassertypen. Die LAWA hat eine Arbeit über die „Entwicklung biologischer Bewertungsmethoden und -kriterien für Grundwasserökosysteme“ in Auftrag gegeben, die Veröffentlichung durch das UBA wird vorbereitet (UBA 2014). Andere Untersuchungen befassen sich damit, die Fauna im Grundwasser genauer zu beschreiben.

### anthropogene Einflüsse

Neben den durch Altlasten verursachten Schadwirkungen können auch anthropogene Einflüsse (z. B. Salzfrachten, Grundwasserabsenkung) auf das Ökosystem Grundwasser bestehen. Diese Einflüsse und die eventuell hieraus resultierenden Überschreitungen von Schwellenwerten wurden jedoch in dieser Studie nicht ausgearbeitet.

Diese Studie ist ein erster Schritt in die Richtung der Wirkungsbetrachtung und Anwendung der Testverfahren in der Altlastenbearbeitung. Die Arbeitsgruppe hat mit dieser Studie fachliches Neuland betreten. Es bleibt zu wünschen, dass Interessierte sie in geeigneten Fällen zum Anlass für eine praktische Umsetzung nehmen. Nur so können Erfahrungswerte gesammelt, Wissenslücken geschlossen und damit eine Akzeptanz dieser Verfahren erreicht werden.

**Anhang 1: Glossar**

Begriff	Erläuterung
adult	erwachsen
allochthon	an anderer Stelle entstanden
Anenzephalie	embryonale Fehlentwicklung, bei der Kopfreion und Gehirn nicht ausgebildet wird
Anreicherung einer Probe	Verfahren in der chemischen Analytik: Aufkonzentrieren von Spurenstoffen aus/in einer Wasserprobe, um den Stoff nachweisen zu können. Die tatsächliche Konzentration des Stoffes in der Probe wird zurückgerechnet.
Aquifer	Grundwasserleiter
autotroph	sich durch anorganische Stoffe ernährend; insbesondere Pflanzen, Bakterien und Algen können über Photosynthese und die Aufnahme von CO <sub>2</sub> als Kohlenstoffquelle ihre körpereigenen Moleküle aufbauen - Primärproduzenten; Gegensatz zu heterotroph
Benthos	Gesamtheit aller in der Bodenzone eines Gewässers, dem Benthos, vorkommenden Lebewesen, abgeleitet vom griechischen benthos („Meerestiefe“, „Dickicht“)
BFG	Bundesanstalt für Gewässerkunde
Biota	alle Lebewesen der Umwelt: Pflanzen, Tiere, Pilze u. a.
Biotransformation	Vorgang im Stoffwechsel von Lebewesen, bei dem Stoffe durch chemische Prozesse umgewandelt (transformiert) werden. Die Biotransformationsprodukte werden auch als Metaboliten bezeichnet.
Biozönose	Gemeinschaft von Organismen verschiedener Arten in einem abgrenzbaren Lebensraum (Biotop)
Destruenten	Organismen, die organisches Material und Ausscheidungsprodukte in ihre chemischen Bestandteile zerlegen
detrivor	sich von totem organischem Material (Detritus) ernährend
Detritus	zerfallende organische Substanzen in Gewässern, Reste abgestorbener Pflanzen und Tiere; Nahrung für Destruenten
Diversität	Vielfalt; Biodiversität = Artenvielfalt
DOM	dissolved organic matter, d.h. gelöstes organisches Material
Dosis	Menge eines Stoffes, der einem Organismus zugeführt wird. Konzentration dagegen gibt den Gehalt eines Stoffes in einem Gesamtgemisch an.
EC 50	(Effect Concentration) Konzentration, bei der der Effekt bei 50% der geprüften Individuen auftritt
ED 50	(Effect Dosis) Dosis, bei der 50% der geprüften Individuen einen Effekt zeigen
Elektrophorese	Wanderung elektrisch geladener Teilchen durch einen als Trägermaterial dienenden Stoff in einem elektrischen Feld; Methode zur Auftrennung von hochmolekularen organischen Stoffgemischen
endobenthische Organismen	im Sediment lebende Organismen
Elektronenakzeptor	Moleküle der Zellatmung, über die aus der Nahrung stammende Elektronen über mehrere Stufen auf O <sub>2</sub> (aerob) oder NO <sub>3</sub> , SO <sub>3</sub> u.a. übertragen werden, dabei wird Energie und H <sub>2</sub> O freigesetzt
Exfiltration	Grundwasser speist das Oberflächengewässer
Exkretion	Ausscheidung
Exposition	Ausgesetztsein eines Organismus gegenüber (schädlichen) Umwelteinflüssen
Genotoxizität	Wirkungen von (chemischen) Stoffen, die Änderungen im genetischen Material von Zellen auslösen
Genotoxine	Erbgut schädigende Substanzen
Giftung	Überführen einer aufgenommenen ungiftigen Substanz durch Biotransformation in einen giftigen Metaboliten

Begriff	Erläuterung
Gobio	Gattung kleinwüchsiger Karpfenfische; z. B. Gründling ( <i>Gobio gobio</i> ) (Namensgeber für das an der Studie beteiligte Institut)
Hermaphroditen	zweigeschlechtliche Tiere, Zwitter
heterotroph	"sich von anderen ernährend"; heterotrophe Organismen verwenden organische Kohlenstoffquellen zum Aufbau körpereigener Substanz
HLBG	Hessisches Landesamt für Bodenmanagement und Geoinformation
Hyporheisches Interstitial	Lebensraum unter dem Gewässerbett eines Fließgewässers, physikochemisch vom Oberflächengewässer und vom Grundwasser beeinflusst; s. Erklärung im Text Kap. 2.3.2
Hyporhithral	Das Rhithral (siehe dort) wird unterteilt in Epi-, Meta- und Hyporhithral, das heißt oberer, mittlerer und unterer Bachabschnitt. An das Hyporhithral schließt sich im Mündungsbereich das Potamal an.
H 14 "ökotoxisch"	Gefährlichkeitskriterium; die EG-Richtlinie 91/689/EWG nennt 14 Kriterien zur Charakterisierung gefährlicher Abfälle. Kriterium H 14: ökotoxisch. Mit dem so genannten HAZARD-Check ist es möglich, aus einer konventionellen Feststoff- und Eluatanalyse die Beurteilung über die gefährlichen Eigenschaften (Hazard- oder H-Kriterien) und damit über die besondere Überwachungsbedürftigkeit eines Abfalls abzuleiten. s. Lit. (UBA 2008)
Indikatorarten	Ein Bioindikator, auch <i>Indikatorart</i> , ist ein Lebewesen, welches auf Einflüsse des Menschen mit Veränderungen in seinen Lebensfunktionen oder mit Vorkommen/Fehlen reagiert, sowie die vom Menschen in die Umwelt eingebrachten Stoffe speichert. [wikipedia, Recherche 18-06-2013]
Induktion	Auslösen einer Wirkung Im Zusammenhang mit Toxizität: Auslösen oder Verursachen von Missbildungen
Ingestion	Aufnahme eines Stoffes über den Mund und Verdauungstrakt. Gegensatz: Inkorporation, das ist die Aufnahme über die Haut oder die Lunge
Inokulum	Impfkultur, die die mikrobielle Gemeinschaft des Klärschlammes repräsentiert
Invertebraten	Wirbellose
ISO	International Organisation for Standardisation
juvenil	Kindheits- und Jugendstadien
kanzerogen	krebsauslösend
Kolmation	Verstopfen der Poren im Bodenkörper oder Sediment
Konzentration	Die Konzentration gibt an, wie viel von einem Stoff in einer Vergleichsmenge des Gesamtgemisches vorhanden ist
Krenal	Lebensraum der Quelle
Krenobionte	Organismen, die im Quellgebiet leben
letal	tödlich
LC	letale Konzentration
LC <sub>50</sub>	gibt an, bei welcher Umgebungskonzentration einer Substanz die Hälfte der Testorganismen sterben ( <i>i.d.R. bei aquatischen Tests, da hier eine gezielte Applikation (z.B. oral) gar nicht möglich sein dürfte</i> )
LD	letale Dosis
LD <sub>50</sub>	gibt die mittlere Dosis einer Substanz bezogen auf kg Körpergewicht des Testorganismus an, bei deren einmaliger Gabe (z.B. oral, subkutan, intravenös) die Hälfte der Testorganismen sterben (u.a. auch LD <sub>75</sub> - tödliche Dosis oder LD <sub>99</sub> - sicher tödliche Dosis z.B. für Arsen: LD <sub>50</sub> Ratte, oral 10 mg/kg)
LID	lowest <b>ineffective</b> dilution; niedrigste ineffektive (nicht wirksame) Verdünnungsstufe
Makrofauna	Anteil der bodenlebenden Tiere mit einer Größe von 4 mm bis 80 mm [geodz.com; Recherche 25-06-2013]
Makrophyten	höhere Wasserpflanzen

Begriff	Erläuterung
Makrozoobenthos	<i>benthische Invertebratengesellschaft</i> ; tierische Organismen, die im Gewässerboden (Benthos) leben, bis zu einer definierten Größe (mit dem Auge noch erkennbar; > 1 mm)
Meiofauna	Anteil der (tierischen) Organismen mit einer Größe von 0,2 bis 4 mm; auch als Me-sofauna bezeichnet [geodt.com; Recherche 25-06-2013]
MNA	Monitored Natural Attenuation, überwachte natürliche Abbau- und Rückhalteprozesse im Grundwasser
mutagen	Veränderungen am Erbgut auslösend
neuronal	die Nerven betreffend
OECD	Organisation for Economic Co-Operation and Development (Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung)
OECD 303A	Coupled Units Test, Beurteilung der biologischen Abbaubarkeit mit Hilfe von Laborkläranlagen
Ökoton	auch Saumbiotop, Randbiotop: Übergangsbereich zwischen zwei verschiedenen Ökosystemen, dieses ist oft besonders artenreich
omnivor	allesfressend
PEC	Predicted Environmental Concentration: über Ausbreitungsmodelle vorhergesagte, in der Umwelt wiederzufindende Konzentration eines (Schad-)Stoffes nach dem In-Verkehr-Bringen; erwartete Umweltkonzentration
PNEC	Predicted No Effect Concentration: stoffabhängiger Wert; vorhergesagte Konzentration eines (Schad-) Stoffes, bei der keine Wirkung in der Umwelt zu erwarten ist
PERLODES	Deutsches Bewertungsverfahren für die Bewertung des ökologischen Zustands anhand des Makrozoobenthos
Persistenz	Eigenschaft von Stoffen, unverändert durch biologische, chemische oder physikalische Prozesse in der Umwelt zu verbleiben; nicht abbaubar
Phreatobionte	Organismen, die ausschließlich im Lückenraum des Grundwassers leben; in der phreatischen Zone sind die Porenräume ständig mit Wasser gefüllt
Physikochemie	Teilgebiet der Chemie, das sich mit den bei chemischen Vorgängen auftretenden physikalischen Erscheinungen befasst
POM	Partikuläres organisches Material; Gegensatz zu DOM
Potamal	Lebensraum Fluss
Primärproduktion	Produktion von Biomasse durch Primärproduzenten (z.B. Pflanzen, autotrophe Bakterien) mit Hilfe von Licht
REACH	<b>R</b> egistration, <b>E</b> valuation, <b>A</b> uthorisation and <b>R</b> estriction of <b>C</b> hemicals, d.h. Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung von Chemikalien; EU-Chemikalienverordnung, Nr. 1907/2006 (REACH-Verordnung)
reproduktionstoxisch	die Fruchtbarkeit gefährdend; früher wurde der Ausdruck teratogen benutzt
Resorption	Aufnahme von Stoffen (Nahrungsaufnahme) in biologischen Systemen
retardiert	zeitlich verzögert
Rezeptor	Spezialisierte Zellen oder Moleküle, die zur Aufnahme und Weiterleitung chemischer oder physikalischer Reize dienen
Rhithral	Lebensraum Bach
saprobielle Belastung	Belastung der Fließgewässer mit biologisch abbaubaren, organischen Inhaltsstoffen und deren Abbauprodukten (aus Einleitung DIN 38410-1:2004-10)
Saprobienindex	Maß der organischen Verschmutzung eines Fließgewässers; wird bestimmt nach DIN 38410-1:2004-10
Schwellenwert	Schwellenwert im Sinne dieser Studie ist die Schwelle, deren Überschreitung eine toxikologische Wirkung anzeigt, die eine Überprüfung erforderlich macht. Der Begriff Schwellenwert wurde bewusst gewählt, um ihn gegenüber Prüfwerten in anderen Regelwerken abzugrenzen.
Somiten	so genannte „Ursegmente“ (Urwirbel), die vorübergehend in der Embryonalentwicklung von Wirbeltieren entstehen

Begriff	Erläuterung
Stygobionte	Organismen, die ausschließlich im Grundwasser leben; können außerhalb des Grundwassers nicht längere Zeit überleben
Stygophile	Organismen, die vorwiegend im Grundwasser leben; sie sind auch im Oberflächenwasser überlebens- und reproduktionsfähig
Stygoxene	Organismen, die nur selten im Grundwasser leben; sie wurden von außen in das Grundwasser eingeschleppt und sind langfristig nicht überlebensfähig
subletal	fast tödlich
suborganismische Testverfahren	Bei diesen Tests wird ein selektives biologisches System (Enzym, Antikörper, Zelle) eingesetzt statt eines Organismus oder einer Population.
Taxonomische Gruppen	Einteilung von Lebewesen nach ihren verwandtschaftlichen Beziehungen. Taxon ist in der Biologie eine als systematische Einheit erkannte Gruppe von Lebewesen; Plural Taxa
teratogen	fruchtschädigend
transgene Hefen	gentechnisch veränderte Hefen, die bei Testverfahren zur Erfassung von Hormonwirkungen eingesetzt werden können
Trophie-Ebene	Stellung von Lebewesen in der Nahrungskette (Primärproduzenten, Primär-, Sekundär- und Tertiärkonsumenten, Destruenten)
Trophie-Stufen	Zuordnung insb. von Gewässern nach Nährstoffangebot (oligo-, meso-, eu-, poly-, hypertroph)
UBA	Umweltbundesamt
umweltoffene Anwendung	Wird im Zusammenhang mit REACH benutzt. Handhabung von Stoffen oder Materialien nicht innerhalb von geschlossenen Systemen/ Anlagen, sondern mit Kontakt zur Umwelt
UQN	Umweltqualitätsnorm, die Konzentration eines bestimmten Schadstoffs oder einer bestimmten Schadstoffgruppe, die in Wasser, Sedimenten oder Biota aus Gründen des Gesundheits- und Umweltschutzes nicht überschritten werden darf (Definition § 2 Zif. 3 der OGewV; UQN für flussgebietspezifische Schadstoffe sind in Anlage 5 der OGewV aufgeführt.)
VDG	Vereinigung Deutscher Gewässerschutz e.V.
WSV	Wasser- und Schifffahrtsverwaltung des Bundes
Zönose	Lebensgemeinschaft verschiedener Organismen

## Anhang 2: Bewertung des ökologischen Zustands von Fließgewässern

Im Kapitel 7 dieser Studie sind Ansätze für eine öko-toxikologische Bewertung von Schadstoffeinträgen in das Grundwasser beschrieben. In Abhängigkeit von der Umgebungsnutzung kann dabei ggf. eine ergänzende Bewertung weiterer Schutzgüter erforderlich werden. Einen Sonderfall stellt in diesem Zusammenhang der Übertritt von belastetem Grundwasser aus dem Abstrom einer Altlast in ein Oberflächengewässer dar (vgl. Kapitel 8). In diesem Fall ist zur Beurteilung der Schadwirkung auf das Gewässer auch eine Betrachtung des Gewässerzustandes erforderlich.

Dabei ist zum einen von Bedeutung, wie der Übertritt des Grundwassers in das Fließgewässer (Exfiltration) erfolgt. Wichtige Einflussfaktoren sind die Größe der Übergangsfläche (punktuell oder flächig), die Abstandsgeschwindigkeit des Grundwassers sowie die Sorbierbarkeit von Schadstoffen in der Übergangszone. Für eine öko-toxikologische Bewertung hat, wie in dieser Studie gezeigt, das hyporheische Interstitial eine besondere Bedeutung. Es handelt sich hier um die empfindlichste Stelle eines Gewässers; ohne eine intakte hyporheische Zone ist kein funktionsfähiges Fließgewässerökosystem möglich (vgl. Kapitel 2.3).

(= Fischnährtiere), von Wasserpflanzen sowie von benthischen und planktischen Algen untersucht; es werden keine öko-toxikologischen Tests durchgeführt. Sowohl zur Feststellung der Gewässergüte als auch zur Feststellung einer möglichen allgemeinen Degradation eines Gewässers kommt insbesondere die Makrozoobenthos-Erhebung nach dem deutschen Fließgewässer-Bewertungssystem PERLODES<sup>7</sup> zum Einsatz. Dabei werden dem Gewässer nach einem genau festgelegten Protokoll die bodenlebenden wirbellosen Tiere (Makrozoobenthos) entnommen. Es wird die Artenzusammensetzung und die Häufigkeit, mit der die einzelnen Arten vertreten sind, bestimmt. Ein Computerprogramm ASTERICS ermittelt anhand der Standortansprüche und der Häufigkeit der vorgefundenen Arten die ökologische Güteklasse des Standorts. Beschrieben wird das Verfahren im Handbuch Hessen, Teil 3 „Fachliche Umsetzung der Wasserrahmenrichtlinie in Hessen“. Kapitel 3.1 B befasst sich mit „Methodenbeschreibungen und Bewertungsgrundlagen im Rahmen der Überwachung der biologischen Qualitätskomponenten in Fließgewässern“. (Hessen 2007)

Grundlage für die Bewertung des Gewässerzustandes ist der Vergleich mit Referenzlebensgemeinschaften, die in geographisch vergleichbaren natur-

### Anhang 2.1 Ökologischer Zustand eines Fließgewässers

Weitere relevante Aspekte bei der Bewertung der Exfiltration in ein Oberflächengewässer sind dessen Gewässergüte und der ökologische Zustand. Hierzu kann man auf die Methoden zur Umsetzung der EU-Wasserrahmenrichtlinie (WRRL) zurückgreifen. Zur Beurteilung des ökologischen Zustands wird hauptsächlich das Vorkommen und die Häufigkeit von Fischen, von Makrozoobenthosorganismen

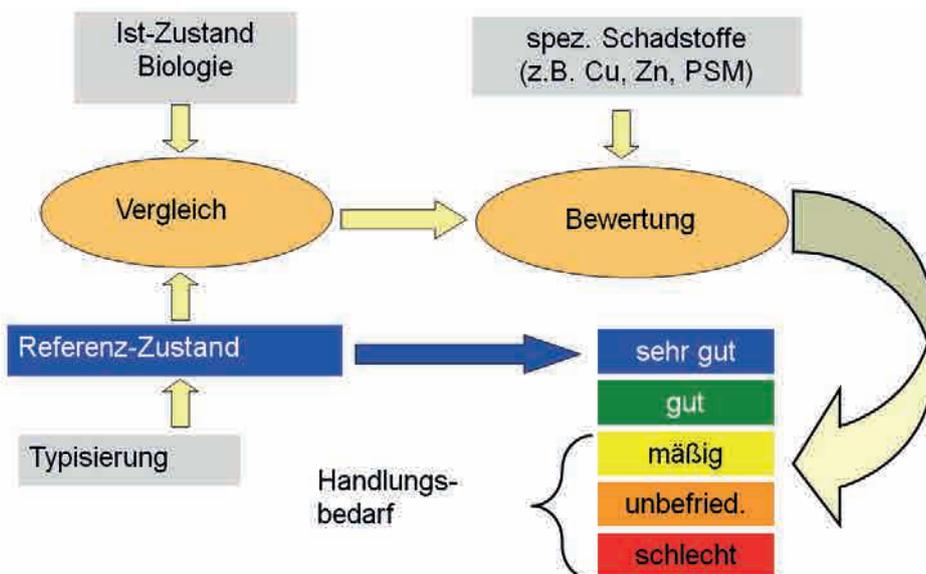


Abb. 13: Schema zur Vorgehensweise bei der Bewertung des ökologischen Zustands WRRL.

<sup>7</sup>Das Bewertungssystem PERLODES umfasst auch die Software ASTERICS (im März 2013: Version 3.3.1) und steht zusammen mit umfassenden Erläuterungen als Download unter <http://www.fliessgewaesserbewertung.de/> zur Verfügung.



**Abb. 14:** Gewässer ökologischer Zustandsklasse 5: strukturelle Degradation bedingt schlechte Biologie, keine chemische Belastung. (Foto GOBIO GmbH)

belassenen Gewässern vorkommen. Diese Methode zeichnet sich durch eine relativ hohe Reproduzierbarkeit aus. Sie ist jedoch oft nicht sicher anwendbar in strukturell stark degradierten Gewässern, wie z.B. staugeregelten Flüssen und in Gewässern mit hohem Anteil an Fremdarten (Abb. 13).

Liegt eine Grundwasserkontamination im direkten Zustrom eines Fließgewässers, dann können zur Ermittlung der Umweltgefährdung, die von der Kontamination ausgeht, Daten zum ökologischen Zustand des Vorfluters herangezogen werden. Diese Informationen und Daten über bereits vorhandene Makrozoobenthos-Erhebungen sind bei der zuständigen Umweltbehörde oder dem HLUG zu erhalten.

Die ökologische Gesamtbewertung (der ökologische Zustand) eines Standortes unterscheidet jedoch vordergründig nicht zwischen den beiden möglichen Ursachen für eine Beeinträchtigung der Gewässerqualität. Zum einen kann eine **strukturelle Degradation** (z.B. Begradigung, Ufer- und Sohlverbau, Stauhaltung) vorliegen, aus der eine mangelnde strukturelle Diversität des Gewässers resultiert, und die damit eine geringe Artenvielfalt nach sich zieht (Abb. 14). Ist trotz einer vielfältigen Struktur keine vielfältige Fauna vorhanden, so deutet dies auf die zweite mögliche Ursache für eine Beeinträchtigung



**Abb. 15:** Gewässer ökologischer Zustandsklasse 4: stoffliche Belastung bedingt unbefriedigende Biologie, keine strukturelle Degradation. (Foto GOBIO GmbH)

der Gewässerqualität, und zwar auf eine **stoffliche Belastung** (z.B. Schadstoffeintrag, hoher Abwasseranteil, hohe Konzentration von Pflanzennährstoffen) hin (Abb. 15). Erst wenn die biologischen Qualitätskomponenten weder eine strukturelle Degradation noch eine stoffliche Belastung anzeigen und keine erhöhte Schadstoffbelastung gemessen wurde, kann ein Gewässer in eine „sehr gute (Klasse 1) oder gute (Klasse 2) ökologische Zustandsklasse eingestuft werden“, siehe Abbildung 16.



**Abb. 16:** Gewässer ökologischer Zustandsklasse 2: biologisch, strukturell und chemisch guter Zustand. (Foto GOBIO GmbH)

## Anhang 2.2 Erhebung des ökologischen Zustandes am Beispiel der Oberen Weil

Im Folgenden soll am Beispiel der oberen Weil (Abb. 17) das Verfahren zur Makrozoobenthos-Erhebung nach PERLODES erläutert werden. Mit Hilfe von Freilandmethoden wird überprüft, welche Organismen im Gewässerbett leben, und anhand dieser Ergebnisse wird der ökologische Zustand des Gewässers bestimmt. Das Beispiel gibt einen Überblick über den Datensatz (Tab. 15), wie er nach der EU-Wasserrahmenrichtlinie erhoben wird und zeigt,

wie sich ein vermutlich punktförmiger Grundwasserzuström in das Oberflächengewässer in der benthischen Lebensgemeinschaft widerspiegelt.

Zunächst werden in den Stammdaten Standort- und Substratfaktoren beschrieben, die für die spätere Beurteilung erforderlich sind. Anschließend werden die faunistischen Daten tabellarisch dargestellt und der ökologische Zustand der oberen Weil bewertet. Nach der Erfassung der Grunddaten werden die Untersuchungen im Gelände durchgeführt. Es wird bestimmt, wie viele Individuen eines bestimmten Or-



Abb.17: Die obere Weil. (Foto GOBIO GmbH)

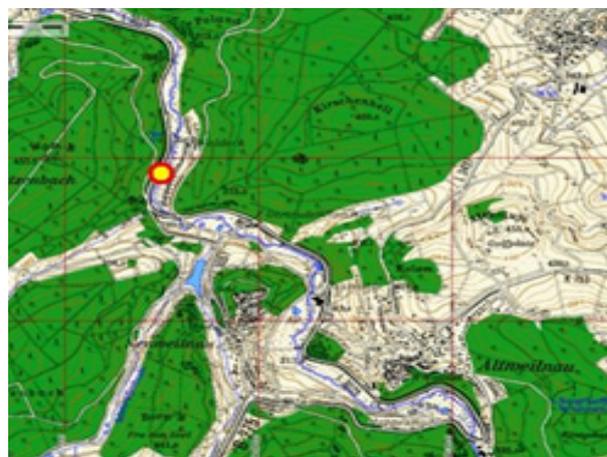


Abb.18: Lage der oberen Weil. (Karten-Bearbeitung: HLUG Wiesbaden 2007; auf Grundlage der TK 25, HLBG)

Tabelle 15: Stammdaten und Standortfaktoren der oberen Weil.

### Stammdaten

DEHE 2586.2	11142	Weil, unterh Neuweilnau				Untersuchungsdatum
ID-Gis	Zust. Behörde	G. Typ	Gutacht.	Typ MZB	Rechtswert	Hochwert
2586_ab_289	RP-Darmstadt			05	3457466	5576861
Fischregion	Struktur (Laufentwicklung/Längsprofil/Querprofil/Sohle/Ufer/Umfeld/Gesamt)					
Untere Forellenregion	- /-/3/3/4/-/3					

### Standortfaktoren

Breite [m]	Tiefe [m]	Strömung	Uferverbau (links/rechts)	Sohlverbau	Flächennutzung (links/rechts)	
2,0 - 5,0	0,1 - 0,3		Steinschüttung /		Grünland/Grünland	
Laufkrümmung	Tiefenvarianz	Breitenvarianz	Besiedl.-feind. Faktoren	Verunreinigungen	Beschattung	Aufwuchs
mäßig	mäßig	gering		Hausmüll	halbschattig	

### Substrat [%]

Hygropetrische Zone	Felsblöcke	Steine	Kleine Steine/Schotter	Grobkies	Mittelkies	Sand	
	5 %	10 %	20 %	20 %	5 %	5 %	
Lehm/Ton	Ufer-/Sohlverbau	Algen	Submerse Pflanzen	Emerse Pflanzen	Totholz	Fallaub	Schlamm
		5 %	10 %	5 %	5 %	5 %	5 %

ganismus im Gewässerbett leben. Hierzu muss zunächst eine Probenahmestelle ausgewählt werden, die einen längeren Gewässerabschnitt repräsentiert. So müssen dabei z.B. Schmutzwassereingleitungen oder Nebengewässer berücksichtigt werden. Bei größeren Gewässern können die Probenahmestellen auch nach einem Raster (z.B. Gewässerkilometer) ausgewählt werden.

An der gewählten Probenahmestelle werden auf einer Fläche von 1,25 m<sup>2</sup> alle im Gewässerbett (nicht im freien Wasserkörper) lebenden Organismen, die Indikatorarten sein können, aufgesammelt. Neben der Präsenz der einzelnen Arten ist in diesem Verfahren nach PERLODES auch deren absolute Häufigkeit zu bestimmen.

Die meisten Indikatorarten sind im Gelände nicht mit hinreichender Sicherheit zu bestimmen. Deswegen werden die Organismen in der Regel im Zuge der Freilanduntersuchung abgetötet, konserviert und die Arten im Labor unter Einsatz eines Binokulars bestimmt.

In Tabelle 16 sind die Indikatorarten der Probe mit ihrer Häufigkeit aufgelistet.

Aufbauend auf der faunistischen Erhebung wird der ökologische Zustand bewertet. Für die WRRL wurde ein eigenes Bewertungssystem (PERLODES) geschaffen, das neben der organischen Verschmutzung (dem Saprobienindex – gemäß DIN 38410) weitere Bewertungselemente enthält (vgl. Tabelle 17).

In der oberen Weil wurden fast alle typischen Großgruppen der grobmaterialreichen, silikatischen Mittelgebirgsbäche gefunden. Ein großer Anteil der gefundenen taxonomischen Gruppen ist ein Anzeiger für eine hohe Strukturvielfalt und natürliche Habitatzusammensetzung. Die massenhaft auftretende Gattung *Rhithrogena* (*semicolorata-Gr.*) gilt als typischer Rhithralbesiedler, d.h. des Lebensraums Bach, der auf unverschmutztes, sauerstoffreiches Wasser angewiesen ist. Ungewöhnlich ist die hohe Anzahl empfindlicher Taxa mit einem niedrigen Saprobie-Wert, die in großer Häufigkeit

**Tabelle 16:** Faunistische Daten der Makrozoobenthos-Erhebung der oberen Weil (gekürzt).

Anzahl der nachgewiesenen Taxa: 30		
Summe Individuen/1,25 m <sup>2</sup> : 3742		
ID_ART	Taxon/Name	Ind /1,25 m <sup>2</sup>
4310	<i>Ancylus fluviatilis</i>	1
4415	<i>Baetis rhodani</i>	691
4487	<i>Brachyptera risi</i>	339
4489	<i>Brachyptera</i> sp.	126
8850	<i>Centroptilum luteolum</i>	24
10370	Chaetopterygini/Stenophylacini	18
4642	Chironomidae Gen. sp.	120
4644	Chironomini Gen. sp.	24
5014	<i>Drusus</i> sp.	14
5053	<i>Ecdyonurus</i> sp.	6
5075	<i>Eiseniella tetraedra</i>	49
5293	<i>Gammarus</i> sp.	12
5314	<i>Glossosoma conformis</i>	138
5370	<i>Habrophlebia lauta</i>	36
5378	<i>Halesus</i> sp.	92
18064	<i>Hydraena gracilis</i>	6
5673	<i>Isoperla</i> sp.	206
5790	<i>Leuctra</i> sp.	18
5812	Limnephilinae Gen. sp.	6
7490	Lumbriculidae Gen. sp.	14
6127	<i>Niphargus</i> sp.	162
18629	<i>Oulimnius tuberculatus</i>	12
6527	<i>Potamophylax</i> sp.	19
6591	<i>Prosimulium</i> sp.	157
6616	<i>Protonemura</i> sp.	72
6745	<i>Rhithrogena semicolorata-Gr.</i>	1278
6853	<i>Simulium</i> sp.	12
6867	<i>Siphonoperla</i> sp.	6
6972	Tanypodinae Gen. sp.	66
7077	<i>Tipula</i> sp.	18

aufzutreten (*Brachyptera risi*, *Siphonoperla*, *Drusus*, *Glossosoma conformis*). Auch sehr ungewöhnlich ist der Fund von *Niphargus*, welcher ein typischer Grundwasserorganismus ist. Dennoch wurden auch die abwasserresistente Art *Baetis rhodani* in hoher Häufigkeit gefunden, und die Käfer-Art *Oulimnius tuberculatus*, welche den unteren Abschnitt des

Rhithrals (Lebensraum Bach) und das Potamal (Lebensraum Fluss) präferiert.

Insgesamt zeigt die obere Weil einen guten ökologischen Zustand (Gesamtbewertung 2). Dies begründet sich unter anderem in dem Auftreten speziell an-

gepasster, anspruchsvoller Arten und indiziert eine hohe Strukturvielfalt und naturnahe Gewässermorphologie. Das hohe Auftreten von *Niphargus* weist auf einen Grundwassereintrag in der Nähe der Probestelle hin. Es ist möglich, dass die empfindlichen Taxa auf Grund dieses Eintrages gehäuft auftreten.

Tabelle 17: Bewertung des ökologischen Zustands der oberen Weil nach PERLODES.

DEHE_2586.2	11142	Weil, unterh Neuweilau	Untersuchungsdatum
			11.04.2007

Bewertung des ökologischen Zustands nach PERLODES					
Zustandsklasse	sehr gut	gut	mäßig	unbefried.	schlecht
<b>Allgemeine Degradation</b> score (Ergebnis)	-	<b>0.72</b>	-	-	-
German Fauna Index type 05	-	0.77 ( 0.952 )	-	-	-
Anteil Hyporhithral (score Taxa = 100%)	-	0.39 ( 20.142 )	-	-	-
Rheoindex (mit Häufigkeitsklassen)	-	0.8 ( 0.92 )	-	-	-
Anteil EPT [% - Häufigkeitsklassen]	-	0.81 ( 60.36 )	-	-	-
<b>Organische Verschmutzung</b>	-	<b>1.455</b>	-	-	-
<b>Gesamtbewertung</b>	-	<b>2</b>	-	-	-

**Ergebnis der Bewertung ist ...**

**Allgemeine Degradation:** sicher

**Summe Häufigkeitsklassen:** 42

**Organische Verschmutzung:** sicher

**Summe Häufigkeitsklassen:** 66

**Gesamtbewertung:** sicher

## Anhang 3: Ökotoxikologische Kenngrößen und Qualitätsnormen

### 1. Geringfügigkeitsschwellen (GFS)

Als Grenze zwischen einer geringfügigen Veränderung der chemischen Beschaffenheit des Grundwassers und einer schädlichen Verunreinigung werden die Geringfügigkeitsschwellen (GFS) herangezogen. Sie sollen sicherstellen, dass das Grundwasser überall für den menschlichen Gebrauch nutzbar **und** als Lebensraum intakt bleibt (LAWA 2004). Um eine Aussage über eine Schädigung des Ökosystems „Grundwasser“ zu ermöglichen, müssen die GFS human- und ökotoxikologisch abgeleitet werden. Da eine ökotoxikologische Ableitung des GFS jedoch bisher nicht für jede Substanz erfolgte, ist eine Aussage über eine mögliche Schädigung des Ökosystems auch nicht in jedem Fall gegeben.

Für Stoffe, deren ökotoxikologische Ableitung der GFS noch nicht erfolgt ist, wird diese zurzeit von der LAWA im Rahmen der Festsetzung von Umweltqualitätszielen fortgeschrieben. (LAWA Ad-hoc-Unterausschuss „Aktualisierung der Datenblätter der Geringfügigkeitsschwellenwerte“).

### 2. Einflussfaktoren auf aquatische Lebensgemeinschaften

Gefährdungen werden konventionell anhand von Toxizitätsparametern für mehrere Spezies als Repräsentanten verschiedener Trophieebenen bestimmt. Etabliert und standardisiert sind u.a. Tests mit Bakterien, Algen, Daphnien und Fischen (s. Kapitel 5.1). Bei der Reaktion eines Ökosystems auf eine Substanz spielen folgende Faktoren eine Rolle:

- Dauer und Höhe der Exposition,
- Wirkweise und Bioverfügbarkeit,
- Empfindlichkeit der Organismen (Indikator ist jeweils die sensitivste Art),
- getesteter Endpunkt (z.B. Wachstum, Vermehrung, Letalität).

### 3. Chemisch-physikalische Kenngrößen

Verhalten und Verbleib von Stoffen in der Umwelt werden charakterisiert durch:

- chemisch-physikalische Eigenschaften (Wasserlöslichkeit, Dichte, molare Masse, Dampfdruck, Dissoziationskonstante  $K_D$ ; Verteilungskoeffizient n-Octanol/Wasser ( $\log K_{OW}$ )),
- biotischen und abiotischen Abbau (Abbaugeschwindigkeit, Metabolismus),
- Sorptionsverhalten ( $K_{OC}$ -Wert: Adsorptionsko-

effizient (Verhältnis der Stoffkonzentration im Boden zu der Stoffkonzentration in der wässrigen Phase im Adsorptionsgleichgewicht bzgl. des Anteils an org. Kohlenstoff im Boden)),

- Bioakkumulation (BCF: Biokonzentrationsfaktor (Verhältnis zwischen Stoffkonzentration im Testorganismus und Stoffkonzentration im Umgebungsmedium)).

Der Biokonzentrationsfaktor (BCF) erfasst die Anreicherung von Substanzen aus dem Umgebungsmedium quantitativ:

$$BCF = \frac{\text{Konzentration Organismus [mg / kg]}}{\text{Konzentration Umgebungsmedium [mg / L]}}$$

Besitzt eine Substanz einen  $BCF < 1$ , kann der Organismus diese Substanz ausscheiden.  $BCF > 1$  weist auf Bioakkumulation hin, d.h. die Substanz wird aktiv vom Organismus aufgenommen.

### 4. Abhängigkeit der Wirkung von Dosis und Konzentration

Die in Tabelle 18 aufgeführten Kenngrößen beschreiben toxische Wirkungen in Abhängigkeit von der Schadstoffkonzentration und der Dosis.

Die (toxische) Wirkung einer Substanz auf ein Individuum ist immer dosisabhängig. Unterhalb einer bestimmten Dosis ist keine Wirkung mehr feststellbar – es sei denn, es handelt sich um eine erbgutverändernde oder krebsauslösende Substanz. Deren Wirkung ist dosisunabhängig.

Der NOEC-Wert wird anhand längerfristiger Toxizitätstests, die gemessen am Lebenszyklus der Testorganismen eine chronische Einwirkung simulieren, ermittelt.

Sofern keine gesetzlich verankerten Umweltqualitätsnormen vorliegen, sieht die Systematik der LAWA in erster Priorität die Verwendung der nach Europäischem Stoffrecht (Technical Guidance Document - TGD 2003) abgeleiteten PNEC-Werte für aquatische Lebensgemeinschaften vor.

Die prognostizierte Konzentration eines in der Regel umweltgefährlichen Stoffes, bis zu der sich keine Auswirkungen auf die Umwelt zeigen (PNEC-Wert), wird aus den Ergebnissen längerfristiger

**Tabelle 18:** Kenngrößen zu toxischen Wirkungen.

Kenngröße		Beschreibung
C	Konzentration	Gehalt eines Stoffes in einem Gemisch, z. B angegeben als [µg/l]
D	Dosis	Menge eines Stoffes, die einem Organismus zugeführt wird. Wird bezogen auf kg Körpergewicht
LC <sub>50</sub>	lethal concentration	Konzentration eines Wirkstoffes in Luft, (Boden), Wasser, die bei 50% der exponierten Individuen zum Tod führt (Maß der Mortalität)
LD <sub>50</sub>	lethal dosis	Dosis eines Stoffes, die für 50% der Individuen tödlich wirkt. (Maß der Mortalität)
EC <sub>50</sub>	effective concentration	Konzentration eines Stoffes, bei der ein halbmaximaler Effekt beobachtet wird
ED <sub>50</sub>	effective dosis	Dosis eines Stoffes, bei der ein halbmaximaler Effekt beobachtet wird
NO[A]EL	no observed [adverse] effect level	höchste Dosis eines Stoffes, bei der gerade noch kein (schädlicher) Effekt feststellbar ist
LO[A]EL	lowest observed [adverse] level	niedrigste Dosis eines Stoffes, bei der noch schädliche Wirkungen nachgewiesen werden können
LOEC	lowest observed effect concentration	niedrigste Konzentration eines Stoffes, bei der gerade noch schädliche Wirkungen nachgewiesen werden können
NOEC	no observed effect concentration	höchste Konzentration eines Stoffes, bei der gerade noch kein schädlicher Effekt nachgewiesen werden kann
PNEC	predicted no effect concentration	vorausgesagte Konzentration eines Stoffes, bis zu der sich keine Auswirkungen auf die Organismen zeigen
PEC	predicted environmental concentration	Durchschnittlich erwartete Konzentration einer Substanz in einem Umweltkompartiment (acatech 2011)

Tests (NOEC) bzw. alternativ auch aus Akuttests (EC<sub>50</sub> / LC<sub>50</sub>) ermittelt. Da die Ergebnisse beider vorgenannter Verfahren in unterschiedlichem Maße mit Unsicherheiten behaftet sind, wird hierbei noch ein Sicherheitsfaktor (SF) eingeführt, der sich an der Qualität und dem Umfang der verfügbaren Daten orientiert (vgl. Abb. 19).

$$PNEC = \frac{\text{niedrigste Wirkkonzentration}}{\text{Sicherheitsfaktor}}$$

Der PNEC-Wert ist nicht zu verwechseln mit dem **PEC-Wert** (Predicted Environmental Concentration). Letzterer gibt diejenige Konzentration an, die für eine Substanz im Zusammenhang mit deren Inverkehrbringen als zu erwartende Konzentration in der Umwelt prognostiziert wird.

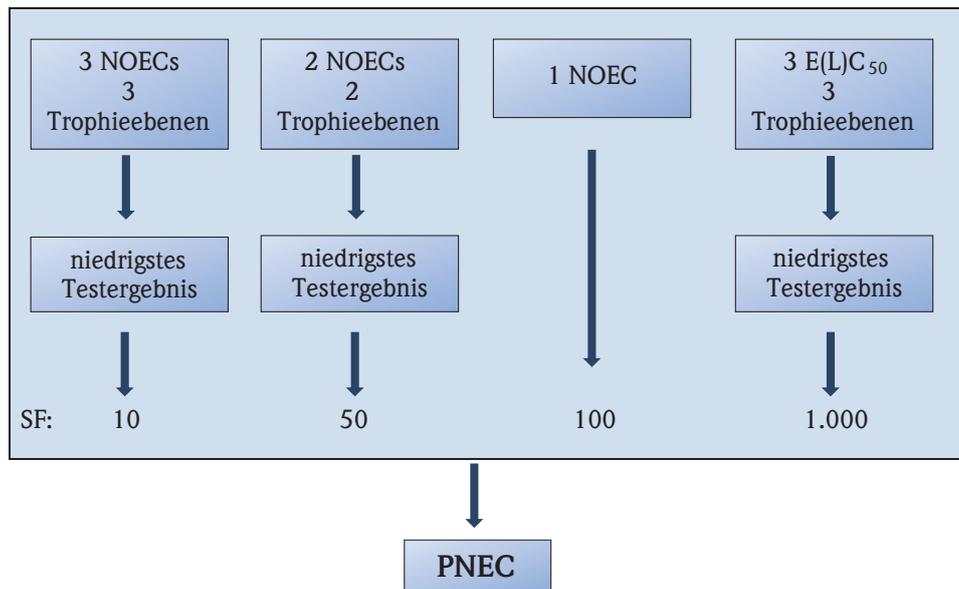
Im Rahmen der Umweltrisikobeurteilung gilt eine Substanz dann als sicher, wenn die zu erwartende Umweltkonzentration (PEC) so gering ist, dass Schädigungen der belebten Umwelt weitgehend ausgeschlossen werden können, d.h. PNEC ≥ PEC; oder anders ausgedrückt:

$$PEC/PNEC < 1 = \text{akzeptables Risiko}^8 \text{ für die Umwelt}$$

$$PEC/PNEC > 1 = \text{nicht akzeptables Risiko für die Umwelt}$$

Bei der Festlegung von Qualitätsnormen, wie z.B. der Ableitung von GFS aus der zugrunde liegenden Stoffbewertung heraus, spielen ausschließlich einzelstanzspezifische Betrachtungen eine Rolle. Demgegenüber geben die an realen Grundwasserproben ermittelten **G-Stufen** (niedrigste nichttoxische Ver-

<sup>8</sup> Nach (acatech 2011), S. 7.



**Abb. 19:** Abhängigkeit des Sicherheitsfaktors (SF) von der Datenlage. [nach (RWTH Aachen), recherchiert 27.02.2013].

dünnungsstufe) das Ergebnis der Gesamtwirkung aller ökotoxikologischen Einflüsse auf den aquatischen Lebensraum wieder.

Ein unmittelbarer Zusammenhang zwischen  $EC_{50}$ / $LC_{50}$ -, NOEC- oder PNEC-Werten und G-Stufen kann daher nicht abgeleitet werden.

Es zeigt sich zudem, dass für eine große Anzahl der in Altlasten vorkommenden Substanzen nur wenige bis gar keine Toxizitätsdaten zu den relevanten Trophieebenen vorliegen, die für eine Ableitung aquatischer PNEC-Werte nach Technical Guidance Document (TGD 2003) benötigt werden. Dies ist auch darauf zurückzuführen, dass für einen Teil der Stoffe, für die bereits GFS-Werte abgeleitet wurden,

der humantoxikologische Aspekt bestimmend war. Die in speziellen Datenbanken (z. B. ETOX, GSBL) verfügbaren Werte (i. W.  $LC_{50}$  /  $EC_{50}$ ) sind zudem unter Berücksichtigung der gewählten Testverfahren, der unterschiedlichen Organismen sowie der differierenden Randbedingungen häufig nicht untereinander vergleichbar. In Bezug auf die Ermittlung ökotoxikologischer Daten besteht noch erheblicher Forschungs- / Nachholbedarf. So beschäftigt sich der oben erwähnte LAWA Ad-hoc-Unterausschuss „Aktualisierung der Datenblätter der Geringfügigkeitschwellenwerte“ auch mit den ökotoxikologischen Daten der Stoffe.

## **Anhang 4: Planung und Durchführung von ökotoxikologischen Tests - Randbedingungen für Probenahme und Analytik**

### **Anhang 4.1 Planung und Durchführung der Probenahme**

Bei der Planung der Probenahme für ökotoxikologische Untersuchungen sollten die Informationen aus den altlastentechnischen Untersuchungen berücksichtigt werden. Da Effekte in ökotoxikologischen Tests u.U. nicht allein durch Schadstoffeinflüsse induziert sein können, sind im Rahmen der Probenahme grundsätzlich auch Untersuchungen der Feldparameter (d. h. der chemisch-physikalischen Milieubedingungen), z.B. pH-Wert, Sauerstoffgehalt, Redox-Potenzial, Leitfähigkeit und Temperatur durchzuführen. Daneben ist die Untersuchung einer Probe aus dem Oberstrom des zu beurteilenden Schadens als Vergleichsprobe für den "unbeeinflussten" Zustand sinnvoll, um ggf. ökotoxikologisch relevante Vorbelastungen, z.B. aus der Landwirtschaft oder auch geogenen Ursprungs, zu erfassen.

Bei der Untersuchung einer Schadstofffahne ist darüber hinaus zu berücksichtigen, dass sich auf dem Fließweg zwischen Schadenszentrum und Fahnen spitze, z.B. durch Mobilitätsunterschiede, Adsorption oder biologischen Abbau, Änderungen der Schadstoffzusammensetzung und/oder der Milieubedingungen ergeben können, die in ökotoxikologischen Tests zu unerwarteten Ergebnissen führen können.

Hinsichtlich der qualitätsgesicherten Entnahme von Proben für ökotoxikologische Untersuchungen gelten zunächst grundsätzlich vergleichbare Anforderungen wie für die Probenahme zur chemischen Analytik. Diese sind zusammengestellt im Fachmodul Boden und Altlasten der LABO, Notifizierung und Kompetenznachweis von Untersuchungsstellen im bodenschutzrechtlich geregelten Umweltbereich; Stand 16. August 2012 (Fachmodul BA 2012). Außerdem beschäftigt sich DIN EN ISO 5667-16:1999-02 speziell mit der Probenahme und Durchführung biologischer Testverfahren.

Bei den in Kapitel 5 als Bestandteil einer Testbatterie beschriebenen Verfahren werden definierte Mengen der Testorganismen über eine fest vorgegebene Zeit (z.B. 24 h, 48 h) und unter präzise definierten Testbedingungen gegenüber verschiedenen Verdünnungsstufen des Probenwassers exponiert. Zur Herstellung der erforderlichen Verdünnungsansätze ist

für die gesamte Testbatterie in der Regel ein Probenvolumen von ca. zwei Litern ausreichend.

Es wird empfohlen, die Proben für die ökotoxikologischen Tests und für die chemische Analytik zusammen bei einer gemeinsamen Probenahme zu nehmen.

### **Anhang 4.2 Proben- und Testvorbereitung und -durchführung**

Aus der Standardisierung der Testverfahren sowie der Verwendung von Testorganismen aus dem Oberflächengewässer ergibt sich eine Reihe für die Probenvorbereitung relevanter Aspekte.

Nachfolgend werden einige exemplarisch erläutert (Interland 2006, HLU 2002):

#### **pH-Wert**

Um für die Organismen verträgliche Randbedingungen zu schaffen, sollte der pH-Wert der Probe im Bereich zwischen 6 und 8,5 liegen. Ansonsten ist ein pH-Wert von  $7 \pm 0,2$  mit Salzsäure oder Natronlauge einzustellen. Von dieser Änderung der Originalprobe sind Metabolite etc. in der Regel nicht betroffen, so dass ihre Wirkung getestet werden kann. Es ist jedoch zu beachten, dass die Löslichkeit z.B. von Schwermetallen vom pH-Wert abhängt, deshalb kann die pH-Wert Einstellung die Aussagekraft des Testergebnisses beeinflussen.

#### **Färbung/Trübung**

Stark gefärbte oder trübe Proben können insbesondere im Algen-, aber auch im Leuchtbakterientest zu Problemen führen. Im Algentest kann durch die verringerte Lichtdurchlässigkeit das Wachstum als relevantes Testkriterium vermindert sein. Außerdem kann in beiden Verfahren die Detektion mit optischen Messverfahren (Fluoreszenzmessgerät/Luminometer) beeinträchtigt sein, ohne dass dies tatsächlich auf toxische Inhaltsstoffe der Probe zurückzuführen ist. Auch hier ist ggf. eine Verdünnung der Probe erforderlich.

#### **Sauerstoffgehalt**

Aquatische Toxizitätstests sind nur mit aeroben Proben möglich. Zu geringer Sauerstoffgehalt des

Probenwassers kann insbesondere beim Daphnientest zu physiologischen Effekten der Testorganismen beitragen, die keinen Bezug zur Toxizität der Probe haben. Um einen aeroben Zustand der Probe zu gewährleisten, ist diese vor Testbeginn bis zum Erreichen der maximalen Sauerstoffsättigung zu belüften. Hierdurch können allerdings leichtflüchtige Schadstoffe ausgetrieben und ggf. auch biologische Abbauprozesse initiiert werden, die das Testergebnis beeinflussen.

### Temperatur

Da Stoffwechselprozesse u.a. auch temperaturabhängig sind, werden die Testansätze zur Durchführung der Tests je nach Verfahrensvorschrift auf  $15 \pm 0,2 \text{ °C}$  (Leuchtbakterien) bis  $23 \pm 2 \text{ °C}$  (Algen) temperiert.

### Leitfähigkeit (Salzgehalt)

Der Gesamtgehalt gelöster Ionen drückt sich im Summenparameter Leitfähigkeit aus. Hohe Ionenkonzentrationen bedeuten Stress für die Testorganismen, da sie einen Teil ihrer Energie in das Aufrechterhalten von Membranpotenzialen und Ionengradienten investieren müssen. Die Empfindlichkeit gegenüber schadstoffbedingten toxischen Effekten steigt. Um Fehlinterpretationen des Ergebnisses vorzubeugen, ist ggf. eine zusätzliche Verdünnung erforderlich.

Die zuvor beschriebenen Effekte haben in 2004 im Abwasserbereich zur Einführung eines "Salzkorrekturfaktors" geführt (AbwV 2004). Diese Ausführungen wurden präzisiert von (LANUV 2007), so dass sich zusammen der folgende Text ergibt.

Zitat § 6 Abs. 4 AbwV, ergänzt um Passagen aus (LANUV2007) kursiv:

"Ein in der wasserrechtlichen Zulassung festgesetzter Wert für die Giftigkeit gegenüber Fischeiern, Daphnien, Algen und Leuchtbakterien nach den Nummern 401 bis 404 der Anlage zu § 4 gilt nach Maßgabe des Absatzes 1 auch als eingehalten, wenn die Überschreitung dieses festgesetzten Wertes auf dem Gehalt an Sulfat und Chlorid beruht."

*„Die vom Messwert in Abzug zu bringende Korrektur-Verdünnungsstufe ergibt sich in diesen Fällen aus der Summe der Konzentrationen von Sulfat und Chlorid im Abwasser, ausgedrückt in Gramm pro Liter, geteilt durch die jeweils organismenspezifische Wirkschwelle für salzbedingte Toxizitäten, ebenfalls ausgedrückt in g/L. Messwert minus Korrekturverdünnungsstufe (unter Umständen nicht*

*ganzzahlig) ergibt einen Zahlenwert, der innerhalb des Verdünnungsstufensystems zur nächst höheren Verdünnungsstufe aufgerundet wird. Der so erhaltene Messwert wird zur Prüfung der ordnungsrechtlichen Anforderung verwendet. Bei der Bestimmung der Giftigkeit ist für die organismenspezifische Wirkschwelle x, ausgedrückt in g/L beim Fischei der Wert 3 einzusetzen. Die so genannte Salzkorrektur ist erst dann anzuwenden, wenn der Salzgehalt der Originalprobe diese jeweils organismenspezifischen Werte, angegeben als Summe des Gehaltes an Sulfat und Chlorid, ausgedrückt in Gramm pro Liter, überschreitet.“*

Die AbwV nennt für die Tests folgende Werte: „Bei der Bestimmung der Giftigkeit ist für x beim Fischei der Wert 3, bei Daphnien der Wert 2, bei Algen der Wert 0,7 und bei Leuchtbakterien der Wert 15 einzusetzen.“

$$G_{\text{korr.}} = G_{\text{gemessen}} - (c(\text{Cl}^-) [\text{g/L}] + c(\text{SO}_4^{2-}) [\text{g/L}]) / x$$

#### Beispiel:

Messwert  $G_{\text{Ei}} = 5$ , d.h. 1 Teil Probe – 4 Teile Verdünnungswasser

Cl<sup>-</sup> - Konzentration = 5 [g/L],

SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> - Konzentration = 3 [g/L]

=> Verdünnungswert berechnet =  $(5 + 3) / x$  mit  $x = 3$  für Fischeitest = 2,66 nächsthöherer Wert = 3

also korrigierter Wert

$G_{\text{Ei}} = 5 - 3 = 2$ ,

d.h. 1 Teil Probe und 1 Teil Verdünnungswasser (berechnet).

Das gemessene Ergebnis wird also von G 5 auf G 2, d.h. eine geringere Toxizität korrigiert. Die Differenz des tatsächlichen Messwertes zur korrigierten G-Stufe ist nicht durch die stoffliche Belastung der Probe, sondern durch die erhöhte Salzkonzentration verursacht.

### Licht/Beleuchtung

Insbesondere für den Algentest gilt, dass ohne Licht kein Wachstum (Photosynthese) möglich ist. Die erforderliche Beleuchtung der Proben kann umgekehrt photolytische Abbauprozesse der in der Probe enthaltenen Stoffe initiieren und so das Testergebnis beeinflussen.

### Verdünnungswasser

Das bei der Testdurchführung zur Herstellung der Verdünnungsreihen eingesetzte Verdünnungswas-

ser darf keine Auswirkungen auf die Testorganismen haben. Es muss daher bestimmte Anforderungen, z.B. an Calcium- und Magnesiumgehalte, erfüllen und sollte chlorfrei sein. Leitungswasser ist hierfür in der Regel nicht geeignet, das Verdünnungswasser wird deshalb künstlich hergestellt.

### **Kontroll-, Parallel- und Referenzansätze**

Um ein ökotoxikologisches Testverfahren gesichert durchzuführen, bedarf es einiger Kontrollen. Es werden deshalb gleichzeitig mehrere Testansätze aus der gleichen Wasserprobe unter identischen Testbedingungen vorbereitet und dem Testverfahren unterzogen. Bei komplexen biologischen Systemen kann es aus völlig unterschiedlichen Gründen zu Störungen des Testverlaufes und damit zu Verfälschungen der Testergebnisse kommen. Deshalb wird durch Kontroll-, Parallel- und Referenzansätze die Aussagekraft des Ergebnisses erhöht. Für einige ökotoxikologische Testverfahren sind Gültigkeitsgrenzen anhand dieser sogenannten Parallelansätze festgeschrieben.

Für jeden der Probe zugesetzten Bestandteil, wie Verdünnungswasser, Nährsubstrat, Puffer, etc. wird außerdem ein Kontrollansatz, ohne die Zugabe der zu untersuchenden Wasserprobe, hergestellt und getestet. Kommt es zu einem Effekt in einem dieser Kontrollansätze, ist darauf zu schließen, dass die eingetretene ökotoxikologische Schädigung durch die Testbedingungen erfolgte und der Schadstoffeffekt aus der Originalprobe vermutlich überdeckt wurde. Das Testergebnis ist dann als ungültig zu werten.

Zur Überprüfung der Testorganismen werden zudem sogenannte Referenzansätze getestet. Dies erfolgt mit einer Referenzsubstanz, von der aus der Praxis bekannt ist, dass sie einen Effekt an den Testorganismen in einer bestimmten Größenordnung hervorruft. Erfolgt dieser Effekt im Referenzansatz während der Testausführung nicht, ist zu vermuten, dass eine Störung an den Organismen selbst vorliegt. Auch in diesem Fall ist der Test als ungültig zu werten.

Einzelheiten zu den vorgenannten Punkten sind den jeweils testspezifischen Normen sowie den Merkblättern der LAWA zur analytischen Qualitätssicherung (LAWA-AQS, z.B. LAWA AQS-Merkblatt P-8/2) zu entnehmen.

### **Anhang 4.3 Anforderungen an Untersuchungsstellen**

Wie die vorstehende exemplarische Auflistung zeigt, sind bereits die Entnahme wie auch die Vorbereitung von Proben zur Durchführung ökotoxikologischer Untersuchungen nicht trivial (vgl. hierzu im Detail auch DIN EN ISO 5667-16:1999-02). Gleiches gilt für die eigentliche Durchführung der Tests, zu denen auch die normgerechte Haltung der Testorganismen zu zählen ist. Es empfiehlt sich daher generell, hierfür nur Labore heranzuziehen, die über eine entsprechende Akkreditierung nach DIN EN ISO/IEC 17025:2005-08, Prüffart "Aquatische Toxizität" verfügen. Nähere Informationen zu akkreditierten Untersuchungsstellen können über die Deutsche Akkreditierungsstelle (DAKKS) unter [www.dakks.de/content/akkreditierte-stellen-dakks](http://www.dakks.de/content/akkreditierte-stellen-dakks) abgerufen werden<sup>9</sup>.

Zur Klärung spezieller Fragestellungen z.B. zur Neuro-, Gen- oder Immuntoxizität sowie in Bezug auf endokrine Wirkungen, für die noch keine Verfahren etabliert sind, muss ggf. auf spezielles Fachwissen zurückgegriffen werden. So sind für die Gentests z.B. Sicherheitsvorkehrungen erforderlich (siehe Anhang 5.1.5 Beschreibung umu-Test). Kontakte zu geeigneten Untersuchungsstellen können im Bedarfsfall über Ansprechpartner von BfG oder UBA in den entsprechenden DIN-Arbeitskreisen oder direkt über den Normenausschuss Wasserwesen (NAW) im Deutschen Institut für Normung (DIN e.V.) hergestellt werden.

<sup>9</sup> bei „Volltextsuche“ Stichwort „aquatische Toxizität“ eingeben

## Anhang 5: Testverfahren

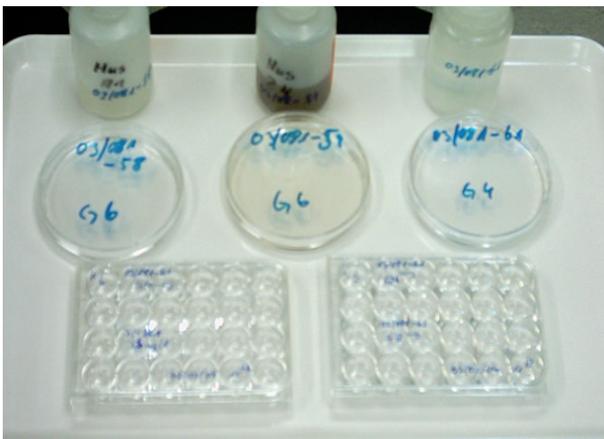
### Anhang 5.1 Standardisierte Testverfahren

In der Regel werden fünf standardisierte Testverfahren eingesetzt. Sie sind in Kapitel 5.1 in Tabelle 2 genannt, in der folgenden Tabelle 19 zusammengestellt und werden nachfolgend erläutert. Anhang 5 ist als Nachschlagewerk für diejenigen gedacht, die genauer wissen wollen, welche Testverfahren in dieser Studie eine Rolle spielen. Deshalb sind ergänzend auch weitere Testverfahren aufgeführt, die in den Tabellen 3 und 4 des Kapitels 5.1 genannt sind. Die Aufstellung ist keinesfalls abgeschlossen, vollständig oder erschöpfend, denn über die hier zitierten Verfahren hinaus gibt es weitere Testmethoden und Entwicklungen. Diese sollen uns jedoch im Rahmen der vorliegenden Studie nicht weiter interessieren.

#### Anhang 5.1.1 Fischeitest (Bestimmung der akuten Toxizität von Abwasser auf Zebrafisch-Eier (*Danio rerio*), DIN EN ISO 15088:2009-06)

Der Fischeitest stellt bislang das einzige Instrument des vorsorgenden Umweltschutzes dar, das im Screening-Maßstab zur Erkennung von fruchtschädigenden Wirkungen eingesetzt werden kann und mit vertretbaren Kosten verbunden ist.

Der Grundgedanke des Fischeitests ist, eine Schädigung zu erkennen, bevor der Organismus die zur Wahrnehmung von Schmerzen erforderlichen Strukturen wie Zentralnervensystem, Haut oder periphere Sinnesorgane ausgebildet hat. Er vermeidet damit auch Forschungen an Versuchstieren.



**Abb. 20a:** Fischeitest, Probengefäße und Zellkulturplatten für den Ansatz verschiedener Verdünnungsstufen.  
(Foto GOBIO GmbH)



**Abb. 20b:** Fischeitest, Laichschale und künstliche Pflanzen als Laichsubstrat für die Eigewinnung.  
(Foto GOBIO GmbH)

Der Zebraquarienfisch (*Danio rerio*) gehört zur Familie der Cyprinidae (Karpfenfische) und ist derzeit der wichtigste Modellorganismus für Testverfahren. Die Art stammt aus dem östlichen Vorderindien und benötigt Temperaturen über 20°C für eine optimale Entwicklung. Der Fischeitest hat somit keinen direkten Bezug zur Lebensgemeinschaft eines untersuchten Vorfluters. Ausschlaggebend für die Wahl als Testorganismus sind die leichte Kultivierung der Fische sowie die kurze Generationsdauer von nur 6 Monaten bis zum Erlangen der Geschlechtsreife und die ganzjährige Fruchtbarkeit. Die Weibchen laichen mehrmals pro Woche.



**Abb. 20c:** Fischeitest, befruchtetes Ei zu Beginn der Exposition.  
(Foto GOBIO GmbH)

**Tabelle 19:** Liste der standardisierten Testmethoden.

Nr	Test	DIN	Zweck	Organismus
5.1	Standardisierte Tests			
5.1.1	Fischartest	DIN EN ISO 15088: 2009-06	Bestimmung der akuten Toxizität von Abwasser auf Zebrafisch-Eier ( <i>Danio rerio</i> ), Wirkung auf Konsumenten höherer Ordnung	Zebrafisch ( <i>Danio rerio</i> )
5.1.2	Daphnientest (akute Wirkung)	DIN 38412-30:1989-03	Bestimmung der nicht akut giftigen Wirkung gegenüber Daphnien über Verdünnungsstufen, Wirkung auf Konsumenten niedriger Ordnung, die sich über Aufnahme von partikulärer organischer Substanz ernähren (Filterierer)	<i>Daphnia magna</i> STRAUS
5.1.3	Grünalgentest (Scenedesmus-Chlorophyll-Fluoreszenztest)	DIN 38412 – 33:1991-03	Überprüfung der Hemmwirkung von Schadstoffen auf das von Chlorophyll abhängige Wachstum bei Primärproduzenten, die Bestimmung erfolgt anhand der Chlorophyllmessung der produzierten Biomasse	Grünalge <i>Scenedesmus subspicatus</i>
5.1.4	Leuchtbakterientest	DIN EN ISO 11348-1:2009-05 DIN EN ISO 11348-2:2009-05 DIN EN ISO 11348-3:2009-05	Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von <i>Vibrio fischeri</i> (-1, -2, -3: Varianten mit frisch gezüchteten, gefriergetrockneten oder flüssig getrockneten Bakterienkulturen)	Leuchtbakterien ( <i>Vibrio fischeri</i> )
5.1.5	Umu-Test	DIN 38415-3:1996-12 (ISO 13829: 2000-03)	Bestimmung des erbgutverändernden Potentials von Wasser, Bestimmung der an DNA-Neusynthese gekoppelten Produktion von $\beta$ -Galaktosidase-Aktivität	Gentechnisch verändertes Bakterium <i>Salmonella typhimurium</i> /TA 2535/ pSK1002)
5.1.6	Wasserlinsen –Wachstumshemmtest	DIN EN ISO 20079: 2006 – L49	Bestimmung der toxischen Wirkung von Wasserinhaltsstoffen und Abwasser auf höhere Wasserpflanzen als Primärproduzenten	Wasserlinse ( <i>Lemna minor</i> )
5.2	Suborganismische Tests			
5.2.1	Mikrokerntest	DIN EN ISO 21427-2:2009-08, OECD-Guideline 475/487, EPA OPPTS 870.5385	Bestimmung der Genotoxizität bzw. mutagenen Wirkung an Zellkulturen	Erythroblasten aus Knochenmark von Nagern: Ratten, Mäuse, Hamster
5.2.2	Comet-Assay		Bestimmung der Genotoxischen Wirkung in Form von DNA- Schädigungen	In vitro- Zellen
5.2.3	Ames-Test	DIN 38415-4:1999-12O ECD-Guideline 471	Bestimmung des erbgutverändernden Potentials	<i>Salmonella typhimurium</i> ; <i>Escherichia coli</i>
5.3	Kontakttests			
5.3.1	Nematoden-Kontakttest	DIN ISO 10872:2012-10	Bestimmung der toxischen Wirkung von Sediment- und Bodenproben auf Wachstum, Fertilität und Reproduktion von <i>Caenorhabditis elegans</i> (Nematoda)	Nematoden ( <i>Caenorhabditis elegans</i> )
5.3.2	Bakterienkontakttest	DIN 38412 – 48:2002-09	<i>Arthrobacter globiformis</i> -Kontakttest für kontaminierte Feststoffe	Bodenbakterium <i>Arthrobacter globiformis</i>
5.3.3	Fischartest als Sedimentkontakttest	DIN Entwurf 38415-T6		Zebrafisch ( <i>Danio rerio</i> ) Hamilton-Buchanan

Anmerkungen: Es wurden im Wesentlichen normierte Tests aufgenommen. Der Wasserlinsen-Wachstumshemmtest (5.1.6) wird in manchen Vorschriften genannt (vgl. Tab. 8), er wird jedoch nicht für die Testbatterie bei Altlastenfällen empfohlen.

Dauer	Anwendungsbereich	Verdünnungsstufen	Gültigkeitskriterien	Messergebnis
48 h	Abwasser	$G_{Ei} = 2$ entspricht 1 Teil Abwasserprobe + 1 Teil Verdünnungswasser	In der Negativkontrolle (10 Fischeier mit unbelastetem Verdünnungswasser) müssen mind. 90 % der Embryonen überleben. In der Positivkontrolle (10 Fischeier mit Referenzsubstanz Dichloranilin) müssen mind. 10 % eine Wirkung zeigen	$G_{Ei}$ = kleinster Wert von G, bei dem im Testansatz mind. 90 % der Eier überlebt haben
24 h	Abwasser	$G_D = 4$ entspricht 1 Teil Abwasserprobe + 3 faches Volumen an Verdünnungswasser incl. Nährlösung + Inokulum	In der Negativkontrolle (5 Daphnien mit unbelastetem Verdünnungswasser) müssen 4 von 5 Daphnien schwimmfähig sein	$G_D$ = kleinster Wert von G, bei dem unter den Bedingungen des DIN-Verfahrens mind. 9 der 10 Daphnien ihre Schwimmfähigkeit besitzen
72 h	Abwasser	$G_A = 2$ entspricht 1 Teil Abwasserprobe + 1-faches Volumen an Verdünnungswasser incl. Nährlösung + Inokulum	In der Kontrolle (Test ohne Abwasser ausgeführt) muss mindestens eine 30-fach erhöhte Fluoreszenz gemessen werden	$G_A$ = kleinster Wert von G, bei dem unter den Bedingungen des DIN-Verfahrens eine Hemmwirkung der Biomasseproduktion < 20 % gemessen wird
13-30 min	Meerwasser, Süßwasser, Abwasser	$G_{LB} = 2$ entspricht 1 Teil Bakteriensuspension + 1 Teil Abwasserprobe	Mehrere parallel ausgeführte Tests dürfen nicht mehr als 3 % voneinander abweichen. Referenzsubstanzen müssen eine Hemmwirkung von 20 – 80 % aufweisen	$G_{LB}$ = kleinster Wert von G, bei dem unter den Bedingungen des DIN-Verfahrens eine Hemmwirkung der Lumineszenz < 20 % gemessen wird
2 h	Wasser	$G_{EU} = 3$ entspricht 1 Teil Wasserprobe + 1-faches Volumen an Verdünnungswasser + 1 Teil Nährlösung incl. Bakterien (unverdünnte Lösung = G 1,5)	Wachstumsfaktor > 0,5 Referenzsubstanzen müssen eine Induktionsrate von mindestens 2 erreichen	$G_{EU}$ = kleinster Wert von G, bei dem unter den Bedingungen des DIN-Verfahrens eine Induktionsrate < 1,5 gemessen wird
7 Tage	Abfalleuate, Wasser, kommunales und industrielles Abwasser	Geometrische Reihe von mindestens 65 Konzentrationen	In den Kontrollen müssen die Wasserlinsen eine mittlere Wachstumsrate von 0,275 pro Tag aufweisen	$EC(Y)\chi$ = Konzentration, bei der im Vergleich zur Kontrolle eine Wachstumshemmung von x % auftritt, Ergebnis berechnet und grafisch angeben
4 – 24 h	Abwasser	mehrere	Bildung von Mikrokernen	G = kleinste Verdünnungsstufe, bei der keine signifikante Häufung an Mikrokernen auftritt
48 – 72 h	Chemikaliertestung	Keine	Keine Wachstumseinschränkungen	Anzahl der Bakterienkulturen
96 h	Sediment, Boden, Abfall			Prozentuale Verringerung der Körperlänge, Eizahl, Nachkommen gegenüber den Kontrollen
6 h	Sediment, Abfall	keine	Anstieg der photometrischen Intensität in der Kontrolle um mindestens den Faktor fünf; die Hemmung einer Referenzprobe muss > 30% und < 80 % sein	Bestimmung der Hemmung der Dehydrogenase-Aktivität des Testbakteriums
Bis 48 h und länger	Sediment		In Anlehnung an DIN EN ISO 15088:2009-06 müssen in der Negativkontrolle (10 Fischeier mit unbelastetem Verdünnungswasser) mind. 90 % der Embryonen überleben	

Als Modellorganismus stehen die Zebrafische für die Konsumenten höherer Ordnung im aquatischen Ökosystem. Der Test untersucht die akute toxische Wirkung von Abwasser auf den Organismus innerhalb von 48 Stunden.

Mit Hilfe von Verdünnungsreihen können akkreditierte Laboratorien die Toxizität des Abwassers auf befruchtete Fischeier, die sich im 4 – 128 Zellteilungsstadium befinden, als Schädigung durch Tod der Embryonen oder Störung der Embryonalentwicklung, die zum Tod führt, beurteilen. Nach 48 stündiger Exposition der Eier wird die Verdünnungsstufe ermittelt, bei der kein toxischer Effekt mehr auftritt.

Als Expositionsgefäße dienen Zellkulturplatten, die 24 Vertiefungen enthalten, in die je ein Ei eingebracht wird. Es werden pro Verdünnungsstufe 10 befruchtete Eier exponiert.

Bei jedem Testansatz werden 10 Kontrollindividuen<sup>10</sup> untersucht und eine Positivkontrolle<sup>11</sup> durchgeführt. Schadstoff der Positivkontrolle ist 3,4-Dichloranilin, ein Abbauprodukt verschiedener Agrochemikalien (Pflanzenschutzmittel auf der Basis von Phenylharnstoffderivaten) und von Farbstoffen.

Die Embryonen des Zebraärlings entwickeln sich in einer durchsichtigen Eihülle (Abb. 21a). Dies ermöglicht eine mikroskopische Untersuchung. Abweichungen von der Normalentwicklung können mitunter selbst auf zellulärer Ebene erkannt werden.

Eine akute Toxizität liegt vor, wenn eine tödliche Schädigung nach 48 Stunden eingetreten ist. Ein Embryo gilt als tot, wenn eines der folgenden Kriterien erfüllt ist:

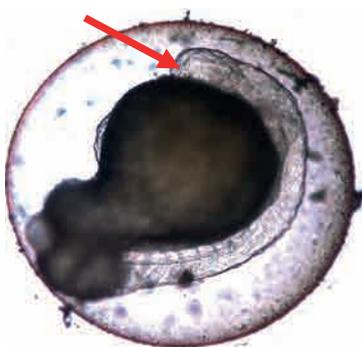
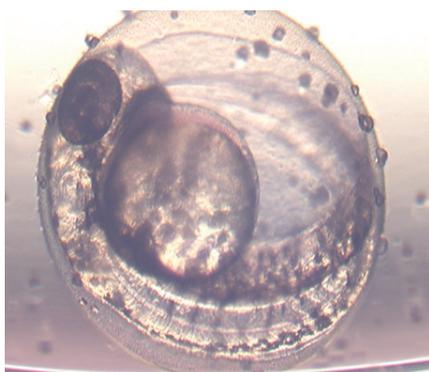
- Der Schwanz hat sich nicht vom Dotter abgelöst
- Es ist kein Herzschlag feststellbar
- Das Ei ist koaguliert (milchig trüb)

Gültig ist eine Testdurchführung, wenn mind. 90 % der Embryonen in einer Kontrollgruppe überleben. Stirbt auf einer Zellkulturplatte mehr als ein Embryo, soll diese nicht für das Endergebnis herangezogen werden.

Das Testergebnis ist die niedrigste Verdünnungsstufe, in der mindestens 90 % der Eier überlebt haben und wird als  $G_{Ei}$  angegeben.

Darüber hinaus besteht die Möglichkeit weitere Störungen zu erfassen, die als Hinweis auf chronische Schäden zu werten sind. Im Wesentlichen sind dies:

- Entwicklungsverzögerungen gegenüber den Kontrollen. Hierbei kann zwischen irreversiblen und reversiblen Schäden unterschieden werden, letztere werden bis zum Zeitpunkt des Schlüpfens, also nach 48 – 72 Stunden, kompensiert.
- Verzögerte oder unvollständige Pigmentierung ist ein Hinweis auf eine Entwicklungsstörung, die über die sichtbare Einlagerung von Pigmentzellen hinaus noch weitere Schäden anzeigt. Die Pigmentierung basiert auf der Einwanderung



**Abb. 21a:** Fischeitest, normal entwickelter Embryo.  
(Foto GOBIO GmbH)

**Abb. 21b:** Fruchtschädigung, bei der keine Kopfregion ausgebildet wird. (Foto GOBIO GmbH)

**Abb. 21c:** Bildung eines Ödems ca. 20 fache Vergrößerung.  
(Foto GOBIO GmbH)

<sup>10</sup> Kontrollindividuen: Fischeier aus unbelastetem Wasser

<sup>11</sup> Positivkontrolle: Kontrollansatz mit einer bekannten Substanz, um ein bestimmtes Ergebnis hervorzurufen. Damit wird sichergestellt, dass das Testverfahren richtig funktioniert.



**Abb.22:** Fischeitest; Fruchtschädigung, bei der keine Pigmentierung ausgebildet ist. Weder in der Haut noch in den Augenanlagen (Pfeile) sind 48h nach der Befruchtung Pigmentzellen erkennbar. (Foto GOBIO GmbH)

eines besonderen Zelltypus in die Haut. Dieser Zelltypus ist während der Entwicklung zunächst in der Neuralleiste lokalisiert, wandert dann von dort aus und trägt zum Aufbau einer Vielzahl von Organen und zur Realisation von Organfunktionen bei. So entstammen z.B. Nervenzellen, die die Darmperistaltik oder den Herzschlag auslösen, gleichfalls aus der Neuralleiste und werden gemeinsam - jedoch unsichtbar - mit den Pigmentzellen verlagert (Abb. 22).

- Missbildungen der Wirbelsäule wurden sowohl nach Exposition gegenüber kontaminiertem Grundwasser als auch gegenüber der extrahierbaren Schadstoffbelastung von Fluss-Sedimenten beobachtet. Hier handelt es sich um eine Missbildung, die sowohl im Hinblick auf die Schwere der Schädigung als auch den auslösenden Mechanismus dem Thalidomid-Schadbild (Contergan) vergleichbar ist.
- Unterdrückung der Entwicklung einer Kopfregion (Anenzephalie) wird gelegentlich bei Exposition gegenüber industriellen Abwässern beobachtet (Abb. 21b). Anders als bei Missbildungen der Wirbelsäule sind oft nur einzelne Individuen betroffen. Eine spontane Ausbildung bei Kontrollansätzen mit unbelastetem Wasser (Negativkontrollen) wurde bisher noch nicht beobachtet. Eine typische Dosis-Wirkungsbeziehung ist für die Induktion dieser Missbildung nicht erkennbar. Eine Ursache hierfür könnte im Testdesign begründet sein. Tritt das Schadbild nur nach Exposition sehr früher Entwicklungs-

stadien (1-2 Stunden nach der Befruchtung) auf, so kann ein Teil der Embryonen des Testansatzes zu Beginn der Exposition bereits das sensitive Stadium überschritten haben. In einem solchen Fall ist eine Dosis-Wirkungsbeziehung nicht erkennbar, da nicht alle Eier unmittelbar nach der Befruchtung dem Fremdstoff ausgesetzt sind.

#### Fallbeispiel:

Bei der ökotoxikologischen Untersuchung eines kontaminierten Grundwassers wurde im Fischeitest die in Abb. 23 dargestellte Verkrümmung der Wirbelsäule beobachtet. Diese Missbildung der Wirbelsäule stellt eine erhebliche Störung der Embryonalentwicklung dar.

Durch Exposition gegenüber den in diesem Grundwasser bekannten Kontaminanten ließ sich diese Missbildung nicht nachweisen. Hier scheint ein Schadstoffgemisch vorzuliegen, das chemisch nicht hinreichend charakterisiert ist. Bei der Überwachung von Einleitungen in Oberflächengewässer wurde ein vergleichbares Schadbild noch nicht beobachtet.

Es ist sehr wahrscheinlich, dass die Exposition gegenüber den hier vorliegenden Kontaminationen auch bei Säugetieren einschließlich Mensch zu einem vergleichbaren Schadbild führt.

Der Fischeitest stellt keinen genehmigungspflichtigen Tierversuch dar. Der Einsatz von Tests mit Wirbeltieren ist aus Tierschutzgründen nicht ohne wei-

teres möglich. Insbesondere dann, wenn Schadstoffe über das Hormon- oder das Nervensystem wirksam werden, können Invertebraten (Wirbellose) nicht herangezogen werden. Im Bereich des Trinkwasserschutzes ist aber der Einsatz von wirbellosen Testorganismen oft nicht ausreichend.

Der derzeitige Stand des Wissens erlaubt keine Entscheidung darüber, ob Verfahren, die Tierversuche ersetzen, ausreichend sind. Viele suborganismische Tests (z. B. Zellkulturtests) erfassen nur ein begrenztes Spektrum an Schadwirkungen.

Es gibt Belastungssituationen, in denen ausnahmsweise Tests mit Fischen erforderlich sind. Hier besteht die Möglichkeit, aufgrund einer behördlichen Anordnung die erforderlichen Fischtests als Tierversuche anzuzeigen und ohne weiteres Genehmigungsverfahren durchzuführen.

**Anhang 5.1.2 Daphnientest (Bestimmung der nicht akut giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Daphnien über Verdünnungsstufen, DIN 38 412 - 30:1989-03)**

Daphnien (Wasserflöhe) sind planktische Kleinkrebse, die typisch für stehende und sehr langsam fließende Gewässer sind. Bei der Wahl dieses Testorganismus war wie auch beim Fischtest die Möglichkeit der planmäßigen Zucht und Haltung unter standardisierten Bedingungen maßgeblich. Daphnien ernähren sich filtrierend von Kleinstpartikeln (Schwebstoffen). Im Gewässer ist oft in der Folge von Algenblüten ein Massenaufreten von Daphnien zu verzeichnen. Insbesondere im Frühjahr dienen die Organismen als Nährtiere für Fischbrut. Daphnien pflanzen sich durch Jungfernzeugung fort. Die Eier verbleiben in einer Bruttasche im Rückenbereich des Tieres solange, bis sich schwimmfähige Jungtiere entwickelt haben. Männliche Individuen treten meist nur im Herbst auf. Dann werden befruchtete Dauereier gebildet, die außerhalb des mütterlichen Organismus heranreifen können und die Folgegeneration des nächsten Frühjahrs begründen. Prüfeinrichtungen, die akkreditiert sind den Daphnientest durchzuführen, unterhalten unter genormten Bedingungen eine Zucht von *Daph-*

*nia magna*. Diese Zucht dient zur arbeitstäglichen Gewinnung von Jungtieren und zur Aufrechterhaltung einer hinreichenden Zahl von Elterntieren.

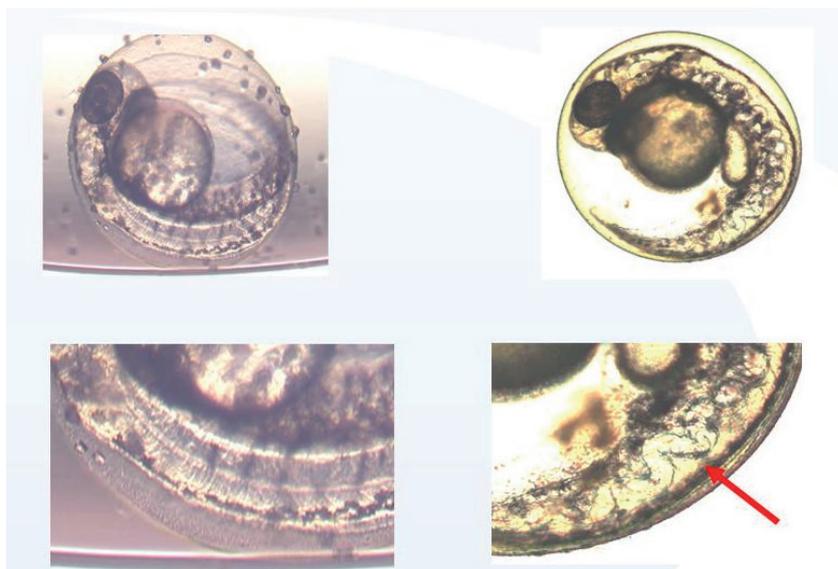
**a) Akuttest**

Der Daphnientest dient zur Bestimmung der akut giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Kleinkrebsen. Es werden Jungtiere im Alter zwischen 2 h und 26 h gegenüber Abwasser verschiedener Verdünnungsstufen exponiert. Nach 24-stündiger Exposition der Testorganismen wird der Verlust der Schwimmfähigkeit überprüft.

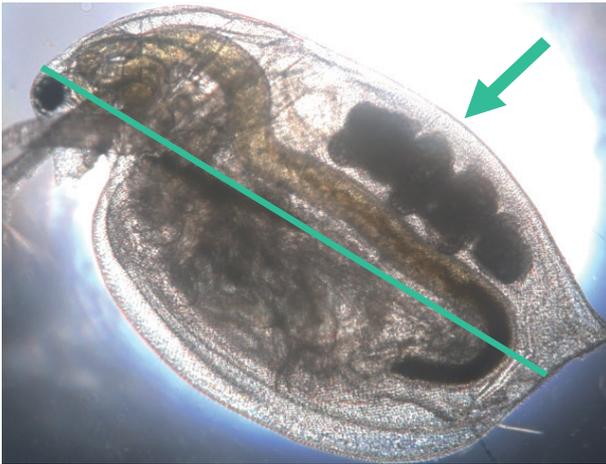
Als Messwert für eine nicht mehr akut giftige Wirkung wird die kleinste Verdünnungsstufe herangezogen, bei der neun von zehn Daphnien unter den Testbedingungen schwimmfähig bleiben.

**b) 21 Tage Daphnientest (Daphnien-Langzeitest)**

Bei diesem Test wird die reproduktionstoxische Wirkung von Wasserinhaltsstoffen auf Daphnien nach der OECD-Guideline 211 bestimmt. Nachdem die Muttertiere in der nicht akut toxischen Verdünnungsstufe exponiert wurden, ermittelt man die Nachkommen pro Muttertier. Die Exposition beginnt mit 2 h bis max. 26 h alten Daphnien und dauert 21 Tage. Bestimmt werden die Anzahl der Nachkommen, die Anzahl der Embryonen in der



**Abb. 23:** Fischeitest, oben links: normal entwickelter Fischembryo, rechts ein Fischembryo mit missgebildeter, spiral-förmig aufgewundener Wirbelsäule, ca. 20 fache Vergrößerung. Unten: Ausschnittsvergrößerung der Wirbelsäule (Pfeil), ca. 40 fache Vergrößerung. (Foto GOBIO GmbH)



**Abb. 24a:** *Daphnia magna* (Wasserfloh), unbeeinträchtigtes Tier mit zahlreichen Embryonen in der Bruttasche im Rückenbereich (grüner Pfeil). (Foto GOBIO GmbH)



**Abb. 24b:** *Daphnia magna* (Wasserfloh), Tier nach 21 Tagen Exposition gegenüber kontaminiertem Grundwasser, das Wachstum ist gehemmt und die Zahl der Embryonen (roter Pfeil) deutlich reduziert; ca. 20 fache Vergrößerung. (Foto GOBIO GmbH)

Bruttasche und das Wachstum der überlebenden Muttertiere im Vergleich zur Kontrolle. Dieses Verfahren eignet sich zur Voraussage von Schäden, die erst durch längere Exposition ausgelöst werden. Der Test erkennt auch solche Beeinträchtigungen, die sich schleichend ausbilden, wie beispielsweise eine Hemmung des Wachstums oder der Reproduktion. Zudem liefert der Test Hinweise auf Bioakkumulationsvorgänge, die dazu führen, dass

Schadstoffe sich in Organismen anreichern und über die Nahrungskette verbreitet werden.

#### Fallbeispiel

Abbildung 24 zeigt den Vergleich von adulten Daphnien am Ende der 21-tägigen Expositionsdauer bei der Untersuchung einer Grundwasserprobe.



**Abb. 25a:** *Daphnia magna* (Wasserfloh), Hinterleib einer bewegungsunfähigen Daphnie nach Exposition im Langzeittest gegenüber organischen Metallverbindungen. Die unvollständig abgelöste „Haut“ (Exuvie) und der Exuvialraum<sup>12</sup> sind von kristallinen Ausfällungen und verklumpten Algen ausgefüllt. (Foto GOBIO GmbH)



**Abb. 25b:** *Daphnia magna* (Wasserfloh), Im Körperinneren sind verklumpte Algen zu erkennen. (Foto GOBIO GmbH)

<sup>12</sup> Exuvialraum: der bei der Häutung entstehende Spaltraum zwischen alter und sich neu bildender Cuticula (außen liegende Körperdecke)

Eine Besonderheit dieses Verfahrens ist, dass nicht nur die eigentlich betrachteten Versuchstiere, die Wasserflöhe, sondern auch die Futterorganismen (Algen) gegenüber den Schadstoffen exponiert sind. Das bedeutet, dass der Test auch Aspekte von Bioakkumulation abbildet. So erwies sich ein mit organischen Metallverbindungen kontaminiertes Grundwasser im Daphnientest schon nach relativ kurzer Expositionsdauer von kaum mehr als einem Tag als toxisch, während sowohl der Daphnien-Akutttest als auch der Algentest keine Schädigung zeigten. Der rasche Eintritt der Schädigung an den Daphnien ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass sich Schwermetallverbindungen in der Zellwand der Futterorganismen (Algen) angereichert haben. (Abb. 25 a).

### **Anhang 5.1.3 Algentest (Bestimmung der nicht giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Grünalgen (*Scenedesmus-Chlorophyll-Fluoreszenztest*), DIN 38412-33:1991-03)**

Hierbei wird die Wirkung von Abwasser gegenüber Grünalgen über Verdünnungsstufen erfasst. Prüfeinrichtungen, die akkreditiert sind den Algentest durchzuführen (Abb. 26), unterhalten hierzu unter genormten Bedingungen eine Zucht von Grünalgen (z.B. *Scenedesmus subspicatus*).

Die zur Photosynthese fähige einzellige Grünalge *Scenedesmus subspicatus* (Abb. 27) ist, wie auch der Wasserfloh, ein planktischer Organismus stehender oder langsam fließender Gewässer. Der Test zielt darauf, Schädigungen zu erfassen, die die Photosynthese blockieren und eine Vermehrung verhindern.

Im Test wird eine definierte Anzahl von Algen gegenüber dem Testmedium, dem anorganische Nährsalze zugegeben werden, unter definierten Beleuchtungs- und Temperaturbedingungen exponiert. Gemessen wird die Fluoreszenz des Chlorophylls bei Versuchsanfang und -ende. Da das Wachstum der Algen abhängig von der Menge des gebildeten grünen Farbstoffs ist, lässt der gemessene Wert direkt auf die Biomasse im Testansatz schließen.

Nach 72-stündiger Exposition der Testorganismen wird die Verdünnungsstufe bestimmt, bei der eine Hemmwirkung der Biomasseproduktion von weniger als 20 % gemessen werden kann. Diese gilt als die nichttoxische Verdünnungsstufe (=  $G_A$ ).

Es kommt oft vor, dass bei wenig verdünnten Proben eine Förderung des Algenwachstums auftritt. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass die im Testmedium enthaltenen Substanzen von den Algen als Nährstoffe genutzt werden können. In diesem Fall ist der Organismus nicht allein auf die Energiegewinnung durch Photosynthese angewiesen. Nicht selten überlagert ein solcher Effekt eine Schädigung, die sich dann erst bei höherer Verdünnung des Testmediums nachweisen lässt.

Wie bei der Beschreibung des Daphnien-Langzeittests ausgeführt, ist nicht auszuschließen, dass eine Schädigung von Schwermetallen, die sich bei Algen erst nach längerer Exposition durch Verklumpen der Zellen manifestiert, in diesem Test unerkannt bleibt. Prozesse der Nährstoffaufnahme und des besonderen Stoffwechsels der Wurzel höherer Pflanzen können über diesen Test allerdings nicht abgebildet werden.

### **Anhang 5.1.4 Leuchtbakterientest (Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von *Vibrio fischeri*, Teil 3, DIN EN ISO 11348-3:2009-05)**

Der Leuchtbakterientest dient der Bestimmung der akuten toxischen Wirkung auf Bakterien. Dabei wird die Hemmung der Lichtemission des marinen Leuchtbakteriums *Vibrio fischeri* gemessen. Das Verfahren kann in drei verschiedenen Varianten durchgeführt werden, je nachdem, ob für die Messungen frisch gezüchtete, gefriergetrocknete oder flüssig getrocknete Bakterienkulturen verwendet werden sollen. Die Testergebnisse müssen die Herkunft der Kulturen berücksichtigen. Der Anwendungsbereich des Tests umfasst neben Meer- und Brackwasser auch ausdrücklich Oberflächenwasser und Grundwasser.

Grundlage des Verfahrens ist die Abnahme der Lumineszenz in einer dem Abwasser ausgesetzten Bakteriensuspension nach einer definierten Kontaktzeit. Die Hemmwirkung von Schadstoffen wird anhand des Vergleichs der Leuchtintensität in einem Kontrollansatz und den in einer Verdünnungsreihe hergestellten Wasserproben ermittelt. Nach 15 und/oder 30 minütiger Exposition der Testorganismen wird die Verdünnungsstufe ermittelt, bei der eine

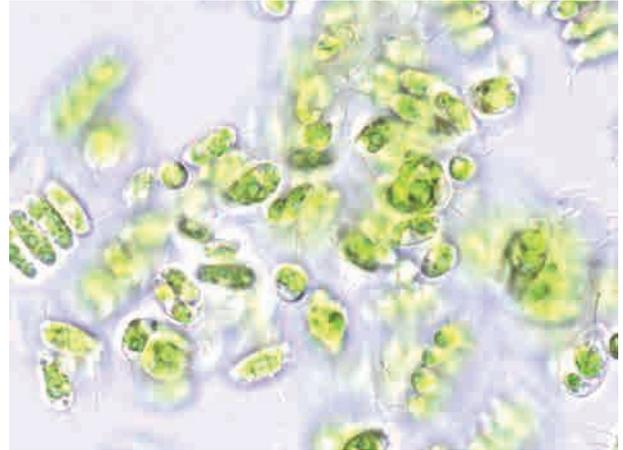


**Abb. 26:** Standardisierter Algentest, ideale Licht- und Temperaturverhältnisse bieten optimale Wachstumsvoraussetzungen. (Foto GOBIO GmbH).

Hemmwirkung der Lumineszenz  $< 20\%$  gemessen werden kann. Diese gilt als nichttoxische Verdünnungsstufe, angegeben in  $G_{LB}^{13}$ . Zur Herstellung einer Verdünnungsstufe werden üblicherweise jeweils zwei gleich große Teile an Bakteriensuspension und Wasserprobe zusammengeführt. Eine unverdünnte Probe kann daher nicht untersucht werden, sondern die höchste gemessene Toxizität kann für  $G_{LB} = 2$  bestimmt werden.

Die Frage nach der biologischen Funktion des Leuchtens ist bislang noch nicht eindeutig geklärt. Sicher ist allerdings, dass dieser Vorgang in hohem Maße an die Verfügbarkeit von zelleigenen energiereichen Verbindungen (Adenosintriphosphat ATP) gebunden ist. Die Energie aus Nährstoffen wie z.B. Glukose kann nur über diese Substanz dem Zellstoffwechsel zugeführt werden. Dieser Prozess ist wie auch die Photosynthese an Elektronentransportketten gebunden. Störungen des Zellstoffwechsels führen unmittelbar zu einer verminderten Lichtemission bei *Vibrio fischeri* und sind zudem photometrisch zeitnah nach Beginn der Exposition messbar.

Prüfeinrichtungen, die akkreditiert sind den Leucht bakterientest durchzuführen, unterhalten unter genormten Bedingungen eine Zucht von Leucht bakterien oder beziehen diese als standardisiertes Material im tiefgefrorenen oder gefriergetrockneten Zustand.



**Abb. 27:** *Scenedesmus subspicatus*. Exposition gegenüber Schadstoffen kann zur Aggregation der normalerweise einzelligen Algen zu größeren Verbänden und in der Folge zur Hemmung der Vermehrung führen. (Foto GOBIO GmbH).

### Anhang 5.1.5 *umu* - Test (Bestimmung des erbgutverändernden Potentials von Wasser, DIN 38 415-3:1996-12)

Durch den *umu*-Test wird das erbgutverändernde Potenzial einer Wasserprobe mittels des genetisch veränderten Bakteriums *Salmonella typhimurium* (TA 1535/pSK1002) untersucht. Prüfeinrichtungen, die akkreditiert sind den *umu*-Test durchzuführen, unterhalten hierzu unter genormten Bedingungen eine Zucht von *Salmonella typhimurium* (TA 1535/pSK1002). Voraussetzung hierzu ist eine anzeigepflichtige gentechnische Anlage der Sicherheitsstufe 1. S1-Laboratorien unterliegen einer behördlichen Kontrolle.

Die genetische Veränderung des Bakteriums besteht unter anderem darin, dass es einen zusätzlichen DNA-Strang mit den beiden gekoppelten Genen „*umuC*“ und „*lacZ*“ trägt. Das Gen „*umuC*“ wird durch Schädigungen der DNA aktiviert, da die ursprüngliche Funktion des Gens ein Teil des Reparaturmechanismus des DNA-Strangs mit Synthese und Wiedereinbau von Basen ist (*umu* = *uv*-mutagenesis). Das „*umuC*“-Gen wurde gentechnisch aber so abgeändert, dass in der Folge falsche Basen in den Strang eingebaut werden. Durch die konzentrationsabhängige Aktivierung des „*umuC*“-Gens erfolgt auch gleichzeitig die Aktivierung des „*lacZ*“-Gens, das für die Produktion des Enzyms  $\beta$ -Galaktosidase verantwortlich ist. Es wird im normalen Stoffwechsel des genetisch nicht veränderten Bakteriums nicht gebildet. Über die Bestimmung der  $\beta$ -Galaktosidase-

<sup>13</sup>  $G_{LB}$  wird in anderen Veröffentlichungen mit  $G_L$  bezeichnet

Aktivität, die einen Farbstoff umwandelt, kann nun die Induktionsrate des „umuC“-Gens gemessen werden.

Für die Versuchsbedingungen werden die Bakterien verschiedenen Konzentrationen des Testgutes ausgesetzt, wobei verschiedene Verdünnungsreihen hergestellt werden.

Die niedrigste Verdünnungsstufe, die mit dem *umu*-Test untersucht werden kann, ist die 1,5-fach verdünnte Probe ( $G_{EU} 1,5$ ), da das Einbringen der Testorganismen mit einer Verdünnung der Probe einhergeht. Von dieser Stufe aus werden der nächste und alle folgenden Testansätze durch eine 1:2-Verdünnung vorgenommen, so dass die Verdünnungsstufen des umu-Tests jeweils  $G_{EU} = 1,5; 3; 6; 12; 24$  oder 48 sein können.

Als Ergebnis des Tests gilt der kleinste Wert von  $G$  ( $G_{EU}$ -Wert), bei dem unter den Bedingungen dieses Verfahrens eine Induktionsrate  $< 1,5$  gemessen wird. Das Testergebnis kann nicht für eine Aussage über dauerhafte Mutationen herangezogen werden, da es nicht den Effekt der Genom-Schädigung erfasst, sondern die Aktivierung des Reparaturgens. Aus diesem Grund wird durch das Verfahren auch nur das erbgutverändernde Potential bestimmt.

#### **Anhang 5.1.6 Wasserlinsen-Wachstumshemmung (Bestimmung der toxischen Wirkung Wasserinhaltsstoffen und Abwasser gegenüber Wasserlinsen (*Lemna minor*), DIN EN ISO 20079:2006 - L49)**

Als schnell wachsende höhere Pflanze eignet sich die Wasserlinse gut als Modellorganismus für die Beobachtung von toxischen Effekten, die durch in Wasser gelöste Substanzen oder Gemische ausgelöst werden können. Die Kolonien der Wasserlinsen schwimmen frei auf der Oberfläche von stehenden Gewässern und sind in allen Klimazonen weltweit anzutreffen. Als Primärproduzent dient die Wasserlinse anderen Arten als Nahrung, bietet aber auch Lebensraum für Kleinstlebewesen an und im Gewässer.

Als Anwendungsbereich kommt neben der ökotoxikologischen Klassifizierung von aus Bundeswasserstraßen entnommenem Baggergut auch die Beurteilung von kommunalen oder industriellen Abwässern in Frage.

Die Grundlage des Tests basiert auf der Beobachtung von Wachstumseinschränkungen, die anhand von mehreren Parametern gemessen werden.

Für den Test werden verschiedene Verdünnungsstufen einer Originalprobe z.B. aus einem Abwasser oder Gewässer hergestellt, in denen die Wasserlinsen über 7 Tage unter definierten Klimabedingungen wachsen. Um bei unbekanntem Substanzen oder Gemischen genügend Effekte (zwischen 0 % und 100 % Wachstumshemmung) im Test zu erhalten, ist eine geometrische Reihe von mindestens 65 Konzentrationen für die Untersuchung anzusetzen. Alle Konzentrationen, Kontrollen und Referenzansätze sind parallel mehrfach zu bestimmen. Als Testergebnis wird die Konzentration einer Untersuchungsprobe ( $EC(r)_x$ ) berechnet, bei der im Vergleich zur Kontrolle eine Hemmung des Wachstums von  $x$  % ermittelt wurde.

Zu Testbeginn werden alle mind. 65 Testgefäße mit einer gleichen Anzahl an Wasserlinsen-Kolonien und -Individuen bestückt. Während der Versuchsdauer von 7 Tagen wachsen unter guten Bedingungen innerhalb der Wasserlinsen-Kolonien zahlreiche Tochter-Individuen heran. Zum Ende des Tests werden dann die Anzahl der mit bloßem Auge sichtbaren Mutter- und Tochter-Individuen gezählt. Für jede Testkonzentration wird nun die Wachstumsrate innerhalb der siebentägigen Testdauer ermittelt und im Vergleich zu den Kontrollen daraus die prozentuale Hemmung der Wachstumsrate berechnet. Gültig gewertet werden die Testergebnisse aber nur, wenn sich in den Kontrollen die Individuenzahl alle 2,5 Tage verdoppelt hat (entsprechend einer mittleren spezifischen Wachstumsrate von 0,275 pro Tag). Angegeben wird das Testergebnis zweckmäßigerweise für die Konzentrationen bei z.B. 5-, 10-, 25-, und 50-prozentiger Hemmung ( $EC(r)_5$ ,  $EC(r)_{10}$ ,  $EC(r)_{25}$ ,  $EC(r)_{50}$ ).

#### **Anhang 5.2 Suborganismische Testverfahren**

Die suborganismischen Testverfahren zielen auf das Erkennen einer Schadstoffwirkung auf der molekularen Ebene eines biologischen Testorganismus ab. Es wird dabei nicht die Wirkung auf einen Gesamtorganismus bzw. seine Mortalität zu Grunde gelegt, sondern die Schädigung von zellulären Bestandteilen, die Auswirkungen auf die Mobilität, Reproduktion, etc. haben können.

### **Anhang 5.2.1 Mikrokerntest (Bestimmung der Gentoxizität mit dem In-vitro-Mikrokerntest - Teil 2: Verwendung einer nicht synchronisierten V79-Zellkulturlinie, DIN EN ISO 21427-2:2009-08, OECD-Guideline 475/487, EPA OPPTS 870.5385)**

Mit dem Mikrokerntest kann eine Schädigung innerhalb der Chromosomen nachgewiesen werden. Er ermittelt strukturelle chromosomale Veränderungen und dient damit der Einschätzung der gentoxischen bzw. mutagenen Wirkung einer Substanz. Der Test wird in-vivo an Erythroblasten aus Knochenmark von Nagern durchgeführt. Während der Zellreifung zum Erythrozyten wird aus der Zelle der Kern ausgestoßen. Aufgrund der Einwirkung einer mutagenen Substanz können Genomfragmente innerhalb einer eigenen Membran innerhalb der Zelle verbleiben (Mikrokerne). Diese lassen sich anfärben und können optisch erfasst werden.

Die Häufigkeit, mit der Mikrokerne auftreten, kann ein Maß für die Schädigung der Erbsubstanz sein. Von Bedeutung ist hierbei, dass innerhalb des lebenden Testsystems z.B. auch das DNA-Reparatursystem seine Wirkung zeigen kann. Für die Bewertung von Altlasten scheint eine Kombination mit dem Fischeitest sinnvoll, wobei das Gewebe der Larven nach Versuchsende auf Mikrokerne untersucht wird. Dies wurde auf dem 2. Internationalen Symposium „Genotoxicity in aquatic systems: Causes, effects and regulatory needs“ in Dessau 2008 diskutiert (HERINGA et al. 2008).

### **Anhang 5.2.2 Comet-Assay**

Die Gentoxizität in Form von DNA-Schädigungen innerhalb von Zellen können in vitro mittels des Comet-Assays erkannt werden. Entstehen durch die Einwirkung einer schädigenden Substanz DNA-Bruchstücke, können diese mittels Elektrophorese getrennt werden. Die Zellen werden hierfür lysiert (aufgeschlossen) und die DNA in ein Gel-Bett eingefügt. Kleinere Bruchstücke können nun in einem angelegten elektrischen Feld weiter wandern als größere. Mit geeigneten Fluoreszenz-Färbemethoden können die DNA-Stränge sichtbar gemacht und die Häufigkeit der Strangbrüche über die Länge der Wanderstrecke abgelesen werden. Das mikroskopische Bild der fluoreszenz-gefärbten DNA erinnert an einen Kometen. Je größer der „Schweif“ des Kometen, desto mehr DNA-Bruchstücke unterschiedlicher Länge sind aufgetreten.

### **Anhang 5.2.3 Ames-Test (Bestimmung des erbgutverändernden Potentials mit dem Salmonella-Mikrosomen-Test; DIN 38415-4:1999-12); OECD-Guideline 471 (Bacterial Reverse Mutation Test)**

Dieses auch Rückmutationstest genannte Verfahren wurde in den sechziger Jahren von Bruce Ames entwickelt, um die mögliche Mutagenität von in der Entwicklung befindlichen Substanzen schnell und leicht zu erkennen.

Das Testverfahren wird an Bakterienstämmen von *Salmonella typhimurium* und *Escherichia coli* ausgeführt, die durch Mutation nicht mehr in der Lage sind, die essentielle Aminosäure Histidin zu synthetisieren. Gegenüber dem unveränderten Bakterien-Wildtyp können die mutierten Bakterien nicht auf histidinfreiem Nährboden überleben bzw. sich vermehren. Werden die Bakterien während des Tests einer mutagenen Substanz ausgesetzt, kann durch Punktmutation der ursprüngliche Wildtyp entstehen, d.h. die Mutation wird umgekehrt (Reverse Mutation). Diese Bakterien können dann Histidin synthetisieren und sich auf einem histidinfreien Nährmedium vermehren. Zusätzlich verfügen diese Bakterienstämme über eine hohe Permeabilität der Zellwände sowie Defekte im DNA-Reparatursystem, wodurch die Mutagenität einer zu testenden Substanz in ihrer Wirkung verstärkt wird.

Aufgrund der zahlreichen Daten aus der Anwendung des Ames-Tests ist bekannt, dass viele Chemikalien, die in diesem Test positiv reagieren, auch bei Säugetieren kanzerogen wirken.

Für die Ausführung des Tests werden Bakterien-Zellkulturen mit fünf verschiedenen Konzentrationen der zu testenden Substanz zusammen mit Agar ausplattiert. Nach 48 – 72 Stunden Inkubationszeit werden die gebildeten Bakterienkolonien auf den Agarplatten ausgezählt. Als positives Ergebnis kann das Fehlen von Kolonien oder ein konzentrationsabhängiges Abnehmen an Kolonien gewertet werden.

### **Anhang 5.3 Kontakttests**

Sedimentkontakttests werden seit ca. 15 Jahren routiniert zur Beurteilung des ökotoxikologischen Wirkungspotentials von Baggergut aus Flussmündungen im marinen oder brackigen Bereich eingesetzt. Hierfür wurde zur Bestimmung der akuten Toxizität ein Kontakttest mit dem Schlickkrebs *Corophium volu-*

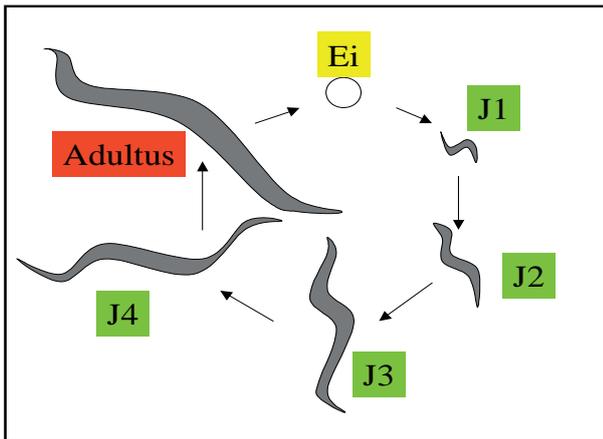


Abb. 28: Generationszyklus von *Caenorhabditis elegans*. (aus Momin et al. 2003)

tator entwickelt, der 2006 standardisiert wurde. Für nicht marine, aquatische Sedimente oder Bodeneluate kommen zunehmend auch Kontakttests zur Anwendung, die aber nur zum Teil normiert sind. Im Folgenden sollen einige vorgestellt werden.

### Anhang 5.3.1 Nematoden Kontakttest (Bestimmung der toxischen Wirkung von Sediment- und Bodenproben auf Wachstum, Fertilität und Reproduktion von *Caenorhabditis elegans* (Nematoda), DIN ISO 10872:2012-10)

Der Nematodentest lässt sich auf alle belasteten Böden und Sedimente sowie Porenwasser, Eluate und Extrakte anwenden. Hierbei wird die Wirkung auf Wachstum, Fruchtbarkeit und Reproduktion der Nematoden (Fadenwürmer) bestimmt. Nematoden kommen hauptsächlich im Porenwasser von Böden vor, leben allerdings auch in Sedimenten von Süßgewässern, die von organischen Abwässern stark belastet sind (Höss et al. 2001). Sie sind gut untersuchte Mehrzeller und lassen sich einfach kultivieren.

Als Testorganismus dient *Caenorhabditis elegans*, var. Bristol, Stamm N2 (Abb. 29a und b). Der ca. 1 mm lange Fadenwurm ernährt sich hauptsächlich von Bakterien und abgestorbenem organischem Material. Bei 20°C und optimalen Bedingungen beträgt die Generationszeit drei Tage. Dabei entwickelt sich der Fadenwurm vom Ei über vier juvenile<sup>14</sup> Entwicklungsstadien in einen adulten Organismus (Abb. 28).

<sup>14</sup> juvenil: Kindheits- und Jugendstadien

Schadstoffe können das Wachstum und die Fruchtbarkeit der Nematoden beeinträchtigen. Sie sind in gelöster Form über Porenwasser oder in fester Form über die Nahrung verfügbar (Höss et al. 2004). Um die volle Schadwirkung zu erfassen, werden bei Testbeginn nur juvenile J1- Stadien in die Testmedien eingesetzt und über 96 Stunden den Schadstoffen exponiert. In dieser Zeit vollenden die Nematoden in den Testkontrollen (wässrige Kontrolle, Kontrollsediment oder -boden) einen kompletten Lebenszyklus.

Nach 96 Stunden werden die Organismen abgetötet und folgende Parameter ausgewertet:

- die Körpergröße der adulten Organismen (als Maß des Wachstums)
- die Eizahl der adulten Organismen (ein Maß für die Fertilität)
- die Anzahl der Nachkommen (ein Maß für die Reproduktion).

Das Messergebnis wird angegeben als prozentuale Hemmung von Wachstum, Fertilität und Reproduktion gegenüber den Kontrollen, die keinen toxischen Einflüssen ausgesetzt wurden.

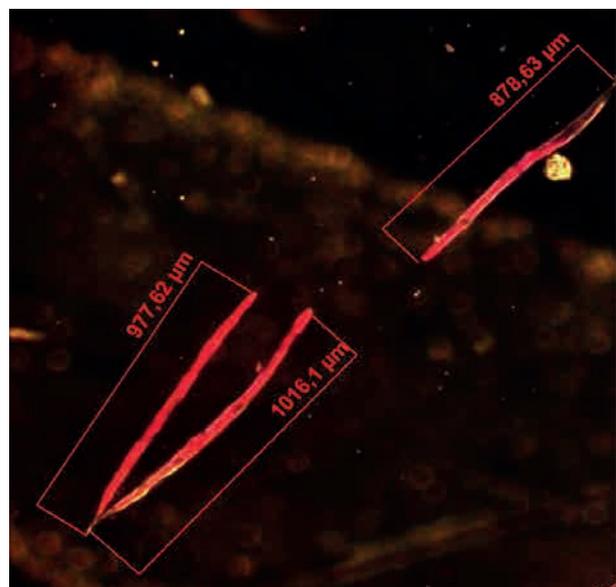


Abb. 29a: Nematoden. Mikroskopische Messung des Längenwachstums. (Foto GOBIO GmbH)



**Abb. 29b:** Nematoden. Aufsicht auf graviden (trächtigen) Organismus. (Foto GOBIO GmbH)

### Anhang 5.3.2 Bakterienkontakttest (*Arthrobacter globiformis*-Kontakttest für kontaminierte Feststoffe, DIN 38412 - 48:2002-09)

Das Bakterium *Arthrobacter globiformis* ist ein ubiquitär vorhandener Bodenorganismus und dient daher zur Erfassung von toxischen Wirkungen von Schadstoffen innerhalb des Bodens, in Sedimenten oder Schwebstoffen in aquatischen Systemen. Als einzelliger Testorganismus eignet sich *Arthrobacter* sehr gut zur Bestimmung von akut toxischen Einflüssen, da Schadstoffe schnell in die Zelle aufgenommen werden. Die Testdauer für eine akute Toxizitätsbestimmung beträgt nur sechs Stunden. Durch den kurzen Generationswechsel der Bakterien können zudem chronische Wirkungen innerhalb von 1 – 2 Tagen ermittelt werden.

Das Testverfahren basiert auf der direkten Bestimmung der Hemmung der Aktivität des Enzyms Dehydrogenase des Bakteriums nach einer zweistündigen Inkubation mit z. B. einer Sedimentprobe. Das Testergebnis wird über eine Reaktion des Farbstoffes Resazurin ermittelt, der durch die Dehydrogenase in den Farbstoff Resorufin umgewandelt wird. Der Gehalt an Resorufin wird photometrisch gemessen. In einer Kontrollprobe steigt demnach der Farbstoffgehalt an Resorufin stark an gegenüber dem in einer Sedimentprobe, die eine toxische Hemmung bewirkt. Testergebnisse sind gültig, soweit die Farbintensität von Resorufin in der Kontrollprobe minde-

stens um den Faktor 5 höher ist als in der zu untersuchenden Sedimentprobe.

### Anhang 5.3.3 Fischeitest als Sedimentkontakttest

Dieser Sedimentkontakttest wurde in Abänderung des Fischeitests nach DIN-Entwurf 38415-T6 entwickelt. Wie beim Fischeitest für Abwässer werden als Testmaterial die Eier des Zebraäbrblings (*Danio rerio* Hamilton-Buchanan, siehe Anhang 5.1.1) verwendet. Dabei werden die Fischembryonen direkt auf dem nativen Sediment exponiert. Es lassen sich sowohl letale als auch subletale Effekte auf unterschiedlichen Entwicklungsstufen, bis 48 h (Embryotoxizitätstest) und 144 h (Early-Life-Stage-Test) erfassen (HOLLERT 2004). Beim 48-stündigen Embryotoxizitätstest kann die akute Wirkung von Schadstoffen bestimmt werden. Manche ontogenetisch<sup>15</sup> früh verursachten Defekte lassen sich allerdings erst bei späteren Entwicklungsstadien erfassen. Sie können z.T. erst nach 144 Stunden im Early-Life-Stage-Test entdeckt werden, wie Schädigungen bei der Pigmentierung, Augenanlage, Somitenanlage und im Blutkreislauf sowie durch Ablösen des Schwanzes.

Für die Testauswertung wird die Anzahl der koagulierten, der normal entwickelten und der retardierten<sup>16</sup> Eier dokumentiert. Als Toxizitätsparameter wird die relative Anzahl (gemessen in Prozent) nicht normal entwickelter Embryonen verwendet. Der Test wird in Anlehnung an DIN EN ISO 15088:2009-06 als gültig gewertet, wenn 90 % der Fischeier in den Kontrollansätzen nach Testabbruch überlebten (GROTE et al. 2004). Bei stark anoxischen Sedimenten ist darauf zu achten, dass die Gewebekulturplatten, in denen die Eier exponiert werden, einer leichten Bewegung ausgesetzt sind, um eine zu starke Sauerstoffzehrung an der Grenzfläche zwischen Sediment und Wasserphase zu vermeiden.

Die Kontakttestversion des Fischeitests kann zur Bestimmung des Nachlieferungspotentials an wirbeltiergiftigen Schadstoffen, das von festen Abfällen/Altlasten oder kontaminierten Böden/Sedimenten ausgeht, herangezogen werden. Die Eier sind der Schadstoffkonzentration ausgesetzt, die sich im Porenwasser einstellt.

<sup>15</sup> Ontogenese: Entwicklungsgeschichte eines Lebewesens

<sup>16</sup> retardiert: zeitlich verzögert

## Anhang 6: Literatur

- (91/414/EWG 1991) Richtlinie über das Inverkehrbringen von Pflanzenschutzmitteln, 15. Juli 1991, zuletzt geändert 2006
- (ABRAMOV et al. 2010) Dienstleistungen der Grundwasser-ökosysteme, Korrespondenz Wasserwirtschaft
- (AbwAG 2009) Gesetz über Abgaben für das Einleiten von Abwasser in Gewässer (Abwasserabgabengesetz); Neugefasst durch Bek. v. 18.1.2005, zuletzt geändert am 31.7.2009; BGBl I 2005, 114
- (AbwV 2004) Verordnung über Anforderungen an das Einleiten von Abwasser in Gewässer (Abwasserverordnung) vom 17. Juni 2004, BGBl. I 2004, 1108, 2625
- (Anhang 51 2004) Anhang 51 oberirdische Ablagerung von Abfällen, BGBl I 2004, S. 1175 – 1177, Anhang zur AbwV
- (acatech 2011) acatech Materialien Nr. 10; Ökotoxikologische Bewertung von anthropogenen Stoffen; Thomas Knacker und Anja Coors, Deutsche Akademie der Technikwissenschaften 2011
- (AVV 2001) Verordnung über das Europäische Abfallverzeichnis (Abfallverzeichnis-Verordnung); 10.12.2001
- (BfG 2000) Bundesanstalt für Gewässerkunde Koblenz: Handlungsanweisung für den Umgang mit Baggergut im Binnenland (HABAB-WSV); 2000; spätere Aktualisierungen vorhanden
- (BMBF RiskWa 2013) <http://www.bmbf.riskwa.de> „Risikomanagement von neuen Schadstoffen und Krankheitserregern im Wasserkreislauf (RiskWa)“ beim Bundesministerium für Bildung und Forschung; u. a. Projekt „Gefährdungsbasiertes Risikomanagement für anthropogene Spurenstoffe zur Sicherung der Trinkwasserversorgung“; Kontakt auch über UBA; Abrufdatum 06-2013
- (ChemG 2008) Gesetz zum Schutz vor gefährlichen Stoffen (Chemikaliengesetz – ChemG), Neufassung vom 2.7.2008; BGBl. I S. 1146
- (DIBt 2008) Grundsätze zur Bewertung der Auswirkungen von Bauprodukten auf Boden und Grundwasser, Deutsches Institut für Bautechnik - DIBt -, Berlin; Mai 2008
- (Diercke 2013) [www.diercke.de](http://www.diercke.de) Abb. 1 aus <http://www.diercke.de/kartenansicht.xtp?artId=978-3-14-100700-8&stichwort=Kanton>; [unter Grafiken, ganz unten]; Abrufdatum 25-06-2013
- (DIN 2013) [www.din.de](http://www.din.de) Deutsches Institut für Normung e.V.
- (ERNTE 2006) Römbke, J; Eisenträger, A.; Hund-Rinke, K.; Jänsch, S.; Neumann-Hensel, H; Schallnaß, H.-J.; Verbundvorhaben „Erprobung und Vorbereitung einer praktischen Nutzung ökotoxikologischer Testsysteme“; Sidus-Verlag September 2006
- (Fachmodul BA 2012) LABO: Fachmodul Boden und Altlasten, Notifizierung und Kompetenznachweis von Untersuchungsstellen im bodenschutzrechtlich geregelten Umweltbereich; Das Fachmodul Boden/Altlasten ist auf der LABO-Homepage zu finden unter: [https://www.labo-deutschland.de/documents/2\\_Anlage\\_Fachmodul\\_Boden-Altlasten\\_f06.pdf](https://www.labo-deutschland.de/documents/2_Anlage_Fachmodul_Boden-Altlasten_f06.pdf), Abrufdatum 04-07-2013
- (FEILER et al. 2005) Feiler, U.; Ahlf, W.; Hoess, S.; Holtert, H.; Neumann-Hensel, H.; Meller, M.; Weber, J.; Heiniger, P. (2005): The SeKT Research Project: Definition of Reference Conditions, Control Sediments and Toxicity Thresholds for Limnic Sediment Contact Tests. *Environ Sci and Pollut Res* 12 (5) 257-25.
- (FOMIN et al. 2003) Fomin, A.; Oehlmann, J.; Markert, B. (2003): Praktikum zur Ökotoxikologie. Ecomed
- (geodz.com) Lexikon Geografie, Lexikon Geologie, Lexikon Geodäsie, Topologie & Geowissenschaften; Abrufdatum 06-03-2013
- (GDCh) [www.gdch.de](http://www.gdch.de); Gesellschaft Deutscher Chemiker
- (GRIEBLER & MÖSSLACHER 2003) Griebler, C.; Mösslacher, F. (2003): Grundwasser-Ökologie. Facultas Verlag Wien
- (GROTE et al. 2004) Grote, M.; Walter, H.; Altenburger, R. (2004): Toxizitätsuntersuchungen von Elbsedimenten in Kontakttesten mit Lemna minor und Danio rerio. Bundesanstalt für Gewässerkunde. Veranstaltungen 5/2004 Statusseminar - Sedimentkontakttests.
- (HERINGA et al. 2008) Heringa, M. B.; Voost, S.; Stang, A.; Witte, I. (2008): Ames II and 96-well comet assay for efficient screening of drinking water (sources) for genotoxic contaminants. Aus: Umweltbundesamt (Hrsg.). 2. International symposium. Genotoxicity in aquatic systems: Causes, effects and regulatory needs. Dessau - Roßlau.
- (Hessen 2007) Handbuch Hessen, Teil 3 Fachliche Umsetzung der Wasserrahmenrichtlinie in Hessen; Kapitel 3.1 B „Methodenbeschreibungen und Bewertungsgrundlagen im Rahmen der Überwachung der biologischen Qualitätskomponenten in Fließgewässern“; Stand Januar 2007 [http://www2.hmuelv.hessen.de/imperia/md/content/internet/wrrl/5\\_service/hessenundlawas/handbuchlieferung5/t3k3\\_1\\_b\\_lieferung5\\_070725.pdf](http://www2.hmuelv.hessen.de/imperia/md/content/internet/wrrl/5_service/hessenundlawas/handbuchlieferung5/t3k3_1_b_lieferung5_070725.pdf)
- (HLUG 2002) Hessisches Landesamt für Umwelt und Geologie (HLUG) (2002): Handbuch Altlasten. Band 3, Teil 2: Untersuchung von altlastverdächtigen Flächen und Schadensfällen; Kapitel 3.4.2 Feldparameter
- (HLUG 2004) Hessisches Landesamt für Umwelt und Geologie (HLUG) (2004): Handbuch Altlasten. Band 8, Teil 1: Arbeitshilfe zu überwachten natürlichen

- Abbau- und Rückhalteprozessen im Grundwasser (Monitored Natural Attenuation MNA)
- (HLUG 2008) Hessisches Landesamt für Umwelt und Geologie (HLUG) (2008): Handbuch Altlasten. Band 3, Teil 7: Arbeitshilfe zur Sanierung von Grundwasser-Verunreinigungen
- (Höss et al. 2001) Höss, S.; Bergtold, M.; Haitzer, M.; Traunspurger, C.; Steinberg, E. W. (2001): Refractory dissolved organic matter can influence the reproduction of *Caenorhabditis elegans* (Nematoda). *Freshwater Biology* 46, 1-10
- (Höss et al. 2004) Höss S. (2004): Bestimmung der Wirkung von Sediment- und Bodenproben auf Wachstum Fertilität und Reproduktion von *Caenorhabditis elegans* (Nematoda). *Ecosia*
- (HOMMEL 2013) Handbuch der gefährlichen Güter. Gesamtwerk: Merkblätter 1-2900. Erläuterungen und Synonymliste. Transport- und Gefahrenklassen, Version 2013; Merkblatt 58: Calcium
- (Interland 2006) Technischer Leitfaden Alternative Monitoringmethoden für Altablagerungen; erstellt im Forschungsprojekt Interland, April 2006, gefördert durch Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft AT
- (LANUV 2007) „Einführung des Fischeitests in NRW: Ermittlung von Grundlagendaten für die Bescheidumstellung in NRW – Untersuchung ausgesuchter kommunaler und industrieller Abwässer“, Bezirksregierungen Münster und Köln, im Februar 2007; zu finden unter: [www.lanuv.nrw.de/wasser/abwasser/forschung/pdf/fischeitest\\_abschlussbericht.pdf](http://www.lanuv.nrw.de/wasser/abwasser/forschung/pdf/fischeitest_abschlussbericht.pdf)
- (LAWA 2004) LAWA: Ableitung von Geringfügigkeitsschwellen für das Grundwasser, Dezember 2004
- (LfU KA 2004 – 1) Zipperle, J.; Deventer, K.; Kostka-Rick, R. (2004): Ökotoxikologische Charakterisierung von Abfall - Literaturstudie. Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg (LfU) Karlsruhe
- (LfU KA 2004 -2) Zipperle, J.; Deventer, K. (2004): Ökotoxikologische Charakterisierung von Abfall - Verfahrensentwicklung für die Festlegung des Gefährlichkeitskriteriums „ökotoxisch (H14)“. Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg (LfU) Karlsruhe
- (NAW 2013) <http://www.naw.din.de> Normenausschuss Wasserwesen (NAW) im DIN; Abrufdatum 04-07-2013; Überblick über die Aktivitäten des DIN hinsichtlich Wasseruntersuchung, Unterausschuss NA 119-01-03-05 UA biologische Verfahren: [www.naw.din.de/cmd?level=tpl-untergremium-home&languageid=de&subcommitteeid=54752616](http://www.naw.din.de/cmd?level=tpl-untergremium-home&languageid=de&subcommitteeid=54752616) Unterausschuss NA 119-01-03-07 UA Suborganismische Testverfahren <http://www.naw.din.de/cmd?level=tpl-untergremium-home&languageid=de&subcommitteeid=54752621>
- (OGewV 2011) Verordnung zum Schutz der Oberflächengewässer (Oberflächengewässerverordnung – OGewV) vom 20. Juli 2011; Bundesgesetzblatt 2011 Teil I Nr. 37 S. 1429 ff
- (OEHLMANN 2012) [www.bio.uni-frankfurt.de/44430850/Humantox-V-1.pdf](http://www.bio.uni-frankfurt.de/44430850/Humantox-V-1.pdf); Vorlesung: „Einführung in die Humantoxikologie“, Prof. J. Oehlmann, JWG Universität Frankfurt/M; Abrufdatum 28-03-2012
- (PATT et al. 2004) Patt, H.; Jürging, P.; Kraus, W. (2004): Naturnaher Wasserbau: Entwicklung und Gestaltung von Fließgewässern, Springer-Verlag
- (PERLODES) <http://www.fliessgewaesserbewertung.de/>, Abrufdatum 12-09-2013
- (RWTH Aachen) Übungsaufgaben unter [www.lfa.rwth-aachen.de/Lehre/Uebungen.html](http://www.lfa.rwth-aachen.de/Lehre/Uebungen.html); Abrufdatum 27-02-2013
- (SCHWOERBEL 1993) Schwoerbel, J. (1993): Einführung in die Limnologie, Gustav Fischer Verlag Stuttgart (7. Vollst. Überarbeitete Aufl.)
- (STAHLSCHEMIDT-ALLNER et al. 2008) Stahlschmidt-Allner, P.; Batzke, M.; Delov, V.; von der Gönna, S., GOBIO GmbH (2008): Experimentelle ökotoxikologische Bewertung von Altlasten Ein Beitrag zur Risikoanalyse; Entwurf eines Leitfadens (In Zusammenarbeit mit dem HLUG; unveröffentlicht)
- (TGD 2003) Einzelheiten zur Durchführung von Risikobewertungen: technischer Leitfaden (TGD – „Technical Guidance Documents in Support of the Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for New Notified Substances and the Commission Regulation (EC) No 1488/94 on Risk Assessment for Existing Substances“). „Technical Guidance Document on Risk Assessment“, European Commission, Brussels, Belgium; Erste Fassung: TGD 1996
- (UBA 2007) Biologische Testverfahren zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen, R. Becker; G. Donnevert & J. Römbke, November 2007 (nur in Englisch)
- (UBA 2008) Handlungsempfehlung zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen; Heidrun Moser, Entwurf 2008
- (UBA 2013) Handlungsempfehlung zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen; Wuttke, I.; Walther, M., 26.07.2013
- (UBA 2014) Entwicklung biologischer Bewertungsmethoden und –kriterien für Grundwasserökosysteme; Projektkoordination: Griebler, C. et al; Druck wird vom UBA vorbereitet (Stand März 2013)
- (UBA ToxBBox 2013) Gefährdungsbasiertes Risikomanagement für anthropogene Spurenstoffe zur Sicherung der Trinkwasserversorgung (Akronym: Tox-Box) [www.umweltbundesamt.de/wasser/themen/trinkwasser/toxbox/index.htm](http://www.umweltbundesamt.de/wasser/themen/trinkwasser/toxbox/index.htm) Startseite > Wasser, Trinkwasser und Gewässerschutz - Aktuelles > Trinkwasser > Projekt Tox Box; Abrufdatum 06-2013
- (Uni Kassel 2005) [www.uni-kassel.de/hrz/db4/extern/E\\_Learning\\_Label/Witzenhausen/ useiten/fgebiete/boupfl/gewoeko /projekte/donauprojekt/donaughtm/04/bioindi1.htm](http://www.uni-kassel.de/hrz/db4/extern/E_Learning_Label/Witzenhausen/ useiten/fgebiete/boupfl/gewoeko /projekte/donauprojekt/donaughtm/04/bioindi1.htm)

- (VDG 2005) Lebensraum Grundwasser. Aus: Schriftenreihe der Vereinigung Deutscher Gewässerschutz e.V. Band 68; 2005
- (WRRL 2000) Wasserrahmenrichtlinie; Richtlinie 2000/60/EG des Europäischen Parlamentes und des Rates vom 23. Oktober 2000 zur Schaffung eines Ordnungsrahmens für Maßnahmen der Gemeinschaft im Bereich der Wasserpolitik
- (WHG 2009) Wasserhaushaltsgesetz vom 31. Juli 2009, BGBl Teil I Nr. 51S. 2585 ff
- Weiterführende Literatur:**
- (ADR 2010) Anlage zur Bekanntmachung der Neufassung der Anlagen A und B des Europäischen Übereinkommens vom 30. Sept. 1957 über die internationale Beförderung gefährlicher Güter auf der Straße (ADR) vom 2.12.2010; Abschnitt 2.2.9.1.10 Umweltgefährdende Stoffe, S. 225 ff
- (ALA 2000) „Arbeitshilfen zur Qualitätssicherung in der Altlastenbehandlung“ der ad-hoc AG „Arbeitshilfen Qualitätssicherung“ des Altlastenausschusses (ALA), Oktober 2000, Teilthema 2.5a: Biologische Verfahren in der Laboranalytik bei Altlasten. Veröffentlicht u. a. vom HLUg 2001
- (BfG 2004) Bericht über das Statusseminar-Sedimentkontakttests am 24./25. März 2004 in Koblenz; S. 89 ff „Nematoden-Tests“
- (BfG 2005) Bundesanstalt für Gewässerkunde Koblenz (2005): Bewertungskriterien für die Unterbringung von Baggergut an Land
- (BfG 2009) Bundesanstalt für Gewässerkunde Koblenz: BfG-Merkblatt „Ökotoxikologische Baggergutuntersuchung“ Stand: September 2009
- (DECHEMA 1995) Biologische Testmethoden für Böden 4. Bericht des interdisziplinären AK „Umweltbiotechnologie – Boden“; Ad-hoc-AG „Methoden zur toxikologischen/ökotoxikologischen Bewertung von Böden“
- (DECHEMA 2001) Biologische Testverfahren für Boden und Bodenmaterial 7. Bericht des interdisziplinären AK „Umweltbiotechnologie – Boden“; AG „Validierung biologischer Testverfahren für Böden“
- (DEKANT, VAMVAKAS 1994) Dekant, W.; Vamvakas, S. (1994): Toxikologie für Chemiker und Biologen. Heidelberg, Berlin, Oxford: Spektrum Akademischer Verlag.
- (DGL 2003) „Lebensraum Grundwasser“; Deutsche Gesellschaft für Limnologie e. V.: Arbeitskreis
- (DWA 2007) Deutsche Vereinigung für Wasserwirtschaft, Abwasser und Abfall e. V. 2007: „Grundwasserfauna Deutschlands. Ein Bestimmungswerk“
- (EISENBRAND 2002) Eisenbrand, G.; Metzler, M.: Toxikologie für Naturwissenschaftler und Mediziner. Stoffe, Mechanismen, Prüfverfahren. 2. Aufl. Weinheim: Wiley/VCH 2002
- (FENT 2012) Fent, K.: Ökotoxikologie. Georg Thieme Verlag, 4. Auflage 2012
- (FRANKE et al. 1994) Franke, Ch.; Studinger G.; Berger, G.; Böhling, S.; Bruckmann, U.; Cohors-Fresenborg, D.; Jöhncke, U. (1994): The Assessment of Bioaccumulation. Chemosphere 29 (7) S. 1501-1514
- (HLUG 2008 - 1) Hessisches Landesamt für Umwelt und Geologie (HLUG) (2008): Handbuch Altlasten. Band 3, Teil 6: Ermittlung von Schadstofffrachten im Grund- und Sickerwasser
- (HOLLERT 2004) Hollert, H. (2004): Ein neuer Sedimentkontakttest mit *Danio rerio* zum Nachweis von embryotoxischer und gentoxischer Wirkung. Bundesanstalt für Gewässerkunde. Veranstaltungen 5/2004 Statusseminar - Sedimentkontakttests
- (Hyporheisches Netzwerk 2010) [www.hyporheisches-netzwerk.de](http://www.hyporheisches-netzwerk.de).
- (KÜHN et al. 1990) Kühn, R.; Pattard, M. (1990): Results of the harmful effects of water pollutants to green algae (*Scenedesmus subspicatus*) in the cell multiplication inhibition test. Water research 24, 1: 31-38
- (KÜHN et al. 1989) Kühn, R.; Pattard, M.; Pernak, K.-D.; Winter, A. (1989): Results of the harmful effects of water pollutants to *Daphnia magna* in the 21 day reproduction test. Water research 23, 4: 501-510
- (LANUV 2001) Gewässergütebericht 2001, Landesumweltamt Nordrhein-Westfalen, S. 232 f
- (LAGA 2008) LAGA-Methodensammlung Abfalluntersuchung, Version 2.0, Stand: 01. Oktober 2012
- (LAWA\_AQS 2012) AQS-Merkblätter für die Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung Ergänzbare Sammlung von Merkblättern zu den AQS-Rahmenempfehlungen der Bund/Länder-Arbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA); Stand 2012; ISBN 978-3-503-03197-9
- (LUBW 2006) Landesanstalt für Umwelt, Messungen und Naturschutz Baden-Württemberg 2006, Grundwasser-Überwachungsprogramm; Erhebung und Beschreibung der Grundwasserfauna in Baden-Württemberg
- (MATZKE 2006) Matzke, D.: „Untersuchungen zum Verhalten von Grundwasserfauna in Altlastflächen mit vorangegangenem Vergleich unterschiedlicher Sammeltechniken“, Diss. Universität Koblenz-Landau 29. Juni 2006
- (Oehlmann 1997) Oehlmann, J.; Markert, B.: Humantoxikologie. Eine Einführung für Apotheker, Ärzte, Natur- und Ingenieurwissenschaftler. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft 1997
- (OEHLMANN 1999) Oehlmann, J.; Markert, B. (Hrsg): Ökotoxikologie. Ökosystemare Ansätze und Methoden. Landsberg: ecomed, 1999
- (RIPPEN 2012) Umweltchemikalien. Eigenschaften, Vorkommen, Wirkung, Literatur, Grenz- und Richtwerte; ecomed Sicherheit, Verlagsgruppe Hüthig Jehle Rehm GmbH

- (STAHLSCHEMIDT-ALLNER 2008) Stahlschmidt-Allner, P. (2008): Biologische Testverfahren in der Bewertung von Altlasten. In: Hessisches Landesamt für Umwelt und Geologie. Altlasten - annual 2007
- (TGD 2011) Fortschreibung der TGD von 2003 durch European Commission (2011). Guidance document No 27; Technical Guidance For Deriving Environmental Quality ; Common Implementation Strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC) European Commission, Brussels, Belgium
- (UBA 2001) UBA –Texte 76/01: „Ökotoxikologische Prüfung von Pflanzenschutzmitteln hinsichtlich ihres Potentials zur Grundwassergefährdung“
- (UBA 2003) UBA –Texte 26/03: „Ökotoxikologische Sedimentkartierung der großen Flüsse Deutschlands“; Duft, M., Tillmann, M., Oehlmann, J., {Nematodentest und Sedimenttoxtest mit Zuckmücke}
- (UBA 2011) UBA- Texte 81/2011 Scaling unter REACH Entwicklung einer Handlungsanleitung zur Bestimmung der sicheren Verwendungsbedingungen von Chemikalien durch Scaling; März 2011 <http://www.uba.de/uba-info-medien/4224.html>, Abrufdatum 07-03-2013
- (UBA-ETOX) ETOX (Informationssystem Ökotoxikologie und Umweltqualitätsziele), Umweltbundesamt (<http://webetox.uba.de/webETOX/index.do>)
- (UBA 02 Wien 2011) Arbeitshilfe zur Expositionsabschätzung und Risikoanalyse an kontaminierten Standorten; Endbericht zum Arbeitspaket 2 des Projektes „Altlastenmanagement 2010“ Report REP 0351; Wien 2011
- (UBA 03 Wien 2011) Ökologische Risikobeurteilung an kontaminierten Standorten; Endbericht zum Arbeitspaket 3 des Projektes „Altlastenmanagement 2010“ Report REP 0337; Wien 2011

### DIN-Vorschriften, die für das Thema relevant sein können (die Aufzählung ist nicht vollständig)

DIN	Test, Regelung	Alte Bezeichnung	Bemerkung
BS EN 14996:2006-06-30 EN 14996:2006-06	Wasserbeschaffenheit - Anleitung zur Qualitätssicherung biologischer und ökologischer Untersuchungsverfahren in der aquatischen Umwelt; Deutsche Fassung EN 14996: 2006	DIN EN 14996 M42	BS = British Standard
DIN 38410-1:2004-10	Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Biologisch-ökologische Gewässeruntersuchung (Gruppe M) - Teil 1: Bestimmung des Saprobienindex in Fließgewässern (M 1)		
DIN EN ISO 5667-16:1999-02	Wasserbeschaffenheit - Probenahme - Teil 16: Anleitung zur Probenahme und Durchführung biologischer Testverfahren (ISO 5667-16:1998); Deutsche Fassung EN ISO 5667-16:1998	Ersatz für DIN 38412-1: 1982-06	
DIN 38412-3:2010-10	Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L) - Teil 3: Toxizitätstest zur Bestimmung der Dehydrogenasenaktivitätshemmung in Belebtschlamm (TTC-Test) (L 3)		Kommunale und industrielle Abwässer
DIN 38412-16:1985-12	Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung; Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L); Bestimmung des Chlorophyll-a-Gehaltes von Oberflächenwasser (L 16)	Identisch mit: ISO 10260 (1992-07)	
DIN 38412-30:1989-03	Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung; Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L); Bestimmung der nicht akut giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Daphnien über Verdünnungsstufen (L 30)		

DIN	Test, Regelung	Alte Bezeichnung	Bemerkung
DIN 38412-33:1991-03	Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung; Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L); Bestimmung der nicht giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Grünalgen (Scenedesmus-Chlorophyll-Fluoreszenz-test) über Verdünnungsstufen (L 33)		
DIN 38412-37:1999-04	Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L) - Teil 37: Bestimmung der Hemmwirkung von Wasser auf das Wachstum von Bakterien (Photobacterium phosphoreum; Zellvermehrungs-Hemmtest) (L 37)		
DIN 38412-48:2002-09	Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L) - Teil 48: Arthrobacter globiformis - Kontakttest für kontaminierte Feststoffe (L48)		Bakterienkontakttest
DIN EN ISO 11348-1:2009-05	Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von Vibrio fischeri (Leuchtbakterientest) - Teil 1: Verfahren mit frisch gezüchteten Bakterien (ISO 11348-1:2007); Deutsche Fassung EN ISO 11348-1:2008		
DIN EN ISO 11348-2:2009-05	Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von Vibrio fischeri (Leuchtbakterientest) - Teil 2: Verfahren mit flüssig getrockneten Bakterien (ISO 11348-2:2007); Deutsche Fassung EN ISO 11348-2:2008		
DIN EN ISO 11348-3:2009-05	Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von Vibrio fischeri (Leuchtbakterientest) - Teil 3: Verfahren mit gefriergetrockneten Bakterien (ISO 11348-3:2007); Deutsche Fassung EN ISO 11348-3:2008		
DIN EN ISO 6341:2013-01	Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der Hemmung der Beweglichkeit von Daphnia magna Straus (Cladocera, Crustacea) - Akuter Toxizitäts-Test (ISO 6341:2012); Deutsche Fassung EN ISO 6341:2012	Ersatz für DIN EN ISO 6341:1996-06	Chemikalien, Abwässer, Süßwasser, Sickerwasser; Daphnienkurzzeittest
DIN EN ISO 8692:2012-06	Wasserbeschaffenheit - Süßwasseralgen-Wachstumshemmtest mit einzelligen Grünalgen (ISO 8692:2012); Deutsche Fassung EN ISO 8692:2012	Ersatz für DIN EN ISO 8692 (2005-01)	
DIN 38415-3:1996-12	Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Suborganismische Testverfahren (Gruppe T) - Teil 3: Bestimmung des erbgutverändernden Potentials von Wasser mit dem umu-Test (T 3)	Identisch mit ISO 13829 (2000-03)	
DIN 38415-4:1999-12	Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Suborganismische Testverfahren (Gruppe T) - Teil 4: Bestimmung des erbgutverändernden Potentials mit dem Salmonella-Mikrosomen-Test (Ames Test) (T4)		
DIN 38415-31:1989-03	Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Suborganismische Testverfahren (Gruppe T) - Teil 31: Bestimmung der nicht akut giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Fischen über Verdünnungsstufen (T31)		Seit Januar 2005 keine Standardmethode mehr; wurde durch den Fischeitest (DIN EN ISO 15088) ersetzt
DIN EN ISO 21427-2:2009-08	Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der Genotoxizität mit dem In-vitro-Mikrokerntest - Teil 2: Verwendung einer nicht synchronisierten V79-Zellkulturlinie (ISO 21427-2:2006); Deutsche Fassung EN ISO 21427-2:2009-08		Mikrokerntest

DIN	Test, Regelung	Alte Bezeichnung	Bemerkung
DIN EN ISO 15088:2009-06	Wasserbeschaffenheit – Bestimmung der akuten Toxizität von Abwasser auf Zebrafisch-Eier ( <i>Danio rerio</i> ) (ISO 15088:2007); Deutsche Fassung EN ISO 15088:2008	Ersatz für DIN 38415-6:2003-08	
DIN ISO 10872:2012-10	Wasserbeschaffenheit – Bestimmung der toxischen Wirkung von Sediment- und Bodenproben auf Wachstum, Fertilität und Reproduktion von <i>Caenorhabditis elegans</i> (Nematoda) (ISO 10872:2010)	identisch mit ISO 10872 (2010-06)	
DIN EN ISO 16712:2007-02	Wasserbeschaffenheit – Bestimmung der akuten Toxizität mariner Sedimente oder von Sedimenten aus Flussmündungsgebieten gegenüber von Amphipoden (ISO 16712:2005), Deutsche Fassung EN ISO 16712:2006		Baggergut aus marinen Wässern
DIN EN ISO 20079:2006-12	Wasserbeschaffenheit – Bestimmung der toxischen Wirkung von Wasserinhaltsstoffen und Abwasser gegenüber Wasserlinsen ( <i>Lemna minor</i> ) – Wasserlinsen-Wachstumshemmtest (ISO 20079:2005); Deutsche Fassung EN ISO 20079:2006	L 49 DIN EN ISO 20079 Dezember 2006	
DIN EN ISO/IEC 17025 Berichtigung 2:2007-05	Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien (ISO/IEC 17025:2005); Deutsche und Englische Fassung EN ISO/IEC 17025:2005, Berichtigungen zu DIN EN ISO/IEC 17025:2005-08; Deutsche und Englische Fassung EN ISO/IEC 17025:2005/AC:2006	DIN EN ISO/IEC 17025:2005-08 August 2005	
ISO 10706:2000-04	Wasserbeschaffenheit – Bestimmung der Langzeit-Toxizität von Stoffen gegenüber <i>Daphnia magna</i> Straus (Cladocera, Crustacea)		
ISO 16191:2013-05	Wasserbeschaffenheit – Bestimmung der toxischen Wirkung von Sedimenten und Böden auf das Wachstumsverhalten von <i>Myriophyllum aquaticum</i>		
DIN EN 13784:2002-04	Lebensmittel – DNA-Kometentest zum Nachweis von bestrahlten Lebensmitteln – Screeningverfahren; Deutsche Fassung EN 13784:2001		Comet-Assay

