

TEXTE

74/2016

Empfehlungen für eine Testbatterie zur ökotoxikologischen Bewertung der Umweltverträglichkeit von Bauprodukten

Endbericht

TEXTE 74/2016

Umweltforschungsplan des
Bundesministeriums für Umwelt,
Naturschutz, Bau und Reaktorsicherheit

Forschungskennzahl 3712 95 309
UBA-FB 002372

Empfehlungen für eine Testbatterie zur ökotoxikologischen Bewertung der Umweltverträglichkeit von Bauprodukten

von

Stefan Gartiser
Hydrotox GmbH, Freiburg

Ines Heisterkamp
Hydrotox GmbH, Freiburg

Ute Schoknecht
BAM Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung, Berlin

Michael Burkhardt
HSR Hochschule für Technik Rapperswil, Institut für Umwelt- und
Verfahrenstechnik (UMTEC), Rapperswil, Schweiz

Monika Ratte
ToxRat Solutions GmbH, Alsdorf

Im Auftrag des Umweltbundesamtes

Impressum

Herausgeber:

Umweltbundesamt
Wörlitzer Platz 1
06844 Dessau-Roßlau
Tel: +49 340-2103-0
Fax: +49 340-2103-2285
info@umweltbundesamt.de
Internet: www.umweltbundesamt.de

 /umweltbundesamt.de

 /umweltbundesamt

Durchführung der Studie:

Hydrotox GmbH
Bötzingen Straße 29
79111 Freiburg

Abschlussdatum:

April 2016

Redaktion:

Fachgebiet III 1.4 Stoffbezogene Produktfragen
Outi Ilvonen

Publikationen als pdf:

<http://www.umweltbundesamt.de/publikationen>

ISSN 1862-4804

Dessau-Roßlau, November 2016

Das diesem Bericht zu Grunde liegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz, Bau und Reaktorsicherheit unter der Forschungskennzahl 3712 95 309 gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei den Autorinnen und Autoren.

Kurzbeschreibung

Die Europäische Bauprodukteverordnung (EU) Nr. 305/2011 ermöglicht den Mitgliedstaaten Vorschriften zur Bewertung der Umweltauswirkungen ihrer Bauwerke zu erlassen. Ziel des Projektes war es, Empfehlungen für eine Testbatterie zur ökotoxikologischen Bewertung der Umweltverträglichkeit von Bauprodukten für die Außenanwendung zu erarbeiten, die zur Europäischen Harmonisierung von Prüfmethoden beitragen. Aus einer Auswahlliste von 39 Produkten wurden 20 Produkte in das ökotoxikologische Untersuchungsprogramm einbezogen. Monolithische und flächige Bauprodukte wurden in der horizontalen dynamischen Oberflächenauslaugprüfung (DSL-Test) nach CEN/TS 16637-2, granulare Produkte im Schütteltest nach DIN EN 12457-1 eluiert. Die Eluate wurden in vier aquatischen Toxizitätstests (Algen, Daphnien, Leuchtbakterien, Fischeier), einem Gentoxizitätstest (umu-Test) und im Respirometertest (OECD 301 F) untersucht. Hierbei wurden niedrige bis sehr hohe Ökotoxizitäten (bis Verdünnungsstufe 1536) bestimmt. Zudem wurde ein Europäischer Ringversuch mit 17 Teilnehmern und zwei Bauprodukten konzeptionell vorbereitet, durchgeführt und gemäß DIN ISO 5725 ausgewertet. Nach Ausschluss der nicht validen bzw. als Ausreißer identifizierten Biotests war die laborübergreifende Streuung des Gesamtverfahrens zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Bauprodukten akzeptabel. Der Variationskoeffizient für die Konzentration, die einen 50%igen Effekt induziert (EC50) lag für die verschiedenen Tests und Bauprodukte zwischen 9 und 110% und beschreibt die Variabilität des gesamten, komplexen Verfahrensablaufs vom Elutionsprozess über Probenlagerung bis hin zur eigentlichen Biotestdurchführung. Es wurden Empfehlungen zur Planung und Durchführung von Ökotoxizitätstests zur Bewertung von Bauprodukten erarbeitet und bei der für die europäische Harmonisierung von Auslaugtests für Bauprodukte zuständigen CEN-Arbeitsgruppe eingereicht.

Abstract

The European Construction Products Regulation (EU) No. 305/2011 allows Member States to adopt rules for evaluating the environmental impact of their buildings. The aim of the project was to develop recommendations for a test battery for the ecotoxicological assessment of the environmental impact of construction products for outdoor use, which contributes to the European harmonization of test methods. From a shortlist of 39 products 20 products were included in the ecotoxicological testing program. Monolithic and plate-like construction products were eluated in the Dynamic Surface Leaching test (DSL) in accordance with CEN / TS 16637-2, granular products were eluated in the one stage batch test in accordance with DIN EN 12457-1. The eluates were examined in four aquatic toxicity tests (algae, daphnia, luminescent bacteria, fish eggs), a genotoxicity test (umu test) and in the respirometer test (OECD 301 F). Here, low to very high ecotoxicity was observed (up to a dilution factor of 1536). In addition, a European round robin test with 17 participants and two construction products, was conceptually prepared, realised and evaluated compliant to ISO 5725, After excluding non-valid bioassays or those identified as outliers, the interlaboratory variability of the overall process for the ecotoxicological characterization of construction products was acceptable. The coefficient of variation of the 50% effective concentration (EC50) was between 9-110% for the various tests and construction products. These values describe the variability of the entire, complex process flow from the leaching process to the sample storage up to actual biotest performance. Recommendations for planning and performance of ecotoxicity tests for the evaluation of construction products were elaborated and submitted to the CEN working group, responsible for European harmonization of leaching tests for construction products.

Danksagung

Die Autoren danken dem Team des Hydrotox-Labors, insbesondere Herr Tobias Blüm, Frau Andrea Brunswik-Titze, Frau Martina Knauer, Frau Martina Kretzschmar und Frau Petra Hönick-Brugger für die Durchführung der Ökotoxizitätstests und Teilnahme am Ringversuch sowie Dr. Helena Mathies, Dr. Nicole Bandow, Matthias Gohl, Conrad Dietschweiler und den Mitarbeiter/innen der Labore von BAM 4.1 und BAM 4.3 für die Vorbereitung der Proben, die Durchführung der Auswaschversuche und die chemischen Analysen der Eluate.

Ein besonderer Dank gilt auch den Teilnehmerinnen und Teilnehmern am Europäischen Ringversuch, insbesondere:

Frank Brauer (Umweltbundesamt), Jonas Baumann, Andre Dabrunz (Eurofins Agrosience Services GmbH), Philipp Egeler (ECT Oekotoxikologie GmbH), Ute Feiler (Bundesanstalt für Gewässerkunde), Ines Fritz (Universität für Bodenkultur Wien, IFA-Tulln, Österreich) Andrea-Maria Mannert (Lenzing AG Safety, Health and Environment, Österreich), Nicole Messerschmidt und Jan Brückmann (Institut Dr. Nowak GmbH & Co. KG), Pascal Pandard (INERIS, Frankreich), Frank Peterskeit und Gundula Cziudaj (Wessling GmbH), Gabriele Pötschke (IDUS Biologisch Analytisches Umweltlabor GmbH), Premysl (Soldan Water Research Institute of. T.G.M, Czech Republic), Dirk Scheerbaum (Dr. U. Noack-Laboratorien), Frank Schreiber und Tanja Männich (Niedersächsischer Landesbetrieb für Wasserwirtschaft, Küsten- und Naturschutz), Ralph Weyandt (SGS Institut Fresenius GmbH), Roland Weiß (Hygiene-Institut des Ruhrgebiets), Reinhilde Weltens, Hilda Witters (VITO-ABS Services, Belgien).

Der Dank gilt ebenso Outi Ilvonen vom Umweltbundesamt für die konstruktive Zusammenarbeit.

Inhaltsverzeichnis

Anhangsverzeichnis.....	7
Abbildungsverzeichnis.....	7
Tabellenverzeichnis	7
Abkürzungsverzeichnis.....	8
1. Einführung und Aufgabenstellung.....	28
2. Screening-Untersuchungen Bauprodukte.....	30
2.1. Vorgehen zur Auswahl der Bauprodukte	30
2.2. Ausgewählte Bauprodukte und Vorbereitung der Proben.....	32
2.3. Auslaugprüfungen.....	34
2.3.1. Auswahl der Testmethoden.....	34
2.3.2. Horizontale dynamische Oberflächenauslaugprüfung.....	36
2.3.3. Einstufiges Schüttelverfahren.....	39
2.4. Chemische Analysen Standardparameter.....	39
2.5. Identifizierung von Stoffen mittels (GC/MS).....	41
2.6. Ökotoxizitätstests	42
2.6.1. Algentest ISO 8692 (2012).....	43
2.6.2. Daphnientest DIN EN ISO 6341 (2013).....	44
2.6.3. Leuchtbakterientest DIN EN ISO 11348-2 (2009).....	45
2.6.4. Fischeitertest DIN EN ISO 15088 (2009).....	45
2.6.5. umu-Test ISO 13829 (2000).....	46
2.7. Biologische Abbaubarkeit im Respirometertest OECD 301 F.....	47
3. Ergebnisse Screening-Untersuchung.....	48
3.1. Auslaugprüfungen.....	48
3.2. Ökotoxizitätstests und Auswahl der Bauprodukte	53
3.3. Abbautests	56
4. Wiederholungsprüfungen.....	56
4.1. Anlass.....	56
4.2. Ergebnisse der Wiederholungsprüfungen	57
5. Ergebnisse des Ringversuches.....	58
6. Empfehlungen zur ökotoxikologischen Bewertung von Bauprodukten	63
7. Quellenangaben.....	68
8. Anhang.....	70
1. Testteilnehmer und durchgeführte Biotests.....	126
2. Methoden für statistische Auswertungen.....	127

2.1.	Ökotoxikologische Endpunkte.....	127
2.2.	Lage und Streuungsmaße.....	128
2.3.	Ringteststatistik nach DIN ISO 5725-2	129
2.4.	Ausreißeranalyse.....	129
2.5.	Z-scores.....	130
3.	Datenbasis	131
3.1.	Randbedingungen	131
3.2.	Validitätskriterien.....	132
3.3.	Ausreißeranalyse.....	133
4.	Ergebnisse.....	134
5.	Zusammenfassung.....	150

Anhangsverzeichnis

Anhang 1:	Prüfkörper der untersuchten Bauprodukte
Anhang 2:	Screening-Untersuchung der Eluate
Anhang 3:	Screening-Untersuchung Ökotoxizitätstests
Anhang 4:	Abbaubarkeit im Respirometertest nach OECD 301 F
Anhang 5:	GC/MS Screening der BAM-Produkte
Anhang 6:	Prüfplan Europäischer Ringversuch (17.09.2015)
Anhang 7:	Ergebnisbericht der statistischen Auswertung

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Auswahl der Bauprodukte und Untersuchungsreihen.....	33
Abbildung 2:	Eingesetzte Auslaugprüfungen: DSLT und Schüttelverfahren	36
Abbildung 3:	Einflussfaktoren Gesamtvariabilität der Versuchsergebnisse.....	66

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Bauprodukte-Kategorien und deren Produktnormen	31
Tabelle 2:	Elutionsbedingungen im DSL-Test	38
Tabelle 3:	Vergleichsmessungen Summenparameter	49
Tabelle 4:	Qualitative GC/MS Analytik in Eluaten des DSL-Tests.....	52
Tabelle 5:	GC/MS Analytik in Eluaten des einstufigen Schüttelverfahrens.....	53

Tabelle 6:	Ökotoxizität der Eluate.....	55
Tabelle 7:	Vergleichsmessungen chemische Parameter bei Hydrotox.....	57
Tabelle 8:	Vergleichsmessungen Ökotoxizitätstests.....	57
Tabelle 9:	Ringversuchsergebnisse chemische Parameter.....	60
Tabelle 10:	Ringversuchsergebnisse Biotests BAM-G1	61
Tabelle 11:	Ringversuchsergebnisse Biotests HSR-2	62

Abkürzungsverzeichnis

AQS	Analytische Qualitätssicherung
BAM	Bundesanstalt für Materialforschung und –prüfung
CEN	Comité Européen de Normalisation
CSB	Chemischer Sauerstoffbedarf
DSLTL	Dynamic Surface Leaching Test
DIBt	Deutsches Institut für Bautechnik
EC ₅₀	Effektive Konzentration, die eine 50% Wirkung zeigt
EOTA	European Organisation for Technical Assessment (früher: European Organisation for Technical Approvals)
EPDM	Ethylen-Propylen-Dien Monomer
EVA	Ethylen-Vinyl-Acetat-Terpolymer
GHS	Globally Harmonized System of Classification, Labelling and Packaging of Chemicals.
G-Stufe	Verdünnungsstufe bzw. Verdünnungsfaktor in Konzentrationsreihe der Wasserprobe, im Englischen als D (dilution level) bezeichnet.
GFS	Geringfügigkeitsschwellen
HSR	Hochschule für Technik Rapperswil, Schweiz
LID	Lowest Ineffective Dilution (mit Index A für Algen, D für Daphnien, lb für Leuchtbakterien, Egg für Fischeier und EU für umu), im Deutschen als G-Wert (G _A , G _D , G _L , G _{Ei} und G _{EU} für Algen, Daphnien, Leuchtbakterien, Fischeier und den umu-Test bezeichnet.
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development
PUR	Polyurethan
TPES	Thermoplastische Elastomere (Styrol-Blockcopolymer)
TOC	Total Organic Carbon
TPO	Thermoplastische Olefine
V/A	Verhältnis des Wasservolumens zur Probenfläche (Volume / Area), im Deutschen auch als W/F (Wasser/Fläche) bezeichnet.

V/S	Verhältnisse des Wasservolumens zum Probengewicht (Volume / Solid), im Deutschen auch als W/F (Wasser/ Feststoff) bezeichnet.
-----	---

Zusammenfassung

Die Europäische Bauprodukteverordnung (EU) Nr. 305/2011 ermöglicht den Mitgliedstaaten Vorschriften zur Bewertung der Umweltauswirkungen ihrer Bauwerke zu erlassen. Aktuell laufen im CEN/TC 351 WG1 entsprechende Normungsarbeiten zur Bestimmung der Freisetzung gefährlicher Stoffe aus Bauprodukten. Ziel ist eine Harmonisierung von Prüfmethoden zur Umsetzung der Umweltanforderungen an Bauwerke für Bauprodukte. In Deutschland waren die Vorschriften bisher in den „Grundsätzen zur Bewertung der Auswirkungen von Bauprodukten auf Boden und Grundwasser“ des Deutschen Instituts für Bautechnik (DIBt) enthalten. Für Produkte, deren Eluate so komplex zusammengesetzt sind, dass das Gefährdungspotential nur mit erheblichem analytischen Aufwand festzustellen ist und für die keine zuverlässige Bewertung ökotoxischer Wirkungen anhand von Daten für Einzelstoffe möglich ist, sieht das Bewertungskonzept vor, die Eluate direkt in Biotests auf ökotoxikologische Wirkungen zu untersuchen.

Ziel des Projektes war es, Empfehlungen für eine Testbatterie zur ökotoxikologischen Bewertung der Umweltverträglichkeit von Bauprodukten für die Außenanwendung zu erarbeiten und diese in den Europäischen Normungsprozess einzubringen.

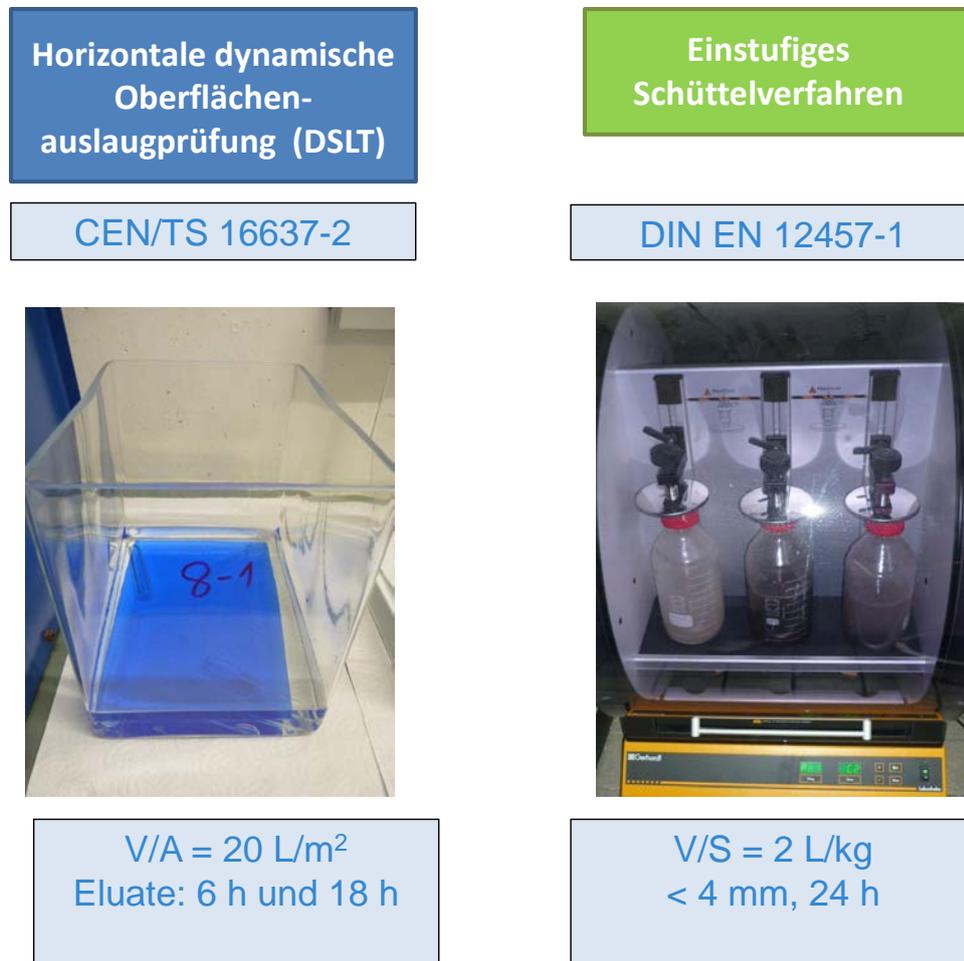
1. Screening-Untersuchungen von Bauprodukten

Insgesamt 39 repräsentative Bauprodukte wurden anhand von Branchenkenntnissen ausgewählt und orientierenden Elutionsversuchen unterzogen. Im Fokus standen vor allem Bauprodukte, die mobilisierbare organische Stoffe enthalten. Von diesen wurden 20 Produkte in das ökotoxikologische Untersuchungsprogramm einbezogen und hierzu nochmals eluiert. Die Produkte sind verschiedenen Kategorien zuzuordnen:

PUR-Schaum (BAM-1), Wood-Plastic-Composite (BAM-11), Dichtmassen (BAM-2, BAM-4, BAM-13, BAM-22, HSR-3), Kunststoff- und Bitumenbahnen (HSR-2, HSR-6, HSR-7), Sportboden (BAM-14), EPDM- und TPES-Granulate als Unterboden für Sportplätze (BAM-G1, BAM-G2), Geotextil bzw. Vlies (HSR-10, HSR-12) sowie verschiedene Werkstoffe aus Kunststoffen (Kanalrohr BAM-5, Fallrohr BAM-6, Acrylglas BAM-8, PVC-Platte BAM-10, PC-Hohlkammerplatte BAM-12). Reaktive Bauprodukte wurden nach Herstellerangaben hinsichtlich der Herstellung, Mischung, Trockenzeit etc. z.B. auf Glasplatten aufgetragen.

Die Bauprodukte wurden mit Elutionsverfahren getestet, die u.a. vom CEN/TC 351 erarbeitet und an die Erfordernisse der Ökotoxizitätstests angepasst wurden (vgl. Abbildung 1):

Abbildung 1: Eingesetzte Auslaugprüfungen: DSLT und Schüttelverfahren.



Insgesamt 17 monolithische und flächige Bauprodukte wurden in der „Horizontalen dynamischen Oberflächenauslaugprüfung“ nach CEN/TS 16637-2 mit deionisiertem Wasser eluiert (DSL-Test). Das Volumen /Oberflächenverhältnis wurde auf 20 L/m^2 festgelegt. Verwendet wurde die Mischung der ersten zwei Auswaschetappen nach 6 und weiteren 18 Stunden.

Drei granulare Produkte wurden im Schüttelverfahren nach DIN EN 12457 Teil 1 eluiert, das ursprünglich für Abfälle entwickelt wurde. Hierbei wird die Probe mit einem Wasser/Feststoff-Verhältnis von 2 L/kg über 24 h in einem Überkopfschüttler eluiert. In der technischen Spezifikation CEN/TS 16637-1 der CEN/TC 351 wird der Schütteltest als „indirektes Verfahren“ erwähnt.

Die Eluate wurden einer chemischen Basisanalytik (TOC, Leitfähigkeit, pH-Wert, Kationen und Anionen) unterzogen. In den Eluaten der BAM wurden Anionen sowie Kationen mittels

Ionenchromatographie quantifiziert. Zudem wurden GC-gängige Stoffe qualitativ mittels Gaschromatographie in Kopplung mit Massenspektrometrie (GC/MS) identifiziert. Dazu wurden die Eluate im organischen Lösungsmittel eingengt, gaschromatographisch aufgetrennt und am Massenspektrometer detektiert.

Gemäß den DIBt-Grundsätzen wurden vier aquatische Tests (Algen, Daphnien, Leuchtbakterien, Fischeier), ein Gentoxizitätstest (umu-Test) sowie ein Test zur leichten biologischen Abbaubarkeit (OECD 301 F) eingesetzt. Terrestrische Tests waren in diesem Projekt nicht vorgesehen. Die Ökotoxizitätsergebnisse wurden als G-Stufe (Lowest Ineffective Dilution, LID) angegeben.

Vier Eluate (BAM-14, BAM-G1, HSR-2, HSR-3) wiesen in mehreren Tests eine sehr hohe Ökotoxizität aus. Im Leuchtbakterientest wurden Verdünnungsstufen bis LID_{lb} 1536, im Algentest von bis zu LID_A 512 bestimmt. Demgegenüber war die Daphnientoxizität mit wenigen Ausnahmen (bis LID_D 192) und die Fischeitoxizität (bis LID_{Egg} 12) deutlich geringer. Keine der untersuchten Proben war im umu-Test gentoxisch. Die Reproduzierbarkeit der Testergebnisse mit den Eluaten war bei den meisten Proben gut (± 1 Verdünnungsstufe). In den drei mitgeführten Kontrollansätzen im DSL-Test und Schütteltest wurden keine bzw. unwesentliche Toxizitäten bestimmt. Dies belegt, dass die für die Elution eingesetzten Materialien keine Effekte induzieren, die fälschlicherweise den Bauprodukten zugeordnet werden könnten. Die Mitführung von Kontrollansätzen wird empfohlen.

Eluate, deren TOC über etwa 10 mg/L lag, wurden im Respirometertest nach OECD 301 F hinsichtlich ihrer biologischen Abbaubarkeit untersucht. Der CSB wurde auf 50-100 mg/L eingestellt. Die Proben zeigten überwiegend einen guten Abbau von 75% bis 97% (BAM-2, BAM-4, BAM-11, BAM-22, BAM-G1, HSR-12). Das Eluat von BAM-G2 erreichte hingegen lediglich einen Abbau von 44%, das Eluat von HSR-3 einen Abbau von 46%.

Um die endgültige Auswahl der Bauprodukte für den Ringversuch abzusichern, wurden 5 Bauprodukte nochmals im DSL-Test bzw. Schütteltest eluiert sowie anschließend in den Ökotoxizitätstests untersucht. Hiermit sollte auch die Reproduzierbarkeit und Robustheit der Ergebnisse in einem Labor überprüft werden. Es zeigt sich, dass der TOC um einen Faktor 1,5 - 3 schwanken kann. Hierbei fallen insbesondere die aushärtenden Bauprodukte HSR-3 (Faktor 2,6) und BAM-22 (Faktor 1,7) auf. In den Ökotoxizitätstests lagen die Ergebnisse im erwarteten Bereich. Die Abweichung der LID in beiden Untersuchungsserien beträgt meist ± 2 Verdünnungsstufen. Dies gilt als akzeptabel, da sich die Variabilität aus Probenherstellung, Auswaschtest und Biotests aufaddieren.

2. Durchführung eines Europäischen Ringversuches

Es wurde ein Europäischer Ringversuch konzeptionell vorbereitet, durchgeführt und in Anlehnung an DIN ISO 5725-2 ausgewertet. Ziel war es, die laborübergreifende Streuung des Gesamtverfahrens der ökotoxikologischen Charakterisierung von Bauprodukten bei Eluaten und Biotests zu bestimmen. Hierzu wurden die beiden Bauprodukte BAM-G1 (Granulat) und HSR-2 (Dachabdichtungsbahn) ausgewählt. Beide bestehen aus EPDM Polymeren (Kautschuk). Das körnige Bauprodukt wurde im Schüttelverfahren eluiert, das flächige Bauprodukt im DSL-Test. Die Randbedingungen für die Herstellung der Eluate, die Probenvorbereitung und die Durchführung der Biotests wurden in einem detaillierten Prüfplan beschrieben. Den Teilnehmern wurden Vorlagen sowie Demonstrationsvideos zu den Leachingtests zur Verfügung gestellt. Insgesamt beteiligten sich 17 Labore aus 5 Ländern an dem Ringtest: Deutschland (12), Österreich (2), Belgien (1), Tschechien (1) und Frankreich (1). Mit einer Ausnahme führte jedes Labor jeweils einen Elutionsprozess für die Prüfkörper BAM-G1 und HSR-2 durch. Die Eluate wurden in vier Biotests untersucht: dem Algentest nach ISO 8692:2012, dem Daphnientest nach ISO 6341:2012, dem Leuchtbakterientest nach DIN EN ISO 11348 Teil 1-3 (2009) und dem Fischeitest nach ISO 15088:2007.

Die Auswertung erfolgte zentral mittels den Softwarepaketen MS-Excel, ProLab Standard und ToxRat Professional in Anlehnung an DIN ISO 5725-2. Als Maß für die Präzision der Versuchsergebnisse wird die laborübergreifende Streuung angegeben. Da die Ringtestteilnehmer den Versuch nur je einmal durchgeführt haben, konnte die laborinterne Wiederholstandardabweichung (Wiederholbarkeit, repeatability) nicht berechnet werden. Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse bezieht sich auf die laborübergreifende Streuung als Untergrenze der zu erwartenden Reproduzierbarkeit der geprüften Verfahren.

In den Elutionstests zeigte sich eine akzeptable Streuung der elektrischen Leitfähigkeit und des TOC. In einem ersten Schritt der Biotestauswertung wurde die Validität der Testergebnisse anhand der in den Testrichtlinien vorgegebenen Kriterien überprüft (je nach Test Kontrollmortalität, EC₅₀ Referenzsubstanz, Sauerstoffgehalt, Variabilität bestimmter Kennwerte, Kontroll-Wachstumsrate, pH-Änderung). Anschließend wurden für jeden Biotest drei verschiedene Verfahren zur Ausreißeranalyse angewendet. Testergebnisse, die mit mindestens zwei Verfahren als Ausreißer (99% Signifikanzniveau) eingestuft wurden oder zweimal als Fastausreißer (95% Signifikanzniveau) und einmal als Ausreißer, wurden von weiteren Aus-

wertungen ausgeschlossen. Die Zusammenfassung der Ergebnisse ist in den Tabellen 1 und 2 wiedergegeben.

Tabelle 1: Ringversuchsergebnisse Biotests BAM-G1

BAM-G1								
	EC50				LID			
	Daphnia	Algae	Bacteria	Fish	Daphnia	Algae	Bacteria	Fish
n (insgesamt)	17	12	14	12	17	12	14	12
Invalide Tests	0	4	1	0	0	4	1	0
Ausreißer	0	0	1	1	0	0	1	1
Keine ECx/LID erreicht	1	0	1	0	2	2	2	0
n (final)	16	8	11	11	15	6	10	11
Erwartungswert	0,78	2,39	1,07	24,56	552,2	196,9	995,0	10,86
Geometr. Mittel	0,52	1,61	0,76	19,64	396	152,4	804,0	8,66
95% CI	0,34 - 0,81	0,87 - 2,98	0,46 - 1,23	13,23 - 29,16	262 - 598	85,9 - 270	536 - 1204	5,82 - 12,89
95% PI	0,09 - 3,02	0,28 - 9,23	0,15 - 3,85	5,30 - 72,83	80 - 1961	37,5 - 620	223 - 2891	2,32 - 32,40
99% PI	0,05 - 5,21	0,16 - 15,91	0,09 - 6,39	3,52 - 109,5	49 - 3227	24,2 - 959	150 - 4305	1,54 - 48,84
s _R	0,86	2,64	1,06	18,44	537,8	161,1	725,4	8,22
CV _R %	110,5	110,2	99,7	75,1	97,4	81,8	72,9	75,7

n=Anzahl, CI = Vertrauensbereich („confidence interval“); PI= Toleranzbereich („Prediction Interval“); s_R = Vergleichsstandardabweichung = reproducibility“, CV% = Variationskoeffizient in %.

Tabelle 2: Ringversuchsergebnisse Biotests HSR-2

HSR-2								
	EC50				LID			
	Daphnia	Algae	Bacteria	Fish	Daphnia	Algae	Bacteria	Fish
n (insgesamt)	17	12	14	12	17	12	14	12
Invalide Tests	0	5	1	0	0	5	1	0
Ausreißer	1	0	0	0	1	0	0	0
Keine ECx/LID ableitbar	2	2	1	0	3	0	1	0
n (final)	14	5	12	12	13	7	12	12
Erwartungswert	65,08	45,55	15,86	n.d.	2,39	8,31	59,46	1,25
Geometr. Mittel	64,80	42,81	12,70	n.d.	2,34	5,56	47,73	1,2
95% CI	61,7 - 68,0	31,4 - 58,3	8,7 - 18,5	n.d.	2,09 - 2,61	2,6 - 12,2	32,8 - 69,5	1,0 - 1,4
95% PI	54,0 - 77,8	21,5 - 85,4	3,4 - 46,9	n.d.	1,56 - 3,50	1,0 - 32,0	13,0 - 175	0,6 - 2,2
99% PI	51,0 - 82,3	17,3 - 105,9	2,3 - 70,5	n.d.	1,38 - 3,96	0,6 - 55,2	8,7 - 262	0,5 - 2,7
s _R	6,1	16,57	11,87	n.d.	0,50	9,14	44,15	0,4
CV _R %	9,3	36,4	74,8	n.d.	20,7	110,3	74,3	32,1

n=Anzahl, CI = Vertrauensbereich („confidence interval“); PI= Toleranzbereich („Prediction Interval“);
sR = Vergleichsstandardabweichung = reproducibility“, CV% = Variationskoeffizient in %.

Nach Ausschluss der nicht validen bzw. als Ausreißer identifizierten Biotests sowie derjenigen Tests ohne auswertbare Dosis-Wirkungsbeziehung basieren die statistischen Auswertungen des vorliegenden Ringtests auf 5 bis 8 Algentests sowie jeweils 10-16 Daphnientests, Leuchtbakterientests und Fischeitests. Mit Ausnahme des Algentests mit HSR-2-Eluat sind alle Ergebnisse statistisch aussagekräftig.

Als Toxizitätsmaße wurden LID- und EC₅₀-Werte bestimmt. Das Eluat von Prüfkörper BAM-G1 ergab generell deutlich niedrigere EC₅₀-Werte als das von Prüfkörper HSR-2, d.h. es war erheblich toxischer. Allerdings sind die Elutionsbedingungen nicht vergleichbar, so dass kein Ranking der Bauprodukte vorgenommen wurde. Leuchtbakterien-, Algen- und Daphnien waren grundsätzlich in der Lage, eine toxische Wirkung und die Höhe der Toxizität anzuzeigen. Der Fischeitest erwies sich als deutlich unempfindlicher als die übrigen Tests und zeigte mit HSR-2-Eluat gar keine Effekte. Die übrigen Biotests waren je nach Eluat wie folgt unterschiedlich sensitiv:

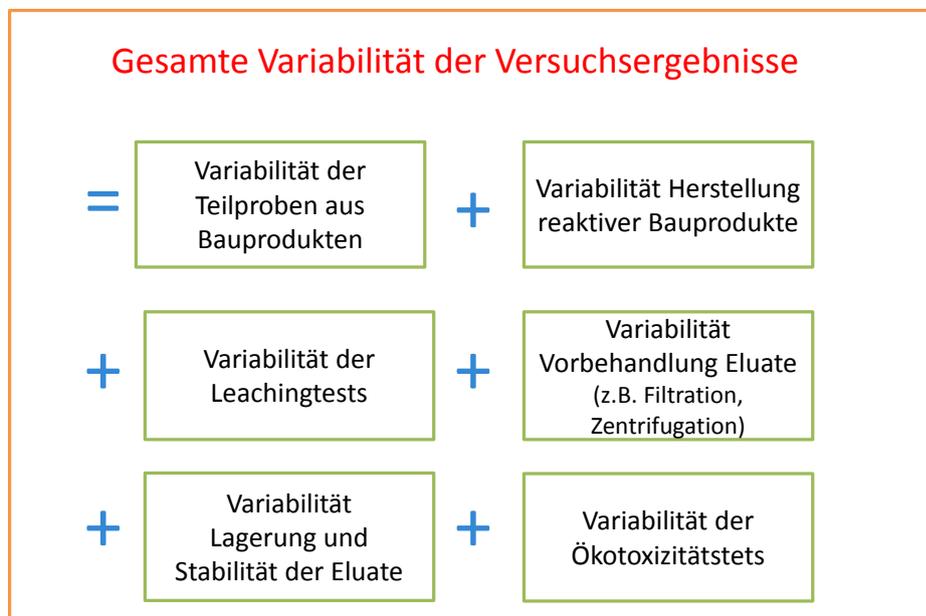
- BAM-G1-Eluat, Sensitivität: Daphnientest > Leuchtbakterientest > Algentest > Fischeitest;
- HSR-2-Eluat, Sensitivität: Leuchtbakterientest > Algentest > Daphnientest > Fischeitest.

Mit wenigen Ausnahmen wurde in den parallel über den gesamten Ablauf mitgeführten Blindwertkontrollen in der Verdünnungsstufe 2 keine Toxizität gefunden. Somit wurden in den verschiedenen Versuchsabschnitten, von der Elution über Lagerung und Eluatvorbehandlung bis zur Durchführung der Ökotoxizitätstests, keine signifikanten Kontaminationen über das Elutionswasser und die Gerätschaften eingetragen.

Sowohl in ihrer absoluten Höhe als auch in der Reihenfolge der Empfindlichkeit der Testorganismen unterschieden sich die beiden geprüften Bauprodukte deutlich, so dass der Gesamtprozess aus Elutionsverfahren und mehreren Ökotoxtests (Testbatterie) als grundsätzlich geeignet bewertet werden kann, eine ökotoxikologische Charakterisierung der Bauprodukte mit akzeptabler Variabilität vorzunehmen. Die im vorliegenden Ringtest bestimmten Variationskoeffizienten von bis zu 110% für EC₅₀-Werte erscheinen plausibel, da EC₅₀-Werte kein einzelnes Messergebnis darstellen, sondern durch Regression basierend auf mehreren Messergebnissen aus einer Verdünnungsreihe abgeleitet werden und ihrerseits mit einer mehr oder weniger großen Unsicherheit behaftet sind (95% Vertrauensbereich). Außerdem integrieren die EC₅₀- und G-Werte (=Endpunkte der jeweiligen Biotests) im vorliegenden Ringtest

über die Variabilität aus dem gesamten komplexen Verfahrensablauf von Elutionsprozess über Probenlagerung bis hin zur eigentlichen Biotestdurchführung, was naturgemäß die Variabilität erhöht (vgl. Abbildung 2).

Abbildung 2: Einflussfaktoren Gesamtvariabilität der Versuchsergebnisse



3. Empfehlungen zur ökotoxikologischen Bewertung von Bauprodukten

Auf Grundlage der Erfahrungen bei der Produktprüfung und der Ringversuchsergebnisse wurden Zuarbeiten zu der technischen Leitlinie zur ökotoxikologischen Bewertung von Bauprodukten geleistet und bei CEN/TC 351 „Bewertung der Freisetzung gefährlicher Stoffe aus Bauprodukten“ eingereicht. Als Vorbild diente die im CEN/TC 292 „Charakterisierung von Abfällen“ erarbeitete Leitlinie CEN/TR 16110:2010 / DIN SPEC 19790:2011-03: „Charakterisierung von Abfällen - Anleitung zur Anwendung von Ökotoxizitätsprüfungen auf Abfälle“. Hierzu wurden die Projektergebnisse auf mehreren Workshops in Berlin und Brüssel vorgestellt. Im Oktober 2014 wurde unter CEN/TC 351 eine Ad-hoc Arbeitsgruppe „Ökotoxikologische Bewertung und Bioabbaubarkeit von Bauprodukten“ eingerichtet und im Oktober 2015 als Arbeitsthema formell aufgenommen. Ziel ist die Erarbeitung eines technischen Berichts bis Ende 2016. Im Rahmen des Projektes fand auch ein Austausch mit der DIBt-Arbeitsgruppe „Prüfverfahren zur Umweltbewertung“ statt, in der auch die ökotoxikologische Bewertung von Bauprodukten nach dem DIBt-Konzept abgestimmt wird.

Zusammenfassend ist die direkte Testung von Bauprodukteluatens ein vielversprechender Ansatz, um die Freisetzung gefährlicher Stoffe aus Bauprodukten in die Umwelt zu erfassen.

Hierbei wird die kombinierte Wirkung aller auslaugbaren Substanzen und Transformationsprodukte summarisch über deren Effekte in Biotests beschrieben. Der Schwerpunkt liegt auf Bauprodukten, deren Inhaltsstoffe über analytische Methoden, wenn überhaupt, nur mit sehr hohem Aufwand zu erfassen sind. Mittels der ökotoxikologischen Charakterisierung kann auch eine Priorisierung von Bauprodukten für eine umfassende Bewertung (einschließlich chemischer Analytik) erfolgen. Die Ökotoxtestung ist daher ein komplementäres Instrument zur chemischen Analytik, das für bestimmte Produktgruppen auch in Kombination zu dieser sinnvoll eingesetzt werden kann.

Schnittkanten von Prüfkörpern, die bei der üblichen Anwendung nicht mit Wasser in Kontakt kommen, sind vor der Durchführung von Elutionstests mit einem toxikologisch unbedenklichen Material zu versiegeln.

Die Festlegung, die ersten beiden Fraktionen des DSL-Tests für ökotoxikologische Tests zu verwenden, hat zur Folge, dass Substanzen von der Oberfläche der Prüfkörper abgewaschen werden können, und damit relativ hohe Freisetzungsraten auftreten. Erst später wird bei vielen Bauprodukten der Auswaschprozess durch Diffusion der Substanzen zur Materialoberfläche bestimmt, und die Auswaschraten nehmen mit der Zeit ab. Bei einigen Produkten kann es bei den im DSLT vorgesehenen sehr langen Kontaktzeiten in den letzten Auswaschetappen auch zu höheren Konzentrationen kommen. Eine lange Kontaktzeit kann den Nachteil haben, dass (biologisch) abbaubare Inhaltsstoffe nicht mehr erfasst werden.

Beim einstufigen Schütteltest für körnige Bauprodukte ist der Wasserkontakt weitaus intensiver als beim DSLT. Vergleichbare Tests mit einem Wasser/Feststoffverhältnis von 10 L/kg sind ebenfalls weit verbreitet und einsetzbar. Der Schütteltest ist ein praktikables, einfaches Verfahren und bei einem geringen Wasser/Feststoffverhältnis sind relativ hohe Stoffkonzentrationen im Eluat zu erwarten. Durch Festlegung auf ein konkretes Verhältnis vom Wasservolumen zur Fläche (DSL) bzw. zum Gewicht (Schütteltest) kann die Vergleichbarkeit von Ergebnissen verbessert werden. Die Festlegung der zu untersuchenden Fraktionen hängt von der Fragestellung ab.

Der im Projekt gewählte Ansatz sieht eine Kombination von Elutionstests für Bauprodukte mit einer Biotestbatterie aus Vertretern verschiedener Trophieebenen (Algen als Primärproduzenten, Daphnien als Primärkonsumenten, Fischeier als Sekundärkonsumenten und Bakterien als Destruenten) vor. Die Untersuchungen ergaben deutlich abweichende Muster unterschiedlicher Ökotoxizitäten der Bauprodukteluate in den verschiedenen Biotests. Grundsätzlich lassen sich die verschiedenen biologischen Wirkungen nur über eine Testbatterie und nicht über

einen einzelnen Organismus abbilden. Die eingesetzten Tests sind aus Praktikabilitätsgründen den Kurzeittests (akute Toxizität) zuzuordnen. Die Prüfung der chronischen Toxizität wäre mit einem weit höheren Aufwand verbunden. Es wird empfohlen, ausschließlich standardisierte und validierte Testverfahren (DIN EN ISO-Normen oder OECD Guidelines) einzusetzen.

Die (nur im Labor Hydrotox ermittelte) laborinterne Variabilität der Ökotoxizitätstests lag üblicherweise im Bereich ± 1 Verdünnungsstufen (Annahme Faktor 2 in der Konzentration). In den Wiederholungsprüfungen der Screeningtests mit 20 Bauprodukten wurde sowohl bei den chemischen Summenparametern (TOC, Leitfähigkeit) als auch bei den Ökotoxizitätstests eine akzeptable Reproduzierbarkeit in diesem Bereich festgestellt. Ausnahmen betreffen Abdichtmassen bzw. reaktive oder aushärtende Bauprodukte. Die im europäischen Ringversuch ermittelte laborübergreifende Reproduzierbarkeit lag üblicherweise im Bereich ± 2 Verdünnungsstufen (Annahme Faktor 4 in der Konzentration). Die Variabilität nahm hierbei mit Zunahme der Toxizität zu. Angesichts des komplexen Zusammenspiels zahlreicher Faktoren ist diese Variabilität, die durchaus zu Variationskoeffizienten von $> 100\%$ führt, akzeptabel.

Summary

The European Construction Products Regulation (EU) no. 305/2011 allows Member-States to implement rules for evaluating the environmental impact of their buildings. Currently, under CEN/TC 351 WG1 corresponding standardization work for the determination of the release of dangerous substances from construction products is carried out. The aim is a harmonization of test methods applicable to construction products for the implementation of environmental requirements on construction works. In Germany, the rules were so far included in the "Principles for assessing the effects of construction products on soil and groundwater" of the German Technical Assessment Body (DIBt). For products whose eluate composition is so complex that the hazard potential can only be evaluated with a considerable analytical effort and for which no reliable assessment of ecotoxicological effects based on data for the individual substances is possible, the DIBt principles envisage direct testing of eluates in bioassays for the evaluation of ecotoxicological effects.

The aim of the project was to develop recommendations for a test battery for the ecotoxicological assessment of the environmental impact of construction products for outdoor use and to submit them in the European standardization process.

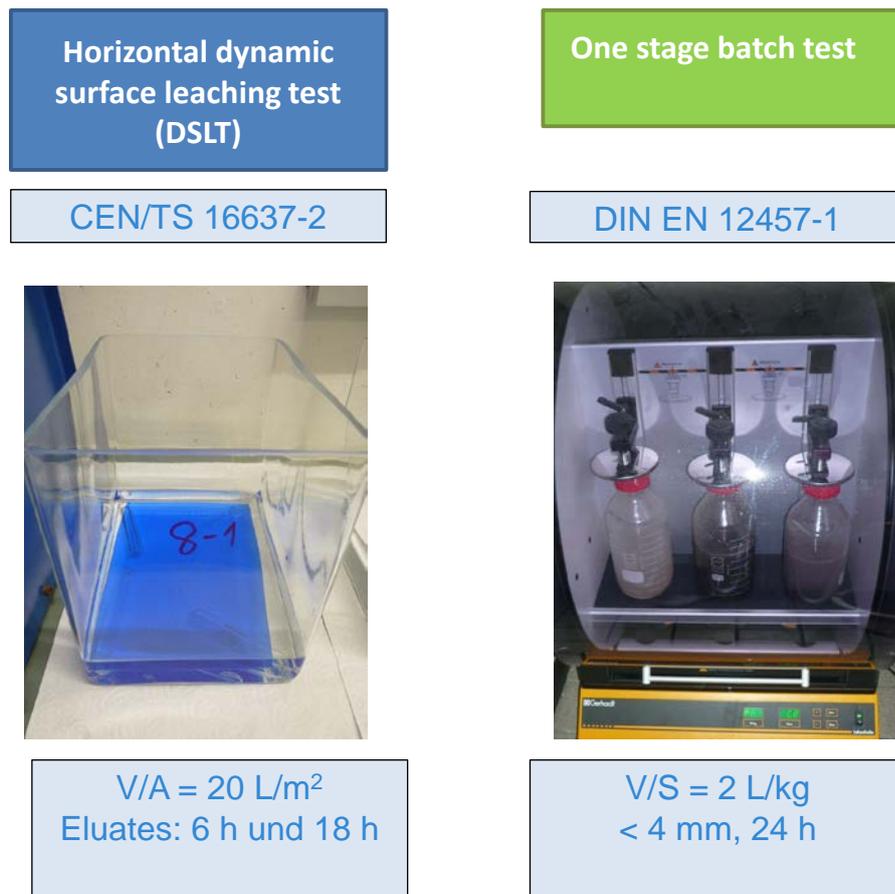
1. Screening investigation of construction products

In total 39 representative construction products were selected based on sector specific expertise, and preliminary elution tests were performed. The focus was mainly on construction products containing leachable organic substances. Of these, 20 products were included in the ecotoxicological testing program and for this eluted again. The products belong to different categories:

PUR-foam (BAM-1), wood-plastic-composite (BAM-11), sealing masses (BAM-2, BAM-4, BAM-13, BAM-22, HSR-3), plastic and und bitumen sheets (HSR-2, HSR-6, HSR-7), sport floor (BAM-14), EPDM- and TPES-granulates as subfloor for sport fields (BAM-G1, BAM-G2), geo textiles resp. mat of fibres (HSR-10, HSR-12) as well as different construction materials made of plastics (sewer pipe BAM-5, rainwater down pipe BAM-6, acryl glass BAM-8, PVC-plate BAM-10, PC-twin-wall-sheet BAM-12). Reactive construction products were applied e.g. to glass plates according to the manufacturer instructions in terms of preparation, mixing, drying time, etc.

The construction products were tested with leaching methods developed e.g. by the CEN/TC 351 working group and were adapted to the requirements of ecotoxicity testing (see figure 1):

Figure 1: Leaching tests applied: DSL-test and one stage batch test



In total 17 monolithic and planar construction products were eluted with deionized water in the Dynamic Surface Leaching test (DSL) according to CEN/TS 16637-2. The volume/surface area ratio was set at 20 L/m² while using the mixture of the first two leaching steps after 6 and 18 additional hours.

Three granular construction products were eluted in the one stage batch test according to ISO 12457 Part 1, which was originally developed for waste samples. Here, the sample is eluted in an overhead shaker with a water/solid ratio of 2 L/kg over 24 h. In the technical specification CEN/TS 16637-1 of CEN/TC 351/WG the test is mentioned as "indirect method".

The eluates were subjected to a chemical-based analysis (TOC, conductivity, pH, cations and anions). In the BAM eluates anions and cations were quantified by ion chromatography. In addition, GC-passing substances were qualitatively identified by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC/MS). For this purpose, the eluates were concentrated in the organic solvent, separated by gas chromatography and detected at the mass spectrometer.

According to DIBt principles four aquatic tests (algae, daphnia, luminous bacteria, fish eggs), one genotoxicity test (umu test) and a test for ready biodegradability (OECD 301 F) were

used. Terrestrial tests were not considered in this project. The results of ecotoxicity tests were indicated as LID (Lowest Ineffective Dilution).

Four eluates (BAM-14 BAM-G1, HSR 2, HSR-3) demonstrated very high ecotoxicity in several tests. In the luminescent bacteria test up to $LID_{lb} = 1536$, in the algae test up to $LID_A = 192$ were observed. In contrast, the Daphnia test and fish egg test, with few exceptions (up to $LID_D = 192$ and $LID_{Egg} = 8$) were significantly lower. None of the samples tested was genotoxic in the umu test. The reproducibility of the test results obtained with the eluates was in most samples well (± 1 dilution step). In the three control trials in the DSL test and one stage batch test little or no toxicity was observed. This confirms that the materials used for the leaching tests do not induce any effects that could wrongly be attributed to the construction products. The consideration of blank controls is recommended.

Eluates whose TOC was above ca. 10 mg / L were examined in the respirometer test according to OECD 301 F in terms of their biodegradability. The COD was adjusted to 50-100 mg/L. The samples showed mainly a good biodegradability of 75% to 97% (BAM 2, BAM 4 BAM 11 BAM 22 BAM-G1, HSR-12). In contrast, the eluate of BAM-G2 only reached a biodegradation of 44%, the eluate of HSR-3 a biodegradation of 46%.

To confirm the final selection of the construction products for the round robin test, 5 construction products were again eluted in the DSL test or one stage batch test and were then examined in the ecotoxicity tests. Hereby, also the reproducibility and robustness of the results obtained in one laboratory should be verified.

It was demonstrated that the TOC can vary by a factor of 1.5 – 3. In particular, the hardening construction products HSR-3 (factor 2.6) and BAM-22 (factor 1.7) were outstanding. The test results of the ecotoxicity tests were within the expected range. The deviation of the LID in both testing series is usually ± 2 dilution steps. This is considered acceptable, because the variability of sample preparation, washout, and bioassays add up.

2. Realisation of an European round robin test

A European round robin test conforming to DIN ISO 5725 was conceptually prepared, realised, and evaluated. The aim was to determine the inter-laboratory variability of the overall process for the ecotoxicological characterization of construction products in eluates and bioassays. To this end, two construction products BAM-G1 (granulate) and HSR-2 (roof sealing sheet) were selected. Both are made of EPDM polymers (rubber). The granular construction

product was eluted in the one stage batch test, the planar product in the DSL test. The boundary conditions for the preparation of the eluates, the sample pre-treatment and the implementation of bioassays were described in a detailed test plan. Participants were provided with templates and demonstration videos concerning the leaching tests. A total of 17 laboratories from 5 countries participated in the round robin test: Germany (12), Austria (2), Belgium (1), Czech Republic (1) and France (1). With one exception, each laboratory performed one elution process for the specimens BAM-G1 and HSR-2. The eluates were examined in four bioassays: the algae test according to ISO 8692: 2012, the daphnia test according to ISO 6341: 2012, the luminescent bacteria test according to DIN EN ISO 11348 Part 1-3 (2009) and the fish egg test according to ISO 15088: 2007.

The evaluation was centrally realised, while using Excel, ProLab standard, and the statistical software ToxRat[®] in accordance with DIN ISO 5725-2. The interlaboratory variance is indicated as measure of precision of the test results. Since the ring test participants only performed the test once, the intra-laboratory standard deviation of repeatability could not be calculated. Thus, the reproducibility of test results refers to the inter-laboratory variability as the lower limit of the expected reproducibility of the examined process.

The elution tests showed an acceptable variability of the electric conductivity and TOC. As a first step of the evaluation of bioassays, the validity of the test results was assessed according to the criteria specified in the test guidelines (depending on the test control mortality, EC₅₀ reference substance, oxygen content, variability of certain parameters, control growth rate, pH change). Then, three different methods were used for outlier analysis for each bioassay. Test results, identified as outliers in at least two methods (99% significance level) or in two methods as almost-outliers (95% significance level) and one as outliers, were excluded from further analyses. The summary of the evaluation is presented in tables 1 and 2:

Table 1: Interlaboratory test results with BAM-G1

BAM-G1								
	EC50				LID			
	Daphnia	Algae	Bacteria	Fish	Daphnia	Algae	Bacteria	Fish
n (initial)	17	12	14	12	17	12	14	12
Invalid tests	0	4	1	0	0	4	1	0
Outlier	0	0	1	1	0	0	1	1
No ECx/LID obtained	1	0	1	0	2	2	2	0
n (final)	16	8	11	11	15	6	10	11
Expected value	0,78	2,39	1,07	24,56	552,2	196,9	995,0	10,86
Geometric mean	0,52	1,61	0,76	19,64	396	152,4	804,0	8,66
95% CI	0,34 - 0,81	0,87 - 2,98	0,46 - 1,23	13,23 - 29,16	262 - 598	85,9 - 270	536 - 1204	5,82 - 12,89
95% PI	0,09 - 3,02	0,28 - 9,23	0,15 - 3,85	5,30 - 72,83	80 - 1961	37,5 - 620	223 - 2891	2,32 - 32,40
99% PI	0,05 - 5,21	0,16 - 15,91	0,09 - 6,39	3,52 - 109,5	49 - 3227	24,2 - 959	150 - 4305	1,54 - 48,84
s _R	0,86	2,64	1,06	18,44	537,8	161,1	725,4	8,22
CV _R %	110,5	110,2	99,7	75,1	97,4	81,8	72,9	75,7

n=number of tests; CI = confidence interval; PI= prediction interval = tolerance interval; s_R = standard deviation of reproducibility; CV% = coefficient of variation in %.

Table 2: Interlaboratory test results with HSR-2

HSR-2								
	EC50				LID			
	Daphnia	Algae	Bacteria	Fish	Daphnia	Algae	Bacteria	Fish
n (initial)	17	12	14	12	17	12	14	12
Invalid tests	0	5	1	0	0	5	1	0
Outlier	1	0	0	0	1	0	0	0
No ECx/LID obtained	2	2	1	0	3	0	1	0
n (final)	14	5	12	12	13	7	12	12
Expected value	65,08	45,55	15,86	n.d.	2,39	8,31	59,46	1,25
Geometric mean	64,80	42,81	12,70	n.d.	2,34	5,56	47,73	1,2
95% CI	61,7 - 68,0	31,4 - 58,3	8,7 - 18,5	n.d.	2,09 - 2,61	2,6 - 12,2	32,8 - 69,5	1,0 - 1,4
95% PI	54,0 - 77,8	21,5 - 85,4	3,4 - 46,9	n.d.	1,56 - 3,50	1,0 - 32,0	13,0 - 175	0,6 - 2,2
99% PI	51,0 - 82,3	17,3 - 105,9	2,3 - 70,5	n.d.	1,38 - 3,96	0,6 - 55,2	8,7 - 262	0,5 - 2,7
s _R	6,1	16,57	11,87	n.d.	0,50	9,14	44,15	0,4
CV _R %	9,3	36,4	74,8	n.d.	20,7	110,3	74,3	32,1

n=number of tests; CI = confidence interval; PI= prediction interval = tolerance interval; s_R = standard deviation of reproducibility; CV% = coefficient of variation in %.

After excluding non-valid bioassay resp. those identified as outliers bioassays or those without evaluable dose-response relationships the statistical evaluation of the round robin test was based 5 to 8 algae tests and 10-16 daphnia -, luminescent bacteria - and fish egg tests. With the exception of the algae test with the HSR-2 eluate all results are statistically meaningful.

The LID and EC₅₀ values were determined as measure for toxicity. The eluate of BAM- G1 generally showed significantly lower EC₅₀ values than the eluate of HSR-2, which was considerably more toxic. However, the elution conditions are not comparable. Thus, no ranking of the construction products should be carried out.

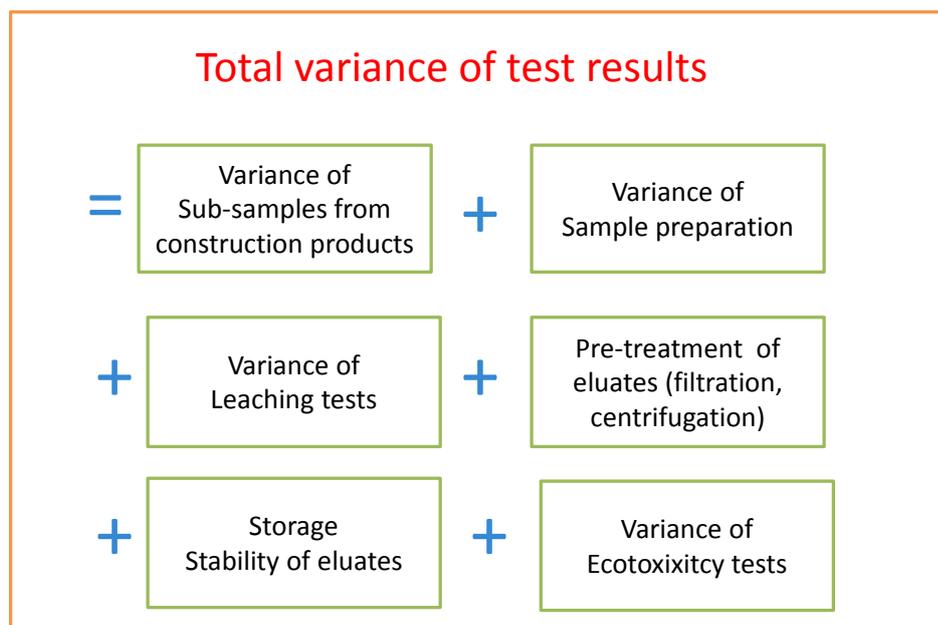
The luminescent bacteria, algae and daphnia tests were basically able to demonstrate toxic effects and the level of toxicity. The fish egg proved to be significantly less sensitive than the other tests and did not show any effects with the HSR-2 eluate. The other bioassays differed in their sensitivity depending on the eluate as follows:

- BAM-G1-eluate, sensitivity: daphnia test > luminescent bacteria test > algae test > fish egg test;
- HSR-2-eluate, sensitivity: luminescent bacteria test > algae test > daphnia test > fish egg test.

With few exceptions, no toxicity was found at a 1:2 dilution of the blank controls carried out in parallel over the entire process. Thus, no significant contamination was introduced during the different test sections from the eluent and the equipment, during storage and pre-treatment of the eluates up to the performance of the ecotoxicity tests.

Both in absolute terms and in the order of the sensitivity of the test organisms, the two tested construction products differed significantly. Thus, the entire process, consisting of elution and several ecotoxicity tests (test battery) can be considered as suitable for an ecotoxicological characterisation of construction products with acceptable variability. The coefficients of variation determined in this round robin test of up to 110% for EC₅₀ values appear as plausible as the EC₅₀ values do not represent actual measurement result, but are derived by complex statistical methods of several individual measuring variables and therefore by definition are affected to a more or less higher uncertainty (95% confidence limits). In addition, the EC₅₀ and LID-values (= end points of the respective bioassays) in this round robin test integrate the variability of the entire complex procedure from the elution process on sample storage to the performance of the actual bioassays, which naturally increases the variability (see figure 2).

Figure 2: Factors influencing the total variability of test results



3. Recommendations for the ecotoxicological evaluation of construction products

Based on the experience obtained in product testing and the interlaboratory test results contributions to the technical guideline for ecotoxicological assessment of construction products were prepared and submitted to CEN/TC 351 "Construction products: Assessment of release of dangerous substances". Here, the guideline CEN/TR 16110:2010 / DIN SPEC 19790:2011-„Characterization of waste - guidance on the use of ecotoxicity tests on wastes”, which was elaborated by CEN/TC 292 "Characterization of waste" served as a model. To this end, the project results were presented at several workshops in Berlin and Brussels. In October 2014, an ad hoc working group "Ecotoxicity assessment and biodegradability of construction products" was established under CEN/TC 351 and the work item was taken up in October 2015. The objective is the elaboration of a technical report by the end of 2016. Within the project also an exchange with the DIBt working group "test methods for environmental assessment" took place, wherein the ecotoxicological evaluation of construction products according to the DIBt concept is discussed and agreed on.

In summary, the direct testing of construction products is a very promising approach to assess the release of dangerous substances from construction products into the environment. Here, the combined effects of all leachable substances and transformation products are determined over their total effects in bioassays. The focus is on construction products whose ingredients are only detectable by analytical methods, if any, with a high effort. By means of the ecotoxi-

ecological characterization also a prioritization of construction products to be submitted for a comprehensive evaluation (including chemical analysis) can be carried out. Ecotoxicity testing is a complementary tool to chemical analysis suitable for certain product groups in combination to this.

Cut edges of specimens that do not come into contact with water in the usual application should be sealed with a toxicologically acceptable material before performing the elution test.

The agreement to use the first two fractions of the DSL test for the ecotoxicological tests leads to the consequence that substances may be washed off from the surface of the specimen, thus causing relatively high release rates. Later on, the leaching process for many construction products is determined by diffusion of substances to the material surface and the washout rate is reduced over time. For some products, the very long contact times in the last leaching phases of the DSL-test may also cause higher concentrations. A long contact time may also have the disadvantage that (bio) degradable ingredients are not gathered.

For the one stage batch tests for granular construction products the water contact is far more intense than for DSLT. Similar leaching tests with a water/solid ratio of 10 L/kg are also widely used and suitable. The shake test is a practical, simple process and at a low water/solid ratio relatively high concentrations in the leachate can be expected. By defining a specific ratio of the volume of water to the surface (DSL) or the weight (shaking test) the comparability of test results can be improved. The determination of the test fractions to be tested depends on the objective.

The approach applied in the project considers a combination of elution tests for construction products with a test battery representing different trophic levels (algae as primary producers, daphnia as primary consumers, fish eggs as secondary consumer and bacteria as decomposers). The study showed significantly differing ecotoxicity patterns of eluates from construction products in the different bioassays. Basically, the various biological effects can only be represented by a test battery and not by a single organism. For practical reasons the tests used can be allocated to short-term tests (acute toxicity). Chronic toxicity testing would be associated with much higher costs. It is recommended to use only standardized and validated test methods (DIN EN ISO or OECD Guidelines).

The intra-laboratory variability of the ecotoxicity tests (only determined in the Hydrotox laboratory) usually was in the range +/- 1 dilution levels (assuming a factor of 2 in the concentration). In subsequent repetitions of the leaching tests with 20 construction products both the chemical sum parameters (TOC, conductivity) as well as in the ecotoxicity showed an ac-

ceptable reproducibility in this range. Exceptions include sealants or reactive or hardening construction products. The interlaboratory reproducibility determined in European round robin test was usually in the range +/- 2 dilutions steps (assuming a factor of 4 in the concentration). The variability increased with increasing toxicity. When considering the complex interplay of many factors this variability that may lead to variation coefficient of > 100% is acceptable.

1. Einführung und Aufgabenstellung

Im Juli 2013 wurde die Europäische Bauprodukterichtlinie durch die Bauprodukteverordnung (Verordnung (EU) Nr. 305/2011) ersetzt. Jetzt können die Mitgliedstaaten ihre Vorschriften für die Umweltauswirkungen ihrer Bauwerke im europäischen Rahmen umfassender geltend machen als bisher. So sollen auch Anforderungen berücksichtigt werden, die für Auswirkungen bei der Erstellung und beim Abbruch von Gebäuden und anderen Bauwerken gelten. Bisher lag der Fokus bei Anforderungen an die Nutzungsphase. Aktuell laufen im CEN/TC 351 WG1 entsprechende Normungsarbeiten zur Bestimmung der Freisetzung gefährlicher Stoffe aus Bauprodukten. Ziel ist eine Harmonisierung von Prüfmethoden zur Umsetzung der Umweltanforderungen an Bauwerke für Bauprodukte.

In Deutschland waren die hier relevanten Vorschriften bisher in den „Grundsätzen zur Bewertung der Auswirkungen von Bauprodukten auf Boden und Grundwasser“ des Deutschen Instituts für Bautechnik enthalten. Sie beschreiben ein Bewertungskonzept basierend u.a. auf Auslaugtests und sogenannten Geringfügigkeitsschwellen für das Grundwasser (DIBt 2011). Für Produkte, deren Eluate so komplex zusammengesetzt sind, dass die genaue Zusammensetzung nur mit erheblichem analytischen Aufwand festzustellen ist und für die keine zuverlässige Bewertung ökotoxischer Wirkungen anhand von Daten für Einzelstoffe möglich ist, sieht das Bewertungskonzept vor, die Eluate direkt in Biotests auf ökotoxikologische Wirkungen zu untersuchen.

Das Projekt „Empfehlungen für eine Testbatterie zur ökotoxikologischen Bewertung der Umweltverträglichkeit von Bauprodukten“ ist ein Beitrag zur Harmonisierung ökotoxikologischer Prüfmethoden für Bauprodukte zur Umsetzung der Lebenszyklusanforderungen der Bauprodukteverordnung. Ziel war es, Empfehlungen für eine Testbatterie zur ökotoxikologischen Bewertung der Umweltverträglichkeit von Bauprodukten für die Außenanwendung zu erarbeiten und diese in den Europäischen Normungsprozess, zum Beispiel in Form eines technischen Berichts (CEN/TR), einzubringen.

Im ersten Arbeitspaket (**AP 1**) wurden 20 repräsentative Bauprodukte anhand von Branchenkenntnissen ausgewählt und in das Untersuchungsprogramm einbezogen. Im Fokus standen vor allem Bauprodukte, die mobilisierbare organische Stoffe enthalten. Diese wurden mit Elutionsverfahren getestet, die u.a. vom CEN/TC 351 erarbeitet und vom Projektteam an die Erfordernisse der Ökotoxizitätstests angepasst wurden. Die Eluate wurden einer chemischen Basisanalytik betreffend anorganischer Parameter und spezifischer Substanzen unterzogen. Gemäß den DIBt-Grundsätzen wurden vier aquatische Tests (Algen, Daphnien, Leuchtbakte-

rien, Fischeier), ein Gentoxizitätstest (umu-Test oder Ames-Test) sowie ein Test zur leichten biologischen Abbaubarkeit (OECD 301 B bzw. OECD 301 F) eingesetzt. Terrestrische Tests waren in diesem Projekt nicht vorgesehen. Gemäß den DIBt-Grundsätzen sollen terrestrische Tests bei Bedarf aufgenommen werden.

Im zweiten Arbeitspaket (**AP 2**) wurden auf Grundlage der Erfahrungen bei der Produktprüfung Zuarbeiten zu der technischen Leitlinie zur ökotoxikologischen Bewertung von Bauprodukten geleistet und bei CEN/TC 351 eingereicht. Als Vorbild diente die im CEN/TC 292 erarbeitete Leitlinie CEN/TR 16110:2010 / DIN SPEC 19790:2011-03: „Charakterisierung von Abfällen - Anleitung zur Anwendung von Ökotoxizitätsprüfungen auf Abfälle“.

Am 13. Februar 2014 wurde das Projekt auf dem UBA- Workshop “ Europäische Harmonisierung der Bewertung der Freisetzung gefährlicher Stoffe aus Bauprodukten“ in Berlin vorgestellt. Am 10. April 2014 fand der CEN-Workshop “How to deal with biological test methods for ecotoxicity and biodegradability in CEN/TC 351?” in Brüssel statt, auf dem die bisherigen Ergebnisse des UBA-Projektes vorgestellt wurden.

Im Oktober 2014 wurde auf Grundlage des Mandats M/366¹ unter CEN/TC 351² eine Ad-hoc Arbeitsgruppe „Ökotoxikologische Bewertung und Bioabbaubarkeit von Bauprodukten“ eingerichtet. Im Oktober 2015 wurde das Arbeitsthema formell in der CEN/TC 351 / WG1 aufgenommen. Ziel ist die Erarbeitung eines technischen Reports bis Ende 2016.

Im Rahmen des Projektes fand ein Austausch mit der DIBt-Arbeitsgruppe „Prüfverfahren zur Umweltbewertung“ statt, in der auch die ökotoxikologische Bewertung von Bauprodukten nach dem DIBt-Konzept abgestimmt wird.

Im dritten Arbeitspaket (**AP 3**) wurde ein Europäischer Ringversuch konzeptionell vorbereitet, durchgeführt und ausgewertet. Je ein flächiges und granulares Produkt wurde für die Durchführung ausgewählt. Die Planung des statistischen Versuchsdesigns und die Auswertung war konform zur DIN ISO 5725. Die Ergebnisse wurden zentral über die Statistiksoftware ToxRat ausgewertet.

Abschließend wurde ein Workshop am 11. April 2016 beim DIN e.V. in Berlin organisiert, auf dem die Ergebnisse vorgestellt und diskutiert wurden.

¹ European Commission M/366 on harmonised approaches relating to dangerous substances under the construction products directive (16.3.2015).

² CEN/TC 351 Construction Products – Assessment of release of dangerous substances.

2. Screening-Untersuchungen Bauprodukte

2.1. Vorgehen zur Auswahl der Bauprodukte

In der Screening-Phase wurden aus 39 Bauprodukten insgesamt 20 für die Auswaschtests und ökotoxikologischen Untersuchungen ausgesucht. Hierbei wurden monolithische, flächige und granulare Bauprodukte berücksichtigt. Neben der ökotoxikologischen Charakterisierung der Bauprodukte war ein weiteres Ziel die Auswahl geeigneter Bauprodukte für den geplanten Ringversuch.

Die Auswahl der Bauprodukte wurde auf dem Kick-off-Treffen diskutiert. Im Auswahlprozess wurden folgende Quellen einbezogen:

- Übersicht der CEN „Standards under the Construction Products Directive“ vom Oktober 2012.
- Arbeitsprogramme der Technischen Komitees des CEN-Bausektors³, darunter u.a. auch CEN/TC 217 „Surfaces for sports areas“ und CEN/TC 155 “Plastic piping systems and ducting systems“.
- CEN TCs, die sich (teilweise) mit Bauprodukten beschäftigen: CEN/TC 69 - Industrial valves, CEN/TC 127 - Fire safety in buildings, CEN/TC 132 - Aluminium and aluminium alloys, CEN/TC 139 - Paints and varnishes, CEN/TC 189 – Geosynthetics, CEN/TC 349 - Sealants for joints in building construction, CEN/TC 350 - Sustainability of construction works, CEN/TC 350 - Sustainability of construction works, CEN/SS B02 – Structures, CEN/SS B02 – Structures, CEN/SS B99 - Building and construction - Undetermined (siehe Anhang 1)
- Übersicht von Europäischen Technischen Zulassungen für Bauprodukte.
- Gültige Zulassungen auf der Internetseite der „European Organisation for Technical Approvals“ (EOTA, <http://www.eota.eu>).
- Von der EOTA wurde eine Checklist “release of dangerous substances in products/kits” erstellt, die eine tabellarische Zuordnung von Bauprodukten und Schadstoffen zu Anwendungsbereichen mit direktem Kontakt zu Boden, Grundwasser und Oberflächenwasser darstellt (EOTA 2012).

³ <http://www.cen.eu/cen/Sectors/Sectors/Construction/Pages/Workprogramme.aspx>

- Einige EOTA-Leitlinien für die Europäische Technische Zulassung werden im Bundesanzeiger veröffentlicht und wurden hinsichtlich der Anforderung Nr. 3: „Hygiene, Gesundheit und Umweltschutz“ durchgesehen (BMVBS 2012).
- Die „European database CP-DS on legislation on substances in construction products“⁴ ermöglichte Recherchen zu den nationalen Bauvorschriften für einzelne gefährliche Stoffe.

Die folgenden Produktgruppen wurden vorerst in eine Vorauswahlliste aufgenommen und noch vertieft recherchiert (Tabelle 1).

Tabelle 1: Für die Vorauswahl für Screeningtests recherchierte Bauprodukte und Produktnormen

Norm	Bezeichnung
DIN EN 15651-1:2012-12	Fugendichtstoffe für nicht tragende Anwendungen in Gebäuden und Fußgängerwegen - Teil 1: Fugendichtstoffe für Fassadenelemente; Deutsche Fassung EN 15651-1:2012
DIN EN 15651-4:2012-12	Fugendichtstoffe für nicht tragende Anwendungen in Gebäuden und Fußgängerwegen - Teil 4: Fugendichtstoffe für Fußgängerwege; Deutsche Fassung EN 15651-4:2012
DIN EN 16153:2010-09	Lichtdurchlässige flache mehrwandige Platten aus Polycarbonat (PC) für Innen- und Außenanwendungen an Dächern, Wänden und Decken - Anforderungen und Prüfverfahren; Deutsche Fassung prEN 16153:2010
DIN EN 1013:2013	Lichtdurchlässige, einschalige, profilierte Platten aus Kunststoff für Innen- und Außenanwendungen an Dächern, Wänden und Decken - Anforderungen und Prüfverfahren; Deutsche Fassung EN 1013:2012
DIN EN 14934:2007-12	Wärmedämmung und leichte Füllprodukte für Anwendungen im Tiefbau - Werkmäßig hergestellte Produkte aus extrudiertem Polystyrolschaum (XPS) - Spezifikation; Deutsche Fassung EN 14934:2007
EN 13164:2008	Wärmedämmstoffe für Gebäude - Werkmäßig hergestellte Produkte aus extrudiertem Polystyrolschaum (XPS) - Spezifikation
DIN EN 13256:2005-04	Geotextilien und geotextilverwandte Produkte - Geforderte Eigenschaften für die Anwendung im Tunnelbau und in Tiefbauwerken; Deutsche Fassung EN 13256:2000 + A1:2005
DIN EN 13252	Geotextilien und geotextilverwandte Produkte - Geforderte Eigenschaften für die Anwendung in Dränanlagen
DIN EN 15534-1:2012-09	Verbundwerkstoffe aus Cellulose haltigen Materialien und Thermoplasten (üblicherweise Holz-Polymer-Werkstoffe (WPC) oder natürliche Faserverbundwerkstoffe (NFC) genannt) - Teil 1: Prüfverfahren zur Beschreibung von Formmassen und Erzeugnissen; Deutsche Fassung prEN 15534-1:2012
DIN EN 13476:2007	Kunststoff-Rohrleitungssysteme für erdverlegte drucklose Abwasserkanäle und -leitungen - Rohrleitungssysteme mit profilierter Wandung aus weichmacherfreiem Polyvinylchlorid (PVC-U), Polypropylen (PP) und Polyethylen (PE) - Teil 2: An-

⁴ <http://ec.europa.eu/enterprise/construction/cpd-ds/>

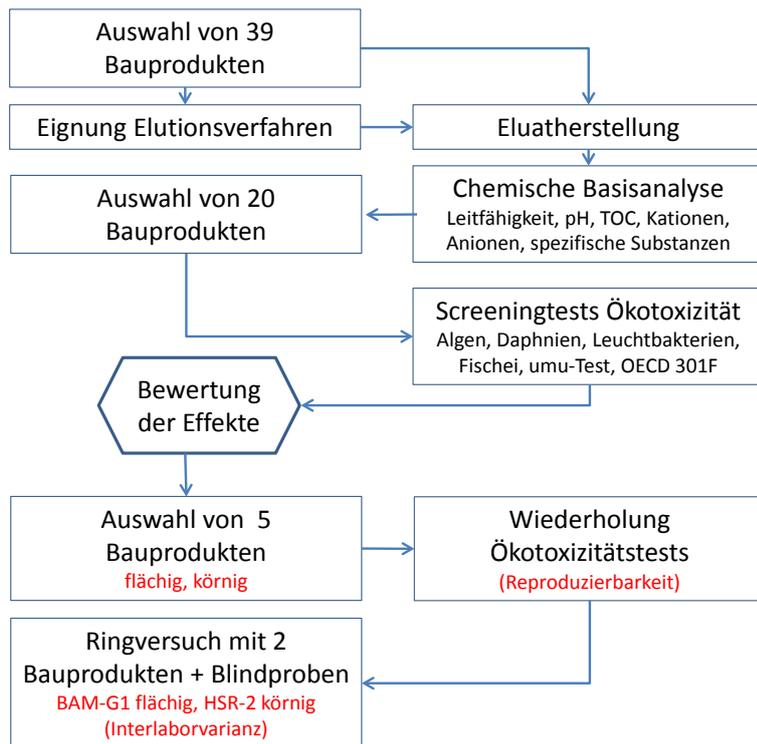
Norm	Bezeichnung
	forderungen an Rohre und Formstücke mit glatter Innen- und Außenfläche und an das Rohrleitungssystem, Typ A; Deutsche Fassung EN 13476-2:2007
DIN EN 13967:2012-07	Abdichtungsbahnen - Kunststoff- und Elastomerbahnen für die Bauwerksabdichtung gegen Bodenfeuchte und Wasser - Definitionen und Eigenschaften.
DIN EN 15012:2007	Kunststoff-Rohrleitungssysteme - Rohrleitungssysteme zum Ableiten von Abwasser innerhalb der Gebäudestruktur - Eigenschaften für die Gebrauchstauglichkeit von Rohren, Formstücken und deren Verbindungen; Deutsche Fassung EN 15012:2007
ETAG 005	Abdichtungen mit Flüssigkunststoffen
EN 14023:2010	Bitumen und bitumenhaltige Bindemittel – Rahmenwerk für die Spezifikation von polymermodifiziertem Bitumen
EN 13167:2008	Wärmedämmstoffe für Gebäude - Werkmäßig hergestellte Produkte aus Schaumglas (CG) – Spezifikation

Es wurden bevorzugt Produkte betrachtet, für die eine Freisetzung organischer Substanzen ins Wasser unter Anwendungsbedingungen angenommen werden kann. Bei den organischen Substanzen sollte es sich möglichst nicht um solche handeln, für die bereits Geringfügigkeits-schwellenwerten (GFS) definiert wurden (z.B. Biozide). Stattdessen sollte insbesondere die ökotoxikologische Wirkung von Gemischen mit unbekannter Zusammensetzung erfasst werden.

2.2. Ausgewählte Bauprodukte und Vorbereitung der Proben

Die ökotoxikologische Untersuchung von Bauprodukte folgte dem in Abbildung 1 beschriebenen Schema:

Abbildung 1: Auswahl der Bauprodukte und Untersuchungsreihen



Zunächst sind von 39 Bauprodukten, bei denen die Auswaschung von organischen und weniger von anorganischen Stoffen erwartet wurde, Elutionsversuche durchgeführt worden (vgl. Ergebnisse Kap. 3.1). Berücksichtigt wurden beispielsweise Dichtungsmassen, Dichtungsbahnen, Dämmstoffe, Geotextilien und Vliese. Eine Schnittmenge von 20 Bauprodukten wurde anschließend in den verschiedenen Ökotoxizitätstests untersucht (vgl. Ergebnisse Kap. 3.2). Für die nähere Eingrenzung der für den Ringversuch in Frage kommenden Proben wurden 5 Bauprodukten nochmals eluiert und die Ökotoxizität bestimmt, um die laborinterne Reproduzierbarkeit der Ergebnisse einschätzen zu können (vgl. Ergebnisse Kap. 4.2). Letztlich wurden 2 Bauprodukte der ursprünglichen Auswahlliste dann im Ringversuch untersucht (vgl. Ergebnisse Kap. 5).

Die nicht-professionellen Produkte sind in Baumärkten bezogen worden. Aussagekräftige Informationen zu den Inhaltsstoffen waren deshalb kaum erhältlich. Ebenso wenig ließ sich für einzelne Produkte klären, wie stark der Kontakt mit Wasser während der Nutzungsphase sein wird. Der Bezug von professionellen Produkten erfolgte über Hersteller oder Fachbetriebe. Zu den professionellen Produkten liegen Informationen in Form von technischen Datenblättern und Sicherheitsdatenblättern vor. Die Gesamtheit der potentiell auswaschbaren Komponenten ist aber nicht aufgeführt. Welche Verbreitung die berücksichtigten Produkte auf dem Markt jeweils haben, ist unklar.

Aufgrund der unbekanntem Zusammensetzungen wurde akzeptiert, dass sowohl anorganische als auch organische Komponenten ausgewaschen werden und ökotoxische Wirkungen ausüben können. Beispielsweise sind Metalle, für die GFS vorliegen, oft als Begleitkomponenten enthalten. Die organischen Substanzen wiederum sind analytisch kaum zu identifizieren, solange nicht konkrete Hinweise auf ökotoxikologisch relevante Einzelverbindungen vorliegen.

Die Prüfkörper bzw. Probenmaterialien wurden entsprechend der Vorgaben vom Hersteller und der Technischen Datenblätter verarbeitet. Flächige Produkte wurden mit einem Messer oder einer Säge zurechtgeschnitten, um den Testbedingungen zu entsprechen. Dabei entstandene Schnittflächen wurden mit Acrylharz abgedichtet. Für flexible Schnittkanten waren dagegen elutionsfreie Abdichtungsmassen nicht verfügbar, sodass bei HSR-1 und HSR-2 auf eine Kantenversiegelung verzichtet wurde. In der Praxis sind zudem offene, überlappende Schnittkanten üblich und daher die Situation anwendungstypisch. Die granularen Bauprodukte sind eingewogen worden. Das Herstellungsdatum und/oder die Aushärtezeit der Untersuchungsprobe wurden im Prüfbericht angegeben.

In einigen Fällen war es nicht möglich, mit vertretbarem Aufwand Produkte in der Form zu untersuchen, in der sie auch tatsächlich eingesetzt werden. Das trifft beispielsweise auf die Fugendichtmassen zu (BAM-2, BAM-3 und BAM-4). Die Massen wurden in vorgefertigte Edelstahlprofile gefüllt. Um ausreichend Eluatvolumen erzeugen zu können, wurden diese Massen später auch flächig auf Glasplatten aufgetragen. Bei anderen Produkten, beispielsweise Geotextilien und Geokompositen, sind die Strukturen so komplex oder sperrig, dass sich die effektiv wasserbenetzbare Oberfläche nicht erfassen lässt, insbesondere auch nicht bei Materialmischungen (z.B. HSR-1, HSR-12). Bei textilen Trägereinlagen, vor allem wassersaugenden Vliesstoffen, lassen sich die wasserbenetzbaren Oberflächen ebenfalls nicht exakt abschätzen. Vereinfachend wurde die ein- oder beidseitige Grundfläche angenommen.

2.3. Auslaugprüfungen

2.3.1. Auswahl der Testmethoden

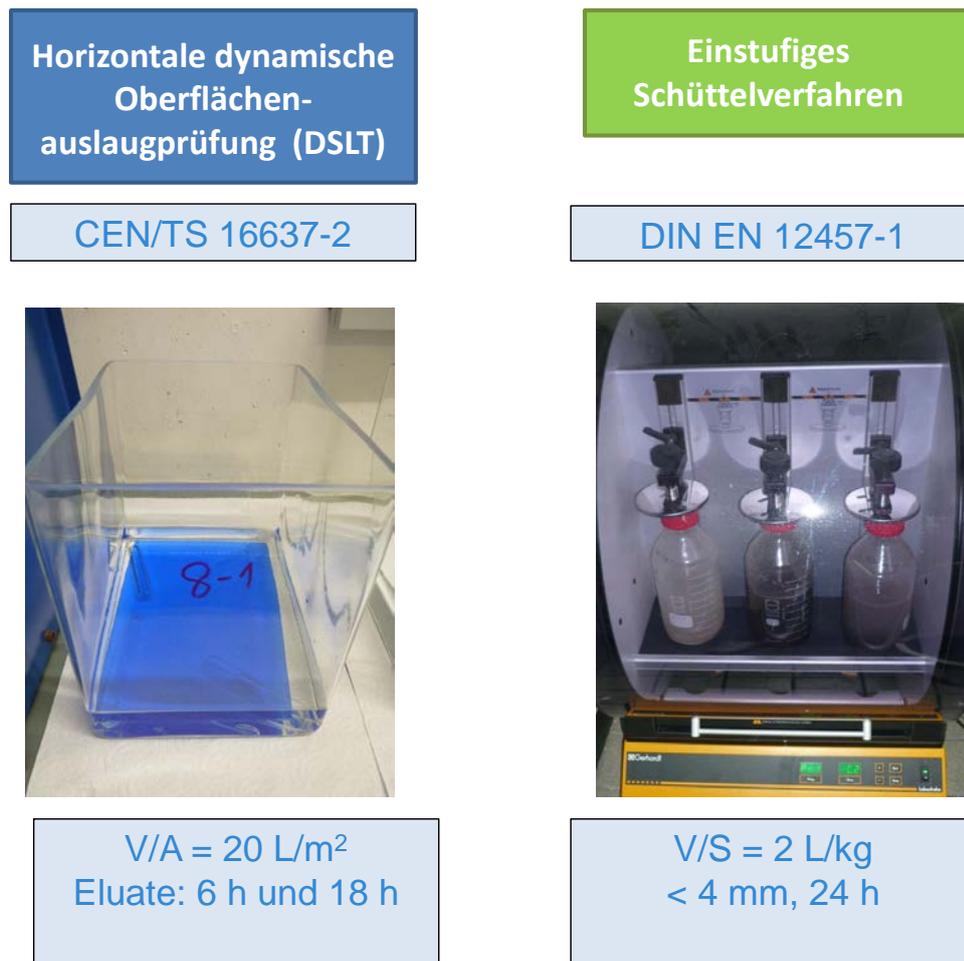
Vorzugsweise sollten die von der CEN/TC351 vorgeschlagenen zwei Auslaugprüfungen eingesetzt werden: der Dynamic Surface Leaching Test (DSLTL) und der Perkolationstest. Zunächst war auch die Durchführung von Perkulationsversuchen vorgesehen. Zum Zeitpunkt des Beginns der ersten Versuchsserien waren die Randparameter für diese jedoch noch nicht entschieden, so dass granuläre Produkte ausschließlich mit dem Schütteltest eluiert wurden. Die angedachte Prüfstrategie wurde aber auf dem UBA-Workshop „*Recommendations for a test battery for the ecotoxicological assessment of construction products*“ am 06.03.2013 unter

Beteiligung mehrerer Vertreter der CEN/TC 351, der Deutsche Bauchemie und des DIBt in Bezug auf die Eluatherstellung körniger Bauprodukte modifiziert. Die ausgewählten körnigen Bauprodukte sollen in Anlehnung an die Untersuchung von Abfällen im Schüttelverfahren eluiert werden. Der Schütteltest ist robust in der Durchführung und anerkannt als Standardverfahren. Die Anwendung einfacher Auslaugprüfungen (DSLIT und Schüttelversuche), für deren Durchführung die entsprechende Ausrüstung in Wasserlaboren üblicherweise vorhanden ist, ist generell vorteilhaft (Abbildung 1).

Mit den zwei etablierten Testverfahren wird der im Ringversuch verfolgten Strategie Rechnung getragen, die Eluatherstellung durch die beteiligten Laboratorien durchführen zu lassen, um die Variabilität des Gesamtsystems - von der Eluatherstellung bis zur Ökotoxizitätsprüfung - zu beurteilen. Auch im EU Abfallringversuch wurde ein einfacher Schütteltest als Elutionstest durchgeführt (Becker et al. 2007, Moser et al. 2009).

In jedem Fall sollten, um eindeutige Effekte in den biologischen Tests zu erfassen, möglichst konzentrierte Eluate hergestellt werden. Daher wurde die niedrigsten in den Auslaugprüfungen vorgesehenen Verhältnisse des Wasservolumens zur Probenfläche (V/A) bzw. zum Probengewicht (V/S) eingestellt (vgl. Abbildung 1).

Abbildung 2: Eingesetzte Auslaugprüfungen: DSLT und Schüttelverfahren



Ziel der Untersuchungen ist nicht die Simulation des Auslaugverhaltens und der daraus abgeleiteten Auswirkungen auf die Umwelt. Auch langfristige ökotoxikologische Effekte waren weder Gegenstand der Untersuchungen, noch lassen sie sich mit den Kurzeittests (die als einzige praktikabel erscheinen) abdecken.

2.3.2. Horizontale dynamische Oberflächenauslaugprüfung

Monolithische und flächige Bauprodukte wurden nach dem vom CEN TC351/WG1 entwickelten Testverfahrens „Horizontale dynamische Oberflächenauslaugprüfung“ CEN/TS 16637-2: Construction products – Assessment of release of dangerous substances – Part 2: Horizontal dynamic surface leaching test, DSLIT), welches für entsprechende Bauprodukte

vorgesehen ist, eluiert.⁵ Die Produkte wurden in deionisiertem Wasser mit einer Leitfähigkeit $< 5 \mu\text{S}/\text{cm}$ getaucht und das Wasser in definierten Zeitabständen erneuert. Der Abstand zwischen der/den Oberfläche(n) zu den Wänden der Auslaugbehälter betrug mindestens 2 cm. Nach Vorgabe der Norm wird für monolithische Produkte ein Verhältnis aus Wasservolumen zur Prüfkörperoberfläche von $V/A = 80 \pm 10 \text{ L}/\text{m}^2$ ($= 8 \pm 1 \text{ ml}/\text{cm}^2$) und bei plattenartigen Produkte ein V/A -Verhältnis bis $20 \text{ L}/\text{m}^2$ angewendet. Im Zeitraum von 64 Tagen werden üblicherweise 8 Auslaugungsschritte mit ansteigender Dauer (6 h, 18 h, 1,25 d bis zu 28 d) durchgeführt (Gesamtelutionsdauer von 6 h, 1 d, 2,25 d etc.).

Für die Herstellung der Eluate wurden zwei Anpassungen vorgenommen. Zum einen wurden nur die ersten zwei Auswaschetappen (nach 6 und weiteren 18 Stunden) umgesetzt, diese beiden Eluate jeweils vereinigt, und für die weiteren Untersuchungen verwendet. Zum anderen wurde das V/A -Verhältnis auf $V/A = 20 \text{ L}/\text{m}^2$ ($2 \text{ ml}/\text{cm}^2$) festgelegt. Damit lassen sich Eluate mit hohen Konzentrationen ausgewaschener Stoffe für das Ansetzen von Verdünnungsreihen erhalten und trotzdem entspricht das V/A -Verhältnis noch dem unteren Limit des DSLT.

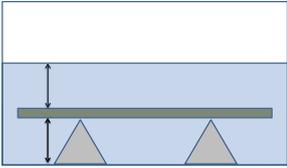
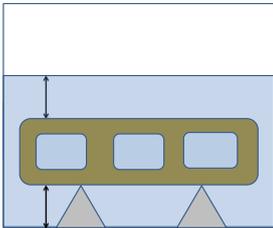
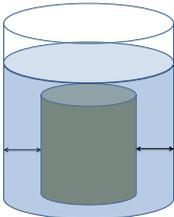
Die HSR hat 15 Prüfkörper mit Schnittkanten von $80 \times 125 \text{ mm}$ (100 cm^2) hergestellt. Bei den meisten Prüfkörpern konnte die effektiv eluierbare Oberfläche, auch die innere Oberfläche durch feinstrukturiertes textiles Trägermaterial, nicht berechnet werden. Die im DSLT geforderten 2 cm Wassersäule war nur auf flächigen Materialoberflächen sichergestellt, nicht aber auf Komposit-Geotextilien. Daher sind in HSR-Eluaten im Vergleich zu BAM-Proben entsprechend höhere Ausgangskonzentrationen zu erwarten.

In Abhängigkeit von der Art und Form der Bauprodukte wurden die DSLT-Versuche in fünf Varianten (A – E) durchgeführt (Tabelle 2).⁶

⁵ Verwendet wurde der Schlusssentwurf der nun verabschiedeten CEN/TS 16637-2 (August 2014). Bauprodukte - Bewertung der Freisetzung von gefährlichen Stoffen - Teil 2: Horizontale dynamische Oberflächenauslaugprüfung

⁶ Der Doppelpfeil kennzeichnet die im TS-2-Verfahren vorgesehenen 2 cm Wasserhöhe.

Tabelle 2: Elutionsbedingungen im DSL-Test

Variante	
	<p>Variante A:</p> <p>Prüfkörper liegt auf dem Boden des Testgefäßes, nur die nach oben zeigende Oberfläche ist in die Flächenkalkulation einbezogen</p> <p>gilt für: BAM-2, BAM-3, BAM-4, BAM-7, BAM-13, BAM-22</p>
	<p>Variante B:</p> <p>Prüfkörper schwimmt auf der Wasseroberfläche, nur die nach unten zeigende Oberfläche ist in die Flächenkalkulation einbezogen</p> <p>gilt für: BAM-1, BAM-18, HSR-15</p>
	<p>Variante C:</p> <p>Prüfkörper ist rundum exponiert, alle Oberflächen sind in die Flächenkalkulation einbezogen</p> <p>gilt für: BAM-8, BAM-10, BAM-14, BAM-19, BAM-20, BAM-21, HSR1-14</p>
	<p>Variante D:</p> <p>Prüfkörper sind auch in Hohlräumen, deren innere Oberfläche berechnet ist, im Wasserkontakt; Solche Innenflächen wurden in der V/A-Kalkulation bei Produkten der BAM einbezogen</p> <p>gilt für: BAM-11, BAM-15, BAM-16, BAM-17</p>
	<p>Variante E:</p> <p>Versuchsaufbau zum Testen von Rohren, Material ist auf Außen- und Innenseite identisch und in Wasserkontakt, beide Flächen wurden in die Flächenberechnung einbezogen</p> <p>gilt für: BAM-5, BAM-6</p>

2.3.3. Einstufiges Schüttelverfahren

In der ursprünglichen Planung war der Perkolationsstest für körnige Bauprodukte vorgesehen, der ebenfalls von der CEN/TC351 erarbeitet wurde.⁷ Die Randbedingungen des Perkolationsstests waren zum Zeitpunkt der Versuchsplanung allerdings noch nicht abschließend definiert. Daher wurde für die drei granularen Produkte das Schüttelverfahren nach DIN EN 12457 Teil 1 (2003) eingesetzt, das ursprünglich für Abfälle entwickelt und in diesem Bereich auch mit Ökotoxizitätstests gekoppelt wird.⁸ Hierbei wird die Probe mit einem Wasser/Feststoff-Verhältnis von 2 L/kg über 24 h in einem Schüttler eluiert. Von der BAM wurde ein Überkopf-Schüttler mit einer Frequenz von 7 U/min verwendet. Die Leitlinie CEN/TR 16110 verweist in Tabelle 1 auf die DIN EN 12457 Teil 1 – 4.⁹ Auf diese Verfahren wird auch in der Technischen Spezifikation CEN/TS 16637-1 der CEN/TC 351 als „indirekte Verfahren“ verwiesen.¹⁰ Für Bauprodukte sind einige Anpassungen erforderlich, um die eluierten organischen Verbindungen besser zu erfassen. So sollten in den Eluaten vorhandene Feststoffe nach einer 15 minütigen Absetzphase vorzugsweise über Zentrifugation statt Filtration entfernt werden. Dies steht in Übereinstimmung mit DIN 19527.¹¹ Die mechanische Belastung der Proben ist sehr hoch (anders als im Säulentest) und kann zur Zerstörung des Materials führen (beobachtet bei BAM-G3, Schaumglasschotter). Dies kann zu einer unrealistisch hohen Freisetzung von Stoffen führen, so dass die Schüttelmethode hier ungeeignet ist. Schüttelversuche nach DIN EN 12457 sind in chemisch-analytischen Laboren weit verbreitet etabliert, da sie in anderen Rechtsbereichen (Abfälle, Boden, Baggertgut etc.) eingesetzt werden.

2.4. Chemische Analysen Standardparameter

Für die Eluate wurden pH-Wert, TOC-Gehalt (totaler organischer Kohlenstoff) und elektrische Leitfähigkeit bestimmt. Der TOC-Gehalt wurde mit einem Shimadzu TOC-VCPH-Analyzer (Shimadzu, Berlin) durch katalytische Verbrennung bei 680 °C und nicht-dispersive

⁷ CEN/TS16637-3 (2016) Construction products - Assessment of release of dangerous substances - Part 3: Horizontal up-flow percolation test (noch nicht erschienen). Hierbei wird die in eine Säule gepackte Prüfprobe mit Wasser durchsickert und das Leachingverhalten in Abhängigkeit des Wasser/Feststoff-Verhältnisses W/F zu festgelegten W/F unter hydraulisch-dynamischen Bedingungen beobachtet.

⁸ DIN EN 12457-1. Characterization of waste - Leaching; Compliance test for leaching of granular and sludges - Part1: One stage batch test at a liquid to solid ration of 2 L/kg with particle size below 4 mm (without or with size reduction).

⁹ CEN/TR 16110 (2010) Charakterisierung von Abfällen - Anleitung zur Anwendung von Ökotoxizitätsprüfungen auf Abfälle.

¹⁰ DIN CEN/TS 16637-1; DIN SPEC 18046-1 (2014-11) Bauprodukte - Bewertung der Freisetzung von gefährlichen Stoffen - Teil 1: Leitfaden für die Festlegung von Auslaugprüfungen und zusätzlichen Prüfschritten.

¹¹ DIN 19527 (August 2012). Elution von Feststoffen - Schüttelverfahren zur Untersuchung des Elutionsverhaltens von organischen Stoffen mit einem Wasser/Feststoff-Verhältnis von 2 l/kg.

Infrarotdetektion des dabei gebildeten CO₂ bestimmt. In den Eluatn der BAM wurden anorganische Parameter analysiert, um Hinweise zu bekommen, auf welche Stoffe mögliche ökotoxikologische Effekte zurückzuführen sind. Anionen (F⁻, Cl⁻, SO₄²⁻) wurden mittels Ionenchromatographie (Dionex 320 mit Leitfähigkeitsdetektor, Dionex) analysiert. Kationen (Al, As, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Sb, Se, Sn, Sr, Ti, Tl, V, Zn) wurden zuerst mittels ICP/OES (iCAP 7000 ICP-OES mit axialer und radialer Beobachtungsrichtung, Thermo Scientific) quantifiziert. Die Elemente, deren Bestimmungsgrenze unterschritten war, wurden anschließend mittels ICP/MS (ICAP Q, Thermo Scientific mit CCT-Zelle) bestimmt.

Für einen Teil der Versuche wurden die Massen der Prüfkörper vor und nach der Elution bestimmt, um die Wasseraufnahme n zu erfassen. Die Resultate zu den Elutionsversuchen sind im Anhang 2 dargestellt.

Bauprodukteluat, deren TOC-Gehalt über 10 mg/L lag oder deren elektrische Leitfähigkeit über 10-20 µS/cm lag, wurden in einer zweiten Versuchsserie erneut eluiert. Die Wiederholung der Elution wurde in sechsfachen Parallel-Ansätzen pro Produkt durchgeführt, damit die für Ökotoxtests erforderlichen Probenvolumina von 2 L gewonnen werden konnten. Die Eluate wurden an die Hydrotox GmbH für ökotoxikologische Untersuchungen versandt.

Im Labor der Hydrotox GmbH wurde der TOC der aufgetauten Proben nochmals bestimmt, um Aussagen zur Stabilität der Proben zu erhalten. Verwendet wurde das TOC-Messgerät TOC-5000A der Fa. Shimadzu (Verbrennung bei 680°C mit Platinkatalysator, CO₂ Bestimmung im Infrarotgasanalysator (NDIR) nach Ansäuern der Probe und Ausstrippen des anorganischen Kohlenstoffs im Sauerstoffstrom = Ausblasmethode). Da hierbei flüchtige organische Verbindungen entweichen können, wurden einzelne Proben noch zusätzlich über den Gesamtkohlenstoff (TC) abzüglich des anorganischen Kohlenstoffs (IC) vermessen (TOC = TC-IC). Von einigen Proben wurde als Bezugswert für die biologische Abbaubarkeit der ausgewaschenen Substanzen im Respirometertest die chemische Oxidierbarkeit der organischen Verbindungen (CSB) photometrisch mit dem Photometer CADAS 30 mittels Rundküvetten-test (LCK 514, LCK 114, LCK 314 der Fa. Hach-Lange, Düsseldorf) bestimmt.¹²

¹² Methode der CSB-Bestimmung: Zweistündige Oxidation mit Kaliumdichromat, Schwefelsäure, Silber- und Quecksilbersulfat bei 148 °C in Anlehnung an DIN 38409 H41

2.5. Identifizierung von Stoffen mittels (GC/MS)

Die von der BAM hergestellten Eluate wurden zusätzlich mittels Gaschromatographie in Kopplung mit Massenspektrometrie (GC/MS) untersucht. Mittels qualitativer chemischer Analysen wurden ausgewaschene und GC-gängige Stoffe gesucht. Dazu wurden die Eluate im organischen Lösungsmittel eingeeengt, gaschromatographisch aufgetrennt und am Massenspektrometer detektiert. Hinweise zur Identität der Verbindungen lieferten Vergleiche mit Spektren aus Spektrenbibliotheken.

Probenaufarbeitung: 100 ml Teilproben der erhaltenen Eluate wurden dreimal mit jeweils 30 ml Chloroform für 15 min im Überkopfschüttler extrahiert. Die Phasentrennung erfolgte in einem Scheidetrichter. Die drei Lösungsmittelphasen wurden vereint, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Diese Proben wurden in jeweils 2 ml Aceton aufgenommen, nach Bedarf verdünnt und mittels GC/MS analysiert. Eluate der Produkte BAM-G1 und BAM-G2 wurden außerdem jeweils zweimal mit 30 ml Toluol, Dichlormethan und Ethylacetat für 20 min auf dem Horizontalschüttler extrahiert und nach Phasentrennung, Vereinen der Lösungsmittelphasen, Trocknen und Einengen (wie oben) in 2 ml Toluol aufgenommen. Zur Kontrolle wurden zu jeder Versuchsserie Blindproben untersucht, bei denen die Testansätze das verwendete Wasser, aber kein Bauprodukt enthielten.

Identifizierung von Verbindungen: Zur Analyse am GC/MS wurden jeweils 1 µl Extrakt in einen PTV-Einlass bei 65 °C injiziert. Die Trennung erfolgte an einer HP-5MS-Säule (30 m, 0,25 mm, 0,25 µm Filmdicke) mit folgendem Temperaturprogramm: 70 °C (2 min), 25 °/min bis 150 °C, 3 °/min bis 200 °C, 8 °/min bis 280 °C (10 min). Als Trägergas diente Helium. Zur Identifizierung der aufgetrennten Substanzen wurden die Spektrenbibliotheken NIST 11 bzw. RTL Pest genutzt.

Die Vorgehensweise beinhaltet verschiedene Einschränkungen für das Erkennen von Substanzen in den Eluaten. Es werden nur Substanzen erfasst, die (1) mit dem verwendeten Lösungsmittel aus der wässrigen Phase extrahierbar sind, (2) bei erhöhter Temperatur stabil und gaschromatographisch trennbar sind und (3) im Massenspektrometer in detektierbare Ionen überführt werden können. Der Vergleich von Massenspektren aus Datenbanken mit erhaltenen Massenspektren liefert üblicherweise mehrere Substanzvorschläge. Eine sichere Identifizierung erfordert den Nachweis, dass die Verbindung aus der untersuchten Probe und die Referenzsubstanz gleiche Retentionszeit und das gleiche Fragmentierungsmuster unter identischen Trenn- und Detektionsbedingungen aufweisen. Aussagen zur Menge der ausgewaschenen Einzelsubstanzen sind mit der oben beschriebenen Vorgehensweise nicht möglich.

Als relativ gesichert wurden nur die Substanzvorschläge berücksichtigt, die eine hohe Übereinstimmung (>90%) zwischen gemessenen und den in der Datenbank enthaltenen Massenspektren aufweisen. Wenn Spektren z.B. durch mangelnde chromatographische Trennung oder einen hohen Matrixanteil zur betreffenden Retentionszeit überlagert sind, kann das zu einer schlechten Übereinstimmung und somit zum Übersehen von Substanzen führen. Ein Vergleich der Analyseergebnisse mit Referenzsubstanzen erfolgte nur für 2-Mercaptobenzothiazol. Für die übrigen Substanzvorschläge wurden keine Überprüfungen mit Referenzsubstanzen durchgeführt. Zahlreiche in den Eluaten enthaltene Substanzen konnten nicht identifiziert werden.

Besondere Sorgfalt ist erforderlich, um Substanzen auszuschließen, die aus anderen Quellen stammen. Bei der Aufarbeitung der Proben wurde das verwendete Lösungsmittel vollständig verdampft und die Probe in einem viel geringeren Volumen aufgenommen. Dadurch wurden in Lösungsmitteln enthaltene Substanzen etwa 1:50 angereichert, und können in den Proben detektierbar sein. Eine weitere Quelle für den Eintrag von Substanzen können Substanzen aus Kunststoff-Wasserleitungen sein. Die aufgearbeiteten Blindproben enthielten Phthalate sowie 2,4-Di-tert-butylphenol (CAS 96-76-4) und 7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-dion (CAS 082304-66-3). Für die beiden letzteren ist beschrieben, dass sie aus Kunststoff-Wasserleitungen in das Wasser gelangen können. Das kann hier der Fall sein.

Bei Substanzen, die aus verschiedenen Produkten mehrfach identifiziert wurden, wurde überprüft, ob die Retentionszeiten übereinstimmen. Um zu prüfen, ob Substanzvorschläge plausibel sind, wurde abgefragt, ob die gefundenen Substanzen unter REACH registriert sind und Hinweise auf eine Verwendung bei der Herstellung von Bauprodukten gegeben sind (<http://echa.europa.eu/de/information-on-chemicals/registered-substances>). Mit allgemeinen Recherchen in der Fachliteratur und im Internet wurde nach Hinweisen zur Verwendung dieser Stoffe gesucht.

2.6. Ökotoxizitätstests

Vor der Durchführung der Ökotoxizitätstests wurden alle Eluate portioniert und in PE Flaschen tiefgefroren. Der Versand der von der BAM bzw. der HSR hergestellten Eluate erfolgte tiefgefroren über einen Paketexpress-Service. Die Auswahl der Ökotoxizitätstests erfolgte in Abstimmung mit dem UBA und in Anlehnung an DIBt-Grundsätze zur Bewertung der Auswirkungen von Bauprodukten auf Boden und Grundwasser (DIBt 2009-2011, Ehrnsperger

2005). Die erste Auswertung der Ökotoxizitätstests wurde einheitlich nach dem üblichen Verdünnungsstufenkonzept („lowest ineffective dilution = LID) vorgenommen.¹³ Das bedeutet, es wird der Verdünnungsfaktor angegeben, ab dem kein signifikanter Effekt mehr erkennbar ist. Dieses Vorgehen ist bei Umweltproben üblich und wird in Deutschland routinemäßig zur Bewertung von Abwasserproben herangezogen. Die Beschreibung der Dosis/Wirkungs-Beziehung über die Effektkonzentrationen EC₁₀, EC₂₀ und EC₅₀ mittels statistischer Methoden wurde in den Screening-Serien nicht vorgenommen.

Die begleitenden pH-, Sauerstoff- und Leitfähigkeitsmessungen in den Ökotoxizitätstests erfolgten mit dem Gerät Multi 9430 der Fa WTW, Weilheim mit den Messsonden SenTix 950, FDO 925 und TetraCon 925.

2.6.1. Algentest ISO 8692 (2012)

Für das Projekt wurde vereinbart, den Algentest mit der neuen ISO 8692 (15.2.2012) durchzuführen. Die Norm sieht zwei Algenarten vor: *Desmodesmus subspicatus* und *Pseudokirchneriella subcapitata*. Nach dieser Norm wird die Hemmung der Wachstumsraten, also der Zunahme der Algenzahl pro Tag, angegeben. Bei den ersten Versuchsserien mit *Desmodesmus subspicatus* konnte die in der ISO geforderte Wachstumsrate von 1,4 / d (entspricht Vermehrung um Faktor 67 in 72 h) in den Kontrollansätzen nicht immer eingehalten werden.¹⁴ Daher wurde in Absprache mit dem UBA beschlossen, auf *Pseudokirchneriella subcapitata* umzusteigen, um damit das Ziel der Untersuchungen, die Identifizierung geeigneter Produkte für den EU-Ringversuch, sicherzustellen. Im Europäischen Ausland wird nämlich eher mit *Pseudokirchneriella subcapitata* gearbeitet. Die für den Test verwendeten Algen werden in Suspensionskultur mit Holm-Hansen-Medium (HH-Medium) gezüchtet, die Stammkultur wird wöchentlich in frisches Medium umgesetzt, um sie im exponentiellen Wachstum zu halten.

Zu Versuchsbeginn wird eine Algendichte von $0,5 \cdot 10^4$ Algen/ml eingestellt. Die Inkubation der Ansätze erfolgte in einem Lichtthermostat RUMED 1301 (Rubarth Apparate GmbH Laatzen, Deutschland) bei einer Lichtintensität zwischen 60 – 120 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (oder 4440 und

¹³ Vgl. ISO 5667-16, Annex A: „In toxicity testing of waste water by means of defined dilutions (D), the lowest ineffective dilution (LID) expresses the most concentrated test batch at which no inhibition, or only effects not exceeding the test specific variability, had been observed. D is expressed as the reciprocal value of the volume fraction of waste water in the test batch. Example: 1/4 waste water (volume fraction of 25 %) is dilution level D = 4.”

¹⁴ Im Bericht sind ausschließlich gültige Tests der Screening-Untersuchung protokolliert worden. Es sei drauf hingewiesen, dass auch die anderen Ergebnisse mit *Desmodesmus subspicatus* nach DIN 38412-33 sowie OECD 201 gültig wären. Es wird vermutet, dass das Gültigkeitskriterium der ISO 8692 betreffend einer Wachstumsrate > 1,4 im Wesentlichen aus Versuchen mit *Pseudokirchneriella subcapitata* abgeleitet wurde. In der Diskussion um die ISO 8692 wurde für *Desmodesmus subspicatus* zunächst eine niedrigere Wachstumsrate vorgeschlagen.

8880 Lux) und $23 \pm 2^\circ\text{C}$. Die Ansätze werden durch Drehen entlang der Lichtquellen gleichmäßig und kontinuierlich beleuchtet und periodisch geschüttelt. Die Auswertung erfolgte über die Messung der Chlorophyllfluoreszenz mittels eines Fluoreszenz Mikrotiterplatten Readers (Tecan infinite F200, Tecan Group Ltd. Männedorf, Schweiz). Hierbei wurde die Chlorophyllfluoreszenz nach 72 h in Zellzahlen umgerechnet. Der Korrelationsfaktor ergibt sich durch Vergleich der Algenzahl-Messungen in einem Coulter Counter Z2 (Fa. Beckman Coulter, Krefeld) mit der Fluoreszenzintensität. Als Bezugspunkt für 0 h wird der eingestellte Algentiter herangezogen. Die Anfangsfluoreszenz zu 0 h wird ebenfalls bestimmt, um eine mögliche Eigenfluoreszenz der Eluate zu erfassen. Eventuell noch vorhandene Partikel werden durch Absetzenlassen entfernt. Sofern der pH-Wert außerhalb des Bereichs von 6,0 bis 9,0 lag, wird er mit HCl bzw. NaOH auf $7,0 \pm 0,2$ eingestellt.

Als Ergebnis wird der Verdünnungsfaktor LID_A ermittelt, ab dem innerhalb der Inkubationszeit die Wachstumsrate um weniger als 5% gehemmt wird.¹⁵ Hinweis: In deutschen Normen wird dieser Wert auch als G_A bezeichnet.

Halbjährlich wird eine Qualitätsüberprüfung der verwendeten Algen mit der Referenzsubstanz Kaliumdichromat durchgeführt. Für den Zeitraum, in dem die Screening-Versuche für die Bauprodukte durchgeführt wurden, lag der ErC_{50} für *Desmodesmus subspicatus* bei $ErC_{50} = 0,83 - 0,94 \text{ mg/L}$ und für *Pseudokirchneriella subcapitata* bei $ErC_{50} = 0,90 \text{ mg/L}$. Die ErC_{50} Werte lagen somit im Bereich der in der ISO-Norm genannten Werte.

2.6.2. Daphnientest DIN EN ISO 6341 (2013)

Bestimmt wird die akute toxische Wirkung von den Eluaten auf *Daphnia magna STRAUS* (Crustacea), die aus der Zucht des Umweltbundesamtes in Berlin-Marienfelde stammen und seit Oktober 2012 im Labor der Hydrotox bei $20^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ und einem Tag-Nacht-Rhythmus von 16:8 Stunden in Elendt M4 Medium gehalten werden. Die zu den Blattfußkrebse (Branchiopoda) gehörenden Daphnien zeichnen sich durch parthenogenetische Vermehrung aus, d.h. dass sich weibliche Tiere ohne Befruchtung über Generationen hin fortpflanzen können. Je Verdünnungsstufe wurden je 5 Daphnien in 2 Bechergläser eingesetzt (Summe 10

¹⁵ In der nach Abwasserverordnung noch gültigen DIN 38412-33 wird die Hemmung auf Abnahme der Fluoreszenz nach 72 h gegenüber der Kontrollen bezogen und ein G_A -Wert bestimmt, ab dem diese Hemmung < 20% beträgt. Der Unterschied zur ISO (5% bezogen auf die Wachstumsrate) ist im Wesentlichen mathematisch bedingt. Die Daten lassen sich ineinander umrechnen, es können sich aber leicht abweichende oder variierende LID_A bzw. G_A -Werte ergeben.

Daphnien je Konzentration). Die Auswertung erfolgt nach 24 h und 48 h.¹⁶ Als Maß wird der Verdünnungsfaktor LID_D ermittelt, ab dem innerhalb von 24 h bzw. 48 h keine akute Toxizität auf die Daphnien festgestellt wird. Hinweis: In deutschen Normen wird dieser Wert auch als G_D bezeichnet.

Der LID_D -Wert entspricht dem Verdünnungsfaktor, bei dem 90% der Daphnien ihre Schwimmfähigkeit behalten. Der pH-Wert der Proben wurde falls erforderlich mit HCl oder NaOH auf 7,0 +/- 0,2 eingestellt. Sofern grobe Partikel enthalten sind, werden diese durch Absetzenlassen über ≥ 30 min bis 1 h entfernt. Die Sensitivität der verwendeten Daphnien wird regelmäßig mit der Referenzsubstanz Kaliumdichromat überprüft. Nach EN ISO 6341 soll der EC_{50} (24h) von Kaliumdichromat zwischen 0,6 und 2,1 mg/L liegen. Laut AQS-Merkblatt P-9/2 liegt der EC_{50} (24h)-Wert für Kaliumdichromat in der Regel bei 0,6 – 2,4 mg/L. Bei Hydrotox wurde in dem Versuchszeitraum ein EC_{50} von 1,92 mg/l bis 2,43 mg/l bestimmt, was innerhalb der Vorgaben der EN ISO bzw. des AQS-Merkblattes liegt.¹⁷

2.6.3. Leuchtbakterientest DIN EN ISO 11348-2 (2009)

Bestimmt wurde die Toxizität der Eluate auf die marinen Bakterien der Gattung *Vibrio fischeri*, die ein natürliches Leuchten (Biolumineszenz) zeigen, das eng mit der Stoffwechsellaktivität gekoppelt ist. Eine Abnahme der Leuchtintensität nach einer Expositionszeit von 30 min stellt ein Maß für die toxische Einwirkung auf die Bakterien dar. Die Testdurchführung erfolgte mit dem System LUMIS-tox der Fa. Hach-Lange, Düsseldorf. Die flüssiggetrockneten Bakterien vom Stamm *Vibrio fischeri* NRRL-B-11177 wurden ebenfalls von der Fa. Hach Lange bezogen (LCK 482). Als Positivkontrolle wurde gemäß den Vorgaben der AQS Kaliumdichromat (4 mg/l) in jeder Versuchsserie mit getestet. Die Proben wurden mit Kochsalz bis zu einer 2% igen Lösung aufgesalzen und der pH-Wert gegebenenfalls mit HCl oder NaOH auf 7,0 +/- 0,2 eingestellt. Als Testergebnis wird die kleinste Verdünnungsstufe LID_{lb} , bei der die Lichtemission um weniger als 20% gehemmt wird, angegeben. Hinweis: In deutschen Normen wird dieser Wert auch als G_L bezeichnet.

2.6.4. Fischeitest DIN EN ISO 15088 (2009)

Im Fischeitest wird die Ontogenese von Embryonen des Zebraäbrbling (*Danio rerio* Hamilton *Buchnan*), ein Karpfenfisch (Cyprinidae), über 48 h von der befruchteten Eizelle bis zur Larve

¹⁶ Anhang F der ISO beschreibt eine LID-Screeningversion mit 2*5 Daphnien. Die ISO sieht eine Auswertung entweder nach 24 oder nach 48 h vor.

¹⁷ LAWA AQS Merkblätter für Wasser, Abwasser- und Schlammuntersuchung. Loseblattsammlung Erich Schmidt Verlag, Berlin Analytische Qualitätssicherung.

kurz vor dem Schlüpfen zur Bewertung der toxischen Wirkung von Umweltprouben herangezogen. Definierte Störungen der Embryonalentwicklung sind dabei als Letalitätskriterium festgelegt. Die Begutachtung erfolgt unter dem Inversmikroskop.

Die befruchteten Fischeier wurden aus der eigenen Fischhaltung gewonnen und zwischen dem 4-Zellstadium und 32-Zellstadium verwendet. In 24-Well-Zellkulturplatten werden 10 befruchtete Eier je Verdünnungsstufe sowie der Negativkontrolle und Positivkontrolle eingesetzt. Auf jeder Platte werden zudem vier interne Negativkontrollen mitgeführt. Nach 24 und 48 h wird die Embryonalentwicklung unter dem Inversmikroskop bei 25- bis 40-facher Vergrößerung überprüft und hinsichtlich der folgenden Endpunkte bewertet: a) Ei ist nicht entwickelt/koaguliert, b) Embryo hat keinen Herzschlag, c) Embryo weist keine Schwanzablösung vom Dottersack auf und d) Embryo weist keine Somitenbildung auf. Da das letzte Kriterium nur mit einiger Erfahrung sicher zu erkennen ist, wird die Somitenbildung nur in der Durchführung nach DIN 38 415-6 (2003), nicht aber in der Durchführung nach ISO 15088 für die Bewertung toxischer Effekte herangezogen. In vorliegender Untersuchung wurde die Somitenbildung getrennt erfasst und dokumentiert.

Diejenige Verdünnungsstufe in der höchstens 10% der exponierten Embryonen absterben, wird als LID_{Egg} bezeichnet. Hinweis: In deutschen Normen auch als G_{Ei} angegeben.

Als Positivkontrolle wurde gemäß den Vorgaben der AQS 3,4-Dichloranilin (3.7 mg/L) in jedem Versuch mit getestet. Der pH-Wert der Eluate wurde, falls erforderlich, mit HCl oder NaOH auf 7,0 +/- 0,2 eingestellt.

2.6.5. umu-Test ISO 13829 (2000)

Der *umu*-Test ist ein Gentoxizitätstest mit dem gentechnisch veränderten Bakterium *Salmonella typhimurium* TA 1535/pSK 1002. Die Bakterien werden mit verschiedenen Konzentrationen der Eluate inkubiert. Hierbei induzieren Gentoxine das sogenannte *umuC*-Gen, das zum SOS-Reparatursystem der Zelle gehört, welches einer Schädigung der bakteriellen Erbsubstanz entgegenwirkt. Durch die Kopplung des *umuC*-Gens mit dem *lacZ*-Gen für die β -Galaktosidase kann indirekt die Aktivierung des *umuC*-Gens durch Farbstoffbildung mit *o*-Nitrophenyl-Galactopyranosid (ONPG) bei 420 nm nachgewiesen werden. Die Induktionsrate (IR) entspricht der Zunahme der Extinktion bei 420 nm gegenüber der Negativkontrolle. Bei der Berechnung der Induktionsrate wird der Wachstumsfaktor, der über die optische Dichte bei 600 nm bestimmt wird, berücksichtigt. Die Durchführung erfolgte in Mikrotiterplatten (Greiner 96 Well Microplate PS F-bottom), die photometrische Auswertung in einem Mikrotiterplattenphotometer (Tecan infinite F200, Tecan Group Ltd. Männedorf, Schweiz).

Zur metabolischen Aktivierung wird Rattenleberhomogenat (S9) der Firma Moltox (Lot 2897) verwendet. Als Positivkontrollen wurden 4-Nitroquinolinoxid (0,5 µg/ml, – S9) bzw. 2-Aminoanthracen (2 µg/ml, + S9) eingesetzt.

Eine Hemmung des Bakterienwachstums drückt sich in einem gegenüber der Kontrolle verminderten Wachstumsfaktor (WF) aus. Bei Wachstumsfaktoren unter 0,5 (50% Wachstumshemmung) werden die Ergebnisse nicht gewertet. Als Ergebnis gilt der kleinste Wert der Verdünnungsstufe, bei der eine Induktionsrate < 1,5 gemessen wird. Werden bei Zusatz von S9 unterschiedliche Induktionsraten gemessen, so ist der höhere der beiden Werte maßgebend (LID_{EU}).

2.7. Biologische Abbaubarkeit im Respirometertest OECD 301 F

Als Screeningtest zur Erfassung der biologischen Abbaubarkeit wurde der manometrische Respirationstest eingesetzt. Hierbei wird die Sauerstoffzehrung in geschlossenen Respirometern halbkontinuierlich über Druckmessungen bestimmt. Verwendet wurde das System der Fa. WTW in Weilheim, das aus 500 mL Enghalsglasflaschen, einem Reihenmagnetrührer OxiTop® IS 12, den OxiTop®-C Messköpfen und der Ausleseeinheit OxiTop® OC 110 Controller besteht. Der durch die Sauerstoffzehrung entstehende Unterdruck wird in zwei Testansätzen sowie den entsprechenden Kontrollen über 28 d aufgezeichnet. Das entstehende CO₂ wird an NaOH gebunden, das in einem Köcher der Gummidichtung zwischen Flasche und Druckkopf vorgelegt ist. Als Konzentration wird üblicherweise ein Theoretischer Sauerstoffbedarf (ThSB) bzw. ersatzweise ein Chemischer Sauerstoffbedarf (CSB) von 100 mg/L eingestellt. Als Referenzsubstanz wurden drei Ansätze mit Natriumacetat (ThSB = 0,78 mg O₂/mg) mitgetestet. Der als Inokulum verwendete Belebtschlamm wurde einen Tag vor Versuchsbeginn aus der kommunalen Kläranlage Breisgauer Bucht mit 600.000 EGW entnommen und durch Verdünnung auf eine Inokulumdichte von 30 mg/l Trockensubstanz eingestellt. Ein Abbaugrad von > 60 % ThSB innerhalb von 28 d und innerhalb eines "10-Tage Fensters" nach dem Ende der lag-Phase gilt bei Einzelsubstanzen als Kriterium für die Einstufung einer Prüfsubstanz als "biologisch leicht abbaubar". Bei Gemischen kann dieses Kriterium nicht sinnvoll angewandt werden, da der CSB nicht einer spezifischen Substanz zugeordnet werden kann. In diesem Fall wird das Ergebnis als Hinweis gewertet, ob die organischen Bestandteile des Eluates einem biologischen Abbau zugänglich sind oder nicht.

3. Ergebnisse Screening-Untersuchung

3.1. Auslaugprüfungen

Zunächst wurden Auswaschversuche mit allen 39 Bauprodukten durchgeführt. 37 Proben wurden mit dem DSLT eluiert und die Eluate chemisch charakterisiert (vgl. Anhang 2: Tabelle 2-1 und 2-2). Drei körnige Proben wurden von der BAM im Schütteltest untersucht (vgl. Tabelle 2-6 im Anhang). Ziel der Screeningversuche war es, geeignete Bauprodukte im Vorfeld hinsichtlich des Eluationsverhaltens grob zu charakterisieren und lediglich auffallende Proben (TOC > 10 mg/L und/oder mit Leitfähigkeit > 10 µS/cm) in die Ökotoxikation einzunehmen. Zwar ist bekannt, dass der TOC nicht als aussagekräftiger Indikator für die Ökotoxizität gilt, aber zumindest geben höhere TOC-Gehalte einen Hinweis auf organische Verbindungen im Eluat. Damit ist die Wahrscheinlichkeit erhöht, dass die Proben in den Biotests ansprechen. Umgekehrt gilt, dass geringe TOC-Gehalte keine hohen Konzentrationen von organischen Substanzen erwarten lassen.

Nur in knapp der Hälfte aller Eluate wurden leicht erhöhte Leitfähigkeiten gemessen; in sogar mehr als der Hälfte aller Proben lagen die pH-Werte noch im Bereich vom deionisiertem Wasser mit pH 5 bis 7. Bei 50 % der Eluate sind somit pH und Leitfähigkeit durch die Bauprodukte nicht messbar beeinflusst worden.

Der Blindwert im Schüttelversuch ergab eine nicht erwartete Leitfähigkeit von 18 µS/cm, sodass ein gewisser Eintrag über die Flaschen vermutet werden kann.

Aufgrund der Screening-Ergebnisse wurden 20 Bauprodukte für eine erneute Elution im DSLT oder Schüttelverfahren ausgewählt. Die für die Ökotoxizitätsprüfung ausgewählten (frischen) Bauprodukte wurden nachfolgend in drei Serien im DSLT eluiert (vgl. Anhang 2, Tabellen 2-3 bis 2-5 sowie 2-7). TOC, pH und Leitfähigkeit wurden bestimmt sowie diese Parameter zusätzlich nochmals nach Auftauen der Proben im Labor der Hydrotox GmbH analysiert (vgl. Tabelle 3).

Tabelle 3: Vergleichsmessungen Summenparameter¹⁸

		TOC mg/L			CSB mg/L	Leitfähigkeit µS/cm		
		Erstes DSLT-Screening	Eluate für Ökotox *)	Hydrotox-Messungen		Erstes DSLT-Screening	Eluate für Ökotox	Hydrotox-Messungen
BAM-1	PUR-Schaum	4,1	16	28,6	43,4	1,3	4,7	21
BAM-2	Fugendichtmasse, Acryl	723	453	469,1	1549	131	274	280
BAM-4	Acrylharz-Dichtmasse	724	390		1062	3	4,8	10,3
BAM-5	Kanalrohr	< 1 (BG)		1,1		3,4	10,9	10,9
BAM-6	Fallrohr	< 1 (BG)		1,7		3,2	15,9	15,9
BAM-7	Flüssig-Kunststoff	7,1				2,7		
BAM-8	Acrylglas	< 1 (BG)		1,4		0,7	5,2	5,2
BAM-10	PVC-Platte	< 1 (BG)		1,4		1,8	5,2	5,2
BAM-11	Wood-Plastic-Composite (WPC)	81		68,3		n.d.	345	345
BAM-12	PC-Hohlkammerplatte	< 1 (BG)		0,6		0,7	1,6	1,6
BAM-14	Sportbodenbelag (für außen)	4,8	5,6	7,3		7,3	20	24,6
BAM-22	Bitumendickschicht		48	44,4	136		339	323
BAM-G1	EPDM Granulat **)		52,5	61,2	82,3		201	198
BAM-G2	TPES Granulat		23,8	29,9	71,5		197	198
HSR-2	EPDM (Dachbahnen)	6,2	6,2	9		14,5	14,5	17,9
HSR-3	FKS Flüssigkunststoffabdichtung (Dachbahnen)	69,3	69,3	95,3		23,5	23,5	31,5
HSR-6	PVC (Kunststoffbahn für Dachabdichtungen)	3,6	3,6	2,3		10,7	10,7	5,6
HSR-7	Elastomerbitumen-Dichtungsbahn (Wurzelfest)	2,5	2,5	1,9		19,8	19,8	19,6
HSR-10	PET Multifil mit Polymerschutzmantelung (Geotextil)	7,8	7,8	3,2		11,6	11,6	18,8
HSR-12	Kern: Polyamid Monofilament, Auflagen: PP Vlies / PVC-Bahn	46,9	46,9	35,4	137	15,5	15,5	17,4

*) Von der BAM bzw der HSR für die Ökotoxprüfungen hergestellt Eluate.

**) Untypisches CSB/TOC-Verhältnis, Nachtestung erforderlich.

Bei den Bauprodukten BAM-2 und -4 gab es deutliche Abweichungen sowohl hinsichtlich des TOC als auch der Leitfähigkeit, die auf eine schlechte Reproduzierbarkeit der Elution bzw. auf eine mangelnde Probenstabilität hinweisen.

¹⁸ Es sind nur Vergleichsmessungen dokumentiert, die vollständigen Daten finden sich im Anhang 2 (Tabelle 2-1 bis Tabelle 2-5).

Die chemische Charakterisierung der Proben ergab bei den Bauprodukten, die für die reale Anwendung aus zähflüssigen Vorprodukten hergestellt wurden, z.T. sehr hohe TOC-Werte von bis zu 724 mg/L (vgl. Fugendichtmasse BAM-2 und -3, Acrylharzdichtmasse BAM-4, siehe Tabelle 2-1 im Anhang). Es wurde vermutet, dass ein beträchtlicher Teil des TOC aus Lösungsmitteln stammt und während Lagerung bzw. dem Versand verdunsten könnte. Bei einigen Eluaten (insbesondere BAM-1, -2 und 4) ergab sich deshalb eine deutliche Abweichung vom TOC-Wert, was als Hinweis auf schlecht reproduzierbare Elutionsverhältnisse und/oder dem Verlust flüchtiger Lösemittel gedeutet werden kann (vgl. Tabelle 3). Die starke Streuung der dazugehörigen Analysenresultate in Wiederholungsversuchen zeigt, dass die Prüfkörpervorbereitung anspruchsvoll und schlecht reproduzierbar ist. Demgegenüber lassen sich mit festen Materialien, z.B. flexible Dachbahnen, Resultate erzielen, die nur eine Streuung von 10-20% aufwiesen. Die Leitfähigkeit im Eluat erreichte bei der Acryl-Fugendichtmasse (BAM-2) einen maximalen Wert von 131 $\mu\text{S}/\text{cm}$. In den anderen Eluaten wurden Werte im Bereich von 10-20 $\mu\text{S}/\text{cm}$ bestimmt (vgl. Tabelle 3).

Die Dachbahnen HSR-1 und -2, -4 bis -8, sowie die XPS-Dämmplatte HSR-15 zeigen fast durchgehend keine TOC-Gehalte >10 mg/L oder erhöhte Leitfähigkeiten an, obwohl mit teils nur halb so großer Wassermenge eluiert wurde wie im DSLT empfohlen wird (vgl. Anhang 2-2). Für die EPDM-Bahn (HSR-2) liegen Erfahrungswerte zur Auswaschung von Zink im Bereich von 0.15 mg/l vor. Für HSR-8 ist zur Auswaschung von Mecoprop bekannt, dass die Konzentrationen bei rund 0.5 bis 0.05 mg/l liegen (Burkhardt et al. 2008). Der Flüssigkunststoff HSR-3 mit rund 50 mg/L TOC sticht hervor.

Unter den Geotextilien, -Gittern und Kompositen sind die TOC-Gehalte in den Eluaten von HSR-9 bis -11 sowie HSR-13 und -14 nicht wesentlich erhöht bzw. erfüllen selten die Auswahlkriterien. Nur der Geokomposit HSR-12 ist auffallend mit einem TOC-Gehalt von 40-50 mg/L (vgl. Anhang 2-2).

Die Auslaugprüfungen finden bei Raumtemperatur statt. Stoffdiffusion ist aber stark durch den Konzentrationsgradienten an der Materialoberfläche (Anreicherungszone) und die Temperatur gesteuert. Da in der Realität auf Dachoberflächen im Sommer durchaus Temperaturen von 30 – 70°C erreicht werden, sind einige Produkte (HSR-1 bis -4, -7) ergänzend bei +50°C eluiert worden. Hierbei zeigte sich, dass die TOC-Gehalte sofort um einen Faktor 3-4 ansteigen und beispielsweise in Probe HSR-3 rund 205 mg/L TOC ergaben. Die Leitfähigkeiten erhöhten sich um einen Faktor 2 (Daten nicht dargestellt).

Für die Ökotoxizitätstests wurden die 20 Bauprodukte in drei Serien eluiert. In der 1. Serie führte Hydrotox den DSL-Test mit den Proben BAM-5, -6, -8 und BAM-10 bis -12 durch, in der 2. Serie mit allen HSR-Proben und in einer 3. Serie mit den restlichen BAM-Produkten. Die Bauprodukte BAM-1, -11 und -22 sowie HSR-3 und -12 mit hohen TOC und Leitfähigkeiten in den Eluaten erfüllten die festgelegten Auswahlkriterien für die zweite Auslaugprüfung mit nachfolgenden Ökotoxversuchen. Die anderen gewählten 15 Produkte waren hinsichtlich des TOC eher unauffällig. Der hohe TOC von BAM-2 und -4 ist vermutlich durch leicht flüchtige Komponenten beeinflusst. Weitere Proben wurden vertieft untersucht, da die Zusammensetzung eine Auswaschung von spezifischen Komponenten erwarten ließ und deren Anwendungsbereiche mit intensivem Wasserkontakt in Zusammenhang steht. Dies gilt für die EPDM-Bahn mit Zink (HSR-2), die PVC-Bahn mit Weichmachern (HSR-6), die wurzelfeste Bitumenbahn mit Mecoprop (HSR-8), und das Geotextil mit Polymerummantelung (HSR-10). Bei den BAM-Produkten ergaben sich darüber hinaus Hinweise aus den Elementanalysen zu eluierbaren Begleitkomponenten.

Die Substanzen, die mit hoher Wahrscheinlichkeit anhand ihres Massenspektrums erkannt wurden, und für die auch plausibel ist, dass sie in Bauprodukten eingesetzt sind, sind in den Tabellen 4 und 5 zusammengefasst. Diese Zusammenstellung ist als Hinweis auf die Identität auswaschbarer Substanzen zu werten. Im Anhang 5 sind weitere Details zur GHS-Einstufung der identifizierten Stoffe hinsichtlich Umweltgefahren wiedergegeben, wobei ein direkter Vergleich nicht möglich ist, da die Konzentrationen in den Eluaten nicht bekannt sind und weitere, nicht identifizierte ökotoxikologisch bedenkliche Stoffe enthalten sein können.

Tabelle 4: Qualitative GC/MS Analytik in Eluaten des DSL-Tests

Code	Beschreibung	Chemische Verbindungen
BAM-1	PUR-Schaum	Triphenylphosphat (TPP)
		TPP-Transformationsprodukte (Phenolringe methyliert)
		Tris(2-chlorisopropyl)phosphat (TCPP)
		N-Phenylformamid
BAM-2	Fugendichtmasse (Acryl)	Diethylphthalate (DEP)
		1(3H)-Isobenzofuranon
		langkettige fluorhaltige Ester
		langkettige Kohlenwasserstoffe
BAM-3	Fugendichtmasse (silanmodifiziertes Polymer)	2-Octyl-3(2H)-isothiazolone
		1(3H)-Isobenzofuranon
BAM-4	Acrylharz-Dichtmasse	Phthalate, Einzelsubstanzen nicht sicher identifiziert
BAM-5	PVC-U-Rohr, Kanalrohr, orange	Benzophenon
		Trichloressigsäurehexadecylester
		langkettige Kohlenwasserstoffe
BAM-6	PVC-Fallrohr, grau	Squalen
		langkettige Kohlenwasserstoffe
BAM-7	Flüssig-Kunststoff	2-Chlorpropionsäureoctadecylester
		Phthalate, nicht sicher identifiziert
		langkettige fluorhaltige Ester
		langkettige Kohlenwasserstoffe
BAM-8	Acrylglas	1-Chloronadekan
		langkettige Kohlenwasserstoffe
BAM-11	Holz-Kunststoff-Verbundwerkstoff	Benzophenon
		Squalen
		Phthalate, Einzelsubstanzen nicht sicher identifiziert
		Dichloressigsäureheptadecylester
		langkettige Kohlenwasserstoffe
BAM-12	PC-Hohlkammerplatte	Diisodecylphthalate (DIDP)
		Trichloressigsäurehexadecylester
		langkettige Kohlenwasserstoffe
BAM-13	Dichtmasse	Diethylphthalat (DEP)
		n-Buttersäure-2-ethylhexylester
		1(3H)-Isobenzofuranon
		langkettige fluorhaltige Ester
		langkettige Kohlenwasserstoffe
BAM-14	EPDM-Sportboden	2-Mercaptobenzothiazol
		Transformationsprodukte von 2-Mercaptobenzothiazol
		langkettige fluorhaltige Ester
		langkettige Kohlenwasserstoffe
BAM-18	XPS	E-15-Heptadecenal

Tabelle 5: GC/MS Analytik in Eluaten des einstufigen Schüttelverfahrens

Code	Beschreibung	Chemische Verbindungen
BAM-G1	EPDM Granulat	2-Mercaptobenzothiazol
		Transformationsprodukte von 2-Mercaptobenzothiazol
		2(3H)-Benzothiazolon
		Trimethylthioharnstoff
		langkettige fluorhaltige Ester
		langkettige Kohlenwasserstoffe
BAM-G2	TPES Granulat	2,2,6,6-Tetramethyl-4-piperidon (Triacetonamin, TAA)
		Trimethylthioharnstoff
		2(3H)-Benzothiazolon
		2-Mercaptobenzothiazole
		langkettige fluorhaltige Ester
		langkettige Kohlenwasserstoffe

3.2. Ökotoxizitätstests und Auswahl der Bauprodukte

Die Ergebnisse der Ökotoxizitätstests mit den 20 ausgewählten Produkten sind in der Tabelle 6 dargestellt (vgl. Auswahlverfahren in Kapitel 3.1). In der 1. Serie wurde als höchste zu testende Konzentration die Verdünnungsstufe G2 gewählt, da davon ausgegangen wurde, dass die Organismen in der G1 (deionisiertes Wasser) nicht lebensfähig sind. In der 2. und 3. Serie wurde teils auch die G1 mitgetestet und es zeigte sich, dass auch Daphnien und Fischeier in diesem Medium überleben, vermutlich, da durch die pH-Einstellung geringe Mengen an Elektrolyten zugeführt werden. Die in der G1 ggf. beobachteten ökotoxischen Effekte sollten jedoch immer kritisch hinterfragt werden.

In den drei mitgeführten Kontrollansätzen im DSL-Test und Schütteltests wurden keine bzw. unwesentliche Toxizitäten bestimmt. Dies belegt, dass die für die Elution eingesetzten Materialien keine Effekte induzieren, die fälschlicherweise den Bauprodukten zugeordnet werden könnten. Einzige Ausnahme ist die in der G1 mit dem Algentest beobachtete Hemmwirkung mit den BAM-DSL- und BAM-Schütteltest-Kontrollen, die allerdings mangels Probenvolumen nicht durch weiterführende Tests mit Konzentrationsreihen verifiziert werden konnte. Die Mitführung von Kontrollansätzen wird daher empfohlen.

Vier Eluate (BAM-14, BAM-G1, HSR-2, HSR-3) wiesen in mehreren Tests eine sehr hohe Ökotoxizität aus. Im Leuchtbakterientest wurden Verdünnungsstufen bis LID_{1b} 1536, im Algentest und Daphnientest von LID_A bzw. $LID_D \geq 192$ bestimmt. Demgegenüber war die Daphnientoxizität mit wenigen Ausnahmen (bis LID_D 192) und die Fischeitoxizität (bis $LID_{Egg} > 8$) deutlich geringer. Keine der untersuchten Proben war im umu-Test genotoxisch.

Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse der Eluate war bei den meisten Proben gut (± 1 Verdünnungsstufe). Im Anhang 3 sind die Einzelergebnisse dokumentiert. Im Leuchtbakterientest (einem Kurzzeittest mit 30 Minuten Expositionszeit) wurden optimale Dosis/Wirkungsbeziehungen beobachtet und in Wiederholungsprüfungen auf derselben Verdünnungsstufe Abweichungen von wenigen Prozent beobachtet. Auch beim Fischeitest und Algentest ergab sich auf Ebene der einzelnen Verdünnungsstufen meist eine gute Reproduzierbarkeit (vgl. BAM-4 bzw. HSR-3).

Ausnahmen, bei denen die Reproduzierbarkeit nicht zufriedenstellend war, sind:

- Der Daphnien-Test mit BAM-1 ergab in der 1. Prüfung bei der G2 eine Mortalität von 30%, in der Wiederholung ergab sich bei G1 eine Mortalität von 10% ($G_D = 1$).
- Im Daphnien-Test mit BAM-11 wurde in der 1. Prüfung bei der G2 eine 100%tige Mortalität beobachtet, in der Wiederholung ergab sich ein G_D -Wert von 2.
- Im Fischeitest mit BAM-14 wurde in der 1. Prüfung bis zur G4 eine Mortalität von 30% bestimmt, in der Wiederholung wurde bei der G3 keine Toxizität beobachtet.
- Der Fischeitest mit den Proben BAM-G1, BAM-G2 und BAM-14 ergab deutlich Deformationen der Wirbelsäule, die als Bewertungskriterium zwar in der DIN-Norm, nicht aber in der ISO-Norm berücksichtigt werden. Diese Effekte waren aber schlecht reproduzierbar.

Grundsätzlich setzt sich die Variabilität der Ergebnisse aus der Variabilität der Elutionsbedingungen und der Ökotoxizitätstests zusammen und wird zudem von der Stabilität der Proben überlagert:

- a) Variabilität der Elutionsbedingungen: Um genügend Probenvolumen zu gewinnen, wurden bis zu 6 Parallelansätze angesetzt. Häufig wurde beobachtet, dass die Schwankung der Elutionsrate zu Versuchsbeginn am größten ist. Dies sollte durch Vereinigung des 1. und 2. Eluates im DSL-Test ausgeglichen werden. Dennoch sind die Elutionsversuche nur bedingt reproduzierbar, da sich die Verfügbarkeit der Substanzen an der Oberfläche von Prüfkörper zu Prüfkörper unterscheiden kann und Abwascheffekte die reine Stoffdiffusion beeinflussen können.
- b) Variabilität der Ökotoxizitätstests: Biologische Testsysteme unterliegen per se einer gewissen Schwankungsbreite. Im Rahmen von Ringversuchen zum Daphnientest und Leuchtbakterientest wurde eine Schwankung der Ergebnisse um ± 1 Verdünnungsstufen als akzeptabel angesehen.

c) Mangelnde Stabilität der Eluate: Wenn die für die Toxizität verantwortlichen Substanzen nicht stabil sind und während der Probenlagerung abgebaut oder an der Gefäßwand adsorbiert werden oder verflüchtigen, äußert sich das in einer Abnahme der Toxizität.

Tabelle 6: Ökotoxizität der Eluate

Produkt lfd Nr.	Messwerte Hydrottox					Algen		Daphnien *		Fischeier **	Leucht- bakterien	umu- Test	Abbau % CSB
	Produkt	TOC mg/l	CSB mg/L	pH- Wert	LF µS/cm	LID _A Desmodesmus	LID _A Pseudokirchn.	LID _D 24 h	LID _D 48 h	LID _{Egg}	LID _L	LID _{EU}	
BAM-1	PUR-Schaum	28,6	43,4	4,2	21	-	32	1	1	1	≤ 2	1,5	
BAM-2	Fugendichtmasse, Acryl	469,1	1549	6,2	280	-	32	3	3	1	4	1,5	75,3
BAM-4	Acrylharz-Dichtmasse	250,2	1062	4,7	10,3	-	24	2	2	12	16	1,5	77,1
BAM-5	Kanalrohr	1,1	-	8,1	10,9	≤ 2	-	≤ 2	≤ 2	≤ 2	≤ 2	1,5	
BAM-6	Fallrohr	1,7	-	8,1	15,9	≤ 2	-	≤ 2	≤ 2	≤ 2	≤ 2	1,5	
BAM-8	Acrylglas	1,4	-	8,1	5,2	≤ 2	-	≤ 2	≤ 2	≤ 2	≤ 2	1,5	
BAM-10	PVC-Platte	1,4	-	7,6	5,2	≤ 2	-	≤ 2	≤ 2	≤ 2	≤ 2	1,5	
BAM-11	Wood-Plastic-Composite (WPC)	68,3	-	7,9	345	3	-	2	2	≤ 2	≤ 2	1,5	87,0
BAM-12	PC-Hohlkammerplatte	0,6	-	7,7	1,6	≤ 2	-	≤ 2	≤ 2	≤ 2	≤ 2	1,5	
BAM-13	Dichtmasse	6,1	-	5,8	17,8	-	8	1	1	1	6	1,5	
BAM-14	Sportboden	7,3	-	5,1	24,6	-	64	6-24	24	3	192	1,5	
BAM-22	Bitumendickschicht	44,4	136	6,3	323	-	4	2	2	6	6	1,5	82,7
BAM-G-1	EPDM-Granulat	61,2	82,3	6,0	208	-	192	48-192	192	4	1536	1,5	91,9
BAM-G-2	TPES-Granulat	29,9	71,5	6,0	202	-	16	1	1	1	64	1,5	44,0
Hydrottox-DSL	Blindwert Glasaquarium	1,2	-	8,2	2,4	≤ 2	-	≤ 2	≤ 2	≤ 2	≤ 2	1,5	
BAM-DSL	Blindwert Glasaquarium	0,6	-	5,8	8,4	-	12	1	1	1	≤ 2	1,5	
BAM-Schütteltest	Blindwert Schüttelkolben	1,0	-	5,1	12,2	-	8	1	1	1	≤ 2	1,5	
HSR-2	EPDM (Dachbahnen)	9,0	-	7,1	17,9	12	16	4	4	1	128	1,5	
HSR-3	FKS Flüssigkunststoff- abdichtung (Dachbahnen)	95,3	310	4,4	31,5	>48	512	3	3	3	12	1,5	45,9
HSR-6	PVC (Kunststoffbahn für Dachabdichtungen)	2,3	-	6,6	5,6	1	1	1	1	1	≤ 2	1,5	
HSR-7	Elastomerbitumen- Dichtungsbahn (Wurzelfest)	1,9	-	6,8	19,6	1	1	1	1	1	≤ 2	1,5	
HSR-10	PET Multifil mit Polymer- schutzummantelung (Geotextil)	3,2	-	6,4	18,8	1	4	2	2	1	≤ 2	1,5	
HSR-12	Kern: Polyamid Monofilament, Auflagen: PP Vlies / PVC- Bahn. (Geokomposit)	35,4	137	6,8	17,4	≤ 2	3	3	4	2	8	1,5	96,6

LF: Leitfähigkeit

* Daphnientest

BAM-1: Im ersten Test LID > 2 bestimmt (mit 30% Mortalität nach 24 h und 48 h), in der Nachtestung LID = 1.

BAM-11: Im ersten Test LID > 2 bestimmt (mit 30% Mortalität nach 24 h und 60 % nach 48 h)

BAM-14: Im ersten Test LID = 6 nach 24h, in der Wiederholung bzw. Erweiterung LID = 24 nach 24h

BAM -G1: Im ersten Test LID = 48 nach 24 h, in der Wiederholung bzw. Erweiterung LID = 192 nach 24h

** Fischeitest:

HSR-2: 1 Skelettdeformierungen und fehlende Pigmentierung bis G4

BAM-14 : Im ersten Test wurde bei der G4 eine Toxizität von 30% aufgrund fehlender Schwanzablösung bestimmt, in der Whl bei der G3 keinerlei Toxizität aufgrund fehlender Schwanzablösung, wenn aber Somiten als Kriterium berücksichtigt werden dann LID > 16

BAM-G-1: Wenn Somiten als Kriterium gewertet werden dann >1024

BAM G-2: Leichte Wirbelsäulenverkrümmung in G1

Für den Ringversuch kamen vier Produkte, davon ein granulares (BAM-22, BAM-G1, HSR-2 und HSR-3), in die engere Auswahl. Zwei Eluate (BAM-14, BAM-G1) sprachen in allen

Ökotoxizitätstests an, andere zeigten nur im Fischeitest (HSR-2) und/oder Daphnientest (BAM-22) keine bzw. geringe Effekte. Da kein Bauprodukt identifiziert wurde, das im umu-Test genotoxisch war, wurde dieser Test aus dem Ringversuch genommen.

3.3. Abbautests

Die Abbautests wurden mit Eluaten durchgeführt, die einen TOC über etwa 10 mg/L aufwiesen. Der CSB der Proben zu Versuchsbeginn wurde mit Ausnahme der Proben BAM-G1 und BAM-G2 auf 100 mg/L eingestellt. Da der CSB der Eluate von BAM-G1 und BAM-G2 bereits unter 100 mg/L lag und zudem BAM-G1 eine hohe Ökotoxizität aufwies, die auch zu einer Hemmung des Belebtschlammes führen kann, wurden diese Eluate mit einem CSB von 50 mg/L getestet.

Die Proben zeigten überwiegend einen guten Abbau von 75% bis 97% (BAM-2, BAM-4, BAM-11, BAM-22, BAM-G1, HSR-12). Der Abbau des Eluates von BAM-G2 erreichte hingegen lediglich einen Abbau von 44%, der des Eluates von HSR-3 von 46%.

4. Wiederholungsprüfungen

4.1. Anlass

In den Screening-Untersuchungen ergaben sich bei einzelnen Proben bei der chemischen Analytik (TOC, Leitfähigkeit) und den Ökotoxizitätstests z.T. deutliche Abweichungen. Zudem war die Empfindlichkeit der verschiedenen Biotests gegenüber den Eluaten sehr unterschiedlich. Die Kontrollansätze der Elutions- und Ökotoxizitätstests sollten parallel mitgeführt werden, um den Einfluss des Elutionswassers, der Elutionsgefäße, der Probenlagerung und anderer Faktoren auf die Testergebnisse zu erfassen und falsch positive Effekte der Bauprodukte auszuschließen.

Um die endgültige Auswahl der Bauprodukte für den Ringversuch abzusichern, wurden 5 Bauprodukte nochmals im DSL-Test bzw. Schütteltest eluiert sowie anschließend in den Ökotoxizitätstests untersucht. Hiermit soll die Reproduzierbarkeit und Robustheit der Ergebnisse in einem Labor überprüft werden.

In dieser Wiederholungsprüfung wurden sowohl die Auswaschversuche als auch die Ökotoxizitätstests durch Hydrotox durchgeführt, während sie in der ersten Serie durch die BAM bzw. durch HSR vorgenommen wurden. Abweichend war die Probenvorbereitung bei Eluat mit dem granularen Produkt. Während die Abtrennung der Feststoffe vom Eluat bei den Granulaten (BAM-G1 und BAM-G2) in der ersten Serie durch die BAM mittels Druckfiltration mit Glasfaserfiltern (Whatman GF/F 142 mm) erfolgte, wurden die Eluate aus den Schütteltests in

der ergänzenden. Serie gesiebt (0,5 mm Porenweite) und nachfolgend 10 min bei 3000 g zentrifugiert. Bei den Eluaten aus den DSLT Tests war keine Eluatvorbehandlung erforderlich. Die Durchführung der Ökotoxizitätstests erfolgte analog zum Screening.

4.2. Ergebnisse der Wiederholungsprüfungen

Durch die Wiederholungsprüfung wurde die laborinterne Variabilität der Auswaschtests zusammen mit der Variabilität der Ökotoxizität abgebildet. Dieser Vergleich gab erste Hinweise zur Reproduzierbarkeit im nachfolgenden Ringversuch. In den Tabelle 7 und 8 sind die chemischen Parameter bzw. die Ergebnisse der Ökotoxizitätstests beider Versuchsserien dargestellt.

Tabelle 7: Vergleichsmessungen chemische Parameter bei Hydrotox

Ild Nr.	Produkt	Sept 2013			Okt 2014		
		TOC mg/l	pH-Wert	LF µS/cm	TOC mg/l	pH-Wert	LF µS/cm
HSR-2	EPDM (Dachbahn)	9,0	7,1	17,9	5,2	6,9	13,9
HSR-3	FKS (Dachbahn)	95,3	4,4	31,5	36,3	4,4	22,9
BAM-22	Bitumendickschicht	44,4	6,3	323	25,4	8,1	247
BAM-G1	EPDM Granulat	61,2	6	208	46,4	7,6	187
BAM-G2	TPES Granulat	29,9	6	202	24,1	7,6	213
Blank DSLT		1,2	8,2	2,4		6,1	5,4
Blank Schütteltest		1,0	5,1	12,2	0,2	5,8	4

Tabelle 8: Vergleichsmessungen Ökotoxizitätstests

Ild Nr.	Leuchtbakterien		Daphnien				Fischei		Algen	
	2013	2014	2013		2014		2013	2014	2013	2014
			24h	48h	24h	48h				
HSR-2	128	64	4	4	≤2	≤2	1	1	12	6
HSR-3	12	8	3	3	2	4	3	2	512	≤192
BAM-22	6	8	1	2	16	16	6	12	4	>6
BAM-G1	1536	1024	192	192	192	384	4	4***	192	192
BAM-G2	64	48	1	1	2	2	1	1**	16	4
Blank DSLT	≤2	≤2	1	1	2	2*	1	1	>1	1
Blank Schütteltest	≤2	≤2	1	1	≤2	≤2	1	1	>1	≤2

*im ersten Test LID > 3, in diesem Test auch immer noch 10% Tote in G2 und G3

**Wirbelsäulenverkrümmung

*** G4 bis G8 Wirbelsäulenverkrümmung, keine Pigmente

Es zeigt sich, dass der TOC um einen Faktor 1,5 - 3 schwanken kann. Hierbei fallen insbesondere die aushärtenden Bauprodukte HSR-3 (Faktor 2,6) und BAM-22 (Faktor 1,7) auf. Bei BAM-22 verhielt sich die Probe anders als in der ersten Serie: Die Schicht löste sich während des DSL-Tests komplett von der Glasplatte und schwamm auf, so dass die exponierte Fläche zu einem nicht definierten Zeitpunkt zunahm. Zudem quoll die Bitumendickschicht in Wasser zu einer breiartigen Masse auf. Erstaunlicherweise lag der TOC trotz dieser Schwierigkeiten sogar niedriger als in der ersten Serie. Im Großen und Ganzen beschreiben die chemischen Parameter der beiden Serien jedoch eine vergleichbare Beschaffenheit der Eluate.

In den Ökotoxizitätstests lagen die Ergebnisse im erwarteten Bereich. Die Abweichung der LID in beiden Untersuchungsreihen beträgt meist +/- 2 Verdünnungsstufen. Dies gilt als akzeptabel, da sich die Variabilität aus Probenherstellung, Auswaschtest und Biotests aufaddieren. Auch die Ökotoxizität der Probe BAM-22, die offensichtlich nicht richtig ausgehärtet war, war mit der ersten Serie vergleichbar. Die Reproduzierbarkeit der Leuchtbakterientests war besonders gut, während die Reproduzierbarkeit im Algentest kritisch zu bewerten ist. Allerdings wurde in der ersten BAM-Serie auch eine gewisse Algtoxizität in den Blankproben beobachtet, was auf eine Kontamination des Verdünnungswassers hindeutet. Es sei darauf hingewiesen, dass auch in der Wiederholungsprüfung in der Blankprobe des Schütteltests eine Daphnientoxizität bestimmt wurde, die vermutlich auf eine Verunreinigung des Probengefäßes (PE-Flasche) zurückzuführen war. In der Wiederholungsprüfung mit einer anderen Rückstellprobe verhielt sich die Blankprobe unauffällig. Dies zeigt, dass die Mitführung von Blanks aus den Leachingtests über alle Versuchsschritte (vom Verdünnungswasser über die Auswasch- bis zu den Probenahmegefäßen) zur Absicherung der Ergebnisse und zur Qualitätssicherung geboten ist.

5. Ergebnisse des Ringversuches

Ziel des Ringversuches war es, die laborübergreifende Streuung des Gesamtverfahrens der ökotoxikologischen Charakterisierung von Bauprodukten bei Eluat- und Biotests zu bestimmen. Auf Grundlage der vorangegangenen Screening-Untersuchungen (vgl. Kapitel 3) und der Wiederholungsprüfung (vgl. Kapitel 4) wurden die beiden Bauprodukte BAM-G1 (Granulat) und HSR-2 (Dachabdichtungsbahn) ausgewählt. Beide bestehen aus EPDM Polymeren (Kautschuk). Das körnige Bauprodukt wurde im Schüttelverfahren eluiert, das flächige Bauprodukt im DSL-Test. Die Randbedingungen für die Herstellung der Eluate, der Probenvorbehandlung und Durchführung der Biotests wurden in einem detaillierten Prüfplan be-

schrrieben (vgl. Anhang 6). Für die Durchführung der Leachingtests und der Biotests wurden Vorlagen erstellt. Zudem wurden kurze Demonstrationsvideos für die Durchführung der Leachingtests angefertigt und den Teilnehmern zur Verfügung gestellt. Wesentliche Punkte waren:

- Die Eluate wurden (mit einer Ausnahme) von den beteiligten Laboren selber hergestellt.
- Es wurden zusätzlich mitgeführte Verfahrenskontrollen (Blanks) mitgetestet, um mögliche Artefakte über die Randbedingungen und Gerätschaften zu erfassen und falsch positive Ergebnisse auszuschließen.
- Die Vorbehandlung des BAM-G1 Granulates sollte vorzugsweise durch Sieben (0.5 ± 0.2 mm) und nachfolgende Zentrifugation (2000 g, 30 Minuten) oder Filtration mittels vorgespülter Glasfaserfilter ($0.45 \mu\text{m}$) erfolgen. Eine Vorbehandlung der DSLT-Eluate mit HSR-2 war nicht erforderlich.
- Der aus vorangegangenen Versuchen erwartete Konzentrationsbereich, in dem die einzelnen Biotests angesetzt werden sollten, wurde den Laboren mitgeteilt, um den Aufwand für die Vortestung zu reduzieren.
- Es wurde empfohlen, das Eluat auf mehrere Gefäße zu verteilen und bis zur Untersuchung bei $< -18^\circ\text{C}$ zu lagern, damit die verschiedenen Ökotoxizitätstests unabhängig voneinander durchgeführt werden konnten und für eventuelle Nachtestungen genügend frisch aufgetautes Eluat vorhanden war.

Insgesamt beteiligten sich 17 Labore aus 5 Ländern an dem Ringtest: Deutschland (12), Österreich (2), Belgien (1), Tschechien (1) und Frankreich (1). Jedes Labor führte jeweils einen Elutionsprozess für die Prüfkörper BAM-G1 und HSR-2 durch. Die Eluate wurden in vier Biotests: dem Algentest nach ISO 8692:2012, dem Daphnientest nach ISO 6341:2012, dem Leuchtbakterientest nach DIN EN ISO 11348 Teil 1-3 (2009) und dem Fischeitest nach ISO 15088:2007 untersucht.

Die Auswertung erfolgte zentral mittels Excel, ProLab Standard und der Statistiksoftware ToxRat® in Anlehnung an DIN ISO 5725-2, wobei wegen der speziellen Eigenschaften von Biotests in der Ökotoxikologie bestimmte Modifikationen erforderlich waren. So konnte die „Richtigkeit der Ergebnisse“ nicht ermittelt werden, da die „wahre“ Toxizität der im vorliegenden Ringtest untersuchten Eluate aus Bauprodukten nicht bekannt war. Als Maß für die Präzision der Versuchsergebnisse wird die laborübergreifende Streuung angegeben, da die

Ringtestteilnehmer den gesamten Prozess aus Elution und Biotestdurchführung nur je einmal durchgeführt haben, d.h. die laborinterne Wiederholstandardabweichung (Wiederholbarkeit, repeatability) ist nicht berechnet worden. Aus Wiederholungsprüfungen im Labor Hydrotox war jedoch bekannt, dass die laborinterne Wiederholbarkeit akzeptabel ist (vgl. Kapitel 4). Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse kann deshalb nur durch die laborübergreifende Streuung angenähert werden. Die auf diese Weise ermittelte Reproduzierbarkeit stellt somit die Untergrenze der zu erwartenden Reproduzierbarkeit der geprüften Verfahren dar.

Die Ergebnisse der chemischen Parameter sind in Tabelle 9 wiedergegeben.

Tabelle 9: Ringversuchsergebnisse chemische Parameter

Labor- code	BAM G1				HSR-2		
	pH	Leitfähigkeit [μ S/cm]	TOC [mg/L]	Pre- treatment	pH	Leitfähigkeit [μ S/cm]	TOC [mg/L]
L01	8,2	163	48,4	s/z	6,9	8,6	1,5
L02	7,4	180	43,0	s/z	6,6	7,6	2,9
L04	7,7	180	N/A	s/z/f	6,4	9,0	N/A
L05	8,3	190	43,6	s/z	6,6	9,2	2,1
L06	7,9	189	45,8	s/z	7,1	8,5	1,8
L07	8,2	204	62,6	f	6,9	13,6	1,8
L08	8,1	183	51,0	s/z	6,1	10,3	1,8
L09	8,1	194	48,0	s/z	7,1	7,5	1,8
L10	8,1	179	47,1	s/z	6,7	8,5	1,5
L11	8,3	183	56,7	f	7,1	20,0	2,2
L12	7,9	202	54,0	s/z	7,2	10,2	1,4
L13	8,5	195	44,0	s/f	7,4	8,8	1,5
L14	8,2	195	N/A	z	7,1	22,0	N/A
L15	7,5	246	N/A	s/z	7,9	24,2	N/A
L16	7,5	200	51,0	s/f	6,8	9,0	1,9
L17	8,1	182	N/A	z	7,9	10,0	N/A
L18	7,8	191	N/A	s/z	6,9	8,8	N/A
n	17	17	12		17	17	12
Mittelwert	8,0	191,6	49,6		7,0	11,5	1,8
Std.	0,3	17,3	5,9		0,5	5,3	0,4

N/A: nicht untersucht

Vorbehandlung: s = Sieben; z = Zentrifugieren, f = Filtrieren

Hierbei zeigte sich eine akzeptable Streuung der Leitfähigkeit und des TOC. Der pH wird aufgrund der Verwendung deionisierten Wassers für die Elution als nicht aussagekräftig eingestuft.

Bei der Probenvorbehandlung der Eluate wurden alle empfohlenen Möglichkeiten (Siebung, Zentrifugation, Filtration) und deren Kombinationen genutzt. Der Empfehlung, die Eluate

tiefzufrieren, sind nicht alle Laboratorien gefolgt. Mehrere Labore verwendeten frisches oder gekühltes Eluat.

In einem ersten Schritt der Biotestauswertung wurde die Validität der Testergebnisse anhand der in den Testrichtlinien vorgegebenen Kriterien überprüft (je nach Test Kontrollmortalität, EC₅₀ Referenzsubstanz, Sauerstoffgehalt, Variabilität bestimmter Kennwerte, Kontroll-Wachstumsrate, pH-Änderung). Anschließend wurden für jeden Biotest drei verschiedene Verfahren zur Ausreißeranalyse angewendet. Testergebnisse, die mit mindestens zwei Verfahren als Ausreißer (99% Signifikanzniveau) eingestuft wurden oder zweimal als Fastausreißer (95% Signifikanzniveau) und einmal als Ausreißer, wurden von weiteren Auswertungen ausgeschlossen.

Die Zusammenfassung der Ergebnisse ist in Tabelle 10 (BAM-G1) und Tabelle 11 (BAM-G2) wiedergegeben. Für die detailliertere Auswertung wird auf Anhang 7 verwiesen.

Tabelle 10: Ringversuchsergebnisse Biotests BAM-G1

BAM-G1								
	EC50				LID			
	Daphnia	Algae	Bacteria	Fish	Daphnia	Algae	Bacteria	Fish
n (insgesamt)	17	12	14	12	17	12	14	12
Invalide Tests	0	4	1	0	0	4	1	0
Ausreißer	0	0	1	1	0	0	1	1
Keine ECx/LID erreicht	1	0	1	0	2	2	2	0
n (final)	16	8	11	11	15	6	10	11
Erwartungswert	0,78	2,39	1,07	24,56	552,2	196,9	995,0	10,86
Geometr. Mittel	0,52	1,61	0,76	19,64	396	152,4	804,0	8,66
95% CI	0,34 - 0,81	0,87 - 2,98	0,46 - 1,23	13,23 - 29,16	262 - 598	85,9 - 270	536 - 1204	5,82 - 12,89
95% PI	0,09 - 3,02	0,28 - 9,23	0,15 - 3,85	5,30 - 72,83	80 - 1961	37,5 - 620	223 - 2891	2,32 - 32,40
99% PI	0,05 - 5,21	0,16 - 15,91	0,09 - 6,39	3,52 - 109,5	49 - 3227	24,2 - 959	150 - 4305	1,54 - 48,84
s _R	0,86	2,64	1,06	18,44	537,8	161,1	725,4	8,22
CV _R %	110,5	110,2	99,7	75,1	97,4	81,8	72,9	75,7

n=Anzahl, CI = Vertrauensbereich („confidence interval“); PI= Toleranzbereich („Prediction Interval“);s_R = Vergleichsstandardabweichung = reproducibility“, CV% = Variationskoeffizient in %.

Tabelle 11: Ringversuchsergebnisse Biotests HSR-2

	HSR-2							
	EC50				LID			
	Daphnia	Algae	Bacteria	Fish	Daphnia	Algae	Bacteria	Fish
n (insgesamt)	17	12	14	12	17	12	14	12
Invalide Tests	0	5	1	0	0	5	1	0
Ausreißer	1	0	0	0	1	0	0	0
Keine ECx/LID ableitbar	2	2	1	0	3	0	1	0
n (final)	14	5	12	12	13	7	12	12
Erwartungswert	65,08	45,55	15,86	n.d.	2,39	8,31	59,46	1,25
Geometr. Mittel	64,80	42,81	12,70	n.d.	2,34	5,56	47,73	1,2
95% CI	61,7 - 68,0	31,4 - 58,3	8,7 - 18,5	n.d.	2,09 - 2,61	2,6 - 12,2	32,8 - 69,5	1,0 - 1,4
95% PI	54,0 - 77,8	21,5 - 85,4	3,4 - 46,9	n.d.	1,56 - 3,50	1,0 - 32,0	13,0 - 175	0,6 - 2,2
99% PI	51,0 - 82,3	17,3 - 105,9	2,3 - 70,5	n.d.	1,38 - 3,96	0,6 - 55,2	8,7 - 262	0,5 - 2,7
s _R	6,1	16,57	11,87	n.d.	0,50	9,14	44,15	0,4
CV _R %	9,3	36,4	74,8	n.d.	20,7	110,3	74,3	32,1

n=Anzahl, CI = Vertrauensbereich („confidence interval“); PI= Toleranzbereich („Prediction Interval“); s_R = Vergleichsstandardabweichung = reproducibility“, CV% = Variationskoeffizient in %.

Nach Ausschluss der nicht validen bzw. als Ausreißer identifizierten Biotests sowie derjenigen Tests ohne auswertbare Dosis-Wirkungsbeziehung basieren die statistischen Auswertungen des vorliegenden Ringtests auf 5 bis 8 Algentests sowie jeweils 10-16 Daphnientests, Leuchtbakterientests und Fischeitests. Mit Ausnahme des Algentests mit HSR-2-Eluat sind alle Ergebnisse statistisch aussagekräftig.

Als Toxizitätsmaße wurden LID- und EC₅₀-Werte bestimmt. Das Eluat von Prüfkörper BAM-G1 ergab generell deutlich niedrigere EC₅₀-Werte als das von Prüfkörper HSR-2, d.h. es war erheblich toxischer. Allerdings sind die Elutionsbedingungen nicht vergleichbar, so dass hieraus kein Ranking der Bauprodukte vorgenommen werden sollte. Leuchtbakterien-, Algen- und Daphnien waren grundsätzlich in der Lage, eine toxische Wirkung und die Höhe der Toxizität anzuzeigen. Der Fischeitest erwies sich als deutlich unempfindlicher als die übrigen Tests und zeigte mit HSR-2-Eluat gar keine Effekte. Die übrigen Biotests waren je nach Eluat wie folgt unterschiedlich sensitiv:

- BAM-G1-Eluat, Sensitivität: Daphnientest > Leuchtbakterientest > Algentest >> Fischtest;
- HSR-2-Eluat, Sensitivität: Leuchtbakterientest >> Algentest > Daphnientest > Fischtest.

Mit wenigen Ausnahmen wurde in den parallel über den gesamten Ablauf mitgeführten Blindwertkontrollen in der Verdünnungsstufe 2 keine Toxizität gefunden. Somit wurden in den verschiedenen Versuchsabschnitten, von der Elution über Lagerung und Eluatvorbehandlung bis zur Durchführung der Ökotoxizitätstests, keine signifikanten Kontaminationen über das Elutionswasser und die Gerätschaften eingetragen.

Sowohl in ihrer absoluten Höhe als auch in der Reihenfolge der Empfindlichkeit der Testorganismen unterschieden sich die beiden geprüften Bauprodukte deutlich, so dass der Gesamtprozess aus Elutionsverfahren und mehreren Ökotoxtests (Testbatterie) als grundsätzlich geeignet bewertet werden kann, eine ökotoxikologische Charakterisierung der Bauprodukte mit akzeptabler Variabilität vorzunehmen. Die im vorliegenden Ringtest bestimmten Variationskoeffizienten von bis zu 110% für EC₅₀-Werte sollten nicht an den üblichen Variationskoeffizienten für biologische Messvariablen wie Zellzahlen, Sprosslängen oder andere normalverteilte Merkmale gemessen werden. EC₅₀-Werte sind kein eigentliches Messergebnis, sondern werden erst durch komplexe statistische Methoden abgeleitet aus mehreren einzelnen Messvariablen und sind deshalb per Definition mit einer mehr oder weniger großen Unsicherheit behaftet (95% Vertrauensbereich). Außerdem integrieren die EC₅₀- und G-Werte (=Endpunkte der jeweiligen Biotests) im vorliegenden Ringtest über die Variabilität aus dem gesamten komplexen Verfahrensablauf von Elutionsprozess über Probenlagerung bis hin zu eigentlichen Biotestdurchführung, was naturgemäß die Variabilität erhöht.

6. Empfehlungen zur ökotoxikologischen Bewertung von Bauprodukten

Die Projektergebnisse wurden auf dem Abschlussworkshop am 11. April 2016 (DIN e.V., Berlin) vorgestellt. Von den insgesamt 10 Teilnehmern nahmen 6 Vertreter der am Ringversuch beteiligten Laboratorien, das Projektteam, Behördenvertreter, Forschungsinstitute und Industrievertreter teil. Die Empfehlung in den Vorträgen und Diskussionen lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

a) Ökotoxizitätstests und chemische Analytik

Die direkte Testung von Bauprodukteluatens ist ein vielversprechender Ansatz, um die Freisetzung gefährlicher Stoffe aus Bauprodukten in die Umwelt zu erfassen. Hierbei wird die kombinierte Wirkung aller auslaugbaren Substanzen und Transformationsprodukte summarisch über deren Effekte in Biotests beschrieben. Der Schwerpunkt liegt auf Bauprodukten, deren Inhaltsstoffe über analytische Methoden, wenn überhaupt, nur mit sehr hohem Aufwand zu erfassen sind. Insofern kann durch die direkte Testung der biologischen Wirkung der Aufwand für die substanzspezifische organische Analytik, insbesondere bei Bauprodukten unbekannter Zusammensetzung, eingegrenzt werden. Umgekehrt könnten auffällige Ergebnisse aus Ökotoxizitätstests auch eine detailliertere Bewertung auslösen, um die ursächlichen Inhaltsstoffe zu identifizieren und zu bewerten. In dieser Hinsicht kann über die ökotoxikologische Charakterisierung von Bauprodukten eine Priorisierung und in Kombination mit der chemischen Analytik eine umfassende Bewertung vorgenommen werden. Die Identifizierung von Substanzen mittels qualitativer chemischer Analysen ist unverzichtbar, wenn kritische Stoffe vorhanden sind oder Hinweise darauf vorliegen. Allerdings bedeutet dieser Ansatz bei komplexen Produkten unbekannter Zusammensetzung einen vergleichsweise hohen Aufwand und beinhaltet eine Restunsicherheit, ob tatsächlich alle relevanten Verbindungen identifiziert werden konnten. Die Ökotoxtestung ist daher ein komplementäres Instrument zur chemischen Analytik, das für bestimmte Produktgruppen auch in Kombination zu dieser sinnvoll eingesetzt werden kann.

b) Auswahl der Auswaschtests und Festlegung der Fraktionen

Im Projekt wurden der DSL-Test für flächige und kompakte Bauprodukte sowie der einstufige Schütteltest für körnige Bauprodukte eingesetzt. Beim DSLT wurden die ersten beiden Fraktionen nach 6h und 18h vereint und untersucht (Gesamtelutionsdauer 24h). Das Verhältnis von Wasservolumen zur Prüfkörperoberfläche wurde auf 20 L/m² festgelegt. Das entspricht dem niedrigsten Wert, der konform zur CEN/TS 16637-2 ist. Die Festlegung, die ersten beiden Fraktionen für ökotoxikologische Tests zu verwenden, hat zur Folge, dass Substanzen von der Oberfläche der Prüfkörper abgewaschen werden können, und damit relativ hohe Freisetzungsraten auftreten. Erst später wird bei vielen Bauprodukten der Auswaschprozess durch Diffusion der Substanzen zur Materialoberfläche bestimmt, und die Auswaschraten nehmen mit der Zeit ab. Bei den im DSLT vorgesehenen sehr langen Kontaktzeiten in den letzten Auswaschetappen sind zwar höhere Konzentrationen der ausgewaschenen Stoffe möglich, allerdings nur, wenn nicht inzwischen Verarmung an auswaschbaren Stoffen eingetreten ist

bzw. die Freisetzung durch die Löslichkeit der Substanzen limitiert wird. In jedem Fall wird bei der Untersuchung von Fraktionen vom Beginn der Auswaschversuche vermieden, dass mögliche Effekte von Stoffen, die in den Auswaschwässern nicht stabil sind, übersehen werden. Trotzdem kann es sinnvoll sein, zusätzlich oder alternativ zu den ersten Fraktionen auch die letzte Fraktion mit einer Kontaktzeit von 28 Tagen zu untersuchen.

Es wurde vorgeschlagen den TOC Wert der verschiedenen Fraktionen als Trigger für die Auswahl der in den Ökotoxizitätstests zu untersuchenden Fraktionen heranzuziehen. Allerdings bildet der TOC nicht notwendigerweise die relevanten Inhaltsstoffe ab und ist somit ein eher unsicherer Parameter für eine Vorauswahl von Fraktionen. Eine lange Kontaktzeit kann auch den Nachteil haben, dass (biologisch) abbaubare Inhaltsstoffe nicht mehr erfasst werden.

Der einstufige Schütteltest für körnige Bauprodukte nach DIN EN 12457-1 wird ebenfalls über 24h bei einem Wasser/Feststoffverhältnis von 2 L/kg durchgeführt, wobei der Wasserkontakt weitaus intensiver ist als beim DSLT. Der Test wurde ursprünglich für Abfallproben etabliert, jedoch auch in der CEN/TS 16637-1 erwähnt und können ebenfalls eingesetzt. Vergleichbare Tests mit einem Wasser/Feststoffverhältnis von 10 L/kg sind ebenfalls weit verbreitet (DIN EN 12457-2) und sind ebenfalls einsetzbar. Der Schütteltest ist ein praktikables, einfaches Verfahren und bei einem geringen Wasser/Feststoffverhältnis sind relativ hohe Stoffkonzentrationen im Eluat zu erwarten. Im Prinzip ist auch der Perkolationsstest (draft CEN/TS 16637-3) ein geeignetes Verfahren zur Gewinnung von Eluaten für die Ökotoxizitätsuntersuchung. Dieser Test ist jedoch weitaus aufwändiger und nur in darauf spezialisierten Laboratorien anwendbar. Eigene Erfahrungen mit dem Perkolationsstest wurden im Rahmen des Projektes nicht gewonnen. Grundsätzlich sind die Elutionsbedingungen in den verschiedenen Leachingtests sehr unterschiedlich und die gewonnenen Ergebnisse lassen sich nur bedingt untereinander z.B. für ein Ranking von Bauprodukten verwenden. Durch Festlegung auf ein konkretes Verhältnis vom Wasservolumen zur Fläche (DSLT) bzw. zum Gewicht (Schütteltest) kann die Vergleichbarkeit von Ergebnissen verbessert werden. Die Festlegung der zu untersuchenden Fraktionen hängt von der Fragestellung ab. Eine geeignete Untersuchungsstrategie könnte auch darin bestehen, lediglich eine Verdünnungsstufe der Fraktionen ökotoxikologisch zu untersuchen und die Abnahme der Hemmung [%] oder Mortalität [%] über die Zeit zu bestimmen (Limittests). Anschließend könnte die auffallendste Fraktion vollen Ökotoxizitätstests (zur Ableitung eines LID bzw. eines EC₅₀) unterzogen werden.

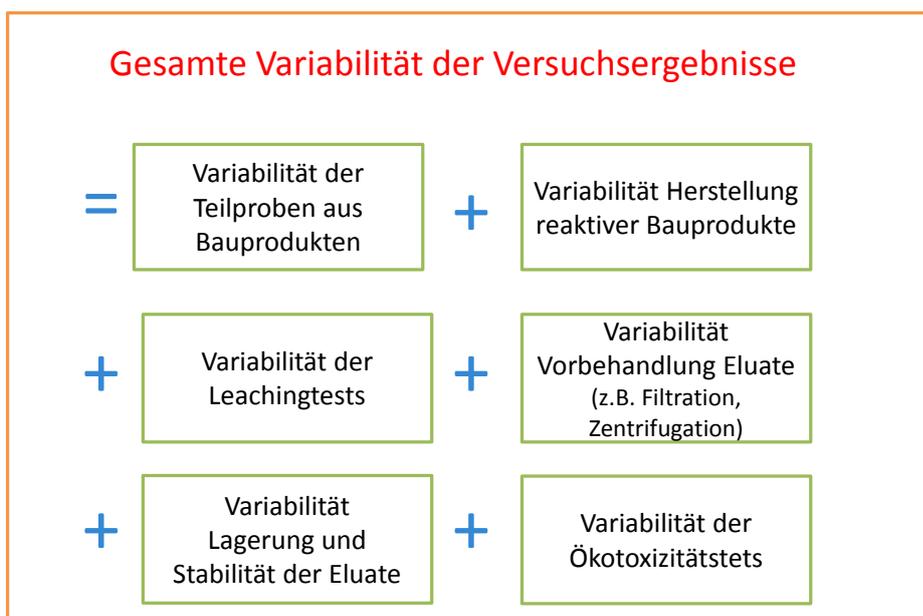
c) Biotestbatterie

Der im Projekt gewählte Ansatz sieht eine Kombination von Elutionstests für Bauprodukte mit einer Biotestbatterie aus Vertretern verschiedener Trophieebenen (Algen als Primärproduzenten, Daphnien als Primärkonsumenten, Fischeier als Sekundärkonsumenten und Bakterien als Destruenten) vor. Zusätzlich wurde ein bakterieller Gentoxizitätstest (umu-Test) sowie ein biologischer Abbautest (Respirometertest OECD 301 F) eingesetzt. Das Untersuchungskonzept entspricht den DIBt-Grundsätzen zur Bewertung der Auswirkungen von Bauprodukten auf das Grundwasser. Die Untersuchungen ergaben deutlich abweichende Muster unterschiedlicher Ökotoxizitäten der Bauprodukteluete in den verschiedenen Biotests. Grundsätzlich lassen sich die verschiedenen biologischen Wirkungen nur über eine Testbatterie und nicht über einen einzelnen Organismus abbilden. Die eingesetzten Tests sind aus Praktikabilitätsgründen den Kurzeitests (akute Toxizität) zuzuordnen. Die Prüfung der chronischen Toxizität wäre mit einem weit höheren Aufwand verbunden. Es wird empfohlen, ausschließlich standardisierte und validierte Testverfahren (DIN EN ISO-Normen oder OECD Guidelines) einzusetzen.

d) Reproduzierbarkeit der Ergebnisse

Bei der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse ist die laborinterne Variabilität der Testergebnisse von der laborübergreifenden Variabilität zu unterscheiden. In dem gewählten Untersuchungskonzept wird die gesamte Variabilität von mehreren Faktoren bestimmt (vgl. Abbildung 2):

Abbildung 3: Einflussfaktoren Gesamtvariabilität der Versuchsergebnisse



Schnittkanten von Prüfkörpern, die bei der üblichen Anwendung nicht mit Wasser in Kontakt kommen, sind vor der Durchführung von Elutionstests mit einem toxikologisch unbedenklichen Material zu versiegeln.

Bei reaktiven Bauprodukten müssen die Herstellerangaben hinsichtlich der Herstellung, Mischung, Trockenzeit etc. eingehalten werden. Eine gute Reproduzierbarkeit ist dennoch nicht immer gegeben (vgl. Beispiel BAM-22).

Die Variabilität der Auswaschresultate lässt sich durch diese Festlegungen zwar einschränken, aber nicht unterbinden.

Besonders beim Schütteltest werden die Bauprodukte intensiv mechanisch beansprucht, so dass Feststoffe und Trübstoffe durch Absetzen lassen, Sieben, Zentrifugation, Filtration oder Kombinationen davon abgetrennt werden müssen, um die Organismen nicht mechanisch zu schädigen. Die Verfahren können sich deutlich unterscheiden und sollten soweit wie möglich vereinheitlicht werden.

Die laborinterne Variabilität der Ökotoxizitätstests liegt üblicherweise im Bereich +/- 1 Verdünnungsstufen (Annahme Faktor 2 in der Konzentration). In den Wiederholungsprüfungen der Screeningtests mit 20 Bauprodukten wurde sowohl bei den chemischen Summenparametern (TOC, Leitfähigkeit) als auch bei den Ökotoxizitätstests eine akzeptable Reproduzierbarkeit in diesem Bereich festgestellt. Ausnahmen betreffen Abdichtmassen bzw. reaktive oder aushärtende Bauprodukte. Die im europäischen Ringversuch ermittelte laborübergreifende Reproduzierbarkeit lag üblicherweise im Bereich +/- 2 Verdünnungsstufen (Annahme Faktor 4 in der Konzentration). Angesichts des komplexen Zusammenspiels zahlreicher Faktoren ist diese Variabilität, die durchaus zu Variationskoeffizienten von > 100% führt, akzeptabel. Die Variabilität nimmt hierbei mit Zunahme der Toxizität zu.

e) Bewertung der Ergebnisse

Untersuchungsergebnisse zeigen deutlich, dass sich stark ökotoxische Eluate von gering oder nicht toxischen Eluaten unterscheiden lassen. Die Ergebnisse können dazu anhalten, mit den Ökotoxizitätstests auffallende Bauprodukte zu identifizieren und zu bewerten. Bei einer Verknüpfung der Ergebnisse mit festen Grenzwerten sollte jedoch die Variabilität der Ergebnisse berücksichtigt werden.

7. Quellenangaben

Becker, R., Donnevert, G., Römbke, J. (2007): Biologische Testverfahren zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen. Abschlussbericht FKZ 206 33 302 im Auftrag des Umweltbundesamtes. <http://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/publikation/long/3415.pdf>
Aufgerufen am 28.4.16

Burkhardt, M., S. Zuleeg, J. Eugster, H. Singer, A. Lück, S. Hean, R. Haag, P. Schmid, M. Kohler und M. Boller (2008): Mecoprop in Bitumenbahnen - Auswaschung von Mecoprop aus Bitumenbahnen und Vorkommen im Regenabwasser. Forschungsbericht, Bundesamt für Umwelt, S. 28.

CEN/TC 351 Draft TS WI 00351008. Construction products – Assessment of release of dangerous substances – Part 1: Guidance for the determination of leaching tests and additional testing steps. Draft 2012-10-04

CEN/TC 351 Draft TS WI 00351009. "Construction products - Assessment of release of dangerous substances - Part 2: Horizontal dynamic surface leaching test". Draft 2012-10-04

CEN/TC 351 Draft TS WI 00351010 "Construction products - Assessment of release of dangerous substances -Part 3: Horizontal upflow percolation test. Draft 2012-10-04

Christensen E. R., Nyholm N. (1984): Ecotoxicological assays with algae: Weibull dose-response curves. Environ Sci Technol 18, S. 713-718

DIBt, Deutsches Institut für Bautechnik (2011): Grundsätze zur Bewertung der Auswirkungen von Bauprodukten auf Boden und Grundwasser. Berlin (Teil I Mai 2009, Teil II September 2011, Teil III Mai 2009).

DIN CEN/TS 16637-1; DIN SPEC 18046-1: 2014-11: Bauprodukte - Bewertung der Freisetzung von gefährlichen Stoffen - Teil 1: Leitfaden für die Festlegung von Auslaugprüfungen und zusätzlichen Prüfschritten.

DIN CEN/TS 16637-2; DIN SPEC 18046-2: 2014-11: Bauprodukte - Bewertung der Freisetzung von gefährlichen Stoffen - Teil 2: Horizontale dynamische Oberflächenauslaugprüfung; Deutsche Fassung CEN/TS 16637-2:2014

DIN ISO 5725-2:2002-12: Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen - Teil 2: Grundlegende Methode für Ermittlung der Wiederhol- und Vergleichspräzision eines vereinheitlichten Messverfahrens (ISO 5725-2:1994 einschließlich Technisches Korrigendum 1:2002) und DIN ISO 5725-5:2002-11 Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen - Teil 5: Alternative Methoden für die Ermittlung der Präzision eines vereinheitlichten Messverfahrens.

DIN EN 14735 (November 2005): Charakterisierung von Abfällen - Herstellung von Abfallproben für ökotoxikologische Untersuchungen.

Technische Regel DIN CEN/TR 16110; DIN SPEC 19790 (März 2011): Charakterisierung von Abfällen - Anleitung zur Anwendung von Ökotoxizitätsprüfungen auf Abfälle.

DIN EN ISO 11348-2 (2009-05) Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von *Vibrio fischeri* (Leuchtbakterientest).

DIN EN ISO 6341 (2013-01) Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der Hemmung der Beweglichkeit von *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) - Akuter Toxizitäts-Test.

DIN EN ISO 8692:2012 (2012-02) Wasserbeschaffenheit - Süßwasseralgen-Wachstumshemmtest mit einzelligen Grünalgen.

DIN EN 12457-1 (2003-01) Charakterisierung von Abfällen - Auslaugung; Übereinstimmungsuntersuchung für die Auslaugung von körnigen Abfällen und Schlämmen - Teil 1: Einstufiges Schüttelverfahren mit einem Flüssigkeits-/Feststoffverhältnis von 2 l/kg und einer Korngröße unter 4 mm (ohne oder mit Korngrößenreduzierung).

DIN EN 12457-2 (2003-01) Charakterisierung von Abfällen - Auslaugung; Übereinstimmungsuntersuchung für die Auslaugung von körnigen Abfällen und Schlämmen - Teil 2: Einstufiges Schüttelverfahren mit einem Flüssigkeits-/Feststoffverhältnis von 10 l/kg und einer Korngröße unter 4 mm (ohne oder mit Korngrößenreduzierung).

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

DIN ISO 5725-2 (2002-12) Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen - Teil 2: Grundlegende Methode für Ermittlung der Wiederhol- und Vergleichpräzision eines vereinheitlichten Messverfahrens.

Ehrnsperger, R., Misch, W. (2005): Gesundheits- und Umweltkriterien bei der Umsetzung der EG-Bauprodukten-Richtlinie. Deutsches Institut für Bautechnik (DIBt), UBA-Texte 06/05.

<http://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/publikation/long/2884.pdf>
Aufgerufen am 28.4.16

Environment Canada (2005): Guidance Document on Statistical Methods for Environmental Toxicity Tests. Report EPS 1/RM/46

EOTA, European Organisation for Technical Approvals (2012): General ER 3 Checklist for ETAGs/CUAPs/ETAs- Content and/or release of dangerous substances in products/kits. European Organisation for Technical Approvals, TR 34 Edition March 2012 <http://www.eota.eu/> Aufgerufen am 26.4.16

ISO 13829 (2000-03) Wasserbeschaffenheit - Bestimmung des erbgutverändernden Potentials in Wasser und Abwasser mittels umu-Test.

Moser, H., Römbke, J. (2009): Ecotoxicological Characterization of Waste Results and Experiences of an International Ring Test. Springer Science+Business Media.

OECD 301 F (Juli 92): Manometrischer Respirometertest. OECD Guidelines for Testing of Chemicals.

Sachs, L., Hedderich J. (2009): Angewandte Statistik, 13. Auflage, Springer-Verlag Berlin

8. Anhang

Anhang 1: Prüfkörper der untersuchten Bauprodukte

BAM-1, PUR-Schaum

Das Material wurde versprüht und dann mit festgelegten Kantenlängen ausgeschnitten. Wegen der angeschnittenen Blasen ist die entstehende Fläche unbekannt und nicht reproduzierbar herzustellen. Verschiedene organische Substanzen wurden ausgewaschen.

Bauproduktenorm: EN 15651-1 (2012).



BAM-2, Acryl-Dichtstoff

Der Dichtstoff wurde auf eine Glasplatte aufgetragen. Im Auswaschversuch wurde die aus den Außenmaßen berechnete Fläche als exponierte Fläche gewertet.



BAM-4, Acrylharz-Dichtstoff

Der Dichtstoff wurde auf eine Glasplatte aufgetragen. Im Auswaschversuch wurde die aus den Außenmaßen berechnete Fläche als exponierte Fläche gewertet.



BAM-5, PVC-Kanalrohr

Das Rohr besteht innen und außen aus PVC, die Mittelschicht aus Recyclat. Die Schnittkanten wurden mit Acrylharz abgedichtet. Die Innen- und Außenfläche wurden bei der Berechnung des benötigten Wasservolumens berücksichtigt. Die Elution erfolgte in einem 2 L Becherglas (Weithals).

Bauproduktenorm: EN 13746 (2007).



BAM-6, Fallrohr

Die Zusammensetzung des Rohres ist nicht bekannt. Die Elution erfolgte in einem 2 L Becherglas (Enghals).

Bauproduktenorm: EN 15012 (2007).



BAM-8, Acrylglas

Der Probekörper wurde aus einer größeren Platte ausgeschnitten. Bei der (transparenten) Acrylglasplatte wurde die blaue Folie im ersten Elutionsschritt mit eluiert und vor dem 2. Elutionsschritt entfernt. Im Auswaschversuch waren alle Flächen in Wasserkontakt. Die Summe der aus den Außenmaßen berechneten Flächen wurde als exponierte Fläche gewertet.

Bauproduktenorm: EN 1013 (2012).



BAM-10. PVC-Platte (weiß)

Der Probekörper wurde aus einer größeren Platte ausgeschnitten. Im Auswaschversuch waren alle Flächen in Wasserkontakt. Die Summe der aus den Außenmaßen berechneten Flächen wurde als exponierte Fläche gewertet. Die PVC-Platte schwimmt und wurde mit einem mit Wasser gefüllten 25 ml Erlenmeyerkolben unter Wasser gedrückt.

Bauproduktenorm: EN 1013 (2012).



BAM-12. Polycarbonat Hohlkammerplatte

Der Probekörper wurde aus einer größeren Platte ausgeschnitten. Im Auswaschversuch waren alle Flächen in Wasserkontakt. Es wurde die innere und äußere Fläche bei der bei der Berechnung des benötigten Wasservolumens berücksichtigt.

Bauproduktenorm: prEN 16153 (2010).



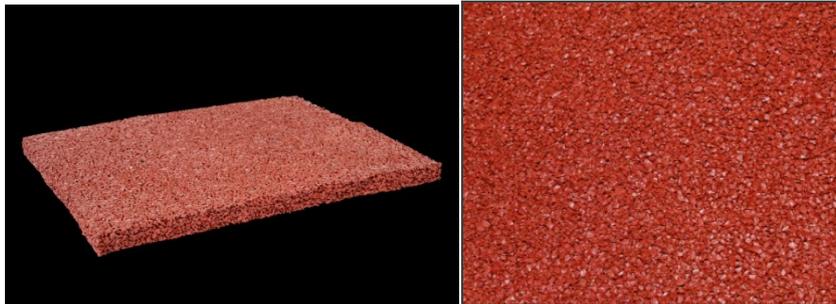
BAM-13. Dichtmasse

Die Dichtmasse wurde auf eine Glasplatte aufgetragen. Im Auswaschversuch wurde die aus den Außenmaßen berechnete Fläche als exponierte Fläche gewertet.



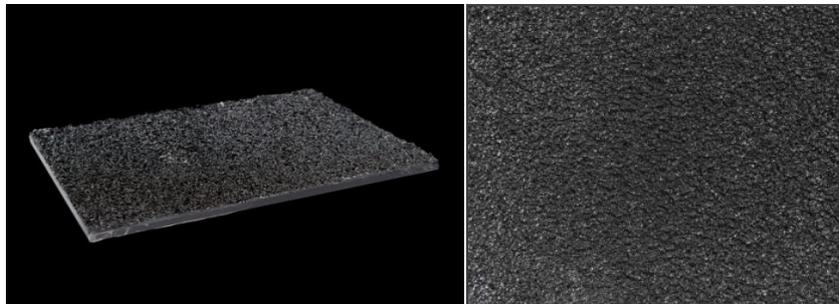
BAM-14. Synthetischer Sportboden aus EPDM-Granulat (für außen)

Der Probekörper wurde aus einer größeren Matte ausgeschnitten. Im Auswaschversuch waren alle Flächen in Wasserkontakt. Die Summe der aus den Außenmaßen berechneten Flächen wurde als exponierte Fläche gewertet. Zur Herstellung der Matten werden verdichtetes Granulat und PUR-Binder (Polyurethan) verwendet. Das Material enthält Hohlräume, die die freisetzende Oberfläche um einen unbekanntem Wert vergrößern. Die Abmessungen der zugeschnittenen Probe sind vermutlich groß genug, um für unterschiedliche Prüfkörper ähnliche Probenflächen zu erzeugen. Verschiedene organische Substanzen werden ausgewaschen. Es besteht eine Vergleichsmöglichkeit mit EPDM-Granulat, das im Schütteltest untersucht wurde, und der EPDM-Dachbahn. Diese Materialien enthalten allerdings keinen PUR-Binder.



BAM-22. Bitumendickschicht

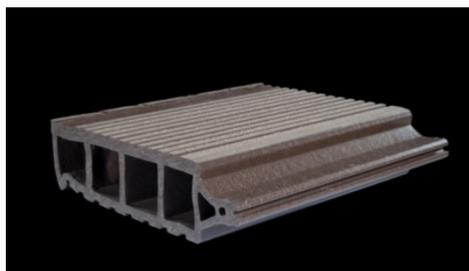
Die Bitumenmasse wurde auf Platten gegossen und an der Oberfläche glatt gezogen. Die getrocknete Schicht ist rau (gekräuselt). Dadurch ist die Oberfläche um einen unbekanntem Wert vergrößert. Die Abmessungen der Probe sind vermutlich groß genug, um für unterschiedliche Prüfkörper ähnliche Probenflächen zu erzeugen.



BAM-11, -15, -16 und -17, Wood-Plastic-Composit

Abgebildet ist das Produkt BAM-11 auf Melaminbasis, von dem bekannt ist, das es mit Flammschutzmittel ausgerüstet ist. Sowohl der umlaufende als auch die inneren Umfänge ließen sich annähernd bestimmen. Da die Oberflächen der Hohlkammern gut mit Wasser in Kontakt kommen konnten, wurden diese Flächen mit berücksichtigt. Relativ hohe Werte für anorganische Parameter und geringe TOC-Werte mit Ausnahme von Produkt BAM-11.

Bauproduktenorm: prEN 15534



BAM-G1, EPDM-Granulat

Dieses Granulat wird als Füllgranulat für Kunststoffrasen verwendet und hat eine Korngröße von 0,5 -2 mm. Das Granulat wurde eingewogen und mit der vorgeschriebenen Wassermenge im Schüttelverfahren eluiert.



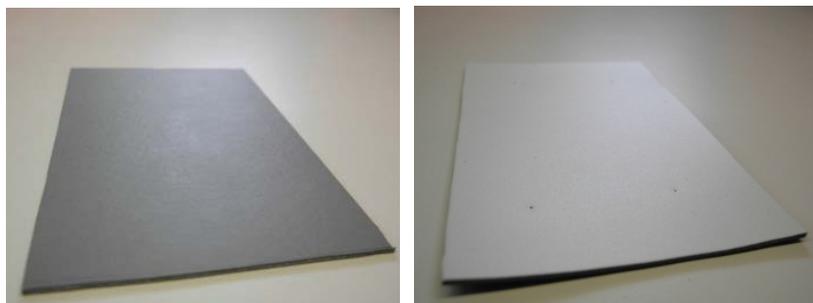
BAM-G2, TPES-Granulat

Dieses Granulat wird als Füllgranulat für Kunststoffrasen verwendet und hat eine Korngröße von 0,5 -1,2 mm. Das Granulat wurde eingewogen und mit der vorgeschriebenen Wassermenge im Schüttelverfahren eluiert.



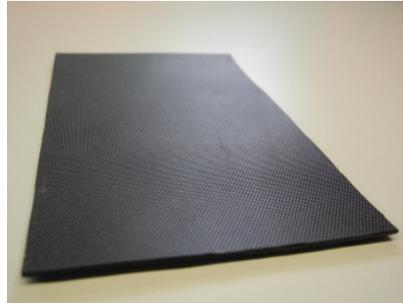
HSR-1 und HSR-6, PVC-Dichtungsbahn für Dachabdichtung (EN 13956)

Als Abdichtung von begrüntem, bekiestem oder genutzten Dächern sind beide Weich-PVC Bahnen geeignet. Die Abdichtungsbahn HSR-1 wird ebenso als Feuchtigkeits- und als Grundwassersperre eingesetzt. Neben einem hohen Anteil Weichmachern (bis 30%) kommen noch chemischer Flammschutz und UV-Schutz hinzu. PVC-Dichtungsbahnen für Dachabdichtungen stellen günstige Alternativen zu den hochwertigeren TPO-Dachbahnen dar. In HSR-6 sollen keine gefährlichen Stoffe enthalten sein, sodass kein Sicherheitsdatenblatt vorliegt.



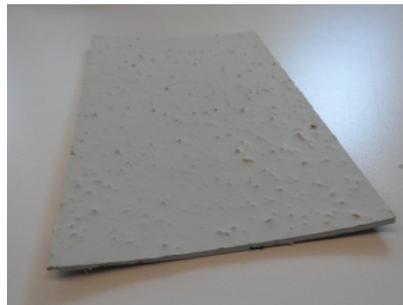
HSR-2, EPDM-Dichtungsbahn für Dachabdichtung

Die Elastomerbahn (Kautschuk) für Dachabdichtungen unter Auflast oder Gründächern besteht aus Ethylen-Propylen-Dien-Terpolymer (EPDM), ist 1.45 mm dick und wurzelfest (ohne Schutzmittel), wird vorkonfektioniert hergestellt, und benötigt keine Kaschierung. Als Vulkanisationsbeschleuniger wird eine Zinkverbindung eingesetzt. Das EPDM-Material wird auch granular und als Sportboden untersucht.



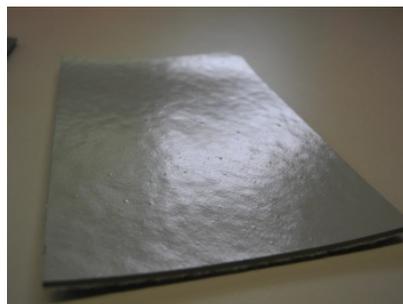
HSR-3, FKS Flüssigkunststoff für Abdichtungen

Reaktives 2K-System für Dachabdichtungen, Reparaturen von Anschlüssen. Relevant sind die reaktiven Bestandteile, die vielfach nicht abregiert sind. Die wesentliche Basis im Flüssigprodukt ist ein urethanmodifizierter Methylmethacrylatharz (PMMA, bis 50%). Das zweite Produkt ist ein pulverförmiger Härter. Die Verarbeitung sollte innerhalb von 30 min erfolgen. In früheren Tests war dies Material aufgefallen bei Effekten auf Pflanzen.



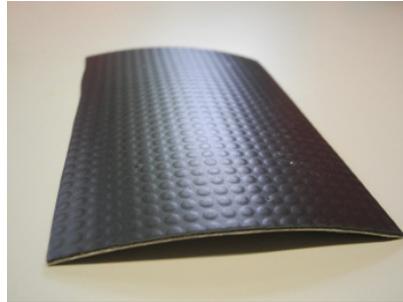
HSR-4, EVA-Bahn für Abdichtungen

Die EVA-Terpolymer Bahn (Ethylen-Vinyl-Acetat-Terpolymer) ist 1.5 mm dick, unterseitig mit einer Glasgelege-Glasvlieskombination als Brandschutz kaschiert (flammgeschützt Klasse E) und wird einlagig verlegt. Geeignet für Abdichtungen von Flachdächern, Dämmstoffen und allen üblichen Baustoffen.



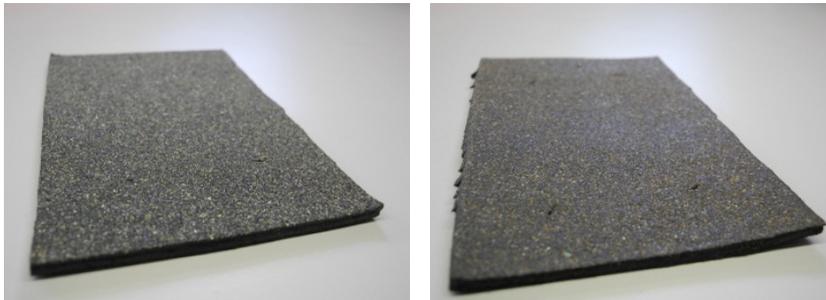
HSR-5, TPO-Kunststoffbahn für Dachabdichtungen

Die Bahn ist eine mehrschichtige Kunststoffbahn auf der Basis von thermoplastischen Polyolefinen (TPO) mit einer Einlage aus Glasvlies. Die Kunststoffbahn ist UV-beständig und wurzelfest (ohne Schutzmittel).



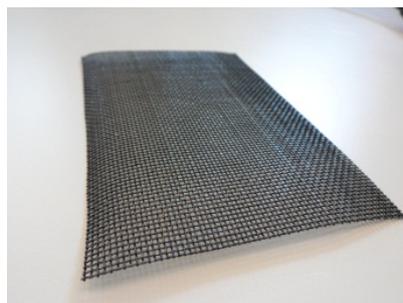
HSR-7 und -8, Elastomerbitumen-Dichtungsbahn

Die Anwendung wird für Flachdachabdichtungen unter Dachbegrünungen, unter Schutz- und/oder Nutzsichten und Abdichtungen gegen Sicker- oder Grundwasser empfohlen. Die zwei Bitumenbahnen sind jeweils 4 mm dick, an der Oberseite mit Talkum-Sand bestreut und werden als Oberbahn eingesetzt. Die Zusammensetzung basiert auf Bitumen, mineralischem Füllmaterial (z.B. Ziegelschrot) und Polymeren. Beide Produkte sind gegen Entflammbarkeit geschützt, Auf der Unterseite der Bahn ist eine flammhemmende Folie fixiert. Gegen die Durchwurzelung ist HSR-8 geschützt. Wurzelfeste Bitumendichtungsbahnen (WF) werden fast auf jedem zweiten begrünten Flachdach eingesetzt. Der Durchwurzelungsschutz wird mit einem chemischen Zusatzstoff erzielt. Es ist ein Ester vom Herbizid Mecoprop, welches bekanntermaßen in Wasserkontakt hydrolysiert und ausgewaschen wird.



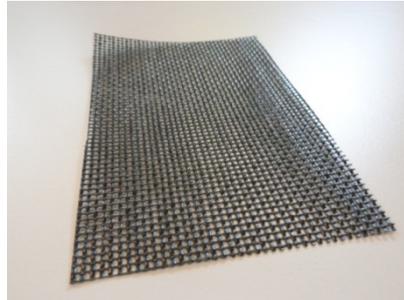
HSR-9, PEHD Monofil (Geotextil)

Der Geokunststoff wird mit der Hauptfunktion Trennen und Filtern im Bereich von Sickergräben und Flächenfiltern eingesetzt und gilt als Geotextil. Das Geotextil besteht aus einem PEHD Monofil. Die Maschenweite ist im Bereich von 1 x 1,2 mm. Grob kann angenommen werden, dass 50% der zugeschnittenen Fläche vom Gewebe ausgefüllt sind.



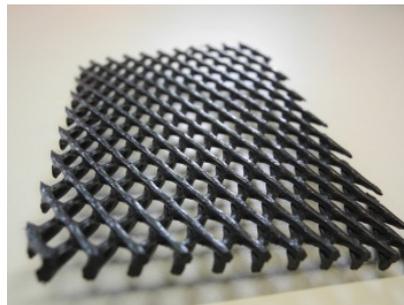
HSR-10, PET Multifil mit Polymerschutzmantelung (Geotextil)

Die Anwendung ist für Sickergräben im Straßen- und Bahnbau, Flächenfilter bei Sport- und Reitplätzen, unter Dämmen, unter Deckwerken im Wasserbau etc. vorgesehen. Konfektioniert wird das Material auch als Abdeckung von Sandkästen und Sprunggruben eingesetzt. Das Geotextil besteht aus PET Multifil mit Polymerschutzmantelung und einer Maschenweite von ca. 1 x 1,2 mm. Grob kann angenommen werden, dass wiederum 50% der zugeschnittenen Fläche vom Gewebe ausgefüllt sind.



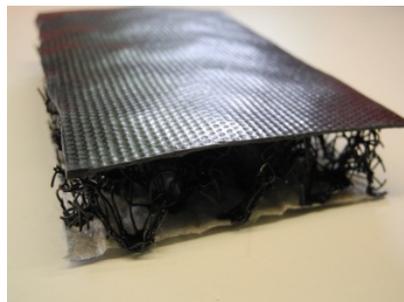
HSR-11, HDPE Gitter (Geogitter)

Das Geogitter besteht aus extrudiertem HDPE mit einer Maschenweite von 5 x 5 mm und einer Dicke von 5 mm. Daraus resultiert eine ungefähre Oberfläche von ca. 400 cm² bei einer Grösse von 8,5 x 12 cm Grundfläche. Das Produkt wird als Drainagestruktur für den Tunnelbau eingesetzt.



HSR-12, Kern: Polyamid Monofilament, Auflagen: PP Vlies / PVC-Bahn

Die Drainagematte mit geschichtetem Aufbau, auf welchem das Wasser abgeführt wird, dient der Drainage für den Hochbau, mit einseitig einer betonierdichten Schicht. Der Kern des Geotextil besteht aus einem Polyamid Monofilament. Die Auflagen bestehen aus einem PP Vlies bzw. aus einer PVC-Bahn. Die Maschenweite des Kerns ist nicht definierbar und die Oberfläche nicht bestimmbar.



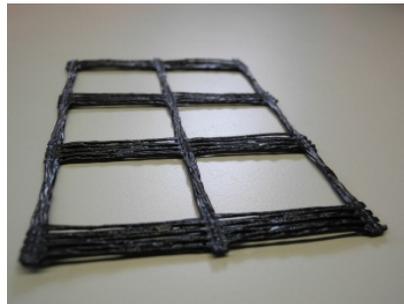
HSR-13, Kern: HDPE Gitter, Auflagen: PP Vlies (Geokomposit)

Der Kern des Geotextil besteht aus einem extrudiertem HDPE Gitter und die Auflagen aus einem PP Vlies. Die Maschenweite des Kerns liegt im Bereich von 10 x 10 mm. Die Höhe des Gitters beträgt 8 mm mit einer Faserbreite von 2 mm. Die effektive Oberfläche vom Vlies ist nicht kalkulierbar. Die Anwendung liegt im Hochbau.



HSR-14, PET Multifil mit Polymerschutzmantelung (PVC) (Geogitter)

Das Geogitter besteht aus einem PET Multifil mit Polymerschutzmantelung (PVC) mit einer Maschenweite von 35 x 28 mm. Grob kann angenommen werden, dass 40% der zugeschnittenen Fläche vom Gewebe ausgefüllt sind. Als Anwendungsbereich ist die Bewehrung von Steilböschungen und Fundationschichten definiert.



HSR-15, XPS-Dämmmaterial

Der Dämmstoff XPS aus extrudiertem Polystyrol-Hartschaumstoff ist in Form von Dämmplatten erhältlich und wird zur Aussenwärmedämmung eingesetzt. Gegen die Entflammbarkeit wird auf chemische Flammschutzmittel, bevorzugt bromierte, zurückgegriffen.



Anhang 2: Screening-Untersuchung der Eluate

Tabelle 2-1: Angaben zu den Prüfkörpern für den DSLT sowie Resultate der Analysen (BAM)

Produkt lfd Nr.	Produkt	Herstellen von Probekörpern für DSLT-Versuche				Herstellung der Eluate					Messwerte für vereinigte Eluate				
		Datum	Vorgehen	Format	Fläche cm ²	Datum (Start)	Wasser- volumen Testansatz ml	Testgefäß **)	Wasseraufnahme		TOC mg/l	pH	Leitfähigkeit µS/cm	Kationen	Anionen
									6 h %	24 h %					
BAM-1	PUR-Schaum	27.5.13	in Schale schäumen und zuschneiden	12.3 x 8.8 cm ²	108	28.5.13	216	A: 4 L	35	105	4,1	5,6	1,3		
BAM-2	Fugendichtmasse, Acryl	15.3.13	Edelstahlprofil ausfüllen	6 Profile à 20 cm x 1 cm, 0,5 cm tief	120	18.3.13	240	G	nicht bestimmt	nicht bestimmt	723***	9,5	131		F (1.36 mg/l)
BAM-3	Fugendichtmasse (silanmodifiziertes Polymer)	15.3.13	Edelstahlprofil ausfüllen	6 Profile à 20 cm x 1 cm, 0,5 cm tief	120	18.3.13	240	G	nicht bestimmt	nicht bestimmt	98***	6,9	8,1		
BAM-4	Acrylharz-Dichtmasse	15.3.13	Edelstahlprofil ausfüllen	6 Profile à 20 cm x 1 cm, 0,5 cm tief	120	18.3.13	240	G	nicht bestimmt	nicht bestimmt	724***	6,5	3	Zn (95 µg/l)	
BAM-5	Kanalrohr	1.2.13	Zuschnitt	Æ 11 cm, 5 lfd. cm	354*	28.5.13	709	B: 13 cm Ø	2	2	< 1 (BG)	6,8	3,4		
BAM-6	Fallrohr	1.2.13	Zuschnitt	Æ 7,5 cm, 5 lfd. cm	234*	28.5.13	467	B: 11 cm Ø	2	2	< 1 (BG)	6,6	3,2		
BAM-7	Flüssig-Kunststoff	15.3.13	in einem Arbeitsgang 1.1 ml auf Glasplatte (100 cm ²) auftragen	10 cm x 10 cm	100	18.3.13	200	PS	nicht bestimmt	nicht bestimmt	7,1	4,9	2,7	Ni (37 µg/l)****	
BAM-8	Acrylglas	27.5.13	Zuschnitt	18 x 13 x 0,4 cm ³	493*	28.5.13	986	A: 4 L	1	1	< 1 (BG)	6,5	0,7		
BAM-10	PVC-Platte	27.5.13	Zuschnitt	18 x 13 x 0,3 cm ³	487*	28.5.13	973	A: 4 L	3	2	< 1 (BG)	7,7	1,8		
BAM-11	Wood-Plastic-Composite (WPC)	1.2.13	Zuschnitt	4 x 14 x 16 lfd. cm	1440**	28.5.13	2880	A: 4 L	3	5	81	8,2	nicht bestimmt	B (46 mg/l), Cu (12 µg/l)	F (1.98 mg/l)
BAM-12	PC-Hohlkammerplatte	1.2.13	Zuschnitt	22 x 15 x 0,45 cm ³	700*	28.5.13	1400	A: 8 L	3	4	< 1 (BG)	6,3	0,7		
BAM-13	Dichtmasse	15.3.13	in einem Arbeitsgang 25 g auf Glasplatte (100 cm ²) auftragen	10 cm x 10 cm	100	18.3.13	200	PS	nicht bestimmt	nicht bestimmt	9,1	6,4	3,9	Ni (74 µg/l)****	
BAM-14	Synthetischer Sportbodenbelag (für außen)	13.3.13	Zuschnitt	10 cm x 10 cm	240	18.3.13	480	PS	nicht bestimmt	nicht bestimmt	4,8	7	7,3	Zn (210 µg/l)	
BAM-15	Wood-Plastic-Composite	13.3.13	Zuschnitt	4 x 14 x 10 lfd. cm	900*	18.3.13	1800	A: 5 L	nicht bestimmt	nicht bestimmt	7,5	6,3	34	B (3.3 mg/l)	
BAM-16	Wood-Plastic-Composite	13.3.13	Zuschnitt	4 x 17 x 10 lfd. cm	1000*	18.3.13	2000	A: 5 L	nicht bestimmt	nicht bestimmt	16	6,4	16	Ni (29 µg/l)****	
BAM-17	Wood-Plastic-Composite	13.3.13	Zuschnitt	4 x 14 x 10 lfd. cm	900*	18.3.13	1800	A: 5 L	nicht bestimmt	nicht bestimmt	15	4,4	24		
BAM-18	XPS	27.5.13	Zuschnitt	18 x 13 cm ²	234	28.5.13	468	A: 4 L	2	-1	< 1 (BG)	7,6	1,3		
BAM-19	Polypropylen-Vlies weiß	24.5.13	Zuschnitt	18 x 14 x 0,7 cm ³	549*	28.5.13	1098	A: 4 L	383	384	35	4,8	5,3		
BAM-20	Polypropylen-Vlies schwarz	24.5.13	Zuschnitt	18 x 14 x 1 cm ³	568*	28.5.13	1136	A: 4 L	246	255	12	5,1	3,8	Zn (70 µg/l)	
BAM-21	Polypropylen-Vlies grau	24.5.13	Zuschnitt	18 x 14 x 1 cm ³	568*	28.5.13	1136	A: 4 L	234	217	16	5,2	4,3	Cu (48 µg/l)	
Blindwert	Polystyrolschale	13.3.13	entfällt	entfällt	0	18.3.13	200	PS	entfällt	entfällt	< 1 (BG)	5,8	0,8		

Wasservolumen im Testgefäß entspricht Volumen/Fläche-Verhältnis von V/A = 2 ml/cm²

Wasservolumen nach 2 Tauchschritten entspricht dem doppelten des Testansatzes.

*exponierte Fläche, weicht vom zugeschnittenen Maß ab, weil alle Außenflächen berücksichtigt sind

** A: Glasaquarium; B: Becherglas; PS: Polystyrolschale

*** hohe TOC-Werte stammen vermutlich zum Teil aus Lösungsmitteln, die während Lagerung bzw. Versand verdunsten können

**** in der Messserie wurde ein relativ hoher Blindwert für Nickel gemessen (19 µg/l)

Tabelle 2-2: Angaben zu den Prüfkörpern für den DSLT sowie Resultate der Analysen (HSR)

Produkt lfd Nr.	Produkt	Herstellen von Probekörpern für DSLT-Versuche				Herstellung der Eluate				Messwerte für vereinigte Eluate				
		Datum	Vorgehen	Format cm	Fläche cm ²	Datum (Start)	Wasservolumen Testansatz ml	Testgefäß	V/A-Verhältnis ml/cm ²	TOC mg/l	pH	Leitfähigkeit µS/cm	Kationen	Anionen
HSR-1	PVC-Dachbahn	10.4.13	Zuschnitt	8 cm x 12,5 cm	200	10.4.13	200	GS: 1 L	1	5,7	5 - 6	2,6	nicht analysiert	
HSR-2	EPDM-Dachbahn	10.4.13	Zuschnitt	8 cm x 12,5 cm	200	10.4.13	200	GS: 1 L	1	6,2	7,0	14,5		
HSR-3	FKS Flüssigkunststoffabdichtung (Dach)	10.4.13	Zuschnitt	8 cm x 12,5 cm	200	10.4.13	200	GS: 1 L	1	69,3	4,6	23,5		
HSR-4	EVA-Dachbahn	10.4.13	Zuschnitt	8 cm x 12,5 cm	200	10.4.13	200	GS: 1 L	1	6,7	5 - 6	3,9		
HSR-5	TPO-Dachbahn	6.6.13	Zuschnitt	8 cm x 12,5 cm	200	6.6.13	200	GS: 1 L	1	1,7	6 - 7	3,9		
HSR-6	PVC-Dachbahn	6.6.13	Zuschnitt	8 cm x 12,5 cm	200	6.6.13	200	GS: 1 L	1	3,6	6,8	10,7		
HSR-7	Bitumendachbahn (Wurzelfest)	6.6.13	Zuschnitt	8 cm x 12,5 cm	200	6.6.13	200	GS: 1 L	1	2,5	6	19,8		
HSR-8	Bitumendachbahn (Wurzelfest)	6.6.13	Zuschnitt	8 cm x 12,5 cm	200	6.6.13	200	GS: 1 L	1	2,3	6 - 7	4,3		
HSR-9	PEHDMonofil (Geotextil)	17.6.13	Zuschnitt	8 cm x 12,5 cm	100	17.6.13	200	GS: 1 L	2	3,1	6 - 7	4,5		
HSR-10	PET Multifil mit Polymerschicht (Geotextil)	17.6.13	Zuschnitt	8 cm x 12,5 cm	100	17.6.13	200	GS: 1 L	2	7,8	6 - 7	11,6		
HSR-11	HDPE Gitter (Geotextil)	17.6.13	Zuschnitt	8 cm x 12,5 cm	400	17.6.13	200	GS: 1 L	0,5	4,2	5,8	6,1		
HSR-12	Kern: Polyamid Monofilament, Auflagen: PP Vlies / PVC-Bahn (Geotextil)	17.6.13	Zuschnitt	8 cm x 12,5 cm	n.b.	17.6.13	200	GS: 1 L	2	46,9	6,5	15,5		
HSR-13	Kern: HDPE Gitter, Auflagen: PP Vlies, (Geokomposit)	17.6.13	Zuschnitt	8 cm x 12,5 cm	200	17.6.13	200	GS: 1 L	1	5,5	6,7	15,5		
HSR-14	PET Multifil mit Polymerschutzmantelung (PVC) (Geogitter)	17.6.13	Zuschnitt	8 cm x 12,5 cm	80	17.6.13	200	GS: 1 L	2	11,6	6,5	11,3		
HSR-15	XPS-Dämmmaterial	17.6.13	Zuschnitt	8 cm x 12,5 cm	100	17.6.13	200	GS: 1 L	2	2,4	6,5	9,3		

Wasservolumen nach 2 Tauchschritten entspricht dem doppelten des Testansatzes.
GS: Glasschale

Tabelle 2-3: DSLT-Eluate für Ökotox-Screening (Hydrotox)

Produkt lfd Nr.	Produkt	Herstellen von Probekörpern für DSLT-Versuche				Herstellung der Eluate (Start 22.2.13)				Messwerte für vereinigte Eluate				
		Datum	Vorgehen	Format	Fläche cm ²	Wasservolumen Testansatz ml	Testgefäß	Wasseraufnahme		TOC mg/l	pH	Leitfähigkeit µS/cm	Kationen	Anionen
								6 h %	24 h %					
BAM-5	Kanalrohr	1.2.13	Zuschnitt	Ø 11 cm, 5 lfd. cm	354	709	B: 2 L	2	2	1,1	8,1	10,9	nicht analysiert	
BAM-6	Fallrohr	1.2.13	Zuschnitt	Ø 7,5 cm, 5 lfd. cm	234	500	B: 2 L	2	2	1,7	8,1	15,9		
BAM-8	Acrylglas	27.5.13	Zuschnitt	18 x 13 x 0,4 cm ³	690	1380	A: 8 L	1	1	1,4	8,1	5,2		
BAM-10	PVC-Platte	27.5.13	Zuschnitt	18 x 13 x 0,3 cm ³	682	1465	A: 8 L	3	2	1,4	7,6	5,2		
BAM-11	Wood-Plastic-Composite (WPC)	1.2.13	Zuschnitt	4 x 14 x 16 lfd. cm	1588	3175	A: 8 L	3	5	68,3	7,9	345		
BAM-12	PC-Hohlkammerplatte	1.2.13	Zuschnitt	22 x 15 x 0,45 cm ³	1563	3125	A: 8 L	3	4	0,6	7,7	1,6		
Blindprobe						1500	A: 8 L	-	-	1,1	8,2	2,4		

Wasservolumen nach 2 Tauchschritten entspricht dem doppelten des Testansatzes.

* A: Glasaquarium; B: Becherglas

Tabelle 2-4: DSLT-Eluate für Ökotox-Screening (BAM)

Produkt lfd Nr.	Produkt	Herstellen von Probekörpern für DSLT-Versuche				Herstellung der Eluate (Start 26.8.13)				Messwerte für vereinigte Eluate				
		Datum	Vorgehen	Format	Fläche cm ²	Wasservolumen Testansatz ml	Testgefäß *	Wasseraufnahme		TOC mg/l	pH	Leitfähigkeit µS/cm	Kationen	Anionen
								6 h %	24 h %					
Blindwert	nur Aquarium	entfällt	entfällt	entfällt	450	900	A: 8 L	-	-	< 1 (BG)	8,1	4,3	-	
BAM-1	PUR-Schaum	23.8.13	Zuschnitt	2 "Tafeln" á 25 cm x 18 cm, 3 cm hoch	450	900	A: 8 L	22	27	16	5,8	4,7	Ni (30 µg/l)	
BAM-2	Fugendichtmasse, Acryl	23.8.13	auf Glasplatten auftragen	2 Platten á 25 cm x 18 cm, 0,3 cm hoch	450	900	A: 8 L	2	5	453	9,5	274	Sb (9 µg/l)	
BAM-4	Acrylharz-Dichtmasse	23.8.13	auf Glasplatten auftragen	2 Platten á 25 cm x 18 cm, 0,3 cm hoch	1000	900	A: 8 L	0	0	390	7,1	4,8	-	
BAM-14	Synthetischer Sportbodenbelag (für außen)	entfällt	Zuschnitt	1 Platten á 25 cm x 18 cm x 1,2 cm	450 (Gesamtfläche: 1000)	2000	A: 8 L	6	9	5,6	7,2	20	Zn (173 µg/l)	
BAM-22	Bitumendickschicht	22.8.13	auf Glasplatten auftragen	2 Platten á 25 cm x 18 cm, 0,3 cm tief	450	900	A: 8 L	5	13	48	8,7	339	Zn (299 µg/l)	

Wasservolumen nach 2 Tauchschritten entspricht dem doppelten des Testansatzes.

* A: Glasaquarium

Tabelle 2-5: DSLT-Eluate für Ökotox-Screening (HSR)

Produkt lfd Nr.	Produkt	Herstellen von Probekörpern für DSLT-Versuche				Herstellung der Eluate (Start 17.7.13)			Messwerte für vereinigte Eluate				
		Datum	Vorgehen	Format cm	Fläche cm ²	Wasservolumen Testansatz ml	Testgefäß *	V/A-Verhältnis ml/cm ²	TOC ** mg/l	pH	Leitfähigkeit µS/cm	Kationen	Anionen
HSR-2	EPDM (Dachbahnen)	17.7.13	Zuschnitt	8 x 12,5	200	200	GS: 1 L	1	9,1	6,9	10,8	nicht analysiert	
HSR-3	FKS Flüssigkunststoffabdichtung (Dachbahnen)	17.7.13	Zuschnitt	8 x 12,5	200	200	GS: 1 L	1	87,2	4,5	19,7		
HSR-6	PVC (Kunststoffbahn für Dachabdichtungen)	17.7.13	Zuschnitt	8 x 12,5	200	200	GS: 1 L	1	3,9	6,7	3,2		
HSR-7	Elastomerbitumen-Dichtungsbahn (Wurzelfest)	17.7.13	Zuschnitt	8 x 12,5	200	200	GS: 1 L	1	2,8	7	27,3		
HSR-10	PET Multifil mit Polymerschutzmantelung (Geotextil)	17.7.13	Zuschnitt	8 x 12,5	100	200	GS: 1 L	2	6,7	6,6	10,3		
HSR-12	*Kern: Polyamid Monofilament, Auflagen: PP Vlies / PVC-Bahn	17.7.13	Zuschnitt	8 x 12,5	nicht ermittelbar	200	GS: 1 L	2	37,4	7,2	11,7		

Wasservolumen nach 2 Tauchschritten entspricht dem doppelten des Testansatzes.

* GS: Glasschale

** TOC-Blindwert < 1.6 mg/L

Tabelle 2-6: 24 h Schüttelversuche (BAM)

Produkt lfd Nr.	Produkt	Vorbereitung von Proben für Schüttelversuche				Herstellung der Eluate				Messwerte für vereinigte Eluate				
						Datum (Start)	Wasservolumen ml	L/S l/kg	Wasseraufnahme %					
		Datum	Vorbehandlung	Format	Masse g					TOC mg/l	pH	Leitfähigkeit µS/cm	Kationen	Anionen
BAM-G-1	EPDM-Granulat	12.2.13	keine	0,5-2 mm Granulat	213	13.2.13	424	2	nicht bestimmt	51,6	8,3	224	nicht analysiert	
BAM-G-2	TPES-Granulat	12.2.13	keine	0,5-1,2 mm Granulat	215	13.2.13	433	2	nicht bestimmt	64,7	8,4	201		
BAM-G-3	Schaumglas schotter	23.5.13	Zerkleinern	auf <10 mm gebrochen	100	28.5.13	500*	5	23	11	10,4	53,7	As (121 µg/l), Cu (67 µg/l), Ni (27 µg/l)*, Pb (76 µg/l), Sb (36 µg/l)	nicht analysiert

Die Elution erfolgte in 1 L-Schottflaschen

* in der Messserie wurde ein relativ hoher Blindwert für Nickel gemessen (19,1 µg/l)

Tabelle 2-7: 24 h Schüttelversuche für Ökotox-Screening (BAM)

Produkt lfd Nr.	Produkt	Vorbereitung von Proben für Schüttelversuche				Herstellung der Eluate				Messwerte für vereinigte Eluate				
						Datum (Start)	Wasservolumen ml	L/S l/kg	Wasseraufnahme %					
		Datum	Vorbehandlung	Format	Masse g					TOC mg/l	pH	Leitfähigkeit µS/cm	Kationen	Anionen
Blindwert/ Testgefäß	nur Testgefäß	23.8.13	entfällt	entfällt	entfällt	26.8.13	3000	2		< BG	8,9	17,9		
BAM-G-1	EPDM-Granulat	23.8.13	entfällt	0,5 - 2 mm Granulat	1500	26.8.13	3000	2		52,5	8,3	201	Zn (191 µg/l)	
BAM-G-2	TPES-Granulat	23.8.13	entfällt	0,5 - 1,2 mm Granulat	1500	26.8.13	3000	2		23,8	8,4	197	V (7,4 µg/l)	

Die Elution erfolgte in 1 L-Schottflaschen

Anhang 3: Screening-Untersuchung Ökotoxizitätstests

Algentest

BAM 1		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>					
Leitfähigkeit: 7,9 µS/cm		Versuchsdatum: 25.-28.10.2013					
pH: 4,64, eingestellt auf 7,18							
Zellzahl (*10 ⁵ Zellen/ml)	Gültigkeitskriterien Kontrollen	Variationskoeffizient		RSD [%]		Vermehrungsfaktor	
		0 h	72h	WR [µ]	Hemmung [%]	Mittel [%]	pH Wert
		0,07		1,83	1,7	245	
NK	a	17,5	1,84				
	b	17,0	1,83				
	c	16,0	1,81			7,4	7,7
	d	18,6	1,86				
	e	15,0	1,79				
	f	19,2	1,87				
Mittelwert Kontrollen			1,83				
G2	a	0,1	0,24	86,7			
	b	0,1	0,25	86,5	86,6	7,5	7,7
	c	0,1	0,24	86,7			
G3	a	0,1	0,14	92,5			
	b	0,1	0,12	93,3	89,4	7,5	7,7
	c	0,2	0,32	82,4			
G4	a	0,2	0,28	84,7			
	b	0,1	0,21	88,5	85,6	7,4	7,7
	c	0,2	0,30	83,7			
G6	a	1,0	0,90	51,0			
	b	0,9	0,86	53,3	52,0	7,4	7,7
	c	1,0	0,89	51,6			
Ergebnis		G_A > 6					

BAM 1		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>					
Leitfähigkeit: 10,0 µS/cm		Versuchsdatum: 19.-22.11.2013					
pH: 4,7, eingestellt auf 7,2							
Zellzahl (*10 ⁵ Zellen/ml)	Gültigkeitskriterien Kontrollen	Variationskoeffizient		RSD [%]		Vermehrungsfaktor	
		0 h	72h	WR [µ]	Hemmung [%]	Mittel [%]	pH Wert
		0,07		1,89	0,8	286	
NK	a	18,6	1,86				
	b	20,2	1,89				
	c	19,3	1,87			7,4	7,5
	d	20,3	1,89				
	e	21,1	1,90				
	f	20,7	1,90				
Mittelwert Kontrollen			1,89				
G6	a	1,0	0,89	52,9			
	b	0,5	0,66	64,9	61,1	7,5	7,6
	c	0,5	0,65	65,7			
G8	a	0,6	0,70	62,9			
	b	0,7	0,77	59,3	61,1	7,5	7,6
	c	0,6	0,73	61,1			
G12	a	1,8	1,09	42,2			
	b	1,8	1,08	42,8	40,7	7,5	7,6
	c	2,4	1,18	37,3			
G16	a	4,4	1,38	26,8			
	b	4,5	1,39	26,4	26,3	7,5	7,6
	c	4,7	1,40	25,7			
G24	a	11,0	1,68	10,7			
	b	11,1	1,69	10,4	10,1	7,5	7,6
	c	11,8	1,71	9,4			
G32	a	15,5	1,80	4,5			
	b	18,7	1,86	1,2	2,9	7,5	7,6
	c	16,9	1,83	3,0			
G48	a	19,5	1,88	0,5			
	b	18,1	1,85	1,8	2,3	7,5	7,6
	c	15,5	1,80	4,6			
G64	a	19,1	1,87	0,9			
	b	19,0	1,87	0,9	0,8	7,5	7,6
	c	19,2	1,87	0,8			
G96	a	20,2	1,89	-0,2			
	b	20,0	1,89	0,0	-0,2	7,5	7,6
	c	20,7	1,90	-0,6			
Ergebnis		G_A = 32					

BAM 2		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>					
Leitfähigkeit: 271 µS/cm		Versuchsdatum: 25.-28.10.2013					
pH: 6,09							
Zellzahl (*10 ⁵ Zellen/ml)		Gültigkeitskriterien Kontrollen					
		Variations- koeffizient		RSD [%]		Vermehrungs- faktor	
0 h 72h		0,017		1,7		245	
0,07		WR [µ]	Hemmung [%] Mittel [%]		pH Wert 0 h 72 h		
NK	a	17,5	1,84				
	b	17,0	1,83				
	c	16,0	1,81				
	d	18,6	1,86			7,4 7,7	
	e	15,0	1,79				
	f	19,2	1,87				
Mittelwert Kontrollen		1,83					
G2	a	0,4	0,55	70,1			
	b	0,3	0,44	76,0	73,4	6,8 7,7	
	c	0,3	0,48	74,0			
G3	a	0,3	0,51	72,2			
	b	0,4	0,56	69,2	69,2	6,9 7,6	
	c	0,5	0,62	66,1			
G4	a	0,5	0,68	62,8			
	b	0,5	0,67	63,7	62,3	7,0 7,5	
	c	0,6	0,72	60,5			
G6	a	1,6	1,04	43,0			
	b	2,0	1,11	39,4	40,2	7,0 7,4	
	c	2,1	1,13	38,1			
Ergebnis		G_A > 6					

BAM 2		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>					
Leitfähigkeit: 267 µS/cm		Versuchsdatum: 19.- 22.11.2013					
pH: 6,6							
Zellzahl (*10 ⁵ Zellen/ml)		Gültigkeitskriterien Kontrollen					
		Variations- koeffizient		RSD [%]		Vermehrungs- faktor	
0 h 72h		0,010		1,0		292	
0,07		WR [µ]	Hemmung [%] Mittel [%]		pH Wert 0 h 72 h		
NK	a	18,4	1,86				
	b	20,5	1,89				
	c	20,3	1,89				
	d	21,0	1,90			7,4 7,5	
	e	21,1	1,90				
	f	21,5	1,91				
Mittelwert Kontrollen		1,89					
G6	a	0,7	0,78	58,6			
	b	0,6	0,73	61,2	59,9	7,4 7,5	
	c	0,7	0,76	59,9			
G8	a	1,2	0,94	50,4			
	b	1,0	0,90	52,5	50,9	7,4 7,5	
	c	1,2	0,95	49,7			
G12	a	3,3	1,28	32,3			
	b	3,2	1,28	32,4	31,0	7,4 7,5	
	c	4,1	1,36	28,2			
G16	a	7,5	1,56	17,7			
	b	7,3	1,55	18,0	17,8	7,4 7,5	
	c	7,5	1,56	17,7			
G24	a	13,0	1,74	8,0			
	b	13,1	1,74	7,9	7,6	7,4 7,5	
	c	13,7	1,76	7,0			
G32	a	16,0	1,81	4,3			
	b	17,1	1,83	3,2	3,6	7,4 7,5	
	c	16,9	1,83	3,4			
G48	a	19,6	1,88	0,7			
	b	20,0	1,89	0,4	0,6	7,4 7,5	
	c	19,7	1,88	0,7			
G64	a	20,7	1,90	-0,2			
	b	19,8	1,88	0,5	0,1	7,4 7,5	
	c	20,3	1,89	0,1			
G96	a	21,0	1,90	-0,5			
	b	21,5	1,91	-0,9	-0,4	7,4 7,5	
	c	20,4	1,89	0,1			
Ergebnis		G_A = 32					

BAM 4		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>					
Leitfähigkeit: 11,6 µS/cm		Versuchsdatum: 25.-28.10.2013					
pH: 4,63, eingestellt auf 7,19							
Zellzahl (*10 ⁵ Zellen/ml)		Gültigkeitskriterien Kontrollen					
		Variations- koeffizient		RSD [%]		Vermehrungs- faktor	
0 h 72h		0,014		1,4		248	
0 h 72h		WR [µ]	Hemmung [%] Mittel [%]		pH Wert 0 h 72 h		
NK	a	17,4	1,84				
	b	17,0	1,83				
	c	16,6	1,82				
	d	19,0	1,87			7,4 7,7	
	e	15,7	1,80				
	f	18,8	1,87				
Mittelwert Kontrollen		1,84					
G3	a	0,2	0,33	82,0			
	b	0,1	0,06	96,8	91,8	7,5 7,7	
	c	0,1	0,06	96,8			
G4	a	0,1	0,15	91,8			
	b	0,1	0,22	87,9	86,6	7,5 7,7	
	c	0,2	0,37	80,0			
G6	a	0,1	0,21	88,5			
	b	0,2	0,39	78,7	79,6	7,4 7,7	
	c	0,3	0,52	71,6			
G8	a	0,4	0,62	66,4			
	b	0,6	0,72	60,7	61,2	7,4 7,7	
	c	0,8	0,80	56,5			
G12	a	2,4	1,17	36,2			
	b	2,3	1,17	36,4	35,4	7,4 7,7	
	c	2,7	1,22	33,6			
G16	a	6,1	1,49	19,0			
	b	6,9	1,53	16,7	19,0	7,4 7,7	
	c	5,4	1,45	21,3			
G24	a	10,9	1,68	8,4			
	b	9,0	1,62	11,8	8,6	7,4 7,7	
	c	12,8	1,74	5,5			
Ergebnis G_A > 24							

BAM 4		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>					
Leitfähigkeit: 7,9 µS/cm		Versuchsdatum: 29.11.-2.12.13					
pH: 6,0							
Zellzahl (*10 ⁵ Zellen/ml)		Gültigkeitskriterien Kontrollen					
		Variations- koeffizient		RSD [%]		Vermehrungs- faktor	
0 h 72h		0,011		1,1		511	
0 h 72h		WR [µ]	Hemmung [%] Mittel [%]		pH Wert 0 h 72 h		
NK	a	31,4	2,04				
	b	37,6	2,10				
	c	36,0	2,08				
	d	36,2	2,08			7,6 7,4	
	e	37,6	2,10				
	f	36,1	2,08				
Mittelwert Kontrollen		2,08					
G16	a	27,592	1,99	4,2			
	b	20,66	1,90	8,8	6,0	7,6 7,5	
	c	26,358	1,98	4,9			
G24	a	35,356	2,07	0,2			
	b	33,64	2,06	1,0	0,4	7,6 7,5	
	c	35,455	2,08	0,1			
G32	a	36,355	2,08	-0,3			
	b	36,683	2,09	-0,4	0,0	7,6 7,5	
	c	34,613	2,07	0,5			
G48	a	37,547	2,09	-0,8			
	b	38,619	2,10	-1,2	-0,9	7,5 7,5	
	c	37,42	2,09	-0,7			
Ergebnis G_A = 24							

BAM 5		<i>Desmodesmus subspicatus</i>					
Leitfähigkeit: 10,8 µS/cm		Versuchsdatum: 12.-15.3.2013					
pH: 7,10							
Zellzahl (*10 ⁵ Zellen/ml)		Gültigkeitskriterien Kontrollen					
		Variations- koeffizient		RSD [%]		Vermehrungs- faktor	
0 h 72h		0,011		1,1		95	
0 h 72h		WR [µ]	Hemmung [%] Mittel [%]		pH Wert 0 h 72 h		
NK	a	9,0	1,50				
	b	9,3	1,51				
	c	9,2	1,51				
	d	9,2	1,51			7,6 7,7	
	e	9,7	1,52				
	f	10,4	1,55				
Mittelwert Kontrollen		1,52					
G2	a	9,2	1,51	0,6			
	b	9,5	1,52	0,0	0,2	7,6 7,5	
	c	9,4	1,52	0,1			
G3	a	10,5	1,55	-2,3			
	b	8,9	1,50	1,3	-0,3	7,6 7,4	
	c	9,5	1,52	0,0			
G4	a	10,1	1,54	-1,5			
	b	9,5	1,52	-0,1	-1,0	7,6 7,4	
	c	10,1	1,54	-1,4			
Ergebnis G_A ≤ 2							

BAM 8		<i>Desmodesmus subspicatus</i>					
Leitfähigkeit: 2,7 µS/cm		12.- Versuchsdatum: 15.3.2013					
pH: 7,37							
Zellzahl (*10 ⁵ Zellen/ml)		Gültigkeitskriterien Kontrollen					
		Variations- koeffizient		RSD [%]		Vermehrungs- faktor	
0 h 72h		0,011		1,1		95	
0 h 72h		WR [µ]	Hemmung [%] Mittel [%]		pH Wert 0 h 72 h		
NK	a	9,0	1,50				
	b	9,3	1,51				
	c	9,2	1,51				
	d	9,2	1,51			7,6 7,7	
	e	9,7	1,52				
	f	10,4	1,55				
Mittelwert Kontrollen		1,52					
G2	a	9,6	1,52	-0,4			
	b	9,9	1,53	-1,1	0,2	7,6 7,4	
	c	8,6	1,49	2,0			
G3	a	9,8	1,53	-0,7			
	b	9,7	1,53	-0,6	-0,1	7,6 7,4	
	c	9,0	1,50	1,0			
G4	a	8,6	1,48	2,2			
	b	8,9	1,50	1,4	1,4	7,6 7,4	
	c	9,3	1,51	0,5			
Ergebnis: G_A ≤ 2							

BAM 6		<i>Desmodesmus subspicatus</i>					
Leitfähigkeit: 14,2 µS/cm		Versuchsdatum: 12.-15.3.2013					
pH: 7,13							
Zellzahl (*10 ⁵ Zellen/ml)	0 h 72h 0,1	Gültigkeitskriterien Kontrollen					
		Variations- koeffizient		RSD [%]		Vermehrungs- faktor	
		0,011		1,1		95	
		WR [µ]	Hemmung [%]		pH Wert		
			Mittel [%]		0 h	72 h	
NK	a	9,0	1,50				
	b	9,3	1,51				
	c	9,2	1,51				
	d	9,2	1,51			7,6 7,7	
	e	9,7	1,52				
	f	10,4	1,55				
Mittelwert Kontrollen		1,52					
G2	a	7,5	1,44	5,2			
	b	8,4	1,48	2,7	3,8	7,6 7,4	
	c	8,1	1,46	3,5			
G3	a	7,6	1,45	4,7			
	b	9,3	1,51	0,4	2,2	7,6 7,3	
	c	8,8	1,49	1,6			
G4	a	8,6	1,48	2,2			
	b	8,9	1,50	1,4	1,4	7,6 7,3	
	c	9,3	1,51	0,5			
Ergebnis		G_A ≤ 2					

BAM 10		<i>Desmodesmus subspicatus</i>					
Leitfähigkeit: 6,0 µS/cm		Versuchsdatum: 12.-15.3.2013					
pH: 7,11							
Zellzahl (*10 ⁵ Zellen/ml)	0 h 72h 0,1	Gültigkeitskriterien Kontrollen					
		Variations- koeffizient		RSD [%]		Vermehrungs- faktor	
		0,011		1,1		95	
		WR [µ]	Hemmung [%]		pH Wert		
			Mittel [%]		0 h	72 h	
NK	a	9,0	1,50				
	b	9,3	1,51				
	c	9,2	1,51				
	d	9,2	1,51			7,6 7,7	
	e	9,7	1,52				
	f	10,4	1,55				
Mittelwert Kontrollen		1,52					
G2	a	9,6	1,52	-0,4			
	b	9,9	1,53	-1,1	0,2	7,6 7,4	
	c	8,6	1,49	2,0			
G3	a	9,8	1,53	-0,7			
	b	9,7	1,53	-0,6	-0,1	7,5 7,3	
	c	9,0	1,50	1,0			
G4	a	11,0	1,57	-3,2			
	b	10,0	1,53	-1,1	-2,0	7,5 7,3	
	c	10,3	1,54	-1,8			
Ergebnis		G_A ≤ 2					

BAM 11		<i>Desmodesmus subspicatus</i>					
Leitfähigkeit: 354 µS/cm		Versuchsdatum: 12.-15.3.2013					
pH: 7,76							
Zellzahl (*10 ⁵ Zellen/ml)	0 h 72h 0,1	Gültigkeitskriterien Kontrollen					
		Variations- koeffizient		RSD [%]		Vermehrungs- faktor	
		0,015		1,5		99	
		WR [µ]	Hemmung [%]		pH Wert		
			Mittel [%]		0 h	72 h	
NK	a	9,8	1,53				
	b	9,5	1,52				
	c	9,1	1,50				
	d	9,8	1,53			7,6 7,7	
	e	10,3	1,54				
	f	11,1	1,57				
Mittelwert Kontrollen		1,53					
G2	a	6,9	1,41	7,8			
	b	7,2	1,43	7,0	6,9	7,6 7,6	
	c	7,6	1,44	5,9			
G3	a	9,0	1,50	2,1			
	b	10,0	1,53	-0,1	0,7	7,6 7,6	
	c	9,8	1,53	0,2			
G4	a	9,1	1,51	1,7			
	b	8,4	1,48	3,5	2,2	7,6 7,5	
	c	9,3	1,51	1,5			
Ergebnis		G_A = 3					

Hydrotox-DSL-T-Kontrolle		<i>D. subspicatus</i>					
Leitfähigkeit: 3,1 µS/cm		Versuchsdatum: 12.-15.3.2013					
pH: 7,80							
Zellzahl (*10 ⁵ Zellen/ml)	0 h 72h 0,1	Gültigkeitskriterien Kontrollen					
		Variations- koeffizient		RSD [%]		Vermehrungs- faktor	
		0,015		1,5		99	
		WR [µ]	Hemmung [%]		pH Wert		
			Mittel [%]		0 h	72 h	
NK	a	9,8	1,53				
	b	9,5	1,52				
	c	9,1	1,50				
	d	9,8	1,53			7,6 7,7	
	e	10,3	1,54				
	f	11,1	1,57				
Mittelwert Kontrollen		1,53					
G2	a	12,5	1,61	-5,1			
	b	12,4	1,61	-4,9	-4,9	7,6 7,5	
	c	12,3	1,60	-4,7			
Ergebnis		G_A ≤ 2					

BAM 12		<i>Desmodesmus subspicatus</i>				
Leitfähigkeit: 1,8 µS/cm		Versuchsdatum: 12.-15.3.2013				
pH: 8,16						
Zellzahl (*10 ⁵ Zellen/ml)	Gültigkeitskriterien Kontrollen					
	Variations- koeffizient		RSD [%]		Vermehrungs- faktor	
	0,015		1,5		99	
0 h	72h	WR [µ]	Hemmung [%] Mittel [%]		pH Wert 0 h 72 h	
0,1						
NK	a	9,8	1,53			
	b	9,5	1,52			
	c	9,1	1,50			
	d	9,8	1,53		7,6 7,7	
	e	10,3	1,54			
	f	11,1	1,57			
Mittelwert Kontrollen		1,53				
G2	a	10,1	1,54	-0,4		
	b	10,4	1,55	-1,0 -0,6	7,6 7,5	
	c	10,2	1,54	-0,6		
G3	a	11,0	1,57	-2,2		
	b	11,2	1,57	-2,7 -2,7	7,5 7,5	
	c	11,4	1,58	-3,1		
G4	a	10,8	1,56	-2,0		
	b	10,2	1,54	-0,6 -1,8	7,5 7,6	
	c	11,2	1,57	-2,7		
Ergebnis G_A ≤ 2						

BAM 13		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>				
Leitfähigkeit: 17,8 µS/cm		Versuchsdatum: 6.-9.12.2013				
pH: 5,8						
Zellzahl (*10 ⁵ Zellen/ml)	Gültigkeitskriterien Kontrollen					
	Variations- koeffizient		RSD [%]		Vermehrungs- faktor	
	0,018		1,8		487	
0 h	72h	WR [µ]	Hemmung [%] Mittel [%]		pH Wert 0 h 72 h	
0,07						
NK	a	27,4	1,99			
	b	35,1	2,07			
	c	34,5	2,07		7,5 7,5	
	d	37,5	2,09			
	e	36,5	2,09			
	f	34,9	2,07			
Mittelwert Kontrollen		2,06				
G1	a	0,8	0,81	60,8		
	b	0,8	0,81	60,8 58,8	7,2 7,7	
	c	1,1	0,93	55,0		
G2	a	1,8	1,09	47,3		
	b	1,4	1,01	51,1 48,9	7,2 7,7	
	c	1,7	1,07	48,3		
G3	a	3,0	1,25	39,3		
	b	3,3	1,28	37,9 35,9	7,3 7,6	
	c	5,1	1,43	30,6		
G4	a	8,3	1,59	22,9		
	b	8,9	1,61	21,7 28,0	7,4 7,6	
	c	3,0	1,25	39,3		
G6	a	19,5	1,88	9,0		
	b	17,9	1,85	10,5 8,9	7,4 7,6	
	c	22,0	1,92	7,1		
G8	a	28,5	2,00	2,9		
	b	26,4	1,98	4,2 3,3	7,5 7,6	
	c	28,7	2,01	2,8		
G12	a	34,5	2,07	-0,2		
	b	33,1	2,05	0,5 0,5	7,5 7,6	
	c	31,7	2,04	1,2		
Ergebnis: G_A = 8						

BAM 14		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>				
Leitfähigkeit: 23,8 µS/cm		Versuchsdatum: 22.-25.10.2013				
pH: 5,3 eingestellt auf 6,8						
Zellzahl (*10 ⁵ Zellen/ml)	Gültigkeitskriterien Kontrollen					
	Variations- koeffizient		RSD [%]		Vermehrungs- faktor	
	0,023		2,3		170	
0 h	72h	WR [µ]	Hemmung [%] Mittel [%]		pH Wert 0 h 72 h	
0,07						
NK	a	14,2	1,77			
	b	11,9	1,71			
	c	11,4	1,70		7,4 7,3	
	d	11,7	1,71			
	e	9,9	1,65			
	f	12,5	1,73			
Mittelwert Kontrollen		1,71				
G6	a	0,1	0,14	92,0		
	b	0,1	0,13	92,4 90,5	7,4 7,5	
	c	0,1	0,22	87,0		
G8	a	0,4	0,60	65,2		
	b	0,5	0,63	63,1 65,1	7,4 7,4	
	c	0,4	0,56	67,1		
G12	a	1,0	0,88	48,6		
	b	0,7	0,79	53,9 50,3	7,4 7,4	
	c	1,0	0,88	48,4		
G16	a	1,2	0,96	44,1		
	b	1,2	0,95	44,7 44,8	7,3 7,4	
	c	1,1	0,93	45,7		
G24	a	4,3	1,37	19,9		
	b	3,4	1,29	24,5 18,9	7,3 7,4	
	c	6,3	1,50	12,4		
G32	a	5,5	1,46	14,9		
	b	8,6	1,60	6,4 10,4	7,3 7,4	
	c	7,1	1,54	10,0		
G48	a	9,8	1,65	3,8		
	b	10,3	1,67	2,7 5,0	7,3 7,4	
	c	7,7	1,57	8,4		
G64	a	9,9	1,65	3,5		
	b	8,7	1,61	6,0 4,8	7,3 7,4	
	c					
G96	a	12,4	1,73	-0,8		
	b	7,9	1,58	7,9 3,6	7,4 7,3	
	c	9,8	1,65	3,7		
Ergebnis G_A = 64						

BAM G1		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>					
Leitfähigkeit: 198 µS/cm		Versuchsdatum: 22.-25.10.2013					
pH: 7,85							
Zellzahl (*10 ⁵ Zellen/ml)		Gültigkeitskriterien Kontrollen					
		Variations- koeffizient		RSD [%]		Vermehrungs- faktor	
0 h 72h		0,026		2,6		176	
0 h 72h		WR [µ]	Hemmung [%] Mittel [%]		pH Wert 0 h 72 h		
NK	a	15,2	1,79			7,4	7,3
	b	12,2	1,72				
	c	11,8	1,71				
	d	12,1	1,72				
	e	10,1	1,66				
	f	12,9	1,74				
Mittelwert Kontrollen		1,72					
G12	a	0,0	-1,15	167,0		7,4	7,3
	b	0,0	-1,15	167,0	167,0		
	c	0,0	-1,15	167,0			
G16	a	0,0	-1,15	167,0		7,4	7,4
	b	0,0	-1,15	167,0	167,0		
	c	0,0	-1,15	167,0			
G24	a	0,1	0,08	95,6		7,4	7,4
	b	0,0	-0,56	132,3	114,1		
	c	0,0	-0,25	114,6			
G32	a	0,1	-0,07	103,9		7,4	7,4
	b	0,0	-0,19	111,0	106,3		
	c	0,1	-0,07	103,9			
G48	a	0,2	0,35	79,7		7,4	7,4
	b	0,2	0,26	84,7	83,6		
	c	0,1	0,23	86,5			
G64	a	0,0	-0,12	107,1		7,4	7,3
	b	0,3	0,46	73,1	83,7		
	c	0,3	0,50	70,9			
G96	a	2,3	1,17	32,3		7,4	7,3
	b	2,8	1,24	28,3	27,9		
	c	3,7	1,33	23,0			
G128	a	4,3	1,37	20,2		7,4	7,3
	b	6,0	1,48	13,8	15,6		
	c	6,4	1,51	12,6			
G192	a	10,8	1,68	2,5		7,3	7,3
	b	9,4	1,63	5,1	8,5		
	c	4,9	1,41	17,9			
Ergebnis:		G_A > 192					

BAM 22		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>					
Leitfähigkeit: 336 µS/cm		Versuchsdatum: 24.-27.09.2013					
pH: 6,83							
Zellzahl (*10 ⁵ Zellen/ml)		Gültigkeitskriterien Kontrollen					
		Variations- koeffizient		RSD [%]		Vermehrungs- faktor	
0 h 72h		0,007		0,7		265	
0 h 72h		WR [µ]	Hemmung [%] Mittel [%]		pH Wert 0 h 72 h		
NK	a	18,1	1,85			7,6	7,6
	b	18,7	1,86				
	c	19,8	1,88				
	d	18,6	1,86				
	e	17,7	1,84				
	f	18,3	1,86				
Mittelwert Kontrollen		1,86					
G2	a	10,5	1,67	10,2		7,2	7,8
	b	8,8	1,61	13,4	11,4		
	c	10,2	1,66	10,7			
G3	a	12,6	1,73	6,9		7,2	7,8
	b	12,5	1,73	7,1	6,9		
	c	12,8	1,74	6,6			
G4	a	15,0	1,79	3,8		7,3	7,8
	b	14,7	1,78	4,1	4,2		
	c	14,2	1,77	4,8			
G6	a	17,1	1,83	1,5		7,4	7,7
	b	15,8	1,81	2,9	2,1		
	c	16,8	1,83	1,8			
Ergebnis:		G_A = 4					

BAM G1		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>					
Leitfähigkeit: 219 µS/cm		Versuchsdatum: 3.-6.12.2013					
pH: 7,4							
Zellzahl (*10 ⁵ Zellen/ml)		Gültigkeitskriterien Kontrollen					
		Variations- koeffizient		RSD [%]		Vermehrungs- faktor	
0 h 72h		0,009		0,9		320	
0 h 72h		WR [µ]	Hemmung [%] Mittel [%]		pH Wert 0 h 72 h		
NK	a	22,8	1,93			7,7	7,4
	b	20,8	1,90				
	c	23,9	1,94				
	d	22,8	1,93				
	e	22,8	1,93				
	f	21,4	1,91				
Mittelwert Kontrollen		1,92					
G128	a	12,9	1,74	9,6		7,8	7,4
	b	12,9	1,74	9,5	9,7		
	c	12,7	1,73	9,9			
G192	a	19,1	1,87	2,8		7,8	7,4
	b	18,3	1,85	3,5	3,6		
	c	17,4	1,84	4,4			
G256	a	22,3	1,92	0,1		7,7	7,4
	b	14,0	1,77	8,1	3,0		
	c	21,4	1,91	0,8			
G384	a	20,7	1,90	1,4		7,7	7,4
	b	22,8	1,93	-0,3	0,7		
	c	21,2	1,90	1,0			
PK	a	6,9	1,53	20,5		7,7	7,4
	b	6,4	1,51	21,7	21,1		
Ergebnis:		G_A = 192					

BAM G2		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>					
Leitfähigkeit: 198,4 µS/cm		Versuchsdatum: 28.-31.10.2013					
pH: 9,25 eingesellt auf 7,10							
Zellzahl (*10 ⁵ Zellen/ml)		Gültigkeitskriterien Kontrollen					
		Variations- koeffizient	RSD [%]		Vermehrungs- faktor		
		0,026	2,6		256		
0 h	72h	WR [µ]	Hemmung		pH Wert		
0,07	0,07		[%]	Mittel [%]	0 h	72 h	
NK	a	18,0	1,85				
	b	19,4	1,87				
	c	16,8	1,83				
	d	20,6	1,90			7,5 7,5	
	e	13,9	1,76				
	f	19,5	1,88				
Mittelwert Kontrollen		1,85					
G2	a	0,1	-0,02	101,1			
	b	0,6	0,71	61,7	86,1	7,6 7,4	
	c	0,1	0,08	95,4			
G3	a	0,7	0,78	57,7			
	b	0,3	0,45	75,6	64,8	7,6 7,5	
	c	0,6	0,72	61,2			
G4	a	1,9	1,10	40,7			
	b	1,0	0,88	52,2	54,0	7,6 7,5	
	c	0,4	0,57	69,0			
G6	a	2,8	1,23	33,6			
	b	3,7	1,32	28,3	36,4	7,6 7,5	
	c	1,3	0,97	47,4			
G8	a	6,1	1,49	19,5			
	b	8,6	1,60	13,3	21,7	7,6 7,4	
	c	3,0	1,25	32,3			
G12	a	7,3	1,55	16,1			
	b	6,5	1,51	18,2	15,4	7,6 7,4	
	c	9,4	1,63	11,7			
Ergebnis: G_A > 12							

BAM G2		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>					
Leitfähigkeit: 202 µS/cm		Versuchsdatum: 3.-6.12.2013					
pH: 7,5							
Zellzahl (*10 ⁵ Zellen/ml)		Gültigkeitskriterien Kontrollen					
		Variations- koeffizient	RSD [%]		Vermehrungs- faktor		
		0,009	0,9		320		
0 h	72h	WR [µ]	Hemmung		pH Wert		
0,07	0,07		[%]	Mittel [%]	0 h	72 h	
NK	a	22,8	1,93				
	b	20,8	1,90				
	c	23,9	1,94				
	d	22,8	1,93			7,5 7,5	
	e	22,8	1,93				
	f	21,4	1,91				
Mittelwert Kontrollen		1,92					
G8	a	6,2	1,50	22,1			
	b	7,5	1,56	19,1	21,6	7,6 7,4	
	c	5,8	1,47	23,5			
G12	a	10,1	1,66	13,7			
	b	9,7	1,64	14,5	11,1	7,6 7,5	
	c	16,7	1,82	5,1			
G16	a	19,6	1,88	2,4			
	b	16,1	1,81	5,8	3,4	7,6 7,5	
	c	19,8	1,88	2,2			
G24	a	21,8	1,91	0,4			
	b	20,2	1,89	1,8	0,9	7,6 7,5	
	c	21,9	1,92	0,4			
G32	a	23,3	1,94	-0,7			
	b	22,9	1,93	-0,4	-0,5	7,6 7,4	
	c	23,1	1,93	-0,5			
G48	a	25,0	1,96	-1,9			
	b	26,9	1,98	-3,2	-2,0	7,6 7,4	
	c	23,8	1,94	-1,1			
Ergebnis: G_A =16							

HSR 2		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>				
Leitfähigkeit: 19,7 µS/cm		Versuchsdatum: 15.-18.10.2013				
pH: 6,86						
Zellzahl (*10 ⁵ Zellen/ml)		Gültigkeitskriterien Kontrollen				
		Variations- koeffizient		RSD [%]		Vermehrungs- faktor
0 h	72h	0,045		4,5		153
		WR [µ]	Hemmung [%] Mittel [%]		pH Wert 0 h 72 h	
NK	a	7,3	1,55			
	b	9,3	1,63			
	c	11,2	1,69			7,5 7,5
	d	11,8	1,71			
	e	14,0	1,77			
	f	11,8	1,71			
Mittelwert Kontrollen		1,68				
G3	a	0,1	-0,02	101,2		
	b	0,1	-0,01	100,5	103,3	7,6 7,5
	c	0,0	-0,14	108,3		
G4	a	0,1	0,08	95,0		
	b	0,1	0,10	94,0	94,0	7,6 7,5
	c	0,1	0,12	93,1		
G6	a	0,2	0,34	79,6		
	b	0,2	0,34	80,0	79,1	7,6 7,5
	c	0,2	0,37	77,8		
G8	a	1,1	0,90	46,1		
	b	0,8	0,80	52,2	50,2	7,6 7,5
	c	0,8	0,80	52,3		
G12	a	3,5	1,31	22,0		
	b	3,6	1,31	21,6	21,3	7,6 7,5
	c	3,9	1,34	20,3		
G16	a	8,5	1,60	4,5		
	b	8,4	1,60	4,9	4,5	7,6 7,5
	c	8,8	1,61	4,0		
G24	a	11,3	1,69	-1,1		
	b	11,5	1,70	-1,5	-1,2	7,6 7,5
	c	11,3	1,69	-1,1		
G32	a	14,3	1,77	-5,8		
	b	13,9	1,76	-5,2	-5,3	7,6 7,5
	c	13,7	1,76	-4,9		
Ergebnis		G_A = 16				

HSR 2		<i>Desmodesmus subspicatus</i>				
Leitfähigkeit: 20,1 µS/cm		Versuchsdatum: 6.-9.8.2013				
pH: 6,84						
Zellzahl (*10 ⁵ Zellen/ml)		Gültigkeitskriterien Kontrollen				
		Variations- koeffizient		RSD [%]		Vermehrungs- faktor
0 h	72h	0,009		0,9		100
		WR [µ]	Hemmung [%] Mittel [%]		pH Wert 0 h 72 h	
NK	a	5,2	1,55			
	b	5,1	1,54			
	c	4,9	1,53			7,3 7,8
	d	4,7	1,51			
	e	4,9	1,53			
	f	5,2	1,55			
Mittelwert Kontrollen		1,54				
G4	a	0,9	0,96	37,3		
	b	0,9	0,97	36,7	37,4	7,5 7,8
	c	0,9	0,95	38,3		
G6	a	2,1	1,25	18,9		
	b	1,8	1,19	22,5	21,0	7,5 7,8
	c	1,8	1,20	21,7		
G8	a	3,0	1,37	11,0		
	b	3,1	1,37	10,7	11,1	7,5 7,7
	c	2,9	1,36	11,6		
G12	a	4,8	1,52	1,1		
	b	4,4	1,49	3,0	1,8	7,5 7,7
	c	4,7	1,52	1,2		
G16	a	5,0	1,54	-0,1		
	b	4,8	1,52	0,9	0,1	7,5 7,7
	c	5,1	1,54	-0,4		
G24	a	5,7	1,58	-2,6		
	b	5,5	1,57	-1,9	-2,2	7,5 7,7
	c	5,5	1,57	-2,1		
G32	a	6,1	1,60	-4,1		
	b	5,5	1,57	-2,1	-4,1	7,5 7,7
	c	6,6	1,63	-6,1		
G48	a	5,2	1,55	-0,6		
	b	5,6	1,58	-2,6	-1,2	7,5 7,7
	c	5,1	1,54	-0,3		
Ergebnis		G_A = 12				

HSR 3		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>				
Leitfähigkeit: 34,9 µS/cm		Versuchsdatum: 15.-18.10.2013				
pH: 4,20 eingestellt auf 7,10						
Zellzahl (*10 ⁵ Zellen/ml)	Gültigkeitskriterien Kontrollen					
	Variations- koeffizient		RSD [%]		Vermehrungs- faktor	
0 h	72h	0,045		4,5		155
0 h	72h	WR [µ]	Hemmung [%] Mittel [%]		pH Wert 0 h 72 h	
NK	a 7,5	1,56			7,5	7,5
	b 9,3	1,63				
	c 11,5	1,70				
	d 12,1	1,72				
	e 14,1	1,77				
	f 12,0	1,71				
Mittelwert Kontrollen		1,68				
G16	a 0,0	-0,17	110,2			
	b 0,0	-0,42	125,0	120,9	7,6	7,5
	c 0,0	-0,46	127,4			
G24	a 0,1	0,16	90,3			
	b 0,1	0,19	88,8	91,5	7,6	7,5
	c 0,1	0,08	95,5			
G32	a 0,3	0,43	74,4			
	b 0,2	0,29	82,5	79,9	7,6	7,5
	c 0,2	0,29	83,0			
G48	a 0,2	0,26	84,7			
	b 0,3	0,50	70,3	79,0	7,6	7,5
	c 0,2	0,30	82,0			
G64	a 0,3	0,49	70,6			
	b 0,2	0,34	79,8	74,4	7,6	7,5
	c 0,3	0,46	72,9			
Ergebnis G_A > 64						

HSR 3		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>				
Leitfähigkeit: 34,8 µS/cm		Versuchsdatum: 21.-24.10.2013				
pH: 4,13 eingestellt auf 7,00						
Zellzahl (*10 ⁵ Zellen/ml)	Gültigkeitskriterien Kontrollen					
	Variations- koeffizient		RSD [%]		Vermehrungs- faktor	
0 h	72h	0,032		3,2		295
0 h	72h	WR [µ]	Hemmung [%] Mittel [%]		pH Wert 0 h 72 h	
NK	a 14,8	1,78				
	b 22,6	1,93				
	c 24,2	1,95			7,3	7,5
	d 21,3	1,91				
	e 23,7	1,94				
	f 19,1	1,87				
Mittelwert Kontrollen		1,90				
G48	a 0,3	0,47	75,1			
	b 0,3	0,45	76,4	74,7	7,3	7,6
	c 0,3	0,52	72,6			
G64	a 0,2	0,35	81,7			
	b 0,4	0,61	67,9	73,9	7,3	7,6
	c 0,3	0,53	71,9			
G96	a 1,0	0,89	53,3			
	b 0,9	0,85	55,1	54,7	7,3	7,6
	c 0,9	0,84	55,8			
G128	a 1,8	1,08	43,3			
	b 1,0	0,89	52,8	48,2	7,3	7,6
	c 1,3	0,98	48,5			
G192	a 1,4	1,00	47,1			
	b 2,9	1,24	34,5	45,2	7,3	7,6
	c 1,0	0,87	54,0			
G256	a 2,8	1,22	35,5			
	b 1,7	1,06	43,9	37,1	7,3	7,6
	c 3,3	1,29	32,0			
Ergebnis G_A > 256						

HSR 3		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>					
Leitfähigkeit: 37,7 µS/cm		Versuchsdatum: 22. - 25.11.2013		pH: 4,30 eingestellt auf 7,1			
Zellzahl	Gültigkeitskriterien Kontrollen	koeffizient		RSD [%]		ungs-	
		0,014	1,4	478			
0 h	72h	WR [µ]	Hemmung [%]	Mittel [%]	Wert	0 h	72 h
NK	a	28,7	2,00		7,5		7,7
	b	34,7	2,07				
	c	33,0	2,05				
	d	36,2	2,08				
	e	35,7	2,08				
	f	33,0	2,05				
Mittelwert Kontrollen		2,06					
G192	a	9,5	1,64	20,4	18,8	7,6	7,8
	b	12,2	1,72	16,3			
	c	10,0	1,65	19,6			
G256	a	16,5	1,82	11,5	14,3	7,6	7,8
	b	12,3	1,72	16,2			
	c	13,1	1,74	15,2			
G384	a	18,6	1,86	9,5	8,6	7,6	7,8
	b	20,0	1,88	8,4			
	c	20,3	1,89	8,1			
G512	a	28,1	2,00	2,9	4,9	7,6	7,8
	b	26,2	1,97	4,0			
	c	20,7	1,90	7,8			
G768	a	26,8	1,98	3,6	3,1	7,6	7,8
	b	27,2	1,99	3,3			
	c	29,0	2,01	2,3			
G1024	a	31,6	2,04	0,9	1,3	7,6	7,8
	b	31,5	2,04	1,0			
	c	29,5	2,01	2,1			
Ergebnis		G_A = 512					

HSR 3		<i>Desmodesmus subspicatus</i>					
Leitfähigkeit: 33,4 µS/cm		Versuchsdatum: 13.-16.8.2013		pH: 4,21 eingestellt auf 7,2			
Zellzahl	Gültigkeitskriterien Kontrollen	Variations-		RSD [%]		Vermehrungs-	
		koeffizient	0,014	1,4	100		
0 h	72h	WR [µ]	Hemmung [%]	Mittel [%]	pH Wert	0 h	72 h
NK	a	5,1	1,54				
	b	4,9	1,53				
	c	5,1	1,54			7,2	7,6
	d	5,1	1,54				
	e	4,4	1,49				
	f	5,4	1,56				
Mittelwert Kontrollen		1,53					
G4	a	0,0	-0,04	102,58			
	b	0,1	0,07	95,19	98,4	7,7	7,4
	c	0,1	0,04	97,38			
G6	a	0,2	0,40	73,99			
	b	0,1	0,11	92,82	87,1	7,7	7,4
	c	0,1	0,09	94,37			
G8	a	0,2	0,46	69,85			
	b	0,2	0,43	72,04	69,7	7,7	7,5
	c	0,2	0,50	67,28			
G12	a	0,4	0,71	53,66			
	b	0,4	0,69	55,26	55,2	7,7	7,5
	c	0,4	0,66	56,77			
G16	a	0,6	0,83	46,08			
	b	0,8	0,92	40,07	42,8	7,7	7,6
	c	0,7	0,89	42,33			
G24	a	1,3	1,10	28,58			
	b	1,6	1,15	25,06	25,2	7,7	7,6
	c	1,8	1,20	22,09			
G32	a	2,4	1,29	16,19			
	b	2,3	1,27	17,20	15,6	7,7	7,5
	c	2,7	1,33	13,48			
G48	a	3,2	1,38	9,85			
	b	3,2	1,39	9,58	10,0	7,6	7,5
	c	3,1	1,37	10,64			
Ergebnis:		G_A > 64					

HSR 6		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>					
Leitfähigkeit: 6,4 µS/cm		Versuchsdatum: 11.-14.10.2013		pH: 6,32			
Zellzahl	Gültigkeitskriterien Kontrollen	Variations-		RSD [%]		Vermehrungs-	
		koeffizient	0,014	1,4	308		
0 h	72h	WR [µ]	Hemmung [%]	Mittel [%]	pH Wert	0 h	72 h
NK	a	21,3	1,91				
	b	20,7	1,90				
	c	22,9	1,93			7,5	7,6
	d	24,3	1,95				
	e	21,0	1,90				
	f	19,6	1,88				
Mittelwert Kontrollen		1,91					
G1	a	27,4	1,99	-4,20			
	b	26,6	1,98	-3,66	-3,2	7,6	8,0
	c	23,8	1,94	-1,72			
G2	a	28,5	2,00	-4,87			
	b	28,2	2,00	-4,66	-4,9	7,6	7,9
	c	29,2	2,01	-5,29			
G3	a	28,9	2,01	-5,08			
	b	29,7	2,02	-5,56	-5,1	7,6	7,8
	c	28,4	2,00	-4,77			
Ergebnis		G_A = 1					

HSR 6		<i>Desmodesmus subspicatus</i>					
Leitfähigkeit: 6,1 µS/cm		Versuchsdatum: 6.-9.8.2013		pH: 6,15			
Zellzahl	Gültigkeitskriterien Kontrollen	Variations-		RSD [%]		Vermehrungs-	
		koeffizient	0,014	1,4	99		
0 h	72h	WR [µ]	Hemmung [%]	Mittel [%]	pH Wert	0 h	72 h
NK	a	5,1	1,54				
	b	5,1	1,54				
	c	4,6	1,51				
	d	4,6	1,50				
	e	4,9	1,53				
	f	5,3	1,56				
Mittelwert Kontrollen		1,53					
G1	a	6,9	1,64	-7,26			
	b	6,5	1,63	-6,14	-5,7		
	c	5,9	1,59	-3,68			
G2	a	6,6	1,63	-6,21			
	b	6,9	1,64	-7,24	-5,8		
	c	6,0	1,59	-4,08			
G3	a	6,5	1,62	-5,85			
	b	6,1	1,60	-4,49	-5,0		
	c	6,1	1,60	-4,58			
Ergebnis		G_A = 1					

HSR 7		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>					
Leitfähigkeit: 20,4 µS/cm		Versuchsdatum: 11.-14.10.2013					
pH: 7,31							
Zellzahl (*10 ⁵ Zellen/ml)	Gültigkeitskriterien Kontrollen						
	Variations- koeffizient		RSD [%]		Vermehrungs- faktor		
0 h	72h	0,014		1,4		308	
		WR [µ]	Hemmung [%]		pH Wert		
				Mittel [%]	0 h	72 h	
NK	a	21,3	1,91				
	b	20,7	1,90				
	c	22,9	1,93				
	d	24,3	1,95		7,5	7,6	
	e	21,0	1,90				
	f	19,6	1,88				
Mittelwert Kontrollen		1,91					
G1	a	32,6	2,05	-7,19			
	b	33,4	2,06	-7,65	-7,5	7,7	8,3
	c	33,7	2,06	-7,78			
G2	a	34,0	2,06	-7,96			
	b	32,6	2,05	-7,22	-7,7	7,6	8,3
	c	34,0	2,06	-7,91			
G3	a	33,5	2,06	-7,68			
	b	33,3	2,06	-7,59	-7,6	7,5	8,2
	c	33,1	2,05	-7,47			
Ergebnis:		G_A = 1					

HSR 7		<i>Desmodesmus subspicatus</i>					
Leitfähigkeit: 20,4 µS/cm		Versuchsdatum: 6.-9.8.2013					
pH: 7,02							
Zellzahl (*10 ⁵ Zellen/ml)	Gültigkeitskriterien Kontrollen						
	Variations- koeffizient		RSD [%]		Vermehrungs- faktor		
0 h	72h	0,014		1,4		99	
		WR [µ]	Hemmung [%]		pH Wert		
				Mittel [%]	0 h	72 h	
NK	a	5,1	1,54				
	b	5,1	1,54				
	c	4,6	1,51				
	d	4,6	1,50		7,5	7,6	
	e	4,9	1,53				
	f	5,3	1,56				
Mittelwert Kontrollen		1,53					
G1	a	6,2	1,61	-4,84			
	b	6,3	1,61	-5,13	-4,2	7,7	8,3
	c	5,6	1,57	-2,68			
G2	a	6,2	1,61	-4,93			
	b	5,8	1,59	-3,58	-4,3	7,6	8,3
	c	6,0	1,60	-4,24			
G3	a	6,3	1,61	-5,38			
	b	6,8	1,64	-7,11	-5,6	7,5	8,2
	c	6,0	1,60	-4,39			
Ergebnis:		G_A = 1					

HSR 10		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>					
Leitfähigkeit: 18,0 µS/cm		Versuchsdatum: 25.-28.10.2013					
pH: 6,26							
Zellzahl (*10 ⁵ Zellen/ml)	Gültigkeitskriterien Kontrollen						
	Variations- koeffizient		RSD [%]		Vermehrungs- faktor		
0 h	72h	0,017		1,7		245	
		WR [µ]	Hemmung [%]		pH Wert		
				Mittel [%]	0 h	72 h	
NK	a	17,5	1,84				
	b	17,0	1,83				
	c	16,0	1,81				
	d	18,6	1,86		7,4	7,7	
	e	15,0	1,79				
	f	19,2	1,87				
Mittelwert Kontrollen		1,83					
G1	a	5,5	1,46	20,54			
	b	5,0	1,42	22,34	21,9	7,3	7,5
	c	4,9	1,42	22,80			
G2	a	10,1	1,66	9,56			
	b	9,9	1,65	9,95	9,6	7,3	7,6
	c	10,2	1,66	9,42			
G3	a	12,9	1,74	5,22			
	b	11,0	1,69	8,03	7,3	7,3	7,6
	c	10,7	1,68	8,54			
Ergebnis		G_A > 3					

HSR 10		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>					
Leitfähigkeit: 19,4 µS/cm		Versuchsdatum: 29.11.-2.12.13					
pH: 6,27							
Zellzahl (*10 ⁵ Zellen/ml)	Gültigkeitskriterien Kontrollen						
	Variations- koeffizient		RSD [%]		Vermehrungs- faktor		
0 h	72h	0,011		1,1		511	
		WR [µ]	Hemmung [%]		pH Wert		
				Mittel [%]	0 h	72 h	
NK	a	31,4	2,04				
	b	37,6	2,10				
	c	36,0	2,08				
	d	36,2	2,08		7,6	7,4	
	e	37,6	2,10				
	f	36,1	2,08				
Mittelwert Kontrollen		2,08					
G2	a	14,3	1,77	14,71			
	b	13,5	1,75	15,68	15,0	7,5	7,5
	c	14,3	1,77	14,72			
G3	a	24,0	1,95	6,39			
	b	23,0	1,93	7,10	7,0	7,6	7,5
	c	22,5	1,92	7,42			
G4	a	28,9	2,01	3,40			
	b	28,9	2,01	3,41	3,3	7,5	7,5
	c	29,2	2,01	3,23			
G6	a	32,8	2,05	1,37			
	b	33,8	2,06	0,89	1,0	7,5	7,5
	c	34,4	2,07	0,63			
Ergebnis:		G_A = 4					

HSR 10		<i>Desmodemus subspicatus</i>						
Leitfähigkeit: 17,6 µS/cm		Versuchsdatum: 13.-16.8.2013						
pH: 6,23								
Zellzahl (*10 ⁵ Zellen/ml)	Gültigkeitskriterien Kontrollen							
			Variations- koeffizient		RSD [%]		Vermehrungs- faktor	
	0 h	72h	0,009		0,9		102	
0 h	72h	WR [µ]	Hemmung [%]		pH Wert		0 h	72 h
0,05			[%]	Mittel [%]				
NK	a	5,5	1,56					
	b	5,2	1,55					
	c	5,0	1,54				7,6	7,6
	d	5,2	1,55					
	e	4,8	1,52					
	f	5,1	1,54					
Mittelwert Kontrollen		1,54						
G1	a	6,4	1,61	-4,67				
	b	6,1	1,60	-3,96	-4,2		7,6	7,5
	c	6,2	1,60	-3,97				
G2	a	6,0	1,60	-3,40				
	b	6,1	1,60	-3,95	-4,1		7,7	7,5
	c	6,4	1,62	-4,94				
G3	a	6,4	1,61	-4,67				
	b	6,1	1,60	-3,96	-4,2		7,6	7,5
	c	6,2	1,60	-3,97				
Ergebnis		G_A = 1						

HSR 10		<i>Desmodemus subspicatus</i>						
Leitfähigkeit: 18,7 µS/cm		Versuchsdatum: 20.-23.8.2013						
pH: 6,3								
Zellzahl (*10 ⁵ Zellen/ml)	Gültigkeitskriterien Kontrollen							
			Variations- koeffizient		RSD [%]		Vermehrungs- faktor	
	0 h	72h	0,010		1,0		159	
0 h	72h	WR [µ]	Hemmung [%]		pH Wert		0 h	72 h
0,08			[%]	Mittel [%]				
NK	a	12,3	1,68					
	b	12,5	1,68					
	c	12,4	1,68				7,6	7,7
	d	12,7	1,69					
	e	14,0	1,72					
	f	12,5	1,68					
Mittelwert Kontrollen		1,69						
G1	a	15,7	1,76	-4,15				
	b	14,7	1,74	-2,89	-3,3		7,7	7,8
	c	14,7	1,74	-2,89				
G2	a	15,0	1,74	-3,17				
	b	14,9	1,74	-3,03	-3,3		7,7	7,8
	c	15,4	1,75	-3,77				
G3	a	13,9	1,72	-1,71				
	b	14,5	1,73	-2,54	-2,2		7,7	7,8
	c	14,5	1,73	-2,50				
Ergebnis		G_A = 1						

HSR 12		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>						
Leitfähigkeit: 17,4 µS/cm		Versuchsdatum: 1.-4.10.2013						
pH: 6,75								
Zellzahl (*10 ⁵ Zellen/ml)	Gültigkeitskriterien Kontrollen							
			Variations- koeffizient		RSD [%]		Vermehrungs- faktor	
	0 h	72h	0,015		1,5		216	
0 h	72h	WR [µ]	Hemmung [%]		pH Wert		0 h	72 h
0,07			[%]	Mittel [%]				
NK	a	16,2	1,81					
	b	17,3	1,84					
	c	14,5	1,78				7,5	7,7
	d	14,2	1,77					
	e	14,5	1,78					
	f	14,6	1,78					
Mittelwert Kontrollen		1,79						
G2	a	11,3	1,70	5,39				
	b	11,4	1,70	5,35	5,2		7,5	7,6
	c	11,6	1,70	4,99				
G3	a	13,4	1,75	2,23				
	b	13,7	1,76	1,81	1,8		7,5	7,7
	c	14,2	1,77	1,21				
G4	a	15,0	1,79	0,24				
	b	15,6	1,80	-0,55	-0,2		7,5	7,8
	c	15,5	1,80	-0,42				
G6	a	15,8	1,81	-0,75				
	b	15,3	1,79	-0,13	-0,5		7,5	7,9
	c	15,6	1,80	-0,49				
G8	a	17,1	1,83	-2,21				
	b	17,6	1,84	-2,78	-2,4		7,5	7,9
	c	17,2	1,83	-2,32				
G12	a	17,4	1,84	-2,59				
	b	17,5	1,84	-2,66	-2,7		7,5	7,8
	c	17,8	1,85	-2,97				
G16	a	16,5	1,82	-1,63				
	b	17,5	1,84	-2,70	-2,5		7,5	8,0
	c	18,0	1,85	-3,25				
G24	a	16,9	1,83	-2,07				
	b	17,4	1,84	-2,58	-2,2		7,5	8,2
	c	16,9	1,83	-2,07				
G32	a	17,3	1,84	-2,46				
	b	16,1	1,81	-1,17	-2,1		7,5	8,1
	c	17,5	1,84	-2,71				
G48	a	17,2	1,83	-2,37				
	b	17,9	1,85	-3,13	-2,5		7,5	8,0
	c	16,8	1,83	-1,94				
Ergebnis:		G_A = 3						

HSR 12		<i>Desmodemus subspicatus</i>						
Leitfähigkeit: 16,9 µS/cm		Versuchsdatum: 13.-16.8.2013						
pH: 6,67								
Zellzahl (*10 ⁵ Zellen/ml)	Gültigkeitskriterien Kontrollen							
			Variations- koeffizient		RSD [%]		Vermehrungs- faktor	
	0 h	72h	0,009		0,9		96	
0 h	72h	WR [µ]	Hemmung [%]		pH Wert		0 h	72 h
0,05			[%]	Mittel [%]				
NK	a	4,9	1,53					
	b	4,8	1,52					
	c	4,7	1,52				7,6	7,6
	d	4,9	1,53					
	e	4,5	1,50					
	f	5,1	1,54					
Mittelwert Kontrollen		1,52						
G2	a	5,8	1,58	-4,07				
	b	5,9	1,59	-4,70	-4,7		7,8	7,3
	c	6,1	1,60	-5,23				
G3	a	5,6	1,57	-3,27				
	b	5,9	1,59	-4,45	-4,0		7,7	7,4
	c	5,9	1,59	-4,34				
G4	a	5,5	1,57	-2,88				
	b	5,7	1,58	-3,70	-3,4		7,7	7,5
	c	5,7	1,58	-3,77				
G6	a	5,5	1,57	-3,02				
	b	5,5	1,57	-3,17	-3,3		7,7	7,6
	c	5,7	1,58	-3,80				
G8	a	5,6	1,57	-3,48				
	b	5,4	1,56	-2,65	-3,3		7,7	7,6
	c	5,7	1,58	-3,65				
G12	a	5,2	1,55	-1,93				
	b	5,1	1,54	-1,47	-2,9		7,7	7,6
	c	6,1	1,60	-5,41				
G16	a	5,2	1,55	-1,77				
	b	5,5	1,57	-3,02	-2,1		7,7	7,6
	c	5,2	1,55	-1,65				
G24	a	6,0	1,60	-4,97				
	b	5,6	1,57	-3,43	-3,6		7,7	7,6
	c	5,4	1,56	-2,48				
G32	a	5,1	1,54	-1,37				
	b	5,5	1,57	-2,92	-2,5		7,7	7,6
	c	5,5	1,57	-3,12				
G48	a	5,1	1,54	-1,34				
	b	5,1	1,54	-1,13	-1,3		7,6	7,5
	c	5,1	1,54	-1,51				
Ergebnis:		G_A = 2						

Daphnientest

BAM 1									
Versuchsstart	18.09.13, 10:30				24.09.13, 11:20 Uhr				
Probenvorbereitung	O ₂ = 7,0; pH = 4,4, eingestellt auf pH=7,1 mit 17 Tropfen 0,5 mol/l NaOH auf 200 ml Probe				O ₂ = 8,2; pH = 4,4 eingestellt auf pH=6,8 mit 4/7 Tropfen 0,5/0,05 mol/l NaOH auf 100 ml Probe				
	Kontrolle	G1	G2		Kontrolle	G1	G2	G3	G4
Eingesetzte Tiere	10	10	10		10	10	10	10	10
Schwimmunfähige Tiere (24h)	0	0	3		0	1	0	0	0
Schwimmunfähige Tiere (48h)	0	4	3		1	0	0	0	0
Schwimmunfähige Tiere [%]	0%	40%	30%		0%	10%	0%	0%	0
pH-Wert 0 h	7,8	7,1	7,5		7,8	6,9	6,9	7	7
pH-Wert 48 h	7,6	8	7,9		7,7	8,1	7,9	7,9	7,8
Ergebnis:	G_D > 2				G_D = 1				
BAM 2									
Versuchsstart	18.09.13, 10:30 Uhr				09.10.13, 10:45				
Probenvorbereitung	O ₂ = 8,2 mg/l, pH 6,2 nicht eingestellt				O ₂ = 8,5 mg/l, pH 6,3 nicht eingestellt				
	Kontrolle	G1	G2		Kontrolle	G1	G2	G3	G4
Eingesetzte Tiere	10	10	10		10	10	10	10	10
Schwimmunfähige Tiere (24h)	0	0	2		0	5	2	0	0
Schwimmunfähige Tiere (48h)	0	2	4		0	6	3	1	1
Schwimmunfähige Tiere [%]	0%	20%	40%		0%	60%	30%	10%	10
pH-Wert 0 h	7,8	6,2	7		7,7	6,3	6,8	6,9	7
pH-Wert 48 h	7,6	8	7,8		7,7	8	7,9	7,8	7,8
Ergebnis:	G_D > 2				G_D = 3				
BAM-4					BAM-5				
Versuchsstart	10.09.13, 11:00 Uhr				Versuchsstart	27.02.13, 11:30 Uhr			
Probenvorbereitung	O ₂ = 7,6 mg/l, pH 4,7 eingestellt auf pH=6,8 mit 4/1 Tropfen 0,5/0,05 mol/l NaOH auf 80ml Probe				Probenvorbereitung	O ₂ =9,3; pH 8,7 nicht eingestellt			
	Kontrolle	G1	G2		Kontrolle	G2			
Eingesetzte Tiere	10	10	10		20	20			
Schwimmunfähige Tiere (24h)	0	3	0		0	0			
Schwimmunfähige Tiere (48h)	0	6	0		0	1			
Schwimmunfähige Tiere [%]	0%	60%	0%		0%	5%			
pH-Wert 0 h	7,7	6,8	7,7		8	8			
pH-Wert 48 h	7,7	8,1	7,9		8	8			
Ergebnis:	G_D = 2				G_D ≤ 2				
BAM-6					BAM-8				
Versuchsstart	27.02.13, 11:30 Uhr				Versuchsstart	27.02.13, 11:30 Uhr			
Probenvorbereitung	O ₂ =9,3; pH 8,5 nicht eingestellt				Probenvorbereitung	O ₂ =9,3; pH 8,6 nicht eingestellt			
	Kontrolle	G2			Kontrolle	G2			
Eingesetzte Tiere	20	20			20	20			
Schwimmunfähige Tiere (24h)	0	0			0	0			
Schwimmunfähige Tiere (48h)	0	1			0	1			
Schwimmunfähige Tiere [%]	0%	5%			0%	5%			
pH-Wert 0 h	8	8,5			8	8,2			
pH-Wert 48 h	8	7,8			8	7,8			
Ergebnis:	G_D ≤ 2				G_D ≤ 2				

BAM-10			BAM-12		
Versuchsstart	27.02.13, 11:30 Uhr		Versuchsstart	27.02.13, 11:30 Uhr	
Probenvorbereitung	O ₂ =9,3; pH 8,2 nicht einge		Probenvorbereitung	O ₂ =9,3; pH 8,7 nicht einge	
	Kontrolle	G2		Kontrolle	G2
Eingesetzte Tiere	20	20	Eingesetzte Tiere	20	20
Schwimmunfähige Tiere (24h)	0	0	Schwimmunfähige Tiere (24h)	0	0
Schwimmunfähige Tiere (48h)	0	0	Schwimmunfähige Tiere (48h)	0	0
Schwimmunfähige Tiere [%]	0%	0%	Schwimmunfähige Tiere [%]	0%	0%
pH-Wert 0 h	8	8	pH-Wert 0 h	8	7,4
pH-Wert 48 h	8	7,6	pH-Wert 48 h	8	7,3
Ergebnis:	G_D ≤ 2		Ergebnis:	G_D ≤ 2	
BAM-11					
Versuchsstart	27.02.13, 11:30 Uhr		13.03.13, 11:50 Uhr		
Probenvorbereitung	O ₂ =9,4; pH 7,7 nicht eingestellt		O ₂ in G2 = 8,3; pH 7,8 nicht eingestellt		
	Kontrolle	G2	Kontrolle	G2	G3
Eingesetzte Tiere	20	20	20	20	20
Schwimmunfähige Tiere (24h)	0	7	0	2	1
Schwimmunfähige Tiere (48h)	0	12	0	2	1
Schwimmunfähige Tiere [%]	0%	60%	0%	10%	5%
pH-Wert 0 h	8	7,5	7,6	7,5	7,6
pH-Wert 48 h	8	7,4	7,4	7,5	7,5
Ergebnis:	G_D > 2		G_D ≤ 2		
BAM 13					
Versuchsstart	20.11.13, 11:55 Uhr				
Probenvorbereitung	O ₂ = 8,5 mg/l, pH = 6,9 nicht eingestellt				
	Kontrolle	G1	G2	G3	G4
Eingesetzte Tiere	10	10	10	10	10
Schwimmunfähige Tiere (24h)	0	0	0	0	0
Schwimmunfähige Tiere (48h)	0	0	0	0	0
Schwimmunfähige Tiere [%]	0%	0%	0%	0%	0%
pH-Wert 0 h	7,4	6,6	7,1	7,3	7,3
pH-Wert 48 h	7,3	7,3	7,4	7,5	7,4
Ergebnis:	G = 1				
BAM-14					
Versuchsstart 1. Test	10.09.13 um 11:00 Uhr	Ergebnis 1. Test: 100% Mortalität bei G1 und G2			
Versuchsstart 2. bzw. 3. Test	24.09.13 um 11:20 Uhr				22.10.13, 10:40 Uhr
Probenvorbereitung	O ₂ = 9,5 mg/l; pH = 5,2, eingestellt auf pH=6,9 mit 6 Tropfen 0,5 mol/l NaOH				O ₂ = 8,1 mg/l; pH = 5,3 eingestellt auf pH=6,8 mit 5/5 Tropfen 0,5/0,05 mol/l NaOH auf 200 ml Probe
	Kontrolle	G2	G3	G4	G6
Eingesetzte Tiere	10	10	10	10	10
Schwimmunfähige Tiere (24h)	0	9	6	2	0
Schwimmunfähige Tiere (48h)	0	10	10	7	3
Schwimmunfähige Tiere [%]	0%	100%	100%	70%	30%
pH-Wert 0 h	7,8	6,9	7	7	7,4
pH-Wert 48 h	7,7	7,7	7,8	7,7	7,7
Ergebnis:	G_D > 6			G_D > 12	
BAM-14					
26.11.13, 11:00 Uhr					
O ₂ = 8,9 mg/l; pH = 6,8 nicht eingestellt					
Kontrolle	G8	G12	G16	G24	G32
10	10	10	10	10	10
0	9	4	3	1	0
0	10	6	6	1	0
0%	100%	60%	60%	10%	0%
7,6	7,5	7,5	7,5	7,6	7,6
7,5	7,5	7,5	7,5	7,6	7,6
G_D = 24					

BAM-22										
Versuchsstart	11.09.13, 11:30 Uhr				16.10.13 um 10:45 Uhr					
Probenvorbereitung	O ₂ = 8,5 mg/l; pH = 6,3 nicht eingestellt				O ₂ = 8,2 mg/l; pH = 6,5 nicht eingestellt					
	Kontrolle	G1	G2		Kontrolle	G1	G2	G3		
Eingesetzte Tiere	10	10	10		10	10	10	10		
Schwimmunfähige Tiere (24h)	0	4	0		0	2	0	0		
Schwimmunfähige Tiere (48h)	0	5	0		0	2	0	0		
Schwimmunfähige Tiere [%]	0%	50%	0%		0%	20%	0%	0%		
pH-Wert 0 h	7,5	6,3	6,9		7,6	6,4	6,5	6,7		
pH-Wert 48 h	7,6	7,5	7,6		7,4	7,5	7,5	7,6		
Ergebnis:	G_D = 2				G_D = 2					
BAM-G1										
Versuchsstart 1. Test	17.09.13, 10:40 Uhr			Ergebnis 1. Test: 100% Mortalität von G1 bis G12						
Versuchsstart 2. und 3. Test	08.10.13, 11:45 Uhr			22.10.13 um 10:40 Uhr						
Probenvorbereitung	O ₂ = 8,5 mg/l; pH = 6,2 nicht eingestellt			O ₂ = 7,8 mg/l; pH = 7,9 nicht eingestellt						
	Kontrolle	G32	G48	G64	Kontrolle	G48	G64	G96	G128	G192
Eingesetzte Tiere	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Schwimmunfähige Tiere (24h)	0	2	1	0	0	9	8	6	3	1
Schwimmunfähige Tiere (48h)	0	10	8	6	0	9	8	6	3	1
Schwimmunfähige Tiere [%]	0%	100%	80%	60%	0%	90%	80%	60%	30%	10%
pH-Wert 0 h	7,6	7,8	7,7	7,7	7,6	7,5	7,5	7,5	7,5	7,4
pH-Wert 48 h	7,3	7,6	7,6	7,5	7,3	7,4	7,4	7,4	7,4	7,4
Ergebnis:	G_D > 64 (48 h)			G_D = 48 (24 h)		G_D = 192 (24 und 48 h)				
BAM-G2										
Versuchsstart	17.09.13, 11:50 Uhr									
Probenvorbereitung	O ₂ = 8,0 mg/l; pH = 5,6, eingestellt auf pH=7,2 mit 5 Tropfen 0,5 mol/l NaOH auf 120 ml Probe									
	Kontrolle	G1	G2	G3	G4	G6	G8	G12		
Eingesetzte Tiere	10	10	10	10	10	10	10	10		
Schwimmunfähige Tiere (24h)	0	0	0	0	0	0	0	0		
Schwimmunfähige Tiere (48h)	0	0	0	0	0	0	0	0		
Schwimmunfähige Tiere [%]	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%		
pH-Wert 0 h	7,8	7,2	7,5	7,6	7,6	7,7	7,7	7,7		
pH-Wert 48 h	7,5	8,1	7,9	7,8	7,8	7,7	7,7	7,6		
Ergebnis:	G_D = 1									
Hydrotox-DSLIT-Blindwert					BAM-DSLIT					
Versuchsstart	27.02.13, 11:30 Uhr				11.09.13 um 11:30 Uhr					
Probenvorbereitung	pH = 8,4 nicht eingestellt				O ₂ = 8,4 mg/l; pH = 5,8 eingestellt auf pH=7,0 mit 3 Tropfen 0,5 mol/l NaOH auf 90 ml Probe					
	Kontrolle	G2			Kontrolle	G1				
Eingesetzte Tiere	20	20			10	10				
Schwimmunfähige Tiere (24h)	0	0			0	0				
Schwimmunfähige Tiere (48h)	0	0			0	0				
Schwimmunfähige Tiere [%]	0%	0%			0%	0%				
pH-Wert 0 h	8	7,3			7,5	7				
pH-Wert 48 h	8	7,3			7,6	7,5				
Ergebnis:	G_D ≤ 2				G_D = 1					

BAM-Schütteltest						
Versuchsstart	11.09.13, 11:30 Uhr					
Probenvorbereitung	O ₂ = 8,1 mg/l; pH = 5,1 eingestellt auf pH=6,8 mit 2/4 Tropfen					
	Kontrolle	G1	0,5/0,05 mol/l NaOH auf 90 ml Probe			
Eingesetzte Tiere	10	10				
Schwimmunfähige Tiere (24h)	0	0				
Schwimmunfähige Tiere (48h)	0	0				
Schwimmunfähige Tiere [%]	0%	0%				
pH-Wert 0 h	7,5	6,8				
pH-Wert 48 h	7,6	7,5				
Ergebnis:	G_D = 1					
HSR-2						
Versuchsstart	07.08.13, 13:00 Uhr					
Probenvorbereitung	O ₂ = 8,5 mg/l, pH = 6,7 nicht eingestellt					
	Kontrolle	G1	G2	G3	G4	
Eingesetzte Tiere	10	10	10	10	10	
Schwimmunfähige Tiere (24h)	0	10	6	4	0	
Schwimmunfähige Tiere (48h)	0	10	10	5	1	
Schwimmunfähige Tiere [%]	0%	100%	100%	50%	10%	
pH-Wert 0 h	7,7	6,7	7,5	7,6	7,6	
pH-Wert 48 h	7,7	6,9	7,5	7,6	7,6	
Ergebnis:	G = 4					
HSR-3						
Versuchsstart	13.08.13, 11:00 Uhr					
Probenvorbereitung	O ₂ = 9,0 mg/l, pH = 4,2 eingestellt mit 5 Tropfen 0,5 M NaOH auf 400ml Probe auf einen pH von 7,25					
	Kontrolle	G1	G2	G3	G4	
Eingesetzte Tiere	10	10	10	10	10	
Schwimmunfähige Tiere (24h)	0	9	2	0	0	
Schwimmunfähige Tiere (48h)	0	10	3	0	0	
Schwimmunfähige Tiere [%]	0%	100%	30%	0%	0%	
pH-Wert 0 h	7,3	7,3	7,6	7,5	7,5	
pH-Wert 48 h	7,6	6,7	7,5	7,6	7,7	
Ergebnis:	G = 3					
HSR-6						
Versuchsstart	30.07.13, 10:30 Uhr					
Probenvorbereitung	O ₂ = 8,1 mg/l, pH = 6,5 nicht eingestellt					
	Kontrolle	G1	G2	G3	G4	
Eingesetzte Tiere	10	10	10	10	10	
Schwimmunfähige Tiere (24h)	0	0	0	0	0	
Schwimmunfähige Tiere (48h)	0	0	0	0	0	
Schwimmunfähige Tiere [%]	0%	0%	0%	0%	0%	
pH-Wert 0 h	7,8	6,5	6,9	7,6	7,6	
pH-Wert 48 h	7,8	7,4	7,5	7,6	7,7	
Ergebnis:	G = 1					
HSR-7						
Versuchsstart	31.07.13, 11:15 Uhr					
Probenvorbereitung	O ₂ = 7,2 mg/l, pH = 7,3 nicht eingestellt					
	Kontrolle	G1	G2	G3	G4	
Eingesetzte Tiere	10	10	10	10	10	
Schwimmunfähige Tiere (24h)	0	0	0	0	0	
Schwimmunfähige Tiere (48h)	0	0	0	0	0	
Schwimmunfähige Tiere [%]	0%	0%	0%	0%	0%	
pH-Wert 0 h	7,7	7,3	7,5	7,7	7,6	
pH-Wert 48 h	7,2	7,6	7,5	7,5	7,5	
Ergebnis:	G = 2					

HSR-10					
Versuchsstart	14.08.13, 10:30 Uhr				
Probenvorbereitung	O ₂ = 9,2 mg/l, pH = 6,4 nicht eingestellt				
	Kontrolle	G1	G2	G3	G4
Eingesetzte Tiere	10	10	10	10	10
Schwimmunfähige Tiere (24h)	0	4	0	0	0
Schwimmunfähige Tiere (48h)	0	7	0	0	0
Schwimmunfähige Tiere [%]	0%	70%	0%	0%	0%
pH-Wert 0 h	7,6	6,4	7,4	7,4	7,6
pH-Wert 48 h	7,1	6,4	7,5	7,5	7,3
Ergebnis:	G = 2				

HSR-12					
Versuchsstart	07.08.13, 13:00 Uhr				
Probenvorbereitung	O ₂ = 8,0 mg/l, pH = 6,8 nicht eingestellt				
	Kontrolle	G1	G2	G3	G4
Eingesetzte Tiere	10	10	10	10	10
Schwimmunfähige Tiere (24h)	0	10	2	0	0
Schwimmunfähige Tiere (48h)	0	10	5	2	1
Schwimmunfähige Tiere [%]	0%	100%	50%	20%	10%
pH-Wert 0 h	7,7	6,9	7,5	7,6	7,6
pH-Wert 48 h	7,7	7,2	7,5	7,6	7,6
Ergebnis:	G = 4				

Fisheitest

BAM-1						BAM-2					
Versuchsstart:	18.09.2013, 10:30 Uhr					Versuchsstart:	18.09.2013, 10:30 Uhr				
Probenvorbereitung:	O ₂ = 7,9 mg/l; pH = 4,4 eingestellt auf pH=7,1 mit 17 Tropfen 0,5 mol/l NaOH auf ca. 200 ml Probe					Probenvorbereitung:	O ₂ = 8,2 mg/l; pH = 6,2 eingestellt auf pH=7,0 ± 0,2 mit 4 Tropfen 0,5 mol/l NaOH auf ca. 100 ml Probe				
		PK	NK	G1	G2			PK	NK	G1	G2
24 h	% Tote	100	0	0	0	24 h	% Tote	100	0	0	0
48 h		100	0	0	0	48 h		100	0	0	0
24 h	pH-Wert	7,6	7,8	7,8	7,7	24 h	pH-Wert	7,6	7,8	7,5	7,5
48 h		7,6	7,7	8,1	7,8	48 h		7,6	7,7	8,2	8
24 h	O ₂ -Gehalt [mg/l]	8,3	8,1	8	8,2	24 h	O ₂ -Gehalt [mg/l]	8,3	8,1	8	8,3
48 h		7,7	8	7,8	8	48 h		7,7	8	7,7	8
Ergebnis:	G_E = 1					Ergebnis:	G_E = 1				

BAM-4												
Versuchsstart 1. Test :	10.09.2013, 11:00 Uhr		Ergebnis 1. Test: 100% Mortalität in G2 nach 24 und 48 %									
Start 2. und 3. Test	24.09.2013, 11:40 Uhr		23.10.2013 um 10:50									
Probenvorbereitung:	O ₂ = 10,2 mg/l; pH = 4,5 eingestellt auf pH=6,9 mit 8 Tropfen 0,5 mol/l NaOH auf ca. 90 ml Probe			O ₂ = 8,2 mg/l; pH = 6,0 eingestellt auf pH=7,1 mit 1 Tropfen 0,05 mol/l NaOH auf ca. 100 ml Probe								
		PK	NK	G6	G8		PK	NK	G8	G12	G16	G24
24 h	% Tote	40	0	100	50	24 h	90	0	50	0	0	0
48 h		40	0	100	50	48 h	90	0	50	0	0	0
24 h	pH-Wert	7,6	7,6	7,7	7,7	24 h	7,5	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6
48 h		7,7	7,6	7,7	7,8	48 h	7,5	7,4	7,4	7,5	7,4	7,3
24 h	O ₂ -Gehalt [mg/l]	7,9	7,9	7,8	7,9	24 h	8,4	8,4	8,1	8	8,2	8,2
48 h		7,7	7,7	7,5	7,6	48 h	7,7	7,9	7,7	7,6	7,7	7,7
Ergebnis:	G_E > 8					Ergebnis:	G_E = 12					

BAM-5 Versuchsstart: 26.02.2013, 11:00 Probenvorbereitung: O ₂ = 8,9 mg/l; pH = 7,9 eingestellt auf pH=7,0 ± 0,2 mit 8 Tropfen 0,005 mol/l HCl auf ca. 20 ml Probe					BAM-6 Versuchsstart: 26.02.2013, 11:00 Probenvorbereitung: O ₂ = 8,8 mg/l; pH = 7,5 eingestellt auf pH=7,0 ± 0,2 mit 30 µl 0,005 mol/l HCl auf ca. 20 ml Probe					
		PK	NK	G2			PK	NK	G2	
24 h	% Tote	100	0	0		24 h	% Tote	100	0	0
48 h		100	0	0		48 h		100	0	0
24 h	pH-Wert	7,1	7	7,5		24 h	pH-Wert	7,1	7	7,5
48 h		7,1	7,1	7,4		48 h		7,1	7,1	7,7
24 h	O ₂ -Gehalt [mg/l]	8,8	8,7	8,9		24 h	O ₂ -Gehalt [mg/l]	8,8	8,7	8,8
48 h		8,5	8,5	8,5		48 h		8,5	8,5	8,5
Ergebnis: G _E ≤ 2					Ergebnis: G _E ≤ 2					
BAM-8 Versuchsstart: 26.02.2013, 11:00 Probenvorbereitung: O ₂ = 8,7 mg/l; pH = 7,1 nicht eingestellt					BAM-10 Versuchsstart: 26.02.2013, 11:00 Probenvorbereitung: O ₂ = 8,7 mg/l; pH = 6,8 nicht eingestellt					
		PK	NK	G2			PK	NK	G2	
24 h	% Tote	100	0	0		24 h	% Tote	100	0	0
48 h		100	0	0		48 h		100	0	0
24 h	pH-Wert	7,1	7	7,4		24 h	pH-Wert	7,1	7	7,4
48 h		7,1	7,1	7,7		48 h		7,1	7,1	7,2
24 h	O ₂ -Gehalt [mg/l]	8,8	8,7	8,8		24 h	O ₂ -Gehalt [mg/l]	8,8	8,7	8,7
48 h		8,5	8,5	8,5		48 h		8,5	8,5	8,5
Ergebnis: G _E ≤ 2					Ergebnis: G _E ≤ 2					
BAM-11 Versuchsstart: 26.02.2013, 11:00 Probenvorbereitung: O ₂ = 8,9 mg/l; pH = 7,7 eingestellt auf pH=7,0 ± 0,2 mit 160 µl 0,05 mol/l HCl auf ca. 20 ml Probe					BAM-12 Versuchsstart: 26.02.2013, 11:00 Probenvorbereitung: O ₂ = 8,7 mg/l; pH = 7,7 eingestellt auf pH=7,0 ± 0,2 mit 140 µl 0,05 mol/l HCl und 100 µl 0,05 mol/l NaOH					
		PK	NK	G2			PK	NK	G2	
24 h	% Tote	100	0	0		24 h	% Tote	100	0	0
48 h		100	0	0		48 h		100	0	0
24 h	pH-Wert	7,1	7	7		24 h	pH-Wert	7,1	7	7,1
48 h		7,1	7,1	7,3		48 h		7,1	7,1	7,3
24 h	O ₂ -Gehalt [mg/l]	8,8	8,7	8,9		24 h	O ₂ -Gehalt [mg/l]	8,8	8,7	8,7
48 h		8,5	8,5	8,4		48 h		8,5	8,5	8,2
Ergebnis: G _E ≤ 2					Ergebnis: G _E ≤ 2					
BAM 13 Versuchsstart: 20.11.2013, 11:00 Uhr Probenvorbereitung: O ₂ = 7,6 mg/l; pH = 4,8 eingestellt auf pH=7,1 mit 16 Tr. 0,5 M NaOH auf ca. 250 mL Probe										
		PK	NK	G1	G2	G3	G4			
24 h	% Tote	100	0	0	0	0	0			
48 h		100	0	0	0	0	0			
0 h	pH-Wert	7,5	7,5	8	7,7	7,7	7,6			
48 h		7,6	7,6	8,3	8	7,9	7,9			
0 h	O ₂ -Gehalt [mg/l]	8,4	10,8	7,9	8,2	8,2	8,4			
48 h		7,9	8,0	8,0	7,9	7,9	8,0			
Ergebnis: G _E = 1										

BAM-14													
Versuchsstart 1. Test:		10.09.2013, 11:00 Uhr		Ergebnis 1. Test $G_{E1} > 2$ (10% Mortalität in G2 nach 24 und 30% nach 48 h, Wirbelsäulenverkrümmung)									
Start 2. u. 3. Test		24.09.2013, 11:40 Uhr						23.10.2013, 10:50 Uhr					
Probenvorbereitung:		O ₂ = 10,8 mg/l; pH = 5,1 eingestellt auf pH=6,8 mit 8 Tropfen 0,5 mol/l NaOH auf ca. 100 ml Probe								O ₂ = 7,8 mg/l; pH = 5,1 eingestellt auf pH=6,9 mit 5/3 Tropfen 0,5/0,05 mol/l NaOH auf ca. 120 ml			
		PK	NK	G1	G2	G3	G4		PK	NK	G3	G4	
24 h	% Tote	40	0	70	30	40	30		90	0	0	0	
48 h		40	0	90	40	30	30		90	0	0	0	
24 h	pH-Wert	7,6	7,6	7,8	7,6	7,7	7,7		7,5	7,6	7,6	7,6	
48 h		7,7	7,6	7,7	7,7	7,7	7,8		7,5	7,4	7,6	7,5	
24 h	O ₂ -Gehalt [mg/l]	7,9	7,9	7,9	7,9	7,8	7,9		8,4	8,4	8,1	8,2	
48 h		7,7	7,7	7,1	7,3	7,5	7,6		7,7	7,9	7,8	7,8	
Ergebnis:		$G_{E1} > 4$								$G_{E2} = 3$ (ohne Kriterium Somiten)			
										$G_{E2} = 4$ (mit Kriterium Somiten)			
BAM-22													
Versuchsstart:		11.09.2013, 11:00 Uhr				24.09.2013, 11:40 Uhr							
Probenvorbereitung:		O ₂ = 8,4 mg/l; pH = 6,3 eingestellt auf pH=7,0 ± 0,2 mit 2 Tropfen 0,5 mol/l NaOH auf ca. 90 ml Probe				O ₂ = 8,2 mg/l; pH = 6,5 eingestellt auf pH=6,8 mit 8 Tropfen 0,5 mol/l NaOH auf ca. 90 ml Probe							
		PK	NK	G1	G2	PK	NK	G2	G3	G4	G6		
24 h	% Tote	20	0	100	70	40	0	100	0	10	0		
48 h		20	0	100	70	40	0	100	40	20	0		
24 h	pH-Wert	7,5	7,8	6,9	7	7,6	7,5	7	7,1	7,3	7,4		
48 h		7,6	7,5	7,7	7,7	7,6	7,6	7,7	7,7	7,6	7,6		
24 h	O ₂ -Gehalt [mg/l]	8,6	8,9	8,4	9	9,9	10,8	9	9,2	9,3	9,9		
48 h		7,9	8	6,2	7,5	7,9	7,7	7,4	7,5	7,6	7,7		
Ergebnis:		$G_{E1} > 2$								$G_{E2} = 6$			
BAM-G1													
Versuchsstart:		17.09.2013, 11:00 Uhr								08.10.2013, 10:30 Uhr			
Probenvorbereitung:		O ₂ = 7,8 mg/l; pH = 6,0 eingestellt auf pH=7,0 ± 0,2 mit 8 Tropfen 0,5 mol/l NaOH auf ca. 150 ml								O ₂ = 8,5 mg/l; pH = 6,2 eingestellt auf pH=7,1 mit 1 Tropfen 0,5 mol/l NaOH auf ca. 50 ml Probe			
		PK	NK	G2	G3	G4	G6		PK	NK	G8	G12	
24 h	% Tote	90	0	40	20	0	0		50	0	0	0	
48 h		90	0	40	20	0	0		70	0	10	0	
24 h	pH-Wert	7,7	7,7	8,0	8,0	7,9	7,8		7,6	7,6	7,7	7,7	
48 h		7,6	7,6	8,0	8,0	7,9	7,8		7,6	7,6	7,6	7,6	
24 h	O ₂ -Gehalt [mg/l]	8,5	8,6	8,4	8,3	8,4	8,4		8,9	8,8	8,7	8,7	
48 h		8	8,2	7,9	7,9	7,9	8,0		7,8	7,8	7,7	7,6	
Ergebnis:		$G_{E1} = 4$ (ohne Kriterium Somiten)								$G_{E2} \leq 8$ (ohne Kriterium Somiten)			
		$G_{E1} \geq 4$ (mit Kriterium Somiten)				(Wirbelsäulenverkrümmung)				$G_{E2} \geq 12$ (mit Kriterium Somiten)			
BAM-G2													
Versuchsstart:		17.09.2013, 11:00 Uhr											
Probenvorbereitung:		O ₂ = 8,0 mg/l; pH = 6,0 eingestellt auf pH=7,0 ± 0,2 mit 5 Tropfen 0,5 mol/l											
		PK	NK	G1	G2	G3	G4						
24 h	% Tote	100	0	0	0	0	0						
48 h		100	0	0	0	0	0						
24 h	pH-Wert	7,7	7,7	8	7,9	7,8	7,7						
48 h		7,6	7,6	8	7,9	7,8	7,7						
24 h	O ₂ -Gehalt [mg/l]	8,5	8,6	8,4	8,5	8,6	8,6						
48 h		8	8,2	8	8	8,1	8,1						
Ergebnis:		$G_{E1} = 1$								(aber Wirbelsäulenverkrümmung bei G1 nach 48 h !)			

Hydrotox DSLT-Blindwert					BAM-DSLIT-Blindwert				
Versuchsstart:		26.02.2013, 11:00 Uhr			Versuchsstart:		11.09.2013, 11:00 Uhr		
Probenvorbereitung:		O ₂ = 9,1 mg/l; pH = 6,3 eingestellt auf pH=7,0 ± 0,2 mit 2 Tropfen 0,05 mol/l HCl und 1 Tropfen 0,05 mol/l NaOH auf ca. 20 ml Probe			Probenvorbereitung:		O ₂ = 8,4 mg/l; pH = 5,8 eingestellt auf pH=7,0±0,2 mit 3/1 Tropfen 0,005/0,05 mol/l NaOH auf ca. 90 ml Probe		
		PK	NK	G2			PK	NK	G1
24 h	% Tote	100	0	0	24 h	% Tote	20	0	0
48 h		100	0	0	48 h		20	0	0
24 h	pH-Wert	7,1	7	7,5	24 h	pH-Wert	7,5	7,8	7,1
48 h		7,1	7,1	7,2	48 h		7,6	7,5	6,9
24 h	O ₂ -Gehalt [mg/l]	8,8	8,7	9,1	24 h	O ₂ -Gehalt [mg/l]	8,6	8,9	8,4
48 h		8,5	8,5	8,3	48 h		7,9	8	7,7
Ergebnis:		G_E ≤ 2			Ergebnis:		G_E 1		
BAM-Schütetest-Blindwert									
Versuchsstart:		11.09.2013, 11:00 Uhr							
Probenvorbereitung:		O ₂ = 8,3 mg/l; pH = 5,1 eingestellt auf pH=7,0 ± 0,2 mit 3 Tropfen 0,5 mol/l NaOH auf ca. 80 ml Probe							
		PK	NK	G1					
24 h	% Tote	100	0	0					
48 h		100	0	0					
24 h	pH-Wert	7,5	7,8	7					
48 h		7,6	7,5	7,7					
24 h	O ₂ -Gehalt [mg/l]	8,6	8,9	8,3					
48 h		7,9	8	7,6					
Ergebnis:		G_E = 1							
HSR-2									
Versuchsstart:		06.08.2013, 10:30 Uhr							
Probenvorbereitung:		O ₂ = 6,1 mg/l; pH = 6,8 nicht eingestellt							
		PK	NK	G1	G2	G3	G4		
24 h	% Tote	30	10	0	0	0	0		
48 h		30	10	0	0	0	0		
24 h	pH-Wert	7,6	7,6	6,8	7,4	7,5	7,5		
48 h		7,8	7,7	7,1	7,6	7,6	7,7		
24 h	O ₂ -Gehalt [mg/l]	8	9,3	7,6	7,9	8,1	8,1		
48 h		7,8	7,7	7,7	7,7	7,7	7,7		
Ergebnis:		G_E = 1							
HSR-3									
Versuchsstart:		13.08.2013, 10:15 Uhr							
Probenvorbereitung:		O ₂ = 6,6 mg/l; pH = 4,3 eingestellt auf pH=7,0 ± 0,2 mit 8 Tropfen 0,05 mol/l NaOH auf ca. 110 ml Probe							
		PK	NK	G1	G2	G3	G4		
24 h	% Tote	100	0	100	100	0	0		
48 h		100	0	100	100	0	0		
24 h	pH-Wert	7,8	7,7	7,8	7,6	7,7	7,8		
48 h		7,9	7,9	7,3	7,7	7,8	7,8		
24 h	O ₂ -Gehalt [mg/l]	8,3	8,5	7,7	8	8,1	8,3		
48 h		8	8	7,8	7,8	7,9	7,8		
Ergebnis:		G_E = 3							

HSR-6							
Versuchsstart:		30.07.2013, 11:00 Uhr					
Probenvorbereitung:		O ₂ = 8,0 mg/l; pH = 6,4 eingestellt auf pH=7,0 ± 0,2 mit 2 Tropfen 0,005 mol/l NaOH auf ca. 125 ml Probe					
		PK	NK	G1	G2	G3	G4
24 h	% Tote	70	0	0	0	0	0
48 h		80	0	0	0	0	0
24 h	pH-Wert	8,0	7,8	7,8	7,7	7,7	7,6
48 h		7,7	7,9	7,2	7,6	7,6	7,6
24 h	O ₂ -Gehalt [mg/l]	8,0	7,9	7,7	7,8	7,8	7,8
48 h		7,8	7,9	7,6	7,7	7,7	7,7
Ergebnis:		G_E = 1					

HSR-7							
Versuchsstart:		07.08.2013 um 11:00					
Probenvorbereitung:		O ₂ = 7,7 mg/l; pH = 7,2 nicht eingestellt					
		PK	NK	G1	G2	G3	G4
24 h	% Tote	90	0	0	0	0	0
48 h		90	0	0	0	0	0
24 h	pH-Wert	7,7	7,7	8	7,9	7,9	7,8
48 h		7,8	7,7	7,7	7,7	7,7	7,6
24 h	O ₂ -Gehalt [mg/l]	7,9	8,4	7,7	7,8	7,8	7,9
48 h		7,6	7,8	7,7	7,7	7,3	7,8
Ergebnis:		G_E = 1					

HSR-10							
Versuchsstart:		14.08.2013, 10:30 Uhr					
Probenvorbereitung:		O ₂ = 9,7 mg/l; pH = 6,3 eingestellt auf pH=7,0 ± 0,2 mit 2 Tropfen 0,005 mol/l NaOH auf ca. 120 ml Probe					
		PK	NK	G1	G2	G3	G4
24 h	% Tote	90	0	0	0	0	0
48 h		90	0	0	0	0	0
24 h	pH-Wert	7,6	7,6	6,9	7,5	7,6	7,6
48 h		7,8	7,7	6,8	7,5	7,6	7,7
24 h	O ₂ -Gehalt [mg/l]	9,3	9,7	9,1	9,1	9,3	9,2
48 h		8	7,9	7,5	7,6	7,6	7,8
Ergebnis:		G_E = 1					

HSR-12							
Versuchsstart:		07.08.2013, 11:00 Uhr					
Probenvorbereitung:		O ₂ = 7,8 mg/l; pH = 6,8 nicht eingestellt					
		PK	NK	G1	G2	G3	G4
24 h	% Tote	90	0	60	0	0	0
48 h		90	0	60	0	0	0
24 h	pH-Wert	7,7	7,7	8	7,8	7,8	7,8
48 h		7,8	7,7	7,3	7,6	7,6	7,5
24 h	O ₂ -Gehalt [mg/l]	7,9	8,4	7,8	7,9	8	8,1
48 h		7,6	7,8	7,6	7,7	7,7	7,8
Ergebnis:		G_E = 2					

Leuchtbakterientest

BAM-1					BAM-2				
Dr. Lange, LCK 482 Ch. 13147					Dr. Lange, LCK 482 Ch. 13147				
Versuchsdatum: 06.09.13					Versuchsdatum: 06.09.13				
O2:	9,5 mg/l				O2:	9,9 mg/l			
pH:	NaOH auf ca. 100 ml Probe auf einen pH von 6,9				pH:	100 ml Probe auf einen pH von 6,94			
Leitfähigkeit	Probe				Leitfähigkeit	ml Probe			
	G_L	f_{kt}	Abw. f_{kt} [%]	$0,6 < f_{kt} < 1,3 ?$		G_L	f_{kt}	Abw. f_{kt} [%]	$0,6 < f_{kt} < 1,3 ?$
Kontrolle	-	1,15	-0,9	ja	Kontrolle	-	1,15	-0,9	ja
	G_L	H_t [%]	H [%]	Abw. [%]		G_L	H_t [%]	H [%]	Abw. [%]
BAM-1	2	18,6	19,3	0,7	BAM-2	2	26,9	28,5	1,6
		19,9					30,1		
	3	14,7	13,0	1,7		3	20,4	20,2	0,2
		11,3					20,0		
	4	7,3	8,7	1,4		4	14,3	15,0	0,7
		10,1					15,7		
	6	7,3	7,3	0,1		6	10,1	10,5	0,4
		7,2					10,9		
PK		50,8	51,6	0,8	PK		50,8	51,6	0,8
		52,4					52,4		
$G_L \leq 2$					$G_L = 4$				
BAM-4					BAM-5				
Dr. Lange, LCK 482 Ch. 13147					Dr. Lange, LCK 482 Ch. 12338				
Versuchsdatum: 10.09.13					Versuchsdatum: 12.03.13				
O2:	8,0 mg/l				O2:	7,6 mg/l			
pH:	ml Probe auf einen pH von 6,9				pH:	6,9 , nicht eingestellt			
Leitfähigkeit	ml Probe				Leitfähigkeit	ml Probe			
	G_L	f_{kt}	Abw. f_{kt} [%]	$0,6 < f_{kt} < 1,3 ?$		G_L	f_{kt}	Abw. f_{kt} [%]	$0,6 < f_{kt} < 1,3 ?$
Kontrolle	-	1,14	0,0	ja	Kontrolle	-	1,06	0,5	ja
	G_L	H_t [%]	H [%]	Abw. [%]		G_L	H_t [%]	H [%]	Abw. [%]
BAM-4	2	66,7	66,0	0,7	BAM-5	2	1,3	0,4	0,9
		65,3					-0,6		
	3	57,5	57,2	0,3		3	-1,0	-2,1	1,2
		56,9					-3,3		
	4	47,1	47,1	0,1	PK		51,2	52,3	1,1
		47,0					53,4		
	6	35,0	35,8	0,8	$G_L \leq 2$				
		36,7							
	8	27,5	29,1	1,6					
		30,7							
	12	20,8	21,1	0,3					
		21,4							
	16	12,1	13,3	1,1					
		14,4							
	24	11,2	10,6	0,6					
		10,0							

BAM-6		Dr. Lange, LCK 482 Ch. 12338		
Versuchsdatum: 12.03.13				
O2:	7,8 mg/l			
pH:	6,8 , nicht eingestellt			
Leitfähigkeit	ml Probe			
	G_L	f_{kt}	Abw. f_{kt} [%]	0,6 < f_{kt} < 1,3 ?
Kontrolle	-	1,06	0,5	ja
	G_L	H_t [%]	H [%]	Abw. [%]
BAM-6	2	3,3	3,8	0,6
		4,4		
	3	2,3	2,0	0,3
		1,6		
PK		51,2	52,3	1,1
		53,4		
G_L ≤ 2				
BAM-8		Dr. Lange, LCK 482 Ch. 12338		
Versuchsdatum: 28.02.13				
O2:	8,5 mg/l			
pH:	5,7 , nicht eingestellt			
Leitfähigkeit	ml Probe			
	G_L	f_{kt}	Abw. f_{kt} [%]	0,6 < f_{kt} < 1,3 ?
Kontrolle	-	1,07	3,1	ja
	G_L	H_t [%]	H [%]	Abw. [%]
BAM-8	2	-2,5	-1,9	0,6
		-1,3		
	3	-4,1	-4,0	0,1
		-3,9		
PK		50,1	50,0	0,2
		49,8		
G_L ≤ 2				
BAM-8		Dr. Lange, LCK 482 Ch. 12338		
Versuchsdatum: 13.03.13				
O2:	8,9 mg/l			
pH:	6,5 , nicht eingestellt			
Leitfähigkeit	NaCl auf ca. 50 ml Probe			
	G_L	f_{kt}	Abw. f_{kt} [%]	0,6 < f_{kt} < 1,3 ?
Kontrolle	-	1,06	0,7	ja
	G_L	H_t [%]	H [%]	Abw. [%]
BAM-8	2	1,9	1,6	0,4
		1,2		
	3	-1,2	-0,4	0,7
		0,3		
PK		49,9	49,6	0,4
		49,2		
G_L ≤ 2				
BAM-10		Dr. Lange, LCK 482 Ch. 12338		
Versuchsdatum: 28.02.13				
O2:	9,8 mg/l			
pH:	6,0 , nicht eingestellt			
Leitfähigkeit	ml Probe			
	G_L	f_{kt}	Abw. f_{kt} [%]	0,6 < f_{kt} < 1,3 ?
Kontrolle	-	1,07	3,1	ja
	G_L	H_t [%]	H [%]	Abw. [%]
BAM-10	2	2,0	1,8	0,1
		1,7		
	3	2,8	3,0	0,2
		3,3		
PK		50,1	50,0	0,2
		49,8		
G_L ≤ 2				
BAM-10		Dr. Lange, LCK 482 Ch. 12338		
Versuchsdatum: 13.03.13				
O2:	8,2 mg/l			
pH:	6,0 , nicht eingestellt			
Leitfähigkeit	NaCl auf ca. 50 ml Probe			
	G_L	f_{kt}	Abw. f_{kt} [%]	0,6 < f_{kt} < 1,3 ?
Kontrolle	-	1,06	0,7	ja
	G_L	H_t [%]	H [%]	Abw. [%]
BAM-10	2	-0,4	0,3	0,8
		1,1		
	3	1,0	0,7	0,3
		0,4		
PK		49,9	49,6	0,4
		49,2		
G_L ≤ 2				

BAM-11 Dr. Lange, LCK 482 Ch. 12338 Versuchsdatum: 12.03.13 O2: 7,8 mg/l pH: 7,9 , nicht eingestellt Leitfähigkeit ml Probe					BAM-11 Dr. Lange, LCK 482 Ch. 12338 Versuchsdatum: 13.03.13 O2: 8,0 mg/l pH: 8,0 , nicht eingestellt Leitfähigkeit NaCl auf ca. 45 ml Probe					
	G_L	f_{kt}	Abw. f_{kt} [%]	0,6 < f_{kt} < 1,3 ?			G_L	f_{kt}	Abw. f_{kt} [%]	0,6 < f_{kt} < 1,3 ?
Kontrolle	-	1,06	0,5	ja		Kontrolle	-	1,06	0,7	ja
	G_L	H_t [%]	H [%]	Abw. [%]			G_L	H_t [%]	H [%]	Abw. [%]
BAM-11	2	23,7 22,7	23,2	0,5		BAM-11	2	16,1 15,5	15,8	0,3
	3	12,6 12,0	12,3	0,3			3	7,0 8,5	7,8	0,8
	PK	51,2 53,4	52,3	1,1			PK	49,9 49,2	49,6	0,4
	G_L = 3						G_L ≤ 2			
BAM-12 Dr. Lange, LCK 482 Ch. 12338 Versuchsdatum: 12.03.13 O2: 7,4 mg/l pH: 7,9 , nicht eingestellt Leitfähigkeit ml Probe					BAM 13 Dr. Lange, LCK 482 Ch. 13147 Versuchsdatum: 20.11.2013 O2: 8,2 mg/l pH: 6,3 , nicht eingestellt Leitfähigkeit 41,1 µS/cm, aufgesalzen mit 480 mg NaCl auf ca. 25 ml Probe					
	G_L	f_{kt}	Abw. f_{kt} [%]	0,6 < f_{kt} < 1,3 ?			G_L	H_t [%]	H [%]	Abweichg. [%]
Kontrolle	-	1,06	0,5	ja		Kontrolle	-	1,12	0,1	ja
BAM-12	2	4,3 3,7	4,0	0,3		BAM 13	2	37,37 36,33	36,85	0,5
	3	4,3 3,6	3,9	0,3			3	27,75 23,51	25,63	2,1
PK		51,2 53,4	52,3	1,1			4	20,97 21,86	21,41	0,4
	G_L ≤ 2						6	12,43 14,23	13,33	0,9
							8	10,24 11,00	10,62	0,4
							12	7,55 6,93	7,24	0,3
							16	5,17 7,08	6,13	1,0
							24	4,72 4,89	4,80	0,1
							G_L = 6			

BAM-14					BAM-14				
Dr. Lange, LCK 482 Ch. 13147					Dr. Lange, LCK 482 Ch. 13147				
Versuchsdatum: 10.09.13					Versuchsdatum: 13.09.13				
O2:	8,2 mg/l				O2:	9,1 mg/l			
pH:	ca. 40 ml Probe auf einen pH von 7,2				pH:	NaOH auf ca. 40 ml Probe auf einen			
Leitfähigkeit	ml Probe				Leitfähigkeit	NaCl auf ca. 40 ml Probe			
	GL	f _{kt}	Abw. f _{kt} [%]	0,6 < f _{kt} < 1,3 ?		GL	f _{kt}	Abw. f _{kt} [%]	0,6 < f _{kt} < 1,3 ?
Kontrolle	-	1,16	0,9	ja	Kontrolle	-	1,12	-0,5	ja
	GL	H _t [%]	H [%]	Abw. [%]		GL	H _t [%]	H [%]	Abw. [%]
BAM-14	2	78,3	78,6	0,3	BAM-14	16	61,7	61,9	0,2
		78,9					62,1		
	3	74,5	74,6	0,2		24	55,4	55,6	0,2
		74,8					55,9		
	4	71,7	72,0	0,3		32	50,0	49,6	0,4
		72,2					49,2		
	6	68,2	68,4	0,2		48	42,0	42,0	0,0
		68,6					42,1		
	8	65,3	65,6	0,2		64	35,7	36,0	0,3
		65,8					36,4		
	12	60,6	60,6	0,0		96	27,6	28,0	0,3
		60,6					28,3		
	16	56,5	56,2	0,2		128	21,4	21,9	0,5
		56,0					22,5		
	24	49,8	49,9	0,1		192	15,0	16,0	1,0
		50,0					17,0		
PK		53,5	53,6	0,1	PK		54,5	55,2	0,7
		53,6					55,9		
GL >24					GL = 192				
BAM-22					BAM-22				
Dr. Lange, LCK 482 Ch. 13147					Dr. Lange, LCK 482 Ch. 13147				
Versuchsdatum: 11.09.13					Versuchsdatum: 11.09.13				
O2:	8,4 mg/l				O2:	8,4 mg/l			
pH:	90 ml Probe auf einen pH von 6,9				pH:	90 ml Probe auf einen pH von 6,9			
Leitfähigkeit	ml Probe				Leitfähigkeit	ml Probe			
	GL	f _{kt}	Abw. f _{kt} [%]	0,6 < f _{kt} < 1,3 ?		GL	f _{kt}	Abw. f _{kt} [%]	0,6 < f _{kt} < 1,3 ?
Kontrolle	-	1,15	-1,1	ja	Kontrolle	-	1,15	-1,1	ja
	GL	H _t [%]	H [%]	Abw. [%]		GL	H _t [%]	H [%]	Abw. [%]
BAM-14	2	40,7	39,1	1,6	BAM-14	2	40,7	39,1	1,6
		37,4					37,4		
	3	28,1	27,8	0,3		3	28,1	27,8	0,3
		27,5					27,5		
	4	23,0	22,7	0,3		4	23,0	22,7	0,3
		22,5					22,5		
	6	15,7	16,3	0,7		6	15,7	16,3	0,7
		17,0					17,0		
	8	11,0	10,9	0,1		8	11,0	10,9	0,1
		10,8					10,8		
	12	7,4	8,8	1,3		12	7,4	8,8	1,3
		10,1					10,1		
PK		50,6	51,6	1,0	PK		50,6	51,6	1,0
		52,6					52,6		
GL = 6									

BAM-G1 Dr. Lange, LCK 482 Ch. 13147					BAM-G1 Wdh 2 Dr. Lange, LCK 482 Ch. 13147				
2. Versuch: 17.09.13					3. Versuch: 02.10.13				
O2:	8,3 mg/l				O2:	8,9 mg/l			
pH:	6,6 , nicht eingestellt				pH:	6,6 , nicht eingestellt			
Leitfähigkeit	ml Probe				Leitfähigkeit	NaCl auf ca. 40 ml Probe			
	G_L	f_{kt}	Abw. f_{kt} [%]	0,6 < f_{kt} < 1,3 ?		G_L	f_{kt}	Abw. f_{kt} [%]	0,6 < f_{kt} < 1,3 ?
Kontrolle	-	1,14	0,0	ja	Kontrolle	-	1,14	0,0	ja
	G_L	H_t [%]	H [%]	Abw. [%]		G_L	H_t [%]	H [%]	Abw. [%]
BAM-G1	24	75,8	76,0	0,3	BAM-G1	384	43,3	43,5	0,2
		76,3					43,7		
	32	73,5	73,3	0,1		512	37,8	37,2	0,6
		73,2					36,5		
	48	67,9	68,6	0,7		768	28,6	28,6	0,0
		69,4					28,5		
	64	66,0	66,2	0,1		1024	24,0	24,8	0,7
		66,3					25,5		
	96	60,3	60,1	0,2		1536	18,0	16,6	1,4
		59,8					15,1		
	128	56,6	56,6	0,0		2048	12,8	13,7	0,9
		56,7					14,6		
	192	51,0	50,7	0,3		3072	9,4	10,1	0,7
		50,3					10,8		
	256	44,5	45,2	0,6		4096	8,6	8,2	0,4
		45,8					7,8		
	PK	48,1	47,8	0,3		PK	73,8	73,9	0,1
		47,5					74,0		
GL > 256					GL = 1536				
BAM-G2 Dr. Lange, LCK 482 Ch. 13147					BAM-G2 Wdh 2 Dr. Lange, LCK 482 Ch. 13147				
2. Versuch: 17.09.13					3. Versuch: 17.09.13				
O2:	8,2 mg/l				O2:	8,4 mg/l			
pH:	6,1 , nicht eingestellt				pH:	6,1 , nicht eingestellt			
Leitfähigkeit	ml Probe				Leitfähigkeit	NaCl auf ca. 30 ml Probe			
	G_L	f_{kt}	Abw. f_{kt} [%]	0,6 < f_{kt} < 1,3 ?		G_L	f_{kt}	Abw. f_{kt} [%]	0,6 < f_{kt} < 1,3 ?
Kontrolle	-	1,14	1,0	ja	Kontrolle	-	1,15	-1,0	ja
	G_L	H_t [%]	H [%]	Abw. [%]		G_L	H_t [%]	H [%]	Abw. [%]
BAM-G2	4	57,6	57,3	0,3	BAM-G2	32	28,6	28,7	0,1
		57,0					28,7		
	6	52,8	52,5	0,3		48	21,0	21,4	0,4
		52,2					21,8		
	8	49,4	49,5	0,2		64	17,3	17,5	0,2
		49,7					17,7		
	12	43,7	43,4	0,3		96	12,4	12,3	0,1
		43,0					12,2		
	16	37,7	38,0	0,2	PK		69,4	70,0	0,6
		38,2					70,6		
	24	31,0	30,3	0,7	GL = 64				
		29,6							
	32	26,7	26,5	0,2					
		26,4							
	48	19,2	20,1	0,9					
		20,9							
PK		50,7	50,6	0,1					
		50,6							
GL > 48									

Hydrotox-DSL-Blindwert Dr. Lange, LCK 482 Ch. 12338					BAM-DSL-Blindwert Dr. Lange, LCK 482 Ch. 13147				
Versuchsdatum: 13.03.13					Versuchsdatum: 11.09.13				
O2:	8,6 mg/l				O2:	8,4 mg/l			
pH:	6,5 , nicht eingestellt				pH:	NaOH auf ca. 90 ml Probe			
Leitfähigkeit	ml Probe				Leitfähigkeit	NaCl auf ca. 30 ml Probe			
	G_L	f_{kt}	Abw. f_{kt} [%]	0,6 < f_{kt} < 1,3 ?		G_L	f_{kt}	Abw. f_{kt} [%]	0,6 < f_{kt} < 1,3 ?
Kontrolle	-	1,06	0,7	ja	Kontrolle	-	1,06	0,7	ja
	G_L	H_t [%]	H [%]	Abw. [%]		G_L	H_t [%]	H [%]	Abw. [%]
Hydrotox-DSL	2	1,3	0,8	0,4	BAM-DSL-Blindwert	2	-6,6	-4,2	2,4
		0,4							
Kontrolle	3	1,4	0,8	0,6					
		0,2							
PK		49,9	49,6	0,4	PK		50,6	51,6	1,0
		49,2							
G_L ≤ 2					G_L ≤ 2				
BAM-Schütteltest-Blindwert Dr. Lange, LCK 482 Ch. 13147									
Versuchsdatum: 11.09.13									
O2:	8,1 mg/l								
pH:	auf ca. 90 ml Probe auf einen pH von 6,8								
Leitfähigkeit	ml Probe								
	G_L	f_{kt}	Abw. f_{kt} [%]	0,6 < f_{kt} < 1,3 ?					
Kontrolle	-	1,15	-1,1	ja					
	G_L	H_t [%]	H [%]	Abw. [%]					
BAM-Schütteltest	2	-6,6	-5,7	1,0					
		-4,7							
PK	PK	50,6	51,6	1,0					
		52,6							
G_L ≤ 2									
HSR-2 Dr. Lange, LCK 482 Ch. 13147					HSR-2 Dr. Lange, LCK 482 Ch. 13147				
Versuchsdatum: 25.07.13					Versuchsdatum: 06.08.13				
O2:	9,1 mg/l				O2:	7,9 mg/l			
pH:	7,1 , nicht eingestellt				pH:	6,8 , nicht eingestellt			
Leitfähigkeit	ml Probe				Leitfähigkeit	NaCl auf ca. 40 ml Probe			
	G_L	f_{kt}	Abw. f_{kt} [%]	0,6 < f_{kt} < 1,3 ?		G_L	f_{kt}	Abw. f_{kt} [%]	0,6 < f_{kt} < 1,3 ?
Kontrolle	-	1,21	-0,8	ja	Kontrolle	-	1,09	-0,6	ja
	G_L	H_t [%]	H [%]	Abw. [%]		G_L	H_t [%]	H [%]	Abw. [%]
HSR-2	2	78,5	79,0	0,4	HSR-2	12	65,6	65,5	0,1
		79,4							
	3	74,6	74,8	0,2		16	61,4	62,2	0,8
		75,0							
	4	72,1	72,2	0,1		24	55,5	55,8	0,3
		72,4							
	6	69,0	69,1	0,1		32	51,0	51,0	0,0
		69,3							
	8	67,0	66,9	0,0		48	43,0	43,5	0,5
		66,9							
	12	60,5	62,6	2,1		64	35,6	35,6	0,0
		64,7							
	16	60,7	62,1	1,4		96	25,4	25,6	0,2
		63,5							
	24	55,3	55,6	0,3		128	18,4	19,6	1,2
		55,9							
	PK	55,7	56,0	0,3	PK		64,0	64,0	0,0
		56,3							
G_L >24					G_L = 128				

HSR-3					HSR-6				
Dr. Lange, LCK 482 Ch. 13147					Dr. Lange, LCK 482 Ch. 13147				
Versuchsdatum: 25.07.13					Versuchsdatum: 30.07.13				
O2:	10,3 mg/l				O2:	8,1 mg/l			
pH:	60 ml Probe auf einen pH von 7,18				pH:	6,3 , nicht eingestellt			
Leitfähigkeit	ml Probe				Leitfähigkeit	ml Probe			
	G_L	f_{kt}	Abw. f_{kt} [%]	$0,6 < f_{kt} < 1,3 ?$		G_L	f_{kt}	Abw. f_{kt} [%]	$0,6 < f_{kt} < 1,3 ?$
Kontrolle	-	1,16	-0,1	ja	Kontrolle	-	1,13	0,9	ja
	G_L	H_t [%]	H [%]	Abw. [%]		G_L	H_t [%]	H [%]	Abw. [%]
HSR-3	2	52,1	58,2	6,1	HSR-6	2	16,6	16,8	0,2
		64,2					17,0		
	3	49,7	50,3	0,6		3	12,6	13,3	0,7
		50,9					14,0		
	4	41,2	41,5	0,2		4	5,8	7,4	1,5
		41,7					8,9		
	6	29,8	29,6	0,2		6	6,8	7,7	0,8
		29,4					8,5		
	8	23,0	23,5	0,5		8	4,2	4,3	0,1
		24,0					4,5		
	12	15,7	16,6	0,9		12	3,7	4,4	0,7
		17,6					5,2		
	16	10,9	11,3	0,4		16	0,6	1,6	1,0
		11,6					2,6		
	24	7,4	7,3	0,1		24	1,2	1,8	0,6
		7,3					2,4		
	PK	54,3	54,2	0,1		PK	55,8	56,0	0,2
		54,2					56,2		
$G_L = 12$					$G_L \leq 2$				

HSR-7					HSR-10				
Dr. Lange, LCK 482 Ch. 13147					Dr. Lange, LCK 482 Ch. 13147				
Versuchsdatum: 31.07.13					Versuchsdatum: 14.08.13				
O2:	7,7 mg/l				O2:	7,9 mg/l			
pH:	7,1 , nicht eingestellt				pH:	6,4 , nicht eingestellt			
Leitfähigkeit	ml Probe				Leitfähigkeit	ml Probe			
	G_L	f_{kt}	Abw. f_{kt} [%]	$0,6 < f_{kt} < 1,3 ?$		G_L	f_{kt}	Abw. f_{kt} [%]	$0,6 < f_{kt} < 1,3 ?$
Kontrolle	-	1,15	0,0	ja	Kontrolle	-	1,16	1,2	ja
	G_L	H_t [%]	H [%]	Abw. [%]		G_L	H_t [%]	H [%]	Abw. [%]
HSR-7	2	7,5	7,6	0,1	HSR-10	2	13,7	15,0	1,3
		7,6					16,4		
	3	5,1	5,2	0,0		3	9,1	9,4	0,3
		5,2					9,7		
	4	-0,2	1,5	1,7		4	7,6	7,5	0,1
		3,2					7,4		
	6	0,9	1,1	0,2		6	5,1	5,9	0,7
		1,2					6,6		
	8	0,6	1,1	0,5		8	2,8	3,3	0,5
		1,7					3,8		
	12	-1,2	-1,2	0,1		12	-0,1	0,7	0,8
		-1,3					1,5		
	16	-1,3	-2,1	0,8		16	-6,6	-2,6	3,9
		-2,9					1,3		
	24	-1,0	-1,5	0,6		24	-2,0	-1,5	0,6
		-2,1					-0,9		
	PK	54,3	55,1	0,8		PK	52,7	53,3	0,6
		56,0					53,9		
$G_L \leq 2$					$G_L \leq 2$				

HSR-12		Dr. Lange, LCK 482 Ch. 13147		
Versuchsdatum: 07.08.13				
O ₂ :	9,1 mg/l			
pH:	6,8 , nicht eingestellt			
Leitfähigkeit	ml Probe			
	G _L	f _{kt}	Abw. f _{kt} [%]	0,6 < f _{kt} < 1,3 ?
Kontrolle	-	1,13	0,2	ja
	G _L	H _t [%]	H [%]	Abw. [%]
HSR-12	2	47,0	46,4	0,6
		45,8		
	3	34,9	36,0	1,1
		37,1		
	4	29,8	29,8	0,0
		29,8		
	6	21,3	21,5	0,3
		21,8		
	8	15,7	16,3	0,7
		17,0		
	12	10,2	11,7	1,5
		13,2		
	16	8,4	8,0	0,4
		7,7		
	24	6,5	6,0	0,5
		5,5		
PK		43,2	43,8	0,6
		44,3		
G _L = 8				

Umu-Test

BAM 1							BAM 2						
Testdurchführung		06.09.13					Testdurchführung		06.09.13				
Probenvorbereitung		LF = 21 µS/cm; pH = 4,23, eingestellt auf pH = 6,90 mit 5 Tropfen 0,05 M NaOH und 10 Tropfen 0,005 M NaOH					Probenvorbereitung		LF = 280 µS/cm; pH = 6,15, eingestellt auf pH = 6,94 mit 10 Tropfen 0,5 M NaOH				
	NK	PK	G1,5	G3	G6	G12		NK	PK	G1,5	G3	G6	G12
ohne metabolische Aktivierung							ohne metabolische Aktivierung						
WF	1,00	0,94	0,95	0,92	0,93	0,92	WF	1,00	0,94	1,07	1,01	0,98	0,92
U _T	0,67	1,80	0,63	0,71	0,67	0,72	U _T	0,67	1,80	0,63	0,71	0,71	0,75
IR	1,0	2,2	0,9	1,1	1,0	1,1	IR	1,0	2,2	0,9	1,1	1,1	1,1
mit metabolischer Aktivierung							mit metabolischer Aktivierung						
WF	1,00	1,05	1,10	1,06	1,01	0,96	WF	1,00	1,05	1,02	1,00	0,96	0,91
U _T	0,50	1,63	0,45	0,49	0,47	0,51	U _T	0,50	1,63	0,50	0,55	0,56	0,57
IR	1,0	2,4	0,9	1,0	1,0	1,0	IR	1,0	2,4	1,0	1,1	1,1	1,1
Ergebnis:		G_{EU} = 1,5					Ergebnis:		G_{EU} = 1,5				
BAM 4							BAM 5						
Testdurchführung		06.09.13					Testdurchführung		23.04.13				
Probenvorbereitung		LF = 17,4 µS/cm; pH = 4,5, eingestellt auf pH = 6,95 mit 10 Tropfen 0,005 M NaOH, 10 Tr. 0,05 M NaOH und 11 Tr. 0,5 M NaOH					Probenvorbereitung		LF = 9,1 mS/cm; pH = 8,17, eingestellt auf pH = 7,01 mit 15 Tropfen 0,005 M HCl				
	NK	PK	G1,5	G3	G6	G12		NK	PK	G1,5	G3	G6	G12
ohne metabolische Aktivierung							ohne metabolische Aktivierung						
WF	1,00	0,94	1,04	1,05	1,04	0,97	WF	1,00	1,19	0,92	0,88	1,04	0,88
U _T	0,67	1,80	0,65	0,68	0,70	0,71	U _T	0,44	1,68	0,48	0,49	0,35	0,44
IR	1,0	2,2	1,0	1,0	1,0	1,1	IR	1,0	3,1	1,1	1,1	0,8	1,0
mit metabolischer Aktivierung							mit metabolischer Aktivierung						
WF	1,00	1,05	0,97	0,96	0,96	1,07	WF	1,00	0,82	1,07	1,03	1,09	1,06
U _T	0,50	1,63	0,44	0,48	0,46	0,44	U _T	0,49	1,14	0,55	0,52	0,47	0,44
IR	1,0	2,4	0,9	1,0	0,9	0,9	IR	1,0	2,2	1,1	1,0	1,0	0,9
Ergebnis:		G_{EU} = 1,5					Ergebnis:		G_{EU} = 1,5				

BAM 6 Testdurchführung 23.04.13 Probenvorbereitung LF = 13,0 µS/cm; pH = 7,06, nicht eingestellt							BAM 8 Testdurchführung 23.04.13 Probenvorbereitung LF = 4,9 µS/cm; pH = 7,26, eingestellt auf pH = 7,03 mit 1 Tropfen 0,005 M HCl						
	NK	PK	G1,5	G3	G6	G12		NK	PK	G1,5	G3	G6	G12
ohne metabolische Aktivierung							ohne metabolische Aktivierung						
WF	1,00	1,19	0,93	0,85	0,92	0,91	WF	1,00	1,19	0,97	0,92	1,01	0,92
U _T	0,44	1,68	0,47	0,45	0,40	0,38	U _T	0,44	1,68	0,48	0,42	0,35	0,39
IR	1,0	3,1	1,1	1,0	0,9	0,9	IR	1,0	3,1	1,1	1,0	0,8	0,9
mit metabolischer Aktivierung							mit metabolischer Aktivierung						
WF	1,00	0,82	1,01	1,12	1,04	1,07	WF	1,00	0,82	1,00	1,05	1,00	1,02
U _T	0,49	1,14	0,52	0,45	0,41	0,40	U _T	0,49	1,14	0,49	0,43	0,41	0,44
IR	1,0	2,2	1,1	0,9	0,8	0,8	IR	1,0	2,2	1,0	0,9	0,8	0,9
Ergebnis:	G_{EU} = 1,5						Ergebnis:	G_{EU} = 1,5					
BAM 10 Testdurchführung 23.04.13 Probenvorbereitung LF = 5,4 µS/cm; pH = 6,72, eingestellt auf pH = 7,11 mit 1 Tropfen 0,005 M NaOH							BAM 11 Testdurchführung 23.04.13 Probenvorbereitung LF = 335 µS/cm; pH = 7,88, eingestellt auf pH = 7,05 mit 5 Tropfen 0,05 M HCl						
	NK	PK	G1,5	G3	G6	G12		NK	PK	G1,5	G3	G6	G12
ohne metabolische Aktivierung							ohne metabolische Aktivierung						
WF	1,00	1,19	1,00	0,93	0,96	0,88	WF	1,00	1,19	1,07	0,88	1,02	0,93
U _T	0,44	1,68	0,46	0,41	0,40	0,39	U _T	0,44	1,68	0,43	0,46	0,43	0,41
IR	1,0	3,1	1,0	0,9	0,9	0,9	IR	1,0	3,1	1,0	1,1	1,0	0,9
mit metabolischer Aktivierung							mit metabolischer Aktivierung						
WF	1,00	0,82	1,00	1,13	1,00	1,07	WF	1,00	0,82	0,91	1,07	0,98	0,97
U _T	0,49	1,14	0,53	0,41	0,44	0,45	U _T	0,49	1,14	0,53	0,43	0,47	0,49
IR	1,0	2,2	1,1	0,8	0,9	0,9	IR	1,0	2,2	1,1	0,9	1,0	1,0
Ergebnis:	G_{EU} = 1,5						Ergebnis:	G_{EU} = 1,5					
BAM 12 Testdurchführung 23.04.13 Probenvorbereitung LF = 1,3 µS/cm; pH = 8,52, eingestellt auf pH = 6,91 mit 5 Tropfen 0,005 M HCl							BAM 14 Testdurchführung 13.09.13 Probenvorbereitung LF = 14,2 µS/cm; pH = 5,18, eingestellt auf pH = 6,95 mit 10 Tropfen 0,05 M NaOH						
	NK	PK	G1,5	G3	G6	G12		NK	PK	G1,5	G3	G6	G12
ohne metabolische Aktivierung							ohne metabolische Aktivierung						
WF	1,00	1,19	1,05	0,90	0,99	0,90	WF	1,00	1,01	0,91	0,90	0,91	0,90
U _T	0,44	1,68	0,44	0,43	0,37	0,41	U _T	0,63	2,14	0,68	0,70	0,73	0,73
IR	1,0	3,1	1,0	1,0	0,8	0,9	IR	1,0	2,9	1,1	1,1	1,2	1,2
mit metabolischer Aktivierung							mit metabolischer Aktivierung						
WF	1,00	0,82	0,99	1,03	1,08	1,05	WF	1,00	1,06	0,99	0,96	0,92	0,88
U _T	0,49	1,14	0,56	0,46	0,43	0,44	U _T	0,53	1,78	0,45	0,55	0,52	0,55
IR	1,0	2,2	1,1	0,9	0,9	0,9	IR	1,0	2,4	0,9	1,0	1,0	1,0
Ergebnis:	G_{EU} = 1,5						Ergebnis:	G_{EU} = 1,5					
BAM 13 Testdurchführung: 18.12.13 Probenvorbereitung LF = 21,7 µS/cm; pH = 4,9, eingestellt auf pH = 6,8 mit 2 Tr. 0,5 M NaOH + 6 Tr. 0,05 M NaOH													
	NK	PK	G1,5	G3	G6	G12							
ohne metabolische Aktivierung													
WF	1,00	1,16	1,03	0,99	1,01	1,11							
U _T	0,66	1,67	0,72	0,73	0,67	0,69							
IR	1,0	2,1	1,1	1,1	1,0	1,0							
mit metabolischer Aktivierung													
WF	1,00	1,12	1,09	1,06	1,09	1,10							
U _T	0,68	2,32	0,81	0,63	0,65	0,63							
IR	1,0	2,3	1,2	0,9	1,0	0,9							
Ergebnis:	G_{EU} = 1,5												

BAM 22 Testdurchführung 13.09.13 Probenvorbereitung LF = 317 µS/cm; pH = 5,91, eingestellt auf pH = 6,97 mit 4 Tropfen 0,5 M NaOH							BAM G-1 Testdurchführung 13.09.13 Probenvorbereitung LF = 204 µS/cm; pH = 6,19, eingestellt auf pH = 7,05 mit 9 Tropfen 0,05 M NaOH						
	NK	PK	G1,5	G3	G6	G12		NK	PK	G1,5	G3	G6	G12
ohne metabolische Aktivierung							ohne metabolische Aktivierung						
WF	1,00	1,01	1,06	1,00	1,02	0,91	WF	1,00	1,01	0,93	1,14	1,03	0,95
U _T	0,63	2,14	0,65	0,67	0,65	0,74	U _T	0,63	2,14	0,70	0,58	0,71	0,71
IR	1,0	2,9	1,0	1,1	1,0	1,2	IR	1,0	2,9	1,1	0,9	1,1	1,1
mit metabolischer Aktivierung							mit metabolischer Aktivierung						
WF	1,00	1,06	0,98	0,99	0,92	0,92	WF	1,00	1,06	0,92	1,10	1,25	0,95
U _T	0,53	1,78	0,49	0,55	0,54	0,64	U _T	0,53	1,78	0,57	0,52	0,44	0,58
IR	1,0	2,4	0,9	1,1	1,0	1,2	IR	1,0	2,4	1,1	1,0	0,8	1,1
Ergebnis: G_{EU} = 1,5							Ergebnis: G_{EU} = 1,5						
BAM G-2 Testdurchführung 13.09.13 Probenvorbereitung LF = 197 µS/cm; pH = 5,85, eingestellt auf pH = 6,98 mit 2 Tropfen 0,5 M NaOH und 5 Tropfen 0,05 M NaOH							BAM-DSLT-Blindwert Testdurchführung 13.09.13 Probenvorbereitung LF = 14,2 µS/cm; pH = 4,33, eingestellt auf pH = 7,05 mit 3 Tropfen 0,5 M NaOH und 8 Tropfen 0,05 M NaOH						
	NK	PK	G1,5	G3	G6	G12		NK	PK	G1,5	G3	G6	G12
ohne metabolische Aktivierung							ohne metabolische Aktivierung						
WF	1,00	1,01	1,00	1,05	0,98	0,91	WF	1,00	1,01	0,99	1,08	1,04	1,00
U _T	0,63	2,14	0,60	0,61	0,66	0,76	U _T	0,63	2,14	0,60	0,59	0,67	0,69
IR	1,0	2,9	1,0	1,0	1,0	1,2	IR	1,0	2,9	1,0	0,9	1,1	1,1
mit metabolischer Aktivierung							mit metabolischer Aktivierung						
WF	1,00	1,06	0,95	0,99	0,95	0,93	WF	1,00	1,06	0,95	1,01	1,02	0,96
U _T	0,53	1,78	0,53	0,53	0,57	0,55	U _T	0,53	1,78	0,51	0,50	0,59	0,55
IR	1,0	2,4	1,0	1,0	1,1	1,0	IR	1,0	2,4	1,0	0,9	1,1	1,0
Ergebnis: G_{EU} = 1,5							Ergebnis: G_{EU} = 1,5						
BAM-Schütteltest-Blindwert Testdurchführung 13.09.13 Probenvorbereitung LF = 11,5 µS/cm; pH = 5,05, eingestellt auf pH = 7,12 mit 1 Tropfen 0,5 M NaOH und 1 Tropfen 0,05 M NaOH							HSR-2 Testdurchführung 25.07.13 Probenvorbereitung LF = 17,9 µS/cm; pH = 7,10, nicht eingestellt						
	NK	PK	G1,5	G3	G6	G12		NK	PK	G1,5	G3	G6	G12
ohne metabolische Aktivierung							ohne metabolische Aktivierung						
WF	1,00	1,01	1,01	1,05	0,96	0,90	WF	1,00	1,14	0,92	0,95	0,97	1,00
U _T	0,63	2,14	0,58	0,64	0,71	0,76	U _T	0,39	1,10	0,45	0,42	0,40	0,36
IR	1,0	2,9	0,9	1,0	1,1	1,2	IR	1,0	2,2	1,2	1,1	1,0	0,9
mit metabolischer Aktivierung							mit metabolischer Aktivierung						
WF	1,00	1,06	0,94	0,99	0,99	0,91	WF	1,00	0,99	0,94	0,82	0,89	1,02
U _T	0,53	1,78	0,54	0,53	0,56	0,59	U _T	0,59	1,89	0,63	0,61	0,59	0,55
IR	1,0	2,4	1,0	1,0	1,1	1,1	IR	1,0	2,9	1,1	1,0	1,0	0,9
Ergebnis: G_{EU} = 1,5							Ergebnis: G_{EU} = 1,5						
HSR-3 Testdurchführung 25.07.13 Probenvorbereitung LF = 31,5 µS/cm; pH = 4,38, eingestellt auf pH = 6,80 mit 1 Tropfen 0,005 M NaOH							HSR-6 Testdurchführung 25.07.13 Probenvorbereitung LF = 5,6 µS/cm; pH = 6,56, eingestellt auf pH = 6,85 mit 2 Tropfen 0,0005 M NaOH						
	NK	PK	G1,5	G3	G6	G12		NK	PK	G1,5	G3	G6	G12
ohne metabolische Aktivierung							ohne metabolische Aktivierung						
WF	1,00	1,14	0,83	0,85	0,88	0,90	WF	1,00	1,14	1,00	0,99	1,02	1,04
U _T	0,39	1,10	0,47	0,50	0,43	0,40	U _T	0,39	1,10	0,38	0,37	0,40	0,39
IR	1,0	2,2	1,2	1,3	1,1	1,0	IR	1,0	2,2	1,0	1,0	1,0	1,0
mit metabolischer Aktivierung							mit metabolischer Aktivierung						
WF	1,00	0,99	0,87	0,82	0,92	0,97	WF	1,00	0,99	0,99	0,93	0,98	1,02
U _T	0,59	1,89	0,60	0,60	0,58	0,55	U _T	0,59	1,89	0,54	0,54	0,54	0,53
IR	1,0	2,9	1,0	1,0	1,0	0,9	IR	1,0	2,9	0,9	0,9	0,9	0,9
Ergebnis: G_{EU} = 1,5							Ergebnis: G_{EU} = 1,5						

HSR-7							HSR-10						
Testdurchführung		25.07.13					Testdurchführung		06.09.13				
Probenvorbereitung		LF = 19,6 µS/cm; pH = 6,80, nicht eingestellt					Probenvorbereitung		LF = 19 µS/cm; pH = 6,65, eingestellt auf pH = 6,86 mit 1 Tropfen 0,005 M NaOH				
	NK	PK	G1,5	G3	G6	G12		NK	PK	G1,5	G3	G6	G12
ohne metabolische Aktivierung							ohne metabolische Aktivierung						
WF	1,00	1,14	1,09	0,92	0,92	0,99	WF	1,00	0,94	1,06	1,00	0,96	0,95
U _T	0,39	1,10	0,40	0,43	0,47	0,37	U _T	0,67	1,80	0,64	0,78	0,73	0,81
IR	1,0	2,2	1,0	1,1	1,2	0,9	IR	1,0	2,2	1,0	1,2	1,1	1,2
mit metabolischer Aktivierung							mit metabolischer Aktivierung						
WF	1,00	0,99	0,97	0,93	0,97	1,01	WF	1,00	1,05	1,03	0,97	0,94	0,90
U _T	0,59	1,89	0,62	0,59	0,56	0,55	U _T	0,50	1,63	0,45	0,47	0,51	0,58
IR	1,0	2,9	1,1	1,0	1,0	0,9	IR	1,0	2,4	0,9	0,9	1,0	1,2
Ergebnis:		G_{EU} = 1,5					Ergebnis:		G_{EU} = 1,5				
HSR-12													
Testdurchführung		06.09.13											
Probenvorbereitung		LF = 17 µS/cm; pH = 5,85, eingestellt auf pH = 7,16 mit 2 Tropfen 0,005 M NaOH											
	NK	PK	G1,5	G3	G6	G12							
ohne metabolische Aktivierung													
WF	1,00	0,94	1,05	1,04	1,05	1,00							
U _T	0,67	1,80	0,66	0,72	0,66	0,66							
IR	1,0	2,2	1,0	1,1	1,0	1,0							
mit metabolischer Aktivierung													
WF	1,00	1,05	0,97	1,00	1,10	1,00							
U _T	0,50	1,63	0,45	0,46	0,42	0,48							
IR	1,0	2,4	0,9	0,9	0,8	1,0							
Ergebnis:		G_{EU} = 1,5											

Anhang 4: Abbaubarkeit im Respirometertest nach OECD 301 F

Test item [mL/ 164 mL] Reference item [mL/ 164 mL] COD [mg/L]	BAM-2		BAM-4		BAM-11		BAM-22		BAM G1		BAM-G2		HSR-3		HSR-12		Sodium acetate			Blank		
	10,6	10,6	15,4	15,4	123	123	121	121	99,6	99,6	115	115	52,9	52,9	120	120	164	164	164	0	0	0
Day	Oxygen consumption [mg O ₂ /L]																					
0	0		0		0		0		0		0		0		0		0			0		
4	64,7	64,7	59,1	59,1	76,0	76,0	36,6	39,4	50,6	50,6	28,1	25,3	39,4	42,2	30,9	33,8	67,5	70,3	67,5	11,3	14,1	14,1
8	81,6	81,6	81,6	78,8	95,7	92,8	53,5	56,3	53,5	53,5	36,6	30,9	53,5	53,5	53,5	50,6	87,2	87,2	87,2	14,1	19,7	16,9
12	90,0	90,0	92,8	90,0	101,0	101,0	81,6	84,4	59,1	61,9	39,4	33,8	61,9	61,9	101,0	95,7	98,5	95,7	98,5	16,9	19,7	19,7
16	95,7	90,0	98,5	95,7	104,0	107,0	90,0	92,8	64,7	64,7	45,0	39,4	67,5	67,5	113,0	110,0	104,0	98,5	101,0	16,9	19,7	25,3
20	98,5	92,8	98,5	95,7	107,0	110,0	95,7	98,5	67,5	67,5	45,0	39,4	70,3	70,3	118,0	115,0	107,0	104,0	107,0	19,7	22,5	22,5
24	98,5	95,7	101,0	98,5	110,0	110,0	98,5	104,0	67,5	67,5	47,8	39,4	70,3	70,3	121,0	118,0	110,0	107,0	110,0	19,7	22,5	25,3
28	101,0	98,5	104,0	98,5	113,0	110,0	104,0	110,0	70,3	70,3	50,6	42,2	70,3	70,3	124,0	118,0	110,0	107,0	110,0	22,5	25,3	25,3
pH on day 28	7,5	7,5	7,4	7,5	6,8	6,9	8,6	8,6	8,5	8,6	8,9	9,0	7,5	7,5	7,1	7,1	8,8	8,9	8,9	7,4	7,4	7,4

Day	Degradation [% of COD]																					
0	0		0		0		0		0		0		0		0		0			0		
4	51,5	51,5	46,1	46,1	62,7	62,7	23,5	26,3	74,9	74,9	29,8	24,2	26,2	29,0	17,7	20,6	54,3	57,1	54,3	70,3	70,3	70,3
8	64,6	64,6	64,9	62,1	78,7	75,8	36,6	39,4	73,2	73,2	39,4	28,0	36,6	36,6	36,6	33,7	70,3	70,3	70,3	79,7	76,9	79,7
12	71,1	71,1	74,2	71,4	82,1	82,1	62,9	65,7	80,7	86,3	41,2	30,0	43,1	43,1	82,2	76,9	79,7	76,9	79,7	83,4	80,4	80,4
16	75,0	69,3	78,1	75,3	83,2	86,2	69,4	72,2	88,2	88,2	48,7	37,5	46,9	46,9	92,4	89,4	83,4	77,9	80,4	85,4	85,4	85,4
20	76,8	71,1	77,1	74,3	85,3	88,3	74,2	77,0	91,9	91,9	46,8	35,6	48,7	48,7	96,4	93,4	85,4	82,4	85,4	87,5	87,5	87,5
24	75,9	73,1	78,7	76,2	87,3	87,3	76,1	81,6	90,0	90,0	50,5	33,8	47,8	47,8	98,5	95,5	87,5	84,5	87,5	85,6	85,6	85,6
28	76,5	74,0	79,9	74,3	88,5	85,5	79,7	85,7	91,9	91,9	52,4	35,6	45,9	45,9	99,6	93,6	85,6	82,6	85,6			

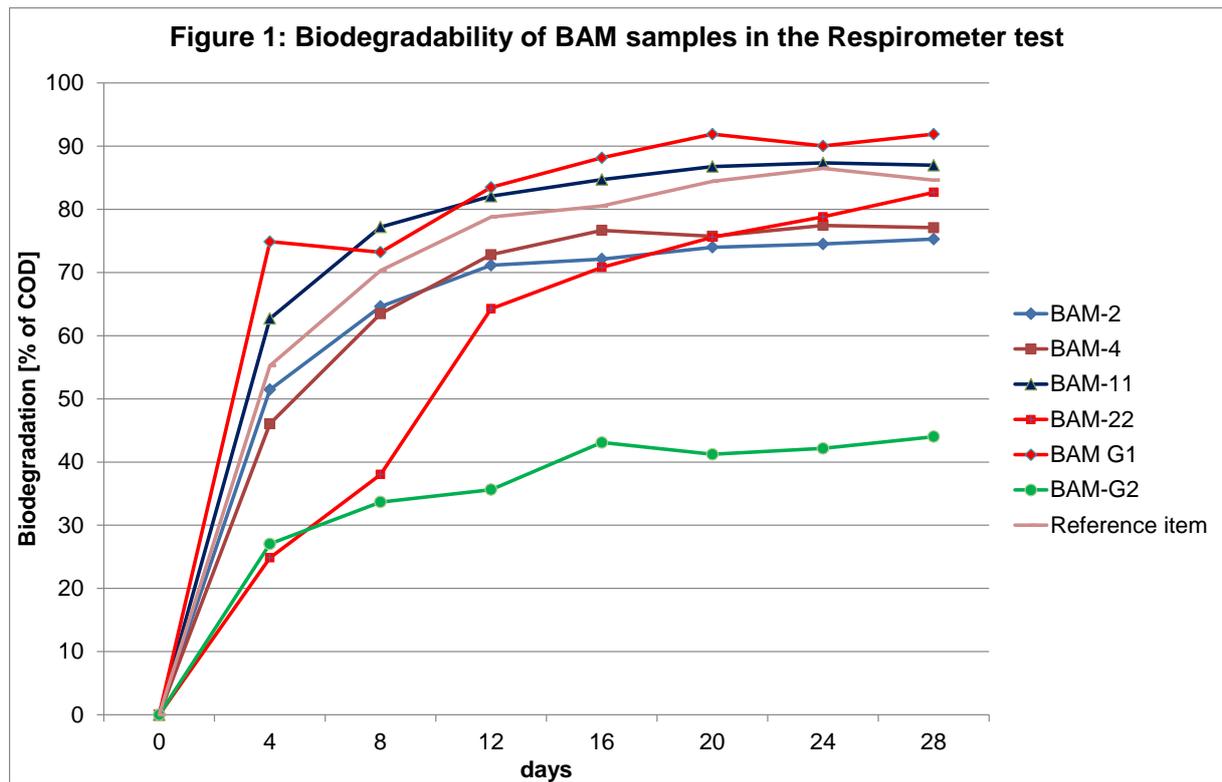


Figure 1: Biodegradability of BAM samples in the Respirometer test (mean values)

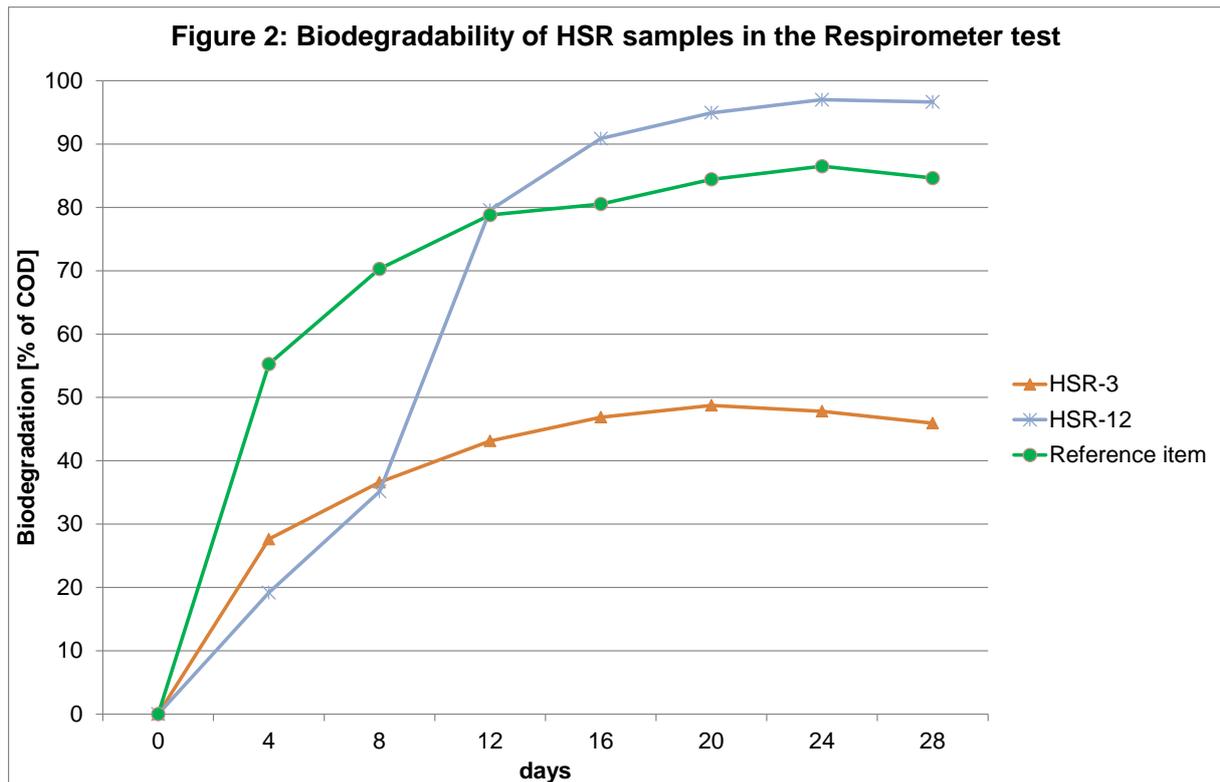


Figure 2: Biodegradability of HSR samples in the Respirometer test

Anhang 5: GC/MS Screening der BAM-Produkte

Produkt		Chemische Verbindungen	CAS	Qual	Beispiele für Anwendungen	GHS Umwelt- gefahren
Code	Beschreibung			%		
BAM-1	PUR-Schaum	Triphenylphosphat (TPP)	115-86-6	99	Flammschutzmittel	H400, H411
		TPP-Transformationsprodukte (Phenolringe methyliert)		99		
		Tris(2-chlorisopropyl)phosphat (TCPP)	13674-84-5	95	Flammschutzmittel, u.a. für PUR-Schaum	
		N-Phenylformamid	103-70-8	97	evtl. aus Polyisocyanat	
BAM-2	Fugendichtmasse (Acryl)	Diethylphthalate (DEP)	84-66-2	98	in Polymeren, Thermoplasten, Kosmetika, Duftstoffen	
		1(3H)-Isobenzofuranon	87-42-2	97	Industriechemikalie, Grundstoff für Synthesen	
		langkettige fluorhaltige Ester		bis 93		
		langkettige Kohlenwasserstoffe		bis 99		
BAM-3	Fugendichtmasse (silanmodifiziertes Polymer)	2-Octyl-3(2H)-isothiazolone	26530-20-1	99	Biozid	
		1(3H)-Isobenzofuranon	87-42-2	97	Industriechemikalie, Grundstoff für Synthesen	
BAM-4	Acrylharz-Dichtmasse	Phthalate, Einzelsubstanzen nicht sicher identifiziert				
BAM-5	PVC-U-Rohr, Kanalrohr, orange	Benzophenon	119-61-9	93	Photoinitiator, UV-Stabilisator (Kunststoffe), Duftstoffe,	H412
		Trichloressigsäurehexadecylester	74339-54-1	93		
		langkettige Kohlenwasserstoffe		bis 98		
BAM-6	PVC-Fallrohr, grau	Squalen	111-02-4	99	Zwischenprodukt, Pharmaceutika, Kosmetika	
		langkettige Kohlenwasserstoffe		bis 99		
BAM-7	Flüssig-Kunststoff	2-Chlorpropionsäureoctadecylester	88104-31-8	97		
		Phthalate, nicht sicher identifiziert				
		langkettige fluorhaltige Ester		bis 93		
		langkettige Kohlenwasserstoffe		bis 98		
BAM-8	Acrylglas	1-Chloronadekan	62016-76-6	94		
		langkettige Kohlenwasserstoffe		bis 99		
BAM-11	Holz-Kunststoff-Verbundwerkstoff	Benzophenon	119-61-9	95	Photoinitiator, UV-Stabilisator (Kunststoffe), Duftstoffe, Kleber, auch in Holz und Holzprodukten eingesetzt	H412
		Squalen	111-02-4	99	Zwischenprodukt, Pharmaceutika, Kosmetika	
		Phthalate, Einzelsubstanzen nicht sicher identifiziert				
		Dichloressigsäureheptadecylester	1000282-98-2	95		
		langkettige Kohlenwasserstoffe		bis 99		
BAM-12	PC-Hohlkammerplatte	Diisodecyl phthalate (DIDP)	68515-49-1	91	diverse industrielle Prozesse, Polymere, Klebe- und Dichtmaterialien, Gummi,	
		Trichloressigsäurehexadecylester	74339-54-1	94		
		langkettige Kohlenwasserstoffe		bis 98		
BAM-13	Dichtmasse	Diethylphthalat (DEP)	84-66-2	98	in Polymeren, Thermoplasten, Kosmetika, Duftstoffen	
		n-Buttersäure-2-ethylhexylester	25415-84-3	97		
		1(3H)-Isobenzofuranon	87-42-2	97	Industriechemikalie, Grundstoff für Synthesen	
		langkettige fluorhaltige Ester		bis 93		
		langkettige Kohlenwasserstoffe		bis 99		
BAM-14	EPDM-Sportboden	2-Mercaptobenzothiazol	149-30-4	96	Herstellung von Reifen, Gummi, Polymeren	H400, H410
		Transformationsprodukte von 2-Mercaptobenzothiazol		bis 99		
		langkettige fluorhaltige Ester		bis 93		
		langkettige Kohlenwasserstoffe		bis 98		

Produkt		Chemische Verbindungen	CAS	Qual	Beispiele für Anwendungen	GHS Umwelt- gefahren
Code	Beschreibung			%		
BAM-18	XPS	E-15-Heptadecenal	1000130-97-9	98	antikakteriell wirksam	
BAM-G 1	EPDM Granulat	2-Mercaptobenzothiazol	149-30-4	96	Herstellung von Reifen, Gummi, Polymeren	H400, H410
		Transformationsprodukte von 2-Mercaptobenzothiazol		bis 99		
		2(3H)-Benzothiazolon	934-34-9	94		
		Trimethylthioharnstoff	2489-77-2	91	Copolymer, Gummi	
		langkettige fluorhaltige Ester		bis 93		
		langkettige Kohlenwasserstoffe		bis 98		
BAM-G 2	TPES Granulat	2,2,6,6-Tetramethyl-4-piperidon (Triacetonamin, TAA)	826-36-8	921	Lichtstabilisator (gehindertes Amin)	H412
		Trimethylthioharnstoff	2489-77-2	910	Copolymer, Gummi	
		2(3H)-Benzothiazolon	934-34-9	933		
		2-Mercaptobenzothiazole	149-30-4	952		
		langkettige fluorhaltige Ester		bis 93		
		langkettige Kohlenwasserstoffe		bis 98		
Erläuterungen						
H400	sehr giftig für Wasserorganismen					
H410	sehr giftig für Wasserorganismen mit langfristiger Wirkung					
H411	giftig für Wasserorganismen mit langfristiger Wirkung					
H412	schädlich für Wasserorganismen mit langfristiger Wirkung					

Anhang 6: Prüfplan Europäischer Ringversuch (17.9.2015)

1. Vorbemerkung

Seit dem 1. Juli 2013 regelt die EU-Bauprodukteverordnung (EU) Nr. 305/2011 die Vermarktung von Bauprodukten sowie deren CE-Kennzeichnung. Künftig können die Mitgliedstaaten ihre Vorschriften für die Umweltauswirkungen ihrer Bauwerke umfassender geltend machen als bisher. Aktuell laufen im CEN/TC 351 Normungsarbeiten zur Bestimmung der Freisetzung gefährlicher Stoffe aus Bauprodukten. Der Ringversuch soll einen Beitrag zur Harmonisierung ökotoxikologischer Prüfmethoden für Bauprodukte leisten. Ziel ist es, die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse aus solchen Prüfungen zu bestimmen.

Die Teilnahme am Ringversuch ist kostenlos.

2. Auswahl der Proben

Im Ringversuch werden die Bauprodukte HSR-2 und BAM-G1 untersucht. Beide Bauprodukte bestehen aus Ethylen-Propylen-Dien-Terpolymer (EPDM) unterschiedlicher Rezepturen, wobei das eine als flächiges Bauprodukt im Dynamic Surface Leaching Test (DSL) und das andere als Granulat im Schütteltest eluiert werden soll.

<p><u>HSR-2, EPDM-Dichtungsbahn für Dachabdichtung</u> Die Elastomerbahn (Kautschuk) für Dachabdichtungen unter Auflast oder Gründächern besteht aus EPDM, ist 1.45 mm dick und wurzelfest (ohne Schutzmittel), wird vorkonfektioniert hergestellt und benötigt keine Kaschierung. Das Bauprodukt wird im DSL-Test nach CEN/TS 16637-2 eluiert.</p>	
<p><u>BAM-G1, EPDM-Granulat</u> Das Granulat wird im Schüttelverfahren nach DIN EN12457-1 (1/2003) eluiert.</p>	
<p><u>Blindproben DSLT und Schütteltest:</u> Zur Kontrolle sollen Blindproben in den Auswaschtests über alle Versuchsschritte (vom Verdünnungswasser über die Leachinggefäße bis zu den Probenahmegefäßen) mitgeführt werden. Die Blindproben aus dem DSL-Test und dem Schütteltest werden in den Ökotoxizitätstests mit untersucht.</p>	<p>Es ist lediglich eine 1:2 Verdünnung in den Ökotoxizitätstests mit den Blindproben zu testen (Limittest).</p>

Die beiden Bauprodukte können bei Raumtemperatur, vorzugsweise im Dunkeln, bis zur Durchführung der Elution gelagert werden.

3. Durchführung der Auswaschversuche

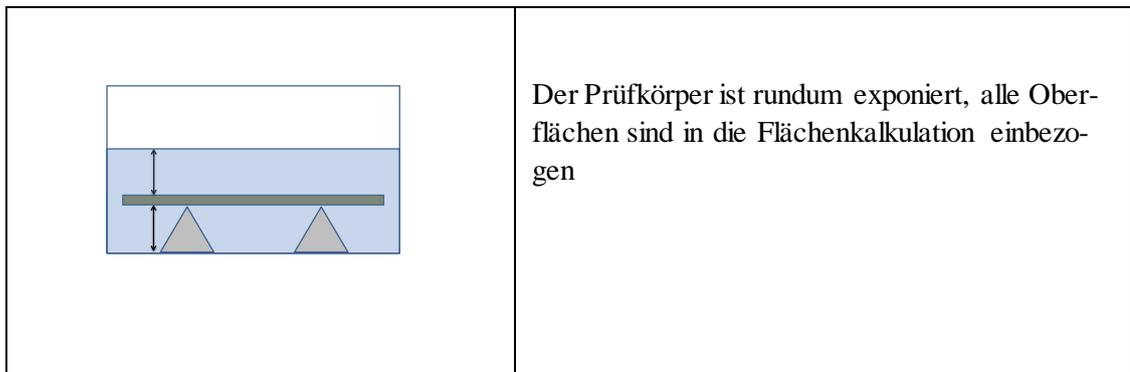
Dynamic Surface Leaching Test (DSLIT) nach CEN/TS 16637-2 (02/2014)

Der Versuch wurde zur Bewertung der Freisetzung von gefährlichen Stoffen entwickelt und beschreibt die „horizontale dynamische Oberflächenauslaugprüfung“ (DIN CEN/TS 16637-2; DIN SPEC 18046-2:2014-11). Das Prüfverfahren beschreibt einen einfachen Trogtest für monolithische oder flächige Prüfstücke > 40 mm Kantenlänge und für Platten mit einer dem Auslaugmittel ausgesetzten Oberfläche von > 100 cm². In der Standardausführung wird der Versuch über 64 Tage durchgeführt, wobei zu definierten Zeitpunkten (nach 6 h, 24 h, 2,25 d, 4 d, 9 d, 16 d, 36 d und 64 d) das Elutionswasser gewechselt wird. Für die Herstellung der Eluate für die Ökotoxizitätsprüfungen wurden zwei Anpassungen vorgenommen. Zum einen sind nur die ersten zwei Auswaschetappen nach 6 h und weiteren 18 h umzusetzen und diese beiden Eluate für die weiteren Untersuchungen jeweils zu vereinigen. Zum anderen wird das Volumen-/Oberflächenverhältnis (V/A) auf 20 L/m² (2 mL/cm²) festgelegt.

Für die Durchführung des DSLIT mit dem Bauprodukt HSR-2 gilt folgendes:

- Als Elutionsmedium wird deionisiertes Wasser mit einer Leitfähigkeit < 5 µS/cm verwendet. Bevor das deionisierte Wasser im Test verwendet wird, sollte pH-Wert, Leitfähigkeit und TOC des Wassers bestimmt werden.
- Als Elutionsgefäß wird vorzugsweise ein Ganzglasaquarium (Maße ca. L=30 cm x B= 20 cm x H=11,5 cm) verwendet. Das Bauprodukt HSR-2 hat Abmessungen von 25 cm x 18 cm x 0,145 cm.
- Volumen-/Oberflächenverhältnis $V/A = 2 \text{ mL/cm}^2$ (entspricht dem unteren Limit des DSL-Tests 20 L/m²).

Das Bauprodukt HSR-2 hat Abmessungen von 18 cm x 25 cm und wird auf beiden Seiten exponiert. Die Oberfläche beträgt somit 900 cm². Es wird also mit 1800 mL eluiert. Somit stehen aus den beiden vereinigten Eluat nach 6 h und nochmals nach 18 h insgesamt 3600 mL für die Ökotoxizitätstests zur Verfügung.



- Der Abstand aller exponierter Flächen des Bauproduktes zur Glaswand sollte > 2 cm betragen. Zudem sollte ein Wasserüberstand über dem Produkt > 2 cm gewährleistet sein.

Hinweis: Diese Anforderung kann bei dem niedrigen V/A-Verhältnis nicht eingehalten werden. Der Wasserstand im oben beschriebenen Aquarium beträgt rd. 3 cm.

- Geeignete Abstandshalter zum Boden aus inertem Material (z.B. aus Glasstopfen) verwenden.

- Temperatur 19-25°C (sollte mit Min/Max-Thermometer überprüft werden).
- Gefäße im Dunklen mit Glas abdecken, um Lichteinfluss und Verdunstungsverluste zu unterbinden.
- Durchführung von zwei Elutionsschritten, die danach vereinigt werden:
 1. Wasserwechsel nach 6 h +/- 15 Min. → 1. Eluat über Nacht in Kühlschrank (≈ 4°C) stellen
 2. Wasserwechsel nach 18 h +/- 15 Min.

Die Gesamtelutionsdauer beträgt also 24 h.

- Mitführen einer Blindprobe als Kontrolle (deionisiertes Wasser in einem zusätzlichen Aquarium) mit gleicher Behandlung wie die Eluate des HSR-2 Produktes).
- In allen Eluaten (1. Eluat nach 6 h, 2. Eluat nach weiteren 18 h der HSR-2 Probe und der Blindprobe sowie in den vereinigten Eluaten) sind pH-Wert, Leitfähigkeit und TOC zu bestimmen.
- Eluate aus 1. und 2. Elutionsschritt vereinigen, gut mischen, für die einzelnen Ökotoxizitätstests in Gefäße aliquotieren und tiefrieren (< -18°C). Haltbarkeit der eingefrorenen Eluate beträgt 2 Monate.

Eine Filtration der Eluate ist für das im Ringversuch verwendete Bauprodukt nicht erforderlich.

Ein Demonstrations-Video zur Durchführung des DSL-Tests können Sie sich auf folgender Webseite herunterladen <http://www.toxrat.com/index.php/ringtest-bauprodukte.html> oder sich unter folgendem Link direkt anschauen:

https://www.dropbox.com/s/e9q1ipstg2cwa00/Video_DSLT.mp4?dl=0

Schüttelverfahren nach DIN EN12457-1 (1/2003)

Die Methode wurde für die Charakterisierung von körnigen Abfällen entwickelt: „Übereinstimmungsuntersuchung für die Auslaugung von körnigen Abfällen und Schlämmen - Teil 1: Einstufiges Schüttelverfahren mit einem Flüssigkeits-/Feststoffverhältnis von 2 L/kg und einer Korngröße unter 4 mm“ mittels eines Überkopfschüttlers. Die Leitlinie CEN/TR 16110 verweist in Tabelle 1 ebenfalls auf die DIN EN 12457 Teil 1 – 4.

Für die Durchführung des Schütteltests mit dem Bauprodukt BAM-G1 gilt folgendes:

- Als Elutionsmedium wird deionisiertes Wasser mit einer Leitfähigkeit < 5 µS/cm verwendet. Bevor das deionisierte Wasser im Test verwendet wird, sollte pH-Wert, Leitfähigkeit und TOC des Wassers bestimmt werden.
- Das Bauprodukt wird mit einem Flüssigkeits-/Feststoff-Verhältnis von 2 L/kg eluiert. Wir empfehlen von den 500 g geschicktem BAM-G1 Material 250 g einzuwiegen und mit 500 mL deionisiertem Wasser zu eluieren. Es wäre dann noch genügend Material für eine eventuell notwendige Wiederholung der Elution vorhanden.
- Die Elution erfolgt über 24 h (+/- 0,5 h) in einen möglichst abgedunkeltem Raum in einem Überkopfschüttler mit einer Drehzahl von 7 +/- 1 U/min.
- Die Temperatur sollte während der Elution bei 20°C +/- 5°C liegen und mit einem Min/Max-Thermometer überprüft werden.

- Mitführen einer Blindprobe als Kontrolle (deionisiertes Wasser in einem zusätzlichen Elutionsgefäß) mit gleicher Behandlung wie das Eluat der BAM-G1 Probe.
- Die Phasentrennung nach dem Schütteln erfolgt vorzugsweise durch Absieben über ein 0,5 +/- 0,2 mm Edelstahl- oder Porzellansieb und nachfolgender Zentrifugation bei 2000 g für 30 Min. Das gesamte Eluatvolumen der BAM-G1 Probe (ca. 400 mL nach Abtrennung der 250 g Granulat) sollte möglichst in **ein** Zentrifugegefäß gefüllt werden, damit nach Zentrifugation und Abnehmen des Überstandes mit Pipette möglichst wenig Volumen als Bodensatz verloren geht. Ersatzweise kann eine Druck- oder Vakuumfiltration mit vorgespülten Glasfaserfiltern (0,45 µm) vorgenommen werden. Die Vorbehandlung ist eindeutig zu protokollieren.
- In den Eluaten der BAM-G1 Probe und der Blindprobe werden der pH-Wert, die Leitfähigkeit und der TOC bestimmt.
- Eluate für die einzelnen Ökotoxizitätstests in Gefäße aliquotieren und tiefrieren (< -18°C). Haltbarkeit der eingefrorenen Eluate beträgt 2 Monate.

Ein Demonstrations-Video zur Durchführung des Schütteltests können Sie sich auf folgender Webseite herunterladen <http://www.toxrat.com/index.php/ringtest-bauprodukte.html> oder sich unter folgendem Link direkt anschauen:

https://www.dropbox.com/s/40dv2s3775cg56h/Video_batch%20test.mp4?dl=0

Lagerung der Eluate

Es empfiehlt sich das Gesamtvolumen auf mehrere Gefäße zu verteilen und bis zur Untersuchung bei < -18°C zu lagern, damit die verschiedenen Ökotoxizitätstests unabhängig voneinander durchgeführt werden können und für eventuelle Nachtestungen genügend frisch aufgetautes Eluat vorhanden ist. In den online zur Verfügung gestellten Auswerte-Dateien sowie in unten stehender Tabelle ist der jeweils zu testende Konzentrationsbereich pro Probe und Test angegeben aus dem die Erstellung der Verdünnungsreihe und das dafür benötigte Volumen der Eluate berechnet werden kann. Für das Eluat BAM-G1 empfehlen wir möglichst viele kleine Volumina (z.B. 25, 50, 100 mL) abzufüllen, da hier in den meisten Tests nur hohe Verdünnungsstufen getestet werden sollen und somit wenig Eluat pro Tests benötigt wird. Für die Eluate der HSR-2 Probe und der beiden Blindproben werden größere Volumina pro Test benötigt und es empfiehlt sich z.B. eine Aliquotierung auf 50, 100, 200, 300 mL pro Gefäß je nachdem welche der Ökotoxizitätstests Sie durchführen. Die Probengefäße (PP, PE- oder Glas-Gefäße) sollten gründlich gereinigt und mit deion. Wasser nachgespült werden, um mögliche Kontaminationen vorzubeugen.

4. Auswahl und Durchführung der Ökotoxizitätstests

Alle Ökotoxizitätstest werden jeweils mit den beiden Eluaten der Bauprodukte HSR-2 und BAM-G1 sowie mit den beiden Blindproben aus dem DSLT und Schütteltest (hier nur als Limitversion mit einer 1:2 Verdünnung) durchgeführt. Folgende Verdünnungsstufen sollen für die jeweiligen Eluate und Tests untersucht werden:

Probe	BAM-G1				HSR-2			
Test	Alge	Daphnie	Fischei	Bakterien	Alge	Daphnie	Fischei	Bakterien
zu testende Verdünnungsstufen	48	48	2	192	3	1	1	16
	64	64	3	256	4	2	2	24
	96	96	4	384	6	3	3	32
	128	128	6	512	8	4	4	48
	192	192	8	768	12	6	6	64
	256	256	12	1024	16	8	8	96
	384	384		1536	24			128
	512	512		2048	32			192

Bitte testen Sie die beiden Proben mit den angegebenen Verdünnungsstufen. Nur falls der EC₅₀ Wert und LID Wert mit den von Ihnen gewonnenen Messdaten nicht erhoben werden können, wäre ggf. die Testung anderer Verdünnungsstufen notwendig.

5. Algentest ISO 8692 (2012)

- Es soll die Algenart *Pseudokirchneriella subcapitata* (*Raphidocelis subcapitata*, SAG 61.81) verwendet werden.
- Die Inokulumskonzentration zu Beginn beträgt bis zu 10⁴ Algen/mL und ist zu protokollieren. Es kann die nominale Startkonzentration der Algen verwendet werden.
- Das Versuchsdesign soll 3 Ansätze je Konzentration und 6 Kontrollen umfassen.
- Zusätzlich sollen die Blindproben aus dem DSLT und Schütteltest im Limittest mit einer 1:2 Verdünnung getestet werden.
- Der pH-Wert wird zu Beginn und am Ende des Tests in allen Ansätzen (jeweils 1 Replikat) bestimmt.
- Die Lichtintensität soll 60-120 µmol/(m²·s) betragen.
- Die Auswertung erfolgt über die Hemmung der Wachstumsraten. Die Bestimmung der Algenzahl bzw. Chlorophyllfluoreszenz erfolgt nur nach dem gesamten Expositionszeitraum von 72 h (vgl. Anhang A der ISO 8692).
- Die Auswertung der Daten erfolgt anhand des LID-Ansatzes (Lowest Ineffective Dilution) sowie über den EC₅₀.

6. Daphnientest nach ISO 6341:2012

- Als Verdünnungswasser soll synthetisches Medium nach 6.3.2ff der Norm verwendet werden.
- Vorbereitung des Eluates: Wenn Trübstoffe enthalten sind, 1-2 h absetzen lassen. Der pH-Wert des Eluates wird nur auf den pH Wert des synthetischen Verdünnungswasser eingestellt wenn er außerhalb von pH 6-9 liegt.
- Testdesign: 2-4 Becher a 5 Daphnien je Konzentration (vgl. Anhang F der ISO 6341 erlaubt auch Screeningversion mit 2 Bechern a 5 Daphnien).
- Zusätzlich sollen die Blindproben aus dem DSLT- und Schütteltest im Limittest mit einer 1:2 Verdünnung getestet werden.
- Die Auswertung erfolgt nach 24 h **und 48 h**.
- Der pH-Wert und die Sauerstoffkonzentration werden zu Beginn und am Ende des Tests in allen Konzentrationen und der Kontrolle (jeweils 1 Replikat) bestimmt.
- Die Ergebnisse der letzten Überprüfung der Empfindlichkeit gegenüber Kaliumdichromat (Sollbereich 0,6 – 2,1 mg/L) werden berichtet.

Hinweis: Die Testdurchführung nach ISO ist identisch zum Daphnientest nach DIN 38412 - 30 (März 1991), wenn folgende Abweichungen zu DIN beachtet werden:

- Der pH-Wert des Eluates wird nur auf den pH Wert des synthetischen Verdünnungswasser eingestellt, wenn er außerhalb von pH 6-9 liegt.
- Der Test sollte auf 48 h verlängert werden und eine Auswertung nach 24 h und 48 h erfolgen.
- Der pH-Wert und die Sauerstoffkonzentration werden zu Beginn und am Ende des Tests in allen Konzentrationen und der Kontrolle (jeweils 1 Replikat) bestimmt.

7. Leuchtbakterientest nach DIN EN ISO 11348 Teil 1-3 (05/2009)

- Vorzugsweise werden frisch gezüchtete Leuchtbakterien (Teil 1) oder flüssiggetrocknete Leuchtbakterien (Teil 2) verwendet. Ersatzweise können auch gefriergetrocknete Leuchtbakterien (Teil 3) eingesetzt werden.
- Bestimmung der Abnahme der Lumineszenz des marinen Bakteriums *Vibrio fischeri* nach einer Kontaktzeit von 30 Minuten.
- Bei einem pH Wert zwischen 6,0 und 8,5 ist keine pH-Korrektur erforderlich. Liegt der pH Wert unter 6,0 bzw. oberhalb 8,5 soll der pH auf 7,0 +/- 0,2 eingestellt werden.
- Testdesign: Doppelansätze je Verdünnungsstufe.

- Zusätzlich sollen die Blindproben aus dem DSLT- und Schütteltest im Limittest mit einer 1:2 Verdünnung getestet werden.
- Die Empfindlichkeit der verwendeten Bakteriencharge ist (herstellerseits oder durch Eigenmessung) durch Referenzsubstanzen zu überprüfen. Die Ergebnisse werden protokolliert.
- Sofern möglich, sollte eine der im folgenden genannten Referenzsubstanzen als Positivkontrolle im Test mitgeführt werden, die mit der angegebenen Konzentration eine Hemmwirkung von 20 – 80% zeigen sollte:

3,5-Dichlorphenol 4,5 mg/L

Zinksulfat-Heptahydrat 110 mg/L (=25 mg/L Zn(II))

Kaliumdichromat 11,3 mg/L (= 4 mg/L Cr (VI))

8. Fischeitest nach ISO 15088:2007

- Den pH-Wert und den Sauerstoffgehalt der Eluate bestimmen und pH-Wert ggf. durch Zusatz von HCl oder NaOH auf 7,0 +/- 0,2 einstellen.
- Verwendung von 24-Well-Zellkulturplatten, Inkubation bei 26°C +/- 1°C.
- Versuchsdesign: 10 Replikate (wells) je Verdünnungsstufe. Auf jeder Platte werden vier interne Negativkontrollen (I-NK) mitgeführt. Eine zusätzliche externe Negativkontrolle mit 10 Replikaten, ebenso 1 Positivkontrolle mit 10 Replikaten.
- Zusätzlich sollen die Blindproben aus dem DSLT- und Schütteltest im Limittest mit einer 1:2 Verdünnung getestet werden.
- Auswertung nach 24 h und 48 h (+/- 30 min). Als Auswertekriterien werden „koagulierte Keime“, „keine Schwanzablösung“ und „kein Herzschlag“ herangezogen. Weitere Beobachtungen wie „keine Somitenanlage“, „verkrümmte Wirbelsäule“ werden berichtet, gehen aber nicht in die Bewertung ein.

9. Auswertung der Versuche

Die Vorlagen für die Protokollierung und Auswertung der Daten sind zum Download auf der Webseite <http://www.toxrat.com/index.php/ringtest-bauprodukte.html> zur Verfügung gestellt. Die Auswertung erfolgt zentral durch den Projektpartner ToxRat Solutions GmbH, Alsdorf (Frau Dr. Monika Ratte).

Anhang 7: Ergebnisbericht der statistischen Auswertung

Dr. Monika Ratte
ToxRat Solutions GmbH, D-52477 Alsdorf
monika.ratte@toxrat.com

Inhalt

1. Testteilnehmer und durchgeführte Biotests	126
2. Methoden für statistische Auswertungen	127
2.1. Ökotoxikologische Endpunkte	127
2.2. Lage und Streuungsmaße	128
2.3. Ringteststatistik nach DIN ISO 5725-2	129
2.4. Ausreißeranalyse	129
2.5. Z-scores	130
3. Datenbasis	131
3.1. Randbedingungen	131
3.2. Validitätskriterien	132
3.3. Ausreißeranalyse	133
4. Ergebnisse	134
4.1. EC50-Werte und G-Werte	135
4.2. Empfindlichkeit der untersuchten Biotests und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse	144
4.3. Z-scores und Standardisierungsbedarf	145
5. Zusammenfassung	150

1. Testteilnehmer und durchgeführte Biotests

Insgesamt beteiligten sich 17 Labore aus 5 Ländern am Ringtest: Deutschland (12), Österreich (2), Belgien (1), Tschechien (1) und Frankreich (1). Jedes Labor führte jeweils einen Elutionsprozess für die Prüfkörper BAM-G1 und HSR-2 durch¹⁹ ²⁰ und prüfte die Eluate mit den folgenden vier Biotests, bzw. teilweise einer Auswahl daraus (siehe Tabelle 1 und Tabelle 2).

Algentest nach ISO 8692:2012

Daphnientest nach DIN EN ISO (01/2013) bzw. ISO 6341:2012

Leuchtbakterientest nach DIN EN ISO 11348 Teil 1-3 (05/2009)

Fischartest nach DIN EN ISO 15088 86/2009) bzw. ISO 15088:2007

Die Tests werden im Folgenden kurz mit „Alge“, „Daphnie“, „Leuchtbakterien“ und „Fisch“ bezeichnet. Zu den Details zur Biotest-Durchführung siehe Prüfplan.

Tabelle 1: Übersicht über die teilnehmenden Labore. Reihenfolge alphabetisch, nicht identisch mit der Reihenfolge der Labor-Codes.

Labor	Land	Labor	Land
Bundesanstalt für Gewässerkunde	D	Lenzing Aktiengesellschaft - Safety, Health and Environment Department	At
Dr. U. Noack Laboratorien	D	Masaryk Water Research Institute	Cz
ECT Ökotoxikologie GmbH	D	Niedersächsischer Landesbetrieb für Wasserwirtschaft, Küsten- und Naturschutz	D
Eurofins Agrosience Services Eco-Chem GmbH	D	SGS Institut Fresenius GmbH Product Development – Regulatory Testing Services	D
Hydrotox GmbH	D	Umweltbundesamt, Versuchsfeld Marienfelde FG III 2.5	D
Hygiene-Institut des Ruhrgebiets, Institut für Umwelthygiene und Toxikologie	D	Universität für Bodenkultur Wien, Department IFA-Tulln	At
IDUS - Biologisch Analytisches Umweltlabor	D	VITO, Environmental Toxicology	B
INERIS	F	WESSLING GmbH	D
Institut Dr. Nowak	D		

¹⁹ Ausnahme: L10 führte die Elution nicht selbst durch, sondern erhielt eigens hergestellte Eluate von der Projektleitung.

²⁰ Ausnahme: L09 führte pro Prüfkörper zwei verschiedene Elutionsprozesse durch

Tabelle 2: Übersicht über die von jedem Labor durchgeführten Biotests und Gesamtzahl der Datensätze

Code	Daphnia	Leuchtb.	Alge	Fisch
L01	X	X	X	
L02	X	X	X	X
L04	X		X	X
L05	X		X	X
L06	X	X	X	X
L07	X	X	X	X
L08	X	X	X	
L09	X	X		X
L10	X	X		X
L11	X	X	X	X
L12	X	X	X	X
L13	X	X	X	X
L14	X	X		X
L15	X	X	X	
L16	X	X		X
L17	X			
L18	X	X	X	
Anzahl Datensätze	17	14	12	12

2. Methoden für statistische Auswertungen

2.1. Ökotoxikologische Endpunkte

Als Toxizitätsmaße wurden G-Werte und EC₅₀ Werte bestimmt. Dabei galten für die G-Wert Bestimmung folgende Effektschwellenwerte: Daphnientest; 10%; Leuchtbakterientest: 20%; Algentest: 5%; Fischtest: 10%.

EC₅₀-Werte mit 95% Vertrauensbereichen wurde mittels der Software ToxRat Professional 3.2.1. ermittelt. Entsprechend den Angaben in der jeweiligen Biotest-Richtlinie wurden für die Daten aus Algentests in der Regel eine nicht lineare Regression (3-Parameter-normal CDF) durchgeführt, für die Daten aus Leuchtbakterientests eine lineare Regression mittels Probitanalyse, basierend auf Mittelwerten und mit einer Korrektur für metrische Daten nach Christensen und Nyholm ²¹, für die Daten aus Daphnien- und Fischtests eine lineare Regression mittels Probitanalyse (ohne Abbottkorrektur). Falls mit diesen Verfahren aufgrund der Datenlagen keine sinnvolle Bestimmung von EC₅₀ und /oder Vertrauensbereichen möglich war, wurde stattdessen eine lineare Regression mit Weibull-

²¹ Christensen ER, Nyholm N (1984): Ecotoxicological assays with algae: Weibull dose-response curves. Environ Sci Technol 18:713-718

Funktion oder eine Interpolationsmethode (Spearman-Kärber oder Binomial-Methode) angewendet. Dies war insbesondere beim Fischeitest erforderlich.

2.2. Lage und Streuungsmaße

Da EC-Werte und G-Werte lognormalverteilt sind, wurden alle Berechnungen mit den logarithmierten Daten durchgeführt. Zunächst wurden die Originalwerte logarithmiert²² als $Y = \ln(X)$, dann der Mittelwert μ und die Standardabweichung σ für Y berechnet²³ nach

$$\text{Mittelwert } \mu = y_{-} = \frac{\sum_{i=1}^n y_i}{n}$$

$$\text{Standardabweichung}^{24} \sigma = s_y = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - y_{-})^2}{n-1}}$$

Rücktransformation von μ und σ ergibt gemäß den Formeln für die Lognormalverteilung die folgenden Kenngrößen für die Originalskala X:

$$\text{geometrisches Mittel} = \text{EXP}(\mu)$$

$$95\% \text{ Vertrauensbereich} = \text{EXP}\left(\mu \pm \frac{\sigma}{\sqrt{n}} * 1,96\right)$$

$$95\% \text{ bzw. } 99\% \text{ Toleranzbereich} = \text{EXP}(\mu \pm \sigma * z)$$

mit $z = 1,96$ für 95%; $z = 2,57$ für 99%

$$\text{Erwartungswert EW (X)} = \text{EXP}\left(\mu + \frac{1}{2} * \sigma^2\right)$$

$$\text{Standardabweichung Std (X)} = \text{EW (X)} * \sqrt{e^{\sigma^2} - 1}$$

$$\text{Variationskoeffizient CV\%} = \frac{\text{Std (X)}}{\text{EW (X)}} * 100$$

Alle Berechnungen wurden mit MS Excel™ durchgeführt.

²² G-Werte, die nur mit "größer als" angegeben werden konnten, wurden nicht berücksichtigt.

²³ Die Bezeichnungen μ und σ sind grundsätzlich den theoretischen Grundgesamtheiten vorbehalten. Hier werden sie bewusst verwendet zur eindeutigen Kennzeichnung von Mittelwert $y_{-} = \mu$ und Standardabweichung $s_y = \sigma$ der *logarithmierten Stichprobenverteilung*, von der alle anderen Kenngrößen abgeleitet werden.

²⁴ Gemäß ISO 5725-2 werden die laborspezifischen Messwerte zur Berechnung der Laborstandardabweichung mit der Anzahl der Wiederholungsmessungen gewichtet. Da hier keine Wiederholungsmessungen vorliegen, kann die vereinfachte Formel angewendet werden.

2.3. Ringteststatistik nach DIN ISO 5725-2

Die Methodvalidierung wurde in Anlehnung an DIN ISO 5725-2 durchgeführt, wobei wegen der speziellen Eigenschaften von Biotests in der Ökotoxikologie bestimmte Modifikationen erforderlich waren.

Nach DIN ISO 5725-2 wird die Genauigkeit einer Methode anhand von Richtigkeit und Präzision beurteilt. Die Richtigkeit gibt an, wie gut der Gesamtmittelwert aller Laborergebnisse mit einem Referenzwert übereinstimmt. Da die „wahre“ Toxizität der im vorliegenden Ringtest untersuchten Eluate aus Bauprodukten nicht bekannt ist, kann die Richtigkeit der Ergebnisse nicht ermittelt werden.

Die Präzision gibt an, wie stark die Versuchsergebnisse streuen. Dabei wird unterschieden zwischen der laborinternen Streuung s_r (Wiederholbarkeit, repeatability) und der laborübergreifenden Streuung s_L . Die jeweiligen Varianzen addieren sich zur Vergleichsvarianz gemäß

$$s_R^2 = s_L^2 + s_r^2$$

Hieraus lässt sich die Vergleichs-Standardabweichung s_R (Reproduzierbarkeit, Reproducibility) durch Wurzelziehen ermitteln.

Da die Ringtestteilnehmer den gesamten Prozess aus Elution und Biotestdurchführung nur je einmal durchgeführt haben, ist die laborinterne Wiederholstandardabweichung nicht bekannt. Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse kann deshalb nur durch die laborübergreifende Streuung s_L angenähert werden. Die auf diese Weise ermittelte Reproduzierbarkeit stellt somit die Untergrenze der zu erwartenden Reproduzierbarkeit der geprüften Verfahren dar, d.h. die tatsächlich zu erwartende Streuung wird höher sein. Da der Standardisierungsgrad des Elutionsverfahrens unbekannt ist, bleibt offen, um wieviel höher.

2.4. Ausreißeranalyse

Die Auswertung nach DIN ISO 5725-2 sieht eine systematische Ausreißeranalyse vor. Für die vorliegenden Daten wurden die folgenden drei Verfahren angewendet:

Mandels-h-Statistik

Der Mandels h-Test basiert auf Normalverteilung, deshalb wurden die Berechnungen mit den logarithmierten Daten durchgeführt. Die Werte für die Prüfgröße h wurden mittels MS-Excel berechnet nach $h = (\text{Messwert} - \mu) / (\sigma)$ und mit den kritischen Grenzen für das Signifikanzniveau 0,05 und 0,01 verglichen. Werte außerhalb der 5%-Grenze, aber innerhalb der 1%-Grenze, werden als Fastausreißer bezeichnet, Werte außerhalb der 1%-Grenzen als Ausreißer²⁵.

Grubbs-Test

Der Grubbs-Test setzt Normalverteilung voraus und wurde deshalb ebenfalls mit logarithmierten Daten durchgeführt. Zur Testdurchführung wurde die Software ToxRat Professional eingesetzt. Der Test wurde zweiseitig durchgeführt, sowohl mit einem Signifikanzniveau von 5% („Fastausreißer“) als auch mit 1% („Ausreißer“).

²⁵ Die DIN ISO 5725-2 bezeichnet die Ausreißer-Analyse mittels Mandels-h-Statistik als „grafisches Verfahren“, da die individuellen Werte für die Prüfgröße h als Balkendiagramm visualisiert und grafisch mit den als Linien eingezeichneten kritischen Werten verglichen werden, um mögliche Muster bei den teilnehmenden Laboren zu erkennen. Angesichts der vorliegenden Datenbasis mit nur zwei Proben und zwei miteinander korrelierten Merkmalen, wird auf die grafische Darstellung verzichtet.

Warning Charts

Zusätzlich zu den oben beschriebenen statistischen Tests wurde mittels sog. Warning Charts geprüft, ob die ermittelten G-Werte und EC₅₀-Werte außerhalb des 95%- bzw. 99%-Toleranzbereichs des Gesamtmittelwerts liegen und somit Fastausreißer oder Ausreißer darstellen²⁶.

Testergebnisse, die mit mindestens zwei dieser Verfahren als Ausreißer eingestuft werden oder zweimal als Fastausreißer und einmal als Ausreißer, wurden für die vorliegende Auswertung als Ausreißer eingestuft und von den weiteren Auswertungen ausgeschlossen.

Nach Ausschluss von identifizierten Ausreißern können in erneuten Ausreißertests theoretisch wieder Werte als Ausreißer identifiziert werden. Die Ausreißerprüfungen wurden pro Biotest-Datensatz jedoch jeweils einmal durchgeführt, um eine „Ausreißer-Kaskade“ zu vermeiden und um ein möglichst realistisches Bild von der Variabilität der Messergebnisse zu erhalten. Etwaige weitere Extremwerte werden im Rahmen der z-score Ermittlung identifiziert.

2.5. Z-scores

Z-scores stellen ein standardisiertes Maß für den Grad der Abweichung eines individuellen Messwerts von einem normalverteilten Sollwert dar. Sie werden berechnet als

$$z\text{-score} = \frac{\text{Messwert} - \text{Sollwert}}{\text{Soll-Standardabweichung}}$$

In der vorliegenden Auswertung wird als Sollwert der Gesamtmittelwert aller Labore μ und als Sollstandardabweichung die Standardabweichung aller Labore σ eingesetzt, d.h. die z-scores werden auf Basis der logarithmierten Daten ermittelt.

Z-scores größer als 2 oder kleiner als -2 bezeichnen Messwerte, die außerhalb des 95%-Toleranzbereichs des betrachteten Merkmals liegen, die also gemäß dem Warning-Chart-Konzept als Fastausreißer klassifiziert würden. Zur Identifizierung dieser Messwerte wurden für die ausreißerbereinigten Datensätze des vorliegenden Ringtests z-scores ermittelt und graphisch dargestellt. Hierzu wurde die Software ProLab Standard, Version 2015.11.12.0, eingesetzt.

Um mögliche systematische Tendenzen bei den Ergebnissen erkennen zu können, wurden alle z-scores eines Labors probenspezifisch gemittelt. Unter der Annahme zufälliger Abweichungen vom Gesamtmittelwert sollten gleichermaßen positive und negative z-scores auftreten, d.h. der Mittelwert sollte nahe bei Null liegen. Je verschiedener der mittlere z-score eines Labors von Null ist, desto wahrscheinlicher ist eine systematische Über- oder Unterschätzung der Proben-toxizität durch dieses Labor. Die Prüfung der zugehörigen Elutionsprotokolle und Versuchsrandbedingungen kann in solchen Fällen möglicherweise Hinweise auf die Ursache der Abweichungen und damit auf Standardisierungspotential der Methode geben.

²⁶ Warning Chart-Konzept gemäß Guidance Document on Statistical Methods for Environmental Toxicity Tests. Report EPS 1/RM/46, Environment Canada, 2005

3. Datenbasis

3.1. Randbedingungen

Vor der statistischen Auswertung wurden für alle durchgeführten Biotests folgende Randbedingungen überprüft:

- Bedingungen bei Eluatherstellung
- Eluatlagerung und Lagerungsdauer
- Getestete Verdünnungsstufen
- Versuchsdesign und -methode
- Effekte in Blanks

Eine ausführliche Zusammenstellung aller genannten Aspekte findet sich im Anhang. Im Folgenden werden die Randbedingungen im vorliegenden Ringtest kurz erläutert.

Die Prüfkörper wurden Ende August bzw. Anfang September 2015 über die Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (BAM) bzw. die Hochschule in Rapperswil (HSR) an die teilnehmenden Labore verschickt. Die Elution und Biotestdurchführung erfolgten zwischen dem 25.8. und dem 24.11.2015.

Der Prüfplan sah eine **Eluatlagerung** bei -18°C vor. 6 von 17 Laboren verwendeten abweichend vom Prüfplan in allen oder in einigen Biotests entweder frisch hergestelltes oder gekühlt gelagertes Eluat²⁷. In zwei Fällen wurde das Eluat zwar tiefgekühlt, nach dem Auftauen jedoch einige Tage gekühlt gelagert bis zur Verwendung²⁸. Die **Lagerungsdauer** bei -18°C lag zwischen einem und 55 Tagen (Medianwerte 9-20 Tage). Mit einer Ausnahme führte jedes Labor alle Biotests mit Eluat aus ein und demselben Elutionsprozess durch²⁹.

In den meisten Fällen wurden die im Prüfplan angegebenen **Verdünnungsstufen** getestet. Beim Daphnientest wurden verschiedene **Testdesigns** angewendet, so betrug die Anzahl der Replikate zu je 5 Tieren in Kontrolle und Verdünnungen in manchen Tests 4 (9 Labore) in manchen 2 (2 Labore), außerdem gab es ein Design mit 6 Replikaten a 3 Tiere und zwei unbalanzierte Designs (1x Kontrolle 8x5 Tiere, Verdünnungen 4x4, 1x Kontrolle 4x5 Tiere, Verdünnungen 3x5).

Beim Leuchtbakterientest setzten 10 Labore flüssig getrocknete Bakterien ein, in 3 Laboren kamen gefriergetrocknete Bakterien zum Einsatz, ein Labor verwendete frisch gezüchtete Bakterien.

Das Algenwachstum wurde in 6 Laboren mittels Zellzahlbestimmung gemessen, in 3 Laboren als Extinktion und in 2 Laboren als Fluoreszenz, davon erfolgte die Durchführung einmal in Mikrotiterplatten. Bis auf eine Ausnahme wurde das 6/3 Design angewendet (Kontrolle 6 Replikate, Verdünnungen 3 Replikate), in einem Fall ein 3/3 Design.

Der Fischtest wurde in 11 Laboren mit je 10 Replikaten (à ein Ei) in Kontrolle bzw. Verdünnungen durchgeführt, ein Labor setzte in der Kontrolle 24 Replikate ein, in den Verdünnungen je 10.

Die meisten Labore führten die laut Prüfplan vorgesehene Messung eines **Elutionsblanks** pro Biotest durch, die grundsätzlich als Limittest von der Verdünnungsstufe G2 bestimmt werden sollte.

Von drei Laboren fehlen Blanks für einige Biotests (L05, L13, L15). Teilweise wurden die Blanks nicht zeitgleich mit den Biotests geprüft, d.h. Blank und Eluat wurden unterschiedlich lange gelagert.

Beim Daphnientest wurde in vier Laboren Mortalität in den Blankproben beobachtet, davon dreimal in Höhe von 10% (L06, L09, L17), einmal in Höhe von 20% (L04). Da keine Nachtstung der auf-

²⁷ L04, L05, L08, L09, L11, L14

²⁸ L17, L18

²⁹ L09

fälligen Eluate in höheren Verdünnungsstufen durchgeführt wurde, kann die absolute Toxizität als G-Stufe nicht angegeben werden.

Beim Leuchtbakterientest wurden in den Blanks in der Regel keine Hemmungen oder Hemmungen bis maximal 7% gemessen. In einem Labor trat im Blank eine Hemmung von 11% auf (L02, BAM-G1), in einem weiteren eine Hemmung von 87% (L13, HSR-2).

Im Algentest traten in den Blanks Hemmungen bis zu 22% und Förderungen bis zu 36% auf; in einem Fall kam es zu 60% Hemmung (L13, BAM-G1-Blank).

Beim Fischtest zeigten nur 2 Biotests mit dem BAM-G1-Blank jeweils eine Mortalität von 10% (L02, L06), alle anderen Blanks zeigten keinerlei Effekte.

Somit gab es einige Tests, die hinsichtlich der Eluatlagerung vom Prüfplan abwichen oder Blankeffekte zeigten. Da jedoch augenscheinlich kein systematischer Zusammenhang zwischen Art der Probenlagerung oder Ausmaß der Blankeffekte und EC₅₀-Wert oder G-Wert bestand, wurden diese Tests für die weiteren statistischen Auswertungen berücksichtigt. Die resultierende Variabilität spiegelt somit nicht nur die laborübergreifende Variabilität bezüglich Elutionsprozess und Biotestdurchführung wider, sondern schließt auch eine mögliche Variabilität durch Art und Dauer der Probenlagerung, Blanks, Versuchsdesign und -methode ein.

3.2. Validitätskriterien

Die **Validität der Testergebnisse** wurde anhand der in den Testrichtlinien vorgegebenen Kriterien überprüft (je nach Test Kontrollmortalität, EC₅₀ Referenzsubstanz, Sauerstoffgehalt, Variabilität bestimmter Kennwerte, Kontroll-Wachstumsrate, pH-Shift).

Der im Daphnientest nach DIN EN ISO 6341 vorgeschriebene Sauerstoffgehalt von mindestens 2 mg/L am Testende wurde nicht systematisch erfasst, da diese Information versehentlich nicht über die Vorlagen abgefragt wurde. Dennoch wurden von 10 Laboren die Sauerstoffgehalte im Eluat zu Versuchsbeginn bestimmt (7,0 mg/L bis 10,8 mg/L) und von sechs Laboren auch nach der Testdurchführung (48 h). Die Sauerstoffgehalte lagen bei 7,4 mg/L bis 9,0 mg/L und damit in einem unkritischen Bereich. Daher wurde davon ausgegangen, dass dieses Validitätskriterium auch bei den anderen Laboren eingehalten wurde.

L13 verwendete als Referenzsubstanz im Daphnientest nicht Kaliumdichromat., sondern Zinkchlorid. Der Erwartungsbereich für den EC₅₀ wurde im Rahmen der vorliegenden Auswertung anhand der von L13 vorgelegten Ergebnisse eines Ringtests festgelegt ³⁰.

Alle Daphnientests und Fischtests erfüllten die geforderten Validitätskriterien.

Bei den Leuchtbakterientests mussten die beiden Tests von L13 als nicht valide eingestuft werden, weil die Grenzwerte für die Variabilität der Ikt-Werte und / oder der Hemmwerte überschritten wurden.

Der Algentest wurde in insgesamt 9 Fällen (4 x BAM-G1, 5 x HSR-2) als nicht valide eingestuft, weil ein oder mehrere Validitätskriterien nicht erfüllt waren. In insgesamt 7 Tests wurde die erforderliche Mindestwachstumsrate in der Kontrolle nicht erreicht, 4 mal war der Variationskoeffizient der Kontrollwachstumsrate zu hoch, 3 mal stieg der gemessene pH-Wert um mehr als 1,5 Einheiten an. Die hohe Anzahl nicht valider Algentests ist auffällig, zumal der Algenhemmtest ein Standardverfahren darstellt. Möglicherweise haben die beobachteten Ergebnisse damit zu tun, dass die laut Prüfplan zu verwendende Algenart *Pseudokirchneriella subcapitata* (*Raphidocelis subcapitata*) nicht in allen beteiligten Laboratorien routinemäßig eingesetzt wird, denn die Bestimmung der Algentoxizität nach Abwasserverordnung erfolgt in Deutschland nach DIN 38412-L33 mit der Algen-

³⁰ Ergebnisse Aquacheck Ringtest, Daphnia 48h, ZnCl₂: Mittelwert 1,82 mg/L, Std 0,330 mg/L; hieraus berechneter 95%-Vorhersagebereich des Mittelwerts: 1,17 – 2,47 mg/L

art *Desmodesmus subspicatus*. Ein weiterer Grund könnte darin liegen, dass die Laborerfahrung mit *Pseudokirchneriella subcapitata* meist auf der Testdurchführung nach OECD 201 beruht, die in der Chemikalienbewertung angewendet wird. Hier ist ein Biomassezuwachs in den Kontrollen von lediglich Faktor 16 gefordert (entspricht einer Wachstumsrate von 0,92 pro Tag) während die ISO Norm einen Zuwachs um Faktor 67 fordert (entspricht Wachstumsrate von 1,4 pro Tag). Die Eluatzusammensetzung könnte außerdem ursächlich sein für pH-Shift und Fördereffekte in Blanks.

Die Einzelergebnisse der Validitätsprüfungen finden sich im Anhang.

Alle nicht validen Tests wurden von den weiteren statistischen Auswertungen ausgeschlossen, unabhängig von den zugehörigen Testergebnissen. Damit wurde vermieden, durch subjektive Charakterisierung und Auswahl der Ergebnisse als „plausibel“ oder „nicht plausibel“ einen Erwartungswert künstlich zu erzeugen.

3.3. Ausreißeranalyse

Für jeden Biotest wurden drei verschiedene Verfahren zur Ausreißeranalyse durchgeführt (Details siehe Abschnitt 2.4). Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 dargestellt. Testergebnisse, die mit mindestens zwei Verfahren als Ausreißer eingestuft werden oder zweimal als Fastausreißer und einmal als Ausreißer, wurden von weiteren Auswertungen ausgeschlossen.

Tabelle 3: Ergebnis der Ausreißerprüfungen; * signifikant auf dem 5% Niveau = Fastausreißer; ** signifikant auf dem 1% Niveau = Ausreißer

BAM-G1								
	EC50				G			
	Daphnie	Alge	Luminesc	Fisch	Daphnie	Alge	Luminesc	Fisch
Warning Charts	L10*	--	L02*	L14**	--	--	L02**	L14**
Mandels h	L10*	--	L02**	L14**	--	--	L02**	L14**
Grubbs	--	--	L02*	L14**	--	--	L02*	L14**
elimiert	--	--	L02	L14	--	--	L02	L14

HSR-2								
	EC50				G			
	Daphnie	Alge	Luminesc	Fisch	Daphnie	Alge	Luminesc	Fisch
Warning Charts	L17	--	--	n.d.	L17	--	--	--
Mandels h	L17	--	--	n.d.	L17	--	--	--
Grubbs	L17	--	--	n.d.	L17	--	--	--
elimiert	L17	--	--		L17	--	--	--

Die Ergebnisse aus drei Biotests wurden als Ausreißer von die weiteren Auswertungen ausgeschlossen: L02, Leuchtbakterientest und L14 Fischtest mit Eluat aus BAM-G1 sowie L17 Daphnientest mit Eluat aus HSR-2. Die Ergebnisse des Daphnientests von L10 mit Eluat aus BAM-G1 wurden mit zwei Verfahren als Fastausreißer eingestuft, blieben jedoch in den weiteren Auswertungen ent-

halten. Für L10, L14 und L17 waren keine systematischen Zusammenhänge zwischen Testergebnissen und Eluateigenschaften oder –behandlung oder anderen Randbedingungen erkennbar. Lediglich bei L02 war das Eluat aus BAM-G1 generell in allen Biotests weniger toxisch als der Erwartungswert. Die Analyse des Elutionsprotokolls für BAM-G1 von L2 ergab jedoch keinen Hinweis auf eine mögliche Ursache.

4. Ergebnisse

Tabelle 4 fasst die Randbedingungen aller vorliegenden Biotests zusammen. Nach Ausschluss der nicht validen bzw. als Ausreißer identifizierten Biotests war die Datengrundlage beim Algentest mit 7 (HSR-2) bzw. 8 (BAM-G1) Biotest an der kritischen Grenze für valide statistische Auswertungen. Zwei der 7 Algentests mit HSR-2 zeigten keine Dosis-Wirkungsbeziehung (L04, L08), so dass keine EC₅₀-Werte bestimmt werden konnten, damit reduzierte sich die Datengrundlage für diesen Biotest auf 5. Die entsprechenden Ergebnisse haben deshalb nur orientierenden Charakter. Bei den übrigen Biotests war die Datengrundlage mit 11-16 validen Biotests aussagekräftig.

Tabelle 4: Zusammenfassung der Datenbasis im vorliegenden Ringtest. Die Ergebnisse der grau hinterlegten Tests wurden für die statistischen Auswertungen nicht berücksichtigt, da nicht valide. Die Ergebnisse des Daphnientests mit HSR-2-Eluat von L15 wurden als offensichtlich fehlerhaft ebenfalls von den statistischen Auswertungen ausgeschlossen³¹. Die Ergebnisse der blau schraffierten Biotests wurden als Ausreißer identifiziert und von weiteren Auswertungen ausgeschlossen.

	BAM-G1				HSR-2			
	Daphnia	Bacteria	Algae	Fish	Daphnia	Bacteria	Algae	Fish
	L01	L01	L01		L01	L01	L01 c	
	L02	L02 b	L02 b	L02	L02	L02	L02 b	L02
	L04 b		L04	L04	L04 a		L04	L04
	L05 a		L05 a,b*, c	L05	L05 a		L05 a b c	L05
	L06	L06	L06	L06	L06 b	L06	L06 b	L06
	L07	L07	L07	L07	L07	L07	L07	L07
	L08 a	L08	L08 a		L08 a	L08 a	L08 a,b	
	L09 a	L09 a		L09 a	L09 a	L09		L09 a
	L10	L10		L10	L10	L10		L10
	L11	L11 a	L11 b	L11	L11 a	L11 a	L11 b	L11 a
	L12	L12	L12 c	L12	L12	L12	L12 c	L12
	L13	L13 b* c	L13 b c	L13	L13	L13 b c	L13 b* c	L13
	L14a	L14a		L14a	L14a	L14a		L14a
	L15	L15	L15 c		L15**	L15 b*	L15 c	
	L16	L16		L16	L16	L16		L16
	L17				L17			
	L18	L18	L18 a,b		L18	L18	L18 b	
durchgeführte Biotests	17	14	12	12	17	14	12	12
Anzahl Biotests für Ringteststatistik	16	12	8	11	15	13	7	12

Gekennzeichnet: a) Probenlagerung abweichend vom Prüfplan, b) Blanks >10% b*=kein Blank gemessen, c) nicht valide.

³¹ L15: Die Daten zum Daphnientest mit HSR-2-Eluat waren nahezu identisch mit denen für BAM-G1-Eluat. Vermutlich lag eine Verwechslung bei der Testdurchführung oder Dateneingabe vor

4.1.EC₅₀-Werte und G-Werte

Die Ergebnisse aller vorliegenden Biotests sind in Abbildung 1 bis Abbildung 8 dargestellt, eine zusammenfassende Übersicht gibt Tabelle 5. Diejenigen Ergebnisse, die aus den oben genannten Gründen nicht in die Berechnungen von Erwartungswerten und Reproduzierbarkeit eingingen, sind besonders gekennzeichnet, so dass visuell geprüft werden kann, ob sie dennoch im Rahmen der ermittelten Variabilität liegen. Die EC₅₀-Werte und G-Werte der als invalide bewerteten Biotests lagen in der Regel im selben Bereich wie die validen Testergebnisse. Die exakten Ergebnisse für EC₅₀ und G-Wert in allen Biotests sind im Anhang gelistet.

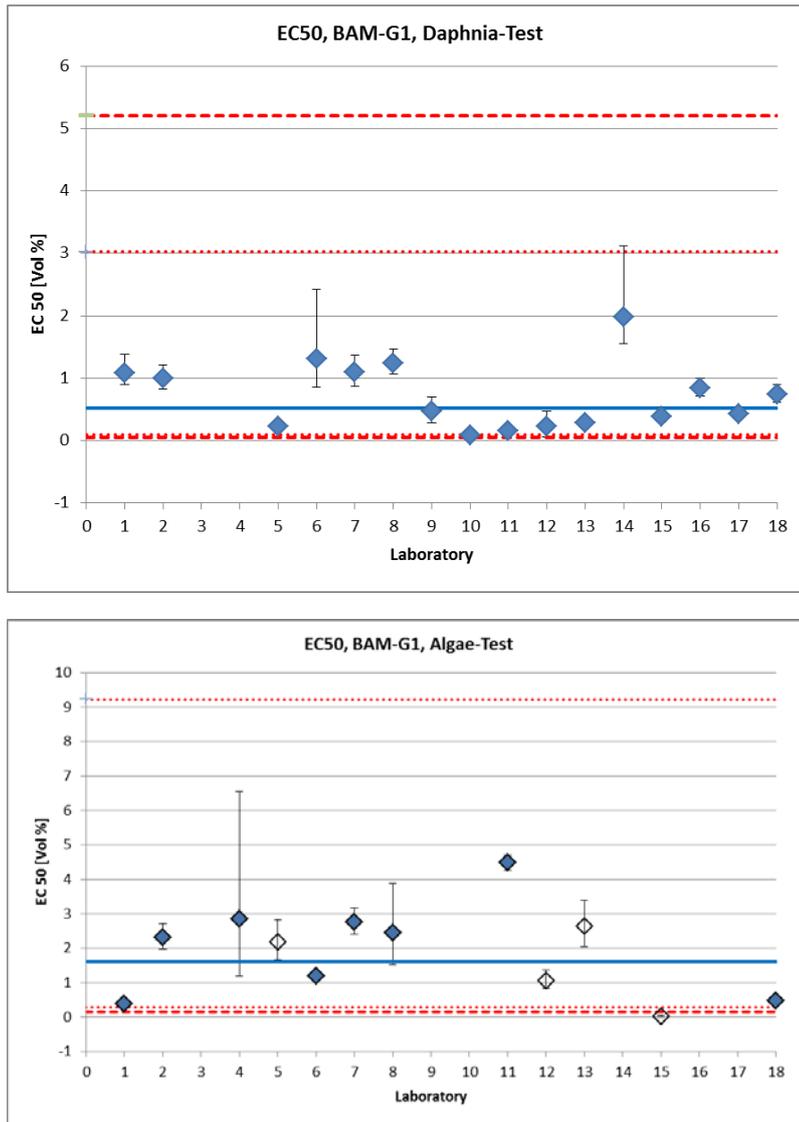


Abbildung 1: EC₅₀ Werte aller auswertbaren Daphnien- und Algentests mit Eluat von Prüfkörper BAM-G1. Schwarze Fehlerindikatoren (Whisker): 95% Vertrauensbereiche des EC₅₀ Wertes, Leere Symbole: Tests nicht valide; Linien: Kenngrößen basierend auf Ausreißer- bereinigten und validen Testergebnissen; blaue Linie: geometrischer Mittelwert; rote gepunktete Linie: 95% Toleranzbereich, rote gestrichelte Linie: 99% Toleranzbereich. Fehlende Werte: Test nicht durchgeführt oder Dosis-Wirkungsbeziehung nicht auswertbar (Details siehe Anhang).

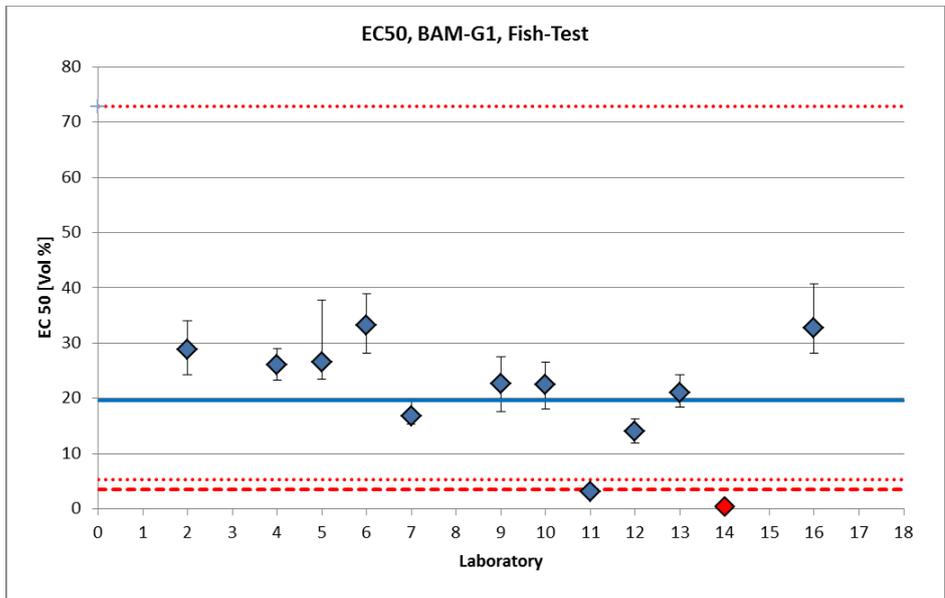
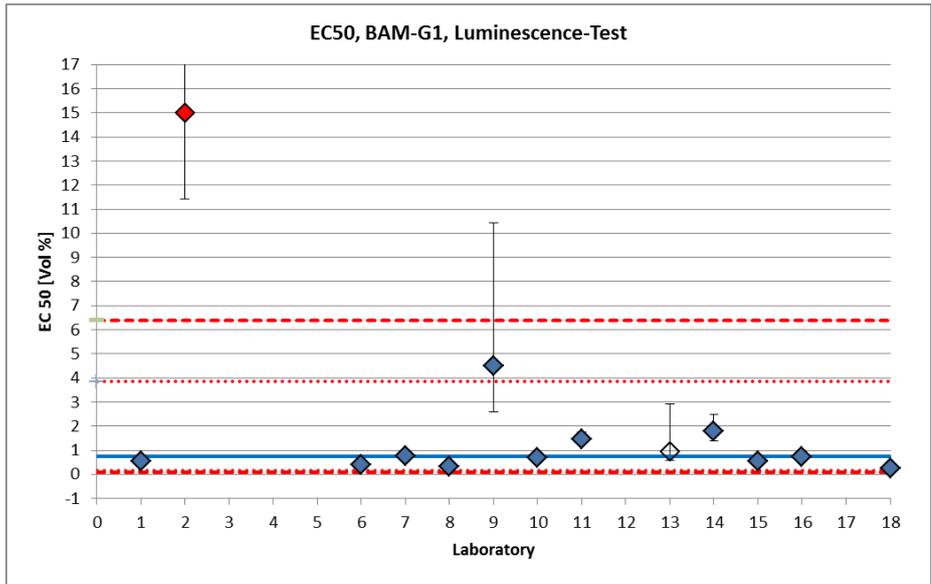


Abbildung 2: EC50 Werte aller auswertbaren Lumineszenz- und Fisch-Ei-Tests mit Eluat von Prüfkörper BAM-G1. Schwarze Fehlerindikatoren (Whisker): 95% Vertrauensbereiche des EC50 Wertes, Leere Symbole: Tests nicht valide; rote Symbole: Ausreißer. Linien: Kenngrößen basierend auf ausreißerbereinigten und validen Testergebnissen; blaue Linie: geometrischer Mittelwert; rote gepunktete Linie: 95% Toleranzbereich, rote gestrichelte Linie: 99% Toleranzbereich. Fehlende Werte: Test nicht durchgeführt oder Dosis-Wirkungsbeziehung nicht auswertbar (Details siehe Anhang).

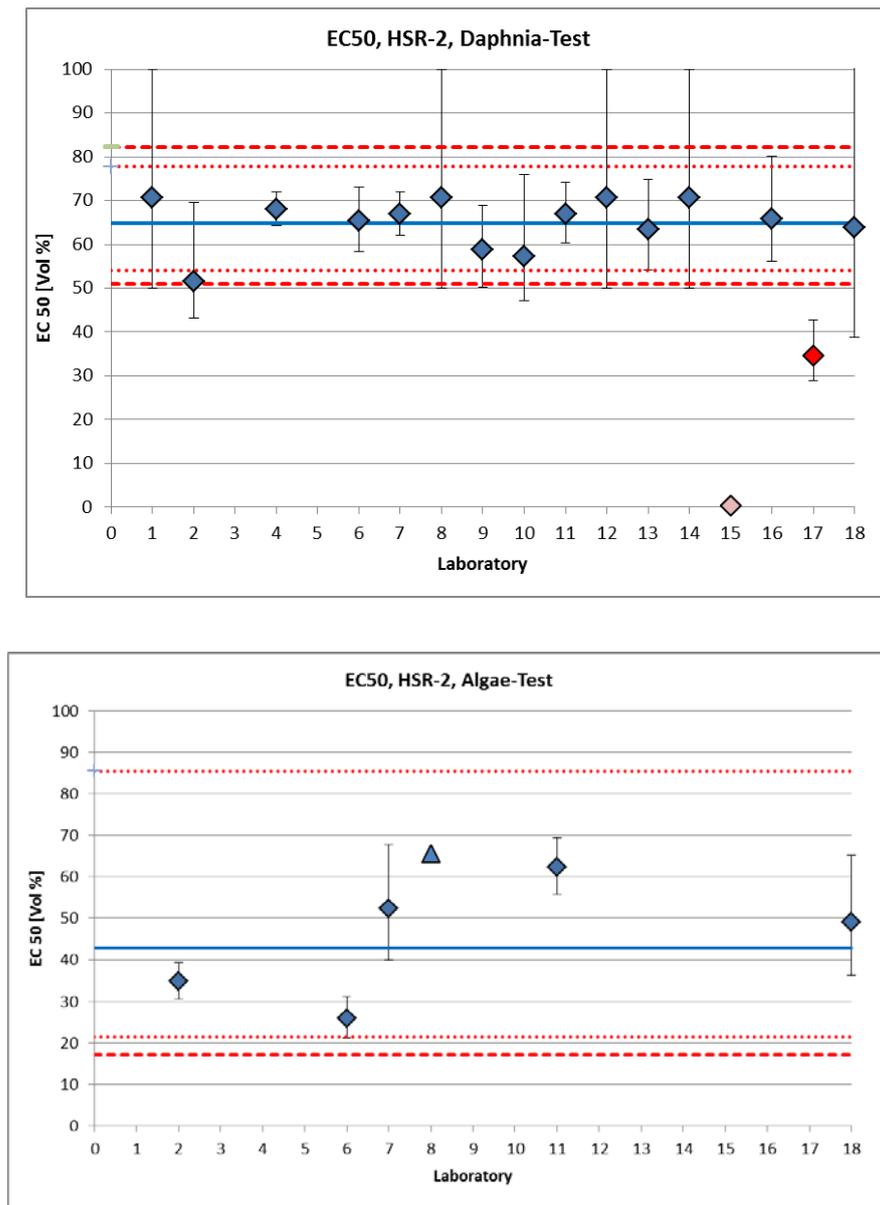


Abbildung 3: EC50 Werte aller auswertbaren Daphnien- und Algentests mit Eluat von Prüfkörper HSR-2. Schwarze Fehlerindikatoren (Whisker): 95% Vertrauensbereiche des EC50 Wertes, rote Symbole: Ausreißer, rosa Symbol (L15, Daphnientest): Ergebnis offensichtlich fehlerhaft, vgl. Tabelle 4. Linien: Kenngrößen basierend auf Ausreißerbereinigten und validen Testergebnissen; blaue Linie: geometrischer Mittelwert; rote gepunktete Linie: 95% Toleranzbereich, rote gestrichelte Linie: 99% Toleranzbereich. Fehlende Werte: Test nicht durchgeführt oder Dosis-Wirkungsbeziehung nicht auswertbar (Details siehe Anhang).
Blue triangle: L08 provided a corrected data set after the final workshop took place. The data could not be considered for the overall statistical evaluations anymore, but is shown here.

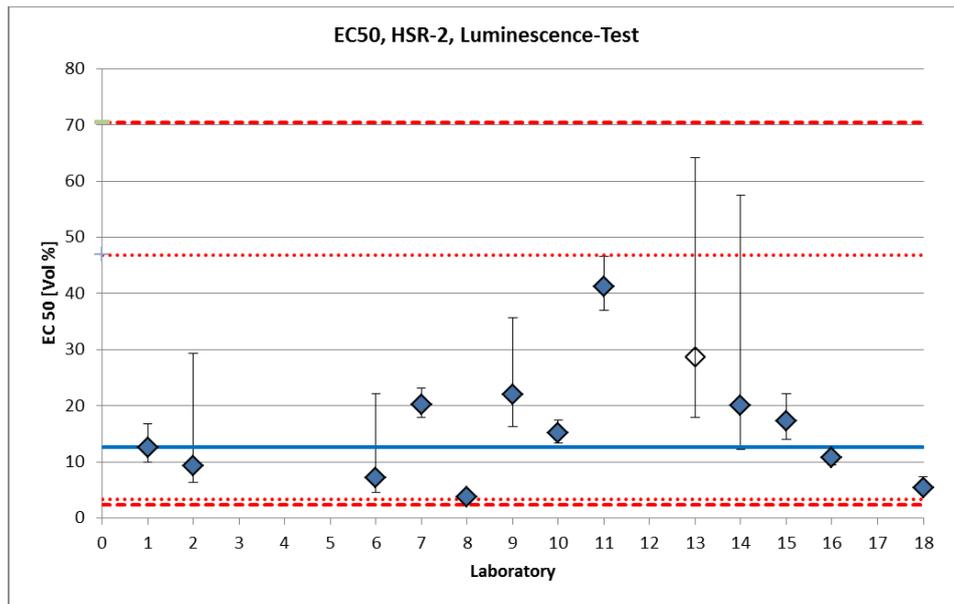


Abbildung 4: EC50 Werte aller auswertbaren Lumineszenztests mit Eluat von Prüfkörper HSR-2. Schwarze Fehlerindikatoren (Whisker): 95% Vertrauensbereiche des EC50 Wertes, Leere Symbole: Tests nicht valide; Linien: Kenngrößen basierend auf ausreißerbereinigten und validen Testergebnissen; blaue Linie: geometrischer Mittelwert; rote gepunktete Linie: 95%Toleranzbereich, rote gestrichelte Linie: 99%Toleranzbereich. Fehlende Werte: Test nicht durchgeführt oder Dosis-Wirkungsbeziehung nicht auswertbar (Details siehe Anhang).

Der Fischei-Test mit HSR-2 zeigte in sieben Laboren gar keine Effekte, in vier Laboren maximal 10% Effekt und je einmal 20%, 30% und 40% Effekt in der höchsten Konzentration. In keinem Fall konnte eine Dosis-Wirkungs-Beziehung abgeleitet werden. Somit konnten keine EC₅₀-Werte bestimmt werden.

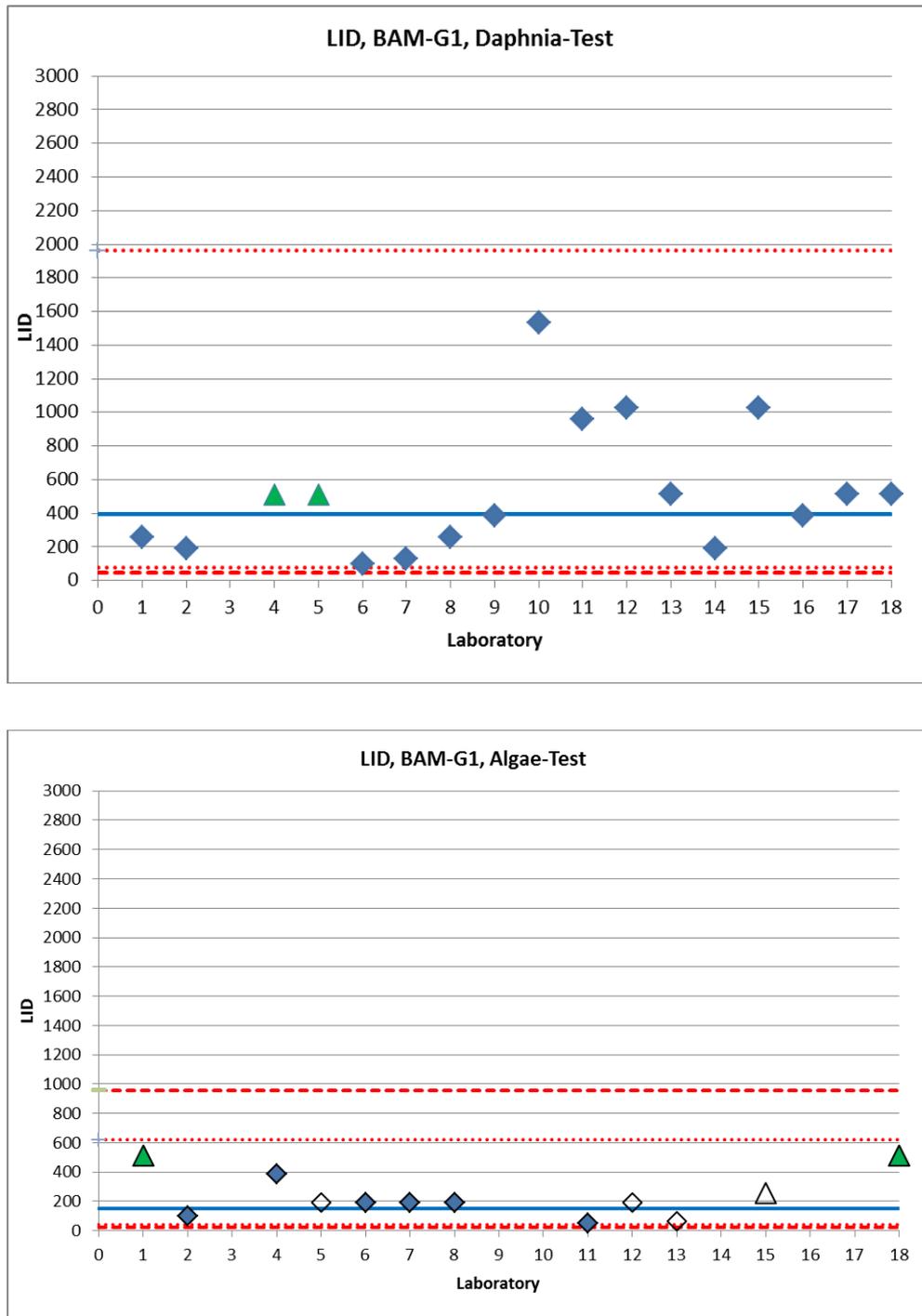


Abbildung 5: G-Werte (LID) aller auswertbaren Daphnien- und Algentests mit Eluat von Prüfkörper BAM-G1. Leere Symbole: Tests nicht valide. Dreieckige Symbole: G-Wert „größer als“ der eingetragene Wert; wenn grün: valide, sonst leer; Werte „größer als“ wurden für die statistischen Auswertungen nicht berücksichtigt; Linien: Kenngrößen basierend auf Ausreißer-bereinigten und validen Testergebnissen; blaue Linie: geometrischer Mittelwert; rote gepunktete Linie: 95% Toleranzbereich, rote gestrichelte Linie: 99% Toleranzbereich. Fehlende Werte: Test nicht durchgeführt (Details siehe Anhang).

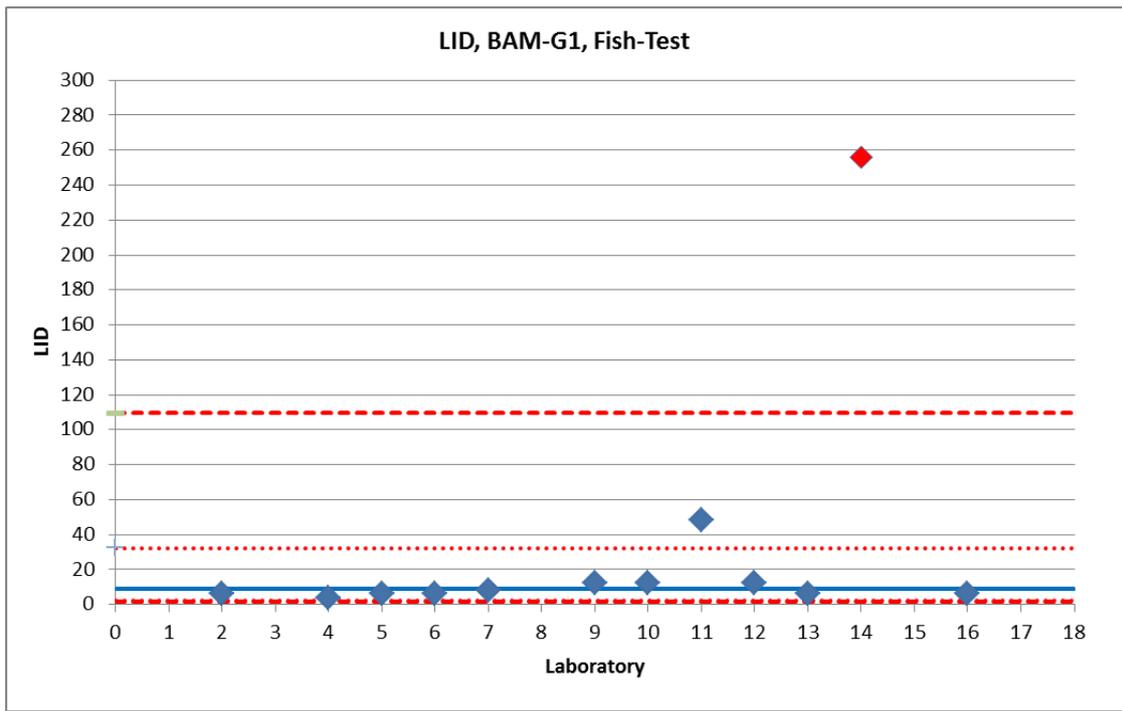
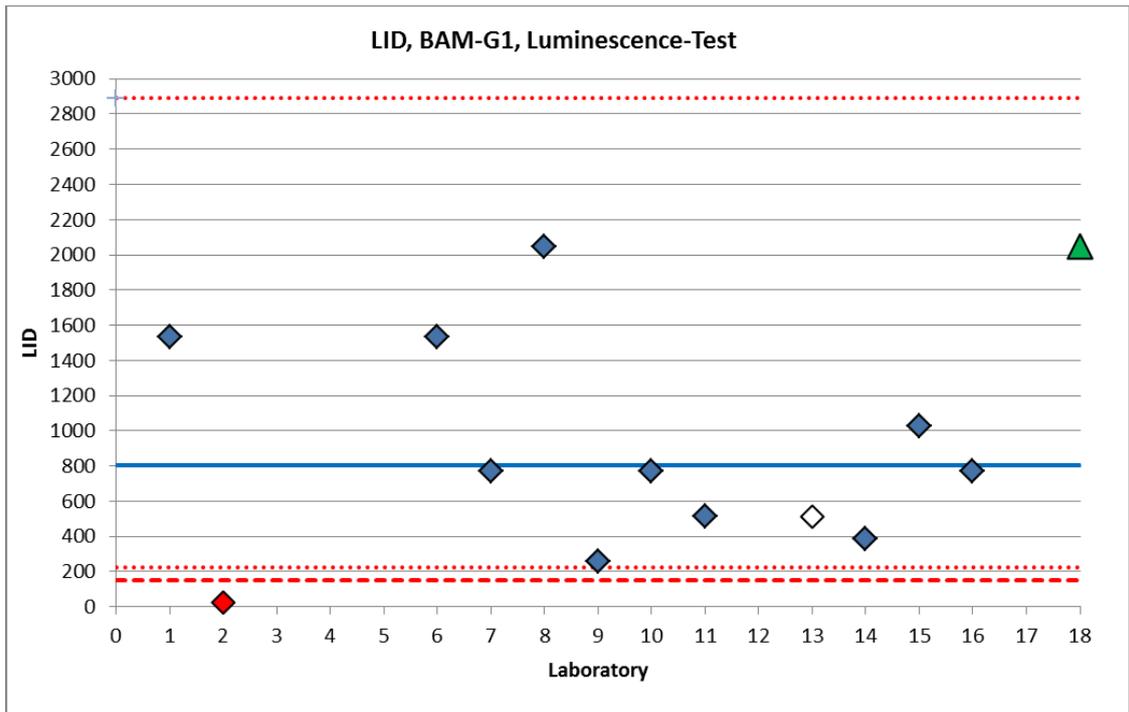


Abbildung 6: G-Werte (LID) aller auswertbaren Lumineszenz und Fisch-Ei-Tests mit Eluat von Prüfkörper BAM-G1. Leere Symbole: Tests nicht valide; rote Symbole: Ausreißer. Dreieckige Symbole: G-Wert ist „größer als“ der eingetragene Wert; wenn grün: valide, sonst leer; Werte „größer als“ wurden für die statistischen Auswertungen nicht berücksichtigt; Linien: Kenngrößen basierend auf Ausreißer-bereinigten und validen Testergebnissen; blaue Linie: geometrischer Mittelwert; rote gepunktete Linie: 95% Toleranzbereich, rote gestrichelte Linie: 99% Toleranzbereich. Fehlende Werte: Test nicht durchgeführt (Details siehe Anhang).

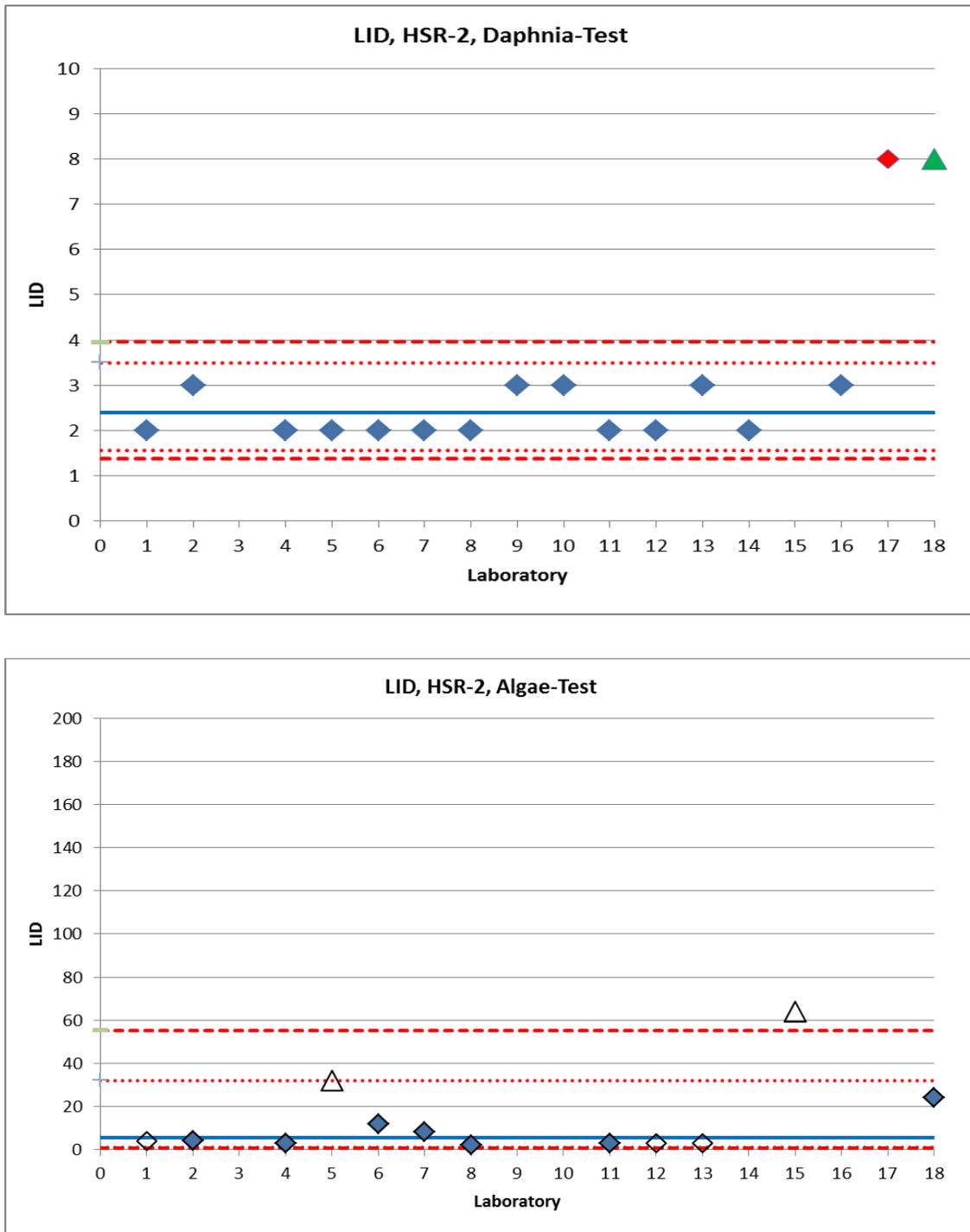


Abbildung 7: G-Werte (LID) aller auswertbaren Daphnien- und Algentests mit Eluat von Prüfkörper HSR-2. Leere Symbole: Tests nicht valide. Dreieckige Symbole: G-Wert ist „größer als“ der eingetragene Wert; wenn grün: valide, sonst leer; Werte „größer als“ wurden für die statistischen Auswertungen nicht berücksichtigt; Linien: Kenngrößen basierend auf Ausreißer-bereinigten und validen Testergebnissen; blaue Linie: geometrischer Mittelwert; rote gepunktete Linie: 95%Toleranzbereich, rote gestrichelte Linie: 99%Toleranzbereich. Fehlende Werte: Test nicht durchgeführt (Details siehe Anhang).

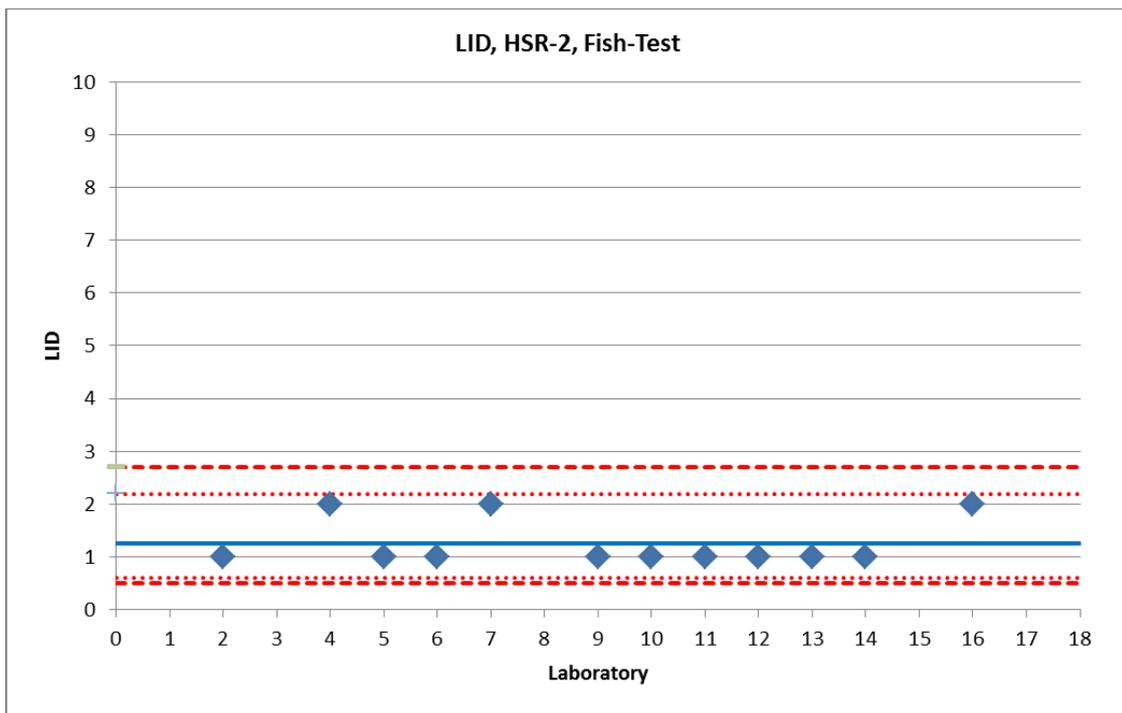
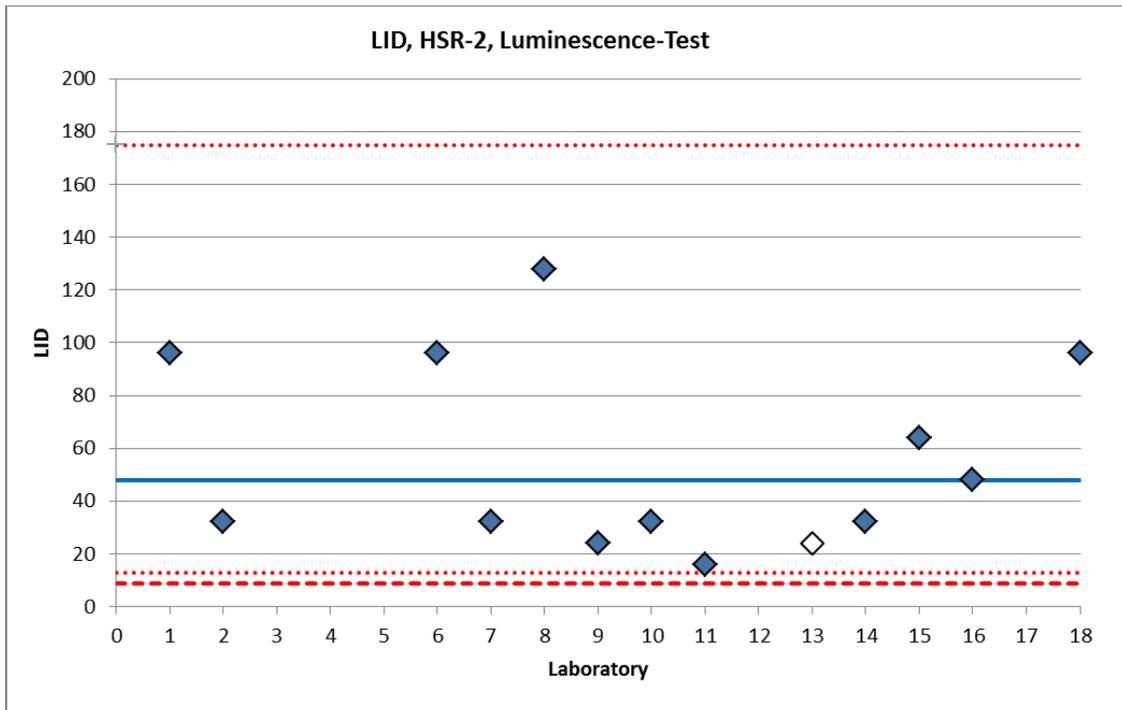


Abbildung 8: G-Werte (LID) aller auswertbaren Lumineszenz und Fisch-Ei-Tests mit Eluat von Prüfkörper HSR-2. Leere Symbole: Tests nicht valide. Linien: Kenngrößen basierend auf Ausreißer-bereinigten und validen Testergebnissen; blaue Linie: geometrischer Mittelwert; rote gepunktete Linie: 95% Toleranzbereich, rote gestrichelte Linie: 99% Toleranzbereich. Fehlende Werte: Test nicht durchgeführt (Details siehe Anhang).

Tabelle 5 fasst die Ergebnisse des vorliegenden Ringtests zusammen. Bei den G-Werten wurden diejenigen Ergebnisse, die nur als „größer als x“ angegeben werden konnten, nicht in die statistischen Auswertungen einbezogen. In den Fällen, in denen solche G-Werte auftraten, wird der Mittelwert (und damit die Toxizität) somit tendenziell etwas unterschätzt.

EC₅₀-Werte und G-Werte sind umgekehrt proportional, deshalb spiegeln die Ergebnisse der G-Werte die Resultate der EC₅₀-Werte wider. Die folgenden Aussagen zu den EC-Werten gelten deshalb sinngemäß auch für die G-Werte.

Tabelle 5: Zusammenfassung der Ergebnisse für die verschiedenen Biotests, Eluate und Endpunkte. Expected value = Erwartungswert, CI = Vertrauensbereich („confidence interval“); PI= Toleranzbereich („Prediction Interval“); Vergleichs-Stabw = sR, CV% = Variationskoeffizient in %. Die Ergebnisse für den Algentest mit HSR-2-Eluat sind kursiv dargestellt, da wegen des niedrigen Stichprobenumfangs von n=5 unsicher.

BAM-G1								
	EC50				LID			
	Daphnia	Algae	Bacteria	Fish	Daphnia	Algae	Bacteria	Fish
n (initial)	17	12	14	12	17	12	14	12
invalid tests	0	4	1	0	0	4	1	0
outlier	0	0	1	1	0	0	1	1
No ECx/LID obtained	1	0	1	0	2	2	2	0
n (final)	16	8	11	11	15	6	10	11
Expected value	0,78	2,39	1,07	24,56	552,2	196,9	995,0	10,86
geometric mean	0,52	1,61	0,76	19,64	396	152,4	804,0	8,66
95% CI	0,34 - 0,81	0,87 - 2,98	0,46 - 1,23	13,23 - 29,16	262 - 598	85,9 - 270	536 - 1204	5,82 - 12,89
95% PI	0,09 - 3,02	0,28 - 9,23	0,15 - 3,85	5,30 - 72,83	80 - 1961	37,5 - 620	223 - 2891	2,32 - 32,40
99% PI	0,05 - 5,21	0,16 - 15,91	0,09 - 6,39	3,52 - 109,5	49 - 3227	24,2 - 959	150 - 4305	1,54 - 48,84
s _R	0,86	2,64	1,06	18,44	537,8	161,1	725,4	8,22
CV _R %	110,5	110,2	99,7	75,1	97,4	81,8	72,9	75,7

HSR-2								
	EC50				LID			
	Daphnia	Algae	Bacteria	Fish	Daphnia	Algae	Bacteria	Fish
n (initial)	17	12	14	12	17	12	14	12
Invalid tests	0	5	1	0	0	5	1	0
outlier	1	0	0	0	1	0	0	0
No ECx/LID obtained	2	2	1	0	3	0	1	0
n (final)	14	5	12	12	13	7	12	12
Expected value	65,08	45,55	15,86	n.d.	2,39	8,31	59,46	1,25
Geometric mean	64,80	42,81	12,70	n.d.	2,34	5,56	47,73	1,2
95% CI	61,7 - 68,0	31,4 - 58,3	8,7 - 18,5	n.d.	2,09 - 2,61	2,6 - 12,2	32,8 - 69,5	1,0 - 1,4
95% PI	54,0 - 77,8	21,5 - 85,4	3,4 - 46,9	n.d.	1,56 - 3,50	1,0 - 32,0	13,0 - 175	0,6 - 2,2
99% PI	51,0 - 82,3	17,3 - 105,9	2,3 - 70,5	n.d.	1,38 - 3,96	0,6 - 55,2	8,7 - 262	0,5 - 2,7
s _R	6,1	16,57	11,87	n.d.	0,50	9,14	44,15	0,4
CV _R %	9,3	36,4	74,8	n.d.	20,7	110,3	74,3	32,1

4.2. Empfindlichkeit der untersuchten Biotests und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse

Mit Ausnahme des Fischei-Tests zeigten alle geprüften Biotests für beide Eluate eindeutige Effekte, d.h. die potentielle Toxizität des untersuchten Testguts konnte grundsätzlich detektiert werden. Dabei waren auch graduelle Unterschiede in der Toxizität zwischen Testgut und Biotest ableitbar. Das Eluat von Prüfkörper BAM-G1 ergab generell deutlich niedrigere EC₅₀-Werte als das von Prüfkörper HSR-2, d.h. es war erheblich toxischer.

Der Fischtest reagierte gegenüber beiden Eluaten mit Abstand am unempfindlichsten, gegenüber HSR-2-Eluat sogar häufig gar nicht. Bei den übrigen Biotests hing die Empfindlichkeit vom Eluat ab: gegenüber BAM-G1-Eluat reagierte der Daphnientest am empfindlichsten, gefolgt vom Leuchtbakterientest und Algentest. Gegenüber HSR-2-Eluat zeigte der Leuchtbakterientest die größte Empfindlichkeit, darauf folgten mit deutlichem Abstand Algentest und Daphnientest. Dies lässt sich folgendermaßen zusammenfassen:

Empfindlichkeit gegenüber Eluat von

BAM-G1: Daphnientest > Leuchtbakterientest > Algentest >> Fischtest
 HSR-2: Leuchtbakterientest >> Algentest > Daphnientest > Fischtest

Leuchtbakterientest, Algentest und Daphnientest waren für beide geprüften Eluate in der Lage, eine toxische Wirkung anzuzeigen, dies je nach Testgut mit unterschiedlicher Sensitivität. Der Fischeitest erwies sich als deutlich weniger sensitiv als die übrigen Tests.

Die Reproduzierbarkeit eines Messergebnisses wird üblicherweise anhand des Variationskoeffizienten beurteilt. Für lognormalverteilte Variablen ist der Variationskoeffizient jedoch eher ein Maß für den Grad der Asymmetrie als für die Reproduzierbarkeit, so gilt ein Variationskoeffizient größer 33% als Indiz für eine stark asymmetrische Verteilung³².

Die im vorliegenden Ringtest bestimmten Variationskoeffizienten von bis zu 110% für EC₅₀-Werte sollten nicht an den üblichen Variationskoeffizienten für biologische Messvariablen wie Zellzahlen, Sprosslängen oder andere normalverteilte Merkmale gemessen werden. Zum einen sind EC₅₀-Werte kein eigentliches Messergebnis, sondern werden erst durch komplexe statistische Methoden abgeleitet aus mehreren einzelnen Messvariablen und sind deshalb per Definition mit einer mehr oder weniger großen Unsicherheit behaftet (95% Vertrauensbereich). Zum anderen integrieren die EC₅₀- und G-Werte (=Endpunkte der jeweiligen Biotests) im vorliegenden Ringtest ihrerseits über die Variabilität aus dem gesamten komplexen Verfahrensablauf von Elutionsprozess über Probenlagerung bis hin zu eigentlichen Biotestdurchführung, was naturgemäß die Variabilität erhöht.

Eine einheitliche Rangfolge der verwendeten Biotests hinsichtlich der Reproduzierbarkeit ihrer Ergebnisse lässt sich nicht ableiten. Für Eluat aus BAM-G1 ist die Variabilität unabhängig vom Biotest einheitlich relativ hoch (CV = 73% bis 110%), während sie für Eluat aus HSR-2 mit Biotest und Empfindlichkeit variiert: sehr gut reproduzierbar sind die Ergebnisse des am wenigsten empfindlichen Daphnientests (CV= 9,3%), es folgt der Algentest (36,4%), die höchste Variabilität zeigt

³² Sachs, L., Hedderich J., 2009, Angewandte Statistik, 13. Auflage, Springer

der Leuchtbakterientest (74,8%), d.h. der Test mit der größten Empfindlichkeit gegenüber HSR-2-Eluat³³.

Insgesamt gilt für die Reproduzierbarkeit eines EC₅₀- oder G-Wertes: je toxischer die Wirkung des Eluats, desto variabler die Ergebnisse. Ein Grund, dass die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse im vorliegenden Ringtest umgekehrt proportional ist zur Toxizität der geprüften Bauprodukte, da bei Testgut mit stark toxischer Wirkung schon geringe Unterschiede beim Elutionsprozess große Unterschiede in der Wirkung auf die geprüften Testorganismen zur Folge haben können.

Die beobachtete Variabilität der Ergebnisse stellt die Untergrenze der zu tatsächlichen Variabilität der geprüften Verfahren dar, da mit dem vorgegebenen Ringtestdesign nur die Interlaborvarianz bezüglich Elutionsprozess und Biotestdurchführung ermittelt werden konnte, nicht jedoch die Wiederholvarianz. Allerdings schließt die im Ringtest beobachtete Varianz auch variabilitätserhöhende Faktoren wie Elutionsprozess, Art und Dauer der Probenlagerung und mögliche Blankeffekte ein, welche insgesamt sehr heterogen waren. Angesichts des äußerst komplexen Gesamtprozesses zeigen die geprüften Biotests mit den verwendeten Eluaten eine akzeptable Reproduzierbarkeit.

4.3.Z-scores und Standardisierungsbedarf

Anhand der s-scores kann beurteilt werden, ob einzelne Ergebnisse außerhalb des Ausreißerbereinigten 95% Toleranzbereichs liegen. Üblicherweise werden z-scores zur Ermittlung der Leistungsfähigkeit der teilnehmenden Laboratorien verwendet. Im vorliegenden Ringtest geht es jedoch um die Bestimmung der Präzision der Messverfahren einschließlich Eluatherstellung. Z-scores oberhalb der kritischen Grenze von + 2 sind deshalb kein Indiz für fehlende Kompetenz eines Labors, sondern vielmehr ein Anzeichen für weiteren Standardisierungsbedarf der Methode. Die Biotestweise Betrachtung (Abbildung 9 bis Abbildung 12) identifiziert beim Daphnientest je einen stark nach unten abweichenden EC₅₀-Wert mit BAM-G1 (L10) und HSR-2 (L02), beim Leuchtbakterientest einen deutlich erhöhten EC₅₀-Wert mit BAM-G1 (L09) und im Fischeitest einen auffällig niedrigen EC 50 Wert mit BAM-G1(L11). Im letzteren Fall ist auch der entsprechende G-Wert erwartungsgemäß deutlich erhöht.

Der Abgleich mit den Versuchsrandbedingungen ergab keine Hinweise auf einen systematischen Zusammenhang zwischen diesen auffälligen Ergebnissen und der Art der Probenlagerung oder anderen Randbedingungen.

Die laborspezifische Auswertung der mittleren z-scores kann ebenfalls Hinweise auf Standardisierungsbedarf der Methode geben, denn unter der Annahme von zufallsbedingter Variabilität ist zu erwarten, dass ein Labor in den verschiedenen Biotests gleichermaßen teils höhere, teils niedrigere Messwerte findet als der jeweilige Erwartungswert, dass also die mittlere Abweichung vom Sollwert für jedes Labor nahe Null ist. Ist dies nicht der Fall, erhält ein Labor also systematisch höhere oder niedrigere Ergebnisse als die anderen Ringtestteilnehmer, so deutet dass auf systematisch andere Randbedingungen als Ursache hin. Ein laborspezifischer mittlerer z-score wurde dann ermit-

³³ Die Testergebnisse geben keinen Anlass zur Annahme einer unterschiedliche Empfindlichkeit von flüssig getrockneten und gefriergetrockneten Bakterien als Ursache für die erhöhte Variabilität im Leuchtbakterientest.

telt, wenn für ein Labor pro Bauprodukt für mindestens drei von vier Biotests z-scores vorlagen, bzw. für den gesamten Ringtest für mindestens fünf von acht Biotests. Diese Bedingung war für 11 der 17 Ringestteilnehmer erfüllt (Tabelle 6).

Die folgenden Betrachtungen beziehen sich auf die EC₅₀-Werte. Für G-Werte gelten die Aussagen sinngemäß ebenfalls, jedoch ergeben die z-scores für die G-Werte wegen deren diskreten Eigenschaften ein ungenaueres Bild.

In den meisten Fällen lag der mittlere z-score pro Labor zwischen $-0,7$ und $+0,7$, die Labore erzielten somit in der Regel gleichermaßen nach oben wie nach unten abweichende z-scores. Lediglich die drei Biotests von L11 mit HSR-2 sowie alle Biotests von L14 ergaben einen systematisch erhöhten mittleren z-Wert (L11: 1,059, L14: 1,019). Die Prüfung der Elutionsprotokolle und Lagerungsbedingungen für L11 und L14 ergab, dass die betreffenden Biotests von L11 mit ein und demselben, frisch zubereitetem HSR-2 Eluat durchgeführt wurden, und dass L14 sowohl das BAM-G1-Eluat als auch das HSR-2-Eluat nicht tiefgekühlt gelagert hatte, sondern bei 4°C. Dies könnte darauf hinweisen, dass die Toxizität frisch zubereiteter oder gekühlt gelagerter Eluate möglicherweise höher ist als die tiefgekühlt gelagerter Eluate.

Die gezielte Auswertung von Einzel-z-scores aller Biotests mit nicht tiefgekühltem Eluat konnte jedoch keinen systematischen Zusammenhang zwischen Art der Probenlagerung und z-score aufzeigen. Möglicherweise waren die Randbedingungen insgesamt zu heterogen, um einen einzelnen Faktor als Ursache für Abweichungen ausmachen zu können.

Auch wenn im vorliegenden Ringtest somit keine eindeutigen Ursachen für auffällige Ergebnisse identifiziert werden konnten, so kann festgehalten werden, dass Elutionsprozess und Probenlagerung eine zentrale Rolle spielen bezüglich Aussagekraft und Reproduzierbarkeit. Zukünftige Standardisierungsbestrebungen sollten deshalb dort ansetzen.

Tabelle 6: Übersicht laborspezifische z-scores und mittlere z-scores für Labore, für die pro Eluat mindestens drei z-scores vorlagen und / oder für den gesamten Ringtest mindestens fünf

	Merkmal	BAM GI					z mittel		HSR 2					z mittel	z mittel alle
		Alge	Daphnie	Fisch	Luminesc				Alge	Daphnie	Fisch	Luminesc			
L01	EC 50	-1,586	0,878		-0,377	-0,362	L01		0,939		-0,025		-0,034		
L02	EC 50	0,413	0,652	0,573		0,546	L02	-0,590	-2,444		-0,477	-1,171	-0,312		
L04	EC 50	0,643		0,420			L04		0,512						
L05	EC 50		-1,025	0,451			L05								
L06	EC 50	-0,324	0,955	0,784	-0,747	0,167	L06	-1,429	0,084		-0,841	-0,729	-0,217		
L07	EC 50	0,610	0,748	-0,237	0,038	0,290	L07	0,572	0,348		0,692	0,537	0,396		
L08	EC 50	0,469	0,895		-1,026	0,113	L08		0,939		-1,824		-0,109		
L09	EC 50		-0,205	0,213	2,150	0,719	L09		-1,044		0,821		0,387		
L10	EC 50		-2,087	0,203	-0,091	-0,658	L10		-1,338		0,263		-0,610		
L11	EC 50	1,148	-1,448	-2,771	0,797	-0,569	L11	1,066	0,348		1,765	1,059	0,129		
L12	EC 50		-0,966	-0,508			L12		0,939						
L13	EC 50		-0,730	0,107			L13		-0,224						
L14	EC 50		1,416		1,032		L14		0,939		0,689		1,019		
L15	EC 50		-0,428		-0,370		L15				0,467				
L16	EC 50		0,457	0,766	-0,076	0,382	L16		0,171		-0,246		0,214		
L17	EC 50		-0,311				L17								
L18	EC 50	-1,373	0,322		-1,330	-0,794	L18	0,382	-0,170		-1,283	-0,357	-0,575		
L01	G		-0,524		0,992		L01		-0,760		1,054				
L02	G	-0,645	-0,876	-0,546		-0,689	L02	-0,787	1,215	-0,553	-0,604	-0,182	-0,399		
L04	G	1,291		-1,149			L04		-0,760	1,658					
L05	G			-0,546			L05			-0,553					
L06	G	0,323	-1,724	-0,546	0,992	-0,239	L06	0,524	-0,760	-0,553	1,054	0,067	-0,086		
L07	G	0,323	-1,372	-0,118	-0,070	-0,310	L07	0,041	-0,760	1,658	-0,604	0,084	-0,113		
L08	G	0,323	-0,524		1,432	0,410	L08		-0,760		1,488		0,392		
L09	G		-0,036	0,484	-1,753	-0,435	L09		1,215	-0,553	-1,038	-0,125	-0,299		
L10	G		1,668	0,484	-0,070	0,694	L10		1,215	-0,553	-0,604	0,020	0,357		
L11	G	-1,614	1,093	2,544	-0,691	0,333	L11	-1,130	-0,760	-0,553	-1,650	-1,023	-0,345		
L12	G		1,172	0,484			L12		-0,760	-0,553					
L13	G		0,324	-0,546			L13		1,215	-0,553					
L14	G		-0,876		-1,132		L14		-0,760	-0,553	-0,604	-0,639	-0,785		
L15	G		1,172		0,371		L15				0,442				
L16	G		-0,028	-0,546	-0,070	-0,215	L16		1,215	1,658	0,008	0,961	0,373		
L17	G		0,324				L17								
L18	G		0,324				L18	1,352			1,054				

Abbildung 9: z-Scores für EC50- und G-Werte aus Algentests mit BAM-G1- Eluat (P1) und HSR-2-Eluat (P2)

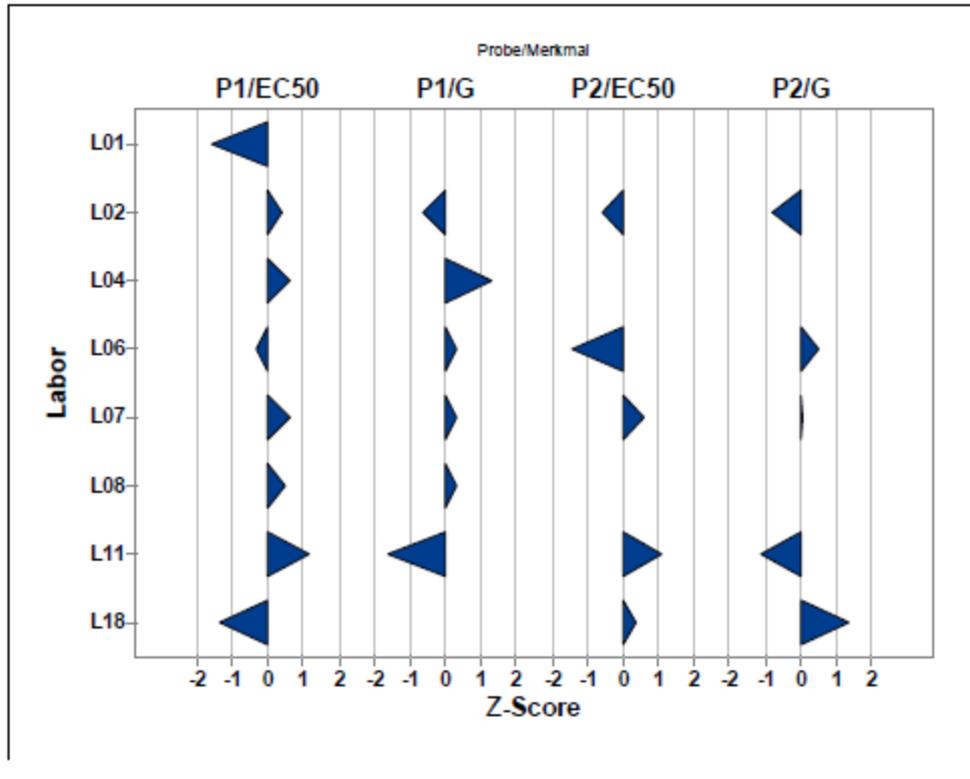


Abbildung 10: z-Scores für EC50- und G-Werte aus Daphnientests mit BAM-G1- Eluat (P1) und HSR-2-Eluat (P2)

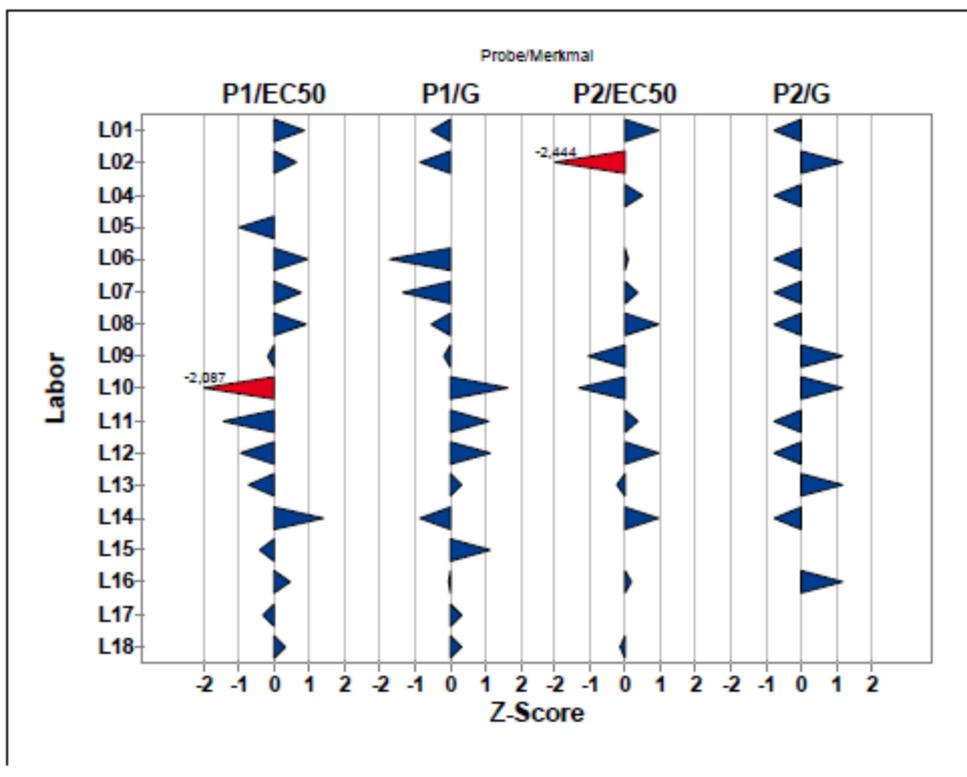


Abbildung 11: z-Scores für EC50- und G-Werte aus Leuchtbakterientests mit BAM-G1- Eluat (P1) und HSR-2-Eluat (P2)

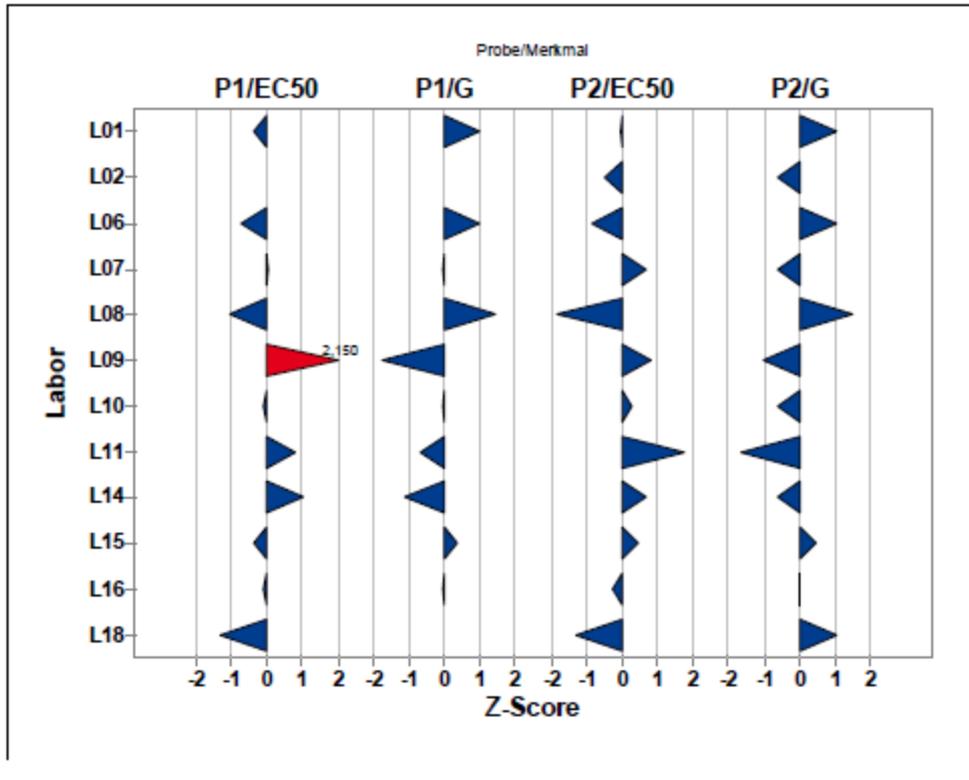
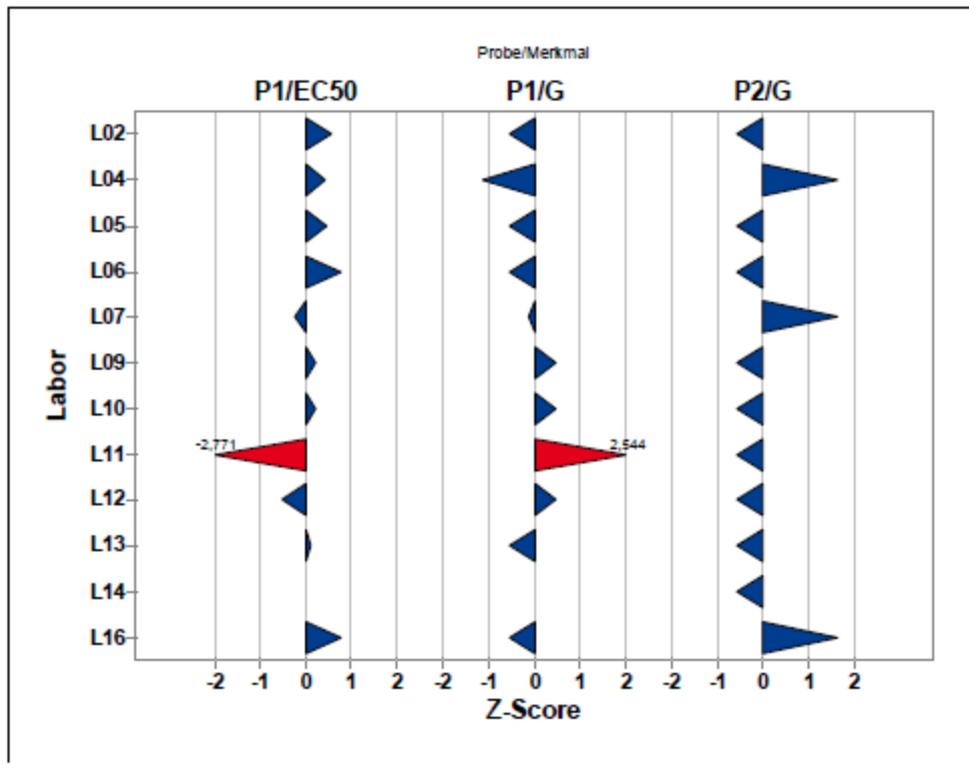


Abbildung 12: z-Scores für EC50- und G-Werte aus Fisch-Ei-Tests mit BAM-G1- Eluat (P1) und HSR-2-Eluat (P2)



5. Zusammenfassung

In einem Ringtest mit insgesamt 17 Teilnehmern führte jedes Labor je einen Elutionsprozess für die Prüfkörper BAM-G1 und HSR-2 durch. Die Eluate wurden anschließend mit den folgenden vier Biotests auf ihre Toxizität geprüft: Algentest nach ISO 8692:2012, Daphnientest nach DIN EN ISO (01/2013) bzw. ISO 6341:2012, Leuchtbakterientest nach DIN EN ISO 11348 Teil 1-3 (05/2009), Fischeitest nach DIN EN ISO 15088 86/2009) bzw. ISO 15088:2007.

Als Toxizitätsmaße wurden G-Werte und EC₅₀ Werte bestimmt. Die Methodvalidierung wurde in Anlehnung an DIN ISO 5725-2 durchgeführt. Da EC₅₀-Werte und G-Werte nicht normalverteilt sind, wurden die Auswertungen mit den logarithmierten Daten durchgeführt. Nach Ausschluss der nicht validen bzw. als Ausreißer identifizierten Biotests sowie derjenigen Tests ohne auswertbare Dosis-Wirkungsbeziehung basieren die statistischen Auswertungen des vorliegenden Ringtests auf 5 bzw. 8 Algentest (HSR-2-Eluat bzw. BAM-G1-Eluat) sowie jeweils 11-16 Daphnientests, Leuchtbakterientests und Fischeitests. Mit Ausnahme des Algentests mit HSR-2-Eluat sind die Ergebnisse statistisch aussagekräftig.

Das Eluat von Prüfkörper BAM-G1 ergab generell deutlich niedrigere EC₅₀-Werte als das von Prüfkörper HSR-2, d.h. es war erheblich toxischer. Leuchtbakterientest, Algentest und Daphnientest waren grundsätzlich in der Lage, eine toxische Wirkung der geprüften Eluate anzuzeigen. Der Fischeitest erwies sich als deutlich unempfindlicher als die übrigen Tests und zeigte mit HSR-2-Eluat gar keine Effekte. Die übrigen Biotests waren je nach Testgut unterschiedlich sensitiv: BAM-G1-Eluat: Sensitivität Daphnientest > Leuchtbakterientest > Algentest >> Fischeitest; HSR-2-Eluat: Sensitivität Leuchtbakterientest >> Algentest > Daphnientest > Fischeitest.

Mit wenigen Ausnahmen wurde in den parallel über den gesamten Ablauf mitgeführten Blindwertkontrollen in der Verdünnungsstufe 2 keine Toxizität gefunden. Somit wurden in den verschiedenen Versuchsabschnitten, von der Elution über Eluatlagerung und Eluatvorbehandlung bis zur Durchführung der Ökotoxizitätstests, keine signifikanten Kontaminationen über das Elutionswasser und die Gerätschaften eingetragen.

Die ermittelten Variationskoeffizienten lagen für BAM-G1-Eluat zwischen 73% und 110%, für HSR-2-Eluat zwischen 9% und 75%. Eine einheitliche Rangfolge der verwendeten Biotests hinsichtlich der Reproduzierbarkeit ihrer Ergebnisse ließ sich nicht ableiten, vielmehr hing die Reproduzierbarkeit eines EC₅₀- oder G-Wertes in erster Linie vom Testgut ab, dabei galt: je toxischer das Testgut, desto variabler die Ergebnisse. Dies ist möglicherweise darauf zurückzuführen, dass bei Testgut mit stark toxischer Wirkung schon geringe Unterschiede beim Elutionsprozess große Unterschiede in der Wirkung auf die geprüften Testorganismen zur Folge haben können.

Die ermittelten Variabilitäten stellen Untergrenzen dar, da mit dem gegebenen Ringtestdesign nur die Interlaborvarianz ermittelt werden konnte, nicht die Wiederholvarianz.

Elutionsprozess, Probenlagerung und Probenvorbehandlung spielen vermutlich eine zentrale Rolle bezüglich Aussagekraft und Reproduzierbarkeit. Zukünftige Standardisierungsbestrebungen sollten deshalb dort ansetzen.

Sowohl in ihrer absoluten Höhe als auch in der Reihenfolge der Empfindlichkeit der Testorganismen unterschieden sich beiden geprüften Bauprodukte deutlich, so dass der Gesamtprozess aus Elutionsverfahren und Testbatterie als grundsätzlich geeignet bewertet werden kann, eine ökotoxikologische Charakterisierung der Bauprodukte mit akzeptabler Variabilität vorzunehmen.

Anhang

Tabelle A1: Probenlagerung und Lagerungsdauer

BAM-G1, Biotest			
date elution - start biotest frozen / freshly prepared / 4°			
Daphnia	Bacteria	Algae	Fish
L01 24.9.-12.10.	L01 24.9.-12.10.	L01 24.9.-2.11.	L02 20.10.-27.10
L02 20.10.-3.11.	L02 20.10.-21.10.	L02 20.10.-27.10	L04 20.10.-26.10.
L04 20.10.-17.11.	L06 26.8.-20.10.	L04 20.10.-26.10.	L05 13.10.-1.12.
L05 13.10.	L07 28.10.-12.11.	L05 13.10.	L06 25.8.-21.9.
L06 26.8.-20.10.	L08 14.11.-18.11.	L06 26.8.-10.11.	L07 28.10.-10.11.
L07 28.10.-10.11.	L09 6.10.	L07 28.10.-6.11.	L09 17.11.
L08 3.11.	L10 25.9.-6.10.	L08 3.11.	L10 25.9.-17.11.
L09 17.11.	L11 7.10.	L11 7.10.-13.10.	L11 7.10.-5.11.
L10 25.9.-4.11.	L12 30.9.-15.10.	L12 29.9.-16.11.	L12 30.9.-5.10.
L11 7.10.-3.11.	L13 17.11.-3.12.	L13 17.11.-30.11.	L13 17.11.-23.11.
L12 30.9.-26.10.	L14 20.10.-2.11.	L15 6.10. -13.10.	L14 20.10.-3.11.
L13 17.11.-24.11.	L15 6.10. - 13.10.	L18 7.10.-3.11. - 13.11.*	L16 29.9.-20.10.
L14 20.10.-3.11.	L16 29.9.-19.10.		
L15 6.10. -19.10	L18 7.10.-30.10.		
L16 29.9.-19.10.			
L17 9.10.-13.10.-15.10			
L18 7.10.-3.11.			

*L18: Eluat war TK, aber nach Auftauen aufbewahrt bis zum Test

L09 **mehrere** Elutionsprozesse, jeweils frisch hergestellt

L10 Elution durch Hydrotox

HSR-2, Biotest			
date elution - start biotest frozen / freshly prepared / 4°			
Daphnia	Bacteria	Algae	Fish
L01 24.9.-5.10.	L01 24.9.-12.10.	L01 24.9.-12.10	L02 14.10.-27.10
L02 15.10.-20.10.	L02 15.10.-6.11.	L02 15.10.-27.10.	L04 4.11.-10.11.
L04 3.11.-4.11.	L06 25.9.-9.10.	L04 4.11.-12.11.	L05 3.11.-1.12.
L05 3.11.	L07 28.10.-10.11.	L05 3.11.	L06 25.9. - 29.9.
L06 25.9.-3.11.	L08 17.11.-18.11.	L06 24.9.-19.10.	L07 28.10.-17.11.
L07 28.10.-4.11.	L09 6.10.-17.11.	L07 28.10.-6.11.	L09 6.10.
L08 17.11.	L10 25.9.-8.10.	L08 17.11.	L10 25.9.-21.10.
L09 6.10.	L11 8.10.	L11 8.10.-2.11.	L11 8.10.
L10 25.9.-13.10.	L12 29.9.-14.10.	L12 29.9.-12.10.	L12 29.9.-20.10.
L11 8.10.	L13 17.11.-1.12.	L13 17.11.-1.12.	L13 17.11.-23.11.
L12 29.9.-19.10.	L14 20.10.-3.11.	L15 5.10. - 13.10.	L14 20.10.-26.10.
L13 17.11.-24.11.	L15 5.10. -14.10	L18 4.11.-6.11.	L16 29.9.-20.10.
L14 20.10.-26.10.	L16 29.9.-19.10.		
L15 6.10. -19.10	L18 4.11.-6.11.		
L16 29.9.-19.10.			
L17 9.10.-13.10.-15.10			
L18 4.11.-10.11.			

L10 Elution durch Hydrotox

BAM-G1, Biotest			
time frozen / freshly prepared / 4°			
Daphnia	Bacteria	Algae	Fish
L01 18 d	L01 18 d	L01 9 d	L02 7 d
L02 15 d	L02 1 d	L02 7 d	L04 6 d
L04 28 d	L06 55 d	L04 6 d	L05 29 d
L05	L07 15 d	L05 13.10.	L06 27 d
L06 25 d	L08 4 d	L06 44 d	L07 13 d
L07 13 d	L09 6.10.	L07 9 d	L09 17.11.
L08	L10 11 d	L08 3.11.	L10 53 d
L09	L11 7.10.	L11 6 d	L11 29 d
L10 41 d	L12 15 d	L12 48 d	L12 5 d
L11 26 d	L13 16 d	L13 13 d	L13 6 d
L12 26 d	L14 13d	L15 8d	L14 14d
L13 7 d	L15 7d	L18 27d	L16 21 d
L14 14d	L16 20 d		
L15 13d	L18 23 d		
L16 20 d			
L17 4 d + 2 d 4°			
L18 27 d			

HSR-2, Biotest			
time frozen / freshly prepared / 4°			
Daphnia	Bacteria	Algae	Fish
L01 15 d	L01 18 d	L01 18 d	L02 13 d
L02 26 d	L02 22 d	L02 12 d	L04 6 d
L04 3.11.-4.11.	L06 14 d	L04 8 d	L05 28 d
L05 3.11.	L07 13 d	L05 3.11.	L06 4 d
L06 39 d	L08 17.11.-18.11.	L06 25 d	L07 20 d
L07 7 d	L09 48 d	L07 9 d	L09 6.10.
L08 17.11.	L10 13 d	L08 17.11.	L10 26 d
L09 6.10.	L11 8.10.	L11 25 d	L11 8.10.
L10 18 d	L12 15 d	L12 13 d	L12 21 d
L11 8.10.	L13 14 d	L13 14 d	L13 6 d
L12 20 d	L14 14d	L15 8d	L14 6d
L13 7 d	L15 9d	L18 2 d	L16 21 d
L14 6d	L16 20 d		
L15 13d	L18 2 d		
L16 20 d			
L17 4 d + 2 d 4°			
L18 6 d			

Tabelle A2: Getestete Verdünnungen und Testdesigns

BAM-G1, Biotest			
dilution steps according to test protocol / other dilutions / test design			
Daphnia	Bacteria	Algae	Fish
L01	L01	L01	L02
L02	L02 L02	L02	L04 Ctrl 24 R Tr 10 R, Blank 20 R
L04 Ctrl 8 Repl, Tr 4 Repl	L06	L04	L05
L05 Ctrl 4 Repl Tr 3 Repl	L07	L05	L06
L06 2 Repl	L08	L06	L07
L07	L09	L07	L09
L08 + G24, 12, 6	L10	L08 + zusätzliche	L10
L09	L11	L11	L11
L10 2 Repl	L12	L12	L12
L11 2 Repl	L13	L13 Ctrl 3 Repl	L13
L12 2 Repl	L14 (Teilmenge)	L15	L14
L13	L15 (Teilmenge)	L18	L16
L14	L16 (Teilmenge)		
L15 3 Repl a 6*	L18		
L16 2 Repl a 10			
L17			
L18			

sofern nicht anders vermerkt:
Ctrl + Tr 4 Replikate a 5 Tiere

sofern nicht anders vermerkt:
Ctrl 6 + Tr 3 Replikate

sofern nicht anders vermerkt: Ctrl
10 + Tr 10 Replikate a jeweils 1 Tier

HSR-2, Biotest			
dilution steps according to test protocol / other dilutions / test design			
Daphnia	Bacteria	Algae	Fish
L01	L01	L01	L02
L02	L02 L02	L02	L04 Ctrl 24 Repl Tr 10 Repl
L04 Ctrl 6 Repl, Tr 4 Repl	L06	L04	L05
L05	L07	L05	L06
L06 2 Repl	L08	L06 ohne G32	L07
L07	L09	L07	L09
L08 ohne G8	L10	L08	L10
L09	L11	L11	L11
L10 2 Repl	L12	L12	L12
L11 2 Repl	L13	L13	L13
L12 2 Repl	L14 (Teilmenge)	L15	L14
L13	L15 (Teilmenge)	L18	L16
L14	L16 (Teilmenge)		
L15 3 Repl a 6*	L18		
L16 2 Repl a 10			
L17			
L18			

sofern nicht anders vermerkt: Ctrl
+ Tr 4 Replikate a 5 Tiere

sofern nicht anders vermerkt:
Ctrl 6 + Tr 3 Replikate

sofern nicht anders vermerkt: Ctrl
10 + Tr 10 Replikate a jeweils 1 Tier

*L15: eigentlich 6 Repl a 3 Tiere;
aber je 2 Replikate zusammen
eingetragen in template

*L15: gleiche Verdünnungen und
Ergebnisse wie BAM - Vewechs-
lung?

Tabelle A3: Ergebnisse Blankmessungen

BAM-G1			
Blank kein Effekt / Tote > 10% o. %Hemmung (Bact) o. % von control (Alge) >10%			
Daphnia	Bacteria	Algae	Fish
L01	L01 4,1%	L01 98%	L02 1 Tot von 10
L02	L02 11%	L02 127%	L04
L04 4 Tote von 20	L06 3,75%	L04 104%	L05*
L05	L07 4,6%	L05 kein Blank	L06 1 tot von 10
L06 1 tot von 10	L08	L06 98%	L07
L07	L09 1,8%	L07 95%	L09
L08	L10	L08 99%	L10
L09 1 tot von 20	L11	L11 112%	L11* (24h)
L10	L12	L12 90%	L12
L11	L13 kein Blank	L13 40%	L13
L12	L14 1,8%	L15 103%	L14
L13	L15 -4,3%	L18 82%	L16
L14	L16 1,9%		
L15	L18		
L16			
L17 2 tot von 20			
L18			

Effekte +/- 1% = nicht angegeben

*L05: Datei fehlt, aber laut Protokoll keine Toten in Blank

*L11 nur 24h Werte

HSR-2			
Blank kein Effekt / Tote > 10% o. %Hemmung (Bact) o. % von control (Alge) >10%			
Daphnia	Bacteria	Algae	Fish
L01	L01 3,9%	L01 104%	L02
L02	L02 7%	L02 136%	L04
L04 3 Tote von 30	L06 6,5%	L04 105%	L05*
L05	L07 3%	L05 121%	L06
L06 2 tot von 10	L08 5%	L06 113%	L07
L07	L09 4,7%	L07 95%	L09
L08	L10	L08 111%	L10
L09	L11	L11 86%	L11
L10	L12	L12 103%	L12
L11	L13 87%	L13 kein Blank	L13
L12	L14	L15 102%	L14
L13	L15 kein Blank	L18 78%	L16
L14	L16 1,9%		
L15	L18 2,5%		
L16			
L17 2 tot von 20			
L18			

Effekte +/- 1% = nicht angegeben

*L05: Datei fehlt, aber laut Protokoll keine Toten in Blank

Tabelle A4: Ergebnisse Validitätsprüfung Daphnientest

BAM-G1				HSR-2			
Daphnia				Daphnia			
O2 Test Ende >= 2 mg/L	Mortality ctrl <= 10%	24h EC50 KCr2 0,6-2,1 mg/L	valid / not valid	O2 Test Ende >= 2 mg/L	Mortality ctrl <= 10%	24h EC50 KCr2 0,6-2,1 mg/L	valid / not valid
keine Angabe	0%	1,23	L01	keine Angabe	0%	1,23	L01
8,0	0%	2,00	L02	8,3	0%	1,61	L02
keine Angabe	2,50%	1,02	L04	keine Angabe	3,33%	1,02	L04
keine Angabe	0%	keine Angabe	L05	keine Angabe	0%	keine Angabe	L05
7,8	10%	1,27	L06	7,4	0%	1,27	L06
keine Angabe	0%	0,72	L07	keine Angabe	0%	0,72	L07
keine Angabe	0%	1,06	L08	keine Angabe	0%	1,21	L08
8,1	0%	1,40	L09	8,6	0%	1,4	L09
keine Angabe	0%	1,35	L10	keine Angabe	0%	1,35	L10
keine Angabe	0%	0,99	L11	keine Angabe	0%	1,02	L11
8,6	0%	1,14	L12	8,5	0%	1,14	L12
keine Angabe	0%	2,35 (ZnCl2)	L13 *	keine Angabe	5%	2,35 (ZnCl2)	L13*
8,7	0%	1,3	L14	9,0	0%	1,3	L14
keine Angabe	0%	0,95	L15	keine Angabe	0%	0,95	L15
8,4	0%	1,1	L16	8,5	0%	1,1	L16
keine Angabe	10%	1,23	L17	keine Angabe	10%	1,23	L17
keine Angabe	0%	1,16	L18	keine Angabe	0%	1,16	L18

*L13: Ref.Substance ZnCl2; Ergebnisse Aquacheck Ringtest, Daphnia 48h, ZnCl2: Mittelwert 1,82 mg/L, Std 0,330 mg/L; hieraus berechneter 95%-Vorhersagebereich des Mittelwerts: 1,17 – 2,47 mg/L → valide

Tabelle A5: Ergebnisse Validitätsprüfung Leuchtbakterientest

BAM-G1				HSR-2			
Bacteria				Bacteria			
I kt 0,6-1,3	CV% Ikt <= 3% CV% Inhib <= 3	Ref Hemmung 20-80%	valid / not valid	I kt 0,6-1,3	CV% Ikt <= 3% CV% Inhib <= 3	Ref Hemmung 20-80%	valid / not valid
1,02	0,009 / ok	39,5	L01	0,97	2,5 / ok	41,3	L01
0,99	2,6 / ok	41	L02	1,03	2,8 / ok	42	L02
1,12	0,64 / ok	45-60	L06	1,15	0,25 / ok	45-60	L06
0,99	0,11 / ok	63,5	L07	1,07	0,96 / ok	63,5	L07
0,8	1,79 / ok	39,9	L08	0,8	1,1 / ok	41	L08
1,2	0,40 / ok	46	L09	1,13	0,83 / ok	60	L09
1,17	0,63 / ok	36	L10	1,13	1,11 / ok	32,7	L10
1,15	0,15 / ok	38	L11	1,14	1,36 / ok	38	L11
1,14	0 / ok	55,6	L12	1,11	0 / ok	59,6	L12
0,81	0,25 / 2 Verd 3,9 + 6,0	22	L13	0,79	3,4 / 5 Verd > 3	22	L13
1	0,66 / ok	42,1	L14	0,94	0,44 / ok	39,1	L14
0,98	0,06 / ok	37	L15	0,97	1,42 / ok	37	L15
0,99	0,15 / ok	67	L16	1,13	0,14 / ok	64	L16
1,15	1,24 / ok	55,7	L18	0,98	2,5 / ok	50,7	L18

Tabelle A6: Ergebnisse Validitätsprüfung Algentest

BAM-G1				HSR-2			
Algae				Algae			
Gr >= 1,4 d oder BF >= 67 / 72h	CV% <= 5%	Diff pH <= 1,5	valid / not valid	Gr >= 1,4 d oder BF >= 67 / 72h	CV% <= 5%	Diff pH <= 1,5	valid / not valid
1,509	0,3	1,49	L01	1,389	0,5	1,17	L01
1,766	0,7	0,13	L02	1,766	0,7	0,13	L02
1,876	1,9	0,5	L04	1,94	2,1	0,4	L04
1,236	4,9	0,4	L05	1,314	4,7	0,52	L05
1,75	1,5	0,1	L06	1,882	1	0	L06
1,45	0,5	1,3	L07	1,45	0,5	1,4	L07
1,626	1,5	1,2	L08	1,603	1,2	0,2	L08
1,561	1,6	0,47	L11	1,749	2	0,8	L11
1,643	3,478	1,82	L12	1,741	12,64**	1,94	L12
1,031 *	2,8	2,26	L13	1,054 *	6,3*	0,68	L13
0,332	12,2	0,5	L15	0,296	23,1	0,5	L15
1,468	1,7	1,4	L18	1,545	1	1,4	L18

** L12 ausgewertet mit pooled control; wenn basierend auf Einzelkontrollen C1 GR 1,541, CV% 2,2; C2 GR 1,941 CV% 5: --> valide; aber dennoch insgesamt invalide wegen pH-shift

Tabelle A7: Ergebnisse Validitätsprüfung Fischtest

BAM-G1			HSR-2		
Fish			Fish		
Mortality <= 10%	PosCtrl >= 10%	valid / not valid	Mortality <= 10%	PosCtrl >= 10%	valid / not valid
0%	30%	L02	0%	30%	L02
0%	100%	L04	4,20%	100%	L04
0%	60%	L05	0%	80%	L05
0%	60%	L06	0%	30%	L06
0%	100%	L07	0%	100%	L07
10%	90%	L09	0%	100%	L09
0%	70%	L10	0%	50%	L10
0%	50%	L11	0%	90%	L11
0%	90%	L12	0%	90%	L12
0%	20%	L13	0%	60%	L13
0%	80%	L14	0%	90%	L14
0%	100%	L16	0%	100%	L16

Tabelle A8: Übersicht über die Randbedingungen der Biotests mit Eluat von Prüfkörper BAM-G1. Rot markiert: Probenlagerung abweichend vom Prüfplan, Blank-Effekte größer 10% oder kein Blank gemessen, getestete Verdünnungen abweichend vom Prüfplan, ein oder mehrere Validitätskriterien nicht erfüllt.

BAM-G1				BAM-G1			
Daphnia				Bacteria			
Eluate not frozen	Blanks Effects	other dilutions / Design	Validity	Eluate not frozen	Blanks Effects [% Inhibition]	other dilutions / method	Validity
L01	L01	L01	L01	L01	L01 4,1%	L01 (2)	L01
L02	L02	L02	L02	L02	L02 11%	L02 L02 (2)	L02
L04	L04 4 Tote von 20	L04 Ctrl 8 R, Tr 4 R	L04	L06	L06 3,75%	L06 (2)	L06
L05	L05	L05	L05	L07	L07 4,6%	L07 (2)	L07
L06	L06 1 tot von 10	L06 2 Repl	L06	L08	L08	L08 (3)	L08
L07	L07	L07	L07	L09	L09 1,8%	L09 (2)	L09
L08	L08	L08 + G24, 12, 6	L08	L10	L10	L10 (2)	L10
L09	L09 1 tot von 20	L09	L09	L11	L11	L11 (2)	L11
L10	L10	L10 2 Repl	L10	L12	L12	L12 (1)	L12
L11	L11	L11 2 Repl	L11	L13	L13 kein Blank	L13 (3)	L13
L12	L12	L12 2 Repl	L12	L14	L14 1,8%	L14 (Teilmenge) (2)	L14
L13	L13	L13	L13	L15	L15 -4,3%	L15 (Teilmenge) (3)	L15
L14	L14	L14	L14	L16	L16 1,9%	L16 (Teilmenge) (2)	L16
L15	L15	L15 3 Repl a 6*	L15	L18	L18	L18 (2)	L18
L16	L16	L16 2 Repl a 10	L16				
L17	L17 2 tot von 20	L17	L17				
L18	L18	L18	L18				

Method: (1) = freshly prepared, (2) = liquid dried, (3) = freeze dried

BAM-G1				BAM-G1			
Algae				Fish			
Eluate not frozen	Blanks Effects [% Inhibition]	other dilutions / method	Validity	Eluate not frozen	Blanks Effects	other dilutions / Design	Validity
L01	L01 98%	L01 Fl	L01	L02	L02 1 Tot von 10	L02	L02
L02	L02 127%	L02 cc	L02	L04	L04	L04 Ctrl 24 R Tr 10 R	L04
L04	L04 104%	L04 cc	L04	L05	L05*	L05	L05
L05	L05 kein Blank	L05 cc	L05	L06	L06 1 tot von 10	L06	L06
L06	L06 98%	L06 cc	L06	L07	L07	L07	L07
L07	L07 95%	L07 cc	L07	L09	L09	L09	L09
L08	L08 99%	L08 cc + zusätzliche	L08	L10	L10	L10	L10
L11	L11 112%	L11 ex	L11	L11	L11* (24h)	L11	L11
L12	L12 90%	L12 Fl MW	L12	L12	L12	L12	L12
L13	L13 40%	L13 ex	L13	L13	L13	L13	L13
L15	L15 103%	L15 ex	L15	L14	L14	L14	L14
L18	L18 82%	L18 cc	L18	L16	L16	L16	L16

Method: cc = cellcounts, ex = extinction, fl = fluorescence, MW = Microwell

Tabelle A9: Übersicht über die Randbedingungen der Biotests mit Eluat von Prüfkörper HSR-2. Rot markiert: Probenlagerung abweichend vom Prüfplan, Blank-Effekte größer 10% oder kein Blank gemessen, getestete Verdünnungen abweichend vom Prüfplan, ein oder mehrere Validitätskriterien nicht erfüllt.

HSR-2				HSR-2			
Daphnia				Bacteria			
Eluate not frozen	Blanks Effects	other dilutions / Design	Validity	Eluate not frozen	Blanks Effects [% Inhibition]	other dilutions / method	Validity
L01	L01	L01	L01	L01	L01 3,9%	L01 (2)	L01
L02	L02	L02	L02	L02	L02 7%	L02 L02 (2)	L02
L04	L04 3 Tote von 30	L04 Ctrl 6 R, Tr 4 R	L04	L06	L06 6,5%	L06 (2)	L06
L05	L05	L05	L05	L07	L07 3%	L07 (2)	L07
L06	L06 2 tot von 10	L06 2 Repl	L06	L08	L08 5%	L08 (3)	L08
L07	L07	L07	L07	L09	L09 4,7%	L09 (2)	L09
L08	L08	L08 ohne G8	L08	L10	L10	L10 (2)	L10
L09	L09	L09	L09	L11	L11	L11 (2)	L11
L10	L10	L10 2 Repl	L10	L12	L12	L12 (1)	L12
L11	L11	L11 2 Repl	L11	L13	L13 87%	L13 (3)	L13
L12	L12	L12 2 Repl	L12	L14	L14	L14 (Teilmenge) (2)	L14
L13	L13	L13	L13	L15	L15 kein Blank	L15 (Teilmenge) (3)	L15
L14	L14	L14	L14	L16	L16 1,9%	L16 (Teilmenge) (2)	L16
L15	L15	L15 3 Repl a 6*	L15	L18	L18 2,5%	L18 (2)	L18
L16	L16	L16 2 Repl a 10	L16				
L17	L17 2 tot von 20	L17	L17				
L18	L18	L18	L18				

Method: (1) = freshly prepared, (2) = liquid dried, (3) = freeze dried

HSR-2				HSR-2			
Algae				Fish			
Eluate not frozen	Blanks Effects [% Inhibition]	other dilutions / method	Validity	Eluate not frozen	Blanks Effects	other dilutions / Design	Validity
L01	L01 104%	L01 Fl	L01	L02	L02	L02	L02
L02	L02 136%	L02 cc	L02	L04	L04	L04 Ctrl 24 Repl Tr 10 R	L04
L04	L04 105%	L04 cc	L04	L05	L05*	L05	L05
L05	L05 121%	L05 cc	L05	L06	L06	L06	L06
L06	L06 113%	L06 cc ohne G32	L06	L07	L07	L07	L07
L07	L07 95%	L07 cc	L07	L09	L09	L09	L09
L08	L08 111%	L08 cc	L08	L10	L10	L10	L10
L11	L11 86%	L11 ex	L11	L11	L11	L11	L11
L12	L12 103%	L12 Fl MW	L12	L12	L12	L12	L12
L13	L13 kein Blank	L13 ex	L13	L13	L13	L13	L13
L15	L15 102%	L15 ex	L15	L14	L14	L14	L14
L18	L18 78%	L18 cc	L18	L16	L16	L16	L16

Method: cc = cellcounts, ex = extinction, fl = fluorescence, MW = Microwell

Tabelle A10: Ergebnisse Daphnientests. Grau markierte Ergebnisse: ausgeschlossen aus statistischer Auswertung weil nicht valide; grau schraffiert: ausgeschlossen, weil Ausreißer

BAM-G1					HSR-2				
Labor	G (10%)	EC50 (Vol %)	95% l	95%u	Labor	G (10%)	EC50 (Vol %)	95% l	95%u
L01	256	1,085	0,894	1,38	L01	2	70,711*	50	100
L02	192	0,999	0,828	1,211	L02	3	51,635	43,135	69,546
L04 b	> 512	n.a.	n.a.	n.a.	L04 a	2	67,957**	64,204	71,929
L05 a	> 512	0,221	0,193	0,246	L05 a	2	n.a.	n.a.	n.a.
L06	96	1,311	0,85	2,424	L06 b	2	65,31**	58,381	73,062
L07	128	1,089	0,873	1,368	L07	2	66,931**	62,176	72,05
L08 a	256	1,243	1,071	1,46	L08 a	2	70,711*	50	100
L09 a	384	0,462	0,288	0,703	L09 a	3	58,809***	50,188	68,812
L10	1536	0,085**	0,078	0,093	L10	3	57,223	47,088	75,981
L11	960	0,151	0,127	0,174	L11 a	2	66,931**	60,307	74,284
L12	1024	0,233	0,052	0,47	L12	2	70,711*	50	100
L13	512	0,288**	0,262	0,317	L13	3	63,466***	54,227	74,87
L14 a	192	1,985	1,549	3,123	L14 a	2	70,711*	50	100
L15	1024	0,378	0,3	0,476	L15 d	1024	0,392	0,313	0,49
L16	384	0,838	0,716	0,99	L16	3	65,84	56,262	80,079
L17	512	0,42	0,364	0,481	L17	8	34,647	28,866	42,684
L18	512	0,742	0,616	0,903	L18	>8	63,787***	38,815	291,505
Anzahl Biotests für Statistik				16	Anzahl Biotests für Statistik				14

**L10 Spearman Kärber ohne Trim;
n.a. nicht auswertbar, da in allen Verdünnungen 100% Mortalität

*L01, L08, L12, L14 Binomial Estimation;
**L04, L06, L07, L11 Spearman Kärber ohne Trim;
***L09, L13, L18: Weibull

Tabelle A11: Ergebnisse Algentests. Grau markierte Ergebnisse: ausgeschlossen aus statistischer Auswertung weil nicht valide; grau schraffiert: ausgeschlossen, weil Ausreißer

BAM-G1					HSR-2				
Labor	G (5%)	EC50 (Vol %)	95% l	95%u	Labor	G (5%)	EC50 (Vol %)	95% l	95%u
L01	>512	0,391	0,381	0,401	L01 c	4	n.d.	n.d.	n.d.
L02 b	96	2,324	1,976	2,711	L02 b	4	34,762	30,591	39,246
L04	384	2,853	1,19	6,547	L04	3	n.d.	n.d.	n.d.
L05 a, b*, c	192	2,191	1,67	2,834	L05 a b c	>32	n.d.	n.d.	n.d.
L06	192	1,205	1,115	1,299	L06 b	12	25,865	21,287	31,195
L07	192	2,771	2,398	3,175	L07	8	52,367	39,982	67,814
L08 a	192	2,444	1,524	3,881	L08 a, b	2	n.d. #	n.d.	n.d.
L11 b	48	4,477	4,256	4,701	L11 b	3	62,321	55,83	69,354
L12 c	192	1,065*	0,829	1,381	L12 c	3	n.d.	n.d.	n.d.
L13 b c	64	2,651	2,05	3,38	L13 b* c	3	n.d.	n.d.	n.d.
L15 c	> 256	0,032*	0,012	0,062	L15 c	>64	n.d.	n.d.	n.d.
L18 a, b	>512	0,473*	0,452	0,495	L18 b	24	48,974	36,238	65,132
Anzahl Biotests für Statistik				8	Anzahl Biotests für Statistik				5

*L12, L15, L18: ECx: lin Reg., Probit

n.d.: EC50 und VB nicht bestimmbar, da keine ausreichende Dosis-Wirkungs-Beziehung
L08 provided a corrected data set after the final workshop took place. The data could not be considered for the statistical evaluations anymore, but is reported here: EC50 65,6 95%CI 61,9-69,9 Vol %

Gekennzeichnet: a) Probenlagerung abweichend vom Prüfplan, b) Blanks >10% b*=kein Blank, c) nicht valide; EC-Bestimmung: sofern nicht anders angegeben: nicht-lineare Regression, 3-Parameter-normal-CDF

Tabelle A12: Ergebnisse Leuchtbakterientests. Grau markierte Ergebnisse: ausgeschlossen aus statistischer Auswertung weil nicht valide; grau schraffiert: ausgeschlossen, weil Ausreißer

BAM-G1					HSR-2				
Labor	G (20%)	EC50 (Vol %)	95% I	95%u	Labor	G (20%)	EC50 (Vol %)	95% I	95%u
L01	1536	0,552	0,503	0,614	L01	96	12,487	9,975	16,748
L02 b	24	15,007*	11,436	29,677	L02	32	9,238	6,44	29,4
L06	1536	0,406	0,374	0,444	L06	96	7,248	4,643	22,16
L07	768	0,779	0,658	0,973	L07	32	20,15	17,856	23,123
L08	2048	0,322	0,311	0,333	L08	128	3,765	3,409	4,22
L09 a	256	4,507	2,609	10,44	L09 a	24	21,952	16,252	35,746
L10	768	0,7	0,656	0,751	L10	32	15,13	13,434	17,37
L11 a	512	1,464	1,264	1,739	L11 a	16	41,187	36,899	46,638
L12	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	L12	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
L13 c	512	0,953	0,591	2,922	L13 b,c	24	28,714	18,002	64,122
L14 a	384	1,78	1,39	2,477	L14 a	32	20,106	12,16	57,553
L15	1024	0,555	0,403	0,776	L15	64	17,344	14,051	22,103
L16	768	0,709	0,595	0,89	L16	48	10,777	9,452	12,671
L18	>2048	0,25	0,225	0,281	L18	96	5,399	4,391	7,294
Anzahl Biotests für Statistik				11	Anzahl Biotests für Statistik				12

*L02 Fit with replicates
n.d.: L12 keinerlei Effekte gemessen

n.d.: L12 keinerlei Effekte gemessen

Tabelle A13: Ergebnisse Fischeitests. Grau markierte Ergebnisse: ausgeschlossen aus statistischer Auswertung weil nicht valide; grau schraffiert: ausgeschlossen, weil Ausreißer.

BAM-G1					HSR-2				
Labor	G (10%)	EC50 (Vol %)	95% I	95%u	Labor	G (10%)	EC50 (Vol %)	95% I	95%u
L02	6	28,817**	24,333	34,126	L02	1	n.d.	n.d.	n.d.
L04	4	26,017**	23,291	29,062	L04	2	n.d.	n.d.	n.d.
L05	6	26,555***	23,496	37,749	L05	1	n.d.	n.d.	n.d.
L06	6	33,173***	28,114	38,949	L06	1	n.d.	n.d.	n.d.
L07	8	16,762***	15,253	19,943	L07	2	n.d.	n.d.	n.d.
L09 a	12	22,643***	17,534	27,499	L09 a	1	n.d.	n.d.	n.d.
L10	12	22,5***	18,102	26,608	L10	1	n.d.	n.d.	n.d.
L11	48	3,081***	2,547	3,495	L11 a	1	n.d.	n.d.	n.d.
L12	12	13,989	11,888	16,341	L12	1	n.d.	n.d.	n.d.
L13	6	21,095**	18,348	24,253	L13	1	n.d.	n.d.	n.d.
L14 a	256	0,454	0,418	0,491	L14 a	1	n.d.	n.d.	n.d.
L16	6	32,781***	28,123	40,756	L16	2	n.d.	n.d.	n.d.
Anzahl Biotests für Statistik				12					

*Binomial Estimation
** L02, L04, L13: Spearman Kärber ohne Trim
***L05, L06, L07, L09, L10, L11, L16: Weibull

n.d. entweder gar keine Effekte, oder nur in höchster Konzentration geringer Effekt, in keinem Fall Ableitung einer EC50 mit Vertrauensbereichen möglich

Gekennzeichnet: a) Probenlagerung abweichend vom Prüfplan, b) Blanks >10% b*=kein Blank, c) nicht valide; EC-Bestimmung: sofern nicht anders angegeben: Probit, keine Abbott Korrektur;