

TEXTE

44/2021

Abschlussbericht

Entwicklung eines ökotoxikologischen Bewertungsansatzes für Böden auf Basis der bioverfügbaren Fraktion von Schadstoffen unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Filter- und Puffereigenschaften von Böden

von:

Jörg Römbke, Stephan Jänsch, Renzo Minati
ECT Ökotoxikologie GmbH, Flörsheim

Daniel Rückamp
Bundesanstalt für Geowissenschaften und Rohstoffe im GEOZENTRUM Hannover, Hannover

Koen Oorts
ARCHE Consulting, Leuven (Belgien)

Herausgeber:
Umweltbundesamt

TEXTE 44/2021

Ressortforschungsplan des Bundesministeriums für
Umwelt, Naturschutz und nukleare Sicherheit

Forschungskennzahl 3715 73 200 0
FB000377

Abschlussbericht

Entwicklung eines ökotoxikologischen Bewertungsansatzes für Böden auf Basis der bioverfügbaren Fraktion von Schadstoffen unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Filter- und Puffereigenschaften von Böden

von

Jörg Römbke, Stephan Jänsch, Renzo Minati
ECT Oekotoxikologie GmbH, Flörsheim

Daniel Rückamp
Bundesanstalt für Geowissenschaften und Rohstoffe im
GEOZENTRUM Hannover, Hannover

Koen Oorts
ARCHE Consulting, Leuven (Belgien)

Im Auftrag des Umweltbundesamtes

Impressum

Herausgeber

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

 [/umweltbundesamt.de](https://www.facebook.com/umweltbundesamt.de)

 [/umweltbundesamt](https://twitter.com/umweltbundesamt)

Durchführung der Studie:

ECT Oekotoxikologie GmbH
Böttgerstr. 2-14
65439 Flörsheim

Bundesanstalt für Geowissenschaften und Rohstoffe im
GEOZENTRUM Hannover
Stilleweg 2
30655 Hannover

ARCHE Consulting
Tiensevest 132
3000 Leuven
Belgien

Abschlussdatum:

Juni 2020

Redaktion:

Fachgebiet II 2.6 Maßnahmen des Bodenschutzes
Annegret Biegel-Engler, Evelyn Giese

Publikationen als pdf:

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

ISSN 1862-4804

Dessau-Roßlau, März 2021

Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei den Autorinnen und Autoren.

Kurzbeschreibung

Das Vorhaben hatte das Ziel, ausgehend von den Ergebnissen einer Literaturrecherche primär am Beispiel von Arsen ein Konzept zur Ableitung von vorsorgeorientierten Bodenwerten speziell für den Pfad Boden – Bodenorganismen auf der Grundlage der bioverfügbaren Anteile von (Halb-)Metallen zu erarbeiten. Zur praktischen Umsetzung wurden ökotoxikologische standardisierte Tests mit acht Bodenorganismen-Arten in sechs unterschiedlichen, bodenkundlich umfassend charakterisierten Feldböden durchgeführt, wobei die jeweilige Metallkonzentration mittels sechs Extraktionsverfahren unterschiedlicher Stärke bestimmt wurde. Für jeden Tests wurden die entsprechenden Effektkonzentrationen (EC_{10} - bzw. EC_{50} -Werte) berechnet. Die Stärke der verschiedenen Extraktionsverfahren nahm für As bei allen Böden in der Reihenfolge Königswasser > HNO_3 > DTPA > $Ca(NO_3)_2$ > $= CaCl_2$ > NH_4NO_3 ab. Anschließend wurden die Ergebnisse der in den verschiedenen Böden durchgeführten ökotoxikologischen Tests mit den jeweiligen chemischen Rückstandsdaten zusammengeführt, um diejenige Extraktionsmethode zu identifizieren, die die Bioverfügbarkeit am besten widerspiegelt. Zwei Ansätze zur Ableitung von Bodenwerten wurden identifiziert: entweder auf der Basis der geeignetsten Extraktionsmethodik oder auf der Basis des Gesamtgehalts mit anschließender Normalisierung anhand der jeweiligen Bodeneigenschaften, wobei sich letztere als besser geeignet erwies. Im Einklang mit der Struktur der Bundes-Bodenschutz- und Altlastenverordnung werden folgende vorsorgeorientierte Bodenwerte für die drei Bodenarthauptgruppen vorgeschlagen: Sand = 10 mg/kg; Lehm/Schluff = 30 mg/kg; Ton = 40 mg/kg. Sowohl in Hinsicht auf die in Deutschland vorkommenden Hintergrundgehalte von Arsen als auch im Vergleich mit den Bodenwerten anderer Staaten sind diese Werte als plausibel anzusehen. Analog zum Vorgehen bei Arsen wurden zwei Tests (Arthrobactertest, Regenwurm-Fluchttests) mit Nickel und Kupfer durchgeführt und die Ergebnisse zur Ableitung (zusammen mit vorhandenen Daten) vorsorgeorientierter Bodenwerte genutzt.

Abstract

The aim of the project was, based on the results of a literature search, to develop a concept for the derivation of precaution-oriented soil values especially for the path soil - soil organisms on the basis of the bioavailable fractions of metals and metalloids. For practical implementation, ecotoxicological standardized tests were carried out with eight species of soil organisms in six different soils that were pedologically comprehensively characterized, while the respective metal concentration was determined by means of six extraction methods of different strengths. For each test, the corresponding effect concentrations (EC_{10} or EC_{50} values) were calculated. The strength of the different extraction methods decreased for As in all soils in the order aqua regia > HNO_3 > DTPA > $Ca(NO_3)_2$ > $= CaCl_2$ > NH_4NO_3 . Subsequently, the results of the ecotoxicological tests carried out in the different soils were combined with the respective chemical residue data in order to identify the extraction method that best reflects the bioavailability. Two approaches for the derivation of soil values were identified: either on the basis of the most appropriate extraction methodology or on the basis of the total content followed by normalization based on the respective soil properties, the latter proving to be more suitable. In accordance with the structure of the Federal Soil Protection and Contaminated Sites Ordinance, the following precaution-oriented soil values are proposed for the three main soil texture classes: sand = 10 mg/kg; loam/silt = 30 mg/kg; clay = 40 mg/kg. Both in terms of the background levels of arsenic occurring in Germany and in comparison, with the soil values of other countries, these values may be regarded as plausible. Similar to the procedure for arsenic, two tests (Arthrobacter test, earthworm avoidance tests) with nickel and copper were carried out and the results (together with available data) were used for the derivation of precaution-oriented soil values.

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	10
Tabellenverzeichnis	16
Abkürzungsverzeichnis	24
Zusammenfassung	26
Summary	41
1 Einleitung	54
1.1 Ziele des Vorhabens	54
1.2 Struktur des Vorhabens	55
2 Theoretischer Hintergrund zur Bewertung von Metallen und Halbmetallen in Böden	56
2.1 Gesetzliche Grundlagen	56
2.2 Bestehende Bewertungsansätze und deren Defizite	57
2.3 Theoretischer Ansatz zur Bestimmung der Bioverfügbarkeit von Stoffen im Boden	58
2.4 Fazit: Vorschlag für ein neues Bewertungskonzept	60
3 Durchführung einer Literaturrecherche unter besonderer Berücksichtigung der bisher vorgeschlagenen Bewertungskonzepte zur Einbeziehung der Bioverfügbarkeit bei der Ableitung von Bodenwerten (AP 1)	63
4 Erarbeitung eines Testkonzepts (AP 2)	67
4.1 Vorbemerkung	67
4.2 Auswahl der zu testenden Stoffe (As, Cu, Ni)	67
4.3 Auswahl der Verfahren zur Extraktion der (potentiell) bioverfügbaren Fraktion	68
4.4 Auswahl der Testböden	69
4.4.1 Kriterien für die Auswahl und Beschreibung der ausgewählten Böden	69
4.4.2 Bodeneigenschaften: Eigene Messung	71
4.4.3 Ausgangsgehalte von Arsen in den untersuchten Böden	74
4.5 Auswahl der ökotoxikologischen Testverfahren	75
4.6 Kriterien der Qualitätssicherung	76
4.6.1 Beurteilung von ökotoxikologischen Testergebnissen	76
4.6.2 Qualitätssicherung der chemischen Extraktionen	77
4.6.3 Beurteilung von Bewertungskonzepten	77
5 Experimentelle Durchführung der Tests (AP 3)	79
5.1 Durchführung der Tests mit Arsen	79
5.1.1 Vorbereitung der Testsubstanz und des Testsubstrats	79
5.1.2 Feststoffkontakttest mit <i>Arthrobacter globiformis</i>	80
5.1.3 Stickstoff-Transformationstest	82

5.1.4	Pflanzen-Wurzellängentest mit Gerste	83
5.1.5	Chronischer Wachstumstest mit höheren Pflanzen	84
5.1.6	Regenwurm-Fluchttest.....	86
5.1.7	Chronischer Regenwurmtest.....	87
5.1.8	Chronischer Collembolentest.....	89
5.2	Erfüllung der Validitätskriterien in allen Tests mit Arsen	90
5.3	Statistische Auswertung der ökotoxikologischen Tests mit Arsen	94
6	Ergebnisse der ökotoxikologischen Tests mit Arsen	95
6.1	Ergebnisse der Tests mit dem Boden LUFA 2.2	95
6.2	Ergebnisse der Tests mit dem Boden Refesol 05-G	101
6.3	Ergebnisse der Tests mit dem Boden Refesol 06-A	106
6.4	Ergebnisse der Tests mit dem Boden Ter Munck	111
6.5	Ergebnisse der Tests mit dem Boden Woburn	115
6.6	Ergebnisse der Tests mit dem Boden Zegveld	120
7	Extraktionsversuche und Sorptionsisothermen	125
7.1	Bestimmung der Ionenstärke	125
7.2	Bestimmung der Konzentration von Arsen in den sechs Testböden.....	125
7.3	Bestimmung der Sorptionsisothermen.....	131
8	Vorschlag zur Ableitung von Bodenwerten für Arsen	133
8.1	Einführung in die Problematik	133
8.2	Toxizitätswerte für Arsen.....	133
8.2.1	Überblick über die erarbeiteten EC ₁₀ - und EC ₅₀ -Werte pro Testsystem	133
8.2.2	Korrelation zwischen dem As-Gesamtgehalt und Bodeneigenschaften.....	144
8.3	Ableitung der Bodenwerte für Arsen.....	148
8.3.1	Einleitung.....	148
8.3.2	Erarbeitung eines neuen Ableitungskonzepts	148
8.3.3	Umsetzung des neuen Konzepts auf der Basis der geeignetsten Extraktionsmethodik.....	150
8.3.4	Umsetzung des neuen Konzepts auf der Basis des Arsen-Gesamtgehalts und der Normalisierung der Toxizitätsdaten	150
8.4	Finale Empfehlung	154
9	Plausibilität der vorgeschlagenen Werte für Arsen.....	155
9.1	Einleitung	155
9.2	Vergleich der vorgeschlagenen Werte mit natürlichen Hintergrundgehalten	155
9.3	Abgleich der vorgeschlagenen Werte mit vergleichbaren internationalen Bodenwerten	156

9.4	Fazit der Plausibilitätsprüfung	158
10	Ausblick und weiterer Forschungsbedarf	159
10.1	Ableitung weiterer Bodenwerte	159
10.2	Experimentelle Durchführung	159
10.3	Ausblick	160
11	Quellenverzeichnis.....	161
12	Anhang: Durchführung und Ergebnisse der Tests mit Kupfer und Nickel	168
12.1	Einführung	168
12.2	Ausgangsgehalte von Kupfer und Nickel in den Test-Böden	168
12.3	Durchführung der Tests mit Kupfer	169
12.4	Ergebnisse der ökotoxikologischen Tests für das Metall Kupfer	170
12.4.1	Ergebnisse der Tests mit dem Boden LUFA 2.2.....	170
12.4.2	Ergebnisse der Tests mit dem Boden Refesol 05-G	171
12.4.3	Ergebnisse der Tests mit dem Boden Refesol 06-A.....	173
12.4.4	Ergebnisse der Tests mit dem Boden Ter Munck.....	174
12.4.5	Ergebnisse der Tests mit dem Boden Woburn.....	176
12.4.6	Ergebnisse der Tests mit dem Boden Zegveld	177
12.5	Extraktionsversuche und Sorptionsisothermen für das Metall Kupfer	179
12.6	Ableitung von Bodenwerten für Kupfer	184
12.7	Plausibilität der abgeleiteten Bodenwerte für Kupfer.....	190
12.7.1	Vergleich der vorgeschlagenen Werte mit natürlichen Hintergrundgehalten	190
12.7.2	Abgleich der vorgeschlagenen Werte mit vergleichbaren internationalen Bodenwerten	191
12.7.3	Fazit der Plausibilitätsprüfung.....	192
12.8	Durchführung der Tests mit Nickel	193
12.9	Ergebnisse der ökotoxikologischen Tests für das Metall Nickel.....	194
12.9.1	Ergebnisse der Tests mit dem Boden LUFA 2.2.....	194
12.9.2	Ergebnisse der Tests mit dem Boden Refesol 05-G	195
12.9.3	Ergebnisse der Tests mit dem Boden Refesol 06-A.....	197
12.9.4	Ergebnisse der Tests mit dem Boden Ter Munck.....	198
12.9.5	Ergebnisse der Tests mit dem Boden Woburn.....	200
12.9.6	Ergebnisse der Tests mit dem Boden Zegveld	201
12.10	Extraktionsversuche und Sorptionsisothermen für das Metall Nickel	203
12.11	Ableitung von Bodenwerten für Nickel	209
12.12	Plausibilität der abgeleiteten Bodenwerte für Nickel.....	217

12.12.1	Vergleich der vorgeschlagenen Werte mit natürlichen Hintergrundgehalten	217
12.12.2	Abgleich der vorgeschlagenen Werte mit vergleichbaren internationalen Bodenwerten	217
12.12.3	Fazit der Plausibilitätsprüfung.....	219
13	Anhang: Informationen zum Fachgespräch am Ende des Vorhabens.....	220
13.1	Einladungsliste des finalen Fachgesprächs (kursiv = verhindert)	220
13.2	Programm des Fachgesprächs	221
13.3	Protokoll des Fachgesprächs	221

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Beispiel einer SSD (Species Sensitivity Distribution) mit Vertrauensbereichen (Uncertainty range) und ihrer HCp-50 (median hazardous concentration for p% of the biological species).....	62
Abbildung 2:	Überblick der verwendeten Böden. Oben, links nach rechts: LUFA 2.2, Zegveld und Woburn. Unten von links nach rechts: Refesol 05-G, Refesol 06-A und Ter Munck	70
Abbildung 3:	Überblick über die Verteilung wichtiger Bodeneigenschaften in Relation zu Eigenschaften deutscher Böden in der BGR-Datenbank. Die vertikalen Striche markieren die 5, 25, 50, 75 und 95% Quantile	73
Abbildung 4:	Ergebnis des Regenwurm-Reproduktionstests mit Arsen im Boden LUFA 2.2. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle.....	97
Abbildung 5:	Ergebnis des Collembolen-Reproduktionstests mit Arsen im Boden LUFA 2.2. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle.....	97
Abbildung 6:	Ergebnis des Saatenauflauftests (<i>A. sativa</i>) mit Arsen im Boden LUFA 2.2. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle	98
Abbildung 7:	Ergebnis des Saatenauflauftests (<i>S. lycopersicum</i>) mit Arsen im Boden LUFA 2.2. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle.....	98
Abbildung 8:	Ergebnis des Wurzellängentests mit Arsen im Boden LUFA 2.2. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle	99
Abbildung 9:	Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Arsen im Boden LUFA 2.2. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle	99
Abbildung 10:	Ergebnis des Stickstoffmineralisierungstests mit Arsen im Boden LUFA 2.2. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle...	100
Abbildung 11:	Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Arsen im Boden LUFA 2.2. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle	100
Abbildung 12:	Ergebnis des Regenwurm-Reproduktionstests mit Arsen im Boden Refesol 05-G. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle	102
Abbildung 13:	Ergebnis des Collembolen-Reproduktionstests mit Arsen im Boden Refesol 05-G. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle	102
Abbildung 14:	Ergebnis des Saatenauflauftests (<i>A. sativa</i>) mit Arsen im Boden Refesol 05-G. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle	103
Abbildung 15:	Ergebnis des Saatenauflauftests (<i>S. lycopersicum</i>) mit Arsen im Boden Refesol 05-G. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle	103
Abbildung 16:	Ergebnis des Wurzellängentests mit Arsen im Boden Refesol 05-G. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle	104
Abbildung 17:	Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Arsen im Boden Refesol 05-G. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle	104

Abbildung 18:	Ergebnis des Stickstoffmineralisierungstests mit Arsen im Boden Refesol 05-G.....	105
Abbildung 19:	Ergebnis des Regenwurm-Fluchtttests mit Arsen im Boden Refesol 05-G. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle	105
Abbildung 20:	Ergebnis des Regenwurm-Reproduktionstests mit Arsen im Boden Refesol 06-A. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle	107
Abbildung 21:	Ergebnis des Collembolen-Reproduktionstests mit Arsen im Boden Refesol 06-A. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle	107
Abbildung 22:	Ergebnis des Saatenauflauftests (<i>A. sativa</i>) mit Arsen im Boden Refesol 06-A. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle	108
Abbildung 23:	Ergebnis des Saatenauflauftests (<i>S. lycopersicum</i>) mit Arsen im Boden Refesol 06-A. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle	108
Abbildung 24:	Ergebnis des Wurzellängentests mit Arsen im Boden Refesol 06-A. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle.....	109
Abbildung 25:	Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Arsen im Boden Refesol 06-A. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle.....	109
Abbildung 26:	Ergebnis des Stickstoffmineralisierungstests mit Arsen im Boden Refesol 06-A.....	110
Abbildung 27:	Ergebnis des Regenwurm-Fluchtttests mit Arsen im Boden Refesol 06-A. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle.....	110
Abbildung 28:	Ergebnis des Regenwurm-Reproduktionstests mit Arsen im Boden Ter Munck. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle.....	112
Abbildung 29:	Ergebnis des Collembolen-Reproduktionstests mit Arsen im Boden Ter Munck. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle.....	112
Abbildung 30:	Ergebnis des Saatenauflauftests (<i>A. sativa</i>) mit Arsen im Boden Ter Munck. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle.....	113
Abbildung 31:	Ergebnis des Saatenauflauftests (<i>S. lycopersicum</i>) mit Arsen im Boden Ter Munck. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle.....	113
Abbildung 32:	Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Arsen im Boden Ter Munck. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle.....	114
Abbildung 33:	Ergebnis des Stickstoffmineralisierungstests mit Arsen im Boden Ter Munck	114
Abbildung 34:	Ergebnis des Regenwurm-Fluchtttests mit Arsen im Boden Ter Munck	115
Abbildung 35:	Ergebnis des Regenwurm-Reproduktionstests mit Arsen im Boden Woburn. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle....	116
Abbildung 36:	Ergebnis des Collembolen-Reproduktionstests mit Arsen im Boden Woburn. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle....	117

Abbildung 37:	Ergebnis des Saatenauflauftests (<i>A. sativa</i>) mit Arsen im Boden Woburn. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle....	117
Abbildung 38:	Ergebnis des Saatenauflauftests (<i>S. lycopersicum</i>) mit Arsen im Boden Woburn.....	118
Abbildung 39:	Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Arsen im Boden Woburn. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle	118
Abbildung 40:	Ergebnis des Stickstoffmineralisierungstests mit Arsen im Boden Woburn.....	119
Abbildung 41:	Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Arsen im Boden Woburn. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle	119
Abbildung 42:	Ergebnis des Regenwurm-Reproduktionstests mit Arsen im Boden Zegveld. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle	121
Abbildung 43:	Ergebnis des Collembolen-Reproduktionstests mit Arsen im Boden Zegveld. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle	121
Abbildung 44:	Ergebnis des Saatenauflauftests (<i>A. sativa</i>) mit Arsen im Boden Zegveld. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle	122
Abbildung 45:	Ergebnis des Saatenauflauftests (<i>S. lycopersicum</i>) mit Arsen im Boden Zegveld. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle	122
Abbildung 46:	Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Arsen im Boden Zegveld. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle	123
Abbildung 47:	Ergebnis des Stickstoffmineralisierungstests mit Arsen im Boden Zegveld. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle	123
Abbildung 48:	Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Arsen im Boden Zegveld. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle	124
Abbildung 49:	Extraktion von As mit $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen As-Gehalten (in mg/kg)	128
Abbildung 50:	Extraktion von As mit NH_4NO_3 in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen As-Gehalten (in mg/kg)	128
Abbildung 51:	Extraktion von As mit CaCl_2 in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen As-Gehalten (in mg/kg)	129
Abbildung 52:	Extraktion von As mit DTPA in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen As-Gehalten (in mg/kg)	129
Abbildung 53:	Extraktion von As mit HNO_3 in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen As-Gehalten (in mg/kg)	130
Abbildung 54:	Extraktion von As mit Königswasser in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen As-Gehalten (in mg/kg)	130
Abbildung 55:	Isothermen für die Sorption von As an den sechs getesteten Böden. Die Punkte markieren die Labormesswerte und die Linien sind die mittels nichtlinearer Anpassung abgeleiteten Sorptionsisothermen nach dem Freundlich-Modell. Die initial sorbierten Element-Gehalte wurden nach Stange & Rückamp (2016) ermittelt	132

Abbildung 56:	Species Sensitivity Distribution basierend auf EC ₁₀ -Werten für die drei Bodenartenhauptgruppen. Daten für Pflanzen, Invertebraten und Mikroorganismen werden durch grüne, gelbe bzw. orange Symbole dargestellt. Kreise, Dreiecke und Quadrate repräsentieren Daten für Sand, Lehm/Schluff bzw. Ton 153
Abbildung 57:	Species Sensitivity Distribution basierend auf EC ₅₀ -Werten für die drei Bodenartenhauptgruppen. Daten für Pflanzen, Invertebraten und Mikroorganismen werden durch grüne, gelbe bzw. orange Symbole dargestellt. Kreise, Dreiecke und Quadrate repräsentieren Daten für Sand, Lehm/Schluff bzw. Ton 153
Abbildung 58:	Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Kupfer im Boden LUFA 2.2. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle 170
Abbildung 59:	Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Kupfer im Boden LUFA 2.2. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle 171
Abbildung 60:	Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Kupfer im Boden Refesol 05-G. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle 172
Abbildung 61:	Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Kupfer im Boden Refesol 05-G. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle 172
Abbildung 62:	Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Kupfer im Boden Refesol 06-A. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle 173
Abbildung 63:	Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Kupfer im Boden Refesol 06-A. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle 174
Abbildung 64:	Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Kupfer im Boden Ter Munck. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle 175
Abbildung 65:	Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Kupfer im Boden Ter Munck. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle 175
Abbildung 66:	Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Kupfer im Boden Woburn. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle 176
Abbildung 67:	Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Kupfer im Boden Woburn. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle 177
Abbildung 68:	Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Kupfer im Boden Zegveld. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle 178
Abbildung 69:	Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Kupfer im Boden Zegveld. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle 178
Abbildung 70:	Extraktion von Cu mit Ca(NO ₃) ₂ in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen Cu-Gehalten (in mg/kg) 181
Abbildung 71:	Extraktion von Cu mit NH ₄ NO ₃ in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen Cu-Gehalten (in mg/kg) 181
Abbildung 72:	Extraktion von Cu mit CaCl ₂ in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen Cu-Gehalten (in mg/kg) 182
Abbildung 73:	Extraktion von Cu mit DTPA in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen Cu-Gehalten (in mg/kg) 182

Abbildung 74:	Extraktion von Cu mit HNO ₃ in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen Cu-Gehalten (in mg/kg)183
Abbildung 75:	Extraktion von Cu mit Königswasser in den sechs getesteten Böden bei acht unterschiedlichen nominellen Cu-Gehalten (in mg/kg).....183
Abbildung 76:	Species Sensitivity Distribution für die Toxizität von Cu auf Bodenorganismen basierend auf EC ₁₀ -Werten für die drei Bodenartenhauptgruppen. Daten für Pflanzen, Invertebraten und Mikroorganismen werden durch grüne, gelbe bzw. orange Symbole dargestellt. Kreise, Dreiecke und Quadrate repräsentieren Daten für Sand, Lehm/Schluff bzw. Ton189
Abbildung 77:	Species Sensitivity Distribution für die Toxizität von Cu auf Bodenorganismen basierend auf EC ₅₀ -Werten für die drei Bodenartenhauptgruppen. Daten für Pflanzen, In-vertebraten und Mikroorganismen werden durch grüne, gelbe bzw. orange Symbole dargestellt. Kreise, Dreiecke und Quadrate repräsentieren Daten für Sand, Lehm/Schluff bzw. Ton190
Abbildung 78:	Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Nickel im Boden LUFA 2.2. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle194
Abbildung 79:	Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Nickel im Boden LUFA 2.2. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle195
Abbildung 80:	Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Nickel im Boden Refesol 05-G. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle196
Abbildung 81:	Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Nickel im Boden Refesol 05-G. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle196
Abbildung 82:	Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Nickel im Boden Refesol 06-A. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle197
Abbildung 83:	Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Nickel im Boden Refesol 06-A. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle.....198
Abbildung 84:	Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Nickel im Boden Ter Munck. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle199
Abbildung 85:	Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Nickel im Boden Ter Munck. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle199
Abbildung 86:	Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Nickel im Boden Woburn. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle200
Abbildung 87:	Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Nickel im Boden Woburn. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle201
Abbildung 88:	Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Nickel im Boden Zegveld. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle202
Abbildung 89:	Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Nickel im Boden Zegveld. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle202
Abbildung 90:	Extraktion von Ni mit Ca(NO ₃) ₂ in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen Ni-Gehalten (in mg/kg) 205

Abbildung 91:	Extraktion von Ni mit NH_4NO_3 in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen Ni-Gehalten (in mg/kg) 205
Abbildung 92:	Extraktion von Ni mit CaCl_2 in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen Ni-Gehalten (in mg/kg) 206
Abbildung 93:	Extraktion von Ni mit DTPA in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen Ni-Gehalten (in mg/kg) 206
Abbildung 94:	Extraktion von Ni mit HNO_3 in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen Ni-Gehalten (in mg/kg) 207
Abbildung 95:	Extraktion von Ni mit Königswasser in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen Ni-Gehalten (in mg/kg) 207
Abbildung 96:	Isothermen für die Sorption von Ni an drei getesteten Böden. Die Sorptionsisothermen der weiteren drei getesteten Böden wurden verworfen. Die Punkte markieren die Labormesswerte und die Linien sind die mittels nichtlinearer Anpassung abgeleiteten Sorptionsisothermen nach dem Freundlich-Modell. Die initial sorbierten Element-Gehalte wurden nach Stange & Rückamp (2016) ermittelt..... 208
Abbildung 97:	Species Sensitivity Distribution für die Toxizität von Ni auf Bodenorganismen basierend auf EC_{10} -Werten für die drei Bodenartenhauptgruppen. Daten für Pflanzen, Invertebraten und Mikroorganismen werden durch grüne, gelbe bzw. orange Symbole dargestellt. Kreise, Dreiecke und Quadrate repräsentieren Daten für Sand, Lehm/Schluff bzw. Ton 216
Abbildung 98:	Species Sensitivity Distribution für die Toxizität von Ni auf Bodenorganismen basierend auf EC_{50} -Werten für die drei Bodenartenhauptgruppen. Daten für Pflanzen, In-vertebraten und Mikroorganismen werden durch grüne, gelbe bzw. orange Symbole dargestellt. Kreise, Dreiecke und Quadrate repräsentieren Daten für Sand, Lehm/Schluff bzw. Ton 216

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Zusammenfassung der Ergebnisse der Literaturrecherche zur Extraktion bzw. Toxizität von Metallen im Boden.....	64
Tabelle 2:	Im Vorhaben verwendete chemische Extraktionsverfahren.....	69
Tabelle 3:	Nutzung, pH-Wert, elektrische Leitfähigkeit und Korngrößenverteilung der verwendeten Böden	71
Tabelle 4:	Kohlenstoff-, Stickstoff- und Schwefel-Gehalte der verwendeten Böden.....	72
Tabelle 5:	KAK _{eff} (BaCl ₂) (mmol _c /kg) und die austauschbaren Kationen der verwendeten Böden	72
Tabelle 6:	Aluminium, Eisen und Mangan in den Oxalat- und Dithionit-Extrakten der verwendeten Böden	72
Tabelle 7:	Arsen--Gehalte im Königswasser-Aufschluss der verwendeten Böden	74
Tabelle 8:	Übersicht über die wichtigsten terrestrischen Standardtests. Neben den für die Testung von Einzelstoffen einzusetzenden OECD-Richtlinien sind auch die für potentiell kontaminierte Substrate vorgesehenen ISO-Richtlinien aufgeführt. Fett gekennzeichnete Tests werden für die experimentelle Überprüfung in diesem Vorhaben vorgeschlagen	75
Tabelle 9:	Bodenfeuchte des Bodens nach Applikation der Testsubstanz in den jeweiligen Testsystemen	80
Tabelle 10:	Übersicht der getesteten Konzentrationsstufen in den durchgeführten Bakterienkontakttests mit <i>Arthrobacter globiformis</i> mit allen 6 Böden [mg As/kg Boden TG].....	81
Tabelle 11:	Übersicht der getesteten Konzentrationsstufen in den durchgeführten Stickstoffmineralisierungstests mit allen 6 Böden [mg As/kg Boden TG]	82
Tabelle 12:	Übersicht der getesteten Konzentrationsstufen in den durchgeführten Wurzellängentests mit <i>Hordeum vulgare</i> mit LUFA 2.2, Refesol 05-G und Refesol 06-A [mg As/kg Boden TG]	83
Tabelle 13:	Übersicht der getesteten Konzentrationsstufen in den Saatenauflauftests mit <i>Avena sativa</i> und <i>Solanum lycopersicum</i> mit allen 6 Böden [mg As/kg Boden TG]	85
Tabelle 14:	Bewertungsskala der ECT GmbH für die Beurteilung von Pflanzentests	85
Tabelle 15:	Übersicht der getesteten Konzentrationsstufen in den durchgeführten Regenwurm-Fluchttests mit <i>Eisenia andrei</i> mit allen 6 Böden [mg As/kg Boden TG].....	86
Tabelle 16:	Übersicht der Konzentrationsstufen in den durchgeführten Regenwurm-Reproduktionstests mit allen 6 Böden [mg As/kg Boden TG]	88

Tabelle 17:	Übersicht der getesteten Konzentrationsstufen in den durchgeführten Collembolen-Reproduktionstests mit allen 6 Böden [mg As/kg Boden TG]	89
Tabelle 18:	Nachweis der erfüllten Validitätskriterien nach ISO 18187 (2016a) für den Bakterienkontakttest mit <i>Arthrobacter globiformis</i> für alle sechs Böden.....	90
Tabelle 19:	Nachweis der erfüllten Validitätskriterien nach OECD 216 (OECD 2000a) des Stickstoffmineralisierungs- und Nitrifizierungstests für alle sechs Böden	91
Tabelle 20:	Nachweis der erfüllten Validitätskriterien nach ISO 11269-1 (2012b) für den Wurzellängentest für die Böden LUFA 2.2, Refesol 05-G und Refesol 06-A.....	91
Tabelle 21:	Nachweis der erfüllten Validitätskriterien nach ISO 11269-2 (2012c) für den Saatenauflauftest mit <i>Avena sativa</i> für alle sechs Böden.....	91
Tabelle 22:	Nachweis der erfüllten Validitätskriterien nach 11269-2 (2012c) für den Saatenauflauftest mit <i>Solanum lycopersicum</i> für alle sechs Böden	92
Tabelle 23:	Nachweis der erfüllten Validitätskriterien nach 11269-2 (2012c) des Regenwurm-Fluchtttests mit <i>Eisenia andrei</i> für alle sechs Böden	92
Tabelle 24:	Nachweis der erfüllten Validitätskriterien nach ISO 11268-2 (2012a) des Regenwurmreproduktionstests für alle sechs Böden	93
Tabelle 25:	Nachweis der erfüllten Validitätskriterien nach ISO 11268-2 (2012a) des Collembolen-Reproduktionstest für alle sechs Böden.....	93
Tabelle 26:	Ermittelte NOEC- und ECx-Werte [mg As/kg Boden TG] aller Testsysteme getestet im LUFA 2.2 Boden. Extrapolierte Werte sind in Klammern angegeben; diese Werte wurden bei der weiteren Auswertung nicht berücksichtigt.....	96
Tabelle 27:	Ermittelte NOEC- und ECx-Werte [mg As/kg Boden TG] aller Testsysteme getestet im Refesol 05-G Boden.....	101
Tabelle 28:	Ermittelte NOEC- und ECx-Werte [mg As/kg Boden TG] aller Testsysteme getestet im Refesol 06-A Boden. Extrapolierte Werte sind in Klammern angegeben; diese Werte wurden bei der weiteren Auswertung nicht berücksichtigt.....	106
Tabelle 29:	Ermittelte NOEC- und ECx-Werte [mg As/kg Boden TG] aller Testsysteme getestet im Ter Munck Boden. Extrapolierte Werte sind in Klammern angegeben; diese Werte wurden bei der weiteren Auswertung nicht berücksichtigt.....	111
Tabelle 30:	Ermittelte NOEC- und ECx-Werte [mg As/kg Boden TG] aller Testsysteme getestet im Woburn Boden	116
Tabelle 31:	Ermittelte NOEC- und ECx-Werte [mg As/kg Boden TG] aller Testsysteme getestet im Zegveld Boden. Extrapolierte Werte sind in Klammern angegeben; diese Werte wurden bei der weiteren Auswertung nicht berücksichtigt.....	120

Tabelle 32:	Leitfähigkeit und Ionenstärke des Bodensättigungsextrakts (BSE) und entsprechende (klassierte) Konzentration einer $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ -Elektrolytlösung bestimmt nach der Methode von Heidkamp (2005) 125
Tabelle 33:	Konzentrationen von Arsen (mg As/kg Boden TG) in drei verschiedenen Referenzböden, gemessen mittels sechs verschiedener Extraktionsverfahren, jeweils im Vergleich zur gespikten Nominalkonzentration 126
Tabelle 34:	Konzentrationen von Arsen (mg As/kg Boden TG) in drei verschiedenen Freilandböden, gemessen mittels sechs verschiedener Extraktionsverfahren, jeweils im Vergleich zur gespikten Nominalkonzentration 127
Tabelle 35:	Freundlich-Adsorptionsisothermen für die Sorption von Arsen an den untersuchten Böden (K_f = Freundlich-Koeffizient, n = Freundlich-Exponent, RSE = „Residual standard error“ der nicht-linearen Regression) 132
Tabelle 36:	Variabilität der EC_{10^-} und EC_{50^-} -Werte (mg As/kg Boden) zur Arsentoxizität für den Endpunkt Sprossbiomasse von <i>Avena sativa</i> in sechs Böden, angegeben als nominale bzw. gemessene Gesamt- und extrahierbare Arsen-Konzentration. Die Indizes mit der geringsten Variabilität in der Toxizität zwischen den Böden sind fett gedruckt. CV = Variationskoeffizient (Standardabweichung/Mittelwert * 100), RS = Relative Spannweite ((Maximum-Minimum)/Mittelwert) 134
Tabelle 37:	Variabilität der EC_{10^-} und EC_{50^-} -Werte (mg As/kg Boden) zur Arsentoxizität für den Endpunkt Sprossbiomasse von <i>Solanum lycopersicum</i> in sechs Böden, angegeben als nominale bzw. gemessene Gesamt- und extrahierbare Arsen-Konzentration. Die Indizes mit der geringsten Variabilität in der Toxizität zwischen den Böden sind fett gedruckt. CV = Variationskoeffizient (Standardabweichung/Mittelwert * 100), RS = Relative Spannweite ((Maximum-Minimum)/Mittelwert) 135
Tabelle 38:	Variabilität der EC_{10^-} und EC_{50^-} -Werte (mg As/kg Boden) zur Arsentoxizität für den Endpunkt Wurzellänge von <i>Hordeum vulgare</i> in sechs Böden, angegeben als nominale bzw. gemessene Gesamt- und extrahierbare Arsen-Konzentration. Die Indizes mit der geringsten Variabilität in der Toxizität zwischen den Böden sind fett gedruckt. CV = Variationskoeffizient (Standardabweichung/Mittelwert * 100), RS = Relative Spannweite ((Maximum-Minimum)/Mittelwert) 136
Tabelle 39:	Variabilität der EC_{10^-} und EC_{50^-} -Werte (mg As/kg Boden) zur Arsentoxizität für den Endpunkt Regenwurm-Reproduktion (<i>Eisenia fetida</i>) in sechs Böden, angegeben als nominale bzw. gemessene Gesamt- und extrahierbare Arsen-Konzentration. Die Indizes mit der geringsten Variabilität in der Toxizität zwischen den Böden sind fett gedruckt. CV = Variationskoeffizient (Standardabweichung/Mittelwert * 100), RS = Relative Spannweite ((Maximum-Minimum)/Mittelwert) 137

Tabelle 40:	Variabilität der EC ₁₀ - und EC ₅₀ -Werte (mg As/kg Boden) zur Arsentoxizität für den Endpunkt Collembolen-Reproduktion (<i>Folsomia candida</i>) in sechs Böden, angegeben als nominale bzw. gemessene Gesamt- und extrahierbare Arsen-Konzentration. Die Indizes mit der geringsten Variabilität in der Toxizität zwischen den Böden sind fett gedruckt. CV = Variationskoeffizient (Standardabweichung/Mittelwert * 100), RS = Relative Spannweite ((Maximum-Minimum)/Mittelwert).....	138
Tabelle 41:	Variabilität der EC ₁₀ - und EC ₅₀ -Werte (mg As/kg Boden) zur Arsentoxizität für den Endpunkt Regenwurm-Vermeidung (<i>Eisenia andrei</i>) in sechs Böden, angegeben als nominale bzw. gemessene Gesamt- und extrahierbare Arsen-Konzentration. Die Indizes mit der geringsten Variabilität in der Toxizität zwischen den Böden sind fett gedruckt. CV = Variationskoeffizient (Standardabweichung/Mittelwert * 100), RS = Relative Spannweite ((Maximum-Minimum)/Mittelwert).....	139
Tabelle 42:	Variabilität der EC ₁₀ - und EC ₅₀ -Werte (mg As/kg Boden) zur Arsentoxizität für den Endpunkt Dehydrogenaseaktivität (<i>Arthrobacter globiformis</i>) in sechs Böden, angegeben als nominale bzw. gemessene Gesamt- und extrahierbare Arsen-Konzentration. Die Indizes mit der geringsten Variabilität in der Toxizität zwischen den Böden sind fett gedruckt. CV = Variationskoeffizient (Standardabweichung/Mittelwert * 100), RS = Relative Spannweite ((Maximum-Minimum)/Mittelwert).....	140
Tabelle 43:	Variabilität der EC ₁₀ - und EC ₅₀ -Werte (mg As/kg Boden) zur Arsentoxizität für den Endpunkt Stickstoff-Transformation in sechs Böden, angegeben als nominale bzw. gemessene Gesamt- und extrahierbare Arsen-Konzentration. Die Indizes mit der geringsten Variabilität in der Toxizität zwischen den Böden sind fett gedruckt. CV = Variationskoeffizient (Standardabweichung/Mittelwert * 100), RS = Relative Spannweite ((Maximum-Minimum)/Mittelwert).....	141
Tabelle 44:	Zusammenfassung der besten Anpassung an eine einzelne log-logistische-Konzentrations-Wirkungs-Kurve für alle Daten aller Böden zusammen pro Endpunkt. Der Extrakt mit der besten Anpassungsgüte der Konzentrations-Wirkungs-Kurve ist für jeden Endpunkt im Fettdruck wiedergegeben. RMSE = root mean square error, Wurzel der mittleren Fehlerquadratsumme.....	142
Tabelle 45:	Beste Methodik für die Arsen-Bioverfügbarkeit und die getesteten Endpunkte.....	143
Tabelle 46:	Variabilität der HC ₅ -50-Werte für Arsen in den einzelnen Böden, basierend auf einer "Species Sensitivity Distribution" (SSD) von EC ₁₀ - bzw. EC ₅₀ -Werten. Die Indizes mit der niedrigsten Variabilität sind im Fettdruck wiedergegeben.....	144
Tabelle 47:	Korrelationskoeffizienten (r) für die log EC ₅₀ -Werte basierend auf den Gesamtgehalten (Königswasser) der Arsenkonzentrationen im Boden und den Bodeneigenschaften (log, außer für den pH-Wert). Die ausgewählten Modelle sind im Fettdruck wiedergegeben	145

Tabelle 48:	Zusammenfassung der ausgewählten linearen Regressionsmodelle zum Zusammenhang zwischen der Toxizität (log EC ₅₀ -Werte) von Arsen für Bodenorganismen mit den abiotischen Bodeneigenschaften 146
Tabelle 49:	Vorhersage der bodenspezifischen HC ₅ -50-Werte, basierend auf dem Gesamtgehalt an Arsen sowie der Normalisierung für die verschiedenen Bodeneigenschaften 147
Tabelle 50:	Für die SSD-Diagramme der 3 Bodenartenhauptgruppen ausgewählte mittlere EC ₁₀ -Werte der Endpunkte (und Bereich der einzelnen EC ₁₀ -Werte nach Normalisierung) 152
Tabelle 51:	Für die SSD-Diagramme der 3 Bodenartenhauptgruppen ausgewählte mittlere EC ₅₀ -Werte der Endpunkte (und Bereich der einzelnen EC ₅₀ -Werte nach Normalisierung) 152
Tabelle 52:	Vorschlag des Projektkonsortiums für vorsorge- und nachsorgeorientierte Bodenwerte von Arsen für Bodenorganismen [mg/kg] 154
Tabelle 53:	Vorsorgeorientierte Bodenwerte für Arsen (= Grenzwerte für „negligible risk“) aus fünf europäischen Staaten gemäß Carlon (2007) 157
Tabelle 54:	Nachsorgeorientierte Bodenwerte für Arsen (= Grenzwerte für „intermediate (warning) risk“) aus acht europäischen Staaten gemäß Carlon (2007) 158
Tabelle 55:	Kupfer- und Nickel-Gehalte im Königswasser-Aufschluss der verwendeten Böden 168
Tabelle 56:	Übersicht der getesteten Konzentrationsstufen in den durchgeführten Bakterienkontakttests mit <i>Arthrobacter globiformis</i> mit allen 6 Böden [mg Cu/kg Boden TG] 169
Tabelle 57:	Übersicht der getesteten Konzentrationsstufen in den durchgeführten Regenwurm-Fluchttests mit <i>Eisenia andrei</i> mit allen 6 Böden [mg Cu/kg Boden TG] 169
Tabelle 58:	Ermittelte NOEC-/ECx-Werte [mg Cu/kg Boden TG], jeweils im LUFA 2.2 Boden..... 170
Tabelle 59:	Ermittelte NOEC-/ECx-Werte [mg Cu/kg Boden TG], jeweils im Refesol 05-G Boden 171
Tabelle 60:	Ermittelte NOEC-/ECx-Werte [mg Cu/kg Boden TG], jeweils im Refesol 06 Boden. Extrapolierte Werte sind in Klammern angegeben; diese Werte wurden bei der weiteren Auswertung nicht berücksichtigt.. 173
Tabelle 61:	Ermittelte NOEC-/ECx-Werte [mg Cu/kg Boden TG], jeweils im Ter Munck Boden. Extrapolierte Werte sind in Klammern angegeben; diese Werte wurden bei der weiteren Auswertung nicht berücksichtigt 174
Tabelle 62:	Ermittelte NOEC-/ECx-Werte [mg Cu/kg Boden TG], jeweils im Woburn Boden..... 176

Tabelle 63:	Ermittelte NOEC-/ECx-Werte [mg Cu/kg Boden TG], jeweils im Zegveld Boden	177
Tabelle 64:	Konzentrationen von Kupfer (mg/kg TG) in drei verschiedenen Referenzböden, gemessen mittels sechs verschiedener Extraktionsverfahren, jeweils im Vergleich zur gespikten Nominalkonzentration.....	179
Tabelle 65:	Konzentrationen von Kupfer (mg/kg TG) in drei verschiedenen Freilandböden, gemessen mittels sechs verschiedener Extraktionsverfahren, jeweils im Vergleich zur gespikten Nominalkonzentration.....	180
Tabelle 66:	Variabilität der EC ₁₀ - und EC ₅₀ -Werte (mg Cu/kg Boden) zur Kupfertoizität für den Endpunkt Regenwurm-Vermeidung (<i>Eisenia andrei</i>) in sechs Böden, angegeben als nominale bzw. gemessene Gesamt- und extrahierbare Arsen-Konzentration. Die Indizes mit der geringsten Variabilität in der Toizität zwischen den Böden sind fett gedruckt. CV = Variationskoeffizient (Standardabweichung/Mittelwert * 100), RS = Relative Spannweite ((Maximum-Minimum)/Mittelwert).....	184
Tabelle 67:	Variabilität der EC ₁₀ - und EC ₅₀ -Werte (mg Cu/kg Boden) zur Kupfertoizität für den Endpunkt Dehydrogenaseaktivität (<i>Arthrobacter globiformis</i>) in sechs Böden, angegeben als nominale bzw. gemessene Gesamt- und extrahierbare Arsen-Konzentration. Die Indizes mit der geringsten Variabilität in der Toizität zwischen den Böden sind fett gedruckt. CV = Variationskoeffizient (Standardabweichung/Mittelwert * 100), RS = Relative Spannweite ((Maximum-Minimum)/Mittelwert).....	185
Tabelle 68:	Ausgewählte Regressionsmodelle für die Korrektur der Bioverfügbarkeit von Kupfer Bodenorganismen	186
Tabelle 69:	HC ₅ -50 Werte und Vertrauensbereiche für eine Arten-Verteilungs-Kurve basierend auf den EC ₁₀ - und EC ₅₀ -Werten zur Kupfertoizität für Bodenorganismen (Daten für 33 bzw. 29 Arten oder mikrobielle Prozesse).....	187
Tabelle 70:	Mittlere EC ₁₀ - und EC ₅₀ -Werte pro Endpunkt für die Toizität von Cu gegenüber Bodenorganismen, die für die SSD-Diagramme für die drei Bodenartenhauptgruppen ausgewählt wurden	187
Tabelle 71:	Vorsorgeorientierte Bodenwerte für Kupfer (= Grenzwerte für „negligible risk“) aus fünf europäischen Staaten gemäß Carlon (2007)	191
Tabelle 72:	Nachsorgeorientierte Bodenwerte für Kupfer (= Grenzwerte für „intermediate (warning) risk“) aus acht europäischen Staaten gemäß Carlon (2007)	192
Tabelle 73:	Übersicht der getesteten Konzentrationsstufen in den durchgeführten Bakterienkontakttest mit <i>Arthrobacter globiformis</i> mit allen 6 Böden [mg Ni/kg Boden TG]	193

Tabelle 74:	Übersicht der getesteten Konzentrationsstufen in den durchgeführten Regenwurm-Fluchttests mit <i>Eisenia andrei</i> mit allen 6 Böden [mg Ni/kg Boden TG] 193
Tabelle 75:	Ermittelte NOEC- und ECx-Werte [mg Ni/kg Boden TG im LUFA 2.2-Boden]..... 194
Tabelle 76:	Ermittelte NOEC- und ECx-Werte [mg Ni/kg Boden TG] im Refesol 05-G Boden 195
Tabelle 77:	Ermittelte NOEC- und ECx-Werte [mg Ni/kg Boden TG] im Refesol 06-A Boden. Extrapolierte Werte sind in Klammern angegeben; diese Werte wurden bei der weiteren Auswertung nicht berücksichtigt.. 197
Tabelle 78:	Ermittelte NOEC- und ECx-Werte [mg Ni/kg Boden TG] im Ter Munck Boden. Extrapolierte Werte sind in Klammern angegeben; diese Werte wurden bei der weiteren Auswertung nicht berücksichtigt.. 198
Tabelle 79:	Ermittelte NOEC- und ECx-Werte [mg Ni/kg Boden TG], jeweils im Woburn-Boden 200
Tabelle 80:	Ermittelte NOEC- und ECx-Werte [mg Ni/kg Boden TG], jeweils im Zegveld Boden 201
Tabelle 81:	Konzentrationen von Nickel (mg/kg TG) in drei verschiedenen Referenzböden, gemessen mittels sechs verschiedener Extraktionsverfahren, jeweils im Vergleich zur gespikten Nominalkonzentration..... 203
Tabelle 82:	Konzentrationen von Nickel (mg/kg TG) in drei verschiedenen Freilandböden, gemessen mittels sechs verschiedener Extraktionsverfahren, jeweils im Vergleich zur gespikten Nominalkonzentration..... 204
Tabelle 83:	Freundlich-Adsorptionsisothermen für die Sorption von Nickel an den untersuchten Böden (Kf = Freundlich-Koeffizient, n = Freundlich-Exponent, RSE = „Residual standard error“ der nicht-linearen Regression) 209
Tabelle 84:	Variabilität der EC ₁₀ - und EC ₅₀ -Werte (mg Ni/kg Boden) zur Nickeltoxizität für den Endpunkt Dehydrogenaseaktivität (<i>Arthrobacter globiformis</i>) in sechs Böden, angegeben als nominale bzw. gemessene Gesamt- und extrahierbare Arsen-Konzentration. Die Indizes mit der geringsten Variabilität in der Toxizität zwischen den Böden sind fett gedruckt. CV = Variationskoeffizient (Standardabweichung/Mittelwert * 100), RS = Relative Spannweite ((Maximum-Minimum)/Mittelwert)..... 210
Tabelle 85:	Variabilität der EC ₁₀ - und EC ₅₀ -Werte (mg Ni/kg Boden) zur Nickeltoxizität für den Endpunkt Regenwurm-Vermeidung (<i>Eisenia andrei</i>) in sechs Böden, angegeben als nominale bzw. gemessene Gesamt- und extrahierbare Arsen-Konzentration. Die Indizes mit der geringsten Variabilität in der Toxizität zwischen den Böden sind fett gedruckt. CV = Variationskoeffizient (Standardabweichung/Mittelwert * 100), RS = Relative Spannweite ((Maximum-Minimum)/Mittelwert)..... 211

Tabelle 86:	Ausgewählte Regressionsmodelle zur Bioverfügbarkeitskorrektur der Toxizität von Nickel für Bodenorganismen.....	212
Tabelle 87:	HC ₅ -50 Werte und Vertrauensbereiche für eine Arten-Verteilungskurve basierend auf EC ₁₀ - und EC ₅₀ -Werte zur Nickeltoxizität für Bodenorganismen (Daten für 43 Arten und 39 mikrobielle Prozesse)	213
Tabelle 88:	Mittlere EC ₁₀ - und EC ₅₀ -Werte pro Endpunkt für die Toxizität von Ni gegenüber Bodenorganismen, die für die SSD-Diagramme für die drei Bodenartenhauptgruppen ausgewählt wurden	213
Tabelle 89:	Vorsorgeorientierte Bodenwerte für Nickel (= Grenzwerte für „negligible risk“) aus fünf europäischen Staaten gemäß Carlon (2007)	218
Tabelle 90:	Nachsorgeorientierte Bodenwerte für Nickel (= Grenzwerte für „intermediate (warning) risk“) aus acht europäischen Staaten gemäß Carlon (2007)	218

Abkürzungsverzeichnis

AIC	Akaike-Informationskriterium
AP	Arbeitspaket
ARCHE	ARCHE Consulting, Leuven, Belgien
ATCC	American Type Culture Collection
BBodSchG	Bundes-Bodenschutzgesetz
BBodSchV	Bundes-Bodenschutz- und Altlastenverordnung
BGR	Bundesanstalt für Geowissenschaften und Rohstoffe, Hannover
BLM	Biotic Ligand Model
BSE	Bodensättigungsextrakt
CCME	Canadian Council of Ministers of the Environment, Winnipeg, Kanada
CV	Variationskoeffizient
DGT	Diffuse Dünnschicht-Gradienten
DIBAEX	Distribution Based Extrapolation
DPM	Dimethylphenol
DSMZ	Deutsche Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen, Braunschweig
ECHA	Europäische Chemikalienagentur, Helsinki, Finnland
ECT	ECT Oekotoxikologie GmbH, Flörsheim
EC-Wert	Elektrische Leitfähigkeit
ECx	X % Effective Concentration
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EFSA	Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit, Parma, Italien
EQS	Environmental Quality Standard
FG	Frischgewicht
GEMAS	Geochemical Mapping of Agricultural and Grazing land Soil
GLP	Gute Laborpraxis
HC₅₋₅₀	Median hazardous concentration for 5% of the biological species
HPCD	Hydroxylpropyl-beta-cyclodextrin
ISO	Internationale Organisation für Normung
KAK	Kationenaustauschkapazität
KE	Kunsterde
KI	Konfidenzintervall
KW	Königswasser
L/A-Faktor	Leaching/Aging-Faktor

L/F-Faktor	Labor-Freiland-Faktor
LABO	Bund/Länder-Arbeitsgemeinschaft Bodenschutz
LCx	X % Lethal Concentration
LOEC	Lowest Observed Effect Concentration
LUCAS	Land Use and Coverage Area frame Survey
LUFA	Landwirtschaftliche Untersuchungs- und Forschungsanstalt, Speyer
NC	Negativkontrolle
nFK	nutzbare Feldkapazität
NOEC	No Observed Effect Concentration
PC	Positivkontrolle
PNEC	Predicted No Effect Concentration
REACH	Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung von Chemikalien
REFINA	Forschung für die Reduzierung der Flächeninanspruchnahme und ein nachhaltiges Flächenmanagement
RMSE	Mittlere Fehlerquadratsumme
RS	Relative Spannweite
SC	Lösemittelkontrolle
SEG	Simulierter Regenwurmdarm
SSD	Species Sensitivity Distribution
TG	Trockengewicht
UBA	Umweltbundesamt, Dessau-Roßlau
US EPA	US Environmental Protection Agency, Washington, D.C., Vereinigte Staaten
VROM	Ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer, Den Haag, Niederlande
WHK	Wasserhaltekapazität

Zusammenfassung

Einleitung

In der seit 1999 geltenden Bundes-Bodenschutz- und Altlastenverordnung (BBodSchV) wurden für ausgewählte Metalle Vorsorgewerte bezogen auf die jeweiligen Gesamtgehalte im Boden festgeschrieben. Das im Folgenden beschriebene Vorhaben hatte das Ziel, am Beispiel von Arsen Vorschläge für ein mögliches Konzept zur Ableitung von Vorsorgewerten und Prüfwerten auf der Grundlage der bioverfügbaren Anteile von (Halb-)Metallen zu erarbeiten, speziell für den Pfad Boden – Bodenorganismen. Die dabei gemachten Erfahrungen wurden zudem (unter Hinzufügung weiterer Testdaten), auf die Metalle Kupfer und Nickel angewandt. In diesem Bericht wird der Begriff der Bioverfügbarkeit analog zur ISO-Richtlinie 17402 (2008a) wie folgt definiert:

Grad, bis zu dem Chemikalien im Boden durch menschliche oder ökologische Rezeptoren absorbiert oder metabolisiert werden oder für den Austausch zwischen biologischen Systemen zur Verfügung stehen.

Dabei hängt die Bioverfügbarkeit eines Stoffes von seiner Gesamtkonzentration im Boden, den jeweiligen physikalisch-chemischen Bodeneigenschaften, den intrinsischen Eigenschaften der (in diesem Fall) zu untersuchenden (Halb-)Metalle und auch der Biologie der potentiell exponierten Mikroorganismen, Pflanzen und Invertebraten ab.

Das zu erarbeitende Konzept könnte damit zur Grundlage für einen neuen Ansatz unter Berücksichtigung der Bioverfügbarkeit bei der Ableitung von Vorsorgewerten für (Halb-)Metalle in Böden werden. Gleichzeitig bietet das Konzept aber auch die Basis für weitere Forschungsarbeiten im Hinblick auf einen weiteren Wirkungspfad Boden-Bodenorganismen (Prüfwerte) im Rahmen der Gefahrenabwehr, wie er bereits in der BR-Entschlüsselung 244/99 zur BBodSchV (1999) gefordert wurde. Dort heißt es: „Die Bundesregierung wird gebeten, im Zusammenhang mit der Novellierung der Bodenschutz- und Altlastenverordnung zu prüfen, inwieweit die Ergänzung der Vorsorgeanforderungen und die Aufnahme von Prüfwerten für den Wirkungspfad Boden - Bodenorganismen möglich ist.“

In einem ersten Schritt wurde eine Literaturrecherche durchgeführt, in welcher die aktuelle Literatur zur Bioverfügbarkeit von Arsen unter Berücksichtigung der jeweils verwendeten chemischen Analytik, den getesteten Böden sowie den eingesetzten ökotoxikologischen Testverfahren inklusive der regulatorischen Anforderungen bei der Ableitung von Bodenwerten zusammengefasst wurde. Ausgehend von diesen Kenntnissen wurde auf der Basis experimenteller Arbeiten ein eigenes Konzept zur Berücksichtigung der Bioverfügbarkeit bei der Ableitung von Vorsorge- und Prüfwerten erarbeitet.

Theorie: Hintergrund der Bewertung von (Halb-)Metallen im Boden

Die regulatorischen Grundlagen des Bodenschutzes in Deutschland sind im Bundes-Bodenschutzgesetz (BBodSchG 1998) und der BBodSchV (1999) zusammengefasst. Ein Schwerpunkt liegt dabei auf den stoffspezifischen Bodenwerten, wobei zwischen Vorsorgewerten sowie Prüf- bzw. Maßnahmenwerten unterschieden wird. Laut BBodSchG (1998) ist bei einer Überschreitung der Vorsorgewerte in der Regel davon auszugehen, dass die Besorgnis einer schädlichen Bodenveränderung besteht. Diese Werte wurden für Metalle bodenartsspezifisch abgeleitet. Dagegen dienen die Prüf- bzw. Maßnahmenwerte der Gefahrenabwehr. Sie werden in Abhängigkeit vom jeweiligen Schutzziel (z. B. Mensch, Pflanzen), Kompartiment (z. B. Grundwasser, Boden) sowie Nutzungsart (z. B. Industrie, Weideland) differenziert abgeleitet. Die in der BBodSchV (1999) aufgeführten Bodenwerte wurden in den späten neunziger Jahren auf der Basis von Expertenwissen unter Einbeziehung ökotoxikologischer Testergebnisse sowie entsprechender Hintergrundwerte auf der Grundlage der Gesamtgehalte der jeweiligen Stoffe im Boden festgelegt.

Ausgehend von den bisherigen Erfahrungen zur Ableitung der in diesem Vorhaben im Mittelpunkt stehenden vorsorgeorientierten Bodenwerten für Bodenorganismen lassen sich die folgenden Schlüsse ziehen:

1. Für die Ableitung von Vorsorgewerten ist die Wirkung der zu beurteilenden Stoffe auf die Bodenorganismengemeinschaft anhand unterschiedlicher Trophiestufen, d. h. Mikroorganismen, Pflanzen und Invertebraten, zu bestimmen.
2. Die konkrete Grundlage für die Ableitung von Vorsorgewerten sind EC_{10} - (10% Effective Concentration) Werte, die aus standardisierten ökotoxikologischen Tests stammen. Die für jeden Testorganismus bestimmten Wirkwerte werden in einer Arten-Empfindlichkeits-Kurve (SSD; Species-Sensitivity-Distribution) dargestellt, mittels derer Vorsorgewerte abgeleitet werden können. Bisher wurde für die Effektkonzentrationen des jeweiligen zu beurteilenden Stoffs dessen Gesamtgehalt im Boden verwendet. Damit wird aber die durch diesen Stoff ausgehende Gefährdung für Bodenorganismen häufig überschätzt, da in der Realität nur ein Teil des Gesamtgehalts für die Interaktion mit biologischen Rezeptoren zur Verfügung steht.

Analog zu diesem Vorgehen können mittels EC_{50} -Werten, bestimmt in den gleichen ökotoxikologischen Tests, Prüfwerte abgeleitet werden. Im Abschnitt zur Nachsorge in der BBodSchV (1999) wird schon darauf hingewiesen, dass im Rahmen der Detailprüfung nach Überschreiten der Prüfwerte „die für die Wirkungspfade maßgeblichen Expositionsbedingungen, insbesondere die für die verschiedenen Wirkungspfade bedeutsamen mobilen oder mobilisierbaren (= „verfügbaren“) Anteile der Schadstoffgehalte, geklärt werden sollen“.

Auf der Grundlage dieser Vorgabe sollte geprüft werden, ob die Bioverfügbarkeit von Stoffen im Boden schon bei der Ableitung von Bodenwerten (Vorsorge- und Prüf- und Maßnahmenwerte) berücksichtigt werden kann. Bisher ist dies nur teilweise bei der Ableitung von Prüf- und Maßnahmenwerten im Pfad Boden-Pflanze der Fall. Hinsichtlich der Vorsorge wird bislang in den für die bisherige Ableitung verwendeten ökotoxikologischen Tests die jeweilige Stoffkonzentration nur als Gesamtgehalt, was nicht der Bioverfügbarkeit entspricht, angegeben. Der Vorsorgeansatz des Bodenschutzes geht damit vom worst-case-Szenario, d. h. davon aus, dass der gesamte Stoffgehalt bioverfügbar ist, was aber nicht den realen Bedingungen im Boden entspricht. Zudem gibt es erste Ansätze, die Bioverfügbarkeit in internationalen Richtlinien zu berücksichtigen. So hat die Internationale Organisation für Normung (ISO) in der Richtlinie DIN 17402 (2011) folgendes festgestellt: „Die einzige Möglichkeit, die Bioverfügbarkeit eines Stoffes für den zu schützenden Organismus zu messen, ist die Bestimmung der Wirkung und/oder der Anreicherung dieses Stoffes in diesem Organismus.“ Um die Bioverfügbarkeit eines Stoffes regulatorisch berücksichtigen zu können, müssen daher diejenigen bodenchemischen Parameter bestimmt werden, die dessen Toxizität für eine repräsentative Anzahl von Organismen determinieren. Eine ausreichend hohe Anzahl solcher Datensätze muss für die Erstellung von Risikomodellen als Grundlage zur Ableitung von Bodenwerten zur Verfügung stehen, so dass die Wirkung dieses Stoffes in verschiedenen Böden vorhergesagt werden kann.

Im Rahmen dieses Vorhabens sollte daher eine ausreichende Anzahl entsprechender Datensätze, bestehend aus den Eigenschaften verschiedener für Mitteleuropa repräsentativer (z. B. hinsichtlich organischen Gehaltes, pH-Wert, Tonanteil, Kationenaustauschkapazität) Böden, den Ergebnissen mehrerer chemischer Extraktionsverfahren (d. h. die jeweils aktuellen und potentiell löslichen Fraktionen) sowie ökotoxikologischen Tests mit Mikroorganismen, Pflanzen und Invertebraten für das Halbmetall Arsen sowie für die Schwermetalle Kupfer und Nickel erarbeitet werden. Auf der Grundlage dieses Datensatzes erfolgte dann mittels statistischer Verfahren die Ableitung von möglichen Vorsorge- und Prüfwerten für Arsen auf der Basis der Bioverfügbarkeit für Bodenorganismen für diesen umweltrelevanten Stoff. Für Kupfer und Nickel sind im Anhang die Ergebnisse der ökotoxikologischen Testverfahren sowie gemäß dem am Beispiel Arsen erarbeiteten Ableitungskonzept berechnete HC_{5-50} -Werte angegeben, die als Grundlage für vorsorge- und nachsorgeorientierte Bodenwerte dienen.

Bestimmung der Bioverfügbarkeit von Stoffen im Boden

Datengrundlage

Obwohl in den letzten Jahren eine Vielzahl von unterschiedlichen Extraktionsverfahren entwickelt wurden, ist das Ziel, mittels chemischer Analyseverfahren „DEN“ bioverfügbaren Anteil eines Stoffes im Boden zu bestimmen, von Beginn an zum Scheitern verurteilt, da es „DIE“ Bioverfügbarkeit nicht gibt. Welcher Anteil einer Chemikalie im Boden von einem Organismus aufgenommen werden kann (bzw. mit ihm in Kontakt kommt) hängt von einer Vielzahl von Faktoren ab, von denen die folgenden am wichtigsten sind:

1. Intrinsische Substanzeigenschaften der jeweiligen Chemikalie;
2. Chemische (z. B. pH-Wert, organische Bodensubstanz (C_{org}), usw.) und physikalische (z. B. Wasserspeichervermögen (n_{FK}), Bodenart usw.) Eigenschaften des jeweiligen Bodens;
3. Quelle der Kontamination und Alterungseffekte im Boden;
4. Morphologische, physiologische und ökologische Eigenschaften der Organismen. Zudem können Organismen durch ihr Verhalten (z. B. Vermeidung des Kontakts mit Chemikalien) die Bioverfügbarkeit eines Stoffes verändern.

Der Gesamtgehalt eines Metalls im Boden (d. h. die mittels Königswassers extrahierbare Menge) sagt wenig über die Verfügbarkeit und damit die Toxizität dieses Stoffes aus. Rechtliche Vorgaben, wie die Bioverfügbarkeit bei der Ableitung von Bodenwerten (Vorsorge-, Prüf- und Maßnahmenwerte), konzeptionell berücksichtigt werden sollte, sind ansatzweise im Bodenschutzrecht bei der Ableitung von Prüf- und Maßnahmenwerten im Wirkungspfad Boden-Pflanze sowie in Papieren der LABO und der Bundesländer zum Vollzug der BBodSchV enthalten (z.B. LABO 2012; siehe auch Kleihauer et al. 2012).

Vorschlag für ein Bewertungskonzept

In der Ökotoxikologie ist allgemein anerkannt (siehe z. B. die ISO- (2008) bzw. DIN- (2011) Richtlinie 17402- Bodenbeschaffenheit - Anleitung zur Auswahl und Anwendung von Verfahren für die Bewertung der Bioverfügbarkeit von Kontaminanten im Boden und in Bodenmaterialien), dass auf der Grundlage des Gesamtgehalts eines Metalls im Boden keine realistische Vorhersage der jeweiligen Toxizität möglich ist. Die Bioverfügbarkeit und Toxizität von Metallen bzw. Halbmetallen in Böden wird durch eine Anzahl von abiotischen Faktoren beeinflusst, wie z. B. die unterschiedlichen Bodeneigenschaften (z. B. pH, Tongehalt, Gehalt an organischer Substanz, Kationenaustauschkapazität (KAK), die seit der Kontamination vergangene Zeit (d. h. Alterungsprozesse) oder die jeweilige Form des betrachteten Metalls.

Unklar ist allerdings, welche Extraktionsmethode für die Messung der jeweils bioverfügbaren Metallfraktion im Boden am besten geeignet ist. Wie beim Kompartiment Wasser gilt das freie Metallion im Porenwasser als der bioverfügbare Anteil. Wenn man allerdings die Toxizität eines Metalls im Boden mittels des Gesamtgehalts in der Bodenlösung bzw. der Aktivität der freien Metallionen beschreibt, stellt man oft fest, dass sich die Variabilität der gemessenen Toxizitätswerte erhöht; d. h. damit lassen sich Unterschiede in der Bioverfügbarkeit nicht erklären. Verschiedenste Extraktionstechniken wurden bisher für die Vorhersage der Bioverfügbarkeit sowie der Toxizität von Metallen vorgeschlagen (z. B. Porenwasser, 0,01 M $CaCl_2$, 1 M NH_3NO_3 , 0,43 M HNO_3 , DGT oder der Simulierte Regenwurmdarm (SEG)). Allerdings konnte bisher keine Standardmethode identifiziert werden, da jede Methode in Abhängigkeit von Metall, Bodeneigenschaften und Organismen unterschiedliche Ergebnisse liefert. Stattdessen können Bioverfügbarkeits-Korrekturen eingesetzt werden, wobei die folgenden Schritte unterschieden werden (vgl. OECD 2016):

- Auswahl belastbarer ECx (oder NOEC) Werte, die auf dem jeweiligen Gesamtgehalt (inklusive der Hintergrundgehalte) basieren;

- ▶ Korrektur der Toxizitätsdaten hinsichtlich ihrer unterschiedlichen Verfügbarkeit in frisch gespikten im Vergleich zu freilandkontaminierten Böden unter Verwendung eines metallspezifischen Labor/Freiland-Faktors (L/F-Faktor), falls diese Information verfügbar ist;
- ▶ Wenn die Toxizität eines Metalls für Bodenorganismen signifikant mit einzelnen physikochemischen Eigenschaften des Bodens korreliert ist (z. B. dem pH-Wert, dem Gehalt an organischer Substanz im Boden oder dem Tongehalt) kann dieser Zusammenhang für eine Normalisierung der ausgewählten ECx- oder NOEC-Werte hinsichtlich der Eigenschaften eines spezifischen Bodens genutzt werden (OECD 2016). Dadurch wird die Berechnung bodenspezifischer Werte für die Erfassung der Toxizität des zu testenden Metalls für Bodenorganismen möglich.
- ▶ In einem finalen Schritt können regulatorisch definierte Qualitätsstandards (= Bodenwerte) auf Grundlage der hinsichtlich ihrer Bioverfügbarkeit korrigierten Toxizitätsdaten abgeleitet werden (Smolders et al. 2009; OECD 2016). Wenn nach der Normalisierung mehrere Daten für dieselbe Spezies oder mikrobielle Funktion vorliegen, kann das geometrische Mittel auf der Grundlage aller Daten zum empfindlichsten Endpunkt (Spezies oder Funktion) berechnet werden. Bei diesem Vorgehen wäre die verbleibende Variation der Daten der intra-spezifischen Variation des jeweiligen Testorganismus zuzuordnen. Dies gilt nicht für non-normalisierte Toxizitätsdaten, da in diesem Fall auch die je nach Boden unterschiedliche Bioverfügbarkeit eingeht. Je nach Datenlage kann für die Bodenwertableitung entweder der Faktoren- (relativ grober Ansatz, daher heute nicht mehr zu empfehlen) oder der SSD-Ansatz verwendet werden, wobei letzterer der wissenschaftlich belastbarere Ansatz ist. Die endgültige Festlegung auf einen Bodenwert hängt von verschiedenen regulatorischen Vorgaben ab, z. B. hinsichtlich der Höhe des Effekts (welches "x" beim ECx-Ansatz?), aber auch, welche Organismen in die Berechnung eingehen.

Erarbeitung eines Testkonzepts

In diesem Vorhaben wurden Tests in Kombination von sechs Böden, sechs Extraktionsverfahren und acht ökotoxikologischen Tests mit Arsen durchgeführt:

- ▶ Sechs Böden mit deutlich unterschiedlichen Eigenschaften wurden verwendet;
- ▶ Sechs Extraktionsverfahren wurden zur Expositionsabschätzung eingesetzt;
- ▶ Acht ökotoxikologische Standardtests kamen zum Einsatz.

Außerdem wurde ein Angebot der Universität Leuven zur Nutzung von ökotoxikologischen Ergebnissen aus sieben Tests (zwei Pflanzen, zwei Invertebraten und drei mikrobiologische Prozesse) mit zwei Metallen (Cu, Ni) in 19 bzw. 16 gut charakterisierten Böden angenommen. Daher wurden für diese beiden Metalle nur die dort nicht verwendeten Testmethoden eingesetzt. Drei dieser 19 Böden standen in ausreichender Menge zur Auswahl, um die gleichen ökotoxikologischen Tests wie für Kupfer und Nickel mit dem Halbmetall Arsen durchzuführen. Dieser komplexe Datensatz bildete die Basis der im Folgenden beschriebenen Untersuchungen.

In diesem Arbeitspaket wurden somit die Grundlagen für die experimentellen Arbeiten sowie das zugrundeliegende Bewertungskonzept gelegt. Die sechs für dieses Vorhaben ausgewählten Böden sollten eine möglichst große Bandbreite der die Bioverfügbarkeit beeinflussenden Faktoren (z. B. pH-Wert, Tongehalt usw.) abdecken. Die in diesem Vorhaben durchgeführten ökotoxikologischen Tests mit Bodenorganismen dienten dazu, die Durchführbarkeit des erarbeiteten Konzepts zu belegen. Dabei wurden, soweit möglich, Literaturdaten genutzt.

Auswahl der zu testenden Stoffe (As, Cu, Ni)

Gegenwärtig werden in der BBodSchV (1999) Vorsorgewerte auf der Basis der Gesamtgehalte für sieben Metalle aufgeführt: Blei (Pb), Cadmium (Cd), Chrom (Cr), Kupfer (Cu), Nickel (Ni), Quecksilber (Hg) und Zink (Zn). Für das Halbmetall Arsen, für das im Entwurf der novellierten BBodSchV (Deutscher Bundestag Drucksache 18/12213, 18. Wahlperiode 03.05.2017) Vorsorgewerte auf der Basis der Gesamtgehalte enthalten sind, sollten in diesem Vorhaben ebenfalls vorsorgeorientierte Bodenwerte für Bodenorganismen auf der Basis der Bioverfügbarkeit abgeleitet werden, so dass auch für anionisch vorliegende Halbmetalle wie Arsen ein Vergleich mit der Ableitung auf Basis der Gesamtgehalte möglich ist. Arsen kommt in der Umwelt in mehreren Oxidationsstufen vor (-III; 0; +III; +V). In diesem Projekt wurde nur Arsenat als Dinatriumhydrogenarsenat ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$) zugegeben. Aufgrund der unter normaler Atmosphäre durchgeführten Versuchsbedingungen blieb Arsen in dieser Form.

Darüber hinaus wurden vom Auftraggeber ein für Bodenorganismen essentielles (d. h. Kupfer) sowie ein nicht-essentielles (d. h. Nickel) Metall ausgewählt, für die schon sehr viele ökotoxikologische Daten vorliegen (z. B. Song et al. 2006; Jänsch et al. 2007; Smolders et al. 2009; Owojori et al. 2010; Qiu et al. 2013; Kuperman et al. 2014). Außerdem enthalten die REACH-Dossiers für Kupfer und Kupferverbindungen sowie Nickel 252 bzw. 173 Datensätze zur Toxizität dieser beiden Metalle in Böden, wobei jeweils 30 – 40 Arten abgedeckt werden.

Auswahl der Verfahren zur Extraktion der (potentiell) bioverfügbaren Fraktion

Für den Wirkungspfad Boden-Pflanze gibt es in der Literatur gute Korrelationen zwischen den Schwermetallgehalten in Bodenextrakten mit 0,01 M CaCl_2 Lösung und den in Pflanzen gefundenen Schwermetallgehalten. Der Zusammenhang zwischen Akkumulation und Wirkung ist jedoch oft nicht eindeutig. Dagegen ist die 0,01 M CaCl_2 -Extraktion nur bedingt geeignet, um den Wirkungspfad Boden-Bodentiere zu beschreiben. Die Königswasser- (KW) Extraktion löst die Schwermetalle auch aus dem Mineralbestand des Bodens und überschätzt somit den bioverfügbaren Anteil. Allerdings wurde mehrfach eine gute Korrelation zwischen Wirkungen und Ergebnissen aus KW-Aufschlüssen gefunden, so dass folgendes Vorgehen beschlossen wurde: Begleitend zu den ökotoxikologischen Tests wurden sechs Extraktionsverfahren verwendet, die einen Bereich von aktuell verfügbarer Fraktion (angepasste Ionenstärke ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$)) bis zum Gesamtgehalt mittels Königswasseraufschluss abdecken – vier andere Verfahren ordnen sich dazwischen ein. Das heißt, dass beginnend mit der 0,01 M CaCl_2 - und der DTPA/ CaCl_2 -Extraktion zwei Salzextrakte ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ und NH_4NO_3) hinzugenommen wurden, um mit geringeren Ionenstärken zu arbeiten. Zudem wird damit das in der BBodSchV etablierte Verfahren mit Ammoniumnitrat genutzt. Als Extrakt mit einer Säure wurde das kürzlich standardisierte Verfahren mit 0,43 M Salpetersäure genutzt. Weiterhin wurden für die ausgewählten Halbmetalle Sorptionisothermen mittels des in der BGR etablierten Verfahrens erstellt, zwecks grundlegender Charakterisierung der Böden hinsichtlich der Aufnahme bzw. Abgabe der untersuchten (Halb-)Metalle. Darüber hinaus können die die Sorption bestimmenden Bodeneigenschaften mit Hilfe dieser Isothermen identifiziert werden.

Auswahl der Testböden

Bei der Auswahl der in den ökotoxikologischen Tests zu verwendenden Böden wurde versucht, mit einer begrenzten Anzahl von Böden eine möglichst breite Abdeckung der für die Bioverfügbarkeit relevanten Bodeneigenschaften mitteleuropäischer Böden zu erreichen. Für die Auswahl und Charakterisierung der Böden wurden insbesondere Parameter der Filter- und Puffereigenschaften (z. B. Bodenart, KAK, Eisenfraktionen) verwendet. Zunächst wurde der in der Ökotoxikologie weit verbreitete LUFA 2.2-Boden ausgewählt, der durch einen hohen Sandanteil (80%), einen niedrigen Gehalt an organischem Kohlenstoff (1,8%) und eine geringe Kationenaustauschkapazität (66 mmolc/kg) charakterisiert. Dieser Boden gehört als Refesol 01-A zu dem Refesol-Boden-Set des Fraunhofer-Instituts IME, aus dem zwei weitere Böden ausgewählt wurden: Der Grünland-Boden Refesol 05-G hat jeweils den

zweitniedrigsten pH-Wert (5,2) sowie den zweithöchsten Schluffgehalt (52%). Er wird als stark saurer, humoser und sandig-lehmiger Schluff charakterisiert. Der Boden Refesol 06-A wurde von einem Acker im Sauerland entnommen. Er hat einen hohen pH-Wert (7,3), den zweithöchsten KAK-Wert (236,6 mmolc/kg) und wird als mittel-schluffiger Ton mit ebenfalls mittlerem Humusgehalt beschrieben. Darüber hinaus wurden drei in einem Projekt der Universität Leuven verwendeten Böden ausgewählt, die schon für Bioverfügbarkeitsstudien mit Kupfer und Nickel eingesetzt wurden. Der Ter Munck-Boden stammt aus einer Agrarfläche in der Nähe der Stadt Leuven, Belgien. Er hat den höchsten Schluff-Anteil (82%), den niedrigsten Gehalt an organischer Substanz (1%) und eine niedrige Kationenaustauschkapazität (78 mmolc/kg). Der Woburn-Boden stammt aus der Nähe von London. Dieser Boden hat einen relativ hohen pH-Wert (6,0) und Sandgehalt (49%) sowie den höchsten Gehalt an Eisenoxiden in allen getesteten Böden (35053 mg Fe/kg im Dithionit-Extrakt). Der Zegveld-Boden stammt aus der Provinz Utrecht (Niederlande) und zeichnet sich vor allem durch seinen hohen Gehalt an organischer Substanz (21,7%) und Ton (68%) aus. Bei der Auswahl der Böden wurde darauf geachtet, dass trotz der geringen Anzahl (sechs) die für die Bioverfügbarkeit relevanten sieben Bodeneigenschaften ein möglichst breites Spektrum abdeckten. Dieses Ziel wurde meist erreicht, doch gab es beim organischen Kohlenstoff- und beim Kalk-Gehalt große Lücken bei höheren Werten. Bedingt durch Datenlücken bei der Bodencharakterisierung, wurden die wichtigsten Bodeneigenschaften in Hinblick auf Sorptionseigenschaften im Labor der BGR neu bestimmt. Im Einzelnen waren dies der pH-Wert in Wasser und Calciumchlorid; die elektrische Leitfähigkeit im 1:5-Extrakt; die Korngröße; der Gesamtgehalt von Kohlenstoff, Stickstoff und Schwefel im Elementaranalysator; organischer und anorganischer Kohlenstoff mittels thermischem Gradientenverfahren; die effektive Kationenaustauschkapazität mit BaCl₂ nach HFA sowie die Charakterisierung der pedogenen Eisen- und Aluminium-(Hydroxide) mittels Oxalat- und Dithionit-Extrakt.

Auswahl der ökotoxikologischen Testverfahren

Bei der Zusammenstellung einer Testbatterie war es notwendig, sicher zu stellen, dass folgende Aspekte abgedeckt werden (1) Auswahl mehrerer Organismengruppen mit ihrer jeweils unterschiedlichen Morphologie, Physiologie und Ökologie: im Minimum Mikroorganismen, Pflanzen und Invertebraten; (2) Beachtung von unterschiedlichen Expositionspfaden: Porenwasser vs. Bodenpfad; (3) Verwendung von empfindlichen Testsystemen, d. h. es werden chronische Tests mit Reproduktions-Endpunkten bevorzugt; (4) Einsatz standardisierter Verfahren um möglichst belastbare Ergebnisse zu generieren. Daher wurden pro Organismengruppe (Tiere, Pflanzen, Mikroorganismen) jeweils zwei Verfahren ausgewählt, wobei neben der langjährigen Erfahrung die ökologische Relevanz sowie die hohe Empfindlichkeit des jeweiligen Tests für die Auswahl entscheidend waren. Bei den Bodeninvertebraten wurden drei Tests eingesetzt, um einen weiteren Endpunkt (Vermeidungsverhalten) abdecken zu können.

- ▶ Mikroorganismen:
 - ▶ Feststoffkontakttest mit *Arthrobacter globiformis* (ISO 18187; 2016);
 - ▶ Stickstoff-Transformationstest (ISO 14238; 2012).
- ▶ Pflanzen:
 - ▶ Keimlingsaufbau und -wachstumstest mit höheren Pflanzen (ISO 11269-2; 2012);
 - ▶ Test auf Wurzellängentest mit Gerste (ISO 11269-1; 2012).
- ▶ Boden-Invertebraten:
 - ▶ Chronischer Regenwurmtest (ISO 11268-2; 2012);
 - ▶ Chronischer Collembolentest (ISO 11267; 2014);
 - ▶ Regenwurm-Fluchttest (ISO 17512-1, 2008).

Experimentelle Durchführung der Tests mit Arsen

Um eine Äquilibration der Testsubstanz Arsen im Boden zu gewährleisten wurde die Testsubstanz bereits 7 Tage vor eigentlichem Testbeginn in den Boden appliziert und eingemischt. Die exakte Einwaagemenge der Testsubstanz sowie die Volumina der Stamm- und Testlösungskolben richteten sich dabei individuell nach der Restbodenfeuchtigkeit und den jeweils gewünschten Testkonzentrationen der einzelnen Tests. Demnach beziehen sich alle Testkonzentrationen auf die tatsächlichen Arsenkonzentrationen im Boden. Für die Testung der Feldböden wurde in Einzelfällen von der für Kunsterde festgelegten Feuchtwerten abgewichen, da es aufgrund ihrer Eigenschaften zu Verklumpungen gekommen wäre. Alle Böden wurden im Vorfeld auf 2 mm (LUFA 2.2, Refesol 05-G, Refesol 06-A, Ter Munck) oder 4 mm (Woburn, Zegveld) gesiebt. Nach Applikation und Einmischung der Testlösungen wurden die Testgefäße für 7 Tage bei $20 \pm 2^\circ\text{C}$ inkubiert. Die jeweils in den einzelnen Testrichtlinien festgelegten Validitätskriterien wurden mit sehr wenigen Ausnahmen eingehalten. Diese Abweichung ist auf die teils sehr großen Unterschiede zwischen den Eigenschaften der getesteten Freilandböden im Vergleich zu den Eigenschaften der in den Richtlinien beschriebenen Standardböden zurückzuführen.

Ergebnisse der ökotoxikologischen Tests mit Arsen

In jedem der durchgeführten Tests wurden die folgenden Ergebnisse erarbeitet:

- ▶ ECx-Werte (primär: EC₁₀, EC₅₀) wurden berechnet, wobei die Toxizitätsdaten bis auf einige wenige Angaben aus der Literatur in diesem Projekt erarbeitet wurden.
- ▶ Die Exposition (d. h. die Konzentration von Arsen) wurde getrennt nach dem verwendeten Extraktionsverfahren dargestellt.
- ▶ Die unterschiedlichen ECx-Werte für die einzelnen Arten bzw. Endpunkte wurden in Abhängigkeit von den verwendeten Böden diskutiert; u.a. in Hinsicht auf die erwartete Variabilität in Abhängigkeit von der Biologie der Testorganismen.
- ▶ ECx-Werte, die außerhalb der getesteten Konzentrationen lagen, mussten extrapoliert werden. Diese sind im Vergleich zu intrapolierten Werten weniger aussagekräftig. Für die weitere Auswertung wurden sie nicht weiter berücksichtigt. Dieses Vorgehen wird z. B. in § 341 des OECD-Dokument (2006d) zur statistischen Auswertung ökotoxikologischer Tests ausdrücklich empfohlen. Eine Ausnahme ist möglich, wenn der extrapolierte Wert nur wenig unter der untersten getesteten Konzentration liegt: *Because of the fact that a fitted statistical model only reflects the information in the data, extrapolation outside the range of observation is usually unwarranted. Therefore, estimating an ECx that is much lower than the lowest applied (nonzero) dose or concentration should be avoided.*

Die Tests mit Kupfer und Nickel (Feststoffkontakttest und Regenwurm-Fluchttest) wurden analog zu den Tests mit Arsen durchgeführt und die gleichen statistischen Endpunkte berechnet. Die Ergebnisse sind im Anhang zu diesem Bericht aufgeführt.

Extraktionsversuche und Sorptionsisothermen

Für die Extraktion mit $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ mit angepasster Ionenstärke wurde für alle Böden die Ionenstärke bei Bodensättigung nach der Heidkamp-Methode über die Berechnung der Leitfähigkeit im Bodensättigungsextrakt bestimmt. Parallel dazu wurden die Sorptionsisothermen der untersuchten Böden für die Elemente As sowie Cu und Ni (siehe Anhang) experimentell bestimmt. Dabei wurde einem Ansatz gefolgt, bei dem auch die bodenspezifische Ionenstärke über einen $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ -Begleitelektrolyten eingestellt wird. Die Stärke der verschiedenen Extraktionsverfahren nahm für As bei allen Böden in der Reihenfolge $\text{KW} > \text{HNO}_3 > \text{DTPA} > \text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \approx \text{CaCl}_2 > \text{NH}_4\text{NO}_3$ ab. Bei den meisten Böden extrahieren die Neutralsalzlösungen $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, CaCl_2 und NH_4NO_3 deutlich weniger als die anderen drei Methoden. Die drei schwächsten Extraktionsmittel $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, CaCl_2 und NH_4NO_3 extrahierten die größte Menge As

aus den Böden Ter Munck und LUFA 2.2. Bei den stärkeren Extraktionsmitteln DTPA und HNO_3 wurde zusätzlich aus dem Refesol 05-G ein größerer Anteil extrahiert. Die niedrigsten Extraktionsanteile wies der Boden Zegveld auf, bei dem Verfahren mit HNO_3 kam der Refesol 06-A auf die niedrigsten Extraktionsanteile beim Vergleich der sechs Böden. Der Zegveld-Boden hat einen sehr hohen Gehalt von C_{org} und einen hohen Ton-Gehalt, welches beide Bodeneigenschaften sind, die üblicherweise auf eine hohe Bindung von Stoffen oder Ionen im Boden schließen lassen. Beim Woburn-Boden deutet der hohe Eisenoxid-Gehalt auf eine hohe As-Bindung hin, was sich in den niedrigen Messwerten in den Extraktionsverfahren widerspiegelt.

Vorschlag zur Ableitung von Bodenwerten für Arsen

In diesem Arbeitspaket werden die Ergebnisse der in den verschiedenen Böden durchgeführten ökotoxikologischen Tests mit den jeweiligen chemischen Rückstandsdaten zusammengeführt. Ziel dieses Arbeitsschritts war es, diejenige Extraktionsmethode zu identifizieren, die die Bioverfügbarkeit am besten widerspiegelt. Alle bisher als nominale Bodenkonzentration von Arsen angegebenen EC_x -Werte wurden als gemessene Gesamtfraktion oder als extrahierbare Fraktion mittels linearer Interpolation umgerechnet, wozu jeweils die beiden darunter und darüber gelegenen Arsenkonzentrationen verwendet wurden. Die für die Bioverfügbarkeit repräsentativste Extraktionsmethode wird den größten Teil der Toxizitätsvariabilität für den jeweiligen Endpunkt in den getesteten Böden eliminieren. Die Beurteilung basierte auf der Verwendung folgender Kriterien: (1) Minimale Variabilität der EC_{50} - und EC_{10} -Werte für den gleichen biologischen Messendpunkt in den verschiedenen Böden, quantifiziert anhand des Maximum/Minimum-Verhältnisses, des Variationskoeffizienten (Standardabweichung/Mittelwert), der Relativen Spannweite ((Maximum-Minimum/Mittelwert); (2) Die beste Anpassung einer einzelnen log-logistischen Konzentrations-Wirkungs-Kurve für alle Daten eines Messendpunkts mit allen Böden, beurteilt anhand der minimalen Wurzel der mittleren Fehlerquadratsumme (root-mean-square error; RMSE) sowie maximalen r^2 . (3) Die minimale Variabilität der HC_5 -50-Werte der "Species Sensitivity Distributions (SSD)" für jeden einzelnen Boden, quantifiziert anhand des Maximum/Minimum-Verhältnisses, des Variationskoeffizienten (Standardabweichung/Mittelwert), der Relativen Spannweite ((Maximum-Minimum/Mittelwert). Des Weiteren wurde geprüft, ob die verbleibende Variabilität der EC_x - bzw. der HC_5 -50-Werte für alle Böden mit der Variabilität der Eigenschaften der getesteten Böden korreliert ist.

Toxizitätswerte für Arsen

Die EC_{10} - und EC_{50} -Werte werden für jeden Endpunkt als gemessene gesamte oder extrahierbare Konzentration angegeben. Diese Daten zeigen, dass die Arsentoxizität, basierend auf der jeweiligen Gesamtkonzentration, um ca. den Faktor 20 in den Böden für denselben Endpunkt differieren kann. Daher ist sie zur Beurteilung der Bioverfügbarkeit bzw. der Toxizität nicht gut geeignet. Diejenige Extraktionsmethode, die die Unterschiede zwischen den Böden hinsichtlich Bioverfügbarkeit (bzw. Toxizität) am besten erklärt, ist also diejenige, bei der die Variabilität der Toxizität am geringsten ist. Sie unterscheidet sich je nach Endpunkt bzw. Effektstärke (EC_{10} und EC_{50}). Aufgrund der höheren statistischen Belastbarkeit werden hier nur die EC_{50} -Werte bei der weiteren Auswertung verwendet.

Eine gute Repräsentativität für die Bioverfügbarkeit und die Toxizität von Metallen in Böden würde sich in ähnlichen Konzentrations-Wirkungs-Kurven für den gleichen Endpunkt in verschiedenen Böden widerspiegeln; d. h. alle Daten könnten zusammen in einer Konzentrations-Wirkungs-Kurve beschrieben werden. Die Ergebnisse stimmen mit denjenigen überein, die sich bei der Bestimmung der besten Extraktionsmethode für die Arsentoxizität für jeden Endpunkt basierend auf der Variabilität der EC_{10} - und EC_{50} -Werte ergaben. Die DTPA-Extraktion scheint die beste Vorhersage der Arsentoxizität für Pflanzen zu sein, während neutrale Salzextrakte die beste Näherung der Reproduktionstoxizität von Invertebraten erlauben. Im Falle des Regenwurm-Vermeidungstests sowie den mikrobiellen Dehydrogenaseaktivitätstests verringerte sich bei keiner Extraktionsmethode die Variabilität der

Arsentoxizität in den verschiedenen Böden. Beim Stickstoff-Transformationstest zeigte sich keine Erhöhung der Wirkung mit steigenden Arsenkonzentrationen, so dass keine Anpassung möglich war.

Die jeweils beste Methode zur Charakterisierung der Bioverfügbarkeit von Arsen in den verschiedenen ökotoxikologischen Tests ist in der folgenden Aufstellung wiedergegeben:

Testorganismus	Endpunkt	Beste Extraktionsmethodik
<i>Avena sativa</i>	Sprossbiomasse	DTPA/CaCl ₂
<i>Solanum lycopersicum</i>	Sprossbiomasse	DTPA/CaCl ₂
<i>Hordeum vulgare</i>	Wurzellänge	DTPA/CaCl ₂
<i>Eisenia fetida</i>	Reproduktion	Ca(NO ₃) ₂ ≈ 0,01 M CaCl ₂ ≈ 1 M NH ₄ NO ₃
<i>Folsomia candida</i>	Reproduktion	Ca(NO ₃) ₂ ≈ 0,01 M CaCl ₂ ≈ 1 M NH ₄ NO ₃
<i>Eisenia andrei</i>	Vermeidung	Königswasser
<i>Arthrobacter globiformis</i>	Dehydrogenaseaktivität	Königswasser
Mikrobielle Gemeinschaft	Stickstoff-Transformation	Unklar

Unabhängig von der Variabilität der Arsentoxizität in den jeweiligen Böden für den jeweiligen gemessenen Endpunkt kann man alle mit demselben Boden erhobenen Daten zusammen auswerten, um einen Bodenwert für jeden Boden auszurechnen und diese dann untereinander zu vergleichen. Da für jeden Boden Daten von acht verschiedenen Endpunkten vorliegen, kann der Bodenwert mittels einer SSD, basierend auf einer log-normalen Verteilung, bestimmt werden. Die HC₅-50-Werte der Verteilung der EC₁₀- und EC₅₀-Werte, basierend auf verschiedenen Extraktionsmethoden, wurden sowohl für einzelne EC_x-Werte als auch mehrere Endpunkte berechnet und deren Unterschiede zwischen den Böden untersucht. Diese Ergebnisse zeigen, dass die ca. beim Faktor 10 liegende Variabilität der HC₅-50-Werte (wenn auf Gesamtkonzentrationen basierend) auf ca. die Hälfte reduziert wird. Dabei hängt die Auswahl der besten Extraktionsmethode für die Bioverfügbarkeit und Toxizität von Arsen vom Wirkniveau ab: bei Nutzung der EC₁₀-Werte ist die Extraktion mit 0,43 M HNO₃ zu empfehlen, während die DTPA-Extraktion bei Verwendung der EC₅₀-Werte besser geeignet ist.

Korrelation zwischen dem As-Gesamtgehalt und Bodeneigenschaften

Wie schon bei anderen Metallen wurde auch im Fall von Arsen die Korrelation der Toxizität basierend auf dem Gesamtgehalt mit verschiedenen Bodeneigenschaften untersucht. Die Regressionsanalyse (auf log-log-Basis) ergab, dass die Variabilität der auf dem Arsen-Gesamtgehalt basierenden EC₅₀-Werte über alle Böden hinweg und für alle untersuchten Endpunkte signifikant mit Bodeneigenschaften wie Tongehalt, Ammoniumoxalat-extrahierbaren Eisenoxiden, pH (0,01 M CaCl₂), KAK_{eff} sowie dem Gehalt an organischem Kohlenstoff korreliert. Dieser Zusammenhang mit Bodeneigenschaften wurde bevorzugt mittels EC₅₀-Werten beschrieben, da diese aufgrund schmalere Konfidenzintervalle eine robustere Auswertung erlauben und zudem weniger durch experimentelle Rahmenbedingungen wie die Wahl der Testkonzentrationen und ihres Abstands beeinflusst werden als NOEC- oder EC₁₀-Werte.

Die HC₅-50-/EC₅₀-Werte zeigten häufiger eine signifikante Korrelation mit den jeweiligen Bodeneigenschaften im Vergleich zu den HC₅-50-/EC₁₀-Werten. Die Normalisierung der jeweiligen Wirkdaten für die Auswirkung der Bodeneigenschaften erlaubt die Berechnung einer spezifischen Effektkonzentration zur Beschreibung der Auswirkungen von Arsen auf Bodenorganismen in einem zu untersuchenden Boden. Jeder EC₁₀- oder EC₅₀-Wert wurde für die Eigenschaften des zu untersuchenden Bodens normalisiert, wobei die Steigung der jeweiligen Regressionsfunktion (log-log basiert) und die folgende Gleichung verwendet werden:

$$ECx_{Referenz} = ECx_{Test} * \left(\frac{\text{abiotischer Faktor}_{Referenz}}{\text{abiotischer Faktor}_{Test}} \right)^{Steigung}$$

Gleichung 1

Dabei ist mit "Referenz" der Boden gemeint, für den die jeweilige Effektkonzentration gültig sein soll und "Test" steht für den getesteten Boden. „Abiotischer Faktor“ ist die in dem Regressionsmodell ausgewählte Bodeneigenschaft. Für die mikrobiellen Endpunkte konnte kein geeignetes Regressionsmodell identifiziert werden – daher wurden nicht-normalisierte Toxizitätsdaten in diesem Fall für die Ableitung von Grenzkonzentrationen für Arsen in Böden verwendet.

Nach der Normalisierung wurde ein art- oder endpunktspezifischer Wert als geometrisches Mittel aller Daten für den jeweiligen Endpunkt jeder Art (oder eines mikrobiellen Prozesses) berechnet. Schließlich wurde eine SSD an die jeweiligen ECx-Mittelwerte angepasst. Danach wurde die median Gefahrenkonzentration für 5% aller Arten (HC₅-50), äquivalent zu einem 95%-Schutzniveau, als der Median des 5ten Perzentils dieser Verteilung bestimmt. Diese abgeleiteten HC₅-50-Werte, basierend auf den spezifischen Eigenschaften der sechs getesteten Böden, wurden mit denjenigen HC₅-50-Werten verglichen, die aus der SSD (basierend auf den Daten nur für den jeweiligen Böden sowie denjenigen HC₅-50-Werten verglichen, die aufgrund der Korrelation zwischen Toxizitätsdaten und dem jeweiligen Tongehalt (Regressionsgleichungen zwischen log HC₅-50 und log Ton)) bestimmt wurden. Diese Analyse zeigt, dass Grenzwerte, die auf dem Arsen-Gesamtgehalt (korrigiert für die unterschiedlichen Tongehalte) basieren, die bodenspezifischen HC₅-50-Werte mit einer Abweichung um den Faktor 2 vorhersagen können.

Das heißt, dass der Ansatz mittels einer Normalisierung aller Toxizitätsdaten (basierend auf endpunkt-spezifischen Korrelationen mit Bodeneigenschaften) zu einer besseren Abschätzung der HC₅-50-Werte führt als mittels einer direkten Korrelation von HC₅-50-Werten mit den jeweiligen Bodeneigenschaften. Auf diese Weise kann eine SSD auf der Grundlage aller Arten und Endpunkte erstellt werden – im Gegensatz zu einer SSD für einzelne Böden, bei der nur Daten für diesen einen Boden verwendet werden können. Damit kann ein aus verschiedenen Quellen stammender Datensatz (sofern diese Werte anhand akzeptierter, möglichst standardisierte Methoden erhoben wurden) eingesetzt werden und es ist nicht nötig, eine bestimmte Mindestanzahl von Daten für einen speziellen Böden generieren zu müssen.

Ableitung der Bodenwerte für Arsen

In diesem Vorhaben wurden sowohl die "aktuell" als auch "potentiell" verfügbaren Fraktionen eines Metalls im Boden durch die Bandbreite der verwendeten Extraktionsverfahren berücksichtigt. Konkretes Ziel des Vorhabens war die Ableitung von vorsorgeorientierten Bodenwerten für Bodenorganismen auf der Grundlage der bioverfügbaren Anteile von Arsen. Dabei war insbesondere die Vollzugsrelevanz der vorgeschlagenen vorsorgeorientierten Bodenwerte zu beachten, z. B. durch einen Abgleich der vorgeschlagenen Werte mit dem natürlichen Hintergrundgehalt deutscher Böden sowie regulatorischen Bodenwerten anderer Staaten. Die Ergebnisse des Vorhabens werden am Beispiel des Halbmetalls Arsen, unter besonderer Beachtung der Vollzugsrelevanz der vorgeschlagenen Werte (konkret: Vorsorge- und Prüfwerte), vorgestellt. Im Verlauf des Vorhabens wurden zwei verschiedene Wege der Bodenwertableitung identifiziert und angewandt:

1. Umsetzung des neuen Konzepts auf der Basis der geeignetsten Extraktionsmethodik;
2. Umsetzung des neuen Konzepts auf der Basis des Arsen-Gesamtgehalts und der Normalisierung der Toxizitätsdaten.

Im Einzelnen besteht das vorgeschlagene Konzept aus den folgenden Schritten:

1. Die Bodenwerte werden aufgrund von Daten aus standardisierten Tests (primär der ISO) mit verschiedenen Vertretern der Bodenorganismengemeinschaft (Mikroorganismen, Pflanzen, Invertebraten) abgeleitet, d. h. es werden belastbare ECx-Werte generiert.

- | | |
|--|--|
| <p>2.a) Die EC_x-Werte werden auf die mit der geeignetsten Extraktionsmethode ermittelten As-Konzentrationen bezogen.</p> <p>3.a) Der nach Schutzniveau differenzierte HC₅-50-Wert (d. h. getrennt nach EC₁₀- und EC₅₀-Werten) wird mittels einer SSD mit allen EC_x-Werten aus Mikroorganismen, Pflanzen und Invertebraten für jeden Boden berechnet.</p> <p>4.a) Das geometrische Mittel der Toxizitätsdaten pro Art und Effektniveau (EC₁₀- bzw. EC₅₀-Werte) aller Böden wird berechnet.</p> | <p>2.b) Die EC_x-Werte bezogen auf As-Gesamtgehalte werden anhand von Daten zu den wichtigsten Bodeneigenschaften normalisiert, wobei die Steigungen aus den endpunkt-spezifischen Regressionsmodellen (vgl. Gleichung 1) zu verwenden sind.</p> <p>3.b) Das geometrische Mittel der Toxizitätsdaten pro Art und Effektniveau (EC₁₀- bzw. EC₅₀-Werte) aller Böden wird berechnet.</p> <p>4.b) Der nach Schutzniveau differenzierte HC₅-50-Wert (d. h. getrennt nach EC₁₀- und EC₅₀-Werten) wird mittels einer SSD mit allen geometrischen Mittelwerten aus Mikroorganismen, Pflanzen und Invertebraten berechnet.</p> |
|--|--|

Umsetzung des neuen Konzepts auf der Basis der geeignetsten Extraktionsmethodik

Die Erfahrungen bei der Extraktion von Arsen aus den verschiedenen Böden mit jeweils unterschiedlichen Verfahren lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- ▶ Basierend auf den jeweiligen EC_{10} -Werten ist das 0,43 M HNO_3 -Extraktionsverfahren am besten für die Bestimmung des bioverfügbaren Anteils von Arsen geeignet (speziell hinsichtlich der Tests mit Invertebraten). Daher wurden die auf der Basis dieser Daten berechneten HC_{5-50} -Werte zur Ableitung von vorsorgeorientierten Bodenwerten für Bodenorganismen verwendet;
- ▶ Basierend auf den jeweiligen EC_{50} -Werten ist dagegen das DTPA-Extraktionsverfahren am besten für die Bestimmung des bioverfügbaren Anteils von Arsen geeignet (speziell bezüglich der Tests mit Pflanzen). Daher wurden die auf der Basis dieser Daten berechneten HC_{5-50} -Werte zur Ableitung von nachsorgeorientierten Bodenwerten für Bodenorganismen herangezogen.

Bei Nutzung der Arsen-Extraktion mittels 0,43 M HNO_3 ergeben sich folgende Bodenwert-Vorschläge:

Vorsorgeorientierter Bodenwert für Bodenorganismen: (d. h. als HC_{5-50} ; auf Basis der EC_{10} -Werte):
7,8 (3,5 – 13,6) mg/kg

Nachsorgeorientierter Bodenwert (Prüfwertvorschlag) im Pfad Bo-BO: (d. h. als HC_{5-50} ; auf Basis der EC_{50} -Werte):
23,1 (7,6 – 53,6) mg/kg

Mit 0,43 M HNO_3 extrahierte As-Hintergrundgehalte in den 6 Testböden: **0,7 – 6,4 mg/kg.**

Ausgehend von den mit der Extraktionsmethode DTPA gemessenen Arsen-Werten wurden somit die nachfolgenden Werte (jeweils als geometrisches Mittel sowie Minimum und Maximum) abgeleitet:

Vorsorgeorientierter Bodenwert für Bodenorganismen: (d. h. als HC_{5-50} ; auf Basis der EC_{10} -Werte):
1,7 (0,8 – 5,6) mg/kg

Nachsorgeorientierter Bodenwert (Prüfwertvorschlag) im Pfad Bo-BO: (d. h. als HC_{5-50} ; auf Basis der EC_{50} -Werte):
8,4 (4,8 – 22,6) mg/kg

Die mit DTPA extrahierten As-Hintergrundgehalte in den 6 Testböden sind: **0,08 – 0,51 mg/kg.**

Umsetzung des neuen Konzepts auf der Basis des Arsen-Gesamtgehalts und der Normalisierung der Toxizitätsdaten

In diesem Vorhaben konnte gezeigt werden:

- ▶ Bei Pflanzen und der Reproduktion von Bodeninvertebraten waren die EC_{50} -Werte am stärksten mit dem Tongehalt, der KAK_{eff} und dem oxalat-extrahierbaren Eisengehalt (Fe_{ox}) der Böden korreliert. Es wurden Regressionsmodelle mit dem Tongehalt für die Normalisierung der Toxizitätsdaten mit den jeweiligen Bodeneigenschaften ausgewählt. Die Daten aus dem Regenwurm-Vermeidungstest zeigten eine deutliche positive Korrelation mit dem pH-Wert;
- ▶ In gleicher Weise zeigten die auf den Gesamtkonzentrationen von Arsen basierenden HC_{5-50} -Werte für die einzelnen Böden eine Korrelation mit den jeweiligen Bodeneigenschaften. Wie für die einzelnen Endpunkte bei den Pflanzentests sowie den Reproduktionstests mit Invertebraten wurde die beste Korrelation mit dem Tongehalt, der KAK_{eff} und dem oxalat-extrahierbaren Eisengehalt (Fe_{ox}) der Böden gefunden. Dabei zeigten sich bei den HC_{5-50} / EC_{50} -Werten mehr signifikante Korrelationen mit Bodeneigenschaften als bei den HC_{5-50} / EC_{10} -Werten;
- ▶ Der Ansatz mittels einer Normalisierung aller Toxizitätsdaten (basierend auf endpunkt-spezifischen Korrelationen mit Bodeneigenschaften) führt zu einer besseren Abschätzung der HC_{5-50} -Werte als derjenige mittels einer direkten Korrelation von HC_{5-50} -Werten mit den jeweiligen Bodeneigenschaften;

- Die Normalisierung der jeweiligen Wirkdaten in Bezug auf die relevanten Bodeneigenschaften erlaubt die Berechnung einer spezifischen Effektkonzentration zur Beschreibung der Auswirkungen von Arsen auf Bodenorganismen in einem zu untersuchenden Boden.

Auf der Basis des Arsen-Gesamtgehalts und einer Normalisierung der Toxizitätsdaten bezogen auf ausgewählte Bodeneigenschaften (Tongehalt, pH) der sechs getesteten Böden ergeben sich die folgenden bodenspezifischen HC₅₋₅₀-Werte (Minimum und Maximum der sechs Böden):

- HC₅₋₅₀ auf Basis der EC₁₀-Werte: **13,8 – 47,6 mg/kg**
- HC₅₋₅₀ auf Basis der EC₅₀-Werte: **16,7 – 192,8 mg/kg**

Die Hintergrund-Gesamtgehalte von Arsen in den sechs Testböden lagen bei: **3,0 – 46,2 mg/kg**. Eine Aufschlüsselung dieser Angabe ist **Tabelle 7 bzw. Tabelle 33** zu entnehmen.

Bei dieser Vorgehensweise und in Übereinstimmung mit der Struktur der BBodSchV können für bestimmte Stellvertreterböden Vorsorge- und Prüfwerte nach denjenigen Bodeneigenschaften differenziert werden, die hauptsächlich für die Bioverfügbarkeit von Arsen verantwortlich sind (d. h. Tonanteil bei einem pH-Wertes von 6,0). So ergeben sich die folgenden HC₅₋₅₀-Werte [mg/kg] für Stellvertreterböden der Bodenartenhauptgruppen Sand, Lehm und Ton:

Bodenartenhauptgruppe	HC ₅₋₅₀ EC ₁₀	HC ₅₋₅₀ EC ₅₀
Sand (5% Ton)	9,7	10,8
Lehm/Schluff (17% Ton)	31,3	51,3
Ton (45% Ton)	37,1	155,4

Diese berechneten Werte sollten zur besseren Vermittelbarkeit gerundet werden. Zudem sollte auch für sandige Böden ein angemessener Abstand zwischen vorsorge- und nachsorgeorientierten Bodenwerten eingehalten werden. Die finale Empfehlung für vorsorge- bzw. nachsorgeorientierte Bodenwerte für Bodenorganismen für Arsen [mg/kg] sieht damit wie folgt aus:

Bodenart	Vorsorgeorientierter Bodenwert für Bodenorganismen	Nachsorgeorientierter Bodenwert für Bodenorganismen
Sand	10	20
Lehm/Schluff	30	50
Ton	40	150

Die hier aufgelisteten vorsorgeorientierten Bodenwerte für Bodenorganismen entsprechen damit tendenziell den Vorsorgewerten, wie sie im Entwurf der neuen BBodSchV vorgesehen sind: je nach Bodenart 10 – 20 mg/kg. Dabei beziehen sich sowohl unser Vorschlag als auch die Werte aus der E-BBodSchV jeweils auf den As-Gesamtgehalt. Die im Entwurf der BBodSchV enthaltenen Vorsorgewerte werden damit bestätigt, da das Edaphon durch diese niedrigeren Werte (10 – 20 – 20 mg/kg) in jedem Falle geschützt ist.

Finale Empfehlung

Der zweite oben angeführte Ansatz, d. h. die Normalisierung aller individuellen Toxizitätswerte, wird als Grundlage für die Ableitung von Bodenwerten empfohlen. Damit werden alle relevanten und verlässlichen Toxizitätsdaten genutzt und die Unsicherheit hinsichtlich der vorhergesagten Toxizität in einzelnen Böden ist ähnlich oder geringer im Vergleich zu den am besten für Arsen geeigneten Extraktionsmethoden. Ton und pH-Wert wurden als die für die Toxizität von Arsen für Bodenorganismen maßgeblichen Bodeneigenschaften identifiziert. Dieser Ansatz erlaubt, Vorsorge- und Prüfwerte sowohl für allgemeine Stellvertreterböden als auch für einzelne Böden zu berechnen, sofern deren

Tongehalt und pH-Wert bekannt sind. Dieser Ansatz entspricht der Methodik, wie sie in der REACH-Gesetzgebung sowie nationalen Anforderungen für die Ableitung von PNEC-Werten für Metalle gelten. Damit wird eine Konsistenz des jeweiligen regulatorischen Ansatzes über einzelne gesetzliche Regelungen hinaus erreicht. Daher wurde dieser Ansatz konkret auch für die beiden Metalle Cu und Ni angewendet. Die jeweiligen Ergebnisse sind dem Anhang zu entnehmen.

Plausibilität der vorgeschlagenen Bodenwerte für Arsen

In diesem Kapitel werden die in diesem Vorhaben erarbeiteten vorsorgeorientierten Bodenwerte für Bodenorganismen in Hinsicht auf ihre Plausibilität überprüft, wobei zwei Ansätze zu unterscheiden sind: Zum einen wurden die vorgeschlagenen Bodenwerte mit dem Hintergrundgehalt von Arsen in deutschen und europäischen Böden verglichen. Regulatorische Werte sind nicht praxistauglich, wenn sie ähnlich oder sogar niedriger sind als der „typische“ natürliche Gehalt von Arsen im Boden. Zum anderen wurde überprüft, wie in anderen europäischen Staaten mit diesem Problem umgegangen wird, d. h. ob und wenn ja in welcher Höhe entsprechende Bodenwerte schon außerhalb Deutschlands vorgeschlagen wurden. Die Hintergrundwerte von Arsen in Oberböden in Deutschland differieren ungefähr um den Faktor 10, je nach Ausgangsmaterial zwischen 3,9 und 40 mg/kg, während europaweit (LUCAS-Projekt) ein Bereich von 0,5 - 250 bei einem Mittelwert von 3,7 mg/kg Boden angegeben wird (dabei sind auch anthropogen beeinflusste Flächen enthalten). Für landwirtschaftlich genutzte europäische Böden wurde dieser Bereich weitgehend bestätigt (Median: 5,5 mg/kg; GEMAS-Projekt).

Die in diesem Vorhaben für Arsen zusammengestellten regulatorischen vorsorge- bzw. nachsorgeorientierten Bodenwerte aus verschiedenen Staaten decken einen Bereich von 10 – 30 bzw. 5 – 65 mg/kg ab. Allerdings sind diese Angaben nur schwer miteinander vergleichbar, da z. B. das Schutzziel differiert. De facto erscheinen diese Unterschiede in Hinsicht auf die differierenden Datenquellen, die uneinheitliche Ableitungsmethodik (mehrfach SSDs, teils Abschätzungen) sowie verschiedene Zielrichtungen als relativ klein. Daher erscheint die deutsche Herangehensweise als wissenschaftlich und regulatorisch gut begründet. Die in diesem Projekt vorgeschlagenen Bodenwerte (je nach Bodenart und Schutzniveau 10 – 40 mg/kg bzw. 20 – 150 mg/kg) unterscheiden sich nicht wesentlich von denjenigen Werten, die in anderen EU-Staaten diskutiert oder schon regulatorisch eingeführt wurden.

Weiterer Forschungsbedarf und Ausblick

Ausgehend von den in diesem Vorhaben gewonnenen Erfahrungen zur Ableitung von vorsorgeorientierten Bodenwerten für Bodenorganismen für Arsen auf der Grundlage der EC₁₀-Werte aus ökotoxikologischen Tests können anhand der gleichen Prinzipien aber unter Nutzung der EC₅₀-Daten aus den gleichen ökotoxikologischen Tests nachsorgeorientierte Bodenwerte für Bodenorganismen abgeleitet werden. Diese Möglichkeit ist systematisch zu überprüfen. Die abgeleiteten Werte sind dann auf ihre Plausibilität hin zu überprüfen. Solche nachsorgeorientierten Bodenwerte für Bodenorganismen können nach der jeweiligen Bodenart differenziert werden. Zudem ist zu prüfen, ob eine solche Aufschlüsselung auch für weitere Bodeneigenschaften sinnvoll ist. In diesem Vorhaben wurden insgesamt 45 ökotoxikologische Tests mit Arsen durchgeführt, wobei einzelne Tests – teils mehrfach – wiederholt werden mussten, da die entsprechenden Validitätskriterien nicht erfüllt wurden. Die meisten ökotoxikologischen Tests wurden für die Anwendung in OECD Kunsterde bzw. im Standardboden LUFA 2.2 entwickelt, nicht aber für Untersuchungen mit Feldböden mit deutlich divergierenden Eigenschaften. Daher sollte systematisch überprüft werden, welche Standard-Testorganismen in welchen unbelasteten Freilandböden getestet werden können. Während in fast allen Fällen die Tests mit Invertebraten und Pflanzen valide waren gab es mehrfach Probleme (z.B. Schwankungen der Ergebnisse) bei der Durchführung der mikrobiologischen Tests. Eine Ursache dafür könnte das Auftreten einer Resistenz dieser Organismen gegenüber Arsen sein. Daher ist die Eignung weiterer mikrobieller Tests zu prüfen.

Auffallend ist, dass die in der wissenschaftlichen und regulatorischen Literatur zur Chemikalienbeurteilung intensiv diskutierte Frage der Definition von Schutzzielen im Bodenschutz bisher keine große

Rolle spielt. Konkret geht es dabei um die Frage, welches Gut schützenswert ist und welche Methoden dafür am besten geeignet sind. Häufig genannte Schutzziele sind die Diversität und die Funktionen der Bodenorganismengemeinschaft („Ecosystem Service Approach“). In Hinsicht auf eine erhöhte Akzeptanz von Bodenwerten wäre eine intensivere Diskussion zu deren Rolle beim Schutz des Bodenökosystems hilfreich.

Summary

Introduction

In the German Federal Soil Protection and Contaminated Sites Ordinance (BBodSchV), which has been in force since 1999, precautionary values based on the respective total contents in the soil have been established for selected metals. The project described below aims at using the example of arsenic, copper and nickel to develop proposals for a possible concept for the derivation of precautionary values and trigger values on the basis of the bioavailable fractions of metals and metalloids, especially for the soil-soil organisms pathway. In this report, the term bioavailability is defined analogously to ISO 17402 (2008a) as follows:

Degree to which chemicals present in the soil may be taken up or metabolised by human or ecological receptors or are available for interaction with biological systems.

The bioavailability of a substance depends on its total concentration in the soil, the respective physical-chemical soil properties, the intrinsic properties of the (semi-) metals to be investigated and also the biology of the potentially exposed microorganisms, plants and invertebrates.

The concept to be developed could thus form the basis for a new approach, taking into account bioavailability in the derivation of precautionary values for metals and metalloids in soils. At the same time, however, the concept also provides the basis for further research with regard to a further path of action for soil-soil organisms (trigger values) in the context of hazard prevention, as already demanded in BR Resolution 244/99 on the BBodSchV (1999). It states: "In connection with the amendment to the Soil Conservation and Contaminated Sites Ordinance, the Federal Government is asked to examine the extent to which it is possible to supplement the precautionary requirements and to include trigger values for the soil-soil organisms pathway."

In a first step, a literature review was conducted in which the current literature on the bioavailability of arsenic was summarized taking into account the particular chemical analysis used, the soils tested and the ecotoxicological test methods used, including the regulatory requirements for the derivation of soil values. On the basis of this knowledge and experimental work, a separate concept for the consideration of the bioavailability in the derivation of precautionary and trigger values was developed.

Theory: Background of the assessment of metals and metalloids in soil

The regulatory bases of soil protection in Germany are summarized in the Federal Soil Protection Act (BBodSchG 1998) and the BBodSchV (1999). One focus is on substance-specific soil values, whereby a distinction is made between precautionary values and trigger or action values. According to the BBodSchG (1998), when the precautionary values are exceeded, it can generally be assumed that there is a concern about harmful soil changes. These values were soil texture-specifically derived for metals. By contrast, the trigger and action values serve to avert danger. They are differentiated depending on the respective protection goal (e.g., human beings, plants), compartments (e.g., groundwater, soil) and type of use (e.g., industry, pastures). The soil values listed in the BBodSchV (1999) were determined in the late 1990s on the basis of expert knowledge, including ecotoxicological test results and corresponding background values, based on the total contents of the respective substances in the soil.

Based on previous experience in deriving the precaution-oriented soil values for soil organisms that are the focus of this project, the following conclusions can be drawn:

1. For the derivation of precautionary values, the effect of the substances to be assessed on the soil organism community is determined at different trophic levels, i.e. microorganisms, plants and invertebrates.
2. The detailed basis for the derivation of precautionary values are EC₁₀ (10% Effective Concentration) values derived from standardized ecotoxicological tests. The effect values determined for

each test organism are presented in a Species Sensitivity Distribution (SSD) curve, from which precautionary values can be derived. So far, the total content in the soil has been used for the effect concentrations of the respective substance to be assessed. However, this often overestimates the threat posed by this substance to soil organisms, since in reality only part of the total content is available for interaction with biological receptors.

Analogous to this procedure, trigger values can be derived by means of EC_{50} values determined in the same ecotoxicological tests. It is already pointed out in the section on aftercare in the BBodSchV (1999) that as part of the detailed assessment after exceeding the trigger values "the exposure conditions relevant for the pathways, in particular the mobile or mobilizable portions of pollutant contents that are of significance for the various pathways" shall be clarified.

On the basis of this requirement, it should be checked whether the bioavailability of substances in the soil can already be taken into account when deriving soil values (precautionary, trigger and action values). So far this has only been partially the case when deriving trigger and action values in the soil-plant pathway. With regard to precaution, the respective substance concentration has so far only been given as total content in the ecotoxicological tests used for the derivation, which does not correspond to the bioavailability. The precautionary approach of soil protection is based on the worst-case scenario, i.e. to assume that the entire substance content is bioavailable, but this does not correspond to the real conditions in soil. There are also initial approaches to take bioavailability into account in international guidelines. For example, the International Organization for Standardization (ISO) has stated in the DIN 17402 (2011) directive: "the only direct way of measuring bioavailability for an organism to be protected is the use of that organism and to measure the effect and/or the accumulation". In order to be able to take into account the bioavailability of a substance, it is therefore necessary to determine those soil chemical parameters that determine its toxicity to a representative number of organisms. A sufficiently high number of such datasets must be available for creating risk models as a basis for deriving soil values, so that the impact of this substance in different soils can be predicted.

This project should therefore include a sufficient number of corresponding datasets, consisting of the characteristics of different soils representative of Central Europe (e.g., organic matter content, soil pH, clay content, cation exchange capacity), the results of several chemical extraction processes (i.e., current and potentially soluble fractions) as well as ecotoxicological tests with microorganisms, plants and invertebrates for the metalloid arsenic and the metals copper and zinc. Based on this data set, statistical methods were then used to derive possible precautionary and trigger values for arsenic based on the bioavailability for soil organisms for this environmentally relevant substance. For copper and nickel, the results of the ecotoxicological test procedures and the HC_{5-50} values calculated according to the example of arsenic are given in the appendix, which served as the basis for preventive and after-care-oriented soil values.

Determination of the bioavailability of substances in soil

Data basis

Although a large number of different extraction methods have been developed in recent years, the aim of using chemical analysis methods to determine the bioavailable fraction of a substance in soil is doomed to failure from the outset, since there is not “the” bioavailability. The amount of a chemical that can be ingested (or contacted) by an organism depends on a variety of factors, the most important of which are:

1. Intrinsic substance properties of the respective chemical;
2. Chemical (e.g., pH value, soil organic matter, etc.) and physical (e.g. water storage capacity, soil texture, etc.) properties of the particular soil;
3. Source of contamination and aging effects in soil;
4. Morphological, physiological and ecological properties of organisms. In addition, organisms can change the bioavailability of a substance by their behaviour (e.g. avoidance of contact with chemicals).

The total content of a metal in soil (i.e. the amount that can be extracted using aqua regia) says little about the availability and thus the toxicity of this substance. Legal requirements as to how the bioavailability should be conceptually taken into account in the derivation of soil values (precautionary, trigger and action values) are to some extent given in the soil protection act when deriving trigger and action values in the soil-plant pathway as well as in documents of the LABO and the federal states for the enforcement of the BBodSchV (e.g. LABO 2012; see also Kleihauer et al. 2012).

Proposal for an assessment concept

In ecotoxicology it is generally recognized (see e.g. ISO (2008) or DIN (2011) Guideline 17402- Soil quality — Requirements and guidance for the selection and application of methods for the assessment of bioavailability of contaminants in soil and soil materials) that based on the total content of a metal in soil, a realistic prediction of the respective toxicity is not possible. The bioavailability and toxicity of metals or metalloids in soils is influenced by a number of abiotic factors, such as the different soil properties (e.g., pH value, clay content, organic matter content, cation exchange capacity (CEC), elapsed time since the contamination (i.e., aging processes), or the particular form of the metal under consideration.

It is unclear, however, which extraction method is most suitable for measuring the respective bioavailable metal fraction in the soil. As with the water compartment, the free metal ion in pore water is considered to be the bioavailable fraction. However, when describing the toxicity of a metal in soil by means of the total content in the soil solution or the activity of the free metal ions, it is often found that the variability of the measured toxicity values increases; i.e. this does not explain differences in bioavailability. Various extraction techniques have been proposed so far for the prediction of the bioavailability and toxicity of metals (e.g., pore water, 0.01 M CaCl₂, 1 M NH₃NO₃, 0.43 M HNO₃, DGT, or the Simulated Earthworm Gut (SEG)). However, no standard method has yet been identified because each method gives different results depending on metal, soil properties and organisms. Instead, bioavailability corrections can be used, differentiating the following steps (see OECD 2016):

- ▶ Selection of reliable ECx (or NOEC) values based on the respective total content (including the background contents);
- ▶ Correction of toxicity data for their different availability in freshly spiked soils compared to field-contaminated soils using a metal-specific laboratory/field factor (L/F factor), if available;
- ▶ If the toxicity of a metal to soil organisms is significantly correlated with individual physico-chemical soil properties (e.g., pH value, soil organic matter or clay content), this correlation may be used to normalize the selected ECx or NOEC values for the properties of a specific soil

(OECD 2016). This makes it possible to calculate soil-specific values for the detection of the toxicity for soil organisms of the metal to be tested.

- In a final step, regulatory-defined quality standards (= soil values) can be derived on the basis of the toxicity data corrected for their bioavailability (Smolders et al 2009, OECD 2016). If, after normalization, multiple data are available for the same species or microbial function, the geometric mean can be calculated based on all data for the most sensitive endpoint (species or function). In this procedure, the remaining variation of the data would be attributed to the intraspecific variation of the particular test organism. This does not apply to non-normalized toxicity data, since in this case also the bioavailability varies depending on the soil. Depending on the data available, either the factor (relatively rough approach, therefore no longer recommended) or the SSD approach can be used for the soil value derivation, the latter being the more scientifically robust approach. The final determination of a soil value depends on various regulatory requirements, e.g., in terms of the level of the effect (which "x" in the ECx approach?), but also which organisms are included in the calculation.

Development of a test concept

In this project tests were carried out in combination of six to eight soils, extraction procedures and ecotoxicological tests:

- Six soils with very different properties were used;
- Six extraction methods were used for exposure estimation;
- Eight ecotoxicological standard tests were used.

In addition, an offer from the University of Leuven to use ecotoxicological results from seven tests (two plants, two invertebrates and three microbiological processes) with two metals (Cu, Ni) in 19 and 16 well-characterized soils, respectively, was accepted. Therefore, only the test methods not used there were performed for these two metals. Three of these 19 soils were available in sufficient quantity to carry out the same ecotoxicological tests as for copper and nickel with the metalloid arsenic. This complex data set formed the basis of the investigations described below.

This work package laid the foundations for the experimental work as well as the underlying assessment concept. The six soils selected for this project should cover the widest possible range of bioavailability-influencing factors (e.g., pH value, clay content, etc.). The ecotoxicological tests with soil organisms carried out in this project served to demonstrate the feasibility of the concept developed. As far as possible, literature data was used.

Selection of the substances to be tested (As, Cu, Ni)

The BBodSchV (1999) currently lists precautionary values based on the total contents for seven metals: lead (Pb), cadmium (Cd), chromium (Cr), copper (Cu), nickel (Ni), mercury (Hg) and zinc (Zn). For the metalloid arsenic, for which precautionary values on the basis of the total contents are included in the draft of the amended BBodSchV (Bundestagsdrucksache 18/12213, 18. Wahlperiode 03.05.2017), this project should also derive precaution-oriented soil values for soil organisms based on bioavailability so that a comparison with the derivation based on the total contents is also possible for anionically present metalloids such as arsenic. Arsenic occurs in several stages of oxidation in the environment (-III; 0; +III; +V). In this project, only arsenate was added as disodium hydrogen arsenate ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). Due to the test conditions carried out under normal atmosphere, arsenic remained in this form.

In addition, the sponsor selected a metal that is essential for soil organisms (i.e. copper) and a non-essential (i.e. nickel) metal for which a great deal of ecotoxicological data is already available (e.g. Song et al. 2006; Jänsch et al. 2007; Smolders et al. 2009; Owojori et al. 2010; Qiu et al. 2013; Kuperman et al. 2014). In addition, the REACH dossiers for copper and copper compounds as well as nickel contain

252 and 173 data sets on the toxicity of these two metals in soils, respectively, covering 30 to 40 species each.

Selection of methods for extraction of the (potentially) bioavailable fraction

For the pathway soil-plant, there are good correlations in the literature between the heavy metal contents in soil extracts with 0.01 M CaCl_2 solution and the heavy metal contents found in plants. However, the connection between accumulation and effect is often ambiguous. In contrast, the 0.01 M CaCl_2 extraction is only of limited suitability for describing the soil-soil organism pathway. The aqua regia extraction also extracts the heavy metals from the constituent minerals of the soil and thus overestimates the bioavailable proportion. However, several times a good correlation between effects and results from aqua regia digestion was found, so that the following procedure was adopted: Accompanying the ecotoxicological tests, six extraction methods were used, covering a range of the currently available fraction (adapted ionic strength ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) up to the total content by means of aqua regia digestion – plus four other intermediately strong methods. That is, starting with the 0.01 M CaCl_2 and the DTPA / CaCl_2 extraction, two salt extracts ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ and NH_4NO_3) were added to operate at lower ionic strengths. Thus, the method with ammonium nitrate established in the BBodSchV was also used. As an extract with an acid, the recently standardized procedure with 0.43 M nitric acid was used. Furthermore, sorption isotherms were generated for the selected metals and metalloids by means of the method established in the BGR, for the purpose of fundamental characterization of the soils with regard to the uptake or release of the investigated metals and metalloids. In addition, the sorption-determining soil properties can be identified using these isotherms.

Selection of test soils

In selecting the soils to be used in the ecotoxicological tests, it was attempted to achieve as broad a coverage as possible of the soil properties of Central European soils relevant for bioavailability with a limited number of soils. In particular, parameters of the filter and buffer properties (e.g., soil texture, CEC, iron fractions) were used for the selection and characterization of the soils. Initially, the soil most widely used in ecotoxicology, LUFA 2.2, was selected, characterized by a high sand content (80%), a low content of organic carbon (1.8%) and a low cation exchange capacity (66 mmol_c/kg). As Refesol 01-A, this soil belongs also to the Refesol soil set of the Fraunhofer institute IME, from which two further soils were selected: The grassland soil Refesol 05-G has both the second lowest pH value (5.2) as well as the second highest silt content (52%). It is characterized as strongly acidic, humic and a sandy-loamy silt. The soil Refesol 06-A was taken from a field in the Sauerland region. It has a high pH value (7.3), the second highest CEC value (236.6 mmol_c/kg) and is described as a medium silty clay with a medium humus content. In addition, three soils used in a project of the University of Leuven were selected, which have already been used for bioavailability studies with copper and nickel. The Ter Munk soil comes from an agricultural area near the city of Leuven, Belgium. It has the highest silt content (82%), the lowest content of organic matter (1%) and a low cation exchange capacity (78 mmol_c/kg). The Woburn soil comes from near London. This soil has a relatively high pH (6.0) and sand content (49%) as well as the highest iron oxide content of all soils tested (35053 mg Fe/kg in the dithionite extract). The Zegveld soil comes from the province of Utrecht (Netherlands) and is characterized by its high contents of organic matter (21.7%) and clay (68%). In selecting the soils, care was taken to ensure that, despite the small number (six), the seven soil properties relevant for bioavailability covered as wide a spectrum as possible. This goal was mostly achieved, but there were large gaps in higher values of organic carbon and lime contents. Due to data gaps in the soil characterization, the most important soil properties in terms of sorption properties were redetermined in the BGR laboratory. Specifically, these were the pH in water and calcium chloride; the electrical conductivity in the 1:5 extract; the particle size; the total content of carbon, nitrogen and sulphur in the elemental analyzer; organic and inorganic carbon by thermal gradient method; the effective cation exchange capacity with BaCl_2 according to "Handbuch Forstliche Analytik" and the characterization of the pedogenic iron and aluminum (hydroxides) by means of oxalate and dithionite extract.

Selection of ecotoxicological test methods

When assembling a test battery, it was necessary to ensure that the following aspects were covered: (1) selection of several groups of organisms with their different morphology, physiology and ecology: minimum microorganisms, plants and invertebrates; (2) consideration of different paths of exposure: pore water vs. soil path; (3) use of sensitive test systems, i.e., chronic tests with reproductive end-points are preferred; (4) use of standardized methods to generate the most reliable results possible. Therefore, two methods were chosen for each group of organisms (animals, plants, microorganisms), whereby in addition to many years of experience, the ecological relevance and the high sensitivity of the respective test were decisive for the selection. For soil invertebrates, a third test was used to cover another endpoint (avoidance behaviour).

- ▶ Microorganisms:
 - ▶ Contact test for solid samples with *Arthrobacter globiformis* (ISO 18187; 2016);
 - ▶ Nitrogen mineralization and nitrification (ISO 14238; 2012).
- ▶ Plants:
 - ▶ Emergence and early growth of higher plants (ISO 11269-2; 2012);
 - ▶ Inhibition of root growth with barley (ISO 11269-1; 2012).
- ▶ Soil invertebrates:
 - ▶ Earthworm reproduction test (ISO 11268-2; 2012);
 - ▶ Collembolan reproduction test (ISO 11267; 2014);
 - ▶ Earthworm avoidance test (ISO 17512-1, 2008).

Experimental performance of the tests

Performing the tests with arsenic

To ensure equilibration of the test substance arsenic in the soil, the test substance was applied to the soil already 7 days before the actual start of the test and mixed in. The exact amount of the test substance as well as the volumes of the stock and test solution were individually adjusted to the residual soil moisture and the respective desired test concentrations of the individual tests. Accordingly, all test concentrations are based on the actual arsenic concentrations in the soil. For the testing of the field soils, in individual cases there were deviations from the moisture values specified for artificial soil because clumping would have occurred due to their properties. All soils were sieved in advance to 2 mm (LUFA 2.2, Refesol 05-G, Refesol 06-A, Ter Munck) or 4 mm (Woburn, Zegveld). After application and mixing of the test solutions, the test vessels were incubated for 7 days at 20 ± 2 °C. The validity criteria specified in the individual test guidelines were met with very few exceptions. This deviation is due to the sometimes very large differences between the properties of the tested field soils compared to the properties of the standard soils described in the guidelines.

Results of ecotoxicological tests with arsenic

In each of the tests performed, the following results were obtained:

- ▶ ECx values (primarily: EC₁₀, EC₅₀) were calculated, with all toxicity data generated in this project, except for a few values from the literature.
- ▶ The exposure (i.e., the concentration of arsenic) was shown separately for the extraction method used.
- ▶ The different ECx values for the individual species or endpoints were discussed depending on the soil used; among others regarding the expected variability depending on the biology of the test organisms.
- ▶ ECx values that were outside the tested concentrations had to be extrapolated. These are less meaningful compared to intrapolated values. For further evaluation, they were not considered further. This approach is described in e.g. § 341 of the OECD document (2006d) for the statistical evaluation of ecotoxicological tests. An exception is possible if the extrapolated value is only

slightly below the lowest tested concentration: *Because of the fact that a fitted statistical model only reflects the information in the data, extrapolation outside the range of observation is usually unwarranted. Therefore, estimating an ECx that is much lower than the lowest applied (nonzero) dose or concentration should be avoided.*

The tests with copper and nickel (solid contact test and earthworm avoidance test) were carried out analogously to the tests with arsenic and the same statistical endpoints were calculated. The results are shown in the appendix to this report.

Extraction experiments and sorption isotherms

For the extraction with $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ with adjusted ionic strength, the ionic strength for soil saturation was determined for all soils according to the Heidkamp method by calculating the conductivity in the soil saturation extract. In parallel, the sorption isotherms of the investigated soils were determined experimentally for the elements As as well as Cu and Ni. This was followed by an approach in which the soil-specific ionic strength is set via a $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ accompanying electrolyte. The strength of the different extraction methods decreased for As in all soils in the order aqua regia > HNO_3 > DTPA $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ > CaCl_2 > NH_4NO_3 . For most soils, the neutral salt solutions $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, CaCl_2 and NH_4NO_3 extracted significantly less than the other three methods. The three weakest extractants $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, CaCl_2 and NH_4NO_3 extracted the largest amount of As from Ter Munck and LUFA 2.2 soils. In the case of the stronger extractants DTPA and HNO_3 , a larger proportion was additionally extracted from the Refesol 05-G. The Zegveld soil had the lowest extraction rates, while in the HNO_3 method, Refesol 06-A had the lowest extraction rates when comparing the six soils. The Zegveld soil has a very high content of C_{org} and a high clay content, which are both soil properties, which usually indicate a high binding of substances or ions in the soil. In the Woburn soil, the high iron oxide content indicates a high As bond, which is reflected in the low measured values in the extraction procedures.

Proposal for the derivation of soil values for arsenic

In this work package, the results of the ecotoxicological tests carried out in the different soils are combined with the respective chemical residue data. The aim of this work step was to identify the extraction method that best reflects bioavailability. All ECx values, reported so far as arsenic nominal soil concentration, were converted to measured total fraction or extractable fraction by linear interpolation, using the two arsenic concentrations below and above. The extraction method most representative for bioavailability will eliminate most of the toxicity variability for each endpoint in the tested soils. The assessment was based on the use of the following criteria: (1) Minimal variability of EC_{50} and EC_{10} values for the same biological measurement endpoint in the different soils, quantified by the maximum / minimum ratio, the coefficient of variation (standard deviation / mean); the relative span ((maximum-minimum)/mean); (2) The best fit of a single log-logistic concentration-response curve for all data of a measurement endpoint with all soils, assessed by the root-mean-square error (RMSE) and maximum r^2 . (3) The minimum variability of the HC_5 -50 Species Sensitivity Distributions (SSD) for each individual soil, quantified by the maximum / minimum ratio, the coefficient of variation (standard deviation / mean), the relative span ((maximum-minimum)/mean). In addition, it was examined whether the remaining variability of the ECx or HC_5 -50 values for all soils correlated with the variability of the properties of the tested soils.

Toxicity values for arsenic

The EC_{10} and EC_{50} values are given for each endpoint as the measured total or extractable concentration. These data show that the arsenic toxicity, based on the respective total concentration, can differ by about a factor of 20 in the soils for the same endpoint. Therefore, it is not well suited to assess bioavailability or toxicity. Thus, the one method of extraction that best explains the differences between soils in terms of bioavailability (or toxicity) is the one where toxicity variability is lowest. It differs

depending on the endpoint or effect size (EC_{10} and EC_{50}). Due to the higher statistical robustness, only the EC_{50} values are used in the further evaluation.

Good representativeness for the bioavailability and toxicity of metals in soils would be reflected in similar concentration-response curves for the same endpoint in different soils; i.e., all data could be described together in one concentration-response curve. The results are consistent with those found in determining the best arsenic toxicity extraction method for each endpoint, based on the variability of the EC_{10} and EC_{50} values. DTPA extraction appears to be the best prediction of arsenic toxicity for plants, while neutral salt extracts allow the best approximation of reproductive toxicity of invertebrates. In the case of the earthworm avoidance test and the microbial dehydrogenase activity tests, no extraction method reduced the variability of the arsenic toxicity in the different soils. In the nitrogen transformation test, there was no increase in the effect with increasing arsenic concentrations, so that no fitting was possible.

The best method for characterizing the bioavailability of arsenic in the various ecotoxicological tests is shown in the following list:

Test organism	Endpoint	Best extraction method
<i>Avena sativa</i>	Shoot biomass	DTPA/ $CaCl_2$
<i>Solanum lycopersicum</i>	Shoot biomass	DTPA/ $CaCl_2$
<i>Hordeum vulgare</i>	Root length	DTPA/ $CaCl_2$
<i>Eisenia fetida</i>	Reproduction	$Ca(NO_3)_2 \approx 0,01$ M $CaCl_2 \approx 1$ M NH_4NO_3
<i>Folsomia candida</i>	Reproduction	$Ca(NO_3)_2 \approx 0,01$ M $CaCl_2 \approx 1$ M NH_4NO_3
<i>Eisenia andrei</i>	Avoidance	Aqua regia
<i>Arthrobacter globiformis</i>	Dehydrogenase activity	Aqua regia
Microbial community	Nitrogen transformation	Unclear

Regardless of the variability of arsenic toxicity in the respective soils for the respective measured endpoint, all data collected from the same soil can be evaluated together to calculate a soil value for each soil and then compare them. Since there are data from eight different endpoints for each soil, the soil value can be determined by SSD based on a log-normal distribution. The HC_{5-50} values from the distribution of EC_{10} and EC_{50} values, based on different extraction methods, were calculated for individual EC_x values as well as multiple endpoints, and their differences between soils were examined. These results show that the approximately 10-fold variability in HC_{5-50} levels (when based on total concentrations) is reduced by about 50%. Selecting the best extraction method for the bioavailability and toxicity of arsenic depends on the effect level: using the EC_{10} values extraction with 0.43 M HNO_3 is recommended, whereas using the EC_{50} values the DTPA extraction is better suitable.

Correlation between total As content and soil properties

As with other metals, the correlation of Arsenic toxicity, based on total content, with different soil properties was also investigated. Regression analysis (log-log based) revealed that the variability of total arsenic based EC_{50} values, studied across all soils and for all endpoints, was significantly correlated with soil properties such as clay content, ammonium oxalate extractable iron oxides, pH (0.01 M $CaCl_2$), eCEC and the content of organic carbon. This relationship with soil properties was preferably described by means of EC_{50} values, since these numbers allow for a more robust evaluation due to narrower confidence intervals. In addition, they are less influenced by experimental conditions such as the choice of test concentrations and their spacing than NOEC or EC_{10} values.

The HC_{5-50}/EC_{50} values more often showed a significant correlation with the respective soil properties compared to the HC_{5-50}/EC_{10} values. The normalization of the respective impact data for the effect

of soil properties allows the calculation of a specific effect concentration to describe the effects of arsenic on soil organisms in a soil under investigation. Each EC_{10} or EC_{50} value was normalized for the properties of the soil under investigation using the slope of the respective log-based regression function and the following equation:

$$ECx_{reference} = ECx_{test} * \left(\frac{abiotic\ factor_{reference}}{abiotic\ factor_{test}} \right)^{slope} \quad \text{Equation 1}$$

By 'reference' is meant the soil for which the respective effect concentration should be valid and 'test' stands for the tested soil. 'Abiotic factor' is the soil property selected in the regression model. No suitable regression model could be identified for the microbial endpoints - therefore, non-normalized toxicity data were used in this case to derive threshold levels of arsenic in soils.

After normalization, a species or endpoint specific value was calculated as the geometric mean of all data for each endpoint of each species (or microbial process). Finally, an SSD was adjusted to the respective ECx averages. Thereafter, the median hazard concentration for 5% of all species (HC_{5-50}), equivalent to a 95% protection level, was determined as the median of the 5th percentile of this distribution. These derived HC_{5-50} values, based on the specific properties of the six soils tested, were compared to those HC_{5-50} values determined from the SSD (based on data for the respective soils as well as those HC_{5-50} values determined from the correlation between toxicity data and the respective clay content (regression equations between $\log HC_{5-50}$ and $\log$ clay)). This analysis shows that threshold values based on the total arsenic content (corrected for the different clay contents) can predict the soil specific HC_{5-50} values with a deviation by a factor of 2.

This means that the approach using normalization of all toxicity data (based on endpoint-specific correlations with soil properties) leads to a better estimation of HC_{5-50} values than by a direct correlation of HC_{5-50} values with the respective soil properties. In this way, an SSD can be created based on all species and endpoints, as opposed to an SSD for individual soils, where only data for that one soil can be used. This allows a dataset from different sources to be used (if these values have been collected using accepted, standardized methods) and there is no need to generate a certain minimum number of data for a specific soil.

Derivation of soil values for arsenic

In this project, both the "currently" and "potentially" available fractions of a metal in the soil were considered by the range of extraction methods used. The specific goal of the project was the derivation of precaution-oriented soil values for soil organisms on the basis of the bioavailable fractions of arsenic. In particular, the relevance to implementation of the proposed precaution-oriented soil values had to be taken into account. For example, a comparison of the proposed values with the natural background content of German soils and the regulatory soil values of other states. The results of the project will be presented using the example of the metalloid arsenic, with particular attention paid to the relevance of the proposed values (specifically: precautionary and trigger values). In the course of the project two different ways of soil value derivation were identified and applied:

1. Implementation of the new concept based on the most appropriate extraction methodology;
2. Implementation of the new concept based on total arsenic content and normalization of toxicity data.

Specifically, the proposed concept consists of the following steps:

1. Soil values are derived from data from standardized tests (primarily ISO) with various representatives of the soil organism community (microorganisms, plants, invertebrates), i. e., robust ECx values are generated.

- 2.a) The ECx values are related to the As concentrations determined by the most suitable extraction method.
- 2.b) The ECx values related to total As contents are normalized by data on the most important soil properties, using the slopes from the endpoint-specific regression models (see Equation 1).
- 3.a) The HC₅-50 value differentiated by protection level (i.e., separated according to EC₁₀ and EC₅₀ values) is calculated using an SSD with all ECx values from microorganisms, plants and invertebrates for each soil.
- 3.b) The geometric mean of the toxicity data per species and effect level (EC₁₀ or EC₅₀ values) of all soils is calculated.
- 4.a) The geometric mean of the toxicity data per species and effect level (EC₁₀ or EC₅₀ values) of all soils is calculated.
- 4.b) The HC₅-50 value differentiated by protection level (i.e., separated according to EC₁₀ and EC₅₀ values) is calculated by means of an SSD with all geometric mean values of microorganisms, plants and invertebrates.

Implementation of the new concept based on the most appropriate extraction methodology

The experience in the extraction of arsenic from the different soils with different procedures can be summarized as follows:

- ▶ Based on the respective EC_{10} values, the 0.43 M HNO_3 extraction method is most suitable for determining the bioavailable fraction of arsenic (especially with respect to invertebrate tests). Therefore, the HC_{5-50} values calculated on the basis of these data were used to derive precaution-oriented soil values for soil organisms;
- ▶ On the other hand, based on the respective EC_{50} values, the DTPA extraction method is best suited for the determination of the bioavailable content of arsenic (especially with regard to the tests with plants). Therefore, the HC_{5-50} values calculated on the basis of these data were used for the derivation of aftercare-oriented soil values for soil organisms.

Using arsenic extraction with 0.43 M HNO_3 yields the following soil value suggestions:

Prevention-oriented soil value for soil organisms: (i.e., as HC_{5-50} , based on EC_{10} values):

7.8 (3.5 – 13.6) mg/kg

Aftercare-oriented soil value (trigger value suggestion) in the pathway soil – soil organisms: (i.e., as HC_{5-50} , based on EC_{50} values):

23.1 (7.6 – 53.6) mg/kg

Arsenic background levels extracted with 0.43 M HNO_3 in the 6 test soils: **0.7 – 6.4 mg/kg.**

Based on the arsenic values measured with the extraction method DTPA, the following values (as geometric mean as well as minimum and maximum) were derived:

Prevention-oriented soil value for soil organisms: (i.e., as HC_{5-50} , based on EC_{10} values):

1.7 (0.8 – 5.6) mg/kg

Aftercare-oriented soil value (trigger value suggestion) in the pathway soil – soil organisms: (i.e., as HC_{5-50} , based on EC_{50} values):

8.4 (4.8 – 22.6) mg/kg

As background levels extracted with DTPA in the 6 test soils: **0.08 – 0.51 mg/kg.**

Implementation of the new concept based on total arsenic content and normalization of toxicity data

In this project could be shown:

- ▶ For plants and the reproduction of soil invertebrates, the EC_{50} values were most strongly correlated with clay content, eCEC and the oxalate extractable iron content (Fe_{ox}) of the tested soils. Regression models with the clay content were selected for the normalization of the toxicity data with the respective soil properties. The data from the earthworm avoidance test showed a clear positive correlation with the pH value;
- ▶ In the same way, the HC_{5-50} values for the individual soils based on the total concentrations of arsenic showed a correlation with the respective soil properties. As for the individual endpoints in the plant tests and in the invertebrate reproduction tests, the best correlation was found with the clay content, the eCEC and the oxalate-extractable iron content (Fe_{ox}) of the soils. There were more significant correlations with soil properties for the HC_{5-50}/EC_{50} values than for the HC_{5-50}/EC_{10} values;
- ▶ The approach by normalizing all toxicity data (based on endpoint-specific correlations with soil properties) leads to a better estimation of the HC_{5-50} values than that by means of a direct correlation of HC_{5-50} values with the respective soil properties;
- ▶ The normalization of the respective effect data in relation to the relevant soil properties allows the calculation of a specific effect concentration to describe the effects of arsenic on soil organisms in a soil under investigation.

Based on the total arsenic content and a normalization of the toxicity data relative to selected soil properties (clay content, pH) of the six soils tested, the following soil-specific HC₅₋₅₀ values result in (minimum and maximum of the six soils):

- ▶ HC₅₋₅₀ based on EC₁₀ values: **13.8 – 47.6 mg/kg**
- ▶ HC₅₋₅₀ based on EC₅₀ values: **16.7 – 192.8 mg/kg**

The total background levels of arsenic in the six test soils were: 3.0 - 46.2 mg / kg.

A breakdown of this information can be found in **Tables 7 and 33**.

In this approach, and in accordance with the structure of the BBodSchV, precautionary and trigger values may be differentiated for certain surrogate soils based on those soil properties that are mainly responsible for the bioavailability of arsenic (i.e., clay content at a pH of 6.0). Thus, the following HC₅₋₅₀ values [mg/kg] for representative soils of the main soil texture classes sand, loam and clay result in:

Main soil texture classes	HC ₅₋₅₀ EC ₁₀	HC ₅₋₅₀ EC ₅₀
Sand (5% clay)	9.7	10.8
Loam/silt (17% clay)	31.3	51.3
Clay (45% clay)	37.1	155.4

These calculated values should be rounded for better negotiability. In addition, a reasonable distance between precaution- and aftercare-oriented soil values should be maintained also for sandy soils. The final recommendation for precaution- or aftercare-oriented soil values for soil organisms for arsenic [mg/kg] thus reads as follows:

Soil texture	Precaution-oriented soil value for soil organisms	Aftercare-oriented soil value for soil organisms
Sand	10	20
Loam/silt	30	50
Clay	40	150

The precaution-oriented soil values for soil organisms listed here thus tend to correspond to the precautionary values provided in the draft of the new BBodSchV: depending on soil texture, 10 - 20 mg/kg. Both our proposal and the values from the draft BBodSchV refer to the total As content. The precautionary values contained in the draft of the BBodSchV are thus confirmed, since the edaphon is protected by these lower values (10 - 20 - 20 mg / kg) in any case.

Final recommendation

The second approach mentioned above, i.e., the normalization of all individual toxicity values is recommended as the basis for the derivation of soil values. It uses all relevant and reliable toxicity data and the uncertainty of predicted toxicity in individual soils will be similar or lower compared to the best arsenic extraction methods. Clay content and pH value were identified as the soil properties most relevant to the toxicity of arsenic to soil organisms. This approach allows calculation of precautionary and trigger values for both surrogate and individual soils, provided their clay content and pH value are known. This approach is consistent with the methodology used in REACH legislation and national requirements for the derivation of PNEC values for metals. It ensures consistency of the respective regulatory approach beyond individual legal regulations. Therefore, this approach was also used specifically for the two metals Cu and Ni. The respective results can be found in the appendix.

Plausibility of the proposed soil values for arsenic

In this chapter, the precaution-oriented soil values for soil organisms developed in this project are examined with regard to their plausibility, whereby two approaches are to be distinguished: First, the proposed soil values were compared with the background content of arsenic in German and European soils. Regulatory values are not practical if they are similar or even lower than the "typical" natural content of arsenic in the soil. On the other hand, it was examined how this problem is dealt with in other European countries, i.e., whether and if so, in which amount, corresponding soil values have already been proposed outside Germany. The background values of arsenic in top soils in Germany differ approximately by a factor of 10, depending on the parent material between 3.9 and 40 mg/kg, while throughout Europe (LUCAS project) a range of 0.5 - 250 with an average of 3.7 mg/kg soil is given (this also includes anthropogenically influenced areas). This range has been largely confirmed for agricultural soils in Europe (median: 5.5 mg/kg; GEMAS project). The regulatory precaution- or aftercare-oriented soil values from various countries compiled for arsenic in this project cover a range of 10 - 30 or 5 - 65 mg/kg, respectively. However, these values are difficult to compare with each other, since e.g. the protection goal differs. In fact, these differences appear to be relatively small with regard to the differing data sources, the diverse derivation methodology (multiple SSDs, some estimates) and differing objectives. Therefore, the German approach appears to be scientifically and regulatory well founded. The soil values proposed in this project (depending on texture and level of protection 10 - 40 mg/kg or 20 - 150 mg/kg) do not differ significantly from those that have been discussed in other EU countries or have already been introduced in regulation.

Further research needs and outlook

Based on the experience gained in this project for the derivation of precaution-oriented soil values for soil organisms for arsenic on the basis of EC₁₀ values from ecotoxicological tests, using the same principles but EC₅₀ data from the same ecotoxicological tests, aftercare-based soil values for soil organisms can be derived. This possibility should be systematically checked. The derived values must then be checked for plausibility. Such aftercare-oriented soil values for soil organisms can be differentiated according to the respective soil texture. In addition, it must be checked whether such a differentiation makes sense for other soil properties. A total of 45 ecotoxicological tests with arsenic were carried out in this project, with individual tests having to be repeated several times, since the corresponding validity criteria were not met. Most of the ecotoxicological tests have been developed for use in OECD artificial soil or in the standard LUFA 2.2 soil, but not for investigations with field soils with clearly divergent properties. Therefore, it should be systematically checked which standard test organisms can be tested in which untreated field soils. While in almost all cases the invertebrate and plant tests were valid, there were multiple problems (e.g., variations in results) in performing the microbiological tests. One cause could be the emergence of resistance of these organisms to arsenic. Therefore, the suitability of further microbial tests should be assessed.

It is striking that the question of the definition of protection goals, which is intensively discussed in the scientific and regulatory literature on chemical assessment, has so far played no major role in soil protection. Specifically, it is about the question of which subject is worth protecting and which methods are best suited for it. Commonly named protection goals are the diversity and functions of the soil community ("Ecosystem Service Approach"). With regard to increased acceptance of soil values, a more intensive discussion on their role in protecting the soil ecosystem would be helpful.

1 Einleitung

1.1 Ziele des Vorhabens

In der seit 1999 geltenden Bundes-Bodenschutz- und Altlastenverordnung (BBodSchV) wurden für ausgewählte Metalle Vorsorgewerte bezogen auf die jeweiligen Gesamtgehalte im Boden festgeschrieben. Das im Folgenden beschriebene Vorhaben hatte das Ziel, am Beispiel von Arsen Vorschläge für ein mögliches Konzept zur Ableitung von vorsorgeorientierten Bodenwerten für Bodenorganismen auf der Grundlage der bioverfügbaren Anteile von (Halb-)Metallen zu erarbeiten. Dabei sind sowohl die Heterogenität der Böden, die intrinsischen Stoffeigenschaften der zu untersuchenden (Halb-)Metalle als auch die Biologie der potentiell gefährdeten Mikroorganismen, Pflanzen und Invertebraten zu berücksichtigen. Die dabei gemachten Erfahrungen wurden zudem (unter Hinzufügung weiterer Testdaten), auf die Metalle Kupfer und Nickel angewandt.

Das zu erarbeitende Konzept könnte damit eine weitere Grundlage für eine verbesserte Ableitung von vorsorgeorientierten Bodenwerten für Bodenorganismen für (Halb-)Metalle in Böden im Rahmen eines vollzugsrelevanten Bewertungsansatzes sein. Gleichzeitig bietet das Konzept aber auch die Basis für weitere Forschungsarbeiten im Hinblick auf einen weiteren Wirkungspfad Boden-Bodenorganismen (Prüfwerte) im Rahmen der Gefahrenabwehr, wie er bereits in der BR-Entscheidung 244/99 zur BBodSchV (1999) gefordert wurde. Dort heißt es: „Die Bundesregierung wird gebeten, im Zusammenhang mit der Novellierung der Bodenschutz- und Altlastenverordnung zu prüfen, inwieweit die Ergänzung der Vorsorgeanforderungen und die Aufnahme von Prüfwerten für den Wirkungspfad Boden - Bodenorganismen möglich ist.“

Dieses generelle Ziel wurde durch eine Reihe von Arbeitsschritten mit eigenen Teilzielen erreicht, womit zugleich die Struktur dieses Vorhabens festgelegt war. Im Einzelnen handelt es sich dabei um:

- ▶ Durchführung einer Literaturrecherche, in welcher auf der Grundlage aktueller Literatur der Stand des Wissens zur Berücksichtigung der Bioverfügbarkeit unter Berücksichtigung des Bezugs der Analysenmethode zu biologischen Prozessen bei der Ableitung von Bodenwerten (Basis: Toxizität für Bodenorganismen) zusammengefasst wird. Dazu wurden insbesondere neuere Arbeiten aus dem antragstellenden Konsortium sowie generell der wissenschaftlichen und regulatorischen Literatur zusammengefasst und beurteilt.
- ▶ Auf der so erstellten – und mit dem Auftraggeber diskutierten – Kenntnislage wurde ein eigener Konzeptvorschlag zur Berücksichtigung der Bioverfügbarkeit bei der Ableitung von vorsorgeorientierten Bodenwerten für Bodenorganismen erarbeitet und experimentell überprüft. Dafür wurden – anhand vorab festgelegter Kriterien – sowohl eine handhabbare Anzahl repräsentativer Böden ausgewählt und charakterisiert als auch einige, in ihren physikalisch-chemischen Eigenschaften möglichst unterschiedliche, (Halb-)Metalle ausgewählt. Konkret fokussierten sich die Arbeiten auf das Halbmetall Arsen, doch wurden die dabei gesammelten Erfahrungen und das am Beispiel Arsen erarbeitete Ableitungskonzept auf die beiden Metalle Kupfer und Nickel, speziell im Ökosystem Boden, angewandt. Zudem wurde eine handhabbare Anzahl von Testorganismen, die in ihrer Gesamtheit als Stellvertreter für die Bodenorganismengemeinschaft angesehen werden sowie die entsprechenden ökotoxikologischen Testmethoden, ausgewählt.
- ▶ Nach Absprache mit dem Auftraggeber hinsichtlich der durchzuführenden ökotoxikologischen Tests wurden die aktuell und potentiell löslichen Fraktionen durch geeignete Extraktionsmethoden erfasst. Die dazu verwendeten Verfahren (z. B. OECD 106 (OECD 2000) inklusive der Erstellung der Isothermen mit bodenspezifischer Ionenstärke (Gäbler et al. 2009) wurden mit dem Auftraggeber abgeklärt. Dabei wurden diejenigen Bodeneigenschaften (z. B. organische Bodensubstanz, pH-Wert, Tonanteil, Kationenaustauschkapazität usw.) identifiziert, welche die Effekte auf Testorganismen beeinflussen.

Auf der Grundlage von Daten aus der Literatur und eigenen Testergebnissen wurde ein Konzept für die verbesserte Ableitung von vorsorgeorientierten Bodenwerten für Bodenorganismen entwickelt; d. h. es wurden Vorschläge für auf bestimmte Bodeneigenschaften normierte und/oder nach der Bodenart differenzierte Bodenwerte für die untersuchten (Halb-)Metalle formuliert (Brand et al. 2009). Die Ergebnisse des Vorhabens wurden bei einem Workshop in Dessau vorgestellt und diskutiert, wobei die Anregungen aus dem Teilnehmerkreis in diesem Abschlussbericht berücksichtigt wurden.

1.2 Struktur des Vorhabens

In einem ersten Schritt wird der theoretische Hintergrund zur Bewertung von (Halb-)Metallen zusammengefasst. Die Gesamtkoordination erfolgte durch die ECT GmbH (Flörsheim) in enger Absprache mit den Partnern aus Hannover (Bundesanstalt Geowissenschaften und Rohstoffe) sowie Leuven (Belgien) (ARCHE Consulting). Alle Arbeiten, insbesondere die in den Arbeitspaketen (AP) 2, 4 und 5, wurden in enger Absprache mit Vertretern des Umweltbundesamts (UBA) durchgeführt. Die ursprünglich geplante Struktur des Vorhabens ist der folgenden Auflistung zu entnehmen, doch wurden einzelne Schritte im Verlauf der Arbeiten modifiziert, so dass sich die Gliederung dieses Berichts teilweise von dieser unterscheidet:

AP 1: Durchführung einer Literaturrecherche zur Einbeziehung der Bioverfügbarkeit bei der Ableitung von Bodenwerten (BGR, ECT, Arche)

- ▶ Aktualisierung des Erkenntnisstandes zu bestehenden Bewertungsansätzen
- ▶ Evaluierung vorhandener Bewertungsansätze

AP2: Erarbeitung eines Test- und Bewertungskonzepts zur Berücksichtigung der Bioverfügbarkeit bei der Ableitung von vorsorgeorientierten Bodenwerten für Bodenorganismen (ECT, BGR, Arche)

- ▶ Erfassung der (potentiell) löslichen Fraktion durch geeignete Extraktionsmethoden
- ▶ Auswahl der Testböden mit unterschiedlichem Puffervermögen
- ▶ Auswahl der zu testenden (Halb-)Metalle
- ▶ Auswahl ökotoxikologischer Testverfahren
- ▶ Kriterien der Qualitätssicherung

AP3: Experimentelle Durchführung des Test- und Bewertungskonzepts (ECT, BGR)

- ▶ Durchführung ökotoxikologischer Tests
- ▶ Bestimmung der jeweiligen (Halb-)Metall-Konzentration in Abhängigkeit vom gewählten Extraktionsverfahren in den verschiedenen Böden
- ▶ Identifizierung der die Extraktionsergebnisse determinierenden Bodeneigenschaften

AP4: Risikobeurteilung und Ableitungsvorschläge von vorsorgeorientierten Bodenwerten für Bodenorganismen (Arche, BGR, ECT)

- ▶ Auswahl eines Risikomodells
- ▶ Integration von bodenchemischen und ökotoxikologischen Parametern
- ▶ Berücksichtigung der aktuell und potentiell verfügbaren Fraktionen in Böden
- ▶ Berücksichtigung der Filter- und Puffereigenschaften von Böden
- ▶ Abgleich mit den bestehenden Vorsorgewerten der BBodSchV

AP5: Gesamtauswertung und Berichtserstellung (ECT, BGR, Arche)

- ▶ Erstellung des Abschlussberichts (inklusive Darstellung offener Fragen)
- ▶ Organisation und Durchführung eines Abschluss-Workshops in Dessau
- ▶ Einarbeitung der Workshop-Ergebnisse in den finalen Abschlussbericht

2 Theoretischer Hintergrund zur Bewertung von Metallen und Halbmetallen in Böden

2.1 Gesetzliche Grundlagen

Die regulatorischen Grundlagen des Bodenschutzes in Deutschland sind im Bundes-Bodenschutzgesetz (BBodSchG 1998) und seinem untergesetzlichen Regelwerk, der Bundes-Bodenschutz- und Altlastenverordnung (BBodSchV 1999), zusammengefasst. Ein Schwerpunkt liegt dabei auf den stoffspezifischen Bodenwerten des nachsorgenden Bodenschutzes (Gefahrenabwehr), den Prüf- oder Maßnahmenwerten, die in Abhängigkeit vom jeweiligen Schutzziel (z. B. Mensch, Pflanzen), Kompartiment (z. B. Grundwasser, Boden) sowie Nutzungsart (z. B. Industriestandort, Weideland) abgeleitet wurden. Die Vorsorgewerte werden hingegen nicht nutzungs-, sondern bodenartbezogen abgeleitet (für Organika in Abhängigkeit vom Humusgehalt des Bodens). Während aus der Vielzahl der in die Umwelt gelangenden Organika nur wenige in der BBodSchV aufgeführt werden (vgl. dazu Herrchen et al. 2011), sind zumindest die ubiquitären Metalle vertreten.

In diesem Vorhaben stehen die Vorsorgewerte im Fokus, die im BBodSchG (1998) wie folgt definiert werden: „Es handelt sich dabei um Bodenwerte, bei deren Überschreiten unter Berücksichtigung von geogenen oder großflächig siedlungsbedingten Schadstoffgehalten in der Regel davon auszugehen ist, dass die Besorgnis einer schädlichen Bodenveränderung besteht“. Sie wurden in den späten neunziger Jahren auf Basis von Expertenwissen unter Einbeziehung ökotoxikologischer Testergebnisse auf der Grundlage der Gesamtgehalte der jeweiligen Stoffe im Boden festgelegt (vgl. Pieper & Kratz 1999). In einem vor ca. 10 Jahren durchgeführten Vorhaben des Umweltbundesamtes wurde unter Verwendung eines statistischen Ableitungsverfahrens („DIBAEX“) auf der Grundlage von in ökotoxikologischen Tests erzielten Ergebnissen mit Pflanzen, Boden-Mikroorganismen, und –Invertebraten die Größenordnung dieser Werte überprüft (Jänsch & Römbke 2007; Römbke & Jänsch 2007).

Aus den in dieser Zeit gesammelten Erfahrungen (sowohl in Deutschland als auch in einigen anderen europäischen Ländern, sowie den USA, Kanada und Australien) lassen sich in Übereinstimmung mit den rechtlichen Vorgaben des BBodSchG (1998) sowie der BBodSchV (1999) die folgenden Schlüsse ziehen (Allen & Janssen (2006), Menzies et al. (2007), Vogel et al. (2009), Smolders et al. (2009), Kleihauer et al. (2012)):

- ▶ für die Ableitung von Vorsorgewerten ist die Wirkung der zu beurteilenden Stoffe auf die Bodenorganismengemeinschaft, d. h. Mikroorganismen, Pflanzen und, vor allem Invertebraten, zu bestimmen;
- ▶ die konkrete Grundlage für die Ableitung von Vorsorgewerten in Europa sind NOEC- (= No-Observed-Effect-Concentration) oder EC₁₀- (10% Effective Concentration) Werte, die aus standardisierten ökotoxikologischen Tests stammen;
- ▶ ein statistisches Ableitungsverfahren basierend auf der Verteilung der NOEC- oder EC₁₀-Werte ist zu verwenden, wobei meist Werte aus Tests mit acht verschiedenen Spezies notwendig sind (je mehr, desto belastbarer ist die Ableitung);
- ▶ durch den Bezug auf den Gesamtgehalt eines Stoffes im Boden kann die durch ihn ausgehende Gefährdung überschätzt werden, da in der Realität nur ein Teil des Totalgehalts für die Interaktion mit biologischen Rezeptoren zur Verfügung steht. Andererseits wird bislang dem Vorsorgeansatz durch den Bezug auf die Gesamtgehalte Rechnung getragen („worst case“ Szenario) und ein ausreichender Abstand zu den Prüf- und Maßnahmenwerten eingehalten.

Von diesen Vorgaben wurden bei der Ableitung der bisher veröffentlichten Werte nur die ersten beiden Punkte beachtet, d. h. die Erhebung ökotoxikologischer Daten aus Tests mit Bodenorganismen und die darauf aufbauende Bestimmung von NOEC- oder EC_x-Werten. Die statistische Auswertung dieser Daten fehlte bisher. Zudem wurde nur der jeweilige Gesamtgehalt eines Stoffes und nicht dessen

bioverfügbarer Anteil verwendet, so dass es zu einer Überschätzung der in der Umwelt möglichen Wirkung auf Bodenorganismen kam. Ergebnis dieser Arbeiten kann demnach ein Vergleich der hier erarbeiteten vorsorgeorientierten Bodenwerte für Bodenorganismen mit den geltenden Vorsorgewerten sein. In diesem Spannungsfeld bewegen sich die Arbeiten im Rahmen dieses Forschungsvorhabens. Mindestens genauso dringend ist es aber, entsprechende vorsorgeorientierte Bodenwerte für in der noch geltenden BBodSchV nicht berücksichtigte aber umweltrelevante Stoffe zu definieren. Dieser Punkt wird in diesem Vorhaben am Beispiel des Halbmetalls Arsen abgedeckt.

2.2 Bestehende Bewertungsansätze und deren Defizite

Schon in der Bundes-Bodenschutz- und Altlastenverordnung wird darauf hingewiesen, dass „die für die Wirkungspfade maßgeblichen Expositionsbedingungen, insbesondere die für die verschiedenen Wirkungspfade bedeutsamen mobilen oder mobilisierbaren Anteile der Schadstoffgehalte, geklärt werden sollen“ (BBodSchV 1999; Anhang 1, Absatz 1.2). Dieser Hinweis bezieht sich auf die Detailuntersuchung (d. h. am jeweiligen Standort einer zu untersuchenden Altlast) nach Überschreitung eines Prüfwerts (vgl. dazu die im Rahmen des REFINA-Vorhabens erstellte Handlungsanweisung (Tertytze et al. 2010; Macholz et al. 2011; Barkowski et al. 2016). Der Vorsorgeansatz des Bodenschutzes geht bislang vom „worst-case – Szenario“, d. h. davon aus, dass der gesamte Gehalt eines Schadstoffes im Boden auch eine Wirkung auf die Bodenorganismen ausübt, was aber in der Realität kaum der Fall ist. Ein vorsorgeorientierter Bewertungsansatz im Bodenschutzrecht unter Einbeziehung der Bioverfügbarkeit fehlt bislang.

In anderen vorsorgeorientierten Rechtsbereichen (z. B. bei der Pflanzenschutzmittelzulassung) wurde die Forderung nach einem Bezug der ökotoxikologisch erhobenen Wirkwerte auf den jeweils bioverfügbaren Anteil erhoben, doch steht die Umsetzung dieser Forderung in der prospektiven Umweltrisikobeurteilung noch am Anfang. Das grundlegende Problem wird in der REACH-Verordnung (ECHA 2014) wie folgt zusammengefasst:

“Although being subject to extensive research activities in the past decade, there is actually no general approach for assessing the bioavailability of substances in soils. Major difficulties are the differences and the restricted knowledge about exposure pathways relevant for soil organisms and the fact that bioavailability is time-dependent (aging).”

Dennoch ist die Einbeziehung der Bioverfügbarkeit in die Umweltrisikobeurteilung von Chemikalien möglich, zum Beispiel bei der retrospektiven Umweltrisikobeurteilung. Darunter versteht man beispielsweise die Beurteilung von oftmals durch Chemikalien kontaminierten Böden, z. B. an ehemaligen Industriestandorten. In diesem Bereich gibt es – ursprünglich aus der Sedimentuntersuchung stammende – Konzepte wie den TRIAD-Ansatz, der gegenwärtig international standardisiert wird (ISO 19204; 2017). In einem hierarchischen Ansatz wird dabei die Expositionskonzentration eines Stoffes, beginnend mit den Gesamtgehalten, immer genauer bestimmt, wobei zunehmend komplexere Verfahren sowie Modelle eingesetzt werden – parallel zu ebenfalls komplexer werdenden ökotoxikologischen Testverfahren.

Aber auch bei der Beurteilung einzelner Stoffe gibt es erste Ansätze, die Bioverfügbarkeit in internationalen Richtlinien zu berücksichtigen. So hat die ISO schon vor einigen Jahren ein „Guidance Document“ veröffentlicht (DIN 17402 (2011)), in dem es heißt: „Die einzige direkte Möglichkeit der Messung der Bioverfügbarkeit (einer Chemikalie) für einen zu schützenden Organismus ist die Verwendung dieses Organismus und die Ermittlung der Akkumulation und/oder der Wirkung.“ Es ist aber logistisch und kosteneffizient nicht möglich, alle möglichen Chemikalien und Organismen in allen möglichen Böden ökotoxikologisch zu testen. Um die Bioverfügbarkeit einer Chemikalie regulatorisch berücksichtigen zu können (z. B. bei der Ableitung von Vorsorgewerten) müssen daher diejenigen Bodeneigenschaften bestimmt werden, die deren Toxizität für eine repräsentative Anzahl von Organismen determinieren. Eine ausreichend hohe Anzahl solcher Datensätze sollte für die Erstellung von Risikomodellen zu

Verfügung stehen, so dass die Wirkung dieser Chemikalie in verschiedenen (aber gut charakterisierten) Böden vorhergesagt werden kann. Außerdem ist zu klären, wie viele bzw. welche Organismen zu testen sind, um robuste Vorhersagen für die Bodenorganismengemeinschaft in toto zu erlauben.

2.3 Theoretischer Ansatz zur Bestimmung der Bioverfügbarkeit von Stoffen im Boden

In diesem Bericht wird der Begriff der Bioverfügbarkeit analog zur DIN-Richtlinie 17402 (2011) wie folgt definiert:

Grad, bis zu dem Chemikalien im Boden durch menschliche oder ökologische Rezeptoren absorbiert oder metabolisiert werden oder für den Austausch zwischen biologischen Systemen zur Verfügung stehen.

Zudem wird im Folgenden nur die Bioverfügbarkeit von Stoffen für die Gemeinschaft der Bodenorganismen (Mikroorganismen, Pflanzen und Invertebraten) betrachtet. Dazu müssen sowohl Daten zu den jeweiligen Bodeneigenschaften, zu den Konzentrationen des betrachteten Stoffes (bestimmt anhand unterschiedlich starker chemischer Extraktionsverfahren) und zu den ökotoxikologischen Wirkungen auf eine repräsentative Zahl von Bodenorganismen bekannt sein.

Die Bioverfügbarkeit eines Stoffes hängt im Boden von den jeweiligen physikalisch-chemischen Bodeneigenschaften, den intrinsischen Eigenschaften der (in diesem Fall) zu untersuchenden Metalle bzw. Metalloide als auch der Biologie der potentiell exponierten Mikroorganismen, Pflanzen und Invertebraten ab (ISO 2008a). Von den drei genannten Faktoren ist die Bestimmung der Bodeneigenschaften als auch die der intrinsischen Eigenschaften der zu untersuchenden Metalle relativ einfach, da entsprechende Standardverfahren (speziell der ISO) vorliegen und, wenn auch für andere Fragenstellungen (z. B. zur Erstellung von Bodenkarten oder der Registrierung von Chemikalien wie der REACH-Zulassung in der Europäischen Union) regelmäßig eingesetzt werden. Dagegen ist bisher die Einbeziehung ökotoxikologischer Tests mit Bodenorganismen weniger klar. Dafür ist wahrscheinlich das Fehlen von gesetzlichen Vorgaben verantwortlich (z. B. welche Tests sollten in welchen Böden durchgeführt werden und wie sollte deren jeweilige Exposition angegeben werden?).

In den letzten Jahren wurde eine Vielzahl von unterschiedlichen Extraktionsverfahren entwickelt, um mittels chemischer Analyseverfahren „DEN“ bioverfügbaren Anteil eines Stoffes im Boden zu bestimmen. Dieser Ansatz war von Beginn an zum Scheitern verurteilt, da es „DIE“ Bioverfügbarkeit *per se* nicht gibt.

Welcher Anteil einer Chemikalie im Boden von einem Organismus aufgenommen werden kann (bzw. mit ihm in Kontakt kommt) hängt von einer Vielzahl von Faktoren ab, von denen die folgenden am wichtigsten sind (Zehl 2005; Song et al. 2006; Zhao et al. 2006; Peijnenburg et al. 2014; Hamels et al. 2014):

- ▶ Gesamtgehalt des jeweiligen Stoffes im Boden;
- ▶ Intrinsische Eigenschaften der jeweiligen Chemikalie (z. B. Wasserlöslichkeit, Komplexbildungseigenschaften, Fähigkeit zur Bildung von „bound residues“ etc.);
- ▶ Bodenchemische (z. B. pH-Wert, organische Substanz, Kationenaustauschkapazität, Oxid- und Hydroxidgehalt usw.) und bodenphysikalische (z. B. Wasserspeichervermögen, Bodenart, Temperatur usw.) Eigenschaften;
- ▶ Quelle der Kontamination und Alterungseffekte im Boden;
- ▶ Morphologische, physiologische und ökologische Eigenschaften der Organismen (z. B. Beschaffenheit der Körperoberfläche, Effizienz der Ausscheidungsorgane usw.).

Zudem können Bodenorganismen auch durch ihr Verhalten (z. B. Vermeidung des Kontakts mit Chemikalien (Römbke 2008)) die Bioverfügbarkeit eines Stoffes verändern.

Klassische chemische Extraktionsverfahren wurden in den letzten Jahren durch eine wirkungsbezogene Analytik basierend auf Biosensoren ergänzt (Fairbrother et al. 1999). So gibt es bereits kommerzielle Sensoren wie z. B. das BIOMET® Kit mit Biosensoren für die Bestimmung der bioverfügbaren Anteile von Kupfer, Chrom, Cadmium und Blei bzw. Nickel in Böden (Tibazarwa et al. 2001). Allerdings ist anzumerken, dass Biosensoren nur diejenige Reaktion des biologischen Systems repräsentieren, auf dem sie basieren. Außerdem ist die Anwendbarkeit in komplexen Matrices, wie sie die Bodenlösung darstellt, noch nicht standardisiert (Maderova et al. 2011). Die wirkungsbezogene Analytik auf der Basis von Biosensoren stellt daher (derzeit) keine sinnvolle Ergänzung zu klassischen chemischen Extraktionsverfahren dar, um die bioverfügbaren Anteile von Metallen unter Einbeziehung der Puffereigenschaften von Böden in ökotoxikologischen Tests zu bestimmen.

Zwar sagt der Gesamtgehalt eines Schwermetalls im Boden (d. h. die mittels Königswasser extrahierbare Menge), wenig über die tatsächliche Ökotoxizität dieses Stoffes aus, es liegen aber bisher auch noch keine, in der wissenschaftlichen Gemeinschaft abgestimmten Konzepte vor, wie die Berücksichtigung der Bioverfügbarkeit bei der Beurteilung der ökotoxikologischen Wirkungen von Stoffen für Bodenorganismen erfolgen sollte. Grundsätzlich gibt es zwei verschiedene Ansätze (MERAG 2016c):

Mechanistische Modelle: Diese basieren meist auf dem für das Kompartiment Wasser erarbeiteten „Biotic Ligand Model (BLM)“, bei dem davon ausgegangen wird, dass das freie Metallion in der Bodenlösung für die jeweilige Toxizität verantwortlich ist (Allen & Janssen 2006). Die Verfügbarkeit dieses Ions für Organismen hängt nun von seiner Konkurrenz mit anderen in der Lösung befindlichen Ionen ab. Aufgrund von Tests mit Bodenorganismen (vor allem Pflanzen, aber auch Enchytraeiden), die in Nährlösungen exponiert wurden, scheint die Anwendbarkeit dieses Ansatzes auch in Böden belegbar zu sein (Antunes et al. 2006; Lock et al. 2006). Allerdings sind zur Abschätzung der in der Bodenlösung sowie an den Bodenpartikeln ablaufenden Vorgänge sehr detaillierte Daten und komplexe Modellierungen notwendig. Daher ist die Verwendung des BLM-Ansatzes oder ähnlicher mechanistischer Modelle für die Ableitung von Bodenwerten (noch) nicht zu empfehlen (MERAG 2016c).

Empirische Korrekturfaktoren: Dies ist der gegenwärtig in der Umweltrisikobeurteilung präferierte Ansatz, dessen Anwendbarkeit für die Ableitung von Bodenwerten auch in diesem Vorhaben geprüft werden sollte.

Während der letzten Dekade wurde auf diesem Gebiet intensiv geforscht, vor allem aufgrund der Notwendigkeit, Metalle wie Zink, Kupfer und Nickel auf europäischer Ebene zu beurteilen („European Existing Substances Regulation ((EEC) No 793/93“). Das Ergebnis dieser Risikobeurteilung ist unter folgendem Link abzurufen: <http://echa.europa.eu/information-on-chemicals/information-from-existing-substances-regulation>. Empirische Regressionsmodelle wurden entwickelt, mit denen der Einfluss einer Vielzahl von Böden mit unterschiedlichen physiko-chemischen Eigenschaften (z. B. pH, organischer Kohlenstoff, Tongehalt sowie die Kationenaustauschkapazität) auf die Toxizität dieser Metalle für Pflanzen, Invertebraten und Mikroorganismen untersucht werden konnte (unter Verwendung von (Pseudo-) Gesamtgehalten) (Smolders et al., 2009; OECD, 2016). Solche Regressionsmodelle erlaubten die Normalisierung von Effektwerten, so dass die spezifischen Eigenschaften eines bestimmten belasteten Bodens abgedeckt wurden. Damit war die Ableitung von Schwellenwerten für einen bestimmten Standort möglich (angegeben als Metall-Gesamtgehalt). Zudem konnten durch den Vergleich von Testdaten aus dem Labor sowie von potentiell belasteten Standorten empirisch abgeleitete Korrekturfaktoren für verschiedenen Metalle identifiziert werden.

Bei der Anwendung empirischer Regressionsmodelle wird ein möglichst großer Datensatz generiert, der aus ökotoxikologischen Ergebnissen (d. h. aus Tests mit unterschiedlichen Böden bzw. Organismen stammend), gut charakterisierten Böden sowie Angaben zum Gesamtgehalt des jeweiligen (Halb-)Metalls besteht. Bei der Verwendung von Toxizitätsdaten aus Labortests, in denen das jeweilige (Halb-)Metall in den Boden dotiert wurde, besteht die Gefahr einer Überschätzung der Toxizität im Vergleich zur Testung von kontaminierten Freilandböden. Durch den Vergleich der Effektwerte aus

Labortests sowie Freilandböden kann ein sogenannter Labor-Freiland-Faktor (L/F) erstellt werden, mit dessen Hilfe Alterungseffekte berücksichtigt werden. Daher sollte bei einer solchen Beurteilung ein L/F-Faktor (auch Leaching/Aging-Faktor (L/A-Faktor) genannt) verwendet werden, durch den die Unterschiede zwischen den für die Auslösung der gleichen Toxizität notwendigen Metallkonzentration in den im Labor dotierten bzw. den aus dem Freiland entnommenen Bodenproben ausgeglichen werden. Definiert wird er wie folgt:

$$\text{L/F-Faktor} = \frac{\text{Wirkwert (ECx/NOEC)}_{\text{Freiland/Gealtert}}}{\text{Wirkwert (ECx/NOEC)}_{\text{Labor/Dotiert}}}$$
 Verantwortlich für diese unterschiedliche Wirkung eines Metalls auf einzelne Arten (Pflanzen, Invertebraten) oder Mikroorganismengemeinschaften im Boden ist die unterschiedliche Ionenstärke (Alterung) der Metalle im Boden.

Vorgaben für die Berechnung des L/F-Faktors

- ▶ Der L/F-Faktor sollte als das Verhältnis zweier Toxizitätsdaten berechnet werden, die 1.) aus Tests mit kontaminierten Freilandböden bzw. mit im Labor dotierten und dann gealterten Böden sowie 2.) aus im Labor frisch dotierten Böden stammen.
- ▶ Die minimal notwendige Alterungszeit ist metallspezifisch. Ausgehend von den Erfahrungen mit Zn, Pb, Cu und Ni scheinen 3 bis 9 Monate einen guten Kompromiss zwischen Praktikabilität und der realistischen im Boden für langsame Alterungs-/Transformationsprozesse notwendigen Zeit darzustellen. Längere Alterungszeiten können zu einem höheren L/F-Faktor führen.
- ▶ Bodenproben sollten entweder vor der Alterung künstlich ausgelaugt werden oder es sollte das Durchsickern von Regenwasser ermöglicht werden, jeweils um überschüssige Salze zu entfernen.
- ▶ Da die natürlichen Hintergrundkonzentrationen von Metallen in Böden schon "gealtert" sind sollte die Ableitung des L/F-Faktors auf den dotierten Konzentrationen basieren.
- ▶ L/F-Faktoren sollten idealerweise für eine Bandbreite an Böden (d. h. in Abhängigkeit von deren physikalischen und chemischen Eigenschaften) sowie Organismen (d. h. repräsentativ für die drei trophischen Ebenen) abgeleitet werden.
- ▶ Die L/F-Faktoren sollten primär auf der Basis von EC₅₀-Werten abgeleitet werden, da diese statistisch deutlich robuster sind als, z. B., EC₁₀-Werte. Falls ein EC₅₀-Wert nicht bestimmt werden kann sind EC₁₀-Werte zu verwenden, doch führt deren Verwendung häufig zu höheren L/F-Faktoren. Nur wenn keine ECx-Werte zur Verfügung stehen können NOEC-Werte verwendet werden.
- ▶ Wenn im Gegensatz zu einem frisch dotierten Boden selbst bei der höchsten getesteten Konzentration unter Freilandbedingungen (d. h. nach Alterung) keine Wirkung zu beobachten ist, sollte diese Information nicht ignoriert werden. Stattdessen ist dann ein unterer "Grenzwert" für den L/F-Faktor anzugeben, der auf dem Verhältnis zwischen der höchsten unter Freilandbedingungen (= Alterung) getesteten Konzentration sowie dem EC₁₀- bzw. NOEC-Wert, der in dem entsprechenden frisch dotierten Boden ermittelt wurde, anzugeben.

In einem zweiten Schritt kann dann der Einfluss der jeweiligen Bodeneigenschaften auf die Testergebnisse bestimmt werden, um deren Extrapolation auf Böden mit anderen Eigenschaften zu ermöglichen und diese somit vergleichen zu können (MERAG 2016c, Smolders et al., 2009).

2.4 Fazit: Vorschlag für ein neues Bewertungskonzept

Obwohl es allgemein anerkannt ist, dass auf der Grundlage des Gesamtgehalts eines Metalls im Boden keine realistische Vorhersage der jeweiligen Toxizität in der Umwelt möglich ist, gibt es gegenwärtig keine allgemein akzeptierte Methode für die Messung der bioverfügbaren Metallfraktion im Boden hinsichtlich ihrer Wirkung auf Bodenorganismen. Wie beim Kompartiment Wasser gilt das freie Metallion im Porenwasser als der bioverfügbare Anteil. Wenn man allerdings die Toxizität eines Metalls im

Boden mittels des Gesamtgehalts in der Bodenlösung bzw. der Aktivität der freien Metallionen beschreibt, stellt man fest, dass sich die Variabilität der gemessenen Toxizitätswerte erhöht; d. h. damit lassen sich Unterschiede in der Bioverfügbarkeit nicht erklären. Verschiedenste Extraktionstechniken wurden bisher für die Vorhersage der Bioverfügbarkeit sowie der Toxizität von Metallen vorgeschlagen (z. B. Porenwasser, 0,01 M CaCl_2 , 1 M NH_3NO_3 , 0,43 M HNO_3 , DGT, oder der Simulierte Regenwurm-darm (SEG)). Allerdings gibt es bisher keine Standardmethode, die für die meisten Bodentypen bzw. Metalle anwendbar wäre. Stattdessen können Bioverfügbarkeits-Korrekturen eingesetzt werden, wobei die folgenden Schritte unterschieden werden (OECD 2016):

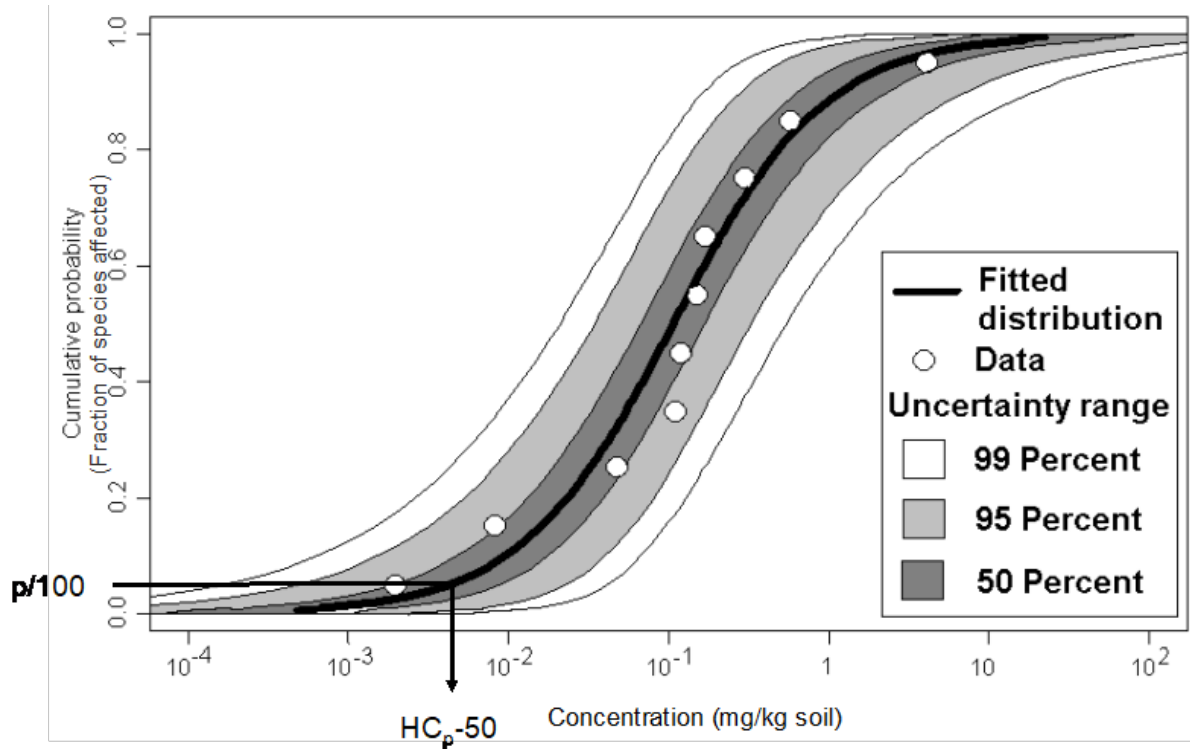
- ▶ Berechnung von bodenspezifischen Werten für die Erfassung der Toxizität des zu testenden Metalls für Bodenorganismen. Dazu können Regressionsmodelle verwendet werden (s.o.).
- ▶ In einem finalen Schritt können regulatorisch definierte Qualitätsstandards (=Bodenwerte, hier: vorsorgeorientierte) auf Grundlage der hinsichtlich ihrer Bioverfügbarkeit korrigierten Toxizitätsdaten abgeleitet werden. Wenn nach der Normalisierung mehrere Daten für dieselbe Spezies oder mikrobielle Funktion vorliegen, kann das geometrische Mittel auf der Grundlage aller Daten zum empfindlichsten Endpunkt (Spezies oder Funktion) berechnet werden. Bei diesem Vorgehen wäre die verbleibende Variation der Daten der intra-spezifischen Variation des jeweiligen Testorganismus zuzuordnen. Dies gilt nicht für non-normalisierte Toxizitätsdaten, da in diesem Fall auch die je nach Boden unterschiedliche Bioverfügbarkeit eingeht. Je nach Datenlage kann für die Bodenwertableitung entweder der Faktoren- oder der „Species Sensitivity Distribution“ (SSD) Ansatz verwendet werden.

Unter der Verteilung der Arten-Empfindlichkeit (SSD) versteht man eine kumulierte Wahrscheinlichkeitsverteilung (= Kurve) von Toxizitätswerten für einen Stoff von verschiedenen Arten (bzw. Endpunkten; Abbildung 1). Diese kann zur Charakterisierung der Toxizität dieses Stoffes genutzt werden, wobei als Kennwerte häufig die mediane Hazard Concentration (HC) für 5% aller (getesteten) Arten verwendet wird (HC_{5-50}). Im Rahmen einer Umweltrisikobeurteilung können auch andere Perzentile verwendet werden. In diesem Vorhaben wurden Tests in Kombination von sechs Böden, sechs Extraktionsverfahren und acht ökotoxikologischen Tests mit Arsen durchgeführt:

- ▶ Sechs Böden mit stark unterschiedlichen Eigenschaften wurden verwendet;
- ▶ Sechs Extraktionsverfahren wurden zur Expositionsabschätzung eingesetzt;
- ▶ Acht ökotoxikologische Standardtests kamen zum Einsatz.

Dieser sehr gut untereinander vergleichbare komplexe Datensatz bildete die Basis der in diesem Folgenden beschriebenen Untersuchungen. Vor der detaillierten Darstellung der durchgeführten Tests und der dabei erhobenen Daten wird im folgenden Kapitel das Ergebnis einer Literaturrecherche zum Komplex Bioverfügbarkeit von Metallen im Zusammenhang mit der Ableitung von Bodenwerten vorgestellt. Die endgültige Festlegung auf einen Bodenwert hängt dabei von verschiedenen regulatorischen Vorgaben ab, z. B. hinsichtlich der Art des Effekts (welches „x“ beim EC_x -Ansatz?) oder der Art des Schutzniveaus ab, aber auch, welche Organismen wie in die Berechnung eingehen. Analog zum Vorgehen für Arsen wurden für die Metalle Kupfer und Nickel in den sechs Böden diejenigen Testverfahren durchgeführt, für die in der vorhandenen Literatur noch keine Testdaten vorlagen.

Abbildung 1: Beispiel einer SSD (Species Sensitivity Distribution) mit Vertrauensbereichen (Uncertainty range) und ihrer HC_p-50 (median hazardous concentration for p% of the biological species).



Quelle: Abbildung A1 aus MERAG (2016b); ursprünglich erstellt und angepasst durch ARCHE Consulting

3 Durchführung einer Literaturrecherche unter besonderer Berücksichtigung der bisher vorgeschlagenen Bewertungskonzepte zur Einbeziehung der Bioverfügbarkeit bei der Ableitung von Bodenwerten (AP 1)

Zu Beginn des Vorhabens wurden in einem ersten Schritt die Suchkriterien für die Literaturrecherche auf der Grundlage der bisherigen Erkenntnisse festgelegt. Da ein mit ähnlicher Fragestellung durchgeführtes Forschungsvorhaben einen umfassenden Überblick über die bis 2011 vorgeschlagenen Konzepte enthält (Macholz et al. 2011), konzentrierte sich diese primär im Jahr 2016 durchgeführte (und seitdem aktualisierte) Recherche auf die letzten fünf Jahre. Dabei wurden sowohl deutsche als auch internationale, speziell europäische Quellen verwendet (via Web of Science, mit Zugang zu Science Citation Index, Expanded Social Sciences Citation Index und Arts & Humanities Citation Index). Damit wurden ca. 4600 Zeitschriften weltweit abgedeckt. Neben Arbeiten, die sich konkret auf die Ableitung von Bodenwerten (hier verstanden als Werte für einzelne (Halb-)Metalle, die im Bodenschutz verwendet werden, unabhängig vom Schutzniveau, z. B. Vorsorge- oder Prüfwerte). Zudem wurden auch Veröffentlichungen berücksichtigt, die im Rahmen der Umweltrisikobeurteilung für Metalle erstellt wurden. Ein Beispiel ist deren Zulassung im Rahmen der EU-REACH-Gesetzgebung (z. B. ECHA 2014).

Die Suchkriterien – in unterschiedlicher Kombination - waren (in Deutsch bzw. Englisch):

- ▶ Namen der bearbeiteten Metalle: Arsen, Kupfer und Nickel;
- ▶ Beurteilungs- bzw. Bewertungskonzept;
- ▶ Bioverfügbarkeit bzw. bioverfügbarer Anteil in verschiedenen Schreibweisen;
- ▶ Bioakkumulation;
- ▶ Extraktion bzw. Extraktionsmittel;
- ▶ Expositionspfad;
- ▶ Porenwasser, Sickerwasser;
- ▶ Puffereigenschaften;
- ▶ Sorptions(isotherme), Kd-Wert;
- ▶ Namen der wichtigsten Organismengruppen im Boden, wobei die folgenden, in der Ökotoxikologie häufig eingesetzten Tiergruppen verwendet wurden (Regenwürmer (Lumbricidae), Enchytraeiden (Enchytraeidae), Springschwänze (Collembola), Gamasida (Acari) und Isopoda (Crustacea). Zudem wurden Mikroorganismen sowie Pflanzen berücksichtigt (Tomaten (Solanaceae), Hafer; (Poaceae), Gerste (Poaceae);
- ▶ Bodenfraktion;
- ▶ Alterung (im) Boden.

Die für das Thema wichtigsten Arbeiten inklusive regulatorischer Dokumente, z. B. der European Food and Safety Authority (EFSA 2009; EFSA 2010c) wurden damit abgedeckt. Insgesamt ergab diese Suche 54 Treffer, wobei sich die meisten Arbeiten auf die Mobilität von Metallen nach Zugabe in den Boden bezogen, meistens ohne Angaben zu ihrer Toxizität gegenüber Nichtzielorganismen. Nach einem ersten Überblick hinsichtlich ihrer Relevanz und Belastbarkeit wurden sechs Arbeiten identifiziert, in denen der Zusammenhang zwischen der Extraktion eines Metalls aus einem Boden und dessen Wirkung auf Bodenorganismen beschrieben wurde (siehe Tabelle 1). In diesen Arbeiten wurde keine Extraktionsmethode identifiziert, mit der sich die Verfügbarkeit bzw. Toxizität des jeweiligen Metalls gut vorhersagen ließ.

Tabelle 1: Zusammenfassung der Ergebnisse der Literaturrecherche zur Extraktion bzw. Toxizität von Metallen im Boden

Metalle	Extraktionsmethode	Böden	Kontamination	Endpunkt	Ergebnis	Zitat
Cd, Cu, Ni, Pb, und Zn	Wasser 0,5 M Ca(NO ₃) ₂ 0,44 M Essigsäure plus 0,2 M Ca(NO ₃) ₂ Total	2 natürliche und 1 künstlicher Boden (USA)	Frisch gespikter Boden	24h LC ₅₀ für den Bodennematoden <i>Caenorhabditis elegans</i>	LC ₅₀ -Werte, basierend auf der Summe der austauschbaren und wasserlöslichen Fraktion, zeigten die geringste Variation zwischen einzelnen Böden. EC ₅₀ -Werte auf der Basis der KW-Konzentration, zeigten die beste Korrelation mit der KAK, aber EC ₅₀ -Werte auf der Basis der wasserlöslichen Konzentration korrelierten am besten mit dem organischen Gehalt des Bodens.	Boyd & Williams, 2003
As, Cr, Cu, Zn	Wasser 0,01 M BaCl ₂ 1 M Ammoniumacetat, gepuffert bei pH 4,5 Total (konzentrierte gesättigte Salpetersäure)	4 Böden (Finnland)	Kontaminierter Freiland-Boden (Holzimprägnierungs-Standort)	35-d Reproduktionstest mit <i>Folsomia candida</i> 35-d Reproduktionstest mit <i>Enchytraeus</i> sp. 5-d Keimungstest mit Salat-Samen	Die beobachtete Toxizität korrelierte am besten mit den Ergebnissen der BaCl ₂ Extraktion.	Schultz et al., 2004
Cu	Kupfer in Bodenlösung Freie Cu ²⁺ -Ionen Diffuse Dünnschicht-Gradienten (DGT) Total (Königswasser)	18 Böden (Europa)	Frisch mit CuCl ₂ gespikte Böden	4-d Weizen-Wurzellängentest 21-d Tomatensprossgewicht	Bodenlösungen mit Cu oder freier Cu ²⁺ Aktivität erklären nicht die Unterschiede in der Toxizität verschiedener Böden. DGT erlaubt eine bessere Vorhersage der Toxizität als der Cu-Gesamtgehalt im Boden.	Zhao et al., 2006

Metalle	Extraktionsmethode	Böden	Kontamination	Endpunkt	Ergebnis	Zitat
Cu, Pb, Zn	0,5 M CaCl ₂ 0,035 M HPCD (Hydroxylpropyl-beta-cyclodextrin), extrahiert im simulierten Regenwurmdarm (amylase, cellulase, phosphatase + trypsin) Total (Salpetersäure + Peroxid-Auflösung)	5 Böden (Kanada)	Feldkontaminierte Böden (Bergwerks-gelände)	28-d <i>Folsomia candida</i> Reproduktion 35-d <i>Eisenia andrei</i> Überleben+ 63-d Reproduktion 21-d Alfalfa Wuchs 21-d Nördliches Weidelgras	Weder der Gesamtgehalt noch chemische Extraktionsverfahren konnten die Reaktion der Testspezies in diesen Böden vorhersagen. Mit keiner Ersatzmethode ließ sich die Bioverfügbarkeit verlässlich hinsichtlich der Toxizität für verschiedene Messend-punkte bei allen Spezies vorhersagen, aber einige Verfahren waren besser als der KW-Gesamtaufschluss.	Smith et al., 2010
Cu, Zn	0,5 M CaCl ₂ 0,035 M HPCD (Hydroxylpropyl-beta-cyclodextrin), extrahiert im simulierten Regenwurmdarm (amylase, cellulase, phosphatase + trypsin) Total (Salpetersäure + Peroxid-Auflösung)	6 Böden (Kanada)	Feldkontaminierte Böden (Bergwerks-gelände)	28-d <i>Folsomia candida</i> Reproduktion 35-d <i>Eisenia andrei</i> Überleben+ 63-d Reproduktion 21-d Alfalfa Wuchs 21-d Nördliches Weidelgras	Weder der Gesamtgehalt noch chemische Extraktionsverfahren konnten die Reaktion der Testspezies in diesen Böden vorhersagen. CaCl ₂ und SEG extrahierbare Metalle sind wohl die besten Indikatoren für die Mischungs-toxizität von Cu und Zn für <i>E. andrei</i> . Gesamtmetallkonzentrationen korrelieren am besten mit der Toxizität von Pflanzen in diesen Böden.	Smith et al., 2012
Cu, Zn	0,001 M CaCl ₂ DGT-Methodik 0,05 M EDTA 1M NH ₄ NO ₃ Cobaltihexamin 0,43 M HNO ₃ Total (Königswasser)	9 Böden (Belgien, Frankreich, Schweden)	Freilandkontaminierte Minengelände und korrespondierende frisch gespickte Böden.	14-d EC ₅₀ für den Gerten-Keimlingswuchstest	Der 0,05 M EDTA Extrakt ist der beste Anzeiger für die Kupfertoxizität. Die Isotopen-Verdünnungs-Methode ist ein guter Indikator für Unterschiede in der Toxizität von freilandkontaminierten und frisch gespickten Böden.	Hamels et al., 2014

Die in diesen sechs Arbeiten (sowie den in den drei Partnerinstitutionen veröffentlichten Erfahrungen) für das hier beschriebene Vorhaben relevante Literatur lässt sich wie folgt zusammenfassen. Details dieser Angaben sind auch in die Planung der ökotoxikologischen Testung von Arsen (siehe Kapitel 5 dieses Berichts) eingeflossen.

In der vorliegenden Literatur wurden Arsen und Nickel nur jeweils einmal untersucht, während Kupfer in jeder dieser Arbeiten behandelt wurde. Aufgrund des Bezugs auf verschiedene Metalle sind auch die verwendeten Extraktionsmethoden unterschiedlich, wobei zwischen drei und sieben Verfahren parallel durchgeführt wurden. Es wurde jeweils eine Bandbreite von Extraktionsstärken angestrebt, wobei einerseits meist Wasser und/oder unterschiedlich verdünnte Calciumchloridlösungen (einmal Bariumchlorid) das schwächste Verfahren war. Als stärkste Extraktionslösung wurde entweder Königswasser oder Essig- bzw. Salpetersäure als Gesamtaufschluss verwendet. Diese Angaben wurden zu Beginn des Vorhabens bei der Auswahl der zu verwendeten Extraktionsmethodik einbezogen, sowohl was die Methodik insgesamt aber auch die Abstufung sowie die Anzahl der Verfahren anging. Das vorliegende Vorhaben liegt damit hinsichtlich der Auswahl und Anzahl der Extraktionsmethoden mit an der Spitze der bisher auf diesem Gebiet durchgeführten Arbeiten.

Bei der Bodenauswahl zeigte sich, je nach spezifischer Fragestellung, eine deutlich größere Heterogenität: in drei der ausgewerteten Studien wurden freilandkontaminierte Böden verwendet, d. h. drei Studien verwendeten Böden, die im Labor mit den jeweiligen Metallen gespikt wurden (ein Labor führte die Tests mit Proben aus beiden Ansätzen durch). Da es im vorliegenden Vorhaben darum ging, ein Konzept zur Ableitung vorsorgeorientierter Bodenwerte für Bodenorganismen zu erarbeiten, war die Verwendung freilandkontaminierter Proben keine Option, da diese – wie auch in den ausgewerteten Literaturstudien – in der Regel eine Misch-kontamination verschiedener Metalle enthalten. Zudem dürfte die Verfügbarkeit der Metalle stark von den jeweiligen Umweltbedingungen bzw. Alterungsprozessen abhängen. Die Anzahl der getesteten Böden schwankte zwischen drei und 18. Dabei waren Studien mit den wenigsten bzw. meisten getesteten Böden auch diejenigen, in denen die Böden gespikt wurden.

Je nach Studie wurden zwischen einem und vier ökotoxikologische Tests (alle nach internationalen Standards der ISO bzw. Environment Canada) eingesetzt, wobei dreimal nur eine Organismengruppe getestet wurde (zweimal Pflanzen, einmal Nematoden). In den drei anderen Studien wurde eine Kombination aus Invertebraten (Collembolen, Regenwürmer oder Enchytraeiden) sowie Pflanzen verwendet. In keiner Studie wurden Mikroorganismen untersucht und insgesamt wurden deutlich kleinere Datensätze als im vorliegenden Vorhaben erarbeitet. In vier der sechs Studien konnten signifikante Korrelationen zwischen den ökotoxikologischen Wirkungen und den Ergebnissen (mindestens einer) Extraktionsmethode gefunden werden, wobei der Gesamtgehalt des jeweiligen Metalls (erwartungsgemäß) keine Vorhersage der Toxizität erlaubte. Die Ergebnisse der beiden kanadischen Studien (Smith et al. 2010; 2012) sind schwierig zu interpretieren, da dort die Toxizität der getesteten Metalle nicht mit den Ergebnissen chemischer Extraktionsverfahren korrelierte. Am stärksten korrelierte der Gesamtgehalt von Kupfer bzw. Zink (die Proben stammten von einem ehemaligen Minengelände) mit den Ergebnissen der ökotoxikologischen Tests).

Das Fazit dieser Literaturrecherche ist demnach, dass ein komplexes Versuchsdesign, bestehend aus (möglichst vielen) unterschiedlichen Böden, ökotoxikologischen Tests und chemischen Extraktionsverfahren, der beste Ansatz für die Beurteilung der Auswirkungen von Metallen auf Bodenorganismen ist (z. B. als Grundlage zur Ableitung vorsorgeorientierter Bodenwerte). Daher kann das hier beschriebene Vorhaben als Anwendungsbeispiel dienen.

4 Erarbeitung eines Testkonzepts (AP 2)

4.1 Vorbemerkung

In diesem Arbeitspaket wurden die konzeptionellen Grundlagen für die experimentellen Arbeiten sowie das zugrundeliegende Bewertungskonzept gelegt. Ein erhebliches Problem war dabei, dass der Umfang dieser Aktivitäten theoretisch sehr groß ist:

- ▶ Nach jetzigem Stand könnten Vorsorgewerte bzw. vorsorgeorientierte Bodenwerte für Bodenorganismen für mindestens acht (gegenwärtige BBodSchV 1999) und maximal 16 Metalle und Halbmetalle abgeleitet werden. Die letztgenannte Zahl ergibt sich aus der Zahl der in verschiedenen Forschungsprojekten der letzten Jahre bearbeiteten (Halb-)Metallen (in sehr eingeschränktem Maße auch organische Chemikalien).
- ▶ Die Anzahl der für dieses Vorhaben ausgewählten Böden sollte möglichst hoch sein, um eine große Bandbreite der die Bioverfügbarkeit beeinflussenden Faktoren (z. B. pH-Wert, Tongehalt usw.) abzudecken. Allerdings war es aufgrund logistischer und finanzieller Beschränkungen (Zeit, Aufwand) nicht möglich, mehr als sechs Böden zu testen.
- ▶ Die Anzahl ökotoxikologischer Testverfahren mit Bodenorganismen ist überschaubar: selbst bei Einbeziehung aller von ISO oder OECD standardisierten Tests liegt die Gesamtzahl der Laborverfahren bei ca. 20, wobei diese teils mit verschiedenen Spezies durchgeführt werden können (insbesondere in Pflanzentests, wo mit dem gleichen Verfahren mindestens 10 Arten (meist Nutzpflanzen) getestet werden, die je nach getestetem Schadstoff unterschiedliche Sensibilitäten aufweisen können).

Die in diesem Vorhaben durchgeführten Tests dienten dazu, die Durchführbarkeit des erarbeiteten Konzepts mit einem hohen aber noch überschaubaren Aufwand zu belegen.

Daher wurde ein Angebot der Universität Leuven zur Nutzung von Ergebnissen aus 7 ökotoxikologischen Tests (Testungen mit zwei Pflanzen, zwei Invertebraten und drei mikrobiologischen Prozessen) mit zwei Metallen (Cu, Ni) in 19 bzw. 16 gut charakterisierten Böden angenommen (z. B. Oorts et al., 2006a). Sechs dieser Böden standen in ausreichender Menge zur Auswahl, um die gleichen ökotoxikologischen Tests wie für Ni und Cu mit dem Halbmetall Arsen durchzuführen. Die Auswertung der Testergebnisse, inklusive der beispielhaften Ableitung von vorsorgeorientierten Bodenwerten für Bodenorganismen unter Berücksichtigung der Bioverfügbarkeit in Böden, wurde damit auf einer breiten Grundlage durchgeführt.

4.2 Auswahl der zu testenden Stoffe (As, Cu, Ni)

Gegenwärtig werden in der Bundes-Bodenschutz- und Altlastenverordnung (BBodSchV 1999) Vorsorgewerte für sieben Metalle aufgeführt: Blei (Pb), Cadmium (Cd), Chrom (Cr), Kupfer (Cu), Nickel (Ni), Quecksilber (Hg) und Zink (Zn). Zum Zeitpunkt der Antragstellung lag eine Literaturrecherche (Römbke & Jänsch 2007) vor, aus der hervorging, dass kationische Metalle in der BBodSchV (1999) bereits gut abgedeckt waren, anionische (z. B. Arsen) dagegen nicht (Jänsch et al. 2007). Zudem wurde dabei festgestellt, dass gerade für diese Stoffe die Datenlage sehr schlecht war und es demzufolge auch in der BBodSchV von 1999 trotz der im Fall von Arsen hohen Umweltrelevanz keine entsprechenden Werte gab. Seitdem hat sich die Datenlage etwas verbessert (z. B. 2009), doch fehlte eine umfassende Untersuchung zum Einfluss von Bodeneigenschaften auf die Bioverfügbarkeit sowie deren Beurteilung anhand verschiedener Extraktionsverfahren. Aktuell ist für Arsen ein Vorsorgewert im Entwurf der Mantelverordnung (Verordnung zur Einführung einer Ersatzbaustoffverordnung, zur Neufassung der Bundes-Bodenschutz- und Altlastenverordnung und zur Änderung der Deponieverordnung und der Gewerbeabfallverordnung, Deutscher Bundestag Drucksache 18/12213 18. Wahlperiode vom

03.05.2017) enthalten. Unter den (öko-)toxikologisch relevanten Stoffen ist es dasjenige mit der schlechtesten Datenlage bei zugleich hoher Toxizität (vgl. Jänsch et al. 2007).

Ausgehend von den Ergebnissen eines durch das UBA geförderten Forschungsvorhabens (Römbke & Jänsch 2007) sollte der damals auf der Grundlage der seinerzeit verfügbaren ökotoxikologischen Wirkwerte aus der Literatur abgeleitete Vorsorgewert für Arsen (As) mit den Untersuchungen dieses Vorhabens auf der Grundlage neuer ökotoxikologischer Testergebnisse sowie unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Filter- und Puffereigenschaften von Böden überprüft werden. Arsen kommt in der Umwelt in unterschiedlichen Oxidationsstufen vor (-III; 0; +III; +V). In Böden und in sauerstoffreichen Wässern liegt es hauptsächlich als Arsen(V) (Arsenat) vor, seltener auch als Arsen (III). Dieses komplexe Verhalten von Arsen in der Umwelt erschwert die Abschätzung potenzieller Gefahren, da sich die verschiedenen Formen (speziell Arsenit bzw. Arsenat) hinsichtlich ihres Umweltverhaltens, ihrer Bioverfügbarkeit sowie der Toxizität für Bodenorganismen erheblich unterscheiden können (Bolan et al. 2015). In diesem Vorhaben wurde nur die Spezies Arsenat in Form von Dinatriumhydrogenarsenat ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$) zugegeben und davon ausgegangen, dass aufgrund der unter normaler Atmosphäre durchgeführten Versuchsbedingungen das Arsen in dieser Form verbleibt.

Darüber hinaus wurden in enger Absprache mit dem Auftraggeber ein für Bodenorganismen essentielles (d. h. Kupfer) sowie ein nicht-essentielles (d. h. Nickel) Metall ausgewählt, für die schon erhebliche Erfahrungen hinsichtlich ihrer ökotoxikologischen Wirkung auf Bodenorganismen vorliegen (Oorts et al. 2006a; Oorts et al. 2006b). Allerdings wurden sie bisher nicht in neueren Standardtestverfahren eingesetzt, speziell im *Arthrobacter*- und Regenwurm-Fluchttest. Zudem wurden für diese beiden Metalle anhand der bereits vorhandenen und im Zuge dieses Projektes erweiterten Datenbasis gemäß dem am Beispiel Arsen erarbeiteten Ableitungskonzepts $\text{HC}_5\text{-50}$ -Werte berechnet, die als Grundlage für vorsorge- bzw. nachsorgeorientierte Bodenwerte dienen. Die Ergebnisse der ökotoxikologischen Tests und die berechneten $\text{HC}_5\text{-50}$ -Werte sind im Anhang (Kap. 12) zusammenfassend dargestellt.

4.3 Auswahl der Verfahren zur Extraktion der (potentiell) bioverfügbaren Fraktion

Für den Wirkungspfad Boden-Pflanze zeigt die Studie von Macholz et al. (2011) gute Korrelationen zwischen den Schwermetallgehalten in Bodenextrakten mit 0,01 M CaCl_2 Lösung und den in den Pflanzen gefundenen Schwermetallgehalten. Der Zusammenhang zwischen Akkumulation und Wirkung ist jedoch oft nicht eindeutig. Dagegen wird von den gleichen Autoren die 0,01 M CaCl_2 -Extraktion nur als bedingt geeignet bewertet, um auch den Wirkungspfad Boden-Bodentiere zu beschreiben. Bei Isopoden, Invertebraten und Regenwürmern wurde keine direkte Beziehung der jeweiligen Konzentration zu den Effekten beobachtet. In der gleichen Studie wurde auch ein Zusammenhang zwischen der Schwermetallkonzentration nach einer DTPA/ CaCl_2 Extraktion und der jeweils beobachteten Wirkung auf Regenwürmer herausgestellt (Macholz et al. 2011). Die Richtlinie ISO 17402 (2008a) bzw. DIN (2011) empfiehlt dagegen keine organischen Komplexbildner als Extraktionsmittel, sondern verweist eher auf die Ergebnisse, die mit einer Säureextraktion gewonnen werden.

Die Königswasser-Extraktion (KW; DIN EN 16174:2012) löst die Schwermetalle auch aus dem Mineralbestand des Bodens und überschätzt somit den bioverfügbaren Anteil. Jedoch ist der KW-Aufschluss immer noch die am häufigsten verwendete Bezugsgröße. Vielfach wurde eine gute Korrelation zwischen Wirkungen und Ergebnissen aus KW-Aufschlüssen gefunden, die auf einen engen Zusammenhang zwischen dem Gesamtgehalt und der mobilisierbaren Fraktion hinweisen. Ausgehend von diesen Überlegungen wurde das folgende Vorgehen zur Erfassung der Exposition durch das Konsortium beschlossen: Begleitend zu den ökotoxikologischen Tests wurden in enger Abstimmung zwischen den Kooperationspartnern sowie mit dem Auftraggeber ausgewählte Extraktionsverfahren eingesetzt, um die (potentiell) bioverfügbare Fraktion zu bestimmen. Begonnen wurde mit der 0,01 M CaCl_2 - und der DTPA/ CaCl_2 -Extraktion um den Bezug des jeweiligen Verfahrens zu den ökotoxikologischen

Testergebnissen herzustellen. Die beiden Salzextrakte mit $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ und NH_4NO_3 wurden hinzugenommen, um wie oben ausgeführt mit geringeren Ionenstärken zu arbeiten und das in der BBodSchV etablierte Verfahren mit Ammoniumnitrat zu nutzen. Als Extrakt mit einer Säure wurde das kürzlich standardisierte Verfahren mit 0,43 M Salpetersäure genutzt. Darüber hinaus wurde versucht, Faktoren zwischen dem über KW-Aufschluss bestimmten Gesamtgehalt und den über das jeweilige Extraktionsverfahren erhaltenen Anteil, zu identifizieren. Eine mit dem Umweltbundesamt abgestimmte Liste von Extraktionsverfahren ist Tabelle 2 zu entnehmen.

Tabelle 2: Im Vorhaben verwendete chemische Extraktionsverfahren

Test	Extrakt	Richtlinie
Aktuell verfügbar	Angepasste Ionenstärke ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$)	Gäbler et al. (2009)
	0,01 M CaCl_2	ISO 14255 (1998)
	1 M NH_4NO_3	ISO 19730 (2008b)
	DTPA/ CaCl_2	VDLUFA (1991)
Potenziell verfügbar	0,43 M HNO_3	ISO 17586 (2016b)
Gesamtaufschluss	Königswasser-Aufschluss	DIN EN 16174 (2012)

Weiterhin wurden für die ausgewählten Metalle Sorptionsisothermen mittels des in der BGR etablierten Verfahrens erstellt, welches u.a. von Gäbler et al. (2009) beschrieben wurde. Die Sorptionsisothermen dienen der grundlegenden Charakterisierung der Böden hinsichtlich der Aufnahme und ggf. der Abgabe der untersuchten Metalle. Darüber hinaus können die die Sorption bestimmenden Bodeneigenschaften, die u. a. die Puffereigenschaften der Böden bestimmen, mit der Hilfe der Sorptionsisothermen identifiziert werden.

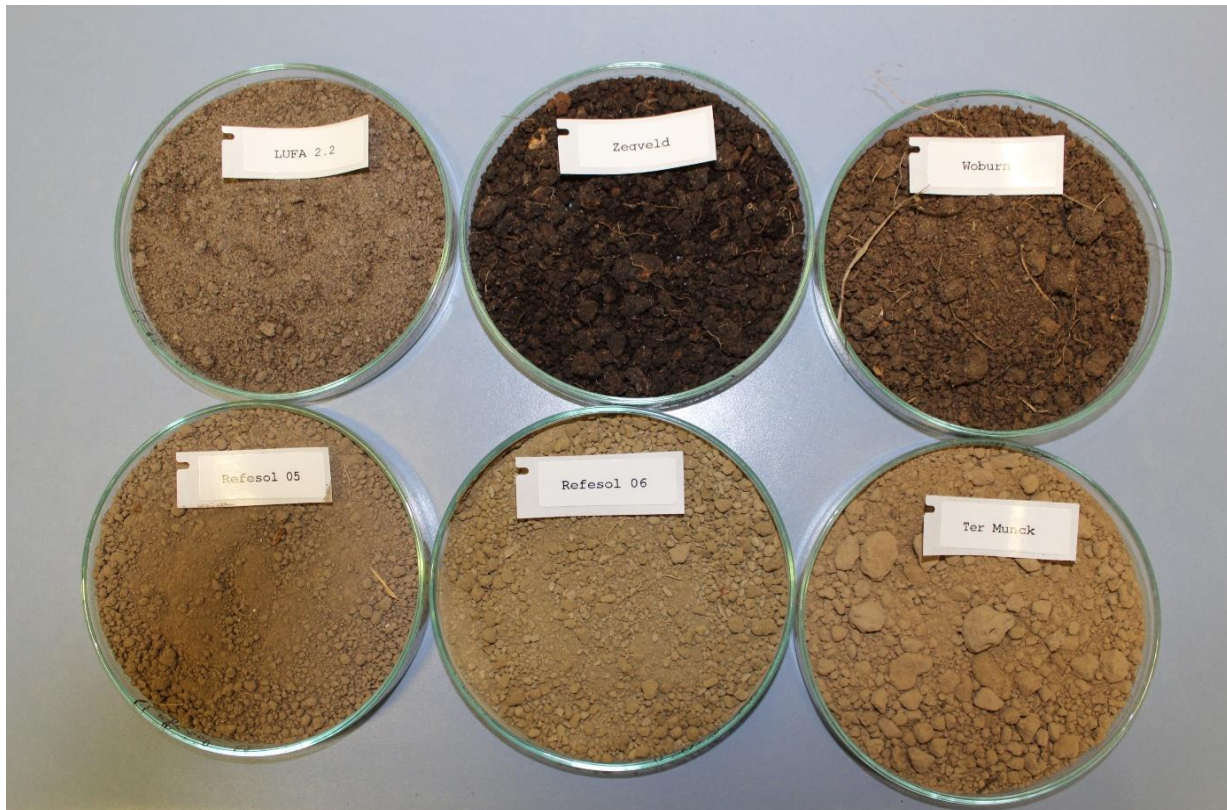
4.4 Auswahl der Testböden

4.4.1 Kriterien für die Auswahl und Beschreibung der ausgewählten Böden

Bei der Auswahl der in den praktischen Tests zu verwendenden Böden wurde versucht, mit einer begrenzten Anzahl von Böden eine möglichst breite Abdeckung der für die Bioverfügbarkeit relevanten Bodeneigenschaften mitteleuropäischer Böden zu erreichen. Eine hohe Flächenrepräsentanz der untersuchten Böden war dabei nicht das Ziel. Weitere wichtige Aspekte der Auswahl waren die Vergleichbarkeit mit bereits veröffentlichten und/oder bereits vorhandenen Datensätzen sowie die Praktikabilität in Form von Verfügbarkeit, Kosten und Zeit. Für die Auswahl und Charakterisierung der Böden wurden speziell Parameter der Filter- und Puffereigenschaften (z. B. Bodenart, Kationenaustauschkapazität (KAK), pedogene (Hydr-)Oxide) verwendet.

Für die zur Auswahl stehenden Böden waren die wichtigsten Parameter aus der Literatur bekannt. Die Eigenschaften der getesteten Böden wurden für dieses Vorhaben zusätzlich durch die BGR neu bestimmt. Mit diesem Datensatz sowie Angaben einer Vielzahl deutscher Böden aus der Labor- und Profildatenbank im FISBo BGR waren eine Bewertung und Auswahl repräsentativer Böden möglich. Demnach wurden die sechs im Folgenden aufgeführten Böden (siehe Abbildung 2) als repräsentativ für Mitteleuropa ausgewählt.

Abbildung 2: Überblick der verwendeten Böden. Oben, links nach rechts: LUFA 2.2, Zegveld und Woburn. Unten von links nach rechts: Refesol 05-G, Refesol 06-A und Ter Munck



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Der in der Ökotoxikologie weit verbreitete LUFA 2.2-Boden wurde von der Landwirtschaftlichen Untersuchung- und Forschungsanstalt in Speyer (LUFA) geliefert. Dieser Boden ist durch einen hohen Sandanteil (80%¹), einen niedrigen Gehalt an organischem Kohlenstoff (1,8%) und eine geringe effektive Kationenaustauschkapazität (KAK_{eff} , 66 mmol_c/kg) charakterisiert. Der LUFA 2.2-Boden ist gleichzeitig unter dem Namen Refesol 01-A Teil des Refesol-Systems des Fraunhofer-Instituts IME. Aus diesem System wurden zwei weitere Böden ausgewählt und vom Fraunhofer-Institut erworben: Der Grünland-Boden Refesol 05-G hat jeweils den zweithöchsten pH-Wert (5,2) sowie den zweithöchsten Schluffgehalt (52%). Er wird als stark saurer, humoser und sandig-lehmiger Schluff charakterisiert (<http://www.refesol.de/boden05g.shtml>). Der Boden Refesol 06-A wurde von einem Acker im Sauerland entnommen. Er hat einen hohen pH-Wert (7,3), den zweithöchsten KAK_{eff} -Wert (236,6 mmol_c/kg) und wird als mittel-schluffiger Ton mit ebenfalls mittlerem Humusgehalt beschrieben (<http://www.refesol.de/boden06a.shtml>).

Darüber hinaus wurden drei in einem Projekt des ARCHE-Instituts verwendete Böden ausgewählt, die schon für die Untersuchung der Bioverfügbarkeit von Kupfer und Nickel verwendet wurden (Smolders et al. 2009; Oorts et al. 2006a; Song et al., 2006). Die zugehörigen Standorte wurden wegen erforderlicher großer Mengen für die ökotoxikologischen Tests neu beprobt. Der Ter Munck-Boden stammt aus einer Agrarfläche in der Nähe der Stadt Leuven, Belgien. Er hat den höchsten Schluff-Anteil (82%), den niedrigsten Gehalt an organischer Bodensubstanz (1%) und eine niedrige KAK_{eff} (78 mmol_c/kg). Der Woburn-Boden stammt aus der Nähe einer kleinen Stadt mit dem gleichen Namen im County

¹ Werte neu bestimmt im Labor der BGR Hannover.

Bedfordshire, England, 70 km nordwestlich von London. Dieser Boden hat einen relativ hohen pH-Wert (6,0) und Sandgehalt (49%) sowie den höchsten Gehalt an Eisenoxiden in allen getesteten Böden (35053 mg Fe/kg im Dithionit-Extrakt). Der Zegveld-Boden stammt aus dem gleichnamigen Bezirk der Provinz Utrecht (Niederlande) und zeichnet sich vor allem durch seinen hohen Gehalt an organischer Bodensubstanz (21,7%) und Ton (68%) aus.

Bei der Auswahl der Böden wurde darauf geachtet, dass trotz der geringen Anzahl (sechs) ein möglichst breites Spektrum hinsichtlich der für die Bioverfügbarkeit relevanten Bodeneigenschaften (pH, KAK_{eff} , Bodenart, C_{org} , etc.) abgedeckt wurde (vgl. Kap. 2.3). Nur beim organischen Kohlenstoff- und beim Kalk-Gehalt gab es große Lücken bei höheren Werten (Abbildung 3). Zumindest die Bereiche bis zum 75%-Quantil sind durch die ausgewählten Böden abgedeckt.

4.4.2 Bodeneigenschaften: Eigene Messung

Bedingt durch eine erneute Entnahme von Bodenmaterial für die ökotoxikologischen Tests und Lücken bei der Bodencharakterisierung, wurden die wichtigsten Bodeneigenschaften in Hinblick auf die Sorption im Labor der BGR neu bestimmt. Im Einzelnen waren dies der pH-Wert in Wasser und Calciumchlorid nach ISO 10390 (2005); die elektrische Leitfähigkeit im 1:5-Extrakt nach DIN EN 27888 (1993); die Partikelgrößenverteilung nach ISO 11277 (2009); der Gesamtgehalt von Kohlenstoff, Stickstoff und Schwefel im Elementaranalysator (varioMAX CNS, Elementar GmbH, Hanau); organischer und anorganischer Kohlenstoffgehalt mittels thermischem Gradientenverfahren (RC-612, Leco, St. Joseph, Michigan, USA); die KAK_{eff} mit $BaCl_2$ nach HFA (2014) sowie die Charakterisierung der pedogenen Eisen- und Aluminium-(Hydr)oxide mittels Oxalat-(DIN 19684-6; 1997) und Dithionit-Extrakt (Mehra & Jackson 1958). Die Messwerte (Einzelbestimmungen) sind in Tabelle 3 bis Tabelle 6 aufgeführt. Abbildung 3 gibt eine Übersicht über die Repräsentativität der ausgewählten Böden im Verhältnis zu einer statistischen Auswertung einer Vielzahl von deutschen Böden in der Labor- und Profildatenbank im FISBo BGR.

Tabelle 3: Nutzung, pH-Wert, elektrische Leitfähigkeit und Korngrößenverteilung der verwendeten Böden

Name	Nutzung	pH ($CaCl_2$)	pH (H_2O)	EC ($\mu S/cm$)	Ton (%)	Schluff (%)	Sand (%)
LUFA 2.2	Ackerland	5,6	6,1	130,2	6,9	13,3	79,9
Refesol 05-G	Grünland	5,2	6,0	42,5	18,7	51,8	29,5
Refesol 06-A	Ackerland	7,3	8,0	154,5	43,5	42	14,5
Ter Munck	Ackerland	5,7	6,2	134,8	11,3	82,3	6,4
Woburn	Grünland	6,0	6,6	76,8	30,8	20,2	49
Zegveld	Grünland	4,8	5,3	223	67,5	15,4	17,2

Tabelle 4: Kohlenstoff-, Stickstoff- und Schwefel-Gehalte der verwendeten Böden

Name	C _{org} (%)	C _{inorg} (%)	CaCO ₃ (%)	N _t (%)	S (%)
LUFA 2.2	1,78	0,029	0,24	n.b.	n.b.
Refesol 05-G	2,51	0,048	0,40	n.b.	n.b.
Refesol 06-A	2,75	0,491	4,09	n.b.	n.b.
Ter Munck	1	0,073	0,61	0,12	0,03
Woburn	5,1	0,222	1,85	0,48	0,06
Zegveld	21,68	0,524	4,36	2,05	0,32

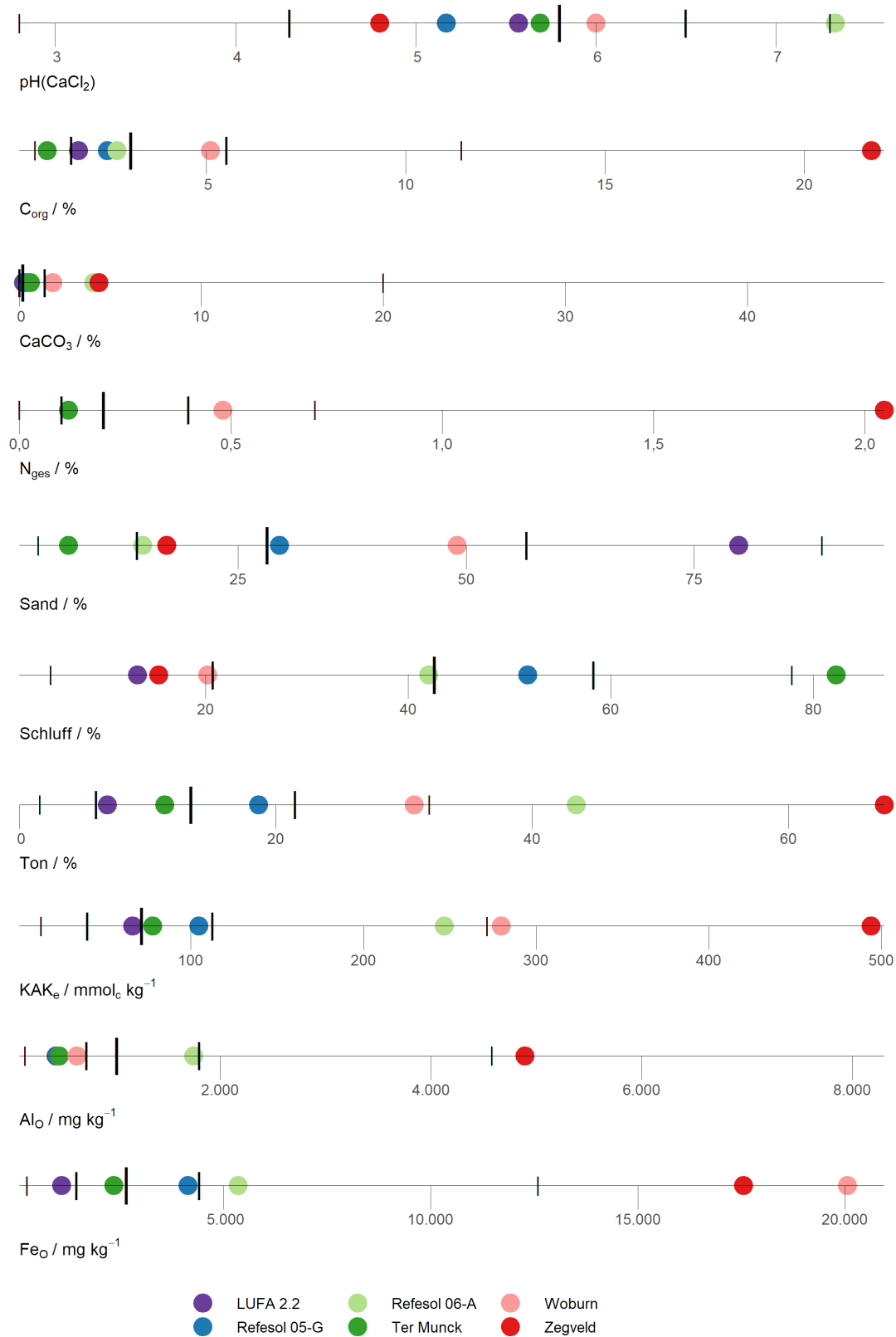
Tabelle 5: KAK_{eff} (BaCl₂) (mmol_c/kg) und die austauschbaren Kationen der verwendeten Böden

Name	KAK _{eff}	Ca	Mg	K	Na	Mn	Al	Fe
LUFA 2.2	66,1	55,4	8,40	0,98	0,45	0,43	0,5	0,01
Refesol 05-G	104,6	86,0	13,05	2,65	0,29	0,55	1,7	0,37
Refesol 06-A	246,8	268,6	13,16	14,20	0,44	0,01	0,2	0,13
Ter Munck	77,8	54,5	6,87	14,70	0,33	1,37	<LD	<LD
Woburn	279,8	224	68	9,21	0,70	0,04	0,3	3,92
Zegveld	493,9	396,3	55,74	19,32	4,36	5,14	11,6	1,50

Tabelle 6: Aluminium, Eisen und Mangan in den Oxalat- und Dithionit-Extrakten der verwendeten Böden

Name	Oxalat (mg/kg)			Dithionit (mg/kg)		
	Al	Fe	Mn	Al	Fe	Mn
LUFA 2.2	441	1092	100,1	488	1671	<LD
Refesol 05-G	453	4138	94,20	572	4937	<LD
Refesol 06-A	1746	5352	1895,4	2630	21138	2180
Ter Munck	473	2350	288,0	799	6899	281
Woburn	638	20060	237,9	1306	35053	681
Zegveld	4894	17553	173,1	5268	19732	149

Abbildung 3: Überblick über die Verteilung wichtiger Bodeneigenschaften in Relation zu Eigenschaften deutscher Böden in der BGR-Datenbank. Die vertikalen Striche markieren die 5, 25, 50, 75 und 95% Quantile



Quelle: eigene Darstellung, BGR Hannover

4.4.3 Ausgangsgehalte von Arsen in den untersuchten Böden

Die Ausgangsgehalte von Arsen wurden bei der Durchführung der Extraktionsversuche und beim Königswasser-Aufschluss mitbestimmt. Die Kontrolle der ökotoxikologischen Tests entspricht einer Dosis von 0 mg/kg. Die Ausgangsgehalte von Arsen in den Böden der ökotoxikologischen Tests sind für alle Extraktionsverfahren im Kapitel 7.2 (Tabelle 33) wiedergegeben (siehe jeweils die erste Zeile jedes Bodens, d. h. ohne Zugabe von Arsen zur Einstellung der jeweiligen Testkonzentrationen).

Die Messwerte im Königswasser-Aufschluss, die fast den Gesamtgehalten im Boden entsprechen, sind in Tabelle 7 aufgeführt. Die Gehalte sind durch das Ausgangsgestein und diffuse Einträge geprägt, weil keine belasteten Standorte untersucht wurden. Da Sande und Löss im Vergleich zu z. B. magmatischen Gesteinen niedrige Ausgangsgehalte von (Halb-)Metallen aufweisen, haben dementsprechend die Böden aus diesen Ausgangsgesteinen wie LUFA 2.2 oder Ter Munck für Arsen niedrige Gehalte im Königswasser-Aufschluss. Die höchsten Arsen-Gehalte hat der Woburn-Boden mit den höchsten (Hydr-)Oxid-Gehalten. Bei der redoximorphen Bildung der (Hydr-)Oxide kann Arsen angereichert worden sein. Des Weiteren binden die (Hydr-)Oxide Arsen sehr gut, wodurch auch die erhöhten Gehalte verursacht sein können.

Tabelle 7: Arsen--Gehalte im Königswasser-Aufschluss der verwendeten Böden

Name	Arsen-Gehalt (mg/kg)
LUFA 2.2	2,99
Refesol 05-G	4,36
Refesol 06-A	4,81
Ter Munck	2,95
Woburn	46,2
Zegveld	12,2

4.5 Auswahl der ökotoxikologischen Testverfahren

Für das Umweltkompartiment Boden gibt es eine Vielzahl standardisierter Tests, die für verschiedene Stressoren (z. B. Pestizide (EFSA 2017), Industriechemikalien (ECHA 2008; 2014) oder genetisch veränderte Pflanzen (Römbke et al. 2010)) eingesetzt werden (Tabelle 8).

Tabelle 8: Übersicht über die wichtigsten terrestrischen Standardtests. Neben den für die Testung von Einzelstoffen einzusetzenden OECD-Richtlinien sind auch die für potentiell kontaminierte Substrate vorgesehenen ISO-Richtlinien aufgeführt. Fett gekennzeichnete Tests werden für die experimentelle Überprüfung in diesem Vorhaben vorgeschlagen

Testname	Testspezies	Testprinzip + Dauer	Test-Richtlinie
Akuter Regenwurmtest	<i>Eisenia fetida</i> , <i>E. andrei</i>	Mortalität, Biomasse 14 Tage	OECD 207 ISO 11268-1
Chronischer Regenwurmtest	<i>Eisenia fetida</i>, <i>E. andrei</i>	Biomasse, Reproduktion; 56 Tage	OECD 222 ISO 11268-2
Chronischer Enchytraeentest	<i>Enchytraeus albidus</i> , <i>E. crypticus</i>	Reproduktion 42 bzw. 28 Tage	OECD 220 ISO 16387
Chronischer Collembolentest	<i>Folsomia candida</i>, <i>F. fimentaria</i>	Reproduktion 28 Tage	OECD 232 ISO 11267
Chronischer Raubmilbentest	<i>Hypoaspis aculeifer</i>	Reproduktion 16 Tage	OECD 226 -
Fluchttest mit Regenwürmern	<i>Eisenia fetida</i>, <i>E. andrei</i>	Vermeidungsverhalten	ISO 17152-1
Fluchttest mit Collembolen	<i>F. candida</i>	Vermeidungsverhalten	ISO 17152-2
Keimlingsaufbau + – wachstumstest	<i>Avena sativa</i>, <i>Brassica rapa</i>; andere Nutzpflanzen	Auflaufrate, Biomasse Ca. 14 Tage	OECD 208 ISO 11269-2
Vegetativer Wachstumstest	<i>Avena sativa</i> , <i>Brassica rapa</i> ; andere Nutzpflanzen	Biomasse, Sprosslänge, 21 – 28 Tage	OECD 227 -
Pflanzen-Wurzellängentest	<i>Hordeum vulgare</i>, <i>Avena sativa</i>, <i>Triticum aestivum</i>	Wurzellänge, 4 Tage	ISO 11269-1
Stickstofftransformationstest	Natürliche Mikroorganismengemeinschaft	Nitratgehalt 28 Tage	OECD 216 ISO 14238
Kohlenstofftransformationstest	Natürliche Mikroorganismengemeinschaft	Respirationsrate. 28 Tage; 100 Tage mögl.	OECD 217 ISO 14240-1

In diesem Vorhaben wurde jeweils die ISO-Version eines der aufgeführten ökotoxikologischen Tests verwendet, da diese explizit für die Untersuchung von (potentiell) kontaminierten Böden vorgesehen sind, während die OECD-Tests primär für Einzelstofftests in Standardböden im Rahmen der Chemikalienregistrierung gefordert werden. Mit Ausnahme der unterschiedlichen Testsubstrate unterscheiden sich die jeweiligen Testrichtlinien nur wenig.

Bei der Zusammenstellung einer Testbatterie war es notwendig, sicherzustellen, dass folgende Aspekte durch die verschiedenen Tests abgedeckt werden (Checkai et al. 2014; Kuperman et al. 2014):

- Auswahl mehrerer Organismengruppen mit ihrer jeweils unterschiedlichen Morphologie, Physiologie und Ökologie: im Minimum Mikroorganismen, Pflanzen und Invertebraten (hierbei ist

die Unterscheidung von hartschaligen, d. h. Arthropoden und weichhäutigen, d. h. Oligochäten, Organismen wichtig);

- ▶ Beachtung von unterschiedlichen Expositionspfaden: Porenwasser sowie Testsubstrataufnahme müssen unterschieden werden;
- ▶ Verwendung von unterschiedlich empfindlichen Testsystemen aus verschiedenen Trophiestufen;
- ▶ Bevorzugte Verwendung chronischer Tests mit Reproduktions-Endpunkten;
- ▶ Einsatz standardisierter Verfahren um möglichst belastbare Ergebnisse zu generieren.

Aus dieser Liste von Standardtests wurden ursprünglich pro Organismengruppe und Trophiestufe (Tiere, Pflanzen, Mikroorganismen) jeweils zwei Verfahren ausgewählt, wobei neben der langjährigen Erfahrung die ökologische Relevanz sowie die hohe Empfindlichkeit (z. B. Reproduktionstests bei Tieren) des jeweiligen Tests für die Auswahl entscheidend waren. Später wurde bei den Bodeninvertebraten ein Test hinzugefügt, um einen weiteren Endpunkt (Vermeidungsverhalten) abdecken zu können. Auch bei den Pflanzen wurde ein zusätzlicher Test durchgeführt, wobei hier die Ausweitung des Artenspektrums im Vordergrund stand.

- ▶ Mikroorganismen:
 - ▶ Feststoffkontakttest mit *Arthrobacter globiformis* (ISO 18187; 2016);
 - ▶ Stickstoff-Transformationstest (ISO 14238; 2012).
- ▶ Pflanzen:
 - ▶ Keimlingsauflauf und -wachstumstest mit höheren Pflanzen (ISO 11269-2; 2012);
 - ▶ Pflanzen-Wurzellängentest mit Gerste (ISO 11269-1; 2012).
- ▶ Boden-Invertebraten:
 - ▶ Chronischer Regenwurmtest (ISO 11268-2; 2012);
 - ▶ Chronischer Collembolentest (ISO 11267; 2014);
 - ▶ Regenwurm-Fluchttest (ISO 17512-1, 2008).

4.6 Kriterien der Qualitätssicherung

4.6.1 Beurteilung von ökotoxikologischen Testergebnissen

In Übereinstimmung mit der Verwendung ökotoxikologischer Daten bei der Ableitung von bisher nicht in der BBodSchV (1999) aufgeführten Vorsorgewerten wird für dieses Vorhaben vorgeschlagen, die Klassifikation von Klimisch et al. (1997) zu nutzen. Demnach können solche Daten in vier Klassen eingeteilt werden:

A. Reliable without Restriction (Uneingeschränkt verlässlich)

Dies beinhaltet Studien oder Daten aus der Literatur oder Berichten, die nach generell gültigen oder international anerkannten Testrichtlinien (bevorzugt unter GLP) durchgeführt oder erhoben wurden oder in welchen die dokumentierten Testparameter auf einer spezifischen (nationalen) Testrichtlinie (bevorzugt unter GLP) basieren oder in welchen alle beschriebenen Parameter eng verwandt/vergleichbar mit einer Richtlinienmethode sind.

B. Reliable with Restrictions (Eingeschränkt verlässlich)

Dies beinhaltet Studien oder Daten aus der Literatur oder Berichten (meist nicht gemäß GLP), bei denen die dokumentierten Parameter nicht vollständig mit einer bestimmten Testrichtlinie übereinstimmen aber ausreichen, um die Daten zu akzeptieren oder in denen Untersuchungen beschrieben werden, welche nicht unter einer Testrichtlinie zusammengefasst werden können, aber dennoch gut dokumentiert und wissenschaftlich akzeptabel sind.

C. Not Reliable (Nicht verlässlich)

Dies beinhaltet Studien oder Daten aus der Literatur, in denen es Wechselwirkungen zwischen dem Messsystem und der Testsubstanz gibt oder bei denen Organismen/Testsysteme benutzt wurden, welche nicht relevant im Hinblick auf die Exposition (z. B. nicht-physiologische Applikationspfade) sind oder die gemäß einer inakzeptablen Methode durchgeführt wurden, in welcher die Dokumentation zu einer Beurteilung nicht ausreicht und die unter einer Expertenbeurteilung nicht überzeugend ist.

D. Not assignable (Nicht zuweisbar)

Dies beinhaltet Studien oder Daten aus der Literatur, die nicht ausreichend experimentelle Details liefern und die lediglich in Kurzfassungen oder Sekundärliteratur (z. B. Bücher, Reviews, usw.) aufgelistet sind.

Fazit dieses Arbeitsschrittes ist, dass für die Ableitung von Bodenwerten für Arsen primär auf die im Rahmen dieses Vorhabens erhobenen eigenen Testdaten zurückgegriffen wurde (vgl. Kap. 6). Die entsprechenden Versuche wurden im nach der „Guten Laborpraxis“ (GLP) zertifizierten Labor der ECT GmbH anhand internationaler Richtlinien der ISO) durchgeführt so dass deren hohe Qualität gesichert war. Da die Versuche jedoch nicht strikt nach der Testrichtlinie (vor allem bezüglich der Verwendung natürlicher Böden statt Kunsterde) und nicht formal unter GLP durchgeführt wurden (z. B. keine Inspektion durch die Qualitätssicherungseinheit im Labor) sind daher alle selbst erhobenen Daten gemäß der Klassifikation von Klimisch et al. (1997) der o. g. Kategorie B (= „Reliable with restrictions“) zuzuordnen. Daten aus der Literatur wurden nur aus der Arbeit von Song et al. (2006) verwendet, die aus den gleichen Gründen ebenfalls der Kategorie B nach Klimisch et al. (1997) zuzuordnen sind.

4.6.2 Qualitätssicherung der chemischen Extraktionen

Die Extraktionen erfolgten in Doppelbestimmung. Bei zu großen Unterschieden der beiden Einzelwerte oder wenn das Verhältnis zwischen Messwert des Königswasser-Extrakts und königswasserlösliche Gehalt im Boden ohne Zugabe plus hinzugegebener Dosis um mehr als 10% voneinander abwich, wurden einzelne Messwerte aussortiert. Bei den Extraktionen (ohne Königswasser-Aufschluss) und den Konzentrationsstufen 3-8 wurden Einzelmesswerte ausgeschlossen, wenn der Messwert oberhalb der Dosis lag. Bei den niedrigen Konzentrationsstufen wurde dieses Kriterium nicht herangezogen, da die Messwerte je nach Extraktionsmittel und Boden unterschiedlich stark vom ursprünglich im Boden gebundenen Gehalt beeinflusst sind.

4.6.3 Beurteilung von Bewertungskonzepten

Im Rahmen der Studie von Macholz et al. (2011) wurden die in den einzelnen Studien verwendeten Extraktionsmittel vor allem danach beurteilt, ob bei deren Verwendung ein Bezug zu biologischen Prozessen erkennbar war oder nicht. In dem hier vorgestellten Projekt ist die Beantwortung dieser Frage auch vorgesehen, doch sollte ein zu empfehlendes Beurteilungskonzept breiter aufgestellt sein (z. B. sollten wirkungsbasierte Analyseverfahren sowie bodenchemische Aspekte mit einbezogen werden). Generell hat aber ein „standardisierter“ Ansatz beim Vergleich verschiedener Vorschläge erhebliche Vorteile, vor allem in Hinsicht auf die Transparenz der Entscheidungsfindung.

Das von Hopkin (1993) publizierte und später von der britischen Environment Agency (EA 2002) übernommene 5-R-Konzept (Responsive, Robust, Reproducible, Representative, Relevant) ist für die Beurteilung von Testverfahren entwickelt worden. Bei seiner Anwendung muss sichergestellt werden, dass das Ergebnis einer Bewertung „vollzugsrelevant“ ist, d. h. nach transparenten Kriterien erstellt wurde und damit so nachvollziehbar ist, dass es bei der direkten Interaktion zwischen Behörden und Betroffenen (z.B. Flächeninhabern) als gemeinsame Grundlage dienen kann. Die Anwendbarkeit dieses Konzepts auf bereits erhobene bodenchemische Methoden der einzelnen Bundesländer sowie die derzeit in der EU verwendeten bzw. diskutierten Analyseverfahren sollen bei der Konzeptentwicklung ebenfalls berücksichtigt werden. Konkret wurde geprüft, ob die angewendeten Methoden in Hinsicht auf das Ergebnis ihrer Anwendung belastbar (d. h. der jeweiligen Fragestellung entsprechend), robust

(d. h. gleiche Ergebnisse bei mehrfacher Wiederholung), reproduzierbar (d. h. unabhängig von der Durchführung in verschiedenen Laboratorien), und repräsentativ (d. h. den Eigenschaften des zu prüfenden Stoffs entsprechend) sind. Die Überprüfung dieser Kriterien erfolgte nicht auf der Ebene der einzelnen Probe, sondern anhand der ausgewählten Methoden. Da es sich bei diesen auf der praktischen Ebene um standardisierte Verfahren und auf der Ebene der Beurteilung um ein weitverbreitetes Konzept (Bodenwerte bzw „Soil values“; vgl. z. B. BBodSchV 1999; Carlon 2007) handelt, entsprach das hier beschriebene Vorgehen den für eine regulatorische Anwendung notwendigen Qualitätsansprüchen.

5 Experimentelle Durchführung der Tests (AP 3)

Im Folgenden wird die Durchführung der jeweiligen Tests mit Arsen detailliert beschrieben. Die Tests mit Kupfer und Nickel (Feststoffkontakttest und Regenwurm-Fluchttest) wurden analog zu den Tests mit Arsen durchgeführt und die gleichen statistischen Endpunkte berechnet. Die Ergebnisse sind im Anhang zu diesem Bericht aufgeführt (Kap. 12.4 und 12.9).

5.1 Durchführung der Tests mit Arsen

Im Forschungsprojekt sollte ein ökotoxikologischer Bewertungsansatz für Böden auf der Basis der bioverfügbaren Fraktion von Schadstoffen unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Filter- und Puffereigenschaften von Böden entwickelt werden. Dieser Ansatz sollte dann am Beispiel des Halbmetalls Arsen getestet werden.

5.1.1 Vorbereitung der Testsubstanz und des Testsubstrats

Um eine Äquilibration der Testsubstanz Arsen im Boden zu gewährleisten wurde die Testsubstanz bereits 7 Tage (Tag -7) vor eigentlichem Testbeginn in den Boden appliziert und eingemischt (Oorts et al. 2006 a,b, Rooney et al. 2006). Hierzu wurde zur Herstellung einer Stammlösung eine entsprechende Menge der Testsubstanz in deionisiertem Wasser gelöst. Diese wurde wiederum zum Ansatz der Testlösungen entsprechend der gewünschten Testkonzentrationen in geometrischen Schritten verdünnt. Die exakte Einwaagemenge der Testsubstanz sowie die Volumina der Stamm- und Testlösungskolben richteten sich dabei individuell nach der Restbodenfeuchtigkeit und den jeweils gewünschten Testkonzentrationen der einzelnen Tests. Bei der Berechnung der Testkonzentrationen wurden die Reinheit der Testsubstanz sowie der Arsenanteil berücksichtigt. Demnach beziehen sich alle genannten Testkonzentrationen auf die tatsächlichen Arsenkonzentrationen im Boden.

An Tag -7 wurde die Feuchtigkeit des Testbodens gemäß der entsprechenden Richtlinie des Testsystems unter Berücksichtigung der Restfeuchte des Bodens sowie das Applikationsvolumen der Testlösung angepasst (Tabelle 9). Die empfohlene Zielfeuchte für Kunsterde in den entsprechenden Richtlinien der Regenwurm- und Collembolen-Reproduktionstests sowie in dem Regenwurm-Fluchttest und dem Test zur Stickstoffmineralisierung beläuft sich auf 40-60% der WHK_{max} . Für den Bakterienkontakttest sollte die Bodenfeuchtigkeit 20% des Trockengewichts entsprechen. Die Richtlinien für den Saatenauflauftest geben keine konkreten Vorgaben. Der Boden wurde daher ausreichend befeuchtet, um ein gutes Befüllen der einzelnen Pflanzentöpfe zu gewährleisten. Für die Testung des Refesol 06-A Bodens im Regenwurm-Fluchttest sowie im Stickstoffmineralisierungstest wurde von den Anforderungen der jeweiligen Richtlinie abgewichen, da aufgrund der Bodeneigenschaften des Refesol 06-A eine zu starke Befeuchtung des Bodens diesen zum Verklumpen brachte und somit eine Testung nicht möglich gewesen wäre. Des Weiteren konnte eine Anforderung der ISO 11269 (2012a) zum Wurzellängentest nicht eingehalten werden: der zu testende Boden soll zu Testbeginn auf 75% der WHK_{max} angefeuchtet werden. Aufgrund der Eigenschaften der Böden LUFA 2.2, Refesol 05-G und 06-A wäre dann aber keine Testung möglich gewesen. Der LUFA 2.2 Boden wäre bei einer Befeuchtung von 75% der WHK_{max} stark aufgeweicht, eine Testung bei diesen Umständen wäre nicht möglich gewesen. Bei Refesol 05-G und Refesol 06-A konnte bei hoher Befeuchtung eine starke Verklumpung beobachtet werden. In diesen Böden erfolgte die Zugabe von deionisiertem Wasser sukzessiv und dieses wurde gleichzeitig eingerührt. Die Testfeuchte wurde den Anforderungen der Richtlinie ISO 11269 (2012a) folgend angenähert bis eine Testung noch möglich erschien. Alle Böden wurden im Vorfeld auf 2 mm (LUFA 2.2., Refesol 05-G, Refesol 06-A, Ter Munck) oder 4 mm (Woburn, Zegveld) gesiebt. Nach Applikation und Einmischung der Testlösungen wurden die zur Applikation genutzten Gefäße mit Testböden für 7 Tage in einem temperierten Raum bei 20 ± 2 °C inkubiert (Oorts et al. 2006a, b, Rooney et al. 2006).

Tabelle 9: Bodenfeuchte des Bodens nach Applikation der Testsubstanz in den jeweiligen Testsystemen

Testsystem	LUFA2.2	Refesol 05G	Refesol 06A	Ter Munck	Woburn	Zegveld
Regenwurm	45,0	45,0	45,0	58,4	53,1	60,0
Collembolen	50,0	40,0	45,0	50,0	45,0	50,0
Saatenauflauf	34,5	25,5	24,3	53,9	23,5	52,5
Wurzellänge	55,0	50,0	35,2	--	--	--
Arthrobacter	Je 20% des Trockengewichts (Relative Feuchte)					
Stickstoff	47,0	40,0	30,0	55,0	45,0	50,0
Fluchttest	50,0	45,0	35,0	55,0	50,0	60,0

5.1.2 Feststoffkontakttest mit *Arthrobacter globiformis*

Der Bakterienfeststoffkontakttest wurde mit der Art *Arthrobacter globiformis* auf Grundlage der Richtlinie ISO 18187 (2016a) durchgeführt. Der Test beruht auf der Hemmung der Dehydrogenaseaktivität dieser Bakterienart, welche durch toxische Stoffe im Testsubstrat ausgelöst wird. *Arthrobacter globiformis* ist in Anbetracht seiner Masse das am häufigsten von allen heimischen Bakterienarten anzutreffende Bakterium und ist daher repräsentativ für die Bodenmikroflora (Neumann-Hensel und Melbye 2006a). Die Gattung *Arthrobacter* gehört zur Familie der Micrococcaceae und verfügt zumeist über einen obligat aeroben Metabolismus. Unter eingeschränkten Sauerstoffbedingungen können einige Arten jedoch einen anaeroben Metabolismus aufweisen (ISO 2016a). Für die Durchführung der Feststoffkontakttests wurde der Testorganismus *A. globiformis* mit der Stammnummer ATCC 8010 (DSM-Nr. 20124) vom Leibniz-Institut DSMZ GmbH, der Deutschen Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen mit Sitz in Braunschweig, erworben.

Die notwendigen Arbeiten für den Feststoffkontakttest wurden unter sterilen Bedingungen durchgeführt, um Kontaminationen durch andere Bakterienstämme zu vermeiden. Verwendete Materialien wurden stets autoklaviert oder mit einem Bunsenbrenner sterilisiert. Die erworbene Stammkultur von *A. globiformis* wurde nach Erhalt in 15 ml Nährlösung überführt und für 14 bis 16 Stunden bei 30 °C auf dem Horizontalschüttler bei einer Frequenz von 150 min⁻¹ inkubiert. Nach Abschluss der Inkubation wurde die Trübung der Bakterienlösung bei 600 nm bestimmt, bevor die Lösung auf einen Extinktionswert von 0,2 durch Zugabe von Nährstofflösung verdünnt wurde. Die Suspension wurde daraufhin für weitere 2 h inkubiert und die Extinktion anschließend nochmals gemessen. Laut Richtlinie sollte dann ein Extinktionswert von 0,4 vorliegen (ISO 2016). Im Anschluss daran wurden zehn Agarplatten mit den hergestellten Kulturen beimpft und für 24 h bei 30 °C inkubiert. In dieser Zeit bildete sich auf den Agarplatten ein dünner Bakterienfilm. Dieser Bakterienfilm wurde mit 10 ml der Nährstofflösung abgespült, wodurch eine Bakteriensuspension hergestellt wurde. 0,5 ml dieser konzentrierten Bakteriensuspension wurden auf die zuvor hergestellten Gefäße mit gefriergetrockneter Schutzmilch appliziert. Die Gefäße wurden daraufhin bei -80 °C für 1,5 h gefroren und anschließend für 4 bis 5 Tage bei -60 – -80 °C gefriergetrocknet. Die gefriergetrockneten Lyophilisate wurden im Anschluss mit Deckeln verschlossen und bei ≤ -20 °C im Tiefkühler gelagert.

Wie in der ISO Richtlinie beschrieben, wurden in toto 5 Konzentrationsstufen sowie eine Negativ- und eine Positivkontrolle mit je 4 Replikaten getestet. Die Negativkontrolle beinhaltete statt der Testsubstanz deionisiertes Wasser. Zur Sicherstellung der Testsensitivität wurde in die Positivkontrolle Benzalkoniumchlorid (600 mg a.s./kg Boden TG) appliziert. Des Weiteren wurden zwei verschiedene Blank-Ansätze eingesetzt. Die gewählten Konzentrationsstufen (Tabelle 10) orientierten sich dabei an den zuvor durchgeführten Findungstest mit den Konzentrationsstufen 0, 1, 10, 100, 1000, 10000 mg As/kg Boden TG.

Tabelle 10: Übersicht der getesteten Konzentrationsstufen in den durchgeführten Bakterienkontakttests mit *Arthrobacter globiformis* mit allen 6 Böden [mg As/kg Boden TG]

Code ¹	NC	PC	C1	C2	C3	C4	C5
LUFA 2.2	0	600 ²	30	95	300	949	3000
Refesol 05-G	0	600 ²	30	95	300	949	3000
Refesol 06-A	0	600 ²	30	95	300	949	3000
Ter Munck	0	600 ²	30	95	300	949	3000
Woburn	0	600 ²	30	95	300	949	3000
Zegveld	0	600 ²	30	95	300	949	3000
Replikatanzahl	4	4	4	4	4	4	4

1) C = Konzentrationsstufe, NC = Negativkontrolle, PC = Positivkontrolle, 2) 600 mg Benzalkoniumchlorid/kg Boden TG

Einen Tag vor Testbeginn wurden 0,6 g ($\pm 0,006$ g) des entsprechenden Testsubstrates in vier Wells einer Zellkulturplatte eingewogen. Zusätzlich zu diesen vier Wells wurden zwei weitere Wells mit Testsubstrat befüllt, doch wurden diese nicht mit dem Bakterien-Inokulum versetzt. Sie dienten dazu, die Eigenfluoreszenz des Substrates zu messen, um die eigentliche Dehydrogenaseaktivität zu identifizieren. Um den Erfolg des späteren Pasteurisierungsvorganges zu verifizieren wurden weitere Blanks in einer separaten Well-Platte angesetzt. Diese Blanks waren ebenfalls nicht mit dem Bakterien-Inokulum versetzt worden und wurden dem Pasteurisierungsvorgang nicht unterzogen. Bis zum Teststart wurden die befüllten Zellkulturplatten bei 8 °C gelagert. Am Tag 0 wurde in jedes Well jeweils 0,6 ml steriles, deionisiertes Wasser hinzugefügt. Um die natürliche Dehydrogenaseaktivität des Testsubstrates zu unterdrücken, erfolgte zusätzlich eine Pasteurisierung als Vorbehandlung. Für die weitere Durchführung des Feststoffkontakttestes wurde eine Ampulle des vorbereiteten, gefriergetrockneten Lyophilisats mit 0,5 ml sterilisiertem Eiswasser rekonstruiert und zum langsamen Auftauen für 20 bis 30 Minuten im Kühlschrank gelagert. Des Weiteren wurden zweimal 20 ml (± 5 ml) eines zuvor vorbereiteten Mediums im Inkubator bei 30 ± 1 °C erwärmt. Eines davon wurde für die Zugabe des aufgetauten Lyophilisats für die eigentlichen Testgefäße vorgesehen und das zweite für die Behandlung der zwei verschiedenen Blanks. Die Bakteriensuspension wurde nach dem Auftauen in Medium übertragen und durchmischt, um dann das fertige Bakterien-Inokulum zu erhalten.

Zu allen Replikaten (außer den Blanks) wurden jeweils 0,4 ml des Inokulums hinzugegeben. Anschließend erfolgte die Inkubation der befüllten 24-Well-Zellkulturplatten über 2 Stunden im Dunkeln auf einem horizontalen Schüttler ($U=150 \text{ min}^{-1}$) und einer Temperatur von 30 ± 1 °C. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurden 0,8 ml einer Resazurin-Lösung zu jedem Well hinzugefügt und die Fluoreszenzmessung durchgeführt (Plattenfluorimeter Tecan ULTRA). Die initiale Messung wurde als Zeitpunkt 0 definiert. Im Anschluss wurden weitere Messungen in einem 15-Minuten Intervall für einen Zeitraum von einer Stunde durchgeführt. Die Bestimmung der relativen Fluoreszenz erfolgte am Plattenfluorimeter Tecan ULTRA bei einer Emission von 535 nm und einer Extinktion bei 590 nm. Die Fluoreszenzmessung bezieht sich auf das durch die Dehydrogenaseaktivität von *A. globiformis* umgewandelte Resazurin zu Resorufin. Nach Beendigung des Tests wurden von den gemessenen Resorufin-Fluoreszenzwerten die entsprechenden Blindwerte subtrahiert. Mit diesen korrigierten Daten wurde die Steigung der Resorufin-Fluoreszenz zwischen den Messzeitpunkten 15 und 45 Minuten mittels folgender Formel berechnet:

$$S = \left[\frac{f2 - f1}{t2 - t1} \right]$$

S = Steigung der relativen Fluoreszenz (f1 und f2) von Resorufin in einem Well zwischen 15 (t1) und 45 (t2) Minuten.

Für den Bakterienfeststoffkontakttest wurden folgende Validitätskriterien festgelegt:

- ▶ Negativkontrolle: Mindestens 5-fache Zunahme der Fluoreszenz zwischen Zeitpunkt 0 bis 60 Min., Variationskoeffizient (CV) < 15%.
- ▶ Positivkontrolle: Hemmung zwischen $\geq 30\%$ und $\leq 80\%$.

5.1.3 Stickstoff-Transformationstest

Da Mikroorganismen hauptverantwortlich für die Nährstoffkreisläufe im Boden sind, kann deren Störung durch Fremdstoffe die Bodenfruchtbarkeit erheblich beeinflussen. Zur Bestimmung einer möglichen Wirkung auf den Stickstoffkreislauf durch Arsen wurde der Stickstoffmineralisierungs- und Stickstoffnitrifizierungstest auf Grundlage der Richtlinien OECD 216 (2000a) und ISO 14238 (2012d) durchgeführt. Für diese Tests wird Boden mit einer Stickstoffquelle für 28 Tage inkubiert. Die Nitratkonzentration wird sowohl an Tag 0 als auch an Tag 28 gemessen. In allen durchgeführten Tests wurden 5 Konzentrationsstufen inklusiver einer Kontrolle eingesetzt. Sowohl für die Kontrolle als auch für die Konzentrationsstufen wurden 4 Replikate vorbereitet. Die gewählten Konzentrationsstufen (Tabelle 11) orientierten sich dabei an den zuvor durchgeführten Konzentrationsfindungstests mit den Konzentrationsstufen 0, 1, 10, 100, 500, 1000 mg As/kg Boden TG.

Tabelle 11: Übersicht der getesteten Konzentrationsstufen in den durchgeführten Stickstoffmineralisierungstests mit allen 6 Böden [mg As/kg Boden TG]

Code*	C0	C1	C2	C3	C4	C5
LUFA 2.2	0	20	63,3	200	632,5	2000
Refesol 05-G	0	10	31,6	100	316	1000
Refesol 06-A	0	10	31,6	100	316	1000
Ter Munck	0	20	63,3	200	632,5	2000
Woburn	0	20	63,3	200	632,5	2000
Zegveld	0	20	63,3	200	632,5	2000
Replikatanzahl	4	4	4	4	4	4

* Code: C = Konzentrationsstufe, C0 = Testboden Kontrolle

Die Richtlinien empfehlen, wenn möglich, frisch beprobten Boden im Test zu verwenden. Da es jedoch aus organisatorischen Gründen nicht möglich war, diese Vorgabe einzuhalten wurde die für den jeweiligen Test benötigte Menge an Boden zur Wiederbelebung auf eine Bodenfeuchtigkeit von 30-55% der jeweiligen WHK_{max} angefeuchtet und für eine Woche bei $20 \pm 2^\circ\text{C}$ in Dunkelheit inkubiert. Anschließend wurde die gesamte inkubierte Menge des Bodens auf die einzelnen Konzentrationsstufen aufgeteilt, die Testsubstanz appliziert, mit einem Handmixer eingemischt und für 7 Tage bei $20 \pm 2^\circ\text{C}$ in Dunkelheit erneut inkubiert. Am Tag 0 wurde als Stickstoffquelle für die Nitrifizierung jeder Konzentrationsstufe eine entsprechende Menge Luzernemehl (5 g/kg Boden TG) beigemischt. Nach gründlicher Homogenisierung des Bodens der einzelnen Konzentrationsstufen wurden 100 g TG auf insgesamt 4 Replikate in Glasgefäße (290 ml, J. Weck GmbH und Co. KG, Wehr) aufgeteilt. Daraufhin wurden 20 g TG eines jeden Replikates in 200 ml Plastikflaschen überführt. Zur Extraktion des Nitrats wurden diesen Teilproben 100 ml einer CaCl_2 Lösung hinzugefügt (0,01 M, 5 ml/g Boden TG) und 60 min bei 150 min^{-1} auf dem Schüttler inkubiert. Nach der Inkubation wurde die wässrige Phase in 100 ml über Faltenfilter (Whatman™ Faltenfilter, 595 ½, GE Healthcare) in Plastikbecher filtriert. Die Extrakte

wurden daraufhin entweder im Tiefkühler bei $\leq -18\text{ °C}$ bis zur Messung gelagert oder deren Nitratkonzentration direkt gemessen.

Die Nitratkonzentration wurde photometrisch mittels des Nitrat-Küvettentests LCK 339 (Hach Lange GmbH, Weinheim) bestimmt, wobei für jedes Replikat eine Doppelmessung durchgeführt wurde. Dieser Test ist für einen Bereich von $1 - 60\text{ mg/l NO}_3$ bzw. $5 - 300\text{ mg NO}_3/\text{kg Boden}$ anwendbar. Zur Bestimmung des Nitrates wird in einer schwefel- und phosphorsauren Lösung 2,6-dimethylphenol (2,6-DPM) zu 4-Nitro-2,6-dimethylphenol (4-Nitro-2,6-DPM) transformiert. Dabei bildet das 4-Nitro-2,6-dimethylphenol (4-Nitro-2,6-DPM) eine orangefarbene Verbindung, die sich bei einem Absorptionsmaximum von 324 nm photometrisch quantifizieren lässt. An Tag 0 wurde die Nitratkonzentration von je einem Replikat der Kontrolle bzw. der höchsten Konzentration doppelbestimmt. Zusätzlich wurde die Nitratkonzentration des Testbodens ohne Zugabe von Luzerne gemessen. Dies wurde durchgeführt um sicherzustellen, dass der Testansatz korrekt war. Während der Inkubation der Proben auf dem Schüttler wurde das initiale Gewicht der Testgefäße ohne Deckel dokumentiert und die Testgefäße bei $20 \pm 2\text{ °C}$ in Dunkelheit für 28 Tage aerob mit einem Glasdeckel verschlossen inkubiert. Die Dokumentation und der Ausgleich des Wasserverlustes auf das initiale Gewicht wurde jeweils an Tag 7, 14 und 21 mit deionisiertem Wasser durchgeführt. An Tag 28 wurde die Inkubation des Testes beendet und es wurde, wie bereits an Tag 0, das Nitrat extrahiert und bestimmt. Da in der Richtlinie ISO 14238 (2012d) keine Validitätskriterien angegeben werden, wurde das, in der Richtlinie OECD 216 (OECD 2000a) enthaltene Validitätskriterium festgelegt: der Varianzkoeffizient der einzelnen Replikate der Kontrolle ist $\leq 15\%$.

5.1.4 Pflanzen-Wurzellängentest mit Gerste

Der Wurzellängentest wurde mit der Art *Hordeum vulgare* (Gerste) auf Grundlage der ISO Richtlinie 11269-1 (2012b) durchgeführt, die ursprünglich für die Beurteilung von kontaminierten natürlichen Böden entwickelt wurde. Vor Einsatz der Samen in die Testgefäße an Tag 0 wurden an Tag -2 die Samen auf einem mit feuchtem Papier ausgelegtem Tablett 48 h lang vorgekeimt. An Tag 0 wurde der Boden der einzelnen Konzentrationsstufen durchmischt und jedes Testgefäß (Plastik-Zylinder mit perforiertem Boden, $11 \times 10\text{ cm}$) mit 400 g TG befüllt. Für jeden Test wurden mindestens 6 Konzentrationsstufen inklusive Kontrolle mit 3 Replikaten angesetzt. Die Konzentrationsstufen (Tabelle 12) wurden dabei anhand der zuvor durchgeführten Saataufauftests mit *Avena sativa* (Tabelle 13) festgelegt.

Zusätzlich zur Kontrolle wurde eine Sandkontrolle mit 2 Replikaten aus befeuchtetem Quarzsand angesetzt, um mögliche Fehler im Testverlauf ausschließen zu können. Nach Durchführung aller drei Tests wurden aus allen Einzelwerten ein Mittelwert, die Standardabweichung sowie die zweifache Standardabweichung berechnet. Des Weiteren wurde für jeden einzelnen Test der Variationskoeffizient bestimmt.

Tabelle 12: Übersicht der getesteten Konzentrationsstufen in den durchgeführten Wurzellängentests mit *Hordeum vulgare* mit LUFA 2.2, Refesol 05-G und Refesol 06-A [mg As/kg Boden TG]

Code*	C0	SC	C1	C2	C3	C4	C5	C6
LUFA 2.2	0	0	10	20	40	80	160	--
Refesol 05-G	0	0	15,625	31,25	62,5	125	250	--
Refesol 06-A	0	0	20	40	80	160	320	640
Replikatanzahl	3	2	3	3	3	3	3	3

* Code: C = Konzentrationsstufe, C0 = Testboden Kontrolle, SC = Quarzsandkontrolle

In jedes Testgefäß wurden gleichmäßig sechs vorgekeimte Samen mit einem maximalen Wurzelkeim von 2 mm, 0,5 – 1 cm tief eingesät. Anschließend wurden alle Gefäße mit einer Verschlussfolie (Parafilm®) abgedeckt und in einem klimatisierten Raum für 4 Tage bei 20 °C und 30 – 75% relativer Feuchte (rF) gelagert. Dabei wurden die Testgefäße mit mindestens 200 µE 16 h am Tag beleuchtet. Dafür wurden wie bereits schon im Saatenauflauftest spezielle Halogen-Metall dampflampen verwendet (SON-T Agro, Phillips GmbH, Hamburg). An Tag 4 wurde der Test beendet und der Boden aus den zylindrischen Testgefäßen entnommen, ohne dabei die Wurzeln oder Pflanzentriebe zu beschädigen. Anschließend wurden die Wurzeln von größeren Bodenklumpen befreit und sowohl die Wurzel- als auch Pflanzentrieblänge gemessen.

Um die Validität des Wurzellängentest zu erfüllen müssen folgende Kriterien in der Sandkontrolle erfüllt sein:

- ▶ Die Länge der längsten Wurzel sollte den Bereich von ± 2 Standardabweichungen des für alle drei Tests bestimmten Mittelwertes nicht überschreiten.
- ▶ Der Variationskoeffizient der Sandkontrolle ist $\leq 20\%$.

5.1.5 Chronischer Wachstumstest mit höheren Pflanzen

Die Pflanzentests wurden auf der Grundlage der Richtlinien ISO 11269-2 (2004b) und OECD 208 (2006a) mit der monokotyledonen Art *Avena sativa* (Hafer) und der dykotyledonen Art *Solanum lycopersicum* (Tomate) durchgeführt. Ziel dieser Tests war die Bestimmung von Effekten auf die Auflauf- rate und das Wachstum der Pflanzen. Dazu wurden Frischgewicht, phytotoxische Effekte sowie die Anzahl aufgelaufener und lebender Pflanzen am Testende bestimmt. Am Teststart wurde der vorinku- bierte Boden jeder Konzentrationsstufe mit einer Rührmaschine durchmischt und anschließend in Pflanzentöpfe (450 g TG) (Lamprecht-Verpackungen GmbH, Göttingen) gefüllt. Je nach Testböden wurden entweder rechteckige Töpfe (12 x 12 x 12 cm, Zegveld) oder runde Töpfe (11 x 8 cm, restliche Böden) als Testgefäße verwendet. Nach deren Befüllung wurde jeder Pflanzentopf in eine Plastik- schale (12 x 17 x 7 cm, Kastelplast, Mainz) gestellt, die als Wasserreservoir diente. Anschließend wur- den jeweils 10 Samen je Testgefäß 0,5 – 1 cm tief im gleichen Abstand zueinander eingesät. Danach wurde jeder Topf je nach Feuchtigkeitsgehalt des Bodens mit einer entsprechenden Menge deionisier- tem Wasser (von unten durch Zugabe des Wassers in das Wasserreservoir) bewässert und mit einem durchsichtigen Plastikdeckel abgedeckt. Insgesamt wurden mindestens sechs Konzentrationsstufen (inkl. Kontrolle) mit je vier Replikaten bzw. Testgefäßen angesetzt. Die gewählten Konzentrationsstu- fen (Tabelle 13) orientierten sich dabei an den zuvor durchgeführten Findungstest mit den Konzentra- tionsstufen 2, 4, 24, 120, 240 mg As/kg Boden TG.

Die Testgefäße wurden in einem klimatisierten Raum bei einer Temperatur von 15 – 30 °C und einer relativen Luftfeuchte von 30 – 75% gelagert und mit speziellen Halogen-Metall dampflampen (SON-T Agro, Phillips GmbH, Hamburg) mit einer Mindestleuchtstärke von 200 µE 16 h am Tag beleuchtet. Temperatur sowie relative Luftfeuchte wurden stündlich mit einem elektronischen Datenlogger er- fasst. Während des Testverlaufs wurden alle Testgefäße mindestens einmal pro Tag überprüft und je nach individueller Bodenfeuchtigkeit mit einer entsprechenden Menge an deionisiertem Wasser ge- gossen. Je nach Testboden war es des Weiteren nötig, die Pflanzen zu düngen. Die Menge des Düngers (Substral®, 7 ml/l H₂O) richtete sich dabei nach dem Zustand der Kontrollpflanzen und wurde in alle Replikate der verschiedenen Konzentrationsstufen gleich der Kontrolle zugegeben. Die Menge und Häufigkeit der Zugaben an Dünger, unterschied sich je nach getestetem Boden und wurde durch die zuständigen Prüfleiter beschlossen. Aufgrund des hohen organischen Kohlenstoffanteils des Woburn- Bodens wurden keine der getesteten Konzentrationen oder Kontrolle in diesem Boden während des Testverlaufs gedüngt.

Tabelle 13: Übersicht der getesteten Konzentrationsstufen in den Saatenauflauftests mit *Avena sativa* und *Solanum lycopersicum* mit allen 6 Böden [mg As/kg Boden TG]

Code*	C0	C1	C2	C3	C4	C5	C6
<i>Avena sativa</i>							
LUFA 2.2	0	1	3	9	27	81	243
Refesol 05-G	0	15,625	31,25	61,5	125	250	--
Refesol 06-A	0	31,25	61,5	125	250	500	--
Ter Munck	0	1	3	9	27	81	243
Woburn	0	28,1	56,25	112,5	225	450	--
Zegveld	0	28,1	56,25	112,5	225	450	--
Replikatanzahl	4	4	4	4	4	4	4
<i>Solanum lycopersicum</i>							
LUFA 2.2	0	1	3	9	27	81	243
Refesol 05-G	0	15,625	31,25	61,5	125	250	--
Refesol 06-A	0	31,25	61,5	125	250	500	--
Ter Munck	0	1	3	9	27	81	243
Woburn	0	28,1	56,25	112,5	225	450	--
Zegveld	0	2,4	24	120	240	480	--
Replikatanzahl	4	4	4	4	4	4	4

* Code: C = Konzentrationsstufe, C0 = Testboden Kontrolle

Laut den Richtlinien wurde Tag 0 als jener Tag festgesetzt an dem 50% der Kontrollpflanzen aufgelaufen waren. An diesem Tag wurde die Anzahl der aufgelaufen Pflanzen je Topf erfasst und anschließend auf maximal 5 Pflanzen ausgedünnt. An Tag 7 wurden alle lebenden und toten Pflanzen gezählt sowie visuell auf phytotoxische Schäden hin untersucht. Dabei wurden abnormale Veränderungen wie Chlorosen, Verfärbungen, Nekrosen und Verformungen auf Grundlage einer Bewertungsskala dokumentiert (Tabelle 14).

Tabelle 14: Bewertungsskala der ECT GmbH für die Beurteilung von Pflanzentests

Kategorie	Bewertung	Beschreibung
1	Gesund	Pflanzen ohne schadhafte Veränderungen. Trockene Pflanzenspitzen von Gräsern sowie verwelkte oder tote Keimblätter sind normale Erscheinungen.
2	Leicht beschädigt	Einzelne chlorotische und/oder nekrotische Flecken, maximal ¼ der Blätter sind betroffen.
3	Mäßig geschädigt	Einzelne vertrocknete Blätter ($\leq$ ¼ der Blattflächen).
4	Schwer beschädigt	Pflanzen stark chlorotisch und oder nekrotisch und verwelkt. ($>$ ¼ der Blattflächen).
5	Schwer beschädigt	Pflanzen sind abnormal verformt (verdreht, gekräuselt)
6	Tot	Pflanzen sind tot.

In Übereinstimmung mit den Richtlinien ISO 11269-2 (2004b) und OECD 208 (2006a) wurden die Pflanzen 14 bis 21 Tage nach Tag 0 nochmals gezählt, visuell bewertet und anschließend geerntet, um die frische Biomasse zu bestimmen. Dazu wurden die Pflanzen direkt oberhalb der Bodenoberfläche mit einer Schere abgetrennt und umgehend gewogen. Um die Validität des Saatenauflauf- und Wachstumstest zu erfüllen, müssen folgende Kriterien erfüllt sein:

- ▶ Mindestens 70% der Kontrollpflanzen sind aufgelaufen.
- ▶ Die Kontrollpflanzen weisen keine phytotoxischen Schäden auf, die auf den Eintrag der Testsubstanz zurückzuführen sind.
- ▶ Mindestens 90% der Kontrollpflanzen haben überlebt.

5.1.6 Regenwurm-Fluchtttest

Um eine weitere Bodenspezies der Testbatterie des Projektes hinzuzufügen wurden zusätzlich Regenwurm-Fluchtttests mit der Spezies *Eisenia andrei* auf Grundlage der Richtlinie ISO 17512-1 (2008c) durchgeführt. Regenwürmer verfügen über Chemorezeptoren die es ihnen ermöglichen, bereits geringe Konzentrationen schädlicher Stoffe im Boden zu erkennen (Edwards & Bohlen 1996). Der Fluchtttest nutzt diese Fähigkeiten, indem die Verteilung von Würmern in einem mit Kontrollboden sowie belasteten Boden befüllten Zweikammern-Testgefäß bestimmt wird. In allen durchgeführten Tests wurden bis zu 6 Konzentrationsstufen mit behandeltem Boden sowie eine Kontrolle mit unbehandeltem Boden in beiden Kammern getestet. Sowohl für Kontrolle als auch für die Konzentrationsstufen wurden insgesamt 5 Replikate vorbereitet. Die gewählten Konzentrationsstufen (Tabelle 15) orientierten sich dabei an den zuvor durchgeführten Regenwurm-Reproduktionstests mit *Eisenia fetida* (Tabelle 16).

Tabelle 15: Übersicht der getesteten Konzentrationsstufen in den durchgeführten Regenwurm-Fluchtttests mit *Eisenia andrei* mit allen 6 Böden [mg As/kg Boden TG]

Code*	C0	C1	C2	C3	C4	C5
LUFA 2.2	0	10	31,6	100	316	1000
Refesol 05-G	0	10	31,6	100	316	1000
Refesol 06-A	0	10	31,6	100	316	1000
Ter Munck	0	10	31,6	100	316	1000
Woburn	0	10	31,6	100	316	1000
Zegveld	0	10	31,6	100	316	1000
Replikatanzahl	5	5	5	5	5	5

* Code: C = Konzentrationsstufe, C0 = Testboden Kontrolle

Die Testsubstanz wurde am Tag -7 auf den jeweiligen Boden appliziert und dieser für 7 Tage inkubiert. Die Größe der Applikationsgefäße des Kontrollbodens entsprach dabei derjenigen des behandelten Bodens. Zur Befüllung der Testgefäße wurde an Tag 0 mittig eine Trennscheibe eingesetzt. Anschließend wurden je 250 g TG des jeweilig behandeltem Testbodens sowie des dazugehörigen Kontrollbodens in die linke bzw. rechte Kammer des Testgefäßes eingewogen. Die Höhe des eingewogenen Substrats sollte anschließend eine Höhe von 5 cm aufweisen. Da sich die Vorgaben der Richtlinie jedoch am Bodenvolumen der Kunsterde orientieren, wurde in den Tests mit den Böden Woburn und Zegveld die Bodenmenge in den einzelnen Kammern auf 200 bzw. 150 g Boden TG reduziert. Die bereits maximal 7 Tage vor Testbeginn akklimatisierten Würmer der Spezies *Eisenia andrei* stammten aus der Zucht der ECT GmbH. Die Zucht sowie der Ansatz einer Synchronisationszucht von *Eisenia andrei* entsprachen dabei den gleichen Bedingungen wie der Haltung von *Eisenia fetida*. Wie im

Reproduktionstest wurden 2 bis 12 Monate alte Würmer mit einem maximalen Altersunterschied von 4 Wochen und einem Gewicht von 300 bis 600 mg ausgewählt. Sie durften keine morphologischen Schäden (bspw. Abschnürungen) oder abnormales Verhalten (bspw. Lethargie) aufweisen. In jedes Testgefäß wurde in jeweils eine Hälfte der zu testende Boden bzw. der Kontrollboden, getrennt durch eine Plastikscheibe, eingefüllt. Anschließend wurde diese Scheibe entfernt, 10 Würmer mittig auf die Trennlinie eingesetzt und das Gefäß anschließend mit einem luft- und lichtdurchlässigen Deckel verschlossen. Der Test wurde bei 20 ± 2 °C, einem Lichtzyklus von 16:8 h (hell/dunkel) und mit 400 – 800 Lux für 2 Tage durchgeführt. Nach 48 h wurde der Test beendet, die Trennscheiben erneut mittig in die Testgefäße eingeführt und die Anzahl der Würmer in den beiden Kammern gezählt und diese Information dokumentiert. Einzelne Würmer, die bei dem Einsetzen der Trennscheiben geteilt wurden, zählten jeweils halb zur entsprechenden Kammer. Die Ergebnisse des Fluchtverhaltens wurden anschließend mit folgender Formel in Prozent umgerechnet:

$$x = \left(\frac{n_c - n_t}{N} \right) * 100$$

x = Vermeidung in Prozent

n_c = Anzahl der Würmer auf der Kontrollseite

n_t = Anzahl der Würmer auf der Prüfsubstratseite

N = Anzahl der gesamt gefundenen Würmer

Zur Sicherstellung der ausreichenden Empfindlichkeit des „Regenwurm-Fluchttests“ wurde gemäß der Richtlinie ein Referenztest mit Borsäure als Testsubstanz durchgeführt. Die EC_{50} lag dabei mit 664,7 mg As/kg Boden TG innerhalb des von der Richtlinie (ISO 17512-1 (2010)) geforderten Vertrauensbereiches. Für den Regenwurm-Fluchttest wurden folgende Validitätskriterien festgelegt:

- ▶ Die Anzahl von fehlenden oder toten Wurmern sollte < 10% sein;
- ▶ Die durchschnittliche Anzahl der Würmer in beiden Hälften der Kontrollgefäße sollte sich im Bereich von 40% zu 60% befinden.

5.1.7 Chronischer Regenwurmtest

Der Regenwurmreproduktionstest wurde entwickelt, um die Auswirkungen von Chemikalien auf die Reproduktionsfähigkeit, Mortalität, Biomasse, das Fressverhalten oder sonstige Verhaltensmerkmale von Regenwürmern zu bestimmen (ISO 2012a, OECD 2004b). Als Testorganismus wurde die Spezies *Eisenia fetida* ausgewählt. Am Teststarttag (Tag 0) wurde der Boden jeder Konzentrationsstufe zunächst mit einer Rührmaschine durchmischt und anschließend in weiße Polyethylenschalen (Maße: 9 x 14 x 7 cm, Kastelplast, 55120 Mainz) gefüllt. Die OECD Richtlinie 222 (2004b) empfiehlt, dass jedes Testgefäß bis zu einer Substrattiefe von 5-6 cm (500 bis 600 g Trockengewicht) befüllt werden sollte. Diese Füllhöhe konnte jedoch für den Boden Zegveld mit der angegebenen Bodenmenge nicht erreicht werden; d. h. das Trockengewicht wurde dementsprechend auf 300 g reduziert, somit konnte die Füllhöhe von 5 bis 6 cm eingehalten werden. Das frische Bodengewicht je Testgefäß im jeweiligen Test war abhängig von der Restfeuchte, der Wasserhaltekapazität sowie dem spezifischen Volumen und der Dichte des Testbodens. Zur Bestimmung des pH-Wertes sowie des Wassergehaltes des jeweiligen Bodens wurde des Weiteren von jeder Konzentrationsstufe eine Probe entnommen. Insgesamt wurden acht Replikate für die Kontrolle sowie vier Replikate für die jeweiligen Konzentrationsstufen vorbereitet. Um Fehler während des Testansatzes und Testverlaufs ausschließen zu können, wurde eine zusätzliche Kontrolle (mit acht Replikaten) mit Kunsterde statt dem Testboden angesetzt. Die gewählten Konzentrationsstufen (Tabelle 16) orientierten sich dabei an den zuvor durchgeführten Konzentrationsfindungstest mit den Konzentrationsstufen 0, 1, 3,16, 10, 31,6, 100, 316, 1000 mg As/kg Boden TG.

Tabelle 16: Übersicht der Konzentrationsstufen in den durchgeführten Regenwurm-Reproduktions-tests mit allen 6 Böden [mg As/kg Boden TG]

Code*	C0	KE-C0	C1	C2	C3	C4	C5	C6
LUFA 2.2	0	0	10	20	40	80	160	320
Refesol 05-G	0	0	62,5	125	250	500	1000	--
Refesol 06-A	0	0	20	40	80	160	320	--
Ter Munck	0	0	15,63	31,25	62,5	125	250	--
Woburn	0	0	31,25	62,5	125	259	500	1000
Zegveld	0	0	62,5	125	250	500	1000	--
Replikatanzahl	8	4	4	4	4	4	4	4

* Code: C = Konzentrationsstufe, C0 = Testboden Kontrolle, KE-C0 = Kunsterde-Kontrolle

Alle verwendeten Regenwürmer stammten aus der Zucht von ECT Oekotoxikologie GmbH. Sie werden permanent in transparenten Plastikkisten bei 15 – 30 °C in Dunkelheit gehalten und regelmäßig mit Kuhdung oder Haferflocken gefüttert. Als Zuchtsubstrat wird Rindenhumus verwendet. Mindestens einmal im Jahr wird ein Referenztest mit Borsäure durchgeführt. Laut Richtlinie wurden für den Test Würmer aus einer 2 bis 12 Monate alten synchronisierten Zucht verwendet, wobei sich die verwendeten Tiere für die einzelnen Tests um nicht mehr als 4 Wochen in ihrem Alter unterschieden. Alle Würmer wogen zwischen 300 und 600 mg und wiesen keine morphologischen Schäden (bspw. Abschnürungen) oder abnormales Verhalten (bspw. Lethargie) auf. Mindestens ein Tag vor Testbeginn wurden die für den Test vorgesehenen Würmer in dem jeweils zu testendem Boden akklimatisiert. Für jedes Testgefäß wurden 10 Würmer ausgewählt und vor Einsatz deren Summengewicht dokumentiert. Anschließend wurden die Testgefäße mit einem luft- und lichtdurchlässigen Deckel verschlossen. Während des Testverlaufs wurden alle Testgefäße in einem klimatisierten Raum bei 20 ± 2 °C mit einem Lichtzyklus von 16: 8 h (hell : dunkel) und einer Beleuchtungsstärke von 400 – 800 Lux gelagert. Die Temperatur wurde stündlich mit Hilfe eines Dataloggers als Mittelwert aufgezeichnet. Der Lichtrhythmus sowie die Beleuchtungsstärke wurden einmal zu Beginn des Tests überprüft. Zur Fütterung der Würmer wurde jedem Testgefäß an Tag 1 des Testes 15 g FG Kuhdung (5 g TG auf 4 mm geschredderter und getrockneter Kuhdung, 10 ml deionisiertem Wasser) hinzugefügt. Anschließend wurde das Initialgewicht der einzelnen Testgefäße dokumentiert. Im weiteren Verlauf des Tests wurden im wöchentlichen Intervall (Tag 7, 14, 21) Feuchtigkeitsverluste mit deionisiertem Wasser kompensiert und jeweils erneut je 15 g FG Kuhdung hinzugegeben. Im Falle einer verminderten Futterrate wurde die Futtermenge von 15 g FG auf 8 g FG oder 4 g FG reduziert.

An Tag 28 des Tests wurden nach Ausgleich des Feuchtigkeitsverlustes die adulten Würmer aus dem Boden entnommen, gewaschen, gezählt, gewogen und das Summengewicht aller lebenden Würmer erfasst. Des Weiteren wurden die Würmer auf morphologische Veränderungen hin untersucht und dokumentiert, ob der verbliebene Testboden Kokons oder juvenile Würmer aufwies. Daraufhin wurden unabhängig von der bisherigen Fraßrate nochmals 15 g FG Kuhdung in den Boden eingemischt und das neue Initialgewicht der Testgefäße bestimmt. In einem wöchentlichen Intervall (Tag 35, 42, 49) wurde weithin der Feuchtigkeitsverlust der Testgefäße ausgeglichen. Weitere Fütterungen wurden nicht mehr durchgeführt.

An Tag 56 des Tests wurden die Testgefäße in ein auf 55 °C aufgeheiztes Wasserbad gestellt. Dadurch sammelten sich die juvenilen Tiere an der Bodenoberfläche und konnten in eine mit Wasser gefüllte Polyethylenschale überführt werden. Die juvenilen Würmer wurden gezählt und auf morphologische Veränderungen hin untersucht. Für jede Konzentrationsstufe wurde erneut eine Probe zur Bestimmung des pH-Wertes und des Feuchtegehalts des Bodens entnommen. Um die Validität des

Regenwurm-Reproduktionstest zu erfüllen müssen folgende Kriterien, jeweils in der unbehandelten Kontrolle, erfüllt sein:

- ▶ Die Mortalitätsrate an Tag 28 muss $\leq 10\%$ sein.
- ▶ Die durchschnittliche Anzahl juveniler Würmer muss ≥ 30 sein.
- ▶ Der Variationskoeffizient der Anzahl juveniler Würmer muss $\leq 30\%$ sein.

5.1.8 Chronischer Collembolentest

Dieser Test (ISO 11267 (2014), OECD 232 (2009)) wurde entwickelt, um die Auswirkungen von Chemikalien auf die Reproduktion und die Mortalität dieser Tiere zu erfassen. Als Testspezies wurde *Folsomia candida* eingesetzt. An Tag 0 wurde der inkubierte Boden jeder Konzentrationsstufe nochmals mit einem Handmixer durchmischt. Anschließend wurden 30 g TG des Bodens in runde Glasgefäße (Volumen: 180 ml Durchmesser: 4 cm) gefüllt. Das tatsächliche aktuelle Frischgewicht im jeweiligen Test war abhängig von der Restfeuchte, der Wasserhaltekapazität sowie dem spezifischen Volumen und der Dichte des Testbodens. Zur Bestimmung des pH-Wertes sowie des Wassergehaltes des jeweiligen Bodens wurde des Weiteren von jeder Konzentrationsstufe eine Probe entnommen. Insgesamt wurden acht Replikate für die Kontrolle sowie vier Replikate für die jeweiligen Konzentrationsstufen vorbereitet. Um Fehler während des Testansatzes und -verlaufs auszuschließen wurde eine weitere Kontrolle mit Kunsterde angesetzt. Die gewählten Konzentrationsstufen (Tabelle 17) orientierten sich dabei an dem zuvor durchgeführten Konzentrationsfindungstest (Konzentrationsstufen: 0,1, 1, 10, 100, 1000 mg As/kg Boden TG).

Tabelle 17: Übersicht der getesteten Konzentrationsstufen in den durchgeführten Collembolen-Reproduktionstests mit allen 6 Böden [mg As/kg Boden TG]

Code*	C0	KE-C0	C1	C2	C3	C4	C5	C6
LUFA 2.2	0	0	5,6	10	17,8	31,6	56,2	100
Refesol 05-G	0	0	100	178	316	562	1000	--
Refesol 06-A	0	0	100	178	316	562	1000	--
Ter Munck	0	0	10	17,8	31,6	56,2	100	--
Woburn	0	0	100	178	316	562	1000	--
Zegveld	0	0	100	178	316	562	1000	--
Replikatanzahl	8	4	4	4	4	4	4	4

* Code: C = Konzentrationsstufe, C0 = Testboden Kontrolle, KE-C0 = Kunsterde-Kontrolle

Alle verwendeten Collembolen stammten aus der Zucht von ECT Oekotoxikologie GmbH und werden permanent in mit „Plaster of Paris“ (Aktivkohle-Gips-Gemisch) befüllten Plastikschaalen bei einer Temperatur von $20 \pm 4^\circ\text{C}$ im Dunkeln gehalten. Die Tiere werden regelmäßig mit Trockenhefe gefüttert, und mindestens einmal im Jahr wird ein Referenztest mit Borsäure durchgeführt. Laut der Richtlinie wurden für den Test 9 bis 12 Tage alte Collembolen aus einer synchronisierten Zucht verwendet. Für die einzelnen Tests wurden an Tag 0 pro Testgefäß jeweils 10 Collembolen desselben Alters eingesetzt und mit 8 – 10 mg Trockenhefe gefüttert. Zur Gewährleistung des Luftaustausches wurden die Testgefäße mit einem perforierten Parafilm verschlossen. Anschließend wurde das Initialgewicht der einzelnen Testgefäße erfasst. Während des Testverlaufs wurden alle Testgefäße in einem klimatisierten Raum bei $20 \pm 2^\circ\text{C}$ mit einem Lichtzyklus von 16: 8 h (hell : dunkel) und einer Beleuchtungsstärke von 400 – 800 Lux gelagert. Die Temperatur wurde mit Hilfe eines Dataloggers einmal pro Stunde als Mittelwert aufgezeichnet. Der Lichtrhythmus sowie die Beleuchtungsstärke wurden einmal zu Beginn des Tests überprüft.

Während des Testverlaufs wurde in einem wöchentlichen Intervall (Tag 7, 14, 21) der Feuchtigkeitsverlust dokumentiert und, wenn nötig, ausgeglichen. An Tag 14 wurden weitere 8 – 10 mg Trockenhefe gefüttert. Zum Testende an Tag 28 wurde das Testgefäß mit Wasser befüllt und der Inhalt in eine Kristallisierschale überführt. Unter vorsichtigem Rühren wurden daraufhin mehrere Tropfen Tinte der Suspension beigelegt und diese anschließend zur Immobilisierung der Collembolen für mehrere Minuten in einen Tiefkühlschrank gestellt. Durch den Auftrieb schwimmen sie auf der Wasseroberfläche und die jeweilige Anzahl adulter sowie juveniler Tiere konnte quantifiziert werden. Fehlende adulte Tiere wurden, da sie im Boden schnell abgebaut werden, als abgestorben dokumentiert. Um die Validität dieser Testergebnisse zu gewährleisten, müssen folgende Kriterien in der unbehandelten Kontrolle erfüllt sein:

- ▶ Die Mortalitätsrate muss am Ende des Tests $\leq 20\%$ sein;
- ▶ Die durchschnittliche Anzahl juveniler Collembolen muss ≥ 100 sein;
- ▶ Der Variationskoeffizient der Anzahl juveniler Collembolen muss $\leq 30\%$ sein.

5.2 Erfüllung der Validitätskriterien in allen Tests mit Arsen

Die abschließenden Bakterienkontakttests aller Böden entsprachen den geforderten Validitätskriterien der entsprechenden Test-Richtlinie (Tabelle 8). Die Negativkontrolle sollte einen Variationskoeffizient (CV) $\leq 15\%$ aufweisen, es musste eine 5-fache Zunahme der Fluoreszenz zwischen den Zeitpunkten 0 bis 60 min. festgestellt werden und die Positivkontrolle sollte eine Hemmung zwischen $\geq 30\%$ und $\leq 80\%$ aufweisen (Tabelle 18).

Die LUFA 2.2 und Refesol 06-A Tests wurden einmalig wiederholt, da die statistische Auswertung aufgrund der gewählten Testkonzentrationen von 1000 bis 10000 mg a.s./kg Boden TG (genaue Angaben s. Rohdaten) nicht optimal war: Effektkonzentrationen hätten extrapoliert werden müssen. Daher wurden die Tests mit anderen Konzentrationen wiederholt. Für die Wiederholung der Tests wurde ein niedrigerer Konzentrationsbereich von 30 bis 3000 mg a.s./kg Boden TG bestimmt (vgl. Tabelle 10). Die Tests im LUFA 2.2, Refesol 05-G, Refesol 06-A und Woburn Boden wurden einmalig wiederholt, da in allen dieser Versuche keine Effekte beobachtet werden konnten.

Tabelle 18: Nachweis der erfüllten Validitätskriterien nach ISO 18187 (2016a) für den Bakterienkontakttest mit *Arthrobacter globiformis* für alle sechs Böden

Boden	CV [%]* ¹	5-fache Zunahme* ¹	Hemmung [%]* ²
LUFA 2.2	6,77	Ja	60,32
Refesol 05-G	7,99	Ja	60,32
Refesol 06-A	3,44	Ja	60,32
Ter Munck	12,65	Ja	65,90
Woburn	3,87	Ja	65,05
Zegveld	4,50	Ja	65,90

*Soll-Werte: Negativkontrolle = Variationskoeffizient (CV) $\leq 15\%$, 5-fache Zunahme der Fluoreszenz zwischen Zeitpunkt 0 bis 60 min, Positivkontrolle: Hemmung zwischen $\geq 30\%$ und $\leq 80\%$. 1) Negativkontrolle. 2) Positivkontrolle

Die abschließenden Stickstoffmineralisierungs- und Nitrifizierungstests mit allen Böden entsprachen den geforderten Validitätskriterien der entsprechenden Richtlinie (OECD 216 (2000a), s. Kapitel 5.1.3): der Variationskoeffizient der einzelnen Replikate der Kontrolle war $\leq 15\%$ (Tabelle 19).

Tabelle 19: Nachweis der erfüllten Validitätskriterien nach OECD 216 (OECD 2000a) des Stickstoffmineralisierungs- und Nitrifizierungstests für alle sechs Böden

Boden	CV [%]*
LUFA 2.2	2,6
Refesol 05-G	0,7
Refesol 06-A	1,3
Ter Munck	2,0
Woburn	0,8
Zegveld	5,2

*Soll-Werte der Kontrolle: CV ≤ 15%

Alle Ergebnisse dieser einmalig durchgeführten Wurzellängentests entsprachen den Anforderungen (Tabelle 20). Der ermittelte Vertrauensbereich (Mittelwert ± 2s) der Sand-Kontrollen aller drei Tests mit LUFA 2.2, Refesol 05-G und Refesol 06-A betrug 103,2 – 211,7 mm. Alle Tests wurden einmal durchgeführt. Eine Pflanze der Sandkontrolle des Tests mit LUFA 2.2 wurde jedoch von der weiteren Auswertung ausgeschlossen, da die Wurzel bei der Entnahme aus den Testgefäßen abbriss.

Tabelle 20: Nachweis der erfüllten Validitätskriterien nach ISO 11269-1 (2012b) für den Wurzellängentest für die Böden LUFA 2.2, Refesol 05-G und Refesol 06-A

Boden	CV [%]*	Längste Wurzel [mm]*
LUFA 2.2	16,1	180
Refesol 05-G	13,9	170
Refesol 06-A	12,0	205

*Soll-Werte: Variationskoeffizient (CV) der Sandkontrolle: ≤ 20%, Länge der längsten Wurzel im Bereich des für alle Tests ermittelten Mittelwert ± 2 s.

Alle Ergebnisse der durchgeführten Saataufauftest mit *A. sativa* und *S. lycopersicum* erfüllten die Validitätskriterien nach ISO 11269-2 (2004b). In allen durchgeführten Tests konnte eine Auflauftrate, die größer oder gleich 70% betrug, beobachtet werden. Es konnten keine phytotoxischen Schäden in den Kontrollpflanzen festgestellt werden, die auf den Eintrag der Testsubstanz zurück zu führen sind und mindestens 90% der aufgelaufene Kontrollpflanzen haben bis zum Testende überlebt (Tabelle 21 und Tabelle 22).

Tabelle 21: Nachweis der erfüllten Validitätskriterien nach ISO 11269-2 (2012c) für den Saataufauftest mit *Avena sativa* für alle sechs Böden

Boden	Aufgelaufene Pflanzen [%]*	Lebende Pflanzen [%]*
LUFA 2.2	100	100
Refesol 05-G	100	100
Refesol 06-A	100	100
Ter Munck	100	100
Woburn	87,5	100
Zegveld	90	100

*Soll-Werte der Kontrolle: Anzahl aufgelaufener ≥ 70%, Anzahl lebender Pflanzen ≥ 90%

Tabelle 22: Nachweis der erfüllten Validitätskriterien nach 11269-2 (2012c) für den Saatenauflauf-test mit *Solanum lycopersicum* für alle sechs Böden

Boden	Aufgelaufene Pflanzen [%]*	Lebende Pflanzen [%]*
LUFA 2.2	100	100
Refesol 05-G	100	95
Refesol 06-A	100	100
Ter Munck	100	100
Woburn	70	100
Zegveld	100	100

*Soll-Werte der Kontrolle: Anzahl aufgelaufener $\geq 70\%$, Anzahl lebender Pflanzen $\geq 90\%$

Die Regenwurmfluchttests mit allen Böden entsprachen den von der Richtlinie geforderten Validitätskriterien (Tabelle 23). Drei Tests (LUFA 2.2, Refesol 05-G und Zegveld) wurden je zweimal durchgeführt aufgrund ungleichmäßiger Verteilung der Würmer in den Kontrollen.

Tabelle 23: Nachweis der erfüllten Validitätskriterien nach 11269-2 (2012c) des Regenwurm-Fluchttests mit *Eisenia andrei* für alle sechs Böden

Boden	Tote/fehlende Würmer [%]*	Verhältnis Würmer [%]*
LUFA 2.2	0,0	50,0
Refesol 05-G	0,0	48,0
Refesol 06-A	0,0	44,0
Ter Munck	0,0	49,0
Woburn	0,0	56,0
Zegveld	0,0	42,0

*Soll-Werte: tote/fehlende Würmer in Kontrolle $\leq 10\%$, durchschnittliches Verhältnis der Würmer in Kontrolle = 40% bis 60%

Alle Regenwurm-Reproduktionstests mit den verschiedenen Böden erfüllten die von der Richtlinie geforderten Validitätskriterien (Tabelle 24). Die Tests wurden in den Böden Refesol 05-G, Refesol 06-A, Ter Munck, Woburn und Zegveld einmal durchgeführt. Im Boden LUFA 2.2 wurde der Test aufgrund laborinterner Zuchtprobleme viermal wiederholt, bis die Ergebnisse der Kontrolle den geforderten Validitätskriterien entsprachen.

Tabelle 24: Nachweis der erfüllten Validitätskriterien nach ISO 11268-2 (2012a) des Regenwurmreproduktionstests für alle sechs Böden

Boden	Mortalität [%]*	Anzahl Juvenile [MW]*	CV [%]*
LUFA 2.2	1,2	420,3	12,3
Refesol 05-G	0,0	293,3	8,6
Refesol 06-A	1,3	314,4	8,9
Ter Munck	1,3	143,5	22,4
Woburn	3,8	205,5	21,6
Zegveld	8,8	128,9	15,7

*Soll-Werte der Kontrolle: Mortalität $\leq 10\%$, Mittelwert Anzahl Juvenile ≥ 30 , CV $\leq 30\%$

Die Collembolen-Reproduktionstests mit den Böden LUFA 2.2, Refesol 05-G, Refesol 06-A und Woburn entsprachen den geforderten Validitätskriterien der Richtlinie (Tabelle 25). Der Test mit Woburn-Böden wurde aufgrund eines zu hohen Variationskoeffizienten in der Kontrolle dreimal wiederholt. Die Tests mit LUFA 2.2 sowie den beiden anderen Refesol-Böden wurden nur einmal durchgeführt. Für die Böden Ter Munck sowie Zegveld konnten die Validitätskriterien der Richtlinie nur zum Teil erfüllt werden. Der CV-Wert lag bei beiden dieser Tests mit 40,7% (Ter Munck) und 55,2% (Zegveld) deutlich über den maximalen angegebenen Wert von 30%. Des Weiterem lag die Mortalitätsrate im Ter Munck Boden bei 85% und lag somit deutlich über den maximalen Wert von 20%.

Tabelle 25: Nachweis der erfüllten Validitätskriterien nach ISO 11268-2 (2012a) des Collembolen-Reproduktionstest für alle sechs Böden

Boden	Mortalität [%]*	Anzahl Juvenile [MW]*	CV [%]*
LUFA 2.2	13,8	385,3	17,0
Refesol 05-G	6,3	509,3	27,7
Refesol 06-A	5,0	582,9	22,9
Ter Munck ¹	85,0**	175,5	40,7**
Woburn	13,8	391,0	29,5
Zegveld ²	10,0	286,0	55,2**

*Soll-Werte der Kontrolle: Mortalität $\leq 20\%$, Mittelwert Anzahl Juvenile ≥ 100 , CV $\leq 30\%$; ** Werte die die Validitätskriterien nicht einhalten; 1) Zegveld Kunsterde-Kontrolle: Mortalität: 5%, Anzahl Juvenile: 484,3, CV: 20,1%; 2) Ter Munck Kunsterde-Kontrolle: Mortalität: 5%, Anzahl Juvenile: 316,0, CV: 8,2%

Der Collembolen-Reproduktionstest im Zegveld Boden wurde dreimal wiederholt, im Ter Munck Boden wurde der Test viermal wiederholt. Um Probleme mit der eigenen Zucht oder Fehler in der Durchführung des Tests auszuschließen wurde jeweils eine Kunsterde-Kontrolle mit vier Replikaten angesetzt. Die Ergebnisse der Kunsterde-Kontrolle erfüllten sämtliche Validitätskriterien (Tabelle 25) und deuten darauf hin, dass der Test angemessen durchgeführt wurde und die Empfindlichkeit der verwendeten Tiere angemessen war. Eine falsche Durchführung oder Probleme mit der Haltung konnten somit ausgeschlossen werden. Daher sollte die Eignung von Ter Munck und Zegveld Boden für die Durchführung von Collembolen-Reproduktionstest in Frage gestellt werden.

5.3 Statistische Auswertung der ökotoxikologischen Tests mit Arsen

Die statistische Auswertung aller Tests erfolgte mit dem Programm ToxRat © Version 2.10 und 3.2.1. Für die Berechnung der NOEC/LOEC-Werte wurden die Datensätze auf Normalverteilung und Varianzhomogenität überprüft. Normalverteilung mit dem Kolmogorov-Smirnov- oder Shapiro-Wilk-Test und die Varianzhomogenität mit dem Leven- oder Cochran-Test. Wenn Normalverteilung und Varianzhomogenität bestätigt wurden und die Dosis-Wirkungsbeziehung monoton war, wurde ein einseitiger parametrischer Williams' Multiple Sequential t-Test durchgeführt, bei Ablehnung der Varianzhomogenität wurde stattdessen ein einseitiger Welch's t-Test durchgeführt. Im Falle von Normalverteilten und Varianzhomogenen Daten, aber mit einer nicht-monotonen Dosis-Wirkungsbeziehung, wurde ein Dunnett's t-Test durchgeführt. Wenn die Normalverteilung nicht bestätigt werden konnte, wurde in Abhängigkeit von der Varianzhomogenität und der Monotonie der Dosis-Wirkungsbeziehung, ein Jonckheere-Terpstra-Test, Bonferroni-U-Test oder Bonferroni-Median-Test durchgeführt. Der Signifikanzlevel war $\alpha = 0,05$ für alle Tests. Für die Berechnung von EC_x Werten wurden sowohl lineare als auch nicht lineare Regressionsmodelle verwendet. Das Modell mit der besten Anpassungsgüte an unsere Rohdaten wurde für die Berechnung der EC_x Werte herangenommen. Einerseits beeinflussten die Anpassungsgütewerte wie r^2 , AIC, χ^2 die Entscheidung, zusätzlich wurde mit ToxRat ein Overall-F-Test durchgeführt, um die Gesamtsignifikanz eines Modells zu überprüfen. Der Overall-F-Test bestimmt, ob eine Dosis-Wirkungsbeziehung statistisch signifikant ist.

Konform mit dem Ziel des Projekts, der Ableitung von vorsorgeorientierten Bodenwerten für Bodenorganismen, wurde bei der Wahl der Wirkwerte für die weitere Auswertung ein konservativer Ansatz als angemessen erachtet. EC_{10} -Werte sind generell durch eine höhere statistische Unsicherheit gekennzeichnet als EC_{50} -Werte (Römbke et al., 2006). Wie jedoch bereits erwähnt, sollte die Wahl der Eingangsdaten auch dem angestrebten Schutzniveau entsprechen. Andererseits ist es problematisch, NOEC- oder LOEC-Werte als Grundlage für die weitere Auswertung zu wählen. NOEC- und LOEC-Werte repräsentieren definitionsgemäß eine der getesteten Konzentrationen, so dass je nach Wahl derselben eine Über- oder Unterschätzung der Toxizität erfolgen. Darüber hinaus wurden für die NOEC-Daten zur Bioverfügbarkeit von Kupferstudien schlechte Korrelationen zwischen Toxizitätsschwellenwerten und Bodeneigenschaften beobachtet (Rooney et al., 2006). Daher wurden für die Ableitung von vorsorge- bzw. nachsorgeorientierten Bodenwerten die EC_{10} - bzw. EC_{50} -Werte aus den ökotoxikologischen Tests herangezogen. Die Ermittlung von Regressionen zwischen der Toxizität von Arsen und einzelnen Bodeneigenschaften wurde hingegen aufgrund der höheren statistischen Belastbarkeit bevorzugt anhand der EC_{50} -Werte durchgeführt.

6 Ergebnisse der ökotoxikologischen Tests mit Arsen

In diesem Kapitel erfolgt in einem ersten Schritt die Darstellung der experimentell erarbeiteten Daten. Die Ergebnisse der Tests mit Kupfer und Nickel (Feststoffkontakttest und Regenwurm-Fluchttest) sind im Anhang zu diesem Bericht aufgeführt (Kap. 12.4 und 12.9). Im Einzelnen handelt es dabei um:

- ▶ NOEC/LOEC und EC_x-Werte (primär: EC₁₀, EC₅₀) wurden berechnet, wobei die Toxizitätswerte fast ausschließlich aus den in diesem Projekt durchgeführten Tests stammen. So wurden von allen mit Arsen durchgeführten Tests (Haupttests = 48) alle für die Auswertung verwendeten Daten mit Ausnahme von drei Datensätzen zum Wurzellängentest in diesem Vorhaben generiert (Song et al. 2006). Diese drei Datensätze konnten der Literatur entnommen werden, da sie mit den gleichen (belgischen bzw. englischen) Böden, anhand der gleichen Richtlinien und der identischen Testsubstanz durchgeführt wurden wie in diesem Vorhaben.
- ▶ Die Exposition (d. h. die Konzentration von Arsen) wird in Abhängigkeit vom verwendeten Extraktionsverfahren dargestellt.
- ▶ Die unterschiedlichen NOEC/LOEC und EC_x-Werte für die einzelnen Arten bzw. Endpunkte werden in Abhängigkeit von den verwendeten Böden diskutiert.
- ▶ Einzelne NOEC-Werte lagen unterhalb der niedrigsten getesteten Konzentration, da bereits dort statistisch signifikante Effekte auftraten. Umgekehrt lagen einige LOEC-Werte oberhalb der höchsten Testkonzentration. Die NOEC/LOEC-Werte wurden jedoch nur der Vollständigkeit halber aufgeführt und aufgrund ihrer im Vergleich zu EC_x-Werten geringeren statistischen Belastbarkeit (siehe Kap. 5.3) nicht für die weitere Auswertung und die Ableitung von Bodenwerten herangezogen.
- ▶ EC_x-Werte, die außerhalb der getesteten Konzentrationen lagen, mussten extrapoliert werden. Diese sind im Vergleich zu intrapolierten Werten weniger aussagekräftig. Daher werden extrapolierte Werte im folgenden Kapitel in Klammern angegeben. Für die weitere Auswertung wurden diese nicht weiter berücksichtigt.

6.1 Ergebnisse der Tests mit dem Boden LUFA 2.2

Der LUFA 2.2 Standardboden ist ein sandiger Ackerboden mit neutralem pH und niedrigem C_{org}-Gehalt. Der niedrigste NOEC ist 9,0 mg As/kg Boden TG (*A. sativa*, *S. lycopersicum*) und der höchste NOEC lag bei 40 mg As/kg Boden TG (Regenwurm-Reproduktionstest und Wurzellängentest) (Tabelle 26; Abbildung 4 bis Abbildung 11). Im Stickstoffmineralisierungstest konnte keine NOEC bestimmt werden, da ein Effekt bereits in der ersten getesteten Konzentrationsstufe von 20 mg As/kg Boden TG beobachtet wurde. Dies ist insbesondere im Hinblick darauf, dass im ersten Testlauf, bei Einhaltung der Validitätskriterien, keine Effekte zu beobachten waren widersprüchlich. Da auch in vier weiteren Böden keine Effekte zu beobachten waren wurde der Test nicht wiederholt.

Der niedrigste errechnete EC₁₀-Wert betrug 4,47 mg As/kg Boden TG (Regenwurm-Fluchttest) wobei dieser sich unterhalb der niedrigsten getesteten Konzentration von 10 mg As/kg Boden TG befand. Daher wurde dieser Wert extrapoliert, wodurch seine statistische Aussagekraft vermindert war. Des Weiteren wurde erst ab einer Konzentration von 100 mg As/kg Boden TG (LOEC) ein signifikanter Unterschied zur Kontrolle festgestellt. Die Belastbarkeit dieses EC₁₀ Werts war somit fraglich; daher wurde er für die weitere Auswertung nicht weiter berücksichtigt. Dies gilt analog auch für den extrapolierten EC₁₀-Wert von 13,4 mg As/kg Boden TG im Bakterienkontakttest, in dem erst ab einer Konzentration von 95 mg As/kg Boden TG (LOEC) ein signifikanter Unterschied zur Kontrolle festgestellt wurde.

Der niedrigste aussagekräftige EC₁₀-Wert betrug 6,93 mg As/kg Boden TG (*S. lycopersicum* im Saatenauflaufstest). Der niedrigste EC₅₀-Wert war 41,4 mg As/kg Boden TG für *A. sativa* und *S. lycopersicum* im

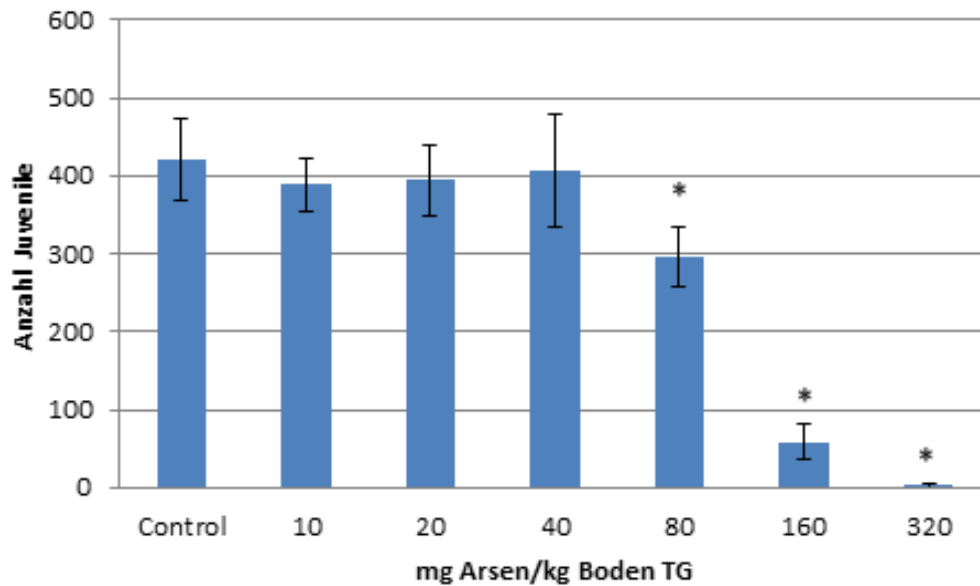
Saatenauflauftest. Die höchsten errechneten EC₁₀-und EC₅₀-Werte lagen bei 60,4 (Regenwurm-Reproduktionstest) bzw. 855,2 mg As/kg Boden TG (Stickstoffmineralisierungstest).

Tabelle 26: Ermittelte NOEC- und ECx-Werte [mg As/kg Boden TG] aller Testsysteme getestet im LUFA 2.2 Boden. Extrapolierte Werte sind in Klammern angegeben; diese Werte wurden bei der weiteren Auswertung nicht berücksichtigt

	NOEC	LOEC	EC ₁₀ (Unterer 95% KI - Oberer 95% KI)	EC ₅₀ (Unterer 95% KI -Oberer 95% KI)
Regenwurm-Reproduktionstest	40,0	80,0	60,4 (48,2-75,8)	102,9 (78,3-134,3)
Collembolen-Reproduktionstest	31,6	56,2	32,2 (0,03-42,9)	51,0 (22,7-80,9)
Saatenauflauf – <i>A. sativa</i>	9,0	27,0	18,4 (14,8-21,5)	41,4 (37,3-46,1)
Saatenauflauf – <i>S. lycopersicum</i>	9,0	27,0	6,93 (1,2-13,8)	41,4 (24,6-70,4)
Wurzellängentest	40,0	80,0	46,2 (32,3-57,7)	156,4 (133,8-180,9)
Bakterienkontakttest	30,0	95,0	(13,4) (8,2-25,1)	367,9 (270,8-482,9)
Stickstoffmineralisierung	<20,0 *	20,0 *	n.b.	855,2 (443,3-2328,9)
Regenwurm-Fluchttest	31,6	100	(4,47) (n.b.)	453,1 (n.b.)

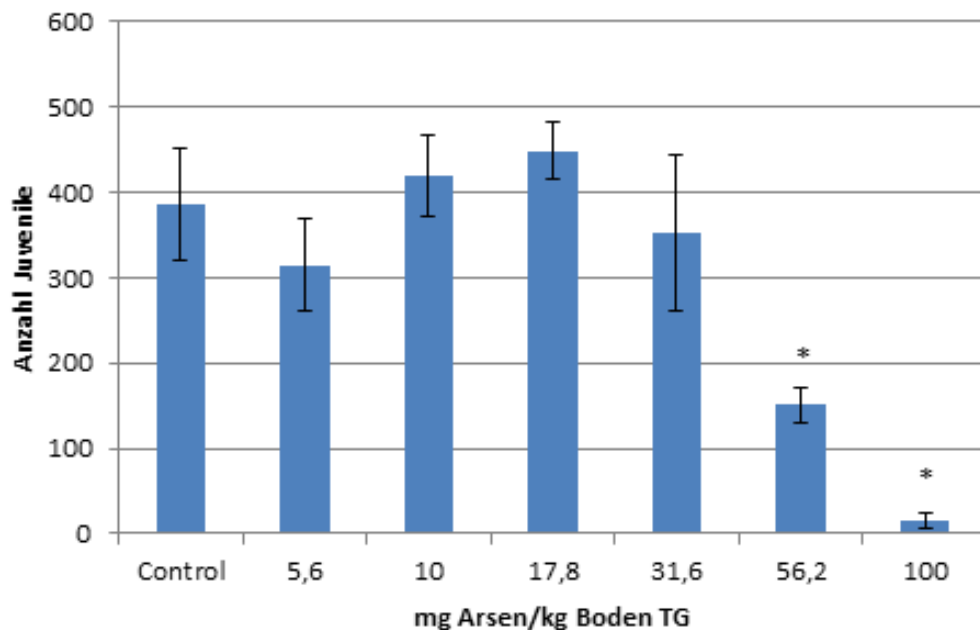
n.b. = Nicht bestimmbar; * problematische Werte, da Wirkungen schon in der niedrigsten Konz. (s.o.)

Abbildung 4: Ergebnis des Regenwurm-Reproduktionstests mit Arsen im Boden LUFA 2.2. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



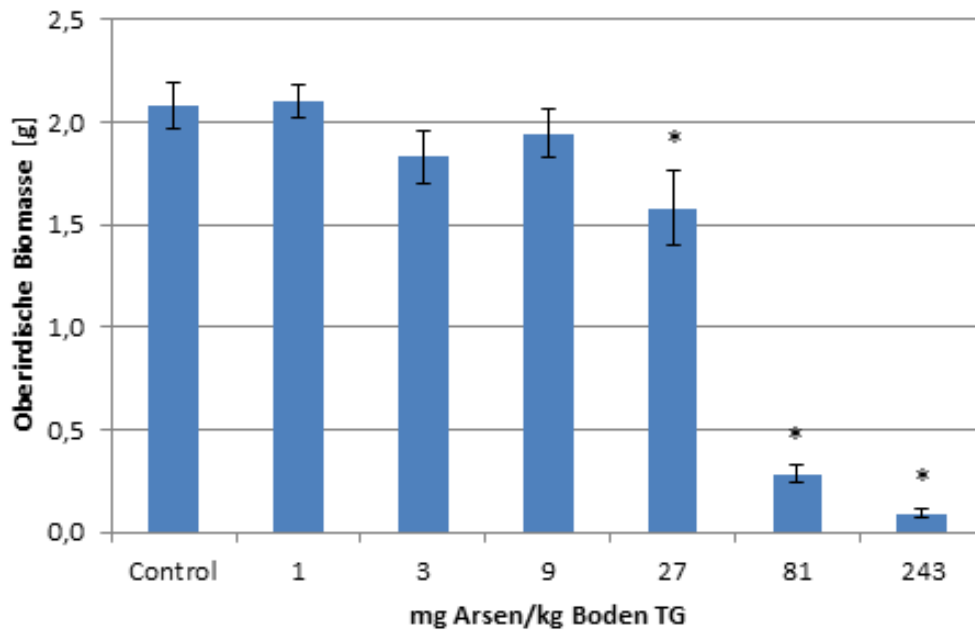
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 5: Ergebnis des Collembolen-Reproduktionstests mit Arsen im Boden LUFA 2.2. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



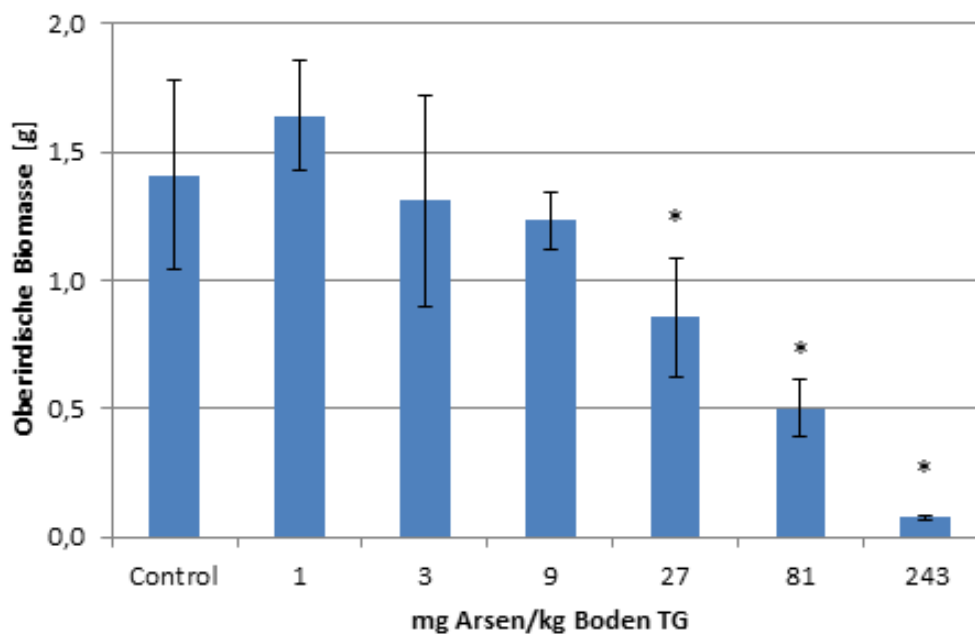
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 6: Ergebnis des Saatenauflauftests (*A. sativa*) mit Arsen im Boden LUFA 2.2. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



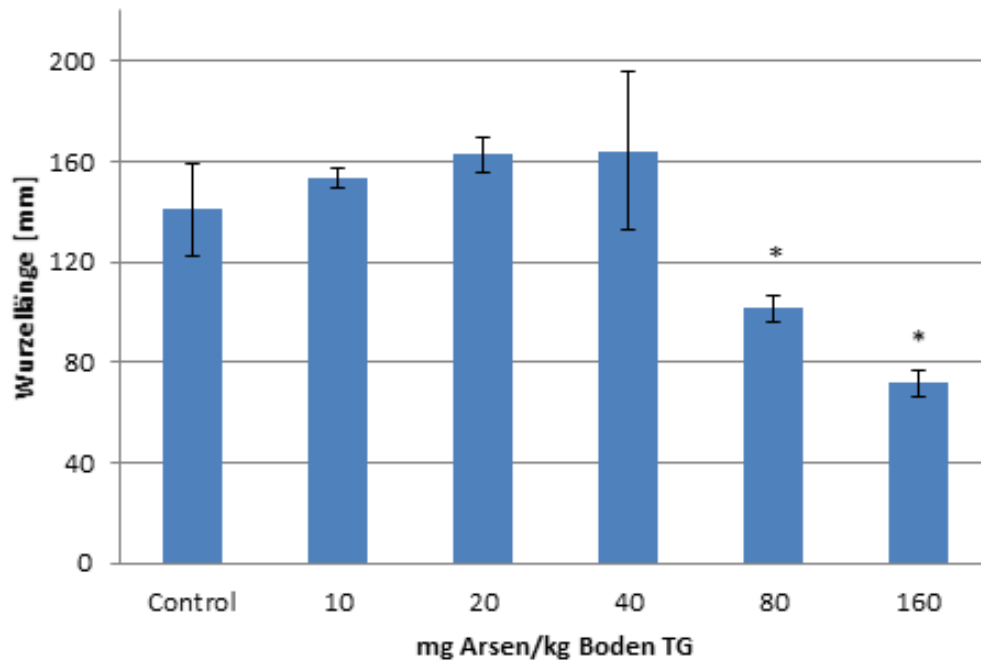
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 7: Ergebnis des Saatenauflauftests (*S. lycopersicum*) mit Arsen im Boden LUFA 2.2. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



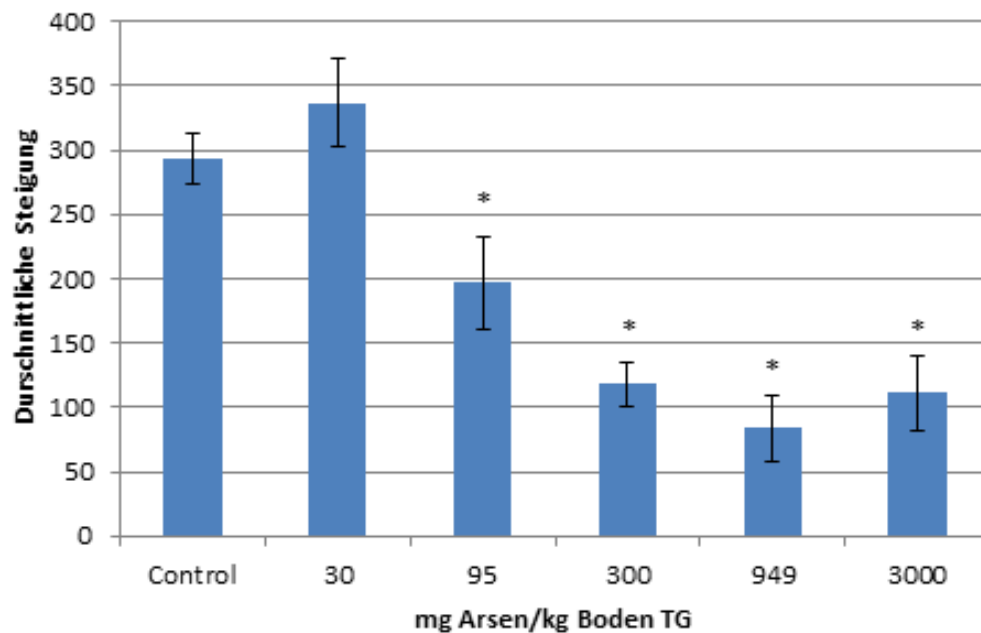
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 8: Ergebnis des Wurzellängentests mit Arsen im Boden LUFA 2.2. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



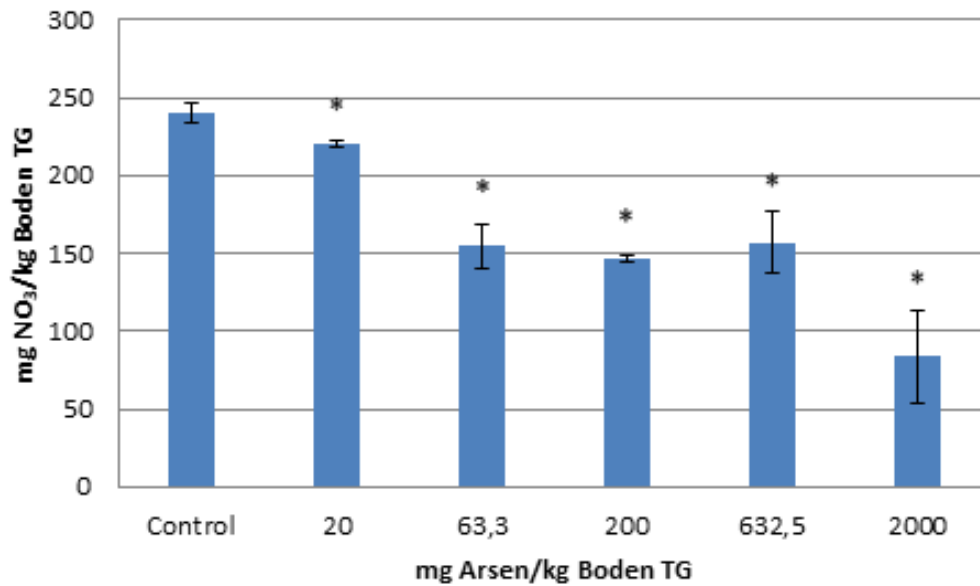
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 9: Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Arsen im Boden LUFA 2.2. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



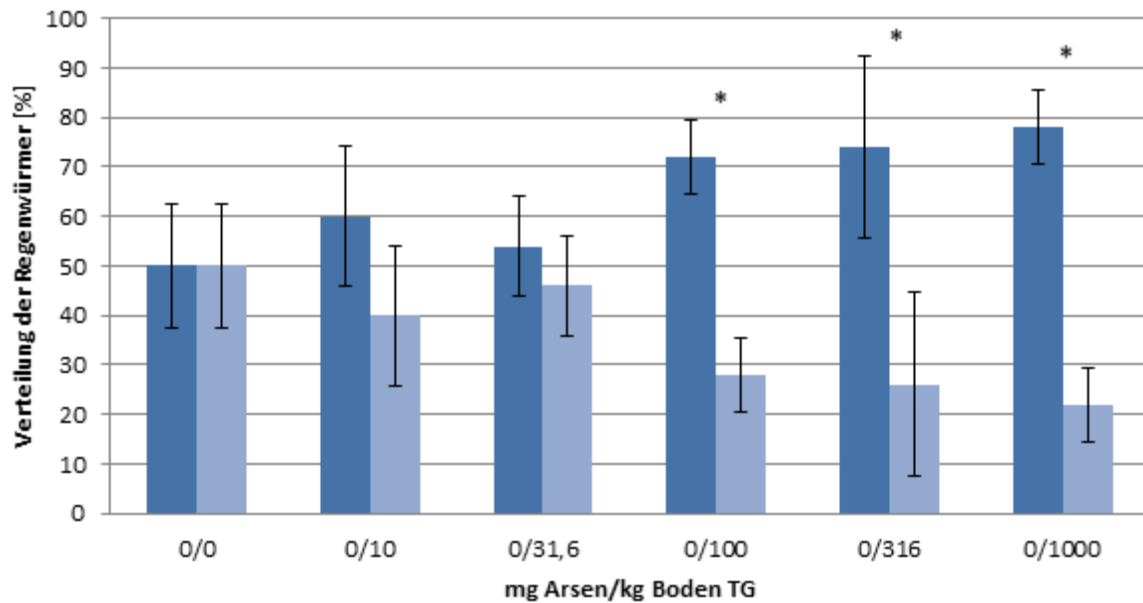
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 10: Ergebnis des Stickstoffmineralisierungstests mit Arsen im Boden LUFA 2.2. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 11: Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Arsen im Boden LUFA 2.2. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

6.2 Ergebnisse der Tests mit dem Boden Refesol 05-G

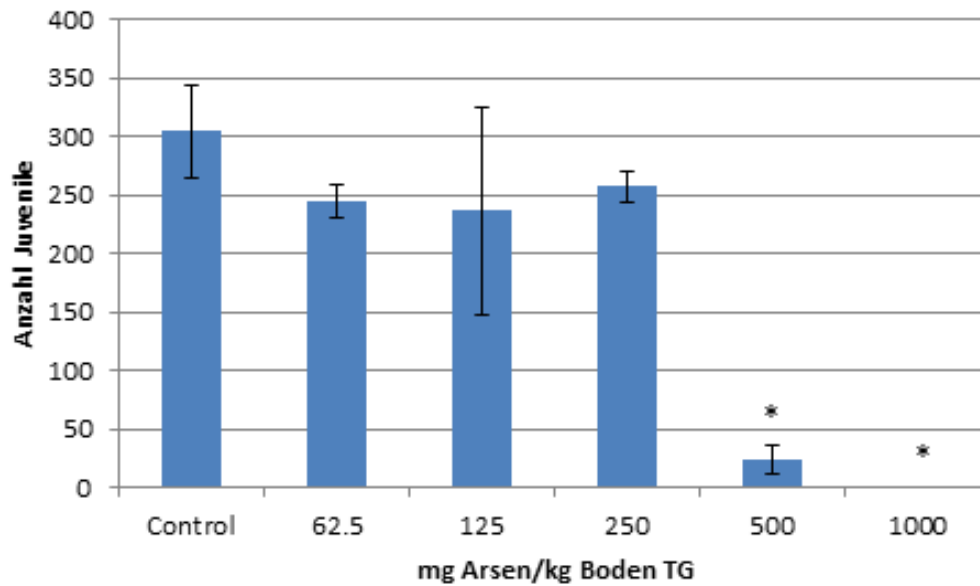
Dies ist ein leicht saurer Grasland-Boden mit einem niedrigen C_{org} -Gehalt sowie jeweils ähnlichen Sand-, Schluff- und Tongehalten. Der niedrigste NOEC betrug 15,6 mg As/kg Boden TG für *Avena sativa* und *Solanum lycopersicum* (Tabelle 27; Abbildung 12 bis Abbildung 19). Der höchste bestimmte NOEC lag bei 250 mg As/kg Boden TG und wurde im Regenwurm-Reproduktionstest ermittelt. Dieser wies auch den höchsten EC_{10} - und EC_{50} -Wert von 413,1 bzw. 453,6 mg As/kg Boden TG auf. Der niedrigste EC_{10} - sowie EC_{50} -Wert betrug 22,1 (Regenwurm-Fluchttest) bzw. 70,3 mg As/kg Boden TG (*A. sativa*). In den Stickstoffmineralisierungstests wurden auch bei der höchsten eingesetzten Testkonzentration keine Effekte beobachtet.

Tabelle 27: Ermittelte NOEC- und ECx-Werte [mg As/kg Boden TG] aller Testsysteme getestet im Refesol 05-G Boden

	NOEC	LOEC	EC_{10} (Unterer 95% KI - Oberer 95% KI)	EC_{50} (Unterer 95% KI - Oberer 95% KI)
Regenwurm-Reproduktionstest	250,0	500,0	413,1 (n.b.)	453,6 (n.b.)
Collembolen-Reproduktionstest	178,0	316,0	129,4 (n.b.)	285,0 (n.b.)
Saatenauflauf – <i>A. sativa</i>	15,6	31,3	32,7 (26,4 - 38,0)	70,3 (64,4-76,9)
Saatenauflauf – <i>S. lycopersicum</i>	15,6	31,3	28,3 (16,6 - 38,8)	97,5 (80,6-118,8)
Wurzellängentest	62,5	125,0	85,1 (68,2 - 98,8)	176,8 (162,3-193,0)
Bakterienkontakttest	95,0	300,0	103,5 (1,3 - 223,3)	431,9 (177,7-1054,7)
Stickstoffmineralisierung	≥1000	>1000	n.b.	n.b.
Regenwurm-Fluchttest	100,0	316,0	22,1 (0,56 - 862,9)	297,8 (60,3 - 1471,3)

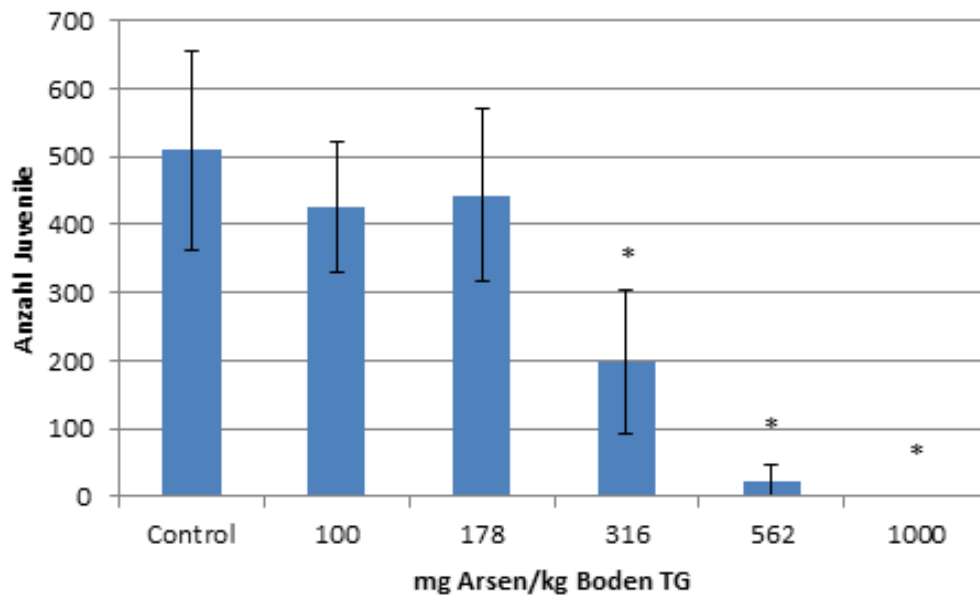
n.b. = Nicht bestimmbar

Abbildung 12: Ergebnis des Regenwurm-Reproduktionstests mit Arsen im Boden Refesol 05-G. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



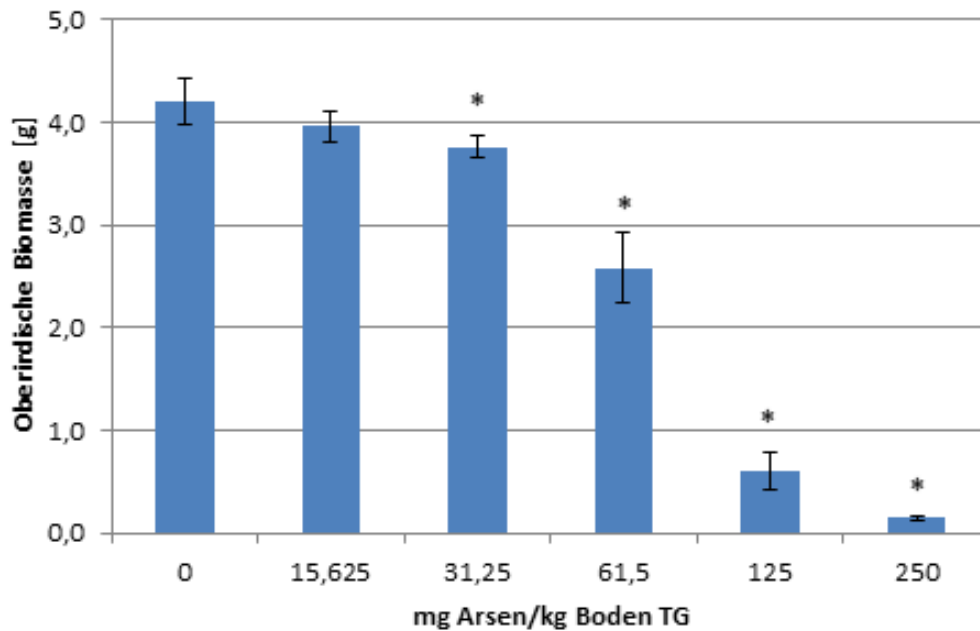
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 13: Ergebnis des Collembolen-Reproduktionstests mit Arsen im Boden Refesol 05-G. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



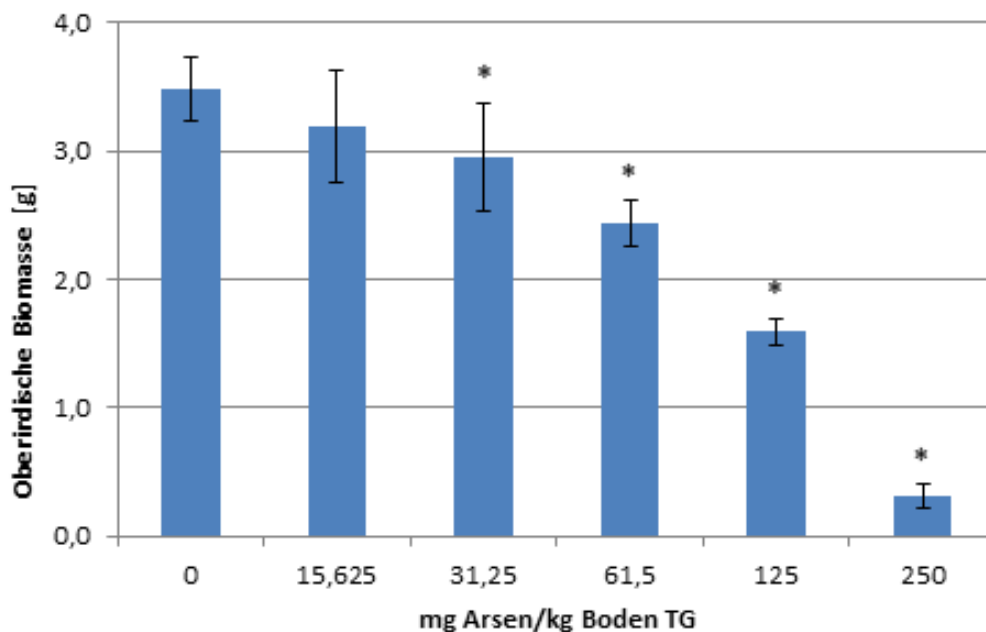
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 14: Ergebnis des Saatenauflauftests (*A. sativa*) mit Arsen im Boden Refesol 05-G. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



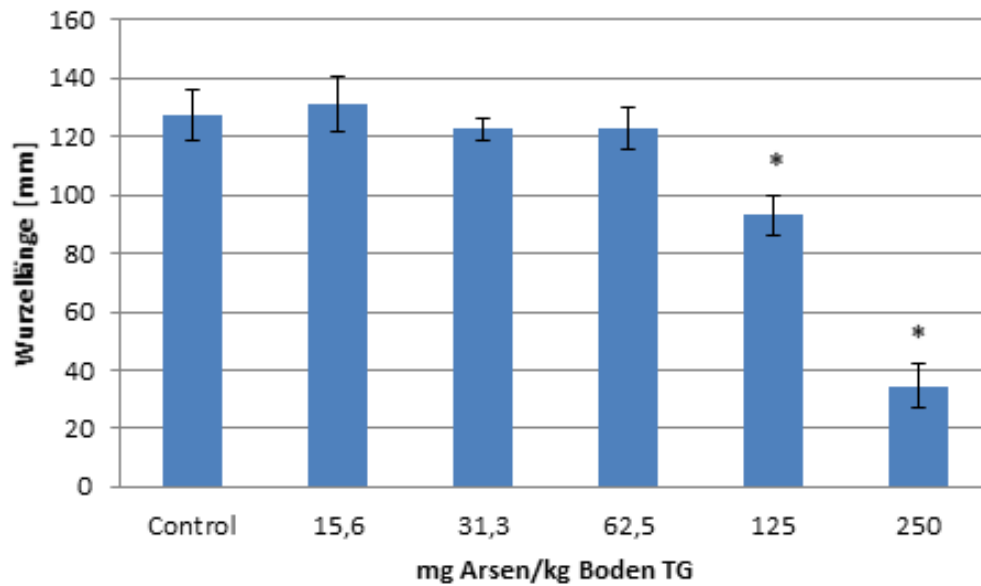
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 15: Ergebnis des Saatenauflauftests (*S. lycopersicum*) mit Arsen im Boden Refesol 05-G. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



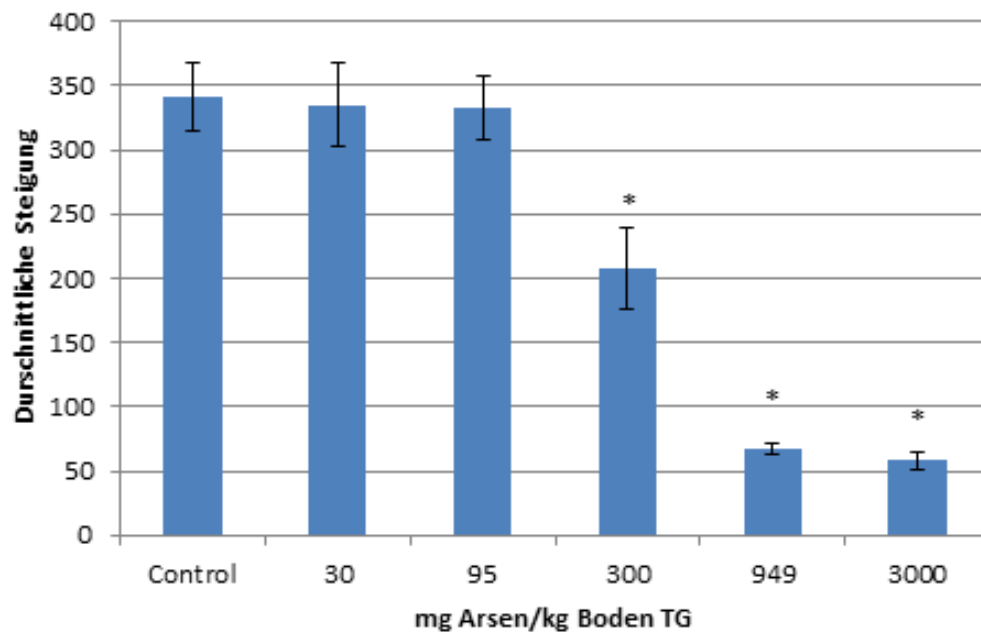
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 16: Ergebnis des Wurzellängentests mit Arsen im Boden Refesol 05-G. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



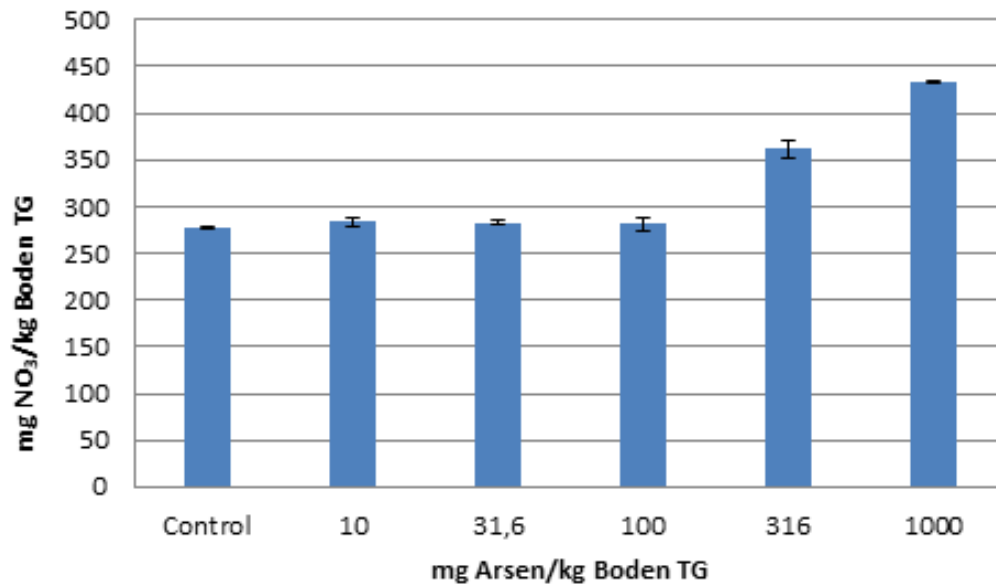
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 17: Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Arsen im Boden Refesol 05-G. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



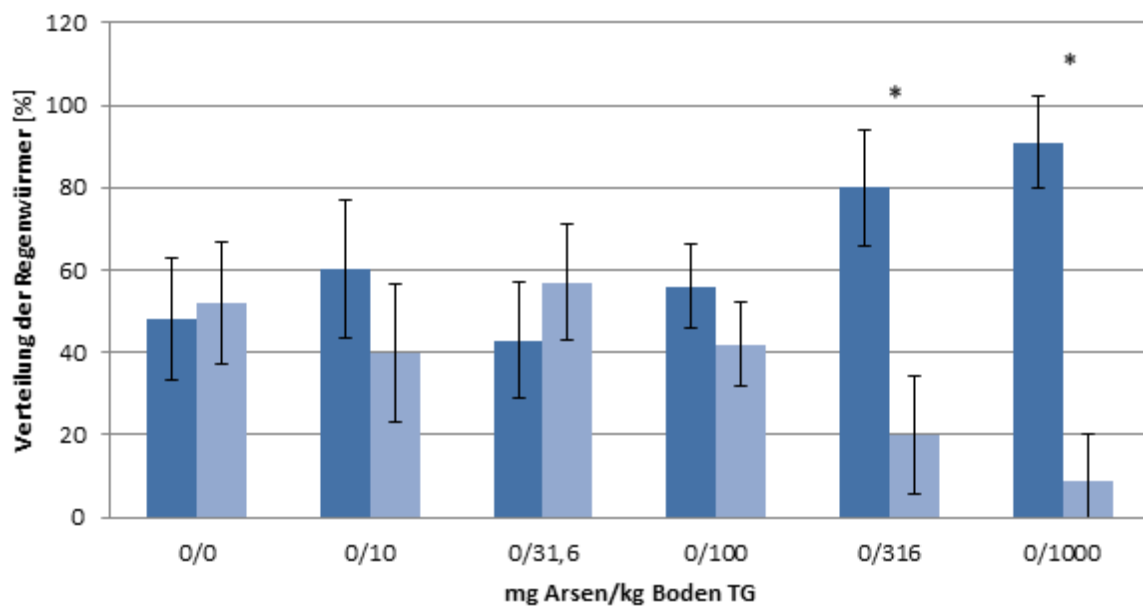
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 18: Ergebnis des Stickstoffmineralisierungstests mit Arsen im Boden Refesol 05-G



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 19: Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Arsen im Boden Refesol 05-G. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

6.3 Ergebnisse der Tests mit dem Boden Refesol 06-A

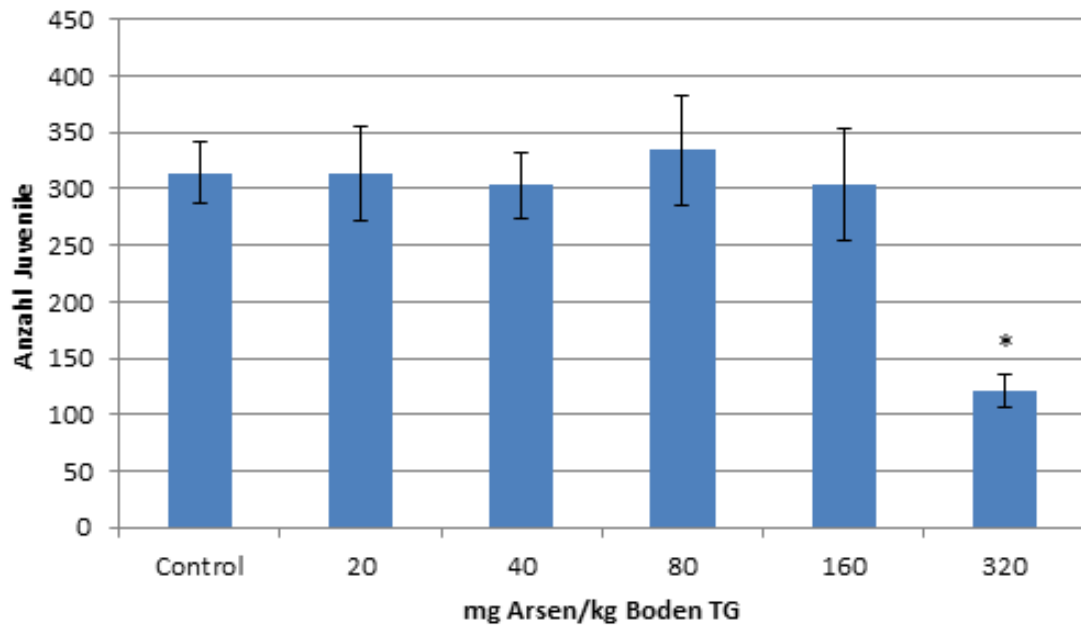
Dies ist ein schluffig-toniger Ackerboden mit einem schwach neutralen pH sowie niedrigem C_{org} -Gehalt. Der niedrigste NOEC von 61,5 mg As/kg Boden TG wurde für den Pflanzentest mit *Solanum lycopersicum* bestimmt (Tabelle 28; Abbildung 20 bis Abbildung 27) und der höchste bestimmte NOEC-Wert (320 mg As/kg Boden TG) stammte aus dem Wurzellängentest. Dieser wies zudem den höchsten EC_{10} -Wert von 319,4 mg As/kg Boden TG auf. Der höchste berechnete EC_{50} -Wert wurde im Regenwurm-Fluchttest mit 1041,1 mg As/kg Boden TG bestimmt. Der niedrigste errechnete EC_{10} -Wert betrug 4,86 mg As/kg Boden TG (Bakterienkontakttest), wobei dieser sich unterhalb der niedrigsten getesteten Konzentration befindet. Der niedrigste aussagekräftige EC_{10} -Wert lag bei 48,4 mg As/kg Boden TG (Regenwurm-Fluchttest). Der niedrigste EC_{50} -Wert wurde im Saatenauflauftest (*A. sativa*) beobachtet und betrug 221,4 mg As/kg Boden TG. Keine Effekte wurden in den Stickstoffmineralisierungstests beobachtet, so dass Wirkwerte nicht ermittelt werden konnten. Der Bakterienkontakttest wurde zweimal durchgeführt. Im Range-Finder-Test wurde bei der höchsten getesteten Konzentration von 1000 mg As/kg Boden TG eine Inhibition der Fluoreszenz von 17,82% (s. Rohdaten) gemessen. Daher wurde für den ersten Definitivtest ein höherer Konzentrationsbereich von 1000 bis 10000 mg As/kg TG gewählt. Hier zeigten sich jedoch bei der gleichen getesteten Konzentration wie im Range-Finder-Test deutlich stärkere Effekte, so dass der Bakterienkontakttest mit den in Tabelle 6 angegebenen Konzentrationen getestet wurde. Es war keine NOEC bestimmbar, da Effekte schon in der niedrigsten Konzentration (30 mg As/kg Boden TG) auftraten. Auffällig war auch, dass bei der nächst höheren Konzentration (95 mg As/kg Boden TG) ein geringerer negativer Effekt auftrat. Die erzielten Ergebnisse des Bakterienkontakttest sollten trotz Erfüllung der Validitätskriterien aufgrund der widersprüchlichen Ergebnisse kritisch betrachtet werden.

Tabelle 28: Ermittelte NOEC- und EC_x -Werte [mg As/kg Boden TG] aller Testsysteme getestet im Refesol 06-A Boden. Extrapolierte Werte sind in Klammern angegeben; diese Werte wurden bei der weiteren Auswertung nicht berücksichtigt

	NOEC	LOEC	EC_{10} (Unterer 95% KI - Oberer 95% KI)	EC_{50} (Unterer 95% KI - Oberer 95% KI)
Regenwurm-Reproduktions-test	160,0	320	188,3 (155,1 - 183,1)	289,4 (263,7 - 288,7)
Collembolen-Reproduktions-test	178,0	316	147,4 (106,7 - 180,2)	344,3 (310,5 - 378,9)
Saatenauflauf – <i>A. sativa</i>	125,0	250	134,2 (103,8 - 154,9)	221,4 (203,9 - 238,0)
Saatenauflauf – <i>S. lycopersicum</i>	61,5	125	227,6 (185,8 - 278,8)	323,8 (249,0 - 416,0)
Wurzellängentest	320,0	640	319,4 (268,7-358,5)	555,3 (522,6 - 589,1)
Bakterienkontakttest	<30,0 *	30,0 *	(4,9) (n.b. - 45,3)	289,9 (8,1 - 1348,6)
Stickstoffmineralisierung	≥1000	>1000	n.b.	n.b.
Regenwurm-Fluchttest	316,0	1000	48,4 (n.b.)	1041 (n.b.)

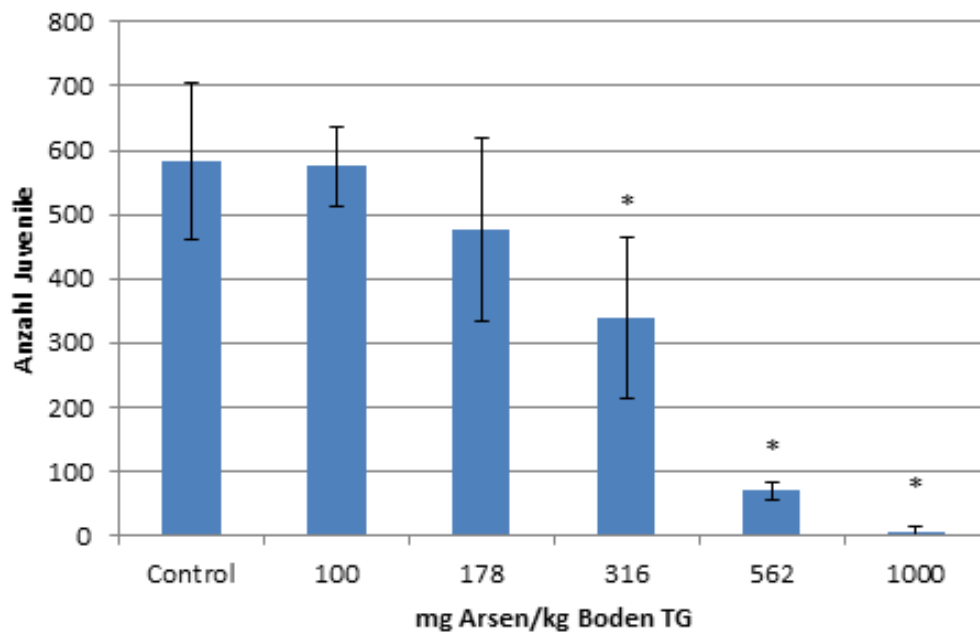
n.b. = Nicht bestimmbar; * problematische Werte, da Wirkungen schon in der niedrigsten Konz. (s.o.)

Abbildung 20: Ergebnis des Regenwurm-Reproduktionstests mit Arsen im Boden Refesol 06-A. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



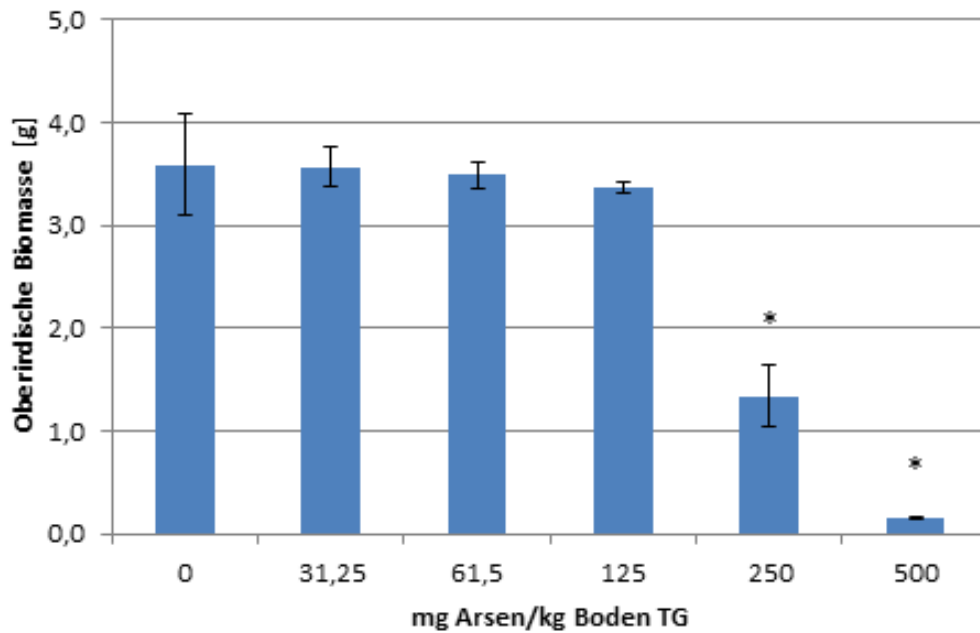
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 21: Ergebnis des Collembolen-Reproduktionstests mit Arsen im Boden Refesol 06-A. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



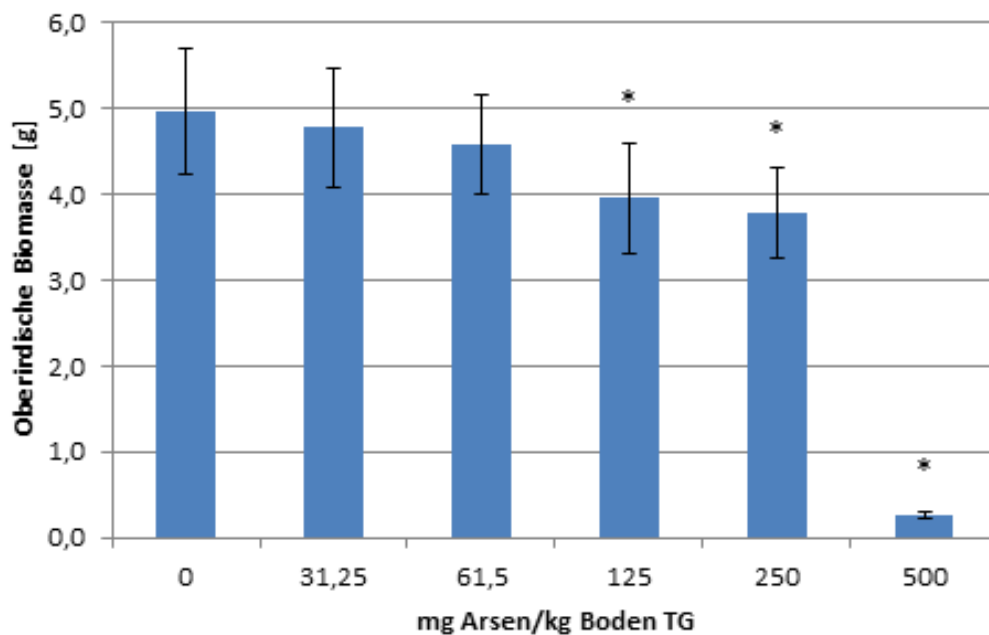
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 22: Ergebnis des Saatenauflauftests (*A. sativa*) mit Arsen im Boden Refesol 06-A. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



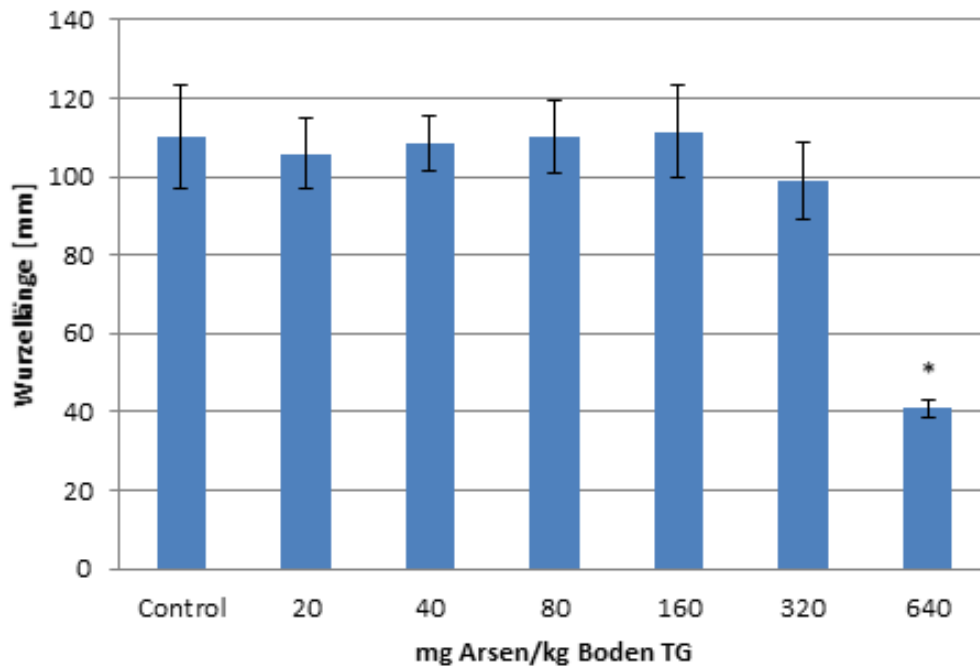
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 23: Ergebnis des Saatenauflauftests (*S. lycopersicum*) mit Arsen im Boden Refesol 06-A. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



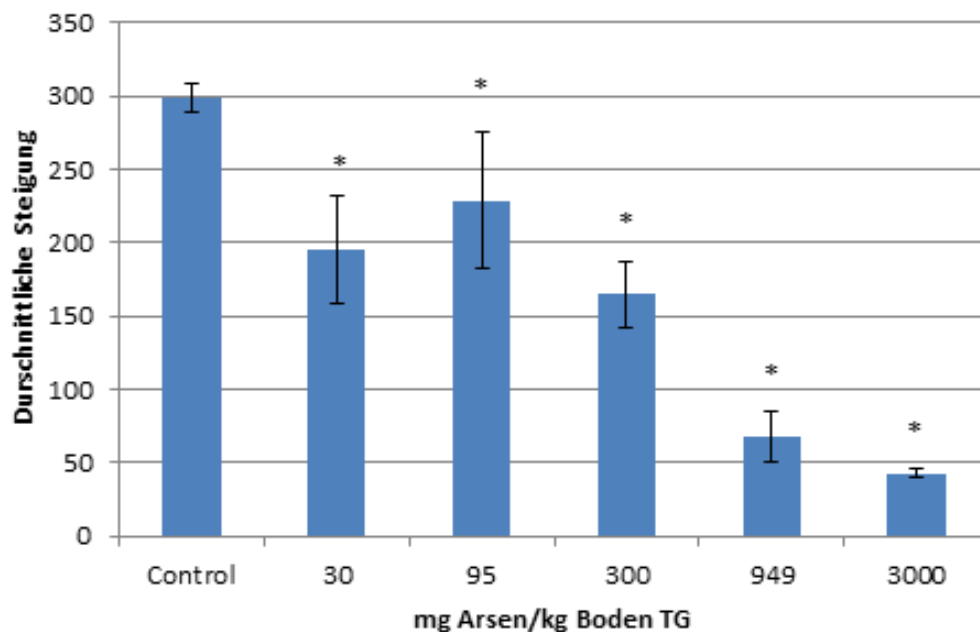
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 24: Ergebnis des Wurzellängentests mit Arsen im Boden Refesol 06-A. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



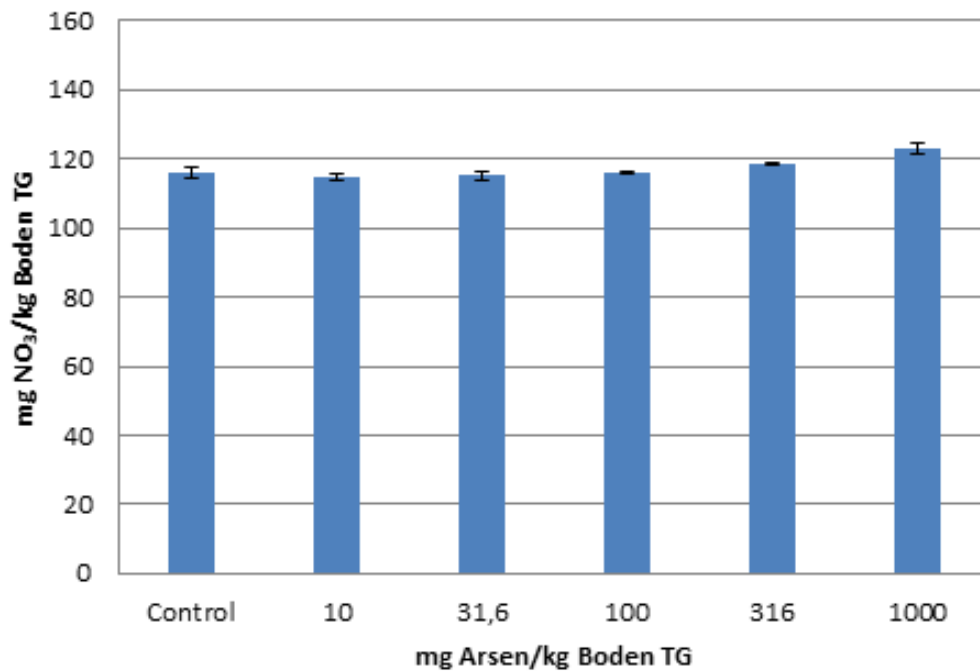
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 25: Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Arsen im Boden Refesol 06-A. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



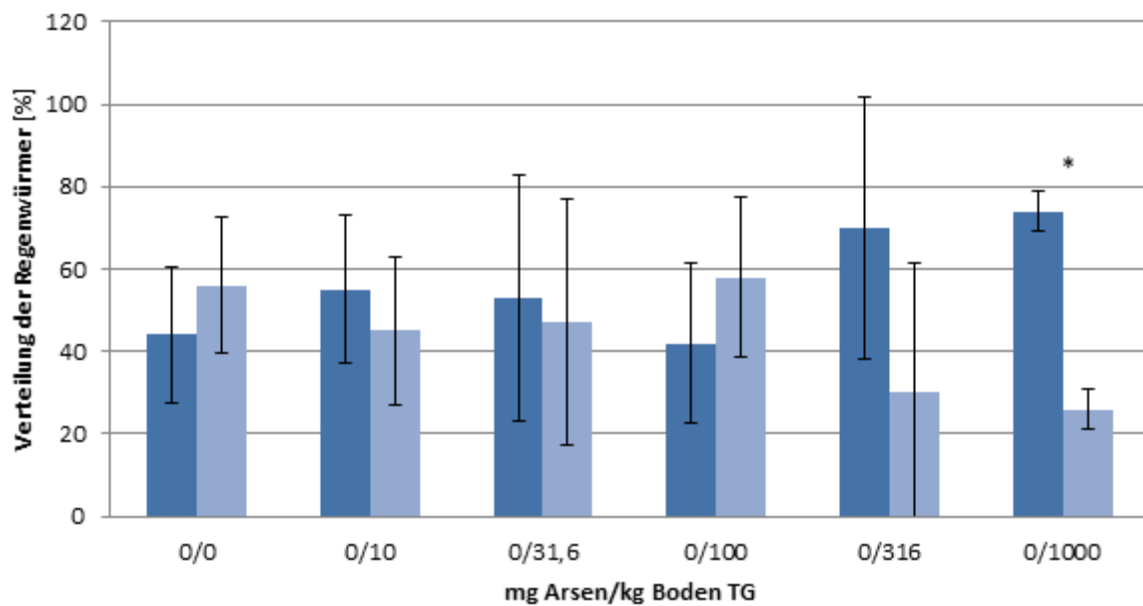
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 26: Ergebnis des Stickstoffmineralisierungstests mit Arsen im Boden Refesol 06-A



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 27: Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Arsen im Boden Refesol 06-A. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

6.4 Ergebnisse der Tests mit dem Boden Ter Munck

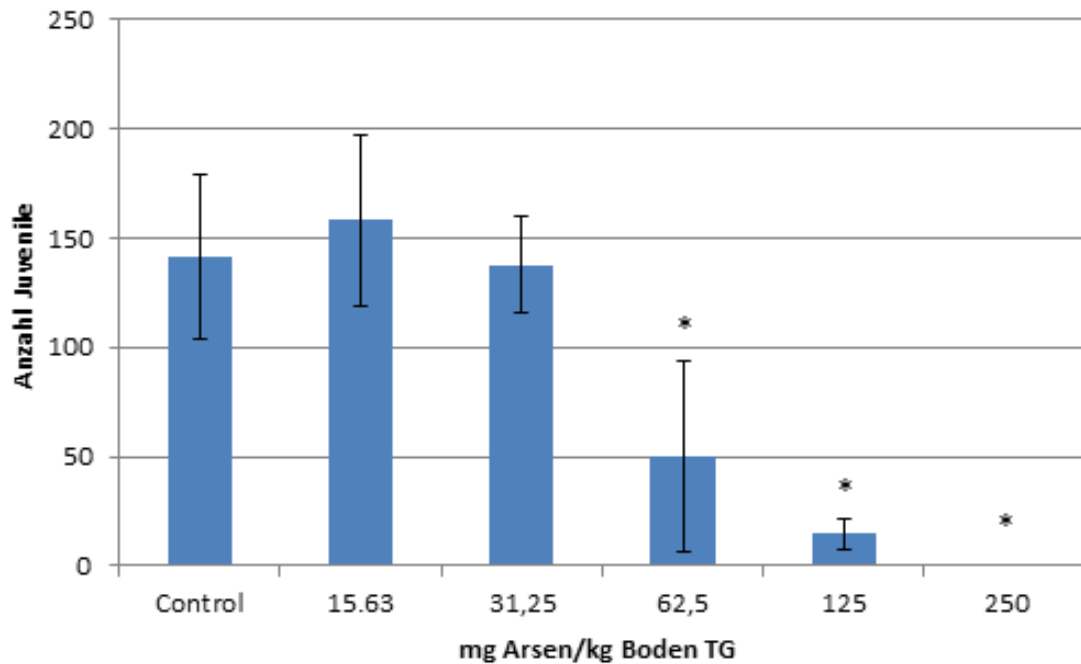
Dieser Boden ist durch einen hohen Schluffanteil, sehr niedrigen C_{org} -Gehalt sowie einen leicht sauren pH gekennzeichnet. Der niedrigste NOEC von 3,0 mg As/kg Boden TG wurde für die Pflanzenart *Avena sativa* im Saataufauftest bestimmt. Der höchste ermittelte NOEC-Wert betrug 95 mg As/kg Boden TG (Bakterienkontakttest) (Tabelle 29; Abbildung 28 bis Abbildung 34). Im Stickstoffmineralisierungs- und Regenwurm-Fluchttest wurde in keiner der getesteten Konzentrationen ein statistisch signifikanter Unterschied zur Kontrolle festgestellt werden. Im Wurzellängentest konnte kein NOEC-Wert bestimmt, da schon in der niedrigsten Konzentration Effekte beobachtet wurden (Song et al. 2006). Der niedrigste EC_{10} -Wert lag bei 6,82 mg As/kg Boden TG, wurde im Regenwurm-Fluchttest beobachtet und befand sich unterhalb der niedrigsten getesteten Konzentration. Außerdem war in diesem Test weder ein NOEC/LOEC noch ein EC_{50} Wert berechenbar. Das an die Rohdaten am besten angepasste Regressionsmodell ergab zwar einen EC_{10} Wert, doch war dieser aufgrund der hier genannten Gründe stark anzuzweifeln und wurde daher für die weitere Auswertung nicht berücksichtigt. Der niedrigste aussagekräftige EC_{10} -Wert (11,6 mg As/kg Boden TG) und der niedrigste EC_{50} -Wert (37,2 mg As/kg Boden TG) stammten aus dem Saataufauftest mit *Avena sativa*. Der höchste EC_{10} - bzw. EC_{50} -Wert betrug 40,9 bzw. 555,3 mg As/kg Boden TG und wurde im Bakterienkontakttest beobachtet. Keine Effekte traten im Stickstoffmineralisierungstest auf.

Tabelle 29: Ermittelte NOEC- und EC_x -Werte [mg As/kg Boden TG] aller Testsysteme getestet im Ter Munck Boden. Extrapolierte Werte sind in Klammern angegeben; diese Werte wurden bei der weiteren Auswertung nicht berücksichtigt

	NOEC	LOEC	EC_{10} (Unterer 95% KI - Oberer 95% KI)	EC_{50} (Unterer 95% KI - Oberer 95% KI)
Regenwurm-Reproduktions- test	31,3	62,5	32,0 (19,1 - 53,7)	54,0 (29,4 - 99,3)
Collembolen-Reprodukti- onstest	56,2	100	36,4 (n.b.)	80,9 (n.b.)
Saatenauflauf – <i>A. sativa</i>	3,0	9,0	11,6 (8,3 - 14,6)	37,2 (32,5 - 42,5)
Saatenauflauf – <i>S. lycopersicum</i>	9,0	27,0	28,4 (7,5 - 45,1)	95,3 (69,8 - 133,8)
Wurzellängentest*	<15,0 **	15,0 **	13,9 ± 1	56,9 ± 1,9
Bakterienkontakttest	95,0	300	40,9 (n.b.)	555,3 (n.b.)
Stickstoffmineralisierung	≥2000	>2000	n.b.	n.b.
Regenwurm-Fluchttest	≥1000	>1000	(6,8) (n.b.)	n.b.

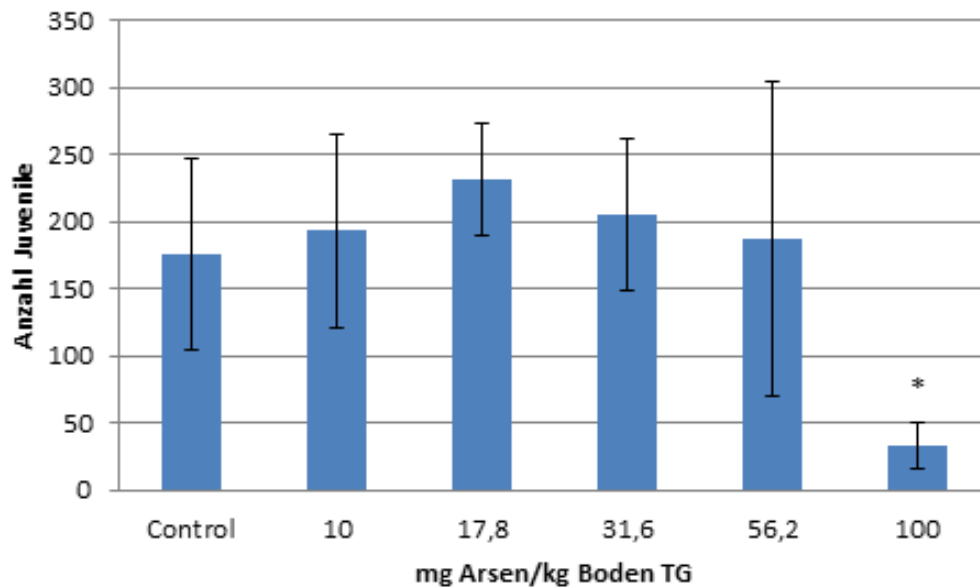
n.b. = Nicht bestimmbar; *Werte (± Standardfehler) für den Wurzellängentest wurden aus der Literatur entnommen (Song et al. 2006); ** problematische Werte, da Wirkungen schon in der niedrigsten Konz. (s.o.)

Abbildung 28: Ergebnis des Regenwurm-Reproduktionstests mit Arsen im Boden Ter Munck. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



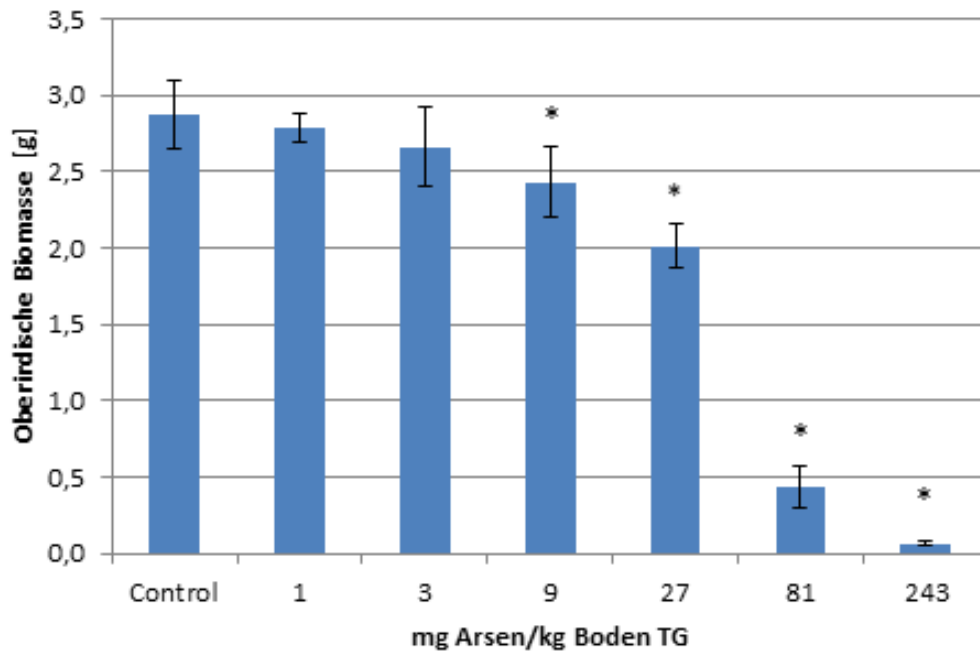
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 29: Ergebnis des Collembolen-Reproduktionstests mit Arsen im Boden Ter Munck. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



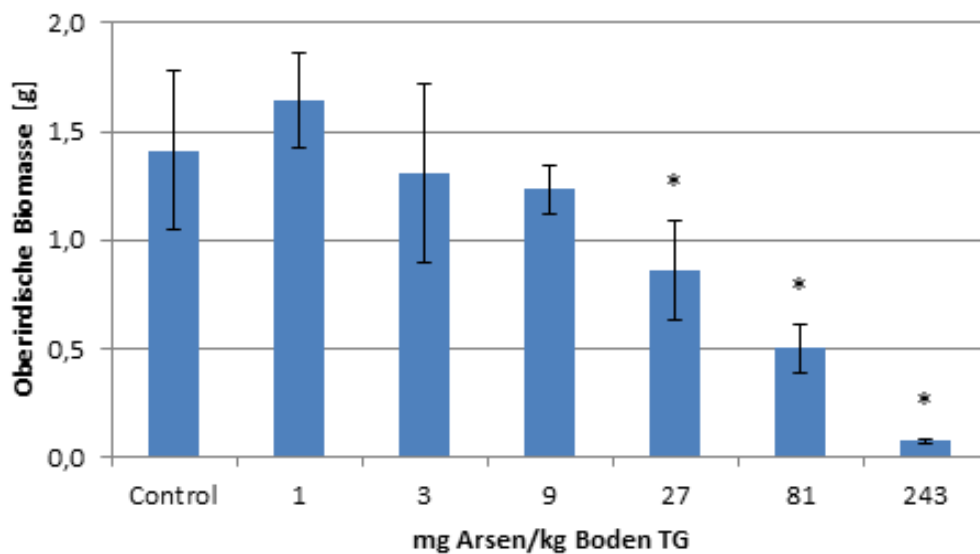
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 30: Ergebnis des Saatenauflauftests (*A. sativa*) mit Arsen im Boden Ter Munck. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



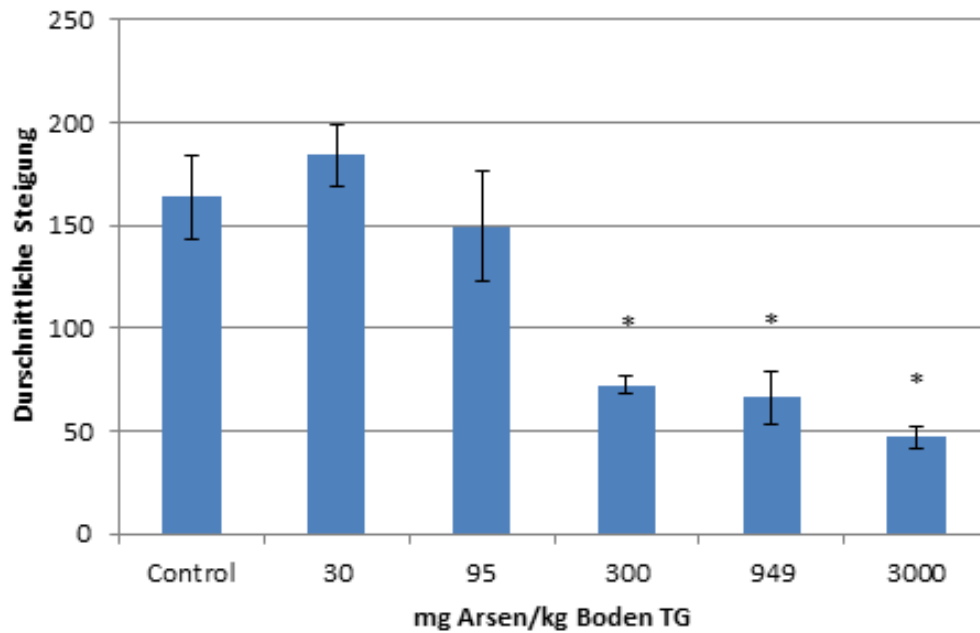
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 31: Ergebnis des Saatenauflauftests (*S. lycopersicum*) mit Arsen im Boden Ter Munck. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



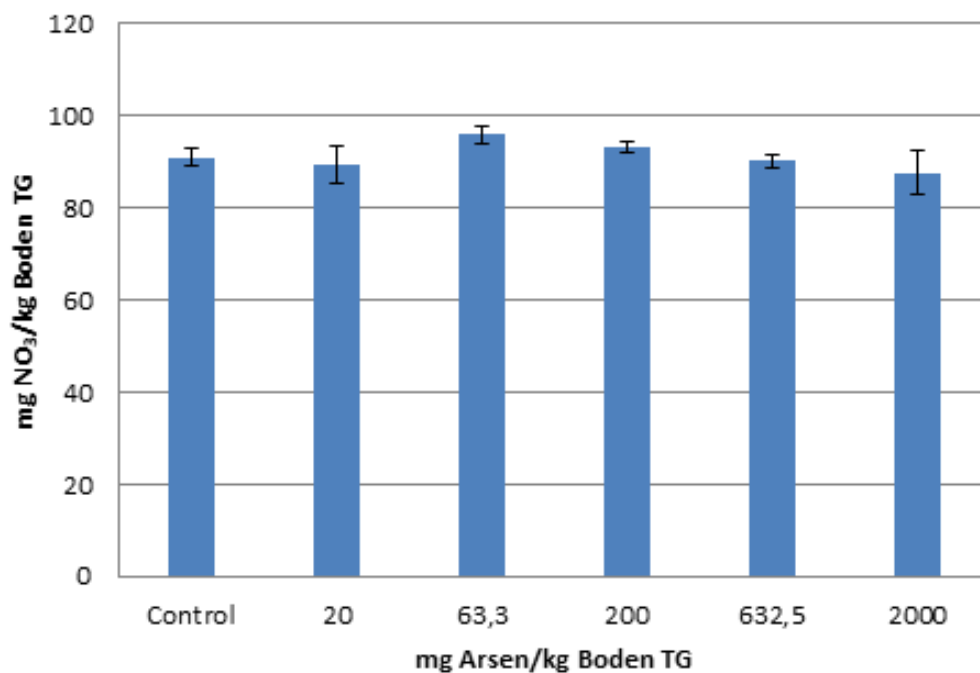
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 32: Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Arsen im Boden Ter Munck. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



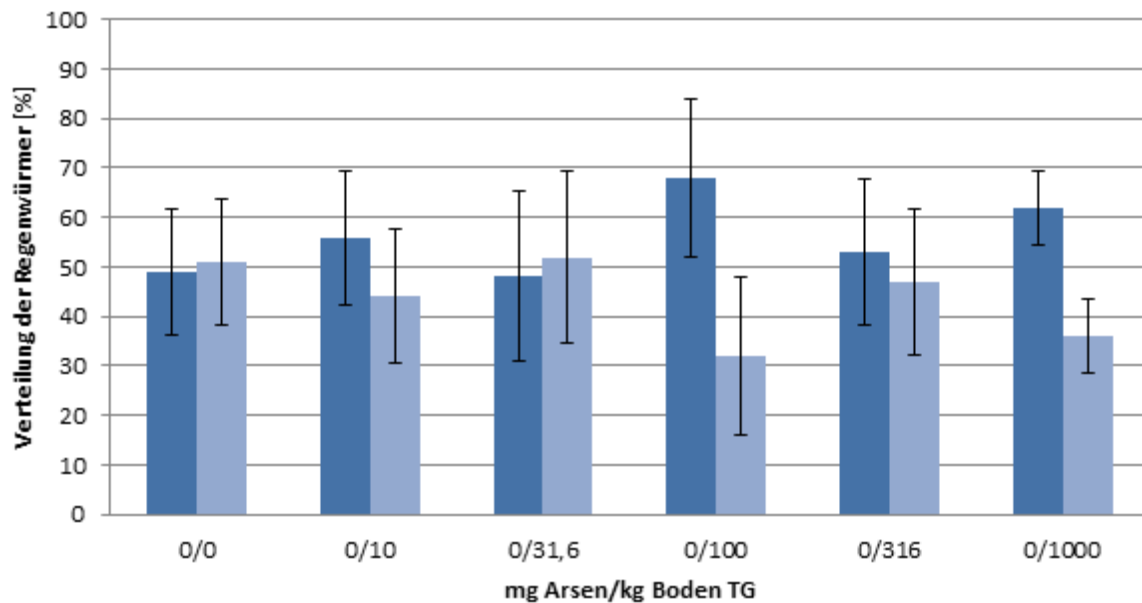
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 33: Ergebnis des Stickstoffmineralisierungstests mit Arsen im Boden Ter Munck



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 34: Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Arsen im Boden Ter Munck



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

6.5 Ergebnisse der Tests mit dem Boden Woburn

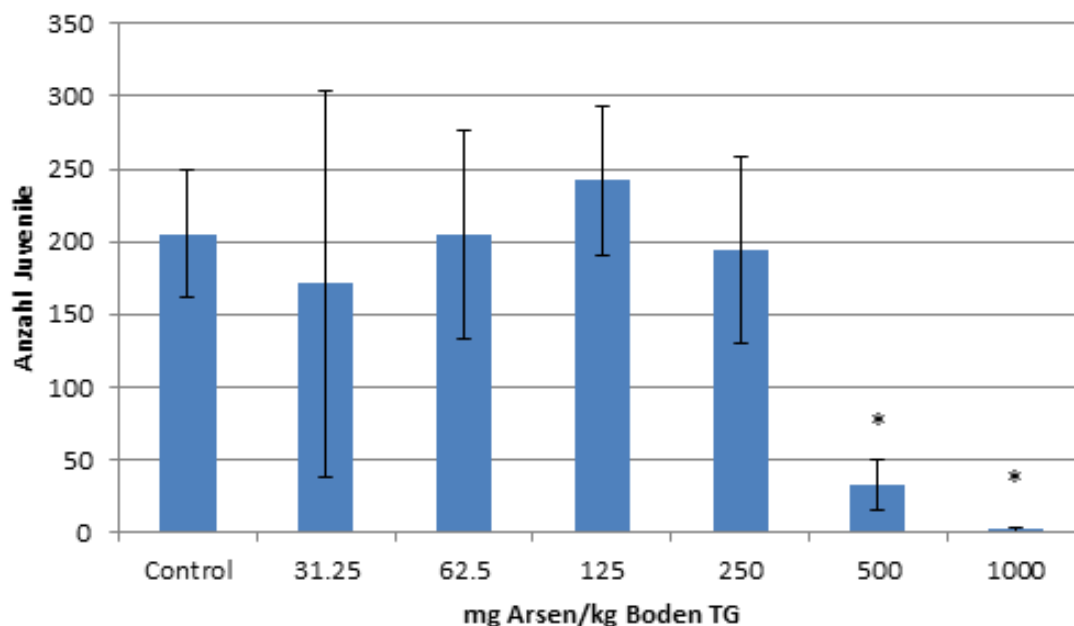
Dieser Boden ist durch einen fast neutralen pH, einen mittleren C_{org} -Gehalt und weitgehend gleiche Sand-, Schluff- und Tonanteile gekennzeichnet. Der niedrigste NOEC-Wert für diesen Boden wurde für den Wurzellängentest mit *Hordeum vulgare* ermittelt (30 mg As/kg Boden TG) und der höchste NOEC lag bei 250 mg As/kg Boden TG im Regenwurm-Reproduktionstest (Tabelle 30; Abbildung 35 bis Abbildung 41). Der niedrigste berechnete EC_{10} - und EC_{50} -Wert betrug 27,0 (Regenwurm-Fluchttest) bzw. 238,4 mg As/kg Boden TG, während die höchsten berechneten EC_{10} - und EC_{50} -Werte bei 272,8 (Regenwurm-Reproduktionstest) bzw. 983,2 mg As/kg Boden TG (Bakterienkontakttest) lagen. In den Stickstoffmineralisierungs- und den Saataufauftests mit *Solanum lycopersicum* konnten keine Effekte beobachtet werden.

Tabelle 30: Ermittelte NOEC- und ECx-Werte [mg As/kg Boden TG] aller Testsysteme getestet im Woburn Boden

	NOEC	LOEC	EC ₁₀ (Unterer 95% KI - Oberer 95% KI)	EC ₅₀ (Unterer 95% KI - Oberer 95% KI)
Regenwurm-Reproduk-tions-test	250	500	272,8 (n.b.)	383,3 (n.b.)
Collembolen-Reproduk-tions-test	100	178	103,7 (90,3 - 115,2)	230,5 (218,1 - 241,8)
Saatenauflauf – <i>A. sativa</i>	112,5	225	102,8 (n.b.)	238,4 (n.b.)
Saatenauflauf – <i>S. lycopersicum</i>	≥450	>450	n.b.	n.b.
Wurzellängentest*	30,0	60,0	57,0 ± 20,2	328,6 ± 44,6
Bakterienkontakttest	95,0	300	112,6 (40,3 -198,4)	983,2 (702,4 -1434,9)
Stickstoffmineralisierung	≥2000	>2000	n.b.	n.b.
Regenwurm-Fluchttest	100	316	27,0 (n.b.)	576,1 (n.b.)

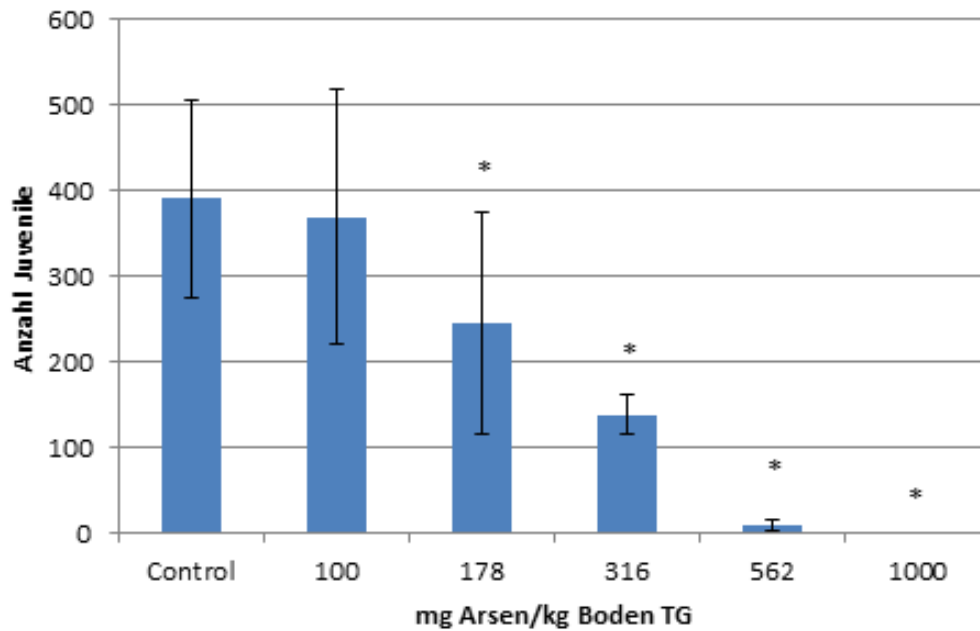
n.b. = Nicht bestimmbar; *Werte (± Standardfehler) für den Wurzellängentest aus der Literatur entnommen (Song et al. 2006).

Abbildung 35: Ergebnis des Regenwurm-Reproduktionstests mit Arsen im Boden Woburn. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



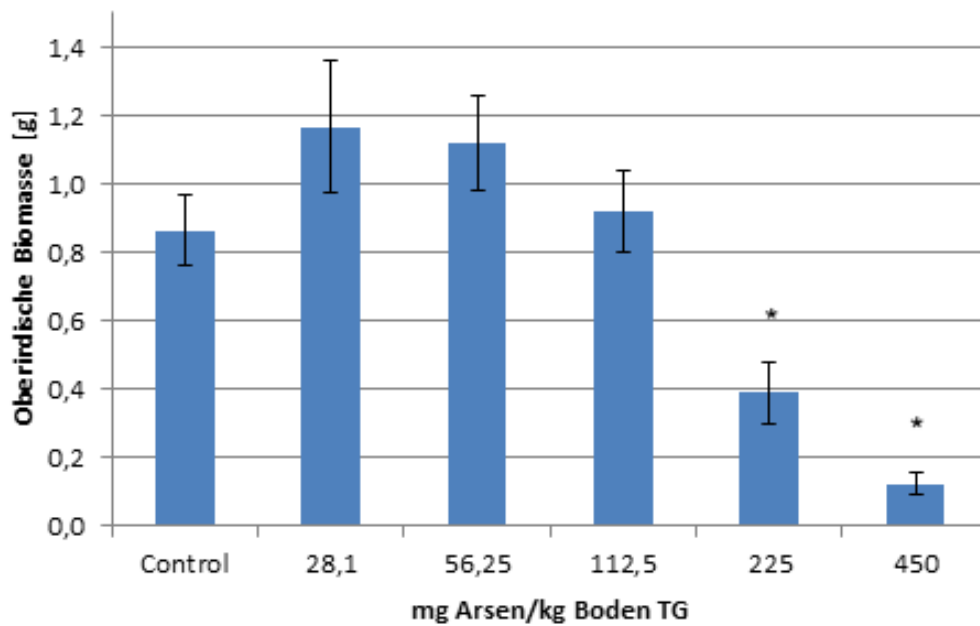
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 36: Ergebnis des Collembolen-Reproduktionstests mit Arsen im Boden Woburn. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



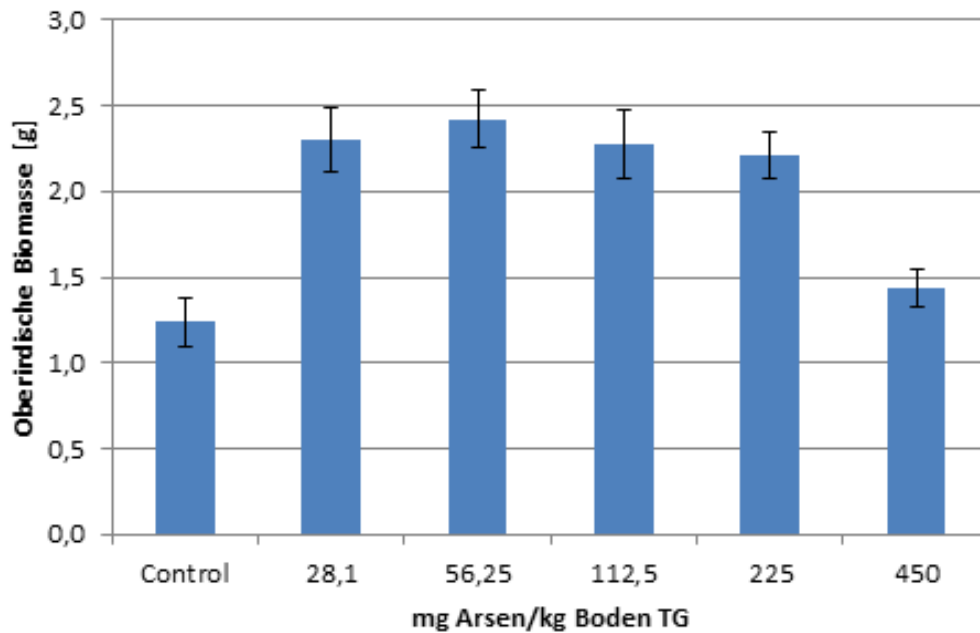
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 37: Ergebnis des Saatenauflauftests (*A. sativa*) mit Arsen im Boden Woburn. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



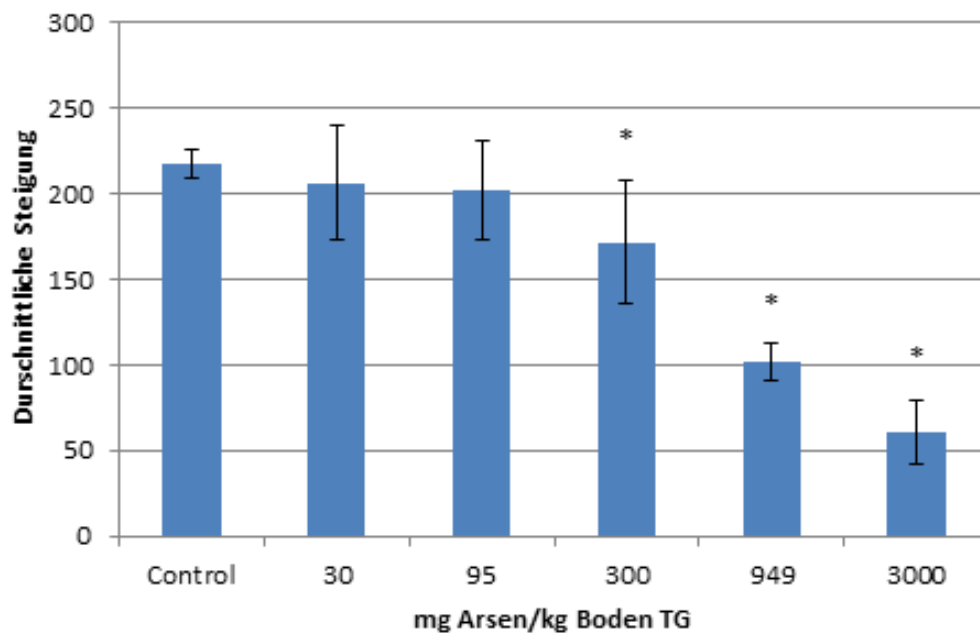
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 38: Ergebnis des Saatenauflauftests (*S. lycopersicum*) mit Arsen im Boden Woburn



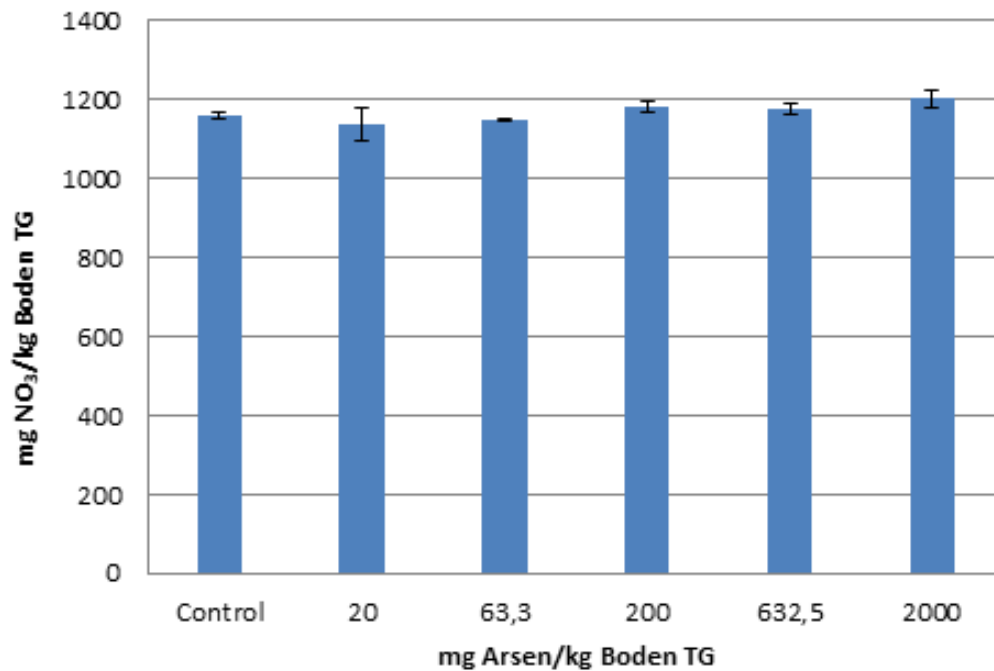
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 39: Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Arsen im Boden Woburn. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



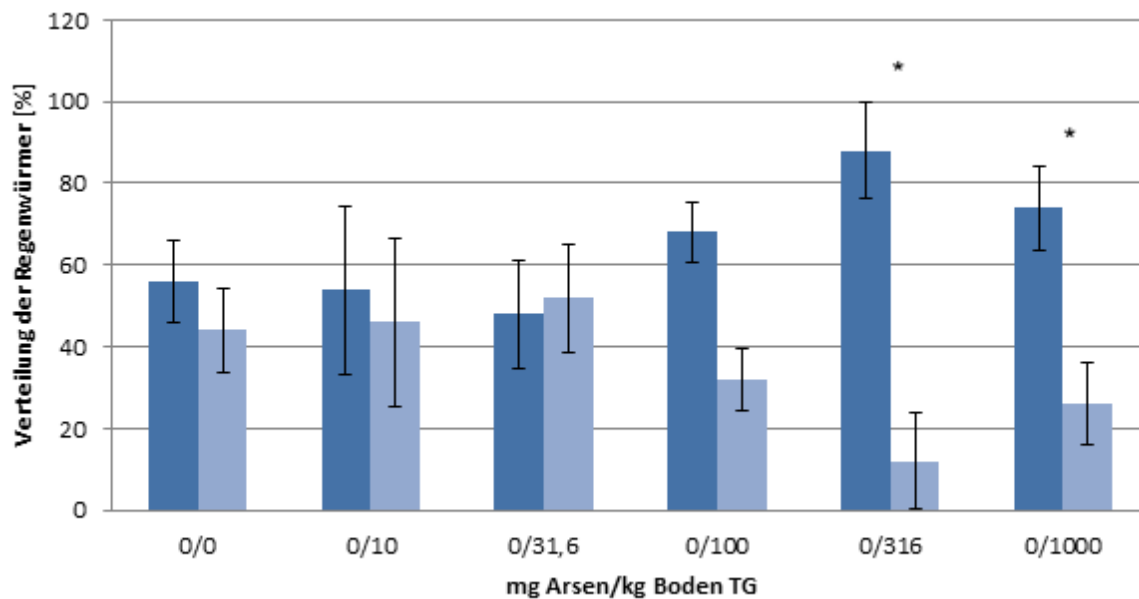
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 40: Ergebnis des Stickstoffmineralisierungstests mit Arsen im Boden Woburn



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 41: Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Arsen im Boden Woburn. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

6.6 Ergebnisse der Tests mit dem Boden Zegveld

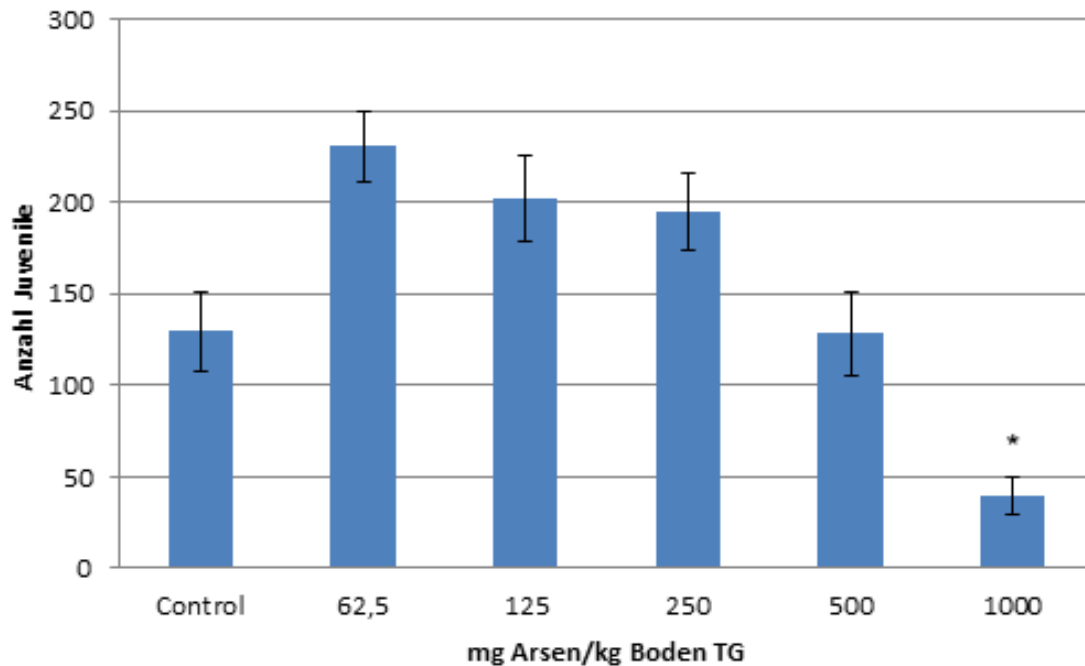
Dieser Grasland-Boden hat einen leicht sauren pH, sehr hohe Tonanteile und den höchsten C_{org} -Gehalt aller untersuchten Böden. Der niedrigste NOEC-Wert (10 mg As/kg Boden TG) stammte aus dem Regenwurm-Fluchttest. Der höchste NOEC lag bei 562 mg As/kg Boden TG (Collembolen-Reproduktionstest) (Tabelle 31; Abbildung 42 bis Abbildung 48). Letzterer hat mit 252 mg As/kg Boden TG auch den höchsten EC_{10} -Wert, während der niedrigste EC_{10} -Wert als 10,14 mg As/kg Boden TG (Bakterienkontakttest) bestimmt wurde. Dieser befand sich unterhalb der niedrigsten getesteten Konzentration und war daher extrapoliert. Des Weiteren wurde erst ab einer Konzentration von 95 mg As/kg Boden TG (LOEC) ein signifikanter Unterschied zur Kontrolle festgestellt. Die Belastbarkeit dieses EC_{10} Werts war somit fraglich; daher wurde er für die weitere Auswertung nicht berücksichtigt. Der niedrigste aussagekräftige EC_{10} -Wert betrug 15,0 mg As/kg Boden TG (Regenwurm-Fluchttest). Die höchsten bzw. niedrigsten EC_{50} -Werte wurden beim Stickstoffmineralisierungstest mit 1711,9 mg As/kg Boden TG bzw. beim Test mit *Solanum lycopersicum* beobachtet (174,6 mg As/kg Boden TG). Ein NOEC-Wert für den Wurzellängentest konnte nicht ermittelt werden, da Effekte schon bei der niedrigsten Konzentrationsstufe (15 mg As/kg Boden TG) auftraten (Song et al. 2006). Im Stickstoffmineralisierungstest wurde zwar keine NOEC/LOEC ermittelt. Allerdings wurden mittels einer Regressionsanalyse EC_{10} - bzw. EC_{50} -Werte bestimmt (58,86 bzw. 1711,9 mg As/kg Boden TG). Da die Ergebnisse keine Normalverteilung und Varianzhomogenität aufwiesen (siehe Rohdaten) konnte kein statistisch starker Signifikanztest durchgeführt werden. Mittels des Overall-F-Tests wurde jedoch eine statistisch signifikante Dosis-Wirkung Beziehung ermittelt. Da auch die ermittelten EC_x Werte intrapoliert wurden, standen diese Werte für die weitere Auswertung zur Verfügung.

Tabelle 31: Ermittelte NOEC- und EC_x -Werte [mg As/kg Boden TG] aller Testsysteme getestet im Zegveld Boden. Extrapolierte Werte sind in Klammern angegeben; diese Werte wurden bei der weiteren Auswertung nicht berücksichtigt

	NOEC	LOEC	EC_{10} (Unterer 95% KI -Oberer 95% KI)	EC_{50} (Unterer 95% KI -Oberer 95% KI)
Regenwurm-Reproduktionstest	500	1000	237,2 (167,5-303,4)	877 (688,2-1230,4)
Collembolen-Reproduktionstest	562	1000	252 (68,7-379,1)	678,2 (509,3-870,9)
Saatenauflauf – <i>A. sativa</i>	56,3	112,5	51,7 (n.b.)	246,4 (n.b.)
Saatenauflauf – <i>S. lycopersicum</i>	24,0	120	52,3 (14,3-83,8)	174,6 (127,8-224,7)
Wurzellängentest*	<15,0 **	15,0 **	27,7 ± 2,9	195,4 ± 8,8
Bakterienkontakttest	30,0	95,0	(10,1) (n.b.)	460,2 (n.b.)
Stickstoffmineralisierung	≥2000	>2000	58,9 (6,0-574,2)	1711,9 (431,9-6785,2)
Regenwurm-Fluchttest	10,0	31,6	15,0 (0,76-295,2)	309,4 (88,8-1078,5)

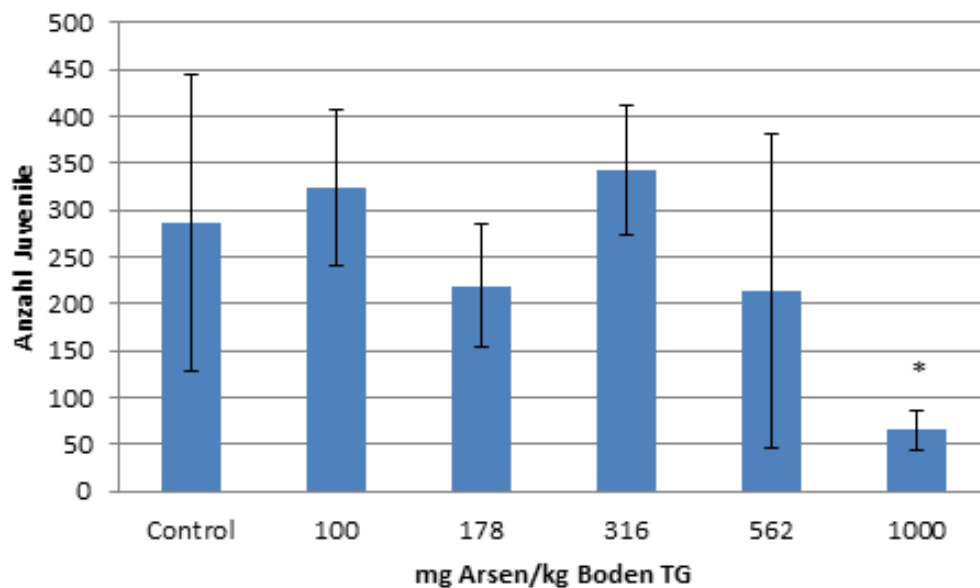
n.b. = Nicht bestimmbar; *Werte (± Standardfehler) für den Wurzellängentest aus der Literatur entnommen (Song et al. 2006); ** problematische Werte, da Wirkungen schon in der niedrigsten Konz. (s.o.)

Abbildung 42: Ergebnis des Regenwurm-Reproduktionstests mit Arsen im Boden Zegveld. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



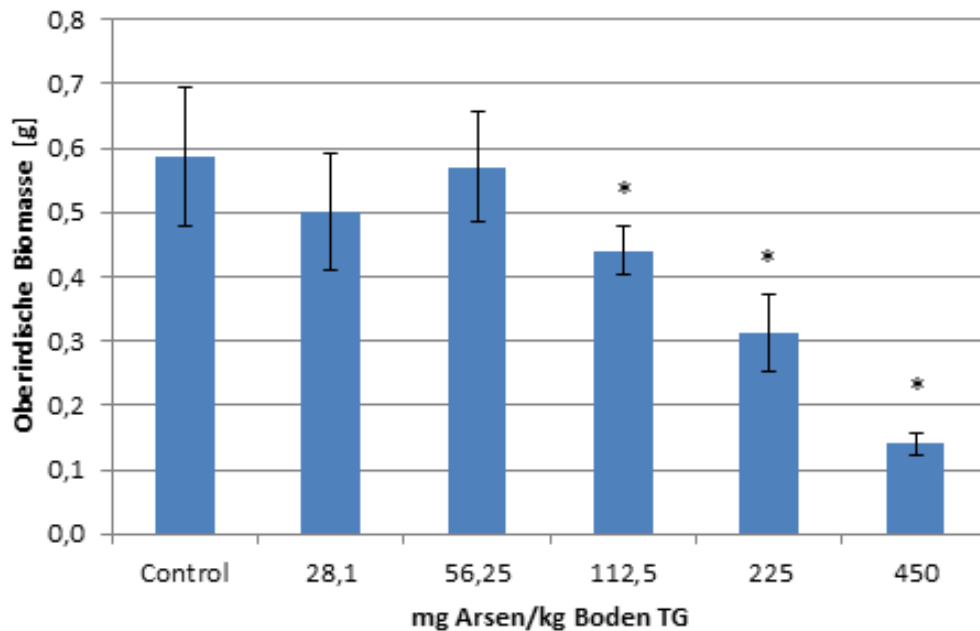
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 43: Ergebnis des Collembolen-Reproduktionstests mit Arsen im Boden Zegveld. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



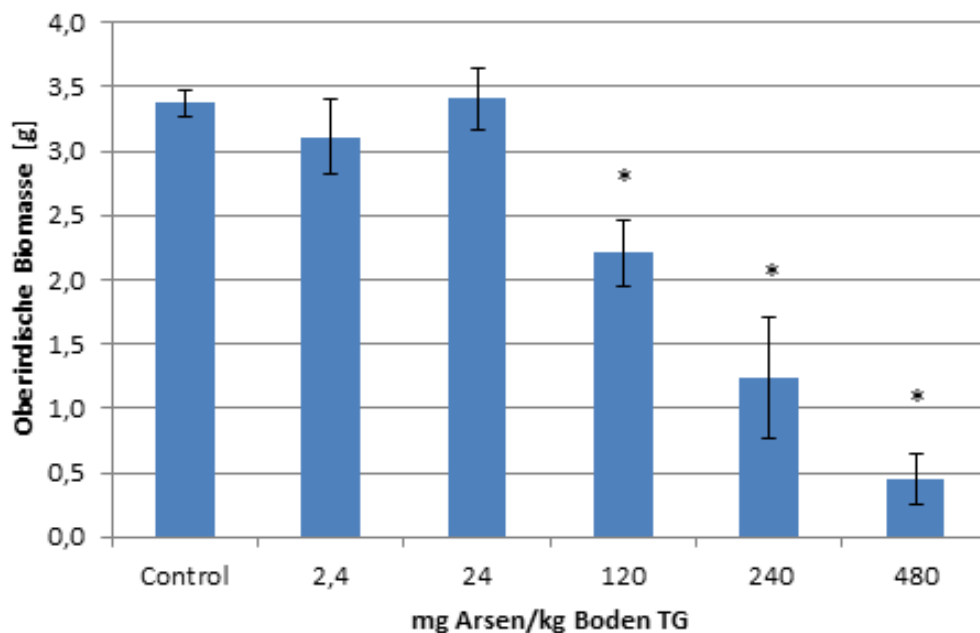
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 44: Ergebnis des Saatenauflauftests (*A. sativa*) mit Arsen im Boden Zegveld. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



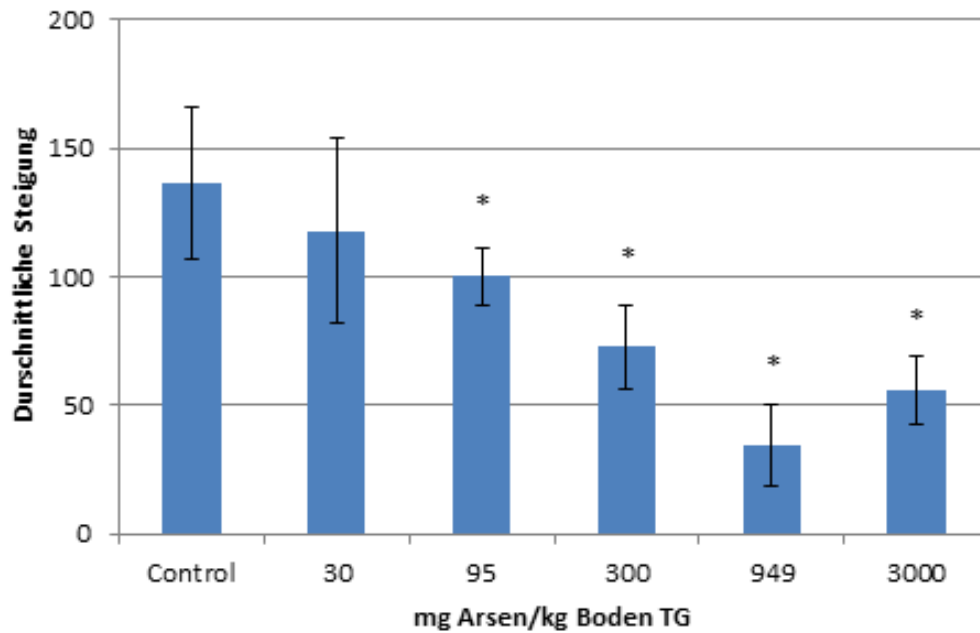
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 45: Ergebnis des Saatenauflauftests (*S. lycopersicum*) mit Arsen im Boden Zegveld. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



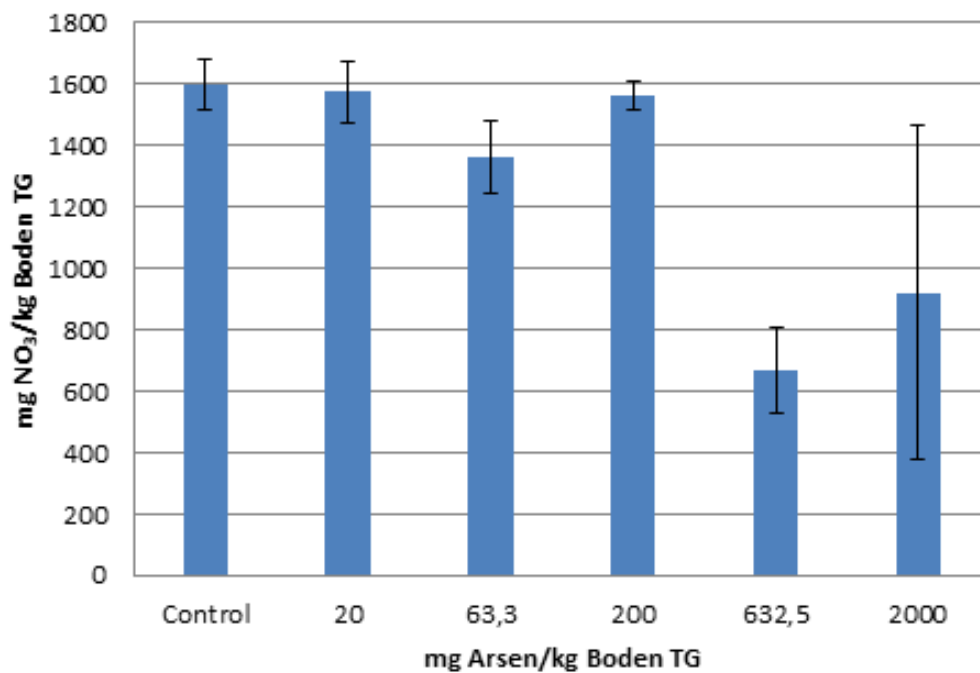
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 46: Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Arsen im Boden Zegveld. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



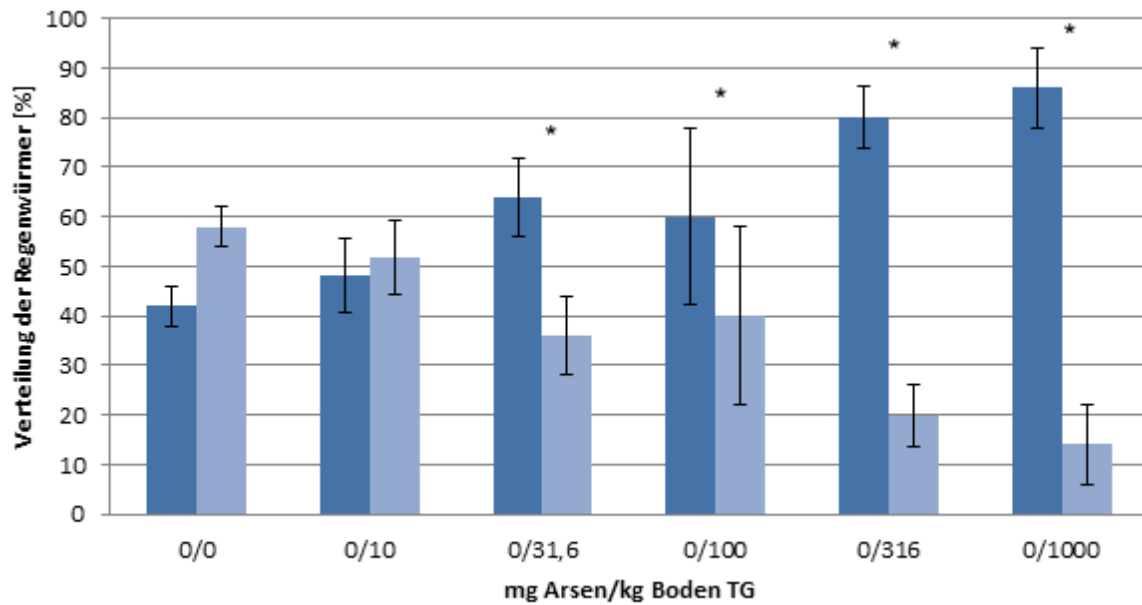
Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 47: Ergebnis des Stickstoffmineralisierungstests mit Arsen im Boden Zegveld. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 48: Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Arsen im Boden Zegveld. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

7 Extraktionsversuche und Sorptionsisothermen

7.1 Bestimmung der Ionenstärke

Für die Extraktion mit $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ mit angepasster Ionenstärke und für die Sorptionsisothermen wurde für alle Böden die Ionenstärke bei Bodensättigung nach der Methode von Heidkamp (2005) über die Berechnung der Leitfähigkeit im Bodensättigungsextrakt bestimmt (Tabelle 32).

Tabelle 32: Leitfähigkeit und Ionenstärke des Bodensättigungsextrakts (BSE) und entsprechende (klassierte) Konzentration einer $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ -Elektrolytlösung bestimmt nach der Methode von Heidkamp (2005)

Boden	Leitfähigkeit (BSE) [$\mu\text{S}/\text{cm}$]	Ionenstärke [mmol/l]	$\text{c}(\text{Ca}(\text{NO}_3)_2)$ klassiert [mmol/l]
Refesol 01-A	1336,4	17,37	5,25
Refesol 06-A	931,0	12,10	2,75
Refesol 05-G	298,3	3,88	1
Ter Munck	1607,6	20,90	6,5
Woburn	474,2	6,16	1,75
Zegveld	2051,3	26,67	6,5
Brécy	478,6	6,22	1,25
Houthalen	387,9	5,04	1,5
Kövlinge I	401,9	5,22	1,5
Montpellier	117,8	1,53	0,25
Rhydtalog	833,8	10,84	2,75

7.2 Bestimmung der Konzentration von Arsen in den sechs Testböden

In den folgenden Tabelle 33 und Tabelle 34 sowie Abbildung 49 bis Abbildung 54 sind die Ergebnisse der Extraktion von Arsen mittels sechs verschiedener Extraktionsverfahren ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$; 1 M NH_4NO_3 ; 0,01 M CaCl_2 ; DTPA; 0,43 M HNO_3 ; Königswasser;) aus den sechs Testböden im Vergleich zur gespikten Nominalkonzentration dargestellt (Tabellen getrennt zwischen den drei Refesol-Böden (inkl. LUFA 2.2 = Refesol 01-A) sowie den drei anderen Feldböden). Die entsprechenden Ergebnisse für Kupfer und Nickel finden sich im Anhang zu diesem Bericht (Kap. 12.5 und 12.10).

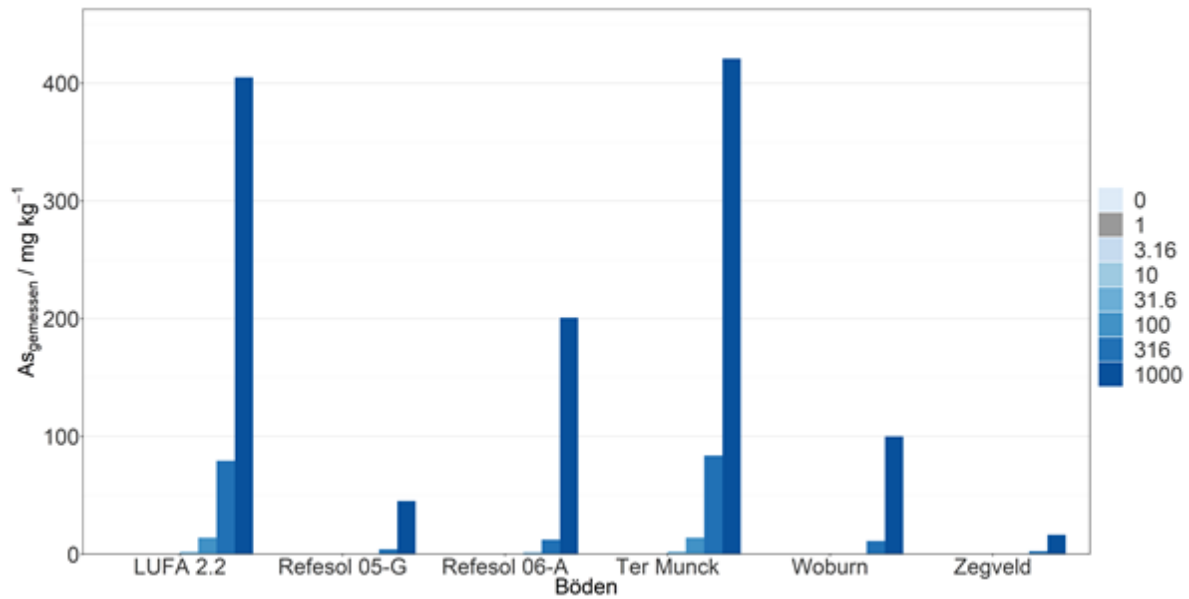
Tabelle 33: Konzentrationen von Arsen (mg As/kg Boden TG) in drei verschiedenen Referenzböden, gemessen mittels sechs verschiedener Extraktionsverfahren, jeweils im Vergleich zur gespikten Nominalkonzentration

Boden	Zugabe [mg/kg]	Ca(NO ₃) ₂ [mg/kg]	NH ₄ NO ₃ [mg/kg]	CaCl ₂ [mg/kg]	DTPA [mg/kg]	HNO ₃ [mg/kg]	Königswasser [mg/kg]
LUFA 2.2	0	0,0227	0,0135	0,0316	0,289	1,19	2,99
LUFA 2.2	1	0,0313	0,0141	0,0446	0,377	1,44	3,33
LUFA 2.2	3,16	0,099	0,0317	0,127	0,991	2,55	5,66
LUFA 2.2	10	0,453	0,147	0,542	3,39	6,38	12,7
LUFA 2.2	31,6	2,02	0,862	2,76	11,1	15,1	34,9
LUFA 2.2	100	14,1	6,64	12,9	49,4	71,6	109
LUFA 2.2	316	79,4	50,4	63,4	216	277	338
LUFA 2.2	1000	405	350	360	825	894	1060
Refesol 05-G	0	0,0121	0,0268	0,0222	0,318	2,71	4,36
Refesol 05-G	1	0,0151	0,0132	0,0182	0,434	3,16	5,31
Refesol 05-G	3,16	0,019	0,011	0,0265	0,797	3,89	7,72
Refesol 05-G	10	0,037	0,0141	0,0404	2	7,65	15
Refesol 05-G	31,6	0,0991	0,0232	0,103	5,51	20,1	37
Refesol 05-G	100	0,482	0,0947	0,542	21,7	58,8	106
Refesol 05-G	316	4,27	1,13	5,49	108	240	334
Refesol 05-G	1000	45,2	19,1	54	508	851	1050
Refesol 06-A	0	0,00956	0,00403	0,00777	0,0824	0,653	4,81
Refesol 06-A	1	0,0148	0,00583	0,0117	0,0869	0,735	5,35
Refesol 06-A	3,16	0,0245	0,0111	0,0211	0,117	1,13	7,88
Refesol 06-A	10	0,0715	0,0238	0,064	0,231	2,36	14,3
Refesol 06-A	31,6	0,26	0,0862	0,23	0,651	7,02	35,6
Refesol 06-A	100	1,42	0,437	1,25	3	35,3	111
Refesol 06-A	316	12,5	4,12	10,5	19,3	87,3	316
Refesol 06-A	1000	201	73,7	145	200	493	982

Tabelle 34: Konzentrationen von Arsen (mg As/kg Boden TG) in drei verschiedenen Freilandböden, gemessen mittels sechs verschiedener Extraktionsverfahren, jeweils im Vergleich zur gespikten Nominalkonzentration

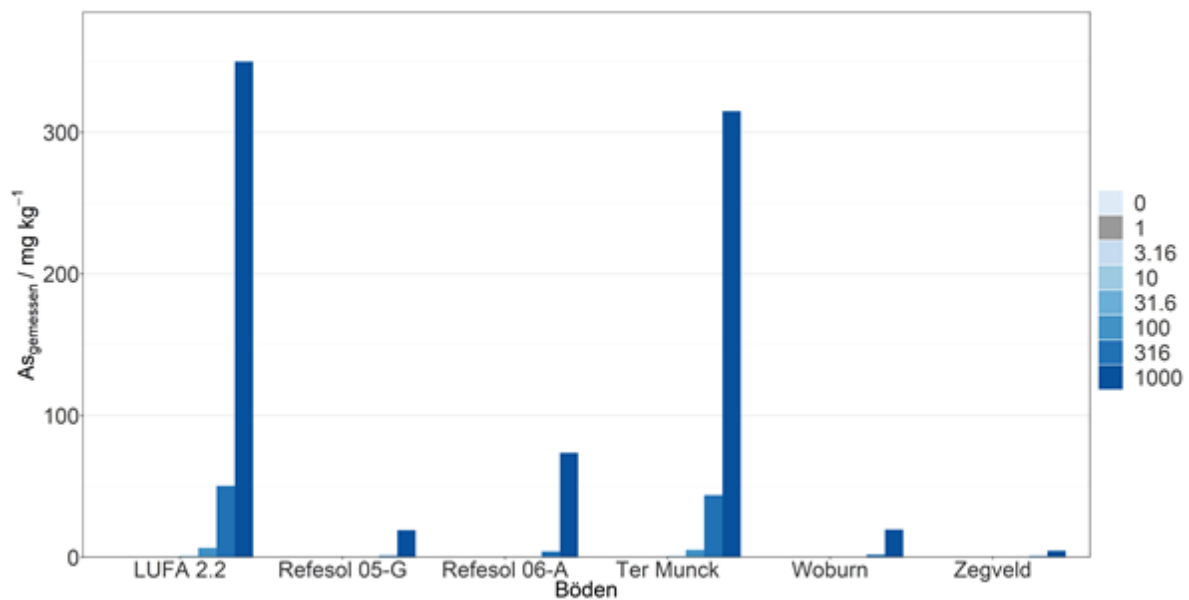
Boden	Zugabe [mg/kg]	Ca(NO ₃) ₂ [mg/kg]	NH ₄ NO ₃ [mg/kg]	CaCl ₂ [mg/kg]	DTPA [mg/kg]	HNO ₃ [mg/kg]	Königswasser [mg/kg]
Ter Munck	0	0,0142	0,0094	0,0198	0,23	0,875	2,95
Ter Munck	1	0,0696	0,021	0,0762	0,586	1,38	4,14
Ter Munck	3,16	0,184	0,0573	0,211	1,3	2,28	5,88
Ter Munck	10	0,631	0,191	0,715	4,38	5,28	12
Ter Munck	31,6	2,25	0,83	2,97	12,4	17,2	35
Ter Munck	100	14,1	5,24	14,3	50,1	56,1	105
Ter Munck	316	83,8	43,9	78,8	199	236	331
Ter Munck	1000	421	315	395	789	859	1020
Woburn	0	0,0329	0,00572	0,0195	0,51	6,41	46,2
Woburn	1	0,0379	0,00794	0,0277	0,565	6,49	48
Woburn	3,16	0,0544	0,00974	0,0387	0,808	7,38	49,6
Woburn	10	0,0941	0,0143	0,0738	1,46	9,93	57,8
Woburn	31,6	0,157	0,0198	0,092	3,32	22,4	77,7
Woburn	100	0,614	0,0793	0,366	9,51	28,5	148
Woburn	316	11,3	1,85	9,9	69,5	149	381
Woburn	1000	100	19,6	75,4	304	587	1070
Zegveld	0	0,0243	0,0465	0,0359	0,236	4,53	12,2
Zegveld	1	0,0493	0,0291	0,0379	0,275	4,92	11,2
Zegveld	3,16	0,0468	0,0232	0,0536	0,422	5,42	14,6
Zegveld	10	0,0866	0,0303	0,0998	0,888	7,75	21,9
Zegveld	31,6	0,181	0,0694	0,328	2,75	21,5	47,5
Zegveld	100	0,599	0,202	1,13	9,18	56	122
Zegveld	316	2,59	0,905	5,11	33,6	107	315
Zegveld	1000	16,5	4,57	25,8	151	577	1130

Abbildung 49: Extraktion von As mit $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen As-Gehalten (in mg/kg)



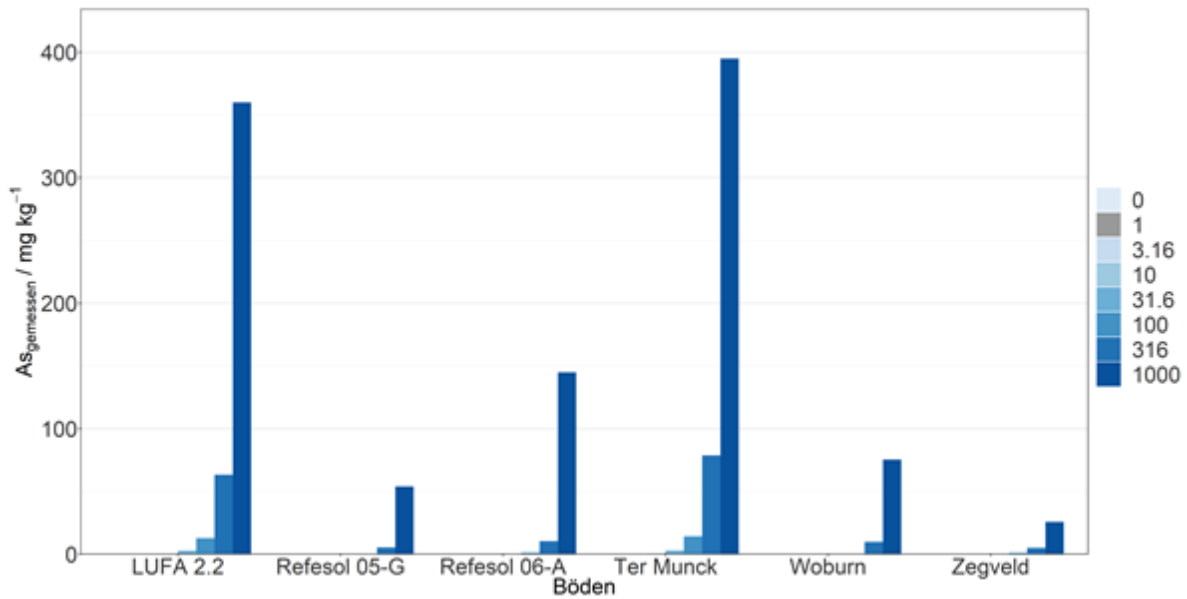
Quelle: eigene Darstellung, BGR Hannover

Abbildung 50: Extraktion von As mit NH_4NO_3 in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen As-Gehalten (in mg/kg)



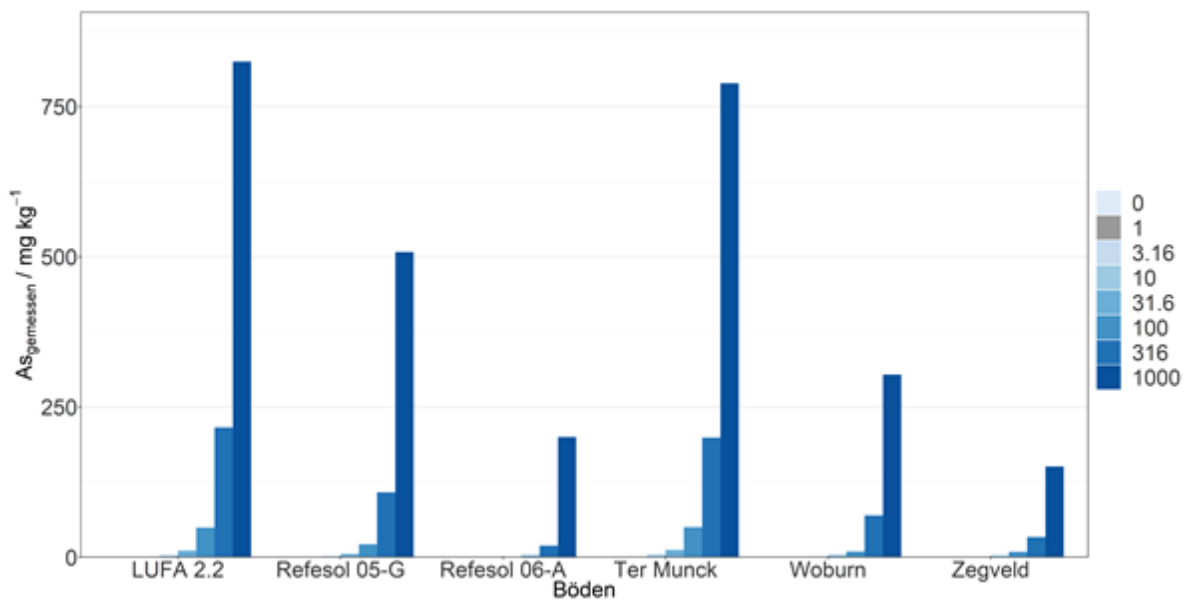
Quelle: eigene Darstellung, BGR Hannover

Abbildung 51: Extraktion von As mit CaCl_2 in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen As-Gehalten (in mg/kg)



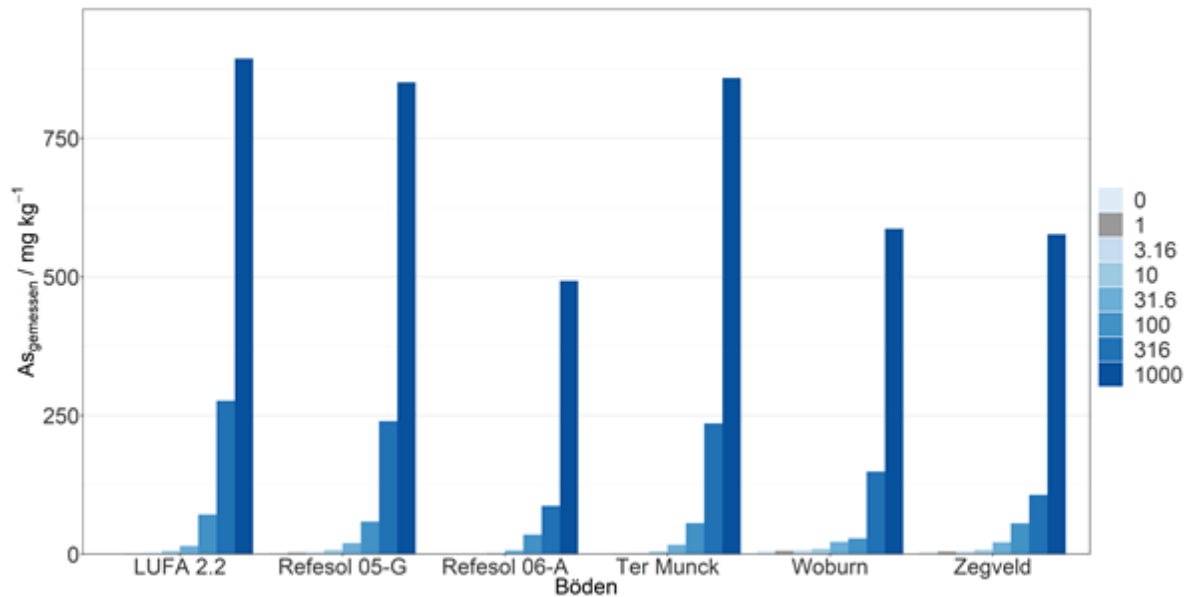
Quelle: eigene Darstellung, BGR Hannover

Abbildung 52: Extraktion von As mit DTPA in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen As-Gehalten (in mg/kg)



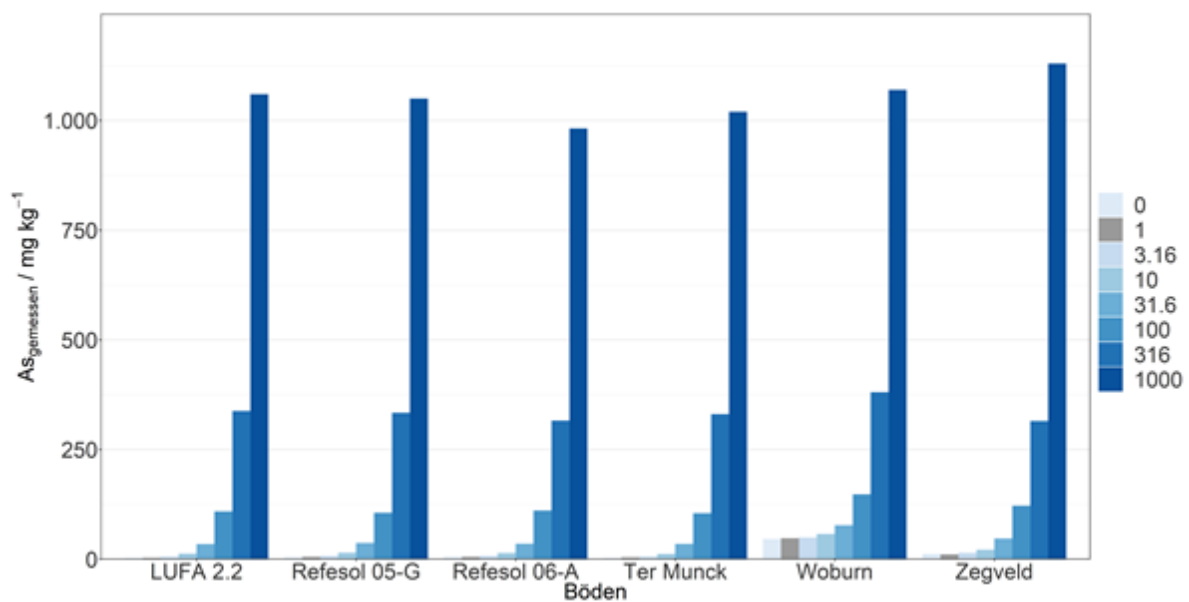
Quelle: eigene Darstellung, BGR Hannover

Abbildung 53: Extraktion von As mit HNO_3 in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen As-Gehalten (in mg/kg)



Quelle: eigene Darstellung, BGR Hannover

Abbildung 54: Extraktion von As mit Königswasser in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen As-Gehalten (in mg/kg)



Quelle: eigene Darstellung, BGR Hannover

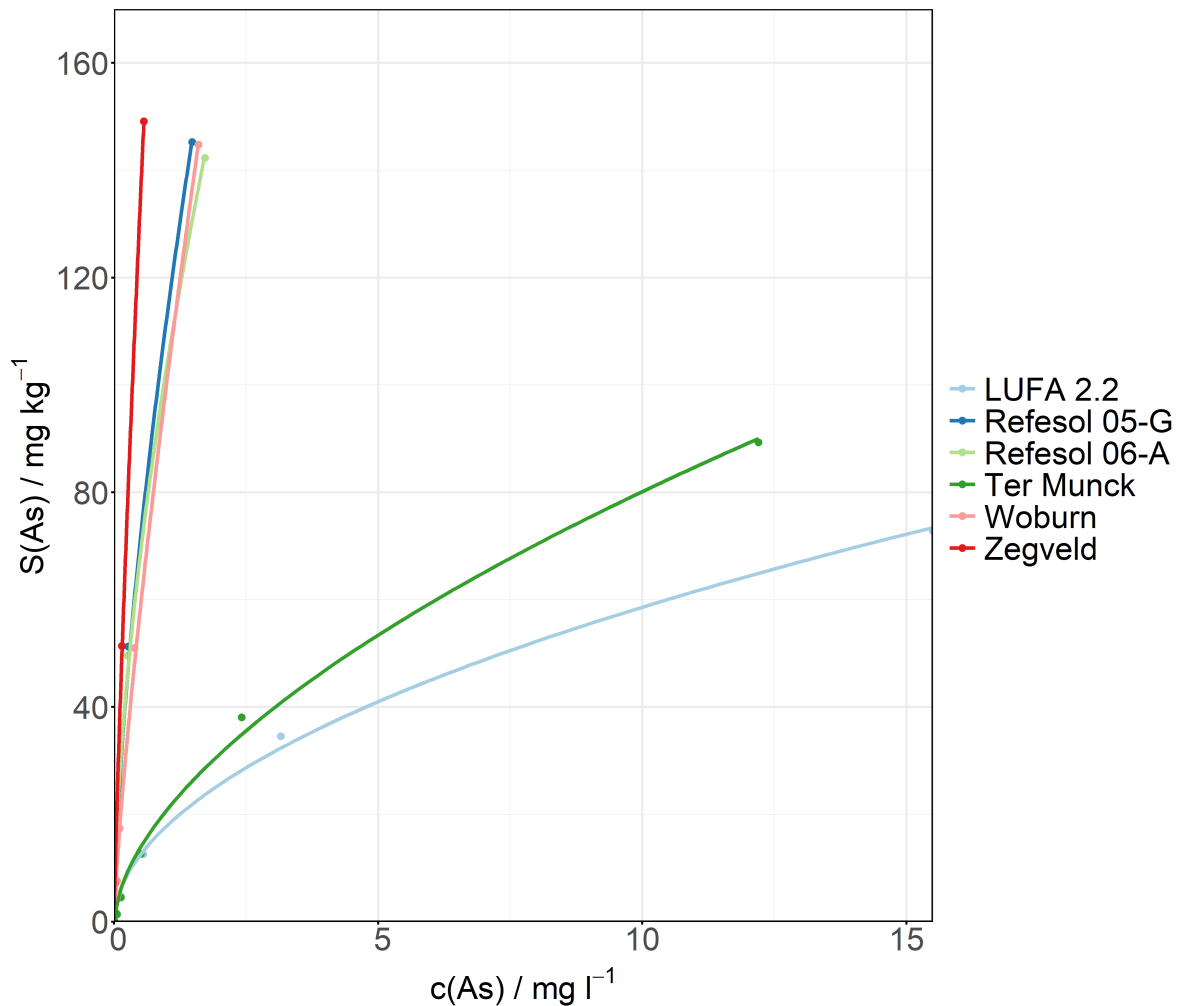
Die Stärke der verschiedenen Extraktionsverfahren nahm für As bei allen Böden in der Reihenfolge $KW > HNO_3 > DTPA \text{ Ca(NO}_3)_2 \geq CaCl_2 > NH_4NO_3$ ab. Bei den meisten Böden extrahieren die Neutral-salzlösungen $Ca(NO_3)_2$, $CaCl_2$ und NH_4NO_3 deutlich weniger als die anderen drei Methoden. Dabei wurde durch die drei schwächsten Extraktionsmittel $Ca(NO_3)_2$, $CaCl_2$ und NH_4NO_3 aus den Böden Ter Munck und LUFA 2.2 die größte Menge As extrahiert. Beide Böden haben im Vergleich der sechs Böden die niedrigsten Gehalte von organischer Substanz und Ton und somit wenige Bindungsmöglichkeiten für Arsen. Bei den stärkeren Extraktionsmitteln DTPA und HNO_3 wurde zusätzlich aus dem Refesol 05-G ein größerer Anteil extrahiert. Dieser Boden hat die drittniedrigsten C_{org} - und Ton-Gehalte der untersuchten Böden. Die niedrigsten Extraktionsanteile wies der Boden Zegveld auf, bei dem Verfahren mit HNO_3 kam der Refesol 06-A auf die niedrigsten Extraktionsanteile beim Vergleich der sechs Böden. Der Zegveld-Boden hat einen sehr hohen Gehalt von C_{org} und einen hohen Ton-Gehalt, welches beides Bodeneigenschaften sind, die üblicherweise auf eine hohe Bindung von Stoffen oder Ionen im Boden schließen lassen. Beim Woburn-Boden deutete der hohe Eisenoxid-Gehalt auf eine hohe As-Bindung hin, was sich in den niedrigen Messwerten in den Extraktionsverfahren widerspiegelte.

7.3 Bestimmung der Sorptionsisothermen

Parallel wurden die Sorptionsisothermen der untersuchten Böden für As experimentell bestimmt. Dabei wurde dem Ansatz von Gäbler et al. (2009) und Stange & Rückamp (2016) gefolgt, bei dem die bodenspezifische Ionenstärke über einen $Ca(NO_3)_2$ -Begleitelektrolyten eingestellt wird. Die initial sorbierten Element-Gehalte wurden mit einem mathematischen Verfahren aus den experimentellen Daten der untersten beiden Konzentrationsstufen berechnet (Stange & Rückamp 2016). An die Daten wurden mittels nicht-linearer Regression Freundlich-Adsorptionsisothermen angepasst (Abbildung 55). Die entsprechenden Ergebnisse für Kupfer und Nickel finden sich im Anhang zu diesem Bericht (Kap. 12.5 und 12.10).

Tabelle 35 stellt die Koeffizienten der Sorptionsisothermen dar. Das geringste Bindungsvermögen für Arsen zeigen die Böden LUFA 2.2 und Ter Munck, welche die niedrigsten Freundlich-Koeffizienten und -Exponenten aufweisen. Dies sind die Böden mit den geringsten Gehalten von C_{org} und Ton, aus denen bei den Extraktionsexperimenten die größte Menge Arsen extrahiert wird. Die stärkste As-Bindung zeigt der ton- und C_{org} -reiche Zegveld-Boden, dessen Sorptionsisotherme vor allem einen hohen Freundlich-Exponenten hat.

Abbildung 55: Isothermen für die Sorption von As an den sechs getesteten Böden. Die Punkte markieren die Labormesswerte und die Linien sind die mittels nichtlinearer Anpassung abgeleiteten Sorptionsisothermen nach dem Freundlich-Modell. Die initial sorbierten Element-Gehalte wurden nach Stange & Rückamp (2016) ermittelt



Quelle: eigene Darstellung, BGR Hannover

Tabelle 35: Freundlich-Adsorptionsisothermen für die Sorption von Arsen an den untersuchten Böden (K_f = Freundlich-Koeffizient, n = Freundlich-Exponent, RSE = „Residual standard error“ der nicht-linearen Regression)

Boden	K_f	n	RSE
LUFA 2.2	510	0,52	1646
Refesol 05-G	1216	0,66	2518
Refesol 06-A	1739	0,59	2544
Ter Munck	366	0,59	2403
Woburn	467	0,78	2248
Zegveld	835	0,82	1397

8 Vorschlag zur Ableitung von Bodenwerten für Arsen

8.1 Einführung in die Problematik

In diesem Arbeitspaket wurden die Ergebnisse der in den verschiedenen Böden durchgeführten ökotoxikologischen Tests mit den jeweiligen chemischen Rückstandsdaten zusammengeführt. Ziel dieses Arbeitsschritts war es, diejenige Extraktionsmethode zu identifizieren, die die Bioverfügbarkeit am besten widerspiegelt. Alle bisher als nominale Bodenkonzentration von Arsen angegebenen ECx-Werte wurden als gemessene Gesamtfraktion oder als extrahierbare Fraktion mittels linearer Interpolation umgerechnet, wozu jeweils die beiden darunter und darüber gelegenen Arsenkonzentrationen verwendet wurden. Zum Beispiel wurde der nominale EC₅₀-Wert von 250 mg As/kg Boden auf Basis der bei 100 und 316 mg As/kg extrahierten Arsengehalte umgerechnet. Die As-Hintergrundkonzentration der jeweiligen Böden sind in den Ergebnissen für alle Extrakte enthalten. Die berechneten ECx-Werte basieren daher alle auf den jeweiligen Extrakten einschließlich sowohl der zugesetzten As-Dosis als auch der As-Hintergrundkonzentration in diesen Böden. Die für die Bioverfügbarkeit repräsentativste Extraktionsmethode wird den größten Teil der Toxizitätsvariabilität für den jeweiligen Endpunkt in den getesteten Böden eliminieren. Die Beurteilung basierte auf der Verwendung folgender Kriterien:

- ▶ Minimale Variabilität der EC₅₀- und EC₁₀-Werte für den gleichen biologischen Messendpunkt in den verschiedenen Böden, quantifiziert anhand:
 - ▶ des Maximum/Minimum-Verhältnisses;
 - ▶ des Variationskoeffizienten (Standardabweichung/Mittelwert);
 - ▶ der Relativen Spannweite ((Maximum-Minimum)/Mittelwert).
- ▶ Die beste Anpassung einer einzelnen log-logistischen Konzentrations-Wirkungs-Kurve für alle Daten eines Messendpunkts mit allen Böden, beurteilt anhand der minimalen Wurzel der mittleren Fehlerquadratsumme (root-mean-square error; RMSE) sowie maximalen r^2 .
- ▶ Die minimale Variabilität der HC₅-50-Werte (vgl. Aldenberg & Jaworska 2000) der "Species Sensitivity Distributions (SSD)" für jeden einzelnen Boden, quantifiziert anhand:
 - ▶ des Maximum/Minimum-Verhältnisses;
 - ▶ des Variationskoeffizienten (Standardabweichung/Mittelwert);
 - ▶ der relativen Spannweite ((Maximum-Minimum)/Mittelwert).

Darüber hinaus wurde überprüft, ob die verbleibende Variabilität der ECx- bzw. der HC₅-50-Werte für alle Böden mit der Variabilität der Eigenschaften der getesteten Böden korreliert ist.

8.2 Toxizitätswerte für Arsen

8.2.1 Überblick über die erarbeiteten EC₁₀- und EC₅₀-Werte pro Testsystem

Die EC₁₀- und EC₅₀-Werte sind Tabelle 36 bis Tabelle 43 zu entnehmen. Sie werden für jeden Endpunkt als gemessene gesamte oder extrahierbare Konzentration angegeben. Diese Daten zeigen, dass sich die Arsentoxizität, basierend auf der jeweiligen Gesamtkonzentration, um ca. den Faktor 20 in den Böden für denselben Endpunkt unterscheiden kann. Daher ist sie zur Beurteilung der Bioverfügbarkeit bzw. der Toxizität nicht gut geeignet. Diejenige Extraktionsmethode, die die Unterschiede zwischen den Böden hinsichtlich Bioverfügbarkeit (bzw. Toxizität) am besten erklärt, ist also diejenige, bei der die Variabilität der Toxizität am geringsten ist. Sie unterscheidet sich je nach Endpunkt bzw. Effektstärke (EC₁₀ und EC₅₀).

Tabelle 36: Variabilität der EC₁₀- und EC₅₀-Werte (mg As/kg Boden) zur Arsentoxizität für den Endpunkt Sprossbiomasse von *Avena sativa* in sechs Böden, angegeben als nominale bzw. gemessene Gesamt- und extrahierbare Arsen-Konzentration. Die Indizes mit der geringsten Variabilität in der Toxizität zwischen den Böden sind fett gedruckt. CV = Variationskoeffizient (Standardabweichung/Mittelwert * 100), RS = Relative Spannweite ((Maximum-Minimum)/Mittelwert)

Boden	Nominal	Ca(NO ₃) ₂	1 M NH ₄ NO ₃	0,01 M CaCl ₂	DTPA/CaCl ₂	0,43 M HNO ₃	Königswasser
EC₁₀							
LUFA 2.2	18,4	0,96	0,36	1,22	6,22	10,2	21,1
Refesol 05-G	32,7	0,10	0,02	0,11	5,72	20,7	38,1
Refesol 06-A	134,2	2,44	0,77	2,12	4,67	45,6	145,6
Ter Munck	11,6	0,74	0,23	0,85	5,02	6,1	13,5
Woburn	102,8	0,67	0,09	0,41	9,94	29,4	150,9
Zegveld	51,7	0,29	0,10	0,54	4,50	32,0	69,7
Max/min Verh.	11,6	23,6	32,7	19,7	2,2	7,5	11,1
CV (%)	84,4	95,9	106,3	82,1	33,8	61,4	83,8
RS	2,1	2,7	2,9	2,3	0,9	1,6	1,9
EC₅₀							
LUFA 2.2	41,4	3,09	1,36	3,85	15,3	21,0	45,0
Refesol 05-G	70,3	0,28	0,05	0,31	13,8	41,8	76,4
Refesol 06-A	221,4	6,30	2,05	5,35	10,5	68,4	230,3
Ter Munck	37,2	2,86	1,06	3,64	14,9	20,2	40,7
Woburn	238,4	5,98	0,96	5,09	41,6	94,3	295,3
Zegveld	246,4	1,84	0,62	3,59	25,0	99,5	259,4
Max/min Verh.	6,6	22,2	40,6	17,4	4,0	4,9	7,3
CV (%)	72,1	69,3	66,3	49,4	57,2	61,3	73,6
RS	1,5	1,8	2,0	1,4	1,5	1,4	1,6

Tabelle 37: Variabilität der EC₁₀- und EC₅₀-Werte (mg As/kg Boden) zur Arsentoxizität für den Endpunkt Sprossbiomasse von *Solanum lycopersicum* in sechs Böden, angegeben als nominale bzw. gemessene Gesamt- und extrahierbare Arsen-Konzentration. Die Indizes mit der geringsten Variabilität in der Toxizität zwischen den Böden sind fett gedruckt. CV = Variationskoeffizient (Standardabweichung/Mittelwert * 100), RS = Relative Spannweite ((Maximum-Minimum)/Mittelwert)

Boden	Nominal	Ca(NO ₃) ₂	1 M NH ₄ NO ₃	0,01 M CaCl ₂	DTPA/CaCl ₂	0,43 M HNO ₃	Königswasser
EC₁₀							
LUFA 2.2	6,9	0,26	0,08	0,32	2,16	4,5	9,3
Refesol 05-G	28,3	0,09	0,02	0,09	4,99	18,0	33,7
Refesol 06-A	227,6	6,64	2,16	5,63	10,98	69,8	236,1
Ter Munck	28,4	1,99	0,72	2,57	11,30	15,2	31,3
Woburn	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Zegveld	52,3	0,30	0,10	0,55	4,55	32,3	70,3
Max/min Verh.	32,8	74,7	116,1	61,6	5,2	15,5	25,3
CV (%)	131,4	150,1	147,8	127,8	60,5	90,8	120,9
RS	3,2	3,5	3,5	3,0	1,3	2,3	3,0
EC₅₀							
LUFA 2.2	41,4	3,09	1,36	3,85	15,3	21,0	45,1
Refesol 05-G	97,5	0,46	0,09	0,52	21,0	57,3	103,5
Refesol 06-A	323,8	13,41	4,45	11,17	20,3	90,2	323,7
Ter Munck	95,3	12,98	4,82	13,31	47,0	53,3	100,2
Woburn	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Zegveld	174,6	1,17	0,39	2,25	16,8	82,9	195,5
Max/min Verh.	7,8	28,9	53,5	25,6	3,1	4,3	7,2
CV (%)	75,0	103,4	101,6	91,1	54,1	45,0	71,2
RS	1,9	2,1	2,1	2,1	1,3	1,1	1,8

n.b. = Nicht bestimmbar, da ohne Konzentrations-Wirkungs-Beziehung

Tabelle 38: Variabilität der EC₁₀- und EC₅₀-Werte (mg As/kg Boden) zur Arsentoxizität für den Endpunkt Wurzellänge von *Hordeum vulgare* in sechs Böden, angegeben als nominale bzw. gemessene Gesamt- und extrahierbare Arsen-Konzentration. Die Indizes mit der geringsten Variabilität in der Toxizität zwischen den Böden sind fett gedruckt. CV = Variationskoeffizient (Standardabweichung/Mittelwert * 100), RS = Relative Spannweite ((Maximum-Minimum)/Mittelwert)

Boden	Nominal	Ca(NO ₃) ₂	1 M NH ₄ NO ₃	0,01 M CaCl ₂	DTPA/CaCl ₂	0,43 M HNO ₃	Königswasser
EC₁₀							
LUFA 2.2	46,2	3,71	1,64	4,44	17,56	24,1	50,1
Refesol 05-G	85,1	0,38	0,07	0,42	17,59	50,2	91,2
Refesol 06-A	319,4	12,89	4,26	10,79	19,73	88,6	319,3
Ter Munck	13,9	0,89	0,28	1,05	5,92	7,2	15,8
Woburn	57,0	0,30	0,04	0,18	5,60	29,2	103,5
Zegveld	27,7	0,17	0,05	0,28	2,37	18,3	42,4
Max/min Verh.	23,0	76,7	114,3	61,6	8,3	12,3	20,2
CV (%)	124,8	163,6	159,5	147,3	66,5	80,8	106,5
RS	3,3	4,2	4,0	3,7	1,5	2,2	2,9
EC₅₀							
LUFA 2.2	156,4	26,56	14,19	23,10	85,0	118,2	168,8
Refesol 05-G	176,8	1,39	0,32	1,70	46,1	113,8	185,7
Refesol 06-A	555,3	53,34	19,03	40,17	60,9	195,3	550,2
Ter Munck	56,9	5,52	2,04	6,37	24,5	31,0	60,8
Woburn	328,6	12,14	2,01	10,56	72,8	155,5	394,1
Zegveld	195,4	1,35	0,45	2,62	19,1	88,7	214,7
Max/min Verh.	9,8	39,4	58,8	23,6	4,4	6,3	9,1
CV (%)	71,6	121,3	128,3	106,2	51,2	48,0	67,7
RS	2,0	3,1	3,0	2,7	1,3	1,4	1,9

Tabelle 39: Variabilität der EC₁₀- und EC₅₀-Werte (mg As/kg Boden) zur Arsentoxizität für den Endpunkt Regenwurm-Reproduktion (*Eisenia fetida*) in sechs Böden, angegeben als nominale bzw. gemessene Gesamt- und extrahierbare Arsen-Konzentration. Die Indizes mit der geringsten Variabilität in der Toxizität zwischen den Böden sind fett gedruckt. CV = Variationskoeffizient (Standardabweichung/Mittelwert * 100), RS = Relative Spannweite ((Maximum-Minimum)/Mittelwert)

Boden	Nominal	Ca(NO ₃) ₂	1 M NH ₄ NO ₃	0,01 M CaCl ₂	DTPA/CaCl ₂	0,43 M HNO ₃	Königswasser
EC₁₀							
LUFA 2.2	60,4	5,81	2,64	6,32	24,74	34,5	65,3
Refesol 05-G	413,1	7,44	2,38	9,32	150,87	318,6	435,4
Refesol 06-A	188,3	4,62	1,49	3,95	8,01	60,3	198,9
Ter Munck	32,0	2,29	0,85	3,02	12,58	17,4	35,4
Woburn	272,8	8,13	1,33	7,03	53,08	117,0	333,0
Zegveld	237,2	1,74	0,59	3,40	23,88	97,9	251,6
Max/min Verh.	12,9	4,7	4,5	3,1	18,8	18,3	12,3
CV (%)	70,5	52,5	53,0	44,9	118,5	102,1	70,0
RS	1,9	1,3	1,3	1,1	3,1	2,8	1,8
EC₅₀							
LUFA 2.2	102,9	14,66	6,96	13,37	51,1	73,9	112,1
Refesol 05-G	453,6	9,02	3,03	11,22	170,1	352,2	477,8
Refesol 06-A	289,4	10,55	3,46	8,88	16,6	82,6	292,6
Ter Munck	54,0	5,07	1,88	5,94	23,0	29,4	57,8
Woburn	383,3	16,13	2,76	13,67	87,4	184,2	451,0
Zegveld	877,0	13,16	3,73	21,10	125,3	467,5	967,4
Max/min Verh.	16,2	3,2	3,7	3,6	10,3	15,9	16,7
CV (%)	82,5	35,5	48,1	41,9	76,7	88,4	83,7
RS	2,3	1,0	1,4	1,2	1,9	2,2	2,3

Tabelle 40: Variabilität der EC₁₀- und EC₅₀-Werte (mg As/kg Boden) zur Arsentoxizität für den Endpunkt Collembolen-Reproduktion (*Folsomia candida*) in sechs Böden, angegeben als nominale bzw. gemessene Gesamt- und extrahierbare Arsen-Konzentration. Die Indizes mit der geringsten Variabilität in der Toxizität zwischen den Böden sind fett gedruckt. CV = Variationskoeffizient (Standardabweichung/Mittelwert * 100), RS = Relative Spannweite ((Maximum-Minimum)/Mittelwert)

Boden	Nominal	Ca(NO ₃) ₂	1 M NH ₄ NO ₃	0,01 M CaCl ₂	DTPA/CaCl ₂	0,43 M HNO ₃	Königswasser
EC₁₀							
LUFA 2.2	32,2	2,08	0,89	2,82	11,34	15,4	35,5
Refesol 05-G	129,4	0,77	0,16	0,91	30,21	78,6	136,3
Refesol 06-A	147,4	2,91	0,92	2,51	5,41	49,4	158,8
Ter Munck	36,4	2,77	1,02	3,55	14,56	19,8	39,9
Woburn	103,7	0,69	0,09	0,43	10,08	29,7	151,9
Zegveld	252,0	1,89	0,64	3,70	25,64	100,5	264,1
Max/min Verh.	7,8	4,2	11,2	8,6	5,6	6,5	7,4
CV (%)	69,7	51,4	64,9	58,7	59,6	70,1	65,1
RS	1,9	1,2	1,5	1,4	1,5	1,7	1,7
EC₅₀							
LUFA 2.2	51,0	4,37	1,96	5,05	19,9	27,5	55,3
Refesol 05-G	285,0	3,49	0,91	4,46	92,2	208,9	300,5
Refesol 06-A	344,3	15,91	5,35	13,03	23,0	98,2	343,7
Ter Munck	80,9	9,83	3,65	10,46	38,0	44,8	85,4
Woburn	230,5	5,53	0,89	4,69	39,1	89,4	286,6
Zegveld	678,2	8,53	2,54	14,41	88,1	313,6	719,3
Max/min Verh.	13,3	4,6	6,0	3,2	4,6	11,4	13,0
CV (%)	81,5	57,9	67,7	52,0	64,0	84,3	79,8
RS	2,3	1,6	1,8	1,1	1,4	2,2	2,2

Tabelle 41: Variabilität der EC₁₀- und EC₅₀-Werte (mg As/kg Boden) zur Arsentoxizität für den Endpunkt Regenwurm-Vermeidung (*Eisenia andrei*) in sechs Böden, angegeben als nominale bzw. gemessene Gesamt- und extrahierbare Arsen-Konzentration. Die Indizes mit der geringsten Variabilität in der Toxizität zwischen den Böden sind fett gedruckt. CV = Variationskoeffizient (Standardabweichung/Mittelwert * 100), RS = Relative Spannweite ((Maximum-Minimum)/Mittelwert)

Boden	Nominal	Ca(NO ₃) ₂	1 M NH ₄ NO ₃	0,01 M CaCl ₂	DTPA/CaCl ₂	0,43 M HNO ₃	Königswasser
EC₁₀							
LUFA 2.2	#	#	#	#	#	#	#
Refesol 05-G	22,1	0,07	0,01	0,07	3,98	14,3	27,5
Refesol 06-A	48,4	0,47	0,15	0,41	1,09	12,1	53,0
Ter Munck	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Woburn	27,0	0,15	0,02	0,10	2,95	19,2	74,0
Zegveld	15,0	0,11	0,03	0,14	1,26	10,1	27,2
Max/min Verh.	3,2	6,6	11,5	5,8	3,7	1,9	2,7
CV (%)	51,2	90,1	121,6	86,5	60,0	28,0	49,7
RS	1,2	2,0	2,6	1,9	1,2	0,7	1,0
EC₅₀							
LUFA 2.2	453,1	127,81	89,57	105,38	322,5	398,5	483,1
Refesol 05-G	297,8	3,81	1,00	4,87	98,6	221,6	314,4
Refesol 06-A	1041,1	219,34	80,52	157,94	216,9	526,8	1021,6
Ter Munck	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Woburn	576,1	34,66	6,38	27,70	144,9	294,7	648,8
Zegveld	309,4	2,51	0,88	4,96	32,8	106,7	310,0
Max/min Verh.	3,5	87,2	102,2	32,4	9,8	4,9	3,3
CV (%)	56,9	121,4	126,8	113,8	68,4	52,1	53,2
RS	1,4	2,8	2,5	2,5	1,8	1,4	1,3

= Berechnete EC₁₀ nicht belastbar, da niedriger als die niedrigste getestete Konzentration (nominale Konzentration 10 mg As/kg Boden). n.b. = Nicht bestimmbar, da ohne Konzentrations-Wirkungs-Beziehung

Tabelle 42: Variabilität der EC₁₀- und EC₅₀-Werte (mg As/kg Boden) zur Arsentoxizität für den Endpunkt Dehydrogenaseaktivität (*Arthrobacter globiformis*) in sechs Böden, angegeben als nominale bzw. gemessene Gesamt- und extrahierbare Arsen-Konzentration. Die Indizes mit der geringsten Variabilität in der Toxizität zwischen den Böden sind fett gedruckt. CV = Variationskoeffizient (Standardabweichung/Mittelwert * 100), RS = Relative Spannweite ((Maximum-Minimum)/Mittelwert)

Boden	Nominal	Ca(NO ₃) ₂	1 M NH ₄ NO ₃	0,01 M CaCl ₂	DTPA/CaCl ₂	0,43 M HNO ₃	Königswasser
EC₁₀							
LUFA 2.2	#	#	#	#	#	#	#
Refesol 05-G	103,5	0,51	0,10	0,58	22,67	61,1	109,6
Refesol 06-A	#	#	#	#	#	#	#
Ter Munck	40,9	3,30	1,22	4,11	16,62	22,2	44,5
Woburn	112,6	0,88	0,12	0,59	11,48	32,8	161,1
Zegveld	#	#	#	#	#	#	#
Max/min Verh.	2,8	6,4	12,0	7,1	2,0	2,8	3,6
CV (%)	45,6	96,7	132,9	115,6	33,1	52,0	55,6
RS	0,8	1,8	2,3	2,0	0,7	1,0	1,1
EC₅₀							
LUFA 2.2	367,9	96,73	64,00	78,26	255,4	322,9	392,9
Refesol 05-G	431,9	8,15	2,68	10,18	159,7	334,2	455,1
Refesol 06-A	289,9	10,58	3,48	8,91	16,6	82,7	293,0
Ter Munck	555,3	177,52	111,35	166,76	380,6	436,2	575,3
Woburn	983,2	96,77	18,94	73,07	296,8	574,1	1053,7
Zegveld	460,2	4,57	1,47	8,37	53,2	177,8	468,6
Max/min Verh.	3,4	38,8	75,7	19,9	22,9	6,9	3,6
CV (%)	47,8	106,6	133,4	108,8	73,6	54,8	49,7
RS	1,3	2,6	3,3	2,8	1,9	1,5	1,4

= Berechnete EC₁₀ nicht belastbar, da niedriger als die niedrigste getestete Konzentration (nominale Konzentration 30 mg As/kg Boden TG)

Tabelle 43: Variabilität der EC₁₀- und EC₅₀-Werte (mg As/kg Boden) zur Arsentoxizität für den Endpunkt Stickstoff-Transformation in sechs Böden, angegeben als nominale bzw. gemessene Gesamt- und extrahierbare Arsen-Konzentration. Die Indizes mit der geringsten Variabilität in der Toxizität zwischen den Böden sind fett gedruckt. CV = Variationskoeffizient (Standardabweichung/Mittelwert * 100), RS = Relative Spannweite ((Maximum-Minimum)/Mittelwert)

Boden	Nominal	Ca(NO ₃) ₂	1 M NH ₄ NO ₃	0,01 M CaCl ₂	DTPA/CaCl ₂	0,43 M HNO ₃	Königswasser
EC₁₀							
LUFA 2.2	#	#	#	#	#	#	#
Refesol 05-G	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Refesol 06-A	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Ter Munck	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Woburn	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Zegveld	58,9	0,33	0,11	0,62	5,15	35,6	77,5
Max/min Verh.	--	--	--	--	--	--	--
CV (%)	--	--	--	--	--	--	--
RS	--	--	--	--	--	--	--
EC₅₀							
LUFA 2.2	855,2	318,53	264,84	279,03	679,9	761,1	907,5
Refesol 05-G	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Refesol 06-A	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Ter Munck	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Woburn	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Zegveld	1711,9	43,12	11,01	61,43	338,8	1426,7	2210,0
Max/min Verh.	2,0	7,4	24,1	4,5	2,0	1,9	2,4
CV (%)	47,2	107,7	130,1	90,4	47,3	43,0	59,1
RS	0,7	1,5	1,8	1,3	0,7	0,6	0,8

= Berechnete EC₁₀ nicht belastbar, da niedriger als die niedrigste getestete Konzentration (nominale Konzentration 20 mg As/kg Boden TG). n.b. = Nicht bestimmbar, da ohne Konzentrations-Wirkungs-Beziehung

Eine gute Repräsentativität für die Bioverfügbarkeit und die Toxizität von Metallen in Böden würde sich in ähnlichen Konzentrations-Wirkungs-Kurven für den gleichen Endpunkt in verschiedenen Böden widerspiegeln; d. h. alle Daten könnten zusammen in einer Konzentrations-Wirkungs-Kurve beschrieben werden. Die Anpassungsgüte einer generellen Konzentrations-Wirkungs-Kurve, basierend auf allen Daten mit allen Böden, ist in Tabelle 44 zusammengefasst.

Die Ergebnisse stimmen mit denjenigen überein, die sich bei der Bestimmung der besten Extraktionsmethode für die Arsentoxizität für jeden Endpunkt basierend auf der Variabilität der EC₁₀- und EC₅₀-Werte ergaben. Die DTPA-Extraktion scheint die beste Vorhersage der Arsentoxizität für Pflanzen zu erlauben, während neutrale Salzextrakte die beste Näherung der Reproduktionstoxizität von Invertebraten ergeben. Im Falle des Regenwurm-Vermeidungstests sowie den mikrobiellen Dehydrogenaseaktivitätstests verringerte sich bei keiner Extraktionsmethode die Variabilität der Arsentoxizität in den verschiedenen Böden signifikant. Beim Stickstoff-Transformationstest zeigte sich keine Erhöhung der Wirkung mit steigenden Arsenkonzentrationen, so dass keine Anpassung der Konzentrations-Wirkungs-Kurven möglich war (Tabelle 45).

Tabelle 44: Zusammenfassung der besten Anpassung an eine einzelne log-logistische-Konzentrations-Wirkungs-Kurve für alle Daten aller Böden zusammen pro Endpunkt. Der Extrakt mit der besten Anpassungsgüte der Konzentrations-Wirkungs-Kurve ist für jeden Endpunkt im Fettdruck wiedergegeben. RMSE = root mean square error, Wurzel der mittleren Fehlerquadratsumme

Endpunkt	Nominal	Ca(NO ₃) ₂	1 M NH ₄ NO ₃	0,01 M CaCl ₂	DTPA/CaCl ₂	0,43 M HNO ₃	Königswasser
RMSE							
<i>A. sativa</i> Sprossbiomasse	25,1	21,2	21,5	19,8	15,8	21,2	28,0
<i>S. lycopersicum</i> Sprossbiomasse	18,7	20,5	21,3	19,3	13,5	15,1	18,9
<i>H. vulgare</i> Wurzellänge	20,0	20,3	20,5	20,0	11,3	12,2	19,3
<i>E. fetida</i> Reproduktion	37,5	25,2	25,2	25,7	29,5	34,9	39,2
<i>F. candida</i> Reproduktion	36,0	30,1	30,7	30,9	32,3	34,7	36,0
<i>E. andrei</i> Vermeidung	34,0	37,8	37,2	39,3	37,2	34,4	34,0
Dehydrogenaseaktivität	15,7	18,4	18,9	18,1	18,2	16,4	16,2
Mikrob. N- Transform.	#	#	#	#	#	#	#
R²							
<i>A. sativa</i> Sprossbiomasse	0,60	0,71	0,71	0,75	0,84	0,71	0,50
<i>S. lycopersicum</i> Sprossbiomasse	0,73	0,67	0,64	0,71	0,86	0,82	0,72
<i>H. vulgare</i>	0,42	0,41	0,39	0,42	0,81	0,79	0,46

Endpunkt	Nominal	Ca(NO ₃) ₂	1 M NH ₄ NO ₃	0,01 M CaCl ₂	DTPA/CaCl ₂	0,43 M HNO ₃	Königswasser
Wurzellänge							
<i>E. fetida</i> Reproduktion	0,35	0,71	0,71	0,69	0,60	0,43	0,29
<i>F. candida</i> Reproduktion	0,43	0,60	0,59	0,58	0,54	0,47	0,43
<i>E. andrei</i> Vermeidung	0,29	0,12	0,14	0,05	0,14	0,27	0,28
Dehydrogenaseaktivität	0,77	0,69	0,67	0,70	0,70	0,76	0,76
Mikrob. N- Transform.	#	#	#	#	#	#	#

= Keine signifikante Anpassung

Tabelle 45: Beste Methodik für die Arsen-Bioverfügbarkeit und die getesteten Endpunkte

Testsystem	Endpunkt	Beste Extraktionsmethodik
<i>Avena sativa</i>	Sprossbiomasse	DTPA/CaCl ₂
<i>Solanum lycopersicum</i>	Sprossbiomasse	DTPA/CaCl ₂
<i>Hordeum vulgare</i>	Wurzellänge	DTPA/CaCl ₂
<i>Eisenia fetida</i>	Reproduktion	Ca(NO ₃) ₂ ≈ 0,01 M CaCl ₂ ≈ 1 M NH ₄ NO ₃
<i>Folsomia candida</i>	Reproduktion	Ca(NO ₃) ₂ ≈ 0,01 M CaCl ₂ ≈ 1 M NH ₄ NO ₃
<i>Eisenia andrei</i>	Vermeidung	Königswasser
<i>Arthrobacter globiformis</i>	Dehydrogenaseaktivität	Königswasser
Mikrobielle Gemeinschaft	Stickstoff-Transformation	Unklar

Unabhängig von der Variabilität der Arsentoizität in den verschiedenen Böden für den jeweiligen gemessenen Endpunkt kann man alle mit demselben Boden erhobenen Daten zusammen auswerten, um einen Bodenwert (entspricht dem "Environmental quality standard" (EQS)) für jeden Boden auszurechnen und diese dann untereinander zu vergleichen. Da für jeden Boden Daten von acht verschiedenen Endpunkten vorliegen, kann der Bodenwert mittels der als „Species Sensitivity Distribution“ (= SSD) bekannten statistischen Verteilungsmethode, basierend auf einer log-normal Verteilung, bestimmt werden (Aldenberg & Jaworska, 2000). Die HC₅-50-Werte der Verteilung der EC₁₀- und EC₅₀-Werte, basierend auf verschiedenen Extraktionsmethoden, wurden sowohl für einzelne EC_x-Werte als auch verschiedene Endpunkte berechnet und deren Unterschiede zwischen den Böden untersucht (Tabelle 46). Diese Ergebnisse zeigen, dass die ca. beim Faktor 10 liegende Variabilität der HC₅-50-Werte (wenn auf den Gesamtkonzentrationen basierend) auf ca. die Hälfte (Faktor 4 – 5) reduziert werden kann. Dabei hängt die Auswahl der besten Extraktionsmethode für die Bioverfügbarkeit und Toxizität von Arsen vom Wirkungs-niveau ab: bei Verwendung der EC₁₀-Werte ist die Extraktion mit 0,43 M HNO₃ zu empfehlen, während die DTPA-Extraktion bei Verwendung der EC₅₀-Werte eine bessere Näherung zeigt.

Tabelle 46: Variabilität der HC₅-50-Werte für Arsen in den einzelnen Böden, basierend auf einer "Species Sensitivity Distribution" (SSD) von EC₁₀- bzw. EC₅₀-Werten. Die Indizes mit der niedrigsten Variabilität sind im Fettdruck wiedergegeben

Boden	Nominal	Ca(NO ₃) ₂	1 M NH ₄ NO ₃	0,01 M CaCl ₂	DTPA/CaCl ₂	0,43 M HNO ₃	Königswasser
HC₅-50 der EC₁₀-Werte							
LUFA 2.2	5,6	0,18	0,06	0,24	1,67	3,5	7,5
Refesol 05-G	11,9	0,02	0,00	0,02	1,66	7,0	14,8
Refesol 06-A	49,6	0,46	0,14	0,41	1,07	13,6	55,1
Ter Munck	13,2	0,82	0,26	0,97	5,59	6,8	15,0
Woburn	23,1	0,07	0,01	0,04	1,86	11,9	60,1
Zegveld	10,4	0,06	0,02	0,09	0,82	8,3	19,3
Max/min Verh.	8,9	39,3	73,4	48,2	6,8	3,9	8,0
CV (%)	84,7	116,7	124,5	123,9	82,8	43,3	79,8
RS	2,3	3,0	3,1	3,2	2,3	1,2	1,8
HC₅-50 der EC₅₀-Werte							
LUFA 2.2	19,3	1,00	0,36	1,29	5,9	8,8	21,2
Refesol 05-G	60,9	0,20	0,03	0,22	11,2	34,2	65,5
Refesol 06-A	154,9	2,49	0,78	2,25	4,8	35,2	159,9
Ter Munck	16,6	0,86	0,24	1,12	5,7	7,6	18,2
Woburn	149,7	2,45	0,37	2,21	22,6	53,6	194,4
Zegveld	109,3	0,52	0,19	1,12	8,7	35,9	110,1
Max/min ratio	9,3	12,5	23,6	10,3	4,7	7,1	10,7
CV (%)	72,9	78,6	76,8	56,0	68,2	61,0	76,8
RS	1,6	1,8	2,3	1,5	1,8	1,6	1,9

CV = Variationskoeffizient (Standardabweichung/Mittelwert * 100); RS = Relativer Spannweite ((Maximum-Minimum)/Mittelwert).

8.2.2 Korrelation zwischen dem As-Gesamtgehalt und Bodeneigenschaften

Wie schon bei anderen Metallen (Smolders et al., 2009) wurde auch im Fall von Arsen die Korrelation der Toxizität basierend auf dem Gesamtgehalt mit verschiedenen Bodeneigenschaften untersucht. Die Regressionsanalyse (auf log-log-Basis) ergab, dass die Variabilität der auf dem Arsen-Gesamtgehalt basierenden EC₅₀-Werte über alle Böden hinweg und für alle untersuchten Endpunkte signifikant mit Bodeneigenschaften wie Tongehalt, oxalat-extrahierbaren Eisenoxiden, pH (0,01 M CaCl₂), KAK_{eff} sowie dem Gehalt an organischem Kohlenstoff korreliert (Tabelle 47). Dieser Zusammenhang mit Bodeneigenschaften wurde bevorzugt mittels EC₅₀-Werten beschrieben, da diese aufgrund schmalere Konfidenzintervalle eine robustere Auswertung erlauben und zudem weniger durch experimentelle Rahmenbedingungen wie die Wahl der Testkonzentrationen und ihres Abstands beeinflusst werden als NOEC- oder EC₁₀-Werte.

Tabelle 47: Korrelationskoeffizienten (r) für die log EC₅₀-Werte basierend auf den Gesamtgehalten (Königswasser) der Arsenkonzentrationen im Boden und den Bodeneigenschaften (log, außer für den pH-Wert). Die ausgewählten Modelle sind im Fettdruck wiedergegeben

Endpunkt	pH	% C _{org}	% Ton	KAK _{eff} (cmol _c /kg)	Al _{ox} (mg/kg)	Fe _{ox} (mg/kg)	Mn _{ox} (mg/kg)
<i>Avena sativa</i> Sprossbiomasse	0,24	0,77	0,91	0,95	0,70	0,90	0,43
<i>Solanum lycopersicum</i> Sprossbiomasse	0,46	0,46	0,89	0,81	0,74	0,77	0,78
<i>Hordeum vulgare</i> Wurzellänge	0,55	0,44	0,61	0,63	0,40	0,52	0,49
<i>Eisenia fetida</i> Reproduktion	-0,24	0,88	0,82	0,82	0,64	0,80	-0,05
<i>Folsomia candida</i> Reproduktion	-0,07	0,82	0,96	0,89	0,76	0,86	0,24
<i>Eisenia andrei</i> Vermeidung	0,97	-0,38	0,09	0,09	-0,04	-0,02	0,84
Dehydrogenaseaktivität	-0,27	0,13	0,01	0,15	-0,27	0,49	-0,32
Mikrobielle Stickstofftransformation	#	#	#	#	#	#	#
HC ₅ -50 / EC ₁₀ -Werte	0,63	0,29	0,68	0,67	0,33	0,71	0,71
HC ₅ -50 / EC ₅₀ -Werte	0,32	0,65	0,86	0,85	0,55	0,85	0,43

C_{org} = Organischer Gehalt; KAK_{eff} = effektive Kationenaustauschkapazität, d. h. die KAK beim pH des jeweiligen Bodens; Al_{ox}, Fe_{ox} und Mn_{ox} = Oxalat-extrahierbarer Aluminium, Eisen und Mangan-Gehalt. # = unzureichender Datensatz

Bei Pflanzen und der Reproduktion von Bodeninvertebraten waren die EC₅₀-Werte am stärksten mit dem Tongehalt, der KAK_{eff} und dem oxalat-extrahierbaren Eisengehalt (Fe_{ox}) der Böden korreliert. Der Tongehalt war sehr wahrscheinlich ein gutes Surrogat für die jeweilige Bindungskapazität des Bodens für Arsenat-Anionen, einschließlich der Oxide und dem Gehalt an organischem Material. Ein hoher Tongehalt resultiert in größeren Bindungsoberflächen und damit einer geringeren Verfügbarkeit bzw. Toxizität von Arsenat-Anionen im Boden. In ähnlicher Weise ist die KAK_{eff} (eine Angabe für die Bindungskapazität für Kationen) wahrscheinlich eine Maßzahl, die den Einfluss des Tongehalts sowie des organischen Materials (beide haben Bindungsstellen für Arsenat) integriert. Die Korrelation zwischen oxalat-extrahierbarem Eisen und der Toxizität von Arsenat (Song et al., 2006) und Molybdat (Oorts et al., 2016) wurde schon in früheren Arbeiten festgestellt. Aufgrund der hohen R²-Werte für alle fünf Endpunkte sowie der stichhaltigen mechanistischen Erklärung wurden die Regressionsmodelle mit dem Tongehalt für die Normalisierung der Toxizitätsdaten mit den jeweiligen Bodeneigenschaften ausgewählt. Die Daten aus dem Regenwurm-Vermeidungstest zeigten eine deutliche positive Korrelation mit dem pH-Wert (d. h. höhere EC₅₀-Werte und damit eine geringere Toxizität in Böden mit einem höheren pH-Wert). Keine deutlichen Korrelationen wurden dagegen in den mikrobiellen Tests gefunden. Alle ausgewählten Regressionsmodelle sind in Tabelle 48 dargestellt.

In gleicher Weise zeigten die auf den Gesamtkonzentrationen von Arsen basierenden HC₅-50-Werte für die einzelnen Böden (Tabelle 46) eine Korrelation mit den jeweiligen Bodeneigenschaften. Wie für die einzelnen Endpunkte bei den Pflanzentests sowie den Reproduktionstests mit Invertebraten wurde die beste Korrelation mit dem Tongehalt, der KAK_{eff} und dem oxalat-extrahierbarem

Eisengehalt (Fe_{ox}) der Böden gefunden (Tabelle 47). Ausgewählte Regressionen mit dem Tongehalt sind in Tabelle 48 aufgeführt. Dabei zeigten sich bei den HC_{5-50} / EC_{50} -Werten mehr signifikante Korrelationen mit Bodeneigenschaften als bei den HC_{5-50} / EC_{10} -Werten.

Tabelle 48: Zusammenfassung der ausgewählten linearen Regressionsmodelle zum Zusammenhang zwischen der Toxizität (log EC_{50} -Werte) von Arsen für Bodenorganismen mit den abiotischen Bodeneigenschaften

Endpunkt	Bodeneigenschaft	n	Korr. R^2	p	Steigung	5-95% Vertrauensbereich
<i>Avena sativa</i> Sprossbiomasse	log Ton	6	0,79	0,012	0,97	0,36 – 1,58
<i>Solanum lycopersicum</i> Sprossbiomasse	log Ton	5	0,73	0,040	0,71	0,06 – 1,36
<i>Hordeum vulgare</i> Wurzellänge	log Ton	6	0,21	0,199	0,55	-0,44 – 1,53
<i>Eisenia fetida</i> Reproduktion	log Ton	6	0,58	0,048	0,99	0,02 – 1,96
<i>Folsomia candida</i> Reproduktion	log Ton	6	0,89	0,003	1,07	0,62 – 1,52
<i>Eisenia andrei</i> Vermeidung	pH	5	0,92	0,006	0,22	0,12 – 0,32
Dehydrogenase- Aktivität	Keine signifikante Korrelation					
Mikrobielle Stickstoff-Transformation	Ungenügende Daten für eine Regressionsanalyse					
HC_{5-50} / EC_{10} -Werte	log Ton	6	0,34	0,134	0,65	-0,31 – 1,62
HC_{5-50} / EC_{50} -Werte	log Ton	6	0,67	0,029	1,02	0,17 – 1,87

Die jeweilige Steigung dieser Regressionen für die einzelnen Endpunkte wurde für die Normalisierung aller Toxizitätsdaten, in Übereinstimmung mit dem Ansatz von Smolders et al. (2009), genutzt. Die Normalisierung der jeweiligen Wirkdaten für die Auswirkung der Bodeneigenschaften erlaubt die Berechnung einer spezifischen Effektkonzentration zur Beschreibung der Auswirkungen von Arsen auf Bodenorganismen in einem zu untersuchenden Boden. Jeder EC_{10} - oder EC_{50} -Wert wurde für die Eigenschaften des zu untersuchenden Bodens normalisiert, wobei die Steigung der jeweiligen Regressionsfunktion (log-log basiert, Tabelle 48) und die folgende Gleichung verwendet wurden:

$$ECx_{\text{Referenz}} = ECx_{\text{Test}} * \left(\frac{\text{abiotischer Faktor}_{\text{Referenz}}}{\text{abiotischer Faktor}_{\text{Test}}} \right)^{\text{Steigung}} \quad \text{Gleichung 1}$$

Dabei ist mit "Referenz" der Boden gemeint, für den die jeweilige Effektkonzentration gültig sein soll und "Test" steht für den getesteten Boden. „Abiotischer Faktor“ ist die in dem Regressionsmodell ausgewählte Bodeneigenschaft. Für die mikrobiellen Endpunkte konnte kein geeignetes Regressionsmodell identifiziert werden – daher wurden nicht-normalisierte Toxizitätsdaten in diesem Fall für die Ableitung von Grenzkonzentrationen für Arsen in Böden verwendet.

Nach der Normalisierung wurde ein art- oder endpunktspezifischer Wert als geometrisches Mittel aller Daten für den jeweiligen Endpunkt jeder Art (oder eines mikrobiellen Prozesses) berechnet.

Schließlich wurde eine SSD an die jeweiligen EC_x-Mittelwerte angepasst. Danach wurde die median Gefahrenkonzentration für 5% aller Arten (HC₅-50), äquivalent zu einem 95%-Schutzniveau, als der Median des 5ten Perzentils dieser Verteilung bestimmt.

Diese abgeleiteten HC₅-50-Werte, basierend auf den spezifischen Eigenschaften der sechs getesteten Böden, wurden mit denjenigen HC₅-50-Werten verglichen, die aus der SSD (basierend auf den Daten nur für den jeweiligen Böden sowie denjenigen HC₅-50-Werten verglichen, die aufgrund der Korrelation zwischen Toxizitätsdaten und dem jeweiligen Tongehalt (Regressionsgleichungen zwischen log HC₅-50 und log Ton) bestimmt wurden. Diese Analyse zeigt, dass die Grenzwerte, die auf dem Arsen-Gesamtgehalt (korrigiert für die unterschiedlichen Tongehalte) basieren, die bodenspezifischen HC₅-50-Werte mit einer Abweichung um den Faktor 2 vorhersagen können (Tabelle 49). Das heißt, dass der Ansatz mittels einer Normalisierung aller Toxizitätsdaten (basierend auf endpunkt-spezifischen Korrelationen mit Bodeneigenschaften) zu einer besseren Abschätzung der HC₅-50-Werte führt als mittels einer direkten Korrelation von HC₅-50-Werten mit den jeweiligen Bodeneigenschaften. Auf diese Weise kann eine SSD auf der Grundlage aller Arten und Endpunkte erstellt werden – im Gegensatz zu einer SSD für einzelne Böden, bei der nur Daten für diesen einen Boden verwendet werden können. Damit kann ein aus verschiedenen Quellen stammender Datensatz (sofern diese Werte anhand akzeptierter, möglichst standardisierte Methoden erhoben wurden) eingesetzt werden und es ist nicht nötig, eine bestimmte Mindestanzahl von Daten für einen speziellen Böden generieren zu müssen.

Tabelle 49: Vorhersage der der bodenspezifischen HC₅-50-Werte, basierend auf dem Gesamtgehalt an Arsen sowie der Normalisierung für die verschiedenen Bodeneigenschaften

Boden	Beobachtete Werte	Vorhergesagte Werte basierend auf der Regression zwischen allen HC ₅ -50-Werten + Tongehalt	Faktor Abweichung	Vorhergesagte Werte basierend auf den HC ₅ -50-Werten auf Grundlage der Mittelwerte aller normalisierten Tox-Daten*	Faktor Abweichung
HC₅-50 der jeweiligen EC₁₀-Werte (mg As/kg Boden TG)					
LUFA 2.2	7,5	10,0	1,33	13,8	1,84
Refesol 05-G	14,8	19,2	1,30	27,4	1,86
Refesol 06-A	55,1	33,4	0,61	47,6	0,86
Ter Munck	15,0	13,8	0,92	22,5	1,50
Woburn	60,1	26,7	0,44	37,2	0,62
Zegveld	19,3	44,6	2,31	25,8	1,34
HC₅-50 der jeweiligen EC₅₀-Werte (mg As/kg Boden TG)					
LUFA 2.2	21,2	19,9	0,94	16,7	0,79
Refesol 05-G	65,5	54,9	0,84	58,2	0,89
Refesol 06-A	159,9	129,9	0,81	142,3	0,89
Ter Munck	18,2	32,8	1,81	31,2	1,72
Woburn	194,4	91,3	0,47	103,7	0,53
Zegveld	110,1	203,3	1,85	192,8	1,75

*Basis: Regressionsgleichungen für einzelne Endpunkte mit Bodeneigenschaften (Tabelle 48)

8.3 Ableitung der Bodenwerte für Arsen

8.3.1 Einleitung

Die Bundes-Bodenschutz- und Altlastenverordnung (BBodSchV 1999) führt Bodenwerte mit unterschiedlichem Schutzniveau auf: Vorsorge-, Prüf- und Maßnahmenwerte. Die Ableitung der Vorsorgewerte für Schwermetalle erfolgte bisher auf der Basis der Gesamtgehalte unter Einbeziehung der Ergebnisse von ökotoxikologischen Testverfahren für alle Trophiestufen (Throl 2000, Jänsch et al. 2007, Römbke & Jänsch 2007, Vogel et al. 2009, Terytze et al. 2010) sowie von Expertenwissen, inkl. der Einbeziehung von Hintergrundwerten (z.B. Vogel et al. 2009, Utermann & Düwel 2013). Die Ableitung stellt zudem in der Regel sicher, dass ein hinreichend deutlicher Abstand zu den festgelegten gefahrenbezogenen Prüfwerten für den Pfad Boden-Mensch besteht. Die Vorsorgewerte für die in der BBodSchV bislang enthaltenen Schwermetalle wurden nach Bodeneigenschaften (z. B. Bodenart, pH-Wert) differenziert.

Im Entwurf der gegenwärtig überarbeiteten Bundes-Bodenschutz- und Altlastenverordnung (E-BBodSchV, Bundestags-Drucksache 18/12213) wurden wegen der weiten Verbreitung Vorsorgewerte für Arsen aufgenommen. Diese orientieren an den 90. Perzentilwerten der bundesweit typischen Hintergrundgehalte von definierten Gruppen von Bodenausgangsgesteinen, welche dominierenden Bodenarten zugeordnet werden (Pers. Mittl. E. Giese, Umweltbundesamt Dessau, 26.06.2019). Die Vorsorgewerte für Arsen für Sand liegen bei 10 mg/kg, für Lehm/Schluff und Ton bei 20 mg/kg. Dies ist nahe an den gefahrenbezogenen Prüfwerten Boden-Mensch (Kinderspielflächen) in Höhe von 25 mg/kg; diese Werte sind jedoch im Bezug zu den Hintergrundwerten so vertretbar (E-BBodSchV, Bundestags-Drucksache 18/12213). Dabei wurden zur Abdeckung des Pfades Boden – Bodenorganismen ökotoxikologische Bodenwerte zusammengestellt. Aus diesen wird dann mittels einer SSD (Aldenberg & Jaworska 2000) eine HC5 auf der Basis von EC10-Werten (zusammengestellt, soweit vorhanden, aus der Literatur) errechnet. Die Exposition wird dabei mittels der jeweiligen Gesamtgehalte im Boden (d. h. mit Königswasser als Extraktionsmittel) gemessen. Wie in der Einleitung schon erwähnt, wird bei diesem Vorgehen allerdings die Gefährdung der Bodenorganismen oft überschätzt, da davon auszugehen ist, dass in vielen Böden nur ein geringerer Anteil des Arsens biologisch verfügbar ist.

8.3.2 Erarbeitung eines neuen Ableitungskonzepts

In diesem Vorhaben wurden sowohl die “aktuell” als auch “potentiell” verfügbaren Fraktionen eines Metalls im Boden durch die Bandbreite der verwendeten Extraktionsverfahren berücksichtigt (vgl. Hamels et al. 2014). Konkretes Ziel des Vorhabens war die Ableitung von vorsorgeorientierten Bodenwerten für Bodenorganismen auf der Grundlage der bioverfügbaren Anteile von Arsen. Dabei war insbesondere die Vollzugsrelevanz der vorgeschlagenen Bodenwerte zu beachten, z. B. durch einen Abgleich der vorgeschlagenen Werte mit dem natürlichen Hintergrundgehalt deutscher Böden sowie regulatorischen Bodenwerten anderer Staaten (siehe Kap. 9.3).

Die Ergebnisse des Vorhabens werden am Beispiel des Halbmetalls Arsen, unter besonderer Beachtung der Vollzugsrelevanz der vorgeschlagenen Werte vorgestellt. Im Verlauf des Vorhabens wurden zwei verschiedene Wege der Bodenwertableitung identifiziert und angewandt:

1. Umsetzung des neuen Konzepts auf der Basis der geeignetsten Extraktionsmethodik;
2. Umsetzung des neuen Konzepts auf der Basis des Arsen-Gesamtgehalts und der Normalisierung der Toxizitätsdaten.

Im Einzelnen besteht das vorgeschlagene Konzept aus den folgenden Schritten:

1. Die Bodenwerte werden aufgrund von Daten aus standardisierten Tests (primär der ISO) mit verschiedenen Vertretern der Bodenorganismengemeinschaft (Mikroorganismen, Pflanzen, Invertebraten) abgeleitet, d. h. es werden belastbare ECx-Werte generiert.

- | | |
|--|---|
| <p>2.a) Die ECx-Werte werden auf die mit der geeignetsten Extraktionsmethode ermittelten As-Konzentrationen bezogen.</p> <p>3.a) Der nach Schutzniveau differenzierte HC₅-50-Wert (d. h. getrennt nach EC₁₀- und EC₅₀-Werten) wird mittels einer SSD mit allen ECx-Werten aus Mikroorganismen, Pflanzen und Invertebraten für jeden Boden berechnet.</p> <p>4.a) Das geometrische Mittel der Toxizitätsdaten pro Art und Effektniveau (EC₁₀- bzw. EC₅₀-Werte) aller Böden wird berechnet.</p> | <p>2.b) Die ECx-Werte bezogen auf As-Gesamtgehalte werden anhand von Daten zu den wichtigsten Bodeneigenschaften normalisiert, wobei die Steigungen aus den endpunkt-spezifischen Regressionsmodellen (vgl. Tabelle 48 bzw. die Gleichung 1) zu verwenden sind.</p> <p>3.b) Das geometrische Mittel der Toxizitätsdaten pro Art und Effektniveau (EC₁₀- bzw. EC₅₀-Werte) aller Böden wird berechnet.</p> <p>4.b) Der nach Schutzniveau differenzierte HC₅-50-Wert (d. h. getrennt nach EC₁₀- und EC₅₀-Werten) wird mittels einer SSD mit allen geometrischen Mittelwerten aus Mikroorganismen, Pflanzen und Invertebraten berechnet.</p> |
|--|---|

8.3.3 Umsetzung des neuen Konzepts auf der Basis der geeignetsten Extraktionsmethodik

In diesem Vorhaben konnte gezeigt werden:

- Basierend auf den jeweiligen EC_{50} -Werten ist das DTPA-Extraktionsverfahren am besten für die Bestimmung des bioverfügbaren Anteils von Arsen geeignet (speziell bezüglich der Tests mit Pflanzen). Daher wurden die auf der Basis dieser Daten berechneten HC_{5-50} -Werte zur Ableitung von nachsorgeorientierten Bodenwerten herangezogen;
- Basierend auf den jeweiligen EC_{10} -Werten ist dagegen das 0,43 M HNO_3 -Extraktionsverfahren am besten für die Bestimmung des bioverfügbaren Anteils von Arsen geeignet (speziell hinsichtlich der Tests mit Invertebraten). Daher wurden die auf der Basis dieser Daten berechneten HC_{5-50} -Werte zur Ableitung von vorsorgeorientierten Bodenwerten auf der Basis der geeignetsten Extraktionsmethode verwendet.

Ausgehend von den mit der Extraktionsmethode DTPA gemessenen Arsen-Werten wurden somit die nachfolgenden Vorschläge (jeweils als geometrisches Mittel sowie Minimum und Maximum in Klammern) abgeleitet:

Vorsorgeorientierter Bodenwert für Bodenorganismen (d. h. als HC_{5-50} ; auf Basis der EC_{10} -Werte):

1,7 (0,8 – 5,6) mg/kg

Nachsorgeorientierter Bodenwert (Prüfwertvorschlag) im Pfad Bo-BO: (d. h. als HC_{5-50} ; auf Basis der EC_{50} -Werte):

8,4 (4,8 – 22,6) mg/kg

Die mit DTPA extrahierten As-Hintergrundgehalte in den 6 Testböden sind: **0,08 – 0,51 mg/kg**.

Geht man dagegen von einer Arsen-Extraktion mittels 0,43 M HNO_3 aus ergeben sich die folgenden Bodenwert-Vorschläge:

Vorsorgeorientierter Bodenwert für Bodenorganismen: (d. h. als HC_{5-50} ; auf Basis der EC_{10} -Werte):

7,8 (3,5 – 13,6) mg/kg

Nachsorgeorientierter Bodenwert (Prüfwertvorschlag) im Pfad Bo-BO: (d. h. als HC_{5-50} ; auf Basis der EC_{50} -Werte):

23,1 (7,6 – 53,6) mg/kg

Die mit 0,43 M HNO_3 extrahierten As-Hintergrundgehalte in den 6 Testböden sind: **0,7 – 6,4 mg/kg** (für Details zum Abgleich mit Hintergrundwerten siehe Kap. 9.2).

8.3.4 Umsetzung des neuen Konzepts auf der Basis des Arsen-Gesamtgehalts und der Normalisierung der Toxizitätsdaten

In diesem Vorhaben konnte gezeigt werden:

- Bei Pflanzen und der Reproduktion von Bodeninvertebraten waren die EC_{50} -Werte am stärksten mit dem Tongehalt, der KAK_{eff} und dem Oxalat-extrahierbaren Eisengehalt (Fe_{ox}) der Böden korreliert. Es wurden die Regressionsmodelle mit dem Tongehalt für die Normalisierung der Toxizitätsdaten mit den jeweiligen Bodeneigenschaften ausgewählt. Die Daten aus dem Regenwurm-Vermeidungstest zeigten eine deutliche positive Korrelation mit dem pH-Wert;
- In gleicher Weise zeigten die auf den Gesamtkonzentrationen von Arsen basierenden HC_{5-50} -Werte für die einzelnen Böden eine Korrelation mit den jeweiligen Bodeneigenschaften. Wie für die einzelnen Endpunkte bei den Pflanzentests sowie den Reproduktionstests mit Invertebraten wurde die beste Korrelation mit dem Tongehalt, der KAK_{eff} und dem oxalat-extrahierbarem Eisengehalt (Fe_{ox}) der Böden gefunden. Dabei zeigten sich bei den HC_{5-50} / EC_{50} -Werten mehr signifikante Korrelationen mit Bodeneigenschaften als bei den HC_{5-50} / EC_{10} -Werten;
- Der Ansatz mittels einer Normalisierung aller Toxizitätsdaten (basierend auf endpunkt-spezifischen Korrelationen mit Bodeneigenschaften) führt zu einer besseren Abschätzung der HC_{5-50} -

50-Werte als mittels einer direkten Korrelation von HC₅-50-Werten mit den jeweiligen Bodeneigenschaften;

- Die Normalisierung der jeweiligen Wirkdaten anhand der relevanten Bodeneigenschaften erlaubt die Berechnung einer spezifischen Effektkonzentration zur Beschreibung der Auswirkungen von Arsen auf Bodenorganismen in einem zu untersuchenden Boden.

Auf der Basis des Arsen-Gesamtgehalts und einer Normalisierung der Toxizitätsdaten bezogen auf ausgewählte Bodeneigenschaften (Tongehalt, pH) der sechs getesteten Böden ergeben sich die folgenden bodenspezifischen HC₅-50-Werte (Minimum und Maximum der sechs Böden):

- HC₅-50 auf Basis der EC₁₀-Werte: **13,8 – 47,6 mg/kg**
- HC₅-50 auf Basis der EC₅₀-Werte: **16,7 – 192,8 mg/kg**

Die Hintergrund-Gesamtgehalte von Arsen in den 6 Testböden lagen bei: **3,0 – 46,2 mg/kg**.

Bei dieser Vorgehensweise und in Übereinstimmung mit der Struktur der BBodSchV können für bestimmte Stellvertreterböden vorsorge- bzw. nachsorgeorientierte Bodenwerte nach denjenigen Bodeneigenschaften differenziert werden, die hauptsächlich für die Bioverfügbarkeit von Arsen verantwortlich sind (hier: Tonanteil unter Annahme eines pH-Wertes von 6,0). So ergeben sich die folgenden HC₅-50-Werte (mg/kg) für Stellvertreterböden der Bodenartenhauptgruppen Sand, Lehm/Schluff und Ton (Ad-hoc-AG Boden 2005):

Bodenartenhauptgruppe	HC₅-50 EC₁₀	HC₅-50 EC₅₀
Sand (5% Ton)	9,3	10,8
Lehm/Schluff (17% Ton)	30,3	51,3
Ton (45% Ton)	36,7	155,4

Die Mittelwerte pro Endpunkt der normalisierten EC₁₀- und EC₅₀-Werte für diese drei Bodenartenhauptgruppen sind in Tabelle 50 und Tabelle 51 angegeben. Es ist zu beachten, dass die Arsen-Toxizität für die Regenwurm-Vermeidung, die Dehydrogenaseaktivität und die mikrobielle Stickstoff-Transformation nicht signifikant mit dem Tongehalt des Bodens zusammenhängt und die entsprechenden Toxizitätsdaten daher nicht für den Tongehalt des Bodens korrigiert wurden. Die auf EC₁₀ und EC₅₀ basierenden SSD-Diagramme für die drei Bodenartenhauptgruppen sind in Abbildung 56 und Abbildung 57 dargestellt. Die HC₅-50-Werte liegen in allen Fällen unter den niedrigsten Speziesmittelwerten in der SSD.

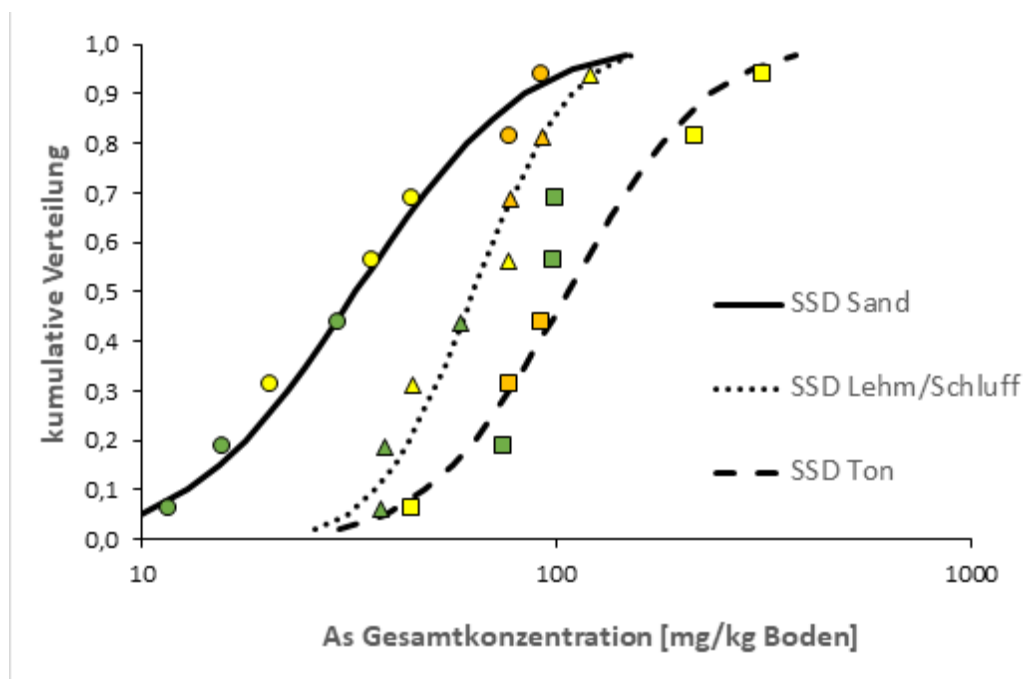
Tabelle 50: Für die SSD-Diagramme der 3 Bodenartenhauptgruppen ausgewählte mittlere EC₁₀-Werte der Endpunkte (und Bereich der einzelnen EC₁₀-Werte nach Normalisierung)

Endpunkt	Geometrisches Mittel EC ₁₀ (mg As/kg soil)		
	Sand	Lehm/Schluff	Ton
<i>Avena sativa</i> Sprossbiomasse	11,7 (5,5 – 25,8)	38,4 (18,2 – 84,7)	98,9 (47,0 – 218)
<i>Solanum lycopersicum</i> Sprossbiomasse	15,7 (7,4 – 50,7)	37,6 (17,7 – 121)	75,0 (35,4 – 242)
<i>Hordeum vulgare</i> Wurzellänge	30,0 (10,1 – 98,0)	58,5 (19,8 – 191)	99,5 (33,6 – 325)
<i>Eisenia fetida</i> Reproduktion	36,0 (15,8 – 118)	121 (53,1 – 396)	317 (139 – 1039)
<i>Folsomia candida</i> Reproduktion	20,6 (15,6 – 33,2)	76,5 (58,0 – 123)	217 (165 – 349)
<i>Eisenia andrei</i> Vermeidung	45,3 (27,2 – 74,0)	45,3 (27,2 – 74,0)	45,3 (27,2 – 74,0)
Dehydrogenase-Aktivität	92,3 (44,5 – 161)	92,3 (44,5 – 161)	92,3 (44,5 – 161)
Mikrobielle Stickstoff-Transformation	77,5 (nur 1 Wert)	77,5 (nur 1 Wert)	77,5 (nur 1 Wert)

Tabelle 51: Für die SSD-Diagramme der 3 Bodenartenhauptgruppen ausgewählte mittlere EC₅₀-Werte der Endpunkte (und Bereich der einzelnen EC₅₀-Werte nach Normalisierung)

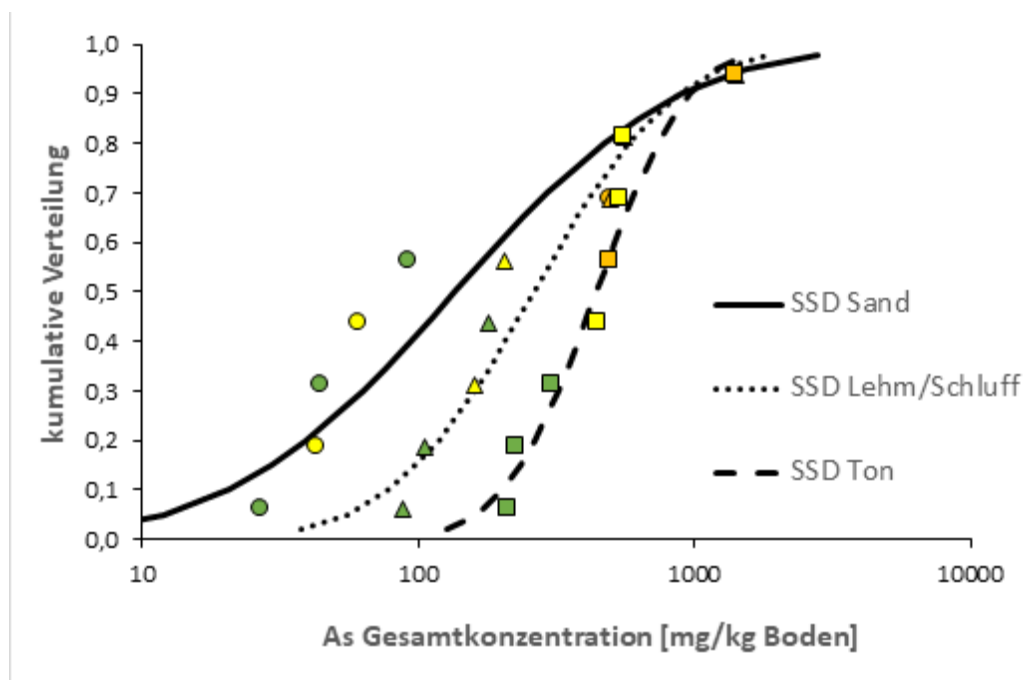
Endpunkt	Geomean EC ₅₀ (mg As/kg soil)		
	Sand	Lehm/Schluff	Ton
<i>Avena sativa</i> Sprossbiomasse	26,9 (18,4 – 50,4)	88,3 (60,5 – 165,7)	228 (156 – 427)
<i>Solanum lycopersicum</i> Sprossbiomasse	44,5 (30,7 – 69,5)	106 (73,3 – 166)	212 (146–332)
<i>Hordeum vulgare</i> Wurzellänge	92,7 (38,9 – 169)	181 (76,0 – 329)	308 (129 – 561)
<i>Eisenia fetida</i> Reproduktion	60,9 (25,8 – 129)	205 (86,7 – 435)	537 (227 – 1140)
<i>Folsomia candida</i> Reproduktion	42,9 (33,9 – 73,1)	159 (126 – 271)	452 (356 – 770)
<i>Eisenia andrei</i> Vermeidung	559 (473 – 649)	559 (473 – 649)	559 (473 – 649)
Dehydrogenase-Aktivität	496 (293 – 1054)	496 (293 – 1054)	496 (293 – 1054)
Mikrobielle Stickstoff-Transformation	1416 (908 – 2210)	1416 (908 – 2210)	1416 (908 – 2210)

Abbildung 56: Species Sensitivity Distribution basierend auf EC_{10} -Werten für die drei Bodenartenhauptgruppen. Daten für Pflanzen, Invertebraten und Mikroorganismen werden durch grüne, gelbe bzw. orange Symbole dargestellt. Kreise, Dreiecke und Quadrate repräsentieren Daten für Sand, Lehm/Schluff bzw. Ton



Quelle: eigene Darstellung, ARCHE Consulting

Abbildung 57: Species Sensitivity Distribution basierend auf EC_{50} -Werten für die drei Bodenartenhauptgruppen. Daten für Pflanzen, Invertebraten und Mikroorganismen werden durch grüne, gelbe bzw. orange Symbole dargestellt. Kreise, Dreiecke und Quadrate repräsentieren Daten für Sand, Lehm/Schluff bzw. Ton



Quelle: eigene Darstellung, ARCHE Consulting

Diese berechneten Werte sollten zur besseren Vermittelbarkeit gerundet werden. Zudem sollte auch für sandige Böden ein angemessener Abstand zwischen vorsorge- und nachsorgeorientierten Bodenwerten eingehalten werden. Unsere finale Empfehlung für solche Bodenwerte für Arsen sieht damit wie folgt aus (Tabelle 52). Der Vorschlag zur Differenzierung der Werte je nach Bodenart wird im Kap. 10.1 näher ausgeführt.

Tabelle 52: Vorschlag des Projektkonsortiums für vorsorge- und nachsorgeorientierte Bodenwerte von Arsen für Bodenorganismen [mg/kg]

Bodenart	Vorsorgeorientierte Bodenwerte für Bodenorganismen	Nachsorgeorientierte Bodenwerte für Bodenorganismen
Sand	10	20
Lehm/Schluff	30	50
Ton	40	150

Die hier gelisteten vorsorgeorientierten Bodenwerte entsprechen damit tendenziell den Vorsorgewerten, wie sie auch im Entwurf der neuen BBodSchV vorgesehen sind: je nach Bodenart 10 – 20 mg/kg. Dabei beziehen sich sowohl unser Vorschlag als auch die Werte aus der E-BBodSchV jeweils auf den As-Gesamtgehalt. Die im Entwurf der BBodSchV enthaltenen Vorsorgewerte werden damit bestätigt, da das Edaphon durch diese niedrigeren Werte (10 – 20 – 20 mg/kg) in jedem Falle geschützt ist.

8.4 Finale Empfehlung

Im Vorhaben wurde gezeigt, dass eine Ableitung von Vorsorgewerten auf der Basis der Bioverfügbarkeit für das Halbmetall Arsen trotz des komplexen Verhaltens von Arsen in der Umwelt und der damit erschwerten Abschätzung potenzieller Gefahren grundsätzlich möglich ist.

Der zweite oben angeführte Ansatz, d. h. die Normalisierung aller individuellen Toxizitätswerte, wird als Grundlage für die Ableitung von Bodenwerten empfohlen. Dieser Ansatz kann alle verfügbaren relevanten und verlässlichen Toxizitätsdaten nutzen und die Unsicherheit hinsichtlich der vorhergesagten Toxizität in einzelnen Böden ist ähnlich oder geringer im Vergleich zu den am besten geeigneten Extraktionsmethoden für Arsen. Ton und pH-Wert wurden als die maßgeblichen Bodeneigenschaften identifiziert, die die Toxizität von Arsen für Bodenorganismen determinieren. Dieser Ansatz erlaubt, Vorsorge- und Prüfwerte entweder für allgemeine Stellvertreterböden zu berechnen (z. B. Tabelle 52) oder für spezifische zu beurteilenden Böden, sofern Tongehalt und pH-Wert bekannt sind. Dieser Ansatz, basierend auf einer Normalisierung der Toxizitätsdaten sowie Testorganismus-spezifischen Regressionsgleichungen entspricht auch der Methodik, wie sie in der REACH-Gesetzgebung sowie in nationalen Anforderungen für die Ableitung von PNEC-Werten für andere Metalle gelten (z. B. Ag, Co, Cu, Ni, Pb und Zn; ECHA 2008, 2014). Damit wird eine Konsistenz des jeweiligen regulatorischen Ansatzes über einzelne gesetzliche Regelungen hinaus erreicht. Daher wurde dieser Ansatz konkret auch für die beiden Metalle Cu und Ni angewendet. Die jeweiligen Ergebnisse sind dem Anhang (Kap. 12.6 und 12.11) zu entnehmen.

9 Plausibilität der vorgeschlagenen Werte für Arsen

9.1 Einleitung

Ziel dieses Kapitels ist es, die in diesem Vorhaben erarbeiteten Bodenwerte für Bodenorganismen in Hinsicht auf ihre Plausibilität zu überprüfen, wobei zwei Ansätze zu unterscheiden sind:

- ▶ Zum einen werden die hier vorgeschlagenen vorsorge- und nachsorgeorientierten Bodenwerte für Bodenorganismen mit dem Hintergrundgehalt von Arsen in deutschen und europäischen Böden verglichen. Dabei wird davon ausgegangen, dass ein solcher regulatorischer Wert nicht praxistauglich ist, wenn er ähnlich oder sogar niedriger ist als der „typische“ natürliche Gehalt von Arsen im Boden;
- ▶ Zum anderen wird überprüft, wie in anderen Staaten mit diesem Problem umgegangen wird, d. h. ob und wenn ja in welcher Höhe entsprechende Bodenwerte schon außerhalb Deutschlands vorgeschlagen wurden. Insbesondere werden dabei auch die im Entwurf der Bundes-Bodenschutz- und Altlastenverordnung genannten Werte einbezogen.

Die Vorschläge für vorsorge- und nachsorgeorientierte Bodenwerte für Arsen sind nochmals kurz aufgeführt, getrennt nach Bodenart:

Vorsorgeorientierte Bodenwerte: Sand = 10 mg/kg; Lehm/Schluff = 30 mg/kg; Ton = 40 mg/kg.

Nachsorgeorientierte Bodenwerte: Sand = 20 mg/kg; Lehm/Schluff = 50 mg/kg; Ton = 150 mg/kg.

9.2 Vergleich der vorgeschlagenen Werte mit natürlichen Hintergrundgehalten

Unter Hintergrundwerten werden repräsentative Werte für die allgemeine Verbreitung eines Stoffes im Boden verstanden. In früheren Arbeiten wurde versucht, die Gehalte von Schwermetallen anhand von geochemischen Indizes abzuleiten (Hamon et al. 2004). Primär aufgrund der Aktivitäten europäischer Institutionen, speziell des Joint Research Center in Ispra (Italien) liegen inzwischen europaweit Daten zum Gehalt von (Halb-)Metallen, unter anderem Arsen, vor. Besonders hervorzuheben sind dabei die kürzlich veröffentlichten Ergebnisse europaweiter Erhebungen zum Vorkommen von Halbmetallen bzw. Metallen in landwirtschaftlichen Böden (Tóth et al. 2016a) bzw. generell Oberböden (Tóth et al. 2016b). Diese Aktivitäten sind auch als „LUCAS Topsoil Survey“ bekannt geworden. Noch aktueller sind die Ergebnisse des GEMAS-Projekts (Geochemical mapping of agricultural soil), in dem die Metall- und Halbmetall-Gehalte in landwirtschaftlichen Böden Europas kartiert wurden.

Utermann & Düwel (2013) führen in einer nach Bodenartenhauptgruppen sowie der jeweiligen Nutzung differenzierenden Auflistung für Oberböden in Deutschland einen Konzentrationsbereich von Arsen von 7 – 32,5 mg/kg (90. Perzentil) an, wobei im Extremfall (saure Magmatite) bis zu 110 mg/kg gefunden wurden. Vogel et al. (2009) geben nach Bodenart differenzierte Hintergrundwerte an, die auf der Grundlage damals vorliegender Daten abgeleitet wurden. Diese Werte variierten ungefähr um den Faktor 2 je nach Bodenart zwischen 12 und 24 mg/kg. Für Belgien (Flandern bzw. Wallonien) werden Werte in der gleichen Größenordnung wie in Deutschland angegeben (19 mg/kg; Carlon 2007). Besonders niedrige (und sich kaum unterscheidende) Hintergrundgehalte werden aus Litauen berichtet (Sand/lehmiger Sand: 2,5 mg/kg; Lehm/Ton: 3,6 mg/kg), was auf die niedrigen Gehalte im Bodenausgangsgestein zurückzuführen sein dürfte (Carlon 2007). Generell wird für Arsen europaweit ein Bereich von 5 - 100 mg/kg Boden angegeben (Merrington & Schoeters 2011), wobei in dieser Zusammenstellung auch anthropogen beeinflusste Flächen enthalten sind. Bei einer europaweit und standardisiert durchgeführten Erfassung der Schwermetallgehalte in einer Vielzahl von Böden (LUCAS-Projekt) in Europa wurde für Arsen ein Mittelwert von $3,72 \pm 2,92$ mg/kg Boden TG festgestellt, wobei im Minimum 0,46 mg/kg und im Maximum 252,53 mg/kg gemessen wurden (Tóth et al. 2016a). Die Autoren weisen ausdrücklich darauf hin, dass die teils sehr hohen Werte wahrscheinlich durch den hohen Anteil belasteter Böden in diesem Projekt zu erklären sind, wobei explizit historische und aktuelle

industrielle bzw. bergbauliche Aktivitäten als Begründung genannt werden. In dem erst kürzlich beendeten GEMAS-Projekt wurden europaweit Bodenproben aus den obersten 20 cm an landwirtschaftlich genutzten Standorten entnommen. Demnach liegt dort der Median des Hintergrundgehalts für Arsen bei 5,5 mg/kg (Minimum: < 0,05 mg/kg; Maximum 666 mg/kg) auf diesen Flächen (Reimann et al. 2018).

Die Hintergrundwerte von Arsen in Oberböden Deutschlands wurden erst kürzlich von der LABO (2017) zusammengestellt. Alle Daten wurden mittels Königswasseraufschluss ermittelt, wobei sowohl nach Ausgangsmaterial, Horizonten als auch nach Landnutzung unterschieden wurde. Zudem erfolgte teilweise eine Trennung in drei Bodenprovinzen (Nordwest-, Nordost- und Süddeutschland). Die Hintergrundwerte liegen in Abhängigkeit von Bodenausgangsgestein und Landnutzung im Bereich zwischen 3,9 und 40 mg/kg (90. Perzentil, LABO 2017). Bei dem Wert von 3,9 mg/kg handelt es sich um das Bodenausgangsgestein „Sand“ und der Landnutzung „Acker“ in Nordwestdeutschland, während der höhere Wert von 40 mg/kg in einem Boden unter Forst (saure Magmatite oder Metamorphite) bestimmt wurde.

Allerdings ist bei diesem Thema darauf hinzuweisen, dass es dabei immer um den Vergleich zwischen einem allgemein gültigen regulatorischen Bodenwert und standortspezifischen Gehalten geht, die von einer Vielzahl von Faktoren beeinflusst werden können. Romero-Freire et al. (2014) bringen dieses Problem wie folgt auf den Punkt (leicht gekürzt): „Regulatorische Bodenwerte decken meist mit einem Wert große Flächen (Regionen oder gar Staaten) ab, was sowohl zu Über- als auch Unterschätzungen bei der Bodenbeurteilung (speziell in Hinsicht auf mögliche Sanierungen) führen kann“. Daher schlagen diese Autoren vor, Bodenwerte je nach den vorherrschenden Bodeneigenschaften an einem zu beurteilenden Ort differenzieren zu können. Ein besseres Verständnis zur den die Bioverfügbarkeit eines Stoffes beeinflussenden Faktoren wäre dafür die Voraussetzung – und dazu könnte dieses Vorhaben einen Beitrag geliefert haben.

9.3 Abgleich der vorgeschlagenen Werte mit vergleichbaren internationalen Bodenwerten

Im Folgenden werden die uns bekannten Bodenwerte verschiedener Staaten bzw. Regionen für das Halbmetall Arsen tabellarisch dargestellt. Dabei wurde – soweit möglich – nur auf Werte eingegangen, die sich explizit auf den Schutz der Bodenfunktionen bezogen. In Deutschland haben Throl (2000) – teils unter Mitwirkung des Bundesverbands Boden (BVB) – und Vogel et al. (2009) auf Basis verschiedener ökotoxikologischer Effektdaten Bodenqualitätskriterien (Vorsorgebereich) für Arsen in Höhe von 5 bzw. 1,25 mg/kg veröffentlicht. Mittels „Species Sensitivity Distributions (SSD's) und einem erweiterten ökotoxikologischen Datensatz (konkret: EC50-Werte) haben Jänsch et al. (2007) einen Vorschlag für einen nachsorgeorientierten Bodenwert von 5,63 mg/kg berechnet. Diese Vorschläge wurden unseres Wissens nach nicht regulatorisch aufgegriffen, was angesichts des fehlenden Abstands zu den o. g. Hintergrundwerten nachvollziehbar ist. Die Bodenwerte anderer Staaten wurden hinsichtlich ihrer jeweiligen Definition (inklusive ihrer Ableitung), der absoluten Höhe der einzelnen Werte sowie deren relative Stellung innerhalb des jeweiligen Beurteilungskonzepts benutzt, um sie mit dem deutschen System vergleichen zu können. Dabei ging es vor allem um die jeweilige Größenordnung, nicht um den genauen Zahlenwert. In Übereinstimmung mit Carlon (2007) – der bis heute umfangreichsten Vergleichsstudie innerhalb der Europäischen Union zum Vergleich der regulatorisch verwendeten Bodenwerte – wurden daher drei Klassen verwendet, die sich an der jeweiligen Größenordnung der von einem Stoff ausgehenden Risiken für unterschiedliche Schutzziele im Boden orientierten: „negligible risk“ (vernachlässigbares Risiko $\triangleq$ vorsorgeorientierten Werten), „intermediate (warning) risk“ (mittleres Risiko (Warnhinweis) $\triangleq$ nachsorgeorientierten Bodenwerten) und „potentially unacceptable risk“ (potentiell nicht-akzeptables Risiko $\triangleq$ maßnahmenorientierten Bodenwerten).

Bei diesem Vergleich wurde keine Vollständigkeit angestrebt, sondern es sollten Konzentrations-Bereiche identifiziert werden, die über den jeweiligen Hintergrundwerten liegen sollten. Unabhängig von der Art der Ableitung dieser Werte war bei diesem Schritt der Gedanke, dass diese Werte in anderen Ländern in von der vorliegenden Arbeit unabhängigen Verfahren durch Experten als plausibel und praxistauglich angesehen wurden. Eine tendenzielle Übereinstimmung zwischen diesen und den hier berechneten Werten könnte, die Vergleichbarkeit der Werte vorausgesetzt, als zusätzliche Bestätigung der Plausibilität des jeweiligen Wertes gelten. Allerdings war in vielen Fällen die genaue Herleitung der Werte in den einzelnen Ländern im Detail nicht nachvollziehbar, zum Beispiel da die jeweiligen zugrundeliegenden Informationen nicht öffentlich verfügbar sind und/oder nur in der jeweiligen Landessprache vorliegen. Allerdings gibt es unseres Wissens keine aktuellere Zusammenstellung entsprechender regulatorischer Bodenwerte. Daher wird diese im Folgenden als Basis für die Plausibilitätsüberprüfung der in diesem Vorhaben erarbeiteten Werte verwendet (vgl. Tabelle 53 und Tabelle 54). Hinsichtlich der vorsorgeorientierten Bodenwerte (Tabelle 53) gibt es in den fünf betrachteten Ländern Unterschiede, die ca. beim Faktor 3 liegen. Auffällig ist, dass nur in Deutschland eine Differenzierung (hier: nach Bodenart) vorgenommen wird. Die Übereinstimmung mit den entsprechenden Werten anderer Staaten ist hoch.

Tabelle 53: Vorsorgeorientierte Bodenwerte für Arsen (= Grenzwerte für „negligible risk“) aus fünf europäischen Staaten gemäß Carlon (2007)

Land	Vorsorgeorientierter Bodenwert [mg As/kg Boden TG]	Landnutzung
Deutschland	1,25 [§] 20 / 20 / 10 ^{*†} 40 / 30 / 10 ^{*#}	Allgemein
Belgien (Wallonische Region)	12	Naturbelassen
Niederlande	29	Allgemein
Slowakei	29	Allgemein
Tschechien	30	Naturbelassen

[§] Berechneter Wert aus Vogel et al. (2009); ^{*} Werte von Bodenart abhängig (Ton, Lehm/Schluff und Sand); [†] Werte aus der E-BBodSchV; [#] Vorschlag dieses Vorhaben.

Angaben zu nachsorgeorientierten Bodenwerten gibt es aus acht europäischen Staaten, wobei es für Arsen eine deutlich höhere Bandbreite gibt (Faktor 13), was aber maßgeblich auf den niedrigen Wert in Finnland (5 mg/kg) sowie den vergleichsweise hohen Wert in Tschechien zurückzuführen ist (Tabelle 54). Die Übereinstimmung mit den Werten anderer Staaten bezüglich der Werte für Lehm/Schluff und Sand ist hoch. Der hier vorgeschlagene Wert für Ton liegt hingegen deutlich über den Bodenwerten anderer Staaten, in denen jedoch auch keine Differenzierung nach Bodenparametern wie der Bodenart erfolgte.

Tabelle 54: Nachsorgeorientierte Bodenwerte für Arsen (= Grenzwerte für „intermediate (warning) risk“) aus acht europäischen Staaten gemäß Carlon (2007)

Land	Nachsorgeorientierter Bodenwert [mg As/kg Boden TG]	Landnutzung
Deutschland	5,63 [§] 150 / 50 / 20 * #	Allgemein
Belgien (Wallonische Region)	15	Naturbelassen
Dänemark	10	Allgemein
Finnland	5	Wohngebiete
Österreich	20	Landwirtschaftliche und gartenbauliche Zwecke sowie weitere nicht-landwirtschaftliche Ökosysteme
Schweden	15	Empfindliche Nutzungen
Slowakei	30	Allgemein
Tschechien	65	Naturbelassen

[§] Berechneter Wert aus Jänsch et al. 2007; * Werte von Bodenart abhängig (Ton, Lehm/Schluff und Sand); # Vorschlag dieses Vorhaben.

Abschließend ist darauf hinzuweisen, dass die Ableitung von Bodenwerten in den letzten Jahren durch entsprechende Publikationen (z.B. Checkai et al. 2014), aber auch durch netzgestützte „Tools“ erleichtert werden konnte. Beispielhaft seien daher Initiativen von Behörden (OECD 2016) und der Industrie (MERAG 2016a) genannt. Generell wird dabei dem auch hier benutzten Ansatz gefolgt, d. h. die Basis für die Ableitung von Bodenwerten ist die Verwendung der Ergebnisse einer Batterie von ökotoxikologischen Tests sowie der Messung der verfügbaren Fraktion des Metalls in (meist mehreren) Böden. Auffallend ist, dass die Einbeziehung von Mikroorganismen in die Testung zwar allgemein befürwortet wird, die Identifikation der am besten geeigneten Verfahren jedoch schwierig ist. Dies dürfte nicht zuletzt daran liegen, dass die meisten dieser Tests natürliche und damit sehr heterogene Gemeinschaften (und nicht einzelne Arten wie bei den Pflanzen und Invertebraten) einsetzen – was dazu führt, dass die Empfindlichkeit dieser Verfahren eher gering ist.

9.4 Fazit der Plausibilitätsprüfung

Die in diesem Vorhaben abgeleiteten und auf dem finalen Projekttreffen in Dessau diskutierten Vorschläge für vorsorge- und nachsorgeorientierte Bodenwerte für As unter Berücksichtigung der Bioverfügbarkeit erfüllen die beiden oben genannten Kriterien:

- Sie haben einen ausreichenden Abstand zu den in Deutschland und Europa gemessenen Hintergrundwerten von Arsen im Boden;
- Sie unterscheiden sich nicht wesentlich von den Vorschlägen, wie sie in anderen Ländern für Arsen gemacht wurden.

Daher wird hiermit empfohlen, auf der Grundlage dieses Vorschlags die entsprechenden Schritte zur Implementierung dieser Werte in Deutschland zu machen.

10 Ausblick und weiterer Forschungsbedarf

10.1 Ableitung weiterer Bodenwerte

Ausgehend von den in diesem Vorhaben gewonnenen Erfahrungen zur Ableitung von vorsorgeorientierten Bodenwerten für Bodenorganismen auf der Grundlage der EC₁₀-Werte aus ökotoxikologischen Tests ist es möglich, anhand der gleichen Prinzipien aber unter Nutzung der EC₅₀-Daten aus den gleichen ökotoxikologischen Tests, für verschiedene (Halb-)Metalle nachsorgeorientierte Bodenwerte Bodenorganismen abzuleiten. Eine solche Ableitung war kein eigentliches Ziel dieses Vorhabens, doch wurden teilweise schon konkrete Vorschläge erarbeitet, die im Fall von Kupfer und Nickel so detailliert sind, dass sie als Grundlage für eine Überprüfung bestehender Bodenwerte dienen können. Es wird empfohlen, diese Möglichkeit systematisch zu überprüfen und entsprechende Werte abzuleiten. Diese sind dann, analog zum Vorgehen in diesem Vorhaben, auf ihre Plausibilität hin zu überprüfen.

Die nachsorgeorientierten Bodenwerte für Bodenorganismen könnten – ein Novum – ebenfalls nach der jeweiligen Bodenart differenziert werden (d. h. eigene Werte für Sand-, Schluff- bzw. Tonböden). Dabei wäre zum einen zu prüfen, ob eine solche Aufschlüsselung – entweder zusätzlich oder alternativ – auch für weitere Bodeneigenschaften sinnvoll sein könnte. Auf diesem Gebiet gibt es sicherlich noch Forschungsbedarf, z. B. Einbeziehung weiterer Böden in die experimentellen ökotoxikologischen und bodenchemischen Arbeiten.

Empfehlung: Untersuchung der ökotoxikologischen Wirkungen von weiteren Schwermetallen in einer ökotoxikologischen Testbatterie mit unterschiedlichen Böden bei besonderer Berücksichtigung von Wirkungen im Gefahrenbereich (d. h. mit dem Endpunkt EC₅₀-Wert).

Generell ist festzuhalten, dass das Hauptergebnis dieses Vorhabens weniger die konkreten Beispiele (v. a. für Arsen, aber auch für Kupfer und Nickel, sowohl die Datenerhebung als auch deren Auswertung) als die Bestätigung der dabei verwendeten Methoden zur Bodenwertableitung ist. Konkret ist hiermit die Erstellung eines komplexen Datensatzes aus pedologischen, chemisch-analytischen und ökotoxikologischen Daten bei Verwendung möglichst unterschiedlicher Böden, Testorganismen bzw. -verfahren (mit chronischen Endpunkten) sowie Extraktionsverfahren gemeint. Die hier gewählte Anzahl an Varianten dieser jeweiligen Parameter beruhte auf eher ressourcenbedingten und technischen Überlegungen als dass diese wissenschaftlich ableitbar sind. In jedem Fall ist ein robuster Datensatz, erhoben mittels standardisierter Methoden, notwendig.

10.2 Experimentelle Durchführung

In diesem Vorhaben wurden insgesamt 45 ökotoxikologische Tests mit Arsen sowie jeweils 12 Tests mit Kupfer und Nickel (siehe Anhang) durchgeführt, wobei einzelne Tests – teils mehrfach – wiederholt werden mussten. Insgesamt konnten in 43 Tests sämtliche Validitätskriterien erfüllt werden. Nur in zwei Tests mit Arsen konnten trotz mehrfacher Wiederholung die Validitätskriterien der jeweils maßgebenden Richtlinie nicht erfüllt werden: in je einem Collembolen-Reproduktionstest in Ter Munck bzw. im Zegveld Boden. Wie die meisten ökotoxikologischen Tests wurde auch dieser Test mit der Collembolenart *Folsomia candida* ursprünglich für die Anwendung in OECD Kunsterde bzw. im Standardboden LUFA 2.2 entwickelt, nicht dagegen für Untersuchungen mit Feldeböden mit deutlich divergierenden Eigenschaften (z. B. einem hohen Tonanteil). Eine systematische Überprüfung, welche der Standard-Testorganismen in welchen Freilandböden ohne chemische Belastung (d. h. Kontrollansätzen) getestet werden können fehlt bisher. Diese Frage trifft natürlich nicht nur für Collembolen, sondern auch auf die anderen Testspezies (speziell Invertebraten) zu.

Empfehlung: Systematische Testung von Standard-Testspezies in Freilandböden mit einem weiten Bereich der für diese Organismen relevanten Bodeneigenschaften, d. h. z. B. pH, Bodenart, Gehalt an organischer Substanz. In diesem Zusammenhang könnten auch

alternative Testspezies identifiziert werden, z. B. eine leicht in Tonböden zu testende Collembolenart.

Während in fast allen Fällen die ökotoxikologischen Tests mit Invertebraten und Pflanzen valide waren gab es mehrfach Probleme bei der Durchführung und Interpretation von mikrobiologischen Tests. In diesem Zusammenhang müssen die Ergebnisse der Stickstoff-Transformationstests kritisch betrachtet werden. In vier von sechs Böden konnten keine Effekte bei einer Testung von bis zu 2000 mg As/kg Boden TG beobachtet werden. Die restlichen Ergebnisse (in den LUFA 2.2- und Zegveld-Böden) waren aufgrund ihrer hohen Schwankungen statistisch nicht belastbar. Des Weiteren gab es erhebliche Schwankungen bei den Ergebnissen des Bakterienkontakttest mit *Arthrobacter globiformis* (z. B. Unterschiede zwischen den Ergebnissen im Konzentrationsfindungs- und Definitiv-Test). Auch innerhalb eines Tests wurden mehrfach Schwankungen beobachtet, sodass die Konfidenzintervalle eine große Spannweite aufzeigten und teilweise die Berechnung von EC-Werten nicht möglich war. Diese Schwankungen lassen sich punktuell auch in anderen Prüfsystemen beobachten, fielen jedoch in den Tests mit Mikroorganismen besonders auf. Eine Ursache dafür könnte das Auftreten einer Resistenz dieser Organismen gegenüber Arsen sein (vgl. Yang & Rosen 2015).

Empfehlung: Die Testung von Arsen mit Mikroorganismen sollte dahingehend überprüft werden, ob bei den bisher verwendeten Testspezies eine Resistenz gegenüber Arsen vorhanden ist. In diesem Zusammenhang ist systematisch zu prüfen, ob es andere mikrobielle Testverfahren gibt, die für eine Untersuchung der Auswirkungen auf die mikrobiellen Gemeinschaften verschiedener Böden besser geeignet sind (siehe z. B. Thiele-Bruhn et al. 2020).

10.3 Ausblick

In der wissenschaftlichen Literatur, teils auch in den entsprechenden Dokumenten zur Chemikalienbeurteilung (bekanntestes Beispiel: das „Opinion-Paper“ der EFSA zur Pestizidregistrierung; Ockleford et al. 2017) wird in den letzten Jahren eine intensive Diskussion zur Definition von Schutzzielen, speziell auch zum Ökosystem geführt. Konkret geht es dabei um die Frage, welches Gut im Zusammenhang mit der Chemikalienregistrierung schützenswert ist und, wenn solche Ziele definiert sind, welche Methoden dafür am besten geeignet sind. Meist werden in diesem Zusammenhang die Struktur des Bodenökosystems (d. h. die dort vorkommende Biodiversität; z. B. Römbke et al. 2016) bzw. dessen Funktionen, die durch diese Organismen unterstützt oder erst möglich gemacht werden („Ecosystem Service Approach“; z. B. Turbé et al. 2010; Nienstedt et al. 2012). In der Literatur zum Bodenschutz (speziell auch zur Ableitung von Bodenwerten) finden sich diese Gedanken bisher kaum wieder. Dies mag allerdings an der zeitlichen Lücke zwischen wissenschaftlichen Vorschlägen und deren Umsetzung in der administrativen Praxis liegen. In Hinsicht auf eine transparente Vorgehensweise sowie zur Erhöhung der Akzeptanz solcher Methoden im Bodenschutz wäre eine intensivere Diskussion zur Rolle von Bodenwerten beim Schutz von Bodenökosystemen sicherlich hilfreich.

11 Quellenverzeichnis

- Ad-hoc-AG Boden (2005): Bodenkundliche Kartieranleitung, 5. Aufl., Bundesanstalt für Geowissenschaften und Rohstoffe, Hannover.
- Aldenberg, T. & Jaworska, J.S. (2000): Uncertainty of the hazardous concentration and fraction affected for normal species sensitivity distributions. *Ecotoxicol Environ Saf* 46:1–18.
- Allen, H.E. & Janssen, C.R. (2006): Incorporating bioavailability into criteria for metals. In: Soil and water pollution, monitoring, protection and remediation. Twardowska, I. et al. (eds.). Springer, New York, USA. Pp 3-23.
- Antunes, P.M.C., Hale, B.A. & Ryan, A.C. (2007): Toxicity versus accumulation for barley plants exposed to copper in the presence of metal buffers: progress towards development of a terrestrial biotic ligand model. *Environ. Toxicol. Chem.* 26: 2282–2289.
- Barkowski, D., Krüger, G., Machtolf, M., Derz, K. & Küchler, F. (2016): Untersuchungen zur Resorptionsverfügbarkeit von organischen und anorganischen Schadstoffen zur weiteren Fortschreibung des Anhangs 1 der BBodSchV. UBA-Texte 15/2016, 54 S.
- BBodSchG (1998): Gesetz zum Schutz vor schädlichen Bodenveränderungen und zur Sanierung von Altlasten (Bundes-Bodenschutzgesetz). Bundesgesetzblatt I, 502 vom 17. März 1998.
- BBodSchV (1999): Bundes-Bodenschutz- und Altlastenverordnung vom 12. Juli 1999 (BGBl. I S. 1554), die zuletzt durch Artikel 5 Absatz 31 des Gesetzes vom 24. Februar 2012 (BGBl. I S. 212) geändert worden ist.
- Bolan, N., Mahimairaja, S., Kunhikrishnan, A., Seshadri, B. & Thangarajan, R. (2015): Bioavailability and ecotoxicity of arsenic species in solution culture and soil system: implications to remediation. *Environ Sci Poll Res* 22: 8866–8875.
- Boyd, W.A. & Williams, P.L. (2003): Availability of metals to the nematode *Caenorhabditis elegans*: toxicity based on total concentrations in soil and extracted fractions. *Environ Toxicol Chem* 22(5):1100–1106.
- Brand, E., Peijnenburg, W., Goenenberg, B., Vink, J., Lijzen, J., ten Hulscher, D., Jonker, C., Romkens, P. & Roex, E. (2009): Towards implementation of bioavailability measurements in the Dutch regulatory framework. RIVM, Bilthoven, The Netherlands. Report No. 711701084, 80 S.
- Carlson, C.E. (2007): Derivation methods of soil screening values in Europe. A review and evaluation of national procedures towards harmonization. European Commission, Joint Research Centre, Ispra, Italy; 306 pp.
- CCME (Canadian Council of Ministers of the Environment) (1997): Canadian Soil Quality Guidelines for the Protection of Environmental and Human Health. Arsenic (Inorganic). CCME. Winnipeg, MB. 7 S.
- CCME (Canadian Council of Ministers of the Environment) (2015): Canadian Soil Quality Guidelines for Nickel: Protection of Environmental and Human Health Scientific Supporting Document. CCME. Winnipeg, MB.
- Checkai, R.T., Van Genderen, E., Sousa, J.P., Stephenson, G., Smolders, E. (2014): Deriving site-specific clean-up criteria to protect ecological receptors (plants and soil invertebrates) exposed to soil contaminants via the direct contact exposure pathway. *Integr Environ Assess Manag.* 10: 346-357.
- Corbisier, P., van der Lelie, D., Borremans, B., Provoost, A., de Lorenzo, V., Brown, N., Lloyd, J., Hobman, J., Csöregi, E., Johansson, G. & Mattiasson B. (1999): Whole cell- and protein-based biosensors for the detection of bioavailable heavy metals in environmental samples. *Analytica Chimica Acta* 387: 235-244.
- Criel, P., Lock, K., Van Eeckhout, H., Oorts, K., Smolders, E. & Janssen, C.R. (2008): Influence of soil properties on copper toxicity for two soil invertebrates. *Environ. Toxicol. Chem.* 27, 1748–1755.
- DIN (Deutsches Institut für Normung) (1993): Wasserbeschaffenheit; Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit (ISO 7888); Deutsche Fassung EN 27888. Beuth Verlag, Berlin
- DIN (Deutsches Institut für Normung) (1997): Bodenuntersuchungsverfahren im Landwirtschaftlichen Wasserbau - Chemische Laboruntersuchungen - Teil 6: Bestimmung des Gehaltes an oxalatlöslichem Eisen. DIN 19684-6. Beuth Verlag, Berlin.
- DIN (Deutsches Institut für Normung) (2011): Bodenbeschaffenheit - Anleitung zur Auswahl und Anwendung von Verfahren für die Bewertung der Bioverfügbarkeit von Kontaminanten im Boden und in Bodenmaterialien (ISO 17402:2008); Deutsche Fassung DIN 17402. Beuth Verlag, Berlin.

- DIN (Deutsches Institut für Normung) (2012): Schlamm, behandelter Bioabfall und Boden - Aufschluss von mit Königswasser löslichen Anteilen von Elementen. EN 16174. Beuth Verlag, Berlin.
- EA (Environment Agency) (2002): Review of sublethal ecotoxicological tests for measuring harm in terrestrial ecosystems. R & D Technical Report P5-063/TR1. 191 S.
- ECHA (European Chemicals Agency) (2008): Guidance on information requirements and chemical safety assessment. Appendix R.7.13-2: Environmental risk assessment for metals and metal compounds. 78 pp.
- ECHA (European Chemicals Agency) (2014): Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment: Chapter R.7c: Endpoint specific guidance, Version 2.0, November 2014. 259 pp.
- Edwards, C.A. & Bohlen, P.J. (1996): Biology of Earthworms, Third Edition, London: Chapman and Hall. 276 pp.
- EEA (European Environment Agency) (2009): Biogeographical regions in Europe. Copyright holder: European Environment Agency, Copenhagen, Denmark.
- EFSA (European Food Safety Authority) (2009): Scientific Opinion of the Panel on Plant Protection Products and their Residues on a request of EFSA on the usefulness of total concentrations and pore water concentrations of pesticides in soil as metrics for the assessment of ecotoxicological effects. The EFSA Journal 2009; 922, 90 pp.
- EFSA (European Food Safety Authority) (2010c): Scientific Opinion on outline proposals for assessment of exposure of organisms to substances in soil. The EFSA Journal 2010; 1442, 38 pp.
- EFSA (European Food Safety Authority). (2017): Scientific Opinion addressing the state of the science on risk assessment of plant protection products for in-soil organisms. EFSA Journal 15:4690, 1-225 pp.
- Fairbrother, A., Glazebrook, P.W., van Straalen, N.M. & Tarazona, J.V. (1999): Test Methods for Hazard Determination of Metals and Sparingly Soluble Metal Compounds in Soils. SETAC (Society of Environmental Toxicology and Chemistry) Press, Pensacola, USA. 1-24.
- Gäbler, H.-E., Glüh, K., Bahr, A. & Utermann, J. (2009): Quantification of vanadium adsorption by German soils. J. of Geochemical Exploration 103: 37-44.
- Hamels, F., Maleve, J., Sonnet, P., Kleja, D.B. & Smolders, E. (2014): Phytotoxicity of Trace Metals in Spiked and Field-Contaminated Soils: Linking Soil-Extractable Metals with Toxicity. Environ. Toxicol. Chem. 33: 2479-2487.
- Hamon, R.E., McLaughlin, M.J., Gilkes, R.J., Rate, A.W., Zarcinas, B., Robertson, A., Cozens, G., Radford, N. & Bettenay, L. (2004): Geochemical indices allow estimation of heavy metal background concentrations in soils. Global Biogeochemical Cycles 18: GB1014, doi:10.1029/2003GB002063.
- Heidkamp, A. (2005): Pedotransfer-Funktionen zur Sorption von Schwermetallen in Waldböden. HORIZONTE - Herrenhäuser Forschungsbeiträge zur Bodenkunde 18. ISBN 3-89959-406-1
- Herrchen, M., Hennecke, D., Storm, A., Volmer, J. Klein, M. (2002): Vorsorgewerte / -anforderungen für Böden. UBA Texte 13/02, 71 S. Dessau.
- HFA (2014): Handbuch Forstliche Analytik. Gutachterausschuss Forstliche Analytik. BMEL, Bonn.
- Hopkin, S.P. (1993): In situ biological monitoring of pollution in terrestrial and aquatic ecosystems. In: Handbook of Ecotoxicology Calow, P. (ed.). Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK. Pp. 397-427.
- ISO (International Organization for Standardization) (1998): Soil quality – Determination of nitrate nitrogen, ammonium nitrogen and total soluble nitrogen in air dry soils using calcium chloride solution as extractant. ISO 14255. Geneva, Switzerland.
- ISO (International Organization for Standardization) (2001): Soil quality- Extraction of trace elements by buffered DTPA solution. ISO 14870. Geneva, Switzerland.
- ISO (International Organization for Standardization) (2005): Soil quality - Determination of pH. ISO 10390. Geneva, Switzerland.
- ISO (International organization for Standardization) (2008a): Soil quality — Requirements and guidance for the selection and application of methods for the assessment of bioavailability of contaminants in soil and soil materials. ISO 17402. Geneve, Switzerland.
- ISO (International organization for Standardization) (2008b): Soil quality — Extraction of trace elements from soil using ammonium nitrate solution. ISO 19730. Geneve, Switzerland.

- ISO (International Organization for Standardization) (2008c): Soil Quality - Avoidance test for evaluating the quality of soils and the toxicity of chemicals. Test with Earthworms (*Eisenia fetida/andrei*). ISO 17512-1. Geneva, Switzerland.
- ISO (International Organization for Standardization) (2009): Soil quality - Soil quality – Determination of particle size distribution in mineral soil – Method by sieving and sedimentation ISO 11277. Geneva, Switzerland.
- ISO (International Organization for Standardization) (2011): Soil Quality - Determination of soil microbial biomass. Part 1: Substrate induced respiration method. ISO 14240-1, Geneva, Switzerland.
- ISO (International Organization for Standardization) (2012a): Soil Quality - Effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*). Part 2: Determination of effects on reproduction. ISO 11268-2. Geneva, Switzerland.
- ISO (International Organization for Standardization) (2012b): Soil quality – Determination of the effects of pollutants on soil flora. Part 1: Method for the measurement of inhibition of root growth. ISO 11269-1. Geneva, Switzerland.
- ISO (International Organization for Standardization) (2012c): Soil quality – Determination of the Effects of Pollutants on Soil Flora. Part 2: Effects of chemicals on the emergence and growth of higher plants. ISO 11269-2. Geneva, Switzerland.
- ISO (International Organization for Standardization) (2012d): Soil Quality - Determination of nitrogen mineralization and nitrification in soils and the influence of chemicals on these processes. ISO 14238, Geneva, Switzerland.
- ISO (International Organization for Standardization) (2014a): Soil Quality - Inhibition of reproduction of Collembola (*Folsomia candida*) by soil pollutants. ISO 11267. Geneva, Switzerland.
- ISO (International Organization for Standardization) (2014b): Soil Quality - Effects of pollutants on Enchytraeidae (*Enchytraeus* sp.). Determination of effects on reproduction and survival. ISO 16387. Geneva, Switzerland.
- ISO (International Organization for Standardization) (2016a): Soil quality -- Contact test for solid samples using the dehydrogenase activity of *Arthrobacter globiformis*. ISO 18187. Geneva, Switzerland.
- ISO (International Organization for Standardization) (2016b): Soil quality – Extraction of trace elements using dilute nitric acid. ISO 17586, Geneva, Switzerland.
- ISO (International Organization for Standardization) (2017): Soil quality - Procedure for site-specific ecological risk assessment of soil contamination (TRIAD approach). ISO 19204. Geneva, Switzerland.
- Jänsch, S., Römbke, J., Schallnaß, H.-J. & Tertytze, K. (2007): Derivation of soil values for the path „soil – soil organisms“ for metals and selected organic compounds using species sensitivity distribution. ESPR - Environ. Sci. & Poll. Res. 14: 308-318.
- Jensen, J., Lakkenborg Kristensen, H., & Scott-Fordsmand, J.J. (1997): Soil Quality Criteria for Selected Compounds. Working Report No. 83, Ministry of Environment and Energy, Denmark. 134 pp.
- Kim, S.W., Kim, D., Moon, J., Chae, Y., Kwak, J., Park, Y. Jeong, S-W., & An, Y-J. (2017): An earthworm dispersal assay for rapidly evaluating soil quality. Envir. Tox. Chem. 36: 2766–2772.
- Kleihauer, S., Führ, M., Hommen, U., Hund-Rinke, K. & Heiß, C. (2012): Bestimmung von stoffbezogenen Umweltqualitätskriterien. Ein Methodenvergleich von nationalen und internationalen Bewertungsgrundlagen. UBA-Texte 38/2012, 215 S.
- Klimisch, H.-J., Andreae, M. & Tillmann, U. (1997): A systematic approach for evaluating the quality of experimental toxicological and ecotoxicological data. Reg. Toxicol. Pharmacol. 25: 1-5.
- Kördel, W. & Römbke, J. (2001): Requirements on Physical, Chemical and Biological Testing Methods for Estimating the Quality of Soils and Soil Substrates. JSS – J. Soils Sediments 1: 98-104.
- Kuperman, R.G., Siciliano, S., Roembke, J. & Oorts, K. (2014): Deriving Site-Specific Soil Clean-Up Values for Metals and Metalloids: Rationale for Including Protection of Soil Microbial Processes. Integ. Envir. Assess. Manag. (IEAM) 10: 388-400.
- LABO (2012) Arbeitshilfen Qualitätssicherung Teilthema 2.5a Biologische Verfahren in der Laboranalytik bei Altlasten. (Bund- / Länderarbeitsgemeinschaft Bodenschutz – Altlastenausschuss (ALA) / ad-hoc AG Beitrag der Thüringer Landesanstalt für Umwelt. 70 S.
- LABO (2017): Hintergrundwerte für anorganische und organische Stoffe in Böden. 4. überarbeitete und ergänzte Auflage. Bund/Länder-Arbeitsgemeinschaft Bodenschutz. 65 S.
- Lavelle, P. & Spain, A.V. (2005): Soil Ecology. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. 654 S.

- Lock, K., Janssen, C.R. (2002): Ecotoxicity of nickel to *Eisenia fetida*, *Enchytraeus albidus* and *Folsomia candida*. Chemosphere, 46: 197-200.
- Lock, K., De Schamphelaere, K.A.C., Because, S., Criel, P., Van Eeckhout, H. & Janssen, C.R. (2006): Development and validation of an acute biotic ligand model (BLM) predicting cobalt toxicity in soil to the potworm *Enchytraeus albidus*. Soil Biology & Biochemistry 38: 1924–1932.
- Macholz, R.M., Kaiser, D.B., Kördel, W., Hund-Rinke, K., Derz, K. & Bernhardt, C. (2011): Evaluierung vorhandener Bewertungsansätze und Entwicklung eines Konzeptes zur integrierten Wirkungsbewertung prioritärer Schadstoffe über alle Pfade auf der Grundlage der Bioverfügbarkeit. UBA-Texte 59/2011, 343 S. + Anhänge.
- Maderova, L., Watson, M. & Paton, G.I. (2011): Bioavailability and toxicity of copper in soils: Integrating chemical approaches with responses of microbial biosensors. Soil Biology & Biochemistry 43: 1162-1168.
- Mehra, O. & Jackson, M. (1958): Iron oxide removal from soils and clays by a dithionite-citrate system buffered with sodium bicarbonate. Swineford, A. (Ed.), National Conference on Clays and Clay Minerals, Washington DC, 317–327, Pergamon Press.
- Menzies, N.W., Donn, M.J. & Kopittke, P.M. (2007): Evaluation of extractants for estimation of the phytoavailable trace metals in soils. Environmental Pollution 145: 121-130.
- MERAG (Metals Environmental Risk Assessment Guidance) (2016a): Overview 2016. ICMM London, United Kingdom, 23 S.
- MERAG (Metals Environmental Risk Assessment Guidance) (2016b): Fact Sheet 03 – Effects assessment, May 2016. ICMM London, United Kingdom, 61 S.
- MERAG (Metals Environmental Risk Assessment Guidance) (2016c): Fact Sheet 05 – Bioavailability: water, soils and sediments. ICMM London, United Kingdom, 118 S.
- Merrington, G. & Schoeters, I. (2011): Soil quality standards for trace elements. Derivation, implementation and interpretation. SETAC Press, Pensacola, USA.
- Nienstedt, K.M., Brock, T.C.M., van Wensem, J., Montforts, M., Hart, A., Aagaard, A., Alix, A., Boesten, J., Bopp, S.K., Brown, C., Capri, E., Forbes, V., Köpp, H., Liess, M., Luttik, R., Maltby, L., Sousa, J.P., Streissl, F., Hardy, A.R., 2012. Development of a framework based on an ecosystem services approach for deriving specific protection goals for environmental risk assessment of pesticides. Sci. Total Environ. 415, 31–38.
- Neumann-Hensel, H. & Melbye, K. (2006): Vorbereitende Untersuchung für die Entwicklung eines Testkits für den Feststoffkontakttest mit *Arthrobacter globiformis*. In: Römbke, J., Eisenträger, A., Hund-Rinke, K., Jänsch, S., Neumann-Hensel, H. & Schallnass, H.-J.: Erprobung und Vorbereitung einer praktischen Nutzung ökotoxikologischer Testsysteme (ERNTE). Sidus Verlag, Limburg, Germany.
- Ockleford, C., Adriaanse, P., Berny, P., Brock, T., Duquesne, S., Grilli, S., Hernandez-Jerez, A.F., Bennekou, S.H., Klein, M., Kuhl, T., Laskowski, R., Machera, K., Pelkonen, O., Pieper, S., Stemmer, M., Sundh, I., Teodorovic, I., Tiktak, A., Topping, C.J., Wolterink, G., Craig, P., de Jong, F., Manachini, B., Sousa, P., Swarowsky, K., Auteri, D., Arena, M., Rob, S. (2017): Scientific Opinion addressing the state of the science on risk assessment of plant protection products for in-soil organisms. EFSA Journal 15 (2) 4690, 225 S.
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) (1984): Guideline for Testing of Chemicals No. 207. Earthworm, acute toxicity tests. Paris, France.
- OECD (Organisation for Economic Co-Operation and Development) (2000a): Guideline for Testing of Chemicals No. 216. Soil micro-organisms, Nitrogen Transformation Test. Paris.
- OECD (Organisation for Economic Co-Operation and Development) (2000b): Guideline for Testing of Chemicals No. 217. Soil micro-organisms, Carbon Transformation Test. Paris.
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) (2004a): Guidelines for Testing of Chemicals No. 220. Enchytraeid Reproduction Test. Paris, France.
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) (2004b): Guideline for Testing of Chemicals No. 222. Earthworm Reproduction Test (*Eisenia fetida* / *Eisenia andrei*). Paris, France.
- OECD (Organisation for Economic Co-Operation and Development) (2006a): Guideline for Testing of Chemicals No. 208. Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test. Paris, France.

- OECD (Organisation for Economic Co-Operation and Development) (2006b): Guideline for Testing of Chemicals No. 227. Terrestrial Plant Test: Vegetative Vigour Test. Paris, France.
- OECD (Organisation for Economic Co-Operation and Development) (2006c): Current Approaches in the Statistical Analysis of Ecotoxicity Data: A Guidance to Application. Guideline Document 54. Paris, France.
- OECD (Organisation for Economic Co-Operation and Development) (2008): Predatory Mite (*Hypoaspis (Geolaelaps) aculeifer*) Reproduction Test in Soil. Guideline for the testing of chemicals 226. Paris, France.
- OECD (Organisation for Economic Co-Operation and Development) (2009): Guideline for the Testing of Chemicals 232. Collembolan Reproduction Test in Soil. Paris, France.
- OECD (Organisation for Economic Co-Operation and Development) (2016): Guidance on the incorporation of bioavailability concepts for assessing the chemical ecological risk and/or environmental threshold values of metals and inorganic metal compounds. Series on Testing and Assessment 259. Paris, France.
- Oorts, K., Ghesquiere, U., Swinnen, K. & Smolders, E. (2006a): Soil properties affecting the toxicity of CuCl₂ and NiCl₂ for soil microbial processes in freshly spiked soils. *Environ. Toxicol. Chem.* 25: 836-844.
- Oorts, K., Bronckaers, H. & Smolders, E. (2006b): Discrepancy of the microbial response to elevated Copper between freshly spiked and long-term contaminated soils. *Environ. Toxicol. Chem.* 25: 845-853.
- Oorts, K. (2015): Bioavailability corrections for terrestrial effects assessment of copper plant protection products. ARCHE Report No. CuPPP20150624, 18 p.
- Oorts, K., Smolders, E., McGrath, S.P., Van Gestel, C.A.M., McLaughlin, M.J. & Carey, S. (2016): Derivation of ecological standards for risk assessment of molybdate in soil. *Environ. Chem.* 13: 168-180.
- Owojori, O.J., Reinecke, A.J. & Rozanov, A.B. (2010): Influence of clay content on bioavailability of copper in the earthworm *Eisenia fetida*. *Ecotox. Envir. Saf.* 73:407-414.
- Peijnenburg, W., Capri, E., Kula, C., Liess, M., Luttik, R., Montforts, M., Nienstedt, K., Römbke, J., Sousa, J.P. & Jensen, J. (2012): Evaluation of exposure metrics for effect assessment of soil invertebrates. *Crit. Rev. Envir. Sci. Tech.* 42: 1862-1893.
- Pieper, S. & Kratz, W. (1999): Ableitungsstrategien für bodenbiologisch begründete Vorsorge- und Prüfwerte. *Mittl. Deutsche Bodenkundl. Ges.* 81/2: 691-694.
- Qiu, H., Vijver, M.G., He, E. & Peijnenburg, W.J.G.M. (2013): Predicting copper toxicity to different earthworm species using a multi-component Freundlich model. *Envir. Sci. & Tech.* 47:4796-4803.
- Reimann, C., Fabian, K., Birke, M., Filzmoser, P., Demetriades, A., Negrel, P., Oorts, K., Matschullat, de Caritat, P. & The GEMAS Project Team (2018): GEMAS: Establishing geochemical background and threshold for 53 chemical elements in European agricultural soil. *Appl. Geochem.* 88: 302-318.
- Römbke, J., Eisenträger, A., Hund-Rinke, K., Jänsch, S., Neumann-Hensel, H. & Schallnass, H.-J. (2006): Erprobung und Vorbereitung einer praktischen Nutzung ökotoxikologischer Testsysteme. SIDUS-Verlag, Limburg, 372 S.
- Römbke, J. (2008): Bioavailability in soil: The role of invertebrate behavior. In: *Chemical Bioavailability in Terrestrial Environments*. Naidu, R., Bolan, N.S., Megharaj, M., Juhasz, A.L., Gupta, S.K., Clothier, B.E. & Schulin, R. (eds.). *Developments in Soil Science* 32. Elsevier Publishers, Amsterdam, The Netherlands. Pp. 245-260.
- Römbke, J. & Jänsch, S. (2007): Überprüfung der Vorsorgewerte im Hinblick auf den Schutz der Bodenorganismen sowie von Validierung von Bodenuntersuchungsverfahren. Bericht für das Umweltbundesamt. F+E-Vorhaben Nr. 206 33 206, 63 S.
- Römbke, J., Jänsch, S., Meier, M., Hilbeck, A., Teichmann, H. & Tappeser, B. (2010): General recommendations for soil ecotoxicological tests suitable for the Environmental Risk Assessment (ERA) of Genetically Modified Plants (GMPs). *Integ. Envir. Assess. Manag. (IEAM)* 6: 287-300.
- Römbke, J., Bernard, J. & Martin-Laurent, F. (2018): Standard methods for the assessment of structural and functional diversity of soil organisms: a review. *Integ. Envir. Assess. Manag. (IEAM)* 14: 463-479.
- Romero-Freire, A., Sierra-Aragón, M., Ortiz-Bernad, I. & Martín-Peinado, F.J. (2014): Toxicity of arsenic in relation to soil properties: implications to regulatory purposes. *J Soils Sediments* 14:968-979.

- Rooney, C.P., Zhao, F.J. & McGrath, S.P. (2006): Soil factors controlling the expression of copper toxicity to plants in a wide range of European soils. *Environmental Toxicology and Chemistry* 25: 726-732.
- Rooney CP, Zhao FJ, McGrath SP. 2007. Phytotoxicity of nickel in a range of European soils: Influence of soil properties, Ni solubility and speciation. *Environmental Pollution*, 145: 596-605.
- Schultz, E., Joutti, A., Räisänen, M-L., Lintinen, P., Martikainen, E. & Lehto, O. (2004): Extractability of metals and ecotoxicity of soils from two old wood impregnation sites in Finland. *Sci. Tot. Env.* 326:71-84.
- Scott-Fordsmand, J.J., Weeks, J.M. & Hopkin, S.P. (1998): Toxicity of nickel to the earthworm and the applicability of the neutral red retention assay. *Ecotoxicology*, 7 (291): 295.
- Scott-Fordsmand, J.J. & Pedersen, M.B. (1995): Soil quality criteria for selected inorganic compounds. Danish Environmental Protection Agency, Working Rep. No. 48, 200 p.
- Smith, B.A., Greenberg, B. & Stephenson, G.L. (2010): Comparison of biological and chemical measures of metal bioavailability in field soils: Test of a novel simulated earthworm gut extraction. *Chemosphere* 81:755–766
- Smith, B.A., Greenberg, B. & Stephenson, G.L. (2012): Bioavailability of copper and zinc in mining soils. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 62: 1–12
- Smolders, E. & Oorts, K. (2002): Soil selection for copper toxicity studies. University of Leuven, ICA-Project E-EU-01-11a, 34 S.
- Smolders, E., Oorts, K., Van Sprang, P., Schoeters, I., Janssen, C.R., McGrath, S.P. & McLaughlin, M.J. (2009): Toxicity of Trace Metals in Soil as Affected by Soil Type and Aging after Contamination: Using Calibrated Bioavailability Models to Set Ecological Soil Standards. *Environ. Toxicol. Chem.* 28: 1633-1642.
- Song, J.F., Zhao, J., McGrath, S.P. & Luo, Y.M. (2006): Influence of Soil Properties and Aging on Arsenic Phytotoxicity. *Environ. Toxicol. Chem.* 25: 1663-1670.
- Stange, C. F. & Rückamp, D. (2016): Experimentelle Ermittlung und statistische Ableitung von substratübergreifenden Adsorptionisothermen für Arsenat und Vanadat. Bericht für das Umweltbundesamt. F+E-Vorhaben Nr. 40227, 52 S.
- Tertytze, K., Wagner, R., Hund-Rinke, K., Derz, K.; Rotard, W., Vogel, I., Schatten, R., Macholz, R. & Bernhardt, C. (2010): Bewertungsmaßstäbe zur Beurteilung von Schadstoffbelastungen in Böden anhand der Bioverfügbarkeit. Zielstellung des Verbundvorhabens BioRefine. *Umweltwissenschaften & Schadstoff-Forschung* 22: 63-67.
- Thiele-Bruhn, S., Schlöter, M., Wilke, B-M., Beaudette, L.A., Martin-Laurent, F., Cheviron, N., Mougin, C. & Römbke, J. (2020): Identification of new microbial functional standards for soil quality assessment. *Soil (EGU)* [Im Druck]
- Throl, C. (2000): Ableitung ökotoxikologisch begründeter Bodenqualitätskriterien am Beispiel Arsen. *UWSF – Z. Umweltchem. Ökotox.* 12: 137-147.
- Tibazarwa, C., Corbisier, P., Mench, M., Bossus, A., Solda, P., Mergeay, M., Wyns, L. & van der Lelie, D. (2001): A microbial biosensor to predict bioavailable nickel in soil and its transfer to plants. *Environmental Pollution* 113: 19-26.
- Tóth, G., Hermann, T., Da Silva, M.R. & Montanarella, L. (2016a): Heavy metals in agricultural soils of the European Union with implications for food safety. *Envir. Intl.* 88: 299-309.
- Tóth, G., Hermann, T., Szatmári, G. & Pásztor, L. (2016b): Maps of heavy metals in the soils of the European Union and proposed priority areas for detailed assessment. *Sci. Total Envir.* 565: 1054-1062.
- Turbé, A., De Toni, A., Benito, P., Lavelle, P., Ruiz, N., Van der Putten, W., Labouze, E., Mudgal, S. (2010): Soil biodiversity: functions, threats, and tools for policy makers. BioIntelligence Service, IRD, and NIOO, Report for European Commission (DG Environment), Brussels, Belgium. 250 S.
- USA EPA (Environmental Protection Agency) (2005): Ecological Soil Screening Levels for Arsenic. Interim Final. OSWER Directive 9285.7-62. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, DC, USA. 135 pp.
- USA EPA (Environmental Protection Agency) (2007): Ecological Soil Screening Levels for Nickel. Interim Final. OSWER Directive 9285.7-76. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, DC, USA. 135 pp.
- Utermann, J. Düwel, O. (2013): Hintergrundwerte für Spurenelemente in Böden mit Blick auf Bodenarten-Hauptgruppen. *Handbuch des Bodenschutzes* 1525, Lfg. 1/13, 17 S.

- Van Eeckhout, H., De Schamphelaere, K.A.C., Heijerick, D.G., Van Sprang, P.A. & Janssen, C.R. (2005): Bioavailability and ageing of nickel in soils: invertebrate toxicity testing. Final report for the Nickel Producers Environmental Research Association (NiPERA).
- VDLUFA (1991): Methodenbuch Band 1: Die Untersuchung von Böden. Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten, Darmstadt.
- Vogel, I., Tertyze, K., Römbke, J. & Jänsch, S. (2009): Methodologie der Ableitung von Vorsorgewerten unter besonderer Berücksichtigung der Bodenorganismen im Hinblick auf den Schutz der Lebensraumfunktion von Böden. In: Handbuch des Bodenschutzes. Rosenkranz, D. et al. (eds.), E. Schmidt Verlag, Berlin. 48. Lfg. IX/09, Nr. 3555: 1-18.
- Weidemann, G. (1990): Indikation, Beurteilung und Bewertung in der Ökotoxikologie. Mitt. dtsh. Ges. allg. angew. Ent. 7/2: 577-581.
- Yang, H.-C. & Rosen, B.P. (2015): New mechanisms of bacterial arsenic resistance. Biomed. Journal 39: 5-13.
- Zehl, K. (2005): Schwermetalle in Sedimenten und Böden unter besonderer Berücksichtigung der Mobilität und deren Beeinflussung durch Sauerstoff. Dissertation, Universität Jena, 134 S.
- Zhao, F.J., Rooney, C.P., Zhang, H. & McGrath, S.P. (2006): Comparison of soil solution speciation and diffusive gradients in thin-films measurement as an indicator of copper bioavailability to plants. Environ. Toxicol. Chem. 25: 733-742.

12 Anhang: Durchführung und Ergebnisse der Tests mit Kupfer und Nickel

12.1 Einführung

Beide Metalle gehören zu den besten untersuchten Stoffen in der Bodenökotoxikologie. So liegen in den REACH-Dossiers für Kupfer und kupferhaltige Verbindungen insgesamt 252 belastbare chronische Datensätze (NOEC oder EC₁₀) zu den Auswirkungen von Kupfer auf neun Pflanzenarten, 10 Invertebraten sowie neun mikrobielle Prozesse vor (ECHA dissemination pages on Cu metal: <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/15562/6/4/1>). Für Nickel gibt es in der REACH-Datenbank 73 chronische (NOEC oder EC₁₀) Werte, wobei 11 Pflanzenarten, sechs Invertebraten sowie 26 mikrobielle Gruppen bzw. Prozesse abgedeckt werden (ECHA dissemination pages on Ni metal: <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/15544/6/4/1>).

Kupfer und Nickel liegen in wässrigen Lösungen am häufigsten als zweiwertige (+II) Kationen vor. Entsprechend den ökotoxikologischen Tests im belgisch/europäischen Projekt (Oorts et al., 2006a) wurden als Vorbereitung für die Extraktionsversuche Kupferchlorid (CuCl₂ * 2 H₂O) und Nickelchlorid (NiCl₂ * 6 H₂O) zu den Böden hinzugegeben. Die Tests mit Kupfer und Nickel wurden analog zu den Tests mit Arsen durchgeführt, so dass die im Kapitel 5.1 aufgeführten Informationen auch für die Versuche mit Kupfer und Nickel gelten.

Aufgrund der in diesem Vorhaben durchgeführten Ergänzungen zu dem bestehenden sehr großen Datensatz (Ergebnisse aus zwei Tests in sechs Böden) waren daher keine gravierenden Änderungen hinsichtlich der Ableitung von Bodenwerten zu erwarten. Zur Überprüfung dieser Annahme wurden die in diesem Vorhaben neu erhobenen Daten mit dem im jeweiligen REACH-Dossier vorliegenden ökotoxikologischen Daten kombiniert und einer erneute Auswertung des Gesamtdatensatzes analog zum oben beschriebenen Vorgehen bei Arsen durchgeführt (vgl. speziell Tabelle 69 und Tabelle 70 für Kupfer und Tabelle 87 und Tabelle 88 für Nickel). Demnach lägen, vor allem aufgrund der Neuberechnung (speziell der Einbeziehung des L/F-Faktors und damit der Bioverfügbarkeit) die abgeleiteten Bodenwerte um ca. den Faktor 2 höher als die bestehenden Werte der BBodSchV (1999).

12.2 Ausgangsgehalte von Kupfer und Nickel in den Testböden

Die Ausgangsgehalte der beiden Metalle wurden bei der Durchführung der Extraktionsversuche und beim Königswasser-Aufschluss mitbestimmt. Wie in den Arsen-Tests entspricht die Kontrolle der ökotoxikologischen Tests einer Dosis von 0 mg/kg (= Ausgangsgehalt). Die Messwerte im Königswasser-Aufschluss entsprechen fast den Boden-Gesamtgehalten (siehe Tabelle 55). Die Gehalte sind durch das Ausgangsgestein und diffuse Einträge geprägt, weil keine belasteten Standorte untersucht wurden.

Tabelle 55: Kupfer- und Nickel-Gehalte im Königswasser-Aufschluss der verwendeten Böden

Name	Kupfer (mg/kg)	Nickel (mg/kg)
LUFA 2.2	2,94	4,57
Refesol 05-G	5,91	12,2
Refesol 06-A	41,8	82,3
Ter Munck	15,1	12,1
Woburn	17,8	41,0
Zegveld	55,2	34,1

12.3 Durchführung der Tests mit Kupfer

Die meisten Cu-Daten wurden der Literatur entnommen (Antunes et al. 2007; Oorts et al. 2006b, Oorts 2015; Rooney et al. 2006; Criel et al., 2008). Daher werden im Folgenden nur die in diesem Vorhaben neu erhobenen Daten beschrieben, wobei die gleichen Richtlinien wie mit Arsen verwendet wurden. Unterschiede inkl. der jeweiligen Validitätskriterien werden im Folgenden aufgeführt. Der Bakterienfeststoffkontakttest wurde anhand der Richtlinie ISO 18187 (2016a) durchgeführt. Wie dort beschrieben, wurden meist 5 Konzentrationsstufen (festgelegt anhand von Konzentration-Findungstests) sowie eine Negativ- und eine Positiv-Kontrolle mit je 4 Replikaten getestet (Tabelle 56).

Tabelle 56: Übersicht der getesteten Konzentrationsstufen in den durchgeführten Bakterienkontakttests mit *Arthrobacter globiformis* mit allen 6 Böden [mg Cu/kg Boden TG]

Code ¹	NC	PC	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7
LUFA 2.2	0	600 ²	100	178	316	562	1000	-	-
Refesol 05-G	0	600 ²	40	126	400	1264	4000	-	-
Refesol 06-A	0	600 ²	400	711	1265	2249	4000	-	-
Ter Munck	0	600 ²	604	1074	1910	3397	6039	-	-
Woburn	0	600 ²	400	711	1265	2249	4000	-	-
Zegveld	0	600 ²	5	15	48	151	477	1510	4774
Replikanzahl	4	4	4	4	4	4	4	4	4

1) C = Konzentrationsstufe, NC = Negativkontrolle, PC = Positivkontrolle, 2) 600 mg Benzalkoniumchlorid/kg Boden TG

Der Regenwurm-Fluchttest wurde mit der Spezies *Eisenia andrei* auf Grundlage der Richtlinie ISO 17512-1 (2008c) durchgeführt. In allen durchgeführten Tests wurden bis zu 6 Konzentrationsstufen (Tabelle 57) mit behandeltem Boden sowie eine Kontrolle mit unbehandeltem Boden in beiden Kammern getestet (siehe Kap. 5.1.6). Sowohl für Kontrolle als auch für die Konzentrationsstufen wurden insgesamt 5 Replikate vorbereitet.

Tabelle 57: Übersicht der getesteten Konzentrationsstufen in den durchgeführten Regenwurm-Fluchttests mit *Eisenia andrei* mit allen 6 Böden [mg Cu/kg Boden TG]

Kodierung*	C0	C1	C2	C3	C4	C5	C6
LUFA 2.2	0	3,8	10	38	100	380	1000
Refesol 05-G	0	10	31,6	100	316	1000	-
Refesol 06-A	0	10	31,6	100	316	1000	-
Ter Munck	0	10	31,6	100	316	1000	-
Woburn	0	10	31,6	100	316	1000	-
Zegveld	0	10	31,6	100	316	1000	-
Replikanzahl	5	5	5	5	5	5	5

* Code: C = Konzentrationsstufe, C0 = Testboden Kontrolle.

12.4 Ergebnisse der ökotoxikologischen Tests für das Metall Kupfer

Für das Metall Kupfer wurden im Gegensatz zu der Arsenreihe nur zwei Testsysteme verwendet. Diese Daten sollten bereits vorhandene Toxizitätsdaten über Kupfer ergänzen.

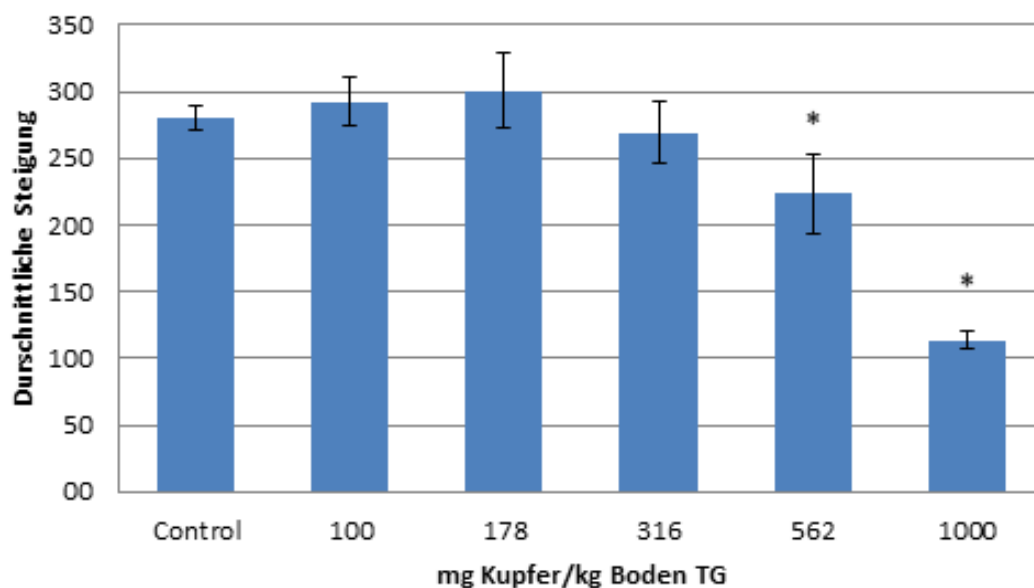
12.4.1 Ergebnisse der Tests mit dem Boden LUFA 2.2

Im Bakterienkontakttest mit *Arthrobacter globiformis* wurde ein NOEC-Wert von 316 mg Cu/kg Boden TG ermittelt (Tabelle 58; Abbildung 58). Die EC₁₀- und EC₅₀-Werte betrugen 438 bzw. 880,9 mg Cu/kg Boden TG. Im Regenwurm-Fluchttest mit *Eisenia andrei* wurde ein NOEC-Wert von 10 mg Cu/kg Boden TG ermittelt (Tabelle 58; Abbildung 59). Der EC₁₀-Wert wurde auf 8,9 (95% Konfidenzintervall: 2,3 – 34,2) mg Cu/kg Boden TG berechnet und lag somit unter dem ermittelten NOEC-Wert. Der EC₅₀-Wert betrug 32,5 mg Cu/kg Boden TG.

Tabelle 58: Ermittelte NOEC-/ECx-Werte [mg Cu/kg Boden TG], jeweils im LUFA 2.2 Boden

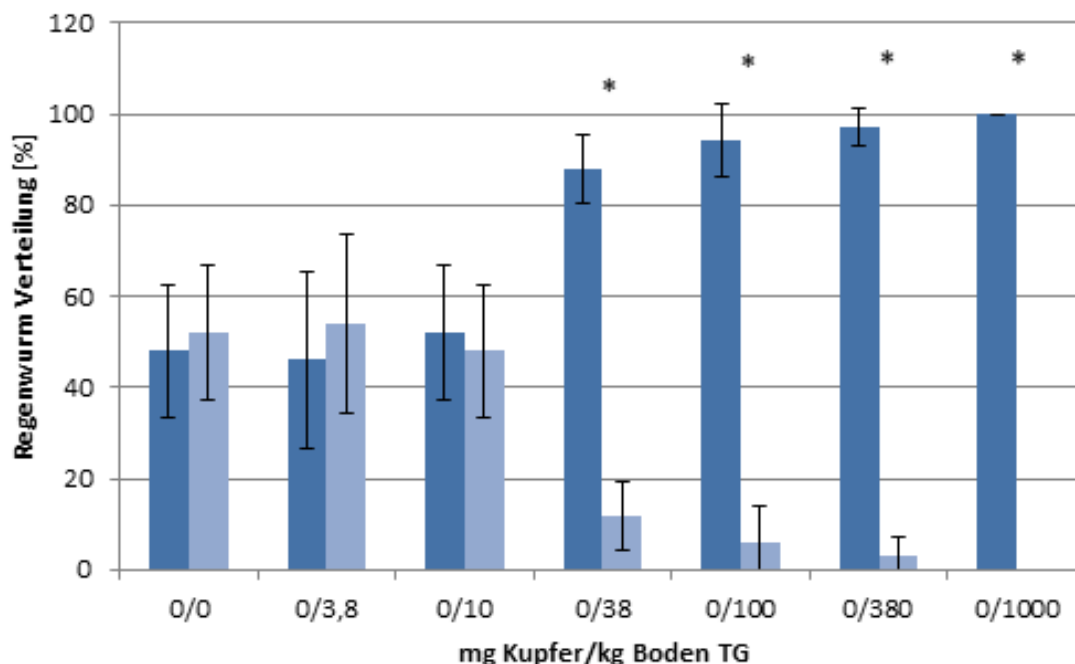
	NOEC	LOEC	EC ₁₀ (Unterer 95% KI - Oberer 95% KI)	EC ₅₀ (Unterer 95% KI - Oberer 95% KI)
Bakterienkontakttest	316,0	562,0	438,0 (421,2 - 453,9)	880,9 (865,95 - 896,64)
Regenwurm-Fluchttest	10,0	38,0	8,9 (2,3 - 34,2)	32,5 (13,6 - 77,6)

Abbildung 58: Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Kupfer im Boden LUFA 2.2. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 59: Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Kupfer im Boden LUFA 2.2. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

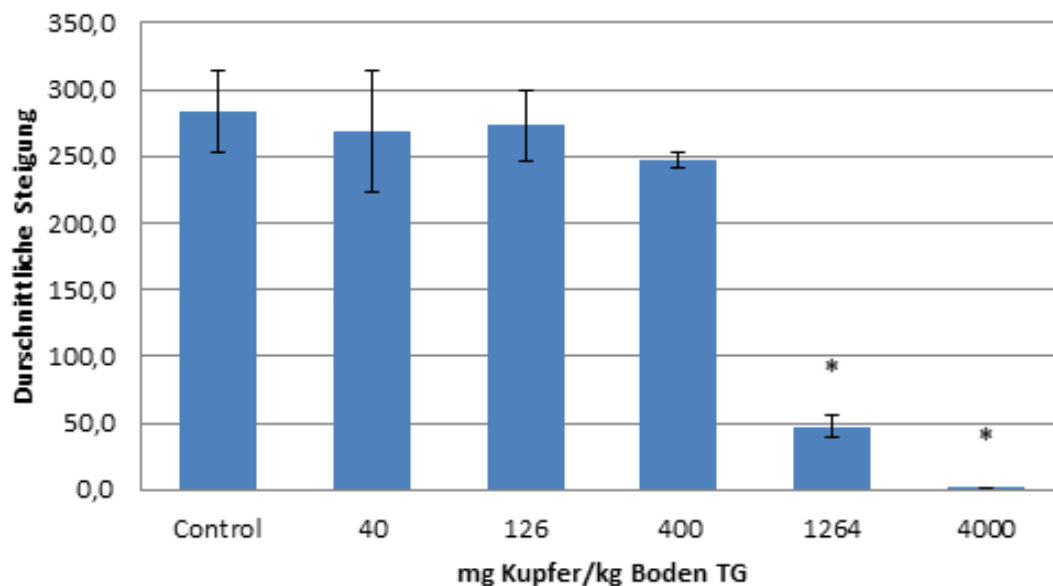
12.4.2 Ergebnisse der Tests mit dem Boden Refesol 05-G

Im Bakterienkontakttest wurde ein NOEC-Wert von 400 mg Cu/kg Boden TG ermittelt (Tabelle 59; Abbildung 60). Der EC₁₀-Wert wurde mit 369,4 (95% Konfidenzintervall: 231,3 – 479,7) mg Cu/kg Boden TG berechnet und lag somit unter dem ermittelten NOEC-Wert. Der EC₅₀-Wert betrug 746 mg Cu/kg Boden TG. Im Regenwurm-Fluchttest mit *Eisenia andrei* lag der NOEC-Wert bei 10 mg Cu/kg Boden TG (Tabelle 59; Abbildung 61). Der EC₁₀-Wert wurde als 8,8 mg Cu/kg Boden TG berechnet und lag somit unter dem NOEC-Wert. Der EC₅₀-Wert betrug 33 mg Cu/kg Boden TG.

Tabelle 59: Ermittelte NOEC-/ECx-Werte [mg Cu/kg Boden TG], jeweils im Refesol 05-G Boden

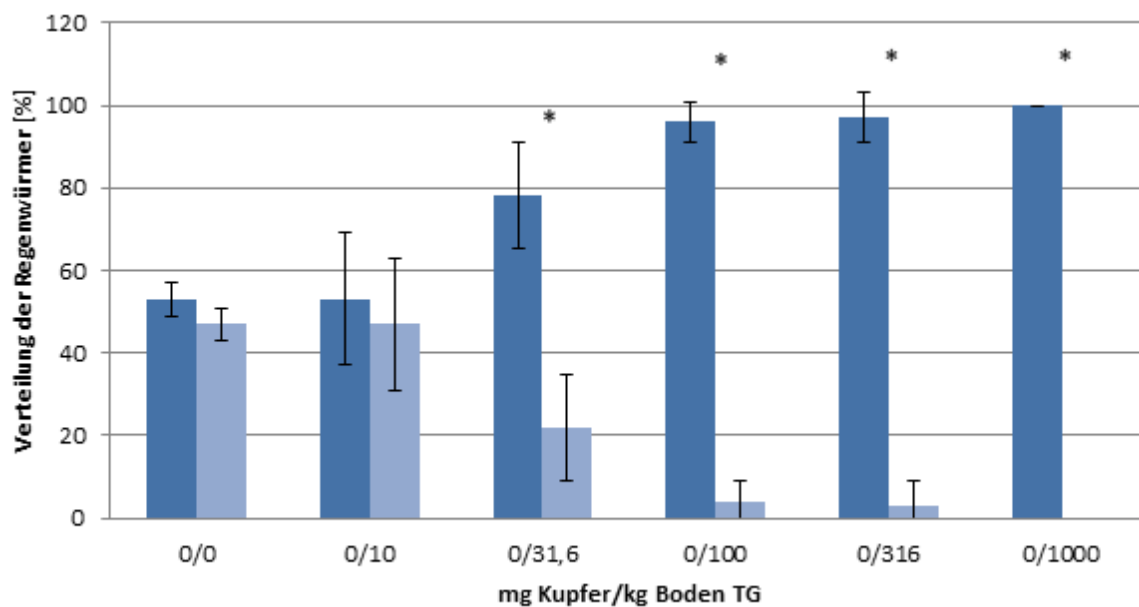
	NOEC	LOEC	EC ₁₀ (Unterer 95% KI - Oberer 95% KI)	EC ₅₀ (Unterer 95% KI - Oberer 95% KI)
Bakterienkontakttest	400,0	1264,0	369,4 (231,3-479,7)	746,0 (599,9-913,5)
Regenwurm-Fluchttest	10,0	31,6	11,5 (2,6-51,3)	37,9 (15,2-94,5)

Abbildung 60: Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Kupfer im Boden Refesol 05-G. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 61: Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Kupfer im Boden Refesol 05-G. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

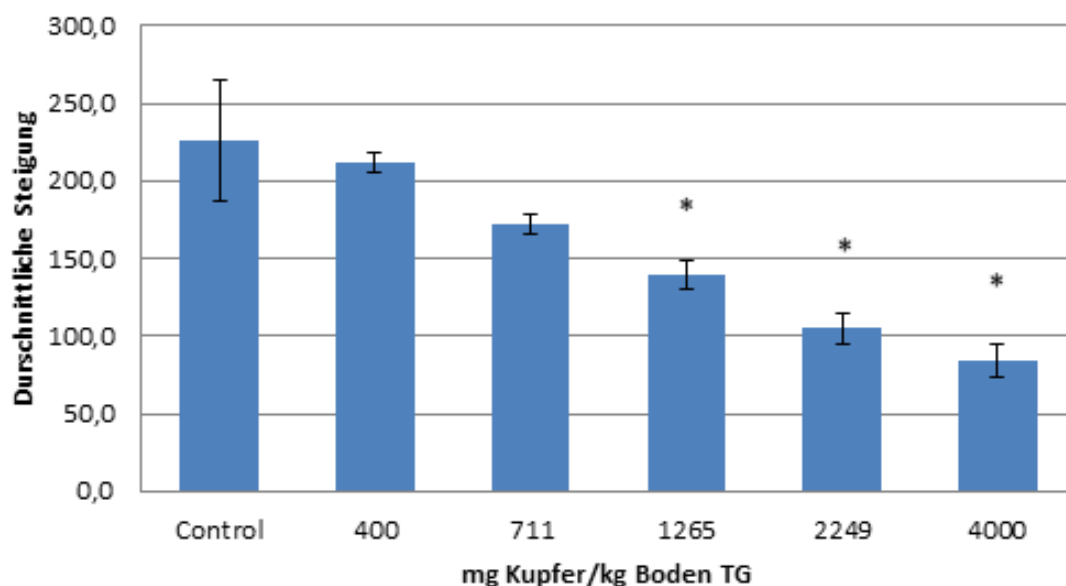
12.4.3 Ergebnisse der Tests mit dem Boden Refesol 06-A

Im Bakterienkontakttest wurde ein NOEC-Wert von 711 mg Cu/kg Boden TG ermittelt (Tabelle 60; Abbildung 62). Der EC₁₀-Wert konnte als 338,8 mg Cu/kg Boden TG berechnet werden und lag somit unter dem ermittelten NOEC-Wert. Da es sich dabei jedoch um einen extrapolierten Wert handelte wurde dieser bei der weiteren Auswertung nicht berücksichtigt. Der EC₅₀-Wert betrug 2168,2 mg Cu/kg Boden TG. Im Regenwurm-Fluchttest mit *Eisenia andrei* war der NOEC-Wert 31,6 mg Cu/kg Boden TG (Tabelle 60; Abbildung 63), während der EC₁₀-Wert als auf 7,8 mg Cu/kg Boden TG berechnet wurde und somit unter dem ermittelten NOEC-Wert lag. Auch dieser Wert war unter die niedrigste Testkonzentration extrapoliert und wurde bei der weiteren Auswertung nicht berücksichtigt. Der EC₅₀-Wert betrug 56,6 mg Cu/kg Boden TG.

Tabelle 60: Ermittelte NOEC-/ECx-Werte [mg Cu/kg Boden TG], jeweils im Refesol 06 Boden. Extrapolierte Werte sind in Klammern angegeben; diese Werte wurden bei der weiteren Auswertung nicht berücksichtigt

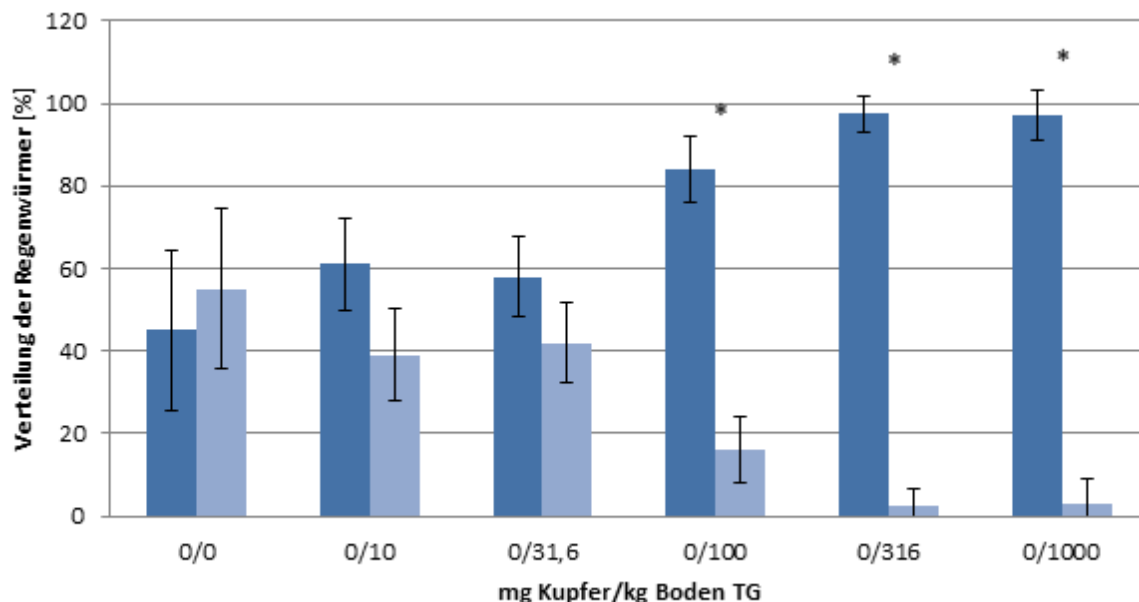
	NOEC	LOEC	EC ₁₀ (Unterer 95% KI - Oberer 95% KI)	EC ₅₀ (Unterer 95% KI - Oberer 95% KI)
Bakterienkontakttest	711,0	1265,0	(338,8) (108,8-567,5)	2168,2 (1633,3-3207,4)
Regenwurm-Fluchttest	31,6	100,0	(7,8) (0,98-62,6)	56,6 (18,7-171,9)

Abbildung 62: Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Kupfer im Boden Refesol 06-A. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 63: Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Kupfer im Boden Refesol 06-A. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

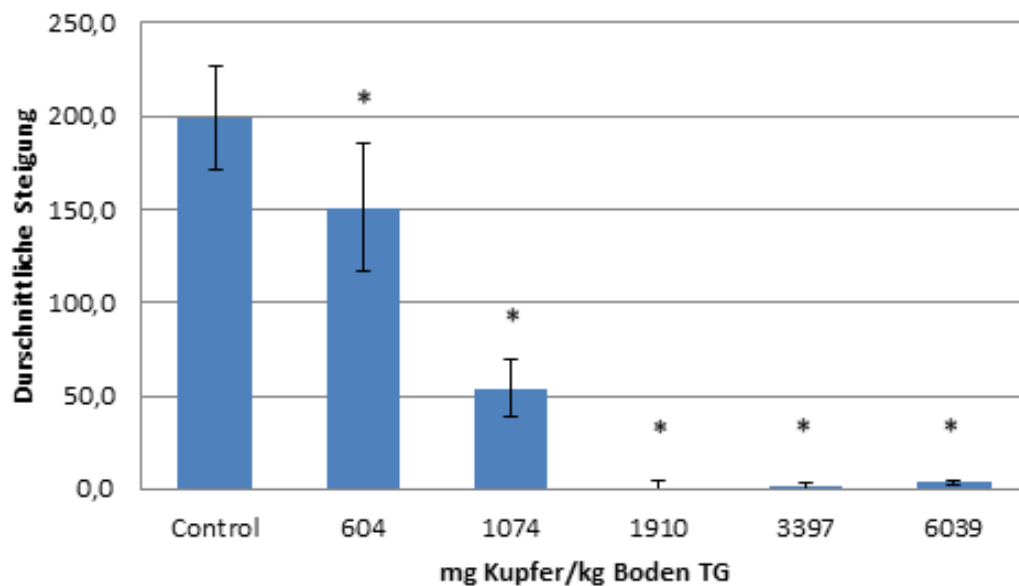
12.4.4 Ergebnisse der Tests mit dem Boden Ter Munck

Im Bakterienkontakttest konnte kein NOEC bestimmt werden, da ein Effekt bereits in der ersten getesteten Konzentrationsstufe von 604 mg Cu/kg Boden TG beobachtet wurde (Tabelle 61; Abbildung 64). Der EC₁₀-Wert lag bei 472,7 (95% Konfidenzintervall: 416,0 – 519,47) mg Cu/kg Boden TG und war damit kleiner als der NOEC-Wert und unterhalb aller getesteten Konzentrationen. Daher wurde dieser extrapolierte Wert bei der weiteren Auswertung nicht berücksichtigt. Der EC₅₀-Wert betrug 817,7 mg Cu/kg Boden TG. Im Regenwurm-Fluchttest mit *Eisenia andrei* betrug der NOEC-Wert 31,6 mg Cu/kg Boden TG (Tabelle 61; Abbildung 65). Der EC₁₀-Wert konnte als 8,2 mg Cu/kg Boden TG berechnet werden und lag somit unter dem ermittelten NOEC-Wert. Auch dieser Wert war unter die niedrigste Testkonzentration extrapoliert und wurde bei der weiteren Auswertung nicht berücksichtigt. Der EC₅₀-Wert war 29,6 mg Cu/kg Boden TG.

Tabelle 61: Ermittelte NOEC-/ECx-Werte [mg Cu/kg Boden TG], jeweils im Ter Munck Boden. Extrapolierte Werte sind in Klammern angegeben; diese Werte wurden bei der weiteren Auswertung nicht berücksichtigt

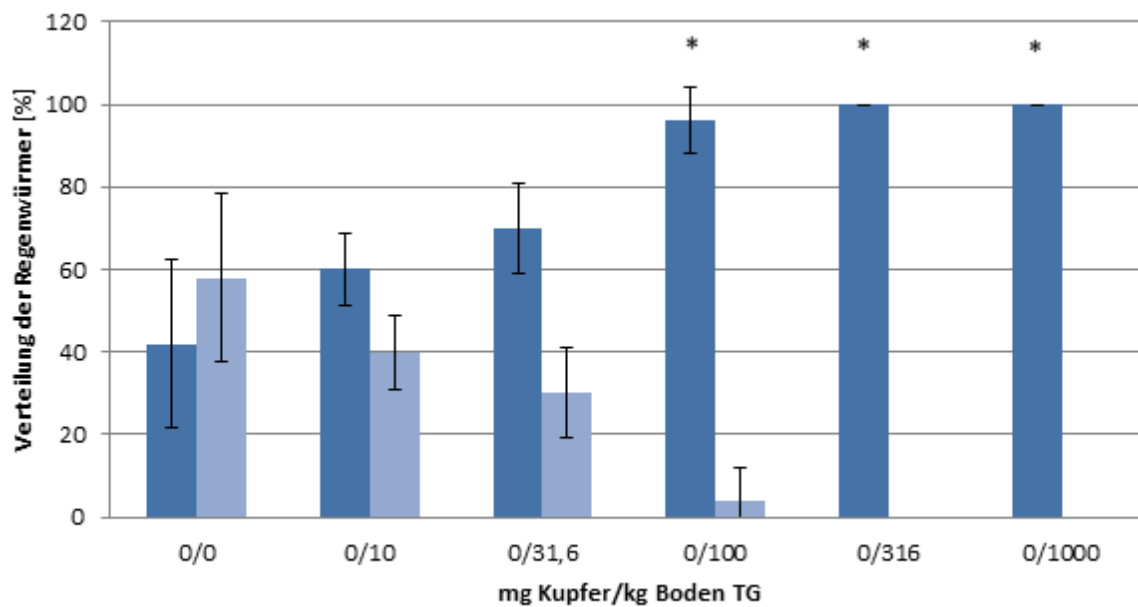
	NOEC	LOEC	EC ₁₀ (Unterer 95% KI - Oberer 95% KI)	EC ₅₀ (Unterer 95% KI - Oberer 95% KI)
Bakterienkontakttest	<604,0	604,0	(472,7) (416,0 - 519,5)	817,7 (775,7 - 861,4)
Regenwurm-Fluchttest	31,6	100,0	(8,2) (5,5 - 12,3)	29,6 (23,5 - 37,3)

Abbildung 64: Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Kupfer im Boden Ter Munck. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 65: Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Kupfer im Boden Ter Munck. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

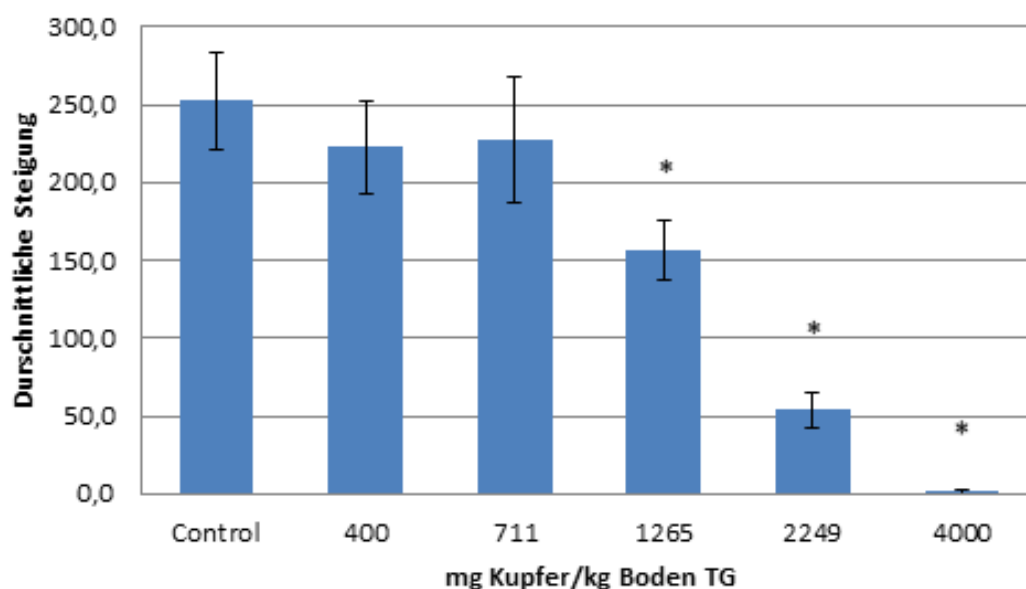
12.4.5 Ergebnisse der Tests mit dem Boden Woburn

Im Bakterienkontakttest mit *Arthrobacter globiformis* wurde ein NOEC-Wert von 711 mg Cu/kg Boden TG ermittelt (Tabelle 62; Abbildung 66). Der EC₁₀- und EC₅₀-Wert betrug 717,6 bzw. 1461,5 mg Cu/kg Boden TG. Im Regenwurm-Fluchttest wurde ein NOEC-Wert von 10 mg Cu/kg Boden TG ermittelt (Tabelle 62; Abbildung 67). Der EC₁₀- und EC₅₀-Wert betrug 10,5 bzw. 64,1 mg Cu/kg Boden TG.

Tabelle 62: Ermittelte NOEC-/ECx-Werte [mg Cu/kg Boden TG], jeweils im Woburn Boden

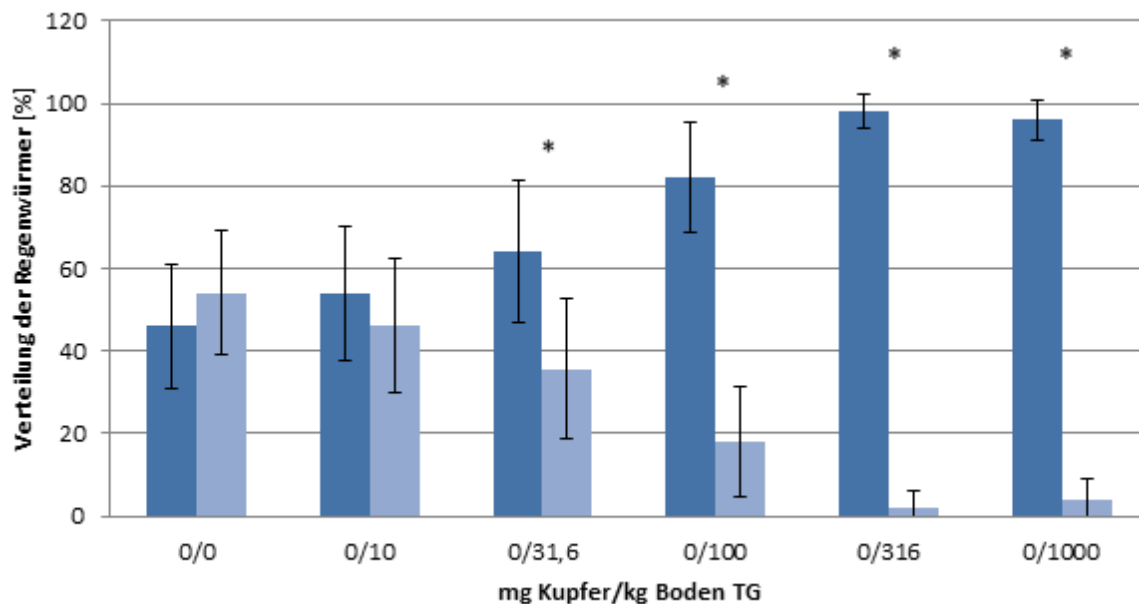
	NOEC	LOEC	EC ₁₀ (Unterer 95% KI - Oberer 95% KI)	EC ₅₀ (Unterer 95% KI - Oberer 95% KI)
Bakterienkontakttest	711,0	1265,0	717,6 (267,1 - 983,8)	1461,5 (1116,5 - 1914,1)
Regenwurm-Fluchttest	10,0	31,6	10,5 (0,44 - 28,0)	64,1 (21,9 - 162,0)

Abbildung 66: Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Kupfer im Boden Woburn. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 67: Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Kupfer im Boden Woburn. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

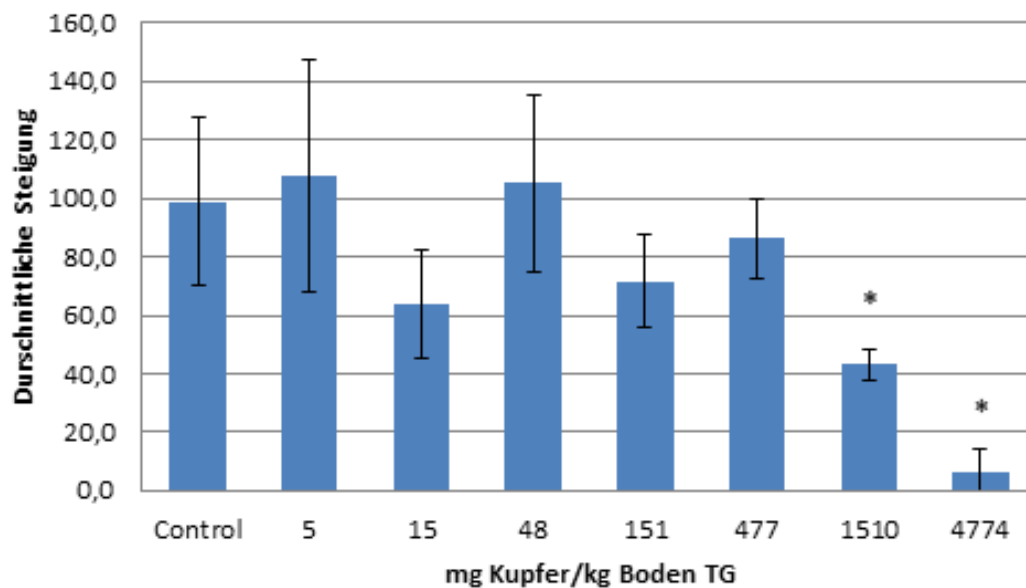
12.4.6 Ergebnisse der Tests mit dem Boden Zegveld

Im Zegveld Boden durchgeführten Bakterienkontakttest wurde ein NOEC-Wert von 477,0 mg Cu/kg Boden TG bestimmt (Tabelle 63; Abbildung 68). Der EC₁₀- und EC₅₀-Wert betrug 566,7 bzw. 1484 mg Cu/kg Boden TG. Im Regenwurm-Fluchttest mit *Eisenia andrei* konnte ein NOEC-Wert von 100 mg Cu/kg Boden TG ermittelt werden (Tabelle 63; Abbildung 69). Der EC₁₀-Wert wurde auf 56,8 (95% Konfidenzintervall: 36,2 – 76,0) mg Cu/kg Boden TG berechnet werden und lag somit unter dem ermittelten NOEC-Wert. Der EC₅₀-Wert betrug 162,9 mg Cu/kg Boden TG.

Tabelle 63: Ermittelte NOEC-/ECx-Werte [mg Cu/kg Boden TG], jeweils im Zegveld Boden

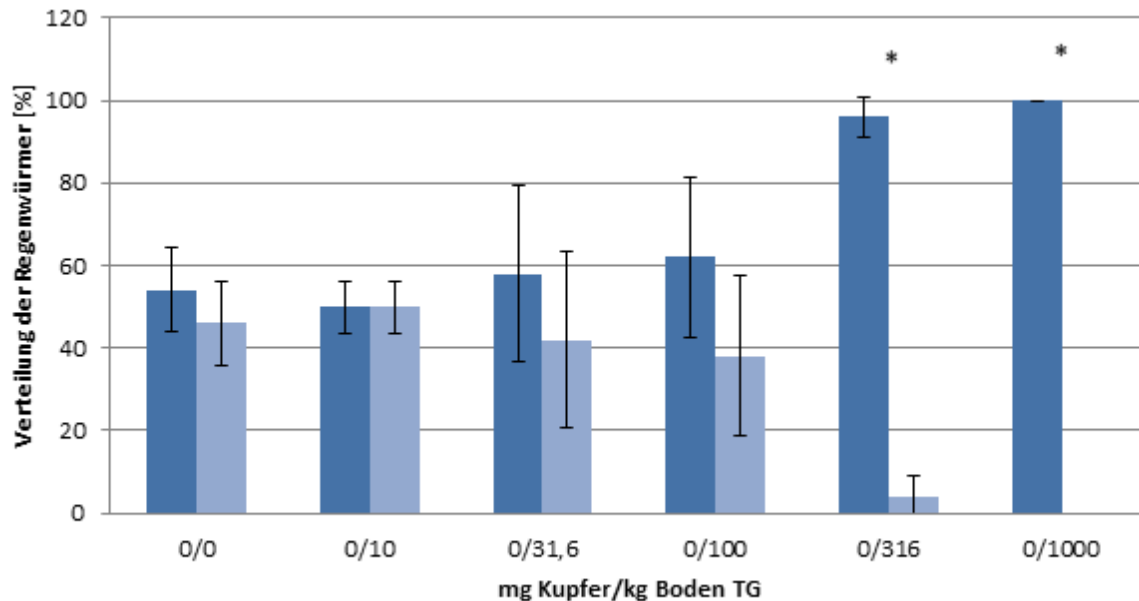
	NOEC	LOEC	EC ₁₀ (Unterer 95% KI - Oberer 95% KI)	EC ₅₀ (Unterer 95% KI - Oberer 95% KI)
Bakterienkontakttest	477,0	1510,0	566,7 (157,8 - 2035,4)	1484,0 280,1 - 7721,2
Regenwurm-Fluchttest	100,0	316,0	56,8 (36,2 - 76,0)	162,9 134,3 - 192,2

Abbildung 68: Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Kupfer im Boden Zegveld. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 69: Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Kupfer im Boden Zegveld. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

12.5 Extraktionsversuche und Sorptionsisothermen für das Metall Kupfer

In den folgenden Tabelle 64 und Tabelle 65 sowie Abbildung 70 und Abbildung 75 sind die Ergebnisse der Extraktion von Kupfer mittels sechs verschiedener Extraktionsverfahren ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$; 1 M NH_4NO_3 ; 0,01 M CaCl_2 ; DTPA; 0,43 M HNO_3 ; Königswasser) aus den sechs Testböden im Vergleich zur gespikten Nominalkonzentration dargestellt (in Tabellen getrennt zwischen den drei Refesol-Böden (inkl. LUFA 2.2 = Refesol 01-A) sowie den drei anderen Feldeböden). Alle abgeleiteten Sorptionsisothermen für Kupfer wurden verworfen, da der Freundlich-Exponent in allen Fällen größer als 1 war und somit keine Konformität zum Freundlich-Modell gegeben war.

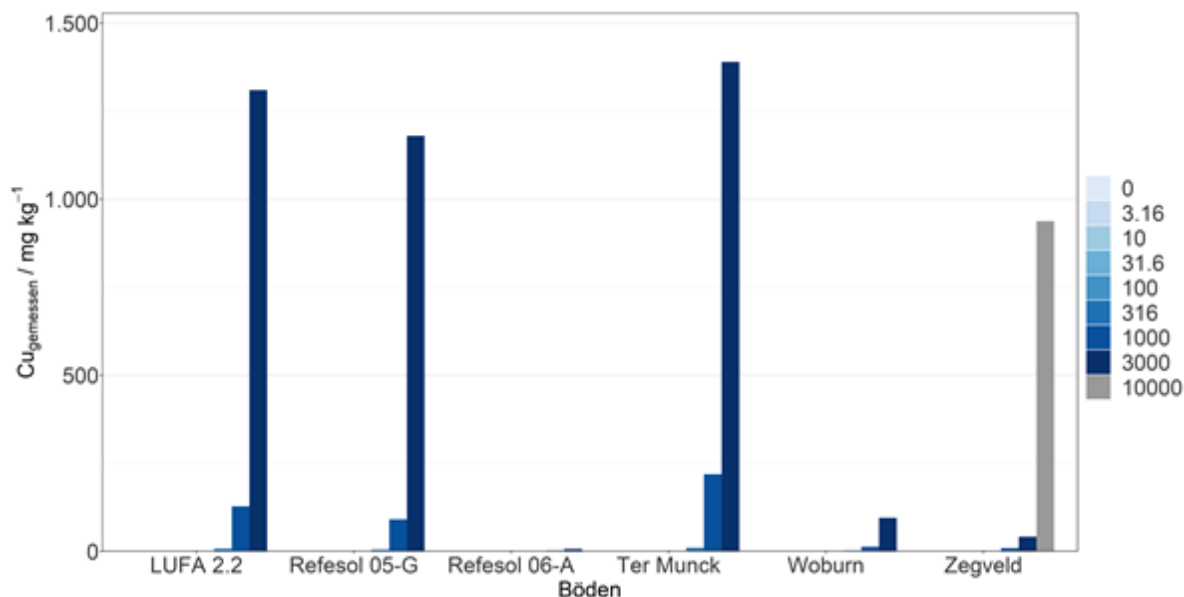
Tabelle 64: Konzentrationen von Kupfer (mg/kg TG) in drei verschiedenen Referenzböden, gemessen mittels sechs verschiedener Extraktionsverfahren, jeweils im Vergleich zur gespikten Nominalkonzentration

Boden	Zugabe [mg/kg]	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ [mg/kg]	NH_4NO_3 [mg/kg]	CaCl_2 [mg/kg]	DTPA [mg/kg]	HNO_3 [mg/kg]	Königswasser [mg/kg]
LUFA 2.2	0	0,0175	0,0238	0,0631	1,06	1,83	2,94
LUFA 2.2	3,16	0,057	0,0744	0,103	4,31	5,44	5,85
LUFA 2.2	10	0,114	0,201	0,259	11,3	12,7	8,51
LUFA 2.2	31,6	0,264	0,597	0,806	24,7	39,4	30,1
LUFA 2.2	100	0,984	1,34	3,46	105	128	106
LUFA 2.2	316	7,43	10,7	28,2	384	327	334
LUFA 2.2	1000	128	198	341	1130	992	943
LUFA 2.2	3000	1310	1410	1710	3060	3260	2920
Refesol 05-G	0	0,03	0,0739	0,076	1,17	2,42	5,91
Refesol 05-G	3,16	0,0805	0,0589	0,126	3,9	5,3	9,66
Refesol 05-G	10	0,165	0,105	0,301	13,3	12,8	10,3
Refesol 05-G	31,6	0,538	0,367	0,728	22,2	35,6	31,9
Refesol 05-G	100	1,53	1,14	3,83	104	92,4	94,7
Refesol 05-G	316	4,93	23	19,9	312	279	303
Refesol 05-G	1000	91,1	159	175	990	1180	1170
Refesol 05-G	3000	1180	2280	1750	2780	3240	3000
Refesol 06-A	0	0,0481	0,199	0,151	3,08	8,44	41,8
Refesol 06-A	3,16	0,0863	0,205	0,213	9,6	13,9	49,8
Refesol 06-A	10	0,0994	0,259	0,249	10,9	16,1	48,1
Refesol 06-A	31,6	0,16	0,406	0,388	42,2	32,9	79,2
Refesol 06-A	100	0,314	0,871	0,985	97,8	77,6	162
Refesol 06-A	316	0,75	3,11	2,11	326	336	566
Refesol 06-A	1000	2,76	22,9	4,31	1580	730	846
Refesol 06-A	3000	6,5	99,9	11	1960	2830	2770

Tabelle 65: Konzentrationen von Kupfer (mg/kg TG) in drei verschiedenen Freilandböden, gemessen mittels sechs verschiedener Extraktionsverfahren, jeweils im Vergleich zur gespikten Nominalkonzentration

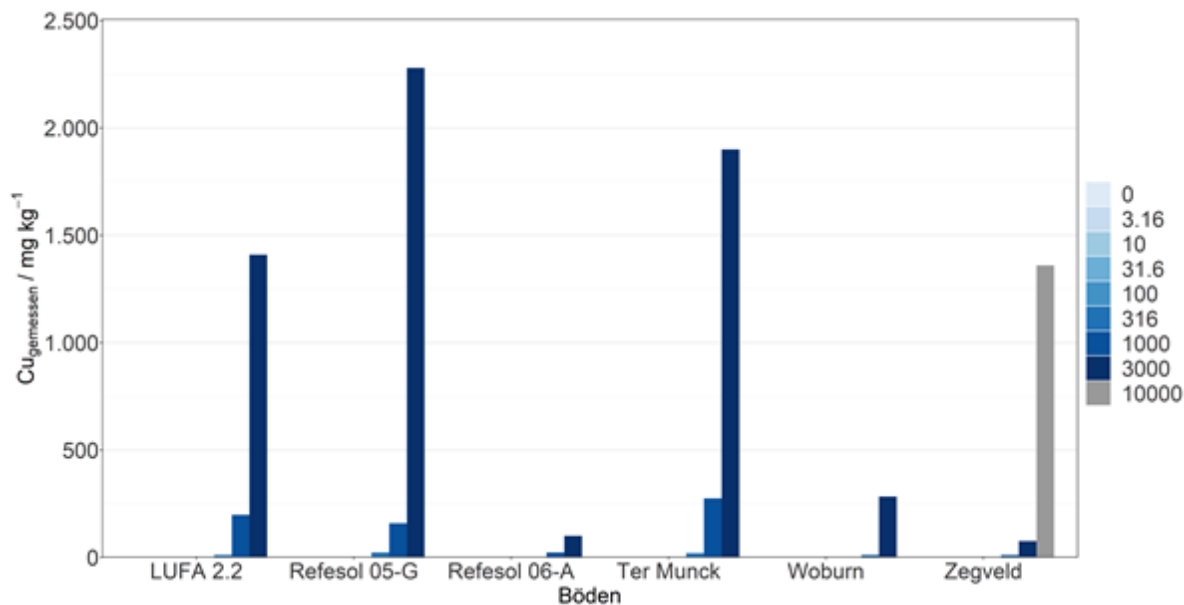
Boden	Zugabe [mg/kg]	Ca(NO ₃) ₂ [mg/kg]	NH ₄ NO ₃ [mg/kg]	CaCl ₂ [mg/kg]	DTPA [mg/kg]	HNO ₃ [mg/kg]	Königswasser [mg/kg]
Ter Munck	0	0,0543	0,0558	0,065	4,77	6,61	15,1
Ter Munck	3,16	0,0999	0,0824	0,121	7,31	8,69	17,4
Ter Munck	10	0,153	0,175	0,21	11,8	19,7	18,1
Ter Munck	31,6	0,469	0,554	0,568	46	29,1	36,3
Ter Munck	100	0,908	2,22	1,04	126	111	94,8
Ter Munck	316	10	19,2	59,1	253	307	273
Ter Munck	1000	219	275	242	1100	862	999
Ter Munck	3000	1390	1900	1630	2890	3310	3040
Woburn	0	0,0894	0,0965	0,0732	3,59	7,84	17,8
Woburn	3,16	0,132	0,0939	0,126	6,47	10,5	21,6
Woburn	10	0,244	0,137	0,242	12,8	14,7	23,8
Woburn	31,6	0,389	0,392	0,644	33,1	46,4	48,1
Woburn	100	1,04	0,935	1,63	81,9	98,5	113
Woburn	316	2,6	1,66	5,82	362	432	262
Woburn	1000	13,1	10	27,9	1000	1210	892
Woburn	3000	95,2	283	248	2590	3190	3390
Zegveld	0	0,235	0,173	0,246	8,08	21,6	55,2
Zegveld	3,16	0,322	0,226	0,36	13	27,9	63,6
Zegveld	10	0,545	0,379	0,66	22,3	42,9	81,8
Zegveld	31,6	1,23	0,875	1,59	55,7	83,8	159
Zegveld	100	1,67	2,42	4,48	158	223	395
Zegveld	316	9,11	10,5	11,9	456	672	1110
Zegveld	1000	41,6	75,5	65,9	1370	2380	3300
Zegveld	3000	938	1360	896	3720	7790	10800

Abbildung 70: Extraktion von Cu mit $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen Cu-Gehalten (in mg/kg)



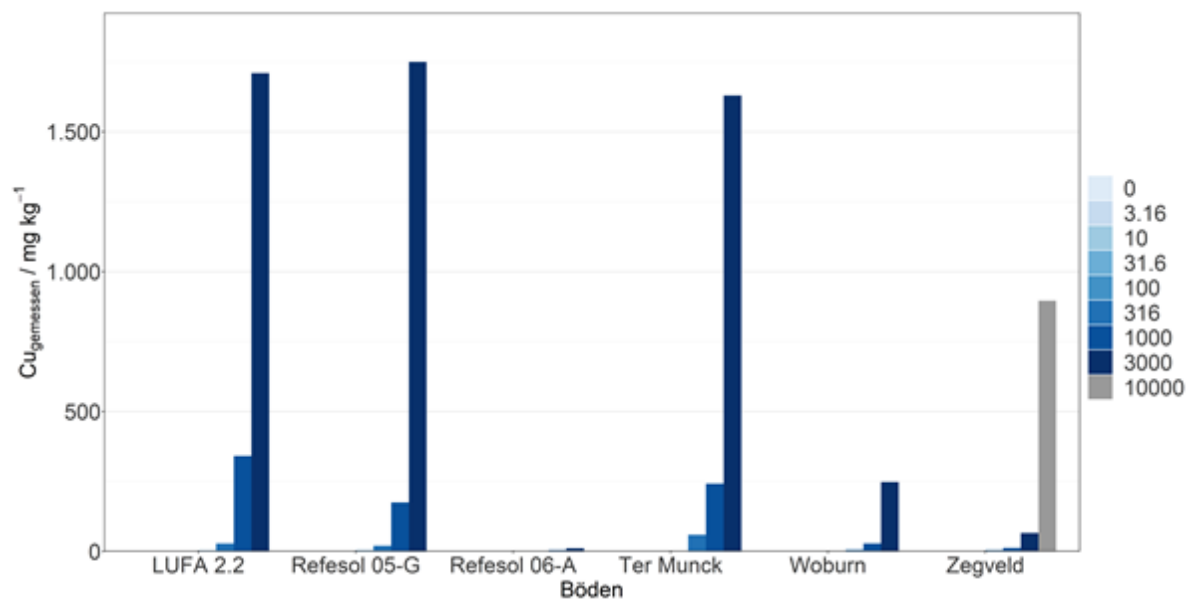
Quelle: eigene Darstellung, BGR Hannover

Abbildung 71: Extraktion von Cu mit NH_4NO_3 in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen Cu-Gehalten (in mg/kg)



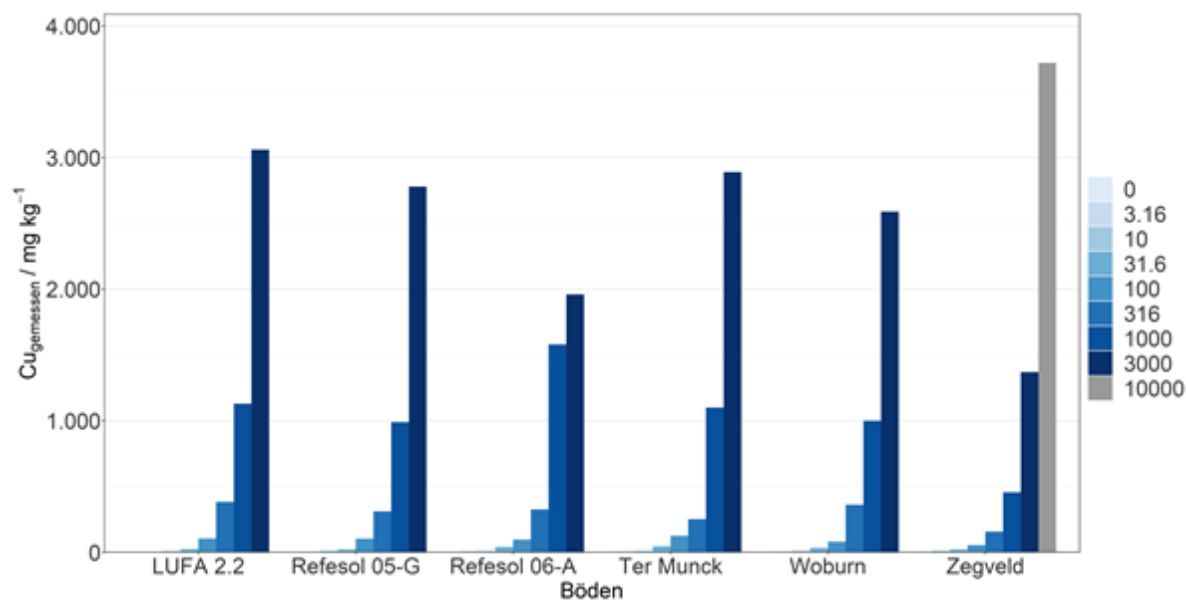
Quelle: eigene Darstellung, BGR Hannover

Abbildung 72: Extraktion von Cu mit CaCl_2 in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen Cu-Gehalten (in mg/kg)



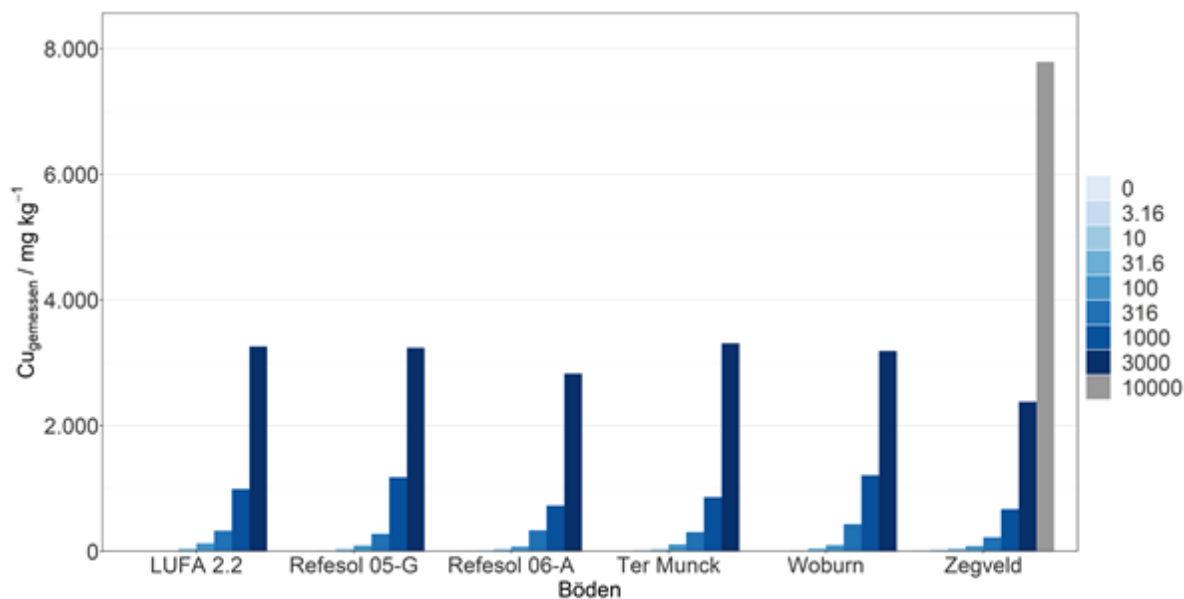
Quelle: eigene Darstellung, BGR Hannover

Abbildung 73: Extraktion von Cu mit DTPA in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen Cu-Gehalten (in mg/kg)



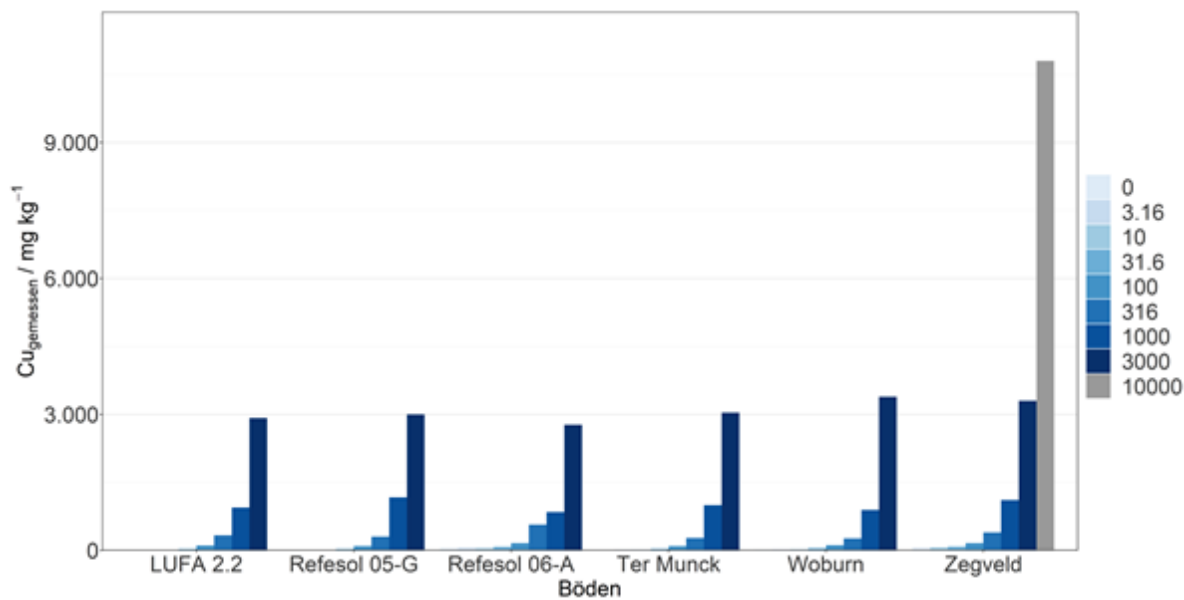
Quelle: eigene Darstellung, BGR Hannover

Abbildung 74: Extraktion von Cu mit HNO_3 in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen Cu-Gehalten (in mg/kg)



Quelle: eigene Darstellung, BGR Hannover

Abbildung 75: Extraktion von Cu mit Königswasser in den sechs getesteten Böden bei acht unterschiedlichen nominellen Cu-Gehalten (in mg/kg)



Quelle: eigene Darstellung, BGR Hannover

12.6 Ableitung von Bodenwerten für Kupfer

Das Potential verschiedener Extrakte für die Vorhersage der Toxizität von Kupfer im Boden wurde wie schon für Arsen überprüft. Die EC₁₀- und EC₅₀-Werte werden als gemessene Gesamtkonzentration oder als extrahierbare Cu-Konzentrationen, getrennt nach getestetem Endpunkt, in Tabelle 66 und Tabelle 67 dargestellt. Wie schon bei der Untersuchung von Arsen unterschieden sich die verwendeten Extraktionsverfahren in Hinsicht auf die jeweilige Toxizität je nach gemessenen Endpunkt (d. h. diejenigen Extrakte, bei denen sich die Toxizität in den verschiedenen Böden am wenigsten unterschied, differierten je nach Endpunkt). Die NH₄NO₃- und DTPA-Extrakte waren am besten zur Wirkungsabschätzung von Kupfer im Regenwurm-Vermeidungstest geeignet, während die mit Königswasser extrahierbaren Konzentrationen die beste Abschätzung für Kupfertoxizität im mikrobiellen Dehydrogenasetest darstellten.

Tabelle 66: Variabilität der EC₁₀- und EC₅₀-Werte (mg Cu/kg Boden) zur Kupfertoxizität für den Endpunkt Regenwurm-Vermeidung (*Eisenia andrei*) in sechs Böden, angegeben als nominale bzw. gemessene Gesamt- und extrahierbare Arsen-Konzentration. Die Indizes mit der geringsten Variabilität in der Toxizität zwischen den Böden sind fett gedruckt. CV = Variationskoeffizient (Standardabweichung/Mittelwert * 100), RS = Relative Spannweite ((Maximum-Minimum)/Mittelwert)

Boden	Nominal	Ca(NO ₃) ₂	1 M NH ₄ NO ₃	0,01 M CaCl ₂	DTPA/CaCl ₂	0,43 M HNO ₃	Königswasser
EC₁₀							
LUFA 2.2	8,9	0,11	0,18	0,23	10,1	11,6	8,4
Refesol 05-G	11,5	0,19	0,11	0,33	14,7	14,4	11,3
Refesol 06-A	#	#	#	#	#	#	#
Ter Munck	#	#	#	#	#	#	#
Woburn	10,5	0,25	0,14	0,25	13,3	15,2	24,4
Zegveld	56,8	0,80	0,55	1,00	34,2	58,8	108,6
Max/min Verh.	6,4	7,4	4,8	4,4	3,4	5,1	12,9
CV (%)	106,2	93,2	83,6	81,1	60,4	90,5	124,3
RS	2,2	2,1	1,8	1,7	1,3	1,9	2,6
EC₅₀							
LUFA 2.2	32,5	0,27	0,61	0,83	25,5	40,5	30,9
Refesol 05-G	37,9	0,64	0,43	0,92	27,7	41,7	37,3
Refesol 06-A	56,6	0,23	0,57	0,59	67,2	50,6	110,2
Ter Munck	29,6	0,43	0,51	0,53	25,6	29,3	34,5
Woburn	64,1	0,70	0,67	1,16	58,9	76,5	81,3
Zegveld	162,9	1,60	1,32	2,43	85,6	123,7	227,4
Max/min Verh.	5,5	6,9	3,1	4,6	3,4	4,2	7,3
CV (%)	78,8	78,1	46,9	65,1	53,2	57,7	87,0
RS	2,1	2,1	1,3	1,8	1,2	1,6	2,3

= Berechnete EC₁₀ nicht belastbar, da niedriger als die niedrigste getestete Konzentration (nominale Konzentration 10 mg Cu/kg Boden)

Tabelle 67: Variabilität der EC_{10} - und EC_{50} -Werte (mg Cu/kg Boden) zur Kupfertoxizität für den Endpunkt Dehydrogenaseaktivität (*Arthrobacter globiformis*) in sechs Böden, angegeben als nominale bzw. gemessene Gesamt- und extrahierbare Arsen-Konzentration. Die Indizes mit der geringsten Variabilität in der Toxizität zwischen den Böden sind fett gedruckt. CV = Variationskoeffizient (Standardabweichung/Mittelwert * 100), RS = Relative Spannweite ((Maximum-Minimum)/Mittelwert)

Boden	Nominal	Ca(NO ₃) ₂	1 M NH ₄ NO ₃	0,01 M CaCl ₂	DTPA/CaCl ₂	0,43 M HNO ₃	Königswasser
EC₁₀							
LUFA 2.2	438,0	18,5	27,7	58,8	525,4	449,5	453,4
Refesol 05-G	369,4	7,9	29,4	26,5	364,7	334,5	360,3
Refesol 06-A	#	#	#	#	#	#	#
Ter Munck	#	#	#	#	#	#	#
Woburn	717,6	7,9	5,7	17,2	759,4	912,0	617,2
Zegveld	566,7	3,7	4,9	7,5	271,4	385,5	661,7
Max/min Verh.	1,9	5,0	6,0	7,9	2,8	2,7	1,8
CV (%)	29,3	66,2	79,4	81,0	44,5	51,0	26,9
RS	0,7	1,6	1,4	1,9	1,0	1,1	0,6
EC₅₀							
LUFA 2.2	881	96,7	149,2	261,8	1008,3	880,0	847,6
Refesol 05-G	746	47,0	94,7	99,5	737,4	797,1	814,2
Refesol 06-A	2168	5,2	62,8	8,5	2251,2	1850,2	1919,6
Ter Munck	818	138,2	178,2	185,9	832,9	726,8	784,4
Woburn	1462	25,4	43,0	59,2	1414,6	1717,1	1381,2
Zegveld	1484	15,2	20,8	21,2	675,0	1035,6	1631,2
Max/min Verh.	2,9	26,5	8,6	30,9	3,3	2,5	2,4
CV (%)	43,8	95,7	67,5	93,9	52,0	41,9	39,5
RS	1,1	2,4	1,7	2,4	1,4	1,0	0,9

= Berechnete EC_{10} nicht belastbar, da niedriger als die niedrigste getestete Konzentration (nominale Konzentration 400 mg Cu/kg Boden für Refesol 06-A und 604 mg Cu/kg Boden für Ter Munck)

Diese Ergebnisse für Kupfer entsprechen den in den Arsentests erlangten Erfahrungen und bestätigen die eingeschränkte Verwendbarkeit von Daten zu den extrahierbaren Fraktionen von Kupfer für deren Verwendung bei der Ableitung von Bodenwerten auf der Basis von Tests mit verschiedenen Organismen bzw. trophischen Ebenen. Daher wird vorgeschlagen, Bodenwerte für Kupfer auf der Basis von dessen Gesamtgehalten im Boden, gefolgt von der Verwendung von aus der Literatur stammenden Korrekturfaktoren zur Bioverfügbarkeit, abzuleiten.

Korrekturverfahren zur Einbeziehung der Bioverfügbarkeit wurden schon früher entwickelt, um den Einfluss von Bodeneigenschaften und Alterungsprozessen auf die Toxizität von Kupfer für Bodenorganismen abzudecken (Smolders et al. 2009; OECD 2016). Die Toxizität von Kupfer auf Pflanzen und Invertebraten ist am stärksten mit der Kationenaustauschkapazität von Böden korreliert, während die Toxizität für mikrobielle Prozesse neben der Kationenaustauschkapazität von dem Gehalt an organischer Substanz, dem Tonanteil sowie dem pH-Wert abhängt (Tabelle 68).

Tabelle 68: Ausgewählte Regressionsmodelle für die Korrektur der Bioverfügbarkeit von Kupfer Bodenorganismen

Art / Prozess	Abhängige Variable	Bodeneigenschaft	# Böden	Adj R ²	Steigung	Zitat
Tomate, Sprosslänge	log EC ₅₀	log KAK _{eff}	17	0,74	0,96	Rooney et al., 2006
Gerste, Wurzellänge	log EC ₅₀	log KAK _{eff}	18	0,65	0,69	Rooney et al., 2006
<i>Eisenia fetida</i> , Reproduktion	log EC ₅₀	log KAK _{eff}	14	0,72	0,59	Criel et al., 2008
<i>Folsomia candida</i> , Reproduktion	log EC ₅₀	log KAK _{eff}	18	0,61	0,96	Criel et al., 2008
Nitrifikation	log EC ₅₀	log KAK _{eff}	17	0,64	1,07	Oorts et al., 2006a
Substratinduzierte Atmung	log EC ₅₀	log C _{org} + log Ton	18	0,74	0,73 (log C _{org}) 0,60 (log clay)	Oorts et al., 2006a
Pflanzenmaterial Mineralisierung	log EC ₂₀	pH + log KAK _{eff}	16	0,67	-0,34 (pH) 0,74 (log KAK _{eff})	Oorts et al., 2006a

Zusätzlich wurde ein L/F-Faktor von 2,0 abgeleitet, um die geringere Toxizität im Freiland im Vergleich zu derjenigen, die unmittelbar nach Zugabe eines löslichen Kupfersalzes unter Laborbedingungen auftritt, auszugleichen (Smolders et al. 2009; OECD 2016).

Alle chronischen Daten aus dem REACH-Dossier für Kupfer wurden mit den Daten aus dem vorliegenden Projekt (d. h. aus dem Regenwurm-Vermeidungstest sowie dem Arthrobactertest) kombiniert. Damit lag ein Datensatz von 262 belastbaren EC₁₀- oder NOEC-Werten sowie 218 belastbaren EC₅₀-Werten für die folgenden Arten bzw. mikrobiellen Endpunkte vor:

- ▶ Neun Pflanzenarten: *Andryala integrifolia*, *Avena sativa*, *Fallopia convolvulus* (= *Polygonum convolvulus*), *Hordeum vulgare*, *Hypochoeris radicata*, *Lolium perenne*, *Lycopersicon esculentum*, *Poa annua* und *Senecio vulgaris*;
- ▶ 14 Invertebratenarten: *Aporrectodea caliginosa*, *Cognettia sphagnetorum*, *Eisenia andrei*, *Eisenia fetida*, *Enchytraeus albidus*, *Lumbricus rubellus*, *Plectus accuminatus*, *Folsomia candida*, *Folsomia fimetaria*, *Hypoaspis aculeifer*, *Isotoma viridis* (keine EC₅₀), *Platynothrus peltifer*, *Proisotoma minuta* und *Sinella curviseta*;
- ▶ 10 mikrobielle Endpunkte: mikrobielle Biomasse (keine EC₅₀), Glucoseinduzierte Atmung, Glutaminsäureinduzierte Atmung, Maisinduzierte Atmung, Basalatmung, potentielle Nitrifikationsrate, N-Mineralisierung, Ammonifikation (keine EC₅₀), Denitrifikation (keine EC₅₀) und Dehydrogenaseaktivität).

Alle Daten (mit Ausnahme der in diesem Vorhaben erarbeiteten Werte) und darüber hinaus gehende Hintergrundinformationen sind auf folgender Webseite zu finden (Grenzwertrechner für Metalle in Böden sowie Hintergrundinformationen: <https://www.arche-consulting.be/tools/threshold-calculator-for-metals-in-soil/>). Alle Toxizitätsdaten wurden in Hinsicht auf Alterungsprozesse korrigiert und dann in Hinsicht auf die genannten unterschiedlichen Bodeneigenschaften für Stellvertreterböden der Bodenartenhauptgruppen Sand, Lehm/Schluff und Ton normalisiert:

- ▶ Sand: 5% Ton, pH (in 0,01 M CaCl₂) 5, 1% organischer Kohlenstoff und einer effektiven KAK von 8 cmol_c/kg;

- ▶ Lehm/Schluff: 17% Ton, pH (in 0,01 M CaCl₂) 6, 2% organischer Kohlenstoff und einer effektiven KAK von 15 cmol_c/kg
- ▶ Ton: 45% Ton, pH (in 0,01 M CaCl₂) 7, 3% organischer Kohlenstoff und einer effektiven KAK von 30 cmol_c/kg

Für jeden Boden wurde eine SSD erstellt, basierend auf den normalisierten EC₁₀- und EC₅₀- Werten für alle Organismen zusammen. Die HC₅-50-Werte (angegeben als Gesamt-Cu-Konzentration im Boden, einschließlich der jeweiligen Hintergrundkonzentration) wurden auf der Grundlage eines log-normalen Modells (Aldenberg and Jaworska, 2000) als Basis für vorsorge- bzw. nachsorgeorientierte Bodenwerte erstellt (Tabelle 69).

Tabelle 69: HC₅-50 Werte und Vertrauensbereiche für eine Arten-Verteilungs-Kurve basierend auf den EC₁₀- und EC₅₀-Werten zur Kupfertoizität für Bodenorganismen (Daten für 33 bzw. 29 Arten oder mikrobielle Prozesse)

Bodenartenhauptgruppe	HC ₅ -50 EC ₁₀	HC ₅ -50 EC ₅₀
Sand	47 (30-67)	85 (47-130)
Lehm/Schluff	91 (59-125)	159 (93-236)
Ton	140 (88-197)	262 (152-390)

Die Mittelwerte pro Endpunkt der normalisierten EC₁₀- und EC₅₀-Werte für diese drei Bodenartenhauptgruppen sind in Tabelle 70 angegeben. Die auf EC₁₀ und EC₅₀ basierenden SSD-Diagramme für die drei Bodenartenhauptgruppen sind in Abbildung 76 und Abbildung 77 dargestellt.

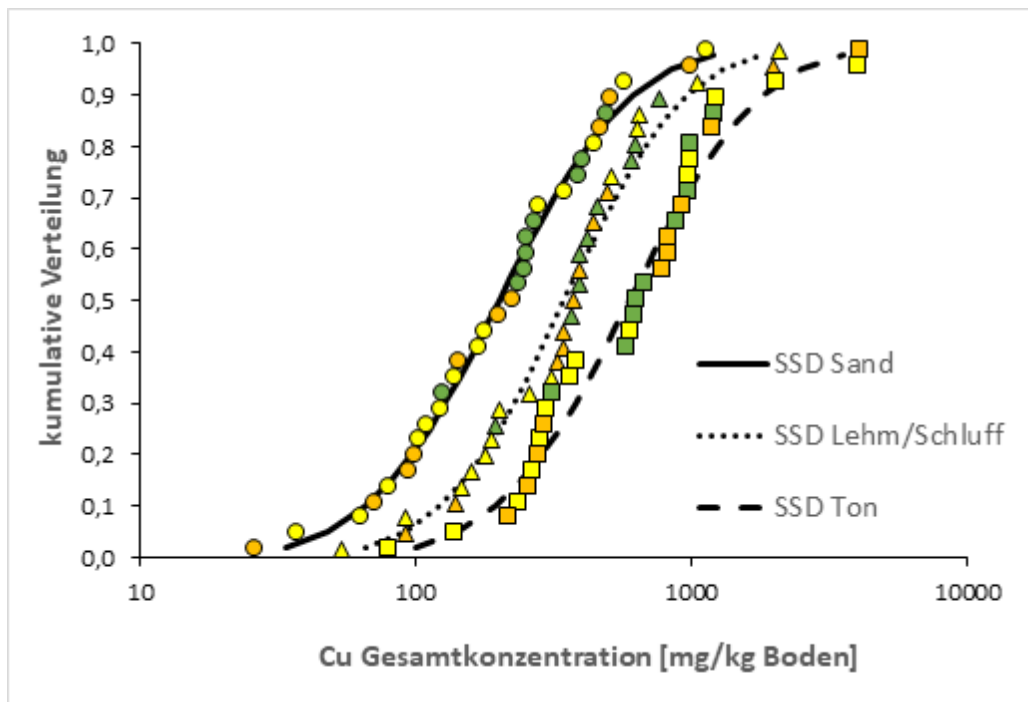
Tabelle 70: Mittlere EC₁₀- und EC₅₀-Werte pro Endpunkt für die Toxizität von Cu gegenüber Bodenorganismen, die für die SSD-Diagramme für die drei Bodenartenhauptgruppen ausgewählt wurden

Spezies	Sensitivster Endpunkt	Geometrisches Mittel EC ₁₀ [mg Cu/kg Boden]			Geometrisches Mittel EC ₅₀ [mg Cu/kg Boden]		
		Sand	Lehm/Schluff	Ton	Sand	Lehm/Schluff	Ton
<i>Andryala integrifolia</i>	Mortalität	256	395	637	342	528	853
<i>Avena sativa</i>	Ertrag (Körner)	493	760	1227	879	1356	2188
<i>Fallopia convolvulus</i>	Mortalität	274	422	681	431	665	1072
<i>Hordeum vulgare</i>	Ertrag (Wurzellänge)	126	195	315	300	462	746
<i>Hypochoeris radicata</i>	Reproduktion (Pflanzen, die Samen setzen)	403	622	1004	441	681	1098
<i>Lolium perenne</i>	Ertrag (Spross)	236	364	587	1300	2006	3237
<i>Lycopersicon esculentum</i>	Ertrag (Spross)	248	454	883	467	854	1660
<i>Poa annua</i>	Reproduktion (Pflanzen, die Samen setzen)	392	605	976	356	550	887
<i>Senecio vulgaris</i>	Mortalität	253	390	630	275	425	685

Spezies	Sensitivster Endpunkt	Geometrisches Mittel EC ₁₀ [mg Cu/kg Boden]			Geometrisches Mittel EC ₅₀ [mg Cu/kg Boden]		
		Sand	Lehm/ Schluff	Ton	Sand	Lehm/ Schluff	Ton
<i>Aporrectodea caliginosa</i>	Reproduktion (Kokonproduktion)	64	92	139	162	235	354
<i>Cognettia sphagnetorum</i>	Wachstum	139	201	303	189	273	412
<i>Eisenia andrei</i>	Vermeidung	37	54	81	81	118	177
<i>Eisenia fetida</i>	Reproduktion (Kokonproduktion)	178	258	388	356	516	776
<i>Enchytraeus albidus</i>	Reproduktion (Juvenile von der F1 Generation)	449	651	979	473	685	1031
<i>Lumbricus rubellus</i>	Streuabbau	110	159	239	290	421	633
<i>Plectus accuminatus</i>	Reproduktion (Anzahl Juvenile)	123	179	269	324	470	708
<i>Folsomia candida</i>	Reproduktion (Anzahl Juvenile)	350	641	1247	710	1298	2525
<i>Folsomia fimetaria</i>	Reproduktion (Anzahl Juvenile)	577	1055	2052	1348	2465	4796
<i>Hypoaspis aculeifer</i>	Reproduktion (Anzahl Juvenile)	279	510	993	1070	1956	3805
<i>Isotoma viridis</i>	Wachstum	81	147	287	/	/	/
<i>Platynothrus peltifer</i>	Reproduktion (Anzahl Juvenile)	104	190	369	160	292	568
<i>Proisotoma minuta</i>	Wachstum (Körperlänge)	1142	2088	4063	4141	7571	14728
<i>Sinella curviseta</i>	Reproduktion (Anzahl Juvenile)	170	310	603	105	191	372
Natürliche Bodenmikroorganismengemeinschaft	Mikrobielle Biomasse	26	91	220	/	/	/
Natürliche Bodenmikroorganismengemeinschaft	Glucoseinduzierte Atmung	99	344	829	324	1119	2698
Natürliche Bodenmikroorganismengemeinschaft	Glutaminsäureinduzierte Atmung	95	328	791	272	942	2271
Natürliche Bodenmikroorganismengemeinschaft	Maisinduzierte Atmung	509	371	283	8648	6294	4805

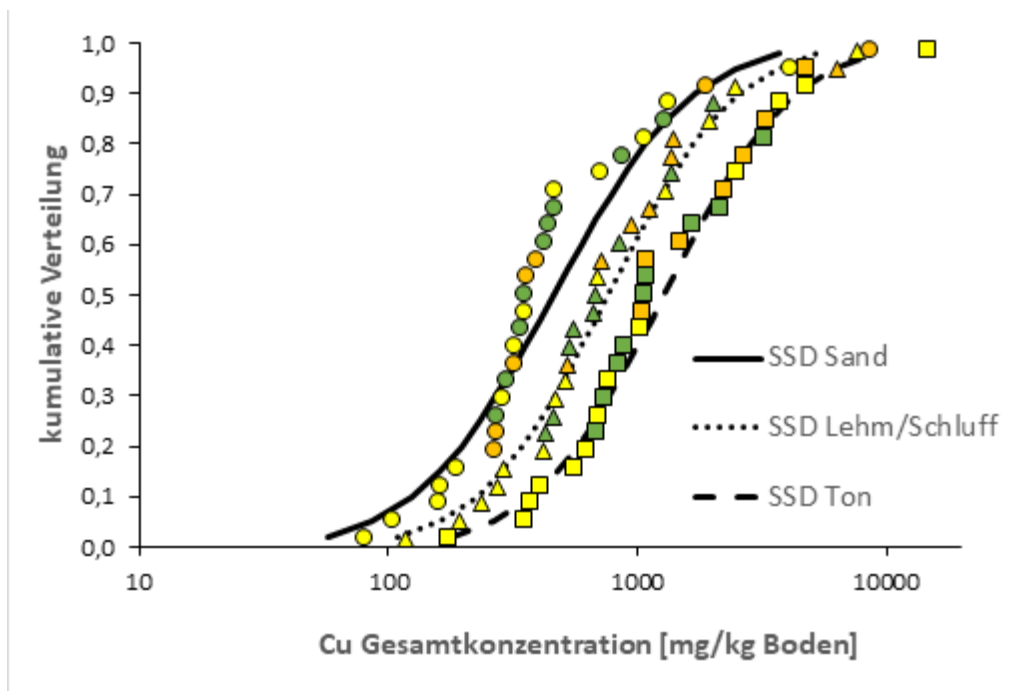
Spezies	Sensitivster Endpunkt	Geometrisches Mittel EC_{10} [mg Cu/kg Boden]			Geometrisches Mittel EC_{50} [mg Cu/kg Boden]		
		Sand	Lehm/Schluff	Ton	Sand	Lehm/Schluff	Ton
Natürliche Bodenmikroorganismengemeinschaft	Basalatmung	469	341	260	1898	1382	1055
Natürliche Bodenmikroorganismengemeinschaft	potentielle Nitrifikationsrate	226	443	931	268	525	1102
Natürliche Bodenmikroorganismengemeinschaft	N-Mineralisierung	201	394	827	363	710	1491
Natürliche Bodenmikroorganismengemeinschaft	Ammonifikation	1006	1971	4138	/	/	/
Natürliche Bodenmikroorganismengemeinschaft	Denitrifikation	72	141	295	/	/	/
<i>Arthrobacter globiformis</i>	Dehydrogenaseaktivität	144	497	1198	396	1369	3301

Abbildung 76: Species Sensitivity Distribution für die Toxizität von Cu auf Bodenorganismen basierend auf EC_{10} -Werten für die drei Bodenartenhauptgruppen. Daten für Pflanzen, Invertebraten und Mikroorganismen werden durch grüne, gelbe bzw. orange Symbole dargestellt. Kreise, Dreiecke und Quadrate repräsentieren Daten für Sand, Lehm/Schluff bzw. Ton



Quelle: eigene Darstellung, ARCHE Consulting

Abbildung 77: Species Sensitivity Distribution für die Toxizität von Cu auf Bodenorganismen basierend auf EC_{50} -Werten für die drei Bodenartenhauptgruppen. Daten für Pflanzen, In-vertebraten und Mikroorganismen werden durch grüne, gelbe bzw. orange Symbole dargestellt. Kreise, Dreiecke und Quadrate repräsentieren Daten für Sand, Lehm/Schluff bzw. Ton



Quelle: eigene Darstellung, ARCHE Consulting

12.7 Plausibilität der abgeleiteten Bodenwerte für Kupfer

Analog zum Vorgehen für Arsen wurde auch die Plausibilität der für Kupfer anhand der neuen Ableitungsmethodik berechneten Bodenwerte überprüft. Die vorhandenen deutschen Bodenwerte für Kupfer wurden auf der Grundlage einer sehr großen Datenmenge erstellt. Im Vergleich dazu sind die in diesem Vorhaben gemessenen Testergebnisse nur als eine Art Ergänzung zu verstehen, die allein nicht dazu führen würden, die bisher in der BBodSchV (1999) festgelegten Vorsorgewerte (jeweils angegeben als Gesamtgehalt, extrahiert mittels Königswasser) in Frage zu stellen: sandige Böden: 20 mg/kg, Lehm/Schluff-Böden: 40 mg/kg und tonige Böden: 60 mg/kg. Allerdings liegen die in diesem Vorhaben berechneten, nach der Bodenart differenzierten vorsorgeorientierten Bodenwerte auf der Grundlage aller vorhandenen Testergebnisse etwa um den Faktor 2 über den aktuell gültigen Vorsorgewerten der BBodSchV (1999): Dies ist konsistent mit der Anwendung des L/F-Faktors von 2,0 zur Berücksichtigung der alterungsbedingt niedrigeren Bioverfügbarkeit/Toxizität im Freiland im Vergleich zu Laborbedingungen (Smolders et al. 2009; OECD 2016).

Vorsorgeorientierte Bodenwerte: Sand = 47 mg/kg; Lehm/Schluff = 91 mg/kg; Ton = 140 mg/kg.

Nachsorgeorientierte Bodenwerte: Sand = 85 mg/kg; Lehm/Schluff = 159 mg/kg; Ton = 262 mg/kg.

12.7.1 Vergleich der vorgeschlagenen Werte mit natürlichen Hintergrundgehalten

Laut Vogel et al. (2009) liegen die Hintergrundwerte für Kupfer in Deutschland im Mittel bei 13 mg/kg (sandige Böden), 24 mg/kg (Schluff-Böden) bzw. 45 mg/kg (tonige Böden). Utermann & Düwel (2013) führen in einer nach Bodenartenhauptgruppen sowie der jeweiligen Nutzung differenzierenden Auflistung für Oberböden in Deutschland einen Konzentrationsbereich von Kupfer von 9 – 52 mg/kg (90. Perzentil) an (Extremwert für basische Magmatite: 71 mg/kg). Für Belgien (Flandern bzw. Wallonien) werden Werte in der gleichen Größenordnung wie in Deutschland angegeben (17 mg/kg; Carlon

2007). Etwas niedrigere Hintergrundgehalte werden aus Litauen berichtet (Sand/lehmiger Sand: 8,1 mg/kg; Lehm/Ton: 11 mg/kg; Carlon 2007). Generell wird für Kupfer europaweit ein Bereich von 5 - 100 mg/kg Boden angegeben (Merrington & Schoeters 2011), wobei hier auch anthropogen beeinflusste Flächen enthalten sind. Im Rahmen des LUCAS-Projekts wurde für Kupfer ein Mittelwert von $13,01 \pm 9,4$ mg/kg Boden TG festgestellt, wobei im Minimum 0,91 mg/kg und im Maximum 159,07 mg/kg gemessen wurden (Tóth et al. 2016b), wobei auch hier die Ergebnisse belasteter Böden enthalten sind. In dem erst kürzlich beendeten GEMAS-Projekt wurden europaweit Bodenproben aus den obersten 20 cm an landwirtschaftlich genutzten Standorten entnommen. Demnach liegt dort der Median des Hintergrundgehalts für Kupfer bei 15 mg/kg (Minimum: 0,3 mg/kg; Maximum 395 mg/kg) auf diesen Flächen (Reimann et al. 2018). In der Zusammenstellung der LABO (2017) liegen die Hintergrundwerte (Königswasseraufschluss, 90. Perzentil) für Kupfer in Oberböden in Abhängigkeit von Bodenausgangsgestein, Landnutzung und (teilweise) Bodenprovinz im Bereich zwischen 5,4 (Sande unter Wald in Nordostdeutschland) und 39 mg/kg (Carbonatgesteine, Ackernutzung, deutschlandweit), mit einem Extremwert von 93 mg/kg für basische Magmatite und Metamorphite. Damit haben die hier berechneten Werte einen für die Praxis akzeptablen Abstand zu den jeweiligen Hintergrundwerten.

12.7.2 Abgleich der vorgeschlagenen Werte mit vergleichbaren internationalen Bodenwerten

Im Folgenden sind, basierend auf der Zusammenstellung von Carlon (2007), vorsorge- und nachsorgeorientierte Bodenwerte aus europäischen Staaten zusammengestellt (Tabelle 71 und Tabelle 72). In Deutschland haben Vogel et al. (2009) mittels SSDs vorsorgeorientierte Bodenwerte sowie Jänsch et al. (2007) nachsorgeorientierte Bodenwerte für Kupfer in Höhe von 27,7 mg/kg bzw. 55,0 mg/kg berechnet. Vorsorgeorientierte Bodenwerte wurden außer für Deutschland in vier europäischen Ländern bzw. Regionen veröffentlicht. Diese reichen von 14 bis 70 mg/kg (Faktor 5) und haben damit eine hohe Entsprechung mit den gültigen deutschen Vorsorgewerten. Im Vergleich zu den Bodenwerten, bei deren Ableitung die Bioverfügbarkeit nicht berücksichtigt wurde, liegen die hier berechneten Werte dementsprechend höher.

Tabelle 71: Vorsorgeorientierte Bodenwerte für Kupfer (= Grenzwerte für „negligible risk“) aus fünf europäischen Staaten gemäß Carlon (2007)

Land	Vorsorgeorientierter Bodenwert [mg Cu/kg Boden TG]	Landnutzung
Deutschland	27,7 [§] 60 / 40 / 20 * 140 / 91 / 47 *#	Allgemein
Belgien (Wallonische Region)	14	Naturbelassen
Niederlande	36	Allgemein
Slowakei	36	Allgemein
Tschechien	70	Naturbelassen

[§] Berechneter Wert aus Vogel et al. (2009); * Werte von Bodenart abhängig (Ton, Lehm/Schluff und Sand); # Berechnete Werte dieses Vorhaben.

Nachsorgeorientierte Bodenwerte wurden in insgesamt acht europäischen Staaten bzw. Regionen veröffentlicht. Die Spannweite zwischen dem niedrigsten Wert aus Dänemark und dem (im Vergleich mit den übrigen Staaten deutlich höheren) Wert aus Tschechien beträgt ca. Faktor 17. Im Median und am häufigsten wird jedoch ein Wert von 100 mg/kg verwendet, was in etwa dem in diesem Vorhaben unter Berücksichtigung der Bioverfügbarkeit in Form des L/F-Faktors berechneten Wertes für sandige

Böden entspricht. Die berechneten Werte für Lehm-/Schluff- sowie Tonböden liegen entsprechend höher, jedoch immer noch deutlich unterhalb des (nicht repräsentativen) tschechischen Wertes.

Tabelle 72: Nachsorgeorientierte Bodenwerte für Kupfer (= Grenzwerte für „intermediate (warning risk“) aus acht europäischen Staaten gemäß Carlon (2007)

Land	Nachsorgeorientierter Bodenwert [mg Cu/kg Boden TG]	Landnutzung
Deutschland	55,0 [§] 262 / 159 / 85 * #	Allgemein
Belgien (Wallonische Region)	40	Naturbelassen
Dänemark	30	Allgemein
Finnland	100	Wohngebiete
Österreich	100	Landwirtschaftliche und gartenbauliche Zwecke sowie weitere nicht-landwirtschaftliche Ökosysteme
Schweden	100	Empfindliche Landnutzungen
Slowakei	100	Allgemein
Tschechien	500	Naturbelassen

[§] Berechneter Wert aus Jänsch al. 2007; * Werte von Bodenart abhängig (Ton, Lehm/Schluff und Sand); # Berechnete Werte dieses Vorhaben.

12.7.3 Fazit der Plausibilitätsprüfung

Die in diesem Vorhaben berechneten vorsorge- und nachsorgeorientierte Bodenwerte für Cu unter Berücksichtigung der Bioverfügbarkeit erfüllen die Kriterien:

- ▶ Sie haben einen ausreichenden Abstand zu den in Deutschland und Europa gemessenen Hintergrundwerten von Kupfer im Boden;
- ▶ Sie unterscheiden sich nicht wesentlich von den Vorschlägen, wie sie in anderen Ländern für Kupfer gemacht wurden bzw. liegen aufgrund der Berücksichtigung der Bioverfügbarkeit entsprechend höher.

12.8 Durchführung der Tests mit Nickel

Auch für dieses Metall lagen – allerdings deutlich weniger - Daten in der Literatur vor (z. B. Scott-Fordsmand et al. 1998; Lock & Janssen 2002; Kim et al. 2017; Oorts et al., 2006a). Wie für Kupfer werden im Folgenden nur die in diesem Vorhaben neu erhobenen Daten beschrieben, wobei dieselben Ergänzungen bzw. Einschränkungen gelten. So wurden meist 5 Konzentrationsstufen (festgelegt anhand von Konzentration-Findungstests) sowie eine Negativ- und eine Positiv-Kontrolle mit je 4 oder 5 Replikaten getestet (Tabelle 73 bzw. Tabelle 74).

Tabelle 73: Übersicht der getesteten Konzentrationsstufen in den durchgeführten Bakterienkontakttest mit *Arthrobacter globiformis* mit allen 6 Böden [mg Ni/kg Boden TG]

Code ¹	NC	PC	C1	C2	C3	C4	C5
LUFA 2.2	0	600 ²	100	316	1000	3162	10000
Refesol 05-G	0	600 ²	100	316	1000	3162	10000
Refesol 06-A	0	600 ²	100	316	1000	3162	10000
Ter Munck	0	600 ²	100	316	1000	3162	10000
Woburn	0	600 ²	100	316	1000	3162	10000
Zegveld	0	600 ²	100	316	1000	3162	10000
Replikatanzahl	4	4	4	4	4	4	4

Tabelle 74: Übersicht der getesteten Konzentrationsstufen in den durchgeführten Regenwurm-Fluchttests mit *Eisenia andrei* mit allen 6 Böden [mg Ni/kg Boden TG]

Code*	C0	C1	C2	C3	C4	C5
LUFA 2.2	0	10	31,6	100	316	1000
Refesol 05-G	0	10	31,6	100	316	1000
Refesol 06-A	0	10	31,6	100	316	1000
Ter Munck	0	10	31,6	100	316	1000
Woburn	0	10	31,6	100	316	1000
Zegveld	0	10	31,6	100	316	1000
Replikatanzahl	5	5	5	5	5	5

* Code: C = Konzentrationsstufe, C0 = Testboden Kontrolle

12.9 Ergebnisse der ökotoxikologischen Tests für das Metall Nickel

Für das Metall Nickel wurden in zwei verschiedene Testsysteme verwendet. Diese Daten sollen die bereits vorhandenen Toxizitätsdaten über Nickel ergänzen.

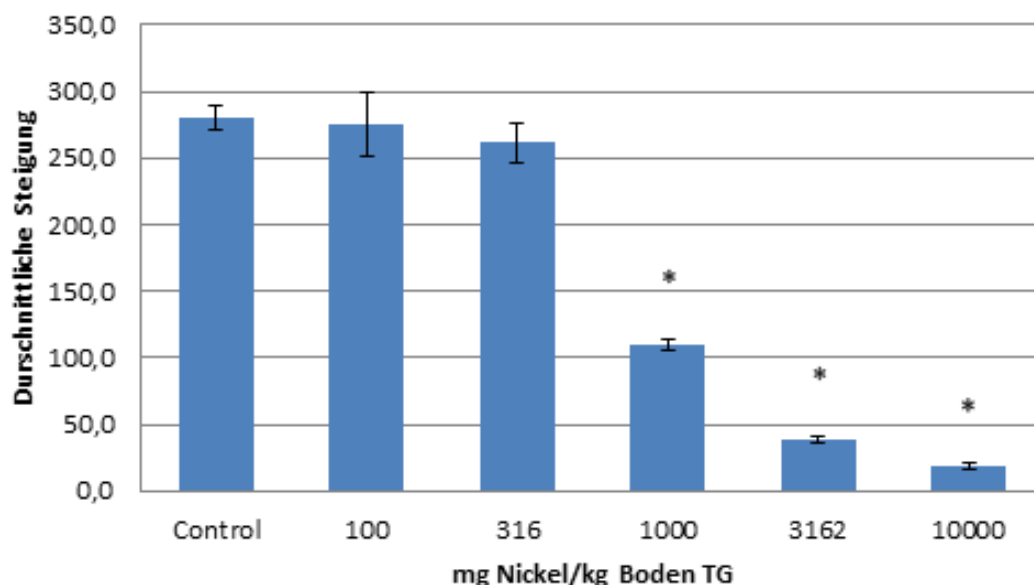
12.9.1 Ergebnisse der Tests mit dem Boden LUFA 2.2

Im Bakterienkontakttest mit *Arthrobacter globiformis* wurde ein NOEC-Wert von 316 mg Ni/kg Boden TG ermittelt (Tabelle 75; Abbildung 78). Der EC₁₀-Wert betrug 289,5 (95% Konfidenzintervall: 21,7 – 508,9) mg Ni/kg Boden TG und lag somit unter dem ermittelten NOEC-Wert. Der EC₅₀-Wert wurde als 884,2 mg Ni/kg Boden TG bestimmt. Im Regenwurm-Fluchttest mit *Eisenia andrei* konnte ein NOEC-Wert von 31,6 mg Ni/kg Boden TG ermittelt werden (Tabelle 75; Abbildung 79). Der EC₁₀-Wert betrug 13,5 mg Ni/kg Boden TG und lag somit unter dem ermittelten NOEC-Wert. Der EC₅₀-Wert wurde als 209,2 mg Ni/kg Boden TG berechnet.

Tabelle 75: Ermittelte NOEC- und ECx-Werte [mg Ni/kg Boden TG im LUFA 2.2-Boden]

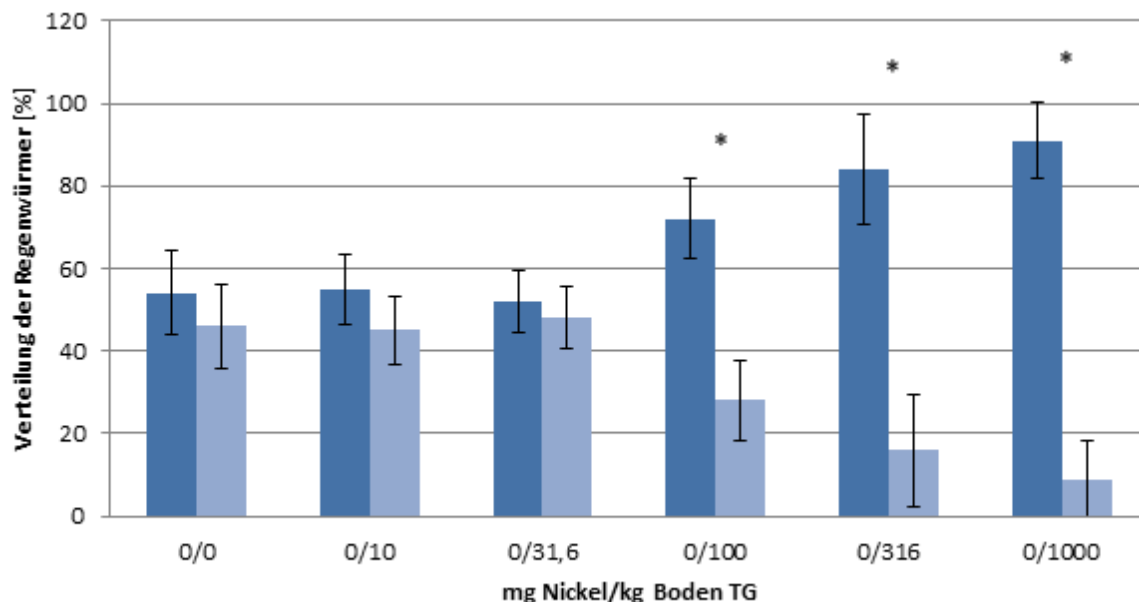
	NOEC	LOEC	EC ₁₀ (Unterer 95% KI - Oberer 95% KI)	EC ₅₀ (Unterer 95% KI - Oberer 95% KI)
Bakterienkontakttest	316,0	1000,0	289,5 (21,7 - 508,9)	884,2 (497,7 - 1544,3)
Regenwurm-Fluchttest	31,6	100,0	13,5 (1,4 - 133,3)	209,2 (81,2 - 539,2)

Abbildung 78: Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Nickel im Boden LUFA 2.2. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 79: Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Nickel im Boden LUFA 2.2. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

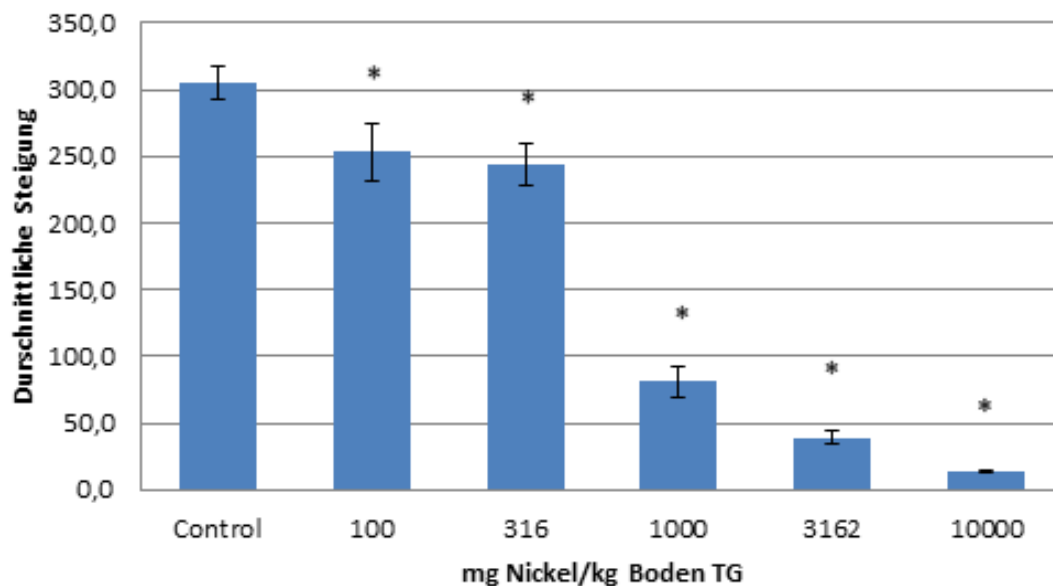
12.9.2 Ergebnisse der Tests mit dem Boden Refesol 05-G

Im Refesol 05-G getesteten *Arthrobacter globiformis* Test konnte kein NOEC-Wert bestimmt werden, da ein Effekt bereits in der ersten getesteten Konzentrationsstufe von 100 mg Ni/kg Boden TG zu beobachten war (Tabelle 76; Abbildung 80). Die errechneten EC₁₀- und EC₅₀-Werte betrugen 122,7 bzw. 604,9 mg Ni/kg Boden TG. Im Regenwurm-Fluchttest mit *Eisenia andrei* wurde ein NOEC-Wert von 100 mg Ni/kg Boden TG ermittelt (Tabelle 76; Abbildung 81). Der EC₁₀-Wert wurde als 52,2 (95% Konfidenzintervall: 34,0 – 80,0) mg Ni/kg Boden TG berechnet und lag somit unter dem ermittelten NOEC-Wert. Der EC₅₀-Wert betrug 243,9 mg Ni/kg Boden TG.

Tabelle 76: Ermittelte NOEC- und ECx-Werte [mg Ni/kg Boden TG] im Refesol 05-G Boden

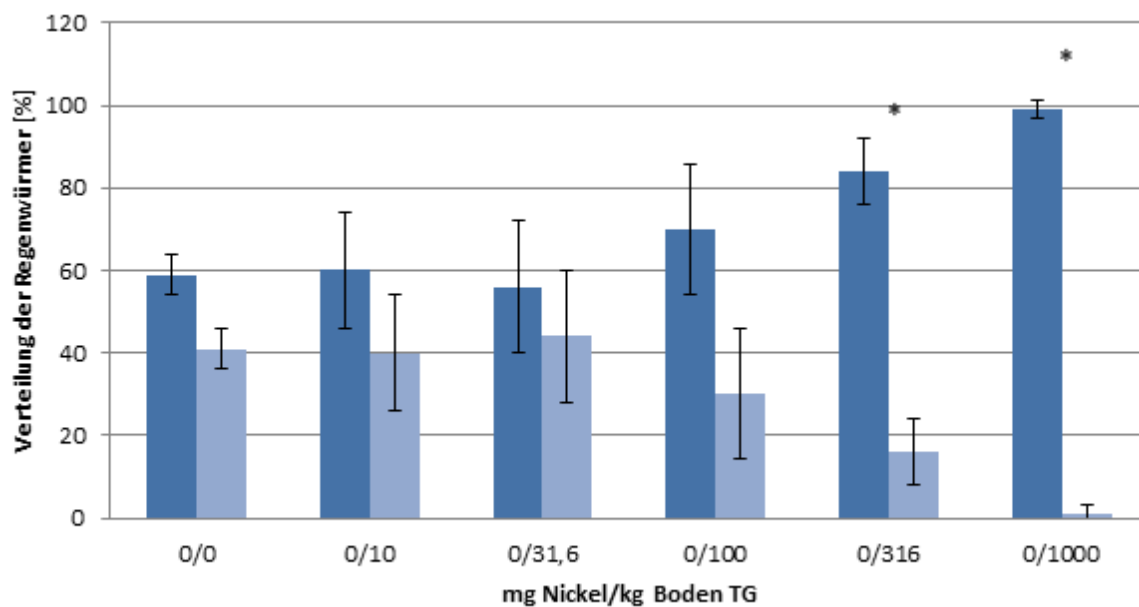
	NOEC	LOEC	EC ₁₀ (Unterer 95% KI - Oberer 95% KI)	EC ₅₀ (Unterer 95% KI - Oberer 95% KI)
Bakterienkontakttest	< 100,0	100,0	122,7 (0,23 - 299,0)	604,9 (193,3 - 1858,8)
Regenwurm-Fluchttest	100,0	316,0	52,2 (34,0 - 80,0)	243,9 (196,7 - 302,6)

Abbildung 80: Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Nickel im Boden Refesol 05-G. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 81: Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Nickel im Boden Refesol 05-G. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

12.9.3 Ergebnisse der Tests mit dem Boden Refesol 06-A

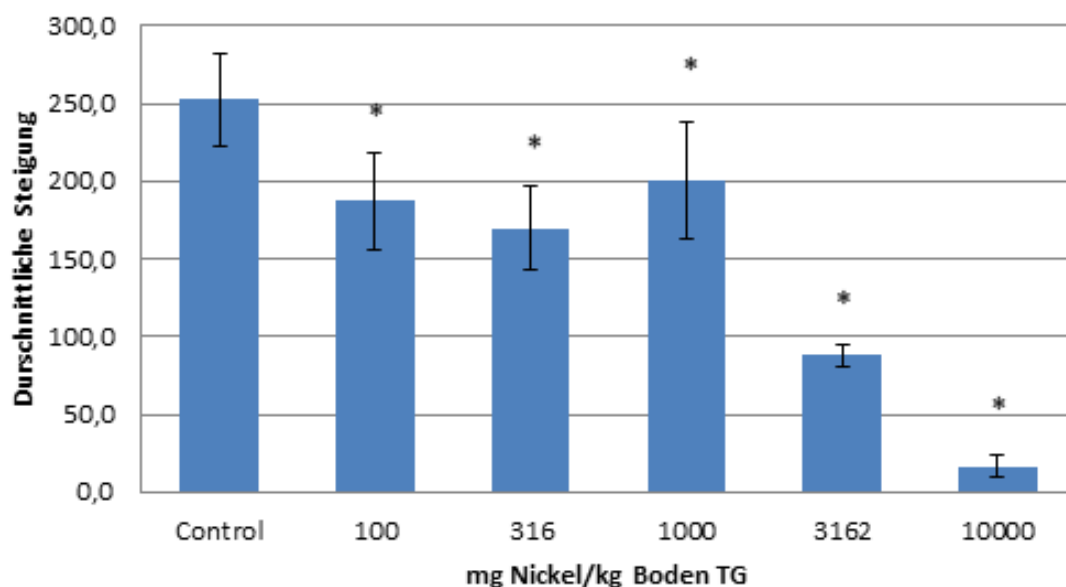
Im Bakterienkontakttest, welcher im Refesol 06-A Boden durchgeführt wurde, wurde eine EC_{10} von 58,2 mg Ni/kg Boden TG berechnet (Tabelle 77; Abbildung 82). Da es sich dabei jedoch um einen extrapolierten Wert handelte wurde dieser bei der weiteren Auswertung nicht berücksichtigt. Der EC_{50} -Wert betrug 1624,5 mg Ni/kg Boden TG. Es konnte kein NOEC-Wert bestimmt werden, da ein Effekt bereits in der ersten getesteten Konzentrationsstufe von 100 mg Ni/kg Boden TG zu beobachten war. Im Regenwurm-Fluchttest wurde ein signifikanter Unterschied ab einer Konzentration von 316 mg Ni/kg Boden TG gegenüber der Kontrolle festgestellt (Tabelle 77; Abbildung 83).

Tabelle 77: Ermittelte NOEC- und EC_x -Werte [mg Ni/kg Boden TG] im Refesol 06-A Boden. Extrapolierte Werte sind in Klammern angegeben; diese Werte wurden bei der weiteren Auswertung nicht berücksichtigt

	NOEC	LOEC	EC_{10} (Unterer 95% KI - Oberer 95% KI)	EC_{50} (Unterer 95% KI - Oberer 95% KI)
Bakterienkontakttest	<100,0	100,0	(58,2) (n.b.)	1624,5 (n.b.)
Regenwurm-Fluchttest	316,0	1000,0	n.b.	n.b.

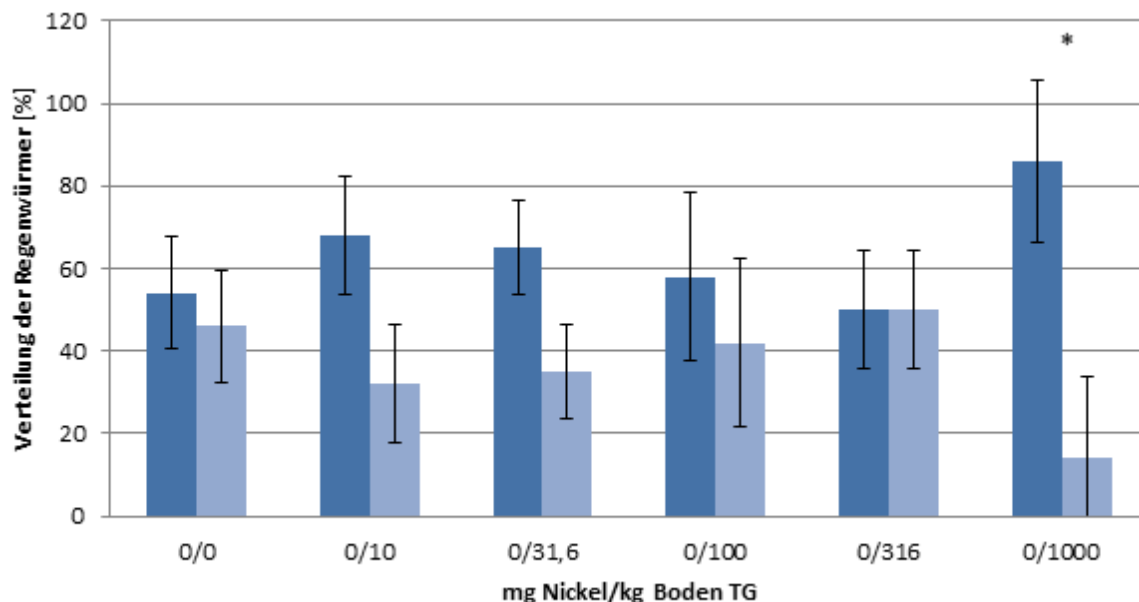
n.b. = Nicht bestimmbar

Abbildung 82: Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Nickel im Boden Refesol 06-A. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 83: Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Nickel im Boden Refesol 06-A. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

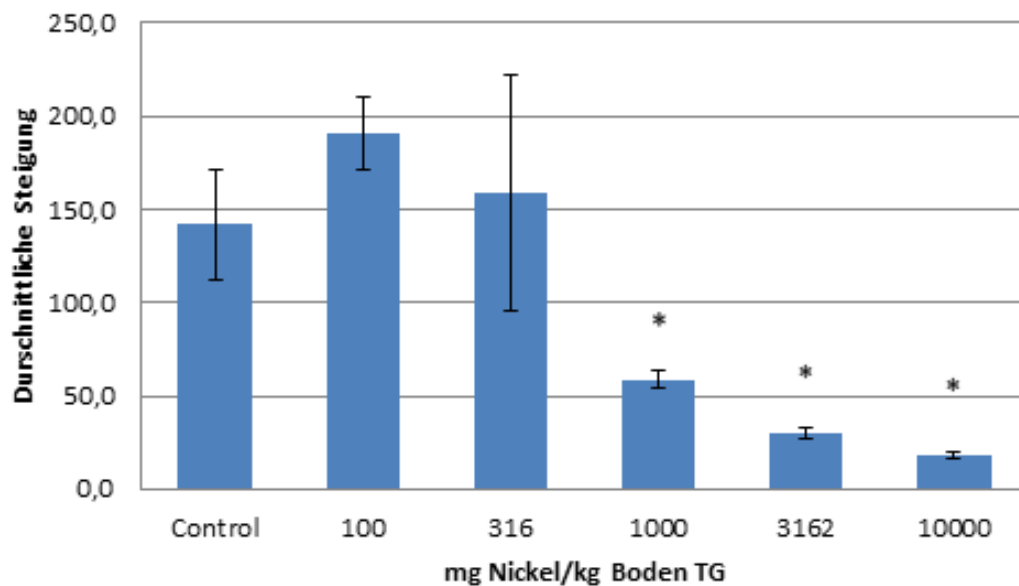
12.9.4 Ergebnisse der Tests mit dem Boden Ter Munck

Im Bakterienkontakttest wurde ein NOEC-Wert von 316,0 mg Ni/kg Boden TG ermittelt (Tabelle 78; Abbildung 84). Der EC₁₀-Wert konnte auf 219,5 (95% Konfidenzintervall:135,2–312,7) mg Ni/kg Boden TG berechnet werden und lag somit unter dem ermittelten NOEC-Wert. Der EC₅₀-Wert wurde auf 1029,7 mg Ni/kg Boden TG bestimmt. Im Regenwurm-Fluchttest mit *Eisenia andrei* konnte ein NOEC-Wert von 100 mg Ni/kg Boden TG ermittelt werden (Tabelle 78; Abbildung 85). Der EC₁₀-Wert konnte auf 5,1 mg Ni/kg Boden TG berechnet werden dieser lag somit unter dem ermittelten NOEC-Wert. Da es sich dabei jedoch um einen extrapolierten Wert handelte wurde dieser bei der weiteren Auswertung nicht berücksichtigt. Der EC₅₀-Wert betrug 129,6 mg Ni/kg Boden TG.

Tabelle 78: Ermittelte NOEC- und ECx-Werte [mg Ni/kg Boden TG] im Ter Munck Boden. Extrapolierte Werte sind in Klammern angegeben; diese Werte wurden bei der weiteren Auswertung nicht berücksichtigt

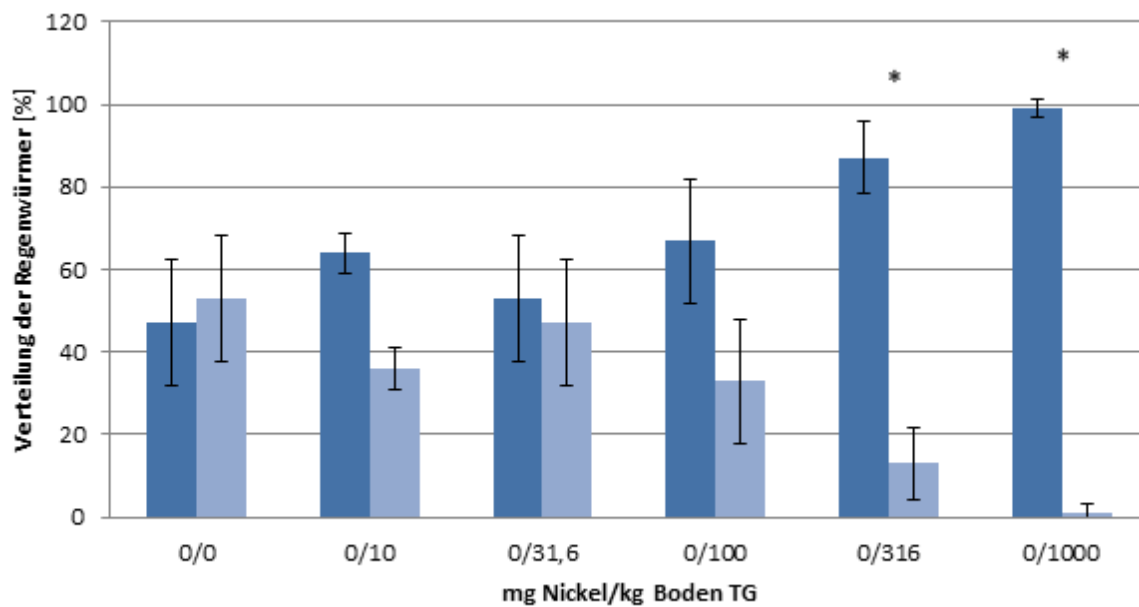
	NOEC	LOEC	EC ₁₀ (Unterer 95% KI - Oberer 95% KI)	EC ₅₀ (Unterer 95% KI - Oberer 95% KI)
Bakterienkontakttest	316,0	1000,0	219,5 (135,2-312,7)	1029,7 (820,4-1233,7)
Regenwurm-Fluchttest	100,0	316,0	(5,1) (0,22-122,0)	129,6 (27,1-619,2)

Abbildung 84: Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Nickel im Boden Ter Munck. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 85: Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Nickel im Boden Ter Munck. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

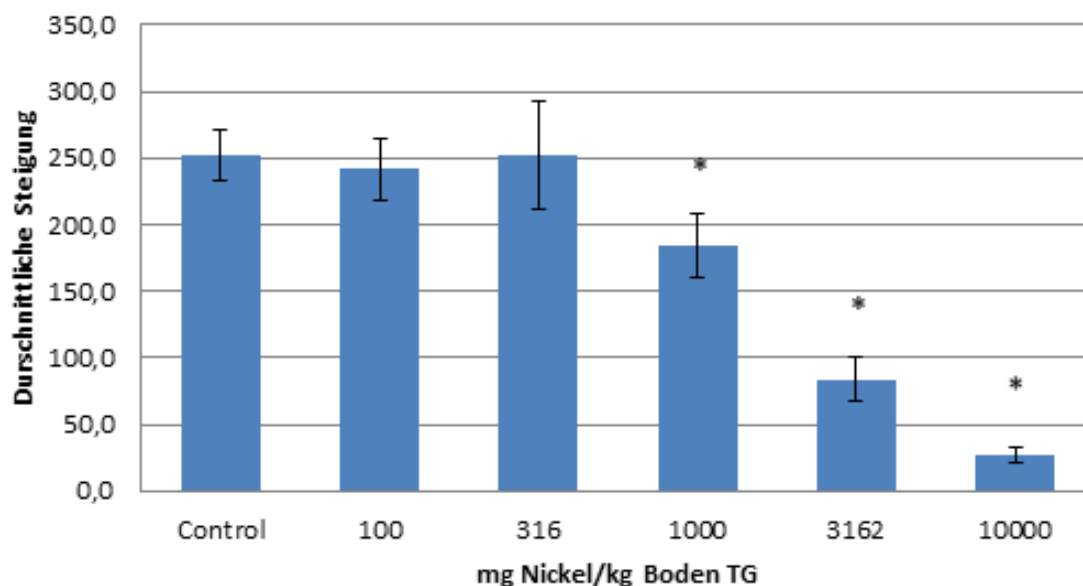
12.9.5 Ergebnisse der Tests mit dem Boden Woburn

Im Bakterienkontakttest wurde ein NOEC-Wert von 316 mg Ni/kg Boden TG ermittelt (Tabelle 79; Abbildung 86). Der errechnete EC₁₀- und EC₅₀-Wert betragen 495,3 bzw. 2043,9 mg Ni/kg Boden TG. Im Regenwurm-Fluchttest konnte ein NOEC-Wert von 316 mg Ni/kg Boden TG ermittelt werden (Tabelle 79; Abbildung 87). Der EC₁₀-Wert lag bei 171,6 mg Ni/kg Boden TG und war damit niedriger als der NOEC-Wert. Der EC₅₀-Wert betrug 1013 mg Ni/kg Boden TG.

Tabelle 79: Ermittelte NOEC- und ECx-Werte [mg Ni/kg Boden TG], jeweils im Woburn-Boden

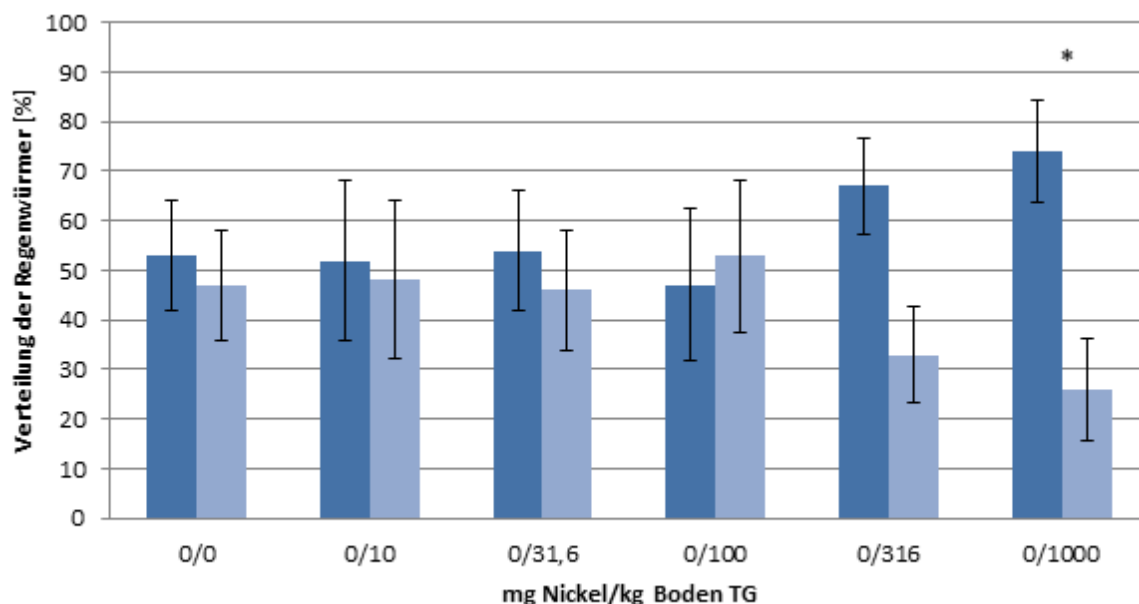
	NOEC	LOEC	EC ₁₀ (Unterer 95% KI - Oberer 95% KI)	EC ₅₀ (Unterer 95% KI -Oberer 95% KI)
Bakterienkontakttest	316,0	1000,0	495,3 (224,4-758,2)	2043,9 (1545,8-2704,4)
Regenwurm-Fluchttest	316,0	1000,0	171,6 (44,7-658,5)	1013,0 (381,3-2691,6)

Abbildung 86: Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Nickel im Boden Woburn. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 87: Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Nickel im Boden Woburn. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

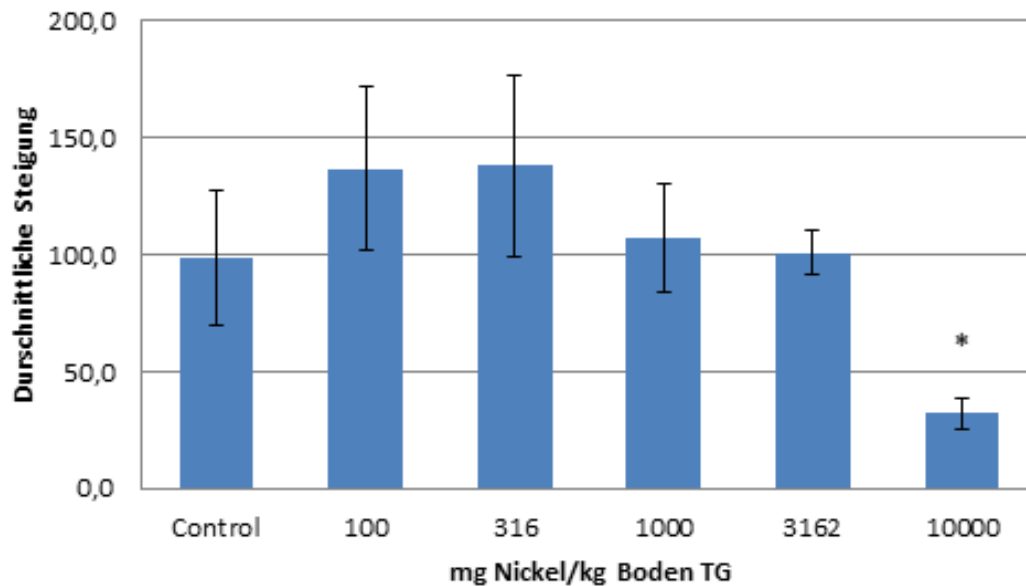
12.9.6 Ergebnisse der Tests mit dem Boden Zegveld

Im Zegveld getesteten Bakterienkontakttest wurde ein NOEC-Wert von 3162 mg Ni/kg Boden TG festgestellt (Tabelle 80; Abbildung 88). Der berechnete EC_{10} -Wert lag mit 765,2 mg Ni/kg Boden TG unter der ermittelten NOEC. Der EC_{50} -Wert betrug 9102,8 mg Ni/kg Boden TG. Im Regenwurm-Fluchttest lag der NOEC-Wert bei 100 mg Ni/kg Boden TG (Tabelle 80; Abbildung 89), während der EC_{10} -Wert mit 43,4 mg Ni/kg Boden TG noch niedriger war. Der EC_{50} -Wert betrug 342,5 mg Ni/kg Boden TG.

Tabelle 80: Ermittelte NOEC- und EC_x -Werte [mg Ni/kg Boden TG], jeweils im Zegveld Boden

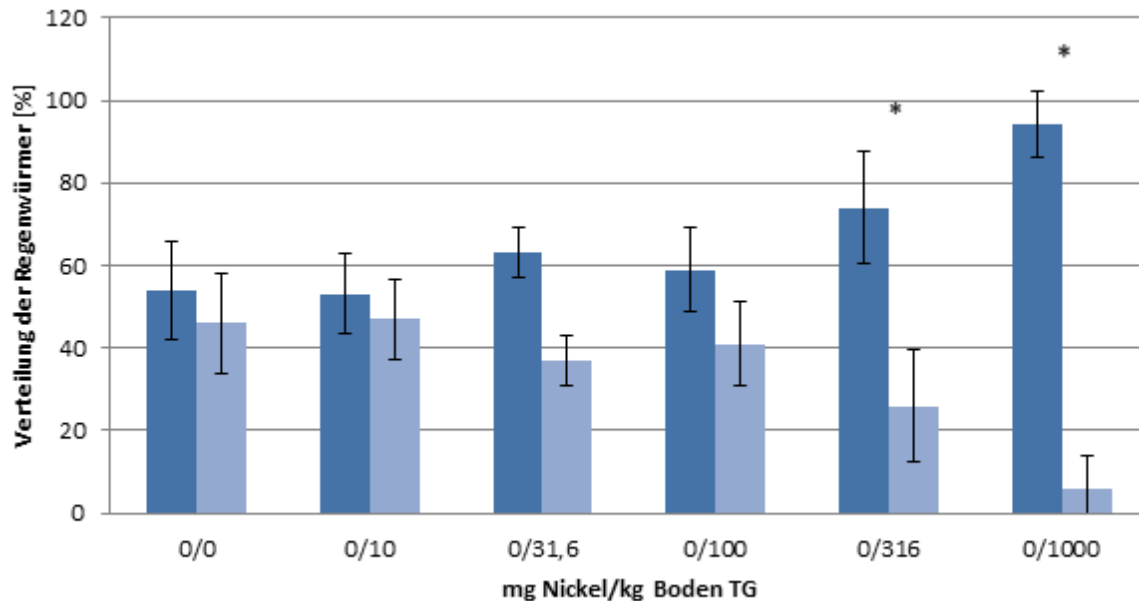
	NOEC	LOEC	EC_{10} (Unterer 95% KI - Oberer 95% KI)	EC_{50} (Unterer 95% KI - Oberer 95% KI)
Bakterienkontakttest	3162,0	10000,0	765,2 (351,9-1266,6)	9102,8 (5456,9-20231,0)
Regenwurm-Fluchttest	100,0	316,0	43,4 (5,88-319,7)	342,5 (134,7-870,8)

Abbildung 88: Ergebnis des Bakterienkontakttests mit Nickel im Boden Zegveld. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

Abbildung 89: Ergebnis des Regenwurm-Fluchttests mit Nickel im Boden Zegveld. * = Statistisch signifikant unterschiedlich zur Kontrolle



Quelle: eigene Darstellung, ECT Oekotoxikologie GmbH

12.10 Extraktionsversuche und Sorptionsisothermen für das Metall Nickel

In den folgenden Tabelle 81 und Tabelle 82 sowie Abbildung 90 und Abbildung 95 sind die Ergebnisse der Extraktion von Nickel mittels dreier Extraktionsverfahren aus den sechs Testböden im Vergleich zur gespikten Nominalkonzentration dargestellt (in Tabellen getrennt zwischen den drei Refesol-Böden (inkl. LUFA 2.2 = Refesol 01-A) sowie den drei anderen Feldböden).

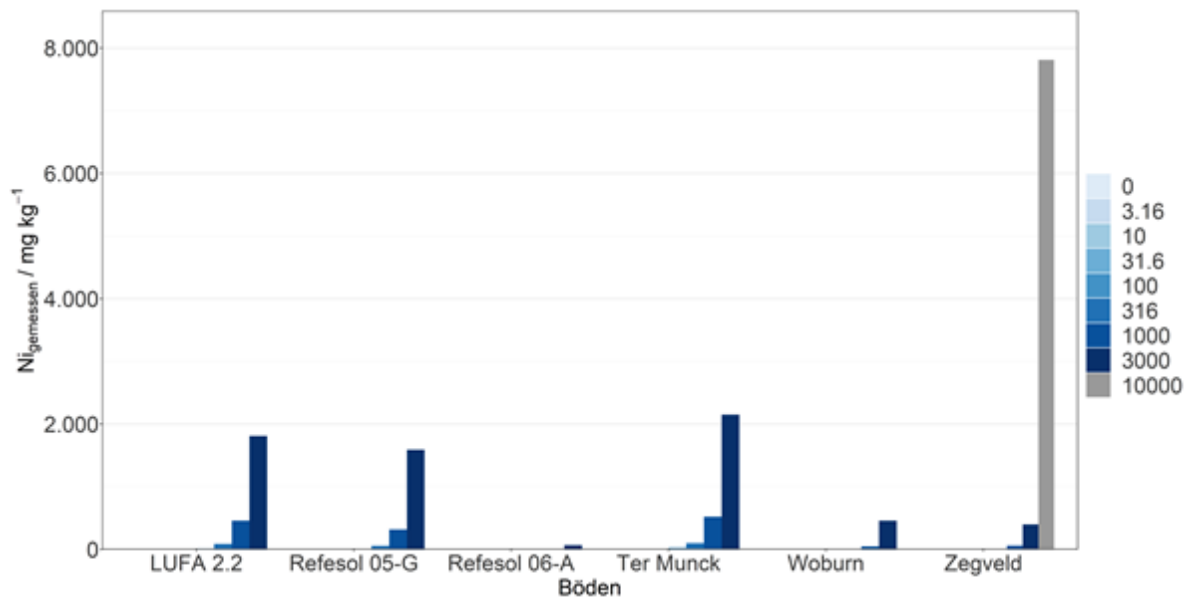
Tabelle 81: Konzentrationen von Nickel (mg/kg TG) in drei verschiedenen Referenzböden, gemessen mittels sechs verschiedener Extraktionsverfahren, jeweils im Vergleich zur gespikten Nominalkonzentration

Boden	Zugabe [mg/kg]	Ca(NO ₃) ₂ [mg/kg]	NH ₄ NO ₃ [mg/kg]	CaCl ₂ [mg/kg]	DTPA [mg/kg]	HNO ₃ [mg/kg]	Königswasser [mg/kg]
LUFA 2.2	0	0,0148	0,0126	0,0218	0,431	0,681	4,57
LUFA 2.2	3,16	0,132	0,0937	0,127	2,92	5,79	7,69
LUFA 2.2	10	0,445	0,348	0,684	7,41	10,8	10,7
LUFA 2.2	31,6	2,17	1,94	2,87	24,4	31,4	30,3
LUFA 2.2	100	12,8	12,7	15,7	79,2	77,7	109
LUFA 2.2	316	87,3	105	85,4	266	250	347
LUFA 2.2	1000	458	503	431	944	910	1060
LUFA 2.2	3000	1810	1880	1890	1550	2610	3070
Refesol 05-G	0	0,0819	0,111	0,122	1,44	3,73	12,2
Refesol 05-G	3,16	0,206	0,62	0,517	4,55	4,99	16
Refesol 05-G	10	0,615	1,58	1,62	10,5	11,8	16,7
Refesol 05-G	31,6	2,25	6,14	4,88	25,3	29,6	39,5
Refesol 05-G	100	11,1	31,3	22,6	86,6	92	117
Refesol 05-G	316	56,8	153	112	268	271	349
Refesol 05-G	1000	318	625	433	1510	971	1100
Refesol 05-G	3000	1590	2210	1780	2650	2760	3300
Refesol 06-A	0	0,0174	0,0143	0,0149	1,44	7,99	82,3
Refesol 06-A	3,16	0,0347	0,068	0,0794	3,18	10,2	83,7
Refesol 06-A	10	0,0509	0,0767	0,0812	6,22	12,6	82,3
Refesol 06-A	31,6	0,105	0,198	0,168	13,6	35	104
Refesol 06-A	100	0,283	1,23	0,8	21,3	54,8	172
Refesol 06-A	316	0,899	6,34	3,36	135	195	482
Refesol 06-A	1000	5,09	47,9	25,5	386	711	860
Refesol 06-A	3000	66,2	359	118	1320	2240	2220

Tabelle 82: Konzentrationen von Nickel (mg/kg TG) in drei verschiedenen Freilandböden, gemessen mittels sechs verschiedener Extraktionsverfahren, jeweils im Vergleich zur gespikten Nominalkonzentration

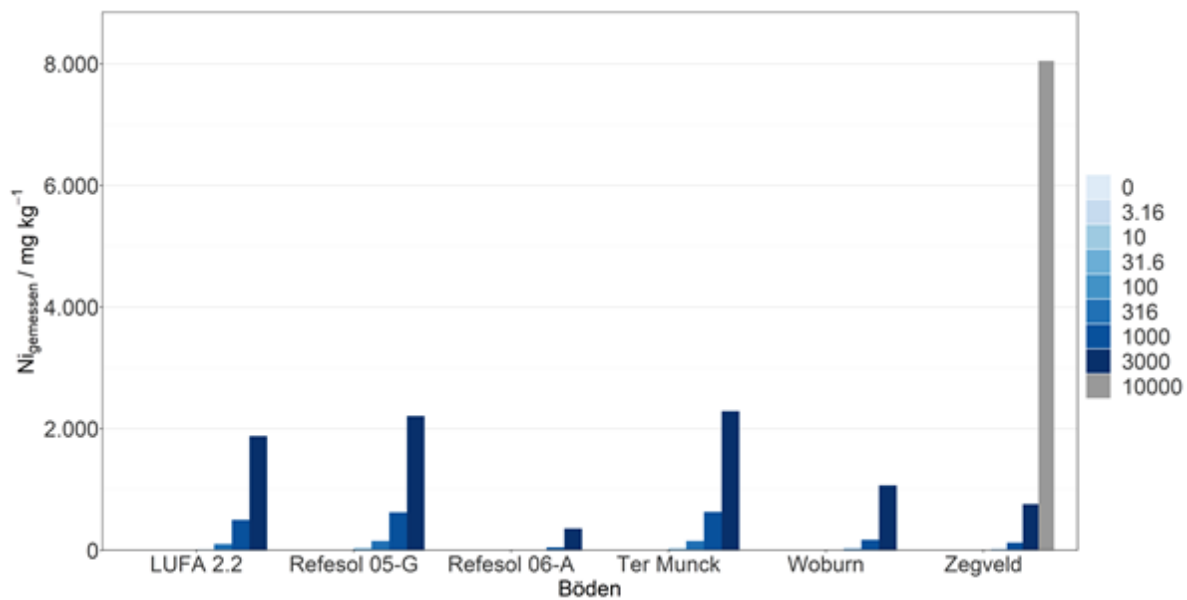
Boden	Zugabe [mg/kg]	Ca(NO ₃) ₂ [mg/kg]	NH ₄ NO ₃ [mg/kg]	CaCl ₂ [mg/kg]	DTPA [mg/kg]	HNO ₃ [mg/kg]	Königswasser [mg/kg]
Ter Munck	0	0,0712	0,0799	0,103	0,975	1,44	12,1
Ter Munck	3,16	0,307	0,309	0,382	3,41	3,93	14,6
Ter Munck	10	1,01	1,16	1,46	8,96	9,71	17,6
Ter Munck	31,6	4,11	5,64	10,2	22,1	28,7	45,1
Ter Munck	100	24,5	26,4	39,8	79,2	88,1	118
Ter Munck	316	100	155	176	269	263	344
Ter Munck	1000	521	633	827	856	884	1090
Ter Munck	3000	2150	2290	3030	2630	2720	3270
Woburn	0	0,0884	0,0649	0,0731	2,74	6,12	41
Woburn	3,16	0,128	0,139	0,224	6,04	7,69	45,3
Woburn	10	0,224	0,27	0,369	10,5	13,6	44,7
Woburn	31,6	0,558	1,08	1	22,6	30,5	66,4
Woburn	100	2,57	3,95	4,69	64,2	86,2	136
Woburn	316	7,7	24,9	25,9	216	255	363
Woburn	1000	47,9	174	158	684	875	1080
Woburn	3000	458	1070	1140	2100	2650	3230
Zegveld	0	0,216	0,291	0,275	3,83	15,7	34,1
Zegveld	3,16	0,258	0,456	0,52	6,1	15,3	37
Zegveld	10	0,4	0,622	0,627	9,33	20,8	42,1
Zegveld	31,6	0,859	1,48	1,34	18,6	38,9	62,3
Zegveld	100	3,15	4,39	5,19	51,1	93,6	138
Zegveld	316	10,5	19,2	20,1	169	279	382
Zegveld	1000	57,9	127	116	576	947	1140
Zegveld	3000	398	761	773	1810	2890	3490
Zegveld	10000	7810	8050	8410	9650	12400	14000

Abbildung 90: Extraktion von Ni mit $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen Ni-Gehalten (in mg/kg)



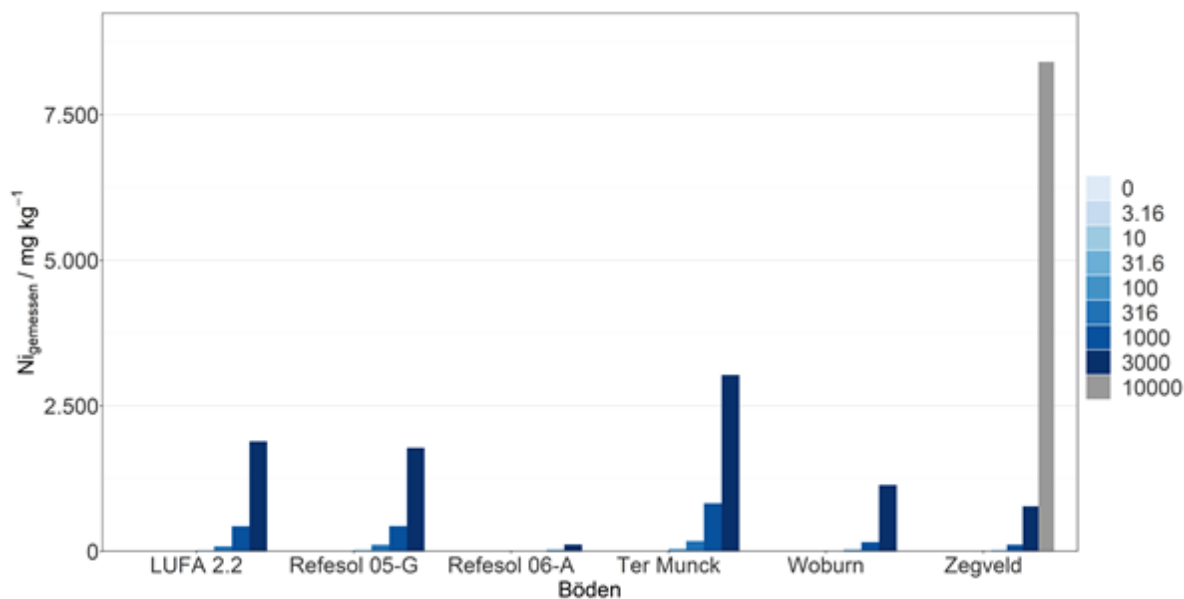
Quelle: eigene Darstellung, BGR Hannover

Abbildung 91: Extraktion von Ni mit NH_4NO_3 in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen Ni-Gehalten (in mg/kg)



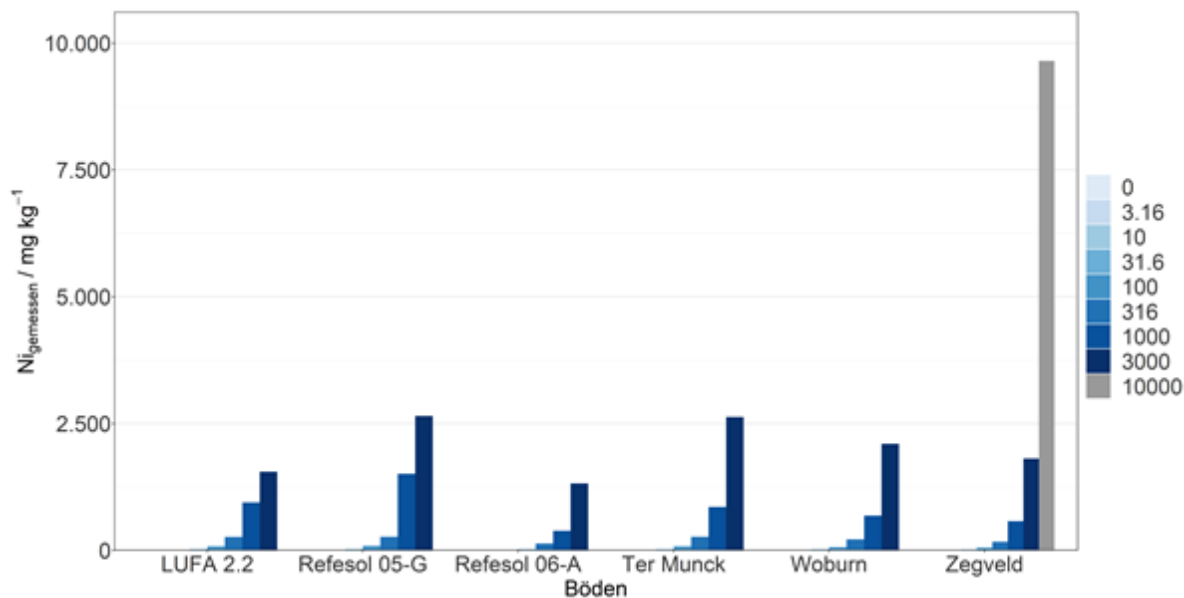
Quelle: eigene Darstellung, BGR Hannover

Abbildung 92: Extraktion von Ni mit CaCl_2 in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen Ni-Gehalten (in mg/kg)



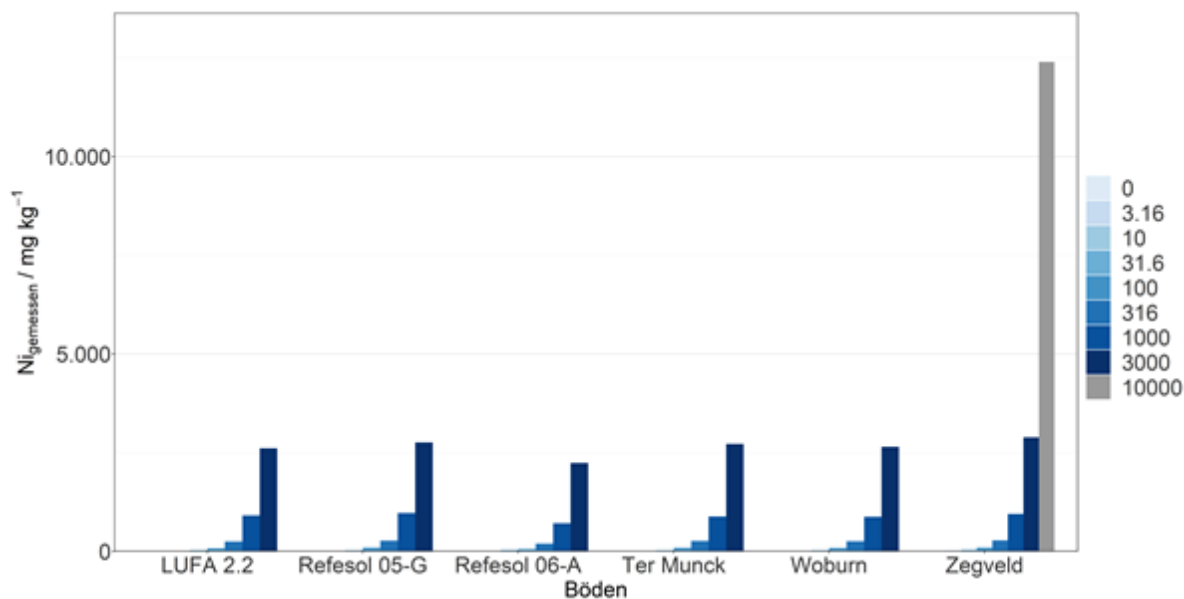
Quelle: eigene Darstellung, BGR Hannover

Abbildung 93: Extraktion von Ni mit DTPA in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen Ni-Gehalten (in mg/kg)



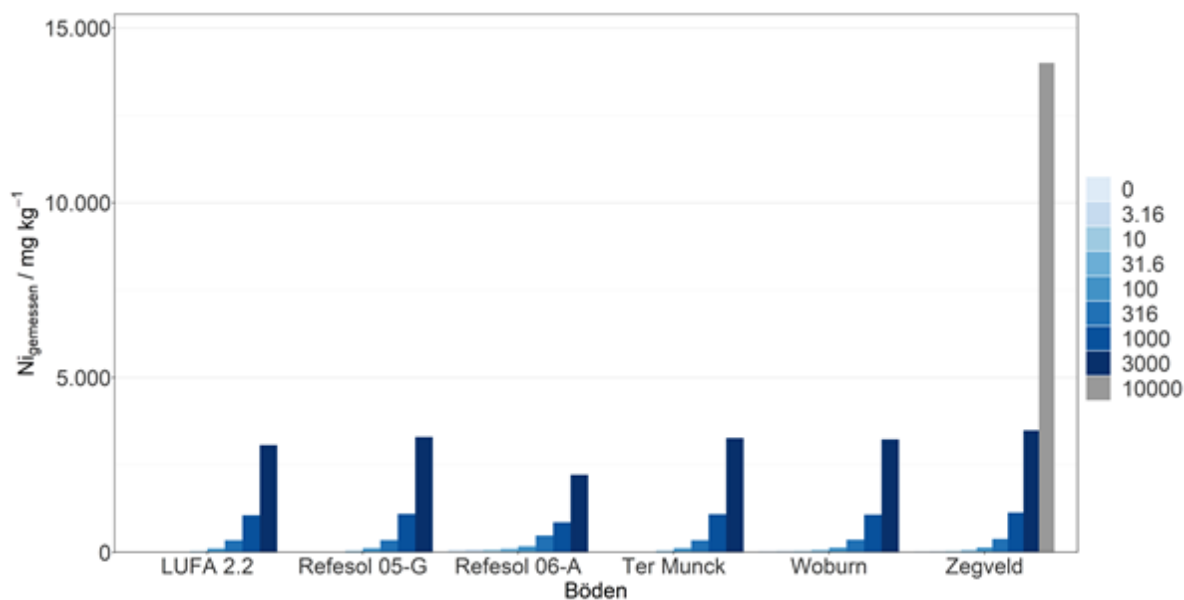
Quelle: eigene Darstellung, BGR Hannover

Abbildung 94: Extraktion von Ni mit HNO_3 in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen Ni-Gehalten (in mg/kg)



Quelle: eigene Darstellung, BGR Hannover

Abbildung 95: Extraktion von Ni mit Königswasser in den sechs getesteten Böden bei jeweils acht unterschiedlichen nominellen Ni-Gehalten (in mg/kg)



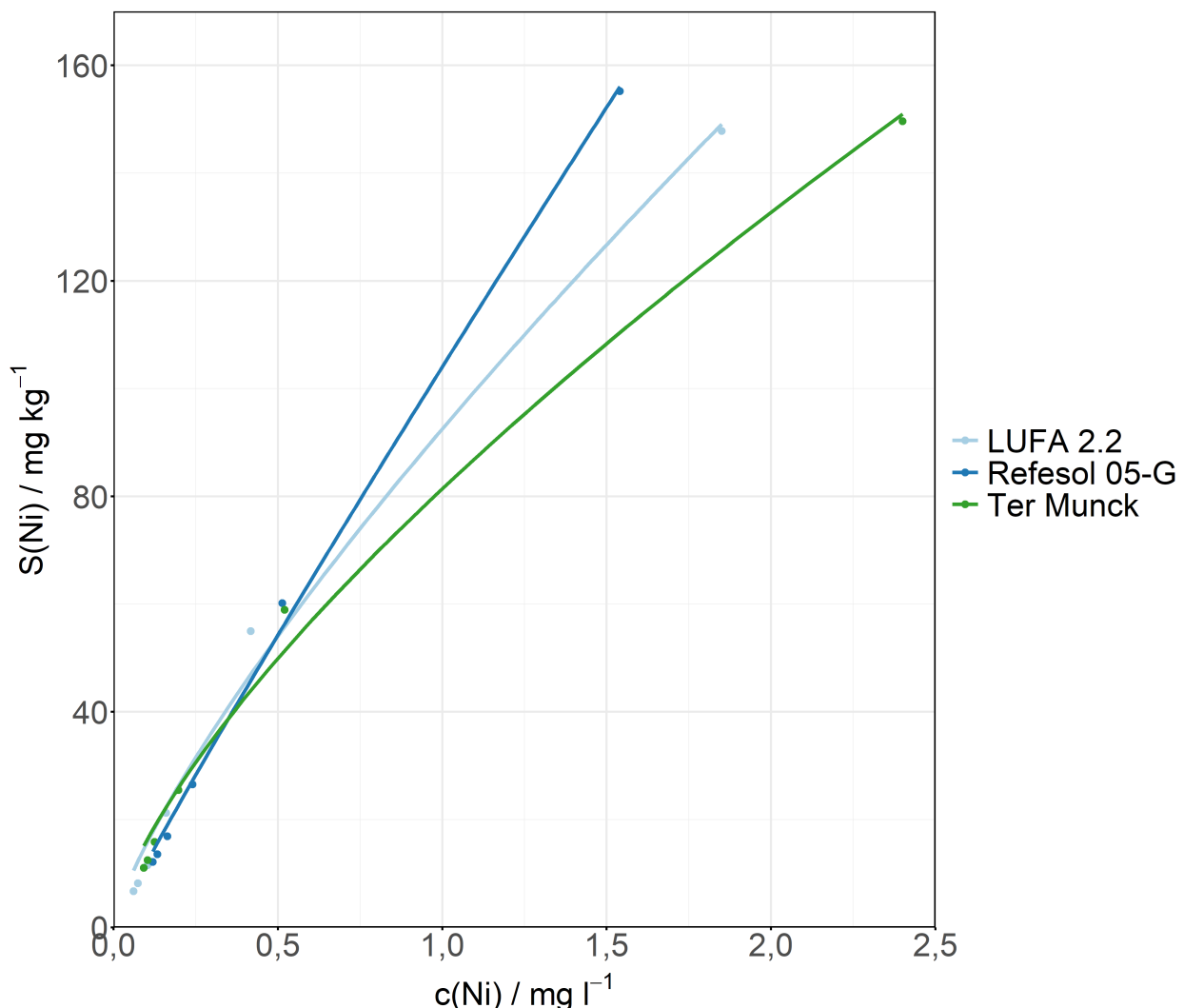
Quelle: eigene Darstellung, BGR Hannover

Die Stärke der verschiedenen Extraktionsverfahren folgt keiner eindeutigen Reihenfolge wie bei der Extraktion von As. Bei den meisten Böden und Ni-Zugaben nimmt die Extraktionsstärke in der Reihenfolge $KW > HNO_3 > DTPA > \text{Salzlösungen}$ ab. Bei der Reihenfolge der Extraktionsstärke der drei Salzlösungen ist aber kein Trend erkennbar. Zum Teil erreichen oder übertreffen die Ni-Konzentrationen in den Salzlösungen sogar die Messwerte in den DTPA- oder HNO_3 -Extrakten.

Mit Ausnahme des Königswasser-Aufschlusses wird von den Extrakten am wenigsten aus dem Boden Refesol 06-A extrahiert. Dies ist ein Boden mit einem hohen pH-Wert und einem vergleichsweise hohen Ton-Gehalt. Aus dem Ter-Munck-Boden wird mit den Salzlösungen am meisten extrahiert. Mit DTPA und HNO_3 wird außer dem Ter-Munck-Boden auch aus dem Refesol 05-G und dem LUFA 2.2 viel extrahiert. Dies sind die drei Böden mit dem niedrigsten Ton- und C_{org} -Anteil und folglich auch der niedrigsten KAK.

Tabelle 83 stellt die Koeffizienten der Sorptionsisothermen für Nickel dar (Abbildung 96). Wie bei Kupfer wurden drei Sorptionsisothermen verworfen, da sie nicht dem Freundlich-Modell entsprachen.

Abbildung 96: Isothermen für die Sorption von Ni an drei getesteten Böden. Die Sorptionsisothermen der weiteren drei getesteten Böden wurden verworfen. Die Punkte markieren die Labor-messwerte und die Linien sind die mittels nichtlinearer Anpassung abgeleiteten Sorptionsisothermen nach dem Freundlich-Modell. Die initial sorbierten Element-Gehalte wurden nach Stange & Rückamp (2016) ermittelt



Quelle: eigene Darstellung, BGR Hannover

Tabelle 83: Freundlich-Adsorptionsisothermen für die Sorption von Nickel an den untersuchten Böden (Kf = Freundlich-Koeffizient, n = Freundlich-Exponent, RSE = „Residual standard error“ der nicht-linearen Regression)

Boden	K _f	n	RSE
LUFA 2.2	437	0,78	5438
Refesol 05-G	159	0,94	2953
Refesol 06-A	Entspricht nicht Freundlich-Modell		
Ter Munck	624	0,71	5033
Woburn	Entspricht nicht Freundlich-Modell		
Zegveld	Entspricht nicht Freundlich-Modell		

12.11 Ableitung von Bodenwerten für Nickel

In diesem Kapitel wird, analog zu dem für Arsen und Kupfer beschriebenen Verfahren, das Potential der unterschiedlichen chemischen Extraktionsmethoden hinsichtlich ihrer Eignung zur Vorhersage der Toxizität von Nickel für Bodenorganismen dargestellt. Die EC₁₀- und EC₅₀-Werte sind als Gesamt- oder extrahierbare Nickelkonzentrationen für jeden getesteten und berichteten Endpunkt in Tabelle 84 und Tabelle 85 aufgeführt. Wie schon bei Arsen und Kupfer beobachtet, unterscheidet sich die am besten geeignete Extraktionsmethode (also diejenige mit den geringsten Toxizitätsunterschieden in den getesteten Böden) je nach getestetem Endpunkt. Der Ca(NO₃)₂-Extrakt erlaubt die beste Abschätzung für die Wirkung von Nickel auf das Regenwurm-Fluchtverhalten, während die nominale Konzentration, der NH₄NO₃-Extrakt und der DTPA-Extrakt die beste Abschätzung der Nickeltoxizität für den Endpunkt Dehydrogenaseaktivität darstellt.

Tabelle 84: Variabilität der EC₁₀- und EC₅₀-Werte (mg Ni/kg Boden) zur Nickeltoxizität für den Endpunkt Dehydrogenaseaktivität (*Arthrobacter globiformis*) in sechs Böden, angegeben als nominale bzw. gemessene Gesamt- und extrahierbare Arsen-Konzentration. Die Indizes mit der geringsten Variabilität in der Toxizität zwischen den Böden sind fett gedruckt. CV = Variationskoeffizient (Standardabweichung/Mittelwert * 100), RS = Relative Spannweite ((Maximum-Minimum)/Mittelwert)

Boden	Nominal	Ca(NO ₃) ₂	1 M NH ₄ NO ₃	0,01 M CaCl ₂	DTPA/CaCl ₂	0,43 M HNO ₃	Königswasser
EC₁₀							
LUFA 2.2	290	75	89	74	242	228	317
Refesol 05-G	123	14	41	29	106	112	141
Refesol 06-A	#	#	#	#	#	#	#
Ter Munck	220	62	85	107	181	187	243
Woburn	495	15	51	50	338	407	548
Zegveld	765	38	80	75	429	703	879
Max/min Verh.	6,2	5,2	2,2	3,6	4,1	6,3	6,2
CV (%)	67,6	66,7	31,5	43,3	49,2	72,2	69,1
RS	1,7	1,5	0,70	1,2	1,2	1,8	1,7
EC₅₀							
LUFA 2.2	884	378	419	357	819	787	942
Refesol 05-G	605	144	329	234	682	546	663
Refesol 06-A	1625	17	114	48	654	1171	1313
Ter Munck	1030	539	654	854	882	911	1122
Woburn	2044	210	550	560	1414	1795	2190
Zegveld	9103	7138	7494	7816	9354	12232	12462
Max/min Verh.	15,0	423,0	65,6	161,4	14,3	22,4	18,8
CV (%)	127,7	200,5	181,8	184,6	150,7	157,8	147,9
RS	3,3	5,1	4,6	4,7	3,8	4,0	3,8

= Berechnete EC₁₀ nicht belastbar, da niedriger als die niedrigste getestete Konzentration (nominale Konzentration 100 mg Ni/kg Boden)

Tabelle 85: Variabilität der EC₁₀- und EC₅₀-Werte (mg Ni/kg Boden) zur Nickeltoxizität für den Endpunkt Regenwurm-Vermeidung (*Eisenia andrei*) in sechs Böden, angegeben als nominale bzw. gemessene Gesamt- und extrahierbare Arsen-Konzentration. Die Indizes mit der geringsten Variabilität in der Toxizität zwischen den Böden sind fett gedruckt. CV = Variationskoeffizient (Standardabweichung/Mittelwert * 100), RS = Relative Spannweite ((Maximum-Minimum)/Mittelwert)

Boden	Nominal	Ca(NO ₃) ₂	1 M NH ₄ NO ₃	0,01 M CaCl ₂	DTPA/CaCl ₂	0,43 M HNO ₃	Königswasser
EC₁₀							
LUFA 2.2	13,5	0,65	0,52	0,97	10,0	14,2	13,3
Refesol 05-G	52,2	4,31	11,96	9,14	42,3	47,4	60,2
Refesol 06-A	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Ter Munck	#	#	#	#	#	#	#
Woburn	171,6	4,31	8,99	10,02	111,6	142,8	207,9
Zegveld	43,4	1,17	1,95	1,85	24,1	47,9	73,9
Max/min Verh.	12,7	6,6	22,8	10,4	11,2	10,0	15,7
CV (%)	99,3	75,7	94,0	86,4	95,8	87,9	94,1
RS	2,3	1,4	2,0	1,6	2,2	2,0	2,2
EC₅₀							
LUFA 2.2	209,2	42,4	48,3	44,8	170,8	163,8	227,2
Refesol 05-G	243,9	38,2	104,1	76,0	207,9	213,1	270,7
Refesol 06-A	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Ter Munck	129,6	33,0	38,2	54,4	103,5	113,1	149,2
Woburn	1013,0	49,2	177,5	161,5	693,0	886,4	1093,7
Zegveld	342,5	11,7	21,7	22,5	183,5	302,4	411,2
Max/min Verh.	7,8	4,2	8,2	7,2	6,7	7,8	7,3
CV (%)	92,3	40,9	81,7	74,8	87,8	94,0	88,9
RS	2,28	1,07	2,00	1,94	2,17	2,30	2,19

n.b. = Nicht bestimmbar, da ohne Konzentrations-Wirkungs-Beziehung; # = Berechnete EC₁₀ nicht belastbar, da niedriger als die niedrigste getestete Konzentration (nominale Konzentration 10 mg Ni/kg Boden)

Diese Ergebnisse für Nickel entsprechen den in den Arsentests gewonnenen Erfahrungen und bestätigen die eingeschränkte Verwendbarkeit von Daten zu den extrahierbaren Fraktionen von Kupfer für deren Verwendung bei der Ableitung von Bodenwerten auf der Basis von Tests mit verschiedenen Organismen bzw. trophischen Ebenen. Daher wird vorgeschlagen, Bodenwerte für Nickel auf der Basis von dessen Gesamtgehalten im Boden, gefolgt von der Verwendung von aus der Literatur stammenden Korrekturfaktoren zur Bioverfügbarkeit, abzuleiten.

Bioverfügbarkeitskorrekturen wurden schon früh für Nickel entwickelt, um den Einfluss verschiedener Bodeneigenschaften sowie von Alterungsprozessen auf die Toxizität von Nickel für Bodenorganismen einschätzen zu können (Smolders et al., 2009; OECD, 2016). Die Toxizität von Nickel ist am stärksten mit der Kationenaustauschkapazität im Boden korreliert (Tabelle 86).

Tabelle 86: Ausgewählte Regressionsmodelle zur Bioverfügbarkeitskorrektur der Toxizität von Nickel für Bodenorganismen

Art / Prozess	Abhängige Variable	Bodeneigenschaft	# Böden	Adj R ²	Steigung	Zitat
Tomate, Sprosslänge	log EC ₅₀	log KAK _{eff}	16	0,64	1,27	Rooney et al., 2007
Gerste, Wurzellänge	log EC ₅₀	log KAK _{eff}	16	0,82	1,12	Rooney et al., 2007
<i>Eisenia fetida</i> , Reproduktion	log EC ₅₀	log KAK _{eff}	16	0,70	0,95	Van Eeckhout et al., 2005
<i>Folsomia candida</i> , Reproduktion	log EC ₅₀	log KAK _{eff}	15	0,68	1,17	Van Eeckhout et al., 2005
Nitrifikation	log EC ₅₀	log KAK _{eff}	15	0,57	1,00	Oorts et al., 2006
Substratinduzierte Atmung	log EC ₅₀	log KAK _{eff}	13	0,92	1,34	Oorts et al., 2006
Pflanzenmaterial Mineralisierung	log EC ₂₀	log KAK _{eff}	12	0,69	1,22	Oorts et al., 2006

Zusätzlich wurde ein L/F-Faktor von 2,0 abgeleitet, um die geringere Toxizität im Freiland im Vergleich zu derjenigen, die unmittelbar nach Zugabe eines löslichen Nickelsalzes unter Laborbedingungen auftritt, auszugleichen (Smolders et al., 2009; OECD, 2016). Dieser L/F-Faktor basiert auf einem Fixierungsfaktor, der mittels eines empirischen chemischen Modells abgeleitet wurde:

$$L/F = 1 + \exp^{1,4(pH-7,0)}$$

Dabei steht der pH für gemessene pH-Werte in 0,01 M CaCl₂. Diese Gleichung wurde mit einem maximal 1,5 Jahre gealterten Boden, der einen pH im Bereich zwischen 3,6 und 7,7 hatte, validiert. Demnach gibt es praktisch keine Alterung (L/F < 1,2) bis zu einem pH-Wert von 6, einen L/F = 2 bei einem pH-Wert von 7 sowie einen L/F = 3 bei einem pH von 7,5.

Alle chronischen Daten aus dem REACH-Dossier für Nickel wurden mit den Daten aus dem vorliegenden Projekt (d. h. aus dem Regenwurm-Vermeidungstest sowie dem Arthrobactertest) kombiniert. Damit lag ein Datensatz von 202 belastbaren EC₁₀- oder NOEC- Werten sowie 183 belastbaren EC₅₀- Werten für die folgenden Arten bzw. mikrobiellen Endpunkte vor:

- ▶ 11 Pflanzenarten: *Allium cepa* (nur EC₅₀), *Avena sativa*, *Hordeum vulgare*, *Lactuca sativa*, *Lolium perenne*, *Lycopersicon esculentum*, *Medicago sativa*, *Raphanus sativus*, *Spinacia oleracea*, *Trigonella poenum graceum* und *Zea mays* (kein EC₅₀);
- ▶ 7 Invertebratenarten: *Eisenia fetida*, *Eisenia veneta*, *Eisenia andrei*, *Enchytraeus albidus*, *Lumbricus rubellus*, *Folsomia candida* und *Folsomia fimetaria*;
- ▶ 26 Mikroorganismenarten oder -endpunkte: *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus flavipes*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Bacillus cereus* (kein EC₅₀), *Gliocladium* sp., *Nocardia rhodochrous*, *Penicillium vermiculatum*, *Proteus vulgaris* (kein EC₅₀), *Rhizopus stolonifera*, *Rhodotorula rubra* (kein EC₅₀), *Serratia marcescens*, und *Trichoderma viride*), potentielle Nitrifikationsrate, Glucoseinduzierte Atmung, Maismaterial-Mineralisierung, Basalatmung, Glutaminsäureinduzierte Respiration, ATP-Gehalt, Ureaseaktivität, Phosphataseaktivität,

Arylsulphataseaktivität, Dehydrogenaseaktivität, Saccharaseaktivität und Proteaseaktivität (kein EC₅₀).

Alle Toxizitätsdaten wurden in Hinsicht auf Alterungsprozesse korrigiert und dann in Hinsicht auf die genannten unterschiedlichen Bodeneigenschaften für Stellvertreterböden der Bodenartenhauptgruppen Sand, Lehm/Schluff und Ton normalisiert:

- Sand: 5% Ton, pH (in 0,01 M CaCl₂) 5, 1% organischer Kohlenstoff und einer effektiven KAK von 8 cmol_c/kg;
- Lehm/Schluff: 17% Ton, pH (in 0,01 M CaCl₂) 6, 2% organischer Kohlenstoff und einer effektiven KAK von 15 cmol_c/kg
- Ton: 45% Ton, pH (in 0,01 M CaCl₂) 7, 3% organischer Kohlenstoff und einer effektiven KAK von 30 cmol_c/kg

Für jeden Boden wurde eine SSD erstellt, basierend auf den normalisierten EC₁₀- und EC₅₀- Werten für alle Organismen zusammen. Die HC₅-50-Werte (angegeben als Gesamt-Ni-Konzentration im Boden, einschließlich der jeweiligen Hintergrundkonzentration) wurden auf der Grundlage eines log-normalen Modells (Aldenberg & Jaworska, 2000) als Basis für vorsorge- bzw. nachsorgeorientierte Bodenwerte erstellt (Tabelle 87).

Tabelle 87: HC₅-50 Werte und Vertrauensbereiche für eine Arten-Verteilungs-Kurve basierend auf EC₁₀- und EC₅₀-Werte zur Nickeltoxizität für Bodenorganismen (Daten für 43 Arten und 39 mikrobielle Prozesse)

Bodenartenhauptgruppe	HC ₅ -50 EC ₁₀	HC ₅ -50 EC ₅₀
Sand	37 (25-51)	57 (35-83)
Lehm/Schluff	76 (52-103)	116 (71-168)
Ton	164 (112-220)	250 (155-361)

Die Mittelwerte pro Endpunkt der normalisierten EC₁₀- und EC₅₀-Werte für diese drei Bodenartenhauptgruppen sind in Tabelle 88 angegeben. Die auf EC₁₀ und EC₅₀ basierenden SSD-Diagramme für die drei Bodenartenhauptgruppen sind in Abbildung 97 und Abbildung 98 dargestellt.

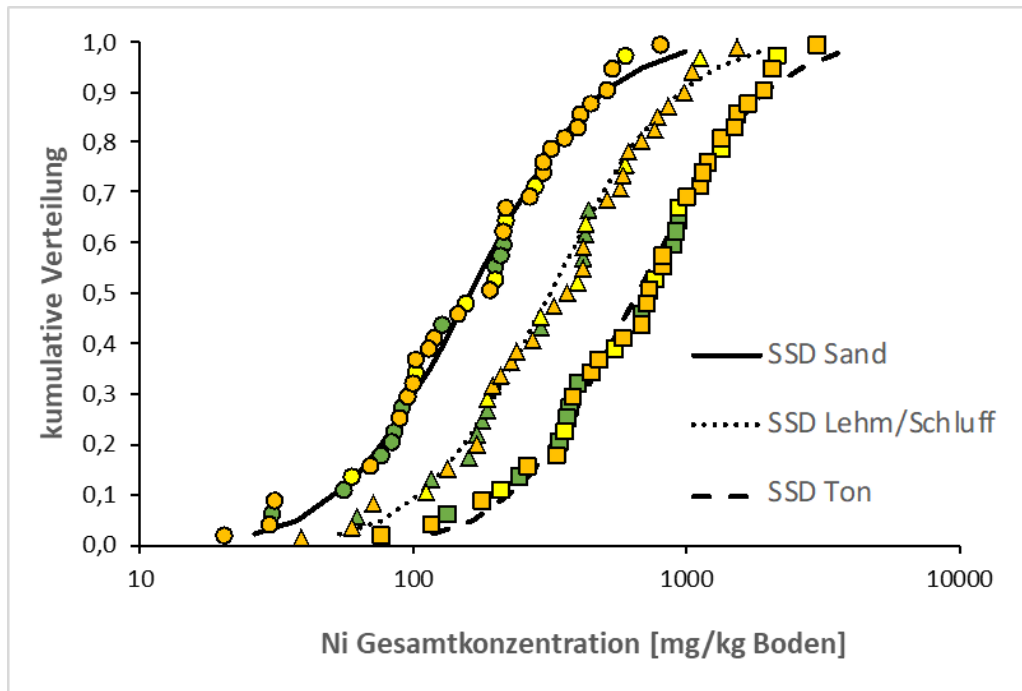
Tabelle 88: Mittlere EC₁₀- und EC₅₀-Werte pro Endpunkt für die Toxizität von Ni gegenüber Bodenorganismen, die für die SSD-Diagramme für die drei Bodenartenhauptgruppen ausgewählt wurden

Spezies	Sensitivster Endpunkt	Geometrisches Mittel EC ₁₀ [mg Cu/kg Boden]			Geometrisches Mittel EC ₅₀ [mg Cu/kg Boden]		
		Sand	Lehm/Schluff	Ton	Sand	Lehm/Schluff	Ton
<i>Allium cepa</i>	Ertrag	/	/	/	263	531	1154
<i>Avena sativa</i>	Ertrag (Körner)	88	178	387	107	216	470
<i>Hordeum vulgare</i>	Ertrag (Wurzellänge)	219	442	960	390	788	1713
<i>Lactuca sativa</i>	Ertrag (Blätter)	93	188	409	77	156	339
<i>Lolium perenne</i>	Ertrag (Spross)	31	63	136	42	84	183
<i>Lycopersicon esculentum</i>	Ertrag (Spross)	130	289	698	164	365	880

Spezies	Sensitivster Endpunkt	Geometrisches Mittel EC ₁₀ [mg Cu/kg Boden]			Geometrisches Mittel EC ₅₀ [mg Cu/kg Boden]		
		Sand	Lehm/ Schluff	Ton	Sand	Lehm/ Schluff	Ton
<i>Medicago sativa</i>	Ertrag (Spitzen)	57	116	251	76	154	334
<i>Raphanus sativus</i>	Ertrag	85	173	375	118	239	519
<i>Spinacia oleracea</i>	Ertrag (Spross)	79	160	347	40	80	175
<i>Trigonella poenum graceum</i>	Ertrag	206	417	906	422	854	1856
<i>Zea mays</i>	Ertrag	212	429	932	/	/	/
<i>Eisenia fetida</i>	Reproduktion (Ko- konproduktion)	222	403	779	399	724	1399
<i>Eisenia veneta</i>	Reproduktion (Ko- konproduktion)	104	189	364	351	638	1232
<i>Eisenia andrei</i>	Vermeidung	61	111	214	156	284	549
<i>Enchytraeus albidus</i>	Reproduktion (An- zahl Juvenile)	160	290	560	213	387	748
<i>Lumbricus rubellus</i>	Mortalität	617	1122	2167	1049	1905	3681
<i>Folsomia candida</i>	Reproduktion (An- zahl Juvenile)	288	602	1354	556	1159	2609
<i>Folsomia fimetaria</i>	Reproduktion (An- zahl Juvenile)	206	430	967	526	1098	2470
<i>Aspergillus clavatus</i>	Hyphenwachstum	32	60	120	97	181	362
<i>Aspergillus flavipes</i>	Hyphenwachstum	369	691	1382	436	818	1635
<i>Aspergillus flavus</i>	Hyphenwachstum	415	778	1556	624	1169	2339
<i>Aspergillus niger</i>	Hyphenwachstum	409	767	1534	552	1034	2068
<i>Bacillus cereus</i>	Kolonienzahl	306	574	1147	/	/	/
<i>Gliocladium</i> sp.	Hyphenwachstum	221	414	828	927	1738	3477
<i>Nocardia rho- dochrous</i>	Kolonienzahl	327	613	1226	827	1550	3100
<i>Penicillium vermicu- latum</i>	Hyphenwachstum	122	228	456	422	792	1583
<i>Proteus vulgaris</i>	Kolonienzahl	522	979	1959			
<i>Rhizopus stolonifer</i>	Hyphenwachstum	309	579	1158	422	791	1581
<i>Rhodotorula rubra</i>	Kolonienzahl	522	979	1959	/	/	/
<i>Serratia marcescens</i>	Kolonienzahl	271	508	1016	366	686	1373
<i>Trichoderma viride</i>	Hyphenwachstum	553	1036	2073	668	1252	2505
Natürliche Boden- mikroorganismenge- meinschaft	potentielle Nitrifi- kationsrate	104	196	391	226	424	848

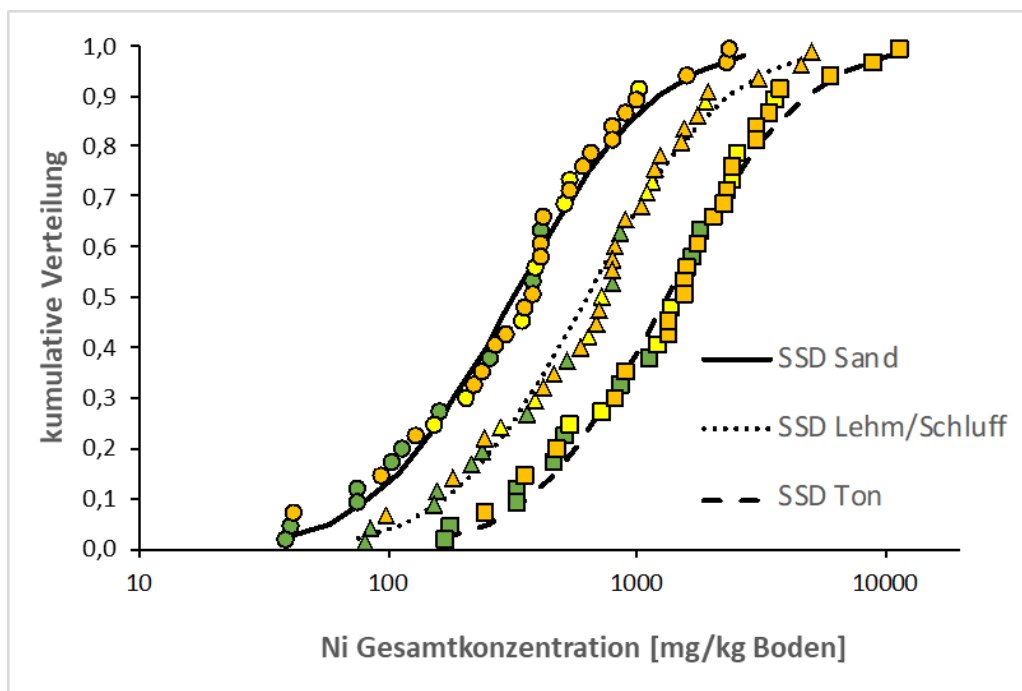
Spezies	Sensitivster Endpunkt	Geometrisches Mittel EC ₁₀ [mg Cu/kg Boden]			Geometrisches Mittel EC ₅₀ [mg Cu/kg Boden]		
		Sand	Lehm/ Schluff	Ton	Sand	Lehm/ Schluff	Ton
Natürliche Bodenmikroorganismengemeinschaft	Glucoseinduzierte Atmung	118	274	694	388	900	2279
Natürliche Bodenmikroorganismengemeinschaft	Maismaterial-Mineralisierung	150	324	754	2338	5033	11724
Natürliche Bodenmikroorganismengemeinschaft	Basalatmung	98	210	490	276	593	1382
Natürliche Bodenmikroorganismengemeinschaft	Glutaminsäureinduzierte Respiration	102	237	600	306	711	1801
Natürliche Bodenmikroorganismengemeinschaft	ATP-Gehalt	31	72	181	43	99	251
Natürliche Bodenmikroorganismengemeinschaft	Ureaseaktivität	225	423	845	816	1530	3061
Natürliche Bodenmikroorganismengemeinschaft	Phosphataseaktivität	456	855	1711	1641	3077	6155
Natürliche Bodenmikroorganismengemeinschaft	Arylsulphataseaktivität	817	1532	3064	2414	4526	9052
Natürliche Bodenmikroorganismengemeinschaft	Dehydrogenaseaktivität	21	39	79	132	247	494
Natürliche Bodenmikroorganismengemeinschaft	Saccharaseaktivität	92	172	345	245	460	920
Natürliche Bodenmikroorganismengemeinschaft	Proteaseaktivität	71	133	267	/	/	/
<i>Arthrobacter globiformis</i>	Dehydrogenaseaktivität	197	370	740	1027	1926	3852

Abbildung 97: Species Sensitivity Distribution für die Toxizität von Ni auf Bodenorganismen basierend auf EC_{10} -Werten für die drei Bodenartenhauptgruppen. Daten für Pflanzen, Invertebraten und Mikroorganismen werden durch grüne, gelbe bzw. orange Symbole dargestellt. Kreise, Dreiecke und Quadrate repräsentieren Daten für Sand, Lehm/Schluff bzw. Ton



Quelle: eigene Darstellung, ARCHE Consulting

Abbildung 98: Species Sensitivity Distribution für die Toxizität von Ni auf Bodenorganismen basierend auf EC_{50} -Werten für die drei Bodenartenhauptgruppen. Daten für Pflanzen, Invertebraten und Mikroorganismen werden durch grüne, gelbe bzw. orange Symbole dargestellt. Kreise, Dreiecke und Quadrate repräsentieren Daten für Sand, Lehm/Schluff bzw. Ton



Quelle: eigene Darstellung, ARCHE Consulting

12.12 Plausibilität der abgeleiteten Bodenwerte für Nickel

Auch für Nickel wurde die Plausibilität der anhand der neuen Ableitungsmethodik berechneten Bodenwerte überprüft. Wie auch für Kupfer wurden die vorhandenen deutschen Bodenwerte auf der Grundlage einer sehr großen Datenmenge erstellt, sodass die in diesem Vorhaben gemessenen Testergebnisse als Ergänzung zu verstehen sind, die nicht dazu führen würden, die bisher in der BBodSchV (1999) festgelegten Vorsorgewerte zu modifizieren: sandige Böden: 15 mg/kg, Lehm/Schluff-Böden: 50 mg/kg und tonige Böden: 70 mg/kg. Auch hier liegen die in diesem Vorhaben berechneten, nach der Bodenart differenzierten vorsorgeorientierten Bodenwerte auf der Grundlage aller vorhandenen Testergebnisse etwa um den Faktor 2 über den aktuell gültigen Vorsorgewerten der BBodSchV (1999), was wiederum mit der Anwendung des L/F-Faktors von 2,0 zur Berücksichtigung der alterungsbedingt niedrigeren Bioverfügbarkeit/Toxizität im Freiland im Vergleich zu Laborbedingungen zu erklären ist (Smolders et al. 2009; OECD 2016).

Vorsorgeorientierte Bodenwerte: Sand = 37 mg/kg; Lehm/Schluff = 76 mg/kg; Ton = 164 mg/kg.

Nachsorgeorientierte Bodenwerte: Sand = 57 mg/kg; Lehm/Schluff = 116 mg/kg; Ton = 250 mg/kg.

12.12.1 Vergleich der vorgeschlagenen Werte mit natürlichen Hintergrundgehalten

Laut Vogel et al. (2009) liegen die Hintergrundwerte dieses Metalls in Deutschland im Mittel bei 7,6 mg/kg (sandige Böden), 33 mg/kg (Schluff-Böden) bzw. 70 mg/kg (tonige Böden). Utermann & Düwel (2013) führen in einer nach Bodenartenhauptgruppen sowie der jeweiligen Nutzung differenzierenden Auflistung für Oberböden in Deutschland Nickelkonzentrationen von 7 – 70 mg/kg (90. Perzentil) an (Extremwert für basische Magmatite: 248 mg/kg). Für Belgien (Flandern bzw. Wallonien) werden Werte in der gleichen Größenordnung wie in Deutschland für sandige Böden angegeben (9 mg/kg; Carlon 2007). Ähnliche Hintergrundgehalte werden auch aus Litauen berichtet (Sand/lehmiger Sand: 12 mg/kg; Lehm/Ton: 18 mg/kg; Carlon 2007). Generell wird für Nickel europaweit ein Bereich von 5 - 110 mg/kg Boden angegeben (Merrington & Schoeters 2011), wobei auch anthropogen beeinflusste Flächen enthalten sind. Bei einer europaweit und standardisiert durchgeführten Erfassung der Schwermetallgehalte in einer Vielzahl von Böden (LUCAS-Projekt) wurde für Nickel ein Mittelwert von $18,36 \pm 18,15$ mg/kg Boden TG festgestellt, wobei im Minimum 0,36 mg/kg und im Maximum 466,48 mg/kg gemessen wurden (Tóth et al. 2016b). Die Autoren weisen ausdrücklich darauf hin, dass die teils sehr hohen Werte wahrscheinlich durch den hohen Anteil belasteter Böden in diesem Projekt zu erklären sind, wobei explizit historische und aktuelle industrielle bzw. bergbauliche Aktivitäten als Begründung genannt werden. Im beendeten GEMAS-Projekt wurden europaweit Bodenproben aus den obersten 20 cm an landwirtschaftlich genutzten Standorten entnommen. Demnach liegt dort der Median des Hintergrundgehalts für Nickel bei 15 mg/kg (Minimum: < 0,1 mg/kg; Maximum 2475 mg/kg) auf diesen Flächen (Reimann et al. 2018). Die Hintergrundwerte von Nickel in Oberböden Deutschlands wurden 2017 von der LABO) zusammengestellt (Königswasseraufschluss, Unterscheidung nach Ausgangsmaterial, Landnutzung sowie teilweise Bodenprovinzen). Die Hintergrundwerte (90. Perzentil) liegen im Bereich zwischen 4,5 (Sande unter Wald in Nordostdeutschland) und 110 mg/kg (Bimstoffe, Grünland, deutschlandweit; LABO 2017), mit einem Extremwert von 252 mg/kg für basische Magmatite und Metamorphite. Damit haben die berechneten Werte einen für die Praxis akzeptablen Abstand zu den jeweiligen Hintergrundwerten.

12.12.2 Abgleich der vorgeschlagenen Werte mit vergleichbaren internationalen Bodenwerten

Im Folgenden sind, basierend auf der Zusammenstellung von Carlon (2007), vorsorge- und nachsorgeorientierte Bodenwerte aus europäischen Staaten zusammengestellt (Tabelle 89 und Tabelle 90). In Deutschland haben Vogel et al. (2009) mittels SSDs vorsorgeorientierte Bodenwerte sowie Jänsch et al. (2007) nachsorgeorientierte Bodenwerte für Kupfer in Höhe von 21,0 mg/kg bzw. 64,0 mg/kg berechnet. Wie auch für Arsen und Kupfer wurden vorsorgeorientierte Bodenwerte außer für Deutschland in

vier europäischen Ländern bzw. Regionen veröffentlicht. Nur in Deutschland wird eine Differenzierung (hier: nach Bodenart) vorgenommen. Diese reichen von 24 bis 60 mg/kg (Faktor 2,5) und haben damit eine hohe Entsprechung mit den gültigen deutschen Vorsorgewerten. Wie auch im Fall von Kupfer liegen die hier berechneten Werte im Vergleich zu den Bodenwerten, bei deren Ableitung die Bioverfügbarkeit nicht berücksichtigt wurde, mit Ausnahme des Wertes für sandige Böden tendenziell höher.

Tabelle 89: Vorsorgeorientierte Bodenwerte für Nickel (= Grenzwerte für „negligible risk“) aus fünf europäischen Staaten gemäß Carlon (2007)

Land	Vorsorgeorientierter Bodenwert [mg Ni/kg Boden TG]	Landnutzung
Deutschland	21,0 [§] 70 / 50 / 15 * 164 / 76 / 37 *#	Allgemein
Belgien (Wallonische Region)	24	Naturbelassen
Niederlande	35	Allgemein
Slowakei	35	Allgemein
Tschechien	60	Naturbelassen

[§] Berechneter Wert aus Vogel et al. (2009); * Werte von Bodenart abhängig (Ton, Lehm/Schluff und Sand); # Berechnete Werte dieses Vorhaben.

Nachsorgeorientierte Bodenwerte wurden auch für Nickel in insgesamt acht europäischen Staaten bzw. Regionen veröffentlicht. Die Spannbreite zwischen dem niedrigsten Wert aus Dänemark und dem höchsten Wert aus Tschechien beträgt Faktor 18. Die internationalen Bodenwerte decken damit eine große Spannbreite ab. Die in diesem Vorhaben berechneten Werte ordnen sich trotz der Berücksichtigung der Bioverfügbarkeit in Form des L/F-Faktors in dieses Spektrum ein.

Tabelle 90: Nachsorgeorientierte Bodenwerte für Nickel (= Grenzwerte für „intermediate (warning) risk“) aus acht europäischen Staaten gemäß Carlon (2007)

Land	Nachsorgeorientierter Bodenwert [mg Ni/kg Boden TG]	Landnutzung
Deutschland	64,0 [§] 250 / 116 / 57 *#	Allgemein
Belgien (Wallonische Region)	35	Naturbelassen
Dänemark	10	Allgemein
Finnland	50	Wohngebiete
Österreich	60	Landwirtschaftliche und gartenbauliche Zwecke sowie weitere nicht-landwirtschaftliche Ökosysteme
Schweden	35	Empfindliche Nutzungen
Slowakei	100	Allgemein
Tschechien	180	Naturbelassen

[§] Berechneter Wert aus Jänsch al. 2007; * Werte von Bodenart abhängig (Ton, Lehm/Schluff und Sand); # Berechnete Werte dieses Vorhaben.

12.12.3 Fazit der Plausibilitätsprüfung

Die in diesem Vorhaben berechneten vorsorge- und nachsorgeorientierte Bodenwerte für Ni unter Berücksichtigung der Bioverfügbarkeit erfüllen die Kriterien:

- ▶ Sie haben einen ausreichenden Abstand zu den in Deutschland und Europa gemessenen Hintergrundwerten von Nickel im Boden;
- ▶ Sie unterscheiden sich nicht wesentlich von den Vorschlägen, wie sie in anderen Ländern für Nickel gemacht wurden bzw. liegen aufgrund der Berücksichtigung der Bioverfügbarkeit entsprechend höher.

13 Anhang: Informationen zum Fachgespräch am Ende des Vorhabens

13.1 Einladungsliste des finalen Fachgesprächs (kursiv = verhindert)

Titel	Vorname	Name	Institution	E-Mail
Dr.	Annegret	Biegel-Engler	Umweltbundesamt, FG II 2.	annegret.biegel-engler@uba.de
Dr.	Stefan	Feisthauer	Hessisches Landesamt für Naturschutz, Umwelt und Geologie	stefan.feisthauer@hlnug.hessen.de
Dr. habil.	Elke	Fries	Bundesanstalt für Geo-wissenschaften und Rohstoffe	elke.fries@bgr.de
Dr.	Evelyn	Giese	Umweltbundesamt, FG II 2.6.	evelyn.giese@uba.de
Dr.	Frank	Glante	Umweltbundesamt, FG II 2.7.	frank.glante@uba.de
	Thomas	Haupt	Amt für Umweltschutz Hamburg	thomas.haupt@bsu.hamburg.de
	Jörg	Hartmann	LAGB Sachsen-Anhalt	hartmann@lagb.mw.sachsen-anhalt.de
Dr.	Dieter	Hennecke	Fraunhofer-Institut für Molekularbiologie und Angewandte Ökologie IME	dieter.hennecke@ime.fraunhofer.de
Dr.	Stephan	Jänsch	ECT Oekotoxikologie GmbH	s-jaensch@ect.de
	Wolfgang	Kainz	LAGB Sachsen-Anhalt	kainz@lagb.mw.sachsen-anhalt.de
Dr.	Pia	Kotschik	Umweltbundesamt	pia.kotschik@uba.de
M.Sc.	Renzo	Minati	ECT Oekotoxikologie GmbH	r.minati@ect.de
	Ingo	Müller	LfULG Sachsen	ingo.mueller@smul.sachsen.de
Dr.	Koen	Oorts	ARCHE	koen.oorts@arche-consulting.be
Dr.	Silvia	Pieper	Umweltbundesamt	silvia.pieper@uba.de
Dr.	Jörg	Römbke	ECT Oekotoxikologie GmbH	j-roembke@ect.de
Dr.	Martina	Roß-Nickoll	RWTH Aachen. Institut für Umweltforschung (	ross@bio5.rwth-aachen.de
Dr.	Daniel	Rückamp	Bundesanstalt für Geo-wissenschaften und Rohstoffe	daniel.rueckamp@bgr.de
	Simone	Schmidt	Umweltbundesamt	simone.schmidt@uba.de
Prof. Dr.	Konstantin	Terytze	Umweltbundesamt, FG II 2.6.	konstantin.terytze@uba.de
Dr.	Andreas	Toschki	gaiaC Aachen	toschki@gaiac.rwth-aachen.de
Prof. Dr.	Berndt-Michael	Wilke	Tech. Universität Berlin Inst. of Ecology	bmwilke@tu-berlin.de

13.2 Programm des Fachgesprächs

Der in Dessau durchgeführte Abschluss-Workshop fand jeweils halbtägig am 26. und 27.06.2019 in Dessau statt. Organisation und inhaltliche Ausgestaltung erfolgten in enger Abstimmung zwischen den Auftragnehmern und dem Umweltbundesamt. Die Tagesordnung sah wie folgt aus:

1. Tag

TOP 1	13.00-13.10	Begrüßung (UBA)
TOP 2	13.10 -13.30	Einleitung, Ziele des Vorhabens (Dr. Giese, UBA)
TOP 3	13.30 – 14.00	Wissenschaftlicher Stand bei Beginn des Vorhabens (Dr. Oorts, ARCHE)
	14:00 - 14:20	Verständnisfragen
TOP 4	14:20 -15.00	Methoden und Ergebnisse 1 (Dr. Rückamp, BGR): Auswahl der Böden und Extraktionsverfahren und Ergebnisse der Analytik
	15.00 – 15.20	Verständnisfragen
	15:20 -15.50	Kaffeepause
TOP 5	15.50 – 16.30	Methoden und Ergebnisse 2 (M.Sc. Minati, ECT): Ökotoxikologische Verfahren und Testergebnisse
	16.30 – 16.50	Verständnisfragen
	16:50 – 17:00	Resümee erster Tag

2. Tag

TOP 6	08.00 – 08.15	Begrüßung und Einführung zweiter Tag (UBA)
TOP 7	08.15 – 9.00	Synthese und Auswertung der Daten (Dr. Oorts, ARCHE)
	09.00 –9.30	Verständnisfragen
	09.30 – 10.00	Kaffeepause
TOP 8	10.00 – 10.45	Konzept zur Ableitung von Bodenwerten. Relevanzüberprüfung und Vergleich zu vorhandenen Werten (Dr. Römbke, ECT)
TOP 9	10.45 – 11.30	Diskussion
TOP 10	11.30 – 11.45	Weiteres Vorgehen, Forschungsbedarf, Schlusswort (UBA)

13.3 Protokoll des Fachgesprächs

Protokoll des Abschluss-Workshops zum Vorhaben: FKZ: 3715 73 200 0.

Entwicklung eines ökotoxikologischen Bewertungsansatzes für Böden auf Basis der bioverfügbaren Fraktion von Schadstoffen unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Filter- und Puffereigenschaften von Böden

Das vorliegende Papier gibt weder den Inhalt der Folien noch die Diskussion im Einzelnen wieder, sondern ist als Ergebnisprotokoll zu verstehen. Die Sprache des Treffens war teilweise Englisch.

Die Vorträge werden den Teilnehmern parallel zu diesem Protokoll zur Verfügung gestellt.

TOP 1 Begrüßung:

Frau Dr. Giese und Herr Dr. Römbke begrüßen die Teilnehmer im Namen der Gastinstitution (UBA) bzw. den Projektnehmern (ARCHE, BGR, ECT).

TOP 2 Einleitung, Ziele des Vorhabens (Dr. Giese, UBA):

Das Vorhaben hatte das Ziel, ein experimentell abgesichertes Gesamtkonzept zur Ableitung von Vorsorgewerten für anorganische Schadstoffe in Böden auf der Basis der aktuell und potentiell bioverfügbaren Fraktion zu erarbeiten, dass ökotoxikologische Wirkungsschwellen und das unterschiedliche Puffervermögen von Böden miteinander verknüpft.

Der Fokus des Vorhabens liegt damit klar auf den Vorsorgewerten. Im Vorhaben werden As, Cu und Ni betrachtet. der Schwerpunkt der Untersuchungen liegt auf dem Halbmetall As.

Die BBodSchV von 1999 gilt nach wie vor; aber es gibt den Entwurf einer novellierten BBodSchV, in dem u.a. nach Bodenart differenzierte Vorsorgewerte für Arsen aufgeführt werden: Sand: 10 mg/kg und für Lehm/Schluff bzw. Ton jeweils 20 mg/kg. Diese Vorschläge reflektieren den aktuellen Stand des Entwurfs der Novellierung.

TOP 3 Wissenschaftlicher Stand bei Beginn des Vorhabens (Dr. Römbke, ECT/Dr. Oorts, AR-CHE):

Wodurch unterscheiden sich die prospektive und retrospektive Umweltrisikobewertung? Die retrospektive Umweltrisikobewertung wird zum Beispiel für die Beurteilung des Sanierungsbedarfs bzw. -erfolgs eines angewandt. Bei der prospektiven Umweltrisikobewertung gibt es unterschiedliche Zielgrößen: die REACH-Regulierung zielt auf „keinen Effekt“ ab, andere Regularien auf einen „akzeptablen Effekt“.

Wie ist der Zeitrahmen bezüglich der Alterung von Stoffen bzw. ihres Leaching-Verhaltens einzuschätzen? Jährliche Applikationsraten z. B. bei Pflanzenschutzmitteln, sind meist niedriger als der jeweilige PNEC-Wert (=Predicted-No-Effect-Concentrations), aber es kann eine Akkumulation im Boden über die Zeit erfolgen. Die Metallspezies bestimmt zum Teil die Bioverfügbarkeit, ist jedoch die am wenigsten untersuchte Komponente (z. B. hinsichtlich der Ermittlung von Korrekturfaktoren).

TOP 4 Methoden und Ergebnisse 1 (Dr. Rückamp, BGR): Auswahl der Böden und Extraktionsverfahren und Ergebnisse der Analytik:

Was war die Datenbasis für die Verteilung der Bodeneigenschaften in Deutschland bei der Auswahl der Testböden?

Die Basis war die Datenbank der BGR mit verschiedenen Quellen (diverse eigne Projekte sowie öffentlich zugängliche Daten). Die Datengrundlage zeigt, durch den Standort der BGR (Hannover) bedingt, einen gewissen Überhang an norddeutschen Böden. Eine Verbreiterung der Datenbasis ist wünschenswert, würde aber die hier erarbeiteten Aussagen nicht deutlich ändern.

Wie vergleichbar/einheitlich waren die Bestimmungsverfahren für die Bodeneigenschaften in der Datenbank?

Die Datengrundlage besteht aus ganz unterschiedlichen Quellen und somit auch unterschiedlichen Verfahren. Die Auswertung diente vor allem der relativ schnellen Überprüfung der Abdeckung der vorhandenen Spannbreite von Bodeneigenschaften. Bei weitergehenden Auswertungen außerhalb des Rahmens des aktuellen Forschungsprojektes erfolgt üblicherweise eine stärkere Normierung der Datenbasis inklusive der verwendeten Bestimmungsmethodik.

Wie steht es um die Flächenrepräsentativität der ausgewählten Böden?

Die Abdeckung der Bandbreite physikalisch-chemischer Eigenschaften war im Projektzusammenhang wichtiger als die Flächenrepräsentativität; d. h. um letztere zu erreichen wäre eine Ausweitung des Datenbestandes zu empfehlen. Sandböden sind in der Datenbasis tendenziell etwas überrepräsentiert, bedingt durch den Fokus auf Norddeutschland.

Kann ggf. über Modellierung eine Extrapolation der Ergebnisse in die Fläche erfolgen?

Sechs verschiedene Böden sind das absolute Minimum für eine flächenhafte Modellierung, so dass eine zukünftige Ausweitung zu empfehlen ist. Es bestehen viele Autokorrelationen zwischen einzelnen Bodeneigenschaften, z. B. zwischen Ton- und Eisenoxidgehalt. Daher können nur empirische Regressionen, jedoch keine mechanistischen Modellierungen durchgeführt werden. Die hier vorgestellten Ergebnisse stellen eine gute Basis für Vorhersagen zu den Auswirkungen von Arsen auf Bodenorganismen dar; d. h. sie sind aktuell das beste was wir haben. Bei der Testung von nur wenigen Böden ist es sinnvoll, möglichst die gesamte Spannbreite der jeweiligen Bodeneigenschaft abzudecken, was bei der Identifikation von Korrelationen und damit der Extrapolation der Ergebnisse in die Fläche hilft.

Wäre eine multivariate Auswertung der Ergebnisse sinnvoll?

Mit nur sechs verschiedenen Böden und ebenso vielen Parametern ist dies schwierig. Dies hätte zudem den Rahmen des laufenden Vorhabens gesprengt. Unser Ansatz sollte für die weitere Auswertung geprüft und, wenn möglich in ausgeweiteter Form, weitergeführt werden. Es wurden exemplarisch Ton und Sand dargestellt, da diese untereinander weniger stark autokorreliert sind als mit Schluff. Generell wurde im Rahmen des Projektes angenommen, dass es unter den Bedingungen der Labortests nach Zugabe der Testsubstanz auch bei Arsenat bleibt (oxidierende Bedingungen).

Wie kommt es zu der scheinbaren Linearität der Extraktion zwischen DTPA und Aqua Regia?

Dies ist bedingt durch die doppelt logarithmische Darstellung. Die x- und y-Achsen sind zudem nicht gleich skaliert.

Wie kommt es zu der geringeren Extrahierbarkeit bei Aqua Regia und niedrigen Konzentrationen?

Hier können sich z. B. Messunsicherheiten bei der Bestimmung der Bodenfeuchte stärker auswirken.

Warum wurde bei der CaCl_2 -Extraktion nicht ein geringeres Verhältnis als 1:10 angewendet?

Die zugrunde liegende Norm wurde nicht direkt für Schwermetalle entwickelt. Die Methoden hätten auch angepasst werden können, die Vergleichbarkeit mit anderen Messungen sollte jedoch erhalten bleiben.

Können die Böden noch genauer beschrieben werden, um was für Böden handelt es sich?

Drei der Böden sind sogenannte Refesols, d. h. sie sind Teil eines vom Fraunhofer Institut (IME) in Schmallenberg entwickelten hierarchisch aufgebauten Systems (oft als ineinander geschachtelte konzentrische Kreise dargestellt), in deren Zentrum der Boden LUFA 2.2 als der beste Repräsentant landwirtschaftlicher Böden in Deutschland steht; darum gruppieren sich dann 3, 9, etc. Böden, die nach Bodeneigenschaften differenziert sind und in ihrer Gesamtheit das Spektrum landwirtschaftlich genutzter Böden (A = Acker; G = Grünland) in Deutschland abdecken sollen. Das System findet vor allem Einsatz im Bereich von „Fate-Tests“, z. B. zum Abbau- oder Leaching-Verhalten. Die Böden aus Belgien, Holland und England wurden ausgewählt, da sie teils über „extreme“ Eigenschaften verfügen. Zegveld z. B. ist ein typischer niederländischer Graslandboden, mit hohem Grundwasserspiegel und hohem organischen Gehalt, alle 10 m durchzogen von Entwässerungsgräben. Im Vorläufervorhaben wurden deutlich mehr Böden untersucht, teilweise auch mediterrane. Begleitkontaminationen sowie die jeweiligen Arsen-Hintergrundwerte wurden gemessen. Der getestete Boden wurde immer auch als Kontrolle verwendet. Die Validitätskriterien wurden ganz überwiegend erfüllt, das heißt es lagen offenbar keine sonstigen starken Kontaminationen vor, was sich an den Ergebnissen in den Kontrollen gezeigt hätte.

TOP 5 Methoden und Ergebnisse 2 (M.Sc. Minati, ECT): Ökotoxikologische Verfahren und Testergebnisse:

Generell kann man sagen, dass die EC₁₀-Werte den jeweiligen Vorsorgebereich repräsentieren, während die EC₅₀-Werte eher der Gefahrenabwehr (Prüfwerte) dienen. Die extrapolierten EC₁₀-Werte aus den Vermeidungstests sollten ggf. in den SSD-Berechnungen durch die jeweilige NOEC ersetzt werden. Bei allen Testkonzentrationen handelt es sich um zugegebene Konzentrationen, also zusätzlich zu den ohnehin im Boden vorhandenen Gehalten (deren Höhe jeweils bekannt ist). Die mikrobielle Gemeinschaft reagierte insgesamt sehr unempfindlich, außer im Boden Zegveld. Eine Erklärung hierfür kann aktuell nicht gegeben werden. Fehlende EC_{10/50}-Werte könnten auch als „größer als die höchste Testkonzentration“ angegeben werden. Dies würde man jedoch eher bei einer NOEC/LOEC-Auswertung machen. Es handelt sich dabei um Einzelfallentscheidungen.

Inwieweit wirken sich die Bodeneigenschaften auf die Effekte aus?

Es wurden teilweise z. B. unterschiedliche Reproduktionszahlen in den verschiedenen Böden beobachtet. Das heißt, die Böden bieten unterschiedlich gute Lebensbedingungen für die jeweiligen Testorganismen. Daher kann sich auch die Sensitivität gegenüber der Testsubstanz in den einzelnen Böden entsprechend verschieben.

Grundsätzlich sollten Böden für die Testorganismen geeignet sein, um valide Testergebnisse zu erzielen (z. B. sollte bei Regenwürmern der pH-Wert $\geq 4,5$ sein). Die durchgeführten Tests wurden nicht standardmäßig wiederholt, waren aber gemäß Testrichtlinie repliziert (meist 4 – 5 Replikate pro Konzentrationsstufe). Bei den EC_x-Werten sollten (und werden) im Bericht auch die Konfidenzintervalle mit angegeben, um die Güte der Anpassung und damit die Belastbarkeit der Werte einschätzen zu können. Das Verhältnis der EC₁₀- zu den EC₅₀-Werten, also die Steigung der Konzentrations-Wirkungs-Kurve, unterscheidet sich zwischen den einzelnen Tests. Gegenwärtig ist nicht klar wie diese Beobachtung zu interpretieren ist. Dies könnte z. B. die unterschiedlichen Sorptionsverhältnisse widerspiegeln. Auch bei den Extraktionsergebnissen gab es Sprünge in der Wiederfindung zwischen den Konzentrationen.

Die Zugabe der Testsubstanz erfolgte als wässrige Lösung auf vorbefeuchteten Boden. Die 7-tägige Lagerung bis zum Testbeginn erfolgte unter Verschluss, das heißt es fand keine Trocknung der Böden statt. Als Qualitätskontrolle für die korrekte Durchführung der Tests diente die regelmäßige Testung einer Referenzsubstanz, die einen definierten Effekt in einem bestimmten Konzentrationsbereich hervorrufen soll – und es in den hier vorgestellten Tests auch tat.

Resümee erster Tag:

Können Extraktionsverfahren per Definition überhaupt die Bioverfügbarkeit eines Stoffes repräsentieren?

Bestenfalls als potentielle Bioverfügbarkeit. Letztlich ist die Bioverfügbarkeit für Bodenorganismen nur über ökotoxikologische Tests bestimmbar. Bei der praktischen Anwendung im Bodenschutz ist eine lange Testdauer (z. B. 8 Wochen beim Regenwurm-Reproduktionstest) nicht vermittelbar. Siehe hierfür z. B. das OECD-Dokument zur Bioverfügbarkeit. Die Ergebnisse der verschiedenen Extraktionsmethoden und der ökotoxikologischen Tests müssen miteinander verknüpft werden. Es gibt genormte Extraktionsverfahren, z. B. für die pflanzenverfügbare Fraktion. Gegenwärtig wird die Bioverfügbarkeit (teilweise) schon über die Auftrennung der Vorsorgewerte nach den drei Bodenarten Sand / Lehm / Ton abgedeckt.

TOP 7 Synthese und Auswertung der Daten (Dr. Oorts, ARCHE):

In den SSDs werden verschiedene Organismengruppen / trophische Ebenen zusammen ausgewertet. Im Pflanzenschutz würde man sich auf eine Gruppe beschränken, z. B. wird die Analyse von Pflanzen und Invertebraten zusammen nicht empfohlen. Generell gibt es für die SSD-Auswertung keine

einheitliche Vorgehensweise. Im REACH-Bereich werden zum Beispiel alle Gruppen zusammen analysiert. Für Biozide werden die Organismen-Gruppen hingegen getrennt. Im Bodenbereich gibt es diesbezüglich bisher wenige Vorgaben, doch wurden zumindest in Deutschland verschiedene Organismengruppen zusammen ausgewertet (nicht zuletzt um auf eine ausreichende Anzahl von Werten zu kommen). Das Thema wird weiterhin intensiv diskutiert (z. B. bei der „Soil Conference“ der ECHA/EFSA in Helsinki 2016), aber ggw. ist kein einheitliches Vorgehen absehbar. Wenn der Wirkmodus für die verschiedenen Organismengruppen vergleichbar ist können die Testergebnisse kombiniert werden, da alle Organismen im Boden zusammen exponiert sind. Wenn eine Gruppe klar sensibler ist (d. h. aufgrund des Wirkmodus) sollten die Gruppen besser getrennt werden. Insgesamt können SSDs unterschiedlich angewandt werden: pro Gruppe oder pro Boden. Werden komplett unterschiedliche Endpunkte (inklusive sehr unempfindlicher) verwendet kann die HC₅ deutlich gesenkt werden. Der Regenwurm-Vermeidungstest verhält sich bezüglich der Toxizitätswerte sehr unterschiedlich: niedrige EC₁₀- jedoch hohe EC₅₀-Werte. Dies ist eine Auswirkung der flachen Konzentrations-Wirkungs-Kurve.

Für die Ableitung finaler Werte sollten auch Literaturdaten pro Spezies herangezogen werden. Allerdings ist die taxonomische Einstufung kritisch zu überprüfen (klassisches Beispiel: die Verwendung von *E. fetida* und *E. andrei* als zweier verschiedener Spezies: genetisch unterscheiden sich beide deutlich, doch ist die jeweilige Zuordnung in vielen Arbeiten unklar).

Der Bereich der HC₅ wird jedoch wahrscheinlich ähnlich bleiben. Wichtiger als die Frage nach der gemeinsamen Auswertung unterschiedlicher trophischer Gruppen ist, ob chronische Tests verwendet wurden oder nicht.

Grundsätzlich sollten keine EC₅₀-Werte zur Ableitung von Vorsorgewerten verwendet werden. Wenn aber keine EC₁₀-Werte verfügbar sind müssen geeignete Sicherheitsfaktoren eingesetzt werden. EC₅₀-Werte sind statistisch robuster als EC₁₀-Werte. Mit EC₅₀-Werten gefundene Korrelationen können auch auf EC₁₀-Werte angewendet werden. Ein Vergleich von Regenwurm-Reproduktions- und -Vermeidungstests hat in der Vergangenheit eine gute Übereinstimmung bezüglich der Sensitivität ergeben, doch ist (noch) unklar inwieweit diese Beobachtung gleichermaßen für verschiedene Stressoren gilt.

Die mittels EC₁₀-Werten abgeleitete HC₅ ist eine mögliche Basis für einen Vorsorgewert. Es gibt jedoch Unterschiede zwischen Pflanzen und Invertebraten bzgl. ihrer Bioverfügbarkeit (siehe Unterschiede bei den Extraktionsmethoden), so dass ihre Kombination in einer SSD kritisch sein kann (s. o.). Für unterschiedliche Organismengruppen sind jeweils unterschiedliche Extraktionsmethoden zur Einbeziehung der Bioverfügbarkeit am besten geeignet. Diese Information geht in der SSD verloren. Die sensitivsten Arten bestimmen maßgeblich die HC₅ und damit auch die beste Extraktionsmethode für die jeweilige HC₅. In den von uns durchgeführten Tests ist dies DTPA (für Pflanzen) als Basis für die EC₅₀. Bei den EC₁₀-Werten sind dies die Gesamtgehalte bzw. Salpetersäure (im Vermeidungstest).

Für die Festlegung der Vorsorgewerte wurden bisher die niedrigsten Toxizitätswerte (d. h. die empfindlichste Art) verwendet. Es ist zu prüfen, ob die HC₅ noch mit einem Sicherheitsfaktor belegt werden sollte, z. B. der niedrigere 95%-Vertrauensbereich. Bei Metallen gibt es ein prinzipielles Problem hinsichtlich der Überschneidung der berechneten Werte mit den natürlichen Hintergrundwerten (zumindest regional). Eine SSD kombiniert die Testdaten verschiedener Organismen, wobei die Variabilität zwischen den Toxizitätswerten einen starken Einfluss hat. Im Zweifelsfall sind weitere Methoden zur Ableitung von Vorsorgewerten heranzuziehen. In den Niederlanden werden die natürlichen Hintergrundwerte als Basis für Bodenwerte genommen unter Addition einer zusätzlich akzeptablen „critical load“. SSDs sind für die Synthese von Toxizitätsdatendaten akzeptiert. Generell gilt, dass je mehr Daten (verschiedene Arten) vorhanden sind desto hochwertiger die abgeleitete HC₅ ist. Die Plausibilität/Sinnhaftigkeit der Auswertung muss immer überprüft werden. Für die Ableitung finaler Werte gibt es wenige Orientierungshilfen. Je nach regulatorischem Bereich gibt es unterschiedliche Ansätze zur Ableitung von Grenzwerten, z. B. die im Bodenschutz verwendeten Bodenwerte vs. den PNEC-Werten im Zulassungsverfahren von Chemikalien. Es gibt kein starr festgelegtes Verfahren, die berechneten

Toxizitätswerte dienen als Diskussionsgrundlage. SSDs müssen belastbar/plausibel berechnet werden, sonst geraten sie schnell in Verruf – entweder weil sie unrealistisch niedrig oder nicht protektiv sind.

TOP 8 Konzept zur Ableitung von Bodenwerten. Relevanzüberprüfung und Vergleich zu vorhandenen Werten (Dr. Römbke, ECT):

- ▶ Bei der Ableitung der neuen Vorsorgewerte im Entwurf der novellierten BBodSchV wurden Hintergrundwerte differenziert nach den Hauptgruppen der Bodenarten sowie ökotoxikologische Testdaten berücksichtigt. Die vorgeschlagenen Werte für Arsen liegen schon dicht am Prüfwert für den Pfad Boden-Mensch (25 mg/kg), daher würden diese Werte auch nicht aufgrund der vorliegenden Projektergebnisse erhöht werden. Vorsorgewerte werden generell unabhängig vom jeweiligen Wirkpfad festgelegt, nur Prüfwerte werden diesbezüglich differenziert. Daher kann es in einigen Fällen zu einer Überschneidung von Vorsorge- und Prüfwerten kommen.
- ▶ Bei der Empfehlung für ein Ableitungskonzept ist abzuwägen zwischen dem Vorteil von DTPA hinsichtlich seiner Repräsentativität für die Bioverfügbarkeit und dem generellen Nachteil, ein neues Extraktionsverfahren in die BBodSchV aufzunehmen zu müssen. Bei der Überprüfung der Plausibilität erfolgt hauptsächlich ein Vergleich mit den natürlichen Hintergrundwerten, teilweise aber auch eine Einschätzung der Praktikabilität im Vollzug.
- ▶ Das aktuelle Vorhaben hatte das Hauptziel, die Bioverfügbarkeit in die Bodenwertableitung einzubeziehen. Es sollten diejenigen Bodenfaktoren identifiziert werden, die die Toxizität bestimmen. Schlussendlich wurden die Bodenwerte mit Bezug auf die Gesamtgehalte abgeleitet, da möglichst vermieden werden sollte, andere Extraktionsverfahren im Feld anzuwenden. Vorliegende ökotoxikologische Testergebnisse sind immer auf Gesamtgehalte bezogen. Es könnte allerdings – genügend Erfahrung vorausgesetzt – möglich werden, diese auf bestimmte Extraktionsverfahren umzurechnen.
- ▶ Wie steht es mit der Anwendung der Werte in der Praxis? Die Pflanzenverfügbarkeit wird beispielsweise in der LABO berücksichtigt. Die Reduktion der vorliegenden Gesamtinformationen zur Toxizität von, in diesem Fall, Metallen auf wenige Bodenwerte ist schwierig; die Diskussion steht noch am Anfang. Aktuell handelt es sich um einen ökotoxikologischen Ansatz. Es ist zu prüfen ob – und wenn ja wie – die Bioakkumulation (z. B. die systemische Aufnahme durch Pflanzen) künftig berücksichtigt werden müsste.
- ▶ Bisher werden nur Nutzpflanzen berücksichtigt. Arsen ist jedoch auch ein Wurzelgift mit einer entsprechenden Relevanz in Wäldern. Bislang gibt keine ökotoxikologischen Testverfahren für Bäume. Stark metall-akkumulierende Pflanzen können auch zur Bodensanierung eingesetzt werden. Arsen wirkt auch chronisch, weshalb Grenzwerte bezüglich der Wurzeltoxizität nur bedingt nützlich sind. Die pflanzenverfügbaren Anteile sollten daher bestimmbar sein.
- ▶ Vorsorge- und Prüfwerte sind schutzgutbezogen. Hauptsächlich betrifft dies die menschliche Gesundheit. Es gibt einige wenige Ausnahmen z. B. hinsichtlich der Exposition von Schafen gegenüber Kupfer. Bodenorganismen oder auch Waldpflanzen wären neue Schutzgüter. Viele Schadstoffe sind in der BBodSchV noch nicht enthalten und sollten künftig in diese aufgenommen werden.

TOP 10 Weiteres Vorgehen, Forschungsbedarf, Schlusswort (UBA):

Es wird ein ausführlicher Forschungsbericht erstellt werden. Sowohl die Veröffentlichung als UBA-Text als auch eine internationale Publikation werden avisiert. Als nächster Schritt ist die Diskussion der Werte in den LABO-Gremien vorgesehen.