

UMWELTFORSCHUNGSPLAN DES
BUNDESMINISTERIUMS FÜR UMWELT,
NATURSCHUTZ UND REAKTORSICHERHEIT
- Wasserwirtschaft -

Forschungsbericht 299 22 297
UBA-FB 000158



Untersuchungsstrategie für gefährliche Stoffe in Abwassereinleitungen der Industrie

Dr. Thorsten Reemtsma

Dr. Natascha Klinkow

Fachgebiet Wasserreinhaltung des Instituts für technischen
Umweltschutz der Technischen Universität Berlin

im Auftrag des Umweltbundesamtes

Diese TEXTE-Veröffentlichung kann bezogen werden bei
Vorauszahlung von DM 15,-- (7,67 Euro)
durch Post- bzw. Banküberweisung,
Verrechnungsscheck oder Zahlkarte auf das

Konto Nummer 4327 65 - 104 bei der
Postbank Berlin (BLZ 10010010)
Fa. Werbung und Vertrieb,
Ahornstraße 1-2,
10787 Berlin

Parallel zur Überweisung richten Sie bitte
eine schriftliche Bestellung mit Nennung
der **Texte-Nummer** sowie des **Namens**
und der **Anschrift des Bestellers** an die
Firma Werbung und Vertrieb.

Der Herausgeber übernimmt keine Gewähr
für die Richtigkeit, die Genauigkeit und
Vollständigkeit der Angaben sowie für
die Beachtung privater Rechte Dritter.
Die in der Studie geäußerten Ansichten
und Meinungen müssen nicht mit denen des
Herausgebers übereinstimmen.

Herausgeber: Umweltbundesamt
Postfach 33 00 22
14191 Berlin
Tel.: 030/8903-0
Telex: 183 756
Telefax: 030/8903 2285
Internet: <http://www.umweltbundesamt.de>

Redaktion: Fachgebiet II 3.2
Bernd Mehlhorn

Berlin, März 2001

Berichts-Kennblatt

| | | |
|---|---------------------------------------|---|
| 1. Berichtsnummer UBA-FB | 2. | 3. |
| 4. Titel des Berichts Untersuchungsstrategie für gefährliche Stoffe in Abwassereinleitungen der Industrie | | |
| 5. Autor(en), Name(n), Vorname(n) Reemtsma, Thorsten; Klinkow, Natascha | 8. Abschlußdatum November 2000 | 9. Veröffentlichungsdatum |
| 6. Durchführende Institution (Name, Anschrift) Technische Universität Berlin, Fakultät III Fachgebiet Wasserreinhaltung, Sekr. KF 4 Straße des 17. Juni 135 10623 Berlin Fachgebietsleiter Prof. Dr. Martin Jekel | 10. UFOPLAN-Nr. 299 22 297 | 11. Seitenzahl 112 + 31 (Anhang) |
| 7. Fördernde Institution (Name, Anschrift) Umweltbundesamt, Postfach 33 00 22, 14191 Berlin | 12. Literaturangaben 122 | 13. Tabellen 21 |
| | | 14. Abbildungen 30 |
| 15. Zusätzliche Angaben | | |
| 16. Zusammenfassung Die Erfassung der Gehalte und Wirkungen gefährlicher Stoffe in Abwassereinleitungen der Industrie erfordert eine Kombination chemischer und biologischer Untersuchungen, die über das bisher in der AbwV festgelegte Maß hinausgeht. In dieser Studie wurde deshalb eine Untersuchungsstrategie für gefährliche Stoffe in Abwassereinleitungen entwickelt, die die Parameter Persistenz, Bioakkumulierbarkeit und Toxizität auch experimentell verknüpft. Die Ausarbeitung erfolgte nach Auswertung der international bestehenden Untersuchungsstrategien sowie der zur Verfügung stehenden Testverfahren. Der Aufbau der Strategie ist modular angelegt zur Sicherung einer flexiblen Anpassung an die Gegebenheiten eines Abwassers. Nach der Bestimmung von akuter und chronischer Toxizität sowie Gentoxizität folgt ein biologischer Abbaustest zur Gewinnung der persistenten Abwasserfraktion. Aus dieser werden die bioakkumulierbaren Stoffe mittels Festphasen-Extraktion bestimmt. In der Strategie sind Unterschiede zwischen Direkt- und Indirekteinleitern berücksichtigt; auch die partikuläre Phase findet Beachtung. Durch die modulare Verknüpfung kann ermittelt werden, ob ein Abwasser toxische und persistente und bioakkumulierbare Stoffe enthält, die ein bedeutendes Gefährdungspotenzial für die aquatische Umwelt darstellen. Eine erste Anwendung der Strategie auf drei Abwässer der chemischen und metallbearbeitenden Industrie zeigte, dass die Untersuchungsstrategie in der geplanten Art und Weise eingesetzt werden kann. | | |
| 17. Schlagwörter Untersuchungsstrategie; Industrieabwasser; Abwassereinleitung; gefährliche Stoffe; Biotests; akute Toxizität; chronische Toxizität; Gentoxizität; Persistenz; biologischer Abbaustest; potenziell bioakkumulierende Stoffe | | |
| 18. Preis | 19. | 20. |

Report Cover Sheet

| | | |
|---|-----|--------------------------------------|
| 1. Report No. UBA-FB | 2. | 3. |
| 4. Report Title Strategy for the investigation of hazardous substances in industrial effluents IDA (Industrial Discharge Assessment) | | |
| 5. Author(s), Family Name(s), First Name(s) Reemtsma, Thorsten; Klinkow, Natascha | | 8. Report Date November 2000 |
| 6. Performing Organisation (Name, Address) Technical University of Berlin, Faculty III Department of Water Quality Control, Sekr. KF 4 Straße des 17. Juni 135 10623 Berlin, Germany Head of the department: Prof. Dr. Martin Jekel | | 9. Publication Date |
| | | 10. UFOPLAN-Ref. No. 299 22 297 |
| | | 11. No. of Pages 112 + 31 (annex) |
| | | 12. No. of references 122 |
| | | 13. No. of Tables 21 |
| | | 14. No. of Figures 30 |
| 15. Supplementary Notes | | |
| 16. Abstract <p>The assessment of amounts and effects of hazardous substances in industrial effluents necessitates a combination of chemical and biological investigations. Therefore in this study a strategy for the investigation of hazardous substances in wastewater discharges was developed which connects the parameters persistence, bioaccumulation, and aquatic toxicity.</p> <p>The strategy IDA (Industrial Discharge Assessment) was elaborated based on the evaluation of existing investigation strategies and the available test systems. The strategy has a modular structure to assure a flexible investigation with regard to the particularities of a given wastewater. After the determination of acute and chronic toxicity and genotoxicity a microbial degradation test is carried out to obtain the persistent wastewater fraction. The bioaccumulating substances are determined from this fraction by solid-phase extraction. Within the strategy differences between direct and indirect discharges are taken into account and particulate matter is considered as well. By the modular linking it can be determined if a wastewater contains toxic and persistent and bioaccumulating substances, which present an important potential of hazard for the aquatic environment.</p> <p>The first application of the strategy on three wastewater samples of the chemical and the metal processing industry showed that the strategy can be used as planned.</p> | | |
| 17. Keywords investigation strategy; industrial wastewater; wastewater discharge; hazardous compounds; bioassays; acute toxicity; chronic toxicity; genotoxicity; persistence; biological degradation test; potentially bioaccumulating compounds | | |
| 18. Price | 19. | 20. |

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|-----------|
| 1 Hintergründe und Ziele des Forschungsvorhabens | 1 |
| 1.1 Umweltpolitischer Hintergrund | 1 |
| 1.2 Stoff- und effektbezogene Abwasseruntersuchungen | 2 |
| 1.3 Ziel des Forschungsvorhabens | 4 |
| 1.4 Vorgehen | 5 |
| 2 Untersuchung von industriellen Abwassereinleitungen auf gefährliche Stoffe..... | 6 |
| 2.1 Charakterisierung von gefährlichen Stoffen in industriellen Abwassereinleitungen | 6 |
| 2.1.1 Prinzipielles..... | 6 |
| 2.1.2 Einzelstoff- und Gesamtawasser-Untersuchungen bei der Charakterisierung und Bewertung von industriellen Abwassereinleitungen | 7 |
| 2.1.3 Gefährdungs- und Risikoabschätzung von Abwassereinleitungen | 9 |
| 2.2 Abwasseruntersuchungsstrategien verschiedener Staaten..... | 12 |
| 2.2.1 Allgemeines | 12 |
| 2.2.2 Dänemark | 13 |
| 2.2.3 Großbritannien | 19 |
| 2.2.4 Niederlande | 22 |
| 2.2.5 Schweden | 26 |
| 2.2.6 USA..... | 30 |
| 2.2.7 Deutschland..... | 33 |
| 2.2.8 Vergleich der Untersuchungsstrategien | 35 |
| 3 Methoden zur Bestimmung der Effektparameter Toxizität, Bioakkumulation und Persistenz..... | 37 |
| 3.1 Ökotoxizität | 37 |
| 3.1.1 Grundlagen..... | 37 |
| 3.1.2 Akute Toxizitätstests | 39 |
| 3.1.3 Chronische Toxizitätstests | 39 |
| 3.1.4 Mikroorganismen | 41 |
| 3.1.5 Nicht standardisierte organismische Tests | 42 |
| 3.1.6 Suborganismische Tests | 44 |
| 3.1.7 Auswahl möglicher Toxizitätstests für eine Untersuchungsstrategie..... | 46 |
| 3.1.8 Gentoxizität..... | 47 |
| 3.1.9 Endokrine Disruptoren | 50 |
| 3.2 Bioakkumulierbarkeit | 53 |
| 3.2.1 Grundlagen..... | 53 |
| 3.2.2 Bestimmungsverfahren für Abwässer | 55 |
| 3.2.3 Verfahrensvergleich | 58 |
| 3.3 Persistenz | 61 |
| 3.3.1 Grundlagen..... | 61 |
| 3.3.2 Biologische Abbautests für Abwässer | 64 |
| 3.3.3 Diskussion | 68 |

| | |
|---|------------|
| 4 Strategieentwurf..... | 70 |
| 4.1 Anforderungen an die neue Untersuchungsstrategie | 70 |
| 4.2 Konzeption der Strategie IDA | 71 |
| 4.3 Darstellung der einzelnen Module..... | 73 |
| 4.3.1 Modul „Probenahme und Charakterisierung“ | 73 |
| 4.3.2 Modul „Toxizität“ | 75 |
| 4.3.3 Modul „Persistenz“ | 76 |
| 4.3.4 Modul „Bioakkumulierbarkeit“ | 79 |
| 4.3.5 Modul „Partikuläre Fracht“..... | 81 |
| 4.3.6 Modul „Indirekteinleiter“..... | 83 |
| 5 Experimentelle Arbeiten..... | 85 |
| 5.1 Zielsetzung | 85 |
| 5.2 Abwasserherkunft..... | 86 |
| 5.3 Modul „Probenahme und Charakterisierung | 86 |
| 5.4 Modul „Toxizität | 87 |
| 5.5 Modul „Partikuläre Fracht“ | 88 |
| 5.5.1 Vorgehen..... | 88 |
| 5.5.2 Ergebnisse | 88 |
| 5.6 Modul „Persistenz“..... | 89 |
| 5.6.1 Vorgehen..... | 89 |
| 5.6.2 Ergebnisse | 89 |
| 5.7 Modul „Bioakkumulierbarkeit“..... | 92 |
| 5.7.1 Methodenentwicklung..... | 92 |
| 5.7.2 Anwendung auf die Abwasserproben A, B und C vor und nach dem biologischen Abbaustest..... | 93 |
| 6 Bewertung und Ausblick | 99 |
| 6.1 Allgemeine Aspekte | 99 |
| 6.2 Einzelne Module..... | 100 |
| 6.2.1 Modul „Probenahme und Charakterisierung“ | 100 |
| 6.2.2 Modul „Indirekteinleiter“..... | 100 |
| 6.2.3 Modul „Partikuläre Fracht“ | 100 |
| 6.2.4 Modul „Toxizität“ | 101 |
| 6.2.5 Modul „Persistenz“ | 102 |
| 6.2.6 Modul „Bioakkumulierbarkeit“ | 103 |
| 7 Zusammenfassung..... | 104 |
| 8 Literatur..... | 105 |

| | |
|--|-----------|
| Anhang 1 Übersicht der Toxizitätstests in Untersuchungsstrategien verschiedener Länder | 1 |
| 1.1 Toxizitätstests eingesetzt im Dänischen Strategiekonzept „Ökotoxikologische Bewertung von industriellen Abwässern“ | 1 |
| 1.1 Toxizitätstests eingesetzt im Schwedischen Strategiekonzept „CID Biologisch – chemische Charakterisierung von industriellem Abwasser“..... | 3 |
| Anhang 2 Standardisierte Toxizitätstests für Abwässer | 4 |
| 2.1 Akute Toxizitätstests mit Süßwasserorganismen | 4 |
| 2.2 Akute Toxizitätstests mit Salz- und Brackwasserorganismen..... | 5 |
| 2.3 Toxizitätstests mit Mikroorganismen..... | 6 |
| 2.4 Chronische Kurz- und Langzeittests | 7 |
| Anhang 3 Biologische Abbaustests | 8 |
| Anhang 4 Material und Methoden | 10 |
| 4.1 Physikalisch-chemische Abwassercharakterisierung | 10 |
| 4.2 Biologische Testverfahren (Ökotoxizität)..... | 11 |
| 4.3 Aerobter biologischer Abbaustest (Persistenz)..... | 12 |
| 4.4 Festphasen-Extraktion und HPLC (potentielle Bioakkumulation)..... | 13 |
| Anhang 5 Ergebnisse der biologischen Testverfahren | 15 |
| 5.1 Algertest der Abwasserproben A, B und C | 15 |
| 5.2 Umu-Test der Abwasserproben A, B und C | 16 |
| Anhang 6 Ergebnisse der biologischen Abbaustests | 17 |
| 6.1 DOC-Abnahme..... | 17 |
| 6.2 SAK254-Abnahme | 17 |
| Anhang 7 Methodenentwicklung für das Modul „Bioakkumulierbarkeit | 18 |
| 7.1 Extraktion eines Standardgemischs..... | 18 |
| 7.2 Methodenentwicklung mit Realproben, Lösungsmittelblindwert | 21 |
| Anhang 8 SPE der Abwasserproben A, B und C | 26 |
| 8.1 SPE der Abwasserproben A, B und C vor und nach dem biologischen Abbaustest – Ergebnisse und erste Fehlerabschätzung der Methode | 26 |
| 8.2 SPE der Abwasserproben A und C vor und nach dem biologischen Abbaustest – HPLC-Chromatogramme der Eluate 1 und 2 | 28 |
| Anhang 9 Ablaufskizze der Untersuchungsstrategie | 31 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|------------------|--|
| AbwV | Abwasserverordnung |
| AOX | Adsorbierbare organisch gebundene Halogene |
| BCF | Biokonzentrationsfaktor (bioconcentration factor) |
| BSBn | Biochemischer Sauerstoffbedarf nach n Tagen |
| CSB | Chemischer Sauerstoffbedarf |
| DC | Dünnschichtchromatographie |
| DOC | Gelöster organischer Kohlenstoff (dissolved organic carbon) |
| DTA | Direct toxicity assessment |
| ECx | Effektkonzentration (effect concentration) Konzentration bei der der gemessene Effekt x % beträgt |
| ELS | Frühes Lebensstadium (early life stage) |
| EINECS | Europäisches Altstoffinventar (European Inventory of Commercial Chemical Substances) |
| EOCl | Extrahierbares organisch gebundenes Chlor (extractable organic bound chlorine) |
| FNU | Formazine Nephelometric Units |
| G _x | Kehrwert des Volumenanteils an Abwasser im Testansatz, bei dem nur eine minimale Wirkung beobachtet wird, die die testspezifische Variabilität nicht überschreitet (x bezeichnet den Testorganismus) |
| GC/MS | Gaschromatographie/Massenspektrometrie |
| HPLC | Hochleistungs-Flüssigchromatographie |
| K _{ow} | Oktanol/Wasser Verteilungskoeffizient |
| LOEC | Niedrigste Konzentration im Versuchsansatz, bei der erste Effekte bei chronischer Exposition nachgewiesen werden (lowest observed effect concentration) |
| N _{ges} | Stickstoff, gesamt (Summe NH4-N, NO3-N, NO2-N) |
| NOEC | Höchste Konzentration im Versuchsansatz, die keinen Effekt bei chronischer Exposition erzeugt (no observed effect concentration) |
| P _{ges} | Phosphor, gesamt |
| PAHs | Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (polycyclic aromatic hydrocarbons) |
| PBS | Potenziell bioakkumulierende Stoffe |
| PCBs | Polychlorierte Biphenyle |
| PEC | Voraussichtliche Umweltkonzentration (predicted environmental concentration) |
| PNEC | Konzentration, bei der noch keine Wirkung auftritt (predicted no effect concentration) |
| SF | Suspendierte Feststoffe |
| TIE | Toxizitäts- und Identifikationsevaluierung (toxicity identification evaluation) |
| TN _b | Gesamter gebundener Stickstoff |
| TOC | Gesamter organischer Kohlenstoff (total organic carbon) |
| TOCl | Gesamtes organisch gebundenes Chlor (total organic bound chlorine) |
| SAK | Spezifischer Absorptionskoeffizient |
| SPE | Festphasen-Extraktion (solid-phase extraction) |
| SPMD | Semipermeable extraction device |
| SPME | Festphasen-Mikroextraktion (solid-phase micro extraction) |
| WEA | Whole effluent assessment |

1 Hintergründe und Ziele des Forschungsvorhabens

1.1 Umweltpolitischer Hintergrund

Ein wesentlicher Eintragspfad für gefährliche Stoffe in die aquatische Umwelt ist die Einleitung industrieller Abwässer in Oberflächengewässer und Meere.

Die derzeit eingesetzten Untersuchungsverfahren zur Überwachung von gefährlichen Stoffen in industriellen Abwässern beruhen i.A. auf der Analyse von Summen- und Gruppenparametern sowie ausgewählten Einzelstoffen, zum Teil ergänzt durch die Anwendung biologischer Testverfahren. Industrielle Abwässer sind jedoch meist sehr komplexe, aus bis zu mehreren tausend Einzelstoffen bestehende Gemische, so dass eine möglichst qualitativ und quantitativ vollständige Erfassung gefährlicher Stoffe mit den genannten Untersuchungsmethoden oft nicht realisierbar ist.

In Hinblick auf zukünftige umweltpolitische Anforderungen gewinnen Strategien an Bedeutung, die mehrere Untersuchungsmethoden mit dem Ziel einer umfassenden effektbezogenen Charakterisierung des Gesamtabwassers vereinen. Insbesondere die folgenden umweltpolitischen Entwicklungen auf internationaler und nationaler Ebene zeigen die Notwendigkeit der verstärkten Anwendung von effektorientierten Untersuchungsstrategien auf:

- **INK, HELCOM, OSPAR** – Generationenziel zur Beendigung der Einleitung gefährlicher Stoffe in die marine Umwelt

Auf der 4. Internationalen Nordseeschutzkonferenz in Esbjerg 1995 [4. INK, 1995] verständigten sich die Umweltminister der Nordsee-Anrainerstaaten auf eine neue langfristig ausgerichtete Zielsetzung zum Schutz der Nordsee in Hinblick auf gefährliche Stoffe (Art. 17 der 4. INK), das „Generationenziel“:

„... Verhütung der Verschmutzung der Nordsee durch kontinuierliche Verringerung der Einleitungen, Emissionen und Verluste gefährlicher Stoffe mit dem Ziel, den Eintrag gefährlicher Stoffe innerhalb einer Generation (25 Jahre) zu beenden und dem letztendlichen Ziel, für natürliche Stoffe Umweltkonzentrationen nahe den Hintergrundwerten und für anthropogene Stoffe Umweltkonzentrationen nahe Null zu erreichen.“

Die Umsetzung dieses Ziels wurde durch die Empfehlung 19/5 der Helsinki-Kommission [HELCOM, 1998] vom März 1998 auf die Ostsee erweitert und von der Ministerkonferenz der Oslo- und Paris-Kommission [OSPAR, 1998] im Juli 1998 für den Nordostatlantik übernommen.

Die Reduzierung des Eintrags von gefährlichen Stoffen über industrielle Abwassereinleitungen ist ein wichtiger Beitrag um das Generationenziel zu erreichen. Bislang erfolgt die Auswahl von gefährlichen, als prioritär zu behandelnden Stoffen nach einem stoffbezogenen Ansatz anhand von gefährlichen Stoffeigenschaften sowie von Expositionssdaten von Einzelstoffen. Die Ausweitung dieses Ansatzes als alleinige Maßnahme zur Erreichung des Generationenziels erscheint aufgrund der Vielzahl der in Abwässern enthaltenen Verbindungen als ein sehr aufwendiger Weg. Hingegen kann eine Strategie, die eine effektorientierte Beurteilung der gesamten Abwasserbelastung erlaubt, unter Umständen einen pragmatischen Beitrag leisten.

In diesem Sinne wird zur Zeit von der OSPAR Arbeitsgruppe zum Eintrag von gefährlichen Stoffen aus Punktquellen (OSPAR POINT) ein Hintergrundpapier über den Stand der effektbezogenen Abwasseruntersuchung in den OSPAR-Vertragsstaaten erarbeitet. Das Dokument soll aufzeigen, inwieweit effektbezogene Untersuchungen zur Festlegung der „Besten verfügbaren Techniken“ für industrielle Abwassereinleitungen eingesetzt werden können.

- **EU-Wasserrahmenrichtlinie** – Strategien gegen die Wasserverschmutzung (Art. 16)

In der EU-Wasserrahmenrichtlinie 2000/60/EG [WRRL, 2000] werden Umweltziele für Oberflächengewässer, Grundwasser und sogenannte Schutzgebiete aufgestellt. Als Strategien gegen die Wasserverschmutzung sind Maßnahmen vorgesehen, die auf der Erfassung von einzelnen Schadstoffen oder Schadstoffgruppen beruhen, welche in der Liste prioritärer Stoffe enthalten sind. Allerdings kann die Kommission „*Strategien gegen Wasserverschmutzung durch andere Schadstoffe oder Schadstoffgruppen, … , erarbeiten.*“ (Art. 16.9).

Bisher liegen, abgesehen von dem beschriebenen Einzelstoffansatz, keine weiteren Strategien vor. Auch in diesem Rahmen kann eine effektorientierte Untersuchungsstrategie zur Reduzierung der Wasserschmutzung beitragen.

- **VCI** – Selbstverpflichtung der deutschen chemischen Industrie

Der Verband der chemischen Industrie (VCI) plant eine Selbstverpflichtung „Umweltziele Gewässerschutz, Chemische Industrie – Einleitung von Abwässern“, die auf dem Ziel basiert, „*daß von Abwässern der chemischen Industrie keine schädlichen Wirkungen ausgehen sollen*“ [Anonymus, 1998].

Zur Beurteilung der schädlichen Wirkungen von Abwassereinleitungen der chemischen Industrie werden Tests für akute Ökotoxizität und ein Mutagenitätstest vorgeschlagen, wie sie auch für die Genehmigung der Einleitung von Abwässern der chemischen Industrie entsprechend Anhang 22 der AbwV vorgesehen sind. Andere schädliche Wirkungen wie z.B. chronische oder endokrine Wirkungen werden jedoch nicht genannt. Hier könnte ein Strategiekonzept, das alle relevanten Effektparameter für eine umfassende Charakterisierung von industriellen Abwässern berücksichtigt, als Ansatzpunkt für eine Ausgestaltung der Selbstverpflichtung dienen.

1.2 Stoff- und effektbezogene Abwasseruntersuchungen

Für einen effektiven Gewässerschutz ist es wichtig, die Art und das Ausmaß der Belastung von industriellen Abwassereinleitungen mit gefährlichen Stoffen möglichst umfassend charakterisieren zu können. Zu diesem Zweck werden zum einen stoffbezogene Verfahren eingesetzt, mit denen Fragen nach dem Vorliegen von umweltrelevanten Einzelstoffen und Stoffgruppen beantwortet werden können. Zum anderen werden effektbezogene Verfahren verwendet, die Auskunft über unerwünschte Wirkungen (Toxizität, Gentoxizität) oder Eigenschaften (Persistenz, Bioakkumulierbarkeit) des Gesamtabwassers geben können, ohne dass die dafür jeweils ursächlichen Abwasserinhaltsstoffe bekannt wären.

Stoffbezogene Abwasseruntersuchungen haben den Vorteil, detaillierte Ergebnisse zu liefern, so dass zur Reduzierung der ermittelten Schadstoffe gezielt Maßnahmen ergriffen werden können; diese können von einer Substitution relevanter Einsatzstoffe, über Änderungen des Produktionsprozesses bis hin zu einer verbesserten Abwasserbehandlung reichen. In Hinblick auf eine umfassende Charakterisierung der Abwasserinhaltsstoffe hat der stoffbezogene Ansatz aber verschiedene Nachteile. Die Beschränkung der Untersuchung auf prioritäre Schadstoffe ermöglicht keine umfassende Beurteilung der Abwasserbelastung, da nur eine begrenzte Stoffzahl betrachtet wird. Aufgrund der Vielzahl und Vielfalt der Abwasserinhaltsstoffe ist der Aufwand für eine Ausweitung analytischer Einzelstoffuntersuchungen nicht praktikabel. In analytischen Screening-Untersuchungen von Abwässern werden zum Teil Stoffe identifiziert, zu denen keine Informationen über ihre Gefährlichkeit vorliegen, oder aber es werden Stoffe detektiert, die nicht identifiziert werden können. Summen- und Gruppenparameter für organische Stoffe geben zwar Auskunft über die Gesamtbelaistung eines Abwassers, bilden aber zumeist nicht gefährliche Stoffeigenschaften oder Wirkungen ab.

Effektbezogene Abwasseruntersuchungen besitzen gegenüber stoffbezogenen Untersuchungen den wesentlichen Vorteil, dass mit ihnen die unerwünschten Effekte aller Inhaltsstoffe eines komplexes Abwassergemischs summarisch für das Gesamtabwasser abgebildet werden können. Eine mögliche Gefährdung der aquatischen Umwelt kann so aufgezeigt werden, ohne dass die verantwortlichen Stoffe zunächst bekannt sein müssen. Allerdings können, abgesehen von einer Verbesserung der Abwasserbehandlung, keine so gezielten, den gesamten Produktionsprozess berücksichtigenden Maßnahmen wie bei der Reduzierung bekannter Schadstoffe durchgeführt werden. Auch können effektbezogene Verfahren einzeln eingesetzt nur Auskunft über jeweils einen gefährlichen Effekt geben. Sinnvoll ist daher die Kombination mehrerer, auf verschiedene Effekte ausgerichteter Tests.

In einigen Ländern werden zur Zeit aufgrund der beschriebenen Einschränkungen der stoffbezogenen Abwasseruntersuchung Konzepte für **Untersuchungsstrategien** zur Ermittlung umweltrelevanter Abwasserbelastungen entwickelt und erprobt, in denen effektbezogene Untersuchungsmethoden wesentliche Bestandteile sind. Diese Untersuchungsstrategien gehen in unterschiedlichem Maße in ihrer Reichweite über die Bestimmung der *akuten Toxizität* eines Abwassers hinaus. Sie berücksichtigen zum Teil die *chronische Toxizität* oder andere in Bezug auf das aquatische Ökosystem gefährliche Eigenschaften von Stoffen, wie deren *Persistenz* und die *Bioakkumulierbarkeit*. Letztendliches Ziel der Anwendung dieser Strategien ist es, die notwendigen Daten für eine Bewertung der Gefährdung der aquatischen Umwelt durch eine Abwassereinleitung zu liefern. Die Ergebnisse der Untersuchung können dann als Entscheidungsgrundlage für die Genehmigung oder Überwachung von Abwassereinleitungen dienen und Anhaltspunkte für Maßnahmen zur Reduzierung der Abwasserbelastung mit gefährlichen Stoffen aufzeigen.

Dabei ist der Entwicklungsstand von in Untersuchungsstrategien einsetzbaren effektbezogenen Testverfahren sehr unterschiedlich. Er reicht von standardisierten und validierten Testverfahren wie der Erfassung *akut toxischer Wirkungen* mit organismischen Tests aller vier Trophieebenen bis hin zu Verfahren zur Ermittlung *potenziell bioakkumulierender Abwasserinhaltsstoffe*, die

sich allesamt noch in der Entwicklung bzw. Erprobung befinden und die bisher allenfalls auf einzelne, ausgewählte Proben in jeweils einem Laboratorium exemplarisch angewendet wurden.

Für die Gestaltung von Abwasseruntersuchungsstrategien ist als weiterer Untersuchungsansatz die Kombination von physikalisch-chemischen Fraktionierungsmethoden mit stoff- oder wirkungsbezogenen Untersuchungen der erhaltenen Fraktionen denkbar. Über die Kombination „*Fraktionierung und Summenparameterbestimmung*“ können chemisch definierte Gruppenparameter abgebildet werden, die umweltrelevante Stoffeigenschaften darstellen. Die zur Zeit erprobten Methoden zur Bestimmung „potenziell bioakkumulierbarer Verbindungen“ beruhen z.B. auf diesem Ansatz. Mit der Kombination „*Fraktionierung und biologischer Wirktest*“ kann die Identifizierung der für die Wirkung verantwortlichen Einzelstoffe aus dem komplexen Gemisch Abwasser erleichtert werden. Das Konzept der „Toxizitäts-Identifizierung und -Evaluation“ der amerikanischen Umweltbehörde verwendet z.B. diesen Ansatz [USEPA, 1991a; USEPA, 1993a; USEPA, 1993b].

Somit gibt es derzeit sowohl verschiedene Methoden für die Erfassung einer gefährlichen Stoffeigenschaft in Abwässern, als auch unterschiedliche Konzepte für die Kombination der jeweiligen Methoden zu einer Untersuchungsstrategie für gefährliche Stoffen in Abwassereinleitungen der Industrie. Die Untersuchungsstrategien ihrerseits unterscheiden sich schließlich in der Auswahl und Zahl der verwendeten Methoden, sowie bei abgestuften Strategievorschlägen in der Abfolge der eingesetzten Methoden. Eine Einbindung von Fraktionierungsmethoden in Untersuchungsstrategien findet sich bisher kaum.

1.3 Ziel des Forschungsvorhabens

Ziel dieses Forschungsvorhabens ist es, durch das Zusammenführen verschiedener Untersuchungsmethoden für industrielle Abwassereinleitungen einen Vorschlag für eine Untersuchungsstrategie zu erarbeiten, die eine umfassende und praktikable Charakterisierung der gefährlichen Abwasserinhaltstoffe erlaubt.

Die zu erarbeitende Untersuchungsstrategie sollte alle für ein aquatisches Ökosystem gefährlichen Eigenschaften von Abwasserinhaltsstoffen erfassen, wie die aquatische Toxizität, die Bioakkumulierbarkeit und die Persistenz. Gegebenfalls sollten noch weitere Parameter Berücksichtigung finden, die für eine umfassende Charakterisierung von Art und Ausmaß des Gefährdungspotenzials als notwendig erachtet werden.

Wegen des Aufwands soll diese Untersuchungsstrategie nicht zur regelmäßigen Überwachung industrieller Abwassereinleitungen dienen. Vielmehr soll es mit diesem Instrumentarium möglich werden, die Gefährlichkeit einer bestehenden Abwassereinleitung für das aquatische Ökosystem des Vorfluters grundlegend zu erfassen. Insbesondere soll damit eine Prüfung ermöglicht werden, ob aus Sicht des Gewässerschutzes im Einzelfall die Notwendigkeit einer verbesserten Abwasserbehandlung auch dort besteht, wo mit den bisher in Deutschland etablierten Untersuchungsverfahren, z.B. der Durchführung akuter Toxizitätstests zunächst kein Bedarf zu erkennen ist. Die Strategie soll es auch erlauben, die Folgen veränderter Produktionsprozesse

in einem Betrieb oder die Auswirkungen einer modifizierten betrieblichen Abwasserbehandlung auf die Qualität des abzuleitenden Abwassers zu erfassen.

In diesem Sinne könnte die Untersuchungsstrategie zu einem hilfreichen Instrumentarium insbesondere im Rahmen von Genehmigungsverfahren werden.

1.4 Vorgehen

Das Vorgehen zur Erarbeitung der Strategie kann im Wesentlichen in vier Stufen gegliedert werden:

1. Eingangs ist eine gründliche Auswertung der auf internationaler Ebene vorgestellten Strategiekonzepte für die Charakterisierung von gefährlichen Stoffen in industriellen Abwässern (Kap. 2) und des Standes der Forschung bezüglich der Untersuchungsmethoden zur Erfassung einzelner gefährlicher Eigenschaften (Kap. 3) durchzuführen.
2. Auf der Basis dieser Erkenntnisse ist anschließend das Konzept der Untersuchungsstrategie zu entwerfen und aus dem Vorrat an Untersuchungsmethoden ein Satz an Tests auszuwählen, der zur Erfassung der einzelnen als wichtig erkannten Effekte dient (Kap. 4).
3. Die Grundzüge dieser Strategie und einige wichtige Stufen sind anschließend auf reale industrielle Abwassereinleitungen exemplarisch anzuwenden, um die Durchführbarkeit der Untersuchungen und die Sinnhaftigkeit der gewählten Verknüpfungen zu prüfen (Kap. 5). Damit soll vermieden werden, dass hier lediglich auf dem Papier eine Strategie entwickelt und propagiert wird, die sich später schnell als nicht haltbar herausstellt.
4. Ausgehend von diesen Laboruntersuchungen, ihren Ergebnissen und den praktischen Erfahrungen, werden abschließend kritische Punkte der Methodik und noch offene Fragen der Untersuchungsstrategie herausgearbeitet, die einer weiteren Prüfung bedürfen (Kap. 6). Ergänzend werden Fragen behandelt, die sich aus der Auswertung der Literatur ergeben und die nach Ansicht der Autoren noch weiterer Forschung bedürfen.

2 Untersuchung von industriellen Abwassereinleitungen auf gefährliche Stoffe

2.1 Charakterisierung von gefährlichen Stoffen in industriellen Abwassereinleitungen

2.1.1 Prinzipielles

In den folgenden Kapiteln sollen die verschiedenen Ansätze und Methoden zur Charakterisierung von gefährlichen Stoffen in industriellen Abwässern zum besseren Verständnis der bislang entwickelten Untersuchungsstrategien kurz beschrieben werden. Hierzu werden die Vor- und Nachteile des Chemikalien-spezifischen und des Effekt-orientierten Untersuchungsansatzes für Abwässer zusammengefasst, die Bewertung von potenziell schädigenden Effekten von Abwassereinleitungen auf die aquatische Umwelt nach dem emissions- oder immissionsbezogenen Ansatz vorgestellt und die verschiedenen Effektparameter für gefährliche Stoffeigenschaften sowie prinzipiell die Methoden zu ihrer Bestimmung im Überblick dargestellt.

Welche Effektparameter hinsichtlich einer möglichst umfassenden Charakterisierung der gefährlichen Eigenschaften von Abwassereinleitungen berücksichtigt werden müssen, geht aus den im Zusammenhang mit gesetzlichen Regelungen gegebenen Definitionen des Begriffs „*gefährliche Stoffe*“ hervor (vgl. Tab. 1).

Tab. 1: Definitionen des Begriffs „gefährlich“ in verschiedenen Regelwerken.

| Regelwerk | Kontext | Begriff | Definition |
|---|--|--------------------|---|
| EU-Wasserrahmen-Richtlinie [WRRL, 2000] | Strategien gegen Wasserverschmutzung (Erhaltung und Schutz der aquatischen Umwelt in der Gemeinschaft) | Gefährliche Stoffe | In Art 2.29: Stoffe oder Gruppen von Stoffen, die toxisch, persistent und bioakkumulierbar sind, und sonstige Stoffe oder Gruppen von Stoffen, die in ähnlichem Maße Anlass zur Besorgnis geben |
| OSPAR – Strategie bezüglich gefährlicher Stoffe [OSPAR, 1998] | Schutz der Meeresumwelt vor Einträgen gefährlicher Stoffe | Gefährliche Stoffe | In Anhang I: Stoffe oder Stoffgruppen, die toxisch, persistent und fähig zur Bioakkumulation sind (toxisch ist definiert über die folgenden Wirkungen von Stoffen auf Organismen: -Reduzierung von Überleben, Wachstums und Reproduktion -Kanzerogenität, Mutagenität oder Teratogenität -schädigender Effekt durch Einwirkung endokriner Disruptoren) |

In der Regel werden zu den gefährlichen Stoffeigenschaften die folgenden Eigenschaften gezählt: toxische Wirkung (Giftigkeit, akut und chronisch), Anreicherungsfähigkeit im Organismus (Bioakkumulierbarkeit), Langlebigkeit in der Umwelt (Persistenz), Gentoxizität,

Kanzerogenität und Teratogenität sowie die Wirkung auf das hormonale System (endokrine Disruptoren). Im Maximalfall wären alle diese Parameter in einer Untersuchungsstrategie zu berücksichtigen und für das gesamte Abwasser zu ermitteln.

2.1.2 Einzelstoff- und Gesamtabwasser-Untersuchungen bei der Charakterisierung und Bewertung von industriellen Abwassereinleitungen

Industrielle Abwässer sind zumeist sehr komplexe Gemische, die eine Vielzahl der unterschiedlichsten Stoffe enthalten. Das europäische Altstoffverzeichnis EINECS enthält mehr als 100.000 auf dem europäischen Markt erhältliche Chemikalien (<http://ecb.ei.jrc.it/existing-chemicals>) und jedes Jahr kommen neue Chemikalien hinzu. Neben diesen bekannten produzierten und potenziell in Abwassereinleitungen zu findenden Stoffen können auch unbekannte Stoffe vorhanden sein, die als Nebenprodukte im Produktionsprozess anfallen oder bei der Abwasserbehandlung gebildet werden. Die genaue Zusammensetzung eines Abwassers ist daher in den meisten Fällen unbekannt.

Über analytische Bestimmungen von Einzelstoffen kann die Einleitung von bekannten gefährlichen Stoffen überwacht werden. Im Sinne einer vorsorgenden Einleiterkontrolle wäre es wünschenswert, über detaillierte Informationen der Art und Menge aller Abwasserinhaltsstoffe sowie ihrer ökotoxikologischen Eigenschaften zu verfügen. Dies ist jedoch analytisch aufgrund des hohen dazu notwendigen Aufwands für organische Verbindungen kaum zu leisten. Zudem gibt es für viele Stoffe noch keine geeigneten und standardisierten Analysenmethoden. Mit Hilfe von Summen- und Gruppenparameter-Methoden wie der Bestimmung von DOC, CSB, BSB oder AOX können die organischen Abwasserinhaltsstoffe summarisch erfasst werden. Dies erlaubt eine erste Charakterisierung der organischen Belastung eines Abwassers und liefert Informationen über die Effizienz von Abwasserbehandlungsmaßnahmen.

Zunehmend werden biologische Testverfahren zur ökotoxikologischen Untersuchung von Abwässern eingesetzt, um die potenziellen Effekte von Abwassereinleitungen auf die aquatische Umwelt besser einschätzen zu können. Ihre Anwendung ist im Rahmen von Einleitgenehmigungen in einigen Ländern für bestimmte Abwassertypen vorgesehen. Zur Zeit überwiegt jedoch der chemikalienspezifische Ansatz der Bestimmung gefährlicher Schadstoffe.

In der folgenden Tabelle (Tab. 2) sind die Vor- und Nachteile von Einzelstoffuntersuchungen mittels chemischer Analysen und Gesamtabwasser-Untersuchungen mit ökotoxikologischen Verfahren zusammengefasst.

Beide Untersuchungsansätze besitzen ihre Grenzen. Bei Einzelstoff-Untersuchungen ist die Bedeutendste der hohe analytische Aufwand, bei Gesamtabwasser-Untersuchungen dagegen die oft schwierige Zuordnung der detektierten Effekte zu den sie verursachenden Stoffen.

Seit einigen Jahren wird zunehmend davon ausgegangen, dass auch langfristig allein die Ausweitung herkömmlicher wasseranalytischer Methoden kaum eine umfassendere Bewertung der ökotoxikologisch relevanten Eigenschaften aller Abwasserinhaltsstoffe ermöglicht. Deshalb sollten ergänzend Verfahren zur Untersuchung von gefährlichen Effekten des Gesamtabwassers herangezogen werden.

Tab. 2: Vor- und Nachteile von Einzelstoff- und Gesamtabwasser-Untersuchungen im Rahmen der Genehmigung und Überwachung von industriellen Abwassereinleitungen.

| | Vorteile | Nachteile |
|---|---|--|
| Einzelstoff- Untersu- chungen | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Maßnahmen zur Reduzierung der Einleitung gefährlicher Stoffe können zielgerichteter sein (Produktionsprozess, Abwasserbehandlung, Gesetzgebung) ▪ die Toxizität von problematischen Stoffen ist oft besser dokumentiert als die Toxizität von Abwässern, existierende Daten und Qualitätskriterien können angewendet werden ▪ die Bewertung der Exposition und möglicher Effekte auf Menschen ist möglich ▪ Umweltbehörden besitzen zumeist größere Erfahrungen der Einleiterkontrolle über Einzelstoffe | <ul style="list-style-type: none"> ▪ auch bei größerem analytischen Aufwand kann nur ein geringer Teil der enthalten synthetischen Stoffe und möglicher Abbauprodukte detektiert werden ▪ die Korrelation der Variabilität der Konzentration von Einzelstoffen mit der Variabilität der Abwassertoxizität kann nicht vorausgesetzt werden ▪ Schutzziele für Einzelstoffe ergeben nicht den gleichen Schutzlevel für die Abwassertoxizität ▪ effektbasierte Wasserqualitätskriterien gibt es für weniger als 150 Stoffe, für andere Stoffe liegen nur wenige oder keine Daten vor |
| Gesamt- abwasser- Untersu- chungen | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Erfassung der toxischen Wirkung aller Abwasserinhaltstoffe, ohne dass ihre Identität bekannt sein muss ▪ synergistische und antagonistische Effekte werden berücksichtigt ▪ Hinweise auf den Gehalt an bioverfügbarem toxischem Material | <ul style="list-style-type: none"> ▪ eine Wirkung kann nicht bzw. nur selten ohne großen Untersuchungsaufwand den sie verursachenden Einzelstoffen zugeschrieben werden |

Eine Integration der beiden Ansätze einschließlich der Bestimmung von Summen- und Gruppenparametern vergrößert deutlich die für eine Bewertung des Umweltgefährdungspotenzials zur Verfügung stehende Datenbasis und kann damit die Qualität der Abwasserbewertung erhöhen [Villars, 1995]. Die in späteren Kapiteln vorgestellten Untersuchungsstrategien für industrielle Abwassereinleitungen sind vor diesem Hintergrund entwickelt worden.

2.1.3 Gefährdungs- und Risikoabschätzung von Abwassereinleitungen

Die in Kapitel 2.2 näher beschriebenen Untersuchungsstrategien für industrielle Abwassereinleitungen bilden zum Teil auch die Basis zur Bewertung von Abwassereinleitungen. Mit ihnen soll ermittelt werden, ob es ein Gefährdungs- oder ein Risikopotenzial gibt und wenn ja, welche Art von Effekten erwartet werden.

Die Bewertungsstrategien sind in Anlehnung an die Prinzipien der Bewertung der Umweltgefährdung von Einzelstoffen entwickelt worden. Im folgenden sollen diese Prinzipien sowie ihre Übertragung auf die Bewertung von Abwassereinleitungen daher kurz beschrieben werden.

Die Bewertung von Einzelstoffen hinsichtlich ihres Umweltgefährdungspotenzials kann in verschiedenen Abstufungen erfolgen. Allgemein können die folgenden Stufen unterschieden werden: Gefährdungsidentifizierung (hazard identification), Gefährdungsabschätzung (hazard assessment) und Risikoabschätzung (risk assessment) (vgl. Bild 1). Je nach Ziel (z.B. Klassifizierung, Ranking oder Einzelbewertung von Stoffen) und der benötigten Aussagekraft der Bewertung (Gefährdung, Risiko) unterscheiden sich Art und Ausmaß der benötigten Informationen zu Exposition und Wirkung und die konkrete Methode der Bewertung der Daten.

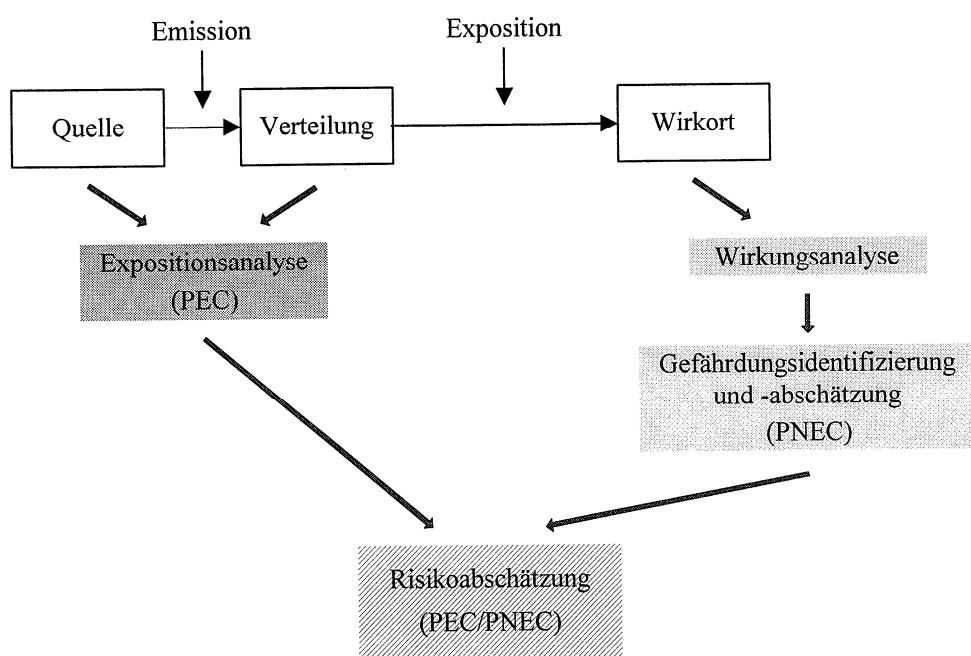


Bild 1: Zusammenhänge in der Gefährdungs- und Risikoabschätzung.

Die *Gefährdungsidentifizierung* beinhaltet die Ermittlung von gefährlichen Stoffeigenschaften (physikalisch-chemische Eigenschaften, Ökotoxizität, Persistenz, Bioakkumulierbarkeit) und erlaubt eine erste Beurteilung des stoffbezogenen Umweltgefährdungspotenzials.

Bei der *Gefährdungsabschätzung* wird die mit der Verwendung eines Stoffes verbundene Gefährdung für den Fall ermittelt, dass der Stoff emittiert wird. Hierzu wird aus einer Wirkungsanalyse anhand von Daten zur Ökotoxizität eine Konzentration abgeleitet, bei der voraussichtlich keine Wirkung auf Organismen auftritt (PNEC, predicted no effect concentration). Sofern die

richtigen, für das aquatische System aussagekräftigen Tests durchgeführt wurden, kann die Gefährdungsabschätzung mit einiger Sicherheit vorgenommen werden.

Die Gefährdungsabschätzung folgt also aus einer emissionsbezogenen Sichtweise des Gewässerschutzes [Stortelder & van de Guchte, 1995]. Übertragen auf die Untersuchung von Abwässern bedeutet dies, dass Art und Ausmaß von in Hinblick auf das aquatische Ökosystem gefährlichen Eigenschaften einer Abwasserableitung zu erfassen sind. Allein die Qualität der Abwasserableitung ist also ausschlaggebend dafür, ob zum Schutz des Gewässers weiterer Handlungsbedarf besteht, oder nicht.

Dem gegenüberzustellen ist die *Risikoabschätzung* (environmental risk assessment), die neben der möglichen Gefährdung auch deren Eintrittswahrscheinlichkeit betrachtet. Bezogen auf Einzelstoffe bedeutet dies, dass neben der Wirkungsanalyse eine Expositionsanalyse durchgeführt wird. Dazu kann die tatsächliche Umweltkonzentration über ein Monitoring ermittelt werden, oder es wird anhand von Rechenmodellen für ein spezifisches Emissionsszenario unter Berücksichtigung des voraussichtlichen Ausmaßes und der Häufigkeit eines Stoffeintrags sowie der zuvor ermittelten grundlegenden Stoffeigenschaften die sich voraussichtlich ergebende Konzentration in der Umwelt (PEC, predicted environmental concentration) abgeschätzt. Im Gegensatz zur Gefährdungsabschätzung sind in der Risikoabschätzung gemeinhin viele Annahmen zu treffen, da nicht alle notwendigen Daten und Informationen verfügbar sind. Damit wird die Risikoabschätzung i.d.R. sehr viel unsicherer sein, als die Gefährdungsabschätzung.

Bei dem Prozess der Risikobewertung von neuen Stoffen und Altstoffen in der EU wird der Quotient aus PEC und PNEC gebildet, der als Ergebnis der Risikoabschätzung die Basis für die Bewertung eines Stoffes ist [European Commission, 1996]. Je umfangreicher die Datenbasis zur Wirkung und die Kenntnis der konkreten Exposition eines Stoffes ist, desto genauer kann ein mit seiner Verwendung verbundenes Risiko ermittelt werden. Ein $PEC/PNEC > 1$ bedeutet, dass mit der Stoffanwendung schädliche Auswirkungen verbunden sein können. Nach einer Prüfung, ob weitere Informationen zu Exposition oder Wirkung das PEC/PNEC-Verhältnis verringern könnten, wird entweder eine verbesserte Abschätzung von PEC und PNEC durchgeführt oder über gefährdungsmindernde Maßnahmen entschieden. Dieser Prozess kann weitergeführt werden, bis ausreichend Informationen für eine abschließende Risikobewertung vorliegen.

Eine derartige Risikoabschätzung kann ein sehr langwieriger Prozess sein, daher werden je nach Bewertungszweck auch vereinfachte Methoden eingesetzt. Für eine vergleichende Bewertung des Risikos von Stoffen kann auch ein auf dem relativem Umweltrisiko eines Stoffes basiertes Ranking durchgeführt werden, wie es z.B. für die Ausarbeitung einer Empfehlung zur Aufnahme von Stoffen in die Liste prioritärer Stoffe für die Wasserrahmenrichtlinie der EU durchgeführt wurde [UBA, 1999].

Die Risikoabschätzung entspricht also einer immissionsbezogenen Sichtweise. Dies bedeutet in Bezug auf Abwassereinleitungen, dass im Unterschied zur emissionsbezogenen Sicht nicht nur die Qualität des Abwassers betrachtet wird, sondern auch die lokale Situation des als Vorfluter dienenden Gewässers. Bei der Risikoabschätzung werden die Informationen zur Ablaufqualität in Bezug gesetzt mit Informationen zur Abwassermenge, zur Wasserführung des Vorfluters und

der Qualität des Vorfluters. Beispielsweise ist dann mit der Einleitung eines toxischen Abwassers nur dann ein Risiko verbunden, wenn auch nach der Verdünnung innerhalb eines zu definierenden Einzugsbereichs eine toxische Wirkung bleibt.

Vor- und Nachteile der *emissions- und immissionsorientierten Bewertung* von Abwassereinleitungen [Stortelder & van de Guchte, 1995]:

Die emissionsbasierte Abwasserbewertung wird im allgemeinen als der striktere, dem Vorsorgeprinzip verpflichtete Ansatz angesehen. Er orientiert sich oft auch an den technischen Möglichkeiten der Abwasserbehandlung, fördert so deren Entwicklung und sichert eine breite Nachfrage nach verbesserten Behandlungstechniken. Da allein die Qualität des Ablaufs entscheidend ist, folgen aus diesem Ansatz zudem standortunabhängige qualitative Anforderungen an Industriebetriebe einer Branche (z.B. AbwV). In Einzelfällen, etwa bei einem bereits sehr hoch belasteten oder aus anderen Gründen sehr empfindlichen Vorfluter, können die Emissionsauflagen aber u.U. auch zu gering sein.

Der immissionsbezogene Ansatz erfordert zunächst die Definition von Qualitätskriterien, die an das Oberflächengewässer anzulegen sind. Anhand derer ist dann die Einleiterqualität zu bewerten. Somit werden die Auflagen an Abwassereinleiter i.d.R. lokal stark variieren, woraus sich Standortvor- oder nachteile ergeben können. Mit diesem Ansatz ist obendrein das Risiko verbunden, Verdünnung als Lösung eines Abwasserproblems anzusehen. Der Erfolg einer immissionsbezogenen Gewässerschutzpolitik hängt wegen des notwendigen lokalen Bezugs stärker von Vor-Ort-Entscheidungen ab und mag somit den dort herrschenden Pressionen stärker ausgesetzt sein.

Dennoch stehen sich diese beiden Ansätze nicht unversöhnlich gegenüber; es gibt, wie die folgende Darstellung der nationalen Gegebenheiten aufzeigt, durchaus Versuche, den emissions- mit dem immissionsbezogenen Ansatz zu verknüpfen. Eine Verknüpfung der beiden Ansätze ist zudem auch in der EU-Wasserrahmenrichtlinie als sogenannter „kombinierter Ansatz“ enthalten (Art. 10 WRRL). Dieser bezeichnet die Kontrolle der Wasserverschmutzung für die prioritären Stoffe sowohl durch die Vorgabe von Emissionsgrenzwerten als auch über die Festlegung von Umweltqualitätsnormen.

2.2 Abwasseruntersuchungsstrategien verschiedener Staaten

2.2.1 Allgemeines

In diesem Kapitel werden die bislang von verschiedenen Staaten entwickelten, in Erprobung stehenden oder vorgeschlagenen Abwasseruntersuchungsstrategien vorgestellt.

Als mögliche Einsatzgebiete für die Untersuchungsstrategien werden i.A. die folgenden Bereiche genannt:

- Bestimmung des von einer bestehenden Anlage ausgehenden Umweltgefährdungspotenzials durch die Abwassereinleitung um zu ermitteln, ob und, wenn ja, welche Maßnahmen zur Verbesserung der Abwasserqualität notwendig sind
- Erteilung von Einleitgenehmigungen
- Charakterisierung der Abwässer verschiedener Industriezweige
- Setzen von Prioritäten für Maßnahmen zur Reduzierung der Emission von gefährlichen Stoffen
- Festlegung von Überwachungsprogrammen zur regelmäßigen Kontrolle von Abwassereinleitungen
- Planung von neuen Anlagen, neuen Prozessen oder Prozessmodifikationen, bei denen Abwasser anfällt.

2.2.2 Dänemark

Hintergrund

In Dänemark ist die Einleitung von industriellen Abwässern in Gewässer genehmigungspflichtig und liegt in der Verantwortung der Landkreise (Umweltschutzgesetz 625/1997). Bei der Genehmigung werden Grenzwerte für die Abwassereinleitung sowohl unter Berücksichtigung der „Besten verfügbaren Technik“ als auch des potenziellen ökotoxikologischen Risikos der Einleitung erteilt. Entsprechend den Richtlinien der dänischen Umweltbehörde für die Planung der Gewässerqualität (administrative guideline No. 2, 1983) soll im Gewässer außerhalb der anfänglichen Durchmischungszone keine akute Toxizität und außerhalb eines begrenzten Bereichs um die Einleitungsstelle keine chronische Toxizität auftreten [Pedersen et al., 1993]. Obwohl diese Richtlinien stärker auf Einzelstoffe ausgerichtet sind, ist ihre Gültigkeit auch für Gesamtabwasseruntersuchungen mit biologischen Testverfahren allgemein akzeptiert.

Mit der Implementierung der EU-Direktive 76/464/EWG (Ableitung gefährlicher Stoffe) wurden 1996 in Dänemark für ca. 120 prioritäre Stoffe der Listen 1 und 2 Wasserqualitätsstandards festgelegt. Die Konzentrationen dieser Stoffe im Gewässer müssen nach der anfänglichen Verdünnung der Abwassereinleitung unterhalb der Wasserqualitätsstandards liegen. Die Anwendung von biologischen Tests ist bei der Genehmigung und Überwachung von industriellen Abwässern nicht allgemein vorgeschrieben und liegt im Ermessen der jeweiligen Genehmigungsbehörde. Ökotoxikologische Untersuchungen von Industrieabwässern sind daher seit der ersten größeren Untersuchung 1977-78 in sehr unterschiedlichem Ausmaß für die meisten der bedeutenden industriellen Einleiter durchgeführt und auf verschiedene Weise im Rahmen von Genehmigungsverfahren bewertet worden.

Um langfristig einheitliche Vorgaben für die Genehmigung von industriellen Abwasser-einleitungen zu entwickeln, wurde 1992 von der dänischen Umweltbehörde ein Bericht erstellt, in dem die in Dänemark und in anderen Ländern gewonnenen Erfahrungen der ökotoxi-kologischen Untersuchung und Bewertung von Industrieabwässern zusammengefasst sind (Ökotoxikologische Bewertung von industriellen Abwässern, Pedersen et al. (1994)). Basierend auf diesen Erfahrungen und verfügbaren Methoden wurde in dem Bericht eine Strategie für die ökotoxikologische Untersuchung, Charakterisierung und Bewertung von industriellen Abwässern vorgeschlagen. Daran anknüpfend wurde dann 1995 ein „Leitfaden (guidance document) für die Risikobewertung von industriellen Abwässern“ vorgestellt, in dem die Aus-wahl und Anwendung der verschiedenen Methoden exemplarisch beschrieben wird [Pedersen et al., 1995].

Dänisches Strategiekonzept „Ökotoxikologische Bewertung von industriellen Abwässern“ [Pedersen et al., 1994]

Das Strategiekonzept stellt eine abgestufte Untersuchungs- und Bewertungsstrategie dar, welche Gesamtabwasser- und Einzelstoffuntersuchungen, je nach dem Informationsstand über gefährliche Einzelstoffe, mit einbezieht und kombiniert. Wie in Bild 2 dargestellt, besteht das Strategiekonzept aus einer Basisstufe und drei aufeinanderfolgenden Stufen. Nach jeder Stufe ist die Möglichkeit einer Bewertung der Ergebnisse vorgesehen, um zu ermitteln, inwieweit die

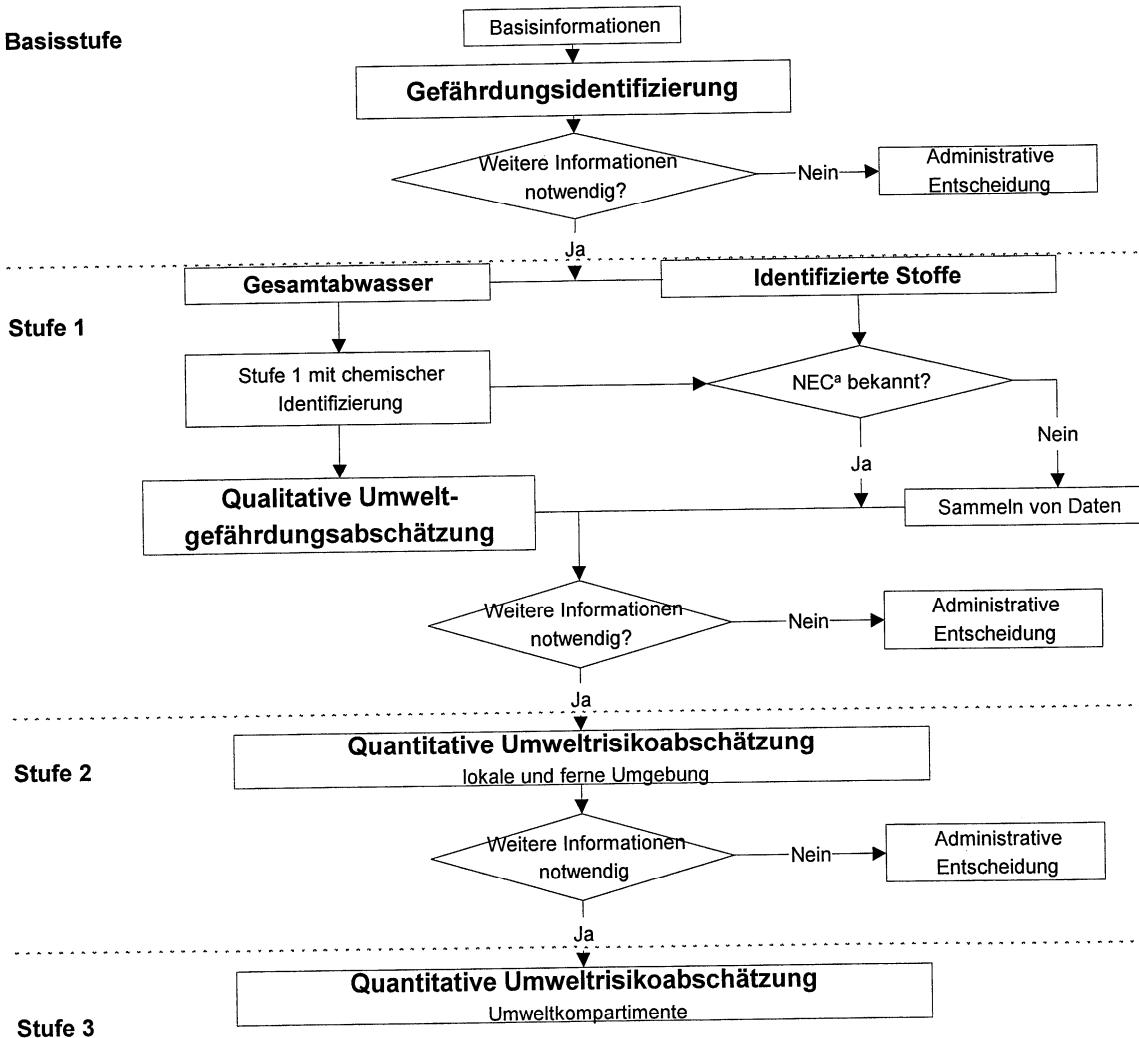


Bild 2: Strategievorschlag der Dänischen EPA für die Untersuchung und Bewertung von industriellen Abwässern (^aNEC: no effect concentration; Konzentration, bei der kein Effekt auftritt).

bereits vorliegenden Daten eine administrative Entscheidung (Einleitergenehmigung) über die Abwassereinleitung erlauben oder ob weitere Informationen dazu notwendig sind.

Basis für die Bewertung der Abwassereinleitung ist zum einen die Bestimmung der Verdünnung des Abwassers oder der Konzentration spezifischer Einzelstoffe im Gewässer (C, Expositionsanalyse) und zum anderen die Bestimmung der Konzentration, bei der kein unakzeptabler ökotoxikologischer Effekt mehr erwartet wird (NEC, no effect concentration, Wirkungsanalyse). Entsprechend der internationalen Praxis bei der Bewertung von Einzelstoffen wird davon ausgegangen, dass dann kein ökotoxikologischer Effekt in der Umwelt eintritt, wenn C niedriger als NEC ist. Der Vergleich von C mit NEC wird daher als Maß für den erwarteten gefährlichen Effekt der Abwassereinleitung im Gewässer verwendet. Da zumeist weder C noch NEC bekannt sind, ist es notwendig, diese Konzentrationen über die Bestimmung von PEC (predicted environmental concentration)- und PNEC (Predicted no effect concentration)-Werten abzuschätzen. Mit jeder Stufe sind dazu umfassendere und detaillierte Untersuchungen des Abwassers vorgesehen, um mit zunehmender Kenntnis der Abwassercharakteristika eine immer präzisere Vorhersage über das Umweltgefährdungspotenzial treffen zu können und die bestehenden Unsicherheiten der Bewertung zu reduzieren.

Um die für die Bewertung notwendigen Informationen zu erhalten, umfasst das Strategiekonzept Methoden zur Bestimmung der Effektparameter akute und chronische Toxizität, Bioakkumulierbarkeit und Persistenz, die begleitende Bestimmung von physikalisch-chemischen Parametern und Summenparametern sowie die Anwendung von Ausbreitungs- und Verteilungsmodellen von Abwassereinleitungen im Gewässer. In den einzelnen Stufen sind jeweils die folgenden Vorgehensweisen vorgesehen:

*Basisstufe: Identifizierung des Gefährdungspotenzials des Abwassers
(Wastewater hazard identification)*

In der Basisstufe sollen vorhandene Informationen für eine erste Einschätzung der potenziell umweltgefährdenden Eigenschaften der Abwassereinleitung erhoben und bewertet werden:

- Substanzen, die eingesetzt oder hergestellt werden, einschließlich Massenbilanzen, um abzuschätzen, welche gefährlichen Stoffe im Abwasser vorliegen können
- Gemessene Mengen der Stoffe im Abwasser
- Physikalisch-chemische Eigenschaften der Stoffe
- Biologische Eigenschaften der Stoffe wie biologische Abbaubarkeit, Bioakkumulationspotenzial, Toxizität und Gentoxizität
- Umweltgefährdungsklassifizierung der Stoffe
- Physikalisch-chemische Eigenschaften, Abbaubarkeit und Persistenz des Gesamtabwassers
- Strömungen und mögliche Ausbreitungsmuster in der Umwelt
- Unsicherheiten und Qualität der entsprechend den oben genannten Punkten erhobenen Daten

Zusätzlich ist ein Abwasser-Screening mit biologischen Methoden denkbar (Hemmtests mit Belebtschlamm oder Toxizitätstests als sogenannte Limit Tests, d.h. nur Testen des Originalabwassers ohne Verdünnungsstufen) oder die Bestimmung von Summenparametern.

Stufe 1: Gefährdungsabschätzung der Abwassereinleitung (Wastewater hazard assessment)

In der ersten Stufe sollen Daten für eine qualitative Umweltgefährdungsabschätzung, d.h. für eine detaillierte Evaluierung des Potenzials der Abwassereinleitung, einen ökotoxikologischen Effekt im Gewässer zu verursachen, ermittelt werden.

Zunächst ist eine Untersuchung des *Gesamtabwassers* zur Gewinnung einer minimalen Datenbasis für die Gefährdungsabschätzung vorgesehen. Die Daten sollten ausreichend sein, um die *Toxizität* (akute Toxizität für Fische, Crustaceen und Algen, NOEC-Werte) sowie *expositionsrelevante Parameter* (biologische Abbaubarkeit, Bioakkumulierbarkeit, phys.-chem. Daten, Verdünnungsmuster, PEC-Werte) zu beschreiben. Wird das Abwasser vor der Einleitung in Gewässer oder in eine Kläranlage nicht behandelt, so besteht die Möglichkeit, eine sogenannte aerobe Stabilisierung des Abwassers durchzuführen (biologischer Abbaustest) und die Effekte auf die Mikroorganismen/Kläranlage zu ermitteln sowie im Anschluss auf persistente Toxizität zu testen.

Parallel zu den Gesamtabwasseruntersuchungen können Informationen über die identifizierten *Einzelstoffe* (aus Messungen oder Datenerhebungen) zur Einschätzung ihres Gefährdungspotenzials eingeholt werden (evtl. sind sie schon als gefährlich eingestuft und es existieren Grenzwerte oder Wasserqualitätskriterien (NEC, no effect concentration; falls nicht vorhanden sollte nach relevanten Daten in der Literatur gesucht werden).

Die beiden ersten Stufen dieses Strategiekonzepts sind auf den einleitenden Industriebetrieb ausgerichtet (Produktion, Abwassercharakteristika). Ergibt sich aus den hier ermittelten Informationen die Möglichkeit NEC- (no effect concentration) und C (concentration in the environment)-Werte abzuleiten, können mögliche Umwelteffekte quantifiziert werden. Sind diese nicht bestimmbar, können auch vorläufige weniger präzise Parameter verwendet werden. Für die Bewertung des Gesamtabwassers kann der NOEC geteilt durch einen Unsicherheitsfaktor für eine Abschätzung des NEC dienen. Für Einzelstoffe kann der berechnete ECL (environmental concern level) und statt C die Konzentration nach der ersten Durchmischung der Abwassereinleitung im Gewässer verwendet werden.

Im Anschluss an diese erste Stufe kann eine Entscheidung über notwendige Maßnahmen getroffen werden z.B. Reduzieren der Einleitung von bestimmten Stoffen, von Summenparametern oder der Gesamtabwassermenge durch Prozessmodifikationen, Stoffsubstitutionen oder verbesserte Abwasserbehandlung. Falls eine Identifizierung unbekannter toxischer Abwasser-inhaltsstoffe notwendig ist, können Methoden des source-tracking (Aufspüren des Ursprungs der Toxizität durch Teilstromuntersuchungen) oder der Toxizitäts-Identifizierung und Evaluierung (toxicity identification evaluation, TIE) verwendet werden.

*Stufe 2: Risikoabschätzung der Abwassereinleitung für die lokale und fernere Umgebung
(Wastewater risk assessment - local and distant environment)*

In der zweiten Stufe sollen Daten für eine quantitative Umweltgefährdungsabschätzung ermittelt werden, indem ein ökotoxikologisches Testprogramm durchgeführt wird, das die Berechnung von NEC und C aus statistisch gesicherten Daten ermöglicht und wonach Einleitungskriterien für das Gesamtabwasser oder Einzelstoffe festgelegt werden können.

In dieser Stufe können akute Toxizitätstests mit einer größeren Zahl von Organismen oder länger andauernde Tests auf subletale Wirkungen durchgeführt werden, insbesondere wenn bekannt ist, dass das Abwasser bioakkumulierende oder persistente Verbindungen enthält. Die Tests können mit dem Gesamtabwasser, mit relevanten Komponenten oder mit identifizierten Stoffen durchgeführt werden. Zusätzliche Analysen und Versuche können notwendig sein, um das Schicksal des Abwassers nach der Einleitung zu ermitteln. Dabei sollten ausreichende Daten gewonnen werden, um die Abwasserkonzentrationen im Gewässer quantifizieren zu können.

*Stufe 3: Risikoabschätzung der Abwassereinleitung für Umweltkompartimente
(Wastewater risk assessment - environmental compartments)*

Falls erforderlich werden in der dritten Stufe speziellere Untersuchungen der Abwasser/Gewässersituation durchgeführt, z.B. auf spezifische Effekte von problematischen Stoffen des Abwassergemisches, des Übergangs und der Effekte in anderen Kompartimenten (Sediment) oder innerhalb der Nahrungskette, von Wechselwirkungen zwischen Spezies, Gewässerstudien oder Gewässerüberwachungen.

Untersuchungsprogramm

Ausgehend von der oben dargestellten Untersuchungs- und Bewertungsstrategie ist für jede Stufe ein Untersuchungsprogramm vorgeschlagen worden. Es ist kein feststehendes Programm für jede Abwassereinleitung, vielmehr sollten je nach Abwasserart und Vorwissen die geeigneten Schritte

ausgewählt werden. Insbesondere ist nicht immer sowohl eine Gesamtabwasser- als auch eine Einzelstoff-Untersuchung vorgesehen. Da es oft schwieriger ist, genügend Daten aus der Literatur über Einzelstoffe zu erhalten bzw. bei komplexer Belastung alle umweltrelevanten Stoffe zu identifizieren, wird es in vielen Fällen praktischer sein, sich auf Gesamtabwasseruntersuchungen zu konzentrieren.

Über die für die Untersuchungen des Gesamtabwassers vorgeschlagenen Methoden wird im folgenden ein kurzer Überblick gegeben:

In der Basisstufe sind, abgesehen von den oben genannten Screening-Untersuchungen, keine Tests oder Analysen vorgesehen, sondern die Erhebung und Auswertung von vorhandenen Daten. In den Stufen 1 und 2 werden physikalisch-chemische Parameter und Summenparameter und deren zeitliche Variabilität ermittelt, Tests auf Toxizität, Bioakkumulierbarkeit und biologische Abbaubarkeit durchgeführt sowie die Ausbreitung und Verteilung des Abwassers im Gewässer abgeschätzt. Eine Übersicht über die Methoden der Stufen 1 und 2 ist in Tab. 3 dargestellt.

Tab. 3: Gesamtabwasseruntersuchung der Stufen 1 und 2 des Dänischen Strategiekonzepts.

| Parameter | Stufe 1: qualitative Gefährdungsabschätzung | Stufe 2: quantitative Risikoabschätzung |
|--|---|---|
| Abwasserzusammensetzung und Variabilität | Physikalisch-chemische Parameter Summenparameter eingeleitete Menge (24h/Woche Test) (T, pH, Dichte, Schwebstoffe, DOC, AOX etc) | Bewertung der Variabilität (Peaks) bestimmter Messparameter mit der Zeit oder mit dem Produktionsbetrieb |
| Ausbreitung und Verteilung | Massenbilanzen, einfache Ausbreitungsmodelle | Modelle für nahe und ferne Umweltbereiche |
| Biologischer Abbau | BSB, CSB Simulation der Abwasserbehandlung (aerobe) Stabilisierung (dann ggf. Untersuchung auf persistente Toxizität oder Bioakkumulierbarkeit) | Simulation der Gewässerbedingungen (Batch-Tests) |
| Bioakkumulierbarkeit | HPLC oder DC-Screening (ggf. chemische Analyse zur Identifizierung der bioakkumulierenden Fraktion, bioakkumulierende Stoffe die toxisch oder persistent sind, sind besonders relevant) | Bioakkumulationstests mit Organismen |
| Toxizität* (* die für die Tests ausgewählten Organismen sind im Anhang 1 angegeben) | Drei Akute Toxizitätstests: Fische 96 h LC ₅₀ Crustaceen 48/96 h LC ₅₀ Algen 72 h EC ₅₀ (zur Bestimmung der NOEC-Werte) Auswahl der Organismen in Abhängigkeit vom Gewässer, in das eingeleitet wird (Süß-, Salz- oder Brackwasser) | Zwei weitere akute Tests mit anderen Spezies (z.B. Mikroorganismen, Protozoen, Mollusken) oder chronische Tests mit Fischen, Crustaceen oder Algen (chronische Tests besonders relevant wenn persistente oder bioakkumulierende Fraktionen im Abwasser vorhanden sind) |

In Stufe 3 werden komplexe Untersuchung für die Ermittlung von Umweltauswirkungen der Abwassereinleitung auf Kompartimente (z.B. Feldstudien) durchgeführt. Gentoxizitätstests sind in diesem Strategiekonzept nicht enthalten, sollen aber bei der Weiterentwicklung berücksichtigt werden.

Sofern Informationen über gefährliche Einzelstoffe vorliegen, werden diese mit geeigneten Methoden entsprechend der genannten Parameter untersucht.

Zusammenfassend lässt sich das dänische Strategiekonzept wie folgt charakterisieren:

- immissionsorientiert, abgestuftes und flexibles aber aufwendiges Untersuchungsprogramm
- Einsatzzweck ist die Ermittlung des Risikos einer Gewässerschädigung durch eine Abwassereinleitung
- Gesamtabwasser- und Einzelstoff-Untersuchungen je nach Einzelfall
- vorgesehene Effektparameter: akute und chronische Toxizität, Persistenz, Bioakkumulierbarkeit
- chronische Tests werden angewendet, wenn Hinweise auf persistente oder bioakkumulierende Fraktionen vorliegen
- Bewertung der Gesamtabwasser-Toxizität über den PEC/PNEC-Ansatz
- Einleitergenehmigungen können in Anlehnung an den „Leitfaden (guidance document) für die Risikobewertung von industriellen Abwässern“ durchgeführt werden, dies ist aber nicht gesetzlich vorgeschrieben

2.2.3 Großbritannien

Hintergrund

Großbritannien verfolgt einen klassischen immissionsorientierten Ansatz bei der Kontrolle von Abwassereinleitungen. Die rechtlichen Regelungen beschränkten sich dabei bisher auf chemische Parameter und prioritäre Schadstoffe, deren Einleitergenehmigung sich an anhand von Umweltqualitätszielen für Gewässer festgelegten Umweltqualitätsstandards orientiert. Seit knapp 10 Jahren gibt es Bestrebungen, im Sinne einer integrativen Herangehensweise auch die Toxizitätsdetektion zur Verbesserung der Ablaufqualität und der Oberflächenwasserqualität heranzuziehen [Mackay et al., 1989].

Britisches Strategiekonzept

Das hierzu entwickelte Vorgehen wird mit „Direct Toxicity Assessment“ (DTA) beschrieben und ist in Bild 3: skizziert. Es wird gegenwärtig in mehreren Pilotstudien auf seine Anwendbarkeit von den zuständigen Behörden, durchführenden Organisationen und betroffenen Einleitern (Industriebetrieben) geprüft [Hayward, 1999]. Das DTA soll es vor allem

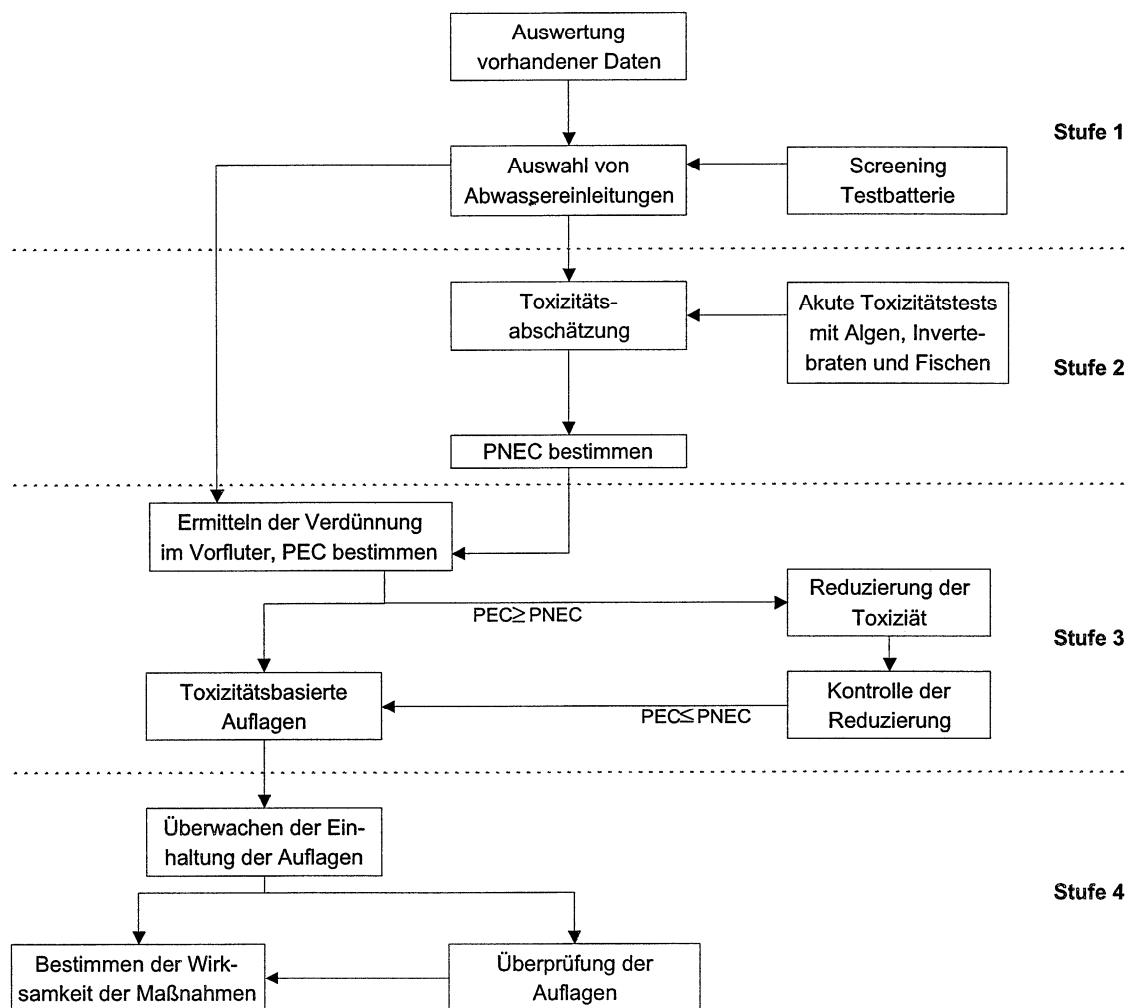


Bild 3: Vorgehen beim „Direct Toxicity Assessment“ (DTA) in Großbritannien zur Kontrolle von Abwassereinleitungen [nach Johnson et al., 1996].

Genehmigungsbehörden ermöglichen, Abwassereinleitungen zu ermitteln, welche mit den bisher eingesetzten chemischen Methoden nicht angemessen kontrolliert werden und deshalb besonderer Aufmerksamkeit bedürfen. Als Toxizitätstests wurden für die Erprobung des DTA Tests gewählt, für die national und international standardisierte Vorschriften existieren.

In der *ersten Stufe* (Einleiter-Priorisierung) wird anhand chemischer, biologischer und ökotoxikologischer Daten festgestellt, ob eine zusätzliche toxizitätsbasierte Genehmigung für eine bestimmte Abwassereinleitung überhaupt erforderlich ist. Auswahlkriterien sind die Komplexität der Abwasserzusammensetzung, eine in Screeningtests ermittelte Ökotoxizität des Abwassers sowie ein in biologischen Studien beobachteter Effekt der Einleitung auf das Gewässer. Für das Screening von Abwassereinleitungen wird zwischen Einleitungen in Oberflächengewässer und Meere unterschieden. Vorgesehen sind Tests mit Leuchtbakterien (*V. fischeri*, Leuchthemmung, Süß- und Salzwasser), Daphnien (*D. magna* Immobilisierung, 24 h, Süßwasser) bzw. Austern (*C. gigas*, Embryo-Larval-Entwicklung, 24 h, Salzwasser).

Ein Charakterisierung der Toxizität und Variabilität der Abwassereinleitungen erfolgt in der *zweiten Stufe* (Einleiter-Charakterisierung). Die Abwassereinleitungen werden dazu mit einer Batterie von Tests dreier trophischer Ebenen (Algen, Invertebraten und Fische) unter Einbeziehung von Organismen aus dem Vorfluter mehrfach untersucht. Ausgewählt wurden dazu die folgenden Tests:

Süßwasser: *S. capricornutum* (Algen), 72 h, Wachstumshemmung

D. magna (Daphnie), 48 h, Immobilisierung

O. mykiss (Fisch), 96 h, Letalität

Salzwasser: *P. tricornutum* (Algen), 72 h, Wachstumshemmung

C. gigas (Auster), 24 h, Embryo-Larval-Entwicklung

S. maximus (Fisch), 96 h, Letalität

Aus den Ergebnissen des empfindlichsten Organismus wird eine Abwasserkonzentration ermittelt, bei der voraussichtlich kein toxischer Effekt mehr auftritt (PNEC).

In der *dritten Stufe* (Toxizitätsreduktion und Genehmigung) wird unter Berücksichtigung von Abwasserauffall und der Situation des Vorfluters (Verdünnung und Dispersion) die zu erwartende Konzentration des Abwassers im Oberflächenwasser nach gründlicher Vermischung abgeschätzt. An der Einleiterstelle und innerhalb der Verdünnungszone werden toxische Effekte damit hingenommen. Überschreitet der PEC-Wert den PNEC-Wert ($PEC/PNEC > 1$), so wären Maßnahmen zur Reduktion der Toxizität erforderlich, bevor eine Einleiterlaubnis erteilt würde.

Die *vierte und letzte Stufe* (Genehmigungs-Kontrolle) beinhaltet das Monitoring der Abwasser-einleitung in Hinblick auf die erteilte Genehmigung.

Pilotstudie

In einer Pilotstudie der englischen Umweltbehörde (EA, Environmental Agency) zur vollständigen Durchführbarkeit des DTA-Protokolls wurden von insgesamt 46 Abwassereinleitungen zwölf Abwässer entsprechend der Kriterien der Stufe 1 für weitere Untersuchungen der Stufen 2-4 als möglicherweise relevant für eine toxizitätsbasierte Genehmigung ausgewählt [Johnson et al., 1996].

Im Ergebnis wiesen nur zwei der untersuchten Abläufe PEC/PNEC-Werte kleiner 1 auf, rufen also nach Verdünnung voraussichtlich keine Toxizität im Gewässer hervor. Alle anderen Abläufe erfüllten dieses Kriterium nicht und bewirkten wahrscheinlich auch nach der Verdünnung und Dispersion noch toxische Effekte im Gewässer, so dass vor einer Genehmigung eine Toxizitätsreduzierung erforderlich wäre. Bezuglich der Empfindlichkeit der Toxizitätstests für Abwasserinhaltsstoffe folgt aus diesen Untersuchungen der EA, dass der Daphnien- oder der Austerntest immer gleich empfindlich oder empfindlicher waren als ein Algenwachstums- oder Fisch-Letalitäts-Test.

Große Aufmerksamkeit im Rahmen der Pilotprojekte zum DTA wurde auf die Vergleichbarkeit verschiedener Tests zur akuten und chronischen Toxizität [Wharfe, 1996], sowie Fragen der Standardisierung, der Qualitätskontrolle und der statistischen Auswertung gelegt.

Da sich die Einführung von Toxizitätstests in Genehmigungs- und Überwachungsverfahren in Großbritannien noch im Stadium der Erprobung befindet, ist es einleuchtend, dass weitergehende Fragestellungen, z.B. nach persistenten oder bioakkumulierbaren Abwasserinhaltsstoffen zur Zeit noch keine Rolle spielen.

Zusammenfassend lässt sich die britische Situation wie folgt charakterisieren:

- strikte Immissionsorientierung bei der Definition jeglicher Qualitätsanforderungen an Abwassereinleitungen
- Situation im Gewässer nach Verdünnung und Dispersion ist Maßstab
- Toxizitätstests (DTA) im Pilotstadium als Ergänzung zu chemischen Analysen; Einbeziehung in Kriterien für Einleitergenehmigungen vorgesehen
- akute Toxizitätstests stehen im Vordergrund, langfristig sollen chronische Tests, subletale Endpunkte und Mutagenität integriert werden
- keine weiteren Parameter neben der Ökotoxizität werden berücksichtigt

2.2.4 Niederlande

Hintergrund

In den Niederlanden werden Abwassereinleitungen nach dem emissionsorientierten Ansatz bewertet. Die Einleitgenehmigung ist ausgerichtet auf die Reduzierung von Emissionen spezifischer Schadstoffe nach dem Vorsorgeprinzip. Außerdem muss der Einleiter für diese Stoffe Maßnahmen entsprechend der „Besten verfügbaren Technik“ (BAT, Best Available Technique) und/oder der „Besten Umweltpraxis“ (BEP, Best Environmental Practice) anwenden. Zur Zeit wird eine Strategie zur Gesamtabwasserbewertung (WEA, whole effluent assessment) erprobt, die langfristig in das niederländische Verfahren zur Erteilung von Einleitgenehmigungen integriert werden soll [Tonkes et al., 1998].

Das **gesamte Genehmigungsverfahren** wird nach Integration des WEA vier Phasen umfassen, die Phasen 1, 2 und 4 werden bereits angewendet [Tonkes et al., 1995]:

In *Phase 1* (Begrenzung der Verschmutzung) sollen die betrieblichen Produktionsprozesse in Hinblick auf Möglichkeiten zur Verringerung der Abwasserbelastung geprüft werden.

In *Phase 2* (Chemikalien-spezifische Bewertung) sollen zu den aus Phase 1 bekannten Einsatzstoffen, sofern sie abwasserrelevant sind, Daten ihrer chemischen Eigenschaften und möglicher Effekte im aquatischen System zusammengestellt und bewertet werden. Sind hinreichende Informationen über die Stoffeigenschaften und mögliche Wirkungen (Toxizität, Persistenz, Bioakkumulierbarkeit) erhältlich, wird entschieden, welche Verbesserungsmaßnahmen durchgeführt werden sollen. Im Falle gefährlicher Einsatzstoffe ist deren Ersatz durch weniger gefährliche vorgesehen. Sofern die zu den Abwasserinhaltsstoffen erhältlichen Informationen unzureichend sind, soll zur Untersuchung des Abwassers selbst übergegangen werden (Phase 3, Integration des WEA). Da davon auszugehen ist, dass i.d.R. nicht alle notwendigen Informationen zu allen gelisteten Stoffen, ja kaum alle abwasserrelevanten Stoffe selbst erfasst werden können, wird im Regelfall die Phase 3 zur Einschätzung des mit einer komplexen Einleitung verbundenen Risikos durchgeführt werden müssen.

In dieser *Phase 3* (WEA) werden chemische Parameter und Effektparameter des Gesamt-abwassers experimentell ermittelt. Das Vorgehen bei den WEA-Untersuchungen wird unten genauer beschrieben.

In *Phase 4* (Bewertung der Verbesserung der Abwasserqualität) soll schließlich nach erfolgter Verbesserung der Einleitungsqualität ein Immissionsbezug hergestellt werden, indem mit einer begrenzten Zahl chemischer Parameter die Qualität des Vorfluters erfasst wird. Stellt sich diese als nicht hinreichend dar, so ist vorgesehen, wieder in Phase 3 einzutreten und weitere Verbesserungen der Qualität des eingeleiteten Abwassers zu erreichen.

Die Untersuchungen im Rahmen des WEA dienen damit nicht der Voraussage möglicher Effekte im Vorfluter (Immission), sondern der Erfassung von Wirkungen zuvor nicht erkannter Komponenten des Gesamt-Abwassers, die gegebenenfalls durch Verbesserung der Behandlung oder andere Maßnahmen im Produktionsprozess eliminiert werden müssen (Emissionsminderung).

Niederländisches Strategiekonzept der Gesamtabwasserbewertung (WEA)

Im Rahmen des WEA werden die Parameter akute und chronische Toxizität, Gentoxizität, Persistenz und Bioakkumulierbarkeit berücksichtigt. Alle Parameter werden dabei als gleich relevant für das Gefährdungspotenzial industrieller Abwassereinleitungen angesehen [Tonkes & Baltus, 1997]. Das Vorgehen bei der Gesamtabwasserbewertung ist in Bild 4 dargestellt.

Jeder Parameter wird unabhängig von den anderen bewertet und nur wenn für alle Parameter die Untersuchungsergebnisse unterhalb noch festzulegender Grenzwerte liegen, wird eine Abwassereinleitung als nicht umweltgefährdend eingestuft.

Die Entwicklung des WEA-Konzepts begann Ende der 90iger Jahre mit einer ersten Untersuchung zur Eignung von Methoden zur Gesamtabwasserbewertung (Toxizität, Bioakkumulation) aufgrund der bestehenden Grenzen des stoffspezifischen Bewertungsansatzes für Abwassereinleitungen [Pols, 1988]. Die für den zukünftigen Einsatz im WEA verwendeten Tests wurden dann entweder aus den zur Verfügung stehenden national und international standardisierten oder erprobten Tests ausgewählt (Toxizität und Gentoxizität) oder es wurden bestehende Verfahren modifiziert oder weiterentwickelt (Persistenz und Bioakkumulierbarkeit).

1994 wurden in einer ersten Studie 17 Abwassereinleitungen mit akuten Toxizitätstests der vier trophischen Ebenen untersucht um erste praktische Erfahrungen zu sammeln [Tonkes et al., 1999]. Für 15 Abwässer zeigte mindestens ein Test eine akute toxische Wirkung an, wobei in acht Fällen die toxische Wirkung nicht anhand ebenfalls erhobener physikalisch-chemischer Daten erklärt werden konnte. Der Algatest erwies sich als der empfindlichste der eingesetzten Tests. Das vollständige WEA-Untersuchungsprogramm wurde erstmals 1996 in einer Pilotstudie an Stichproben von zehn Abwassereinleitungen erprobt [Tonkes & Baltus, 1997].

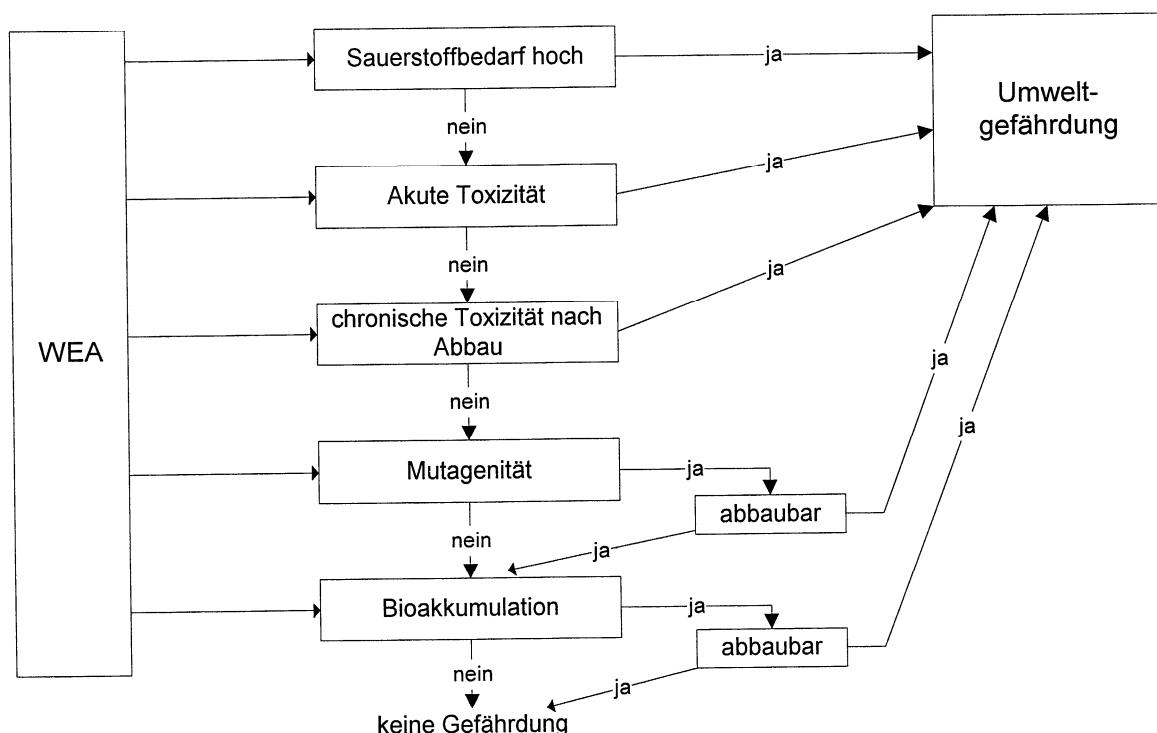


Bild 4: Niederländisches Strategiekonzept der Gesamtabwasserbewertung WEA (Whole effluent assessment [Tonkes & Baltus, 1997].

Pilotstudie

Die folgenden Untersuchungsmethoden wurden in der Pilotstudie eingesetzt:

| | |
|----------------------|---|
| akute Toxizität | Fisch-, Daphnien- und Algertest mit limnischen Organismen, sowie Leuchtbakterientest und Toxizitätstestkits (Rotiferen) |
| chronische Toxizität | Fischtest (frühes Lebensstadium), Daphnientest (Reproduktion) |
| Gentoxizität | Muta-Chromoplate Kit (miniaturisierter Ames-Test) |
| Persistenz | Simulation des Abbaus im Gewässer, 28 Tage, DOC-Abnahme |
| Bioakkumulierbarkeit | HPLC-Methode, biomimetrische Extraktion |

Mit in die Bewertung einbezogen ist ferner der in BSB-Versuchen ermittelte biochemische Sauerstoffbedarf des Abwassers als Gefährlichkeitsparameter für das Potenzial einen Sauerstoffmangel im Gewässer hervorzurufen.

Von den untersuchten zehn Abwassereinleitungen waren acht akut und sechs chronisch toxisch wirksam, Mutagenität wurde in allen Proben gemessen und in fünf Abwasserproben waren höhere Anteile bioakkumulierender Stoffe vorhanden. Ein biologischer Restabbau wurde in drei Proben festgestellt.

Ausgehend von den hier gewonnenen Erfahrungen und der Weiterentwicklung von Methoden wurden vor kurzem einige Tests zusätzlich mit aufgenommen oder ersetzt [Tonkes, 2000]. Für die Untersuchung von salzhaltigen Abwassereinleitungen wurden Tests mit marinen Organismen vorgesehen. Der chronische Lumineszenzhemmtest über 22 h wurde als chronischer Test hinzugenommen. Zur Detektion gentoxischer Wirkungen wurde der umu-Test und zur Bestimmung der Bioakkumulierbarkeit ein SPME-Verfahren ausgewählt. Die ausgewählten Tests und Testorganismen zeigt die folgende Tabelle (Tab. 4).

Tab. 4: Biotests eingesetzt in der niederländische Untersuchungsstrategie.

| | Trophische Ebene | Süßwasser | Salzwasser |
|----------------------|------------------|--|---|
| Akute Toxizität | Fisch | <i>Brachydanio rerio</i> , 96 h | <i>Poecilia reticulata</i> , 96 h |
| | Crustaceen | <i>Daphnia magna</i> , 48 h | <i>Acartia tonsa</i> , 48 h |
| | Alge | <i>Raphidocelis subcapitata</i> , 72 h | <i>Phaeodactylum tricornutum</i> , 72 h |
| | Bakterien | <i>Vibrio fischeri</i> , 30 min. | <i>Vibrio fischeri</i> , 30 min. |
| Chronische Toxizität | Fisch | <i>Brachydanio rerio</i> , 8 d | <i>Scophthalmus maximus</i> , 48 h |
| | Seeigel | - | <i>Psammechinus miliaris</i> , Fertilität |
| | Crustaceen | <i>Daphnia magna</i> , 21 d | <i>Acartia tonsa</i> , 48 h |
| | Alge | <i>Raphidocelis subcapitata</i> , 96 h | <i>Phaeodactylum tricornutum</i> , 96 h |
| | Bakterien | <i>Vibrio fischeri</i> , 22 h | <i>Vibrio fischeri</i> , 22 h |

Die Implementierung des WEA in das Genehmigungsverfahren von Abwassereinleitungen ist derzeit für das Jahr 2006 vorgesehen [Tonkes, 2000]. Bis dahin sollen u.a. die praktische Erfahrungen mit der vorgeschlagenen Untersuchungsstrategie vertieft werden und Arbeiten zur Validierung der ausgewählten und z.T. neu entwickelten Tests durchgeführt sein. Schließlich sind auch noch Entscheidungswerte zu entwickeln, die im Rahmen der Untersuchungsstrategie die Differenzierung zwischen einem positiven und einem negativen Befund (ja/nein-Entscheidungen) erlauben.

Zusammenfassend lässt sich der niederländische Strategievorschlag wie folgt charakterisieren:

- Einsatz des WEA zur Emissionsminderung und als notwendige Untersuchung im Rahmen der Erteilung von Abwassereinleiter-Genehmigungen.
- emissionsorientiertes Vorgehen mit einer abschließenden Betrachtung der Wasserqualität des Vorfluters als Erfolgskontrolle
- chronische Toxizität, Persistenz und Bioakkumulierbarkeit werden in die Gefährdungsabschätzung mit einbezogen
- alle Effektparameter werden als gleich relevant betrachtet

2.2.5 Schweden

Hintergrund

In Schweden wurden in den 80er Jahren verschiedene Projekte zur biologischen und chemischen Charakterisierung von industriellen Abwassereinleitungen durchgeführt, um die notwendigen Hintergrundinformationen für ihren Einsatz in z.B. Genehmigungsverfahren und Überwachungsprogrammen zu ermitteln [Bengtsson & Renberg, 1986]. Als Ergebnis wurde die CID-Methodik (Characterisation of industrial discharges, CID) entwickelt und 1990 eine Leitlinie zur Durchführung von der Schwedischen Umweltschutzbehörde 1990 veröffentlicht [Swedish Environmental Protection Agency, 1990]. Sie verbindet biologische Tests mit chemische Analysen und wird als effektive Hilfe angesehen, um das Vorliegen von gefährlichen Stoffen in Abwässern anzudeuten und ihre Signifikanz zu bewerten. Die CID ist für Untersuchungen von Abwässern verschiedener Industriebereiche, Kommunalabwasser sowie Sickerwasser eingesetzt worden.

Im Rahmen des Stork-Projekts (STORK: persistent organic pollutants in chemical industry effluents) sind zwischen 1989 und 1994 mit dieser Methodik Untersuchungen zur biologischen und chemischen Charakterisierung von Abwassereinleitungen der chemischen Industrie durchgeführt worden [Swedish Environmental Protection Agency, 1997]. In diesem Projekt sollte die Einleitung von organischen persistenten, bioakkumulierenden und toxischen Stoffen unter besonderer Berücksichtigung halogenorganischer Verbindungen aus Anlagen der chemischen Industrie und weiterer bedeutender Einleiter erfasst werden.

Schwedisches Strategiekonzept (CID)

Das Ziel der CID-Methodik ist die Beschreibung der gefährlichen Eigenschaften eines Abwassers als Basis für eine Umweltrisikoabschätzung (environmental risk assessment) der Abwassereinleitung. Damit folgt die CID-Methodik dem immissionsorientierten Ansatz des Gewässerschutzes.

Mit der CID soll durch Kombination verschiedener Bioteats und chemischer Analysen das Vorliegen von persistenten, potenziell bioakkumulierenden und toxischen Substanzen sowie von relevanten Einzelstoffen oder Stoffgruppen ermittelt werden. Das Untersuchungsprogramm besteht aus verschiedenen Stufen, wobei in der ersten Stufe verschiedene Summenparameter bestimmt und Toxizitätstests eingesetzt werden. Sind zusätzliche Informationen zur Entscheidung über die Notwendigkeit von Umweltschutzmaßnahmen erforderlich, so können weitere Untersuchungen an Teilströmen oder mit spezifischeren Analysen und Testmethoden durchgeführt werden. Alternativ zur CID sind für den Fall, dass ein Abwasser nur wenige Stoffe enthalten sollte, auch Einzelstoffuntersuchungen möglich.

CID-Untersuchungen können bis zu drei Stufen umfassen, die auf einer Basisstufe aufbauen, in der verfügbare Informationen über den industriellen Prozess, das Abwasser und das Gewässer, in das eingeleitet wird, zusammengestellt werden. In den einzelnen Stufen werden die gleichen Effektparameter berücksichtigt, allerdings mit zunehmender Intensität der Untersuchung. Nach jeder Stufe ist eine Prüfung vorgesehen, ob die erhaltenen Daten für die Bewertung der Umweltgefährdung der Abwassereinleitung ausreichen.

In der *Basisstufe* werden Informationen über den Industrieprozess, verwendete Rohstoffe, Produkte und Nebenprodukte, Abwassercharakteristika, Abwassermenge, bekannte relevante Einzelstoffe, Charakteristika des Gewässers sowie Ergebnisse von vorhergehenden Untersuchungen eingeholt. In der *ersten Stufe* sind Untersuchungen zu einer ersten chemischen Charakterisierung des Abwassers, des biologischen Abbaus über BSB/CSB-Bestimmungen, zur Bioakkumulierbarkeit und zur akuten Toxizität des Abwassers vorgesehen. In der *zweiten Stufe* werden biologische Abautests, chronische Toxizitätstests, Tests auf Mutagenität, Messungen zur Bioakkumulierbarkeit und Toxizität nach biologischem Abbau sowie spezifischere chemische Analysen durchgeführt. Die in den Stufen 1 und 2 zu verwendenden Methoden zeigt Tab. 5.

Die Stufen 1 und 2 dienen einer verbesserten Charakterisierung des Abwassers, Stufe 3 ist auf die Ermittlung der im Gewässer durch die Abwassereinleitung hervorgerufenen Effekte ausgerichtet. Dazu sind verschiedene Methoden vorgesehen, die je nach den Ergebnissen der Stufe 2 von spezielleren Tests im Labor bis hin zu Untersuchungen von Organismen aus Gewässern, die von der Abwassereinleitung betroffen sind, reichen können. Zu diesen Methoden gehören Untersuchungen des biologischen Abbaus mit Mikroorganismen aus dem Gewässer (Simulationstests), biologische Untersuchungen von Gewässer- und Sedimentorganismen,

Tab. 5: Abwasseruntersuchung der Stufen 1-2 des schwedischen Strategiekonzepts.

| Parameter | Stufe 1: | Stufe 2: |
|-------------------------------|--|--|
| Chemische Charakterisierung | Physikalisch-chemische Parameter Summenparameter (CSB, BSB ₇ , TOC, pH, Schwebstoffe, Leitfähigkeit, Stickstoff, Phosphor) <i>Alternativ</i> DOC Analyse von bekannten oder unter Verdacht stehenden gefährlichen Einzelstoffen Kohlenwasserstoffe, TOCl, EOCl, AOX | Weitergehenden Abwasseruntersuchungen mit speziellen Techniken (GC/MS, HPLC mit Fluoreszenz oder elektrochemischer Detektion) spezifische Einzelstoffuntersuchungen |
| Biologischer Abbau | | Tests mit Verfolgung des TOC oder DOC-Abbaus (Die Away) oder respirometrische Tests mit Methoden für leichte oder inherente Abbaubarkeit von organischen Verbindungen; aerobe Stabilisierung der Probe mit anschließender Bestimmung der Toxizität und Bioakkumulierbarkeit sowie chemischer Analyse |
| Bioakkumulierbarkeit | DC-Untersuchungen auf Anwesenheit von lipophilen Verbindungen bei Verdacht | DC-Untersuchungen auf lipophile Verbindungen in der stabilisierten Probe |
| Biologische Charakterisierung | Akute Toxizitätstests: Fische 96 h LC ₅₀ Crustaceen 48/96 h LC ₅₀ Algen 3 d EC ₅₀ Höhere Pflanzen 5 d EC ₅₀ Mikroorganismen: Belebtschlamm (falls zuerst biologische Behandlung des Abwassers erfolgt) Leuchtbakterientest als Prescreening-Test | In Abhängigkeit der Ergebnisse der ersten Stufe Auswahl von ein oder zwei der folgenden Tests: Chronische Toxizität mit Fischen, Crustaceen, Muscheln oder Algen oder Gentoxizität mit dem Ames-Test |

Bioakkumulierbarkeit in Fischen und Muscheln, sowie weitere chemische Analysen in Abhängigkeit vom Abwasser.

Bei der Anwendung der CID-Methodik wird die Stufe 1 als ein „Standarduntersuchungsprogramm“ angesehen, das auch für die vergleichende Untersuchung verschiedener Abwassereinleitungen verwendet werden kann. Die Stufen 2 und 3 sollen in Abhängigkeit vom Einzelfall flexibel gestaltet werden.

Zu der Bewertung des Gefährdungspotenzials eines Abwassers nach der CID-Methodik gehört die Berücksichtigung der lokalen Bedingungen der Einleitungsstelle. Hierzu zählen die Abwassermenge und ihre zeitliche Variation, die Verdünnung und der Wasserdurchsatz des Gewässers, Gewässercharakteristika (Härte, pH etc), weitere Abwassereinleiter in der Umgebung sowie spezielle Nutzungen des Gewässers. Eine einfache erste Klassifizierung der akuten Toxizität aus den Ergebnissen der Stufe 1 wird wie folgt vorgenommen: ein Abwasser wird als akut toxisch bezeichnet, wenn die erste Verdünnung an der Stelle der Einleitung zu einer Abwasserkonzentration führt, die höher ist als die LC₅₀- bzw. EC₅₀-Werte der akuten Toxizitätstests multipliziert mit dem Faktor 0.1. In diesem Fall sollten sofort Maßnahmen ergriffen werden. Liegt die Abwasserkonzentration dagegen im Bereich der LC₅₀- bzw. EC₅₀-Werte multipliziert mit 0.01 sollten Untersuchungen der Stufe 2 initiiert werden.

Als bioakkumulierend werden Stoffe mit einem Biokonzentrationsfaktor BCF > 100 oder mit Oktanol/Wasser-Verteilungskoeffizienten logK_{ow} > 3 betrachtet; bei Hinweisen auf ihr Vorliegen sollten weitere Tests durchgeführt werden. Ein wichtiger Aspekt bei der Bewertung ist der Anteil persistenter Stoffe im Abwasser. Standardisierte Abbaustests gibt es bisher nur für Einzelstoffe, daher lassen sich die dort verwendeten Kriterien für „leichte Abbaubarkeit“ entsprechend 60-70 % DOC-Reduktion nicht für komplexe Gemische wie Abwässer übertragen. Informationen über weitere Eigenschaften der persistenten Fraktion z.B. deren Toxizität, Gehalt an bioakkumulierenden Stoffen oder an AOX werden daher für die Einschätzung der persistenten Stoffe herangezogen.

Das Stork-Projekt

Das Ziel des Stork-Projekts (durchgeführt 1989-1994) war eine Charakterisierung und Katalogisierung persistenter organischer Stoffe in Abwassereinleitungen der chemischen Industrie mit einem minimalen Untersuchungsprogramm [Swedish Environmental Protection Agency, 1997]. Es basierte auf der Stufe 1 der CID-Methodik ergänzt durch einen biologischen Abbaustest (Bild 5). Untersucht wurden sowohl Direkt- als auch Indirekt-Einleiter.

Die Ergebnisse der Untersuchung von 53 Industrieanlagen zeigten, dass individuelle Parameter von unterschiedlicher Wichtigkeit für die Bewertung der Abwassereigenschaften von verschiedenen Anlagen sind. Insgesamt variierten die Einleitungen auch innerhalb einzelner Industriezweige stark, bedingt durch unterschiedliche Prozesse, Rohmaterialien oder Abwasserbehandlungsmaßnahmen.

Für viele Anlagen konnten, ausgehend von den Ergebnissen der Charakterisierung, Maßnahmen zur Reduzierung der Abwasserbelastung durchgeführt werden. Die Bewertung der einzelnen

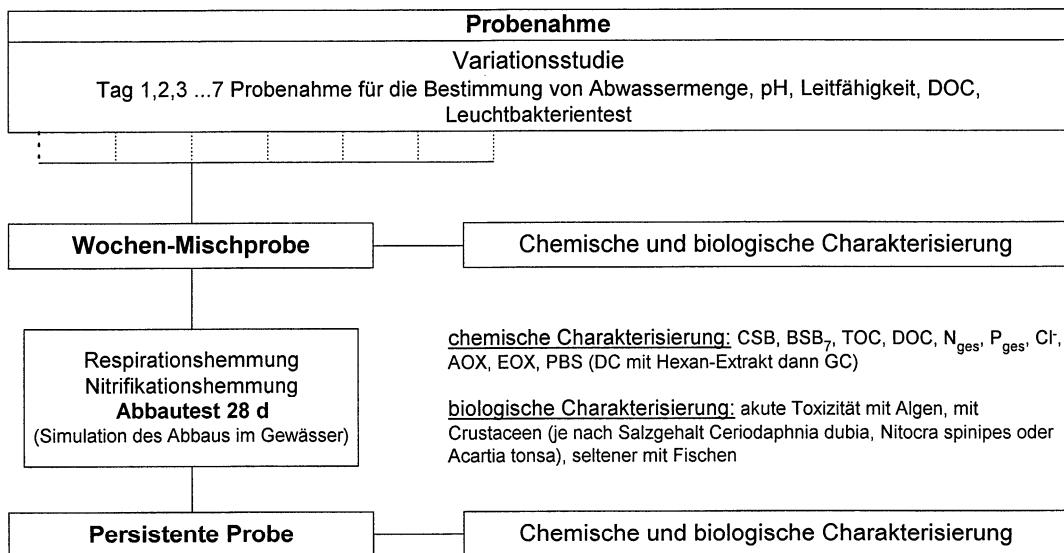


Bild 5: Untersuchungsprogramm des schwedischen STORK-Projekts, chemische und biologische Charakterisierung von industriellen Abwassereinleitungen.

Abwassereinleitungen wird i.d.R. individuell durchgeführt. Ist die Ursache für hohe Toxizität oder hohe potenziell bioakkumulierende oder persistente Anteile jedoch nicht aus den vorliegenden Ergebnissen zu ermitteln, sollen einzelne Abwasserteilströme untersucht werden, um die betriebliche Quelle einzuzgrenzen und so weitere Informationen zu gewinnen. Erst wenn auch so die Ursache unbekannt bleibt, soll ein Versuch der chemisch-analytischen Identifizierung mit dem Abwasser unternommen werden.

Zusammenfassend lässt sich das schwedische Strategiekonzept wie folgt charakterisieren:

- abgestuftes und flexibles Untersuchungsprogramm, immissionsorientiert
- für erste Charakterisierung der Abwassereinleitung Minimalprogramm möglich
- Gesamtabwasser-Untersuchungen, je nach Fall auch Einzelstoff-Untersuchungen
- vorgesehene Effektparameter: akute und chronische Toxizität, Persistenz, Bioakkumulierbarkeit, Gentoxizität
- chronische Tests angewendet, wenn Hinweise auf persistente oder bioakkumulierende Fraktionen vorliegen
- kann für Einleitergenehmigungen eingesetzt werden, dies ist aber nicht gesetzlich vorgeschrieben

2.2.6 USA

Biologische Testverfahren sind in den USA seit den 80er Jahren, und damit vergleichsweise früh, Bestandteil gesetzlicher Regelungen im Abwasserbereich. Die Regelungen zur Abwasserqualität in den USA gründen sich auf den Clean Water Act (CWA), der den Schutz des aquatischen Systems und des Menschen vor toxischen Stoffen fordert. Zur Durchsetzung dieses Ziels verfolgt die US-amerikanische Umweltbehörde (USEPA) eine Strategie, deren wesentliche Bestandteile die Implementierung von Wasserqualitätsstandards und die Kontrolle toxischer Einleitungen sind (water quality-based toxics control) und dazu chemische, ökotoxikologische und biologische Überwachungsansätze integriert [USEPA, 1991b]. In Anwendung dieser Strategie haben die einzelnen Bundesstaaten Qualitätsstandards für ihre Gewässer entwickelt. Die Kontrolle von Punktquellen wie beispielsweise von industriellen Abwassereinleitungen wird durch die Vergabe von Einleitergenehmigungen im Rahmen des National Pollutant Discharge Elimination System (NPDES) gesichert.

Der Erteilung einer Einleitergenehmigung geht die Qualitätskontrolle durch eine integrative Untersuchungsstrategie voraus, in der ausgewählte chemische Analyseverfahren und Toxizitätstests parallel auf ein Abwasser angewendet werden. Dabei wird das Schwergewicht auf die chemische Analytik dort gelegt, wo Abwässer nur wenige (bekannte) Belastungsstoffe enthalten. Sind die Abwässer sehr komplex oder handelt es sich um Mischabwässer, sind die Toxizitätstests von besonderer Bedeutung. Ergänzt werden diese Untersuchungen des Abwassers durch die Untersuchung des Vorfluters auf darin enthaltene Organismen (biosurvey). Die auf Gesamt-abwässer ohne weitere Kenntnis der Inhaltsstoffe anzuwendenden Toxizitätstests sind unter dem Begriff WET (Whole Effluent Toxicity) bekannt. Zur Durchführung, Validierung und Auswertung des WET sind von der amerikanischen Umweltschutzbehörde (EPA) sehr detaillierte Arbeitsanleitungen (guidelines) erlassen worden [USEPA, 1993c; USEPA, 1994a; USEPA, 1994b].

Ableitung der Qualitätskriterien für die Abwassereinleitung: Entsprechend der Immissionsorientierung (water quality-based approach) des Ansatzes ist es notwendig, ausgehend von den zuvor formulierten Qualitätszielen für das Gewässer und der spezifischen Situation einer Einleitstelle die qualitativen Anforderungen zu ermitteln, die eine Abwassereinleitung zu erfüllen hat. Unter Berücksichtigung der Mischungsverhältnisse wird hierzu für verschiedene, auch chemische Parameter der Anteil der dem Gewässer zumutbaren Belastung definiert, der aus einer bestehenden oder zukünftigen Punktquelle stammen darf (wasteload allocation, WLA). So soll sichergestellt werden, dass außerhalb der Mischungszone kaum merkliche Auswirkungen durch die Abwassereinleitung hervorgerufen werden.

Wenn eine Einleitung die Qualitätskriterien hinsichtlich seiner Toxizität nicht erfüllen kann, so können die überwachenden Behörden die Durchführung einer TI/RE-Untersuchung (Toxicity Identification/Toxicity Reduction) fordern. Diese Untersuchungen dienen der Identifizierung der chemischen Ursache der toxischen Wirkung (toxicity identification) und sie sollen die Behandlungsverfahren aufzeigen, mit deren Hilfe die Abwasserbelastung auf das genehmigungsfähige Maß vermindert werden kann (toxicity reduction).

Die Erteilung einer Einleitgenehmigung ist dann an die Einhaltung der Abwasserqualität und die regelmäßige Durchführung der oben beschriebenen integrativen Qualitätskontrollen (chemische Analysen und Toxizitätstest) gebunden. Mit diesen Kontrollen muss der Einleiter die Einhaltung der genehmigten Qualität nachweisen.

Anzuwendende Toxizitätstests: Das Mischungsverhältnis von Abwassereinleitung und Oberflächenwasser im Vorfluter bestimmt, welche aquatischen Toxizitätstests anzuwenden sind. Bei hoher Verdünnung nach der Einleitung (>1000 bei niedrigster Wasserführung) sind drei akute Toxizitätstests (Alge, Daphnie und Fisch) erforderlich, bei Verdünnungsfaktoren zwischen 100 und 1000 sollten entweder akute oder chronische Tests durchgeführt werden und bei noch ungünstigeren Verhältnissen mit geringerer Verdünnung (<100) ist die Durchführung chronischer Toxizitätstests obligatorisch. Generell ist am amerikanischen Verfahren die sehr ausgedehnte Anwendung von Toxizitätstests mit marinen und limnischen Organismen und die Berücksichtigung akuter wie chronischer Effekte auffällig, die meist drei Trophiestufen (Alge, Daphnie, Fische) umfassen.

Ergänzend zu den immissionsbasierten Anforderungen gibt es aber auch am Stand der Technik (best available technology) ausgerichtete Emissionsstandards, welche sich auf chemische Belastungsparameter beziehen.

Toxicity Identification Evaluation: Das TIE (toxicity identification evaluation) ist wohl das weltweit erste rechtlich verbindliche Verfahren der toxizitätsgleiteten Abwasseruntersuchung. Durch eine sukzessive Abfolge von Extraktions- und Fraktionierungsschritten, schließlich gefolgt von der Identifizierung, soll aus dem komplexen Stoffgemisch eines toxischen Abwassers hier die chemische Ursache für den akuten oder chronischen Effekt identifiziert werden. Nach der Identifizierung ist eine Verifizierung der Ergebnisse erforderlich, bei der nachzuweisen ist, dass die identifizierte Substanz in der detektierten Konzentration ursächlich für die gefundene toxische Wirkung ist [USEPA, 1991a, USEPA, 1993a, USEPA, 1993b]. Diesem Vorgehen lag die Erwartung zugrunde, dass es nach der Identifizierung vergleichsweise einfach sein sollte, die Emission des toxischen Stoffes durch betriebliche Maßnahmen zu unterbinden und damit die Abwassertoxizität zu beseitigen. Solange die chemische Ursache eines toxischen Effektes nicht bekannt ist, erschien dies wesentlich schwieriger.

Tatsächlich jedoch hat sich über die Jahre herausgestellt, dass die Identifizierung der toxischen Stoffe, insbesondere in Fällen organisch sehr komplexer Abwässer sehr schwierig, zeit- und kostenintensiv ist. Dies gilt insbesondere bei Verwendung höherer Organismen wie der Fische als Testorganismen. Deshalb scheint von der Durchführung dieser Prozedur im Rahmen der Genehmigung eher wieder abgerückt zu werden.

Weniger aufwendig und dennoch oft zielführend ist das (ältere) Verfahren der „Toxicity Reduction Evaluation“ [USEPA, 1989]. Hier wird durch einfache Probenmanipulation im Labor (pH-Wert Veränderung, Ausblasen, Komplexierungsmittelzugabe oder Extraktion) gefolgt von wiederholten Toxizitätstests die chemische Natur der toxischen Abwasserinhaltsstoffe und zugleich Möglichkeiten ihrer Entfernung eingegrenzt.

Alternativ, jedoch mit dem Ziel der Vermeidung toxischer Einträge in das betriebliche Mischabwasser ist das sog. „Toxicity Tracking“ zu sehen. Dabei wird ein im Ablauf detekterter

toxischer Effekt mithilfe des jeweiligen Biotests durch die Behandlungsanlage zurück in die betrieblichen Teilströme verfolgt und so die betriebliche Quelle der toxischen Wirkung lokalisiert. Ist dieses erfolgt, kann in dem jeweiligen Teilprozess die chemische Ursache der toxischen Wirkung oft recht schnell ermittelt werden, ohne dass weitere aufwendige Untersuchungen im Sinne des „Toxicity Identification Evaluation“ notwendig sind. Nun kann in günstigen Fällen durch Umstellungen im Produktionsprozess (z.B. Ersatz von Einsatzstoffen) die Abgabe des toxischen Stoffes in das betriebliche Abwasser und damit die Emission der Toxizität in den Vorfluter vermieden werden, ohne dass teure Modifizierungen in der Abwasserbehandlung erforderlich wären.

Mit den über ein Jahrzehnt gewonnenen Erfahrungen des oben beschriebenen Vorgehens zur Erteilung von Einleitergenehmigungen konnten Emissionen durch Abwassereinleitungen stark eingegrenzt und die Qualität der Oberflächengewässer deutlich verbessert werden [Ausley, 2000]. Der Erfolg dieser Strategie machte aber auch gleichzeitig deren Schwäche deutlich, denn mit der Verminderung von Punktquellen durch das NPDES gewinnen diffuse Einträge an Bedeutung; diese blieben aber bisher bei den Kalkulationen und Qualitätsbetrachtungen unberücksichtigt [Ho, 1997].

Hier von ausgehend ist laut Ho (1997) von der US Umweltschutzbehörde (EPA) angestrebt, von der Fixierung auf die Abwassertoxizität wegzukommen und verstärkt eine ökologische Risikoabschätzung zu betreiben. Dabei sollten auch synergistische Wirkungen verschiedener Einleitungen mit unterschiedlichen Belastungen nach deren Vermischung im Gewässer berücksichtigt werden [Ausley, 2000].

Zusammenfassend lässt sich das US-amerikanische Vorgehen wie folgt charakterisieren:

- stufenweises Vorgehen unter Einbeziehung der Toxizität, immissionsorientiert
- Berücksichtigung der akuten und chronischen Toxizität
- Einleitergenehmigung setzt Einhaltung der aus der Vorflutersituation abgeleiteten Standards voraus
- bei zu hoher Toxizität aufwendiges Untersuchungsverfahren (TIE)
- bisher keine Einbeziehung anderer gefährlicher Eigenschaften (Persistenz, Bioakkumlierbarkeit)

2.2.7 Deutschland

Das deutsche Abwasserrecht ist emissionsorientiert. Nach dem Wasserhaushaltsgesetz (WHG, §7a) darf eine Erlaubnis für das Einleiten von Abwasser nur erteilt werden, wenn die Schadstofffracht des Abwassers so gering gehalten wird, wie dies bei Einhaltung der jeweils in Betracht kommenden Verfahren nach dem Stand der Technik möglich ist [WHG, 1996]. In der bundeseinheitlich geltenden Abwasserverordnung (AbwV) und ihren Anhängen sind die Anforderungen festgelegt, die aus Sicht des Gesetzgebers dem Stand der Technik entsprechen [AbwV, 1999]. Die Anhänge der AbwV sind branchenspezifisch, so dass nicht alle industriellen Abwassereinleitungen die gleichen Emissionsanforderungen zu erfüllen haben. Im Allgemeinen sind in den Anhängen Grenzwerte für chemische Summen- oder Einzelparameter festgelegt.

Toxizität

Dem Aspekt der Abwassertoxizität direkt abzuleitender Abwässer wird im deutschen Abwasserrecht auf zwei Wegen Rechnung getragen:

Im Abwasserabgabengesetz (AbwAG, § 3, Abs. 1) wird festgelegt, dass die Abwasserabgabe nach Schadeinheiten bemessen wird, in die neben anderen Parametern für die Schädlichkeit auch die akute Giftigkeit des Abwassers gegenüber Fischen eingeht.

In 22 der 57 nach der AbwV geregelten Branchen sind Grenzwerte für die akute Fischgiftigkeit aufgeführt, die vor der Einleitung in ein Gewässer erfüllt sein müssen. Andere Toxizitätstests finden bislang nur in drei der Anhänge Berücksichtigung:

- Im Anhang 22 (Chemische Industrie) sind vor einer Einleitung in Gewässer Toxizitätsgrenzwerte im Fisch-, Daphnien-, Algen- und Lumineszenzhemmtest einzuhalten. Weiterhin muss der Test auf ein erbgutveränderndes Potenzial (umu-Test) ein negatives Ergebnis zeigen.
- Im Anhang 51 (Oberirdische Ablagerung von Abfällen) werden vor einer eventuellen Vermischung der Deponiewässer mit branchenfremden Abwässern eine Prüfung im Fisch-, Daphnien- und Lumineszenzhemmtest gefordert und entsprechende Grenzwerte festgelegt.
- Im Anhang 57 (Wollwäschereien) sind Grenzwerte für die Fisch- und die Daphnientoxizität des Abwassers für die Einleitungsstelle in das Gewässer festgelegt.

Die in den Anhängen festgelegten Toxizitätsgrenzwerte werden in Form von G-Werte angegeben. Der G-Wert beschreibt die niedrigste Verdünnungsstufe eines Abwassers im Biertest, bei der keine oder nur Effekte beobachtet werden, welche nicht die testspezifische Variabilität überschreiten. Der G-Wert wird dazu aus dem Kehrwert der Volumenfraktion des Abwassers im Test bei dieser Verdünnungsstufe gebildet.

Die folgenden Organismen werden gemäß der Anlage der AbwV in den Toxizitätstests eingesetzt:

- *Vibrio fischeri* im Leuchtbakterientest (Lumineszenzhemmung, 30 min)
- *Daphnia magna* im Daphnientest (Immobilisierung, 24 h)
- *Scenedesmus subspicatus* im Algentretest (Wachstumshemmung, 72 h)
- *Leuciscus idus* im Fischtest (Letalität, 48 h)

Durch Auswertung umfangreicher Datensammlungen aus der Überwachung von Abwassereinleitungen durch die zuständigen Wasserbehörden, bei der neben dem Fischtest häufiger auch Leuchtbakterien-, Daphnien- und/oder Algenteste eingesetzt wurden, konnte das Umweltbundesamt für viele Branchen typische Abwasser-Toxizitäten auch mit anderen Biostests ermitteln [Diehl & Hagendorf, 1998]. Die Sinnhaftigkeit der Bestimmung akuter Toxizitäten mit anderen Tests und auch in weiteren als den bisher in der AbwV berücksichtigten Branchen konnte damit aufgezeigt werden. Darüber hinaus wurde der Einsatz der anderen Biostests zusätzlich zum Fischtest zur Festlegung von Mindestanforderungen an Abwassereinleitungen für einige weitere Herkunftsbereiche empfohlen.

Persistenz:

Auch das zweite Kriterium für Gefährlichkeit, die Persistenz, findet mittelbar Beachtung. So ist in sehr vielen der branchenspezifischen Anhänge der AbwV die Bestimmung des BSB₅ vorgesehen und ein Grenzwert für den Sauerstoffbedarf festgelegt. Diese Untersuchung zielt allerdings auf die Limitierung der Sauerstoffzehrung, die durch eine Einleitung unvollständig biologisch behandelter Abwässer im Oberflächenwasser eintreten könnte. Zwar handelt es sich bei dem Verfahren der BSB₅-Bestimmung auch um einen Abbaustest, so dass der Eindruck entstehen könnte, in den bestehenden gesetzlichen Regelungen wäre insofern auch dem Aspekt der Persistenz Rechnung getragen. Wie allerdings in Kapitel 3.3 dargelegt wird, ist die Methodik eines Abbaustests immer in Hinblick auf die gewünschte Aussage zu wählen. Die BSB₅-Bestimmung ist insofern nicht geeignet, dem Aspekt der Persistenz Rechnung zu tragen, weil die Versuchszeit zu kurz ist (5 Tage anstelle der üblicherweise vorgesehenen 28 Tage und länger), weil starke Verdünnungen und damit Eingriffe in die Probenmatrix vorgenommen werden und weil schließlich der Messparameter (O₂-Verbrauch) keine Informationen über die Menge an organischen Stoffen nach dem Abbau liefert.

Ginge man davon aus, dass behandelte Industrieabwässer keine biologisch abbaubaren Stoffe enthielten, so würde der CSB (oder hilfsweise der DOC) des behandelten Ablaufs ein Maß für die Menge persistenter Stoffe in einer Einleitung sein. Jedoch ist diese Annahme nur eingeschränkt richtig, so dass von einer Berücksichtigung des Parameters Persistenz eigentlich nicht gesprochen werden kann.

Darüber hinaus sind in Deutschland gegenwärtig keine Strategien zum breiteren Einsatz von Toxizitätstests oder unter Berücksichtigung anderer gefährlicher Eigenschaften (Bioakkumlierbarkeit, Persistenz, subletale Effekte) bei der Untersuchung von Abwassereinleitungen bekannt.

Allerdings gibt es, auch mit Unterstützung des Umweltbundesamtes, Aktivitäten in der Methodenentwicklung von Toxizitätstests und eines Verfahren zur Bestimmung potenziell bioakkumulierbarer Stoffe (siehe Kapitel 3).

2.2.8 Vergleich der Untersuchungsstrategien

Emission vs. Immission: Ein grundlegender Unterschied der verschiedenen vorgestellten Strategiekonzepte besteht in deren Emissions- oder Immissionsorientierung. Während die immissionsorientierten Konzepte die Gegebenheiten an der Einleiterstelle und in deren weiterem Umfeld bei der Bewertung des Umweltgefährdungspotenzials berücksichtigen (z.B. Dänemark, Schweden, England und USA) und dabei die Qualität des Oberflächenwassers nach der Einleitung und Durchmischung berücksichtigen, konzentrieren sich die emissionsorientierten Konzepte auf die Qualität des abzuleitenden Abwassers (z.B. Niederlande, Deutschland).

Der Untersuchungsaufwand zur Durchführung immissionsorientierter Untersuchungsstrategien ist wegen des größeren zu betrachtenden Systems und des sehr viel weitergehenden Informationsbedarfs (Bestimmung der PEC) oft hoch; er kann bis hin zu Feldstudien im betroffenen Gewässer und dessen Sediment reichen (z.B. Dänemark, Schweden).

Untersuchungsparameter: Die Untersuchungsstrategien aus Dänemark, Schweden und den Niederlanden umfassen die Parameter akute und chronische Toxizität, Gentoxizität, Persistenz und potenzielle Bioakkumulierbarkeit. In anderen Ländern wie England und USA werden bisher nur die akute und chronische Toxizität des Gesamtabwassers getestet.

Im niederländischen Konzept der Gesamtabwasseruntersuchung wird die Bestimmung der chronischen Toxizität nach einem biologischen Abbaustest (Simulation des biologischen Abbaus im Gewässer) durchgeführt. Eine ähnliche Kopplung von Abbauprozessen mit Toxizitätstests findet sich auch in der dänischen und schwedischen Strategie. Chronische Toxizitätstests sind dann besonders relevant, wenn Hinweise auf persistente oder bioakkumulierende Abwasserfraktionen vorliegen und können vor oder nach einem biologischen Abbau durchgeführt werden.

Im emissionsorientierten niederländischen Konzept werden die Parameter Toxizität, Persistenz und Bioakkumulierbarkeit als gleich relevante Gefährdungsparameter angesehen. In den immissionsorientierten Untersuchungskonzepten ist insbesondere das Vorliegen von persistenten und toxischen oder persistenten und bioakkumulierenden Abwasserfraktionen Anlass für vertiefende Untersuchungen hinsichtlich der Auswirkungen der Einleitung auf ihr Einflussgebiet.

Testverfahren: Für die Bestimmung von Toxizität und Gentoxizität werden durchgängig national oder international standardisierte Testverfahren angewendet. Biologische Abbauprozesse zur Ermittlung der Persistenz werden z.T. in Anlehnung an OECD- oder ISO-Vorschriften durchgeführt, welche jedoch eigentlich für Einzelstoffuntersuchungen entwickelt worden und standardisiert sind, aber nicht für Abwässer mit unbekannten Stoffgemischen. Die Bestimmung der potenziell bioakkumulierenden Verbindungen erfolgt nach verschiedenen, in den einzelnen Ländern entwickelten Methoden.

Abschließende Betrachtung

Insgesamt bestehen Gemeinsamkeiten in der Art der berücksichtigten Effektparame ter, der Verwendung von weitgehend standardisierten organismischen biologischen Tests und der chemischen Charakterisierung des Abwassers vor den Untersuchungen der Effektparame ter. Die bisher vorgestellten Strategiekonzepte sind offen und flexibel ausgelegt hinsichtlich zukünftiger Entwicklungen von weiteren als relevant erkannten Effektparametern und verbesserter Verfahren zur Bestimmung der bisher untersuchten Effektparame ter.

Deutliche methodische Unsicherheit ist noch hinsichtlich der Bestimmung von Persistenz und vor allem auch der potenziellen Bioakkumulierbarkeit zu erkennen.

Auch eine Differenzierung zwischen Indirekt- und Direkteinleitern findet sich, außer im dänischen Konzept, nicht. Da die in das kommunale Abwassernetz abzuleitenden industriellen Abwässer i.d.R. nur vorbehandelt sind, ist hier mit einer allgemein höheren Abwasserbelastung als bei Direkteinleitern zu rechnen. Dies sollte in einer Untersuchungsstrategie Berücksichtigung finden.

In keiner der Untersuchungsstrategien wurde bisher der Eintrag von an Schwebstoffen gebundenen gefährlichen Stoffen in die aquatische Umwelt berücksichtigt. Zwar ließe sich streng genommen die Ansicht vertreten, dass die partikuläre Phase eines Abwassers nicht eigentlich eine Wasser-Belastung darstellt. Jedoch können auch partikulär gebundene Schadstoffe im Vorfluter eine Gefährdung hervorrufen, wenn sie gemeinsam mit den Partikeln als Nahrung aufgenommen werden oder in einem veränderten chemischen Milieu wieder desorbieren und in die Wasserphase übergehen.

Noch weitgehend offen, und zwar in allen Strategieentwürfen, ist ferner der quantitative Aspekt bei der Bestimmung von Bioakkumulierbarkeit und Persistenz. Allenfalls im schwedischen Konzept ist für den Parameter PBS ein erster Versuch der Quantifizierung unternommen worden. Dieser ist aber wegen des immissionsorientierten Ansatzes nur begrenzt hilfreich. Damit ist letztlich unklar, unterhalb welchen Wertes ein Befund als unbedenklich gilt, und ab welcher Höhe einzelne Parameter bzw. Effekte als so bedeutend einzustufen sind, dass Maßnahmen zur Verbesserung der Abwasserbehandlung zu fordern sind.

3 Methoden zur Bestimmung der Effektparameter Toxizität, Bioakkumulation und Persistenz

3.1 Ökotoxizität

3.1.1 Grundlagen

Biologische Testverfahren mit aquatischen Organismen werden eingesetzt, um die Schadwirkung von Stoffen zu ermitteln für den Fall, dass sie in die aquatische Umwelt eingetragen werden. Das Hauptziel ist dabei die Abschätzung von Schadstoffkonzentrationen, welche noch keine toxische Wirkung hervorrufen, um ein Überleben und eine normale Entwicklung aquatischer Organismen und ein Funktionieren der Biozönose in Gewässern zu gewährleisten.

In der Regel werden dazu Labortests mit einzelnen Organismenarten unter Vernachlässigung weiterer Umwelteinflüsse durchgeführt, da die Nachbildung komplexerer Umweltsysteme nur mit großem Aufwand möglich ist. Dies führt zu einer reduzierten ökologischen Relevanz der Ergebnisse. Da jede Testspezies ihre eigene Empfindlichkeit gegenüber einem Schadstoff hat, ist auch die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf andere Organismen nur begrenzt möglich. Jedoch sind wichtige Vorteile von Labortests ihre Standardisierbarkeit, Reproduzierbarkeit und leichtere Realisierbarkeit [Rudolph, 1992]. Ein hier erkannter Effekt wird auch in der ökologischen Realität auftreten, ein Kausalzusammenhang ist aufgrund der vielfältigen anderen Einflüsse (z.B. gemeinsame Wirkung verschiedener Stoffe, abiotische Faktoren) dann jedoch nur noch schwer herzustellen.

Verschiedene biologische Endpunkte werden zur Detektion toxischer Wirkungen auf aquatische Organismen herangezogen, welche von der Betrachtung des gesamten Organismus bis hin zur biomolekularen Ebene reichen. Zu diesen Endpunkten gehören Mortalität, Reproduktion, Verhalten und Wachstum von Organismen, aber auch Veränderungen von Zellfunktionen und Enzymaktivitäten.

Das Ausmaß einer toxischen Wirkung hängt von der Expositionskonzentration des Schadstoffs und der Dauer der Exposition des Testorganismus ab. Mit akuten Toxizitätstests wird die Wirkung nach einer kurzen Expositionsdauer in Bezug auf die Lebensdauer des Testorganismus bestimmt. Ein typischer Endpunkt in organismischen Tests ist die Überlebensrate der Testorganismen. In Tests mit Mikroorganismen wird zumeist die Hemmung des Wachstums oder spezieller biologischer Funktionen detektiert. Das Testergebnis wird oft als letale Konzentration oder Effektkonzentration angegeben, bei der 50 % der Testorganismen eine Wirkung anzeigen (LC_{50} oder EC_{50}). In einem chronischen Toxizitätstest umfasst die Expositionperiode dagegen eine längere Lebensphase der Organismen, um auch subletale Effekt zu erfassen. Besondere Lebensstadien wie die frühe Entwicklung und Prozesse wie die Reproduktion gelten als besonders empfindlich. Das Ergebnis wird in der Regel als niedrigste Testkonzentration angegeben, bei der erste Effekte nachgewiesen werden (LOEC; lowest observed effect concentration) oder als höchste Testkonzentration, bei der noch keine Effekte erzeugt werden (NOEC; no observed effect concentration).

Die Empfindlichkeit des gewählten biologischen Testsystems, also die Detektierbarkeit einer toxischen Wirkung, hängt zum einen vom Schadstoff ab und zum anderen vom Testorganismus oder Testsystem selbst. Seine physikalisch-chemischen Eigenschaften bestimmen die Verteilung des Schadstoffs im Organismus sowie den Wirkort und die Wirkart, über die er in die Funktionen des Organismus eingreift. Von den Metabolisierungs- und Eliminationsmechanismen, welche für den jeweiligen Organismus zur Verfügung stehen, hängt es ab, ob und nach welcher Zeit sich ein Effekt auf zellulärer oder organismischer Ebene manifestiert. Darin liegt auch die unterschiedliche Empfindlichkeit zwischen Spezies der vier aquatischen Trophieebenen und innerhalb dieser Ebenen begründet.

Biologische Testverfahren werden für verschiedene Untersuchungszwecke eingesetzt. Zu diesen gehören die Bestimmung von Dosis-Wirkungsbeziehungen für Einzelstoffe, die Überwachung von Abwassereinleitungen oder das Monitoring der Gewässerqualität. Je nach dem Zweck der Untersuchung sind dafür spezielle und unterschiedliche Testeigenschaften erforderlich [Nusch, 1991]. Eine Vielzahl von Testsystemen sind dazu entwickelt worden. Neben Tests mit Organismen werden zunehmend sogenannte suborganismische Testsysteme entwickelt, welche *in vivo* oder *in vitro* toxische Wirkungen auf Zellkulturen oder auf biomolekularer Ebene messen. Zu den suborganismischen Tests gehören auch Tests auf erbgutverändernde Wirkungen (Gentoxizität).

Abwassereinleitungen sind komplexe Gemische zumeist unbekannter Einzelstoffe. Durch den Einsatz biologische Testverfahren für Abwasseruntersuchungen können gemeinsame toxische Wirkung aller Abwasserinhaltsstoffe erfasst werden; durch Festlegung von Grenzwerten lässt sich dann die Gesamt-Toxizität begrenzen. Dementgegen kann durch Festlegung von Konzentrations-Grenzwerten für bekannte toxische Einzelstoffe immer nur die Gefährdung der aquatischen Umwelt durch genau diese Stoffe verhindert werden.

Zum Einsatz in der Kontrolle von Abwassereinleitungen müssen Biotests bestimmte Anforderungen erfüllen [Steinhäuser, 1996a]:

- Standardisierte Testvorschrift
- Gute Reproduzierbarkeit und relativ einfache Realisierbarkeit und Praktikabilität (Durchführung, Zeitaufwand, Kosten, Testorganismen über das ganze Jahr verfügbar)
- Eindeutige Testergebnisse (rechtsmittelfest)

Im folgenden werden die verschiedenen standardisierten Testsysteme vorgestellt, welche für Abwasseruntersuchungen eingesetzt wurden. Eine Übersicht mit den Referenzen ist im Anhang 2 zu finden.

3.1.2 Akute Toxizitätstests

Fische und Crustaceen

Die am häufigsten eingesetzten Tests auf akute Toxizität in Abwasseruntersuchungen sind Tests mit *Fischen* und *Daphnien* unter Süßwasserbedingungen. Sie sind anerkannt und international sowie national standardisiert (z.B. ISO, OECD, US-EPA). Die Testvorschriften sind sehr ähnlich, Abweichungen bestehen in dem Einsatz von verschiedenen Fisch- oder Daphnien-Spezies. Fischtets werden mit 1-14 Tage alten oder älteren Fischen je nach Spezies über 48-96 h durchgeführt mit dem Testendpunkt Mortalität. In Daphnientests werden < 24 h alte Daphnien über 24-48 h exponiert und dann die Zahl der immobilen Daphnien ausgewertet. Beide Tests werden über verschiedene Verdünnungsstufen des Testguts durchgeführt und das Ergebnis als LC₅₀, EC₅₀ oder als G-Wert (niedrigste nichtwirksame Verdünnungsstufe) angegeben.

Tests unter Brack- und Salzwasserbedingungen werden seltener angewendet. Für verschiedene marine Fischarten gibt es aber standardisierte Verfahren von der US-EPA; auch von der ISO wird zur Zeit eine Testvorschrift vorbereitet. Anstelle von Daphnien werden für Untersuchungen unter Salzwasserbedingungen *Copepoden* oder *Myside* eingesetzt. Für Copepoden wurde kürzlich eine ISO-Vorschrift (ISO 14669, 1999) veröffentlicht. Nach 24 und 48 h Exposition in verschiedenen Verdünnungsstufen wird die Mortalität detektiert und der LC₅₀ bestimmt. Myside werden in einer US-EPA-Vorschrift eingesetzt und die Mortalität als LC₅₀ nach 48 und 96 h bestimmt [USEPA, 1993c].

Rotatorien und Protozoen

Tests mit Rotatorien und Protozoen wurden bislang nur in einigen Abwasseruntersuchungen dagegen häufiger für die Untersuchung von Einzelstoffen eingesetzt. Eine Übersicht über die verschiedenen Testausführungen geben Snell & Janssen (1998) für Rotatorien-Tests und Gilron & Lynn (1998) für Protozoen-Tests. Bisher gibt es keine international standardisierten Vorschriften, jedoch ist für Rotatorien (Süß- und Salzwasser, 24 h Letalität) eine ASTM Methode verfügbar. Rotatorien werden zunehmend in Form von Testkits eingesetzt, da mit ihnen kontrolliert über lange Zeit reaktivierbare Dauereier gewonnen werden können (siehe S. 43). In Deutschland wird zur Zeit ein DIN-Entwurf für einen Protozoen-Test entwickelt.

Muscheln

Für Tests mit Muscheln unter Salzwasserbedingungen existieren US-EPA Vorschriften (ASTM). In England wird derzeit im Rahmen des „Direct Toxicity Assessment“ (Kap. 2.2.3) eine Vorschrift mit Austern (*Crassostreas gigas*) getestet. In dieser wird die Embryo-Larval-entwicklung verfolgt, indem Embryonen kurz nach der Befruchtung über 48 h exponiert werden, um dann die Mortalität sowie abweichende Entwicklungen zu bestimmen.

3.1.3 Chronische Toxizitätstests

Chronische Toxizitätstests werden im Allgemeinen in Kurz- und Langzeittests unterschieden. Chronische Kurzzeittests dauern nicht länger als sieben Tage und als Testendpunkte werden zumeist Überleben, Wachstum und Reproduktion verwendet. Die meisten für Abwasser-

untersuchungen geeigneten Testvorschriften wurden seit Ende der 80 Jahre von der US-EPA entwickelt.

Chronische Kurzzeit-Tests

Fische

Zwei Kurzzeit-Fischtests wurden von der US-EPA entwickelt [USEPA, 1994a; USEPA, 1994b]. Im ersten Test wird die Mortalität und das Wachstum von Fischlarven nach Exposition über sieben Tage bestimmt. In einem zweiten Test wird die Mortalität von Fischembryonen von kurz nach der Befruchtung bis zum Ausschlüpfen der Larven verfolgt (ca. vier Tage). Die Larven werden dann weitere vier Tage exponiert, um anhand eines möglichen Auftretens morphologischer Veränderungen das Vorliegen teratogen wirkender Stoffe zu erkennen.

Amphibien

Von der ASTM wurde ein Test mit dem Krallenfrosch *Xenopus laevis* zur Ermittlung von teratogen wirkenden Stoffen entwickelt, der sogenannte FETAX (Frog Embryo Teratogenesis Assay-Xenopus, ASTM 1439-98). Frosch-Embryonen in einem bestimmten Anfangsentwicklungsstadium werden über 96 h exponiert und dann die Zahl der missgebildeten Embryonen unter dem Mikroskop ausgewertet. Umweltproben (Oberflächenwasser, Sedimentextrakte) wurden z.B. von Fort et al. (1999) mit dem FETAX untersucht.

Crustaceen

Chronische Kurzzeittests werden zunehmend mit *Ceriodaphnia dubia* durchgeführt, da sie eine kürzere Reproduktionszeit von 3 bis 5 Tagen gegenüber *Daphnia magna* (9 bis 11 Tage) besitzt. In der Testvorschrift der US-EPA für *C. dubia* werden frisch geschlüpfte Daphnien bis zu acht Tage im Abwasser exponiert und das Überleben sowie die Reproduktionsrate bestimmt [USEPA, 1994b].

Rotatorien

Rotatorien vermehren sich parthenogenetisch wie Daphnien und besitzen gegenüber anderen Organismen sehr kurze Reproduktionszeiten, daher sind sie für chronische Kurzzeit-Test von Interesse. Zur Zeit wird in Frankreich ein Rotatorien-Reproduktionstest mit *Brachionus calyciflorus* über 48 h für Abwasseruntersuchungen in einem Ringversuch getestet. Zu Beginn des Tests werden in die Vertiefungen einer Mikrotiterplatten je ein Rotifer (< 2 h alt) gegeben und nach der Exposition die Zahl der Rotatorien pro Vertiefung bestimmt.

Algen

Eine häufig eingesetzte und international standardisierte Methode ist die Bestimmung der Wachstumshemmung von Algen. Kulturen von einzelligen grünen Algen (zumeist *Scenedesmus subspicatus*) werden über 72 oder 96 h exponiert und die Zellkonzentrationen mindestens täglich gemessen. Ausgewertet werden die Wachstumshemmung und die Wachstumsrate [OECD, ISO, USEPA, 1994a; USEPA, 1994b].

Höhere Pflanzen

Verschiedene nationale Vorschriften stehen für die Durchführung von chronischen Tests über sieben Tage mit verschiedenen *Lemna*-Spezies zur Verfügung (ASTM, EPA, OECD-Entwurf). Eine Hemmung des Wachstums wird über die Gesamtzahl der Blätter, die Wachstumsrate und/oder über das Absterben von Blättern ermittelt. Zur Zeit wird ein DIN-Entwurf in Deutschland entwickelt.

Chronische Langzeit-Tests

Chronische Langzeittests werden wesentlich seltener für die Untersuchung von Abwassereinleitungen eingesetzt. In der dänischen Untersuchungsstrategie ist auf der zweiten Untersuchungsebene der Einsatz von chronischen Fisch- und Daphnientests vorgesehen. In der niederländischen Strategie werden diese Tests nach dem biologischen Abbautest eingesetzt. Die Tests werden in Anlehnung an OECD Vorschriften durchgeführt.

Langzeitfischtests können als verlängerte Toxizitätstests mit adulten Fischen bis zu 14 Tagen (Mortalität und Verhaltensänderung) oder als Tests mit frühen Entwicklungsstadien durchgeführt werden. Im letzteren Test werden befruchtete Fischeier eingesetzt und der Test solange fortgesetzt, bis der Dottersack der Kontrollfische resorbiert ist. Letale und subletale Effekte werden betrachtet (OECD).

Der chronische Reproduktionstest mit *Daphnia magna* geht über 21 Tage und misst die Zahl der lebendigen Nachkommen pro Daphnie (z.B. OECD 202). Von der ASTM gibt es eine Vorschrift bei der der chronische Kurzeitzeit-Test mit *C. dubia* bis zu 15 Tage verlängert wird, um den Effekt auf die im Test geschlüpften Daphnien mit zu erfassen.

3.1.4 Mikroorganismen

Leuchtbakterien

Der akute Leuchtbakterientest gehört zu den am häufigsten eingesetzten Biotests für Abwässer und ist international standardisiert (ISO). Die Methode beruht auf der Detektion der Hemmung des Leuchtens von *Vibrio fischeri*, welche in der Regel nach 30 min Testdauer bei 15° C bestimmt wird. In den Standardvorschriften wird der Test als Küvettentest durchgeführt.

Ein chronischer Test mit Leuchtbakterien, in dem die chronische Wirkung nach 22 Stunden Inkubation bei 27° C gemessen wird, befindet sich zur Zeit in der Erprobung. Nach der Inkubation wird die Abnahme der Leuchttintensität gemessen, welche durch eine Erschöpfung des Zellmetabolismus induziert wird. Dieser Test ist in der niederländischen Untersuchungsstrategie als ein Test zur Prüfung auf chronische Toxizität vorgesehen [Tonkes, 2000].

In einer Untersuchung von 25 Schadstoffen wurden der chronische Leuchtbakterientest, der 48 Stunden-Reproduktionstest mit dem Rotifer *B. calyciflorus* und der *D. magna* Reproduktionstest über 21 Tage miteinander verglichen [Radix et al., 1999]. Der Rotatorientest war zwar etwas unempfindlicher als der Daphnientest, zeigte aber dennoch eine recht gute Korrelation. Der chronische Leuchtbakterientest zeigte bei einer vergleichbaren Empfindlichkeit mit dem

Daphnientest allerdings eine sehr viel schlechtere Korrelation. Beide Tests, der chronische Leuchtbakterientest und der Rotifertest, wurden in dieser Arbeit als geeignet für das Screening chronischer Wirkungen angesehen. In vergleichenden Abwasseruntersuchungen der chronischen Wirkung im 22 h Leuchtbakterientest mit der chronischen Toxizität von *C. dubia* und *P. promelas* ergaben die NOEC-Werte eine gute Korrelation des chronischen Leuchtbakterientests zum Daphnientest, die NOEC-Werte des Daphnientests waren dabei jedoch etwas höher [Sweet et al., 1997].

In Deutschland steht eine DIN-Vorschrift zur Verfügung, mit der die Wachstumshemmung von *V. fischeri* über 7 h bestimmt wird (DIN 38412-37). In einem Vergleich der beiden Testendpunkte Wachstums- (7 h) und Lumineszenzhemmung (24 h) nach der Untersuchung von Einzelstoffen war die Wachstumshemmung als Endpunkt deutlich weniger empfindlich für Schwermetalle [Gellert, 2000]. Für organische Stoffe war der Wachstumshemmtest dagegen zumeist um den Faktor 2 unempfindlicher. Dies könnte von der hohen Konzentration an Nährstoffen im Testmedium des Wachstumshemmtests im Gegensatz zum 24h-Lumineszenzhemmtest bewirkt sein (Verlust von Stoffen durch Adsorption), die Reproduktionsrate des Wachstumshemmtests ist mit einem Faktor von 10 in 7 h dagegen höher als im 24h-Test mit nur einem Faktor von ungefähr 2 [Froehner et al., 2000].

Pseudomonas putida

National oder international standardisierte Testvorschriften stehen für die Bestimmung akuter oder chronischer Wirkungen mit *Pseudomonas putida* (Stellvertreter für heterotrophe Mikroorganismen in Oberflächengewässern) zur Verfügung. In akuten Tests wird die Atmungshemmung nach 30 min (DIN) und in chronischen Tests die Wachstumshemmung nach 16 h detektiert (SO).

Andere Testsysteme

Weitere Tests mit Mikroorganismen werden häufig für die Untersuchung von indirekten Abwassereinleitungen eingesetzt, mit dem Ziel die biologische Abwasserbehandlung vor Störungen durch Hemmstoffe in diesen Abwässern zu schützen. Hierzu gehören Tests mit Belebtschlamm, um eine Hemmung der Atmung des Belebtschlamm (Respirationshemmung, ISO, OECD) oder der Nitrifikation (ISO) zu ermitteln. In einem ISO-Entwurf wird ein anaerober Screening-Test beschrieben, mit dem eine toxische Wirkung der Abwasserinhaltsstoffe auf die anaerobe Gasbildung bei der Faulung erfasst werden soll (ISO).

3.1.5 Nicht standardisierte organismische Tests

Fischei-Test

In Deutschland wurde der Fischei-Test, bei dem befruchtete Fisch-Eizellen über 48 h exponiert werden, für die Bestimmung der akut toxischen Wirkung von Abwassereinleitungen auf die Embryonalentwicklung erprobt. Endpunkte dieses Tests sind einerseits Parameter, denen die gleiche Bedeutung wie die Letalität für adulte Fische zugewiesen wird, und andererseits Parameter, welche auf spezifische Wirkmechanismen hinweisen. Ein Vergleich dieses Tests mit dem akuten Fischtest zeigte eine höhere Empfindlichkeit des Fisch-Eizell-Tests und eine

Erhöhung der Aussagekraft gegenüber dem Fisch-Test, da Informationen über bestimmte Wirkmechanismen gewonnen werden können [Friccius et al., 1995; Lange et al., 1995]. Zur Zeit befindet sich der Test in der Endphase des Normungsverfahrens. In der zukünftigen DIN-Vorschrift ist allerdings nur die Auswertung von Schädigungen, die als definitive Störungen der Embryonalentwicklung zum Tod führen, vorgesehen (DIN 38415-6 Entwurf 2000).

Toxizitätstests-Kits

Zunehmend werden sogenannte Toxizitätstest-Kits eingesetzt. Dies sind Fertigtests, die vom Hersteller soweit vorbereitet sind, dass die Toxizitätstests ohne große Vorbereitungen im Labor durchgeführt werden können. Enthalten sind die Testorganismen als Dauereier sowie die zur Vitalisierung notwendigen Medien. Ihr Vorteil ist die leichte Durchführbarkeit und es entfällt die Hälterung der Testorganismen. Bisher gibt es die folgenden Test-Kits:

| | |
|-----------------|---|
| Rotoxkit F: | Süßwasser Rotifer <i>Brachionus calyciflorus</i> |
| Rotoxkit M: | Salzwasser Rotifer <i>Brachionus plicatilis</i> |
| Thamnotoxkit F: | Süßwasser Crustacee <i>Thamnocephalus platyurus</i> |
| Streptoxkit F: | Süßwasser Crustacee <i>Streptocephalus proboscideus</i> |
| Artoxkit M: | Salzwasser Crustacee <i>Artemia salina</i> . |

Die Toxkits Rotoxkit F, Streptoxkit F und Thamnotoxkit F wurden von Latif et al. (1995) mit dem akuten *D. magna* Test (24 h) über die Untersuchung von 42 kommunalen und industriellen Abwassereinleitungen verglichen. Die Toxkits zeigten sich als genauso empfindlich wie der Daphnientest, *T. platyurus* war für 75 % der toxischen Proben empfindlicher als *D. magna*. In den ersten Untersuchungen zur Erprobung der niederländischen Untersuchungsstrategie wurden die Toxkits Rotoxkit F und M, Thamnotoxkit F sowie Artoxkit M mit einbezogen [Tonkes & Baltus, 1997]. Diese zeigten sich hier als weniger empfindlich im Vergleich zu den auch durchgeföhrten akuten Leuchtbakterien- und Daphnientests.

Miniaturisierte Testsysteme

Miniaturisierte Testsysteme werden vor allem in Hinblick auf die Automatisierung von bestehenden Testmethoden oder die Reduzierung des für einen Test benötigten Probenvolumens entwickelt.

Beispiele sind der miniaturisierte Leuchtbakterientest in Mikrotiterplatten (100 µl Probe; Fiehn et al., 1997) sowie der Einsatz von Daphnien (*D. magna* < 24 h alt) oder frisch geschlüpften Fischlarven (*P. promelas*) in 48 Loch Mikrotiterplatten (2 ml Probe; Powell et al., 1996). Auch der Algenwachstumshemmtest kann in miniaturisierter Form durchgeführt werden [z.B. Höhne, 1991; Blaise et al., 1998].

Da die miniaturisierten Tests mit den gleichen Organismen, den gleichen Endpunkten und meist auch mit den gleichen Medien arbeiten wie ihre Vorgänger auf „Normalmaß“, sind sie auch nicht grundsätzlich anders zu bewerten. Erforderlich ist allerdings die jeweilige Validierung gegenüber dem Ausgangstest.

3.1.6 Suborganismische Tests

Suborganismische Testsysteme detektieren toxische Wirkungen auf zellulärer, enzymatischer oder biomolekularer Ebene. Ihr grundlegendes Prinzip ist die Simulierung von biomolekularen Zielorten in Organismen, welche aufgrund ihrer Wechselwirkung mit Schadstoffen zu einer Manifestierung toxischer Wirkungen führen.

In diesen Tests werden allerdings die den Organismen zur Verfügung stehenden Metabolisierungs- und Eliminationsmechanismen nicht mit abgebildet. Daher können diese nur einen ersten Hinweis auf eine potenzielle Schädigung des Gesamtorganismus liefern und müssen mit organismischen Tests abgeglichen werden, wenn sie als Ersatz für diese herangezogen werden sollen.

Suborganismische Tests werden gemeinsam mit miniaturisierten Varianten organismischer Tests häufig als sogenannte Mikrobiotests bezeichnet [Blaise, 1998].

Fischzelltests

Verschiedene Testsysteme mit Fischzellen wurden entwickelt, um die Zahl von Fischtests zu reduzieren oder Fischtests ganz verzichtbar zu machen, allerdings ist noch kein Test etabliert [Denizeau, 1998]. Als Fischzelllinien werden häufig RTG-2 Fibroblasten (Gonadengewebe von Regenbogenforellen, rainbow trout gonads) oder BF-2 Fibroblasten (bluegill sunfish) verwendet. Daneben kommen auch primäre Zellkulturen z.B. Regenbogenforellen Hepatozyten zum Einsatz. Die Tests werden in Mikrotiterplatten mit 24 h Inkubation durchgeführt. Zumeist wird die Vitalität der Zellen über den Neutralrot-Test (Schädigung der Zell- und Lyosomenmembran) oder den MTT-Test (Hemmung von Enzymen in Mitochondrien) mit Hilfe von Farbreaktionen erfasst. Andere verwendete Effektparameter neben der Cytotoxizität sind die Zellmorphologie oder die Zelladhäsion.

Der RTG-2 Fischzelltest zeigte sich in Untersuchungen von Einzelstoffen als unempfindlicher im Vergleich zum akuten Fisch- und dem Fischei-Test [Lange et al., 1995]. Von Gagné & Blaise (1998a) wurden vergleichende Untersuchungen von Abwässern mit zwei Cytotoxizitätstests (Regenbogenforellen Hepatozyten sowie Fibroblasten) und dem akuten Fisch-Test (Regenbogenforelle) durchgeführt. Für die untersuchten Abwässer wurde eine bessere Korrelation des Hepatozyten-Tests mit dem Fischtest festgestellt. In einem anschließenden Ringtest erschien der Test reproduzierbar und übertragbar auf andere Labore [Gagné et al., 1999].

P450 Induktions-Test

Das Enzym Cytochrom P450, das in Leberzellen von Fischen und anderen Wirbeltieren vorhanden ist, wird als Biomarker für die Exposition mit organischen Schadstoffen verwendet. Im P450-Induktionstest wird die Induktion von Detoxifizierungsenzymen über die Cytochrom P-abhängige enzymatische Aktivität von 7-Ethoxyresorufin-O-Deethylase (EROD) in der Leber von Regenbogenforellen gemessen. Die Fische werden über 96 h exponiert und anschließend Leberhomogenisate für den Enzymtest vorbereitet. Für die Untersuchungen von Abwasserproben wurde der Test z.B. von Burnison et al. (1996) und Garric et al. (1996) eingesetzt.

Enzymatische Tests

In enzymatischen Testsystemen wird die Hemmung von Enzymaktivitäten *in vitro* detektiert. Es gibt Testsysteme zur Detektion der Cholinesterase-, Urease- oder Aldehyddehydrogenase-Hemmung [Obst et al., 1998]. In Deutschland ist eine normierte Vorschrift für den Cholinesterase-Hemmtest verfügbar (DIN 38415-1). Mit ihm können gezielt Organophosphat- und Carbamat-Pestizide detektiert werden. Der Test ist insofern direkt als Wirktest geeignet, als mit ihm die Hemmung der Cholinesterase quantifiziert werden kann und damit die Wirkung auf das Nervensystem. Für Abwasseruntersuchungen wurde dieser Test kaum eingesetzt, Haupteinsatzgebiet war bisher das Monitoring von Oberflächengewässern.

Immunoassays

Immunoassays beruhen auf dem Prinzip der Messung der Belegung der Bindungsstellen von Antikörpern durch die Zielanalyten. Da die Bindungsreaktion selbst kein leicht detektierbares Signal liefert, werden verschiedene Marker für die Detektion der Immunreaktion eingesetzt. Je nach Detektionsart gibt es z.B. Radio-Immunoassays (RIA), enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) oder Fluoreszenz Immunoassays (FIA). Durch die Verwendung von Antikörpern können Testsysteme für spezifische Analyten entwickelt werden. Diese existieren für eine Vielzahl von Pestiziden, sowie PAHs und PCBs und werden für die Untersuchung von Gewässern eingesetzt. [Dankwardt et al., 1998]. In Deutschland sind in einer DIN-Vorschrift Rahmenbedingungen für die Durchführung von Immunoassays zur Bestimmung von Pflanzenbehandlungs- und Schädlingsbekämpfungsmitteln festgelegt (DIN 34815-2).

Für Untersuchungen industrieller Abwässer erscheinen Immunoassays aufgrund der komplexen Matrix und der dadurch bewirkten Cross-Reaktionen eher ungeeignet. Darüber hinaus bilden sie keine toxische Wirkung ab, sondern sind gegen die Struktur des jeweiligen Zielanalyten ausgerichtet. Insofern sind sie nicht als Toxizitätstests anzusehen, sondern als Ergänzung oder Ersatz zu chemischen Analysenverfahren.

3.1.7 Auswahl möglicher Toxizitätstests für eine Untersuchungsstrategie

In Deutschland gibt es standardisierte Tests mit Organismen aller vier Trophie-Ebenen für die Bestimmung der aquatischen Toxizität mit Kurzzeit-Tests. Mit den vorhandenen Fisch-, Daphnien- und Leuchtbakterientests wird die akute Toxizität bestimmt und mit dem Algertest werden auch chronische Wirkungen erfasst. Es besteht eine große Erfahrung bei der Anwendung dieser Tests für die Untersuchung von Abwassereinleitungen [Diehl & Hagendorf, 1998].

Es ist allgemein anerkannt, dass diese Tests nur einen Teil der möglichen Wirkungen auf aquatische Lebensgemeinschaften abbilden können. Zugleich gilt auch, dass die Suche nach dem empfindlichsten Test nicht erfolgreich sein wird, aufgrund der Vielzahl der Faktoren, welche die Empfindlichkeit von Organismen beeinflussen (vgl. Kap 3.1.1). Die vier normierten Toxizitätstests werden daher allgemein als notwendig und ausreichend für eine sichere Überwachung angesehen [Steinhäuser, 1996b]. Für die Erfassung kurzzeitiger akuter Wirkungen ist daher keine Notwendigkeit zur Einbeziehung weiterer Tests mit anderen Organismen in die Untersuchungsstrategie erkennbar.

Im Falle des Fischttests wird seit einiger Zeit die Eignung des Fischei-Tests oder von Fisch-Zellkulturen als Screenigtests geprüft, um aus Tierschutzgründen den Fischttest nur noch seltener einsetzen zu müssen. Der Fischei-Test befindet sich zur Zeit in der Normung (Entwurf DIN 38415-6). Im Vorgriff auf dieses Verfahren soll jedoch bereits jetzt in der Untersuchungsstrategie der Einsatz des Fischei-Tests anstelle des Fischttests vorgesehen werden. Da er ein geringeres Probenvolumen benötigt, ist dies auch aus praktischen Gründen von Vorteil.

Wesentlich weniger Erfahrungen bestehen in Deutschland bei der Anwendung von anderen chronischen Toxizitätstests für die Untersuchung von Abwassereinleitungen als dem Algertest. Obwohl mit dem Algertest ein geeignetes Testsystem vorhanden ist, wird er nicht so häufig für Abwasseruntersuchungen eingesetzt wie die drei akuten Tests [Diehl et al., 2000]. Der Einsatz von chronischen Tests erscheint aber immer wichtiger, da nur mit ihnen auch das langfristig von Abwassereinleitungen ausgehende ökotoxikologische Gefährdungspotenzial erfasst werden kann.

Daher ist es sinnvoll, auch das Gefährdungspotenzial chronisch wirkender Stoffe mit in die Untersuchungsstrategie einzubeziehen. Von besonderem Interesse sind Kurzzeit-Tests, da es problematisch ist, Abwasserproben über eine längere Zeit stabil zu halten. Mit dem Algertest steht schon ein normierter Test zur Verfügung. Als zusätzlich beachtenswert erscheinen hier der chronische Daphnientest (mit *C. dubia*), der chronische Rotatorientest und der chronische Lumineszenztest. Eine genauere Prüfung und Untersuchung dieser Tests wäre aber noch notwendig. Darüber hinaus könnte eine Verlängerung der Expositionsdauer des Fischei-Tests über 48 h hinaus entsprechend des chronischen Kurzzeit-Tests der US-EPA von Interesse sein.

3.1.8 Gentoxizität

Grundlagen

Unter dem Begriff Gentoxizität werden gewöhnlich alle Wirkungen erfasst, die Schädigungen an der DNA hervorrufen. Initiale DNA-Schäden können allerdings enzymatisch repariert werden, so dass sie nicht zwangsläufig zu Mutationen, d.h. Veränderungen der DNA-Sequenz, führen oder an Tochterzellen weitergegeben werden.

Der heutige Kenntnisstand erlaubt es noch nicht, eine Verbindung zwischen einem positiven Befund in einem Gentoxizitäts-Test und Wirkungen auf ökosystemarer Ebene herzustellen. Dennoch ist die in Biotoxins zu detektierende gentoxische Wirkung ein anerkanntes Kriterium der Toxizitätsprüfung und ein derartiger Test ist in Deutschland bereits in einen der Anhänge der Abwasser-Verordnung (AbwV, Anhang 22) aufgenommen worden.

Die generelle Wichtigkeit der Detektion gentoxischer Wirkungen lässt sich damit begründen [Helma & Knasmüller, 1997], dass:

- gentoxische Stoffe in Wässern direkte Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit haben könnten, wenn der Mensch mit diesen Wässern in Kontakt kommt (vor allem über das Trinkwasser),
- Gentoxizität die Reproduktionsfähigkeit von Organismen verringern kann,
- durch DNA-Schäden hervorgerufene Mutationen die Instabilität von Ökosystemen durch Veränderung der Populationsstruktur erhöhen könnten.

Wie bereits aufgezeigt, gibt es in Zellen enzymatische Mechanismen zur Reparatur von DNA-Schäden. DNA-Schäden können somit temporärer Natur sein und müssen keine weiteren Folgen haben. Davon ausgehend können in Gentoxizitätstests selbst auf zellulärer Ebene verschiedene Endpunkte detektiert werden, nämlich (a) Genmutationen, (b) primäre DNA-Schäden, und weiterhin chromosomale Schädigungen wie (c) Clastogenese (Chromosomenbrüche oder Verlust von Chromosomenteilen) und (d) Aneuploidie (anormale Chromosomenzahlen im Zellkern). Zusammenhänge mit Wirkungen auf höheren biologischen oder gar ökosystemaren Ebenen, die von größerer Relevanz für eine Gefährdungsabschätzung wären, fehlen aber bis heute. Somit lassen sich diese auch nicht in Tests abbilden.

Gentoxizitätstests für Abwasser

Es gibt eine sehr große Vielzahl verschiedener Tests, die gentoxische Wirkungen detektieren; die Zahl der zur Untersuchung von Wasser und Abwasser eingesetzten Tests ist jedoch bedeutend kleiner [Helma et al., 1994].

Bakterielle Tests

Der Ames-Test detektiert Genmutationen und beruht auf der Exposition eines durch Mutation erzeugten histidinbedürftigen Stamms von *Salmonella typhimurium*. Als Maß für die mutagene Aktivität dient die Zahl der durch Rückmutation entstandenen histidinunabhängigen Kolonien.

Der Ames-Test ist international (OECD) und national standardisiert und wurde seit seiner Einführung von Ames 1973 sehr häufig auch für Abwasseruntersuchungen eingesetzt

Die im Bereich der Wasser- und Abwasseruntersuchung nach dem Ames-Test verbreitetsten Tests sind solche auf primäre DNA-Schäden mit Bakterien, nämlich der SOS-Chromotest (*Escherichia coli*), der umu-Test (*Salmonella typhimurium*) und der Mutatox-Test (*Vibrio fischeri*).

Im *SOS-Chromotest* und im *umu-Test* wird indirekt die Aktivität des SOS-Gens detektiert, das für die Behebung von DNA-Schäden benötigt wird. Das Ausmaß der Induktion dieses Gens dient dabei als Maß für die eingetretene primäre DNA-Schädigung. Für den umu-Test wurde eine ISO-Vorschrift entwickelt und es existiert ein DIN-Verfahren (DIN 38415-3).

Im *Mutatox-Test* wird eine DNA-Schädigung dadurch festgestellt, dass die geschädigten Zellen vermittelt durch die Aktivität des SOS-Gens die Fähigkeit zur Lumineszenz zurückerlangen.

Diese Tests werden kommerziell in Form von Test-Kits vertrieben, so dass sie vergleichsweise leicht und ohne aufwendige biochemische Apparaturen durchzuführen sind [Legault & Blaise, 1994].

Tests mit eukaryontischen Zellen

Zur Erfassung chromosomaler Schädigungen werden Zellen höherer Organismen eingesetzt. Als Tests im Abwasserbereich sind vor allem der Schwester-Chromatidaustausch-Test und der Comet Assay zu nennen.

Im *Comet Assay* werden Brüche der DNA-Stränge nach gelelektrophoretischer Trennung detektiert, wobei sich ein „Kometenschweif“ von DNA-Fragmenten bildet. Die Länge dieses Schweifes dient als Maß für die Schädigung. Ein Vorteil dieses Tests ist, dass er mit verschiedenen Zellen durchgeführt werden kann, unter anderem auch mit Zellen aquatischer Organismen wie Fischen [Mitchelmore & Chipman, 1998].

Im *Schwester-Chromatidaustausch-Test* wird der symmetrische Austausch von DNA-Fragmenten zwischen Chromatiden eines Chromosoms verfolgt. Dieser wird ausgehend von einem mit einer gefärbten DNA-Base markierten Chromatid über die Weitergabe dieser Färbung innerhalb des Chromosoms unter dem Mikroskop detektiert.

Diese Tests zum Nachweis chromosomaler Schädigungen sind mit größerem Arbeitsaufwand und höheren Kosten verbunden als die bakteriellen Tests auf primäre DNA-Schädigung, und es ist bisher kein Vorteil ihrer Anwendung gegenüber den erstgenannten Tests erkennbar. Insofern erscheint ihre Anwendung im Abwasserbereich derzeit wenig reizvoll.

Der als einer der ersten entwickelte Gentoxizitätstests, der bakterielle Mutagenitätstest von Ames (*Ames-Test*), hat in den letzten Jahren für den Abwasserbereich an Attraktivität verloren. Es wurden mehrfach falsch positive Ergebnisse erzielt und es konnte gezeigt werden, dass typische Abwasserinhaltsstoffe wie Aminosäuren und Nährstoffe diese hervorrufen können. Im

Abwasserbereich ist deshalb mit einer generellen Überschätzung des genotoxischen Potenzials bei Verwendung des Ames-Tests zu rechnen.

Obwohl Vergleiche zwischen verschiedenen Tests durchgeführt wurden [de Maagd & Tonkes, 2000a], lässt sich daraus bisher keine generelle vergleichende Aussage über die Sensitivität der genannten Tests ableiten. Auch sind nicht alle diese Tests quantitativ im Sinne einer klaren Dosis-Wirkungs-Beziehung einzusetzen.

Wegen der unterschiedlichen detektierbaren Endpunkte ist gelegentlich der Einsatz einer Testbatterie zur umfassenden Detektion gentoxischer Effekte diskutiert worden. Gegenüber dem absehbar größeren Aufwand ist der damit erzielbare Nutzen aber noch weitgehend offen.

Diskussion

Angesichts ihrer vergleichsweise guten Etablierung und des geringeren Testaufwands scheint im Rahmen der Untersuchungsstrategie ein bakterieller Test auf primäre DNA-Schäden vorteilhaft einsetzbar. Da in Deutschland der umu-Test standardisiert ist (Nr. 410 der AbwV) und bereits Eingang in die Abwasser-Gesetzgebung gefunden hat (AbwV, Anhang 22), scheint dessen Anwendung auch in der Untersuchungsstrategie sinnvoll. Ferner liegt durch die Anwendung im Anhang 22 bereits ein größerer Datensatz zur Gentoxizität von Abwässern im umu-Test vor, der eine Einordnung zukünftig erhaltener experimenteller Daten erleichtert.

3.1.9 Endokrine Disruptoren

Grundlagen

Als endokrine Disruptoren werden allgemein Stoffe bezeichnet, welche die normalen Funktionen des endokrinen (hormonalen) Systems beeinflussen und damit die verschiedenen hormonalgesteuerten physiologische Prozesse beeinträchtigen können. Endokrine Disruptoren können dabei über verschiedene Wirkmechanismen in das Hormonsystem eingreifen. Ein direkter Effekt kann durch agonistische Bindung an Hormonrezeptoren ausgelöst werden. Indirekte Effekte können durch Beeinflussung der Biosynthese oder des Metabolismus von Hormonen hervorgerufen werden. Als besonders bedeutsam wird der Effekt auf das Reproduktionssystem angesehen. In den meisten Untersuchungen standen östrogene (verweiblichende) Wirkungen im Vordergrund, aber auch androgene Wirkungen sind im Einzelfall belegt.

Neben natürlichen und synthetischen Hormonen werden verschiedene Chemikalien als endokrin wirksam eingestuft (Xenoöstrogene). Zu diesen gehören Industriechemikalien wie Alkylphenole, Bisphenol A, Phthalate aber auch gewisse Insektizide, Herbizide und Fungizide. Darüber hinaus werden zunehmend auch Pflanzenhormone mit in Untersuchungen auf endokrine Wirksamkeit einbezogen. In den letzten Jahren wurden verschiedene Methoden entwickelt, um die endokrine Wirkung von Einzelstoffen oder summarisch von Stoffgemischen in umweltrelevanten Proben wie Oberflächenwasser oder Abwasser bestimmen zu können. Insbesondere für östrogenartige Wirkungen wurden unterschiedliche *in vitro* Tests als Screeningtests vorgeschlagen, welche auf einem der folgenden Wirkmechanismen von Steroidhormonen beruhen:

- Messung der Aktivität von Enzymen, die an der Steroidsynthese beteiligt sind
- Kompetitive LigandenbindungsTests mit Rezeptoren
- Zell-Proliferationstests
- Gen-Expressionstests in Säugetierzellen und Hefe

Ein Diskussion der Vorteile und Grenzen dieser Testssysteme in Hinblick auf die Bewertung der östrogenen Wirkung von Chemikalien findet sich bei Zacharewski (1997).

Tests für Abwässer

Als gut geeigneter Biomarker für eine östrogene Wirkung hat sich die *in vivo* und *in vitro* durchführbare Bestimmung der *Induktion der Vitellogenin-Synthese* erwiesen. Für *in vivo* Tests werden männliche Fische verwendet, da bei ihnen die Vitellogenin-Expression in der Leber nicht aktiv ist. Ein erhöhter Vitellogenin-Spiegel infolge der Induktion kann durch Blutuntersuchungen festgestellt werden. In *in vitro* Vitellogenin-Tests werden Hepatozyten (Leberzellen, welche Vitellogenin synthesisieren) zumeist von Regenbogenforellen aber auch von anderen Fischen im Testgut exponiert. Vor kurzem wurden auch erste Untersuchungen mit Amphibien-Hepatozyten (*Xenopus laevis*) durchgeführt [Kloas et al., 1999]. Eine Vitellogenin-Bildung kann in den Zelltests über die Bestimmung des extrazellulär ausgeschiedenen Vitellogenin-Gehalts oder über die

Quantifizierung der Vitellogenin-mRNA ermittelt werden, wozu verschiedene Methoden entwickelt wurden.

Von Purdom et al. (1994) wurden 1987/89 erste Untersuchungen zur Vitellogenin-Induktion in Fischen (gemessen mit einem Radioimmunoassay, RIA) nach ihrer Exposition in Kläranlagenabläufen durchgeführt. In ähnlichen Untersuchungen von Hansen et al. (1998) wurde die Vitellogenin-Induktion in Fischen bestimmt mit einem ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) mit der Induktion von detektierten östrogen wirkenden Stoffen im in vitro Hepatozyten-Test verglichen. Neben dem in vitro induzierten Vitellogenin-Gehalt in Hepatozyten durch kommunale und industrielle Abwassereinleitungen wurde von Gagné & Blaise (1998b) auch die Vitellogenin-mRNA-Expression mit einem Chemolumineszenz in situ Hybridisierungs-Assay (CISH) bestimmt. Islinger et al. (1999) entwickelten dagegen einen nicht radioaktiven dot blot/ RNAse Protection-Assay zur Messung der Vitellogenin-mRNA-Expression und setzten ihn auch für die Untersuchung von Abwasserproben ein.

Mit anderen in vitro Tests wird die hormonbewirkte Aktivierung des *Östrogenrezeptors* nachgestellt. Geeignete Testsysteme sind z.B. hormonabhängige menschliche Brustkrebszellen (MCF-7). Der Test mit MCF-7 Zellen (auch E-screen Test genannt) basiert auf dem Zellwachstum bei Anwesenheit von östrogen wirkenden Stoffen. Für Stoffe mit bekannter östrogener Wirkung wurden bisher keine falsch positiven oder negativen Ergebnisse ermittelt.

Da menschliche Östrogen-Rezeptoren auch in Hefezellen aktiv sind, d.h. mit ihnen kompetitive Ligandenbindungstests durchgeführt werden können, wurden sogenannte *rekombinierte Hefezelltests* entwickelt, bei denen Östrogen-Rezeptoren gentechnisch in Hefezellen eingebaut sind. Die Bindung einer Substanz an den Rezeptor wurde mit der Expression des β -Galaktosidase-Enzyms verknüpft, so dass ein Effekt über die β -Galaktosidase-Aktivität photometrisch gemessen werden kann. Der Hefetest detektiert natürliche Östrogene und bekannte Xenoöstrogene.

Der MCF-7 Test wurde von Körner et al. (1999 und 2000) für die Untersuchung von mittels SPE gewonnenen Extrakten von Abwassereinleitungen eingesetzt. Die Zellproliferation wurde über die Messung des totalen Proteingehalts mit einer photometrischen Methode quantifiziert. Der rekombinierte Hefetest wurde in verschiedenen Untersuchungen von komplexen umweltrelevanten Gemischen eingesetzt. Abwassereinleitungen wurden von Desbrow et al. (1998) und von Wegener et al. (1999) untersucht sowie Belebtschlamm-Extrakte von Rehmann et al. (1999). Desbrow et al. (1998) verwendeten dabei den Hefezelltest in einem „Toxicity Identification Evaluation“ (TIE) Verfahren zur Identifizierung östrogen wirksamer Substanzen in behandeltem Kommunalabwasser. Balaguer et al. (1999) entwickelten mit MCF-7 Zelllinien einen rekombinierten Test mit einem östrogen-regulierten Luciferase Gen, bei dem die Bindung an den Östrogenrezeptor über die Luciferase-Aktivität in einem Luminometer gemessen wird. Schließlich gibt es Versuche, einen Östrogenrezeptor zur selektiven Extraktion östrogenaktiver Substanzen aus Abwässern einzusetzen [Seifert et al., 1999].

Diskussion

Für einen Einsatz in der Untersuchungsstrategie kommen in vivo-Tests wegen des mit ihnen verbundenen Aufwands nicht infrage. Alle drei in vitro-Testsysteme (MCF-7, Hefetest und Hepatozytentest) detektieren östrogene Wirkungen und werden in Mikrotiterplatten durchgeführt; die Testdauer variiert von sieben Tagen (E-screen) über 48 Stunden (Hepatozytentest) bis zu 4 Stunden (Hefetest). Diese Tests sind also von dem benötigten Probenvolumen, dem Grad ihrer Automatisierung und von der Testdauer her bereits durchaus zum Einsatz in einer Untersuchungsstrategie geeignet, allerdings wurde bislang noch keiner der in vitro Tests standardisiert.

Im Gegensatz zu diesen technischen Aspekten sind aber andere wichtige Aspekte noch ungeklärt. Für die Sicherstellung der Umweltrelevanz eines in vitro detektierten Effekts muss dieser mit in vivo Tests bestätigt werden können. Um Zelltests als Screeningtests einsetzen zu können, ist es wichtig, dass diese in vitro Tests gegen in vivo Tests kalibriert sind. Bisher wurden auch noch keine vergleichenden Untersuchungen zur Empfindlichkeit der verschiedenen in vitro Testsysteme für die Untersuchung von Abwassereinleitungen durchgeführt, so dass zudem eine Auswahl des empfindlichsten Testsystems nicht möglich ist. In einem Vergleich von acht in vitro Tests mit 20 endokrin wirkenden Stoffen wurden für natürliche und synthetische Östrogene hohe Wirkungen in allen Testsystemen gemessen, für die getesteten Xenoöstrogene dagegen variierendere Ergebnisse gefunden [Andersen et al., 1999]. Zugleich zeigte sich, dass zur Erhöhung der Zuverlässigkeit der in vitro Tests noch weitere Standardisierungs- und Validierungsarbeiten notwendig sind.

Abschließend erscheint derzeit, ähnlich wie bei der Gentoxizität (Kap. 3.1.7) die ökologische Relevanz der mit Hilfe von in vitro Bioteests ermittelten östrogenen Wirkungen von Abwässern oder „Umweltchemikalien“ auf umweltsystemarer Ebene noch nicht hinreichend wissenschaftlich geklärt. Gentoxizitätstests sind dennoch für Abwasseruntersuchungen anerkannt, da sie wichtig für die generelle Detektion gentoxischer Wirkungen sind. Aus Laboruntersuchungen gibt es deutliche Hinweise auf das Potenzial östrogen wirkender Verbindungen, auf das reproduktive System von höheren Organismen einzuwirken [Danzo, 1998]. Daher könnte langfristig nach einer weiteren Erprobung, Standardisierung und Validierung von Testsystemen ggf. auch ein in vitro Test auf endokrine Wirkungen mit in die Untersuchungsstrategie aufgenommen werden.

Zur Zeit wird ein Gemeinschaftsprogramm der EU zur Erforschung von Umwelthormonen und endokrinen Disruptoren (COMPREHEND, Community programme of research on environmental hormones and endocrine disrupters, 1999-2001) durchgeführt. Der Schwerpunkt dieses Programms ist es, das Ausmaß der Belastung von kommunalen und industriellen Abwassereinleitungen in verschiedenen nordeuropäischen Ländern mit endokrinen Disruptoren und deren Einfluss auf die in aquatischen Systemen lebenden Organismen zu ermitteln [Pickering & et al., 2000]. In diesem Rahmen ist auch ein Vergleich der oben genannten verschiedenen in vitro Testsysteme vorgesehen, so dass nach Abschluss der Untersuchungen nähere Informationen über die Eignung der verschiedenen Tests für Abwasseruntersuchungen vorliegen sollten.

3.2 Bioakkumulierbarkeit

3.2.1 Grundlagen

Bioakkumulation, Biokonzentration und Bioverfügbarkeit von Stoffen

Der Begriff Bioakkumulation beschreibt die Eigenschaft von Fremdstoffen, sich in Organismen anzureichern. Dieser Prozess kann bei aquatischen Organismen über eine direkte Aufnahme aus dem Wasser oder über die Aufnahme mit der Nahrung erfolgen. Zu einer Anreicherung kommt es nur, wenn ein Fremdstoff aufgenommen wird und die Aufnahmerate höher als die Eliminierungsrate des Fremdstoffs im Organismus ist. Die Bioakkumulation eines Stoffs kann zwischen verschiedenen Spezies sehr unterschiedlich sein, da verschiedene biologische und physiologische Eigenschaften das Ausmaß der Aufnahme von Stoffen und die Fähigkeit, diese wieder zu eliminieren, beeinflussen.

Die direkte Anreicherung eines Stoffs aus der Wasserphase wird als Biokonzentration definiert und mit dem Biokonzentrationsfaktor (BCF) beschrieben. Der BCF ist das Verhältnis der Konzentration einer Chemikalie im Organismus zu der Konzentration im Wasser, in dem er exponiert ist, und bezieht sich auf den Gleichgewichtszustand, bei dem Aufnahme und Elimination der Chemikalie gleich groß sind. Der BCF kann auf das Feuchtgewicht des Organismus oder auf seinen Fettgehalt bezogen werden. Experimentell wird der BCF über die Exposition von Organismen (zumeist Fische) in einem statischen oder kontinuierlichen Testsystem bestimmt. Zur mathematischen Beschreibung der Aufnahme und Abgabe von Chemikalien werden Kompartimentmodelle eingesetzt. Im einfachsten Modell, dem Ein-Kompartiment-Modell, wird der Organismus als homogenes Lipidgefäß angesehen. Die Anreicherung wird dann als Verteilungsprozess zwischen einer Wasser- und einer Lipidphase dargestellt, welcher über passive Diffusion abläuft.

Von den physikalisch-chemischen Eigenschaften, die die Bioakkumulation eines Stoffs beeinflussen, ist die Lipophilie von größter Bedeutung. Diese bestimmt weitgehend die Tendenz eines Stoffes, sich in der Doppellipidschicht der Zellmembran zu lösen und dann weiter in den Organismus transportiert zu werden. Als wichtigste Messgröße dient der Verteilungskoeffizient zwischen 1-Oktanol und Wasser (K_{ow}), da zwischen ihm und dem Biokonzentrationsfaktor eine direkte Proportionalität besteht und daher mit den K_{ow} die Bioakkumulationstendenz in einfacher Näherung beschrieben werden kann. Die Bioakkumulationstendenz nimmt demnach mit steigender Lipophilie und steigendem K_{ow} eines Stoffs zu.

Biokonzentrationsfaktoren können geringer sein als nach dem K_{ow} erwartet, wenn ein Stoff im Organismus metabolisiert und ausgeschieden wird. Abweichungen von der Korrelation zwischen BCF und K_{ow} werden auch bei Stoffen mit höheren K_{ow} -Werten beobachtet, wobei der BCF nicht mehr mit dem K_{ow} steigt und ein vom K_{ow} abgeleitetes Biokonzentrationspotenzial überschätzt wird. Verschiedene Ursachen kommen für diese Differenzen in Frage. Bei Stoffen mit $\log K_{ow}$ -Werten > 6 kommt es zu einer Abweichung, da stark lipophile Stoffe eine limitierte Permeation durch die Doppellipidschicht der Membran aufweisen. Bei Stoffen mit Molekulargewichten größer 500 u oder Moleküldurchmessern größer 0.95 nm beruht die geringere Biokonzentration auf einer sterischen Hinderung der Aufnahme in die Zellmembran. Ein weiterer Parameter, der

das Aufnahmepotenzial eines Stoffs beeinflusst, ist sein Ionisationsgrad. Ionen können im allgemeinen nicht durch die Zellmembran diffundieren sondern müssen aktiv transportiert werden, daher bestimmen der pH-Wert des Mediums und der pK_a -Wert des Stoffs, ob und zu welchem Anteil er aufgenommen wird [Fent, 1998].

Darüber hinaus haben Umweltfaktoren einen großen Einfluss auf die Bioverfügbarkeit eines Fremdstoffs und bestimmen, inwieweit ein Stoff unter realen Bedingungen angereichert wird. Als bioverfügbar wird ein Stoff bezeichnet, wenn er gelöst in der wässrigen Phase vorliegt und von Organismen direkt aufgenommen werden kann, also membrangängig ist. Der wichtigste Prozess, der die Bioverfügbarkeit von hydrophoben Stoffen beeinflusst, ist die Sorption an suspendierte Partikel, Sediment, Huminstoffe oder andere Makromoleküle [Geyer et al., 2000]. Daneben spielen auch der pH-Wert des Gewässers (Ionisationsgrad des Fremdstoffs) und die Temperatur (Respirationsrate wechselwarmer Organismen) eine Rolle. Die Bioverfügbarkeit bestimmt also das tatsächliche Ausmaß der Biokonzentration in der aquatischen Umwelt.

Die Bioakkumulation schließt dagegen die Aufnahme von Stoffen über die Nahrung, das Sediment und über suspendierte Stoffe mit ein. Zunehmend wird der Beitrag der Aufnahme von Stoffen über diese Pfade zur gesamten Bioakkumulation diskutiert. Für die meisten Stoffe ist die Aufnahme aus dem Wasser von höherer Bedeutung. Aufgrund der Sorptionsneigung hydrophober Stoffe an die partikuläre Phase kann jedoch unter bestimmten Bedingungen der Anteil sorbiert mit der Nahrung aufgenommener Stoffe signifikanter sein als der über die wässrige Phase aufgenommene Anteil. Dies wurde für sehr hydrophobe Stoffe ($\log K_{ow} > 6$) gezeigt [Qiao et al., 2000].

Bestimmung des Bioakkumulationspotenzials von Stoffen

Für eine erste Abschätzung des Bioakkumulationspotenzials von Stoffen wird in der Regel der K_{ow} -Wert herangezogen. Der K_{ow} von Einzelstoffen kann experimentell über die Flüssig-Flüssig-Verteilung oder chromatographisch über RP-HPLC bestimmt werden, wofür standardisierte Verfahren zur Verfügung stehen (OECD 107 und 117). Eine andere Möglichkeit ist die Berechnung des K_{ow} über Quantitative-Struktur-Wirkungs-Beziehungen (QSAR). Aufgrund dieser verschiedenen Bestimmungsmethoden können die Angaben der K_{ow} -Werte für einen Stoff etwas voneinander abweichen [Ritter et al., 1995].

In Deutschland wird mit Hilfe des K_{ow} -Werts in der Grundstufe der Chemikalienbewertung vor der Zulassung eines Stoffs das Bioakkumulationspotenzial eingeschätzt. Dabei gelten Stoffe mit $\log K_{ow} < 3$ als nicht bioakkumulierend, Stoffe mit $\log K_{ow}$ zwischen 3 und 6 werden als bioakkumulierend und Stoffe mit $\log K_{ow} > 6$ nur als bioakkumulierend eingestuft, wenn sie Molekulargewichte < 500 aufweisen. Ist eine genauere Bewertung erforderlich, müssen Fischtests zur experimentellen Bestimmung des BCF durchgeführt werden. Allgemein werden internationale Stoffe mit $\log K_{ow}$ -Werten > 3 bei der Bewertung von Chemikalien als potenziell bioakkumulierend angesehen [Beek et al., 2000].

3.2.2 Bestimmungsverfahren für Abwässer

Bekannte bioakkumulierende Stoffe können über Einzelstoffuntersuchungen in Abwässern bestimmt werden. Um ein Gesamtbild der Abwasserbelastung mit bioakkumulierenden Stoffen erhalten zu können, wurden verschiedene chemisch-analytische Verfahren zur summarischen Erfassung potenziell bioakkumulierender Stoffe (PBS) entwickelt. Leitparameter dieser Verfahren ist wie auch bei Einzelstoffen der K_{ow} . In einem jüngst erschienenen Übersichtsartikel wurden die Verfahren zur PBS-Bestimmung in Abwässern miteinander verglichen [de Maagd, 2000].

Gemeinsam ist den meisten Verfahren, dass nach einer evtl. Probenvorbehandlung ein Extraktionsschritt, evtl. eine Aufreinigungsstufe, und dann der eigentliche Trennschritt verbunden mit einer Detektion der PBS erfolgt (Tab. 6).

Jede dieser Verfahrensstufen hat einen großen Einfluss auf die Stoffe, welche letztendlich als potenziell bioakkumulierend summarisch gemessen werden. Sie bestimmen damit die Selektivität der eingesetzten Methode. Neben den Verfahrensgrößen hängt es auch von der Probenmatrix ab, welcher Anteil der organischen Belastung als PBS erfasst wird; z.B. verändert sich die Lipophilie gelöster anionischer Stoffe in Abhängigkeit vom pH-Wert und der Kation-Zusammensetzung. Auch können organische Stoffe in freier gelöster Form, oder assoziiert an

Tab. 6: Übersicht der bisher vorhandenen Verfahrung zur PBS-Bestimmung.

| Methode | Vorbehandlung | Extraktion und Aufarbeitung | Trennung /Detektion |
|---|------------------------------|---|--|
| DC [Renberg et al., 1985] | pH = 2 | Flüssig-Flüssig-Extraktion (Hexan), Einengen | RP-DC/GC-FID |
| HPLC [Klamer & Beekman, 1995] | pH = 2 | Flüssig-Flüssig-Extraktion (Hexan), Aufreinigung des Extrakts über Aluminiumoxid- und Kieselgelsäulen, Abtrennung hochmolekularer Stoffe über GPC, Einengen | RP-HPLC/UV |
| Präparative HPLC [Metzger et al., 2000] | pH des Abwassers, Filtration | Festphasen-Extraktion C18 (Elution mit MeOH und THF) und Soxhlet-Extraktion des Filters mit Toluol | RP-HPLC, Sammeln der Fraktionen, Einengen, Auswiegen bzw. TOC-Bestimmung |
| Empore Disk [Verbruggen et al., 1999a; Verhaar et al., 1995] | pH = 7.5 | C18 beschichtete Teflonfilterscheibe | Dampfdruck-Osmometrie GC/MS |
| SPME [de Maagd & Tonkes, 2000b] | pH = 7.5 | Polymerbeschichtete Faser, C8 | GC/MS, HPLC/MS |
| SPMD [Verbruggen et al., 2000] | pH des Abwassers, Filtration | Polyethylenschlauch gefüllt mit Hexan oder Lipiden | GC |

organische Makromoleküle (Huminstoffe) vorliegen; diese Assoziation verändert vermutlich nicht nur den K_{ow} -Wert und damit das Bioakkumulationspotenzial, sondern auch die Bioverfügbarkeit.

Schließlich ist eine grundlegende Schwierigkeit bei der Verfahrensentwicklung und Prüfung, dass der Gehalt an PBS in einer Probe grundsätzlich unbekannt ist. Es lassen sich mit verschiedenen Verfahren sicher unterschiedliche PBS-Gehalte derselben Probe ermitteln, ohne dass es möglich wäre zu entscheiden, welches der „wahre“ Wert ist.

Im folgenden sollen die verschiedenen Verfahren und die einzelnen Verfahrensschritte näher beschrieben werden.

Lösungsmittlextraktion-Dünnschichtchromatographie (DC)

Die erste Methode zur Bestimmung von PBS in Abwässern wurde 1985 von Renberg et al. (1985) vorgestellt. Aus einer Abwasserprobe wurde dabei mit Flüssig-Flüssig-Extraktion mit Hexan die weniger polaren gelösten Stoffe extrahiert. Der erhaltene Extrakt wurde anschließend über RP-DC (Reversed-phase Dünnschichtchromatographie) nach seiner Polarität aufgetrennt. Dann wird der Bereich der Dünnschichtplatte, in dem sich die hydrophoberen Stoffe befinden, von der Platte abgekratzt und die PBS mit Lösungsmittel wieder desorbiert. Ihr Gehalt wurde schließlich über GC-FID abgeschätzt. Diese Methode wird in der schwedischen Untersuchungsstrategie [Swedish Environmental Protection Agency, 1997] eingesetzt.

Lösungsmittlextraktion-Flüssigchromatographie (HPLC)

Klamer & Beekman (1995) veröffentlichten 1995 eine erste auf einer HPLC-Trennung basierende Methode zur Abschätzung von PBS in Abwasserproben. Nach Hexan-Extraktion (siehe oben) wird der Rohextrakt gereinigt und dabei höhermolekularer Stoffe über GPC (Gelpermeationschromatographie) abgetrennt. Die Auftrennung des Extraks und die Detektion der Stoffe erfolgt dann über RP-HPLC mit UV-Detektion. Mit der verwendeten Gradientenelution korrelierten $\log K_{ow}$ und Retentionzeiten von 55 Stoffen über einen $\log K_{ow}$ -Bereich von 0.9-8.3.

Festphasenextraktion-Präparative HPLC

Auf der Basis einer präparativen HPLC-Trennung wird zur Zeit in Deutschland eine Methode zur PBS-Bestimmung entwickelt [Metzger et al., 2000]. Die filtrierten Abwasserproben werden mittels Festphasen-Extraktion (SPE) extrahiert, der Extrakt mit Lösungsmittel (MeOH/THF 1:1) von der Festphase eluiert und über eine präparative RP-HPLC nach dem K_{ow} -Wert getrennt. Die in dem entsprechenden Zeitfenster des gewünschten $\log K_{ow}$ -Bereichs 3-8 von der Säule eluierende Fraktion wird gesammelt, vom Laufmittel befreit und das Gewicht dieser PBS-Fraktion bestimmt. Zusätzlich kann über die Bestimmung des Feststoff-TOC der der PBS-Fraktion zuzuordnende Anteil am Abwasser-DOC ermittelt werden.

Wenn der zur Probenextraktion verwendete Filter mitsamt der darauf befindlichen Partikel mit Toluol extrahiert wird, so kann dieser Extrakt wie ein Abwasserextract der SPE aufgearbeitet werden. Somit können auch die partikular auftretenden PBS einer Probe erfasst werden.

Empore Disk-Dampfdruckosmometrie bzw. Gaschromatographie

Von Verhaar et al. (1995) wurde eine Methode zur sogenannten biomimetischen Extraktion vorgestellt, mit welcher die Basistoxizität von Stoffen (Narkose) über eine Simulation der Biokonzentration abgeschätzt werden soll. Die Aufnahme von Stoffen wird nachgestellt durch Exposition einer hydrophoben Extraktionsscheibe (C18-Empore Disks) in großen Wasservolumina über eine Zeit von bis zu zwei Wochen. Nach Ablauf dieser Zeit werden die an der Scheibe adsorbierten Stoffe extrahiert und der Anteil an PBS über Dampfdruckosmometrie detektiert. Alternativ wurde von Verbruggen et al. (1999a) auch die Gaschromatographie-Massenspektrometrie für die Detektion der adsorbierten Stoffe eingesetzt.

Hierbei erfolgt, ganz analog zum Vorgang der Biokonzentration, eine Gleichgewichtseinstellung zwischen Wasser und einer hydrophoben Phase. Deshalb auch werden bioakkumulierende Verbindungen stärker erfasst werden als weniger bioakkumulierende Verbindungen.

Festphasen Mikroextraktion-Gaschromatographie

Die Festphasen-Mikroextraktion („Solid-phase microextraction“, SPME) beruht auf der Adsorption gelöster Stoffe an einer polymerbeschichteten Faser, welche in die Probe gehalten wird. Die Extraktion verläuft ähnlich der Empore Disk-Extraktion, benötigt aber eine kürzere Zeitspanne und ein geringeres Probenvolumen. Die Faser kann nach der Extraktion (24 h röhren) direkt als Injektionsnadel für die GC eingesetzt werden, so dass eine Lösungsmittel-Extraktion entfällt. Dieses Verfahren wird für den Einsatz in der niederländischen Untersuchungsstrategie erprobt [de Maagd & Tonkes, 2000b]. Die Quantifizierung der PBS erfolgt über die Auswertung der Peakflächen nach massenspektrometrischer Detektion. Für die Bewertung der PBS-Belastung eines Abwassers werden die Ergebnisse der SPME von unbelasteten Oberflächenwässern zum Vergleich herangezogen.

SPMD-Gaschromatographie

Bei der SPMD (semi permeable membran device) wird ein semipermeabler Polyethylen-Schlauch (Dialyse-Membran) gefüllt mit Hexan [Verbruggen et al., 2000] oder anderem hydrophobem Material wie Fischlipiden [Södergren, 1987] verwendet. Dieser wird über längere Zeit (mehrere Wochen) in ein Gewässer oder eine Abwassereinleitung für die Erfassung hydrophober Stoffe einbracht [Kot et al., 2000]. Die Stoffaufnahme erfolgt dabei durch passive Diffusion und der maximale Aufkonzentrierungsfaktor für einen Stoff ist von seinem K_{ow} abhängig [Petty et al., 2000]. Verbruggen et al. (2000) setzte als erstes die SPMD für die passive Extraktion von PBS in Abwassereinleitungen ein. Nach einer Exposition der SPMD über zwei Wochen, wurden aufgenommene Stoffe rückextrahiert und über GC bestimmt.

3.2.3 Verfahrensvergleich

Wie diese kurze Zusammenstellung aufzeigt, existieren gegenwärtig sehr unterschiedliche Bestimmungsverfahren. Diese sollen nun stufenweise diskutiert werden:

Probenvorbehandlung: In einigen Fällen werden die Proben vor der Extraktion stark angesäuert [Renberg et al., 1985; Halder & Ahne, 1990]. Dies bewirkt eine Protonierung saurer Gruppen und so eine Herabsetzung der Polarität vieler ionischer Substanzen. Hierin könnte man einen systematischen Fehler sehen, da diese Protonierungen beim pH-Wert des Oberflächenwassers kaum auftreten werden; demnach würde nach Ansäuern ein zu großer Anteil an PBS erfasst. Andererseits jedoch können anionische organische Stoffe auch durch Ionenpaarbildung mit mehrwertigen Kationen ihre Polarität vermindern und damit lipophiler werden. Eine Ansäuerung drängt diesen Effekt zurück und macht insofern das Untersuchungsergebnis weniger abhängig von einer variablen Abwassermatrix. Eine gewisse Unabhängigkeit von der vorliegenden Abwassermatrix erscheint wichtig, da nach einer Einleitung sich diese Matrix vollständig verändert.

In vielen Fällen werden partikuläre Probenanteile eingangs durch Filtration abgetrennt, wobei das Risiko des Verlustes von PBS durch Adsorption an den Filter und den Filterkuchen besonders hoch ist. Hier sollte eher die Zentrifugation eingesetzt werden, wie dies auch bei Flüssig-Fest-Phasentrennungen im Rahmen von Bodenelutionsversuchen zur Vermeidung von Stoffverlusten praktiziert wird.

Extraktion: Extraktionen mit organischen Lösungsmitteln (Flüssig-Flüssig-Extraktionen) sind arbeitsaufwendig und sind heutzutage weitgehend durch Festphasenextraktionen verdrängt. Diesen Trend sollten auch neuere Verfahren der PBS-Bestimmung reflektieren. Die Verwendung der SPME (bzw. der Extraktions-disks) erscheint insofern reizvoll, als dort der „natürliche“ Vorgang der Biokonzentration experimentell simuliert werden kann. Im Gegensatz dazu ist die SPE eine erschöpfende Extraktionsmethode; sie beruht zwar auch auf hydrophoben Wechselwirkungen mit den Abwasserbestandteilen wie die Biokonzentration, allerdings stellt sich kein Verteilungsgleichgewicht ein, wie es dort und bei der SPME der Fall ist. Das Ausmaß der erschöpfenden Extraktion wird weniger stark von der Probenmatrix und der Speziation der organischen Inhaltsstoffe in einer Probe beeinflusst sein, als die auf einer Gleichgewichtseinstellung beruhenden Verfahren.

Aufreinigung: Das Ziel der teilweise eingesetzten Aufreinigungsverfahren ist vor allem die Entfernung höhermolekulare Stoffe, die zwar u.U. in das angezielte K_{ow} -Fenster fallen, aber aufgrund ihrer Größe nicht membrangängig und damit auch nicht akkumulierbar sind. Eine Aufreinigung ist dann unnötig, wenn die nachfolgenden Stufen diese Komponenten nicht detektieren können (z.B. GC).

Auf trennung: Alle erschöpfenden Extraktionsverfahren benötigen eine chromatographische Auf trennung der extrahierten Komponenten vor der eigentlichen Detektion [Renberg et al., 1985; Halder & Ahne, 1990; Metzger et al., 2000]; dabei soll das interessierende K_{ow} -Fenster schärfer eingegrenzt werden. Die Flüssigchromatographie ist hier gegenüber der Gaschromatographie vorzuziehen, da sie auch thermisch labilere und stärker funktionalisierte Verbindungen passieren

lässt, die in der GC verloren gehen. Andererseits eliminiert die GC bereits Huminstoffanteile, eben weil diese nicht hinreichend flüchtig sind.

Detection: Hier werden im Falle der GC die MS- oder FI-Detektion verwendet. Diese Verfahren sind bezüglich eines Stoffes als massensensitive Verfahren anzusehen. Die Response-Faktoren, also das Verhältnis von Signalintensität zu Stoffmenge, sind aber stoffabhängig, so dass eine Quantifizierung unbekannter Stoffe nicht möglich ist. Mit diesen Verfahren kann, beruhend auf der Erkenntnis, dass die Response-Faktoren üblicherweise um nicht mehr als einen Faktor von 2 variieren, immerhin eine quantitative Abschätzung vorgenommen werden.

Im Falle einer flüssigchromatographischen Trennung (HPLC) wurde bisher die UV-Detektion verwendet. Dieses Detektionsverfahren ist allerdings unerwünscht selektiv, indem nur UV-aktive Stoffe detektiert werden können. Zwar zeigen viele, auch nicht aromatische Verbindungen eine Absorption bei niedrigen Wellenlängen (200-220 nm), jedoch variieren die Response-Faktoren bei dieser Detektion sehr viel stärker als bei der MS- oder FI-Detektion. Für Quantifizierungen unbekannter Stoffe oder gar Stoffgemische ist die HPLC mit UV-Detektion nicht einsetzbar. Allenfalls kann ein relativer Vergleich zwischen mehreren, mit dem gleichen Verfahren gewonnener und mit der gleichen Methode analysierter Proben vorgenommen werden.

Insofern ist das von Metzger gewählte Vorgehen, die chromatographisch aufgereinigte Fraktion bioakkumulierbarer Stoffe durch Auswiegen oder durch eine C_{org}-Bestimmung zu quantifizieren, sinnvoll. Insbesondere die Kohlenstoff-Bestimmung ist aussagekräftig, da sie sich mit typischen Abwasserparametern wie der TOC- oder DOC-Bestimmung, die auch im Rahmen der Untersuchungsstrategien im Regelfall erhoben werden, in Bezug bringen lässt. Im Vergleich dazu ist die Aussagekraft der Osmometrie, welche eine molare Meßgröße darstellt, als weit geringer einzustufen. Obendrein ist dieses Detektionsverfahren zu unempfindlich [de Maagd, 2000].

Vergleichende Untersuchungen von Abwässern mit zwei oder mehreren der aufgeführten Methoden sind bisher nicht durchgeführt worden, so dass keine Einschätzung der Verfahren in Hinblick auf ihre Eignung vorgenommen werden kann.

Gegenwärtig muss die Aussagekraft eines Summenparameters „potenziell bioakkumulierende Stoffe“ im Abwasser noch als weitgehend offen angesehen werden. Dieser Summenparameter wird sich immer nur operationell definieren lassen; insofern ist für die Zukunft eine Festlegung auf ein Bestimmungsverfahren notwendig, um Ergebnisse zumindest vergleichbar zu machen. Die Aussagekraft wird dadurch allerdings noch nicht verbessert.

Es wird auch noch der Diskussion bedürfen, inwieweit der Aspekt der Speziation gelöster organischer Stoffe in der PBS-Bestimmung Berücksichtigung finden soll. Bei einer rein emissionsbezogenen Sichtweise wäre eine solche Berücksichtigung durchaus gerechtfertigt. Allerdings ist zu beachten, dass sich die Wassermatrix, in der die PBS sich befinden, nach der Einleitung drastisch verändern wird. So wird mit der Vermischung mit Oberflächenwasser in vielen Fällen eine deutliche Verringerung der Ionenstärke einhergehen und diese Matrixveränderung beeinflusst mutmaßlich sehr massiv eben diese Speziation. An Partikeln durch Kationenbrücken fixierte anionische organische Stoffe können desorbieren und in die gelöste Phase übergehen, Kolloide und andere Assoziate können durch Verlust an, die elektrostatische Abstoßung verminderte, Kationen ebenfalls disaggregieren und in echt gelöste Form

übergehen. Vor diesem Hintergrund erscheint es auch gerechtfertigt, bei der Bestimmung der potenziell bioakkumulierenden Stoffe den Einfluss der Abwassermatrix eher zurückzudrängen und Speziationsfragen zu „vernachlässigen“.

Schließlich sind die dargestellten und zukünftigen Verfahren der PBS-Bestimmung, sofern sie im Kontext einer mehrstufigen Untersuchungsstrategie für Abwässer eingesetzt werden sollen, auch in Bezug auf ihre Koppelbarkeit und Kompatibilität in einer solchen Strategie zu betrachten. Auch eine solche Betrachtung hat bisher nicht stattgefunden.

3.3 Persistenz

3.3.1 Grundlagen

Persistenz

Nach dem Eintrag eines organischen Stoffes in die aquatische Umwelt, wie z.B. über Abwassereinleitungen, ist dessen Persistenz entscheidend für die Dauer seines Verbleibs in der Umwelt und für die sich in einem Kompartiment einstellende Konzentration. Allgemein werden organische Stoffe als persistent bezeichnet, wenn sie in der Umwelt beständig sind, also mit den natürlichen Eliminierungsprozessen nur langsam oder gar nicht umgewandelt und abgebaut werden. Ihre endgültige Eliminierung ist nur möglich, wenn sie mineralisiert, d.h. zu Kohlenstoffdioxid, Wasser und anorganischen Komponenten abgebaut werden können.

Persistente Stoffe sind in der Umwelt unerwünscht, da sie sich über verschiedene Umweltkompartimente verbreiten und anreichern können. Insbesondere bei unpolaren persistenten Stoffen kann es aufgrund ihres Bioakkumulationspotenzials auch zu einer Anreicherung in aquatischen Organismen und zu einer Weitergabe der Stoffe über die Nahrungskette kommen. Dies kann langfristig zu Schädigungen der betroffenen Organismen führen. Bei der Bewertung der Gefährdung oder des Risikos eines Eintrags organischer Stoffe werden daher Untersuchungen zu ihrer Persistenz mit einbezogen.

Eliminierung und mikrobieller Abbau von organischen Stoffen

Eine Eliminierung organischer Stoffe in der Umwelt kann über abiotische (physikalisch-chemische) und biotische (biologische) Prozesse erfolgen. Dabei sind beide Prozesse stark von der Struktur des betrachteten Stoffes beeinflusst. Physikalisch-chemische Prozesse, wie Oxidationen, hydrolytische und photolytische Reaktionen, führen grundsätzlich nur zu einer Stoffumwandlung und nicht zu einer Mineralisierung. Für die zu betrachtenden Stoffe sind abiotische Umwandlungsprozesse wegen kinetischer Hemmung meist nur von untergeordneter Bedeutung.

Der überwiegende Eliminierungsweg für organische Stoffe in aquatischen Systemen ist der biologische Abbau durch Mikroorganismen, welcher über eine Vielzahl von enzymatisch katalysierten Reaktionen (Oxidations-, Reduktions- und Hydrolysereaktionen) ablaufen kann. Die Mikroorganismen nutzen dabei u.U. den organischen Kohlenstoff und die freigesetzte Energie für ihr Wachstum und zur Aufrechterhaltung ihrer metabolischen Prozesse. Der biologische Abbau kann unter aeroben (Oberflächenwasser) oder anaeroben Bedingungen (Sediment) stattfinden.

Ob, wie schnell und in welchem Ausmaß ein organischer Fremdstoff eliminiert wird, hängt von seiner chemischen Struktur und seiner Konzentration ab, aber auch in großem Maße von den Gegebenheiten des jeweilig betrachteten Kompartiments. Systemabhängige Faktoren, die den biologischen Abbau eines organischen Stoffs beeinflussen, sind die Zahl und Zusammensetzung der vorhandenen Mikroorganismen, die Konzentration mineralischer Nährstoffe, die Art und Konzentration anderer organischer Stoffe, der Sauerstoffgehalt, der pH-Wert und die Temperatur sowie die Anwesenheit von Partikeln. Der Abbauprozess kann unterschiedlich sein, je nachdem ob ein Stoff allein oder im Gemisch mit anderen Stoffen vorliegt. In Gewässern sind Fremdstoffe

gegenüber Naturstoffen zumeist nur in geringen Konzentrationen vorhanden, so dass ihr Abbau oft cometabolisch erfolgt. Dabei wird der Fremdstoff ohne Nutzung als C- und Energiequelle in Gegenwart von anderen Substraten transformiert oder mineralisiert, welche im Gegensatz zum Fremdstoff für das Wachstum verwertet werden können [Fritsche, 1999].

Standardisierte biologische Abbaustests

Zur Einschätzung des Abbauperhaltens von organischen Stoffen in aquatischen Systemen und Kläranlagen sind verschiedene Labortests entwickelt worden. Der biologische Abbau in Laborsystemen wird von den gleichen Faktoren beeinflusst wie der Abbau in aquatischen Systemen (siehe oben), wodurch sich eine Vielzahl möglicher Versuchsfaktoren ergibt.

In Labortests können die Eigenschaften des Testsystems wie z.B. pH, Temperatur, mineralische Nährstoffe, Substratgehalt, Co-Substrat und Testdauer festgelegt werden. Eine Standardisierung des Inokulums, d.h. der Mikroorganismenquelle, ist in Hinblick auf Zusammensetzung und Adaptationszustand jedoch nicht realisierbar. Üblicherweise werden daher Mischpopulationen verwendet und das Inokulum über seine Herkunft sowie das Testsystem über den Inokulumgehalt definiert. Als Inokulum wird in der Regel Belebtschlamm, Kläranlagenablauf (aus kommunaler Abwasserbehandlung) oder Oberflächenwasser verwendet; z.T. wird auch Sediment zugegeben oder Biomasse dieser Quellen gemischt. Da sehr viele Faktoren das Ergebnis eines biologischen Abbaustests beeinflussen können, kann die Reproduzierbarkeit der Testergebnisse von unterschiedlichen Testsystemen gering sein. Es ist nicht möglich, eine „wahre“ oder Referenzmethode für die Bestimmung der biologischen Abbaubarkeit festzulegen [Pagga, 1997].

Auch die verwendete analytische Methode beeinflusst in gewissem Maße das Testergebnis. Der Abbau kann summarisch (CO_2 -Produktion, O_2 -Verbrauch, DOC-Abnahme) oder über Einzelstoffanalytik verfolgt werden. CO_2 - oder O_2 -Messungen geben Auskunft über den Mineralisierungsgrad, berücksichtigen allerdings nicht die Umwandlung in Biomasse. Bei DOC-Messungen wird ebenfalls der Endabbaugrad ermittelt, wobei die Umwandlung in Biomasse mit erfasst wird. Es ist dabei jedoch nicht immer möglich, zwischen biologischem Abbau und abiotischer Entfernung durch Sorption zu unterscheiden. Mittels Einzelstoffanalytik kann der Primärabbau (Verlust der chemischen Identität) ermittelt werden. Ihr Einsatz ist aufgrund der höheren Empfindlichkeit bei der Verwendung von geringen Testkonzentrationen notwendig.

Die Anwendung von Abbaustests soll im allgemeinen eine Voraussage über das Ausmaß des Abbaus in einer natürlichen oder technischen Umgebung (aquatisches System oder Abwasserbehandlungsanlage) ermöglichen. Die verwendete Testmethode sollte daher zu einem gewissen Grad diese Umgebung simulieren. Je genauer die Voraussage des Abbauperhaltens ausfallen soll, desto besser müssen die Testbedingungen die Umgebung nachstellen und um so aufwendiger wird der Test. Ein einfacher Testaufbau ist dagegen ausreichend für die Ermittlung, ob ein Stoff prinzipiell abbaubar ist oder nicht. Für unterschiedliche Untersuchungsziele wurden daher verschiedene standardisierte Tests entwickelt.

Von der OECD wurde eine Testhierarchie für die Untersuchung der biologischen Abbaubarkeit von organischen Stoffen entwickelt. Sie soll eine kosteneffiziente Bewertung des Abbauperhaltens ermöglichen, indem stufenweise von einfachen zu komplexeren Tests je nach Notwendigkeit übergegangen werden kann. Diese Teststrategie ist allgemein anerkannt und die

dort aufgeführten Tests gleichen den Tests der EU bzw. den ISO- und DIN-Vorschriften bis auf geringfügige Abweichungen [Merrettig-Brunn, 2000]. Sie besteht aus den folgenden drei Stufen:

1. Stufe: Tests auf leichte Abbaubarkeit (ready biodegradability) (OECD 301 A bis F)
2. Stufe: Tests auf potenzielle Abbaubarkeit (inherent biodegradability) (OECD 302 A bis C)
3. Stufe: Simulationstests (OECD 303 A und B)

Die verwendeten Tests sind sämtlich auf den aeroben Abbau in Süßwassersystemen ausgerichtet.

Die erste Stufe entspricht einem Screening der biologischen Abbaubarkeit. Die Testbedingungen begünstigen nicht den Abbau und sind gekennzeichnet durch eine geringe Animpfdichte (hohes Verhältnis von Testsubstanz zu Mikroorganismen) und nicht adaptierte Mikroorganismen. Die Tests D und E besitzen mit ca. 10^2 Zellen/mL (Kläranlagenablauf) ein geringeres Abbaupotenzial als die anderen vier Tests mit 10^4 - 10^5 Zellen/mL (Belebtschlamm) bei Substratgehalten von 10 - 40 mg/L. Ansonsten unterscheiden sich die Tests in der Art der Detektionsmethode. Ein Stoff wird als leicht abbaubar betrachtet, wenn er innerhalb von 10 Tagen nach Ende der lag-Phase (Anlaufphase bis zu einem Abbau von 10 %) zu 70 % gemessen als DOC-Abnahme oder zu 60 % der theoretischen CO₂-Produktion bzw. des theoretischen O₂-Verbrauchs abgebaut wird, wobei die gesamte Testdauer 28 Tage nicht überschreitet. Ein positives Ergebnis bedeutet, dass dieser Stoff in der aquatischen Umwelt und bei der biologischen Abwasserbehandlung schnell abgebaut wird. Ein negatives Ergebnis schließt einen Abbau in der Umwelt nicht aus, daher wird in der nächsten Stufe auf potenzielle Abbaubarkeit getestet.

Die Tests der zweiten Stufe weisen günstigere Abbaubedingungen auf, da eine höhere Zellzahl in Bezug auf das Substrat vorhanden. Im Zahn-Wellens-Test (OECD 302 B) wird eine Zellzahl von (10^6 - 10^7 Zellen/mL) für einen Substratgehalt von 50 - 400 mg/L eingesetzt. Außerdem ist eine Vor-Adaptation der Mikroorganismen möglich und der Test kann über 28 Tage hinaus verlängert werden. Anhand des Abbauergebnisses können Stoffe in nicht oder potenziell abbaubar (Abbau > 20 %) eingeteilt werden. Ein Ergebnis über 70 % spricht für eine vollständige Abbaubarkeit und einen schnellen Abbau in adaptierten Kläranlagen.

Simulationstests der dritten Stufe sind vorgesehen, wenn für einen speziellen Umweltbereich die Geschwindigkeit des mikrobiellen Abbaus bestimmt werden sollen. Dies ist z.B. der Fall, wenn im Rahmen von Risikoabschätzungen Daten zu Restkonzentrationen in der Umwelt benötigt werden. Bisher gibt es von der OECD standardisierte Tests speziell für die Simulation des Abbaus bei der biologischen Abwasserreinigung (OECD 303). Von der ISO wird zur Zeit ein einfacher Test zur Bestimmung von Abbaukinetiken in Oberflächengewässern bei geringen Testkonzentrationen entwickelt [Ingerslev & Nyholm, 2000].

Eine Übersicht über die in der Testhierarchie einsetzbaren Verfahren ist in Anhang 3 zu finden. Aufgeführt sind dabei auch weitere standardisierte Tests zur biologischen Abbaubarkeit in marinen Systemen oder unter anaeroben Bedingungen. Eine Zusammenfassung von Testsystemen zur Ermittlung der biologischen Abbaubarkeit organischer Stoffe und eine ausführliche Diskussion der verschiedenen Einflussfaktoren auf die Testergebnisse enthält ein Übersichtsbericht der OECD (1995).

3.3.2 Biologische Abbautests für Abwässer

In diesem Kapitel soll ein Überblick über bisherige Anwendungen von biologischen Abbautests für die Untersuchung von Abwässern gegeben werden. In Hinblick auf den Einsatz eines Abbautests innerhalb einer Untersuchungsstrategie für gefährliche Stoffe in Abwasser-einleitungen stehen Testsysteme im Vordergrund, welche zur Ermittlung der Restabbaubarkeit von biologisch behandeltem Abwasser in natürlichen Gewässern eingesetzt wurden.

Die Anwendung von Abbautests auf unbehandelte Abwässer wird dagegen nur kurz dargestellt, da sie in der Untersuchungsstrategie nur eine Randbedeutung haben.

Biologische Abbautests für unbehandelte Abwässer (Indirekteinleiter)

Die Anwendung eines Abbautests für unbehandeltes Abwasser kann im Rahmen einer Untersuchungsstrategie notwendig werden, wenn das Abwasser von Indirekteinleitern untersucht werden soll. Mit diesem Test soll dann der Abbau in einer Kläranlage nachgestellt werden, um Abwasser der Qualität zu erhalten, wie man es nach der Mitbehandlung in einer kommunalen Kläranlage erwarten darf.

Um die Abbaubarkeit in Kläranlagen zu ermitteln, wird i.d.R. ein Test mit hoher Animpfdichte eingesetzt. Ein geeigneter Test ist der statische Zahn-Wellens-Test (inhärenter Test, OECD 203), da alle auftretenden Eliminationsmechanismen (biologischer Abbau, Sorption, Stripping) erfasst werden [Schönberger, 1991]. In Deutschland kann er entsprechend der Abwasserverordnung für die Bestimmung der aeroben biologischen Abbaubarkeit von Abwässern in biologischen Behandlungsanlagen angewendet werden (AbwV Anlage 4 Nr. 407/408, Test nach DIN EN 29888). Bei Verwendung eines Belebtschlamm-Inokulums von 1g/L Trockenmasse zeigt eine DOC- bzw. CSB-Reduktion von 80 % die Behandelbarkeit eines Abwassers in kommunalen Abwasserbehandlungsanlagen an. Aufgrund der hohen Biomasse-Konzentration kann ein gewisser Anteil der Abwasserinhaltsstoffe auch durch Sorption eliminiert werden. In erster Nährung kann dieser Anteil unter der Annahme, dass Sorptionsprozesse wesentlich schneller als die biologischen Abbauprozesse ablaufen, über die Konzentrationsabnahme innerhalb der ersten 3 Stunden nach Testbeginn („3 h-Probe“) abgeschätzt werden [Gartiser et al., 1996]. Um auch die Mineralisation stark am Belebtschlamm sorbierender und schwerlöslicher Stoffen im Zahn-Wellens-Test erfassen zu können, wird zur Zeit ein Testsystem mit CO₂- und O₂-Bestimmung für die Standardisierung als ISO-Vorschrift erprobt.

Bislang wird die biologische Abbaubarkeit von Rohabwässern am häufigsten über das BSB₅/CSB- bzw. BSB₅/TOC-Verhältnis charakterisiert und der BSB₅-Wert als Indikator für die leicht abbaubaren Abwasserinhaltsstoffe bei der Bemessung von Kläranlagen herangezogen. Der BSB₅ wird aber auch als Maßzahl für die noch leicht biologisch verwertbaren Stoffe in behandeltem Abwasser und für die dadurch bewirkte Belastung für den Sauerstoffhaushalt eines Gewässers verwendet. Als Abbaustest innerhalb einer Untersuchungsstrategie für Abwasser-einleitungen ist der Test allerdings aufgrund der Matrixveränderungen durch Zugabe des Verdünnungswassers und der kurzen Testdauer weniger geeignet. Bei längerer Testdurchführung kann zudem ein auf Nitrifikationsprozessen beruhender O₂-Verbrauch den Messwert beein-

flussen und eine zu hohe Belastung anzeigen. Zur Charakterisierung der Belastung des Sauerstoffhaushalts durch Abwassereinleitungen kann der BSB₅ jedoch herangezogen werden.

Biologische Abbautests für Abwassereinleitungen (Direkteinleiter)

Der Einsatz von biologischen Abbautests in Untersuchungsstrategien zur Charakterisierung gefährlicher Inhaltsstoffe von Abwassereinleitungen erfolgt zum einen mit dem Ziel, Informationen über den auch im Gewässer voraussichtlich nicht abbaubaren Anteil der Abwassereinleitung zu gewinnen. Zum anderen sollen nach dem Test aber auch die durch den im Gewässer zu erwartenden Abbau verursachten qualitativen Veränderungen an den abzuleitenden Stoffen erfasst werden; dabei interessiert besonders, ob die in einer Abwasserableitung ermittelten gefährlichen Eigenschaften (Toxizität, Bioakkumulierbarkeit) erhalten bleiben oder nicht. Ein geeignetes Testsystem sollte daher in gewissem Maße die Abbaubedingungen im Gewässer nachstellen können und eine Abwasserfraktion liefern, welche nur noch sehr schwer bis nicht biologisch abbaubare Stoffe enthält.

Bei der Untersuchung der biologischen Abbaubarkeit von Abwassereinleitungen gilt natürlich genauso wie für Einzelstoffe, dass das Abbauergebnis von den Systemeigenschaften des verwendeten Testsystems abhängt. Für die Bestimmung der biologischen Abbaubarkeit von Abwassereinleitungen unter möglichst gewässernahen Bedingungen stehen jedoch, abgesehen vom zuvor genannten BSB₅-Test, bislang keine standardisierten Tests zur Verfügung. Bei den in Kap 2 vorgestellten Untersuchungsstrategien von Schweden, den Niederlanden und Dänemark, in denen Abbautests zum Einsatz kamen, wurde daher auf standardisierte Tests zur Ermittlung der leichten Abbaubarkeit von Einzelstoffen zurückgegriffen und diese z.T. modifiziert.

Im folgenden werden diese drei und weitere in der Literatur beschriebene Testsysteme für Abwassereinleitungen mit anschließender Charakterisierung der persistenten Fraktion (Ökotoxizität, PBS) ausführlicher dargestellt, um die verschiedenen Einflussfaktoren zu verdeutlichen. Die jeweiligen Testbedingungen sind Tab. 7 zusammengefasst. Anhand von Untersuchungen zur biologischen Abbaubarkeit von Abwassereinleitungen unter variablen Versuchsbedingungen (nur Summenparameter) werden dann die verschiedenen Testsysteme in Hinblick auf ihr Abbaupotenzial miteinander verglichen. Ziel ist es, anhand der verschiedenen Varianten ein für die Untersuchungsstrategie geeignetes Testsystem auszuwählen.

In der Anwendung der *schwedischen Untersuchungsstrategie (CID)* zum Vergleich der Abwassereinleitungen verschiedener Industriebereiche wurde als Abbaustest ein modifizierter ISO-Test (ISO 7827 entspricht OECD 301 A, DOC die away test) eingesetzt [Swedish Environmental Protection Agency, 1997]. Das Ziel des Tests ist die Gewinnung einer Fraktion, die alle persistenten Chemikalien und Abbauprodukte für eine weitere Charakterisierung enthält. Die Abwässer wurden z.T. so weit wie notwendig verdünnt (vgl. Tab. 7), da neben direkt eingeleiteten Abwässern auch Indirekteinleitungen untersucht wurden.

Als Inokulum wurde kommunaler Kläranlagenablauf in Konzentrationen verwendet, mit denen die Bedingungen im Gewässer nachgestellt werden. Der Gehalt an PBS des Inokulums wurde in die Untersuchungen mit einbezogen, um eine evtl. Probenkontamination mit PBS durch das

Tab. 7: Biologische Abbautests eingesetzt in Gesamtabwasseruntersuchungen.

| Strategie bzw. Autor | Proben | Test | Testbedingungen | Testdauer | Summenparameter |
|---|--|--|---|--|---|
| Schweden CID [Swedish Environmental Protection Agency, 1997] | Industrielle Abwassereinleitungen, Direkt- und Indirekteinleiter | EN ISO 7827 (OECD 301 A) modifiziert | Testvolumen 15 L, Inokulum 1 mL/L abgesetzter kommunaler Kläranlagenablauf, Zugabe von mineralischen Nährösungen, T = 20°C | 28 d oder bis die DOC-Abnahme geringer als 10 % innerhalb von 4 Tagen ist (z.T. bis zu 80 d) | Verfolgung des Abbaus über DOC, BSB ₇ in regelmäßigen Abständen CSB, TOC zu Beginn und am Ende |
| Abwasserproben wurden vor dem Test verdünnt, wenn ein Schlammatmungshemmtest (ISO 8912) eine Hemmwirkung des Abwassers anzeigen. Die Verdünnung erfolgte nicht stärker als notwendig, da es für die nachfolgenden Untersuchungen günstiger ist mit einer so konzentrierten Probe wie möglich zu arbeiten. | | | | | |
| Niederlande WEA [Tonkes & Baltus, 1997] | Industrielle Abwassereinleitungen, Direkteinleiter | OECD 301 E modifiziert | Testvolumen 10 L für 28 d, Probe 1:1 verdünnt mit Oberflächenwasser als Inokulum | 28 d (z.T. bis zu 84 d) | DOC |
| Dänemark Leitfaden [Pedersen et al., 1995] | Industrielle Abwassereinleitungen, Direkt- und Indirekteinleiter | Ebene 1: aerobe Stabilisierung nach OECD 301 E Ebene 2: OECD 306 | Inokulum Kläranlagenablauf oder Oberflächenwasser Abwasser verdünnt mit Meerwasser | 2-4 Wochen mehrere Wochen | DOC Verfolgung des Abbaus des relevanten Effektparameters |
| Nyholm [Nyholm, 1996] | Industrielle Abwassereinleitungen, Direkt- und Indirekteinleiter | 1. aerobe Stabilisierung in Anlehnung an OECD-Test für leichte Abbaubarkeit 2. leichte Gesamtabbaubarkeit | Inokulum Kläranlagenablauf oder Oberflächenwasser, Probe 1:1 verdünnt, Zugabe von mineralischem Nährmedium Gleiche Bedingungen wie bei 1, aber höhere Verdünnung | 1-3 Monate bis DOC oder Toxizität konstant bleiben | DOC DOC, O ₂ , CO ₂ |
| Deutschland AbwV [AbwV, 1999] | Industrielle Abwassereinleitungen, Indirekteinleiter, Teilströme | Nr. 407/408 der Anlage 4 der AbwV (Zahn-Wellens-Test) | Inokulum Belebtschlamm | 7 d | CSB oder DOC |

Inokulum berücksichtigen zu können. Insgesamt wurden bei der Vielzahl der untersuchten Proben DOC-Abnahmen von 10 - 90 % erzielt. Im Fall von Direkteinleitern kann bei einer hohen Restabbaubarkeit auf eine unzureichende Abwasserbehandlung geschlossen werden.

Kläranlagenablauf als Inokulum wurde gewählt, da aufgrund seiner Gleichförmigkeit eine bessere Vergleichbarkeit der Ergebnisse erzielt werden sollte, auch wenn unterschiedliche Labore den Test durchführen. Inwieweit der Abbauprozess dann auch den jeweiligen Bedin-

gungen im Gewässer entspricht, ist jedoch unklar. Nach den Untersuchungen wurde diskutiert, dass mit dem verwendeten Test der biologische Abbau von Indirekteinleitungen gegenüber ihrem Abbau in adaptierten Kläranlagen schwächer ist. In zukünftigen Untersuchungen könnte daher bei der Auswahl des Inokulums unterschieden werden, ob es um einen Vergleich von verschiedenen Abwassereinleitungen geht, wofür ein einheitliches Inokulum verwendet werden sollte, oder ob das Ziel die individuelle Bewertung einer Abwassereinleitung ist. Hierzu könnte Inokulum der Abwasserbehandlungsanlage verwendet werden, in welcher das Abwasser behandelt wird, oder bei Einleitung in ein Gewässer ein aus dem Vorfluter oder seinem Sediment gewonnenes Inokulum.

In der *niederländischen Untersuchungsstrategie (WEA)* wurde ein abgewandelter OECD Test (OECD 301 E, modifizierter OECD Screening Test) angewendet, um die Restabbaubarkeit von Abwassereinleitungen im Oberflächengewässer zu bestimmen [Tonkes & Baltus, 1997]. Untersucht wurden im Rahmen der ersten Erprobung der Strategie zehn biologisch behandelte Abwasserproben unterschiedlicher industrieller Herkunft. Nach 28 Tagen wiesen drei der Proben eine DOC-Restabbaubarkeit von bis zu 45 % auf, welche sich bei Verlängerung des Tests noch erhöhte. Der Test wird aufgrund der fehlenden Standardisierung noch als entwicklungsbedürftig angesehen. Außerdem wurde bei dieser ersten Erprobung keine Charakterisierung des als Inokulum verwendeten Oberflächenwasser mit den WEA-Methoden durchgeführt. Falls das Inokulum einen Einfluss auf die Ergebnisse der im Anschluss an den Abbaustest bestimmten Parameter hätte, müsste ggf. ein Korrekturfaktor eingeführt werden.

Im *Dänischen Leitfaden zur Risikoabschätzung von industriellen Abwassereinleitungen* wird auf der ersten Untersuchungsebene (Screening) eine sogenannte aerobe Stabilisierung durchgeführt, welche auf dem OECD-Test 301 E basiert [Pedersen et al., 1995]. Diese ist insbesondere für Proben vorgesehen, welche nicht ausreichend vor der Einleitung vorhanden wurden. Auf der zweiten Untersuchungsebene sind Tests vorgesehen, welche sich näher an den Umweltbedingungen ausrichten, z.B. wird der OECD 306 Test (Abbaustest für Meerwasser) eingesetzt.

Von Nyholm (1996) wurde ein Schema zur Charakterisierung der Abbaubarkeit von Abwässern vorgeschlagen, welches die Kombination von Toxizitätstests mit einbezieht. Die Toxizität dient dabei als Leitparameter, um zwischen biologisch abbaubarer und persistenter Toxizität der Abwasserinhaltsstoffe unterscheiden zu können. Ausgerichtet ist das Schema sowohl auf Abwassereinleitungen als auch auf Indirekteinleiter. Zunächst ist eine aerobe Stabilisierung vorgesehen, bei der die Probe mindestens 1:1 mit dem Testmedium verdünnt wird. Die gewonnene persistente Fraktion sollte konzentriert genug für die weitere Charakterisierung sein. Als Inokulum kann Belebtschlamm (allgemeine Charakterisierung) oder Inokulum aus dem Gewässer, in welches das Abwasser eingeleitet wird (höherer Simulationscharakter) verwendet werden, wobei die Biomasse nicht höher als in Tests auf leichte Abbaubarkeit sein sollte. In einem zweiten Test wird dann der nach der Stabilisierung gefundene DOC-Abbaugrad bei einer stärkeren Verdünnung überprüft, da bei einer geringeren Konzentration auch evtl. weitere Stoffe abgebaut werden können. Damit wird die gesamte leichte Abbaubarkeit der Abwasserinhaltsstoffe bestimmt und der Abbau allein über Summenparameter verfolgt. Als Anwendungsbeispiel

wird die Untersuchung eines organisch hoch belasteten Abwassers aus einer Papierfabrikation vorgestellt.

Vergleichende Untersuchungen des Einflusses der Testbedingungen (Art und Menge des Inokulums) auf die Abbaukinetik von biologisch behandelten *Abwassereinleitungen* wurden bislang kaum durchgeführt. Einige Beispiele sind Arbeiten von Khan et al. (1999) und Percherancier et al. (1996), in denen verschiedene Versuchsbedingungen zur Bestimmung der biologischen Restabbaubarkeit kommunaler Kläranlagenabläufe als sogenannter BDOC (biologisch abbaubarer DOC) in Batch-Versuchen getestet wurden als Alternative zum BSB-Test. Khan et al. (1999) variierten Art und Menge des Inokulums (Ablauf oder Belebtschlamm aus kommunalen Kläranlagen), um die Geschwindigkeit des Abbaus über eine Abbauphase von 28 Tagen zu optimieren. Die Erhöhung der Animpfdichte durch Verwendung von Belebtschlamm als Inokulum führte zu einer deutlichen Beschleunigung des Abbaus und zum Teil auch zu etwas höheren Endabbaugraden. Percherancier et al. (1996) verwendeten dagegen verschiedene natürliche Inokuli mit gleicher Animpfdichte (10^3 Zellen/mL) für die Bestimmung des BDOC von kommunalen Kläranlagenabläufen über 8 Tage. Bei gleichem Endabbaugrad verlief der Abbau mit aus oligothrophem Flusswasser gewonnenem Inokulum schneller als mit Flussdienst-Inokulum gewonnen aus einem eutrophen Fließgewässer.

Wird der biologische Abbau von *Einzelstoffen* mit den verschiedenen Tests auf leichte Abbaubarkeit (RB-Tests, ready biodegradability tests) verglichen [Gotvajn & Zagorc-Koncan, 1996; Koziollek et al., 1996], so zeigt sich, dass einige Stoffe nur in einem RB-Test mit höherer Animpfdichte nach den OECD-Kriterien als leicht abbaubar eingestuft werden. In RB-Tests mit geringerer Animpfdichte werden sie demgegenüber entweder langsamer abgebaut, so dass das 10-Tage Kriterium nicht erfüllt wird, oder in geringem Ausmaß als in einem RB-Test mit höherer Animpfdichte. Daher kann es bei einer zu geringen Animpfdichte zu einer Unterschätzung der Abbaubarkeit kommen.

3.3.3 Diskussion

Insgesamt beruhen die vorgeschlagenen Testsysteme auf OECD-Tests für leichte Abbaubarkeit, welche ein nur geringes Abbaupotenzial besitzen und generell aussagen, dass ein dort festgestellter Abbau auch in der Umwelt stattfinden sollte. Daher sollten nach dem biologischen Abbaustest einer Abwasserprobe die biologisch leicht entfernbaren Stoffe nicht mehr vorliegen. Die Verfolgung des Abbaus erfolgt in allen Fällen über den DOC. Ein Unterschied besteht jedoch in der vorgesehenen Animpfdichte und einer z.T. durchgeföhrten Probenverdünnung. Um eine höhere Übereinstimmung mit natürlichen Bedingungen zu erzielen wurden eher geringe Animpfdichten mit Kläranlagenabläufen verwendet und in der niederländischen Strategie die Probe 1:1 mit Oberflächenwasser ohne weitere Zugabe von Biomasse im Test eingesetzt.

Der Einfluss dieser Faktoren auf den erzielten Abbaugrad, die Abbaugeschwindigkeit und die im Anschluss bestimmten Parameter (Ökotoxizität, PBS) wurde im Rahmen der Gesamtabwasserbewertung noch nicht untersucht. Die verschiedenen Tests der OECD auf leichte Abbaubarkeit lassen einen gewissen Spielraum in der Animpfdichte zu, je nachdem, ob Kläranlagenablauf oder Belebtschlamm eingesetzt wird. Da die hier vorgestellten Tests z.T. sehr lange Abbauphasen von

zwei bis drei Monaten bis zu einer Stabilisierung des DOC-Gehaltes benötigten, stellt sich die Frage, ob sich die Geschwindigkeit des Abbaus durch Verwendung von Belebtschlamm (30 mg/L TS) als Inokulum bei vergleichbarem Endabbaugrad erhöhen lässt. Damit würde sich der Untersuchungsaufwand verringern und die Ergebnisse schneller zu Verfügung stehen.

4 Strategieentwurf

4.1 Anforderungen an die neue Untersuchungsstrategie

Aufbauend auf den bekannten Untersuchungsstrategien, deren zusammenfassender Darstellung und den herausgearbeiteten Schwachstellen und Unzulänglichkeiten (Kap. 2) lassen sich die wesentlichen in dieser Arbeit gestellten Anforderungen an eine verbesserte Untersuchungsstrategie formulieren:

- für eine umfassende Untersuchung des Umweltgefährdungspotenzials industrieller Abwassereinleitungen sollten alle drei wesentlichen Kriterien, nämlich Toxizität, Persistenz und Bioakkumulierbarkeit berücksichtigt werden;
- diese Effektparameter sollten als gleichrangig angesehen werden;
- neben der akuten Toxizität sollten auch die chronische Toxizität und die Gentoxizität einbezogen werden. Es sollte Offenheit bezüglich der späteren Einbindung neuer Testverfahren oder weiterer biologischer Effektparameter, etwa aus dem subletalen Bereich, bestehen;
- der Strategie sollte ein emissionsorientierter Ansatz zugrunde liegen, wie er sich auch in allen deutschen rechtlichen Regelungen findet und wie es dem Vorsorgeprinzip entspricht;
- die Strategie sollte die Möglichkeit vorsehen, neben der gelösten Phase auch partikular gebundene gefährliche Stoffe zu betrachten, auch wenn deren Bedeutung z.Zt. nicht abgeschätzt werden kann;
- der Untersuchungsablauf sollte die prinzipiellen Unterschiede zwischen Direkt- und Indirekteinleitungen berücksichtigen;
- wie in den bestehenden Konzepten sollte anfänglich eine chemische Charakterisierung des Gesamtabwassers durchgeführt werden, um grundlegende Informationen über die Abwasser-eigenschaften zu gewinnen;
- die Strategie sollte flexibel aufgebaut sein, um sie an unterschiedliche Untersuchungs-gegebenheiten und -ziele anpassen zu können und so unnötigen Untersuchungsaufwand zu vermeiden;
- daher sollte sie trotz einer gleichrangigen Betrachtung der Effektparameter die Möglichkeit einer schrittweisen Untersuchung vorsehen, die beendet werden kann, wenn zuvor definierte Kriterien erfüllt sind;
- schließlich sollten bei der Auswahl von Untersuchungsmethoden soweit als möglich standarisierte oder zumindest vielfach erprobte Methoden der Abwasseruntersuchung herangezogen werden, da deren Empfindlichkeit, Durchführbarkeit und Reproduzierbarkeit bekannt ist.

Entlang dieser Anforderungen wurde die folgende, modulare Untersuchungsstrategie für gefährliche Stoffe in Abwassereinleitungen der Industrie formuliert.

4.2 Konzeption der Strategie IDA

Die hier dargestellte Untersuchungsstrategie, genannt IDA (Industrial Discharge Assessment), ist in einzelne Module gegliedert. Dieser modulare Aufbau soll die geforderte Flexibilität in der Anwendung der Strategie und auch in ihrer späteren Veränderung gewährleisten. Jedes dieser Module umfasst und verknüpft in sich mehrere Arbeitsschritte, oft sogar die Ermittlung zweier Effektparameeter und die Erhebung ausgewählter chemisch-analytischer Messgrößen.

Wie noch weiter ausgeführt werden wird, können je nach dem zu untersuchenden *Abwassertypus* einzelne Module bei der Untersuchung angewendet oder herausgenommen werden. Weiterhin kann auch in Abhängigkeit von der *Fragestellung* die Untersuchung nach Abarbeiten bestimmter Module beendet werden. Schließlich erlaubt der modulare Aufbau, nach der Durchführung eines Moduls in Abhängigkeit von den *Ergebnissen* des Einzelfalls zu entscheiden, ob die Weiterführung der Untersuchungen im Sinne der Strategie notwendig ist, oder ob die bereits ermittelten Effekte einen Wert überschreiten, ab dem Maßnahmen zur Verbesserung der Abwasserqualität durchgeführt werden sollten.

Die zeitliche Abfolge der Untersuchungsmodule ist in Bild 6 skizziert.

Modul „Probenahme und Charakterisierung“: In diesem Modul sind die vor der eigentlichen Untersuchungsstrategie liegenden Arbeiten, beginnend bei der Probenahme, zusammengefasst. Generell wird vor Durchführung der hier skizzierten Untersuchungen für jedes Abwasser eine eingehende Charakterisierung durchgeführt. Vorhandene Daten werden zusammengestellt und gegebenenfalls durch weitere Analysen ergänzt.

Im folgenden **Modul „Toxizität“** werden die akuten und chronischen biologischen sowie gentoxische Effektparameeter erhoben. Sind hier deutliche Effekte zu beobachten, kann die Untersuchung ggf. beendet und direkt Maßnahmen zur Qualitätsverbesserung und damit zur Reduzierung der Wirkung veranlasst werden.

Im **Modul „Persistenz“** wird anschließend abgeschätzt, welcher Anteil der organischen Abwasserbelastung einem weiteren Abbau (Mineralisation) im Gewässer nicht zugänglich ist. Dieser ist als persistente Fraktion anzusprechen.

Als dritter grundlegender Gefährdungsparameter wird nun im **Modul „Bioakkumulierbarkeit“** diejenige organische Fraktion erfasst, welche aufgrund ihres K_{ow} -Wertes als potenziell bioakkumulierbar angesehen werden muss.

Damit sind die grundlegenden Effekte für die Untersuchung gefährlicher Stoffe, Persistenz, Bioakkumulierbarkeit und Toxizität (PBT) erfasst. Ein wichtiges Merkmal dieser Strategie ist, dass diese drei Gefährdungsparameter nicht unabhängig voneinander (also parallel) erhoben werden, sondern dass durch die Verfahrensverknüpfung die ermittelten Effekte in einen logischen Zusammenhang zu bringen sind: es kann durch das Verfahren sowohl die Abwasserfraktion erfasst werden, die toxisch und persistent ist (im Modul „Persistenz“), als auch diejenige Fraktion, welche toxisch, persistent und bioakkumulierbar ist (im Modul „Bioakkumulierbarkeit“).

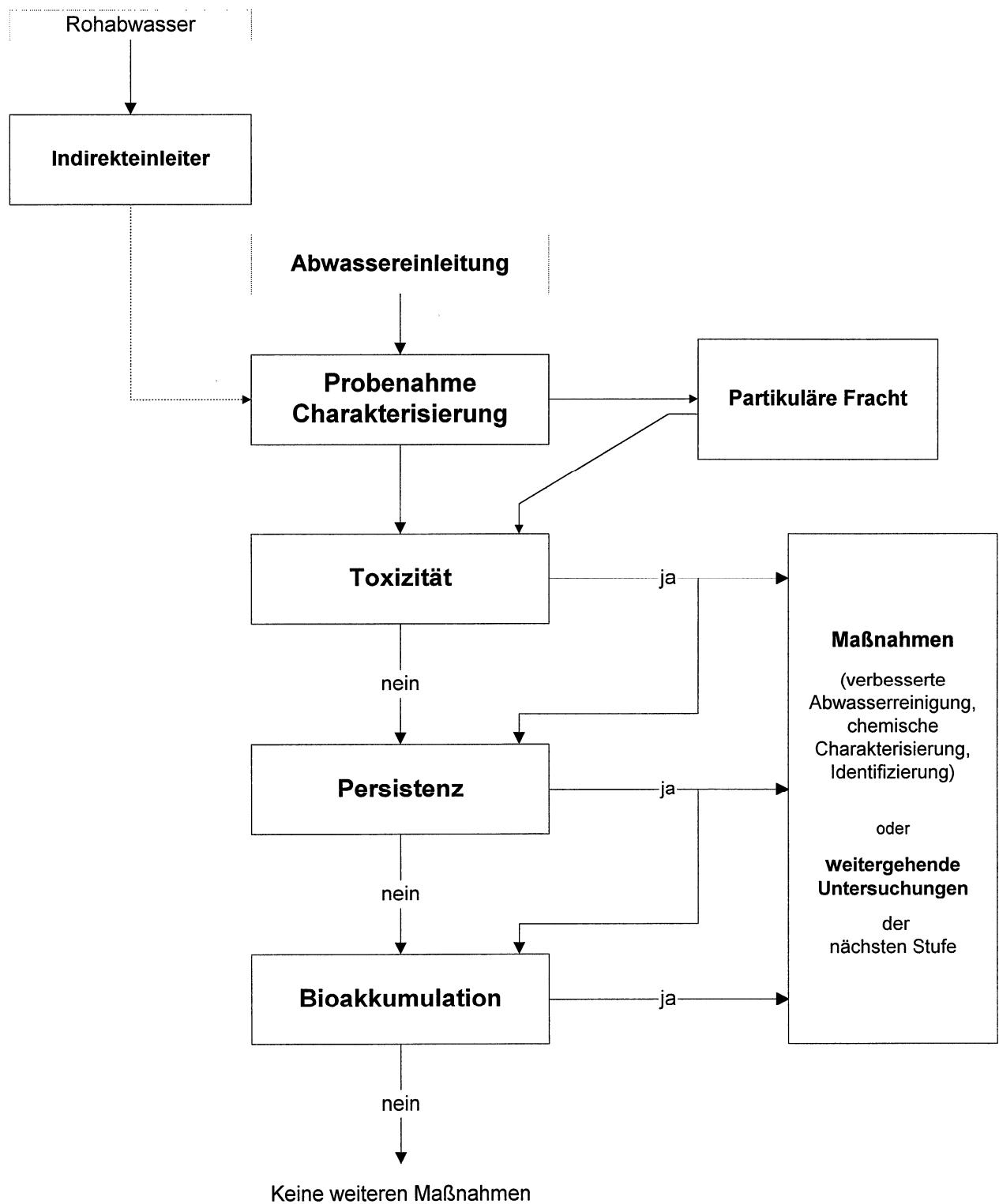


Bild 6: Abfolge der Untersuchungsmodule des Strategieentwurfs.

Im Sinne der zuvor (Kap. 4.1) formulierten Anforderungen wurden zwei weitere Module eingeführt.

Nach dem Modul „Probenahme und Charakterisierung“ kann gegebenenfalls, z.B. bei Vorliegen nennenswerter Feststoffanteile im Abwasser, das **Modul „Partikuläre Fracht“** eingefügt werden. Dieses erlaubt eine erste Abschätzung, ob von der partikulären Phase toxische Wirkungen ausgehen. Dann wird im Rahmen dieses Moduls die partikuläre Phase getrennt untersucht.

Ferner ist für die Untersuchung von Indirekteinleitungen ein **Modul „Indirekteinleiter“** anzuwenden, in dem die üblicherweise der Indirekteinleitung nachfolgende biologische Behandlung in einer kommunalen Kläranlage simuliert wird. Erst die so vorbehandelte Abwasserprobe wird dann im Modul „Probenahme und Charakterisierung“ der weiteren chemisch-analytischen Charakterisierung unterzogen und von dort ausgehend wie die Probe eines Direkteinleiters weiter untersucht.

4.3 Darstellung der einzelnen Module

Nach dieser kurzen Skizzierung des modularen Untersuchungsablaufs sollen nun die einzelnen Module, ihre innere Struktur und logische Verknüpfung sowie die einzusetzenden Bestimmungsverfahren eingehender dargestellt werden. In Anhang 9 ist zusätzlich der gesamte Untersuchungsablauf mit den einzelnen Untersuchungsschritten und -methoden detailliert dargestellt.

4.3.1 Modul „Probenahme und Charakterisierung“

Der erste Schritt der Untersuchungsstrategie ist die Probenahme in den zu untersuchenden Betrieben. Die Proben von Indirekteinleitern werden dann in das Modul „Indirekteinleiter“ überführt (siehe unten), während die Abwässer von Direkteinleitern direkt chemisch charakterisiert werden.

Diese Charakterisierung geht von bestehenden Datensätzen aus, wie sie im Rahmen anderer Untersuchungen, z.B. der regelmäßigen Überwachung im Rahmen des Vollzugs der Abwassergesetzgebung, gewonnen werden. Diese Charakterisierung ist nicht nur zur genaueren Beschreibung der zu untersuchenden Einleitung wichtig, sie gibt ferner bereits Hinweise auf notwendige Untersuchungen im Rahmen der Strategie (z.B. Bestimmung der Trübung für das Modul „Partikuläre Fracht“) und liefert den initialen Satz an Analysenwerten, an dem die Ergebnisse der weiteren Untersuchungen zu messen sind; denn Einzelne der im Modul „Probenahme und Charakterisierung“ erhobenen Parameter werden weiterhin als Untersuchungsparameter in der gesamten Strategie herangezogen; dazu gehört insbesondere der DOC-Gehalt und die UV-Absorption.

Einzusetzende Methoden

Probenahme

Die Erfüllung der in den Anhängen der AbwV festgelegten Grenzwerte wird i.d.R. an sogenannten „qualifizierten Stichproben“ oder 2-Stunden-Mischproben geprüft. Dieselbe Art der

Probenahme wäre somit auch im Rahmen dieser Untersuchungsstrategie anwendbar, um größte Vergleichbarkeit zu erreichen.

Andererseits zeigen viele Untersuchungen, dass die Qualität industrieller Abwassereinleitungen bei Indirekteinleitern, aber auch bei Direkteinleitern mit Ausgleichsbecken und einer betrieblichen Kläranlage zeitlich stark variieren kann, da viele Produktionsprozesse diskontinuierlich betrieben werden. Diese Schwankungen sind vermutlich um so größer, je kleiner die betrachtete betriebliche Einheit ist. Angesichts des beträchtlichen zeitlichen und finanziellen Aufwands, der mit der Durchführung der Untersuchungsstrategie verbunden ist und angesichts der Tatsache, dass diese Strategie eher in Hinblick auf Bewilligungen/Genehmigungsverfahren entwickelt wird, als für den abwasserrechtlichen Vollzug, erscheint aber auch eine vom Vollzug abweichende Probenahmestrategie anwendbar.

Die Gewinnung von Mischproben, die die zeitliche Variabilität integrativ erfassen, erscheint deshalb sinnvoll. Ob hierfür Tages- oder Mehrtagesmischproben erforderlich sind, ist von der untersuchten Einleitung (Direkt-/Indirekt-) und dem dahinter stehenden Betrieb (z.B. Größe, Zahl an Teilströmen und Produktionsprozessen) abhängig; in der schwedischen Strategie wird generell die Erstellung einer 1-Woche-Mischprobe gefordert (Kap. 2.2.5). Es erscheint gegenwärtig schwierig, hier eine generell anzuwendende Sammelzeit für die Gewinnung der notwendigen Mischprobe festzulegen. Der gegenüber einer Stichprobe höhere Aufwand bei dieser Art der Probenahme erscheint aber angesichts des folgenden Untersuchungsaufwands nicht nur vertretbar, sondern notwendig. Es wäre umgekehrt nicht sinnvoll und nicht vertretbar, die Untersuchungsstrategie mit einer nicht repräsentativen Probe durchzuführen.

Charakterisierung

Die Charakterisierung zielt auf eine Erfassung der anorganischen und organischen Belastung einer Abwasserprobe, basierend auf den etablierten Parametern der AbwV. Als Eingangsparameter sind zunächst die Bestimmung des pH, der Leitfähigkeit, der Menge suspendierter

Feststoffe und der Trübung zu nennen, gefolgt von Parametern, die die anorganische Fracht beschreiben, wie Chlorid, Nitrat, Sulfat, Ammonium-Stickstoff, sowie organische Belastungsparameter wie AOX, CSB, TOC und TN_b. Die Auswahl hängt von den Eigenschaften der jeweils zu untersuchenden Probe ab. Da sie im Rahmen der weiteren Untersuchung noch benötigt werden, sind hier auch der DOC-Gehalt und die UV-Absorption zu nennen (vgl. Bild 7). Sofern hier nicht aufgeführt, sind jeweils auch die Überwachungsparameter des zugehörigen Anhangs der AbwV zu erheben.

Probenahme

Charakterisierung

physikalische Parameter:

pH, Leitfähigkeit, suspendierte Stoffe, Trübung

anorganische Parameter:

Cl⁻, SO₄²⁻, NO₃⁻-N, NO₂⁻-N, NH₄⁺-N, P_{ges}

organische Parameter:

TOC, AOX, CSB, BSB

weitere Parameter

DOC, UV-Absorption (SAK)

Bild 7: Modul „Probenahme und Charakterisierung“.

4.3.2 Modul „Toxizität“

Hier ist zunächst die Bestimmung der akuten Toxizität und der Gentoxizität vorgesehen (Stufe 1, Bild 8). Zeigt das Abwasser eine akute toxische und/oder gentoxische Wirkung, könnten direkt Maßnahmen zur Reduzierung dieser Wirkung, d.h. zur Verbesserung der Abwasserbehandlung vorgesehen, und die Untersuchung zunächst beendet werden.

Die Ermittlung der chronischen Toxizität erübrigts sich bei Vorliegen akut toxischer Wirkungen. Bei Abwesenheit akut toxischer oder gentoxischer Effekte soll die chronische Toxizität bestimmt werden (Stufe 2, Bild 8). Stellen sich dabei Effekte ein, kann wiederum die Untersuchung beendet und Maßnahmen zur Verbesserung der Einleiterqualität ergriffen werden.

Einzusetzende Methoden:

Für die Bestimmung der *Toxizität* von Abwasserproben stehen in Deutschland standardisierte Toxizitätstests mit Organismen der vier Trophieebenen zur Verfügung (Anlage Nr. II, Abschnitt 4 der AbwV): Leuchtbakterien (Lumineszenzhemmung, Nr. 404), Algen (Chlorophyll-Fluoreszenz-Test, Nr. 403), Daphnien (Immobilität, Nr. 402) und Fische (Mortalität, Nr. 401). Bei der Anwendung der Tests ist ferner Nr. 400 der Anlage (Richtlinie zur Probenahme und Durchführung biologischer Testverfahren) zu berücksichtigen.

Es ist anerkannt, dass eine Testbatterie unter Berücksichtigung aller vier Trophieebenen zur Erfassung der akuten Toxizität eingesetzt werden sollte (Kap. 3.1.1), daher wird dies auch für diese Untersuchungsstrategie vorgesehen.

Von den genannten Tests sind alle bis auf den Algентest auf die Ermittlung einer akuten toxischen Wirkung ausgerichtet. Als Ersatz für den akuten Fischtest wird in absehbarer Zeit der Fischei-Test, der sich zur Zeit in der Endphase der Normung befindet, eingeführt werden. Dieser Test wird hier dementsprechend neben dem Leuchtbakterien- und dem Daphnientest für die Bestimmung akut toxischer Wirkungen im Rahmen der Untersuchungsstrategie ausgewählt.

Der Algентest kann dagegen als sogenannter chronischer Toxizitätstest bezeichnet werden, Damit steht auch ein chronischer Toxizitätstest für die Untersuchungsstrategie zur Verfügung. Kurzzeittests sind für Abwasseruntersuchungen aufgrund des geringeren Aufwands und der mit zunehmender Dauer eines Tests steigenden Schwierigkeit, Abwasserproben stabil zu halten, besser geeignet. Langfristig wäre die Verwendung zumindest eines zweiten chronischen Kurzzeittests mit Organismen einer anderen Trophie-Ebene sinnvoll.

Da alle diese Tests abgesehen vom Leuchtbakterientest Süßwasserorganismen verwenden, wird mit ihnen die Wirkung einer Abwassereinleitungen auf aquatische Organismen in limnischen Systemen (Süßwasser) erfasst. Der Leuchtbakterientest ist, obwohl ein marines Bakterium verwendet wird, allgemein für die Untersuchung von Abwassereinleitungen in limnische oder marine Systeme (Brack- oder Meerwasser) anerkannt. In den in Kap. 2 vorgestellten Untersuchungsstrategien werden Salzwasser-Organismen entweder für die Untersuchung von salzhaltigen Abwassereinleitungen (z.B. Niederlande) oder für Abwasser, das in die marine Umwelt eingeleitet wird (z.B. England), eingesetzt. Für die Untersuchung von Einleitungen in

die marine Umwelt (Salzwasser) existieren weniger standardisierte oder erprobte Verfahren (Kap. 3.1.2). In Deutschland gibt es nur wenige Direkteinleitungen in die marine Umwelt, daher sind bislang noch keine Toxizitätstest mit Salzwasser-Organismen in das Genehmigungsverfahren integriert. Allerdings wird ein erhöhter Cl^- oder SO_4^{2-} -Gehalt im Abwasser durch die Zulassung eines von den jeweiligen Konzentrationen abhängigen erhöhten Verdünnungsfaktors (G) berücksichtigt (Nr. 505 der Anlage der AbwV). Von einer Auswahl von Tests mit Salzwasser-Organismen für die Untersuchungsstrategie wurde daher abgesehen.

Für die Bestimmung der *Gentoxizität* von Abwasserproben stehen in standardisierter Form der umu- und der Ames-Test zur Verfügung. Da der umu-Test primäre DNA-Schäden detektiert und schon nach Anhang 22 der AbwV für die Genehmigung von Abwassereinleitungen der chemischen Industrie als Test auf erbgutveränderndes Potenzial (Nr. 410 der Anlage der AbwV) eingesetzt wird, wurde dieser Test auch für die Untersuchungsstrategie ausgewählt.

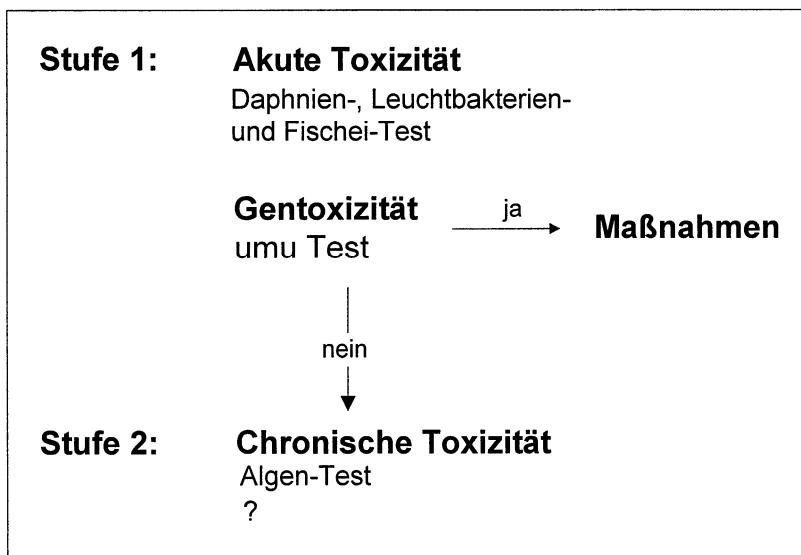


Bild 8: Modul „Toxizität“.

4.3.3 Modul „Persistenz“

Zur Erfassung des persistenten Anteils an Abwasserinhaltsstoffen wird ein Abbaustest durchgeführt, der den biologischen Abbau im Gewässer nachstellen soll (Bild 9). Die persistente Abwasserfraktion wird im Anschluss an den Abbaustest in der biologisch behandelten Probe durch Bestimmung des DOC-Gehalts und der UV-Absorption erfasst. Durch Vergleich dieser Werte mit den im Modul „Probenahme und Charakterisierung“ erhobenen Ausgangs-Daten lässt sich die persistente Fraktion ermitteln.

Eine gewisse Verminderung der organischen Abwasserfracht in einem derartigen Test ist auch dann zu erwarten, wenn das Wasser zuvor biologisch behandelt worden ist. Viele Verbindungen werden in Kläranlagen allein wegen der geringen Aufenthaltszeit (2-10 h) oder des Vorliegens anderer, leichter abbaubarer Stoffe, nicht oder nur unvollständig eliminiert [Pagga, 1987].

Wurden im Modul „Toxizität“ deutliche Effekte gefunden (und die Untersuchung daraufhin nicht beendet), so sollten die betreffenden Toxizitätstests (akute oder chronische toxische Effekte, Gentoxizität) nach dem Abbau erneut durchgeführt werden. So lässt sich ermitteln, ob die toxischen Inhaltsstoffe persistent sind oder nach Einleitung in das Gewässer durch biologischen Abbau noch vermindert werden können.

Diese Tests sind auch zur Bewertung des Abbauergebnisses selbst sinnvoll; denn bei der Anwendung eines Abbaustests auf Abwasserproben mit einer Vielzahl von Inhaltsstoffen sind im Gegensatz zur Verwendung von Einzelstoffen aus der Bestimmung des Rest-DOC keine klaren Wertungen hinsichtlich der Abbaubarkeit abzuleiten. Während bei Einzelstoffen nach einem Test auf leichte Abbaubarkeit entsprechend der OECD Testhierarchie 70% DOC-Elimination innerhalb von 10 Tagen das Kriterium für eine leichte biologische Abbaubarkeit sind, bedeutet dies im Kontext der Strategie, dass 30% des Abwasser-DOCs als persistent anzusprechen sind.

Analog dem Vorgehen im Modul „Toxizität“ kann im Modul „Persistenz“ bei Vorliegen relevanter Anteile an persistenten Stoffen die Untersuchung wahlweise beendet und Maßnahmen zur Verbesserung der Ablaufqualität eingeleitet werden.

Mit Hilfe der beiden Module „Toxizität“ und „Persistenz“ lässt sich also nicht nur feststellen, ob in einer Abwassereinleitung sowohl toxische als auch persistente Abwasserinhaltsstoffe vorhanden sind, sondern auch, ob eine zugleich toxische und persistente Fraktion vorliegt; diese wäre von besonderer Bedeutung für die Gefährdungsabschätzung.

Einzusetzende Methoden:

Bei der Einstufung des Abbauverhaltens von Einzelstoffen wird zwischen leichter (geringe Zelldichte, Abbau unter relativ ungünstigen Bedingungen) und inhärenter (hohe Zelldichte, günstigere Abbaubedingungen) Abbaubarkeit unterschieden. Für entsprechende Tests existieren verschiedene OECD- und ISO-Vorschriften (Kap. 3.3.1). Einige davon wurden bisher schon, zum Teil in modifizierter Form, für Abwasseruntersuchungen auf persistente Stoffe eingesetzt (Kap. 3.3.2).

Von den biologischen Abbaustests sind Tests auf leichte Abbaubarkeit im Rahmen der Untersuchungsstrategie von größerem Interesse. Ausgewählt wurde hier der OECD 301A-Test, bei dem Belebtschlamm als Inokulum dient und der Abbau über die DOC-Abnahme verfolgt wird (Die-away Test).

Die im Die-away Test eingesetzte geringe Biomassendichte entspricht eher Gewässerbedingungen, als die sehr hohen Dichten der Tests auf inhärente Abbaubarkeit. Sie ist andererseits höher, als in Tests auf leichte Abbaubarkeit, die mit Oberflächenwasser oder biologisch behandeltem Abwasser als Inokulum arbeiten (Kap. 3.3.2), und könnte so die Abbauleistung des Oberflächenwassers auch überschätzen. Allerdings zeigen vergleichende Untersuchungen mit den verschiedenen Tests auf leichte Abbaubarkeit beider Animpfdichten, dass sich für abbaubare Stoffe bei oft gleichem Endabbaugrad die Abbaugeschwindigkeit mit der Verwendung von Belebtschlamm als Inokulum erhöht. Insofern könnte mit dem Die-away Test vermutlich eine

ähnlich zusammengesetzte persistente Fraktion am Ende des Abbaustests aber schneller erzielt werden, als bei noch geringeren Animpfdichten.

Die Verfolgung des mikrobiellen Abbaus über die CO₂-Produktion wäre zwar prinzipiell interessant, entsprechende Tests sind aber apparativ durchweg aufwendiger als die oben Genannten und erscheinen daher kaum anwendbar im Rahmen dieser Strategie.

Vielfach wird als grobe Richtschnur für den Abwasseranteil in einem Oberflächengewässer ein Wert von 1/10 angesetzt. Um in einem Abbaustest eine möglichst große Nähe zu den realen Bedingungen zu erhalten, ließe sich somit eine 1/10-Verdünnung eines Abwassers vor Durchführung des Abbaustests in Betracht ziehen. Ob eine derartige Vorverdünnung den mikrobiellen Abbau organischer Abwasserinhaltsstoffe schließlich fördert oder verringert, lässt sich jedoch nicht vorhersehen. Aus zwei Gründen wird innerhalb der Untersuchungsstrategie von einer Vorverdünnung abgesehen: zum einen ist sie nur bei zugrundelegen eines immissionsorientierten Ansatzes sachlich gerechtfertigt. Zum anderen würden durch diese Verdünnung alle nachfolgenden analytischen Arbeiten deutlich erschwert und es wären z.B. toxische Effekte erst ab einer Verdünnungsstufe von G > 8 erfassbar.

Für die Interpretation der Ergebnisse des Abbaustests ist es von einiger Bedeutung, ob Stoffkonzentrationen durch Sorption an die Biomasse oder durch Mineralisation vermindert wurden: sorbierte Stoffe wären zum einen u.U. der persistenten Fraktion zuzurechnen, werden durch die DOC-Bestimmung aber nicht mehr erfasst; zum anderen fehlen sie bei der anschließenden Bestimmung der potenziell bioakkumulierbaren Fraktion im nachfolgenden Modul „Bioakkumulierbarkeit“. Zur Differenzierung zwischen sorptiver Entfernung und Mineralisation wird, wie auch in anderen Abbaustests wie dem Zahl-Wellens-Test (Nr. 404 laut AbwV, Kap. 3.3.2) die 3h-Probe herangezogen. Es wird davon ausgegangen, dass die Sorption hydrophober Stoffe vergleichsweise schnell verläuft, während der Abbau erst nach mehreren Stunden eine relevante Größe erreicht. Eine Konzentrationsabnahme innerhalb der ersten drei Stunden eines Abbaustests wird somit der Sorption zugeschrieben, spätere Verminderungen aber auf mikrobiellen Abbau zurückgeführt.

**Biologischer Abbaustest
DOC-Die away Test**

Bestimmung: Summenparameter (DOC, UV)

weitere Charakterisierung: Toxizität

Bild 9: Modul „Persistenz“.

4.3.4 Modul „Bioakkumulierbarkeit“

Mit diesem Modul wird nach der Toxizität und der Persistenz nun der dritte Gefährdungsparameter erfasst. Dazu wird die biologisch behandelte Probe aus dem Modul „Persistenz“ eingesetzt. Die Anordnung dieses Moduls „in Serie“ nach dem Abbaustest ist im Vergleich zu anderen Strategien (Kap. 2.2) ungewöhnlich.

Für diese Positionierung gibt es zwei Gründe:

- Um sich in aquatischen Organismen anreichern zu können, müssen Stoffe nicht nur höhere $\log K_{ow}$ -Werte aufweisen, sondern auch persistent sein. Andernfalls werden sie vor einer Anreicherung biologisch abgebaut und sind berechtigter Weise nicht Anlass für Besorgnis. Die Verwendung der im Modul „Persistenz“ biologisch behandelten Probe für die Erfassung der potenziell bioakkumulierenden Stoffe ist somit logisch zu fordern.
- Außerdem wird durch die analytische Bestimmung der potenziell bioakkumulierenden Stoffe die zu untersuchende Probe in ihrer Integrität zerstört; damit kann das Probenvolumen, welches im Modul „Bioakkumulierbarkeit“ verwendet wird, in keinem anderen Modul mehr eingesetzt werden. Die hier gewählte Abfolge der Module spart somit Probenvolumen und folgt damit der Anforderung des möglichst geringen Untersuchungsaufwands.

Wie bei der Darstellung des Moduls „Persistenz“ bereits ausgeführt, ist mit dieser Positionierung u.U. auch das Risiko verbunden, dass potenziell bioakkumulierende Stoffe, die per definitionem höhere $\log K_{ow}$ -Werte (> 3) aufweisen, durch Sorptionsprozesse in früheren Untersuchungsstufen verloren gehen und hier nicht mehr erfasst werden können. Diesem Problem wurde im Modul „Persistenz“ aber durch die Untersuchung der 3h-Probe Rechnung getragen. Eine weitere Maßnahme zur Vermeidung von Stoffverlusten während des Untersuchungsablaufs besteht in dem völligen Verzicht auf Filtration. Trennungen von gelöster und partikulärer Phase sind ausschließlich über Zentrifugation durchzuführen.

In kritischen Fällen ist es ferner möglich, die Bestimmung der potenziell bioakkumulierenden Stoffe zusätzlich auch vor der Durchführung des Moduls „Persistenz“ vorzunehmen. Dann kann aus der Differenz der Befunde vor und nach dem Abbaustest der im Abbaustest unvermeidbar verlorene Anteil potenziell bioakkumulierender Stoffe sicher ermittelt werden. Angesichts des damit sich deutlich erhöhenden Untersuchungsaufwands ist diese Option aber nur in sehr kritischen Fällen in Erwägung zu ziehen.

Die Fraktion der potenziell bioakkumulierenden Stoffe ist über einen $\log K_{ow}$ -Wert > 3 definiert (Kap. 3.2.1). Wie später dargestellt, werden zur Bestimmung der potenziell bioakkumulierenden Anteile diese aus der Probe entfernt. Dann werden an der verbleibenden Probe die auch in allen vorherigen Modulen bestimmten analytischen Parameter DOC und UV-Absorption erhoben und aus der Differenz die potenziell bioakkumulierende Fraktion bestimmt.

Sofern in der biologisch behandelten Probe des Moduls „Persistenz“ toxische oder gentoxische Effekte festgestellt wurden, sollten auch an der die PBS enthaltenden Restprobe die betreffenden Toxizitätstests durchgeführt werden. Hier ist insbesondere auch möglichen chronischen Effekten Rechnung zu tragen. Diese Verfahrensverknüpfung erlaubt es dann, aus einem Abwasser ggf. die Fraktion zu erfassen, die zugleich persistent, bioakkumulierbar und toxisch ist.

Einzusetzende Methoden:

In den bestehenden Strategiekonzepten werden für den Parameter Bioakkumulierbarkeit unterschiedliche Trenn- und Detektionsmethoden eingesetzt. Hierzu gehören die Trennung eines Hexan-Extrakts des Abwassers mittels Dünnschichtchromatographie (Schweden) oder HPLC (Dänemark) sowie die Festphasen-Mikroextraktion oder die biomimetrische Extraktion mit scheibenförmigem Extraktionsmaterial (Niederlande). In Deutschland wird zur Zeit im Auftrag des Umweltbundesamtes eine Methode entwickelt, die nach einer Anreicherung über eine Festphasen-Extraktion eine präparative HPLC zur Auf trennung und Quantifizierung der Abwasserinhaltsstoffe mit $\log K_{ow}$ -Werten > 3 einsetzt [Metzger et al., 2000].

Für die Bestimmung des PBS-Anteils soll hier, ähnlich wie schon bei Metzger, die Festphasen-Extraktion eingesetzt werden. Ausschlaggebend hierfür ist, dass mit dem Bestimmungsverfahren nicht nur die Menge potenziell bioakkumulierender Stoffe erfasst werden kann. Vielmehr soll es, wie oben bereits dargelegt, auch möglich sein, weitere Eigenschaften der PBS-Fraktion zu ermitteln, z.B. ihre Toxizität. Die SPE erlaubt die dafür notwendige präparative Gewinnung der PBS-Fraktion.

Ausgangspunkt der Methodenentwicklung war das Bestreben, bei Verwendung einer geeigneten Festphase nur Stoffe mit $\log K_{ow}$ -Werten > 3 zu extrahieren. Eine derartige Festphase könnte dann im Sinne einer Filtration zur Entfernung der PBS genutzt werden. Der organische Kohlenstoff der PBS wäre schließlich einfach durch eine DOC-Differenzbestimmung vor und nach „Festphasenfiltration“ erfassbar. Wenn nötig, könnte die PBS-Fraktion für weitere Untersuchungen von der Festphase eluiert werden.

Eine hierfür geeignete sehr hydrophobe Phase existiert jedoch nicht; alle hydrophoben Phasen extrahieren auch Verbindungen mit $\log K_{ow}$ -Werten < 3. Daraus ergab sich das in Bild 10 dargelegte Untersuchungsverfahren. Zunächst wird die Probe über die Festphasenextraktions-Kartusche gesaugt. Die meisten polaren Stoffe verbleiben in der Probe und finden sich im SPE-Filtrat. Ein gewisser Anteil von Stoffen mit $\log K_{ow}$ -Werten < 3 ist „fälschlicherweise“ auf der Phase fixiert. Durch Elution der Festphase mit einem geeigneten Lösungsmittelgemisch sollen diese, nicht zur PBS-Fraktion zu rechnenden Stoffe, von der Festphase eluiert und aufgefangen werden. Dieses Eluat kann dann entweder alleine, oder gemeinsam mit dem SPE-Filtrat den weiteren analytischen Verfahren zugeführt werden. Zum Beispiel ergibt dann die Summe der DOC-Werte von Filtrat und dem ersten Eluat den nicht potenziell bioakkumulierenden DOC. Durch Differenzbildung mit dem DOC-Gehalt der in die Extraktion gegebenen Probe (Ausgangs-DOC) kann so der DOC-Beitrag der PBS ermittelt werden. In kritischen Fällen kann dieser aber auch nach Elution der PBS von der Festphase aus dem aufgearbeiteten zweiten Eluat erfasst werden. In analoger Weise lässt sich auch die Toxizität der potenziell bioakkumulierbaren Stoffe ermitteln.

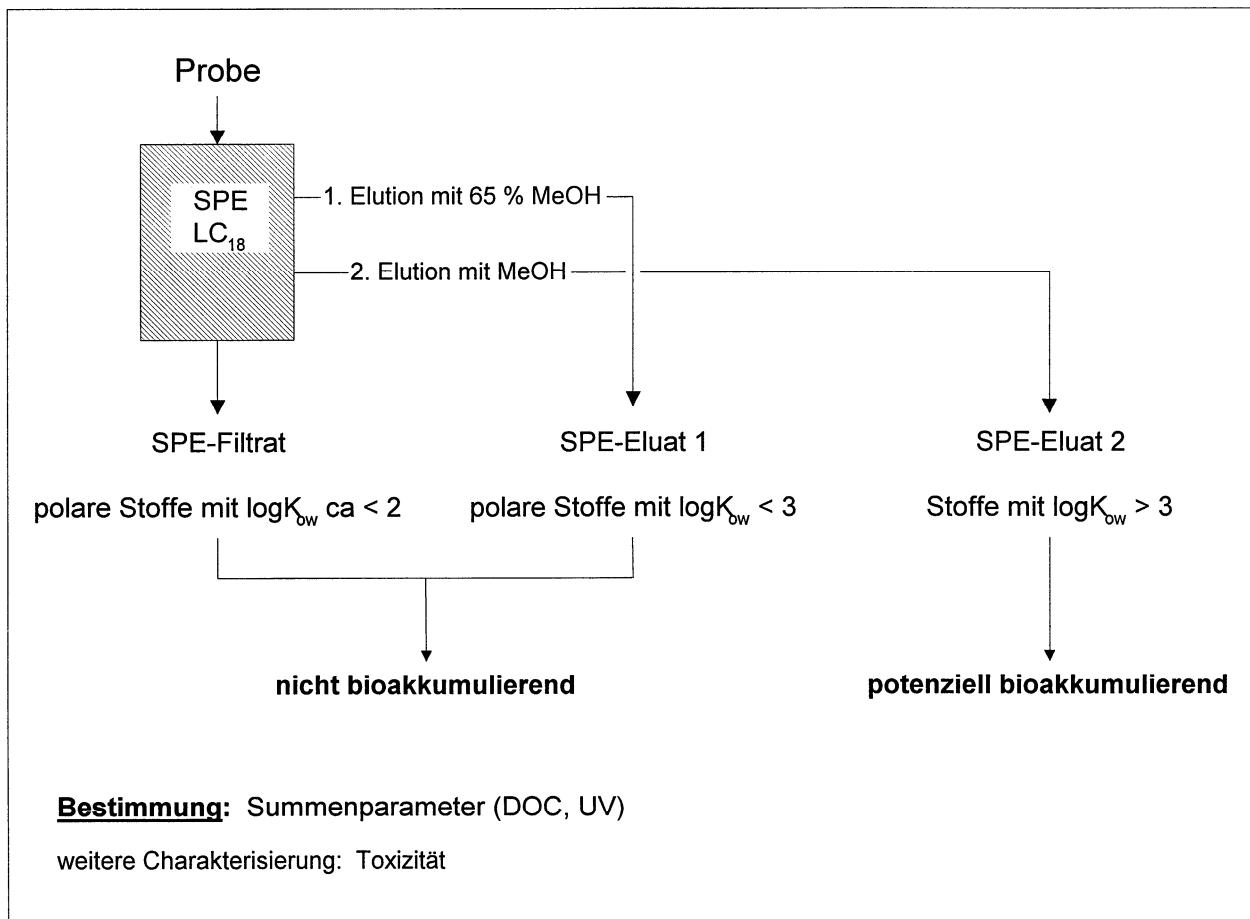


Bild 10: Modul „Bioakkumulierbarkeit“.

4.3.5 Modul „Partikuläre Fracht“

Dieses Modul soll es ermöglichen, die Bedeutung einer partikulären Abwasserbelastung in Hinblick auf gefährliche Stoffe abzuschätzen und diese partikuläre Fracht gegebenenfalls weiter zu untersuchen. Es wird innerhalb der Strategie als optional angesehen und ist nur dann durchzuführen, wenn eine nennenswerte Partikelbelastung vorliegt oder anderweitige Hinweise auf die mögliche Bedeutung einer partikulär gebundenen Fracht gefährlicher Stoffe vorliegen.

Grundlage des Vorgehens ist die Tatsache, dass sich die partikuläre Phase nicht in der bisher vorgestellten Strategie mitführen lässt und die gefährlichen Eigenschaften von daran sorbierten Stoffen nicht erfassen lassen. So ist es beispielsweise nicht möglich, die Persistenz partikulärer organischer Verbindungen mit dem im Modul „Persistenz“ vorgesehenen Abbautest zu erfassen, da die Mineralisation dort über die DOC-Differenz erfasst wird. Die Ermittlung der biologischen Abbaubarkeit sowohl der gelösten als auch der partikulären Phase ist nicht realisierbar, da analytisch keine Unterscheidung zwischen partikulären Probenbestandteilen und der für den Abbau zugegebenen Biomasse möglich ist: beide Komponenten werden gemeinsam bei der Bestimmung des TOC oder der suspendierten Stoffe erfasst. Im Modul „Persistenz“ wird daher die partikelfreie zentrifugierte Abwasserprobe und nicht die Gesamtprobe eingesetzt.

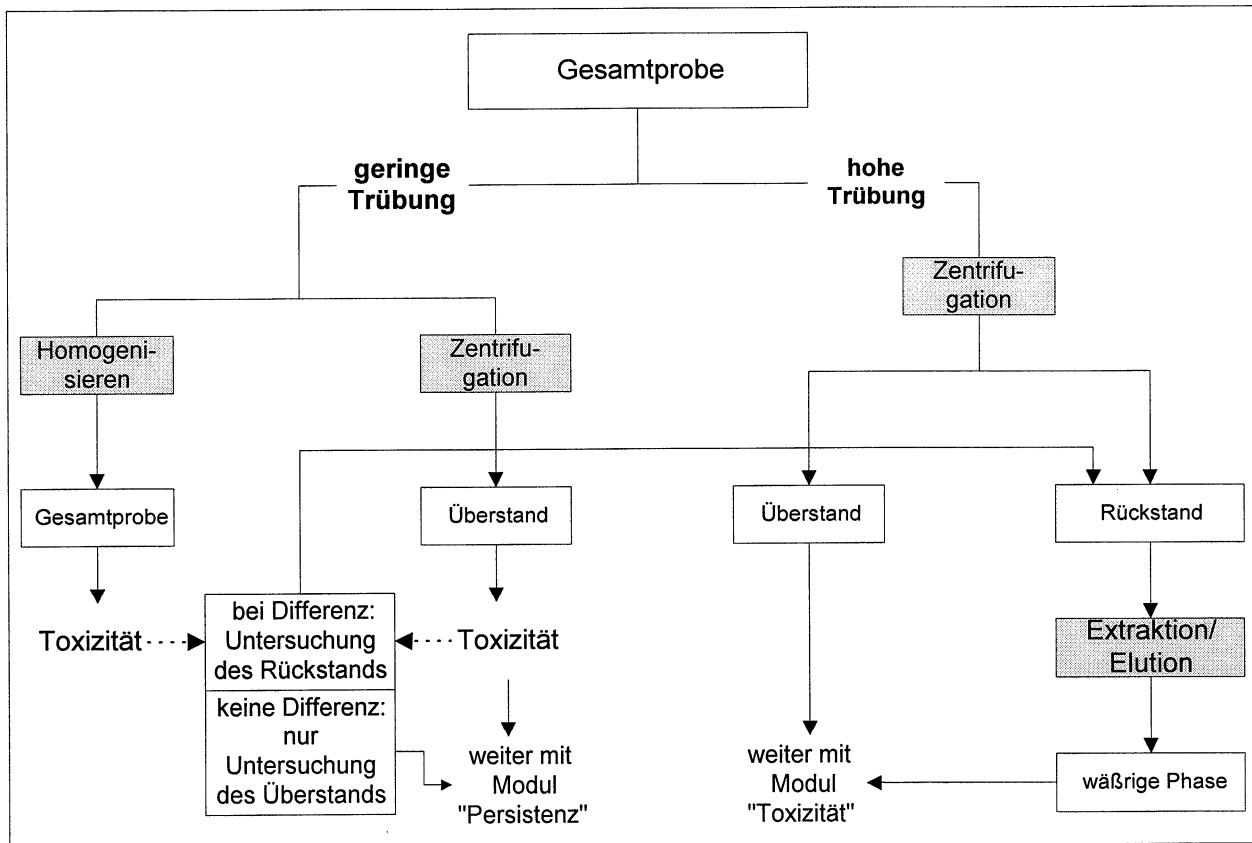


Bild 11: Modul „Partikuläre Fracht“.

Ähnliches gilt für das Modul „Bioakkumulierbarkeit“, in dem partikulär gebundene Stoffe zwar durch die Festphasenextraktion mit aus dem Abwasser entfernt würden, ihre Menge aber ebenfalls nicht getrennt von den gelöst vorliegenden Stoffen erfassbar wäre. Aus dieser Darstellung lässt sich folgern, dass die partikuläre Phase nur separat untersucht werden kann.

Gemäß dem dargestellten Schema (Bild 11) wird dabei so vorgegangen, dass zunächst die Menge (Trübung, suspendierte Feststoffe) und die Bedeutung der partikulären Phase abgeschätzt wird. Deren Bedeutung in Hinblick auf gefährliche Eigenschaften wird über einen Vergleich der Toxizität der homogenisierten, partikelhaltigen Probe mit der Toxizität der zentrifugierten, partikelfreien Probe abgeschätzt. Ergeben sich hier keine Unterschiede in den biologischen Effekten, dann wird im Rahmen der Strategie auf die weitere Untersuchung der partikulären Phase verzichtet und weiterhin nur die gelöste Abwasserfraktion (nach Zentrifugation) untersucht. Eine generelle, separate Untersuchung der partikulären Phase auf gefährliche Eigenschaften erscheint wegen des damit verdoppelten Untersuchungsaufwand als nicht gerechtfertigt; sie ist auch bei Abwassereinleitungen mit geringen Gehalten an suspendierten Feststoffen praktisch kaum durchzuführen, da hierfür große Probenvolumina zunächst zentrifugiert werden müssten, um die Partikel anzureichern.

Ist der Partikelgehalt eines Abwassers so hoch, dass bei der Untersuchung der homogenisierten Probe in den Toxizitätstests Störungen zu erwarten sind, so ist die partikuläre Phase durch Zentrifugation abzutrennen. Es kann dann entweder die Untersuchung beendet werden und Maßnahmen zur Verbesserung der Partikelentfernung in der Abwasserbehandlung eingeleitet werden;

oder es wird trotz dieser hohen Partikelfracht weiter verfahren. In diesem Fall sind von der partikulären Phase Eluate bzw. Extrakte herzustellen. Diese werden dann parallel zur gelösten Abwasserphase als wässrige Lösungen in der Strategie auf alle gefährlichen Stoffeigenschaften untersucht.

Die Auswahl des Parameters Toxizität für die generelle Abschätzung der Relevanz der partikulären Phase hat mehrere Gründe:

- nur bei der Toxizitätsbestimmung besteht die Möglichkeit durch Vergleich der Wirkung der Gesamtprobe mit der zentrifugierten Probe einen Effekt der partikulär gebundenen Stoffe zu ermitteln;
- ähnlich wie bereits für die Bedeutung des Parameters potenzielle Bioakkumulierbarkeit dargestellt, ist auch die Eigenschaft Persistenz in Hinblick auf die gesamte partikuläre Fracht von nur begrenzter Aussagekraft. Insofern ist bei der Untersuchung der partikulären Fracht dem Parameter Toxizität oberste Priorität einzuräumen.

Noch offen ist aber derzeit, bis zu welchem Partikelgehalt (zu bestimmen als Trübung bzw. Gehalt an suspendierten Feststoffen) die einzusetzenden Toxizitätstests ohne Störungen arbeiten. Dieses wird stark vom Test- und Messprinzip beeinflusst sein.

4.3.6 Modul „Indirekteinleiter“

In der vorgestellten Strategie wird zwischen Abwasser unterschieden, das direkt oder indirekt eingeleitet wird. Diese Unterscheidung liegt in der unterschiedlichen Behandlung begründet, die direkt bzw. indirekt abzuleitende Abwässer zum Zeitpunkt der Ableitung erfahren haben und die sie nach der Ableitung noch erfahren werden. Das noch in kommunalen Kläranlagen mitzubehandelnde Abwasser von Indirekteinleitungen wird deshalb nach der Probenahme (im Modul „Probenahme und Charakterisierung“) in diesem Modul in einem Abbaustest biologisch behandelt und erst dann innerhalb des Moduls „Probenahme und Charakterisierung“ weiter untersucht. Abwasser von Direkteinleitern wird dagegen das Modul „Probenahme und Charakterisierung“ ununterbrochen durchlaufen.

Es ist zu bedenken, dass Abwässer aus der kommunalen Mischkanalisation durch Mischwasserüberläufe, meist infolge von Starkregenereignissen, ohne eine Klärung in Oberflächengewässer gelangen können [Reemtsma et al., 2000] und dass dann auch die Abwässer industrieller Indirekteinleiter ohne weitere biologische Behandlung die Vorfluter erreichen. Dieser Pfad für den Eintrag gefährlicher Abwasserinhaltsstoffe wird in der hier vorgestellten Strategie jedoch nicht weiter berücksichtigt, da derartige Überlaufereignisse nicht den Regelfall darstellen und ihre Häufigkeit im Zuge verbesserter Rückhaltung im Kanalnetzes sich zukünftig deutlich vermindern dürfte [z.B. Engel, 1998].

Einzusetzende Methoden:

Für die Vorbehandlung indirekt einzuleitender Abwässer ist ein aerober Abbaustest anzuwenden, der Kläranlagenbedingungen simuliert, also mit hoher Animpfdichte arbeitet (entsprechend Nr. 407 der Anlage der AbwV bzw. OECD 302b, vgl. Bild 12). Trotz der Unterschiede dieser Abbaustests zu einer Kläranlage, haben Untersuchungen doch gezeigt, dass die Resultate in

Hinblick auf die Elimination bestimmter Einzelstoffe und auch organischer Summenparameter zufriedenstellend sind [Steinhäuser, 1996a].



Biologischer Abautest
Zahn-Wellens-Test

Bild 12: Modul „Indirekteinleiter“.

Bei Einsatz derartiger Tests im Rahmen der Untersuchungsstrategie ist noch zu klären, ob diese Übereinstimmung in der Eliminationsleistung auch zu erzielen ist, wenn das industrielle Abwasser, wie hier vorgesehen, unverdünnt in den Abbaustest gegeben wird. In der kommunalen Kanalisation ist hingegen von einer starken Verdünnung durch häusliches Abwasser auszugehen, die evtl. auch Einfluss auf die Abbaubarkeit der Abwasserinhaltsstoffe in der kommunalen Abwasserbehandlung haben kann.

Zwar ist der unverdünnte Einsatz des Ablaufs im Abbaustest vorgesehen; es ist jedoch entsprechend den Testvorschriften darauf zu achten, dass der Grenzwert für den DOC (400 mg/L) bzw. CSB (1 g/L) dabei nicht überschritten wird.

5 Experimentelle Arbeiten

5.1 Zielsetzung

Das Ziel der praktischen Arbeiten war die exemplarische Erprobung der im vorhergehenden Kapitel vorgestellten Untersuchungsstrategie an drei verschiedenen industriellen Abwassereinleitungen.

Dabei war zu prüfen, ob die vorgestellte Verknüpfung der Module sinnvoll und praktikabel in Hinblick auf die Ziele der Untersuchungsstrategie ist. Methodenentwicklung war hinsichtlich des Moduls „Bioakkumulierbarkeit“ zu leisten. Das hier projektierte Vorgehen ist neu und bedurfte erster grundlegender Prüfung auf seine Machbarkeit, um es im Rahmen der Strategie weiterhin vertreten zu können. Ferner mussten wesentliche experimentelle Bedingungen herausgearbeitet werden. Daneben dienten die Laborversuche dazu, einige als kritisch erachtete Schritte in der Untersuchungsstrategie erstmals zu testen. Besonderes Augenmerk wurde auf die Module „Persistenz“ und „Bioakkumulierbarkeit“ gelegt. Die detaillierten Fragen sind jeweils bei den zu prüfenden Modulen dargelegt. Obwohl sie aus etablierten Verfahren bestehen und insofern nicht der experimentellen Prüfung bedürfen, wurden auch die Module „Probenahme und Charakterisierung“ und „Toxizität“ abgearbeitet. Sie sind im Sinne der Strategie notwendige Module, ohne die die Ergebnisse der späteren Module nicht eingeordnet werden können.

Neben der dargestellten Prüfung ausgewählter Schritte der Strategie sollten durch die Laborexperimente auch kritische Aspekte und noch offene methodische Fragen aufgezeigt werden, die der weiteren Entwicklung bedürfen. Diese sind im Anschluss in Kapitel 6 aufgeführt.

Die weitere Entwicklung und ggf. Modifizierung der Untersuchungsstrategie ist wichtig, um von dem Zustand einer auf Papier skizzierten, aus Literaturstudium, eigenen Erfahrungen und Überlegungen entwickelten Strategie zu einem praktisch ausgearbeiteten und robusten Verfahren zu kommen, das dann auch angewendet werden kann und wird. Neben weiteren experimentellen Prüfungen und Ausarbeitungen wird es aber auch der intensiven fachlichen Diskussion bedürfen, um ein entsprechendes Entwicklungsstadium zu erreichen.

5.2 Abwasserherkunft

Die drei untersuchten Abwasserproben sind Stichproben aus Ableitungen industrieller Direkt-einleiter, die ihm Rahmen der routinemäßigen Überwachung durch eine Landesbehörde gewonnen wurden. Wie in Tab. 8 aufgeführt, sind zwei Branchen, chemische Industrie und Metallbearbeitung, beprobt worden. Alle Proben sind Abläufe der end-of-pipe positionierten biologischen Abwasserbehandlung. Diese Anlagen erhalten jeweils Abwasserteilströme aus verschiedenen Produktionszweigen oder -stufen, die vor der Abgabe an die betriebliche Kläranlage zum Teil noch physikalisch vorbehandelt wurden (Aktivkohleadsorption, Flotation).

Tab. 8 Herkunft und Behandlung der untersuchten Abwasserproben.

| Abwasser | A | B | C |
|--------------------|--|---|--|
| Herkunft | Produktion von Pflanzenschutzmitteln, medizinischen Produkten und Farben | Produktion von Pflanzenschutzmitteln, pharmazeutischen Zwischenprodukten und Farben | Oberflächenbehandlung und Lackierung von Blechen |
| Art der Behandlung | Biologische Behandlung | Biologische aktivkohle-gestützte Behandlung | Biologische Behandlung |

5.3 Modul „Probenahme und Charakterisierung“

Einleitend für die weiteren Arbeiten waren die drei Stichproben zunächst eingehend zu charakterisieren. Die hierzu herangezogenen Parameter orientieren sich an den in der Untersuchungsstrategie dargelegten Messgrößen.

Ein Vergleich verschiedener Probenahmestrategien (Stichproben, Mischproben) war nicht Inhalt dieser praktischen Erprobungen.

Wie diese Untersuchungen aufzeigen, sind die Abwasserproben von deutlich unterschiedlicher Qualität in ihrer organischen Belastung, Salzfracht und Belastung mit abfiltrierbaren Stoffen (Tab. 9).

Die Proben A und B entstammen beide aus der chemischen Industrie, die Probe B erweist sich jedoch als deutlich geringer mit organischen Stoffen belastet. Dies könnte auf die intensivere, aktivkohleunterstützte biologische Behandlung zurückzuführen sein. Gemeinsam ist beiden Proben die sehr geringe Trübung und eine hohe Salzbelastung.

Demgegenüber ist die Ablaufprobe aus der Metallbearbeitung (Probe C) stark getrübt und weist einen Gehalt an suspendierten Feststoffen von 142 mg/L auf. Damit wird deutlich, dass es in bestimmten Fällen durchaus wichtig sein kann, in die Untersuchung gefährlicher Eigenschaften industrieller Abwassereinleitungen auch die partikuläre Ablauf-Fracht mit einzubeziehen. Dies ist auch wichtig, weil hier ein Großteil der organischen Belastung in partikulärer Form auftritt: bei einem Gesamt-CSB von 233 mg/L ist der CSB der zentrifugierten Probe mit 55 mg/L weniger als 1/4 der Gesamtbelaistung dieses Ablaufs; mehr als 3/4 treten somit in partikulärer Form auf.

Tab. 9 Physikalisch-chemische Charakterisierung der Abwasserproben.

| Probe | A | B | C |
|--|-------------|-------------|---|
| pH | 6.8 | 7.5 | 7.9 |
| Leitfähigkeit [mS/m] | 6.2 | 5.5 | 1.7 |
| Trübung [FNU^a] | 6.4 | 2.2 | 142 |
| suspendierte Feststoffe [mg/L] | 8.6 | 5.8 | 257 |
| Färbung | lachs | keine | leicht gelblich + dunkelbraune Partikel |
| SAK ₂₅₄ ^b [m ⁻¹] | 107 | 5.2 | 31 |
| SAK ₄₃₆ [m ⁻¹] | 6.2 | 0.3 | 1.1 |
| DOC zentrifugiert [mg/L] | 29.6 | 2.6 | 18.7 |
| CSB zentrifugiert [mg/L] | 88 | 13 | 55 |
| CSB homogenisiert [mg/L] | 115 | 16 | 233 |
| SAK ₂₅₄ /DOC | 3.6 | 2.0 | 1.7 |
| CSB/DOC zentrifugiert | 3.0 | 4.7 | 2.9 |
| NH ₄ -N [mg/L] | 1.5 | 2.8 | 0.04 |
| NO ₃ -N [mg/L] | 6.5 | 6.3 | 9.3 |
| Chlorid [mg/L] | 803 | 1066 | 215 |
| Sulfat [mg/L] | 1606 | 1054 | 181 |
| Phosphat [mg/L] | < 1 | < 1 | < 1 |

^a FNU: Formazine Nephelometric Units^b SAK: Spezifischer Absorptionskoeffizient

Diese qualitativ somit sehr unterschiedlichen Abwassereinleitungen stellen eine gute Grundlage für die folgenden methodischen Untersuchungen dar. Die im Modul „Probenahme und Charakterisierung“ erhobenen Daten geben erste Einblicke in die spezifische Belastung der Abläufe und möglicherweise problematische Aspekte.

5.4 Modul „Toxizität“

Vorgehen:

Hier wurden toxische Wirkungen der zentrifugierten Proben im Leuchtbakterien-, Daphnien-, Fischei- und Algентest sowie die Gentoxizität im umu-Test ermittelt. Der Leuchtbakterientest wurde über 30 min, der Daphnien- und der Fischei-Test über 48 h und der Algentest als Wachstumshemmtest über 96 h durchgeführt, damit können mit dem letzteren auch chronische Effekte detektiert werden. Das Vorgehen und die Festlegung von G-Werten für die einzelnen Tests ist in Anhang 4.2 beschrieben.

Ergebnisse:

Keine der drei Proben zeigte eine Wirkung im Daphnientest ($G_D = 1$), im Algertest zeigte nur Probe A eine schwache Wirkung (18 % bei der Verdünnung 1:1, $G_A = 2$). Probe A war auch als einzige wirksam im Leuchtbakterientest ($EC_{50} = 0.56$, $G_L = 6$) und im Fischei-Test ($G_{Ei} = 3$). Im umu-Test wurde keine gentoxische Wirkung detektiert ($G_{EU} = 1.5$), die Ergebnisse sind im Anhang 3.2 aufgeführt.

Insgesamt ist einzig Probe A hinsichtlich der gelösten Stoffe anhand des Leuchtbakterientests und des Fischei-Tests als schwach toxisch einzustufen [Dannenberg, 1994]. Im Vergleich zu den nach Anhang 22 der AbwV an Einleitungen der chemischen Industrie gestellten Anforderungen ($G_F 2$, $G_D 8$, $G_A 16$, $G_L 32$ und $G_{EU} 1.5$) wird von dieser Probe die Anforderung an den Fischtest (G_F) mit dem zukünftig als Ersatz vorgesehenen Fischei-Test nicht erreicht.

5.5 Modul „Partikuläre Fracht“

Mit diesen Untersuchungen war die Frage verbunden, ob das in diesem Modul vorgeschlagene Vorgehen praktikabel ist und wo Schwierigkeiten erkennbar werden.

5.5.1 Vorgehen

Alle Proben wurden ergänzend zu der bereits im Modul „Toxizität“ durchgeführten Untersuchung auf toxische Wirkungen der partikelfreien (zentrifugierten) Probe hier auch noch als homogenisierte, partikelhaltige Proben im Leuchtbakterien-, Algen und Daphnientest eingesetzt.

5.5.2 Ergebnisse

In keinem Fall wurde ein Unterschied zwischen zentrifugierter und homogenisierter Probe festgestellt. Bild 13 zeigt dies für den Leuchtbakterientest: die Hemmkurven der partikelfreien und der partikelhaltigen Proben verlaufen in allen drei Fällen völlig parallel. Die analogen Hemmkurven des Algents tests sind im Anhang 5.1 dargestellt.

Eine von der partikulären Phase ausgehende Wirkung wurde somit in diesen Biotests für keine der drei Proben festgestellt. Für die Proben A und B erklärt sich dies bereits aus den geringen Feststoffgehalten. Die gute Parallelität auch für Probe C zeigt darüber hinaus, dass Partikelgehalte bis 250 mg/L SF den jeweiligen Test nicht zu stören scheinen. Allerdings dürften Störeinflüsse auch von der Art der Partikel (sedimentierbar, suspendiert bleibend) und dem Messprinzip des jeweiligen Tests abhängen. Setzt sich während des Tests der größte Teil der partikulären Stoffe am Boden des Testgefäßes ab, so wird die Detektion zumindest im Leuchtbakterien-, Algen- und Daphnientest offenbar nicht gestört.

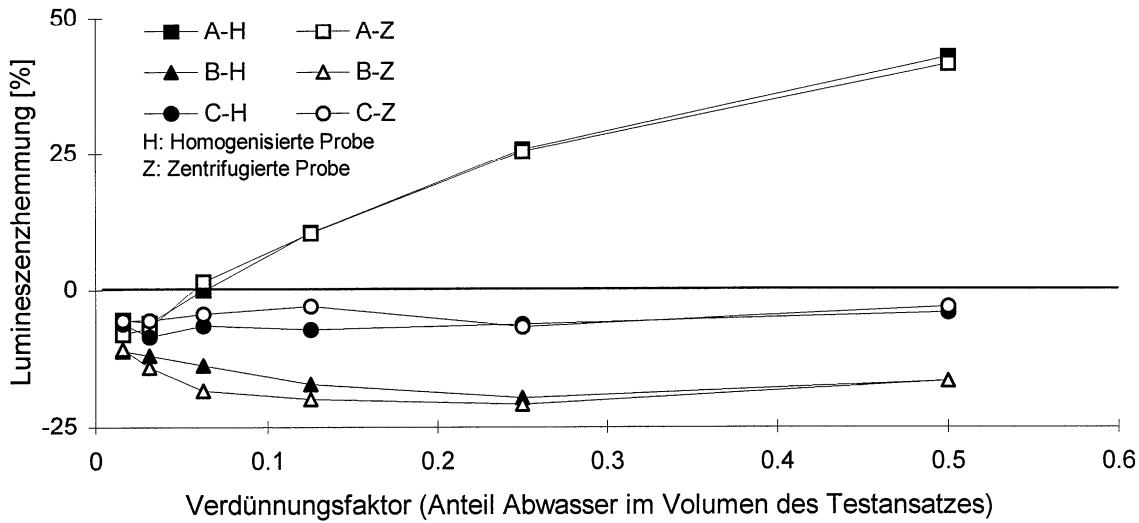


Bild 13: Hemmung im Leuchtbakterientest der Abwasserproben A, B und C homogenisiert und zentrifugiert.

Wegen der Abwesenheit detektierbarer toxischer Wirkungen partikular gebundener Stoffe wurde die partikuläre Phase der drei Proben nicht weiter separat untersucht.

5.6 Modul „Persistenz“

Für diese Untersuchungen war die Frage bestimmend, ob eine Kopplung des Abbaustests für behandelte Abläufe mit der Summenparameter-Bestimmung und vor allem auch mit Toxizitätstests praktikabel ist. Insbesondere war die Frage der Kompatibilität der biologischen Tests mit dem vorher durchzuführenden Abbaustest zu prüfen. Ferner wurde untersucht, ob die angestrebte Erfassung sorptiver Entfernung von Abwasserinhaltsstoffen während des Abbaustests durch die 3h-Probe aussagekräftig ist.

5.6.1 Vorgehen

Als biologischer Abbaustest wurde ein Test auf leichte Abbaubarkeit mit kommunalem Belebtschlamm (30 mg/L SF) ausgewählt. Neben den Ablaufproben wurde Anilin als Kontrollsubstrat eingesetzt. Im Anschluss daran wurden die DOC-Gehalte und die UV-Absorption der biologisch behandelten Proben bestimmt und die Proben ferner im Lumineszenzhemmtest, im Algenwachstumstest und im umu-Test untersucht. Das genaue Vorgehen ist in Anhang 4.3 beschrieben.

5.6.2 Ergebnisse

Persistenz

Die Ergebnisse des Abbaustests für die drei Abwasserproben zeigt Tab. 10. Neben der Abnahme der organischen Belastung bis zum Versuchsende nach 28 Tagen ist auch die Abnahme nach 3 Stunden Testdauer aufgeführt (3h-Probe).

Tab. 10: Reduktion der organischen Belastung der drei Abwasserproben und der Anilinkontrolle im Test auf leichte Abbaubarkeit.

| Probe | Reduktion nach 3 Stunden | | Reduktion nach 28 Tagen | |
|--------|--------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|
| | DOC [%] | SAK ₂₅₄ [%] | DOC [%] | SAK ₂₅₄ [%] |
| A | 6.0 | -1 | 28.8 | 12 |
| B | 15.8 | 39 | 15.3 | 48 |
| C | 2.4 | 13 | 15.3 | 26 |
| Anilin | 1.7 | -0.6 | 97.3 | 93 |

Endwerte nach 28 Tagen:

Die stärkste Verminderung der organischen Belastung fand mit 29 % von 30 mg/L DOC bei der Probe A statt. Von den geringer organisch belasteten Proben B und C wurde jeweils nur 15% des DOC entfernt (von 2.6 bzw. 19 mg/L), die UV-Aktivität hingegen stärker reduziert. Probe B weist allerdings einen so niedrigen Ausgangs-DOC auf, dass kaum mit einem noch klar bestimmmbaren Abbauergebnis zu rechnen war.

Diese Werte zeigen, dass bei allen Ablaufproben trotz zum Teil sehr intensiver Abwasserbehandlung, noch mit einem weiteren aeroben mikrobiellen Abbau im Gewässer zu rechnen ist. Umgekehrt ergeben diese Untersuchungen in Hinblick auf die gefährlichen Stoffeigenschaften, dass zwischen 21 mg/L DOC (Probe A) und 2.2 mg/L DOC (Probe B) an persistenten organischen Stoffen in den industriellen Abwassereinleitungen enthalten ist.

Die Eliminationskurven für die Proben A und C sowie für Anilin sind in Bild 14 dargestellt. Die Kurve für Probe B wird nicht gezeigt, da eine prozentuale Darstellung bei den niedrigen DOC-Werten die Kurve stark verzerrt. Die Darstellung der Abnahme von DOC und SAK₂₅₄ ist für alle Testansätze im Anhang 6 zu finden.

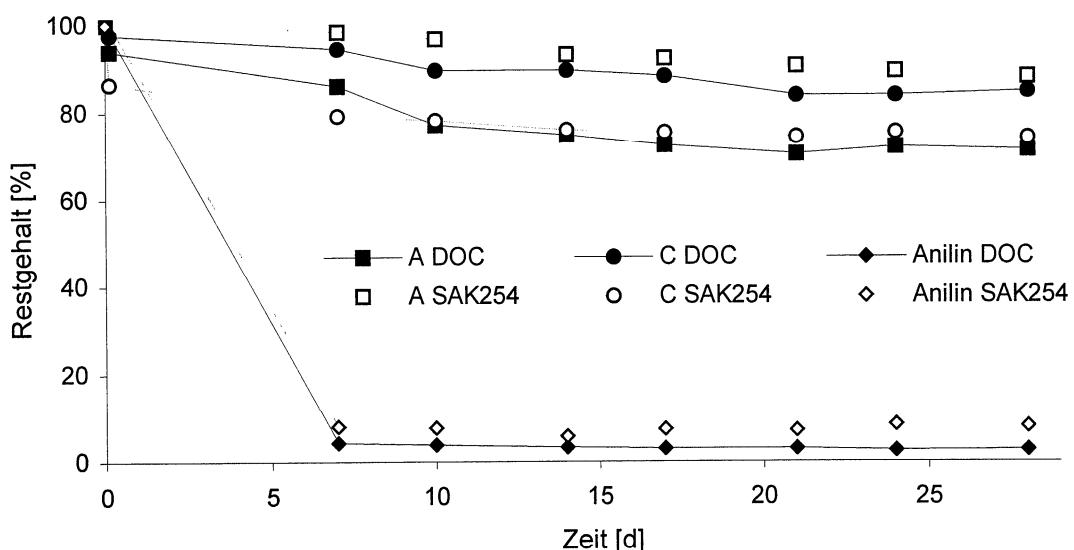


Bild 14: Relative DOC- und SAK₂₅₄-Werte der Proben A und C sowie der Anilinkontrolle im Abbautest über 28 d.

Für die Proben A und C ist eine leichte Reduzierung organischer Stoffe über die Versuchszeit zu beobachten, wobei der Verlauf für den DOC-Gehalt und die UV-Absorption aber etwas unterschiedlich war. Die Referenzsubstanz Anilin wird hingegen schnell und vollständig mineralisiert.

3h-Probe:

Wie die 3h-Werte zeigen, ist die sorptive Entfernung von Abwasserinhaltsstoffen bei Abwasser A unbedeutend. Umgekehrt scheint die in Probe B beobachtete Abnahme des DOC-Gehalts und der UV-Aktivität allein auf Sorption zu beruhen; der 3h-Werte des DOC-Gehalts unterscheidet sich von dem 28d-Werten nicht. Allenfalls bei der UV-Absorption ist noch eine weitere Verminderung (auf 48% des Ausgangswerts) festzustellen. Im Falle der Probe C zeigt sich nach 3 h nur eine schwache, sorptionsbedingte DOC-Reduktion, während die Verminderung der UV-Absorption nach 3h bereits die Hälfte des nach 28 Tagen gefundenen Wertes erreicht hat.

Diese für die drei Proben sehr unterschiedlichen Resultate lassen natürlich noch keinen endgültige Schluss bezüglich der Eignung der 3h-Probe zur Erfassung sorptiver Effekte zu. Die Ergebnisse zeigen aber immerhin, dass es sehr schnelle (< 3 h) Entferungen gelöster organischer Stoffe auch bei Proben geben kann, deren mikrobieller Abbau über 28 d nur mäßig ist und sehr langsam und eher gleichmäßig erfolgt (Bild 14). Es ist insofern wahrscheinlich, dass es sich hierbei tatsächlich um sorptive Effekte handelt. Auch der weitere zeitliche Verlauf der Abbaukurven (z.B. 7d-Wert) lässt die 3h-Probe als angemessen erscheinen. Die Tatsache, dass zum Teil die UV-Absorption stärker vermindert zu werden scheint als der DOC, bestätigt diese Vermutung. In der Regel kann man in Gemischen von Abwasserinhaltsstoffen der UV-aktiven, aromatischen Fraktion eine geringere Hydrophilic und damit eine größere Sorptionsneigung zuschreiben, als der nicht UV-aktiven aliphatischen Fraktion.

Ob angesichts der deutlich geringeren Biomasse-Konzentration als im Zahn-Wellens-Test und angesichts der Tatsache, dass die zu untersuchenden Abwässer meist intensiv, auch biologisch, vorbehandelt sind, die Gleichgewichtszeit bis zur Probenahme zur Erfassung sorptiver Effekte nicht auch verlängert werden könnte (z.B. 12 h) sollte Gegenstand weiterer Prüfung sein.

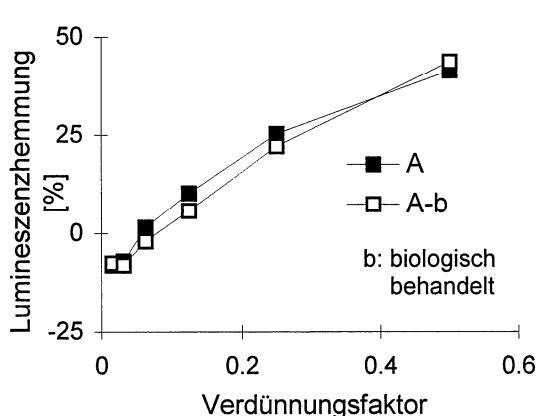


Bild 15: Leuchtbakterienhemmung der Probe A vor und nach dem Abbaustest

Toxizitätstests:

Allein Probe A war wiederum im Leuchtbakterientest wirksam und zwar, wie Bild 15 zeigt, in gleichem Ausmaß wie vor dem Abbaustest. Die in diesem Ablauf befindlichen, leicht lumineszenzhemmenden Inhaltsstoffe werden demnach im Test auf leichte biologische Abbaubarkeit nicht entfernt und sind im Sinne der Untersuchungsstrategie als persistent anzusehen.

Die abgebauten Proben wurden auch im umu-Test untersucht, hier zeigte sich kein Effekt (siehe Anhang 5.2).

Bezogen auf die Untersuchungsmethodik besagt dieses Ergebnis zusammen mit den Blindwerten aber auch, dass durch den Abbaustest keine artifizielle Wirkung im Lumineszenzhemmtest oder im umu-Test hervorgerufen wird; das Verfahren des Abbaustests ist demnach kompatibel mit den nachfolgenden Toxizitätstests. Dieses Resultat ist von großer Wichtigkeit für die Gesamtstrategie.

5.7 Modul „Bioakkumulierbarkeit“

Für dieses Modul bestand noch der größte methodische Entwicklungsbedarf, so dass auch bei den praktischen Arbeiten hier ein Schwergewicht zu setzen war. Grundfrage war zunächst, ob mit dem skizzierten Ablauf (Kap. 4.3.4, Bild 10) eine hinreichend scharfe Auf trennung der Abwasserinhaltsstoffe in potenziell Bioakkumulierende ($\log K_{ow} > 3$) und hydrophilere, nicht Akkumulierende ($\log K_{ow} < 3$) erzielt werden kann. Dann sollte die Übertragbarkeit der Extraktionsbedingungen auf reale Abwasserproben geprüft werden.

Die dargestellten Untersuchungen gliedern sich in methodische Entwicklungen mit Standardsubstanzen und mit höher belasteten industriellen Abwässern (Kap. 5.7.1 und Anhang 7), sowie in die Anwendungen auf die drei Abwässer der chemischen Industrie bzw. der Metallbearbeitung (Kap. 5.7.2).

5.7.1 Methodenentwicklung

Im folgenden werden das Vorgehen sowie die Ergebnisse der Methodenentwicklung zusammengefasst. Eine detaillierte Beschreibung und Auswertung der Versuche findet sich im Anhang 7.

Anhand eines Standardgemisches bestehend aus zehn aromatischen Einzelstoffen ($\log K_{ow}$ 1.9-5.8) wurden zuerst geeignete Bedingungen für eine Trennung der Stoffe bei einem $\log K_{ow} \approx 3$ mittels Festphasen-Extraktion und zweistufiger Elution ermittelt. Die Auf trennung des Stoffgemisches wurde über HPLC mit Dioden-Array-Detektion verfolgt.

Als geeignet erwies sich ein Methanol-Wasser-Gemisch mit 65 % Methanol (MeOH) für den ersten Elutionsschritt und 100 % MeOH für den zweiten. Eine gewisse Unschärfe der Trennung lässt sich in einem Übergangsbereich von $\log K_{ow} = 3 \pm 0.2$ nicht vermeiden, wie eine in 5 %-Schritten erfolgte Erhöhung des MeOH-Anteils bei der ersten Elution von 60 % auf 75 % MeOH zeigte. Als Ursachen sind zum einen chromatographische Effekte in der Festphasenkartusche und zum anderen unterschiedliche Angaben von $\log K_{ow}$ -Werten in der Literatur aufgrund ihrer Bestimmung mit verschiedenen Methoden zu nennen. Die nominelle Trenngrenze dieses SPE-Verfahrens wird daher auf $\log K_{ow} = 3 \pm 0.2$ festgelegt. Bei der Anwendung auf Abwasserproben wurde mit einem MeOH-Anteil von 68 % für die erste Elution gearbeitet, was als oberste Grenze anzusehen ist.

Der Anteil von PBS in Abwassereinleitungen soll, wie in Kap. 4.3.4 beschrieben, über eine DOC-Differenz-Messung bestimmt werden. Die DOC-Gehalte des SPE-Filtrats und des ersten SPE-Eluats werden dazu vom DOC-Gehalt der Probe abgezogen. Für die Voruntersuchungen wurde biologisch behandeltes Gerbereiabwasser sowie Melasseabwasser verwendet.

Die Entfernung des MeOH aus der ersten Eluatfraktion (68 % MeOH) vor der DOC-Bestimmung durch einfaches Einengen in der Vakuumzentrifuge erwies sich als nicht ausreichend. Eine Reduzierung der Methanol-Restgehalte auf akzeptable Blindwerte (0.2 mg/L) gelang erst nach dreifachem „Spülen“ (Einengen, Zugabe von Wasser, erneutes Einengen) der Eluatfraktion. Mit den Ergebnissen der Voruntersuchungen konnte die Eignung der Kombination der Festphasen-Extraktion mit einer DOC-Bestimmung der Eluatfraktionen gezeigt werden.

5.7.2 Anwendung auf die Abwasserproben A, B und C vor und nach dem biologischen Abbaustest

Die ausgearbeitete Methode zur Bestimmung der potenziell bioakkumulierenden Anteile mittels SPE wurde dann auf die Proben A und C sowie die nach dem biologischen Abbaustest erhaltenen Proben (A-b und C-b) angewendet. Jede Probe wurde zweimal, an zwei verschiedenen Tagen, bearbeitet, um bereits einen Anhalt für die Reproduzierbarkeit des Verfahrens zu gewinnen.

Im folgenden werden zunächst die Ergebnisse der Bestimmung des PBS-Gehalts der Proben sowie einer ersten Fehlerabschätzung dieser Methode vorgestellt.

Dann wird anhand der HPLC-Chromatogramme der Eluatfraktionen das Trennverhalten der UV-aktiven Inhaltsstoffe dieser Abwasserproben in Hinblick auf die Trennung bei $\log K_{ow} = 3$ im Vergleich zum Standardgemisch beschrieben.

Schließlich wird auf die Eignung der SPE hinsichtlich ihrer Kombination mit den verwendeten ökotoxikologischen Testverfahren eingegangen, mit welcher eine Aussage über die Toxizität der Fraktionen erhalten werden kann.

PBS-Gehalte der Proben A und C

Die Ergebnisse der SPE der vier Proben sind in Bild 16 als DOC-Gehalte und SAK₂₅₄-Werte der erhaltenen Fraktionen dargestellt. Für die Auswertung wurden die Mittelwerte der Doppelbestimmung verwendet. Jedoch kam es für zwei Proben bei einer der beiden Extraktionen zu zu hohen Messwerten, so dass diese nicht ausgewertet werden konnten. Standardabweichungen der auswertbaren Doppelbestimmungen sowie die prozentuale Verteilung des DOC und des SAK₂₅₄ auf die Fraktionen der jeweilige Probe sind im Anhang 8.1 angegeben. Dort ist auch eine erste Fehlerabschätzung für die Bestimmung des PBS-Gehalts beschrieben, welche durchgeführt wurde, um trotz der geringen Datenzahl einen Eindruck von der Größenordnung des möglichen Fehlers der PBS-Bestimmung mit dieser Methode zu erhalten.

Bild 16 zeigt, dass für beide Proben der Anteil extrahierbarer (unpolarerer) gegenüber den nicht extrahierten (polareren) Stoffen nach dem Abbaustest gesunken ist, sich also der Anteil polarer Abwasserinhaltsstoffe erhöht hat. Besonders deutlich ist dies bei Probe A zu erkennen, deren DOC im Abbaustest um knapp ein Drittel reduziert wurde. Die ermittelten PBS-Gehalte der vier Proben lagen im Bereich 1.4-2.0 mg/L DOC. Dabei waren die PBS-Gehalte vor dem biologischen Abbaustest mit 2.0 (Probe A) und 1.9 mg/L DOC (Probe C) etwas höher als nach dem Test (1.5 bzw. 1.4 mg/L DOC).

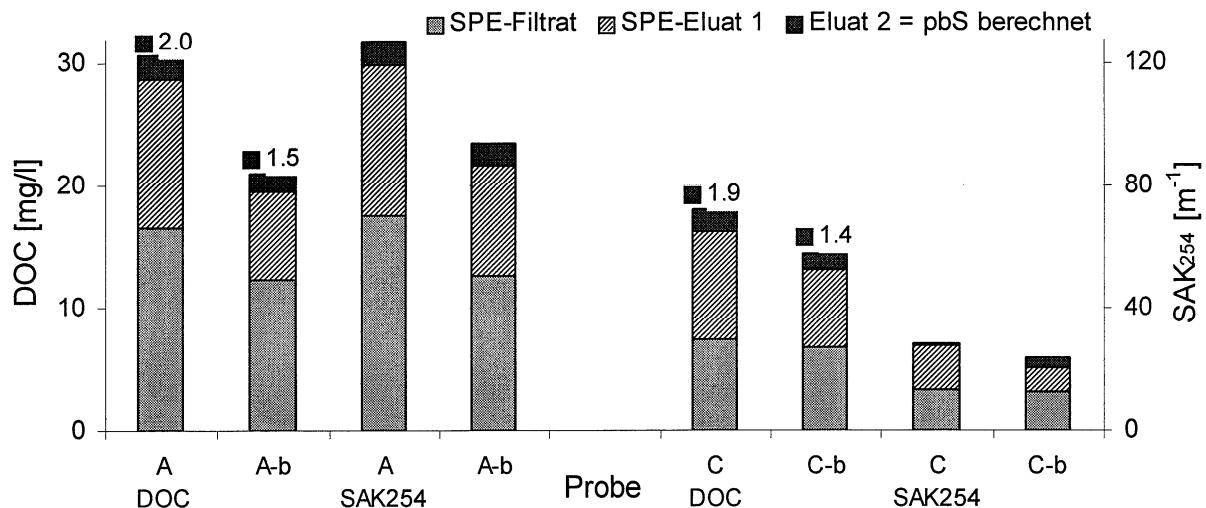


Bild 16: SPE der Abwasserproben A und C vor und nach dem biologischen Abbaustest (A-b und C-b) – DOC-Gehalte und SAK₂₅₄-Werte der Fraktionen (PBS berechnet = Probe - (Filtrat + Eluat 1)).

Gegenüber dem Anteil der insgesamt extrahierbaren Stoffe war der PBS-Anteil nach dem Abbaustest kaum verändert (Probe A: von 6.6 auf 7 %, Probe C: von 10.5 auf 9.4 % DOC). Allerdings zeigt die Fehlerabschätzung, dass die Bestimmung des PBS-Anteils über die hier verwendete Differenzberechnung mit einem Fehler von bis zu 1.3 mg/L DOC verbunden sein kann. Dieser Wert ergibt sich, wenn die Standardabweichungen der Ergebnissen der Doppelbestimmungen der DOC-Gehalte der Proben sowie, jeweils nach Blindwertkorrektur, die DOC-Gehalte der SPE-Filtrate und der ersten Eluate bei der Fehlerabschätzung berücksichtigt werden. Der so ermittelte Fehler liegt in der Größenordnung der für die Proben ermittelten PBS-Gehalte und führt zu einem so weiten Schwankungsbereich der PBS-Gehalte, dass genauere Aussagen über eine evtl. Zu- oder Abnahme der PBS-Anteile nach dem Abbaustest nicht möglich sind. Für Probe A ergibt sich ein Bereich von 3-11 % DOC für den PBS-Anteil der Probe gegenüber 1-13.0 % für Probe A-b, und für Probe C ergibt sich entsprechend ein Bereich von 4-18 % gegenüber 1-18 % für Probe C-b.

Der Fehler der PBS-Bestimmung wurde anhand eines kleinen Datensatzes berechnet, wobei die Blindwerte insbesondere der SPE-Filtrate mit 1.2 ± 0.5 mg/L DOC noch eine relativ weite Schwankungsbreite aufwiesen. Für eine genauere Abschätzung des Fehlers müssten daher weitere Proben extrahiert und Schwankungen der Blindwerte reduziert werden. Außerdem könnte dann ein unterer Wert für den Proben-DOC bestimmt werden, ab dem die PBS-Bestimmung mit dieser Methode aufgrund der notwendigen Blindwertkorrekturen zu fehlerhaft wird. Die mit einem DOC-Gehalt von 2.6 mg/L nur gering belastete Probe B wurde auch extrahiert, allerdings konnten die Ergebnisse nicht ausgewertet werden. Eine derartig gering belastete Abwassereinleitung wird jedoch eher seltener Gegenstand der Bearbeitung gemäß dieser Untersuchungsstrategie sein.

Trennverhalten der Abwasserproben im Vergleich zum Standardgemisch

Basierend auf den methodischen Vorarbeiten mit Standardsubstanzen mit bekannten $\log K_{ow}$ -Werten (Kap. 5.7.1 und Anhang 7.1) kann für die verwendete HPLC-Methode ein Zusammenhang zwischen der Retentionszeit einer Verbindung und ihrem $\log K_{ow}$ -Werte hergestellt werden. Anhand des so erhaltenen chromatographischen Rasters (Bild 17) sind dann auch Aussagen über die $\log K_{ow}$ -Werte unbekannter, in den Abwasserproben enthaltener Verbindungen möglich. Somit kann die Eignung der SPE-Methode auch zur Fraktionierung unbekannter gelöster organischer Stoffe aus Abwässern bei dem $\log K_{ow}$ -Wert von 3 mit der HPLC überprüft werden.

Die HPLC-Chromatogramme der Eluate der Abwasserproben und eines Standardgemisches erhalten nach der SPE mit zweistufiger Elution sind in Bild 17 dargestellt. Das zweite Eluat (Methanol-Fraktion mit einem angestrebten $\log K_{ow} > 3$) wurde gegenüber dem ersten Eluat fünfzehnmal stärker aufkonzentriert in der HPLC gemessen.

Probe A und C (Bild 17 a, c) weisen über den gesamten Polaritätsbereich organische Stoffe auf, wobei auch eine relativ große Zahl polarer Stoffe auftritt, die vor p-Kresol ($\log K_{ow} \approx 2$) eluieren. Das zweite Eluat, welches die potenziell bioakkumulierenden Abwasserinhaltsstoffe mit $\log K_{ow} > 3$ enthält, ist jeweils wesentlich geringer konzentriert als das erste Eluat. Der $\log K_{ow}$ -Bereich um 3, in dem es zu einer Elution der Stoffe Atrazin, 2,4-Dichlorphenol und Benzophenon in beiden Eluatfraktionen kommt, liegt bei Retentionszeiten von 20.7 bis 24.5 min (Bild 17 b). In diesem Bereich ist auch eine Elution mancher Abwasserinhaltsstoffe in beiden Eluatfraktionen zu beobachten, wobei sich die Stoffe in deutlich höheren Anteilen im ersten Eluat befinden (Bild 17 a, c). Mit zunehmenden Retentionszeiten verringert sich die Bedeutung der ersten Eluatfraktion, ab einer Retentionszeit von ca. 26.5 min sind keine Peaks mehr im ersten Eluat zu finden. Das gleiche Verhalten tritt auch bei den nach dem Abbautest der beiden Abwasserproben erhaltenen Proben auf (siehe Anhang 8.2).

Insgesamt zeigen die HPLC-Chromatogramme der Abwasserproben, dass der Übergangsbereich von einer Elution im ersten hin zum zweiten Eluat bei den Abwasserinhaltsstoffen gegenüber den Stoffen des Standardgemisches zu höheren Retentionszeiten und damit zu höheren $\log K_{ow}$ -Werten verschoben ist. Dies würde zu einer Unterschätzung des PBS-Gehalts der Abwasserproben führen, auch wenn sich, wie in Kap. 5.7.1 dargestellt wurde, je nach Herkunft der verwendeten $\log K_{ow}$ -Daten der Übergangsbereich noch etwas zu höheren Retentionszeiten verschieben kann. Daher sollte für zukünftige Arbeiten der Methanol-Anteil des ersten Eluats (68 %) soweit reduziert werden, dass ein höher Anteil der im Übergangsbereich nach 2,4-Dichlorphenol eluierenden Stoffe (Retentionszeit > 22 min) erst mit dem zweiten Eluat erfasst wird (etwa 65% Methanol, siehe Anhang 7 Bild 5).

Andererseits treten bei Probe C einige Komponenten des $\log K_{ow}$ -Bereich < 3 (Retentionszeit < 21 min) auch im zweiten Eluat auf (Bild 17c). Diese offensichtlich nicht ganz vollständige Elution der polareren, der ersten Fraktion zugehörigen Verbindungen sollte sich zukünftig durch eine Erhöhung des Eluatvolumens bei der ersten Elution vermeiden lassen.

Der zweite Elutionsschritt erfolgte hier mit 100 % MeOH. Um auch Stoffe mit $\log K_{ow}$ -Werten > 6 zu eluieren, könnte die Elutionskraft durch Verwendung von CH_2Cl_2 oder THF erhöht werden.

Dies wäre sinnvoll, wenn z.B. eine chromatographische Trennung der PBS in Hinblick auf eine Identifizierung durchgeführt werden soll.

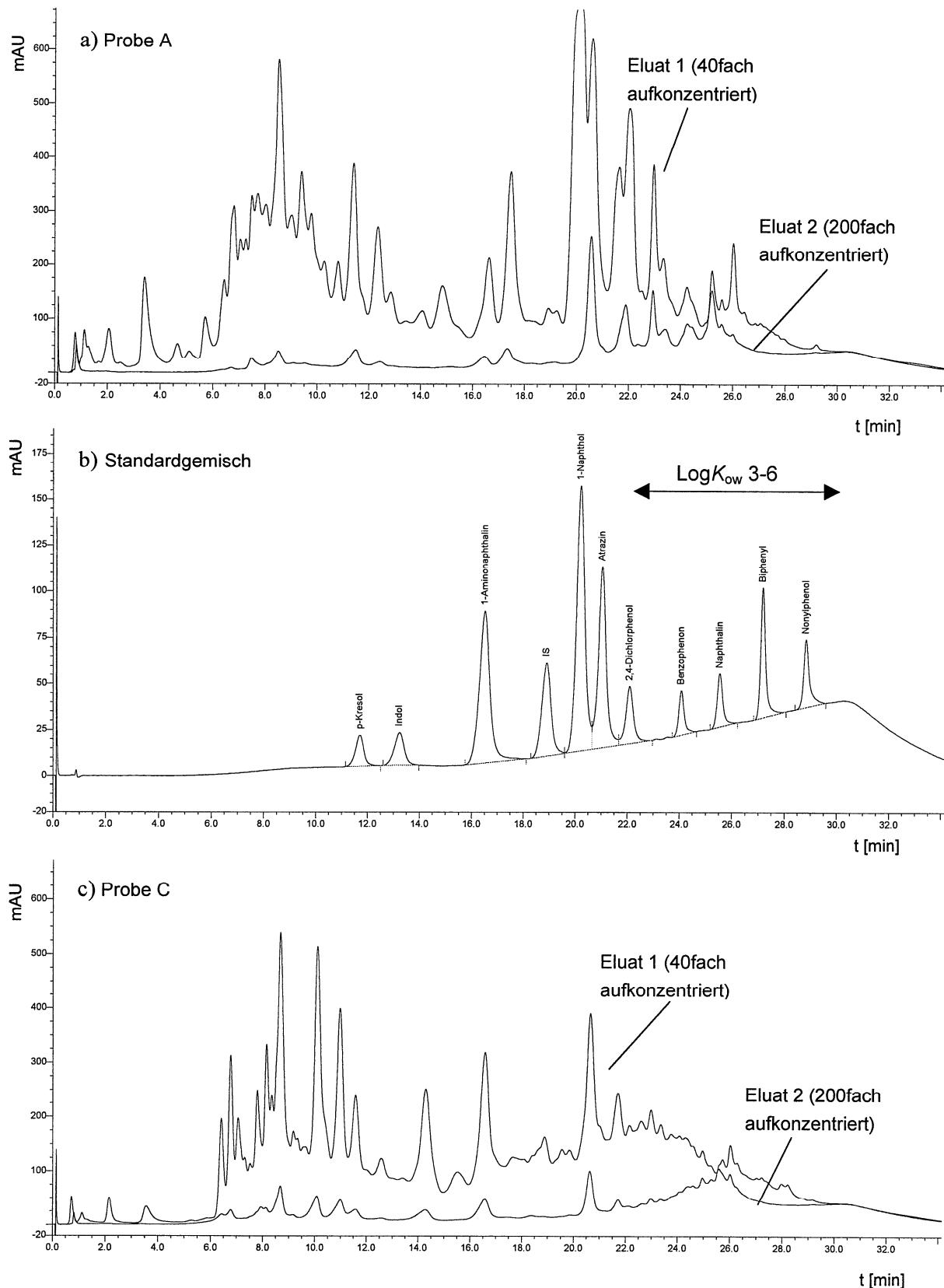


Bild 17: HPLC-Chromatogramme der Probe A (a, oben), des Standardgemisches (b, Mitte) und der Probe C (c, unten) nach SPE mit zweistufiger Elution.

Eluate à 5 mL, Eluat 1: 68 % Methanol, Eluat 2: 100 % Methanol, $\lambda = 230$ nm

Kombination mit Toxizitätstests

Durch Kombination der PBS-Bestimmung mit Biotests, d.h. durch Ermittlung der Toxizität oder Gentoxizität der nach der SPE erhaltenen Fraktionen., können Informationen über den Polaritätsbereich der in Abwasserproben enthaltenen toxischen Stoffe gewonnen werden. Anders ausgedrückt kann durch dieses Vorgehen ermittelt werden, ob die ggf. vorhandenen potenziell bioakkumulierenden Stoffe zusätzlich auch toxische Wirkungen haben. Dann wären sie naturgemäß von besonderer ökotoxikologischer Relevanz.

Die Laboruntersuchungen sollten aufzeigen, ob die Probenmanipulationen (Extraktion und weitere Aufarbeitung) nicht zu Artefakten in der Toxizitätsbestimmung führt. Ferner sollte auch für diesen Schritt die praktische Durchführbarkeit im Rahmen des Moduls „Bioakkumulierbarkeit“ (Kap. 4.3.4) geprüft werden.

Mit Hilfe von Blind-Extraktionen wurde hier zunächst ermittelt, ob die PBS-Bestimmung mit den anschließenden Biotests kompatibel ist. Hierzu wurden Eluate des ersten Elutionsschritts in der Form eingesetzt, wie sie auch für die DOC-Bestimmung verwendet wurden, also nach mehrfachem Spülen. Die Eluate des zweiten Elutionsschritts wurden dagegen nur eingeengt, jedoch vor den Toxizitätstests auf einen Methanol-Gehalt von 2 % eingestellt, welcher in Toxizitätstests zumeist keine toxische Wirkung hervorruft.

Weder im Leuchtbakterientest noch im Daphnien- oder Algenteat zeigten die SPE-Filtrate und -Eluate der Blind-Extraktionen eine erhöhte toxische Wirkung. Im umu-Test wurde nur der Blindwert für das SPE-Filtrat bestimmt, auch hier trat kein Effekt auf. Die verwendeten Extraktionsbedingungen erweisen sich damit als gut geeignet für die Kombination der SPE mit den verwendeten Biotests.

Von den drei Ausgangs-Proben (A-C) zeigte in den eingesetzten Biotests allein Probe A eine toxische Wirkung im Leuchtbakterientest (Kap. 5.4) und dies auch noch nach dem biologischen Abbautest (Kap. 5.6). Deshalb wurden die folgenden Untersuchungen nur an der Probe A und der biologisch behandelten Probe A-b durchgeführt.

Keine der beiden Proben zeigte im SPE-Filtrat eine lumineszenzhemmende Wirkung. Dagegen zeigte das erste SPE-Eluat beider Proben eine deutliche toxische Wirkung, mit 60-70% Hemmung der unverdünnten Probe. Auch das zweite Eluat zeigte einen Effekt, diesen aber nur bei Aufkonzentration um einen Faktor 2-4 (Bild 18). Damit befinden sich der oder die für die toxische Wirkung verantwortlichen Stoffe überwiegend im ersten Eluat und würden somit unter die nicht potenziell bioakkumulierenden Stoffe ($\log K_{ow} < 3$) fallen. Aus zwei Gründen kann dies in dem vorliegenden Fall jedoch nicht eindeutig gefolgert werden:

- das Auftreten einer leichten Hemmwirkung auch im zweiten Eluat könnte auf Stoffe hindeuten, welche im Übergangsbereich beider Fraktionen (d.h. um $\log K_{ow} = 3$) eluierten.
- ferner hatten die HPLC-Messungen bereits aufgezeigt, dass mit dem 68% Methanol-Anteil in der ersten Elution einige zu unpolare Stoffe mit eluiert wurden und damit die PBS-Fraktion möglicherweise unterschätzt wurde.

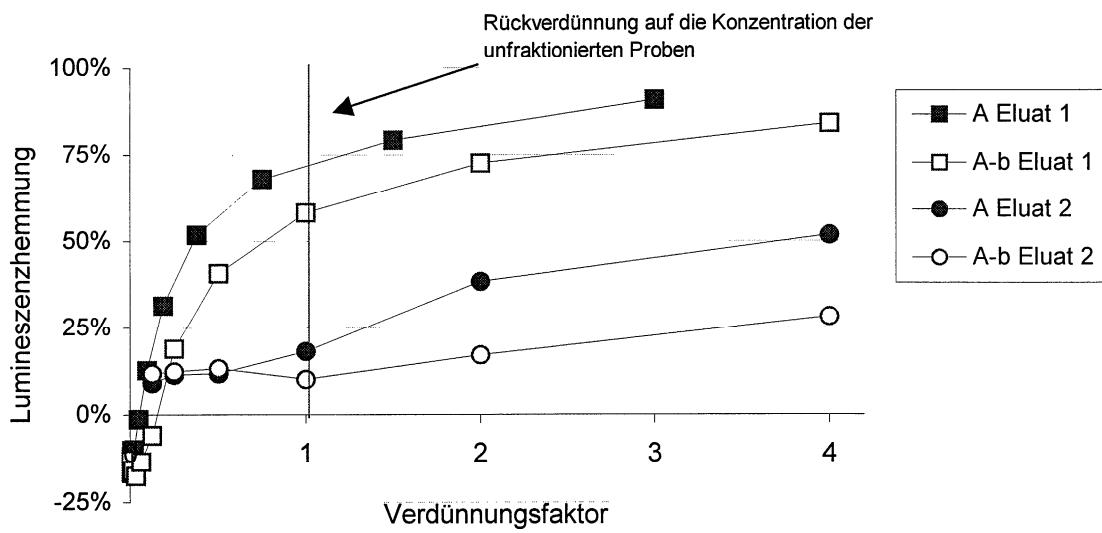


Bild 18: Hemmkurven der Eluate der Proben A und A-b im Leuchtbakterientest.
Eluat 1: 68 % Methanol; Eluat 2: 100 % Methanol

Ausgeschlossen werden kann aber andererseits, dass anorganische Probeninhaltsstoffe für die Wirkung im Lumineszenzhemmtest verantwortlich sind. Anorganische Komponenten passieren die Festphase und verbleiben im SPE-Filtrat; dieses hat hier aber keine Wirkung gezeigt.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse aber, dass die Kopplung der PBS-Bestimmung mittels Festphasen-Extraktion sicher mit der Toxizitätsdetektion, zumindest mit den hier eingesetzten Leuchtbakterien-, Daphnien- und Algenteests, gekoppelt werden kann. Diese Möglichkeit der zusätzlichen Bewertung der PBS über ihre Toxizität als nur allein über die Angabe des PBS-Gehalts erscheint als wichtiger konzeptioneller Vorteil der Untersuchungsstrategie, insbesondere da noch zu ermitteln ist, ab welchem PBS-Gehalt eine Abwasserprobe nach dem Abbaustest als zu hoch belastet einzustufen ist.

6 Bewertung und Ausblick

6.1 Allgemeine Aspekte

Die in Kapitel 5 dargestellten Untersuchungen und ihre Ergebnisse haben exemplarisch die grundsätzliche Handhabbarkeit und Sinnhaftigkeit der in Kapitel 4 entwickelten Untersuchungsstrategie für gefährliche Stoffe in Abwasserreinleitungen der Industrie aufgezeigt.

Wesentliche Verfahrenskombinationen, wie die Kopplung der Persistenzuntersuchung bzw. der Untersuchung auf potenziell bioakkumulierende Stoffe mit der Bestimmung des Rest-DOC und mit den Toxizitätstests (in den Modulen „Persistenz“ und „Bioakkumulierbarkeit“) konnten anhand von Blind- und Realproben erfolgreich durchgeführt werden.

Diese Kopplungen sind neben dem modularen Aufbau ein wesentliches Merkmal der Strategie: sie ermöglichen die inhaltliche Verknüpfung der Resultate bezüglich der drei Gefährdungsparameter Bioakkumulierbarkeit, Persistenz und Toxizität. So liefert die Strategie nicht nur Aussagen über die toxische Wirkung einer Einleitung und über die Menge persistenter und potenziell bioakkumulierender Stoffe. Vielmehr kann mit ihr ermittelt werden, ob die persistente Fraktion zugleich bioakkumulierbar und toxisch ist.

Damit werden durch die hier vorgestellte Strategie wichtige Hilfestellungen auch hinsichtlich einer Einordnung und Bewertung der Untersuchungsergebnisse geliefert:

In mehreren Stufen dieser wie auch anderer Strategien (z.B. Dänemark, Schweden; Kap. 2.2) sind Entscheidungen darüber zu treffen, ob ein bestimmter Test einen negativen oder positiven Befund erbracht hat. Im Falle positiver Befunde ist oft das Ende der Untersuchung erreicht und das Augenmerk soll statt dessen, auch zur Vermeidung eines unnötigen Untersuchungsaufwands, auf die Verbesserung der Ablaufqualität gerichtet werden.

Hier sind also Entscheidungswerte erforderlich, die es außer bei einigen etablierten Toxizitätstests, die in Deutschland im Vollzug der Abwassergesetzgebung Einsatz finden, bisher nicht gibt. Dies liegt u.a. daran, dass derzeit noch nicht zu ermessen ist, welche Bedeutung beispielsweise ein Gehalt von 20 mg/L an persistenten Stoffen in einer industriellen Einleitung für das Ökosystem des Vorfluters hat. Die Situation ist insofern grundlegend anders gelagert als bei der Untersuchung von Einzelstoffen.

Durch die oben dargestellte Verknüpfung der Gefährdungsparameter im Rahmen dieser Untersuchungsstrategie wird hier die Grundlage für eine Entscheidungsfindung wesentlich verbessert, da als Resultat der Untersuchung eben nicht nur ein Gehalt von 20 mg/L an persistenten Stoffen steht, sondern auch die Information, ob diese Stoffe potenziell bioakkumulierend und auch toxisch sind.

Zur Entwicklung der notwendigen Entscheidungswerte wird weiterhin eine breitere Anwendung der Strategie und die Sammlung einer größeren Zahl an Untersuchungsergebnissen notwendig sein.

Generell muss darauf hingewiesen werden, dass bisher nur ausgewählte Stufen der Strategie einer praktischen Prüfung unterzogen werden konnten und so lediglich erste Ergebnisse gesammelt wurden.

Die Strategie bedarf noch der Prüfung ihrer Robustheit und Wiederholbarkeit sowie der Ermittlung der Nachweisgrenzen anhand von Stoffgemischen und Realproben. Für die weitere Entwicklung der Strategie vom derzeitigen eher konzeptionellen Stadium hin zu einer anwendbaren und anzuwendenden Methode ist aber auch eine weitere intensive fachlichen Diskussion über die zu verwendenden Parameter, ihre Verknüpfung und die ausgewählten Bestimmungsverfahren notwendig.

6.2 Einzelne Module

6.2.1 Modul „Probenahme und Charakterisierung“

Zur Untersuchung im Rahmen der Strategie wird die Gewinnung repräsentativer Mischproben empfohlen. Mangels guter Bezugsdaten ist die Beprobungsdauer derzeit jedoch noch nicht festgelegt.

Die zur Charakterisierung herangezogenen Parameter aus der AbwV werfen keine methodischen Fragen auf. Aufgrund des betrieblichen und behördlichen Vorwissens lässt sich die Zielrichtung der Charakterisierung (Organische Belastung, Salze, Schwermetalle) oft wohl schon stark einengen, so dass sich der Aufwand für die Charakterisierung noch verringen lässt.

6.2.2 Modul „Indirekteinleiter“

Im Gegensatz zu den meisten bisher entwickelten Untersuchungsstrategien wird in dieser Strategie eine Differenzierung zwischen Indirekt- und Direkteinleitern vorgenommen.

Die Abläufe von Indirekteinleitern sind vor allen weiteren Untersuchungen in einem etablierten Abbaustest mit hoher Biomassekonzentration zu behandeln, der die Wirkung einer kommunalen Kläranlage simulieren soll. Auf eine Verdünnung des Abwassers mit häuslichem Abwasser, wie in der Kanalisation, muss dabei verzichtet werden.

Da dieses Modul nicht getestet wurde, ist derzeit offen, welche Folgen dieser Verzicht auf eine Vorverdünnung für die angemessene Simulation der Wirkung einer Mitbehandlung des Industrieabwassers in einer kommunalen Kläranlage hat.

6.2.3 Modul „Partikuläre Fracht“

Die als notwendig erachtete Einbeziehung der partikulären Phase und der möglicherweise daran fixierten gefährlichen Stoffe in die Betrachtung hat sich als sperriges Problem erwiesen. Zum einen sind verschiedene Module, wie die „Persistenz“ und die „Bioakkumulierbarkeit“ wegen der darin verwendeten Messprinzipien partikelhaltigen Proben nicht zugänglich. Zum anderen ist

die prinzipielle Aussagekraft von Persistenz und Bioakkumulierbarkeit bei Partikeln infrage zu stellen.

So bleibt einzig der Vergleich toxischer Wirkungen der partikelhaltigen mit der partikelfreien Probe als aussagekräftiger Parameter. Es ist allerdings davon auszugehen, dass sich in diesen auf gelöste Stoffe ziellenden Biotests nur in wenigen Fällen ein Unterschied zwischen diesen beiden Proben geben wird, weil die sorbierten Stoffe kaum Wirkung entfalten können. Lediglich der unter den Testbedingungen und innerhalb der Testdauer desorbierende Anteil wird im Toxizitätstest wirksam werden können; dies wird vermutlich nur ein kleiner Anteil der gesamten sorbierten Stoffe sein. Allerdings lässt sich, diesen Ansatz rechtfertigend, feststellen, dass (a) die an Partikeln sorbierten Stoffe auch nicht eigentlich eine Wasserbelastung darstellen, gerade weil sie nicht gelöst sind und dass (b) die ungenügende Entfernung von Partikeln aus Abläufen eher Anlass für eine Verbesserung der Partikelabtrennung sein sollte, als dass sich nachfolgend komplizierte analytische Aufgaben und Bewertungs-Fragen ergeben.

In der praktischen Durchführung ist zur Zeit noch nicht geklärt, ab welchen Partikelgehalten (Trübung bzw. suspendierte Feststoffe) bei welchem Test mit Störungen zu rechnen ist. Für den Fall sehr hoher Partikelgehalte, die keine Tests mit partikelhaltigen Proben mehr erlauben, müsste die partikuläre Phase getrennt untersucht werden. Dann müsste auch der Frage der Herstellung eines wässrigen, mit der Strategie zu untersuchenden Auszugs der partikulären Phase Beachtung geschenkt werden. Dies könnte durch Extraktion mit organischen Lösungsmitteln oder durch Elution mit wässrigen Lösungen erfolgen. Das Vorgehen zur getrennten Untersuchung der partikulären Phase im Rahmen der Strategie wurde im Rahmen der praktischen Arbeiten bisher nicht geprüft.

6.2.4 Modul „Toxizität“

Die dargelegte Strategie (Kap. 4) und auch die durchgeführten Tests (Kap. 5) beschränken sich im Bereich der Toxizitätsdetektion auf etablierte Testverfahren, die in Deutschland bereits im Vollzug eingesetzt werden oder wie der Fischei-Test kurz davor stehen. Die Darlegung des Entwicklungsstandes bei den Toxizitäts- und Biotests (Kap. 3.1) hat aber aufgezeigt, dass einerseits neue, miniaturisierte und damit schnellere und billigere Testverfahren für etablierte Parameter entwickelt werden, und dass andererseits neue, subletale Effekte und Tests im Bereich der Ökotoxikologie an Bedeutung gewinnen. Hier sei nur auf die auch auf internationaler Ebene mit hoher Priorität untersuchten endokrinen Effekte von Umweltchemikalien und Abwasser-einleitungen hingewiesen (z.B. OSPAR-Konvention bezüglich gefährlicher Stoffe). Generell sollten im Kontext von Persistenz und Bioakkumulierbarkeit verstärkt chronische und subletale Effekte Berücksichtigung finden. Insofern bleibt die Frage, welche Tests im Modul „Toxizität“ sinnvoll eingesetzt werden sollte, offen für zukünftige Veränderungen.

Es ist aber in jedem Fall zu fordern, dass (a) die zukünftig einzusetzenden Tests ein gewisses Stadium der Etablierung erreicht haben, dass (b) zuvor eine hinreichend große Zahl positiver Befunde an industriellen Abwässern vorliegt und dass (c) für den jeweiligen Test auch akzeptierte Entscheidungswerte entwickelt wurden. Angesichts dessen, dass es im Rahmen der Untersuchungsstrategie drei bzw. vier Stadien der Toxizitäts-Prüfung gibt (im Modul Toxizität

und „Partikuläre Fracht“, sowie später zum Abschluss der Module „Persistenz“ und „Bioakkumulierbarkeit“) wird man die Anzahl verschiedener Tests immer beschränken müssen. Eine branchen- oder emittentenspezifische Auswahl aus einem allgemein akzeptierten Kollektiv von Tests bietet sich hier an. Allerdings kann die Zahl durchzuführender Biotests bei der Untersuchung eines Ablaufs mit dieser Strategie durch deren sequentiellen Aufbau schnell vermindert werden: in den späteren Modulen ist immer nur die Durchführung der Tests vorgesehen, die in der Stufe zuvor noch positive Befunde ergaben.

6.2.5 Modul „Persistenz“

Die Konzeption dieses Moduls, Abbaustest mit nachfolgender DOC- und Toxizitätsbestimmung der persistenten Fraktion, erscheint durch die Ergebnisse der Laborexperimente bestätigt. Auch die Auswahl des Abbaustests aus der großen Zahl etablierter Verfahren ist begründet.

Dennoch wäre es eine interessante Ergänzung, neben der DOC-Abnahme auch die CO₂-Entwicklung während des Abbaus verfolgen zu können. Damit könnte zwischen Sorption und Mineralisation als Prozess der DOC-Verminderung leichter unterschieden werden und es böte sich auch die Möglichkeit, bei partikelhaltigen Proben die Abbaubarkeit zu erfassen. Allerdings leidet der Messparameter CO₂-Entwicklung im Vergleich zum Parameter DOC-Verminderung an allgemein größerer Variabilität, so dass Aussagen erst bei größeren Umsätzen gemacht werden können. Die bisher untersuchten Beispiele zeigen, dass die Kohlenstoffumsätze aus den behandelten Abwässern in dem Abbaustest sich aber auf wenige Milligramm pro Liter beschränken. Die derzeit erreichbare Genauigkeit in der Verfolgung der CO₂-Bildung bei Abbaustests reicht für derartige Anwendungen nicht aus.

Die Heranziehung der 3h-Probe zur Erfassung sorbiert Stoffanteile scheint prinzipiell richtig. Allerdings lassen die bisherigen Resultate auch zu, die Zeit bis zur Probenahme auf 12h zu verlängern, ohne dass die Sorption damit überschätzt würde. Mit dieser verlängerten Sorptionsphase sollten sich auch weniger schnell einstellende Gleichgewichtsreaktionen bis hinreichend nahe an ihr Gleichgewicht eingestellt haben.

Im Rahmen dieser Studie noch nicht betrachtet wurde ferner die Frage, ob eine Voradaptation der im Abbaustest eingesetzten Mikroorganismen an das Abwasser sinnvoll ist.

Es ist abschließend darauf hinzuweisen, dass sich der Begriff „Persistenz“, wie er im Rahmen dieser Strategie verwendet und wie er auch sonst verbreitet verstanden wird, auf die aerobe mikrobielle Abbaubarkeit mit Mischkulturen beschränkt. Die Beständigkeit einer Verbindung im aquatischen System kann aber auch durch abiotische Umsetzungen wie Hydrolyse oder (indirekte) Photolyse beeinflusst sein. Zwar führen abiotische Umsetzungen nicht zur Mineralisation; durch sie werden aber i.d.R. mit der Struktur auch die Polarität der Verbindungen verändert und dies kann auch Einfluss auf die mikrobielle Abbaubarkeit nehmen. Darüber hinaus wird insbesondere bei Massenchemikalien verstärkt auch eine anaerobe Abbaubarkeit gefordert, da eine nennenswerte Menge durch Sorption und Deposition im Sediment in anaerobe Milieus gelangen kann; hier können diese Verbindungen, trotz aerober

Abbaubarkeit dann akkumulieren und lange Zeiträume überdauern, wenn sie anaerob nicht abbaubar sind.

So berechtigt also die Einbeziehung abiotischer und anaerober Umsetzungen im Prinzip ist, wurden sie hier nicht einbezogen, da außer in Einzelfällen die tatsächliche Bedeutung dieser Prozesse für in das aquatische System entlassene Stoffe noch nicht aufgezeigt werden können.

6.2.6 Modul „Bioakkumulierbarkeit“

Das hier vorgestellte Verfahren zur Erfassung der potenziell bioakkumulierenden Stoffe ist das derzeit einzige, welches mit klassischen und universalen wasseranalytischen Parametern wie der DOC-Bestimmung gekoppelt werden kann. Es ermöglicht ferner auch die Kopplung mit Toxizitätstests. Hierin ist ein wichtiger Fortschritt zu sehen, auch wenn naturgemäß in diesem völlig neu entwickelten Modul „Bioakkumulierbarkeit“ noch viele Aspekte der Methodenentwicklung und

-absicherung offen geblieben sind.

Es bedarf weiterer Prüfungen um sicher zu stellen, dass die logisch zufordernde Anordnung des Moduls „Bioakkumulierbarkeit“ hinter dem Abbaustest des Moduls „Persistenz“ nicht mit unakzeptablen Verlusten potenziell bioakkumulierender Stoffe einhergeht.

Wie die mittels HPLC erfolgte Abschätzung der $\log K_{ow}$ -Werte der aus den Abwasserproben extrahierten und re-eluierten Stoffe nahe legt, muss die Trenngrenze bei der Fraktionierung von Abwasserinhaltsstoffen an die Abwassermatrix noch besser angepasst werden. Auch der Aspekt der Extraktionskapazität und des Einflusses höherer Gehalte und variabler Qualität des gelösten organischen Materials auf die Rückhaltung der hydrophoben und die Freisetzung der hydrophilen Stoffe ist noch nicht experimentell geklärt.

Dem unstrittigen Vorteil der Kopplung mit der DOC-Bestimmung steht eine vermutlich noch nicht befriedigende Nachweisgrenze entgegen. Verbesserungen bedürfen hier einer weiteren Verminderung der Schwankung des Blindwert-DOC. Über eine entsprechende Senkung des Gesamtfehlers sollte sich dann auch die Nachweisgrenze senken lassen. Ferner stehen z.Zt. Untersuchungen zur Wiederholbarkeit und Festlegung der Nachweisgrenze bei der Untersuchung von Realproben noch aus.

7 Zusammenfassung

Die Erfassung der Gehalte und Wirkungen gefährlicher Stoffe in Abwassereinleitungen der Industrie erfordert eine Kombination chemischer und biologischer Untersuchungen, die über das bisher in der AbwV festgelegte Maß hinausgeht. In dieser Studie wurde deshalb eine emissionsorientierte Untersuchungsstrategie für gefährliche Stoffe in Abwassereinleitungen entwickelt, die die Gefährlichkeitsparameter Persistenz, Bioakkumulierbarkeit und Toxizität auch experimentell verknüpft.

Die Strategie wurde nach einer Auswertung der bislang international bestehenden Untersuchungsstrategien sowie der zur Verfügung stehenden Testverfahren zur Bestimmung der Toxizität, Persistenz und Bioakkumulation ausgearbeitet. Der Aufbau der hier vorgestellten Strategie ist modular angelegt. Dies sichert die flexible Anpassung an die Gegebenheiten eines Abwassers oder einer Branche. Zuerst werden die akute und chronische Toxizität sowie die Gentoxizität bestimmt und dann ein Abbautest auf leichte aerobe biologische Abbaubarkeit zur Gewinnung der persistenten Abwasserfraktion durchgeführt. Aus dieser erfolgt danach die Bestimmung der potenziell bioakkumulierbaren Stoffe mittels Festphasen-Extraktion. In der Strategie sind Unterschiede zwischen Direkt- und Indirekteinleitern berücksichtigt; auch die partikuläre Phase findet Beachtung. Durch die modulare Verknüpfung kann ermittelt werden, ob ein einzuleitendes Abwasser toxische und persistente und bioakkumulierbare Stoffe enthält, die ein bedeutendes Gefährdungspotenzial für die aquatische Umwelt darstellen.

Eine erste Anwendung der Strategie auf drei Abwässer der chemischen und metallbearbeitenden Industrie hat gezeigt, dass die Untersuchungsstrategie in der geplanten Art und Weise eingesetzt werden kann und dass mit ihr sinnvolle Aussagen zur Einleitungs-Qualität gewonnen werden können. Die Strategie kann bei einer Notwendigkeit zu genauerer Untersuchung, etwa bei Einleitergenehmigungen oder nach Prozess-Umstellungen eingesetzt werden.

8 Literatur

4. INK (1995) Fourth International Conference on the Protection of the North Sea, Esbjerg Declaration.
- AbwV (1999) Verordnung über Anforderungen an das Einleiten von Abwasser in Gewässer. Fassung vom 9. Februar 1999, BGBl. I, S. 86
- Andersen H.R., Andersson A.-M., Arnold S.F., Autrup H., Barfoed M., Beresford N.A., Bjerregaard P., Christiansen L.B., Gissel B., Hummel R., Jørgensen E.B., Korsgaard B., Le Guevel R., Leffers H., McLachlan J., Møller A., Nielsen J.B., Olca N., Oles-Karasko A., Pakdel F., Pedersen K.L., Perez P., Skakkebæk N.E., Sonnenschein C., Soto A.M., Sumpter J.P., Thorpe S.M. und Grandjean P. (1999) Comparison of short-term estrogenicity tests for identification of hormone disrupting chemicals. **Environ. Health Persp. Suppl.** 107, 89-108
- Anonymous (1998) Langfristige Vorgaben setzen. **Chemie Report** Nr.12, 2-4
- Ausley L.W. (2000) Reflection on whole effluent toxicity: the Pellston Workshop. **Environ. Toxicol. Chem.** 19, 1-2
- Balaguer P., François, F., Comunale F., Fenet H., Boussioux A.-M., Pons M., Nicolas J.-C. und Casellas C. (1999) Reporter cell lines to study the estrogenic effects of xenoestrogens. **Sci. Total Environ.** 233, 47-55
- Beek B., Böhling S., Bruckmann U., Franke C., Jöhncke U. und Studinger G. (2000) The assessment of bioaccumulation. In: *Bioaccumulation New Aspects and Developments, The Handbook of Environmental Chemistry, Vol. 2 Part J.* Beek B. (Hrsg.), Springer-Verlag, Berlin
- Bengtsson B.-E. und Renberg L. (1986) The use of chemical and biological parameters to characterize complex industrial effluents. **Regul. Tox. Pharmacol.** 6, 238-247
- Blaise C. (1998) Microbiotesting: An expanding field in aquatic toxicology. **Ecotox. Environ. Saf.** 40, 115-119
- Blaise C., Férand J.-F. und Vasseur P. (1998) Microplate toxicity tests with microalgae: a review. In: *Microscale testing in aquatic toxicology: advances, techniques and practice.* Wells P.G. und Lee K.B.C. (Hrsg.), CRC Press, Boca Raton, Florida, S. 269-288
- Burnison B.K., Hodson P.V., Nuttley D.J. und Efler S. (1996) A bleached-kraft mill effluent fraction causing induction of a fish mixed-function oxygenase enzyme. **Environ. Toxicol. Chem.** 15, 1524-1531
- Dankwardt A., Pullen S. und Hock B. (1998) Immunoassays: applications for the aquatic environment. In: *Microscale testing in aquatic toxicology: advances, techniques and practice.* Blaise C., Férand J.-F. und Vasseur P. (Hrsg.), CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, S. 13-29
- Dannenberg R. (1994) Der Einsatz von Toxizitätstest bei der Beurteilung von Abwässern. **gwf Wasser-Abwasser** 135, 475-480
- Danzo B.J. (1998) The effects of environmental hormones on reproduction. **CMLS Cell. Mol. Life Sci.** 54, 1249-1264
- de Maagd G.-J. und Tonkes M. (2000a) Selection of genotoxicity tests for risk assessment of effluents. **Environ. Toxicol.** 15, 81-90
- de Maagd G.J. und Tonkes M. (2000b) Application of solid phase micro-extraction to assess the bioaccumulative potential of effluents. In: *Abstract book, Third SETAC world congress, 21-25 May 2000, Brighton, United Kingdom.* SETAC (Hrsg.), Pensacola, FL, USA, S. 59

de Maagd P.G.-J. (2000) Bioaccumulation tests applied in whole effluent assessment: a review. **Environ. Toxicol. Chem.** 19, 25-35

Denizeau F. (1998) The use of fish cells in the toxicological evaluation of environmental contaminants. In: *Microscale testing in aquatic toxicology: advances, techniques and practice*. Wells P.G. und Lee K.B.C. (Hrsg.), CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, S. 113-128

Desbrow C., Routledge E.J., Brighty G.C., Sumpter J.P. und Waldoch M. (1998) Identification of estrogenic chemicals in sewage treatment works (STW) effluent 1. chemical fractionation and in vitro biological screening. **Environ. Sci. Tech.** 32, 1549

Diehl K. und Hagendorf U. (1998) Datensammlung Bioteste - Erhebungen, Bewertung, Empfehlungen. *Texte 9/98*. Umweltbundesamt (Hrsg.), Berlin

Diehl K., Hagendorf U. und Hahn J. (2000) Datensammlung Bioteste - Erhebungen, Bewertung, Empfehlungen. **KA - Wasserwirtschaft, Abwasser, Abfall** 47, 1020-1029

Engel N. (1998) Mischwasserbehandlung in Berlin. In: *Zukunft Wasser*. Senatsverwaltung für Stadtentwicklung und Umweltschutz (Hrsg.), Berlin, S. 18-20

European Commission (1996) Technical guidance document in support of the Commission Directive 93/67/EEC on risk assessment for new notified substances and the Commission Regulation (EC) No 1488/94 on risk assessment for existing substances.

Fent K. (1998) Ökotoxikologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart

Fiehn O., Viegelahn L., Kalnowski G., Reemtsma T. und Jekel M. (1997) Toxicity-directed fractionation of tannery wastewater using solid-phase extraction and luminescence inhibition in microtiter plates. **Acta hydrochim. hydrobiol.** 25, 11-16

Fort j. D., Probst T.L., Stover E.L., Helgen J.C., Levey R.B., Gallagher K. und Burkhart J.G. (1999) Effects of pond water, sediment and sediment extracts from Minnesota and Vermont, USA, on early development and metamorphosis of Xenopus. **Environ. Toxicol. Chem.** 18, 2305-2315

Friccius T., Schulte C., Ensenbach U., Seel P. und Nagel R. (1995) Der Embryotest mit dem Zebrabärbling - eine neue Möglichkeit zur Prüfung und Bewertung der Toxizität von Abwasserproben. **Vom Wasser** 84, 407-418

Fritsche W. (1999) Mikrobiologie. Spektrum Akad. Verl., Heidelberg

Froehner K., Backhaus T. und Grimme L.H. (2000) Bioassays with *Vibrio fischeri* for the assessment of delayed toxicity. **Chemosphere** 40, 821-828

Gagné F. und Blaise C. (1998a) Differences in the measurement of cytotoxicity of complex mixtures with rainbow trout hepatocytes and fibroblasts. **Chemosphere** 37, 753-769

Gagné F. und Blaise C. (1998b) Estrogenic properties of municipal and industrial wastewaters evaluated with a rapid and sensitive chemoluminescent in situ hybridization assay (CISH) in rainbow trout hepatocytes. **Aquat. Toxicol.** 44, 83-91

Gagné F., Blaise C., van Aggelen G., Boivin P., Martel P., Chong-Kit R., Jonczyk E., Marion M., Kennedy S.W., Legault R. und Goudreault J. (1999) Intercalibration study in the evaluation of toxicity with rainbow trout hepatocytes. **Environ. Toxicol.** 14, 429-437

Garric J., Vollat B., Nguyen D.K., Bray M., Migeon B. und Kosmala A. (1996) Ecotoxicological and chemical characterization of municipal wastewater treatment plant effluents. **Wat. Sci. Tech.** 33, 83-91

Gartiser S., Meyer M. und Jäger I. (1996) Zur Interpretation des Zahn-Wellens-Tests bei der Untersuchung von Abwasserproben. **gwf Wasser Abwasser** 137, 345-352

- Gellert G. (2000) Sensitivity and significance of luminescent bacteria in chronic toxicity testing based on growth and bioluminescence. **Ecotox. Environ. Saf.** 45, 87-91
- Geyer H.J., Rimkus G.G., Scheunert I., Kaune A., Kettrup A., Zeeman M., Muir D.C.G., Hansen L.G. und Mackay D. (2000) Bioaccumulation and occurrence of endocrine-disrupting chemicals (EDCs), persistence organic pollutants (POPs) and other organic compounds in fish and other organisms including humans. In: *Bioaccumulation New Aspects and Developments, The Handbook of Environmental Chemistry, Vol. 2 Part J.* Beek B. (Hrsg.), Springer-Verlag, Berlin
- Gilron G.L. und Lynn D.H. (1998) Ciliated protozoa as test organisms in toxicity assessment. In: *Microscale testing in aquatic toxicology: advances, techniques and practice.* Wells P.G. und Lee K.B.C. (Hrsg.), CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, S. 323-336
- Gotvajn A.Ž. und Zagorc-Koncan J. (1996) Comparison of biodegradability assessment tests for chemical substances in water. **Wat. Sci. Tech.** 33, 207-212
- Halder M. und Ahne W. (1990) Evaluation of waste water toxicity with three cytotoxicity tests. **Z. Wasser-Abwasser-Forsch.** 23, 233-236
- Hansen P.-D., Dizer H., Hock B., Marx A., Sherry J., McMaster M. und Blaise C. (1998) Vitellogenin - a biomarker for endocrine disruptors. **TrAC Trends Anal. Chem.** 17, 448-451
- Hayward K. (1999) Direct approach. **WQI** March/April, 16-17
- HELCOM (1998) HELCOM objective with regard to hazardous substances. *HELCOM recommendation 19/5, 19th Meeting 23-27 March in Helsinki, Finland.* HELCOM Secretariat, Helsinki, Finland (www.helcom.fi)
- Helma C. und Knasmüller S. (1997) Gentoxische Substanzen in Wässern II. Industrielle Abwässer. **UWSF - Z. Umweltchem. Ökotox.** 9, 41-48
- Helma C., Knasmüller S. und Schulte-Hermann R. (1994) Die Belastung von Wässern mit gentoxischen Substanzen I. Methoden zur Prüfung der Gentoxizität. **UWSF - Z. Umweltchem. Ökotox.** 56, 277-288
- Ho K. (1997) Toxicity-based approach to environmental protection. **European Water Pollution Control** 7, 49-53
- Höhne L. (1991) Development of a simple algal test as an express method under article 7a of the Water Economy Act and the Sewage Charges Act. *Report No. UBA-FB 102 05 151.* Umweltbundesamt (Federal Protection Agency of the Federal Republic of Germany) (Hrsg.), Berlin
- Ingerslev F. und Nyholm N. (2000) Shake-Flask test for determination of biodegradation rates of 14C-labeled chemicals at low concentrations in surface water systems. **Ecotox. Environ. Saf.** 45, 274-283
- Islinger M., Pawlowski S., Hollert H., Volkl A. und Braunbeck (1999) Measurement of vitellogenin-mRNA expression in primary cultures of rainbow trout hepatocytes in a non-radioactive dot blot/RNAase protection assay. **Sci. Total Environ.** 233, 109-122
- ISO (International Organisation for Standardization) ISO Central Secretariat, Geneva, Switzerland (www.iso.ch)
- Johnson I., Wharfe J., Tinsley D., Boumphrey R. und Forrow D. (1996) Toxicity-based consents pilot study. *R&D Technical Report P23.* The Environment Agency (Hrsg.), Bristol, Great Britain
- Khan E., King S., Babcock Jr. R.W. und Stenstrom M.K. (1999) Factors influencing biodegradable dissolved organic carbon measurement. **J. Environ. Eng.** 125, 514-521
- Klamer H.J.C. und Beekman M. (1995) Estimating the 1-octanol/water partition coefficients (K_{ow}) and fish bioconcentration factors (BCF) of unknown compounds using a gradient HPLC method. **Toxicol. Modeling** 1, 169-179

- Kloas W., Lutz I. und Einspanier R. (1999) Amphibians as a model to study endocrine disruptors: II Estrogenic activity of environmental chemicals in vitro and in vivo. **Sci. Total Environ.** 225, 59-68
- Körner W., Hanf V., Schuller W., Kempter C., Metzger J. und Hagenmaier H. (1999) Development of a sensitive E-screen assay for quantitative analysis of estrogenic activity in municipal sewage plant effluents. **Sci. Total Environ.** 225, 33-48
- Körner W., Bolz U., Süßmuth W., Hiller G., Schuller W., Hanf V. und Hagenmaier H. (2000) Input/output balance of estrogenic active compounds in a major municipal sewage plant in Germany. **Chemosphere** 40, 1131-1142
- Kot A., Zibiegała B. und Namieśnik J. (2000) Passive sampling for long-term monitoring of organic pollutants in water. **TrAC Trends Anal. Chem.** 19, 446
- Koziollek P., Knackmuss H.-J., Taeger K. und Pagga U. (1996) A dynamic river model for biodegradability studies. **Biodegradation** 7, 109-120
- Lange M., Gebauer W., Markl J. und Nagel R. (1995) Comparison of testing acute toxicity on embryo of zebrafish, *Brachydanio rerio* and RTG-2 cytotoxicity as possible alternatives to the acute fish test. **Chemosphere** 30, 2087-2102
- Latif M., Persoone G., Janssen C., De Coen W. und Svardal K. (1995) Toxicity evaluation of waste water in Austria with conventional and cost-effective bioassays. **Ecotox. Environ. Saf.** 32, 139-146
- Legault R. und Blaise C. (1994) Comparative assessment of the SOS Chromotest kit and the Mutatox test with the Salmonella plate incorporation (Ames Test) and fluctuation tests for screening genotoxic agents. **Environ. Toxicol. Water Quality** 9, 45-57
- Mackay D.W., Holmes P.J. und Redsjaw C.J. (1989) The application of bioassay techniques to water pollution problems - The United Kingdom experience. **Hydrobiologia** 188/189, 77-86
- Merrettig-Brunn U. (2000) Übersicht und Vergleich genormter Testverfahren zur Prüfung der biologischen Abbaubarkeit. **KA - Wasserwirtschaft, Abwasser** 47, 520-526
- Metzger J.W., Stenz G. und Petrick S. (2000) A summary parameter to quantify potentially bioaccumulative substances (PBS) in effluents of waste water treatment plants. In: *Abstract book, Third SETAC world congress, 21-25 May 2000, Brighton, United Kingdom*. SETAC (Hrsg.), Pensacola, FL, USA, S. 204
- Mitchelmore C.L. und Chipman J.K. (1998) Detection of DNA strand breaks in brown trout (*Salmo trutta*) hepatocytes and blood cells using the single cell gel electrophoresis (comet assay). **Aquatic Toxicol.** 41, 161-182
- Nusch E.A. (1991) Ökotoxikologische Testverfahren - Anforderungsprofile in Abhängigkeit vom Anwendungszweck. **UWSF - Z. Umweltchem. Ökotox.** 3, 12-15
- Nyholm N. (1996) Biodegradability characterization of mixtures of chemical contaminants in wastewater - The utility of biotests. **Wat. Sci. Tech.** 33, 195-206
- Obst U., Wessler A. und Wiegand-Rosinus M. (1998) Enzyme inhibition for examination of toxic effects in aquatic systems. In: *Microscale testing in aquatic toxicology: advances, techniques and practice*. Blaise C., Férard J.-F. und Vasseur P. (Hrsg.), CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, S. 77-94
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals*, OECD Environment Directorate, Environmental Health and Safety Division, Paris, France (www.oecd.org/ehs)
- OECD (1995) Detailed review paper on biodegradability testing (Series on the Test Guidelines N° 2). *Environment Monograph N° 98.*, OECD Environment Directorate, Paris, France

OECD (1998) Detailed review paper on aquatic testing methods for pesticides and industrial chemicals.
OECD Environmental Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment No.11, Part 2: Annexes. Paris, France

OSPAR (1998) OSPAR Strategy with regard to Hazardous Substances. In: *Reference Number: 1998-16, Ministerial Meeting of the OSPAR Commission, 22-23 July, 1998 in Sintra Portugal.* OSPAR Secretariat, London, Great Britain (www.ospar.org)

Pagga U. (1987) Biologischer Abbau von Stoffen bei geringen Konzentrationen. **Z. Wasser-Abwasser-Forsch.** 20, 101-107

Pagga U. (1997) Testing biodegradability with standardized methods. **Chemosphere** 35, 2953-2972

Pedersen F., Damborg A. und Kristensen P. (1993) Danish strategy for investigating industrial effluents. **Sci. Total Environ. Suppl.**, 1115-1122

Pedersen F., Kristensen P., Damborg A. und Christensen H.W. (1994) Ecotoxicological evaluation of industrial wastewater. *Miljøprojekt nr. 254.* Danish Environmental Protection Agency (Hrsg.), Copenhagen, Denmark

Pedersen F., Damborg A. und Kristensen P. (1995) Guidance document for risk assessment of industrial waste water. *Miljøprojekt nr. 298.* Danish Environmental Protection Agency (Hrsg.), Copenhagen, Denmark

Percherancier H., Volat B. und Montuelle B. (1996) Testing the biodegradability of wastewater treatment plant outfalls: Role of bacterial inocula. **Wat. Sci. Technol.** 33, 221-229

Petty J.D., Orazio C.E., Huckins J.N., Gale R.W., Lebo J.A., Meadows J.C., Echols K.R. und Cranor W.L. (2000) Considerations involved with the use of semipermeable membran devices for monitoring environmental contaminants. **J. Chrom. A** 879, 83-95

Pickering A.D. et al. (2000) COMPREHEND - Community Programme of Research on Environmental Hormones and Endocrine Disruptors. In: *Abstract book, Third SETAC world congress, 21-25 May 2000, Brighton, United Kingdom.* SETAC (Hrsg.), Pensacola, FL, USA, S. 23 (www.ife.ac.uk/comprehend)

Pols H.B. (1988) Hazard assessment of wastewater discharges - a confluence of biological and physical parameters. **Wat. Sci. Technol.** 21, 869-873

Powell R.L., Moser E.M., Kimerle R.A., McKenzie D.E. und McKee M. (1996) Use of a miniaturized test system for determining acute toxicity of toxicity identification evaluation fractions. **Ecotox. Environ. Saf.** 35, 1-6

Purdom C.E., Hardiman P.A., Bye V.J., Eno N., Tyler C.R. und Sumpter J.P. (1994) Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works. **Chem. Ecol.** 8, 275-285

Qiao P., Gobas F.A.P.C. und Farrell A.P. (2000) Relative contributions of aqueous and dietary uptake of hydrophobic chemicals to the body burden in juvenile rainbow trout. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.** 39, 369-377

Radix P., Léonard M., Papantoniou C., Roman G., Saouter E., Gallotti-Schmitt S., Thiébaud H. und Vasseur P. (1999) Comparison of Brachionus calyciflorus 2-d and microtox chronic 22-h tests with Daphnia magna 21-d test for the chronic toxicity assessment of chemicals. **Environ. Toxicol. Chem.** 18, 2178-2185

Reemtsma T., Gnirß R. und Jekel M. (2000) Infiltration of combined sewer overflow and tertiary municipal wastewater: an integrated laboratory and field study on nutrients and dissolved organics. **Wat. Res.** 34, 1179-1186

- Rehmann K., Schramm K.-W. und Kettrup A.A. (1999) Applicability of a yeast oestrogen screen for the detection of oestrogen-like activities in environmental samples. **Chemosphere** 38, 3303-3312
- Renberg L.O., Sundström S.G. und Rosén-Olofsson A.-C. (1985) The determination of partition coefficients of organic compounds in technical products and waste waters for the estimation of their bioaccumulation potential using reversed phase thin layer chromatography. **Toxicol. Environ. Chem.** 10, 333-349
- Ritter S., Hauthal W.H. und Maurer G. (1995) Octanol/water partition coefficients for environmentally important organic compounds. **ESPR - Environ. Sci. & Pollut. Res.** 2, 153-160
- Rudolph P. (1992) Erkenntnisgrenzen biologischer Testverfahren zur Abbildung ökologischer Wirklichkeiten. In: *Biologische Testverfahren, Schr.-Reihe Verein WaBoLu, Bd. 89*. Steinhäuser K.G. und Hansen P.-D. (Hrsg.), Gustav-Fischer Verlag, Stuttgart, S. 25-34
- Schönberger H. (1991) Zur biologischen Abbaubarkeit im Abwasserbereich. Ist der Zahn-Wellens-Abbaustest der richtige Test. **Z. Wasser-Abwasser-Forsch.** 24, 118-128
- Seifert M., Brenner-Weiss G., Haindl S., Nusser M., Obst U. und Hock B. (1999) A new concept for the bioeffects-related analysis of xenoestrogens: Hyphenation of receptor assays with LC-MS. **Fres. J. Anal. Chem.** 363, 767-770
- Snell T.W. und Janssen C.R. (1998) Microscale toxicity testing with rotifers. In: *Microscale testing in aquatic toxicology: advances, techniques and practice*. Wells P.G. und Lee K.B.C. (Hrsg.), CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, S. 409-436
- Södergren A. (1987) Solvent-filled dialysis membranes simulate uptake of pollutants by aquatic organisms. **Environ. Sci. Technol.** 21, 855-859
- Steinhäuser K.G. (1996a) Konzeption der Anwendung von Bioteests im wasserrechtlichen Vollzug. **gwf Wasser-Abwasser** 137, 310-315
- Steinhäuser K.G. (1996b) Bestimmung der aquatischen Toxizität von Wässern und Abwässern. In: *Biochemische und ökologische Wirkmuster von Stoffen im aquatischen Bereich, Münchner Beiträge zur Abwasser-, Fischerei- und Flussbiologie, Bd. 49*. Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft (Hrsg.), R. Oldenbourg Verlag, München, S. 186-198
- Stortelder P.B.M. und van de Guchte C. (1995) Hazard assessment and monitoring of discharges to water: concepts and trends. **EWPC** 5, 41-47
- Swedish Environmental Protection Agency (1990) Biological - chemical characterisation of industrial wastewater. Solna, Sweden
- Swedish Environmental Protection Agency (1997) Characterization of discharges from the chemical industry. The STORK project. *Report 4766*. Stockholm, Sweden
- Sweet L.I., Travers D.F. und Meier P.G. (1997) Chronic toxicity evaluation of wastewater treatment plant effluents with bioluminescent bacteria: a comparison with invertebrates and fish. **Environ. Toxicol. Chem.** 16, 2187-2189
- Tonkes M. (2000) Whole effluent assessment in the Netherlands: developments, actual situation and future. In: *Abstract book, Third SETAC world congress, 21-25 May 2000, Brighton, United Kingdom*. SETAC (Hrsg.), Pensacola, FL, USA, S. 58
- Tonkes M. und Baltus C.A.M. (1997) Praktijkonderzoek aan complexe effluenten met de Totaal Effluent Milieubezuurlijkhed (TEM) –methodik. *RIZA-rapportnummer 97.003*, Lelystad, The Netherlands

- Tonkes M., van de Guchte C., Botterweg J., de Zwart D. und Hof M. (1995) Volume 4: Monitoring strategies for complex mixtures. In: *Monitoring water quality in the future*. AquaSense Consultants, Amsterdam, The Netherlands and Institute for Inland Water Management and Waste Water Treatment (RIZA), Lelystad, The Netherlands
- Tonkes M., Pols H., Warmer H. und Bakker V. (1998) Whole-Effluent Assessment. *RIZA-report 98.034*. Lelystad, The Netherlands
- Tonkes M., de Graaf P.J.F. und Graansma J. (1999) Assessment of complex industrial effluents in the Netherlands using a whole effluent toxicity (or WET) approach. *Wat. Sci. Tech.* 39, 55-61
- UBA (1999) Vorschlag für eine Liste von prioritären Stoffen im Rahmen der zukünftigen Wasserrahmenrichtlinie der EU. *UBA-Texte 64/99*. Umweltbundesamt (Hrsg.), Berlin
- USEPA (1989) Generalized methodology for conducting industrial toxicity reduction evaluations (TREs). *EPA/600/2-88/070*. U. S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio, USA
- USEPA (1991a) Methods for aquatic toxicity identification evaluations: Phase I toxicity characterisation procedures. *EPA/600/6-91/003*. Environmental research laboratory, U. S. Environmental Protection Agency, Duluth, Mn, USA
- USEPA (1991b) Technical support document for water quality-based toxics control. *EPA-505/2-90/001*. Office of Water Enforcement and Permits and Office of Water Regulations and Standards, U. S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA
- USEPA (1993a) Methods for aquatic toxicity identification evaluations: Phase II Toxicity identification procedures for samples exhibiting acute and chronic toxicity. *EPA/600/R-92/080*. Environmental research laboratory , U. S. Environmental Protection Agency, Duluth, Mn, USA
- USEPA (1993b) Methods for aquatic toxicity identification evaluations: Phase III Toxicity confirmation procedures for samples exhibiting acute and chronic toxicity. *EPA/600/R-92/081*. Environmental research laboratory , U. S. Environmental Protection Agency, Duluth, MN, USA
- USEPA (1993c) Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. *EPA-600/4-90/027F*. Weber C.I. (Hrsg.), U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio, USA
- USEPA (1994a) Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving water to freshwater organisms. *EPA-600/4-91/002*. Lewis P.A., Klemm D.J., Lazorchak J.M., Norberg-King T.J., Peltier W.H. und Heber M.A. (Hrsg.), U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio, USA
- USEPA (1994b) Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving water to marine and estuarine organisms. *EPA-600/4-91/003*. Klemm D.J., Morrison G.E., Norberg-King T.J., Peltier W.H. und Heber M.A. (Hrsg.), U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio, USA
- Verbruggen E.M.J., Van Loon W.M.G.M., Tonkes M., Van Dujin P., Seinen W. und Hermens J.L.M. (1999a) Biomimetic extraction as a tool to identify chemicals with high bioconcentration potential: an illustration by two fragrances in sewage treatment effluents and surface waters. *Environ. Sci. Technol.* 33, 1801-806
- Verbruggen E.M.J., Klamer H.C., Villerius L., Brinkmann U.A.T. und Hermens J.L.M. (1999b) Gradient elution reversed-phase high performance liquid chromatography for fractionation of complex mixtures of organic micropollutants according to hydrophobicity using isocratic retention parameters. *J. Chrom. A* 835, 19-27

- Verbruggen E.M.J., Vaes W.H.J., Parkerton T.F. und Hermens J.L.M. (2000) Polyacrylate-coated SPME fibers as a tool to simulate body residues and target concentrations of complex organic mixtures for estimation of baseline toxicity. **Environ. Sci. Technol.** 34, 324-331
- Verhaar H.J.M., Busser F.J.M. und Hermens J.L. (1995) Surrogate parameter for the baseline toxicity content of contaminated water: simulating the bioconcentration of mixtures of pollutants and counting molecules. **Environ. Sci. Technol.** 29, 726-734
- Villars M.T. (1995) Executive Summary. *Monitoring water quality in the future*. Delft Hydraulics (Hrsg.), Delft, The Netherlands
- Wegener G., Persin J., Karrenbrock F., Röden O. und Hübner I. (1999) Vorkommen und Verhalten von natürlichen und synthetischen Östrogenen und deren Konjugate in der aquatischen Umwelt. **Vom Wasser** 92, 347-360
- WHG (1996) Gesetz zur Ordnung des Wasserhaushalts. Fassung vom 12. November 1996, **BGBL. I** S. 1695
- WRRL (2000) Richtlinie 2000/60/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 23. Oktober 2000 zur Schaffung eines Ordnungsrahmens für Maßnahmen der Gemeinschaft im Bereich der Wasserpoltik. **ABl. L** 327 vom 22.12.2000, S. 1
- Zacharewski T. (1997) In vitro bioassays for assessing estrogenic substances. **Environ. Sci. Technol.** 31, 613-623

Anhang 1 Übersicht der Toxizitätstests in Untersuchungsstrategien verschiedener Länder

1.1 Toxizitätstests eingesetzt im Dänischen Strategiekonzept „Ökotoxikologische Bewertung von industriellen Abwässern“

Die folgenden Methoden werden in der „Richtlinie (guideline) für die Gefährdungsabschätzung von industriellen Abwässern“ der Dänischen Umweltbehörde von 1993 (zitiert nach OECD, 1998) und im „Leitfaden für die Risikobewertung von industriellen Abwässern“ von 1995 [Pedersen et al., 1995] für die Untersuchung und Bewertung der Gefährdung bzw. des Risikos für die aquatische Umwelt (Süß-, Brack- und Salzwasser) durch industrielle Abwässer vorgesehen.

Anhang Tab. 1: Toxizitätstests der dänischen Untersuchungsstrategie.

| Wann eingesetzt? | Methode | Empfohlene Spezies | Endpunkt | Standardisiertes Testprotokoll |
|---|----------------------------|--|---|--|
| Teststufe 1: Auswahl je einer Fisch-, Crustaceen und Algenspezies, die relevant für das Gewässer sind, in das das Abwasser eingeleitet wird Abschätzen von PNEC _{Akut} und PNEC _{Chronisch} mit Hilfe von Bewertungsfaktoren | Akute Fisch-Toxizität | <i>Süßwasser</i> Zebrafisch (<i>Brachydanio rerio</i>), Regenbogenforelle (<i>Onchorhynchus mykiss</i>) <i>Brackwasser</i> Flunder (<i>Platichthys flesus</i>), Hering (<i>Clupea harengus</i>) <i>Salzwasser</i> P. <i>flesus</i> , C. <i>harengus</i> , Steinbutt (<i>Scophthalmus maximus</i>) | 96 h LC ₅₀ | Int. (OECD TG 203) |
| | Akute Crustaceen-Toxizität | <i>Süßwasser</i> Daphnia magna Gammarus pulex <i>Brackwasser</i> Nirocra spinipes <i>Salzwasser</i> Acartia tonsa | 48 h EC ₅₀ 96 h EC ₅₀ 96 h EC ₅₀ 48 h EC ₅₀ | Int. (OECD TG 202) Nat. (DS 2209) Int. (ISO Entwurf) |
| | Algen-Toxizität | <i>Süßwasser</i> Nitzschia palea, Selenastrum capricornutum <i>Brack- und Salzwasser</i> Skeletona costatum, Phaeodactylum tricornutum | | Int. (OECD TG 201) |
| Teststufe 2a PNEC _{Akut} /PEC _{max} < 1 Zusätzliche akute Tests können für eine verbesserte Berechnung des PNEC _{Akut} durchgeführt werden | Chronische Fisch-Toxizität | Überleben | | |
| Teststufe 2b: PNEC _{Chronisch} /PEC _{Durchschnitt} < 1 Einer oder mehrere chronische Tests können für eine verbesserte Berechnung des PNEC _{Chronisch} durchgeführt werden | Chronische Fisch-Toxizität | Wie akute Toxizität | Embryo-Sacry-Test 7-11 d EC ₅₀ , NOC, LOEC, Mortalität, Reproduktion, Wachstum FELS 28-60 d EC ₅₀ , NOEC, LOEC | Int. (OECD Entwurf) Int. (OECD TG 210) |

| | | | | |
|---|--|--|--|---|
| | Chronische Crustaceen- Toxizität | Wie akute Toxizität | Daphnien 21 d EC ₅₀ , NOEC, LOEC, Mortalität, Reproduktion Nitocra Acartia | Int. (OECD TG 202) Nat. (DS 2209) Int. (ISO Entwurf) |
| | Chronische Algen- Toxizität | Wie akute Toxizität | 72 h EC ₅₀ , NOEC, LOEC, Wachstumshem- mung | Int. (OECD TG 202, ISO 8692) |
| Teststufe 3: Einer oder mehrere dieser Tests können für eine verbesserte Berechnung des PNEC für Sedimente durchgeführt werden | Toxizität von: | | | |
| | Crustaceen | <i>Süßwasser</i> Gammarus pulex <i>Brack- und Salzwasser</i> Corophium volutator C. insidiosum | Coro. 10 d LC ₅₀ | - |
| | Mollusken | <i>Süßwasser</i> Unio sp. <i>Brack- und Salzwasser</i> Abra alba, Macoma baltica | Abra 5 d LC ₅₀ | - |
| | Annelide | <i>Süßwasser</i> Tubifex tubifex <i>Brack- und Salzwasser</i> Arenicola marina Nereis virens | Areni. 10 d LC ₅₀ Nereis 10 d LC ₅₀ | - |
| | Insekten | Chironomus sp. | | Nat. (ASTM E 1383- 90) |
| | Echinodermata | <i>Süßwasser</i> Echinocardium cordatum | 21 d LC ₅₀ , | |

1.1 Toxizitätstests eingesetzt im Schwedischen Strategiekonzept „CID Biologisch – chemische Charakterisierung von industriellem Abwasser“

Die folgenden Methoden werden in der Richtlinie der Schwedischen Umweltbehörde „Biologisch-chemische Charakterisierung industrieller Abwässer“ verwendet [Swedish Environmental Protection Agency, 1990]

Anhang Tab. 2: Toxizitätstests der schwedischen Untersuchungsstrategie.

| Wann eingesetzt? | Methode | Empfohlene Spezies | Endpunkt | Standardisiertes Testprotokoll |
|--|--|--|---|--------------------------------|
| Teststufe 1: Je nach Ergebnissen der 1. Stufe insbesondere wenn LC ₅₀ /PEC <1, Auswahl der in Stufe 1 empfindlichsten Spezies | Akute Fisch-Toxizität | Süßwasser Zebrafisch (<i>Brachydanio rerio</i>) Regenbogenforelle (<i>Salmo gairdneri</i>), Bleak (<i>Alburnus alburnus</i>), fathead minnow (<i>Pimephales promelas</i>), Stichling (<i>Gasterosteus aculeatus</i>), Butt (<i>Platichthys flesus</i>), Kabeljau (<i>Gadus morhua</i>) | 96 h LC ₅₀ | Int. (OECD TG 203) |
| | Akute Crustaceen-Toxizität | Süßwasser <i>Daphnia sp</i> <i>Ceriodaphnia dubia</i> Brackwasser <i>Nirocra spinipes</i> <i>Crangon crangon</i> Salzwasser <i>Acartia tonsa</i> | 48 h EC ₅₀ / 96 h EC ₅₀ | Int. (OECD TG 202) – |
| | Algen-Toxizität | Süßwasser <i>Selenastrum capricornutum</i> , <i>Monoraphidium griffithii</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Scenedesmus subspicatus</i> Brack- und Salzwasser <i>Skeletona costatum</i> , | 5 d EC ₅₀ | Int. (OECD TG 201) |
| | Toxizität auf höhere Pflanzen | Entengrütze (<i>Lemna minor</i>), Zwiebel (<i>Allium cepa</i>), Linse (<i>Lens culinaris</i>) | 5 d EC ₅₀ | |
| | Mikroorganismen-Toxizität | Belebtschlamm Respirations- und Nitrifikationshemmung <i>Vibrio fischeri</i> (Mikrotox) als pre-screening Test | 3 h EC ₅₀ | |
| Teststufe 2: | Chronische Fisch-Toxizität | Wie akute Toxizität <i>Brachydanio rerio</i> <i>Pimephales promelas</i> | 14 d verlängerte Exposition LC ₅₀ Embryo-Sacfray-Test 11 d EC ₅₀ , 7 d Mortalität, Reproduktion, Wachstum | Int. (OECD Entwurf) |
| | Chronische Crustaceen-Toxizität | Wie akute Toxizität | <i>Daphnia</i> 21 d <i>Ceriodaphnia</i> 7 d Nitocra 14 d EC ₅₀ , | Int. (OECD TG 202) |
| | Muscheln | Mytilus edulis | | |
| | Chronische Algen-Toxizität | Mikrotest mit Algentebstbatterie | | |
| | Gentoxizität | Ames-Test | | |
| Teststufe 3: Bestätigungstests | Längere chronische Studien mit Fischen im Labor und in Käfigen im Gewässer Sediment-Toxizitätstests | | | |

Anhang 2 Standardisierte Toxizitätstests für Abwässer

2.1 Akute Toxizitätstests mit Süßwasserorganismen

Anhang Tab. 3: Akute Toxizitätstests mit Süßwasserorganismen.

| Organismus | Spezies | Endpunkt | Testdauer | Ergebnis | ISO | OECD | Referenzen |
|----------------|---|-------------------------------------|-----------|-------------------------|---------------------|------------|---|
| Fische | <i>Brachydanio rerio</i> und andere Fischspezies | Mortalität | 24-96 h | LC | 7346-1,-2,-3 (1996) | 203 (1992) | EPA/OPPTS 850.1075 (1996) DIN EN ISO 7346-1,-2,-3 (1998) |
| | <i>Pimephales promelas</i> <i>Oncorhynchus mykiss</i> | Mortalität | 24-96 h | LC | | | EPA/600/4-90/027F (1993) |
| | <i>Leuciscus idus</i> | Mortalität | 48-96 h | LC oder G _F | | | DIN 38412-31 (1989) |
| Crustaceen | <i>Leuciscus idus</i> | Embryo Mortalität und Missbildungen | 48 h | LC oder G _{Ei} | | | DIN 38415-6 (Entwurf 2000) |
| | <i>Daphnia magna</i> | Immobilisierung | 48 h | EC | 6341 (1996) | 202 (1984) | DIN EN ISO 6341 (1996) |
| | <i>Daphnia magna</i> <i>Daphnia pulex</i> <i>Ceriodaphnia dubia</i> | Immobilisierung | 24 h | EC oder G _D | | | DIN 38412-30 (1989) |
| Rotatorien | <i>Brachionus calyciflorus</i> | Mortalität | 24 h | EC | | | EPA/600/4-90/027F (1993) |
| | <i>Lemna gibba</i> | Wachstums-hemmung | 7 d | EC oder NOEC | | | ASTM E 1440-91 (1998) |
| | <i>Lemna gibba</i> | Wachstums-hemmung | 7 d | EC oder NOEC | | | ASTM E 1415-91 (1998) |
| Wasserpflanzen | <i>Lemna minor</i> | Wachstums-hemmung | 7 d | EC oder NOEC | | | 221 (Entwurf 2000) |
| | | | | | | | EPA/OPPTS 850.4400 (1996) |
| | | | | | | | |

LC/EC: Letale bzw. Effektkonzentration
G: Kehrwert der Volumenfraktion des Testansatzes, bei der kein Effekt im Sinne des Verfahrens mehr messbar ist
NOEC: No observed effect concentration (höchste Konzentration des Testansatzes, bei der kein Effekt messbar ist)

2.2 Akute Toxizitätstests mit Salz- und Brackwasserorganismen

Anhang Tab. 4: Akute Toxizitätstests mit Salz- und Brackwasserorganismen.

| Organismus | Spezies | Endpunkt | Testdauer | Ergebnis | ISO | Referenzen |
|-----------------------------|---|------------------------------|-----------|--------------|-----------------------------------|------------|
| Fische | <i>Scophthalmus maximus</i> | Mortalität | 72 h | LC oder NOEC | ISO/WD 15990 | |
| | <i>Cyprinodon variegatus</i> und andere Spezies | Mortalität | 96 h | LC oder NOEC | EPA/600/4-90/027F (1993) | |
| Crustaceen | <i>Acartia tonsa</i> und andere Spezies | Mortalität | 48 h | LC | 14669 (1999) | |
| | <i>Mysidopsis bahia</i> | Mortalität | 48-96 h | LC | EPA/600/4-90/027F (1993) | |
| Muscheln (Embryo-Larven) | <i>Crassostrea virginica</i> <i>Crassostrea gigas</i> <i>Mytilus edulis</i> | Mortalität und Missbildungen | 48 h | EC oder NOEC | EPA/OPPTS 850.1055 (1996 Entwurf) | |
| Rotatorien | <i>Brachionus plicatilis</i> | Mortalität | 24 h | EC | ASTM E 1440-91 (1998) | |

2.3 Toxizitätstests mit Mikroorganismen

Anhang Tab. 5: Toxizitätstests mit Mikroorganismen.

| Spezies | Methode | Endpunkt | Testdauer | Ergebnis | Referenzen | | |
|---------------------------|-----------|------------------------------|-----------|------------------------|-------------------------|------------------------------------|------------------------|
| | | | | | ISO | OECD | Nationaler Standard |
| <i>Vibrio fischeri</i> | akut | Lumineszenzhemmung | 0.5 h | EC oder G _L | 11348-1,-2,-3 (1998) | DIN EN ISO 11348-1,-2,-3 (1999) | |
| | chronisch | Wachstumshemmung | 7 h | EC | | DIN 38412-37 (1999) | |
| <i>Pseudomonas putida</i> | akut | Atmungshemmung | 0.5 h | EC | | DIN 38412-27 (1992) | |
| | chronisch | Wachstumshemmung | 16 h | EC | 10712 (1995) | DIN EN ISO 10712 (1995) | |
| Belebtschlamm | akut | Atmungshemmung | 0.5 h | EC | 8192 (1986) | 209 (1984) | DIN EN ISO 8192 (1995) |
| | akut | Nitrifikationshemmung | 4 h | EC | 9509 (1989) | | DIN EN ISO 9509 (1995) |
| | akut | Wachstumshemmung | 6 h | EC | 15522 (1999) | | |
| Anaerober Faulschlamm | chronisch | Hemmung der Gasproduktion | 3-7 d | EC | ISO/DIS 13641-1,2 | | |

2.4 Chronische Kurz- und Langzeittests

Anhang Tab. 6: Chronische Kurz- und Langzeittests.

| Organismus | Spezies | Endpunkt | Testdauer | Ergebnis | Referenzen | |
|-------------------------|-------------------------------------|---|-----------|-----------------|--|-------------------------|
| | | | | | ISO | OECD |
| Fische Süßwasser | <i>Pimephales promelas</i> | Larval-Wachstum und -Überleben | 7 d | NOEC | EPA/600/4-91/002 (1994) Methode 1000.0 | |
| | <i>Pimephales promelas</i> | Embryo-Larval Überleben und Teratogenität | 7 d | NOEC | EPA/600/4-91/002 (1994) Methode 1001.0 | |
| | <i>Leuciscus idus</i> | Embryo-Larval Entwicklung und Überleben | 8-10 d | LC/EC oder NOEC | 212 (1998) | |
| | <i>Brachydanio rerio</i> und andere | Mortalität | 14 d | NOEC | 204 (1984) | |
| | <i>Oncorhynchus mykiss</i> | Wachstum | 14 d | EC/NOEC | 10229 (1994) | |
| | <i>Oncorhynchus mykiss</i> | Wachstum | 28 d | EC/NOEC | 215 (2000) | |
| | Diverse Spezies | Embryo-Larval-Überleben | 30-60 d | NOEC | 12890 (1999) | 210 (1992) |
| Crustaceen Süßwasser | <i>Cyprinodon variegatus</i> | Larval-Wachstum und -Überleben | 7 d | LC/EC oder NOEC | EPA/600/4-91/003 (1994) Methode 1004.0 | |
| | <i>Ceriodaphnia dubia</i> | Immobilisierung, Reproduktion | 8 d | NOEC | EPA/600/4-91/002 (1994) Methode 1002.0 | |
| | <i>Ceriodaphnia dubia</i> | Reproduktion | 7 d | NOEC | NF T90-376 (2000) | |
| | <i>Daphnia magna</i> | Reproduktion | 21 d | NOEC | 10706 (2000) | 211 (1998) |
| Salzwasser | <i>Mysidopsis bahia</i> | Überleben, Wachstum, Reproduktion | 7 d | | EPA/600/4-91/003 (1994) Methode 1007.0 | |
| | <i>Scenedesmus subspicatus</i> | Wachstumshemmung | 72 h | EC oder NOEC | 8692 (1989) | 201 (1098) |
| Algen Süßwasser | <i>Selenastrum capricornutum</i> | Wachstumshemmung | 72 h | G _A | DIN EN 28692 (1993) | |
| | <i>Scenedesmus subspicatus</i> | Wachstumshemmung | 72 h | EC/NOEC | DIN 38412-33 (1991) | |
| | <i>Selenastrum capricornutum</i> | Wachstumshemmung | 96 h | | EPA/600/4-91/002 (1994) Methode 1003.0 | |
| Salzwasser | <i>Skeletonema costatum</i> | Wachstumshemmung | 72 h | EC | 10253 (1995) | DIN EN ISO 10253 (1998) |
| | <i>Phaeodactylum tricornutum</i> | Reproduktion | 7-9 d | EC/NOEC | EPA/600/4-91/003 (1994), Methode 1009.0 | |
| Rotatorien Süßwasser | <i>Champia parvula</i> | Reproduktion | 2 d | EC | NF T90-377 (2000) | |
| | <i>Brachionus calyciflorus</i> | Reproduktion | | | | |

Anhang 3 Biologische Abbautests

Anhang Tab. 7: International standardisierte biologische Abbautests.

| | Test | Testkonzentration | Inokulum | Mess-parameter | Testdauer | Referenz |
|--|------------------------------------|--|--|-------------------------------------|---------------|--|
| OECD-Tests auf leichte Abbaubarkeit | DOC Die-Away Test | 10-40 mg/L DOC | Mittlere Animpfdichte, Belebtschlamm 30 mg/L TS | DOC | 28 d | OECD 301 A (1992) ISO 7827 (1994) DIN EN ISO 7827 (1996) |
| | CO ₂ -Entwicklungs test | 10-20 mg/L DOC | Mittlere Animpfdichte, Belebtschlamm 30 mg/L TS | CO ₂ , DOC | 28 d | OECD 301 B (1992) ISO 9439 (1999) DIN EN ISO 9439 (2000) |
| | Modifizierter MTI Test (I) | 100 mg/L Substanz | Mittlere Animpfdichte, Belebtschlamm 30 mg/L TS | O ₂ , CO ₂ | 28 d | OECD 301 C (1992) |
| | Closed Bottle Test | 2-10 mg/L Substanz | Geringe Animpfdichte, bis 5 mL Kläranlagen- ablauf | O ₂ | 28 d | OECD 301 D (1992) ISO 10707 (1994) DIN EN ISO 10707 (1998) |
| | Modifizierter OECD Screening Test | 10-40 mg/L DOC | Geringe Animpfdichte, 0.5 mL Kläranlagen- ablauf, | DOC | 28 d | OECD 301 E (1992) ISO 7827 (1994) |
| | Manometrischer Respirationstest | 100 mg/L Substanz | Mittlere Animpfdichte Belebtschlamm 30 mg/L TS | O ₂ | 28 d | OECD 301 F (1992) ISO 9408 (1999) DIN EN ISO 9408 (1999) |
| | Biologischer Abbau in Meerwasser | Nach Die-Away oder Closed Bottle Methode | Test in Meerwasser, kein extra Inokulum | | 28 d | OECD 306 (1992) |
| | Modifizierter SCAS Test | 20-50 mg/L DOC 1-4 g/L TS | Hohe Animpfdichte 1-4 g/L TS | DOC | Bis 26 Wochen | OECD 302 A (1981) ISO 9887 (1992) DIN EN ISO 9887 (1994) |
| | Zahn-Wellens/EMPA Test | 50-400 mg/L DOC | Hohe Animpfdichte 0.2-1 g/L TS | DOC CSB | Bis 28 d | OECD 302 B (1992) ISO 9888 (1999) DIN EN ISO 9888 (1999) |
| | Modifizierter MTI Test (II) | 30 mg/L Substanz | 100 mg/L TS | O ₂ | 28 d | OECD 302 C (1981) |
| OECD-Tests auf inhärente Abbaubarkeit | | | | | | |
| | | | | | | |

| | Test | Testkonzentration | Inokulum | Mess-parameter | Test-dauer | Referenzen |
|------------------------|---|--------------------------|---|---|-------------------|---------------------------------------|
| OECD-Simulationstests | Simulationstest – Aerobe Abwasserbehandlung: Coupled Units Test | 10-50 mg/L DOC | 2.5-3 g/L TS | DOC | Bis 12 Wochen | OECD 303 A (1981) ISO 11733 (1995) |
| | Simulationstest – Aerobe Abwasserbehandlung: Biofilms | | Biofilm | | | OECD 303 B (2000 Entwurf) |
| Weitere Tests nach ISO | Leichte Abbaubarkeit CO ₂ Headspace Test | 2-40 mg/L DOC | Belebtschlamm 4 mg/L TS | CO ₂ | 28 d | ISO 14593 (1999) |
| | Leichte Abbaubarkeit Zwei-Phasen Closed Bottle Test | 100 mg/L CSB | Belebtschlamm 30 mg/L TS | O ₂ | 28 d | ISO 10708 (1997) |
| | Aerobe Abbaubarkeit bei kleinen Konzentrationen in Wasser (im Batch-Test und im kontinuierlichen Flussmodell) | <100 µg/L | Oberflächenwasser mit oder ohne Sediment | Radiomarkierte Stoffe | | ISO/DIS 14592-1,-2 |
| | Anaerobe Abbaubarkeit von Stoffen in Faulschlamm | 20-100 mg/L TOC | Anaerobe Mikroorganismen 10 Vol-% Faulschlamm | Biogasproduktion (CO ₂ und CH ₄) | < 60 d | ISO 11734 (1995) |
| | | | | | | |

Anhang 4 Material und Methoden

4.1 Physikalisch-chemische Abwassercharakterisierung

Die folgenden physikalisch-chemischen Parameter wurden bestimmt:

Leitfähigkeit, pH, suspendierte Feststoffe, Trübung, DOC, CSB, SAK₂₅₄, SAK₄₃₆, Cl⁻, SO₄²⁻, NO₃⁻, PO₄³⁻, NH₄⁺

Der Gehalt an *suspendierten Feststoffen* wurde nach DIN EN 872 bestimmt. Für den vorgeschriebenen Messbereich geeignete Probenvolumina wurden über vorgespülte und getrocknete Glasfaserfilter (13400-50Q, Sartorius, Göttingen) filtriert. Die Filter wurden dann 2 h bei 105°C getrocknet und ausgewogen.

Die Messung der *Trübung* erfolgte mit dem Hach 2100N Turbidimeter (Dr. Bruno Lange, Düsseldorf) kalibriert mit Formazin-Standards.

Der *DOC* wurde mit dem LiquiTOC 2100 MB (Foss-Heraeus, Hanau) nach dem Prinzip der UV/Persulfat-Oxidation gemessen.

Die *CSB-Bestimmung* wurde mit dem Küvettentest-System von Hach durchgeführt (DR/2000 Photometer, CSB Reaktor und Testküvetten für einen CSB-Bereich von 0-150 mg/L, Dr. Bruno Lange, Düsseldorf)

Die Bestimmung der *SAK*-Werte erfolgte mit dem Lambda-2 UV/Vis-Spektrophotometer (Perkin-Elmer, Rodgau-Jügesheim) bei den Wellenlängen 254 nm und 436 nm.

Die Anionen Cl⁻, SO₄²⁻, NO₃⁻, und PO₄³⁻ wurden ionenchromatographisch mit einem Dionex-System (Autosampler AS50, Chromatographiemodul AS50, Gradientenpumpe GP50, Leitfähigkeitsdetektor CD20, Dionex, Idstein) und Leitfähigkeitsdetektion gemessen. Die Trennung verlief isokratisch über eine Dionex IonPac AS11-Säule (4×250 mm) mit 13 mmol NaOH als Eluent bei einer Fließgeschwindigkeit von 1 mL/min innerhalb von 25 min.

NH₄⁺ wurde nach Umsetzung mit Salicylat- und Hypochloridionen in Gegenwart von Na₂Fe(CN)₅NO·2H₂O photometrisch nach DIN 38406-5 bestimmt.

4.2 Biologische Testverfahren (Ökotoxizität)

Alle Tests wurden nach oder in Anlehnung an die folgenden standardisierten Testverfahren durchgeführt:

| Biotest | Testorganismus | G _X : kleinster Wert von G des Testansatzes in dem | Vorschrift |
|---------------------|--------------------------------|---|------------------------------------|
| Leuchtbakterientest | <i>Vibrio fischeri</i> | die Lichtemission um < 20 % gehemmt wird (G _L) | in Anlehnung an DIN EN ISO 11348-3 |
| Daphnientest | <i>Daphnia magna</i> | alle Daphnien ihre Schwimmfähigkeit behalten (G _D) | nach DIN 38412-30 |
| Fischei-Test | <i>Brachydanio rerio</i> | mindestens 90 % der Embryonen keine Effekte* im Sinne des Verfahrens aufweisen (G _{EI}) | nach DIN Entwurf 38415-6 |
| Algentest | <i>Scenedesmus subspicatus</i> | die Biomasseproduktion um < 20 % gehemmt wird (G _A) | in Anlehnung an DIN 38412-33 |
| umu-Test | <i>Salmonella typhimurium</i> | keine gentoxische Wirkung des Testguts mehr festzustellen ist (G _{EU}) | nach DIN 38415-3 |

* koagulierter Keim, keine Somiten, keine Schwanzablösung, kein Herzschlag

Der Leuchtbakterien- und der Algentest wurden in miniaturisierter Form in Mikrotiterplatten durchgeführt, wobei jeweils 100 µL Testgut vorgelegt und dann 100 µL Leuchtbakterien- bzw. Algensuspension automatisch zudosiert werden. Die Messung der Leuchthemmung von *V. fischeri* erfolgte mit einem Mikrotiterplatten-Luminometer (Lucy-1, Anthos, Salzburg, Österreich) nach einer Exposition von 30 min bei 19°C. Diese Testdurchführung zeigt eine gute Korrelation mit dem nach DIN durchzuführenden Test in Küvetten und eine vergleichbare Empfindlichkeit [Fiehn et al., 1997]. Die Messung der Algen-Chlorophyll-Fluoreszenz wurde nach Höhne (1991) mit einem Mikrotiterplatten-Fluorimeter (Fluoroscan II, Labsystems, Frankfurt/M) durchgeführt. Die Algen wurden bei 20° in einem Lichtbrutschrank mit Dauerlicht inkubiert. Die Wachstumshemmung wurde alle 24 h nach Testbeginn über insgesamt 96 h bestimmt (nach DIN erfolgt die Auswertung nach 72 h).

Die Zahl der immobilisierten Daphnien wurde nach 24 h entsprechend der DIN-Vorschrift sowie nach 48 h Exposition ermittelt.

4.3 Aerober biologischer Abbaustest (Persistenz)

Der Abbauprozess wurde nach EN ISO 7827 (entspricht dem Die-Away-Test nach OECD 301 A) durchgeführt. In diesem Test werden Substratkonzentrationen von 10-40 mg/L DOC und als Inokulum kommunaler Belebtschlamm mit 30 mg/L TS eingesetzt. Der biologische Abbau wird über den DOC verfolgt.

Parallel zu den Abwasserproben wurden eine Blindprobe (Inokulum-Blindwert) und eine Kontrollprobe (Inokulum-Aktivität) angesetzt. Die Testvolumina waren 1.5 L. Für die Testansätze der Abwasserproben wurde zunächst 1 L zentrifugiertes Abwasser in ein Testgefäß gefüllt, dann ca. 450 mL Abwasser vorgelegt, das entsprechende Volumen der Minerallösungen zugegeben und auf 0.5 L aufgefüllt in das Testgefäß überführt. Danach wurden die Ansätze mit Belebtschlamm angeimpft und sofort gut durchmischt.

Minerallösungen:

- A 8.5 g KH₂PO₄, 21.75 g K₂HPO₄, 33.4 g Na₂HPO₄·2 H₂O, 0.5 g NH₄Cl
- B 22.5 g MgSO₄·7 H₂O
- C 36.4 g CaCl₂·2 H₂O
- D 0.25g FeCl₃·6 H₂O

jeweils in 1 L Millipore-Wasser gelöst

Testmedium: 10 mL A und je 1 mL B, C sowie D pro Liter Testansatz

Inokulum: 4 mL Belebtschlamm pro Liter Testansatz mit einem Gehalt von 7.55 g/L an suspendierten Feststoffen aus der Kläranlage Ruhleben (Berlin), 2 mal mit Leitungswasser gespült

Die Blindprobe enthielt nur das Testmedium (Minerallösungen in Millipore-Wasser) sowie Inokulum, für den Kontrollansatz wurde Anilin (34.3 mg/L DOC) verwendet. Sofort nach Zugabe des Inokulums wurde die erste Probe genommen (Nullprobe), nach 3 h Inkubation die zweite (Adsorptionskontrolle). Weitere Proben wurden nach 7, 10, 14, 17, 21, 24 und 28 Tagen gezogen.

Die Testansätze wurden 28 Tage im Dunklen bei 20 ± 2 °C unter Belüften und Rühren aufbewahrt. Proben á 80 mL wurden regelmäßig entnommen, wobei zuvor eventuelle Flüssigkeitsverluste durch Zugabe von Millipore-Wasser ausgeglichen wurden.

Am Tag der jeweiligen Probenahme wurden die Proben filtriert (0,45 µm Membranfilter, NC, Machery-Nagel, Düren) und SAK sowie DOC gemessen.

Nach Versuchsende wurde die Biomasse von je 400 mL der Testansätze (außer des Kontrollansatzes) drei mal mit je 6 mL MeOH 20 min im Ultraschallbad extrahiert und dann die vereinigten Extrakte auf 1 mL für HPLC-Messungen mittels Vakuumzentrifuge eingeengt.

4.4 Festphasen-Extraktion und HPLC (potentielle Bioakkumulation)

Für die Herstellung von Stammlösungen und des Standardgemischs, die Konditionierung und Elution der SPE-Kartuschen und als Laufmittel für die HPLC wurden Reinstwasser (ELGA Maxima-System, USF ELGA, Ransbach-Baumbach) und HPLC“Gradient-grade“ MeOH (Merck, Darmstadt) verwendet.

Standardgemisch

Stammlösungen mit ca. 400 mg/L wurden für p-Kresol, Indol, 1-Aminonaphthalin, 1-Naphthol und 2,4-Dichlorphenol in Wasser sowie für Atrazin, Benzophenon, Naphthalin, Biphenyl und 4-Nonylphenol in MeOH angesetzt (alle Stoffe waren von p.a. Qualität). Ein Gemisch mit je 10 mg/L bzw. je 30 mg/L Naphthalin, Biphenyl und Nonylphenol wurde als Vorverdünnung für die SPE und zur Bestimmung der Wiederfindung mittels HPLC hergestellt. Dieses Gemisch wurde für die SPE um den Faktor 200 auf 50 µg/L je Stoff bzw. je 150 µg/L Naphthalin, Biphenyl und Nonylphenol weiter verdünnt.

SPE

Eingesetzt wurde die Phase Isolute C18(EC) von IST (Separtis, Grenzach-Wyhlen) mit 1 g Sorbensmenge. Die Konditionierung erfolgte zuerst mit 10 mL MeOH und dann mit 15 mL Wasser. 200 mL Probe (Standardgemisch oder zentrifugiertes Abwasser) wurden dann mit einer Geschwindigkeit von 3-4 mL/min extrahiert. Bei der Extraktion von Abwasser wurden die ersten 1.5 mL des Filtrats verworfen, nach der Extraktion wurden die Kartuschen mit 1.5 mL Wasser nachgespült und dieses zum Filtrat gegeben. Das Sorbens wurde dann kurz trockengesaugt. Die Elution erfolgte mit unterschiedlichen Wasser/MeOH-Gemischen und/oder MeOH. Nach der Elution wurden das Sorbens wiederum kurz trockengesaugt. Für das Einengen der Eluate wurde eine Vakuum-Zentrifuge (Speedvac A160, Savant, Farmingdale, USA) verwendet.

HPLC

Die HPLC-Messungen wurden an einem Merck-System (Gradienten-Pumpe L-6200A, Säulenofen T-6300, Autosampler AS 2000 A) mit DAD-Detektion (Gynkotek) durchgeführt. Die Trennung erfolgte mit einer RP-18 Säule (RP18endc. Supersphere-100, 4 µm 3×150 mm, Knauer, Berlin) bei 40°C und Injektion von 10 µL. Der folgende binäre Gradient mit 50 mmol NaHPO₃ in Wasser (Laufmittel A) und MeOH (Laufmittel B) wurde für die Abwasserproben eingesetzt: Start mit 5 % B, 3 min 30 % B, 10 min isokratisch, 16 min 47 % B, 26 min 95 % B, 12 min Equilibrationszeit, konstanter Fluss von 0.75 mL/min. Ein ähnlich abgestufter aber kürzerer Gradient wurde für die Messung des Standard-Gemischs verwendet.

Die Eluate der SPE des Standardgemisches wurden auf ca. 1 mL eingeengt und nach Zugabe von 10 µg Methylbenzoat als interner Standard (IS) vermessen. Zur Bestimmung der Wiederfindungsraten wurde 1 mL des 10 bzw. 30 mg/L je Stoff enthaltenden Standardgemischs mit 10 µg IS versetzt und mit den Proben-Eluaten gemessen.

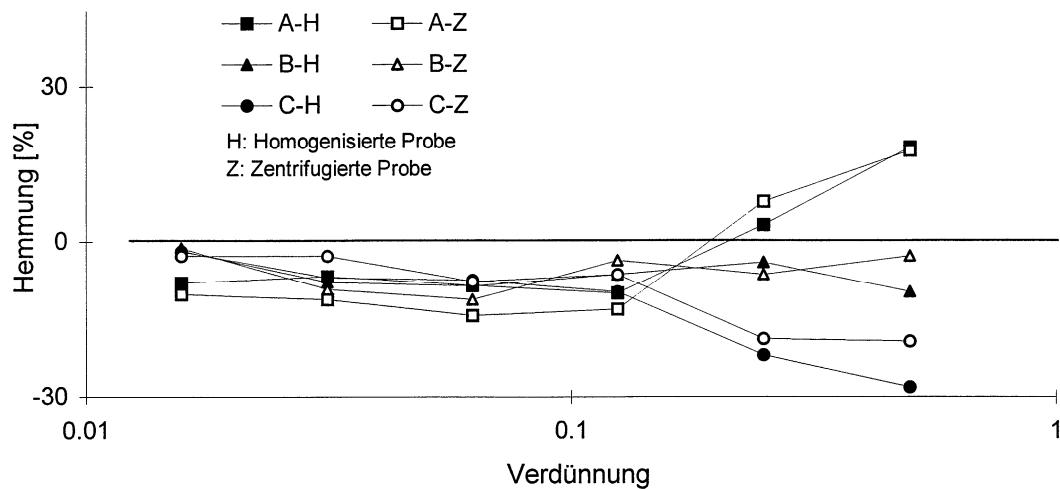
Abwasser-Extraktion

Nach einigen Vorversuchen wurden Abwasserproben nach der Extraktion zweifach eluiert: 1. Eluat 5 mL MeOH:H₂O 68:32, 2. Eluat 5 mL MeOH. Das erste Eluat wurde wie folgt für die DOC-Bestimmung aufgearbeitet, um das MeOH zu entfernen. 2 mL des Eluats wurden mit 2 mL Wasser versetzt, auf 0.25 mL im Speedvac eingeengt und 1.25 mL Wasser zugegeben. Das Einengen sowie die anschließende Wasserzugabe wurden zweimal wiederholt und zuletzt das Eluat auf 1 mL eingeengt. Vom eingeengten Eluat wurden für DOC- und SAK-Bestimmungen 0.3 mL oder 0.4 mL je nach Ausgangs-DOC der Abwasserprobe im 50 mL Messkolben verdünnt. Zur Blindwert-Kontrolle wurde parallel zu den Abwasserproben ELGA-Wasser extrahiert und aufgearbeitet.

Anhang 5 Ergebnisse der biologischen Testverfahren

5.1 Algatest der Abwasserproben A, B und C

Die Proben wurden homogenisiert und zentrifugiert gemessen.



Anhang Bild 1: Hemmung der Abwasserproben A, B und C (homogenisiert und zentrifugiert) im Algatest.

5.2 Umu-Test der Abwasserproben A, B und C

Die Proben A, B und C wurden zentrifugiert im umu-Test gemessen, des weiteren die persistente Fraktion von Probe A (A-b), das SPE-Filtrat der Probe A-b sowie das SPE-Filtrat einer Extraktion von ELGA-Wasser als Blindwert.

Anhang Tab. 8: Ergebnisse des umu-Tests.

| Ohne S9 | | Positivkontrolle 4-NQO IR = 3.54 | | | | Negativkontrollen FNU = 226.84 | | | |
|---------|------|-------------------------------------|-----------------------|-----------------|------|-----------------------------------|------|--------------------|------|
| Probe | | A zentrifugiert | A-b (nach Abbaustest) | A-b SPE-Filtrat | | B | C | Blindw SPE Filtrat | |
| Verd. | | G | IR | G | IR | G | IR | G | IR |
| 1:12 | 0.97 | 0.97 | 0.95 | 0.98 | 1.02 | 0.95 | 0.92 | 1.06 | 0.98 |
| 1:6 | 0.93 | 1.09 | 0.91 | 1.12 | 0.92 | 1.07 | 0.87 | 1.02 | 0.90 |
| 1:3 | 0.88 | 1.20 | 0.87 | 1.23 | 0.87 | 1.24 | 0.85 | 1.06 | 0.91 |
| 1:1.5 | 1.02 | 1.08 | 0.91 | 1.30 | 0.77 | 1.33 | 0.81 | 1.45 | 0.87 |
| | | | | | | | | 1.18 | 1.15 |
| | | | | | | | | | 0.94 |

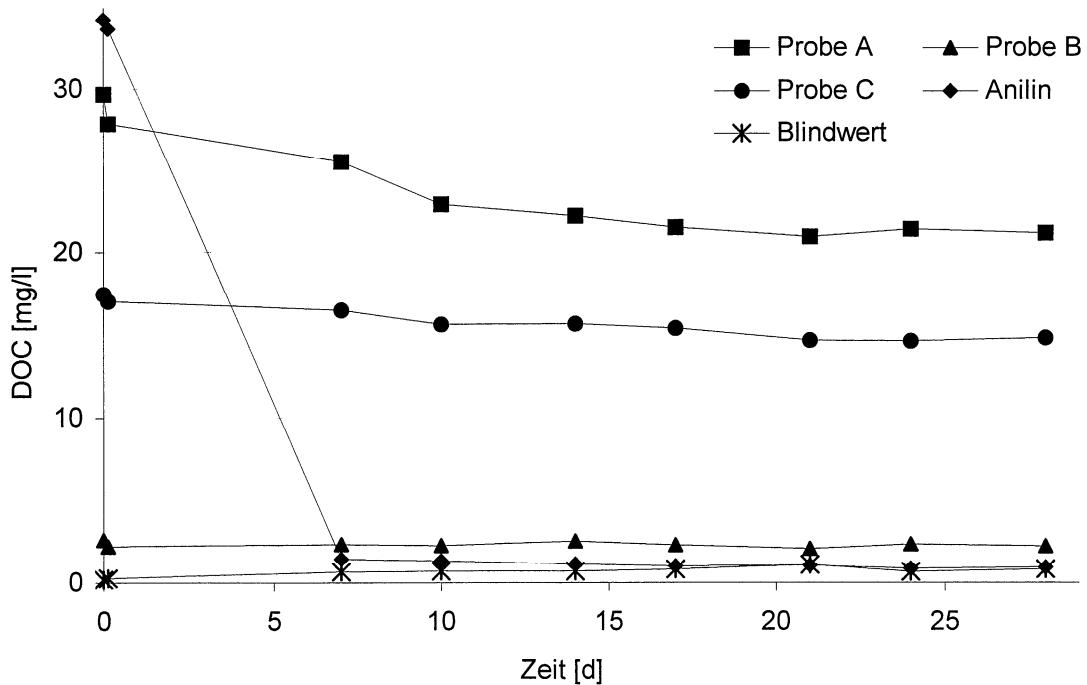
| Mit S9 | | Positivkontrolle 2-AA IR = 6.277 | | | | Negativkontrollen FNU = 279.69 | | | |
|--------|------|-------------------------------------|-----------------------|-----------------|------|-----------------------------------|------|--------------------|------|
| Probe | | A zentrifugiert | A-b (nach Abbaustest) | A-b SPE-Filtrat | | B | C | Blindw SPE Filtrat | |
| Verd. | | G | IR | G | IR | G | IR | G | IR |
| 1:12 | 1.04 | 0.92 | 0.99 | 0.92 | 1.01 | 1.00 | 1.14 | 1.13 | 0.99 |
| 1:6 | 1.04 | 0.98 | 1.02 | 0.99 | 1.17 | 1.08 | 1.00 | 1.02 | 1.07 |
| 1:3 | 1.05 | 0.80 | 1.07 | 0.95 | 1.16 | 0.85 | 0.95 | 0.97 | 1.08 |
| 1:1.5 | 1.30 | 0.93 | 1.11 | 0.78 | 1.03 | 0.76 | 0.99 | 1.38 | 1.32 |
| | | | | | | | | 0.91 | 1.07 |
| | | | | | | | | | 0.79 |

Gültigkeitskriterien:

- Die Positivkontrollen müssen mindestens einen Induktionsfaktor (IR) von 2 erreichen
- Die Negativkontrollen müssen mindestens eine Trübung von 140 Formazin-Einheiten (FNU) erreichen
- Der Wachstumsfaktor (G) muss größer als 0.5 sein
- Eine Probenverdünnung wird als positiv gewertet, wenn IR größer als 1.5

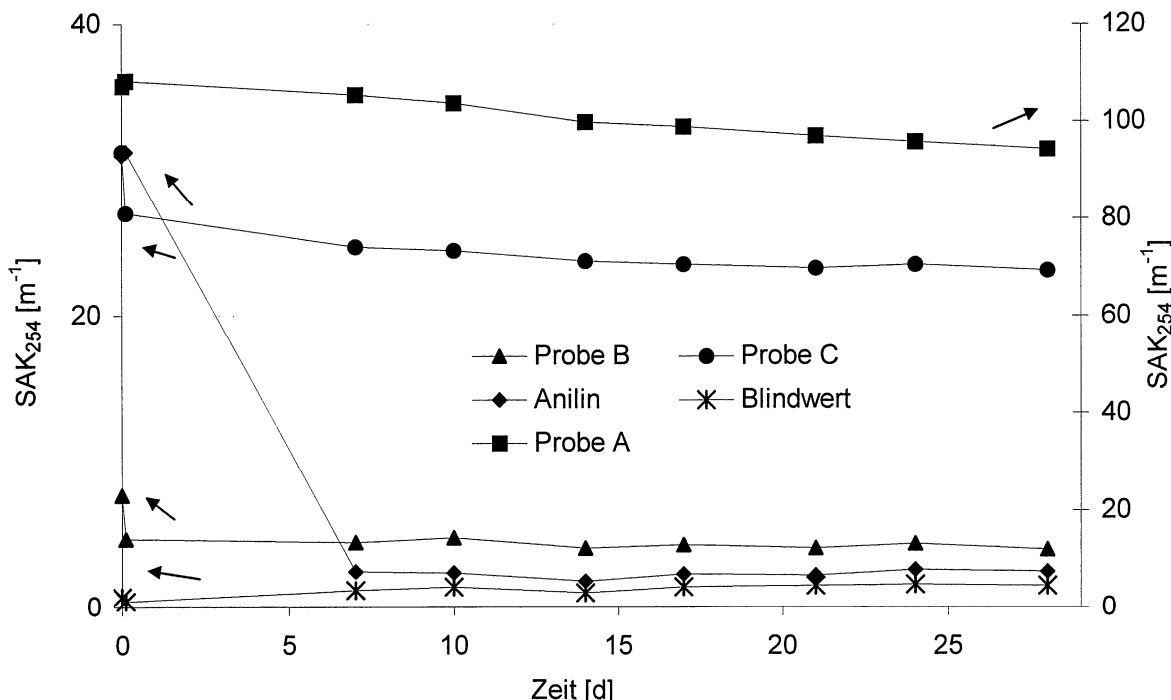
Anhang 6 Ergebnisse der biologischen Abbaustests

6.1 DOC-Abnahme



Anhang Bild 2: Abnahme des DOC.

6.2 SAK₂₅₄-Abnahme



Anhang Bild 3: Abnahme des SAK₂₅₄.

Anhang 7 Methodenentwicklung für das Modul „Bioakkumulierbarkeit“

7.1 Extraktion eines Standardgemischs

Vorgehen:

Zunächst wurden anhand eines Gemisches aus zehn aromatischen Einzelstoffen ($\log K_{ow}$ 1.9-5.8, Anhang Tab. 9) geeignete Bedingungen für eine Trennung der Stoffe mittels Festphasen-Extraktion bei einem $\log K_{ow} \approx 3$ ermittelt. Das hier für die SPE verwendete Sorbens (C_{18} -Phase, end-capped) war das gleiche, wie es von Metzger et al. (2000) für die PBS-Bestimmung über SPE und präparative HPLC eingesetzt wurde. Dieses Sorbens wurde von Metzger nach vergleichenden Untersuchungen unterschiedlicher Sorbentien von verschiedenen Herstellern aufgrund der besten Wiederfindungsraten für die Extraktion eines Stoffgemischs mit dem $\log K_{ow}$ -Bereich 2.25-8.27 ausgewählt. Die Analyse dieses Stoffgemisches, der Extrakte und Eluate erfolgte mittels HPLC mit Dioden-Array-Detektor.

Erwartungsgemäß wurden mit diesem Extraktionsmaterial alle, also auch die polaren, Standardsubstanzen aus der Probe extrahiert und durch Elution der Festphase mit Methanol wieder desorbiert. Die Wiederfindungsraten lagen zwischen 60 und 90 %. Ziel der eigentlichen Methodenentwicklung war es nun, dasjenige Mischungsverhältnis von Methanol und Wasser zu finden, mit welchem alle Referenzsubstanzen mit $\log K_{ow}$ -Werten < 3 von der Festphase eluiert werden können, während alle Stoffe mit $\log K_{ow}$ -Werten > 3 noch sorbiert bleiben. Letztere sollten erst in einem zweiten Elutionsschritt mit reinem Methanol eluiert werden. So würde eine Trennung der extrahierten Stoffe um $\log K_{ow} 3$ ermöglicht.

Anhang Tab. 9: Physikalisch-chemische Daten sowie Retentionszeiten in der HPLC der im Standardgemisch eingesetzten Stoffe.

| Stoff | Log Kow exp ^a | Log Kow calc ^b | pK _a ^a | H ₂ O-Löslichkeit [mg/l] ^a | Retentionszeit [min] ^c |
|--------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|--|-----------------------------------|
| p-Kresol | 1.94 | 2.06 | 10.3 | 2500 | 11.81 |
| Methylbenzoat (IS) | 2.12 | 1.83 | | 157 | 19.00 |
| Indol | 2.14 | 2.05 | -2.4 | 3560 | 13.35 |
| 1-Aminonaphthalin | 2.25 | 2.25 | 3.9 | 1700 | 16.66 |
| Atrazin | 2.61 | 2.82 | 1.7 | 32 | 21.11 |
| 1-Naphtol | 2.85 | 2.69 | 9.3 | 866 | 20.29 |
| 2,4-Dichlorphenol | 3.06 | 2.80 | 7.9 | 1000 | 22.15 |
| Benzophenon | 3.20 | 3.15 | | <100 | 24.11 |
| Naphthalin | 3.30 | 3.17 | | 30 | 25.57 |
| Biphenyl | 4.01 | 3.76 | | 8 | 27.20 |
| 4-Nonylphenol | 5.76 | 5.99 | | 7 | 28.85 |

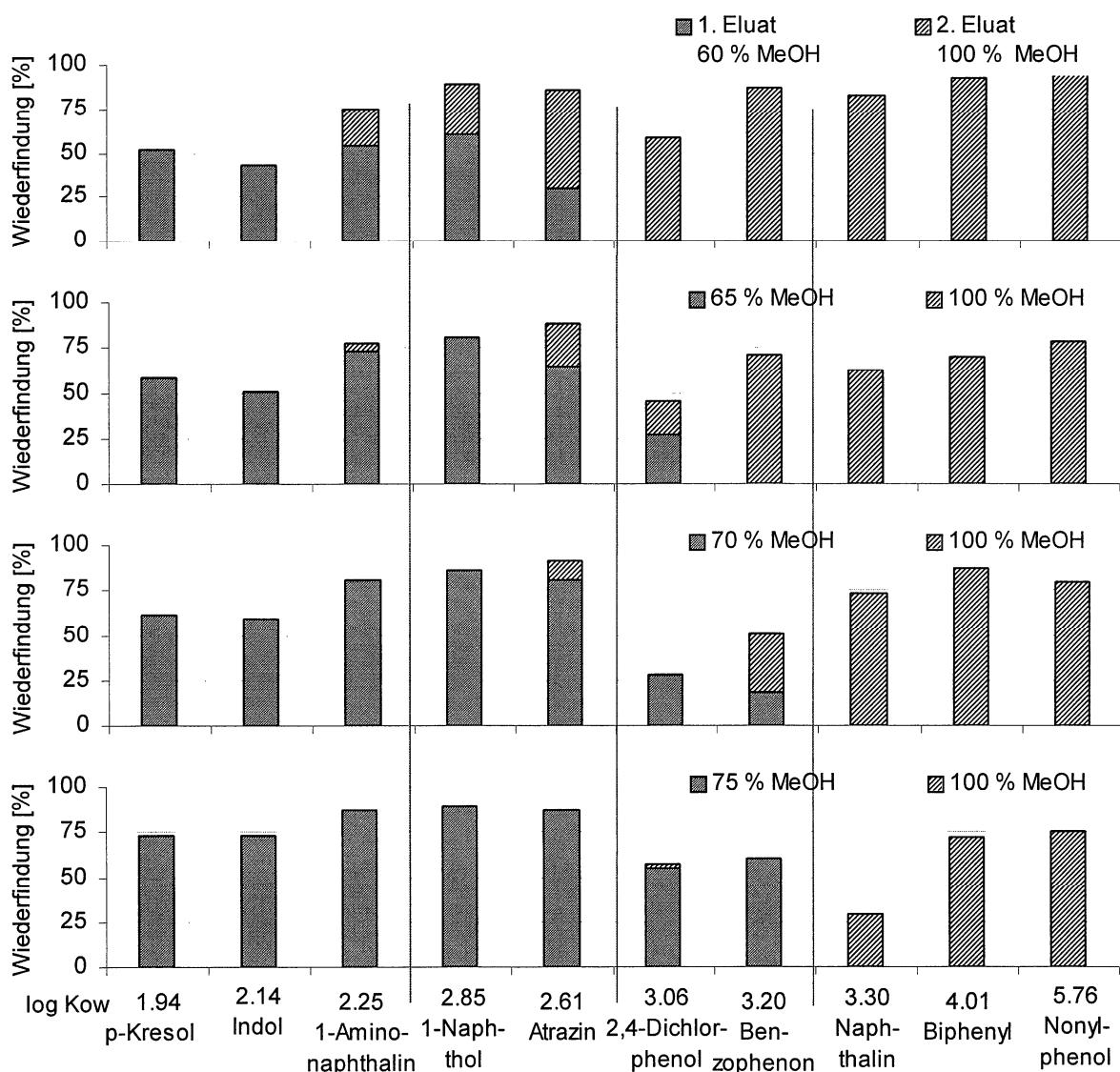
^a Die Daten wurden der Hazardous Substances Data Bank (HSDB) entnommen. [<http://toxnet.nlm.nih.gov/>]

^b Berechnet mit KowWin (logKow) log P calculation [<http://esc.syrres.com/interkow/logkow.htm>]

^c HPLC-Bedingungen siehe Anhang 4.4.

Ergebnisse:

Kein Stoff des Gemisches eluierte bei Verwendung von 20 % Methanol in Wasser für die erste Elution, mit 50 % Methanol wurden ca. je 20 % der Stoffe mit den niedrigsten $\log K_{ow}$ -Werten (1.9 bzw. 2.1) von der Festphase desorbiniert. Bei höheren Methanol-Anteilen von 60-75 % Methanol für die erste Elution wurden zunehmend auch die Stoffe mit höheren K_{ow} -Werten im ersten Eluat wiedergefunden (Anhang Bild 4). Die in 5%-Schritten durchgeführte Erhöhung des Methanol-Anteils führte für die fünf Stoffe im $\log K_{ow}$ -Bereich 2.25-3.2 zu einer schrittweisen anteiligen Erhöhung im ersten Eluat und einer entsprechenden Abnahme im zweiten Eluat. Mit 75 % Methanol wurden diese Stoffe vollständig eluiert. Die beiden Stoffe mit $\log K_{ow} < 2.25$ (p-Kresol und Indol) wurden dagegen immer im ersten und die drei Stoffe mit $\log K_{ow} > 3.2$



Die Stoffe sind in der Reihenfolge ihrer Retention in der HPLC angegeben, dort eluiert Atrazin trotz eines etwas niedrigeren $\log K_{ow}$ -Wertes vor Naphthol.

1 g LC18(EC), Eluate á 5 mL, 200 mL Extraktionsvolumen

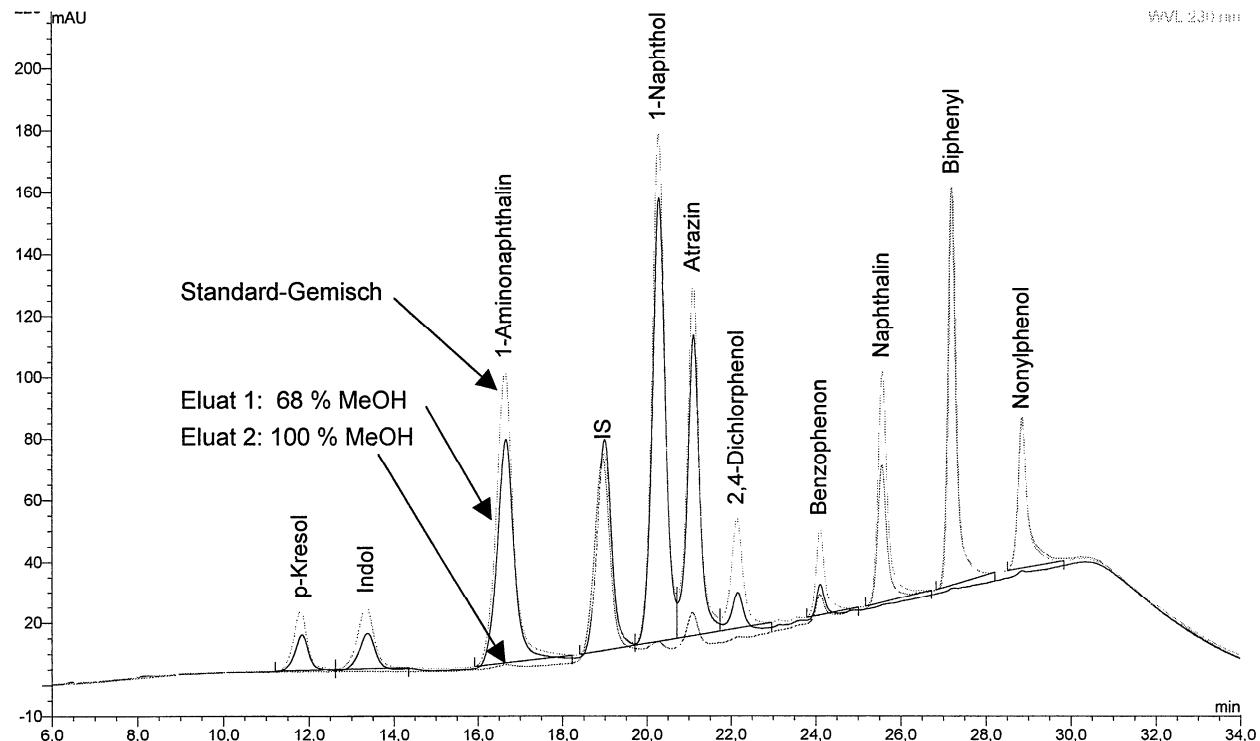
Anhang Bild 4: Zweistufige Elution nach SPE des Standardgemischs mit von 60 bis 75 % variierenden Methanol-Anteilen des ersten Eluats und jeweils 100 % Methanol im zweiten Eluat – Verteilung der Stoffe auf die Eluatfraktionen.

(Naphthalin, Biphenyl und Nonylphenol) im zweiten Eluat gefunden. Mit 65 % Methanol im ersten Elutionsschritt wird die größte Annäherung an eine Trennung bei $\log K_{ow}$ 3 erzielt. Nur zwei Stoffe (Atrazin $\log K_{ow}$ 2.61 und 2,4-Dichlorphenol $\log K_{ow}$ 3.06) im Grenzbereich um 3 sind in beiden Eluatfraktionen zu mehr als 5 % zu finden. Atrazin ist diesem Grenzbereich zugeordnet und nicht Naphthol, da seine Verteilung auf die zwei Eluatfraktionen stärker vom Methanol-Anteil der ersten Elution beeinflusst wird und es in der HPLC kurz nach Naphthol und direkt vor 2,4-Dichlorphenol eluiert (Anhang Bild 5).

Wie Anhang Bild 4 auch aufzeigt, wird die Trennung der Stoffe mit $\log K_{ow}$ -Werten kleiner bzw. größer 3 nie ganz scharf sein können. Hierfür dürften unter anderem auch chromatographische Effekte in der Festphasenkartusche verantwortlich sein, die nicht zu unterdrücken sind. Allerdings kann auch erwartet werden, dass die Trennung nach dem $\log K_{ow}$ -Wert für aliphatische Verbindungen schärfer ist als für Aromaten.

Ein Teil der oben gezeigten Unschärfe wird daher röhren, dass gewisse polare aromatische Verbindungen mit $\log K_{ow}$ -Werten <3 trotzdem mit der hydrophoben Phase der Extraktionskartusche wechselwirken, weil das aromatische System starke bindende π -Wechselwirkungen ausbilden kann. Diese können bei gleichem $\log K_{ow}$ -Wert eine aromatische Verbindung stärker zurückhalten, als eine aliphatische. Da hier andererseits durch die Verfolgung der Fraktionierung über die Trennung mit der HPLC und UV-Detektion nur aromatische, UV-aktive Stoffe detektiert werden, ergibt sich dadurch ein vergleichsweise ungünstiges Bild.

Hierbei ist aber auch zu berücksichtigen, dass in Abhängigkeit von der zur Bestimmung des K_{ow} -Werts verwendeten Methode die jeweils für einen Stoff ermittelten $\log K_{ow}$ -Daten um durchschnittlich ± 0.2 des Mittelwerts voneinander abweichen können [Verbruggen et al., 1999b]. Für das hier eingesetzte Standardgemisch wurden experimentelle Daten verwendet. Werden dagegen



Anhang Bild 5: HPLC-Chromatogramme des Standardgemisches bei zweistufiger Elution nach der SPE, Eluat 1: 68 % MeOH, Eluat 2: 100 % MeOH, Detektion bei 230 nm.

Verbindungen des Standardgemischs siehe Anhang Tab. 9). Das mit den hier verwendeten SPE- und HPLC-Bedingungen beobachtete Elutions- und Retentionsverhalten entspricht tatsächlich mehr den letztgenannten K_{ow} -Daten, der bestehende Schwankungsbereich sollte deshalb bei der Angabe von $\log K_{ow}$ -Werte mit einbezogen werden. Die nominelle Trenngrenze wird deshalb auf $\log K_{ow} = 3 \pm 0.2$ festgelegt.

Bei der folgenden Anwendung dieses Verfahrens auf die Abwasserproben wurde mit einem Methanol-Anteil von 68 % im ersten Eluat gearbeitet. Dieser Methanol-Anteil ist als obere Grenze zu betrachten, da 2,4-Dichlorphenol ($\log K_{ow}$ 2.8 bis 3.06) schon im ersten Eluat wiedergefunden wird (siehe Anhang 5.2). Ob es evtl. doch notwendig ist, den Methanol-Gehalt für die erste Elution abzusenken und dafür in Kauf zu nehmen, dass ein gewisse Anteil von Stoffen mit $\log K_{ow}$ -Werten unterhalb der Trenngrenze in die zweite, potentiell bioakkumulierbare Fraktion einbezogen wird, sollte bei weiteren Untersuchungen von Realproben ermittelt werden.

7.2 Methodenentwicklung mit Realproben, Lösungsmittelblindwert

Wie in Kap. 4.3.4 dargestellt, sollte der Anteil potenziell bioakkumulierender Abwasserinhaltsstoffe über eine DOC-Differenz-Messung erfolgen, wobei sich der Anteil von PBS aus dem Proben-DOC abzüglich der DOC-Werte vom SPE-Filtrat und des ersten Eluats ergibt. Von einer Bestimmung des DOC des zweiten Eluats wurde abgesehen aufgrund von Wiederfindungsversuchen mit dem Standardgemisch. Bei diesen wurde vor dem Einengen Wasser zum Methanol-Gemisch gegeben, um das Methanol durch Wasser zu ersetzen, wie es für eine DOC-Bestimmung erforderlich wäre. Nach dem Einengen des zweiten Eluats auf 1 mL kam es zu starken Stoffverlusten im Vergleich zu rein methanolischen Eluaten. Bei den im ersten Eluat auftretenden Stoffen wurden dagegen keine abweichenden Wiederfindungsraten festgestellt.

Für diese Voruntersuchungen wurde biologisch behandeltes Gerbereiabwasser sowie Melasseabwasser verwendet, die aufgrund ihrer gegenüber den Proben A-C höheren organischen Belastung für diese Untersuchungen besser geeignet waren.

Als problematisch erwies sich dabei die Entfernung des Methanols aus dem ersten Eluat vor der DOC-Bestimmung. Zunächst wurde davon ausgegangen, dass nach dem Einengen von 5 mL eines Eluats (68 % Methanol-Anteil) auf 1 mL das Methanol weitgehend entfernt wäre und dass nach der anschließenden Rückverdünnung eines Teils dieses Eluats auf das Originalvolumen (50 mL Wasser) nur ein geringer Blindwert in der DOC-Bestimmung auftreten würde¹. Dies war aber nicht der Fall. Aus den Blindwerten der parallel zu den Proben extrahierten und eluierten Blindprobe (Wasser) wurde ein Methanol-Restgehalt von ca. 4 % des Probevolumens abgeschätzt. Die gefundenen DOC-Anteile für das erste Eluat bezogen auf den Proben-DOC waren dadurch mehr als doppelt so hoch gegenüber den anhand der SPE-Filtrate bestimmten extrahierten DOC-Anteile. In Anhang Tab. 10 sind daher nur die DOC- und SAK₂₅₄-Anteile der SPE-Filtrate für die beiden extrahierten Proben sowie die Verteilung UV-aktiver Stoffe für Probe

¹ 1 µL Methanol in 1 mL Wasser (0.297 mg C) führt bei einer Rückverdünnung um den Faktor 200 entsprechend dem Aufkonzentrierungsfaktor bei der Extraktion von 200 mL Probe einem DOC-Gehalt von 1.5 mg/L.

Anhang Tab. 10: SPE zweier biologisch behandelter Abwasserproben – Verfolgung der Extraktion über die Summenparameter DOC und SAK₂₅₄, Bestimmung des DOC des ersten Eluats nach einfachem Einengen.

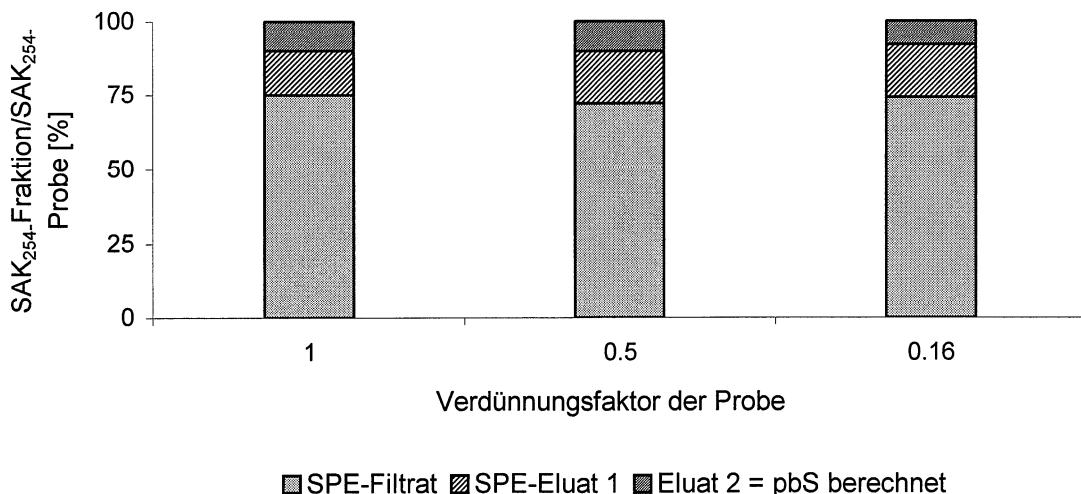
| | Probe 1 – biologisch behandeltes Gerbereiabwasser | | Probe 2 – biologisch behandeltes Melasseabwasser | |
|--------------------------------------|--|--|---|--|
| | DOC 60.1 mg/L | SAK ₂₅₄ 118 m ⁻¹ | DOC 60.5 mg/L | SAK ₂₅₄ 180 m ⁻¹ |
| Fraktion | % DOC | % SAK ₂₅₄ | % DOC | % SAK ₂₅₄ |
| a) SPE-Filtrat | 69 | 70 | 77 | 75 |
| b) SPE-Eluat 1 | - ^a | 16 | - ^a | - |
| Differenz => % PBS = 100 - (a +b) | - | 14 | - | - |

^a nicht bestimmbar, da Methanol-Blindwerte zu hoch waren

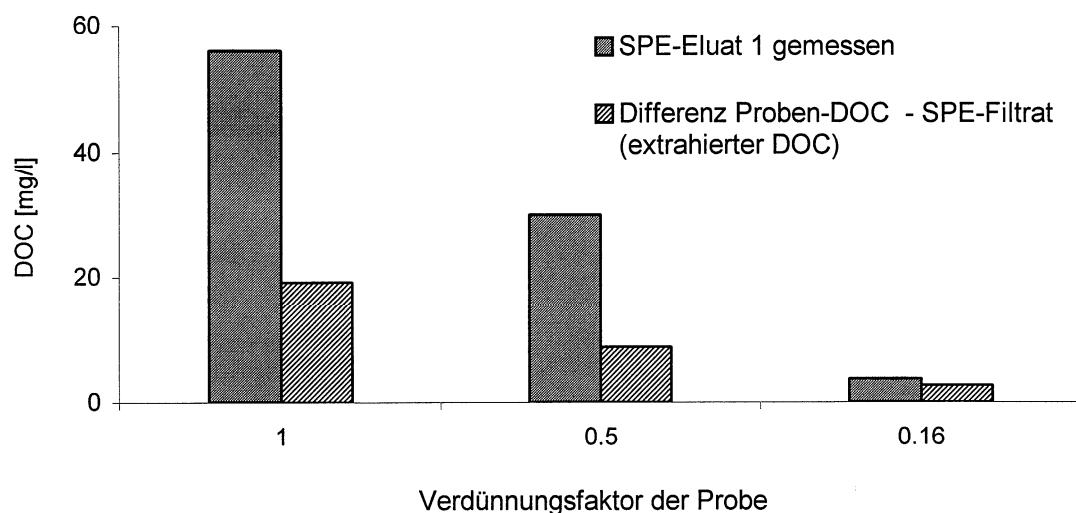
1 angegeben. Bei diesen beiden Proben, deren DOC mit ca. 60 mg/L gegenüber den Abwasserproben A, B und C vergleichsweise hoch ist, wurden mit der SPE 31 % (Probe 1) bzw. 23 % (Probe 2) des DOC extrahiert, der Anteil extrahierter UV-aktiver Verbindungen liegt jeweils in der gleichen Größenordnung.

Verschiedene Versuche zur Reduzierung des Blindwerts des 68 % Methanol-Wasser Gemischs durch stärkeres Einengen, Zugabe von Wasser und erneutes Einengen wurden dann durchgeführt. Die beste Reduzierung der Blindwerte wurde durch Einengen auf 0.25 mL, auffüllen auf 2 mL und erneutes Einengen auf 1 mL erzielt. Nach der abschließenden Rückverdünnung wiesen die Blindwerte einen DOC-Gehalt von 0.84 ± 0.25 mg/L auf.

Für die Reduzierung des Rest-Methanols in den ersten Eluaten von Abwasserproben zeigte sich dies allerdings als nicht ausreichend. Offenbar waren in diesen Eluaten organische Komponenten enthalten, die Methanol stärker zurückhalten. Eine SPE des biologisch behandelten Gerbereiabwassers (Probe 1) in verschiedenen Verdünnungsstufen, um zu ermitteln, ob evtl. die Extraktionskapazität der SPE-Kartusche überschritten wird, gab keinen Hinweis auf einen derartigen Effekt (Anhang Bild 6 und 8). Die SAK₂₅₄-Verteilung auf die SPE Fraktionen zeigt kaum einen Unterschied bei den verschiedenen Verdünnungsstufen, auch die DOC-Anteile der SPE-Filtrate waren mit 69, 71 bzw. 68 % bei zunehmender Verdünnung sehr ähnlich. Jedoch zeigte sich, dass der störende Rest-Methanol-Gehalt mit zunehmender Verdünnung der Probe abnahm (Anhang Bild 7). Dies deutet in der Tat darauf hin, dass mit steigendem DOC-Gehalt der Eluate zunehmend mehr Methanol zurückgehalten wird.



Anhang Bild 6: SPE von biologisch behandeltem Gerbereiabwasser in verschiedenen Verdünnungsstufen – Verteilung der UV-aktiven Verbindungen auf die SPE-Fraktionen (SPE-Bedingungen siehe Anhang 4.4).



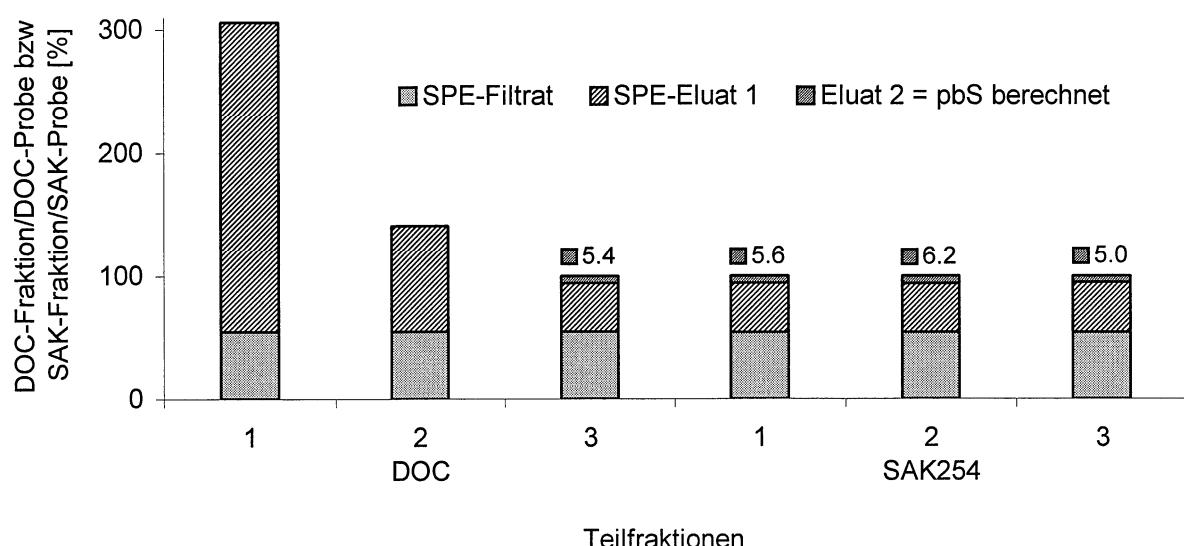
Anhang Bild 7: SPE von biologisch behandeltem Gerbereiabwasser ($\text{DOC} = 60.1 \text{ mg/L}$) in verschiedenen Verdünnungsstufen – Vergleich des DOC-Gehalts des 1. Eluats nach Rückverdünnung mit dem extrahierten DOC (Eluat 1, 5 mL 68 % MeOH, Einengen des Eluats auf 0.25 mL, auffüllen auf 2 mL und wieder einengen auf 1 mL, weitere Extraktionsbedingungen siehe Anhang 4.4).

Um die Entfernung des Rest-Methanols weiter zu verbessern, ist offenbar weiteres mehrfaches Spülen, d.h. Einengen und Auffüllen mit Wasser, notwendig.

Dies wurde anhand eines SPE-Eluates der Probe A ermittelt, welches in drei Teile gesplittet wurde. Diese drei Teile wurden dann unterschiedlich aufgearbeitet. Anhang Bild 8 zeigt, dass die Aufarbeitung der Teilfraktion 3, d.h. dreimaliges Einengen auf 0.25 mL, gut geeignet ist das restliche Methanol aus dem Eluat zu entfernen. Der DOC-Blindwert dieser Teilfraktion lag bei 0.2 mg/L.

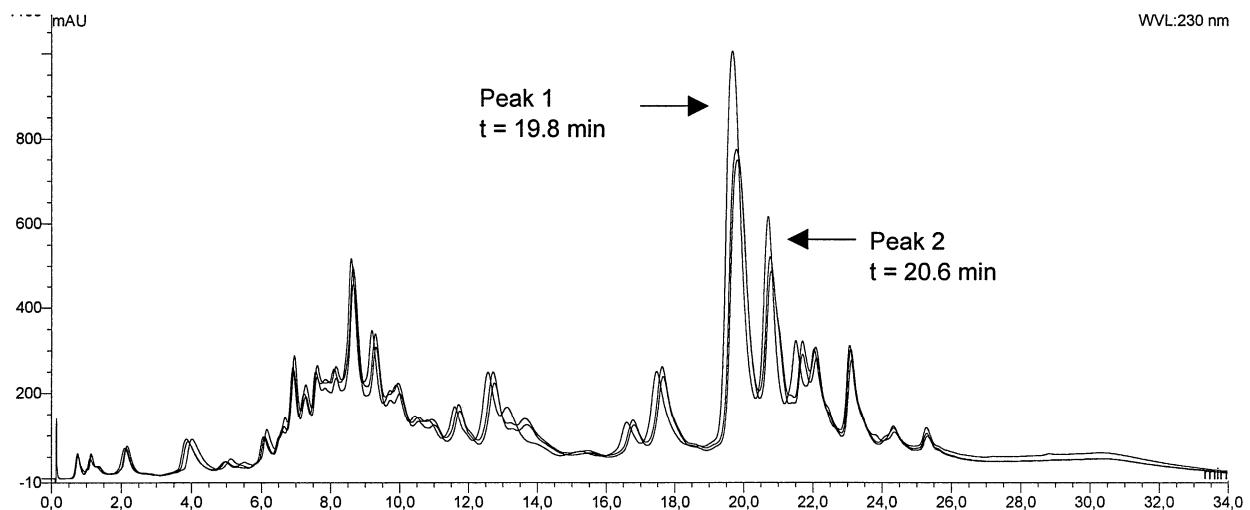
Es konnte auf diese Weise ein PBS-Anteil von 5.4 % des DOC-Gehalts über die Differenzmethode bestimmt werden. Der Anteil UV-aktiver Stoffe im ersten Eluat wurde von der unterschiedlichen Aufarbeitung der Teilfraktionen kaum beeinflusst (Anhang Bild 8, rechts). Auch die HPLC-Chromatogramme der drei Teilfraktionen zeigten, dass trotz des mehrfachen starken Einengens nur geringe Stoffverluste auftraten, soweit dies mit Hilfe der UV-Detektion erfassbar war (vgl. Anhang Bild 9, zwei Peaks). Mit 39.6 ± 0.6 % der UV-Absorption im ersten Eluat ergibt sich rechnerisch ein PBS-Anteil von 5.6 ± 0.6 % für die UV-aktiven Stoffe. Der insgesamt extrahierte Anteil organischer Stoffe dieser Probe war mit 45 % des Ausgangs-DOC im Vergleich zu den zuvor untersuchten Gerberei- und Melasseabwasserproben recht hoch.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die Erfassung potentiell bioakkumulierender Stoffe über Festphasenextraktion mit fraktionierender Elution auch mit der Bestimmung des DOC gekoppelt werden kann.



Anhang Bild 8: SPE der Probe A (DOC 30 mg/L) – unterschiedliche Aufarbeitung des 1. Eluats (68 % Methanol) nach Splitten in Teilfraktionen à 1.5 mL und auffüllen auf 5 mL vor dem Einengen.

- 1: Einengen auf 0.5 mL, Zugabe von 1 mL Wasser, Einengen auf 1 mL
- 2: Einengen auf 0.5 mL, je 3 mal Zugabe von 1 mL Wasser und wieder Einengen auf 0.5 mL, zuletzt auf 1 mL
- 3: Einengen auf 0.25 mL, je 3 mal Zugabe von 1.25 mL Wasser und wieder Einengen auf 0.25 mL, zuletzt auf 1 mL



Anhang Bild 9: SPE der Probe A – unterschiedliche Aufarbeitung des 1. Eluats (68 % MeOH) nach Splitten in drei Teile, HPLC-Chromatogramme der drei Teilfraktionen 230 nm.

- 1: Einengen auf 0.5 mL, Zugabe von 1 mL Wasser, Einengen auf 1 mL
- 2: Einengen auf 0.5 mL, je 3 mal Zugabe von 1 mL Wasser und wieder Einengen auf 0.5 mL, zuletzt auf 1 mL
- 3: Einengen auf 0.25 mL, je 3 mal Zugabe von 1.25 mL Wasser und wieder Einengen auf 0.25 mL, zuletzt auf 1 mL

Anhang 8 SPE der Abwasserproben A, B und C

8.1 SPE der Abwasserproben A, B und C vor und nach dem biologischen Abbaustest – Ergebnisse und erste Fehlerabschätzung der Methode

Anhang Tab. 11 zeigt die Ergebnisse der SPE der Proben A und C vor und nach dem biologischen Abbaustest (A-b und C-b) unter Anwendung der im Anhang 4.4 beschriebenen Aufarbeitungsmethode für die Eluate. Angegeben sind DOC-Gehalte und SAK₂₅₄-Werte der erhaltenen Fraktionen für die Proben A und C vor und nach dem Abbaustest als Mittelwerte der Ergebnisse von Extraktionen an zwei verschiedenen Tagen.

Anhang Tab. 11: SPE der Abwasserproben A und C vor und nach dem biologischen Abbaustest zur Bestimmung des Anteils an PBS – Ergebnisse nach Doppelbestimmungen an verschiedenen Tagen für die Proben A und C.
(Extraktion und Aufarbeitung der Proben siehe Anhang 4.4)

| Parameter | Fraktion | A | A-b ^a | C | C-b ^a |
|--|----------------------------|------------|-------------------|-------------------|------------------|
| DOC [mg/L] | Probe | 30.8 ± 1.0 | 21.0 ± 0.3 | 18.1 ± 0.05 | 14.5 ± 0.4 |
| | SPE-Filtrat | 16.5 ± 1.0 | 12.3 ^b | 7.4 ± 0.2 | 6.7 ± 0.02 |
| | SPE-Eluat 1 | 12.2 ± 0.3 | 7.2 ^b | 8.8 ^b | 6.4 ± 0.5 |
| | PBS berechnet ^c | 2.0 ± 0.4 | 1.5 | 1.9 | 1.4 ± 0.9 |
| DOC [%] | SPE-Filtrat | 53.6 | 58.7 | 41.1 | 46.3 |
| | SPE-Eluat 1 | 39.7 | 34.3 | 48.4 | 44.4 |
| | PBS [%] | 6.6 | 7.0 | 10.5 | 9.4 |
| SAK ₂₅₄ [m ⁻¹] | Probe | 127 ± 0.6 | 93.9 ± 0.6 | 28.5 ± 0.7 | 23.5 ± 0.6 |
| | SPE-Filtrat | 69.9 | 50.6 ^b | 13.4 ± 1.2 | 12.6 ± 0.3 |
| | SPE-Eluat 1 | 49.7 ± 3.6 | 36.2 ± 1.5 | 14.1 ^b | 7.7 ± 2.0 |
| | PBS berechnet ^c | 14.9 | 7.1 | 0.9 | 3.1 ± 1.7 |
| SAK ₂₅₄ [%] | SPE-Filtrat | 55.0 | 53.9 | 47.2 | 53.7 |
| | SPE-Eluat 1 | 39.1 | 38.6 | 49.6 | 32.9 |
| | PBS [%] | 6.0 | 7.5 | 3.2 | 13.4 |

^a nach biologischem Abbaustest

^b nur ein Meßwert verwendet, der zweite wies eine zu hohe Blindwertbelastung auf

^c Differenz: PBS = Probe - (SPE-Filtrat + SPE-Eluat 1)

Zum Teil traten unplausibel hohe Messwerte der SPE-Filtrate oder des ersten Eluats auf, obwohl die Blindwerte der bei jeder Extraktion parallel durchgeführten Extraktion von Reinstwasser nicht überhöht waren. Eine Bestimmung der Standardabweichungen war daher nicht für alle SPE-Filtrate und Eluate der Proben möglich. Die Blindwerte der SPE-Filtrate und der SPE-Eluate lagen bei 1.2 ± 0.5 bzw. 0.3 ± 0.2 mg/L DOC (jeweils Mittelwerte von fünf Extraktionen). Bei der Auswertung wurden die Werte der jeweils zu einer Probenserie gehörenden Blind-Extraktion von den Messwerten der Proben abgezogen. Trotz Blindwert-

korrektur war es für die Proben B und B-b mit ihren sehr niedrigen DOC-Gehalten schwierig, nach der ersten SPE aussagekräftige Werte zu erhalten. Daher wurde zunächst von einer zweiten SPE dieser Proben abgesehen.

Im folgenden soll eine erste Fehlerabschätzung dieser Methode vorgenommen werden, welche aufgrund der geringen Zahl der zur Verfügung stehenden Daten nur einen vorläufigen Charakter aufweisen kann. Zum einen kann hierzu die Standardabweichung der Bestimmung des PBS-Gehalts aus den Ergebnissen der Doppelbestimmungen für die einzelnen Proben herangezogen werden. Dies ist hier nur für zwei der vier Proben möglich, da bei zwei Proben jeweils der DOC-Gehalt des SPE-Filtrats oder des ersten Eluats nicht ausgewertet werden konnte. Für die Proben A und C-b ergeben sich daraus PBS-Gehalte von 2.0 ± 0.4 bzw. 1.4 ± 0.9 mg/L DOC. Die leicht unterschiedlichen DOC-Gehalte der Proben an den verschiedenen Extraktionstagen werden hierbei nicht extra berücksichtigt.

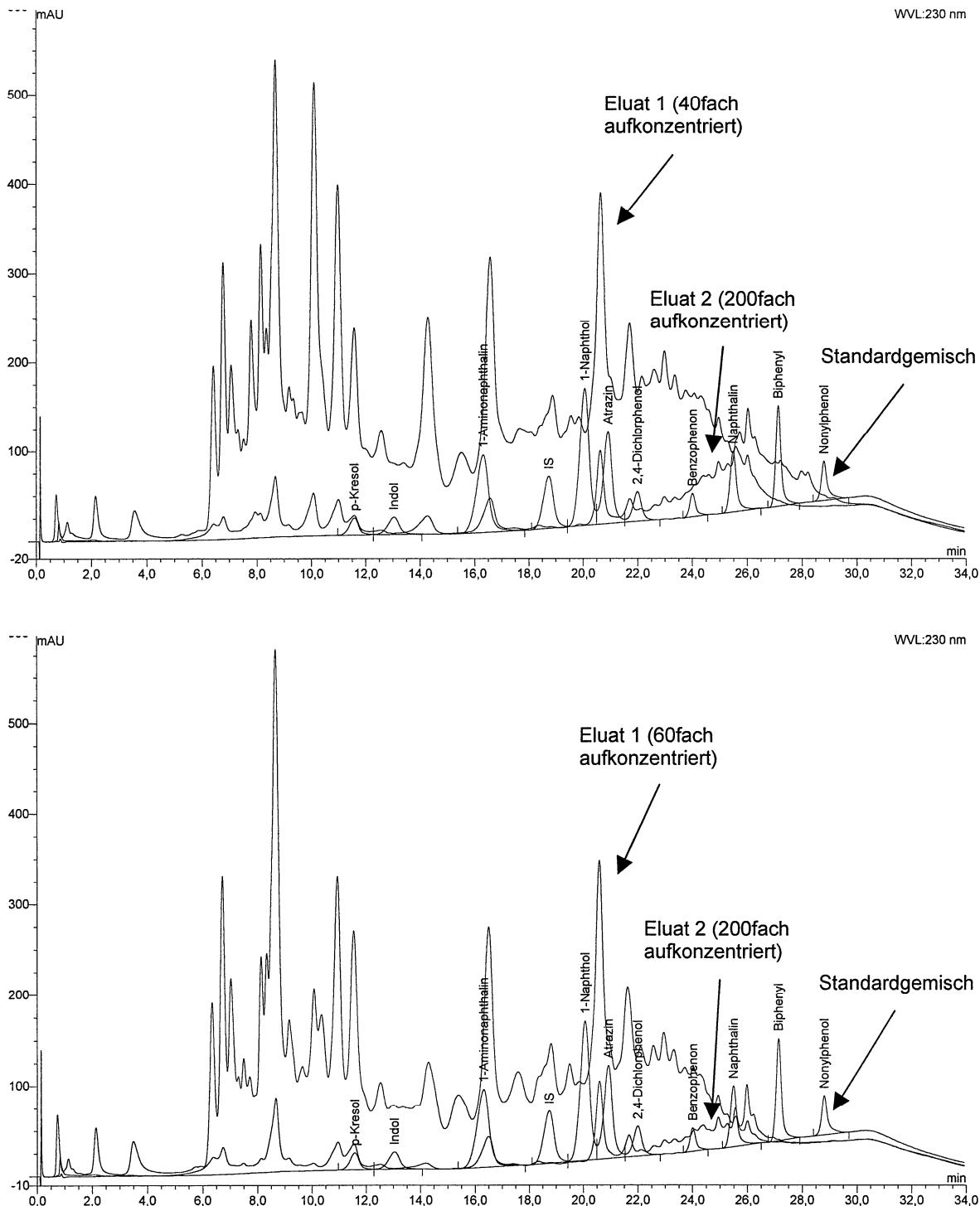
Zum anderen kann eine allgemeinere Fehlerabschätzung dieser SPE-Methode durchgeführt werden, indem berücksichtigt wird, dass hier der pbs-Gehalt als Differenz des Proben-DOC zur Summe des DOC des SPE-Filtrats und des ersten Eluats berechnet wird. Der Fehler der pbs-Bestimmung ergibt sich daher aus der Summe der Standardabweichungen der Bestimmung dieser drei DOC-Werte. Der Proben-DOC wird auch berücksichtigt, da dieser aufgrund der SPE der Proben an zwei verschiedenen Tagen etwas variierte. Nach Berechnung der Mittelwerte für die jeweils vorhandenen Daten und Aufsummierung dieser Werte ergibt sich für die Bestimmung des PBS-Gehalts ein Fehler von ± 1.3 mg/L DOC.

Als erste Abschätzung aus dieser geringen Zahl von Daten liegt der Fehler der SPE-Methode in einem Bereich von bis zu ± 1.3 mg/L DOC bei Berücksichtigung, dass die Proben an zwei verschiedenen Tagen extrahiert wurden. Dieser Wert liegt in der Größenordnung der für die untersuchten Proben ermittelten PBS-Gehalte, welche im Bereich 1.4-2.0 mg/L DOC lagen. Eine Doppelbestimmung nach einer parallelen Extraktion am selben Versuchstag wird den Fehler reduzieren, da die Variation des Proben-DOC nicht berücksichtigt werden müsste. Trotzdem erscheint die PBS-Bestimmung aufgrund der Differenzberechnung des DOC nach Blindwertkorrektur aus drei Messwerten insbesondere für Proben mit geringen PBS-Anteilen als relativ anfällig für Fehler.

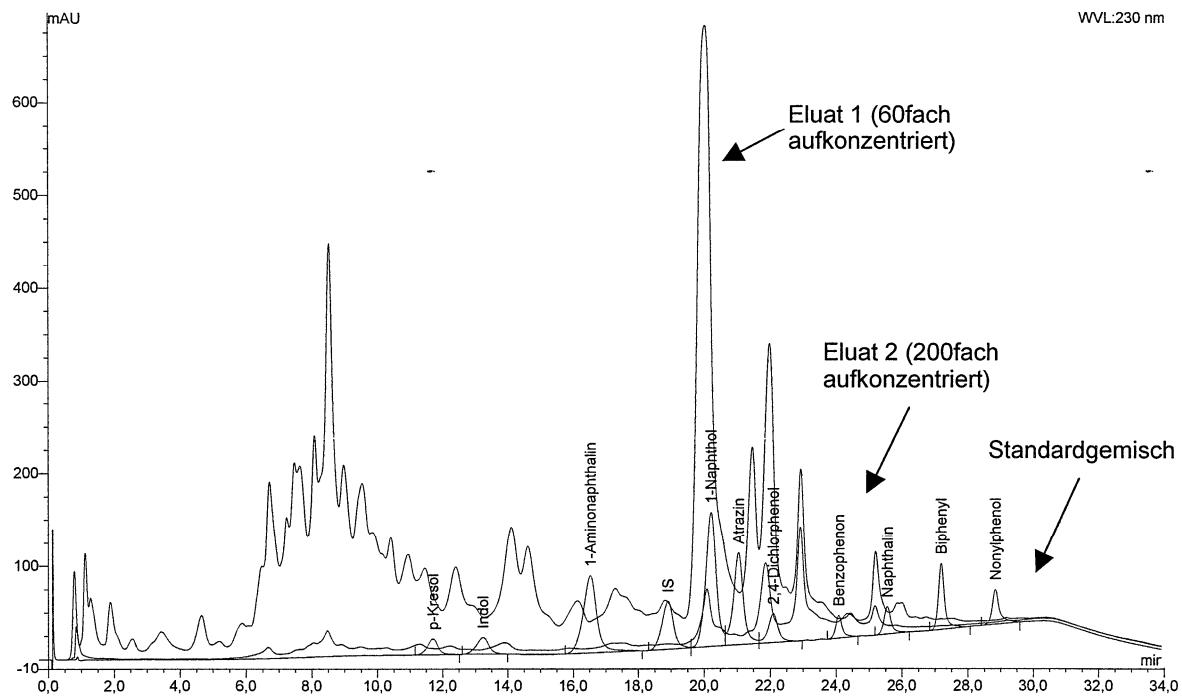
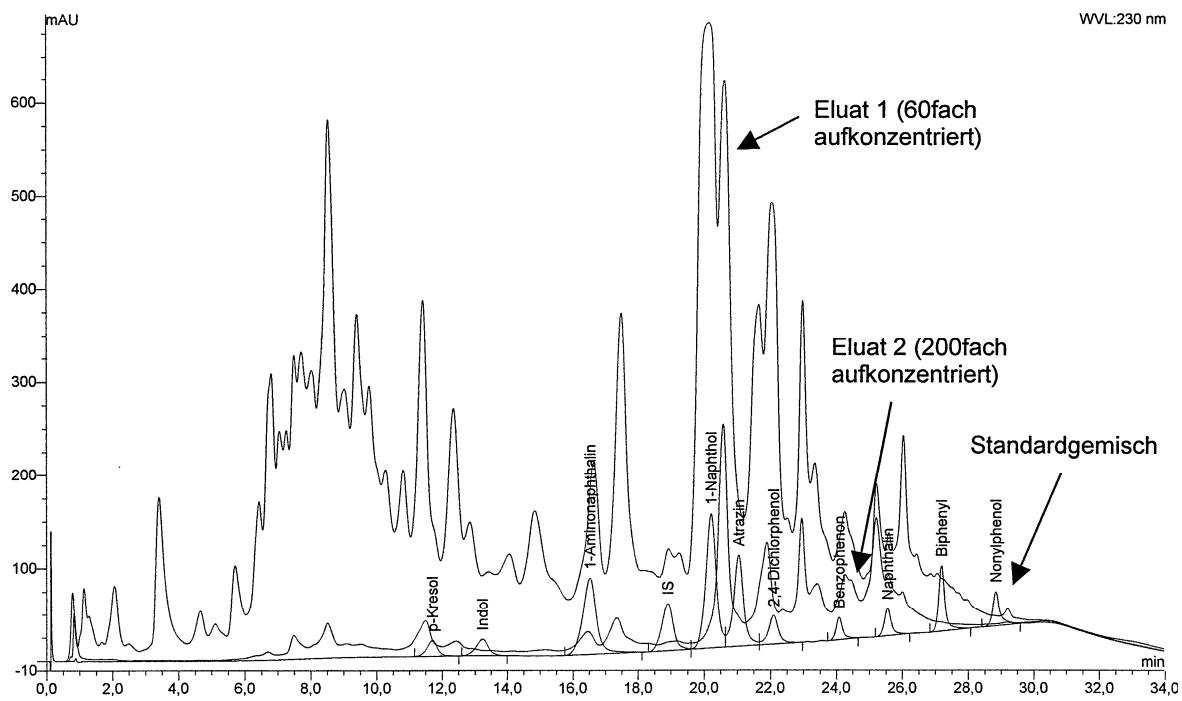
Vor einer weiteren Anwendung dieser Methode müsste der Fehler der PBS-Bestimmung daher genauer bestimmt werden. Neben der parallelen Extraktion von weiteren Abwasserproben zur Absicherung der Standardabweichungen müsste ermittelt werden, über welchen DOC-Bereich insbesondere hin zu geringen DOC-Gehalten die Methode eingesetzt werden kann. Hierzu wäre es auch notwendig, die Blindwert-Schwankungen der SPE-Filtrate und -Eluate zu verringern. Der Blindwert der SPE-Filtrate wird durch Auswaschen von Produktionsrückständen aus dem Sorbens verursacht. Eine Reduzierung könnte durch doppeltes Konditionieren erzielt werden, wobei vor der eigentlichen Konditionierung das Sorbens mit MeOH und Wasser vorgespült wird.

8.2 SPE der Abwasserproben A und C vor und nach dem biologischen Abbaustest – HPLC-Chromatogramme der Eluate 1 und 2

Die beiden folgenden Bilder (Anhang Bild 11 und Anhang Bild 10) zeigen die HPLC-Chromatogramme nach der SPE mit zweistufiger Elution der Abwasserproben A und C vor dem Abbaustest und danach. Zusätzlich ist jeweils die Trennung des Standardgemischs mit dargestellt. Der $\log K_{ow}$ -Bereich um 3, in dem es zu einer Elution der Stoffe Atrazin, 2,4-Dichlorphenol und Benzophenon in beiden Eluatfraktionen kommt, liegt bei Retentionszeiten von 20.7 bis 24.5 min.

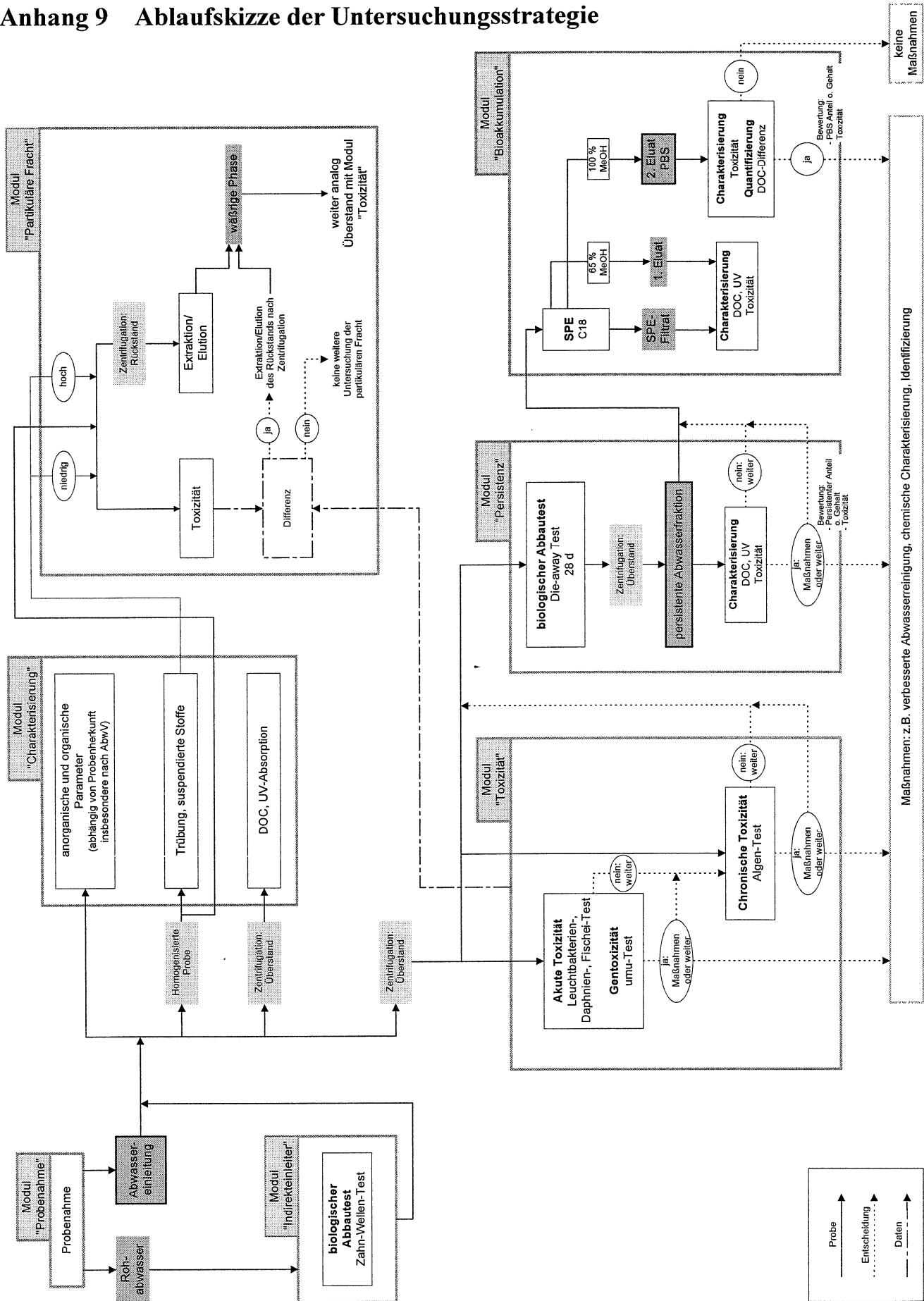


Anhang Bild 10: HPLC-Chromatogramme der Probe C vor dem Abbaustest (oben) und danach (unten) bei zweistufiger Elution nach der SPE (230 nm).
Eluat 1: 68 % MeOH, Eluat 2: 100 % MeOH



Anhang Bild 11: HPLC-Chromatogramme der Probe A vor dem Abbaustest (oben) und danach (unten) bei zweistufiger Elution nach der SPE (230 nm).
 Eluat 1: 68 % MeOH, Eluat 2: 100 % MeOH

Anhang 9 Ablaufskizze der Untersuchungsstrategie



Anhang Bild 12: Detailliertes Ablaufschema der Untersuchungsstrategie.