

## ÖKOTOXIKOLOGISCHE WIRKUNG VON STOFFEN

Rodinger W.

### ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wird der Aufgabenbereich der Ökotoxikologie thematisch abgegrenzt und ihr Wirkungskomplex dargestellt; wichtigste Testorganismen für genormte Testverfahren werden vorgestellt und Fachausdrücke erläutert. Getrennt nach ökotoxikologischen Untersuchungen von aktuellen und potentiellen Emissionen (Abwässer und Substanzen) wie auch Immissionen (Vorflutern) werden Bewertungsmöglichkeiten aufgezeigt und auch gesetzliche Anforderungen vorgestellt.

### 1. EINLEITUNG

Die Beeinträchtigungen aquatischer Ökosysteme können mittels  
- herkömmlicher Gewässergüteuntersuchungen, aber auch mittels  
- biologischer Labortestverfahren  
aufgezeigt werden.

Die herkömmliche Gewässeruntersuchung untersucht die Zusammensetzung der auftretenden Biozönose im Gewässer, sie spiegelt somit die Reaktion des Gewässers auf Einflüsse bei nicht standardisierten Bedingungen, d.h. bei natürlichen Bedingungen, wieder.

Biologische Labortestverfahren sind hingegen standardisiert, d.h. unter genau definierten Bedingungen werden Testorganismen den zu testenden Wässern ausgesetzt. Diese Verfahren sind wiederholbar, es können somit die Auswirkungen von einzelnen Substanzen aber auch von Mischabwässern getestet und reproduzierbarere Ergebnisse erzielt werden. Aus den Ergebnissen lassen sich im begrenzten Rahmen Aussagen über das Verhalten dieser Stoffe bzw. Abwässer im natürlichen Gewässer ableiten.

Entsprechend ihrer unterschiedlichen Zielsetzung lassen sich die biologischen Labortestverfahren in

- ökologische Tests - hier werden Wirkungen im primär nicht schädigenden Bereich und
- (öko)toxikologische Tests - hier werden Wirkungen im schädigenden Bereich erfaßt

unterscheiden. Davon abgesehen sind mit Labortestverfahren auch erbgutschädigende, fruchtschädigende und krebserregende Wirkungen von Schadstoffen festzustellen.

Wichtig ist jedoch bei allen Ergebnissen dieser Labortestverfahren, daß es sich nicht um feststehende, stoffspezifische Daten handelt, sondern daß sie immer im Zusammenhang mit den gewählten Testbedingungen zu sehen sind. Warum dies notwendig ist, zeigt der öko-toxikologische Wirkungskomplex (NUSCH, 1981) dargestellt in Abbildung 1.

Diese Abbildung zeigt auf der einen Seite den Stoff. Dessen "Giftigkeit" ist abhängig von der Affinität zu entsprechenden Strukturen auf der Organismenseite und der potentiellen Effektivität. Zusammen mit einer entsprechenden Konzentration ergibt sich das Schädigungspotential des Stoffes.

Auf der anderen Seite steht das biologische System. Trifft nun der schädigende Stoff auf das biologische System, so kommt es zu einer Wirkung des Stoffes. Dies muß jedoch nicht der totale Zusammenbruch des gesamten Systems sein, denn das biologische System hat ein gewisses Schutzpotential. Dazu gehören das Absondern von Schleimen oder chelatisierenden Exkreten, aber auch die Anpassungsfähigkeit nach Vorbelastung oder eine hohe Regenerationsfähigkeit z.B. von Organen (Leber) die sich mit Schadstoffen auseinandersetzen müssen.

Wie ein Stoff auf einen Organismus wirkt, wird aber auch noch von zahlreichen abiotischen (Licht, Temperatur, pH-Wert, etc) und biotischen Einflußfaktoren (Nahrungsmangel, Konkurrenzdruck, Alter und Geschlecht der Tiere, Gesundheitszustand, etc.) bestimmt. Vorbelastung kann dabei sowohl Schwächung und geringere Belastbarkeit als auch Stärkung der Belastbarkeit bedeuten.

Ökotoxikologischer Wirkungskomplex (nach NUSCH 1989 vereinfacht)

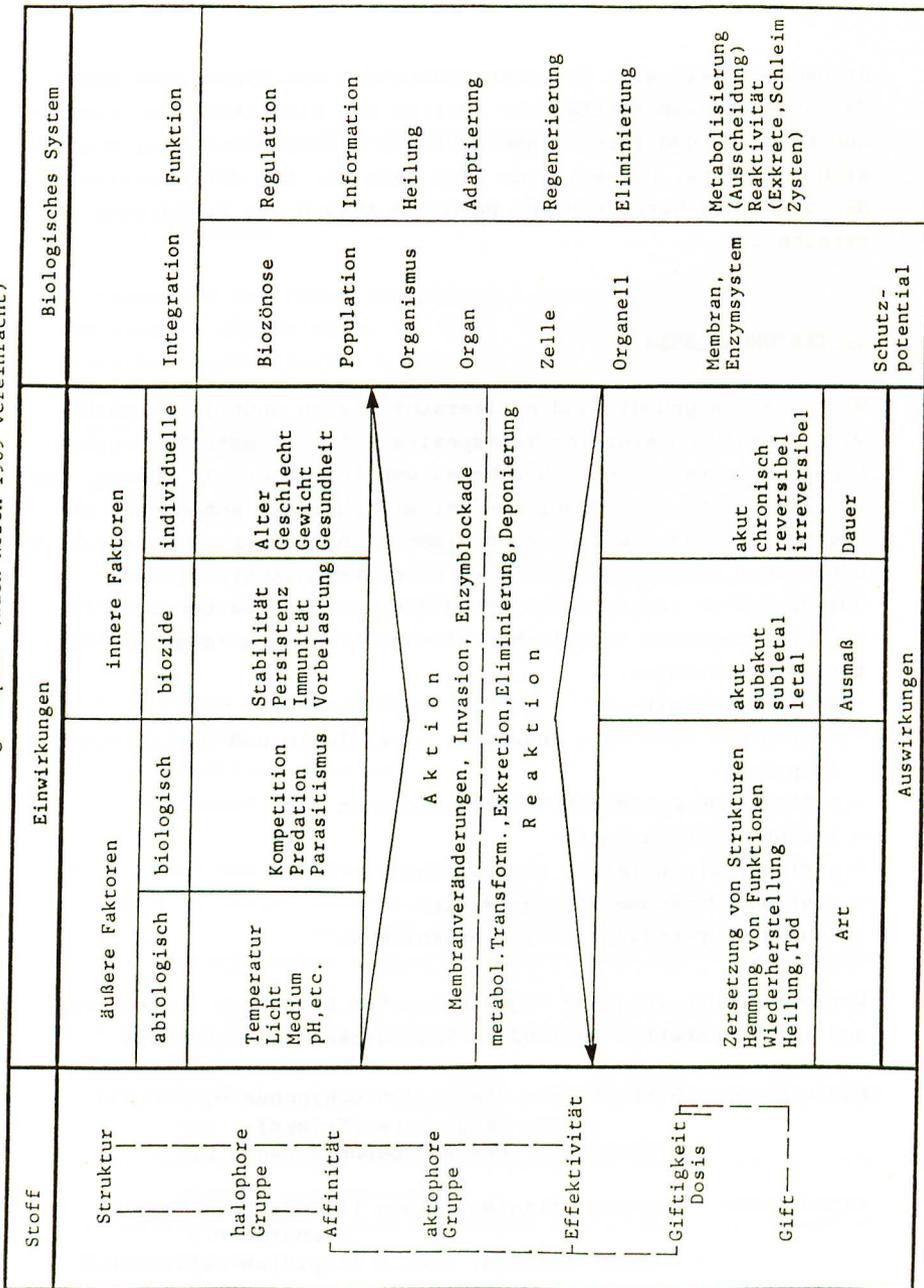


Abb. 1: Öko-toxikologischer Wirkungskomplex

Je nachdem, wie sich das Schutzpotential der Organismen gegen das Schädigungspotential des Stoffes bei Einwirkung der einzelnen biotisch und abiotischen Faktoren durchgesetzt hat, ergeben sich Resultate. Diese lassen sich nach der Art der Reaktion, der Dauer des Versuches und nach dem Ausmaß der Schädigung unterscheiden.

## 2. TESTORGANISMEN

Wie in allen grundlegenden Literaturzitatzen deutlich gemacht wird, reagieren einzelne Testspezies auf bestimmte Testwassertypen in charakteristischer Weise empfindlicher als andere. Der empfindlichste Testorganismus ist mit physikalischen oder chemischen Methoden derzeit noch nicht vorhersagbar. Grundsätzlich sind daher Tests mit Organismen aller trophischen Niveaus durchzuführen (Konsumenten, Produzenten, Destruenten). Vertreter der einzelnen trophischen Niveaus sind nach folgenden Kriterien auszuwählen:

- Empfindlichkeit
- Kenntnisse über ihre spezielle Physiologie und ökologischen Ansprüche
- auftretende Degenerationserscheinungen
- leichte Züchtbarkeit
- geringer finanzieller Zuchtaufwand
- häufiges Vorkommen in der Natur
- häufige Verwendung als Testorganismus.

Derzeit werden folgende Organismenarten bevorzugt in Österreich und im benachbarten Ausland zu Testzwecken herangezogen:

Konsumenten - Wirbeltiere: Fische (*Oncorhynchus mykiss* W.)  
Säugetiere (*Epimys*)  
- Wirbellose: Krebse (*Daphnia magna* S.)

Produzenten - Niedere Pflanzen: Algen (*Selenastrum capricornutum* P.)  
- Höhere Pflanzen: Kresse (*Lepidium sativum* L.)



Entsprechend ihrer Zielsetzung erfolgen mittels ökotoxikologischer Prüfverfahren Untersuchung der aquatischen Toxizität von

- aktuellen Emissionen: Abwässern
- potentiellen Emissionen: Substanzen
- aktuellen Immissionen: Vorfluter

#### 4. TESTAUSWERTUNG

Bei Substanzprüfungen werden die Ökotoxizitätstests nach den Gesichtspunkten der wirksamen Konzentration EC (Effective Concentration) ausgewertet. Empirisch bestimmt wird die Konzentration ohne Wirkung (EC 0) und die Konzentration mit totaler Wirkung (EC 100). Aus den Ergebnissen einer Testreihe mit abgestuften Konzentrationen werden statistisch die Werte EC 10 (Konzentration, bei der 10 % der Organismen beeinträchtigt sind) und EC 50 (Konzentration, bei der 50 % der Organismen im Sinne des Testkriteriums beeinträchtigt sind) bestimmt. Weitere Kenndaten sind NOEC (No Observed Effective Concentration), LOEC (Lowest Observed Effective Concentration) und MATC (Maximum Allowable Toxic Concentration).

Die Auswertung der Testergebnisse erfolgt, wie in den meisten Normen angegeben, graphisch mittels Wahrscheinlichkeitsnetz. Probitanalysen nach FINNEY (1971), die Testauswertung der gleichenden Mittelwerte nach TOMPSON (1947), Berechnungen nach SPEARMAN und KÄRBER (in SACHS L., 1983) oder eigene rechnerische Auswertungsverfahren sind ebenfalls zulässige Methoden der Datencharakterisierung.

Kenndaten bei der Abwasserprüfung sind die G - Werte. Der  $G_{F,D,A,B}$  - Wert (F Fisch, D Daphnien, A Algen, B Bakterien) charakterisiert jene ganzzahlige Verdünnungsstufe, bei der keine für den jeweiligen Testorganismus definierte Reaktion zu beobachten ist.

Die jeweilige prozentuelle Hemmung des empfindlichsten Testorganismus dient als Bewertungsmaßstab für das ökotoxikologische Belastungspotential eines Vorfluters.

## 5. BEWERTUNGSMASZSTÄBE

### 5.1. Aktuelle Emissionen (Abwässer)

- "Richtlinien für die Begrenzung von Abwasseremissionen" 1981  
(BM f. Land- und Forstwirtschaft)
  
- "Toxizitätsklassen nach  $G_D$  - Werten" 1983
  
- "Beurteilung von Abwässern durch die OECD" 1986  
(ENV/WAT/86.1)  
Für eine genaue Abwasserüberprüfung mittels ökotoxikologischer Verfahren empfiehlt die OECD einen Stufenbau der Testanordnung zur Ausschaltung von Unsicherheitsfaktoren (Tiered Sequence). Dabei erfolgt mit Steigerung der Testorganismengruppen und Ausrichtung auf die firmenproduktionsbedingte Änderung der Abwasserzusammensetzung eine Minderung der Unsicherheitsfaktoren.
- "Gewässertoxikologischer Klassifizierungsmaßstab für Abwässer und Vorfluter" 1987 (Nordrhein-Westfalen)
  
- "Wasserrechtsgesetz 1959 in der Novelle 1990,  
33 b) Emissionsbegrenzung  
mit Verordnungen zu:
  - \* Allg. Begrenzung von Abwasseremissionen
  - \* Erzeugung von gebleichtem Zellstoff
  - \* Gerbereien, Lederfabriken und Pelzzurichtereien
  - \* Papier und Pappe
  - \* Textilveredelung
  - \* Graphische und photographische Prozesse
  - \* Behandlung von metallischen Oberflächen
  - \* Sickerwässer aus Abfalldeponien

Abwasserkontrolle: Regelmäßige Eigen- und Fremdüberwachung  
Ökotoxikologischer Kennwert  
Fischtoxizität:  $G_F$  - Wert  
Emissionsbegrenzung  $G_F < 2$  bzw. in speziellen Fällen  $G_F < 4$   
Weiterführende ökotoxikologische Untersuchung, ohne  
gesetzliche Anforderungen mit

- Daphnien:  $G_D$  - Wert
- Algen:  $G_A$  - Wert
- Bakterien:  $G_B$  - Wert

- Das deutsche "(Bundes)gesetz über Abgaben für das Einleiten von Abwasser in Gewässer (Abwasserabgabengesetz)" regelt neben den Parametern CSB, AOX und ausgewählten Schwermetallen auch mittels  $G_F$ -Werte (Fischttest) die jeweilige Höhe der Abwasserabgabe.

## 5.2. Potentielle Emissionen (Produkte der chemischen Industrie)

An Substanzbewertungen erfolgten bisher

- "Sicherheitskonzentration nach TURNBULL" 1954
- "Bewertung des Aquatic Live Advisory Committee" 1955
- "Toxizitätsgrenze nach DAUGHERTY" 1951,1960 (in LIEBMANN)
- "Einschätzung eines Wasserschadstoffes" 1975-1982
- "Bewertung wassergefährdender Stoffe" 1979, UBA Berlin
- "Katalog wassergefährdender Stoffe" 1985, UBA Berlin
- "Einschätzung einer Substanz als toxisch gegenüber aquatischen Organismen" 1988, CEFIC
- "OECD - Guidelines For Testing Of Chemicals"  
Effects on biotic systems  
Algentests, Daphnientests akut und chronisch, Fischttests akut und chronisch, Test mit höheren Pflanzen, Tests mit Belebtschlamm, Tests mit Vögeln und Regenwürmern
- "Wasserrechtsgesetz 1959 in der Novelle 1990"  
§ 31 a) Lagerung, Leitung und Umschlag wassergefährdender Stoffe  
Verordnungen sind in Vorbereitung  
\* Derzeit Beurteilung gemäß "Bewertungsmuster zur Stoffeinstufung in Wassergefährdungsklassen (§ 19 WHG - Deutschland)"

Obligatorische Vorprüfung: Fisch-,  
Bakterien,-  
Säugetiertoxizität

Obligatorische Nachprüfung: Toxizitätsvergleich,  
Biologische Abbaubarkeit

Fakultative Nachprüfung: Daphnien-,  
Algentoxizität,  
Bioakkumulierbarkeit,  
Kanzerogenität,  
Mutagenität,  
Teratogenität,  
Abiotische Abbaubarkeit,  
Bodenmobilität,  
Sonstiges.

- "Chemikaliengesetz 1987"

\* Anmeldungs- und Prüfungsnachweiseverordnung  
§ 4 Grundprüfung - akute Fischtoxizität  
- akute Daphnientoxizität

§ 5 Zusätzliche Prüfnachweise  
- längerfristige Fischtoxizität  
- längerfristige Daphnientoxizität  
- chronische Algentoxizität  
- Wirkung auf höhere Pflanzen

- "Pflanzenschutzmittelgesetz"

- "Umweltzeichen" (in Diskussion)

- "BLAKQZ - Konzeptvorschläge für 20 Qualitätsziele in Oberflächengewässern" 1989 - 1992 (UTEK Berlin 1992)

Datengrundlage Schutzgut aquatische Lebensgemeinschaften

Chronische Testverfahren mit - Algen  
- Daphnien  
- Fischen  
- Bakterien

Ableitung Qualitätsziele aufgrund des niedrigsten Testergebnisses ohne erkennbare Wirkung für die empfindlichste Art (NOEC); Abminderungsfaktoren bei Fehlen von Daten bzw. weitere Testergebnisse, die auf ein Gefährdungspotential rückschließen lassen.

### 5.3. Aktuelle Immissionen (Vorfluter)

Die Bewertung von Immissionen mittels biologischer Labortestverfahren erfolgte erst relativ spät.

- "Die Verwendung von Selenastrum capricornutum - Reinkulturen für Toxizitätsstudien" (CHIAUDANI, VIGHI 1978)
- "Vorläufige Richtlinie für die Begrenzung von Immissionen in Fließgewässern" (BM f. Land- und Forstwirtschaft, 1987)
- "Gewässertoxikologischer Klassifizierungsmaßstab für Abwässer und Vorfluter" (Nordrhein-Westfalen, 1987)
- "Beurteilung der toxischen Belastung von Oberflächengewässern" (KOLLER-KREIMEL, RODINGER 1987, RODINGER 1989)  
Entsprechend der Hemmung der Organismen werden
  - unbedeutende
  - mäßige
  - starke
  - sehr starke
  - totaleBeeinträchtigungen unterschieden und das Ergebnis des jeweils empfindlichsten Testorganismus für die Vorfluterbewertung herangezogen.
- "Wasserrechtsgesetz 1959 in der Novelle 1990"
  - § 33 d) Immissionsbeschränkung
  - Verordnungen in Vorbereitung:
    - \* Immissionswerte für Fließgewässer
    - Bei begründetem Verdacht oder konkretem Hinweis toxischer Einflüsse ist zu prüfen auf:
      - akute Daphnientoxizität
      - chronische Algentoxizität
      - chronische Bakterientoxizität
- "Bundesgesetz über die Erhebung des Wasserkreislaufes und der Wassergüte (Gewässerkunde) - Hydrographiegesetz 1979 in der Novelle 1990"
  - \* Wassergüteeerhebungsverordnung (Fließgewässer)
    - Fakultativ zu untersuchen auf
      - akute Daphnientoxizität
      - chronische Algentoxizität
      - akute Bakterientoxizität

#### 5.4. Immissionsüberwachung - dynamische Testverfahren

Ausgehend vom Sandoz-Unfall mit seinen katastrophalen Folgen für die Gewässerbiozönose des Rheins wurde in Deutschland das Forschungsvorhaben "Entwicklung, Erprobung und Implementation von Biotestverfahren zur Überwachung des Rheins" in Angriff genommen. Ziele dabei waren:

- Einrichtung biologischer Frühwarnsysteme
- Entwicklung biologischer Testautomaten für ein biologisches Effektmonitoring
- Errichtung automatischer, selbstüberwachender Durchflußanlagen für Biotests.

Nach trophischen Niveaus geordnet sind nachstehend die Erkenntnisse aus dem Forschungsvorhaben aufgelistet und auch die Meßkriterien werden kurz angegeben (Biotest-Status Seminar, Berlin 1992)

##### 5.4.1. Destruenten

"Bioreaktoren zur kontinuierlichen Gewässerüberwachung":

Messung zur Sauerstoffzehrung einer gewässerspezifischen Bakterienmischkultur in einem Bioreaktor.

"Bakterientests"

Pseudomonas-Sauerstoffverbrauchshemmtest (PST)

Belebtschlamm-Nitrifikationshemmtest (BNT)

"Bakterientoximeter mit separater Zucht"

Atmungsaktivitätsmessung von kontinuierlich im Turbidostaten bzw. Chemostaten angezüchteten Pseudomonas-Kulturen.

"Bakterienelektroden mit Synechococcus und Escherichia coli"

Elektronenfluß der Bakterien und Cyanobakterien

"Mikrobielle Sensoren zur Bestimmung des BSB"

Mikrobiologische Sensoren, die eine Kombination von immobilisierten Mikroorganismen mit einer amperometrischen Gelöstsauerstoffelektrode darstellen.

#### 5.4.2. Produzenten

"Verzögerte Fluoreszenz"

Algentest

"Kombinierte Messung von Sauerstoff- und Fluoreszenzsignalen"  
Schnellindikation algentoxischer Substanzen via Photosyntheseapparat.

"Lichtabhängige Sauerstoffproduktion im Protoplastentest"  
Zellwandlose Pflanzenzellen (Protoplasten), Sauerstoffelektrodenmessung.

"Automatisiertes Algentoximeter"

Messung der in vivo-Chlorophyll - Fluoreszenz

#### 5.4.3. Konsumenten

"Kiemendeckelbewegung mit dem WRC - Fischmonitor"

Schlagfrequenz der Kiemendeckel von Regenbogenforellen.

"Verhaltensfischtest"

Quantitative Verhaltensmessungen mit einem bildverarbeitenden Videosystem

"Dynamischer Daphnientest"

Verlangsamung der Schwimmbewegung, gemessen via Lichtschranken.

"Bewegung der Schalen der Muschel Dreissena polymorpha"

Änderung der Frequenz der Schalenbewegung

#### 6. DANKSAGUNG

Aus Zeitgründen konnte das Referat "Ökotoxikologische Wirkung von Stoffen" durch den Vortragenden nicht mehr rechtzeitig in eine literaturgerechte Form gebracht werden. Diese redaktionellen Arbeiten wurden von Frau Dr.K.Deutsch-v.d.Emde in sehr qualifizierter und ambitionierter Weise durchgeführt. Seitens des Autors wird ihr daher besonderer Dank ausgesprochen.

7. LITERATUR

- CHIAUDANI G., VIGHI M. (1978): The use of Selenastrum capricornutum batch cultures for toxicity studies.  
Mitt.Int.Ver.Limnol. 21, 316-329.
- FINNEY D.J. (1971): Probitanalyses. Cambridge Press.
- KOLLER-KREIMEL V., RODINGER W. (1987): Aquatische Toxizität - ein wichtiges Kriterium zur Beurteilung von Substanzen und Abwässern (Emissionen) sowie zur Feststellung der toxischen Beeinträchtigung von Oberflächengewässern (Immissionen).  
Wasser und Abwasser 31, 413-432.
- LIEBMANN H. (1960): Handbuch der Frischwasser- und Abwasserbiologie. Vlg.Oldenbourg.
- NUSCH E.A. (1986): Möglichkeiten und Grenzen der Aussagekraft ökotoxikologischer Tests. Vom Wasser 67, 213-220.
- RODINGER W. (1989): Bewertung der Ergebnisse ökotoxikologischer Untersuchungen von Emissionen und Immissionen. Wasser und Abwasser 33, 235-271.
- SPEARMAN, KÄRBER: in L.SACHS: Angewandte Statistik, 6.Aufl.1983
- TOMPSON W.A. (1947): Use of moving averages and interpolation to estimate median effective dose. Bact.Rev. 11, 115-146.

Anschrift des Verfassers:

Dr. Wolfgang RODINGER

Bundesanstalt für Wassergüte  
1223 Wien, Schiffmühlenstr. 120