

Ökotoxikologische Charakterisierung von Abfall – Literaturstudie



Herausgegeben von der
Landesanstalt für Umweltschutz
Baden-Württemberg
1. Auflage

Karlsruhe 2004

Impressum

Herausgeber	Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg 76157 Karlsruhe · Postfach 210752 http://www.lfu.bwl.de
ISSN	0949-0477 (Bd. 3, 2004)
Bearbeitung und Redaktion	Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg Abteilung 2 Ökologie, Boden- und Naturschutz Referat 23 Biologische Umweltbeobachtung Dr. K. Deventer, Dr. J. Zipperle R. Kostka-Rick: Ökotoxikologische Charakterisierung von Abfällen - Literaturstudie im Auftrag der Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg
Druck	hausinterne Herstellung Umschlag Grube & Speck, 76187 Karlsruhe
Umschlaggestaltung	Stephan May Grafik Design, 76227 Karlsruhe Jutta Ruloff Diplom-Designerin, 76275 Ettlingen
Umwelthinweis	gedruckt auf Recyclingpapier aus 100% Altpapier
Bezug über	Verlagsauslieferung der LfU bei der JVA Mannheim, Herzogenriedstr. 111, 68169 Mannheim, Telefax (0621) 39 82 22

Nachdruck – auch auszugsweise – nur mit Zustimmung des Herausgebers unter Quellenangabe und Überlassung von Belegexemplaren gestattet.

Karlsruhe, Juni 2004

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung	5
2	Einführung und Aufgabenstellung	7
2.1	Einführung	7
2.2	Definitionen, Entwicklungen im europäischen und nationalen Rahmen	8
2.2.1	Ökotoxikologische Charakterisierung von Abfällen im europäischen Rahmen	8
2.2.2	Zur Definition "ökotoxisch"	9
2.2.3	Ökotoxikologische Charakterisierung von Abfällen auf nationaler Ebene (Deutschland)	11
2.3	Aufgabenstellung	12
3	Biotests für feste Abfälle	14
3.1	Einführung	14
3.2	Anwendung von Biotests für kontaminierte Böden, Sedimente etc. auf feste Abfälle	14
3.2.1	Test mit Bodentieren	14
3.2.2	Pflanzentests	15
3.2.3	Weitere Testverfahren, Testbatterien	15
4	Biotests für flüssige Proben aus festen Abfällen (Eluate, Sickerwasser)	18
4.1	Gewinnung von Eluaten und Sickerwässern	18
4.2	Anwendung von Biotests für aquatische Organismen auf Abfalleluate und -sickerwässer	21
4.2.1	Fischtests	22
4.2.2	Amphibientests	22
4.2.3	Wurmtests (Regenwürmer, Enchytraen)	22
4.2.4	Biotests mit Springschwänzen (Colembollen)	22
4.2.5	Biotests mit Kleinkrebsen (Crustaceen)	22
4.2.6	Biotests mit Algen	23
4.2.7	Biotests mit Wasserpflanzen	23
4.2.8	Biotests mit terrestrischen Pflanzen	23
4.2.9	Biotests mit Bakterien	24
4.3	Behandlung von Eluaten vor dem Einsatz in Biotests	25
5	Vergleich von Testergebnissen mit festen Abfallproben und Eluaten	28

6	Auswahl geeigneter Testverfahren und Biotestbatterien zur ökotoxikologischen Bewertung von Abfällen	29
6.1	Auswahl geeigneter Testverfahren	29
6.2	Empfindlichkeit verschiedener Testsysteme	29
6.3	Endpunkte, Reproduzierbarkeit, Variabilität, Datenqualität.....	32
6.3.1	Toxikologische Kenngrößen für Endpunkte	32
6.3.2	Reproduzierbarkeit, Variabilität, Datenqualität.....	32
6.4	Microbiotests	33
6.5	Testbatterien	34
7	Zusammenhang zwischen chemischen Parametern und (Öko-)Toxizität	37
8	Auswertung von Biotestverfahren	39
8.1	Auswerte-Methoden	39
8.2	Auswertung, zusammenfassende Darstellung und Optimierung von Biotestbatterien	39
8.3	Bewertungsverfahren (allgemein)	41
8.4	Bewertungsverfahren (spezifisch: Altlasten, Abfälle	41
8.4.1	Bewertungs-Szenarien	41
8.4.2	Bewertungsmasstäbe und –schwellen	42
9	Glossar	46
10	Literatur	47
Anhang	61

1 Zusammenfassung

Biotestverfahren mit aquatischen und terrestrischen Organismen können zur ökotoxikologischen Charakterisierung von festen Abfällen eingesetzt werden. Als Ergänzung einer Bewertung aufgrund chemisch-analytischer Daten bieten Biotests wesentliche Informationsvorteile, z.B. was die Vollständigkeit der Erfassung (wirkungsrelevanter) Komponenten, der biologischen Verfügbarkeit und der Wechselwirkungen betrifft. In der hier vorliegenden Literaturlauswertung wurde der aktuelle Stand von Forschung und Entwicklung auf dem Gebiet der ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen vor dem Hintergrund der Vollzugstauglichkeit insbesondere im Zuge der europäischen Normenentwicklung untersucht.

Rund 90 Veröffentlichungen über den Einsatz von meist standardisierten und validierten Biotestsystemen zur Bewertung fester Abfälle wurden ausgewertet. Aus weiteren rund 70 Publikationen wurden Informationen zum Einsatz vor allem terrestrischer Biotests gegenüber festen Proben, zu aktuellen methodischen Entwicklungen von Biotests sowie zu Auswertungs- und Bewertungsverfahren zusammengetragen.

Während eine direkte, am festen Abfall-Material orientierte ökotoxikologische Charakterisierung mit — in der Regel terrestrischen — Biotests erst in wenigen Fällen durchgeführt wurde, ist der Einsatz aquatischer Biotestverfahren zur

Bewertung von Abfalleluaten oder Deponiesickerwässern weit verbreitet. Die Gewinnung von Abfalleluaten ist dabei — angesichts einer großen Methodenvielfalt — ein kritischer Schritt, dessen einheitliche Handhabung eine wesentliche Voraussetzung für eine konsistente ökotoxikologische Bewertung von Abfällen sowohl auf der Basis chemisch-analytischer wie auch biologischer Methoden ist.

Neben einem deutlichen Schwergewicht aquatischer im Vergleich zu terrestrischen Biotestverfahren wurden erhebliche Unterschiede in der Handhabung z.B. von Abfalleluaten beim Einsatz in Biotests gefunden. Hierin, wie auch bei der Optimierung und Festlegung von geeigneten, d.h. ökotoxikologisch aussagekräftigen und auch unter ökonomischen Gesichtspunkten vertretbaren Testbatterien, ist noch Klärungsbedarf vor einer Normensetzung erkennbar.

Zahlreiche aktuelle Entwicklungen, einerseits auf dem Gebiet terrestrischer Biotestverfahren, die vorrangig dem Bereich belasteter Böden und Sedimente entstammen, sowie bei der Miniaturisierung und Rationalisierung verschiedener Standardtestsysteme unter Einhaltung der Validierungskriterien versprechen für viele bewertungsrelevante Verfahren eine rationelle Anwendung im Routinebetrieb.

2 Einführung und Aufgabenstellung

2.1 Einführung

Die EU-Direktive 91/689/EEC nennt zur Charakterisierung gefährlicher Abfälle 14 Kriterien, wobei für die Festlegung des Kriteriums H14 "ökotoxisch" keine auf das Substrat Abfall adaptierten Messverfahren bzw. entsprechende Vorgaben existieren. Demgegenüber ist abzusehen, dass gerade dem Kriterium H14 eine herausragende Bedeutung für die Abschätzung der von bestimmten Abfallarten ausgehenden Umweltgefährdung zukommen wird.

Chemische Analytik allein kann nicht alle (wirkungsrelevanten) Schadstoffe in einem komplexen Gemisch, wie Abfällen es sind, ermitteln. Allein auf dieser Grundlage ist es nicht möglich, Wechselwirkungen oder Umweltrisiken ausreichend abzuschätzen. Die Gefahr der Fehlbeurteilung von Abfällen aufgrund von Einzelstoff-Analysen im Vergleich zur in Biotests ermittelten Toxizität wird von Brassler et al. (1995) beschrieben.

Ein ähnliches Dilemma sehen auch O'Connor und Paul (2000) bei der Beurteilung von marinen Sedimenten (u. a. Baggerschlämmen) aufgrund der zwangsläufig unvollständigen chemischen Analytik und einer folglich fehlerhaften Ableitung eines toxischen Potenzials allein auf der Basis von Sediment-Qualitätsrichtlinie (SQGs). Unsicherheiten bei der Definition von "Toxizität" sind allerdings auch auf der Basis von Biotest-Verfahren gegeben, die in der Wahl von Testspezies, der betrachteten Wirkungsparameter (toxikologischen Endpunkte) und der Expositionsbedingungen begründet sind.

Insbesondere bei der ökotoxikologischen Beurteilung von komplexen chemischen Gemischen unbekannter Zusammensetzung, wie sie bei Altlasten und kontaminierten Altstandorten vorliegen, sind vom Einsatz biologischer Verfahren zur Abschätzung des ökotoxischen Potenzials wesentliche Informationsvorteile gegenüber chemisch-analytischen Methoden zu erwarten

(Parkhurst et al. 1991). Mit gewissen Einschränkungen hat diese Einschätzung auch für die Beurteilung von (festen) Industrie- und Gewerbeabfällen Gültigkeit.

Gegenüber der rein chemisch-analytischen Erfassung der Schadstoffe liegt ein wesentlicher Informationsgewinn ökotoxikologischer Testverfahren

- in der integrierten Erfassung der verschiedenen chemischen Stoffe und ihren verschiedenen Bindungsformen, soweit sie für die Bioverfügbarkeit relevant sind,
- in der Erfassung möglicher Wechselwirkungen der Bestandteile des komplexen Stoffgemisches,
- in der Fähigkeit von Schadstoffen, erst im Stoffwechsel von Organismen eine biologisch wirksame Form anzunehmen und somit erst im lebenden Organismus ihr toxisches Potenzial zu entfalten (Bekaert et al. 2002).

Der kombinierte Einsatz von chemisch-analytischen Verfahren und ökotoxikologischen Testverfahren ist vor allem aus wirtschaftlichen Gründen zu strukturieren, um bei maximaler Ausschöpfung umweltrelevanter Informationen ein optimales Kosten-Nutzen-Verhältnis zu erreichen. Die Kosten ökotoxikologischer Test liegen dabei meist in derselben Größenordnung wie die von chemischen Analysen (Becker van Slooten et al. 1999).

Realistische Einschätzungen des Emissionsverhaltens von organisch belasteten Abfällen wie Hausmüll (Restmüll) in Deponien sind nur durch biologische Testverfahren möglich. Die Einschätzung der Sickerwasserqualität erfolgt im Wesentlichen durch toxikologische Testverfahren, die als Ergänzung der chemischen Analytik vom stofflichen Nachweis von Einzelsubstanzen unabhängig sind. Anforderungen an Sorgfalt und Erfahrung bei der Testdurchführung (trotz "einfacher", standardisierter Verfahren) erschweren allerdings ihren Einsatz als Routineprüfverfahren (Brinkmann 1996). Indirekte Größen (z.B. Atmungsaktivität) erlauben ebenfalls eine Ein-

schätzung des Deponieverhaltens; die hier einsetzbaren Verfahren (z.B. Gärttest) sind jedoch nicht genormt (Brinkmann 1996).

Grundsätzlich zu unterscheiden sind Studien, die gezielt zur Abschätzung des ökotoxischen Potenzials von (festen) Abfällen vor einer weiteren Behandlung bzw. ihrer Deponierung durchgeführt werden von solchen, welche die aktuellen Emissionen (meist als Sickerwasser, z. T. auch als Schachtwasser etc.) aus bereits deponierten Abfällen (Deponien unterschiedlichen Alters) auf ihr ökotoxisches Potenzial hin untersuchen. Ferrari (2000) unterscheidet diese Untersuchungstypen sinnfällig in "prediktive" und "retrospektive" Untersuchungen. Vor dem Hintergrund der hier gegebenen Aufgabenstellung stehen prediktive Studien im Vordergrund.

2.2 Definitionen, Entwicklungen im europäischen und nationalen Rahmen

2.2.1 Ökotoxikologische Charakterisierung von Abfällen im europäischen Rahmen

Zur Charakterisierung von Abfällen entwickelte, verbindliche Prüfverfahren existieren z. Z. nicht. Zur Abfallcharakterisierung sind in der Richtlinie 91/689/EWG (12.12.1991) über gefährliche Abfälle 14 Kriterien definiert, wobei für einige dieser Kriterien (z.B. chemisch/physikalische Eigenschaften) die ursprünglich für die Prüfung von Chemikalien entwickelten Verfahren auch für die Abfallcharakterisierung anwendbar sind. Die Abfalleigenschaft "ökotoxisch" hat dagegen keinen Bezug zu spezifischen Testverfahren der Stoffprüfung (Riepert, pers. Mitteilung 2002).

Der Arbeitsbereich des Technischen Komitees der Europäischen Normkommission (CEN/TC) 292 "Waste Characterization" umfasst die Normung von Verfahren zur Bestimmung von Abfalleigenschaften und -verhalten, insbesondere Auslaugverhalten und Normung der Terminologie (ohne: radioaktive Abfälle, Abgase, Abwasser, Tierkörper, Explosivstoffe). Neben den zunächst 6 Arbeitsgruppen (u. a. zu Probenahme,

Auslaugtests, Analytische Methoden) wurde — auf Drängen Frankreichs (das sich bereits intensiv mit der ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen beschäftigt hat) — eine weitere Arbeitsgruppe "Ökotoxikologische Eigenschaften" eingerichtet. Vor der eigentlichen ökotoxikologischen Prüfung sind Probenahme, Transport und Prüfvorbereitung in Form einer Norm zu entwickeln, während sich die eigentlichen Prüfverfahren auf bereits existierende Normen (in Verbindung mit Hinweisen auf spezifische Testbedingungen) beziehen. Es ist also zu definieren, welche Methoden für die ökotoxikologische Bewertung von Abfällen geeignet erscheinen, und zu beschreiben, wie diese existierenden Methoden auf die Abfalluntersuchung anzuwenden sind (Riepert, pers. Mitteilung 2002).

Ein Normentwurf (CEN TC 292/WG7/N45, 2002) unter dem Titel "Characterization of waste – Preparation of waste samples for ecotoxicity tests" liegt vor. Hierin werden Definitionen, Durchführung und technische Ausrüstung für Probenahme, Transport, Lagerung, Zerkleinerung und Extraktion sowie Referenz- und Verdünnungsmedien für terrestrische und aquatische Biotests angegeben. Ein Anhang listet über 20 geeignet erscheinende, international harmonisierte ökotoxikologische Prüfverfahren (terrestrische und aquatische Verfahren) mit tabellarischen Angaben zu Testprinzip und Durchführung, toxikologischen Endpunkten, Besonderheiten hinsichtlich der Testung von Abfällen und dem Harmonisierungsstatus und der Grundlagenrichtlinie(n) auf (siehe Tab A-4 und A-5 im Anhang). Dieser Anhang ist ergänzungsfähig (Riepert, pers. Mitteilung 2002).

Ein Bewertungssystem für Abfälle, das diese entsprechend ihrer ökotoxischen Eigenschaften klassifiziert, sollte unabhängig von einem Expositionsszenario sein (CEN TC292/WG7/N45, 2002). Um vergleichbare Testergebnisse zu gewährleisten, sind ökotoxikologische Testverfahren mit Abfällen nach festgelegten Vorgehensweisen einzusetzen. Dies schließt die Testbedingungen incl. der Vorbehandlung der Abfälle (Zerkleinerung, Extraktion bzw. Elution, Verdünnungsmedien für aquatische und terrestrische Tests, etc.) ein.

2.2.2 Zur Definition "ökotoxisch"

Nach der Baseler Konvention, Anhang III ("Basel Convention on the Control of Transboundary Movements of Hazardous Wastes and Their Disposal") ist das Gefährdungsmerkmal "ökotoxisch" (hier H12), definiert als:

"Substanz oder Abfall, die, wenn freigesetzt, eine sofortige oder verzögerte schädliche Auswirkung auf die Umwelt durch Bioakkumulation und/oder toxische Wirkungen auf biotische Systeme darstellt oder darstellen kann."

Es wird hervorgehoben, dass der Begriff "Gefährdung" (engl.: "hazard") eine der Substanz bzw. dem Abfall innewohnende (engl.: "intrinsic") Eigenschaft ist und begrifflich klar zu trennen ist vom Begriff des Risikos, d.h. eine Abschätzung der Wahrscheinlichkeit einer Wirkung im Falle einer Freisetzung (siehe hierzu auch Jauzein et al. 1999).

Eine Bewertungsstrategie zur Definition gefährlicher Abfälle wurde von der Technischen Arbeitsgruppe zur Basel-Konvention beim Umweltprogramm der Vereinten Nationen (UN-EP 2002) auf der 20. Sitzung (23.-24.05.2002) unter dem Titel "Development of ecotoxicological criteria for the characterization of hazardous wastes" vorgeschlagen und liegt inzwischen im Rahmen einer vorläufigen Richtlinie (interim guideline) vor.

Diese Strategie zur Bewertung des ökotoxikologischen Gefahrenpotenzials (kurz: Ökotoxizität) von Abfällen sieht 3 Entscheidungsschritte vor (Abb. 1-1):

Im Schritt 1 fällt eine Entscheidung über die Bewertung eines Abfalls als "gefährlich" oder "nicht gefährlich" anhand der Anhänge VIII und IX der Baseler Konvention. Falls keine der Listeneinträge zutrifft, ist der Abfall entsprechend Anhang III (Bewertung der Ökotoxizität H12) zu bewerten, wobei den Schritten 2 (und 3) entsprechend zu verfahren ist (In Sonderfällen kann trotz Eintrag eines Abfalls in Anhang VIII oder IX eine Bewertung nach Anhang III notwendig sein).

Im Schritt 2 wird der Abfall aufgrund seiner Inhaltsstoffe bewertet, die wiederum 8 verschiedenen (ökotoxikologischen) Gefahrenklassen (entsprechend der aquatischen Toxizität, Abbaubarkeit und Akkumulationsneigung) zuzuordnen sind. Überschreitet die aggregierte Konzentration der gefährlichen Inhaltsstoffe die Höchstgehalte (in %) für die jeweilige Gefahrenklasse, wird der Abfall als "ökotoxisch" bewertet.

Für den Schritt 3 (Ökotoxikologische Bewertung auf der Basis von Tests) besteht gegenwärtig noch Bedarf an Methodenentwicklung und –validierung, bevor ein internationaler Konsens über den Einsatz derartiger ökotoxikologischer Testmethoden für Abfälle erreicht werden kann. Empfehlungen internationaler Expertengruppen in CEN und ISO hierfür sollen abgewartet werden.

Für die Teststrategie werden Testbatterien vorgeschlagen, die terrestrische und aquatische Umweltbedingungen repräsentieren. Entsprechend der unterschiedlichen Expositionsszenarien sollen diese Tests sowohl an wässrigen Extrakten der Abfälle wie auch an den festen Abfällen selbst in direkten Tests durchgeführt werden. Wässrige Extrakte sollen hier die leicht verfügbaren Anteile toxischer Substanzen im Abfall erfassen und — anders als Leaching-Tests — nicht die Auslaugung aus Abfällen unter Umweltbedingungen simulieren.

Die vorgeschlagene Bewertungsstrategie sieht 2 Überprüfungsstufen vor:

Auf einer Screening-Ebene (screening level) wird die akute Toxizität mit Hilfe einer Testbatterie aus aquatischen und terrestrischen Biotests ermittelt. Ziel ist eine relativ rasche und preiswerte Ermittlung der Ökotoxizität des Abfalls. Falls der Abfall auf dieser Ebene Toxizität zeigt, wird er sich aller Wahrscheinlichkeit nach auf der umfassenderen Test-Ebene ebenfalls als toxisch erweisen. Derzeit sind noch keine Testverfahren oder Kriterien für die Screening-Ebene vorgeschlagen.

Auf einer umfassenderen Ebene (comprehensive test level) werden Extrakte und feste Proben

auf ihre chronische Toxizität mit Hilfe einer Batterie aus aquatischen und terrestrischen Tests geprüft. Chronische Tests sind im Allgemeinen empfindlicher als die auf der Screening-Ebene eingesetzten Kurzzeit-Tests. Absicht dieser

Testebene ist es, die Bewertung auf der Screening-Ebene zu bestätigen oder zu widerlegen. Derzeit sind noch keine Testverfahren oder Kriterien für diese Test-Ebene vorgeschlagen.

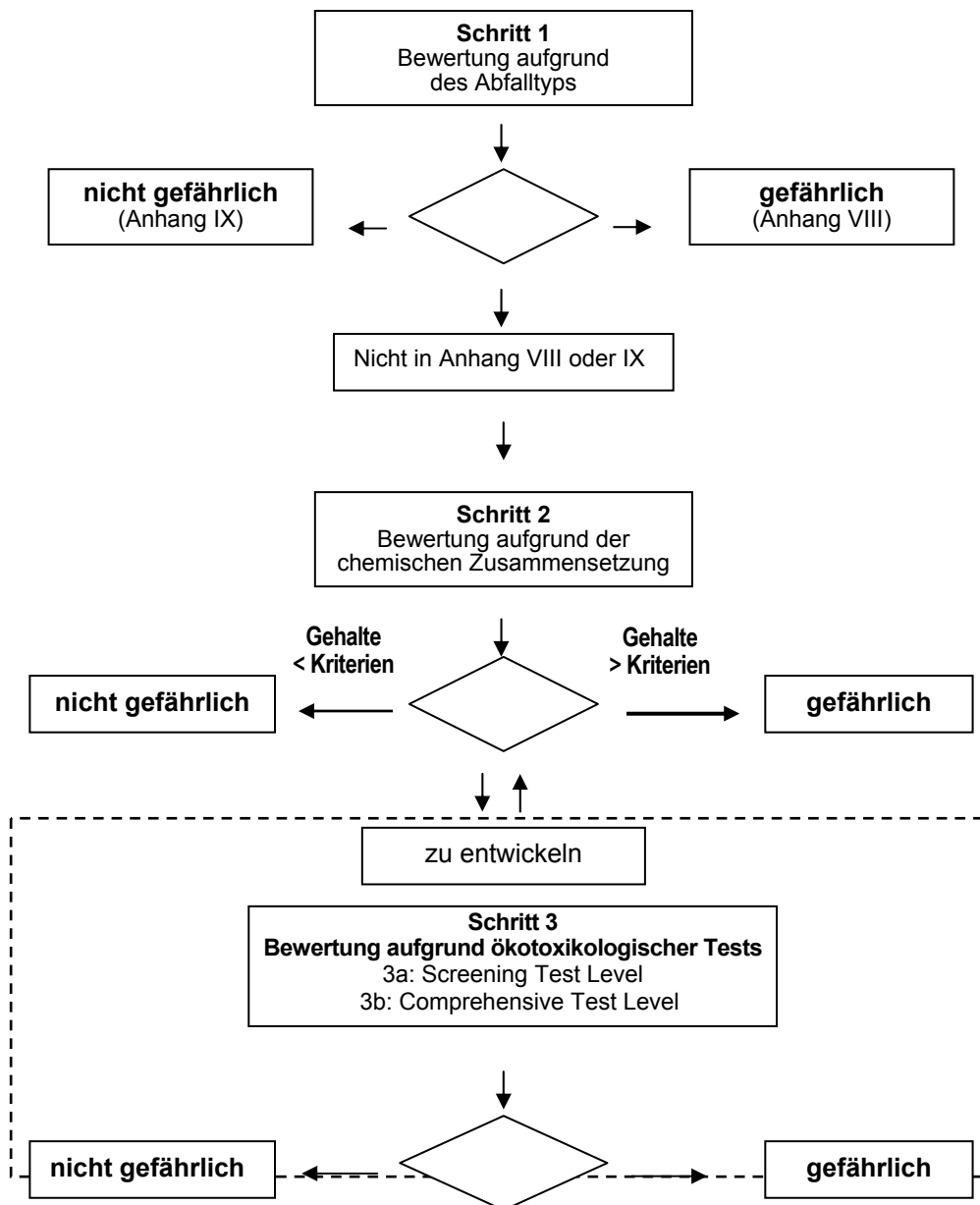


Abb. 1: Vorschlag einer Strategie zur Bewertung der Ökotoxizität von Abfällen (Quelle: UN-EP/CHW/TWG/20/8, Stand Interim Guideline Stand 04/2002).

Beispiele für international standardisierte Testprozeduren zur Bewertung der akuten und chronischen Toxizität von Abfällen sind:

aquatische Verfahren:

- *Daphnia magna*, 48h, akute Letalität (ISO 6341)

- *Daphnia magna*, 21d, Letalität und Reproduktion (ISO 10706)
- Algen, 72h, Wachstumshemmung (DIN 38412-33)

Terrestrische Verfahren:

- Höhere Pflanzen, 14d, Keimung und Wachstum (ISO 11269, 1+2)
- Regenwurm, 14d, Letalität (ISO 11268, 1-3)
- Collembolen, Letalität und Reproduktion (ISO 11267)
- Mikrobielle Prozesse z. B. Mineralisation (ISO 14238)

Weitere Methoden, die für diesen Einsatzzweck validiert sind, sollten als Kandidaten für diese Liste berücksichtigt werden.

Auf der Grundlage einer parallelen Durchführung und gemeinsamen Auswertung von 7 Biotestsystemen (3 terrestrische, 4 aquatische) an 14 Abfällen (feste Abfälle, Schlämme) wurde von dem französischen Vertreter der Arbeitsgruppe (zur Basel-Konvention beim Umweltprogramm der Vereinten Nationen (UNEP/CHW/TWG))¹ eine einfache, aus 1 terrestrischen (Keimung und Wachstum von Kopfsalat *Lactuca sativa*) und 1 aquatischen Testsystem (Reproduktion des Kleinkrebses *Ceriodaphnia dubia*) bestehende Testbatterie vorgeschlagen. Als Bewertungskriterium für die Eigenschaft H12 "ökotoxisch" wird vorgeschlagen:

"Ein Abfall wird als ökotoxisch betrachtet, wenn

- der wässrige Extrakt, mit einer Konzentration von 1 % ins Testmedium eingebracht, die Reproduktion von *Ceriodaphnia dubia* um mehr als 20 % hemmt;

¹ Quelle: Kommentar von Frankreich zu: Vorläufige Tagesordnung der Technischen Arbeitsgruppe zur Baseler Konvention beim Umweltprogramm der Vereinten Nationen (UNEP/CHW/TWG), 17. Sitzung (9.-11.10.2000) vom 20.08.2000.; Anhang 1.

- der Abfall in fester Form in einer Konzentration von 10 % in ein Testsubstrat (künstl. Standardboden) eingebracht, Auflaufen der Keimlinge und das Wachstum um mehr als 50 % hemmt."

2.2.3 Ökotoxikologische Charakterisierung von Abfällen auf nationaler Ebene (Deutschland)

Einteilung von Abfällen in Wassergefährdungsklassen (BRD)

Als gefährlicher Abfall nach EU-Richtlinie 91/689/EWG gilt ein Abfall bereits dann, wenn eine einzige gefahrenrelevante Eigenschaft vorliegt. Dies ist für die Auswahl von Abfalltypen nach Wassergefährdungsklassen (WGK) keine geeignete Grundlage. Relevante Einzelkriterien sind z.B. H5 'gesundheitsschädlich', H6 'giftig', H7 'krebserzeugend', H10 'teratogen', H11 'mutagen', H12 'Entwicklung giftiger Gase', H14 'ökotoxisch', wobei H14 abfallrechtlich bisher nicht ausgefüllt ist und eine entsprechende Definition zur Bewertung ökotoxischer Wirkungen von Abfällen derzeit erarbeitet wird.

Dabei entspricht das Kriterium H14 der EU weitgehend dem Kriterium H12 der Basel-Konvention über gefährliche Abfälle (siehe Kapitel 1.2.2). Gewässerrelevante Regelungen des H14-Kriteriums können vermutlich auch für die Einstufung von WGK übernommen werden (KBwS 2003).

Zum Diskussionsstand im Bereich 'Altlasten'

Eine 2-stufige Unterscheidung in Screening-Tests und Funktions-Tests sieht der Altlastenausschuss (ALA) der Bund/Länderarbeitsgemeinschaft Bodenschutz (LABO) in seinen "Arbeitshilfen Qualitätssicherung" — veröffentlicht im Merkblatt ALEX 11 (LABO-ALA 2000) — bei der Anwendung ökotoxikologischer Testsysteme bei der Beurteilung von Altlasten vor:

Während Screening-Tests rasch und kostengünstig eine generelle Aussage über das Vorliegen von bioverfügbaren, toxischen Verunreinigungen liefern sollen, ohne dass Aussagen über Funktionen des betrachteten Kompartiments erwartet werden, sollen Funktionstests Aussagen über die Beeinträchtigung verschiedener Bodenfunktionen (z.B. Lebensraum für Bodenorganismen und Pflanzen, Rückhaltefunktion, etc.) ermöglichen. In beiden Fällen können grundsätzlich terrestrische (und damit direkte) und aquatische Testverfahren eingesetzt werden.

In einem vergleichbaren Sinn wird bei der Stoffprüfung nach dem Chemikaliengesetz ein Limitest als Vortest eingesetzt, bei dem eine Substanz bei relativ hoher Konzentration (100 mg/L) — bei schwerlöslichen Substanzen bei maximaler Wasserlöslichkeit bzw. Suspendierbarkeit — geprüft wird. Treten bei dieser Konzentration Effekte von >25 % (Fisch-Mortalität, Daphnien-Immobilisierung; Algen-Wachstumshemmung) auf, ist ein vollständiger Test durchzuführen (BAuA 2001).

2.3 Aufgabenstellung

In dieser Literaturstudie soll der aktuelle Stand von Forschung und Entwicklung auf dem Gebiet der ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfall zusammenfassend dargestellt werden. Hierzu gehört eine Darstellung, welche biologischen Verfahren bereits in der Untersuchung von Abfalleigenschaften angewandt werden bzw. bei welchen, in anderen Bereichen bereits etablierten Biotestverfahren eine Übertragung auf das Testgut Abfall am aussichtsreichsten ist.

Die Auswertung sollte zielgerichtet vor dem Hintergrund der Vollzugstauglichkeit betrachtet werden.

Der Schwerpunkt der Auswahl betrachteter Abfallstoffe sollte auf spezifischen Abfallarten liegen, die in unterschiedlichen, vorwiegend industriellen Bereichen anfallen.

Als Auszug aus dem Europäischen Abfallkatalog dargestellt sind dies:

Code	Abfallart	Code	Abfallart
07 01	Abfälle aus Herstellung, Zubereitung, Vertrieb und Anwendung (HZVA) organischer Grundchemikalien	11 01	Abfälle aus der chemischen Oberflächenbearbeitung und Beschichtung von Metallen und anderen Werkstoffen (z.B. Galvanik, Verzinkung, Beizen, Ätzen, Phosphatieren, alkalisches Entfetten und Anodisieren)
07 01 11	Schlämme aus der betriebseigenen Abwasserbehandlung, die gefährliche Stoffe enthalten	11 01 09	Schlämme und Filterkuchen, die gefährliche Stoffe enthalten
07 01 12	Schlämme aus der betriebseigenen Abwasserbehandlung, mit Ausnahme derjenigen, die unter 07 01 11 fallen	11 01 10	Schlämme und Filterkuchen mit Ausnahme derjenigen, die unter 11 01 09 fallen
08 01	Abfälle aus HZVA und Entfernung von Farben und Lacken	12 01	Abfälle aus Prozessen der mechanischen Formgebung sowie der physikalischen und mechanischen Oberflächenbearbeitung von Metallen und Kunststoffen
08 01 13	Farb- und Lackschlämme, die organischen Lösemittel oder andere gefährliche Stoffe enthalten	12 01 14	Bearbeitungsschlämme, die gefährliche Stoffe enthalten
08 01 14	Farb- und Lackschlämme mit Ausnahme derjenigen, die unter 08 01 13 fallen	12 01 15	Bearbeitungsschlämme mit Ausnahme derjenigen, die unter 12 01 14 fallen
08 01 15	wässrige Schlämme, die Farben oder Lacke mit organischen Lösemitteln oder anderen gefährlichen Stoffen enthalten	12 01 16	Strahlmittelabfälle, die gefährliche Stoffe enthalten
08 01 16	wässrige Schlämme, die Farben oder Lacke enthalten, mit Ausnahme derjenigen, die unter 08 01 15 fallen	12 01 17	Strahlmittelabfälle mit Ausnahme derjenigen, die unter 12 01 16 fallen
08 01 19	wässrige Suspensionen, die Farben oder Lacke mit organischen Lösemitteln oder anderen gefährlichen Stoffen enthalten		
08 01 20	wässrige Suspensionen, die Farben oder Lacke enthalten, mit Ausnahme derjenigen, die unter 08 01 19 fallen		
10 01	Abfälle aus Kraftwerken und anderen Verbrennungsanlagen (außer 19)	19 01	Abfälle aus der Verbrennung oder Pyrolyse von Abfällen
10 01 14	Rost- und Kesselasche, Schlacken und Kesselstaub aus der Abfallmitverbrennung, die gefährliche Stoffe enthalten	19 01 11	Rost- und Kesselaschen sowie Schlacken, die gefährliche Stoffe enthalten
10 01 15	Rost- und Kesselasche, Schlacken und Kesselstaub aus der Abfallmitverbrennung, mit Ausnahme derjenigen, die unter 10 01 04 fallen	19 01 12	Rost- und Kesselaschen sowie Schlacken mit Ausnahme derjenigen, die unter 19 01 11 fallen
10 01 16	Filterstäube aus der Abfallmitverbrennung, die gefährliche Stoffe enthalten	19 01 13	Filterstaub, der gefährliche Stoffe enthält
10 01 17	Filterstäube aus der Abfallmitverbrennung mit Ausnahme derjenigen, die unter 10 01 16 fallen	19 01 14	Filterstaub mit Ausnahme desjenigen, der unter 19 01 13 fällt
10 01 18	Abfälle aus der Abgasbehandlung, die gefährliche Stoffe enthalten	19 01 15	Kesselstaub, der gefährliche Stoffe enthält
10 01 19	Abfälle aus der Abgasbehandlung mit Ausnahme derjenigen, die unter 10 01 05, 10 01 07 und 10 01 18 fallen	19 01 16	Kesselstaub mit Ausnahme desjenigen, der unter 19 01 15 fällt
10 10	Abfälle vom Giessen von Nichteisenmetallen	19 10	Abfälle aus dem Shreddern von metallhaltigen Abfällen
10 10 07	gefährliche Stoffe enthaltende Gießformen und -sande nach dem Giessen	19 10 03	Schredderleichtfraktion und Staub, die gefährliche Stoffe enthalten
10 10 08	Gießformen und -sande nach dem Giessen mit Ausnahme derjenigen, die unter 10 10 07 fallen	19 10 04	Schredderleichtfraktion und Staub mit Ausnahme derjenigen, die unter 19 10 03 fallen

Tab. 1 Auszug aus dem europäischen Abfallkatalog.

3 Biotests für feste Abfälle

3.1 Einführung

Der Anteil an Studien, in denen die Ökotoxizität von festen Abfällen in ihrem ursprünglichen Aggregatzustand untersucht wird, ist relativ gering.

Dies liegt zum einen daran, dass im Vordergrund der ökotoxikologischen Gefährdungsabschätzung häufig die Wassergefährdung (Grundwasser, Fließgewässer) steht, dass also in erster Linie das wässrig austragbare ökotoxische Potenzial erfasst wird. Zum anderen stehen aber nur vergleichsweise wenige Biotestverfahren zur Verfügung, die direkt auf feste Proben

angewandt werden können. Das deutliche Schwergewicht ökotoxikologischer Untersuchungsmethoden liegt auf der wässrigen Phase. So wurden in gut 30 hier ausgewerteten Studien mit Industrieabfällen ökotoxikologische Bewertungen in 27 Fällen nach Elution nur mit aquatischen Biotests (in flüssigen Medien), in 2 Fällen in fester Form und in 5 Untersuchungen Tests sowohl mit den festen Abfällen wie auch mit Eluaten o. ä. durchgeführt. Untersuchungen an Hausmüll beschränkten sich gänzlich auf Eluate und Sickerwässer und damit auf Tests in flüssigen Medien (Tab. 2-1).

Abfallherkunft	fest	flüssig (Eluate)	flüssig (Sickerwasser)	fest + flüssig (Eluate)
Industrieabfälle	2	27	14	5
Hausmüll	0	4	21	0

Tab. 2: Anzahl der hier ausgewerteten Studien über ökotoxikologische Untersuchungen an festen Abfällen, unterteilt entsprechend dem Aggregatzustand der Proben (z. T. Mehrfachnennungen).

3.2 Anwendung von Biotests für kontaminierte Böden, Sedimente etc. auf feste Abfälle

Untersuchungsmethoden, die zur ökotoxikologischen Gefährdungsabschätzung fester Abfälle - ohne den "Umweg" über die wässrige Phase in Form von Eluaten oder Sickerwässern - angewendet werden, wurden in aller Regel für die Beurteilung von (belasteten) Böden und Sedimenten entwickelt.

3.2.1 Test mit Bodentieren

Zu den Testsystemen mit Tieren zählen in erste Linie verschiedene Biotestverfahren mit Regenwürmern (meist: *Eisenia*, *Lumbricus*), die überwiegend in der ökotoxikologischen Bewertung von Böden, insbesondere an Altlastenstandorten, auch zur Ermittlung von Sanierungserfol-

gen, eingesetzt werden (Parkhurst et al. 1991; Yeardeley et al. 1996; Stephenson et al. 1997; Riepert 1998; Hund-Rinke et al. in Heiden et al. 2000 S. 59ff) und deren Anwendung in jüngerer Zeit auch feste Abfallarten einschließt (Jenner et al. 1992; Jenner 1995; Perrodin et al. 2000, 2002).

Regenwurmtest, akuter Test und Reproduktionstest (ISO 11268-1 I-2; OECD 207)

Zur Bestimmung der Bodenbeschaffenheit wird in einem Akuttest (ISO 11268-1) die Wirkung von Schadstoffen auf Regenwürmer (*Eisenia fetida*) nach einer Expositionsdauer von 14 Tagen bestimmt, wobei die Mortalität als Wirkungskriterium und die LC₅₀ als Endpunkt bestimmt wird. In einem chronischen Test (Reproduktionstest, ISO 11268-2) wird die Wirkung von Schadstoffen auf die Reproduktionsleistung von Regenwürmern während einer Expositionsdauer von 2 x 4 Wochen in einem kontrolliert belaste-

ten Standardsubstrat ermittelt. In der Praxis werden beide Tests häufig miteinander kombiniert (Hund-Rinke et al. in: Heiden et al. 2000; Hund-Rinke et al. 2002, S. 193 ff.).

Regenwurm-Vermeidungstest

Aufgrund empfindlicher Chemorezeptoren reagieren Regenwürmer auf chemische Reize in ihrer Umgebung z. T. hochsensitiv, meist deutlich empfindlicher als letale und andere subletale Wirkungen (Wentzel und Guelta 1988; Stephenson et al. 1997). Das Vermeidungsverhalten von Regenwürmern (*Lumbricus terrestris*, *Eisenia fetida*) gegenüber verunreinigten Bodensubstraten kann in einem Test in relativ kurzer Zeit (24 h, 48 h) durchgeführt werden und entspricht in seiner Aussage längerfristigen, subletalen Testprozeduren mit Regenwürmern wie z.B. dem Reproduktionstest oder Gewichtsverlust-Test (Yeardley et al. 1996). Dieser Vorteil kann ebenso für Screeningzwecke wie für den Routineeinsatz genutzt werden. Bei vergleichbarer oder höherer Empfindlichkeit erlaubt der Regenwurm-Vermeidungstest in einer vereinfachten Testmodifikation (Hund-Rinke und Wiechering 2001) eine raschere Versuchsdurchführung bei geringerem Aufwand als bei etablierten Regenwurm-Tests. Als Toxizitätskriterium wurde ein Vermeidungsverhalten bei $\leq 80\%$ der Tiere vorgeschlagen.

Im Vergleich mit verschiedenen toxikologischen Endpunkten zeigten Regenwürmer (*Eisenia fetida*), die mit verschiedenen Sprengstoffen kontaminierten Böden vor und nach Dekontamination exponiert waren, nur gegenüber TNT, nicht aber gegenüber RDX und HMX ein deutliches Vermeidungsverhalten, das damit ein empfindlicherer Wirkungsparameter war als Wachstum oder Reproduktion. Noch wesentlich empfindlichere Endpunkte, deren Erfassung jedoch einen deutlich größeren Aufwand bedingen, waren der Gehalt an postmitochondrialem Protein (=Biomarker für oxidativen Stress) oder Immunotoxizität (jeweils 21-d-Test) (Pennington et al. 1999).

Biotests mit anderen Bodentieren (z.B. Springschwänze (*Collembolen*) nach ISO 11267) wurden zur Bewertung von Abfällen bisher nur sehr

vereinzelt durchgeführt und dann in der Regel mit Eluaten, die dem Bodenmaterial zugegeben wurden (SCHRADER 1998).

3.2.2 Pflanzentests

Pflanzentests mit terrestrischen Spezies, meist gärtnerischen oder landwirtschaftlichen Nutzpflanzen, werden in der Beurteilung von Böden zur Charakterisierung der "Lebensraumfunktion des Bodens als Pflanzenstandort" angewandt (Riepert et al. in: Heiden et al. 2000, S.19ff.) und sind in verschiedenen Richtlinien festgelegt (OECD 208; ISO 11269-1 /-2; ISO 22030; ASTM 1999). Während Pflanzentests häufig, z. T. routinemäßig in der Bewertung von Böden im Bereich der Klärschlamm- und Kompostausbringung sowie zur Qualitätskontrolle von Komposten eingesetzt werden, wurden sie zur ökotoxikologischen Bewertung von festen Abfällen erst vereinzelt eingesetzt (Wong und Wong 1989; Jenner 1992; Ferrari et al. 1999; Ferrari 2000; Stephenson et al. 2002).

3.2.3 Weitere Testverfahren, Testbatterien

Nach einem Vorschlag der Technischen Arbeitsgruppe zur Basel-Konvention beim Umweltprogramm der Vereinten Nationen (UNEP/CHW/TWG) im Rahmen einer vorläufigen Richtlinie unter dem Titel "Development of ecotoxicological criteria for the characterization of hazardous wastes" können u. a. die folgenden international standardisierten Testprozeduren aus dem Bereich der terrestrischen Ökotoxikologie zur Bewertung der akuten und chronischen (Öko-)Toxizität von Abfällen eingesetzt werden:

Terrestrische Verfahren:

Höhere Pflanzen, 14d, Keimung und Wachstum (ISO 11269, 1+2)

Regenwurm, 14d, Letalität (ISO 11268, 1-3)

Collembolen, Letalität und Reproduktion (ISO 11267)

wobei weitere Methoden, die für diesen Einsatzzweck validiert sind, künftig in dieser Aufzählung zu berücksichtigen sind.

Auch nach einem, im Rahmen des Nationalen Entwicklungsplans (NDP) in Irland erstellten Papiers (NDP-Paper Tool 2002) ist neben anderen Biotestverfahren der Regenwurm-Toxizitätstest entsprechend EU-Richtlinie 87/302/EEC für die Vorgehensweise zur Identifizierung gefährlicher Bestandteile in Abfällen geeignet.

Zur ökotoxikologischen Bewertung kontaminierter Sedimente wird in den Niederlanden nach dem Bodenschutzgesetz (Wet Bodembescherming) ein 4-stufiges Vorgehen praktiziert (Brils et al. 2000), bei dem in der 2. und 3. Stufe Mückenlarven und (zu den Ringelwürmern zählende) Oligochaeten als direkte Sedimentbewohner einbezogen werden. Eine noch aktuellere Biotestbatterie, die seit 2002 routinemäßig die ökotoxikologische Sedimentbewertung ergänzen soll, enthält u. a. Microtox™ Solid Phase Biotest mit dem Leuchtbakterium *Vibrio fischeri*. Ebenso erlaubt die DSTTP (Direct Sediment Toxicity Testing Procedure) den Microtox™-Test mit *Vibrio fischeri* für eine direkte Testung von Feststoffen (Kwan und Dutka 1995; Ferrari 2000; Marsalek et al. 2000).

Eine Weiterentwicklung des traditionellen Leuchtbakterientests mit *Vibrio fischeri* ermöglicht inzwischen auch die ökotoxikologische Testung von festen oder gefärbten Proben innerhalb kürzester Zeit (BioTox™). In diesem, als 'Flash Assay' bezeichneten Test wird die Lichtemission in einem kinetischen Modus während kurzer Zeitdauer (ca. 2 bis 40 sec) gemessen. Erste Ergebnisse zeigen eine gute Übereinstimmung mit dem Standard-Leuchtbakterientest bei etwas geringerer Empfindlichkeit (Lappalainen et al. 2000; Petänen 2001).

Stämme des Bakteriums *Alcaligenes eutrophus* mit metallspezifischen lux-Genomen zeigen eine, durch verfügbares Kupfer, Zink, Cadmium oder Blei in den Proben induzierte Lumineszenz an und können außer in flüssigen Proben auch direkt auf Feststoffproben wie z.B. festen Abfällen angewandt werden (Corbisier et al. 1996; Van der Lelie et al. 2000). Die Aktivitätshemmung des Enzyms Dehydrogenase in einem spezifischen Stamm von *Bacillus cereus* weist

eine ähnliche Empfindlichkeit auf wie die Hemmung der Lumineszenz in *Vibrio fischeri*. Dieses Testsystem kann im direkten Kontakttest mit Boden (und wohl auch mit festen Abfallproben) eingesetzt werden und weist dabei eine rund 10x höhere Empfindlichkeit auf im Vergleich zu äquivalenten Eluatproben desselben Ausgangsmaterials (Rönnpapel et al. 1995).

Im Rahmen des Programms CARACAS (Concerted Action on Risk Assessment for Contaminated Sites in the European Union), gesponsert durch die Europäische Union und koordiniert durch das Umweltbundesamt (Berlin), wurden neben der Vorgehensweise für ökologisches Screening und zur Ableitung von Richtwerten von Bodenverunreinigungen auch Testverfahren diskutiert und vorgeschlagen. Der Schwerpunkt liegt auf direkten, am festen (Boden-)Material durchzuführenden Tests mit Mikroorganismen (z.B.: Atmungsaktivität; Leuchtbakterientest mit *Vibrio fischeri* für Festsubstanzen (Microtox™ Solid-Phase), Nodulation mit *Rhizobium meliloti*), Pflanzen (Phytotoxizitätstest nach OECD 208 und ISO 11269, vor allem mit raschwachsenden Nutzpflanzen und - aktuell — mit einem *Brassica rapa*-Stamm mit extrem kurzer Entwicklungs- und Generationszeit, sowie Lemna- und Algentests für Bodeneluate) und Bodentieren unterschiedlicher taxonomischer Gruppen und Kleinstlebensräume (=Expositionsbedingungen) wie Collembolen, Nematoden und Lumbriciden.

Testbatterien sollen Spezies unterschiedlicher taxonomischer Gruppen und unterschiedlicher ökologischer Funktionen (Primärproduzenten, Herbivoren, Räuber, Saprovoren, Bakteriovoren, Fungivoren) repräsentieren; außerdem aktive Bodenbeweger; Spezies, die über unterschiedliche Expositionsrouten (Ingestion, Inhalation; dermal, über Bodenlösung) exponiert sind; Spezies die während ihres Lebenszyklus Stadien deutlich unterschiedlicher Empfindlichkeit durchlaufen (Stephenson et al. 2002). Ein Spektrum von direkten Biotestverfahren, die primär für die Bewertung verunreinigter Böden und Bodensubstrate entwickelt wurden, kann auch teilweise zur ökotoxikologischen Bewertung fester Abfälle genutzt werden:

- Akuter Regenwurm-Toxizitätstest (akuter Letalitätstest, 14 d) mit *Eisenia fetida* oder *Eisenia andrei*, z. T. auch *Lumbricus terrestris*, Verwendung von Kontroll- bzw. Referenzböden als Verdünnungsmedium notwendig.
- chronischer Reproduktionstest mit Regenwürmern (21 d); (Spezies: wie oben; evtl. auch: *Aporrectodea caliginosa*) Anzahl überlebender Würmer, Anzahl Kokons; evtl. mit 2. Phase (Bebrütungsphase) und Ermittlung der Nachkommenzahl (Jungwürmer). Vor allem zur Chemikaliertestung eingesetzt.
- Enchyträen-Reproduktionstest mit *Enchytraeus albidus*; vor allem in der Chemikaliertestung eingesetzt. Höhere ökologische Aussagekraft, leichtere Kultur, rascher Durchführung und kleinere Probemengen als z.B. bei *Lumbricus terrestris*. Internationaler Ringtest (EU, UBA). Weitere Entwicklungen: subletaler Toxizitätstest mit *Cognettia sphagnetorum*.
- Regenwurm-Vermeidungstest (subletal, akut). Mit *Eisenia fetida*, *Lumbricus terrestris*, z. T. auch mit *Enchytraeus crypticus*. Kurze Durchführung (24-72 h) bei guter Vorhersagekraft bzgl. chronischem Reproduktionstest.
- Nematoden-Lebenszyklus-Test mit der bakterivoren Nematode *Caenorhabditis elegans*; homogene Testpopulationen; kurzer Lebenszyklus; *Plectus acuminatus* kann leicht in Standardboden kultiviert werden.
- Collembolen-Reproduktionstest mit *Isotoma tigrina*; *Folsomia fimetaria*; *Folsomia candida*. Endpunkte: Überlebensrate und Reproduktion; ökologisch bedeutsam.
- Oribatiden (Hornmilben). *Platynothrus peltifer*; sehr empfindlich, aber: langer Lebenszyklus, geringe Ei-Produktionsrate; daher für Routineinsatz nicht praktikabel.
- Isopoden-Test (Asseln), *Trichoniscus pusillus*; *Porcellio scaber* (Letalität; Wachstum; Fraßrate, Reproduktion): hohes Schwerme-

tall-Akkumulationsvermögen; leichte Kultivierbarkeit; aber: langer Lebenszyklus (1 Jahr). Testmethodik noch wenig ausgereift.

- Keimpflanzentests mit Höheren Pflanzen (nicht: Keimungstest !). Anzahl entwickelter Keimpflanzen (≥ 3 mm); Testdauer: meist 5-7 d. Meist weniger empfindlich als Wuchstests mit Pflanzen.
- Keimpflanzen-Wachstumstest mit höheren Pflanzen: längere Testdauer (>14 d) als Keimpflanzentest; Endpunkte: Spross- und Wurzellänge, Frisch- und Trockengewicht.
- *Brassica*-Lebenszyklus-Test: genetisch veränderte *Brassica*-Spezies mit kurzem Lebenszyklus (ca. 6 Wochen): Keimung, Wachstum, Samenentwicklung. Mit *Brassica rapa* oder *Avena sativa*.

Seitens des französischen Umweltministeriums werden direkte Ökotoxizitätstests mit höheren terrestrischen Pflanzen (nach ISO 11269-2) sowie mit Regenwürmern vorgeschlagen und in ein Bewertungsverfahren für die Umweltverträglichkeit von festen Abfällen einbezogen (in: Ferrari 2000).

Toxizitätstests zur Ermittlung der akuten Toxizität von festen Abfällen mit Säugerbiotests (Fütterungsversuche z.B. mit Ratten (Schmidt et al. 1995; Font 1998; pers. Mitteilung H. Puch, VGB)) sind eher die Ausnahme und sind sicherlich nicht als Standard-Verfahren zur Beurteilung von Abfällen einzusetzen. Derartige Untersuchungen sollten auf spezielle Fragestellungen beschränkt bleiben, z.B. wenn berechtigter Anlass zu vertiefenden Untersuchungen vor dem Hintergrund einer humantoxikologischen Bewertung von Abfällen, insbesondere im Zuge besonderer Bearbeitungs- und Fertigungsprozesse, besteht (Schmidt et al. 1995).

4 Biotests für flüssige Proben aus festen Abfällen (Eluate, Sickerwasser)

Im Gegensatz zu festen Abfallproben stehen für flüssige Proben, die durch Elution aus festen Abfällen gewonnen wurden oder die als Sickerwasser aus Abfalldeponien stammen, ein deutlich größeres Spektrum an z. T. verbreitet eingesetzten ökotoxikologischen Testverfahren zur Verfügung. Dies schlägt sich auch in der Anzahl von Studien nieder, in denen eine ökotoxikologische Bewertung von festen Abfällen anhand von Eluaten und Sickerwässern durchgeführt wurde (Tab. 3).

4.1 Gewinnung von Eluaten und Sickerwässern

Da die Mehrzahl der (öko-)toxikologischen Testverfahren im wässrigen Medium erfolgt, ist die Gewinnung wässriger Proben aus festen Abfällen ein notwendiger und zugleich kritischer Verfahrensschritt. Die einheitliche und reproduzierbare Gewinnung von Eluaten aus festen Abfallproben ist von wesentlicher Bedeutung vor dem Hintergrund, dass mit der Probenahme und dem Probenhandling häufig größere und bedeutendere Fehler verbunden sind als mit der quantitative Bestimmung von Stoffgehalten oder Wirkungen (Ferretti und Erhardt 2002).

Eluat-Herstellung

Die Vielfalt von Elutions- und Extraktionsverfahren — meist vor unterschiedlichen Fragestellungen, zu unterschiedlichen Zwecken (Hjelmar und van der Sloot 1997) und in den verschiedenen Ländern parallel zueinander und unabhängig voneinander entwickelt — macht eine Harmonisierung dringend erforderlich (van der Sloot et al. 1997). Dies gilt umso mehr, als in den vergangenen Jahren die Vielfalt neu etablierter Elutionsverfahren weiter zugenommen hat. Dies verdeutlicht die nachfolgende Zusammenstellung (Quevauviller et al. 1996):

- Tank-Elutions-Verfahren (aktuelle Ringversuchs-Studie)
- Säulen-Elutions-Verfahren (aktuelle Ringversuchs-Studie)
- Säulen-Tests, Batch-Tests, Diffusions-Tests
- Säulen-Test, Monolith-Test (Frankreich)
- pH-abhängige Elution, kumulative Elution zur Identifizierung der bestimmenden Mechanismen
- pH-Stat-Test, Verfügbarkeits-Test, Batch-Elutions-Test, Säulen-Test, kombinierter Säulen- und Batch-Test, verschiedene regulatorische Tests
- einstufige Elutions-Tests für Industrieabfälle zur Bestimmung der Schwermetall-Beweglichkeit
- Tank-Elutions-Verfahren zur Abfallcharakterisierung vor der Deponierung
- Batch-, Diffusions- und Säulen-Tests zur Bestimmung von Verteilungs- und Massentransfer-Parametern
- Elution mit Acetatpuffer, $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ -Puffer, Königswasser (aqua regia) als Basis für Abfall-Management
- Elutions-Test zur Risikoabschätzung vor der Deponierung (Schweiz)
- 5-Schritt-Elutionsverfahren zur Risikoabschätzung (Simulation von Niederschlags-Elution)
- 2-Schritt-Elutionsverfahren (Entwurf CEN-Test) zur Entscheidung über Deponierbarkeit
- Abschätzung der Beweglichkeit von Schadstoffen in

- verunreinigten Böden (Niederlande, DIN-Test Deutschland, CEN)
- Schüttel- und Säulen-Tests; Tank-Elutions-Verfahren (destilliertes Wasser), Verfügbarkeits-Test (HNO_3 in 2-Schritt-Verfahren) für Risikoabschätzung für Deponierung
 - Säulen-Test (NMI 7300-Serie) für regulatorische Zwecke

Für eine geeignete Auswahl eines Elutionsverfahrens müssen die zugrunde liegende Fragestellung und das Untersuchungsziel klar definiert sein; die Elutionsverfahren sind diesen Erfordernissen unterzuordnen und anzupassen - nicht umgekehrt! (Quevauviller et al. 1996). Voraussetzung für die Auswahl geeigneter, ggf. spezifisch zugeschnittener Verfahren ist somit die Auswahl realistischer Szenarien. Neben den Eigenschaften des Elutionsmediums (pH, Redox-Verhältnisse, Ionenstärke, Pufferung) und der Elutionsbedingungen (Temperatur, Kontaktzeit, mechanische Bewegung) ist vor allem die Vorbehandlung wie z. B. Trocknung (vor allem bei Schlämmen), Zerkleinerung oder Siebung der festen Probenmatrix entscheidend (Hjelmar und van der Sloot 1997).

Jauzein et al. (1999) stellen die wesentlichen Verfahrensparameter von 11 gängigen Elutionsverfahren für Abfälle zusammen (siehe auch Tab. A-6 im Anhang):

Die Korngröße ist in den meisten Fällen (durch Sieben, ggf. auch durch Zerkleinerungsschritte) auf <4 mm bis <20 mm begrenzt. Der niederländische NEN 7341-Verfügbarkeits-Test (NEN 1995) erfordert allerdings sehr feines Probenmaterial (95% <125 μm), während 2 Elutionsverfahren (AFNOR X-31-211, Frankreich; TVA-Eluattest, Schweiz) von monolithischen Materialblöcken ausgehen.

Als Elutionsmittel wird überwiegend destilliertes Wasser eingesetzt, wobei in 4 Fällen keine pH-Kontrolle erfolgt, während in 4 anderen Verfahren der pH-Wert, meist mittels HNO_3 , auf Werte von pH 4, pH 5 oder pH 7 eingestellt wird. 2 Elu-

tionsverfahren aus den USA (EPA 1997) sehen den Einsatz von Essigsäure (0,5 N) bzw. von Essigsäure und Natronlauge vor, um pH-Werte von 2,88 und pH 4,93 einzustellen. Derartige essigsäuren Eluate haben sich in verschiedenen Biotests als problematisch erwiesen (Millemann und Parkhurst 1980; Jenner und Janssen-Mommen 1993; Vaajasaari et al. 2000).

Die Eluat/Feststoff-Relation (L/S-Ratio, liquid/solid) variiert zwischen 4:1 (ENA Skakttest, Schweden) und 50:1 (NEN 7341 Verfügbarkeits-Test, Niederlande) und liegt bei 4 Verfahren bei 10:1, in weiteren 3 Verfahren bei 20:1. Der Waste Research Unit Leaching Test (Großbritannien) sieht variable L/S-Relationen vor, bei der Europäischen NF EN 12457-Prozedur sind verschiedene L/S-Relationen zwischen 2:1 und 10:1 möglich. Bei mehrstufigen Elutionsverfahren (s. u.) gelten die genannten L/S-Relationen für jede einzelne Stufe.

Die Anzahl von Elutionsschritten umfasst die Bandbreite von 1 (EPA 1997), 1 bis 3 (DIN 38414 S4, Deutschland, Frankreich) bis zu 5-6 (Waste Research Unit Leaching Test, Großbritannien). In allen 9 Fällen mit (z. T. optional) mehreren Elutionsschritten wird jeder Schritt mit neuem Elutionsmittel durchgeführt, wobei im NEN 7341 Verfügbarkeits-Test der 1. Schritt mit Wasser bei pH 7, der 2. Schritt mit Wasser + HNO_3 bei pH 4 durchgeführt wird.

Bei 7 Verfahren wird die Elutionsdauer mit 23 h bis 24 h recht einheitlich gehandhabt (wobei in 3 Fällen die Summe aller 1-3 Elutionsschritte 24 h beträgt), während der schweizerische TVA-Eluattest (2 h, 4 h), der niederländische NEN 7341 Verfügbarkeits-Test (3 h) und die TCLP-Methode 1310 (8 h, EPA 1997) deutlich kürzere, der britische Waste Research Unit Leaching Test (2 d bis 9 d) sehr variable und längere Kontaktzeiten vorsehen.

Alle Elutionsverfahren schreiben eine Bewegung bzw. Durchmischung von Elutionsmedium und Probenmaterial vor, wobei die Bewegungsart und -richtung in 7 Fällen, die Bewegungsfrequenz in 4 Fällen fest vorgegeben ist. Im schweizerischen TVA-Eluattest erfolgt die Bewegung mittels durchströmendem CO_2 .

Die Abtrennung fester Bestandteile vom Eluat erfolgt in allen Fällen über Filter, meist mit Porenweite 0,45 µm oder 0,5 µm, bei der TCLP Method 1310 der US-EPA mit Porenweite 0,6-0,8 µm. Der ENA-Skakttest (Schweden) sieht vor der Filtration einen Zentrifugationsschritt vor.

Wenn wirkungsrelevante Mengen organischer Verunreinigungen in einer Feststoffprobe (z.B. Abfall) vorliegen, führt die Extraktion mit Methanol (anstelle von Wasser) zur einer mehrfach höheren Toxizität in den nachfolgend durchgeführten Biotests (Jauzein et al., 1999).

Shredder-Rückstände z.B. aus der Automobil-Entsorgung enthalten aufgrund des hohen Anteils verschiedener Kunststoffe häufig zahlreiche hochtoxische organische Verbindungen wie z.B. PCBs, PCDD/Fs sowie Kunststoff-Additive wie z.B. DEHP (Diethylhexylphthalat). Die Mehrzahl dieser Verbindungen ist kaum wasserlöslich, sie können jedoch durch die Zugabe oberflächenaktiver Substanzen (z.B. Huminsäuren, LAS = Dodecyl-Na-Sulfat) in deutlich höherem Ausmaß aus den festen Abfällen eluiert werden. Gemessen am Gesamtgehalt in der Shredderfraktion werden auch mit einer relativ stark konzentrierten LAS-Lösung (1 g/l) nur maximal 2,6 % des PCB-Gehaltes eluiert (Sakai et al. 1998).

In dem Arbeitspapier zur Europäischen Richtlinie "Characterization of waste – Preparation of waste samples for ecotoxicity tests" wird eine Elutionsmethode auf der Grundlage der Richtlinie CEN PrEN12457-2 vorgeschlagen. Hierbei wird der Abfall nach Siebung (<4 mm, ggf. zerkleinern) mit Wasser als Elutionsmittel (95 g ±5 g Trockenmasse / 1 L) bei minimalem Restluftvolumen (headspace) geschüttelt, wobei das endgültige L/S-Verhältnis von 10 L/kg ±2% während der Extraktion einzustellen ist. Die Extraktionsgefäße werden langsam geschüttelt (möglichst über Kopf), wobei sowohl das Absetzen von Feststoffen wie auch übermäßige Abrasion mit nennenswerter Partikelzerkleinerung zu vermeiden sind. Die Extraktionszeit beträgt 24 h ±0,5 h, der Temperaturbereich 15 °C bis 25 °C. Die Abtrennung fester Bestandteile vom Eluat erfolgt nach Absetzen (15 min) mittels Filtration durch 0,45 µm Membranfilter (PTFE, Nylon),

wobei ggf. auch ein Zentrifugationsschritt (2500 g, 30 min) zwischengeschaltet werden kann. Im frischen Filtrat werden Leitfähigkeit, pH und — optional — Redoxpotenzial und Temperatur bestimmt.

Perkolationsverfahren, bei denen das Elutionsmittel meist ständig eine, mit der zu eluierenden Probe gefüllte Säule durchströmt, sind nur in wenigen Fällen standardisiert (NEN 7343, Niederlande; CEN/TC292/WG6, CEN).

Mit dem pH_{stat}-Verfahren (Elution bei pH 4 und pH 11) wird im Vergleich zu Elutionsverfahren ohne pH-Korrektur vor allem aus (Schwer-)metallhaltigen Abfällen ein Vielfaches der Metallfracht eluiert. In nachfolgenden Biotests zeigen dies metallempfindliche Testsysteme (Algen-Zellvermehrungstest: *Scenedesmus subspicatus*; Leuchtbakterientest: *Vibrio fischeri*; akuter Daphnien-Test: *Daphnia magna*) deutlich an (Vogel et al. 2000).

Verschiedene Elutionsverfahren verwenden — im Sinne eines 'worst-case'-Szenarios — aggressive oder komplexierende Elutionsmedien (verschiedene Säuren, Ammoniumacetat, Citronensäure, EDTA) (Hjelmar und van der Sloot 1997). Derartige Eluate sind häufig nicht mit Biotestverfahren verträglich wie z.B. die Essigsäure-Eluate in der TCLP 1311-Prozedur nach US-EPA (Vaajasaari et al. 2000). Daher wurde in dieser Prozedur z. T. Essigsäure durch HNO₃ ersetzt, um das Eluat im *Lemna*-Blattwachstumstest einsetzen zu können (Jenner und Janssen-Mommen 1993).

Bei mehrstufigen Extraktionstests (z.B. CEN prEN 12457; DIN 38414; NEN 7343, NEN 7349) findet sich häufig das höchste Toxizitätspotenzial in der 1. Fraktion (1. Eluat) und nimmt mit weiteren Elutionsstufen ab. Lediglich im Algen-Wachstumshemmtest mit *Raphidocelis subcapitata* (vorm: *Selenastrum capricornutum*) als einem der empfindlichsten Biotestverfahren wird auch in den späteren Eluaten noch eine hohe Toxizität ermittelt. Aus Industrieabfällen konnte nach mehrfacher Elution (nach DIN 38414) auch

im 6. Elutionsschritt noch deutlich Toxizität (Daphnien- und Leuchtbakterientest) nachgewiesen werden, womit ein erhebliches "Nachlieferungspotenzial" dieser Abfälle im Verlauf einer längerfristigen Deponierung zu erwarten ist. Zur Quantifizierung dieses "Nachlieferungsvermögens" wird vorgeschlagen, den Verlauf der G-Werte (Verdünnungsstufen, die keine Toxizität mehr erzeugen) mehrerer Elutionsschritte zu inter- bzw. extrapolieren und hieraus einen Sicherheitsfaktor zu ermitteln, der die gesamte, langfristige toxische Wirkung in Relation zur Wirkung des 1. Eluates wiedergibt (Vogel et al. 2000).

Eluate aus verschiedenen Aschen und Schlacken, die bei unterschiedlichen L/S-Relationen (10:1; 20:1; 40:1) gewonnen wurden, zeigten im Lemna-Wachstumshemmtest wiederholt deutliche und unerwartete Abweichungen der Toxizität, d.h. die Toxizität der Eluate verminderte sich nicht mit steigendem L/S-Verhältnis, sondern nahm in vielen Fällen zu oder zeigte bei L/S 20:1

ein Maximum. Ebenso war bei mehrstufiger Extraktion das 1. Eluat oft weniger toxisch als das 2. Eluat. Teilweise war dieses unregelmäßige Verhalten durch die (ebenfalls unerwartet variablen) Metallgehalte in den Eluaten erklärbar (Jenner und Janssen-Mommen 1993).

Bei vergleichenden Untersuchungen verschiedener Extraktionsverfahren müssen die unterschiedlichen Extraktionsvolumina bzw. L/S-Verhältnisse (liquid/solid) berücksichtigt werden bzw. sollten die Ergebnisse (analytische bestimmte Gehalte sowie aus LC- und EC-Werte errechnete Toxic Units, s. u.) auf die Abfallmasse/Eluatvolumen (anstatt auf das Eluatvolumen) bezogen werden (Vogel et al. 2000).

Der Probemengenbedarf von Eluatproben für Biotestverfahren kann je nach Testsystem sehr unterschiedlich sein. Für den Einsatz von Microbiotests genügen meistens wenige ml, während für den chronischen Daphnien-Test mindestens mehrere Liter benötigt werden (Becker van Slooten et al. 1999)

Testsystem	Mindestprobenmenge (l)
<i>Daphnia magna</i> (akute Toxizität)	0,3
<i>Vibrio fischeri</i> (akute Toxizität)	0,02
Algen (chronische Toxizität)	0,5
<i>Daphnia magna</i> (chronische Toxizität)	6
SOS Chromotest (Gentoxizität)	0,005

Tab. 3: Mindestprobenmengen für verschiedene Biotestsysteme (Becker van Slooten et al. 1999).

Zur optimalen Wahl der Verdünnungen der Eluatproben ist in der Regel ein Vortest notwendig, in dem relativ grob das Ausmaß der Ökotoxizität der Proben ermittelt wird. In der eigentlichen Testreihe sollten mindestens 2 Inhibitionskonzentrationen zwischen 0 % und 100 % Inhibition liegen (Becker van Slooten et al. 1999).

4.2 Anwendung von Biotests für aquatische Organismen auf Abfalleluate und -sickerwässer

Die deutliche Mehrzahl der zur ökotoxikologischen Bewertung von Abfällen eingesetzten Biotestverfahren entstammt dem aquatischen Bereich (Wasser- und Abwasser-Bewertung). Entsprechend umfangreich ist das Spektrum der Testsysteme, mit denen Untersuchungen von Abfalleluaten oder Abfallsickerwasser durchgeführt wurden.

4.2.1 Fischtests

Verschiedene Arten von Süßwasserfischen werden zur Ermittlung der akuten Toxizität von Wasser- und Abwasserproben während eines 96-h-Mortalitätstests (Endpunkt: LC_{50}) eingesetzt (z.B. nach DIN 38412 T31; siehe Tabelle A-7 "Testsysteme" im Anhang). Derartige Testsysteme wurden wiederholt zur ökotoxikologischen Testung vor allem von Deponiesickerwässern, vereinzelt auch von (Sonderabfall-)Eluaten (Hamilton et al. 1993; Brackemann et al. 2000A, B), angewandt. Eine Kurzzeit-Variante des Fischtests, der ROB-Test (Residual Oxygen Bioassay), bei dem der im Wasser gelöste Restsauerstoffgehalt nach dem Tod der Fische in geschlossenen Probenbehältern (meist nach 6 bis 8 h) bestimmt wird (Cameron und Koch, 1980, Alwater et al. 1983), ist nur bedingt aussagekräftig und —mehr noch als der o. g. akute Fisch-Mortalitätstest— als ökotoxikologischer Routinetest auch aus ethischen Gründen nicht akzeptabel.

Eine subakute Testvariante, der "Embryo-Larven-Test", erfasst zusätzlich zur Mortalität auch die Schlupfrate und frühe Wachstumsstadien der Jungfische (Lenz et al. 1993; Troge et al. 1994; Kaur et al. 1996).

4.2.2 Amphibientests

Von Biotests mit Amphibien wurde bisher nur der Frosch-Embryo-Test FETAX (Frog Embryo Teratogenesis Assay Xenopus) mit der Froschspezies *Xenopus laevis* zur ökotoxikologischen Testung von Eluaten belasteter Böden und in Einzelfällen auch von Sonderabfällen angewandt (Fort 1995; Bekaert et al. 2002). Im Gegensatz zu anderen Testsystemen erfasst dieser Test schadstoffbedingte Entwicklungsstörungen und Missbildungen und wurde von der amerikanischen Umweltbehörde als Biotestverfahren validiert.

4.2.3 Wurmtests

(Regenwürmer, Enchytraen)

Über den Einsatz des Regenwurm-Akut- und Reproduktionstests (nach ISO 11268-1 und -2)

zur direkten ökotoxikologischen Beurteilung von festen Abfällen hinaus (siehe Kap. 3.2.1) wurden vereinzelt auch Sonderabfall-Eluate im Regenwurmtest (zu Standardboden LUFA 2.2) geprüft (Schrader 1998). Biotestverfahren mit *Enchytraen* (Ringelwürmern), die in der ökotoxikologischen Bodenbewertung eingesetzt werden, kamen bisher bei der Bewertung von Abfällen nicht zum Einsatz.

4.2.4 Biotests mit Springschwänzen (Collembollen)

Eine in Frankreich erarbeitete Konzeption zur Bewertung der Umweltverträglichkeit von Abfällen sieht in einem 3-stufigen Testschema in der Kategorie "Wirkung auf die Bodenfauna" in der Stufe 2 u. a. Collembolen als Testorganismen zur Abfallbewertung vor (Perrodin et al. 2000). Darüber hinaus wurden Collembolentests bisher nur in Einzelfällen, und zwar mit Eluaten von Sonderabfällen, zur ökotoxikologischen Bewertung von Abfällen eingesetzt (Schrader 1998).

4.2.5 Biotests mit Kleinkrebsen (Crustaceen)

Zu den wohl am weitesten verbreiteten Biotestverfahren mit tierischen Organismen im wässrigen Medium zählt der Daphnientest mit Kleinkrebsen (Crustaceen), meist mit der Spezies *Daphnia magna*, teilweise auch mit *Ceriodaphnia dubia*. In verschiedenen, auch internationalen Richtlinien (OECD 202; ISO 6341; DIN 38412-30) ist der akute Daphnien-Immobilisierungstest als 24-h bzw. 48-h-Kurzzeittest neben der Stoffbewertung auch zur ökotoxikologischen Testung von Eluaten und Sickerwässern von Abfällen bereits relativ häufig eingesetzt worden (Atwater et al. 1983; Kristensen 1992; Kampke-Thiel et al. 1994; Latif et al. 1995; Nimmo et al. 1995; Clement et al. 1996; Ferrari et al. 1999; Latif und Zach 2000; Becker van Slooten et al. 1999).

Auch eine chronische Testvariante, in der während einer Expositionsdauer von 21 d oder 28 d die toxische Wirkung anhand der Hemmung der Reproduktion ermittelt wird, fand wiederholt An-

wendung zur Testung von Abfalleluaten und Sickerwässern (Ferrard und Ferrari 1997; Becker van Slooten et al. 1999; Rutherford et al. 2000).

Aktuelle Weiterentwicklungen des traditionellen Daphnien-Tests, meist mit dem Ziel einer Miniaturisierung und/oder Steigerung der Empfindlichkeit, setzen z. T. andere Crustaceen-Spezies für Routine-Testverfahren ein (z.B. *Thamnocephalus platyurus*; *Streptocephalus proboscideus*), die erfolgreich auch zur Testung von Abfalleluaten und Sickerwässern angewandt wurden (Persoone et al. 1994; Latif et al. 1995; Clement et al. 1996, 1997; Kahru et al. 2000; Mala et al. 2000; Vangheluwe et al. 2000).

4.2.6 Biotests mit Algen

Unter den Biotestverfahren mit Pflanzen sind Ökotoxizitätstests mit Grünalgen, die als Produzenten eine Schlüsselrolle in aquatischen Ökosystemen spielen, weit verbreitet. Auch zur ökotoxikologischen Bewertung von Eluaten verschiedener Abfallarten sowie zur Testung von Deponiesickerwasser kamen Biotests mit Algen, entweder als Kurzzeit-Tests (2 h bis 6 h, Hemmung der Photosynthese) (Kristensen 1992; Brack et al. 1998; Wundram et al. 1996; Wundram und Bahadir 1999) oder während einer 24- bis 96-stündigen Exposition (Wachstumshemmung), zum Einsatz (Kampke-Thiel et al. 1994; Lambolez et al. 1994; Becker van Slooten et al. 1999; Latif und Zach 2000; Rutherford et al. 2000; Vaajasaari et al. 2000; Vangheluwe et al. 2000).

Aktuelle Weiterentwicklungen des Algenbiotests waren in jüngster Zeit erfolgreich, z. T. in Form von Mikrobiotests mit geringerem Probenvolumen und dem Potenzial zur Automatisierung und damit zum ökonomischeren Einsatz, oder Verfahren zur Erhöhung der Empfindlichkeit und Reproduzierbarkeit (Radetski et al. 1995; Becker van Slooten et al. 1999; Czerniawka-Kusza und Ebis, 2000; Kahru et al. 2000; Latif und Zach 2000; Mala et al. 2000; van den Broele et al. 2000).

4.2.7 Biotests mit Wasserpflanzen

Biotests mit Wasserpflanzen, die für die ökotoxikologische Testung von Abfalleluaten oder –sickerwässern eingesetzt wurden, beschränken sich auf Testsysteme mit der Wasserlinse (*Lemna minor*), z. T. auch mit *Lemna gibba*. (Kristensen 1992; Jannner und Janssen-Mommen 1993; Brassler et al. 1998; Becker van Slooten et al. 1999; Wundram und Bahadir 1999; Joutti et al. 2000). In erster Linie wird die Wachstumshemmung während einer 3-bis 7-tägigen Expositionsdauer, z. T. auch die Minderung des Chlorophyll-a-Gehaltes als Wirkungsparameter erfasst. Dabei erwies sich die Wasserlinse als relativ salzempfindlich,

4.2.8 Biotests mit terrestrischen Pflanzen

Terrestrische Pflanzen wurden, neben der vereinzelt Verwendung in Feststoff-Tests (siehe Kapitel 3.2.2), vor allem zur ökotoxikologischen Bewertung von Abfalleluaten und Sickerwässern eingesetzt. Dabei kommen generell unterschiedliche Endpunkte zur Ermittlung ökotoxischer Wirkungen in Betracht:

Die Hemmung der Samenkeimung durch Eluate und Sickerwässer kann in relativ kurzzeitigen Akut-Tests (24 h bis 96 h) erfasst werden. Die Entwicklung der Keimwurzel oder die Sämlingsentwicklung benötigen zwischen 7 d und 14 d, wobei für die Keimung und die Keimwurzelentwicklung kein festes Substrat notwendig ist, sodass eine Auswertung relativ einfach erfolgen kann (Edwards et al. 1980). Subakute Testverfahren, in denen die Biomasseentwicklung schnellwüchsiger Pflanzen erfasst wird, benötigen nach einer Auflaufphase von 5 d noch weitere 14 d Entwicklungsdauer. Chronische Pflanzentests, die auch die generative Entwicklungsphase speziell gezüchteter Sorten bzw. Linien mit extrem kurzem Lebenszyklus einbeziehen, können innerhalb von 6 bis 8 Wochen durchgeführt werden (OECD 208; ISO 11269-1 /-2; ISO 22030). Das einzusetzende Pflanzenspektrum ist relativ weit gefasst, um regional bedeutende

und klimatisch angepasste Kulturpflanzenarten berücksichtigen zu können.

Untersuchungen von Abfalleluaten und Sickerwässern mit terrestrischen Pflanzen wurden bereits wiederholt durchgeführt (KRISTENSEN 1992; WUNDRAM und BAHADIR 1999; JOUTTI et al. 2000; LATIF und ZACH 2000; STEPHENSON et al. 2002), wobei die Samenkeimung und Keimlingsentwicklung meist weniger empfindlich reagieren als die Biomasse während der nachfolgenden Entwicklungsphase.

Biotests mit Zellkulturen (z.B. von Tabak *Nicotiana tabacum*) wurden zur ökotoxikologischen Testung von Abfalleluaten bisher erst vereinzelt eingesetzt (WUNDRAM 1999).

4.2.9 Biotests mit Bakterien

Leuchtbakterientest

Als ein Standardtest unter den ökotoxikologischen Labortestverfahren ist der Leuchtbakterientest mit *Vibrio fischeri* (ehemals: *Photobacterium phosphoreum*) sehr weit verbreitet und wird in vielen Einsatzbereichen angewandt.

Neben Eluaten aus schadstoffbelasteten Böden sind auch Eluate von industriellen Abfällen (BULICH 1984; CALLEJA et al. 1986; KAMPKE-THIEL et al. 1994; LAMBOLEZ et al. 1994; ORTIZ et al. 1995; EHRIG und BRINKMANN 1997; BASTIAN und ALLEMAN 1998; BRASSER et al. 1998; CALLEN et al. 1998; FONT et al. 1998; SCHRADER 1998; STROTMANN et al. 1998; FERRARI et al. 1999; JAUZEIN et al. 1999; WUNDRAM und BAHADIR 1999; BRACKEMANN et al. 2000 A,B; FERRARI 2000; JOUTTI et al. 2000; VAAJASAARI et al. 2000; VOGEL et al. 2000; LAPA et al. 2002A,B) und Hausmüll (BRINKMANN et al. 1995; HEIM et al. 1996; EHRIG und BRINKMANN 1997; LATIF und ZACH 2000;) ebenso wie Sickerwässer verschiedener Deponietypen häufig mit dem Leuchtbakterientest überprüft worden (PLOTKIN und RAM 1984; HAGENDORF und BÖRNERT 1991; KRISTENSEN 1992; LENZ et al. 1993; JEAN und

FRUGET 1994; CLEMENT et al. 1996, 1997; WUNDRAM et al. 1996; RUTHERFORD et al. 2000).

In der Regel wird der Leuchtbakterientest in Form einer der kommerziell verfügbaren Testkits (z.B. Microtox™, LUMISTox) eingesetzt.

Weitere Testsysteme mit Bakterien

Bestimmte *Escherichia coli*-Stämme mit spezifischen, metallempfindlichen Genen werden in verschiedenen, kommerziell verfügbaren Schnell-Testkits eingesetzt, die z. T. qualitative oder halb-quantitative Schnellaussagen über den Gehalt (richtiger: die Verfügbarkeit) bestimmter (Schwer-) Metalle auch in Abfalleluatproben ermöglichen (BECKER VAN SLOOTEN et al. 1999; JOUTTI et al. 2000; MALA et al. 2000; MARSALEK et al. 2000).

Die Hemmung der Vermehrung von *Pseudomonas putida* (VAAJASAARI et al. 2000) oder der Atmung (biologischer Sauerstoffverbrauch) von polyvalenten (also: heterogen zusammengesetzten) Bakterienpopulationen — meist aus dem Belebtschlamm von Kläranlagen u. a. mit verschiedenen *Pseudomonas*-Arten — dienen als weitere Parameter zur Abschätzung toxischer Wirkungen in Umweltproben (Atmungshemmtest nach OFFHAUS; System 'Sapromat') (KAMPKE-THIEL et al. 1994; SCHRADER 1998; STROTMANN et al. 1998; BECKER VAN SLOOTEN et al. 1999; WUNDRAM und BAHADIR 1999).

Testsysteme zur Erfassung mutagener Aktivität beruhen zu einem großen Teil auf spezifischen Mutanten von Bakterien (*Salmonella typhimurium* (Ames-Test, umu-Test), *Escherichia coli*; "dunkle Mutante" von *Vibrio fischeri*). Testsysteme zur Erfassung genotoxischer Wirkungen werden in dieser Studie nicht näher betrachtet, da diese Eigenschaft laut EU-Direktive 91/689/EEC unter dem Kriterium H11 "mutagen" gesondert zu bewerten ist.

Testorganismen	Industrie- und Sonderabfälle		Hausmüll		Deponien	Boden und Sediment	
	fest	Eluat	fest	Eluat	Sickerwasser	fest	Eluat
Säuger	2				1		
Fische		5			10+2 ^A		
Amphibien						1	
Würmer	1	2			1	2	
Crustaceen		22		5	14	1	3
Insekten					1	1	1
Protozoen				1	4		
Bakterien: Leuchtbakterien	1	24		5	10		3
Bakterien: andere Systeme	1	12			1		
Algen		17		2	10		3
aquatische Pflanzen		6		1	6		
terrestrische Pflanzen	3	10		3	3	3	1

Tab. 4 Übersicht über die Häufigkeit des Einsatzes verschiedener Testspezies zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen, auf der Grundlage der hier ausgewerteten Literatur; ^A – Fischeitest.

4.3 Behandlung von Eluaten vor dem Einsatz in Biotests

Fest-Flüssig-Abtrennung bei Eluaten

Nach der Elution von festen Abfällen erfolgt in der Regel eine Abtrennung der festen Probenbestandteile vom Eluat mittels Zentrifugation und/oder Filtration. Erfahrungswerte zeigen, dass für die chemische Analytik eine Trübung von 10 FNU (formazine nephelometric units) und für ökotoxikologische Testverfahren von 50 FNU nicht überschritten werden sollte (Hund-Rinke et al. 2002). Eine Filtration flüssiger Proben (meist: Eluate oder Sickerwässer) wird häufig durchgeführt, zumindest beim Algenwachstumstest, da hier Interferenzen von Trübstoffen mit der optischen Endpunktbestimmung zu erwarten sind oder um über Sterilfiltration eine mikrobielle Kontamination der Algenkultur zu verhindern (z.B. Vaajasaari et al. 2000).

Die Filtration von Eluaten kann zu einer Minderung ihre Toxizität führen, wenn biologisch aktive Bestandteile an Partikeln gebunden sind, die durch die Abtrennung der Feststoffphase der biologischen Testung entzogen werden. Eluate von kontaminierten Böden erwiesen sich im Krötenlarven-Test mit *Xenopus laevis* nach Filtration um einen Faktor 2 bis 8 weniger toxisch als im ungefilterten Eluat (Bekaert et al. 2002). Diese Ergebnisse widersprechen der Empfehlung von Hund und Kördel (1996), die zur fest/flüssig-Trennung von Eluaten Zentrifugation (mit mindestens 20.000 g) oder eine Kombination aus Zentrifugation (Laborzentrifuge 650 g) und Filtration (0,7 µm) empfehlen, da durch Absetzen (Sedimentation) und Dekantieren eine hohe partikelgebundene Schadstofffracht im Eluat verbleibt, die — nach Ansicht der Autoren — nicht bioverfügbar ist. Die Autoren hatten z. T. drastische Minderungen der Gehalte verschiedener organischer Schadstoffe (Pestizide, PAHs, PCP,

PCBs) in (dotierten) Eluaten nach Zentrifugation und/oder Filtration gegenüber dekantierten Eluaten gefunden.

Trübung, intensive Eigenfärbung

Ähnliches gilt für intensiv gefärbte Eluatproben, die im Leuchtbakterientest durch Quenchen eine verminderte Lumineszenz vortäuschen und damit eine Überschätzung der Toxizität der Probe bewirken (Pfeifer et al., in: Heiden et al. 2000). Die Verwendung von Farbkorrekturküvetten z.B. beim MicrotoxTM- und MutatoxTM-Test ist in solchen Fällen nur bedingt erfolgreich, da die Ergebnisstreuung hierdurch meist deutlich erhöht wird (Schrader 1998).

Im Algentest bereiten Proben mit intensiver Eigenfärbung besondere Probleme, da

1. aufgrund des eingeschränkten Lichtangebotes (Absorption von biologisch relevanten Wellenlängen) das Algenwachstum vermindert sein kann;
2. mit zunehmender Farbtintensität in den verschiedenen Prüfkonzentrationen die Auswertung der Zellvermehrung mittels mikroskopischer oder spektrophotometrischer Methoden erschwert ist.

Für die Beurteilung der Algentoxizität von Farbstoffen bzw. von Abfalleluaten mit starker Eigenfärbung ist daher zwischen der algiziden Wirkung aufgrund algentoxischer Bestandteile, und der Beeinflussung des Algenwachstums durch Absorption der photosynthetisch wichtigen Wellenlängen durch den Farbstoff zu unterscheiden. Ein modifiziertes Vorgehen beim Algentest, im Auftrag der Vereinigung der europäischen Farbstoffhersteller (ETAD) entwickelt, sieht vor, in 2 Testansätzen parallel zueinander einerseits die stofflichen Einflüsse der intensiv gefärbten Probe zu erfassen (=Toxizität), andererseits die durch Lichtreduktion bedingte reine Wachstumshemmung zu bestimmen, indem eine zweite (analog verdünnte) Farbstoffprobe zwischen Lichtquelle und einen weiteren Ansatz des Testmedium gebracht wird (BAuA 2001).

Hohe Gehalte an DOC (CSB) können zur unspezifischen Hemmung der Lumineszenz im Leuchtbakterientest führen, die nicht auf Schadstoffeinflüsse, sondern auf leicht verwertbare C-Quellen zurückzuführen ist. Im Algentest kann eine Stimulation des Algenwachstums durch leicht verfügbare Nährstoffe aus dem Eluat eintreten, durch Schadstoffe bedingten Hemmungseffekt überlagern (Pfeifer et al., in: Heiden et al. 2000). Die zuletzt genannten Effekte sind jedoch für Bodenproben und deren Eluate in der Regel von größerer Bedeutung als für Abfallproben.

pH-Wert-Einstellung

Eluate aus festen Abfällen können neben erheblichen Trübungen und/oder Färbungen häufig auch extreme pH-Werte erreichen (z.B. pH 1,6; pH 12,2) (Schrader 1998). Derartige Eluate können bei der Durchführung von Biotests Probleme bereiten, da sie allein aufgrund der pH-Extremwerte sehr ungünstige Umgebungsbedingungen für die Testorganismen darstellen können.

Generell sollen die Biotests nach Möglichkeit ohne Korrektur des pH-Wertes durchgeführt werden, um die ihnen innewohnende Toxizität real wiederzugeben.

Eluate mit extremen pH-Werten können jedoch eine Neutralisierung bzw. Korrektur des pH-Wertes notwendig machen, sofern die Proben nicht aufgrund ihrer Toxizität ohnehin sehr stark verdünnt werden müssen. In Abhängigkeit vom Verdünnungsbereich und der Pufferkapazität des (testspezifischen) Testmediums oder der Testprobe können die pH-Werte der verschiedenen Testmischungen voneinander abweichen. Bei starken Abweichungen der pH-Werte zwischen den verschiedenen Verdünnungsstufen ist der Test nach pH-Korrektur zu wiederholen. In jedem Fall ist der pH-Wert aller Testmischungen zu Beginn und nach dem Ende der Tests zu messen und zu protokollieren.

Nach Becker van Slooten et al. (1999) wird, falls der pH des Eluats außerhalb des für die Testorganismen akzeptablen Bereichs liegt (meist

pH 6 bis pH 9), empfohlen, den Test doppelt durchzuführen:

- zunächst ohne Angleichung des pH-Wertes
- beim 2. Mal gleicht man den pH-Wert dem nächstliegenden akzeptablen Wert durch Zugabe von HCl oder NaOH an.

Wie die Spalte "Probenbehandlung vor Biotest" in Tabelle A-8 im Anhang zeigt, wird in der Praxis eine pH-Korrektur, entweder auf pH 7 oder in den Toleranzbereich der jeweiligen Testorganismen (meist: pH 6,5 bis 8,5), häufig vorgenommen, ohne eine Wiederholung ohne pH-Korrektur durchzuführen.

In Einzelfällen wurden durch die Neutralisierung extrem saurer Eluate Ausfällungen schwerlöslicher Verbindungen (z.B. Fe-Oxidhydrate) beobachtet, wodurch die Verfügbarkeit von Schadstoffen im Eluat und die optische Endpunkt-Bestimmung bei einigen Testsystemen (mit *Vibrio fischeri* (Microtox™, Mutatox™ oder Algen) wesentlich beeinträchtigt werden kann (Schrader 1998).

In manchen Fällen wurde im Microtox™ –Test nach Neutralisation von Proben mit extremem pH-Wert eine höhere Toxizität ermittelt als in der ursprünglichen Probe (Schrader 1998). Lapa et al. (2002) beobachteten dagegen bei verschiedenen Eluaten aus MVA-Bodenasche (pH 8,9 - 12,5) eine Abnahme der Toxizität im Microtox™ –Test nach pH-Korrektur auf pH 7,4 - 7,7, vermutlich aufgrund verminderter Löslichkeit verschiedener Schwermetalle (Pb, Cr, Cu, Zn).

Bei der ökotoxikologischen Bewertung von Altlasten anhand von Biotests ist eine allgemein gültige Vorgehensweise bei der pH-Einstellung von Eluaten mangels einer systematischen Bearbeitung dieser Problematik (noch) nicht festgelegt. Informations- und Forschungsbedarf wird hier vor allem bei der repräsentativen Verteilung von pH-Werten in festen und in Eluat-Proben sowie bei der pH-Sensitivität der Testorganismen gesehen. (LABO-ALA 2000).

5 Vergleich von Testergebnissen mit festen Abfallproben und Eluaten

Bisher wurden nur in wenigen Fällen ökotoxikologische Charakterisierungen von Abfällen vorgenommen, bei denen parallel zu direkten (Kontakt-)Tests mit dem festen Abfall auch Eluate desselben Abfalls auf (öko-)toxische Wirkungen untersucht wurden.

Ergebnisse aus direkten (Kontakt mit dem festen Abfall) und indirekten Biotestverfahren (via Eluat) mit 2 festen Abfällen (MVA Schlacke; Schlacke aus Pb-Schmelze) präsentiert Ferrari (2000). Bei z. T. unterschiedlicher Rangfolge der Empfindlichkeit innerhalb einer Abfall(Eluat-)probe weisen die eingesetzten Biotestsysteme die Probe 2 als generell (öko-)toxischer aus als Probe 1 (Tab. 4-1). Der direkte Kontakt-Test mit dem Microtox™ SolidPhase-Test zeigt hier, beim Vergleich desselben Biotestprinzips zwischen flüssiger und fester Probe, eine sehr hohe Empfindlichkeit. Die Eluate mit höherer flüssig/fest-

Relation (L/S-Ratio) werden mit den meisten Testsystemen erwartungsgemäß als weniger toxisch bewertet. In einem Vergleichstest mit terrestrischen Pflanzen (nicht in Tabelle 4-1 dargestellt) fanden Ferrari et al. (1999) eine empfindlichere Reaktion der oberirdischen Biomasseentwicklung, wenn der Abfall in fester Form einem Referenzboden zugemischt wurde, als wenn eine äquivalente Belastung durch wässriges Eluat zum selben Referenzboden erfolgte.

Prinzipiell ähnliche Ergebnisse von parallelen ökotoxikologischen Bewertungen kontaminierter Böden (u. a. mit einem mikrobiellen Kontakttest) und deren Eluaten zeigten, dass Eluatuntersuchungen zu einer Unterschätzung des toxischen Potenzials einer Bodenprobe führen können (Rönnpögel et al., 1995; 1996).

Toxizitätsklassen (Basis: TU) nach BULICH (1982) und BISPO (1998)	Abfall 1 (MVA-Schlacke)			Abfall 2 (Schlacke aus Pb-Schmelze)		
	Eluat L/S 2:1	Eluat L/S 10:1	direkter (Kontakt-) Test	Eluat L/S 2:1	Eluat L/S 10:1	direkter (Kontakt-) Test
nicht toxisch TU = 1						
gering toxisch 1 < TU < 10		Microtox™				
mäßig toxisch 10 < TU < 30	Microtox™				Daphnie	
toxisch 30 < TU < 100		Alge; Daphnie			Alge	
stark toxisch 100 < TU < 1000	Alge; Daphnie		Microtox™ SolidPhase	Microtox™ Alge, Daphnie	Microtox™	
extrem toxisch TU < 1000						Microtox™ SolidPhase

Tab. 5: Vergleich der Empfindlichkeit unterschiedlicher Biotestsysteme bei Feststoff- und Flüssigproben (Eluate, 2 verschiedene L/S-Relationen) derselben Ausgangs-Abfälle; zugleich 6-stufige Bewertungsskala auf der Basis von Toxic Units (TU = 100/EC_x bzw. 100/LC₅₀) (FERRARI 2000).

6 Auswahl geeigneter Testverfahren und Biotestbatterien zur ökotoxikologischen Bewertung von Abfällen

6.1 Auswahl geeigneter Testverfahren

Beurteilungskriterien für die Auswahl von Testverfahren zur ökotoxikologischen Bewertung z.B. von Abfällen können sich zumindest teilweise an den Kriterien orientieren, die bei der Analytik und Bewertung von Altlasten angewandt werden (LABO-ALA 2000):

Validität genormte Biotestverfahren (DIN, ISO, OECD) können unter dem Aspekt der Reproduzierbarkeit als ausreichend validiert gelten. Da im Rahmen der Normierung die Überprüfung in der Regel in Hinblick auf die Substanzprüfung erfolgte, ist allerdings eine Validierung allein auf dieser Basis nur eingeschränkt aussagekräftig.

Relevanz Während sich dieses Kriterium im Falle der Altlastenstandort und Altlastenbeurteilung klar an den Lebensraumfunktionen des Bodens orientiert, ist dieses Kriterium für den Bereich Abfallbewertung weniger klar definiert. Ausschlaggebend ist u. a., dass die Verfahren über einen möglichst weiten Einsatzbereich (z.B. unterschiedliche Salzgehalte, pH-Werte, etc. der Abfälle) hinweg anwendbar sind.

Dauer hier stehen die Erfordernisse einer ökologisch relevanten Aussage, die zwangsläufig auch chronische Wirkungen (z.B. auf Fortpflanzung) mit einbeziehen muss, und die Forderung nach einem möglichst ökonomischen Einsatz (inkl. Zeitbedarf) mit dem Ziel einer Routinetestung als konkurrierende Anforderungen einander gegenüber.

Einsatzbereich/Expositionspfad Da das ökotoxische Potenzial einer Abfallprobe

als "innere" Eigenschaft, d.h. szenarienunabhängig ermittelt werden soll, sind grundsätzlich verschiedene Expositionspfade (direkter Kontakt, Auslaugung, etc.) zu berücksichtigen. Dementsprechend ist auch die Auswahl der Testsysteme zu treffen.

Praktikabilität unter diesem Kriterium können die Erfordernisse zur Durchführung eines Tests zusammengefasst werden: Platzbedarf, Gerätebedarf, spezielle Kenntnisse und KnowHow, Handhabbarkeit des Testorganismus, Zeitbedarf (s. o.)

Nach einigen der o. g. Kriterien wurde für die Anwendung im Bereich der Altlastenbewertung und –sanierung eine Vielzahl von terrestrischen und aquatischen Testsystemen beurteilt (LABO-ALA 2000).

6.2 Empfindlichkeit verschiedener Testsysteme

Beim Vergleich der Empfindlichkeit unterschiedlicher Biotestsysteme gegenüber Sickerwässern aus (Haus-)Mülldeponien war in der Mehrzahl der Fälle (akute Toxizität) der Microtox™-Test mit *Vibrio fischeri* sowie in allen untersuchten Fällen (chronische Toxizität) der Algen-Test empfindlicher als der Daphnien-Test (Rooker 2000).

Eine Datenzusammenstellung von 129 Proben unbehandelter Sickerwässer aus über 40 Haus- und Sondermülldeponien bestätigen auf einem insgesamt hohen Biotoxizitätsniveau die höhere Empfindlichkeit des Algen- und Leuchtbakterientests gegenüber dem Daphnien- und Fischtest, die eine sehr ähnliche mittlere Empfindlichkeit aufwiesen (Diehl und Hagendorf 1998).

In einem anderen Vergleich von 22 Sickerwasser-Proben verschiedener Abfallablagerungen erwies sich die Crustaceen-Art *Thamnocephalus*

platyurus als etwas empfindlicher im Vergleich zu *Ceriodaphnia dubia* und als deutlich empfindlicher als *Daphnia magna*. Empfindlicher als alle 3 Crustaceen-Arten war jedoch die Ciliate (Wimpertierchen) *Spirostomum ambiguum*, während die Empfindlichkeit des marinen Bakteriums *Vibrio fischeri* (LUMISTox) und der Wasserlinse *Lemna minor* etwas höher, die des Rädertierchens *Brachyonus calyciflorus* und der Mikroalge *Scenedesmus subspicatus* etwas geringer war als von *Daphnia* (Clement et al. 1997). Eine höhere Empfindlichkeit von *Ceriodaphnia dubia* im Vergleich zu *Daphnia magna* — trotz kürzerer Versuchsdauer von 7 d vs. 21 d bzw. 28 d — bestätigen auch Ferard und Ferrari (1997) und Ferrari (2000).

In einem Vergleich von 4 Algenspezies gegenüber 2 Deponie-Sickerwässern zeigte sich folgende Rangfolge der Empfindlichkeit: *Chlorella pyrenoidosa* > *Scenedesmus sp.* > *Chlorella vulgaris* > *Dunaliella tertiolecta* (Cheung et al. 1993).

Eine deutlich abweichende Rangfolge der Empfindlichkeit ergab sich — bei insgesamt geringerer (Öko-)Toxizität gegenüber anderen Industrieabfällen und insbesondere gegenüber Hausmüll — für 2 Eluate von Industrie-Sonderabfällen (mit abnehmender Empfindlichkeit):

Vibrio > *Scenedesmus* > *Lemna* > *Ceriodaphnia* > *Thamnocephalus* > *Daphnia* > *Spirostomum* > *Brachyonus* (Clement et al. 1997). Die spezifische Empfindlichkeit von 4 verschiedenen Biotestsystemen gegenüber Eluaten von verschiedenen Industrieabfällen nahm in der Reihenfolge Alge (*Selenastrum capricornutum* / *Raphidocelis subcapitata*) > *Daphnia magna* (28 d-Reproduktionstest) > Leuchtbakterium (*Photobacterium phosphoreum* (Microtox)) > *Daphnia magna* (24h-Immobilitätstest) ab (Lambolez et al. 1994).

Im Vergleich mit *Daphnia magna* (24h-Immobilitätstest) und dem Fischtest (*Oncorhynchus mykiss*; *Brachydanio rerio*) erwies sich der Algentest mit *Selenastrum capricornutum* oder *Scenedesmus subspicatus* als empfindlicher, wenn Daten zur akuten Toxizität für rund 700 neu zugelassene chemische Reinsubstanzen

verglichen wurden. Die Korrelation der LC₅₀-Daten für den Fischtest und den Daphnientest ist wesentlich enger als zwischen jedem dieser beiden Tests und dem Algentest (Weyers et al. 2000).

Beim Vergleich der Empfindlichkeit unterschiedlicher Testsysteme gegenüber verschiedenen Umweltchemikalien (Chlor- und Nitrosubstituierte Benzole, Phenole, Aniline, Pestizide, Aldehyde) erwiesen sich Organismen-Tests mit *Daphnia*, Algen und Fischen als meist deutlich empfindlicher gegenüber *In Vitro*-Tests (Enzymaktivitäts- und Cytotoxizitätstests). Die mittlere Empfindlichkeitsreihenfolge war: *Daphnia magna* > Fisch ≥ Algen > Mikroorganismen > Fischzell-Kulturen (Neutralrot-Test) > Enzym-Tests. (Wenzel et al. 1997). Die höhere Empfindlichkeit von *Daphnia* gegenüber dem Fischtest wurde auch bei Sickerwässern aus Abfällen gefunden (Rooker 2000).

Unterschiedliche toxikologische Endpunkte bei derselben Spezies können wesentliche Empfindlichkeitsunterschiede aufweisen. Bei 4 verschiedenen Regenwurmspezies (*Eisenia fetida*; *Lumbricus terrestris*; *Lumbricus rubellus*; *Aporrectodea caliginosa*) war der Reproduktionsrelevante Endpunkt (Kokon-Produktion; EC₁₀,) für Zink-Belastungen gegenüber der LC₅₀-Konzentration um einen Faktor 8 bis 19 empfindlicher; die Neutralrot-Retentionszeit als Maß der Schädigung der Zellmembran (Cytotoxizität) - mit einer ausgeprägten Spezies-Abhängigkeit - um das 5- bis 50-Fache empfindlicher (Spurgeon et al. 2000).

Bei aquatischen Organismen sind die Eier häufig widerstandsfähiger als frühe Lebensstadien wie Brut oder Larven (Parkhurst et al. 1991).

Die unterschiedliche Salzeempfindlichkeit verschiedener Testsysteme ist bei der Testung verschiedenen Abfallarten zu beachten wie z.B. bei den Algen *Pseudokirchneriella*, *Scenedesmus* oder *Chlorella* mit geringer Salztoleranz gegenüber *Chlamydomonas*-Arten mit hoher Salztoleranz (FERGUSON et al. 1998). Gegenüber Veränderungen des pH-Wertes ist *Daphnia* weniger empfindlich als Fische (ATWATER et al. 1983).

Probenart	Empfindlichkeit							Quelle
	hoch						niedrig	
Eluate von Sonderabfällen	Alge <i>Raphidoceles subcapitata</i>	Wasserfloh <i>Daphnia magna</i>	Bakterien <i>Pseudomonas putida</i> (Wachstumshemmung)	Bakterien <i>Vibrio fischeri</i>				Vaajasaari et al. 2000
Eluate aus Industrie-Abfällen	Bakterien <i>Vibrio fischeri</i> (Lumineszenz)	Wasserlinse <i>Lemna minor</i>	Bakterien-Wachstum <i>Pseudomonas putida</i>	Fischei-Test <i>Danio rerio</i>	Wasserfloh <i>Daphnia magna</i>	Alge <i>Scenedesmus subspicatus</i>	Fisch Goldorfe <i>Leuciscus idus</i> akut	Vogel et al. 2000
Eluate aus Sonderabfällen für UTD (Untertagedeponien)	Bakterien <i>Vibrio fischeri</i> Microtox™	Wasserlinse <i>Lemna minor</i>	Bakterien <i>Vibrio fischeri</i> Mutatox™	Algen <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> Photosynthese	Bakterien unident. Belebtschlamm-Popul. SAPROMAT	Alge <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> : FDA-Aufnahme	Kresse <i>Lepidium sativum</i> : Wurzellänge	Brasser et al. 1998
Eluate aus Hausmüll mech. + biol. Vorbehandlung	Kresse <i>Lepidium sativum</i> : Wurzellänge	Algen-Test <i>Scenedesmus subspicatus</i>				Daphnien-Test <i>Daphnia magna</i>		Latif und Zach 2000
Sickerwasser von Hausmüll-(40%) + Industrieabfall(60%)-Deponie	Algen <i>Selenastrum capricornutum</i>	Microtox™	<i>Daphnia</i>	amerik. Elritze <i>Pimephales promelas</i>				Plotkin und Ram 1984
Sickerwasser aus Haus- und Sondermülldeponien	Algen-Test <i>Scenedesmus subspicatus</i>	<i>Vibrio fischeri</i>			Fisch-Test <i>Leuciscus idus</i>	Daphnien-Test <i>Daphnia magna</i>		Diehl und Hagendorf 1998
Deponie-Sickerwasser		<i>Daphnia</i>				Fisch		Atwater et al. 83
Sickerwasser aus Hausmüll-Deponien		Bakterien <i>Vibrio fischeri</i> (Lumineszenz)		Crustaceen: <i>Daphnia magna</i>				Wirtz et al. 1996
Abwasser aus Nahrungsmittel-Industrie			<i>Lemna minor</i>		<i>Vibrio fischeri</i> Microtox™			Bengtsson und 94
Abwasser aus Metall-Gravierbetrieb	Reis, Möhre Keimungstest: IC ₅₀ : <20%	Kopfsalat, Tomate Keimung: IC ₅₀ : 20-30%		Gurke, Kohl, Hirse; Keimung: IC ₅₀ : 30-41%		Weizen Keimung: IC ₅₀ : 53%		Wang und Keturi 1990
Boden-Eluat von Chemie-Altlast	Algen <i>Selenastrum capricornutum</i>	Wasserfloh <i>Daphnia magna</i>	Microtox™ 15-30min	Microtox™ 5min	Salat <i>Lactuca sativa</i> : Samenkeimung	Regenwurm LC ₅₀		Miller et al. 1985
Boden mit Cd, PCP, Phenol, Trifuralin	Regenwurm <i>Eisenia fetida</i> : Immun-Reaktion; Gewichtsverlust, Gentox.)	Kresse <i>Lepidium sativum</i> (Biomasse)					Regenwurm <i>Eisenia fetida</i> akut. Toxizität; Kresse: (Keimung)	Bierkens et al. 1998
Eluate aus Boden mit Cd, PCP, Phenol, Trifuralin	Alge <i>Raphidoceles subcapitata</i> : Esterase-Hemmung; Stress-Protein-Bildung						Nematode <i>Caenorhabditis elegans</i> (Reproduktion)	Bierkens et al. 1998
Süßwasserse-dimente	Alge <i>Raphidoceles subcapitata</i>	Fisch <i>Clarias gariepinus</i>	Crustaceen <i>Thamnocephalus platyurus</i>	Crustaceen <i>Daphnia magna</i>	Crustaceen: <i>Hyallela azteca</i> (Sediment)	Crustaceen <i>Hyallela azteca</i> (Porenwasser)	Zuckmücke <i>Chironomus riparius</i>	Vangeheluwe et al. 2000
k. A.	Algen	Crustaceen	Fisch	Pflanzen	Microtox™			Kristensen 1992
k. A.	<i>Daphnia</i>	Fisch						Birge et al. 92; Stubblefield und 82
k. A.	<i>Daphnia</i>	Fisch						Peltier 82

Tab. 6: Relative Empfindlichkeit verschiedener Biotestsysteme zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (Eluate, Sickerwasser), Abwasser, Böden. Angaben z. T. aus (Rooker 2000).

6.3 Endpunkte, Reproduzierbarkeit, Variabilität, Datenqualität

6.3.1 Toxikologische Kenngrößen für Endpunkte

Relevante Ergebnisdaten aus ökotoxikologischen Biotests werden entsprechend der toxikologischen Endpunkte in der Regel in Wirkungskonzentrationen — meist in % Verdünnung oder ml/l — angegeben (letale Konzentration LC bei Endpunkt: Mortalität; EC bei den meisten anderen Endpunkten):

LC₅₀

EC₅₀

EC₁₀; EC₂₀, etc.

Darüber hinaus finden sich weitere Kenngrößen für Endpunkte:

% Mortalität bei 100%-Probe (=unverdünnt)

LOAEL;

NOAEL

MATC bzw. GMATC als (geometrischer) Mittelwert aus LOAEL und NOAEL als Schätzwert für einen Schwellenwert chronischer Toxizität (Maximal Acceptable Toxicant Concentration) (Parkhurst et al. 1991)

G-Werte auf der Basis 20% oder 10% (*Daphnia*).

6.3.2 Reproduzierbarkeit, Variabilität, Datenqualität

Variabilität von Abfall-Inhaltsstoffen

Stoffgehalte in Rückständen aus der Abfallverbrennung (Boden- und Flugaschen, einschl. löslicher Fraktion) können zwischen verschiedenen Austragspfaden und unterschiedlichen Anlagen erheblich variieren (z. T. Faktor >10) (Alba et al. 1997). Zwischen 3 Probenahmeterminen (14 – 30 Tagen getrennt) variierten die Inhaltsstoffe (38 Elemente) in der Flugasche und der Bodenaschen um durchschnittlich 25-35 % (Wertebereich: 9-114 %; Basis: Variationskoeffizient) (Mumma et al. 1991).

Zwischen vergleichbaren Sonderabfallproben (Schlämme aus Fällprozessen; Schleifschlamm-

me; Phosphatierschlämme, Strahlmittelrückstände) schwankten die Elementgehalte um durchschnittlich 80 % - 142 % (Feststoff), die entsprechenden Eluate waren mit Variationskoeffizienten von durchschnittlich 36 % bis 108 % etwas homogener (Ehrig et al. 1997).

Reproduzierbarkeit und Variabilität von Biotest-Ergebnissen

Vor dem Hintergrund der räumlichen und zeitlichen **Variabilität** von analytisch erfassbaren Inhaltsstoffen in bestimmten Abfällen ist die Variabilität von Ergebnissen aus ökotoxikologischen Biotestverfahren zu sehen. Während für ökotoxikologische Untersuchungen mit den Matrices "Abfall" und "Abfalleluat" praktisch noch keine systematischen Untersuchungen zur Variabilität z.B. in Ringtests vorliegen, wurden derartige Untersuchungen mit verschiedenen ökotoxikologischen Testsystemen für die Bodenbewertung bereits durchgeführt und dokumentiert:

In einem Ringtest mit insgesamt 62 Teilnehmern wurden unterschiedlich belastete Böden mit 6 terrestrischen Bodenfauna-Tests sowie die entsprechenden Bodeneluate mit verschiedenen aquatischen Biotestverfahren untersucht (Hund-Rinke et al. 2002).

Bei wechselnden Teilnehmerzahlen (Bodenfauna-Tests: max. 9; aquat. Biotests: max. 24) bzw. Anzahl bewertbarer Ergebnisse (Bodenfauna-Tests: 2-9; aquat. Biotests: 3-24) wurden Werte für den mittleren Variationskoeffizienten im Collembolen-Test (Mortalitätsrate) von 73 % (8 % - 105 %), im Collembolen-Test (Reproduktionsrate) von 59 % (7 % - 132 %), im Enchytreen-Test (Mortalitätsrate) von 114 % (75 % - 138 %), im Enchytreen-Test (Reproduktionsrate) 57 % (18 % - 92 %), im Regenwurm-Mortalitätstest 52 % (0 % - 200 %) und im Regenwurm-Reproduktionstest 75 % (25 % - 141 %) ermittelt.

Die entsprechenden Werte für den mittleren Variationskoeffizienten (Basis: EC₅₀-Werte) in den aquatischen Biotests waren: Leuchtbakterien-Lumineszenz-Hemmtest 57 % (32 % - 86 %); für

den Leuchtbakterien-Wachstumstest 39 % (13 % - 58 %); für den Algen-Test (Biomasse-Integral) 52 % (41 % - 70 %), den Algen-Test (Wachstumsrate) 30 % (17 % - 54 %) und den Daphnien-Immobilitäts-Test 51 % (9 % bis 107 %) (Hund-Rinke et al. 2002). Die aquatischen Tests weisen damit tendenziell eine niedrigere Variation zwischen den Testteilnehmern auf. Bei Standardtests mit definierten Referenzsubstanzen lagen die Variationskoeffizienten sowohl bei den terrestrischen wie bei den aquatischen Tests stets niedriger.

Hieraus kann u. a. geschlossen werden, dass allein die inhomogene Schadstoffverteilung in Böden im Gegensatz zu flüssigen Proben, die Variabilität der Testaussage deutlich beeinflussen kann. Für feste Abfälle mit einer meist inherent größeren Heterogenität ist hier sicherlich mit einer noch größeren Variabilität in den Testergebnissen zu rechnen.

6.4 Microbiotests

Microbiotests sind methodische Varianten ökotoxikologischer Testverfahren, die in der Regel auf den Testprinzipien der konventionellen Testsysteme aufbauen, jedoch mit dem Ziel eines geringeren Ressourceneinsatzes (einschließlich deutlich geringerer Probemengen), einer verbesserten Reproduzierbarkeit und einer rascheren, insbesondere in großen Probenzahlen rationelleren Durchführung und Auswertung in Richtung einer Miniaturisierung optimiert wurden. Verschiedene Microbiotests sind inzwischen als Testkits (meist mit immobilisierten Testorganismen) kommerziell verfügbar.

Persoone et al. (1994) verglichen die Empfindlichkeit zweier kommerzieller Microbiotests mit Crustaceen (*Sreptocephalus proboscideus* (Streptoxkit FTM-Test) und *Thamnocephalus platyurus* (Thamnotoxkit FTM-Test)) mit der eines konventionellen Biotests (akuter *Daphnia magna*-LC₅₀-Test) anhand zahlreicher Umweltproben unterschiedlicher Herkunft, darunter 63 Sickerwasser- und Eluatproben von festen Abfällen, Klärschlämmen und Sedimenten. Die generelle Übereinstimmung der Testaussagen war 'gut' bis 'sehr gut', tendenziell waren die

Microbiotests z. T. etwas empfindlicher als der Daphnien-Test (Basis: Toxic Units, von LC₅₀-Werten abgeleitet). Aufgrund der raschen Durchführbarkeit und der geringen Kosten erscheinen diese Microbiotests als sinnvolle Alternative zum konventionellen Daphnien-Test insbesondere bei der Routinetestung größerer Probenumfänge, wobei der Thamnotoxkit FTM-Test mit *Thamnocephalus platyurus* aufgrund der geringeren Variabilität zuverlässigere Ergebnisse erwarten lässt.

Euate aus Hausmüllproben während verschiedener Stadien mechanischer und biologischer Behandlung wurden parallel zueinander mit konventionellen Biotestsystemen (Daphnientest mit *Daphnia magna*; Algentest mit *Selenastrum capricornutum*) mit Microbiotest-Verfahren (Daphtoxkit FTM; Algaltoxkit FTM, jeweils mit denselben Testspezies) untersucht (Latif und Zach 2000). Bei generell größerer Empfindlichkeit der Algentests war die Übereinstimmung zwischen den konventionellen Testsystemen und den jeweiligen Microbiotests mit $r \geq 0,97$ bei $n=8-11$, in einem Fall: $r=0,88$, sehr gut (Basis: G_D- bzw. G_A-Werte, TU-Werte auf der Basis EC₅₀). Weitere Ansätze zur Miniaturisierung des Algen-Wachstumshemmtests mit *Raphidocelis subcapitata* erlauben eine raschere und präzisere Auswertung bei deutlich besserer Reproduzierbarkeit des Tests im Vergleich zur traditionellen Erlenmeyer-Variante (Geis et al. 2000).

Verschiedene Wasserproben mit unterschiedlichen Gehalten phenolhaltiger Verunreinigungen aus der Ölschieferindustrie wurden mit 9 verschiedenen Microbiotests untersucht (6 Toxkit-Microbiotests: Daphtoxkit FTM *magna* mit *Daphnia magna*; Daphtoxkit FTM *pulex* mit *Daphnia pulex*; Rotoxkit FTM mit *Brachionus calyciflorus*; Thamnotoxkit FTM *pulex* mit *Thamnocephalus platyurus*; Protoxkit FTM mit *Tetrahymena thermophila*; Algaltoxkit FTM mit *Raphidocelis subcapitata*; 3 Leuchtbakterien-Tests: MicrotoxTM; BioToxTM, "Vibrio fischeri 1500" alle mit *Vibrio fischeri* mit leicht unterschiedlicher Empfindlichkeit). Alle Testsysteme bewerteten weitgehend übereinstimmend die Proben entsprechend ihrem Phenolgehalt als 'nicht toxisch', 'toxisch', 'sehr toxisch' und 'extrem toxisch'. Der Daphtox-

kit FTM, der auch für ungefilterte Proben verwendet werden kann, und die 3 Photobakterien-Tests waren am empfindlichsten. Abwässer ohne Phenol, aber mit anderen Verunreinigungen, wurden mit dem Protoxkit FTM zutreffender beurteilt. Die Notwendigkeit, mehrere verschiedene Testsysteme parallel zueinander in Testbatterien einzusetzen, wird somit unterstrichen (Kahru et al. 2000).

Als Haupthindernis für eine raschere und weitere Verbreitung von Microbiotests, die verschiedene ökotoxikologische Tests einem rascheren und kostengünstigeren Routineeinsatz öffnen könnten und die eine Organismenpalette von Bakterien (z.B. *Photobacterium*, *Escherichia*), Algen (*Selenastrum*), Protozoen (*Tetrahymena*) und Invertebraten (*Daphnia*, *Thamnocephalus*, *Brachionus*) umfassen, sehen (Janssen et al. 2000) den Mangel an veröffentlichten Daten aus potenziellen Einsatzbereichen dieser Verfahren.

Aufgrund der engen Korrelation zwischen den Kurzzeit- Endpunkten in Enzymhemmungstests und Toxizitätswerten konventioneller Biotests (z.B. *Daphnia magna* 24h-_{EC50} Immobilisierung) sehen DeCoen et al. (2000) insbesondere im Bereich der Routineprüfung ein großes Entwicklungs- und Anwendungspotenzial suborganismischer Tests. Häufig weichen diese Tests in ihrer Empfindlichkeit deutlich von den konventionellen Endpunkten ab (Wenzel et al. 1997; Spurgeon 2000).

6.5 Testbatterien

KRISTENSEN (1992) und CLEMENT et al. (1996) schlagen vor, dass in einer geeigneten Testbatterie zur ökotoxikologischen Beurteilung von Abfalleluaten 3 trophische Ebenen repräsentiert sein sollten. Neben Produzenten (z.B. Algen: *Scenedesmus subspicatus*), Konsumenten (z.B. Crustaceen *Daphnia magna*) auch Destruenten (z.B. Bakterien: *Vibrio fischeri*). In experimentellen Studien war eine derartige Testbatterie in der Lage, rund 90 % aller toxischen Proben zu identifizieren (CLEMENT et al. 1996). Die detaillierte Auswahl von Testspezies und Endpunkten kann einerseits durch Herkunft und Eigenschaften der zu prüfenden Proben (Aggregatform, Konsis-

tenz, Trübung, Färbung, pH, wirkungsrelevante Inhaltsstoffe) als auch durch die Kenntnis, technisches Know-How und die apparativen Voraussetzungen für die Anwendung der Testsysteme bestimmt bzw. eingeschränkt sein (Marsalek und Rojickova-Padrtova 2000).

Dabei liegt der Grund, verschiedene Testorganismen bzw. -systeme in Biotestbatterien parallel zueinander zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Umweltproben einzusetzen, in der Regel nicht in dem Bestreben, Situationen in realen Ökosystemen zu simulieren, sondern unterschiedliche Expositionspfade und Wirkungsmechanismen zu erfassen (Parkhurst et al. 1991).

Zur Bewertung von Abfallstoffen hinsichtlich der Deponierbarkeit vor dem Hintergrund der neuen TA Siedlungsabfall schlagen Billmaier et al. (1996) neben chemisch-physikalischen Untersuchungen der Abfälle wie z.B. Glühverlust-Bestimmung, Sauerstoffverbrauchsmessungen (Sapromat-Verfahren) und Eluatanalysen (u. a. auf Total Organic Carbon (TOC)) als notwendige und gleichwertige Bewertungsverfahren eine erweiterte Produktprüfung mit Toxizitätstests (Fischtest mit Goldorfe *Leuciscus idus*; Daphnientest mit *Daphnia magna*; Leuchtbakterien-test mit *Photobacterium phosphoreum*) und einem Mutagenitätstest (Ames-Test mit *Salmonella typhimurium*) vor.

In einem Papier, das im Rahmen des Nationalen Entwicklungsplans (NDP-Paper Tool, 20.03.2002) in Irland erstellt wurde, ist für die Vorgehensweise zur Identifizierung gefährlicher Bestandteile in Abfällen u. a. eine Reihe von Biotestverfahren entsprechend den EU-Direktiven geeignet:

87/302/EEC (Regenwurm-Toxizitätstest, bakterieller Atmungshemmtest),
92/69/EEC (Akute Toxizitätstests für Fische, Daphnien sowie Algen-Wachstumshemmtest),
98/73/EC (Fischtest: Biokonzentration) und

2001/59/EC (Jungfisch-Wachstumstest, Fisch-embryo-Kurzzeittest; Honigbienen akuter Oral-

Toxizitätstest und akuter Kontakttest sowie *Daphnia magna* Reproduktionstest).

Kosten	Einfachheit	Empfindlichkeit
Microtox™	Microtox™	<i>Lemna minor</i>
<i>Daphnia magna</i>	<i>Daphnia magna</i>	Algae
Algae	Algae	Microtox™
<i>Lemna minor</i>	<i>Lemna minor</i>	<i>Daphnia magna</i>
Fisch	Fisch	Fisch

Tab. 7: Rangfolge einiger Standard-Biotests zur Bewertung von Abfällen nach Kosteneffizienz, Einfachheit und Empfindlichkeit (Rooker 2000).

Der Kostenaufwand sowie die eher geringe Empfindlichkeit sowie ethische Bedenken rechtfertigen kaum den Einsatz von Fishtests in der

(Routine) Kontrolle von Sickerwässern oder Eluat von Abfällen (Rooker 2000).

Joutti et al. (2000) stellen die Vorzüge und Nachteile von 6, im Rahmen einer Vergleichs-

studie mit 4 industriellen Sonderabfällen eingesetzten Biotestverfahren einander gegenüber:

Wasserlinse <i>Lemna minor</i> Wachstums- Hemmung	MetPAD <i>Escherichia coli</i> Mutante	MetPLATE <i>Escherichia coli</i> Mutante	RET (reverser Elektronen- Transport)-Test mit Sub-Mito- chondrienpartikeln aus Rinderherz	Pflanzen- Keimungstest (Gerste, Spinat, Rotklee)	ToxiChromotest <i>Escherichia coli</i> Mutante; β-Galaktosidase- Synthese
<ul style="list-style-type: none"> ☺ (welt-)weit verbreitete Spezies ☺ generelle Toxizität ☺ einfach, zuverlässig, effizient, einfache Laborausstattung ☺ empfindlich auf organische und anorganische Verunreinigungen ☺ für gefärbte und trübe Proben geeignet ☺ außer pH-Einstellung keine Vorbehandlung der Proben ☺ für Routinezwecke geeignet 	<ul style="list-style-type: none"> ☺ qualitative colorimetrischer Schnelltest für Schwermetalle für Screeningzwecke mit Bakterien ☺ einfach, zuverlässig, effizient ☺ kein Unterhalt-/Kulturbedarf ☺ für Routinezwecke geeignet 	<ul style="list-style-type: none"> ☺ quantitativer colorimetrischer Schnelltest für Schwermetalle für Screeningzwecke mit Bakterien ☺ einfach, zuverlässig, effizient ☺ kein Unterhalt-/Kulturbedarf ☺ für Routinezwecke geeignet ☺ für Schwermetalle empfindlicher als Leuchtbakterien-Test 	<ul style="list-style-type: none"> ☺ gute Korrelation mit Tier-tests ☺ generelle Toxizität ☺ empfindlich auf zahlreiche organische und anorganische Verunreinigungen ☺ TLCP-Elutionsverfahren kann eingesetzt werden 	<ul style="list-style-type: none"> ☺ einfach, zuverlässig, effizient, einfache Laborausstattung ☺ kein Unterhalt-/Kulturbedarf ☺ leicht durchführbar 	<ul style="list-style-type: none"> ☺ halbquantitativer colorimetrischer Schnelltest für Screeningzwecke mit Bakterien ☺ einfach, zuverlässig, effizient ☺ kein Unterhalt-/Kulturbedarf ☺ empfindlich auf organische und anorganische Verunreinigungen ☺ für Routinezwecke geeignet
<ul style="list-style-type: none"> ⊗ große Probenvolumina ⊗ nicht für flüchtige Bestandteile ⊗ nicht standardisiert /validiert ⊗ keine Referenzdaten unter Standardbedingungen ⊗ ständige Kulturhaltung notwendig ⊗ TCLP-Elutions-Verfahren ungeeignet 	<ul style="list-style-type: none"> ⊗ neues Testverfahren, keine Referenzdaten verfügbar ⊗ TCLP-Elutions-Verfahren ungeeignet außerdem: ⊗ nur qualitative Testausgabe 	<ul style="list-style-type: none"> ⊗ ELISA-Platten-Lesegerät notwendig ⊗ neues Testverfahren, keine Referenzdaten verfügbar ⊗ TCLP-Elutions-Verfahren ungeeignet ⊗ gefärbte und trübe Proben problematisch 	<ul style="list-style-type: none"> ⊗ Verfahren nicht standardisiert ⊗ wenig Referenzdaten verfügbar ⊗ Enzym-Aufbereitung zeit- und damit kostenintensiv ⊗ gefärbte und trübe Proben problematisch 	<ul style="list-style-type: none"> ⊗ häufig nicht ausreichend empfindlich 	<ul style="list-style-type: none"> ⊗ neues Testverfahren, wenig Referenzdaten verfügbar ⊗ TCLP-Elutions-Verfahren ungeeignet

Tab. 8: Vorteile und Nachteile von Biotestverfahren zur Untersuchung von 4 industriellen Sonderabfällen (Loutti et al. 2000).

7 Zusammenhang zwischen chemischen Parametern und (Öko-)Toxizität

In aller Regel bestehen keine konsistenten Korrelationen zwischen (Öko-)Toxizität und dem Gehalt an einzelnen Schadstoffen oder Schadstoffgruppen, wenngleich der Gehalt an Ammonium und organischen Verbindungen häufig als Hauptursache für die beobachtete Toxizität von Abfalleluaten angesehen wird. Auch Ionenstärke und Alkalinität können eine erhebliche Rolle bei der Toxizität gegenüber bestimmten Testorganismen spielen. Eine Vorhersage der (Öko-)Toxizität aufgrund von Art und Herkunft der Abfälle gilt generell als unsicher (Rooker 2000). Der beobachtete Zusammenhang zwischen DOC-Gehalt in Eluatproben verschiedener Industrieabfälle und deren Toxizität in verschiedenen Biotestsystemen ist nicht notwendigerweise kausal, sondern hat wahrscheinlich nur eine Indikatorfunktion (Vogel et al. 2000).

In 11 Eluaten verschiedener Rückstände aus der Kohle-Gewinnung und -Verarbeitung (vor allem Schlacken und Aschen) wurde ein enger Zusammenhang zwischen der Toxizität im Daphnien-Test ($EC_{50,48h}$, *Daphnia magna*) und der Summe der (toxizitätsgewichteten) Metallgehalte (Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Zn) festgestellt (Neufeld und Wallach 1984).

In Sickerwasserproben von 8 schwedischen Deponien wurde für 4 von 5 eingesetzten Biotestsystemen (Alge, Wasserfloh *Ceriodaphnia*, Wasserlinse *Lemna minor*, Zebrafisch) ein Zusammenhang zwischen Toxizität und sowohl dem AOX-Gehalt wie auch dem Schwermetallgehalt (summiert über 13 Elemente) gefunden, nicht jedoch für den MicrotoxTM-Test (Kristensen 1992). Algen und *Ceriodaphnia* reagierten empfindlicher als *Lemna* und MicrotoxTM, wobei die Reaktion von *Lemna* und Algen stärker mit dem Schwermetallgehalt als mit dem AOX-Gehalt korreliert war. In metalldominierten Sickerwässern zeigt MicrotoxTM generell eine geringere Empfindlichkeit als die meisten anderen Testsysteme.

Die im Daphnien-Test (EC_{50} : *Daphnia magna*, Immobilisierung, 48 h) ermittelte Toxizität von Deponie-Sickerwässern war signifikant mit verschiedenen allgemeinen Variablen der chemischen Wasserqualität (Chlorid-, Ammonium-, K-Gehalt, Wasserhärte) korreliert ($p < 0,001$; lineare bzw. Rang-Korrelation) (Assmuth und Penttilä 1995). Einen deutlichen Zusammenhang zwischen verschiedenen Vorbehandlungsstufen (mechanisch + biologisch) und der Daphnien-Toxizität fanden Latif und Zach (2000) in Eluaten aus Hausmüll; während enge Korrelationen der Algen-Toxizität (*Selenastrum capricornutum*) mit dem BSB₅-, CSB-, TOC- und Leitfähigkeitswerten bestanden. Weitere Ergebnisse von — meist multiplen — Regressionsanalysen zwischen physikalisch-chemischen Eluat-Parameter und den Ergebnissen (öko-)toxikologischer Biotests wurden von Rooker (2000) zusammengestellt (Tab. 9)

Eine durch Niederschlagswasser bedingte Verdünnung von Deponiesickerwässern schlägt sich häufig in chemischen Parametern nieder. Die in Biotests ermittelte Toxizität wird durch diesen Verdünnungseffekt dagegen weniger stark, z. T. auch gar nicht vermindert (Hagendorf und Börner 1991).

Neben gelösten, nichtflüchtigen Bestandteilen können z.B. in Deponiesickerwässern auch leichtflüchtige Substanzen wirkungsrelevant sein. Brack et al. (1998) erfassten 2 ursächliche Komponenten für die toxische Wirkung flüchtiger Verbindungen aus Deponiesickerwässern gegenüber der Alge *Chlamydomonas reinhardtii* (Chlorophyll a-Fluoreszenz): Toxizität durch H₂S und durch organische Narkotika. Eine Vorgehensweise, um (z.B. bei der Umlagerung von deponierten, festen Abfällen) gasförmig freigesetzte Bestandteile mittels Biotests wirkungsbezogen erfassen und bewerten zu können, stellen Kucklick et al. 1995 für den Leuchtbakterientest mit *Photobacterium phosphoreum* vor.

Die Identifizierung zumindest der Stoffklasse, die vorrangig für die in Biotests ermittelte Toxizität verantwortlich ist, kann anhand einer Fraktionierung der komplexen Sickerwässer oder Eluate mittels physikalisch-chemischer Labormethoden

und deren separater Testung erfolgen. Eine Untersuchungsstrategie für industrielle und kommunale Abwässer wurde hierfür von der US-EPA (1988: EPA-600/3-88/034) entwickelt (Kristensen 1992).

Organismus	Relation	R ²	Quelle
Fisch <i>Salmo gairdneri</i>	$\log LC_{50}(96h) = 1,427 - 0,386(NH_3) - 101\,400 (H^+) - 0,000539 (Tannin) - 4,074 (Cu)$	0,94	Cameron und Koch 1980
Wasserlinse <i>Lemna minor</i>	$EC_{50} = 23,3 \log (Alk) - 9,0 \log (NH_4^+) + 78,9$ $EC_{50} = 21,6 \log (Alk) - 15,5 \log (Leitf) + 115,6$	0,95 0,89	Clement et al. 1997 Clement und Merlin 1995
Wasserfloh <i>Daphnia pulex</i>	$LC_{50} = 27,73 (Zn)^{-1,05}$ $\log LC_{50} = 0,969 - 0,00884 (Zn) - 0,00152 (Tannin) + 3,804 (NH_3)$	0,97 0,83	Atwater et al. 1983 Atwater et al. 1983
Wasserfloh <i>Daphnia magna</i>	$EC_{50} = 2489 (NH_3)^{-0,62} (Alk)^{-0,386}$ $EC_{50}(48h) = 102 - 0,00507(LC_{50}(24h) - 0,396 (\log(Cl^-))^2$	0,96 0,73	Clement et al. 1997 Assmuth und Penttillä 1995

Tab. 9: Zusammenhang zwischen physiko-chemischen Parametern und der Toxizität gegenüber verschiedenen Testorganismen, meist ermittelt in schrittweiser, linearer Regression (ROOKER 2000).

8 Auswertung von Biotestverfahren

8.1 Auswerte-Methoden

Die Ergebnisse von Biotests werden in der Regel in Form der Wirkungskonzentration EC (effective concentration) anhand von Dosis-Wirkungsabhängigkeiten dargestellt. EC_{50} ist dabei diejenige Konzentration, die eine Wirkung bei 50 % der eingesetzten Organismen zeigt (z.B. bei Mortalität, Immobilisierung) oder bei der eine Endpunkt-Ausprägung (z.B. Hemmung) 50 % beträgt.

Ist für eine Eluatprobe der EC_{50} (rechnerisch) größer als 100 % (=unverdünnte Probe), wird empfohlen, das Resultat in der Form $EC_{50} > 100\%$ darzustellen und — wenn möglich — den EC_{20} (oder EC_{10})-Wert zu berechnen. Wenn die höchste Konzentration (unverdünnte Probe) keine Wirkung zeigt, ist die Probe (hinsichtlich des jeweiligen Testsystems) als nicht toxisch zu betrachten.

Bödecker et al. (1992) schlagen für die Ermittlung der Testaussage bei Biotests die Anwendung nicht-linearer Funktionen (z.B. Weibull-Funktion) vor, da diese deutlich flexibler und zuverlässiger als z.B. die Probit-Analyse einzusetzen sind.

Häufig wird inzwischen anstelle der wenig anschaulichen LC- und EC-Werte die Toxizität von Umweltproben in Toxizitätseinheiten TU (engl.: Toxic Units) angegeben, die sich als Kehrwert von Wirkungskonzentrationen (LC_{50} , EC_x) nach der Formel $TU = 100/LC_{50}$ bzw. $= 100/EC_x$ errechnen (Bervoets et al. 1996). Diese Berechnungsbasis erleichtert einerseits die Darstellung und Kommunikation nach außen hin, da — anders als bei Wirkungskonzentrationen — eine hohe (Öko-)Toxizität mit hohen TU-Werten einhergeht, andererseits werden Vergleiche verschiedener Biotestsysteme und kombinierte Berechnungen zur Ermittlung von (Öko-)Toxizitätsindizes erleichtert.

Abweichend hiervon wird in der Praxis des Biotest-Einsatzes in Deutschland für die verschiedenen Biotestverfahren ein so genannter G-Wert bestimmt. Er gibt diejenige Verdünnungsstufe (reziproker Verdünnungsfaktor) an, die innerhalb einer Verdünnungsreihe erstmalig eine Hemmung unterhalb der Bewertungsgrenze bewirkt, die bei den meisten Testsystemen bei einer Hemmung von 20 %, beim Daphnien-Test von 10 % erreicht wird.

8.2 Auswertung, zusammenfassende Darstellung und Optimierung von Biotestbatterien

Die Darstellung und Aussagekraft komplexer Datenmatrizes aus Multispezies-Untersuchungen mit zahlreichen, zu vergleichenden Proben wird durch eine chemometrische Auswertung wesentlich erleichtert bzw. verbessert. Nach (ggf. doppelter) Zentrierung der Daten (über alle Testsysteme bzw. Proben hinweg) kann eine grafische Präsentation der Daten bereits wichtige Toxizitätsmuster (bezogen auf die Proben) bzw. Empfindlichkeitsmuster (bezogen auf die Testsysteme) deutlich machen. Multivariate statistische Verfahren wie die Hauptkomponentenanalyse (Principal Component Analysis, PCA) ermöglichen eine Kondensation von multivariablen, d.h. durch zahlreiche Variablen beschriebenen Daten auf wenige, im Idealfall 2 "synthetische" Variablen. Cluster von Testsystemen, die ähnliche Empfindlichkeit bzw. Spezifität aufweisen, können auf diese Weise identifiziert und, unter ökotoxikologischen wie auch ökonomischen Gesichtspunkten optimierte Testbatterien zusammengestellt werden (Devillers et al. 1993).

In einem ähnlichen Ansatz verglichen Jean und Fruget (1994) die Empfindlichkeit von 10 Süßwasser-Makroinvertebraten-Spezies (Basis: LC_{50}) mit den Ergebnissen von 3 Standard-Biotests (Leuchtbakterie *Vibrio fischeri*; Wasserfloh *Daphnia magna*, Zebraabräbling *Brachydanio rerio*) gegenüber 17 flüssigen Umweltproben (11 Deponie-Sickerwässer, 3 Industrieabwässer, 3 Gerbereiabwässer). Die hierarchische Cluste-

analyse wurde eingesetzt, um die Testspezies entsprechend der Ähnlichkeit ihrer Reaktionsweise gegenüber den 17 Proben zu gruppieren. Mittels Hauptkomponentenanalyse (PCA) wurde der multivariable Datensatz auf wenige "synthetische" Variablen konzentriert, wobei die 1. Variable (= "Achse") rund 70 % der Information, die ersten 4 Variablen (= "Achsen") 94,5 % der Information enthalten. Eine weitergehende Auswertung bezieht 20 physiko-chemische Kenngrößen (meist Schadstoffgehalte) mit ein. Die für die toxische Wirkung am stärksten verantwortlichen Komponenten können sich von Probe zu Probe unterscheiden (NH₄, SO₄, PO₄, NO₂, NO₃, Cl⁻, Cr, Cd, Ca, Na, pH, Cu).

Vangheluwe et al. (2000) setzten zur ökotoxikologischen Bewertung von 80 repräsentativen Süßwassersedimenten aus Flandern (Belgien) 8 verschiedene Biotestverfahren ein, davon 6 für Porenwasser (Bakterien: *Vibrio fischeri* MicrotoxTM; Algen: *Raphidocelis subcapitata* = *Selenastrum capricornutum*; Crustaceen: *Daphnia magna*, *Thamnocephalus platyurus*; *Hyalella azteca*; Zuckmücke: *Chironomus riparius*; Fischtest: *Clarias gariepinus*) und 2 für direkte Sediment-Testung (Crustaceen: *Hyalella azteca*; Zuckmücke: *Chironomus riparius*). Der Schwerpunkt dieser Untersuchungen lag auf der optimalen Auswahl einer Testbatterie, die bei möglichst geringem Umfang ein Maximum an ökotoxikologischer Information ermöglicht. Als Auswerteverfahren der gemeinsamen Testergebnisse wurden

- **Redundanz-Analysen** (mittels Hauptkomponentenanalyse PCA und Pearson's paarweiser Produkt-Moment-Korrelation) durchgeführt,
- die **Erkennungskapazität** (allgemein) toxischer Proben der einzelnen Testsysteme sowie deren
- **Diskriminanzstärke** mittels schrittweiser Diskriminanz-Funktions-Analyse (DFA) ermittelt.

Der MicrotoxTM-Test war insgesamt zu wenig empfindlich. Mit einer Minimum-Testbatterie mit 3 Testsystemen (Alge *Raphidocelis subcapitata*; Crustaceen *Thamnocephalus platyurus* und *Hyalella azteca*) letztere im direkten Sediment-

test, konnten von 53 Sedimenten 48 korrekt in 3 (Öko-) Toxizitätsklassen eingeordnet werden.

Die Faktorenanalyse wird hauptsächlich dazu eingesetzt, um die Anzahl von Variablen zu reduzieren und Beziehungsstrukturen zwischen den Variablen zu identifizieren. Demgegenüber dient die Clusteranalyse einer (hierarchischen) Klassifizierung verschiedener (unterschiedlich ähnlicher) Testaussagen.

Während die Theorie unscharfer Mengen (Fuzzy Logic) in der Ökotoxikologie zunehmend Verbreitung findet, ist ihre Anwendung bei der Bewertung ökotoxikologischer Testbatterien noch neu. (Neumann-Hensel et al. in: Heiden et al. 2000; S. 205). Unter Berücksichtigung von Expertenwissen werden die quantitativen Testaussagen (z.B. % Hemmung) in Bewertungsstufen eingeteilt, die neben den eindeutigen Zuordnungen "Effekt" und "kein Effekt" auch eine Übergangs- oder Unschärfezone einschließen (= "Fuzzifizierung"). Die Verknüpfung der somit "unscharf" beschriebenen Daten erfolgt im nächsten Schritt nach definierten Regeln ("Wenn-dann-Regeln"), die das Kernstück der Auswertesteuerung darstellen und die ein hohes Maß an Expertenwissen voraussetzen. Aus der Kombination von Einzelaussagen werden Entscheidungen getroffen und Folgerungen hergeleitet (= "Fuzzyregelsystem"). Die Zuordnung zu diskreten Klassen, also die "Defuzzifizierung" erfolgt als letzter Schritt.

Ein wesentlicher Vorteil von Auswerteeinheiten auf der Basis der Fuzzy-Logic liegt darin, systemimmanente Unsicherheiten in der Interpretierbarkeit biologischer Tests beschreiben und verrechnen zu können, anstatt diese Information durch eine frühzeitige "Ja-Nein"-Entscheidung bei der Auswertung der einzelnen Testsysteme vorzeitig aufzugeben (Neumann-Hensel et al. in: Heiden et al. 2000; S. 205).

Eine weitere Vorgehensweise zur Auswertung komplexer Informationen, wie sie aus Biotestbatterien vorliegen können, stellt die Hassedia-grammtechnik zur multikriteriellen Sortierung dar (Neumann-Hensel et al. in: Heiden et al. 2000; S. 205).

8.3 Bewertungsverfahren (allgemein)

Zur Bewertung der Ergebnisse einzelner Testsysteme (1 Endpunkt) kann es in einem 1. Schritt genügen, das Maß bzw. die Signifikanz der Abweichung vom Schwankungsbereich „normaler“, unkontaminierter Proben (hier: Sedimente) zu bestimmen. Voraussetzung hierfür ist, dass ausreichend große und repräsentative Datenbestände über Hintergrundwerte verfügbar sind (Grapentine et al. 2000).

In der Regel sind die Ergebnisse mehrerer Biotestsysteme (meist verschiedene Testorganismen oder verschiedene Endpunkte beim selben Organismus) gemeinsam zu bewerten. Zur Integration von multiplen Testergebnissen zu einer globalen Beurteilung haben Grapentine et al. (2000) verschiedene Ansätze miteinander verglichen:

(1) Die einzelnen Testsysteme werden jeweils nach einem 3-stufigen Bewertungssystem: (1: "nicht-toxisch"; 2: "wahrscheinlich toxisch"; 3: "toxisch") bewertet. Berechnet werden Medianwerte der Bewertungsstufen über alle Testsysteme und Endpunkte hinweg. Im Falle von letalen Endpunkten wird dieser Medianwert durch die "toxische" Bewertung „überschrieben“.

(2) Wie unter (1) werden 3 Bewertungsstufen genutzt, jedoch werden diese über letale und subletale Endpunkte aufsummiert. In diesem Fall sind Vergleiche nur innerhalb von Datensätzen möglich, in denen Art und Umfang der Biotestsysteme einheitlich sind. Alternativ hierzu kann eine Rangzuordnung zu den summierten Bewertungsstufen erfolgen (Neumann-Hensel et al. in: Heiden et al. 2000; S. 203).

(3) Durch Ordination (=multivariate statistische Auswertung) erfolgt eine Kondensierung (=Reduktion) der zahlreichen (ca. 10) Variablen auf wenige (=2), synthetische Variablen. Dies ermöglicht eine übersichtliche, bivariate Darstellung und eine grundsätzliche, übergreifende Zuordnung zu Empfindlichkeitsgruppen und/oder Wirkprinzipien.

Die Methode (3) ist die empfindlichste und aussagekräftigste, da Effekte korrelierter Variablen

minimiert werden, quantitative Informationen eingehen, die verschiedenen Endpunkte angemessen gewichtet werden und eine Zuordnung zu abiotischen Sedimenteigenschaften (z.B. analytischen Daten) möglich ist, während bei den Methoden (1) und (2) wichtige Informationen verloren gehen (Grapentine et al. 2000; Neumann-Hensel et al. 2000).

8.4 Bewertungsverfahren (spezifisch: Altlasten, Abfälle)

8.4.1 Bewertungs-Szenarien

In einem von der französischen Umweltbehörde ADEME geförderten Forschungsprogramm zur Umweltverträglichkeit von Abfällen ("Ecocompatibilité des déchets") werden verschiedene realitätsnahe Ablagerungs- und Recycling-Szenarien untersucht und mögliche Auswirkungen auf den definierten Umweltausschnitt unter vorgegebenen Randbedingungen abgeschätzt. Prämisse des Forschungsprogrammes ist, dass ohne eine Definition der Exposition (Expositionsbedingungen, Expositionspfade) das ökotoxikologische Risiko von Abfällen nicht zutreffend abgeschätzt werden kann. Es erfolgt eine konsequente Trennung von Gefahrenbewertung (definiert durch das Testprotokoll des Testsystems) und Risikobewertung, die u. a. durch die Schadstoffmengen bzw. -konzentrationen in verschiedenen Umweltkompartimenten bedingt ist und eine Expositionsabschätzung einbezieht (Perrodin et al. 2000; 2002A, B; Ferrari 2000).

Modellierungen und experimentelle Untersuchungen verschiedener Szenarien und Subszenarien umfassen das Perkulations- und Lösungsverhalten, Transport- und Austauschvorgänge im Boden und Grundwasser, sowie — als "impact term" — mögliche Auswirkungen der hierbei anfallenden Eluate auf Pflanzen (Straussgras *Agrostis vulgaris*; Kopfsalat *Lactuca sativa*: Keimung, Biomasse-Entwicklung), Mikroorganismen (Gesamt-Mikroorganismen-Zahl, Struktur der Mikroorganismen-Gemeinschaften; Molekularbiologische Parameter: RISA), die Bodenfauna (Regenwurm: *Lumbricus terrestris*, *Allolobophora calliginosa*) und 6 aquatischen Invertebraten-Spezies in ex-

perimentellen Mikrokosmen sowie Mortalitäts-tests (LC_{50} (10+2d)). Die unter Laborbedingungen ermittelten Wirkungen werden unter Freilandbedingungen mit mesoskaligen Versuchsanordnungen (2 – 30 m³ Abfallvolumen) überprüft (Perrodin 2000; 2002 A; Ferrari 2000).

Die Bedeutung einer sorgfältigen Szenarienauswahl belegen die Ergebnisse von Jenner et al. (1992): Pulverisierte Kohlenasche und Schlacke aus dem Kohleentgasungsprozess verursachte im direkten Test meist geringe, allenfalls mäßig starke Wuchsminderung bei einer überstauungstoleranten terrestrischen Testpflanzenspezies (Cyperngrass *Cyprus esculentus*), die vor allem durch Nährstoffmangel bedingt waren. Eluate dieser Abfälle waren im Wachstumshemmtest mit *Lemna minor*, im Vergleich zu einem Kanalsediment, nur wenig bis mäßig (öko-)toxisch. In ökologischen Tests mit typischen Vertretern der Wurm- und Muschel-Fauna von Wattsedimenten erwiesen sich diese Abfallstoffe dagegen als deutlich ökotoxisch, wozu offensichtlich ihre physikalischen Eigenschaften scheinbar wesentlich beitragen (Jenner und Janssen-Mommen 1993; Jenner 1995).

8.4.2 Bewertungsmaßstäbe und –schwellen

Als übergreifende Bewertungsgröße über mehrere Endpunkte bzw. Testaussagen hinweg haben (Costan et al. 1993 – zitiert in Ferrari 2000) einen

Klasse 1: keine signifikante Ökotoxizität beobachtet:
In mindestens 1 Testsystem kann ein EC_{50} -Wert ermittelt werden, dieser liegt jedoch <50 % ($TU < 1$).

Klasse 2: signifikante Ökotoxizität beobachtet:
In mindestens 1 Testsystem wird ein EC_{50} -Wert ermittelt werden, die TU-Werte liegen zwischen 1 und 10.

Klasse 3: hohe akute Ökotoxizität beobachtet:
In mindestens 1 Testsystem wird ein EC_{50} -Wert bei 10-facher Verdünnung erreicht, nicht aber bei 100-facher Verdünnung; die TU-Werte liegen zwischen 10 und 100.

Index zur Erfassung und zum Vergleich des (öko-)toxischen Potenzials von Proben (ursprünglich: industrielle Abwässer) entwickelt, der z. T. auch auf feste Abfälle (incl. ihrer Eluate) angewandt wurde (Lambolez 1994; Bispo 1998 zitiert in Ferrari 2000). Hierzu werden die quantitativen Testaussagen (LC_{50} , EC_{10} , EC_{50} usw.) nach der Formel $TU = 100/LC_{50}$ (bzw. $100/ECx$) in Toxizitätseinheiten ($TU =$ Toxic Unit) umgewandelt, wobei hohe TU einer hohen (Öko-) Toxizität entsprechen. Die Summe aller Toxizitätswerte T_i (angegeben in TU) über alle diejenigen Testsysteme (Anzahl N) hinweg, die eine (toxische) Reaktion zeigten, ergibt $\sum_{i=1}^N T_i$. Dieser Summenwert wird dividiert durch die Anzahl N und anschließend multipliziert mit der Anzahl aller durchgeführten Testverfahren n , erhöht um 1: $(n+1)$. Der Logarithmus (Basis 10) dieser Terms ergibt die Größe PEEP (Potential Ecotoxic Effects Probe; französisch: BEEP: Barème d'Effets Ecotoxiques Potentiels):

$$(BEEP=) \text{ PEEP} = \log_{10} \left[1 + n \left(\frac{\sum_{i=1}^N T_i}{N} \right) \right]$$

Es wird ein mittlerer TU-Wert berechnet, wobei nicht nur diejenigen Testsysteme berücksichtigt werden, die eine toxische Wirkung anzeigen (N), sondern grundsätzlich alle angewandten Testsysteme (n).

Ein 4-stufiges Klassifikationssystem (Persoone 1999, zitiert bei Lapa et al. 2002) auf der Basis von TU-Werten erlaubt es, Ergebnisse verschiedener Biotestsysteme in einen Index-Wert ("Allgemeine Ökotoxizität") zu integrieren:

Klasse 4: sehr hohe akute Ökotoxizität beobachtet:
In mindestens 1 Testsystem wird ein EC_{50} -Wert bei 100-facher Verdünnung erreicht, der/die TU-Wert(e) liegt/en ≥ 100 .

Den 4 Klassen werden Klassenwerte ("test score") von 1 (Klasse 1) bis 4 (Klasse 4) zugeordnet und über alle Testsysteme hinweg addiert. Der Klassengewichts-Wert ("Class weight score") errechnet sich aus der Summe aller Klassenwerte, dividiert durch die Anzahl der eingesetzten Testsysteme (Lapa 2002).

Auf der Grundlage von Sickerwässern von Standorten, die mit Abfällen belastet waren, wurde zur Einstufung von Biotestergebnissen Toxizitätsklassen definiert (Becker van Slooten et al. 1999), die auf EC_{50} bzw. EC_{20} -Werten beruhen:

Klasse	EC_{50} (%)	EC_{20} (%)	Ökotoxizität der Probe
1	>100	und <50	nicht toxisch
2	>50		mitteltoxisch
3	>15 – 50		
4	> 5 – 15		stark toxisch
5	≤ 5		

Tab. 10: Toxizitätsklassen nach Becker Van Slooten et al. 1999.

Differenziert nach Art und Empfindlichkeit von 4 standardmäßig eingesetzten Biotestsystemen schlägt die Ad-hoc Arbeitsgruppe "Methoden zur toxikologischen/ökotoxikologischen Bewertung von Böden" Toxizitätsschwellenwerte auf der Basis von G-Werten zwischen 2 und 8 vor (DECHEMA 1995, zitiert in LABO-ALA 2000).

Toxizitätsschwellen für aquatische Testsysteme zur Beurteilung des Pfades 'Boden-Grundwasser' nach DECHEMA 1995 (zitiert in LABO-ALA 2000) sind in Tabelle 11 zusammengefasst.

Untersuchungsparameter	Toxizitätsschwelle	Methode
Leuchtbakterientest <i>Vibrio fischeri</i> (Lumineszenz-Hemmung)	$G_L > 8$	DIN 38412 – Teil 34 und 341
Wachstumstest mit <i>Vibrio fischeri</i> (chronische Toxizität)	$G_{LW} > 2$	DIN 38412 Teil 37 (03/1996)
Daphnientest <i>Daphnia magna</i> (Schwimmfähigkeit)	$G_D > 4$	DIN 38412 Teil 30
Algentest <i>Scenedesmus</i> (Chlorophyll-Fluoreszenz)	$G_A > 4$	DIN 38412 Teil 33

Tab. 11: Toxizitätsschwellen für aquatische Testsysteme zur Beurteilung des Pfades Boden-Grundwasser (Dechema 1995, zitiert in LABO-ALA 2000); G-Werte: die kleinste Verdünnungsstufe einer 2er-Verdünnungsreihe der Probe, bei der gerade nicht mehr 20 % Effekt (Leuchtbakterien- und Algentest) bzw. 10 % Effekt (Daphnientest) erzielt werden. Der Wachstumstest mit *Vibrio fischeri* ist durchzuführen, wenn im Lumineszenz-Hemmtest G_L -Werte von 3 bis 8 erzielt werden.

Auf der Grundlage einer parallelen Durchführung und gemeinsamen Auswertung von 7 Bio-testsystemen (3 terrestrische, 4 aquatische) an 14 Abfällen (feste Abfälle, Schlämme) wurde von dem französischen Vertreter der Arbeitsgruppe (zur Basel-Konvention beim Umweltprogramm der Vereinten Nationen (UNEP/CHW/TWG)) eine einfache, aus 1 terrestrischen (Keimung und Wachstum von Kopfsalat *Lactuca sativa*) und 1 aquatischen Testsystem (Reproduktion des Kleinkrebses *Ceriodaphnia dubia*) bestehende Testbatterie vorgeschlagen.

Als Bewertungskriterium für die Eigenschaft H12 "ökotoxisch" wird vorgeschlagen:

"Ein Abfall wird als ökotoxisch betrachtet, wenn

- der wässrige Extrakt, mit einer Konzentration von 1 % ins Testmedium eingebracht, die Reproduktion von *Ceriodaphnia dubia* um mehr als 20 % hemmt;
- der Abfall in fester Form in einer Konzentration von 10 % in ein Testsubstrat (künstl. Standardboden) eingebracht, Auflaufen der Keimlinge und das Wachstum um mehr als 50 % hemmt."

Die folgenden Erfassungs- und Bewertungsverfahren und -Maßstäbe für das Abfallkriterium H14 "ökotoxisch" wurden seitens des französi-

schen Umweltministeriums vorgeschlagen (zitiert bei Ferrari 2000):

Testsystem	Norm	Schwellenwert
indirekte Verfahren (über Eluat)		
Microtox™ (30 min)	NF T 90-320	$EC_{50} \leq 10\%$ → ökotoxisch
Daphnien-Test akut (48 h)	EN ISO 6341	$EC_{50} \leq 10\%$ → ökotoxisch
Algen-Test (72 h)	NF EN 28692	$EC_{20} \leq 0,1\%$ → ökotoxisch
<i>Ceriodaphnia dubia</i> chronisch (7 d) oder <i>Daphnia magna</i> chronisch (21 d)	OECD 211	$EC_{20} \leq 0,1\%$ → ökotoxisch
direkte Verfahren (über Abfall)		
Höhere Pflanzen (14 d)	ISO 11269-2	$EC_{50} \leq 10\%$ → ökotoxisch
Regenwurm (14 d)	NF X31-251	$EC_{50} \leq 10\%$ → ökotoxisch

Tab. 12: Verfahrensvorschlag französisches Umweltministerium (zitiert bei Ferrari 2000).

9 Glossar

a	Jahr(e)	LOAEL	niedrigste schädliche Dosis/Konzentration (lowest observed adverse effect level) → NOAEL
akut	kurzfristig, kurzzeitig, einmalige Exposition (wenige Stunden – wenige Tage)	L/S	Liquid/Solid-Ratio Flüssig/Feststoff-Verhältnis bei Elution
APHA	American Public Health Association (USA, Washington)	min	Minuten
ASTM	American Society for Testing and Materials (USA)	mutagen	Mutationen verursachend
CEC	Kationenaustauschkapazität des Bodens (Cation Exchange Capacity)	NOAEL	höchste unschädliche Dosis/Konzentration (no observed adverse effect level) → LOAEL
chronisch	langanhaltend, langfristig; über mehrere Wochen bzw. längere Zeitabschnitte des Lebenszyklus umfassend	PCA	Hauptkomponentenanalyse (Principal Component Analysis), multivariates statistisches Auswerteverfahren
CV	Variationskoeffizient; Relativmaß für Variabilität; Standardabweichung / arithm. Mittelwert (coefficient of variation)	phyto-toxisch	pflanzenschädigend
cyto-toxisch	zellschädigend	subakut	wiederholte Exposition über mehrere Tage – 1 (2) Wochen
d	Tage	sub-chronisch	wiederholte Exposition über mehrere Wochen
EC ₅₀ EC _x	Wirkungskonzentration, Stoffkonzentration, die eine 50%ige (bzw. x-%ige) Veränderung (meist Hemmung) eines Wirkungsparameters bewirkt; (effective concentration)	teratogen	Missbildungen verursachend
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure, organischer Komplexbildner	TU	Toxic Unit, Toxizitätseinheit, berechnet als 100/LC ₅₀ oder 100/EC ₅₀ (allgem: 100/EC _x)
G-Werte	diejenige Verdünnungsstufe (reziproker Verdünnungsfaktor), die innerhalb einer Verdünnungsreihe (Verdünnungsschritte: Faktor 2) erstmalig eine Hemmung unterhalb der Bewertungsgrenze zeigt (meist Hemmung von 20 %, beim Daphnien-Test: Immobilisierung 10 %)	terrestrisch	die Erde betreffend (Gegensatz: aquatisch, limnisch)
h	Stunden	UNEP	Umweltprogramm der Vereinten Nationen (United Nations Environmental Program)
LAS	Laurylalkylbenzolsulfonat; Natrium-n-dodecylbenzolsulfonat; Waschmittelrohstoff	US-EPA	US Environmental Protection Agency US-amerikanische Umweltbehörde
LC ₅₀	akute Schadstoffkonzentration, die für 50% der Versuchsorganismen tödlich ist (lethal concentration)	WGK	Wassergefährdungsklasse
LOD	Bestimmungsgrenze (limit of detection)	wo	Wochen

10 Literatur

- ACHAZI, R K; CHROSCZ, G; MIERKE, W; SCHÄFER, R; FACCIN, R** (2000). Neuentwicklung und Praxiserprobung bodenzoologischer Testmethoden zur Erfolgskontrolle bei der Sanierung von Altlasten - Praxiserprobung und Standardisierung von Testmethoden mit terrestrischen Invertebraten (TV 4.2.1). Leitfaden "Biologische Verfahren zur Bodensanierung" "Bodenzoologische Testmethoden -terrestrische Invertebraten" 9.3.2 Verbundvorhaben 4: Ökotoxikologische Testbatterien. Förderkennzeichen: 1491032; 1996-1999.
- ACHAZI, R; RÖMBKE, J; RIEPERT, F** (2000). Collembolen als Testorganismen. In: HEIDEN, S; ERB, R; DOTT, W.; EISENTRÄGER, A (Eds.) Toxikologische Beurteilung von Böden – Leistungsfähigkeit biologischer Testverfahren. Spektrum Verlag, Heidelberg. S. 83-103.
- AFNOR** (2000). XP X31-211 Waste - Test for the determination of the leachability of a solid waste material initially massive or generated by a solidification process.
- ALBA, N; GASSO, S; LACORTE, T; BALDASANO, J M** (1997). Characterization of municipal solid waste incineration residues from facilities with different air pollution control systems. *J Air Waste Manage Assoc* **47**:1170-1179.
- ASSMUTH, T; PENTTILÄ, S** (1995). Characteristics, determinants and interpretations of acute lethality in daphnids exposed to complex waste leachates. *Aquat Toxicol* **31**:125-141.
- ASTM- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING MATERIALS.** [HTTP://WWW.ASTM.ORG/](http://www.astm.org/)
- ATWATER, J; JASPER, S; MAVINIC, D; KOCH, F** (1983). Experiments using Daphnia to measure landfill leachate toxicity. *Water Res* **17**:1855-1861.
- BASTIAN, K C; ALLEMAN, J E** (1998). Microtox™ characterization of foundry sand residuals. *Waste Manag* **18**:227-234.
- BAUA** (2001). Leitfaden für Meldungen neuer Stoffe nach dem Chemikaliengesetz. 3. überarbeitete Auflage; Anmeldestelle Chemikaliengesetz, Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, Stand 13.11.2001.
- BAUN, A; KLOFT, L; BJERG, P L; NYHOLM, N** (1999). Toxicity testing of organic chemicals in groundwater polluted with landfill leachate. *Environ Toxicol Chem* **18**(9):2046-2053.
- BECKER VAN SLOOTEN, K; ROSSEL, D; TARRADELLAS, J** (1999). Gefährdungsabschätzung - Anwendung ökotoxikologischer Testverfahren auf Sickerwasser und Eluate von belasteten Standorten. Bundesamt für Umwelt, Wald und Landwirtschaft (BUWAL); 45 S.
- BEKAERT, C; FERRIER, V; MARTY, J; PFOHL-LESZKOWICZ, A; BISPO, A; JOURDAIN, M J; JAUZEIN, M; LAMBOLEZ-MICHEL, L; BILLARD, H** (2002). Evaluation of toxic and genotoxic potential of stabilized industrial waste and contaminated soils. *Waste Managem Res* **22**:241-247.
- BENFENATI, E; FACCHINI, G; PIERUCCI, P; FANELLI, R** (1996). Identification of organic contaminants in leachates from industrial waste landfills. *trends anal chem* **15**(8):305-310.
- BENGTSOON, B; TRIET, T** (1994). Tapioca-starch wastewater toxicity characterized by Microtox and duckweed tests. *AMBIO* **23**:473-477.
- BERGFELDT, B; DÄUBER, E; SEIFERT, H; VEHLow, J; DRESCH, H; MARK, F** (2000). Rostaschenqualität nach Mitverbrennung der Shredderleichtfraktion in Abfallverbrennungsanlagen. *Müll Abfall* **3**:138-144.

- BERVOETS, L; BAILLIEUL, M; BLUST, R; VERHEYEN, R** (1996). Evaluation of effluent toxicity and ambient toxicity in a polluted lowland river. *Environ Pollut* **91**:333-341.
- BIERKENS, J; KLEIN, G; CORBISIER, P; VAN DEN VEUVEL, R; VERSCHAEVE, L; WELTENS, R; SCHOETERS, G** (1998). Comparative sensitivity of 20 bioassays for soil quality. *Chemosphere* **37**(14-15):2935-2947.
- BILLMAIER, K; PIELER, J; RUHLAND, J; EINBRODT, H J** (1994). Bewertung von Abfallstoffen hinsichtlich ihrer Deponierbarkeit vor dem Hintergrund der neuen TA Siedlungsabfall - Vorstellung eines Handlungskonzeptes. *Forum Städte-Hygiene* **45**(4):166-172.
- BITTON, G; RHODES, K; KOOPMAN, B; CORNEJO, M** (1995). Short-term toxicity assay based on daphnid feeding behavior. *Water Environ Res* **68**(3):290-293.
- BITTON, G; RHODES, K; KOOPMAN, B** (1996). CerioFAST™: An acute toxicity test based on *Ceriodaphnia dubia* feeding behavior. *Environ Toxicol Chem* **15**(2):123-125.
- BÖDECKER, W; ALTERNBURGER, R; FAUST, M; GRIMME, L H** (1992). Biometrische Verfahren zur Auswertung von Biotests. In: STEINHÄUSSER, K G; HANSEN, P-D (Eds.) Schriftenreihe des Vereins für Wasser-, Boden- und Lufthygiene, 89: Biologische Testverfahren. Gustav Fischer, Stuttgart/New York, S. 67-81. (Beiträge zu den Biotest-Statusseminaren 1989 und 1992).
- BRACK, W; ROTTLER, H; FRANK, H** (1998). Volatile fractions of landfill leachates and their effect on *Chlamydomonas reinhardtii*: in vivo chlorophyll A fluorescence. *Environ Toxicol Chem* **17**(10):1982-1991.
- BRACKEMANN, H; HAGENDORF, U; HAHN, J; VOGEL, U** (2000)A. Untersuchung von Abfällen mit biologischen Testverfahren zur Bewertung der Wassergefährdung Teil 1: Experimentelle Ergebnisse. *UWSF - Z Umweltchem Ökotox* **12**(1):5-12.
- BRACKEMANN, H; HAGENDORF, U; HAHN, J; VOGEL, U** (2000)B. Untersuchung von Abfällen mit biologischen Testverfahren zur Bewertung der Wassergefährdung Teil 2: Zuordnung der toxischen Wirkungen und Ableitung eines Beurteilungsschemas. *UWSF - Z Umweltchem Ökotox* **12**(2):69-73.
- BRASSER, T; BAHARDIR, M; SCHRAMM, K-W** (1998). Erprobung und Anpassung ökotoxikologischer Methoden zur Bewertung UTD-relevanter Abfall-Eluate. Abschlussbericht BMBF-Vorhaben 02 C 0284 0 und 02 C 0415 9. GRS mbH.
- BRASSER, T; BREWITZ, W; BAHADIR, M; REICHEL, C** (1995). Auslaugverhalten von schwermetallhaltigen Sonderabfällen in Untertagedeponien. *Müll Abfall* **27**(6):388-402.
- BRASSER, T** (1998). Einsatz ökotoxikologischer Methoden zur Bewertung schadstoffhaltiger Abfall-Eluate. *Abfallwirtschafts-Journal* **4**:15-19.
- BRILS, J; STRONKHORST, J; VAN DE GUCHTE, K** (2000). The status and use of bioassays for the assessment of contaminated sediments in the Netherlands. In: GANDRASS, J; SALOMONS, W; FOERSTNER, U (Eds.) *Dredged Material in the Port of Rotterdam - Interface between Rhine Catchment Area and North Sea.*, S. 12-16. (River Sediments and Related Dredged Material in Europe - Scientific Background from the Viewpoints of Chemistry, Ecotoxicology and Regulations - GKSS Research Centre, Geesthacht; 3.-5. April 2000).
- BRINKMANN, U; HÖRING, K; HEIM, M; HAGEDORN, S; EHRIG, H-J** (1995). Einfluss der Abfallvorbehandlung auf das Emissionsverhalten von Ablagerungen sowie die Beurteilung durch Biotests. *Veröffentl. des Fachgebietes Abfall- und Siedlungswasserwirtschaft der BUGH Wuppertal; Heft 1*; S. 373-412.

- BRINKMANN, U** (1996). Abfallanalytik: Welche Informationen liefern biologische Testverfahren? Beiträge zur Abfallwirtschaft; Schriftenreihe des Instituts für Abfallwirtschaft und Altlasten, TU Dresden; Band 4: Langzeitverhalten von Deponien; 139-156; BILITEWSKI (Hrsg.).
- BRINKMANN, U; HÖRING, K; HEIM, M; EHRIG, H-J** (1996). Emissionsverhalten von unbehandeltem und mechanisch-biologisch vorbehandeltem Restmüll unter Deponiebedingungen. Müll Abfall **28**(2):72-81.
- BUCHHOLZ, B A; LANDSBERGER, S** (1995). Leaching dynamics studies of municipal solid waste incinerator ash. J Air Waste Manage Assoc **45**(8):579-590.
- BULICH, A** (1984). Microtox - A bacterial toxicity test with several environmental applications. In: LIU, D; DUTKA, B J (Eds.) Toxicity screening procedures using bacterial systems. Marcel Dekker, NewYork, S. 55-64.
- BURTON, W; PINKNEY, A** (1994). Yellow perch larval survival in the Zekiah Swamp watershed (Wicomico River, Maryland) relative to the potential effects of a coal ash storage facility. Water, Air Soil Pollut **72**:235-249.
- CALLEJA, A; BALDASANO, J M; MULET, A** (1986). Toxicity analysis of leachates from hazardous wastes via Microtox and Daphnia magna. Tox Assessm **1**:73-83.
- CALLEN, M; MARANON, E; MASTRAL, A; MURILLO, R; SALGADO, P; SASTRE, H** (1998). Ecotoxicological assessment of ashes and particulate matter from fluidized bed combustion of coal. Ecotoxicol Environ Safety **41**:59-61.
- CAMERON, R D; KOCH, F A** (1980). Toxicity of landfill leachates. J WPCF **52**(4):760-769.
- CAMPELL, C D; WARREN, A; CAMERON, C M; HOPE, S J** (1997). Direct toxicity assessment of two soils amended with sewage sludge contaminated with heavy metals using a protozoan (*Colpoda steinii*) bioassay. Chemosphere **34**(3):501-514.
- CEN PREN 12457-2** (2001). Europäisches Komitee für Normung. Characterization of waste – Leaching – Compliance test for leaching of granular waste material and sludge – Part 2: one stage batch test at a liquid to solid ratio of 10 l/kg with particle size below 4 mm (without or with size reduction).
- CEN TC 292/WG 7/N45** (2002): Europäisches Komitee für Normung. Characterization of waste – preparation of waste samples for ecotoxicity tests.
- CEN TC 292/WG6**. Characterization leaching tests. WI 292016: percolation simulation test.
- CHANG, E; CHIANG, P C; LU, P H; KO, Y W** (2001). Comparisons of metal leachability for various wastes by extraction and leaching methods. Chemosphere **45**:91-99.
- CHEUNG, K C; CHU, L M; WONG, M H** (1993). Toxic effect of landfill leachate on microalgae. Water, Air Soil Pollut **69**:337-349.
- CLEMENT, B; BOUVET, Y** (1993). Assessment of landfill leachate toxicity using the duckweed *Lemna minor*. Sci Total Environ **S93**(Suppl. 1993):1179-1190.
- CLEMENT, B; MERLIN, G** (1995). The contribution of ammonia and alkalinity to landfill leachate toxicity to duckweed. Sci Total Environ **170**:71-79.
- CLEMENT, B; PERSOONE, G; JANSSEN, C; LE DU-DELEPIERRE, A** (1996). Estimation of the hazard of landfills through toxicity testing of leachates. I. Determination of leachate toxicity with a battery of acute tests. Chemosphere **33**(11):2303-2320.
- CLEMENT, B; JANSSEN, C; LE DU-DELEPIERRE, A** (1997). Estimation of the hazard of landfills through toxicity testing of leachates - 2. Comparison of physico-chemical characteristics of landfill leachates with their toxicity determined with a battery of tests. Chemosphere **35**(11):2783-2796.

- CORBISIER, P; THIRY, E; DIELS, L** (1996). Bacterial biosensors for the toxicity assessment of solid wastes. *Env Tox Water Qual* **11**:171-177.
- COSTAN, G; BERMINGAM, M; BLAISE, C; FERARD, J F** (1993). Potential Ecotoxic Effects Probe (PEEP): A novel index to assess and compare the toxic potential of industrial effluents. *Env Tox Water Qual* **8**:115-140.
- CZERNIAWSKA-KUSZA, I; EBIS, M** (2000). Toxicity of waste dump leachates and sugar factory effluents and their impact on groundwater and surface water quality in the Opole Province in Poland. In: **PERSOONE, G; JANSSEN, C; DE COEN, W** (Eds.) *New microbiotests for routine toxicity screening and biomonitoring*, 1st ed., S. 319-322.
- DE COEN, W M; JANSSEN, C R; GIESY, J P** (2000). Biomarker applications in ecotoxicology: bridging the gap between toxicology and ecology. In: **PERSOONE, G; JANSSEN, C; DE COEN, W** (Eds.) *New microbiotests for routine toxicity screening and biomonitoring*, 1st ed., S. 13-25.
- DEIPSER, A; STEGMANN, R** (1993). Untersuchungen von Hausmüll auf leichtflüchtige Spurenstoffe. *Müll Abfall* **25**(2):69-81.
- DEVARE, M; BAHADIR, M** (1994). Biological monitoring of landfill leachate using plants and luminescent bacteria. *Chemosphere* **28**(2):261-271.
- DEVILLERS, J; THIOULOUSE, J; KARCHER, W** (1993). Chemometrical evaluation of multispecies-multichemical data by means of graphical techniques combined with multivariate analyses. *Ecotoxicol Environ Safety* **26**:333-345.
- DIEHL, K; HAGENDORF, U** (1998). Datensammlung Bioteste - Erhebungen, Bewertung, Empfehlungen. *UBA Texte* **9/98**; 245 S.
- DIN EN 28692**, Ausgabe:1993-04. Wasserbeschaffenheit; Wachstumshemmtest mit den Süßwasseralgen *Scenedesmus subspicatus* und *Selenastrum capricornutum* (ISO 8692:1989); Deutsche Fassung EN 28692:1993.
- DIN ISO 11269-1**, Ausgabe:1997-06. Bodenbeschaffenheit - Bestimmung der Wirkungen von Schadstoffen auf die Bodenflora - Teil 1: Verfahren zur Messung der Wurzelwachstumshemmung (ISO 11269-1:1993).
- DIN ISO 11269-2**, Ausgabe:1997-10. Bodenbeschaffenheit - Bestimmung der Wirkungen von Schadstoffen auf die Bodenflora - Teil 2: Wirkung von Schadstoffen auf Saatauf- und Wachstum höherer Pflanzen (ISO 11269-2:1995).
- DIN ISO 11268-1**, Ausgabe:1997-04. Bodenbeschaffenheit - Wirkungen von Schadstoffen auf Regenwürmer (*Eisenia fetida*) - Teil 1: Verfahren zur Bestimmung der akuten Toxizität unter Verwendung von künstlichem Bodensubstrat (ISO/DIS 11268-1:1993).
- DIN ISO 11268-2**, Ausgabe:2000-03. Bodenbeschaffenheit - Wirkung von Schadstoffen auf Regenwürmer (*Eisenia Fetida*) - Teil 2: Bestimmung der Wirkung auf die Reproduktionsleistung (ISO 11268-2:1998).
- DIN ISO 11268-3**, Ausgabe:2000-03. Bodenbeschaffenheit - Wirkung von Schadstoffen auf Regenwürmer - Teil 3: Anleitung für die Bestimmung von Wirkungen unter Freilandbedingungen (ISO 11268-3:1999).
- DIN ISO 11267**, Ausgabe:2001-06. Bodenbeschaffenheit - Hemmung der Reproduktion von Collembolen (*Folsomia candida*) durch Bodenschadstoffe (ISO 11267:1999).
- DIN 38412-30**, Ausgabe:1989-03. Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung; Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L); Bestimmung der nicht akut giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Daphnien über Verdünnungsstufen (L 30).

- DIN 38412-31**, Ausgabe:1989-03. Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung; Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L); Bestimmung der nicht akut giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Fischen über Verdünnungsstufen (L 31).
- DIN 38414-4**, Ausgabe:1984-10. Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung; Schlamm und Sedimente (Gruppe S); Bestimmung der Eluierbarkeit mit Wasser (S 4).
- DIN 38412-33**, Ausgabe:1991-03. Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung; Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L); Bestimmung der nicht giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Grünalgen (Scenedesmus-Chlorophyll-Fluoreszenztest) über Verdünnungsstufen (L 33).
- DIN 38412-37**, Ausgabe:1999-04. Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L) - Teil 37: Bestimmung der Hemmwirkung von Wasser auf das Wachstum von Bakterien (*Photobacterium phosphoreum*; Zellvermehrungs-Hemmtest) (L 37).
- DIN EN ISO 11348-1-3** (1999). Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von *Vibrio fischeri* (Leuchtbakterientest).
- EDWARDS, N T; ROSS-TODD, B M** (1980). An improved bioassay technique used in solid waste leachate phytotoxicity research. *Environ Exp Bot* **20**:31-38.
- EHRIG, H-J; BRINKMANN, U; HÖRING, K; HELFER, A** (1997). Vorbereitung und Koordination des Verbundvorhabens Deponiekörper sowie Untersuchungen zum Gefährdungspotential, Deponie- und Langzeitverhalten vorbehandelter und zum Teil separierter Siedlungsabfälle - Abschlussbericht. Bergischer Universität-Gesamthochschule Wuppertal - Fachgebiet Abfall- und Siedlungswasserwirtschaft.
- EICHHORN, P** (1997). Vergleichende Untersuchungen zur Empfindlichkeit ökotoxikologischer Wirkungstests und chemisch-analytischer Methoden. Diplomarbeit Thesis, Inst. f. Ökologische Chemie und Abfallanalytik, TU Carolo-Wilhelmina, Braunschweig.
- EPA - ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY** (1997). Test Methods for Evaluating Solid Waste, Physical/Chemical Methods; Third Ed. (EPA Publication SW-846).
- ERNST, W R; HENNIGAR, P; DOE, K; WADE, S; JULIEN, G** (1994). Characterization of the chemical constituents and toxicity to aquatic organisms of a municipal landfill leachate. *Water Poll Res J Canada* **29**:89-101.
- ETTALA, M** (1992). Effects of vegetation on landfill hydrology. In: CHRISTENSEN, T; COSSU, R; STEGMANN, R (Eds.) *Landfilling of waste: Leachate*, 1st ed., S. 53-64.
- FERARD, J-F; FERRARI, B** (1997). Quel test de toxicité chronique sur invertébrés faut-il choisir pour l'évaluation de la dangerosité des déchets? *Déchets Sciences et Techniques* **8**:44-47.
- FERGUSON, C; DARMENDRAIL, D; FREIER, K; JENSEN, B K; JENSEN, J; KASAMAS, H; URZELAI, A; VEGTER, j; CARACAS** (Eds.) (1998). Risk Assessment for Contaminated Sites in Europe, Vol. 1 Scientific Basis. LQM Press, Nottingham. Report prepared as part of the Concerted Action on Risk Assessment for Contaminated Sites in the European Union (CARACAS).
- FERRARI, B** (2000). Contribution à L'étude de l'écocompatibilité des déchets: approche écotoxicologique. Thèse de doctorat. Université de Metz.
- FERRARI, B; RADETSKI, C M; VEBER, A-M; FERARD, J-F** (1999). Ecotoxicological assessment of solid wastes: a combined liquid- and solid-phase testing approach using a battery of bioassays and biomarkers. *Environ Toxicol Chem* **18**(6):1195-1202.

- FERRETTI, M; ERHARDT, W** (2002). Key issues in designing biomonitoring programmes – Monitoring scenarios, sampling strategies and quality assurance. In: Nimmis, P L; Schiedegger, C; Wolseley, P A. Monitoring with Lichens. Kluwer Academic Publ. Netherlands. S. 111-130.
- FONT, R; GOMIS, V; FERNANDEZ, J; SABATER, M C** (1998). Physico-chemical characterization and leaching of tannery wastes. Waste Managem Res **16**:139-149.
- FORT, D J; STOVER, E L; NORTON, D** (1995). Ecological hazard assessment of aqueous soil extracts using FETAX. J appl Toxicol **15**(3):183-191.
- GEIS, S; FLEMING, K; KORTHALS, E; SEARLE, G; REYNOLDS, L; KARNER, D** (2000). Modifications to the algal growth inhibition test for use as a regulatory assay. Environ Toxicol Chem **19**(1):36-41.
- GRAPENTINE, L C; REYNOLDSON, T B; THOMPSON, S P; MILANI, D** (2000). Setting toxicity criteria using multiple test endpoints: A comparison of multivariate and ranking methods. In: GANDRASS, J; SALOMONS, W; FOERSTNER, U (Eds.) Dredged Material in the Port of Rotterdam - Interface between Rhine Catchment Area and North Sea. GKSS Research Centre, Geesthacht, S. 26-29. (River Sediments and Related Dredged Material in Europe - Scientific Background from the Viewpoints of Chemistry, Ecotoxicology and Regulations - GKSS Research Centre, Geesthacht; 3.-5. April 2000).
- GRIEST, W H; TYNDALL, R L; STEWART, A J; CATON, J E; VASS, A; HO, C-H; CALDWELL, W M** (1995). Chemical characterization and toxicological testing of windrow composts from explosives-contaminated sediments. Environ Toxicol Chem **14**(1):51-59.
- HAGENDORF, U; BÖRNERT, W** (1991). Zum Nachweis gefährlicher Stoffe im Deponiesickerwasser durch biologische Testverfahren. In: Handbuch der Altlastensanierung., S. 1-14.
- HAMILTON, K L; NELSON, W G; CURLEY, J L** (1993). Toxicological evaluation of the effects of waste-to-energy ash-concrete on two marine species. Environ Toxicol Chem **12**:1919-1930.
- HEIDEN, S; ERB, R; DOTT, W; EISENTRÄGER, A** (Eds.) (2000). Toxikologische Beurteilung von Böden – Leistungsfähigkeit biologischer Testverfahren. Deutsche Bundesstiftung Umwelt. Spektrum – Fischer, Heidelberg, Fischer. 249 S.
- HEIM, M; EHRIG, H-J; BRINKMANN, U** (1996). Use of *Vibrio fischeri* as test organism in determining toxicity of emission of deposited municipal solid wastes. Biospektrum **1996** (Sonderband):60.
- HJELMAR, O; VAN DER SLOOT, H A** (1997). Granular waste and industrial sludges. In: VAN DER SLOOT, H A; HEASMAN, L; QUEVAUVILLER, P (Eds.) Studies in Environmental Science, 70: Harmonization of Leaching/Extraction tests. Elsevier, Amsterdam, S. 131-170.
- HUND, K; KÖRDEL, W** (1996). Erfassung der Grundwassergefährdung durch aquatische Testsysteme. In: STEGMANN, R (Ed.) Hamburger Berichte, 10: Neue Techniken der Bodenreinigung - Chemisch-physikalische und biologische Verfahrensentwicklung unter Berücksichtigung der bodenkundlichen und analytischen Bewertung. Economica Verlag, Bonn, S. 207-218. (Dokumentation des 3. SFB 188-Seminars in Hamburg 1996).
- HUND-RINKE, K; KÖRDEL, W; Heiden, S; Erb, R** (2002). Ökotoxikologische Testbatterien: Ergebnisse eines DBU-geförderten Ringtests. E. Schmidt, Berlin. 241 S..

- HUND-RINKE, W; RÖMBKE, J; RIEPERT, F; ACHAZI, R** (2000). Beurteilung der Lebensraumfunktion von Böden mit Hilfe des Regenwurmtests. In: HEIDEN, S; ERB, R; DOTT, W.; EISENTRÄGER, A (Eds.) Toxikologische Beurteilung von Böden – Leistungsfähigkeit biologischer Testverfahren. Spektrum Verlag, Heidelberg. S. 59-81.
- HUND-RINKE, K; WIECHERING, H** (2001). Earthworm avoidance test for soil assessment - An alternative for acute and reproduction tests. *J Soils Sediments* **1**:15-20.
- ISO 6341** (1996). Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der Wirkung von Wasserinhaltsstoffen auf die Bewegungsfähigkeit von *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) - Akuter Toxizitätstest.
- ISO 10706** (2000). Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der Langzeit-Toxizität von Stoffen gegenüber *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea).
- ISO 11267** (1999). Soil quality -- Inhibition of reproduction of *Collembola* (*Folsomia candida*) by soil pollutants.
- ISO 11268, 1-3** (1999). Soil quality -- Effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*).
- ISO 11269-1/ (2001)**. Soil quality -- Determination of the effects of pollutants on soil flora -- Part 1: Method for the measurement of inhibition of root growth
- ISO 11269-2/ (1995)**. Soil quality -- Determination of the effects of pollutants on soil flora -- Part 2: Effects of chemicals on the emergence and growth of higher plants
- ISO 14238** (1997). Soil quality -- Biological methods -- Determination of nitrogen mineralization and nitrification in soils and the influence of chemicals on these processes
- ISO/CD 22030** (2002). Soil quality - biological methods - chronic toxicity in higher plants. DRAFT ISO/CD 22030 NAW I 2/UA 4 N0024.
- ISO TC 190/SC 7** (2002). Soil quality - Guidance on the ecotoxicological characterization of soils and soil materials. ISO/FDIS 15799:2002(E) - International Standard.
- ISO/DIS 22030**, Ausgabe:2003-10 (Norm-Entwurf). Bodenbeschaffenheit - Biologische Verfahren - Chronische Toxizität in höheren Pflanzen.
- JANSSEN, C R; VANGHELUWE, M; VAN SPRANG, P** (2000). A brief review and critical evaluation of the status of microbiotests. In: PERSOONE, G; JANSSEN, C; DE COEN, W (Eds.) New microbiotests for routine toxicity screening and biomonitoring, 1st ed., S. 27-37.
- JAUZEIN, M; JOURDAIN, M J; BISPO, A; SAVANNE, D** (1999). Ecotoxicité des sols et des déchets: Extraction des polluants. ADEME Editions, Paris (France); 138 p.
- JEAN, G; FRUGET, J F** (1994). Comparison of ecotoxicological and physico-chemical data by use of multivariate analyses and graphical displays. *Chemosphere* **28**(12):2249-2267.
- JENNER, H A; JANSSEN-MOMMEN, J P M** (1993). Duckweed *Lemna minor* as a tool for testing toxicity of coal residues and polluted sediments. *Arch Environ Contam Toxicol* **25**:3-11.
- JENNER, H A; JANSSEN-MOMMEN, J P M; KOEMAN, J H** (1992). Effects of coal gasification slag as a substrate for the plant *Cyperus esculentus* and the worm *Eisenia fetida*. *Ecotoxicol Environ Safety* **24**:46-57.
- JENNER, H** (1995). Assessment of ecotoxicological risks of element leaching from pulverized coal ashes. Ph.D. Dissertation, Waageningen. (Part 1).

- JOUTTI, A; SCHULTZ, E; TUUKANEN, E; VAAJASAARI, K** (2000). Industrial waste leachates: toxicity detection with microbiotests and biochemical tests. In: **PERSOONE, G; JANSSEN, C; DE COEN, W** (Eds.) *New microbiotests for routine toxicity screening and biomonitoring*, 1st Ed., S. 347-355.
- KAHRU, A; POLLUMAA, L; REIMAN, R; RÄTSEP, A** (2000). Microbiotests for the evaluation of the pollution from the oil shale industry. In: **PERSOONE, G; JANSSEN, C; DE COEN, W** (Eds.) *New microbiotests for routine toxicity screening and biomonitoring*, 1st ed., S. 357-365.
- KAMPKE-THIEL, K; FREITAG, D; KETTRUP, A; BAHADIR, M** (1994). Ecotoxicological assessment of inorganic waste disposal in salt mines. PART 1: Tests with aquatic organisms. *Fresenius Envir Bull* **3**:113-118.
- KANEKO, H** (1996). Evaluation of municipal waste incinerator fly ash toxicity and the role of cadmium by two aquatic toxicity tests. *Waste Manag* **16**:555-559.
- KAUR, R; BUCKLEY, B; PARK, S S; KIM, Y K; COOPER, K R** (1996). Toxicity test of Nanji Island landfill (Seoal, Korea) leachate using Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) embryo larval assay. *Bull Environ Contam Toxicol* **57**:84-90.
- KBwS** (2003). Kommission Bewertung wassergefährdender Stoffe. Bewertung der Wassergefährdung von Abfällen, März 2003.
- KRISTENSEN, P** (1992). Ecotoxicological characteristics of landfill leachate. In: **CHRISTENSEN, T; COSSU, R; STEGMANN, R** (Eds.) *Landfilling of waste: Leachate*, 1st ed., S. 89-105.
- KUCKLICK, M; HARBORTH, P; HANERT, H H** (1995). Anwendung eines ökotoxikologischen Testsystems (Leuchtbakterientest) zur Emissionsüberwachung bei der Umlagerung von Deponien. *Müll Abfall* **27**(11):765-768.
- KWAN, K K; DUTKA, B J** (1995). Comparative assessment of two solid-phase toxicity bioassays: The Direct Sediment Toxicity Testing Procedure (DSTTP) and the Microtox Solid-Phase Test (SPT). *Bull Environ Contam Toxicol* **55**:338-346.
- LABO-ALA** (2000). Altablagerungen und Altstandorte - Merkblatt ALEX 11 - Biologische Verfahren in der Laboranalytik bei Altlasten. Landesamt für Umweltschutz und Gewerbeaufsicht Rheinland-Pfalz, Oppenheim.
- LAMBOLEZ, L; VASSEUR, P; FERARD, J; GISBERT, T** (1994). The environmental risks of industrial waste disposal: An experiment approach including acute and chronic toxicity studies. *Ecotoxicol Environ Safety* **28**:317-328.
- LANDGRAF, D; MACHULLA, G; TANNEBERG, H** (1995). Grundgehalte und pflanzenverfügbare Gehalte an Schwermetallen in Böden aus natürlichen und anthropogenen Substraten. *Mengen- und Spurenelemente* **15**:163-170.
- LAPA, N; SANTOS OLIVEIRA, J F; CAMACHO, S L; CIRCEO, L J** (2002). An ecotoxic risk assessment of residue materials produced by the plasma pyrolysis/vitrification (PP/V) process. *Waste Manag* **22**:335-342.
- LAPA, N; BARBOSA, R; MORAIS, J; MENDES, B; MEHU, J; SANTOS OLIVEIRA, J F** (2002). Ecotoxicological assessment of leachates from MSWI bottom ashes. *Waste Manag* **22**:583-593.
- LAPPALAINEN, J; JUVONEN, R; VAAJASAARI, K; KARP, M** (2000). A new flash assay for measuring the toxicity of solid and colored samples. In: **PERSOONE, G; JANSSEN, C; DE COEN, W** (Eds.) *New microbiotests for routine toxicity screening and biomonitoring*, 1st ed., S. 141-143.
- LATIF, M; PERSOONE, G; JANSSEN, C; DE COEN, W; SVARDAL, K** (1995). Toxicity evaluations of waste waters in Austria with conventional and cost-effective bioassays. *Ecotoxicol Environ Safety* **32**:139-146.

- LATIF, M; ZACH, A** (2000). Toxicity studies of treated residual wastes in Austria using different types of conventional assays and cost-effective microbiotests. In: **PERSOONE, G; JANSSEN, C; DE COEN, W** (Eds.) *New microbiotests for routine toxicity screening and biomonitoring*, 1st ed., S. 367-383.
- LENZ, D; LINDNER, A; GÖBES, S; URBANEK, M; BRESCH, H; HANKE, W** (1993). Ökotoxikologische Bestimmung an Deponiesickerwässern. In: **BREITENSTEIN, A; FRIETSCH, G; WAITZMANN, M; ZELESNY, H** (Eds.) *1. Statuskolloquium des PAÖ, Vol. 1. Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg, Karlsruhe*, S. 561-568. (Veröffentlichungen Projekt "Angewandte Ökologie" Band 7; 29./30.03.1993 im Schloss Ettlingen).
- LEWIN, K** (1996). Leaching tests for waste compliance and characterization: recent practical experiences. *Sci Total Environ* **178**:85-94.
- LFU** (1994). Altlastenerkundung mit biologischen Methoden. Ergebnisse der Modellstandortbearbeitung in Baden-Württemberg. Materialien zur Altlastenbearbeitung. Band 13. Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg, Karlsruhe. Stand Juni 1984.
- MALA, J; MARSALKOVA, E; ROVNIKOVA, P** (2000). Toxicity testing of solidified waste leachates with microbiotests. In: **PERSOONE, G; JANSSEN, C; DE COEN, W** (Eds.) *New microbiotests for routine toxicity screening and biomonitoring*, 1st ed., S. 385-390.
- MARSALEK, B; ROJICKOVA-PADRTOVA, R** (2000). Selection of a battery of microbiotests for various purposes - The Czech experience. In: **PERSOONE, G; JANSSEN, C; DE COEN, W** (Eds.) *New microbiotests for routine toxicity screening and biomonitoring*, 1st ed., S. 95-101.
- MAXAM, G; RILA, J-P; DOTT, W; EISENTRÄGER, A** (2000). Use of bioassays for assessment of water-extractable ecotoxic potential of soils. *Ecotoxicol Environ Safety* **45**:240-246.
- MILLEMANN, R E; PARKHURST, B R** (1980). Comparative toxicity of solid waste leachates to *Daphnia magna*. *Environ Intern* **4**:225-260.
- MILLER, W E; PETERSON, S A; GREENE, J C; CALLAHAN, C A** (1985). Comparative toxicology of laboratory organisms for assessing hazardous waste sites. *J Environ Qual* **14**(4):569-574.
- MUMMA, R O; RAUPACK, D C; SAHADEWAN, K; SHANE, B S; RUTZKE, M; BACHE, C A; GUTENMANN, W H; LISK, D J** (1991). Variation in the elemental composition of municipal refuse incinerator ashes with time of sampling. *Chemosphere* **23**(3):391-395.
- NDP-TOOL** (2002). National Development Plan Paper Tool of the Procedure for the Identification of the Hazardous Components of Waste (2000-DS-3-M1). March 2002.
- NEN - NEDERLAND NORMALISATIE-INSTITUT NEN 7341** (1995): Uitloog karakteristieken van vaste grond- en steenachtige bouwmaterialen en afvalstoffen - Uitloogproeven - Bepaling van de beschikbaarheid voor uitloging van anorganische componenten.
- NEN - NEDERLAND NORMALISATIE-INSTITUT NEN 7343** (1995): Uitloog karakteristieken van vaste grond- en steenachtige bouwmaterialen en afvalstoffen - Uitloogproeven - Bepaling van de uitloging van anorganische componenten uit poeder – en korrelvormige materialen met de kolomproef.

- NEN - NEDERLAND NORMALISATIE-INSTITUT NEN 7349** (1995): Uitloog karakteristieken van vaste grond- en steenachtige bouwmaterialen en afvalstoffen - Uitloogproeven - Bepaling van de uitloging van anorganische componenten uit poeder – en korrelvormige materialen met de cascadenproef.
- NEUFELD, R D; WALLACH, S** (1984). Chemical and toxicity analysis of leachates from coal conversion solid wastes. *J WPCF* **56**(3):266-273.
- NEUMANN-HENSEL, H; ONKEN, B; AHLF, W** (1999). Mineralölprodukte als Bodenverunreinigung - Eine ökotoxikologische Untersuchungsstrategie. *Erdöl, Erdgas, Kohle* **15**:309-310.
- NEUMANN-HENSEL, H; BRÜGGEMANN, R; HEISE, S; AHLF, W** (2000). Auswerte- und Interpretationsmethoden für Befunde aus Testkombinationen zur Bodenbewertung. In: HEIDEN, S; ERB, R; DOTT, W.; EISENTRÄGER, A (Eds.) *Toxikologische Beurteilung von Böden – Leistungsfähigkeit biologischer Testverfahren*. Spektrum Verlag, Heidelberg. S. 201-218
- NIMMO, DeW R; WILLOX, M J; KARISH, J F; TESSARI, J D; CRAIG, T L; GASSER, E G; SELF, J R** (1995). Non-availability of metals from an urban landfill in Virginia. *Chem Spec Bioavail* **7**(2):65-72.
- O'CONNOR, T P; PAUL, J F** (2000). Misfit between sediment toxicity and chemistry. *Marine Pollut Bull* **40**(1):59-64.
- OECD GUIDELINE 208 (2000)**. Terrestrial Plant test: 208 A: Seedling Emergence and Seedling Growth Test (Proposal).
- OECD GUIDELINE 202 (2000)**. Daphnia sp. Acute Immobilisation Test.
- ORTIZ, M I; IBANEZ, R; ANDRES, A; IRABIEN, A** (1995). Ecotoxicological characterization of metal finishing wastes. *Fresenius Envir Bull* **4**:189-194.
- PARKHURST, B R; LINDER, G; MCBEE, K; BITTON, G; DUTKA, B J; HENDRICKS, C W** (1991). Toxicity Tests. In: WARREN-HICKS, W; PARKHURST, B R; BAKER, S S jr (Eds.) *Ecological Assessment of Hazardous Waste Sites: A Field and Laboratory Reference*. US Environmental Protection Agency, Corvallis, OR, S. 6-1 - 6-66.
- PASTOR, J; ALIA, M; HERNANDEZ, A J; ADARVE, M J; URCELAY, A; ANTON, F A** (1993). Ecotoxicological studies on effects of landfill leachates on plants and animals in Central Spain. *Sci Total Environ* **S93** (Suppl. 1993):127-134.
- PENNINGTON, J C; THORN, K A; INOUE, L S; MCFARLAND, V A; JARVIS, A S; LUTZ, C H; HAYES, C A; PORTER, B E** (1999). Explosives Conjugation Products in Remediation Matrices: Final Report. US Army Corps of Engineers, Engineer Research and Development Center; Strategic Environmental Research and Development Program: Technical Report SERDP-99-4.
- PERRODIN, Y; GRELIER-VOLATIER, L; BARNA, R; GOBBEY, A** (2000). Assessment of ecocompatibility of waste disposal or waste use scenarios: Towards the elaboration and implementation of a comprehensive methodology. In: WOOLLEY, G R; GOUMANS, J J J M; WAINWRIGHT, P J (Eds.) *Waste Materials in Construction - WASCON 2000*. Pergamon, Amsterdam, S. 504-512. (Proceedings of the International Conference on the Science and Engineering of Recycling for Environmental Protection, Harrogate, England 31.05.-02.06.2000).
- PERRODIN, Y; MEHU, J; GRELIER-VOLATIER, L; CHARBONNIER, P; BARANGER, P; THORAVAL, L** (2002)A. Methodological approach toward the definition of new storage conditions for inert wastes. *Waste Manag* **22**:229-234.

- PERRODIN, Y; GOBBEY, A; GRELIER-VOLATIER, L; CANIVET, V; FRUGET, J F; GILBERT, J; TEXIER, C; CLUZEAU, D; GROS, R; POLY, F; JOCTEUR-MONROZIER, L (2002)B.** Waste ecocompatibility in storage and reuse scenarios: global methodology and detailed presentation of the impact study. *Waste Manag* **22**:215-228.
- PERSOONE, G; JANSSEN, C; DE COEN, W (1994).** Cyst-based toxicity tests. X: Comparison of the sensitivity of the acute *Daphnia magna* test and two crustacean microbiotests for chemicals and wastes. *Chemosphere* **29**(12):2701-2710.
- PETÄNEN, T (2001).** Assessment of bioavailable concentrations and toxicity of arsenite and mercury in contaminated soils and sediments by bacterial biosensors. Ph.D. Dissertation, Faculty of Science; Department of Biosciences; University of Helsinki.
- PFEIFER, F; HAAKE, F; KÖRDEL, W; EISENTRÄGER, A (2000).** Untersuchung der Rückhaltefunktion von Böden mit aquatischen Testsystemen. In: HEIDEN, S; ERB, R; DOTT, W.; EISENTRÄGER, A (Eds.) *Toxikologische Beurteilung von Böden – Leistungsfähigkeit biologischer Testverfahren*. Spektrum Verlag, Heidelberg. S. 1-18.
- PLOTKIN, S; RAM, N M (1984).** Multiple bioassays to assess the toxicity of a sanitary landfill leachate. *Arch Environ Contam Toxicol* **13**:197-206.
- PRUDENT, P; DOMEIZEL, M; MASSIANI, C (1996).** Chemical sequential extraction as decision-making tool: application to municipal solid waste and its individual constituents. *Sci Total Environ* **178**:55-61.
- CEN PREN 12457-2 (2001).** Characterization of waste – Leaching – Compliance test for leaching of granular waste material and sludge – Part 2: one stage batch test at a liquid to solid ratio of 10 l/kg with particle size below 4 mm (without or with size reduction).
- QUEVAUVILLER, P; VAN DER SLOOT, H A; URE, A; MUNTAU, H; GOMEZ, A; RAURET, G (1996).** Conclusions of the workshop: harmonization of leaching/extraction tests for environmental risk assessment. *Sci Total Environ* **178**:133-139.
- RADETSKI, C M; FERARD, J-F; BLAISE, C (1995).** A semistatic microplate-based phytotoxicity test. *Environ Toxicol Chem* **14**(2):299-302.
- RAIMONDO, S; ROWE, C; CONGDON, J (1998).** Exposure to coal ash impacts swimming performance and predator avoidance in larval bullfrogs. *Herpetology* **32**(2):289-292.
- RIEPERT, F (1998).** Ökotoxikologische Testverfahren für die Prüfung der Bodenqualität am Beispiel aktueller Richtlinien mit Organismen der Bodenfauna. *Bodenökologie und Bodengenese* **26**:Tagungband: Mobilität und Wirkung von Schadstoffen in urbanen Böden.
- RIEPERT, F; WILKE, B-M; KALSCH, W; WINKEL, B (2000).** Höhere Pflanzen als Testorganismen zur Charakterisierung der Lebensraumfunktion des Bodens als Pflanzenstandort. In: HEIDEN, S; ERB, R; DOTT, W.; EISENTRÄGER, A (Eds.) *Toxikologische Beurteilung von Böden – Leistungsfähigkeit biologischer Testverfahren*. Spektrum Verlag, Heidelberg. S. 19-42.
- RÖMBKE, J; KALSCH, W (2000).** Entwicklung eines chronischen Toxizitätstests mit Pflanzen. Leitfaden "Biologische Verfahren zur Bodensanierung" TV 4.6 "Chronische Toxizitätstests mit Pflanzen" 9.3.7 Verbundvorhaben 4: Ökotoxikologische Testbatterien. Förderkennzeichen: 1491077; 1997-1999.
- RÖMBKE, J; RIEPERT, F; ACHAZI, R (2000).** Enchytraeen als Testorganismen. In: HEIDEN, S; ERB, R; DOTT, W.; EISENTRÄGER, A (Eds.) *Toxikologische Beurteilung von Böden – Leistungsfähigkeit biologischer Testverfahren*. Spektrum Verlag, Heidelberg. S. 105-129.

- RÖNNPAGEL, K; LISS, W; AHLF, W** (1995). Microbial bioassays to assess the toxicity of solid-associated contaminants. *Ecotoxicol Environ Safety* **31**:99-103.
- RÖNNPAGEL, K; AHLF, W; JANSSEN, E** (1996). Indikatorfunktion von mikrobiellen Stellvertretertests für die Beurteilung von Bodenbelastungen. In: STEGMANN, R (ed.) *Neue Techniken der Bodenreinigung*. Economica, Bonn, S. 193-205.
- ROOKER, A P** (2000). A critical evaluation of factors required to terminate the post-closure monitoring period at solid waste landfills. MS-Thesis, North Carolina State University.
- RUTHERFORD, L A; MATTHEWS, S L; DOE, K G; JULIEN, G R J** (2000). Aquatic toxicity and environmental impact of leachate discharges from a municipal landfill. *Water Qual Res J Canada* **35**(1):39-57.
- SAKAI, S; URANO, S; TAKATSUKI, H** (1998). Leaching behavior of persistent organic pollutants (POPs) in shredder residues. *Chemosphere* **37**(9-12):2047-2054.
- SCHMIDT, R; SCHEUFLER, H; BAUER, S; WOLFF, L; PELZING, M; HERZSCHUH, R** (1995). Toxicological investigations in the semiconductor industry: III: Studies on prenatal toxicity caused by waste products from aluminum plasma etching processes. *Toxicol Environ Safety* **11**:49-61.
- SCHMITZ, R P H; EISENTRÄGER, A; DOTT, W** (1998). Miniaturized kinetic growth inhibition assays with *Vibrio fischeri* and *Pseudomonas putida* (application, validation and comparison). *J Microbiol Meth* **31**:159-166.
- SCHMITZ, R P H; EHRLICHMANN, H; EISENTRÄGER, A; DOTT, W** (1999). Ökotoxikologische Bewertung von Einzelstoffen und Umweltproben mit miniaturisierten aquatischen Biotestsystemen. In: OEHLMANN, J; MARKERT, B (Eds.) *Ökotoxikologie - Ökosystemare Ansätze und Methoden*. ecomed, Landsberg, S. 127-137.
- SCHRADER, G** (1998). Erprobung mikrobiologischer und zoologischer (Öko-)Toxizitätstests für UTD-relevante Abfalleluat. Dr.rer.nat. Thesis, Technische Universität Carolo-Wilhelmina, Braunschweig.
- SPURGEON, D J; SVENDSEN, C; RIMMER, V R; HOPKIN, S P; WEEKS, J M** (2000). Relative sensitivity of life-cycle and biomarker responses in four earthworm species exposed to zinc. *Environ Toxicol Chem* **19**(7):1800-1808.
- STEPHENSON, G L; KAUSHIK, A; KAUSHIK, N K; SOLOMON, K R; STEELE, T; SCROGGINS, R P** (1997). Use of an avoidance-response test to assess the toxicity of contaminated soils to earthworms. In: SHAPPARD, S C; BEMBRIDGE, J D; HOLMSTRUP, M; POSTHUMA, L (Eds.) *Advances in Earthworm Ecotoxicology*. SETAC, Amsterdam, S. 67-81.
- STEPHENSON, G L; KOPER, N; ATKINSON, G F; SOLOMON, K R; SCROGGINS, R P** (2000). Use of non-linear regression techniques for describing concentration-response relationships of plant species exposed to contaminated site soils. *Environ Toxicol Chem* **19**(12):2968-2981.
- STEPHENSON, G L; KUPERMAN, R G; LINDER, G L; VISSER, S** (2002). Toxicity tests for assessing contaminated soils and ground water. In: SUNAHARA, G I; RENOUX, A Y; THELLEN, C; GAUDET, C L; PILON, A (Eds.) *Environmental Analysis of Contaminated Sites*. John Wiley & Sons, S. 25-43.
- STROTMANN, U; ROLL, J; GENDIG, C; BROJA, S; CZYCHOLL, H** (1998). Bakterielle Biotestverfahren zur Bestimmung der Toxizität von Abfällen. *UWSF - Z Umweltchem Ökotox* **10**(5):271-275.

- TROGE, G; LINDNER, A; GÖBES, S; URBANEK, M; BRESCH, H; HANKE, W** (1994). Ökotoxikologische Bestimmungen an Deponiesickerwässern. In: BREITENSTEIN, A; SCHOLZ, W; WAITZMANN, M; ZELESNY, H (Eds.) 2. Statuskolloquium des PAÖ, Vol. 2. Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg, Karlsruhe, S. 569-578. (Veröffentlichungen Projekt "Angewandte Ökologie" Band 8; 22./23.03.1994 im Schloss Ettlingen).
- TVA** (1990). Technische Verordnung über Abfälle der Bundesbehörden der Schweizerischen Eidgenossenschaften
- UN-EP** (2002). United Nations Environment Programme. Development of ecotoxicological criteria for the characterization of hazardous waste: Criteria for ecotoxicity of waste according to the Basel Convention. Annex III, H12 Ecotoxic. Prepared by the Technical Working Group of the Base Convention. March 2001. K0113039 190901.
- VAAJASAARI, K; AHTIAINEN, J; NAKARI, T; DAHLBO, H** (2000). Hazard assessment of industrial waste leachability: chemical characterization and biotesting by routine effluent tests. In: PERSOONE, G; JANSSEN, C; DE COEN, W (Eds.) New microbiotests for routine toxicity screening and biomonitoring, 1st ed., S. 413-423.
- VANDENBROELE, M C; HEIJERICK, D G; VANGHELUWE, M L; JANSSEN, C R** (2000). Comparison of the conventional algal assay and the Algaltoxkit F™ microbiotest for toxicity evaluation of sediment pore waters. In: PERSOONE, G; JANSSEN, C; DE COEN, W (Eds.) New microbiotests for routine toxicity screening and biomonitoring, 1st ed., S. 261-268.
- VAN DER LELIE, D; VERSCHAEVE, L; REGNIERS, L; CORBISIER, P** (2000). Use of the bacterial tests (the VITOTOX genotoxicity test and the BIOMET heavy metal test) to analyze chemicals and the environmental samples. In: PERSOONE, G; JANSSEN, C; DE COEN, W (Eds.) New microbiotests for routine toxicity screening and biomonitoring, 1st ed., S. 197-207.
- VAN DER SLOOT, H A; HEASMAN, L; QUEVAUVILLER, P** (1997). Summary. In: VAN DER SLOOT, H A; HEASMAN, L; QUEVAUVILLER, P (Eds.) Studies in Environmental Science, 70: Harmonization of Leaching/Extraction tests. Elsevier, Amsterdam, S. 263-266.
- VANGHELUWE, M L; JANSSEN, C R; VAN SPRANG, P A** (2000). Selection of bioassays for sediment toxicity screening. In: PERSOONE, G; JANSSEN, C; DE COEN, W (Eds.) New microbiotests for routine toxicity screening and biomonitoring, 1st ed., S. 449-458.
- VELLOSI, R; GALLI, A; ROSSI, F; MORICETTI, E; BRONZETTI, G** (1988). Comparative genotoxic activity of samples collected from two different urban waste incinerators. Bull Environ Contam Toxicol **41**:461-468.
- VGB POWERTECH E.V.** (2002). Entwurf: Umwelt- und Gesundheitsverträglichkeit von Steinkohlenflugasche - Sachstandsbericht. erstellt von der VGB-Arbeitsgruppe "Umweltverträglichkeit von Kraftwerksreststoffen".
- VOGEL, U; BRACKEMANN, H; HAHN, J** (2000). Der Einsatz biologischer Testverfahren zur Bewertung des Wassergefährdungspotentials verschiedener Abfälle. Vom Wasser **94**:74-93.
- WANG, W; KETURI, P H** (1990). Comparative seed germination tests using ten plant species for toxicity assessment of a metal engraving effluent sample. Water, Air Soil Pollut **52**:369-376.
- WENTSEL, R; GUELTA, M** (1988). Avoidance of brass powder-contaminated soil by the earthworm, *Lumbricus terrestris*. Environ Toxicol Chem **7**:241-243.
- WENZEL, A; NENDZA, M; HARTMANN, P; KANNE, R** (1997). Testbattery for the assessment of aquatic toxicity. Chemosphere **35**(1/2):307-322.

- WEYERS, A; SOKULL-KLÜTTGEN, B; BARAIBAR-FENTANES, J; VOLLMER, G** (2000). Acute toxicity data: A comprehensive comparison of results of fish, Daphnia, and algae tests with new substances notified in the European Union. *Environ Toxicol Chem* **19**(7):1931-1933.
- WILKE, B-M; FLEISCHMANN, S** (2000). 9.3 Verbundvorhaben 4: Ökotoxikologische Testbatterien. Leitfaden: "Biologische Verfahren zur Bodensanierung" VV4 Ökotoxikologische Testbatterien.
- WILKE, B-M; WINKEL, B** (2000). 9.3.1 Praxiserprobung biologischer Testverfahren (TV 4.1). Leitfaden "Biologische Verfahren zur Bodensanierung" TV 4.1 "Praxiserprobung biologischer Testverfahren" 9.3 Verbundvorhaben 4: Ökotoxikologische Testbatterien. Förderkennzeichen: 1491031; 1996-1999.
- WILKE, B-M; WINKEL, B; PAULI, W** (2000). Mikrobiologische Verfahren zur Beurteilung der Lebensraumfunktion von Böden. In: HEIDEN, S; ERB, R; DOTT, W.; EISENTRÄGER, A (Eds.) *Toxikologische Beurteilung von Böden – Leistungsfähigkeit biologischer Testverfahren*. Spektrum Verlag, Heidelberg. S. 43-57.
- WIRTZ, A; KABBE, G; ROOS, H-J; FORGE, F; SCHRÖDER, H F; DOHMANN, M** (1996). Emissionsverhalten und Emissionspotential von Altablagerungen und Altdeponien. *Müll Abfall* **28**(6):399-407.
- WONG, M H; WONG, J W C** (1989). Germination and seedling growth of vegetable crops in fly ash-amended soils. *Agric Ecosys Environ* **26**:23-35.
- WUNDRAM, M; SELMAR, D; WILKEN, G; LARINK, O; MÜLLER, M; BAHADIR, M** (1996). Ökotoxikologische Bewertung von Deponiesickerwässern and Abfalleluaten. *Entsorgungspraxis* **7**:62-66.
- WUNDRAM, M; SCHRADER, G; BAHADIR, M** (1998). Ökotoxikologische Bewertung von Rückständen aus der Abfallverbrennung. In: LEITHNER (ed.) *Stoffstromspezifische Abfallbehandlung im Hinblick auf thermische Verfahren*, Vol. Heft 13. Zentrum für Abfallforschung (ZAF) TU Braunschweig, Braunschweig, S. 263-278.
- WUNDRAM, M; BAHADIR, M** (1999). Ecotoxicological test systems for prediction of environmental behaviour of toxic compounds in underground disposals. *Fresenius Envir Bull* **8**:280-287.
- WUNDRAM, M; SELMAR, D; BAHADIR, M** (1996). A new phytotoxicity test based on the inhibition of algal photosynthesis enables the assessment of hazardous leachates from waste disposals in salt mines. *Chemosphere* **32**(8):1623-1631.
- WUNDRAM, M; SELMAR, D; BAHADIR, M** (1997). Representative evaluation of phytotoxicity - Reliability and peculiarities. *Angew Bot* **71**:139-143.
- WUNDRAM, M** (1999). *Leistungsfähigkeit und Grenzen von Phytotoxizitätstests unter besonderer Berücksichtigung von Untertagedeponie-relevanten Abfalleluaten*. Dr.rer.nat Thesis, Technische Universität Carolo-Wilhelmina, Braunschweig.
- YEARDLEY, R B; LAZORCHAK, J M; GAST, L C** (1996). The potential of an earthworm avoidance test for evaluation of hazardous waste sites. *Environ Toxicol Chem* **15**(9):1532-1537.
- YOSHINO, H; URANO, K; AWAJI, N** (1993). Extraction method for the Ames mutagenicity test of municipal incinerator ash. *Mutat Res* **292**:303-304. (Selected abstract of the 21st Annual Meeting of the Environmental Mutagen Society of Japan; 11-13 November 1992, Sapporo, Japan).
- YOSHINO, H; URANO, K** (1998). Mutagenic activities of exhaust gas and ash from sludge incineration plants. *Sci Total Environ* **215**:41-49.

ANHANG

	Seite
Tab A - 1 Zusammenfassung des Annex B1 (Terrestrial Tests Methods) aus dem Arbeitsdokument CEN TC 292/WG,7 (Status N45, Stand 07/2002) der WorkingGroup 7 TC 292 (CEN)	A - 61
Tab. A - 2 Zusammenfassung des Annex B2 (Aquatic Tests Methods) aus dem Arbeitsdokument CEN TC 292/WG,7 (Status N45, Stand 07/2002) der WorkingGroup 7 TC 292 (CEN)	A - 62
Tab. A - 3 Zusammenstellung von Elutionsmethoden für feste Abfälle	A - 63
Tab. A - 4 Biotestmethoden, die bisher zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (z.T. auch: Altlasten) eingesetzt wurden	A - 71
Tab. A - 5 Einsatz von Biotests zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (z.T. auch: Altlasten, Böden)	A - 84
Tab. A- 6 Ökotoxikologische Testverfahren mit tierischen Bodenorganismen zur Prüfung der Bodenqualität [RIEPERT 1998]	A - 107

Testorganismus		Testtyp	Testparameter	pH	Temperatur	Endpunkt	Referenzen
Regenwurm	<i>Eisenia fetida</i>	akut, statisch	Mortalität, Biomasse	6,0 ±0,5	20°C ±2°C	LC ₅₀ , 14h	ISO 11268-1; OECD 207
Regenwurm	<i>Eisenia fetida</i>	sub-chronisch, statisch	Fortpflanzung, Mortalität, Biomasse	6,0 ±0,5	20°C ±2°C	EC ₅₀ NOEC 8Wo	ISO 11268-2
Collembolen	<i>Folsomia candida</i>	sub-chronisch, statisch	Fortpflanzung, Mortalität	6,0 ±0,5	20°C ±2°C	EC ₅₀ ECx NOEC 4Wo	ISO 11267
Coleopteren	<i>Oxythyrea funestra</i>	akut, statisch	Mortalität	6,0 ±0,5	26°C ±1°C	LC ₅₀ , 10d	NF X 31-260; ISO/WD 20963
Enchyträen	<i>Enchytraeus albidus</i>	sub-chronisch, statisch	Mortalität, Fortpflanzung	6,0 ±0,5	20°C ±2°C	LC ₅₀ , ECx NOEC 6Wo	ISO/CD 16387; OECD 220 (Entwurf, 2000)
Gerste	<i>Hordeum vulgare</i>	akut, statisch	Wurzelwachstum	k.A.	Tag: 20±2°C Nacht: 16±2°C	LOEC, NOEC 2d + 5d	ISO 11269-1
Pflanzen	monocot. + dicot. Pflanzen	sub-chronisch, statisch	Aufaufrate, Wachstum (frühe Stadien)	entsprechend normaler Wuchsbedingungen	entsprechend normaler Wuchsbedingungen	NOEC, LOEC 14-14d-21d <u>nach</u> 50% Aufgang	ISO 11269-2
Bakterien	autrophe, Ammonium-oxidierende Bakterien	akut	Ammonium-Oxidationsrate	ca. 7,2	25°C	EC ₁₀ , EC ₅₀ , 6h	ISO/DIS 15685
Mikroorgan. Biomasse		chronisch	N-Mineralisierungsrate	Unverändert	20°C ±2°C	ID ₂₅ , ID ₅₀ 4Wo	ISO 14238

Tab. A-1: Zusammenfassung des Annex B1 (Terrestrial Tests Methods) aus dem Arbeitsdokument CEN TC 292/WG,7 (Status N45, Stand 07/2002) der WorkingGroup 7 des Technischen Komitees TC 292 der Europäischen Normkommission (CEN)

Testorganismus		Testtyp	Testparameter	pH	Temperatur	Endpunkt	Referenzen
Daphnien	Wasserfloh <i>Daphnia magna</i>	akut, statisch/ semi-statisch	Mobilität	7,8 ±0,2	20°C ±2°C	EC ₅₀ , 24h, 48h	EN ISO 6341
Daphnien	Wasserfloh <i>Daphnia magna</i>	chronisch, semi-statisch	Fortpflanzung, Mortalität	7,5 ±1,5	20°C ±2°C	NOEC, LOEC 21d	ISO/FDIS 10706; OECD 211
Daphnien	Wasserfloh <i>Ceriodaphnia dubia</i>	chronisch, semi-statisch	Fortpflanzung, Mortalität	8,0 ±0,3	25°C ±1°C	NOEC, ECx 7d	NF T 90-376; ISO/CD 20665
Rotifer	Rädertierchen <i>Brachionus calyciflorus</i>	chronisch, statisch	Populations- wachstum	7,6 ±0,3	25°C ±1°C	NOEC, ECx 48h	NF T 90-377; ISO/CD 20666
Bakterien	Leuchtbakterium <i>Vibrio fischeri</i>	akut, statisch	Lumineszenz	6,0 - 8,5	15°C ±1°C	EC ₂₀ , EC ₅₀ 15min, 30min	ISO 11348-1, -2, -3
Bakterien	<i>Pseudomonas putida</i>	chronisch	Zellvermehrung	k.A.	23°C ±1°C	EC ₁₀ , EC ₅₀ 16h ±1	EN ISO 10712
Algen	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	chronisch, statisch	Wachstum (Wachstumsrate, Biomasse)	8,3 ±0,2	23°C ±2°C	NOEC, ECx 72h	OECD 201; EEC method C3; NF T 90-375
Wasserlinse	<i>Lemna minor</i>	chronisch, statisch	Wachstum	5,5 ±0,2	24°C ±2°C	ECx, LID 7d	ISO/CD 20079
Fisch	Zebrabärbling <i>Danio rerio</i>	akut	Mortalität	7,8 ±0,2	23°C ±1°C	LC ₅₀ , 96h	ISO 7346; OECD 203
marine Ruder- fuss-krebse	<i>Acartia tonsa</i> ; <i>Tisbe battagliai</i> ; <i>Nitocra spinipes</i>	akut, sta- tisch/semi- statisch	Mortalität	8,0 ±0,3	20°C ±2°C	LC ₅₀ , 48h od. 96h	ISO 14669
marine Algen	<i>Skeletonema costatum</i> oder <i>Phaeodactylum tricornutum</i>	chronisch, statisch	Populations- wachstum	8,0 ±0,2	20°C ±1°C	EC ₁₀ , EC ₅₀ , NOEC, 72h	ISO 10253
Bakterien (Ames)	<i>Salmonella typhi- murium</i> TA 100, TA98		Gentoxizität	7,0 ±0,2	37°C ±1°C	Mutation, 48-72h,	ISO/CD 16420
Bakterien (umu)	<i>Salmonella typhi- murium</i> Stamm TA 1535/psK1002		Genaktivierung (umu-Test)	7,0 ±0,2	37°C ±1°C; 28°C ±1°C	Genaktivie- rung, 4h,	ISO 13829

Tab. A-2: Zusammenfassung des Annex B2 (Aquatic Tests Methods) aus dem Arbeitsdokument CEN TC 292/WG,7 (Status N45, Stand 07/2002) der Working Group 7 des Technischen Komitees TC 292 der Europäischen Normkommission (CEN)

Abfallart	Elutionsmittel	flüssig/fest-Verhältnis (L/S)	Dauer	Temperatur	Bewegung	Abtrennung	sonstige Schritte	Norm, Richtlinie, Bemerkungen	Quelle
feste Industrie-Abfälle (Metall-Schlämme; Farb-Rückstände; Metall-Schlacken; Flugasche, Bodenmasse aus Hausmüll- und Industrieverbrennung; PCB-kontaminierte Böden)	H ₂ O _{deion}	10 : 1	16 h	k.A.	k.A.	Filtration	Flüssig/flüssig-Extraktion (2x) bei pH 7, 12 und 2 mit Dichlormethan; Abdampfen des Lösemittels, Aufnahme in DMSO → Konzentrationsfaktor 80x; Gefriertrocknung → Ames-Test	AFNOR norme experimentale T 95J (1988) französische Norm	Lambolez et al. 1994
feste Industrie-Abfälle (Schlacke aus MVA; Schlacke aus sek. Bleischmelze), jeweils < 4mm	[1A] H ₂ O _{dest} + HNO ₃ [1B] H ₂ O _{dest} + HNO ₃ [1C] H ₂ O _{dest} + HNO ₃ [2] H ₂ O _{dest}	[1A] 2:1 [1B] 10:1 [1C] 2:1, dann 2-10:1 [2] 10:1	[1A] 24h [1B] 24h [1C] 6h +18h [2] 24h (1x) oder 16h 2-3x	[1A-C] 15-25 °C; [2] 20 ±5 °C	[1A-C] Rotation (5-10/min) [2] Linearschüttler (60/min)	[1]-[2] Filtration 0,45µm	[1C] und [2] (falls 2-3 Schritte): schrittweise Elution	[1] NF EN 12457 A, B, C (1997) [2] AFNOR X31-210 (1992) französische Normen	Benoit 2000
Öl-haltiger Abfall (Metallproduktion) Flugasche (Kraftwerk, hoher Zn-Gehalt); Entfärbungsrückstände (Zellulose-Herstellung); Jarosit (Nebenprodukt aus Ni-Co-Produktion, SM-reich)	[1] Essigsäure 0,5N, pH2,9 od. 4,9; [2] H ₂ O _{deion} [3] H ₂ O _{deion} [4] H ₂ O _{deion} pH4 [5] H ₂ O _{deion} pH4, pH7 [6] H ₂ O _{deion} pH4	[1] 20:1 [2] 10:1 kum. [3] 30:1 kum. [4] 10:1 kum. [5] 100:1 kum. [6] 100:1 kum.	[1] 18h [2] 24h [3] 24h [4] 10-21d [5] 3h [6] 23h	k.A.	[1], [2], [3], [6] Rotation (Ende über Ende); [4] Durchfluss; [5] Rühren	Filtration [1] 0,6-0,8µm [2]-[6] 0,45µm	bei 5 von 6 Verfahren (ausser: [1]) schrittweise Elution mit 2 - 7 Schritten	[1] TCLP 1311 (US-EPA) [2] CEN Entwurf prEN 12457 (EU) [3] DIN 38414 (D) [4] NEN 7343 (column) (NL) [5] NEN 7341 (batch) (NL) [6] NEN 7349 (batch) (NL) Eluierbarkeit wird v.a. durch pH und fest/flüssig-Relation bestimmt; TCLP-Verfahren für Biotests wenig geeignet	Vaajasaari et al. 2000

Tab. A-3: Zusammenstellung von Elutionsmethoden für feste Abfälle (→ Forts.)

Abfallart	Elutionsmittel	flüssigfest-Verhältnis (L/S)	Dauer	Temperatur	Bewegung	Abtrennung	sonstige Schritte	Norm, Richtlinie, Bemerkungen	Quelle
Rostasche aus MVA (Mitverbrennung aus Shredder-Leichtfraktion)	[1] H ₂ O [2] H ₂ O, CO ₂ -gesättigt [3] H ₂ O+Essigsäure, pH 2,9 [4] H ₂ O+HNO ₃ , pH 4 [5] H ₂ O+HNO ₃ , pH 4 od. 7 [6] H ₂ O+HNO ₃ , pH 3, 5, 7, 9, 11	[1] 10:1 [2] 20:1 [3] 20:1 [4] 0,1-10:1 [5] 100 : 1 [6] 20:1	[1] 24h [2] 2x24h [3] 16h [4] k.A. [5] 2x3h [6] 24h	k.A.	[1] Rollbank [2] CO ₂ -Begasung; [3] Rollbank [4] Durchpumpen [5] Rühren [6] Rühren	Filtration	bei 5 von 6 Verfahren schrittweise Elution mit 2 - 7 Schritten	[1] DIN 38414 (D) [2] TVA (CH) [3] TCLP 1311 (US-EPA) [4] NEN 734 (Säule) [5] NEN 7341 (Verfügbarkeit) (alle NL) [6] pH _{stat} -Verfahren Metall-Analytik	Bergfeldt et al. 2000
Industrieabfälle aus Galvanisierung, Textilfärbung, Stahlindustrie, MVA-Asche und Lederabfälle,	[1] H ₂ O+Essigsäure, pH 2,9 oder 4,9 je nach Abfall-pH [2] H ₂ O+Essigsäure pH5,0 [3] H ₂ O deion.		18h	k.A.	Rotation			[1] CLP 1311 (US-EPA) [2] EP [3] ASTM (USA) Metall-Eluierbarkeit: TCLP ≈ EP > ASTM. Schwankungsbreite (CV= RSD) der Metallgehalte bei TCLP und EP ähnlich Metall-Analytik	Chang et al. 2001
Flugasche von MVA (Japan)	H ₂ O dest.	10:1	6h	k.A.	Rühren	Filtration		Analytik + Biostests: <i>Selenastrum capricornutum</i> (Medium auf pH 8,0-8,2 eingestellt); <i>Daphnia magna</i> (auf pH 7,0-7,2 eingestellt)	Kaneko 1996
Bodenasche aus MVAs (B, D, F, I, UK)	H ₂ O deion.	10:1	24 ±0,5h	20 ±2°C	Roll-Rotation (10/min)	Filtration 0,45 µm		CEN Entwurf prEN 12457 (EU) Analytik + Biostests: <i>Vibrio fischeri</i> (Microtox™): pH 7,4-7,7; <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> ; <i>Daphnia magna</i> ; <i>Lactuca sativa</i> (alle ohne pH-Korrektur)	Lapa et al. 2002

Tab. A-3: Zusammenstellung von Elutionsmethoden für feste Abfälle (→ Forts.) (Forts.)

Abfallart	Elutionsmittel	flüssigfest-Verhältnis (L/S)	Dauer	Temperatur	Bewegung	Abtrennung	sonstige Schritte	Norm, Richtlinie, Bemerkungen	Quelle
Aschen, Schlacken, Filterstäube aus Hausmüll-Verbrennung (HMV); Elektro-Filterstäube aus Sonderabfall-Verbrennung SAV;	Grundwasser; Salzlösung v.a.: K, Mg, Na, S (keine Angaben zu Cl)	5:1	24 h	k.A.	Schütteln (1/min)	Filtration 0,45 µm	bis zu 7 aufeinanderfolgende Kaskaden (Wiederholung der Elution mit jeweils frischem Abfall) zur Simulation einer gefluteten Untertage-Deponie	z. T. extreme pH-Werte: pH (1,6-) 5,5-12,2 Biotests: <i>Vibrio fischeri</i> (Microtox™; Mutatox™); Atmungstest n. OFFHAUS; Regenwurmtest <i>Lumbricus terrestris</i> , <i>Lubricus rubellus</i> , <i>Eisenia fetida</i> Collembolentest: <i>Folsomia candida</i> ; <i>Sinella coecapH-</i> Werte nach Verdünnung <u>meist</u> im Toleranzbereich der Biotests; Microtox™ nach Neutralisation (wenn pH ≥ 10) höhere Tox.	Wundram et al. 1998 Schrader 1998
[A] Elektro-Filterstaub aus MVA; [B] Strahlmittel-Rückstände mit 20% C _{org} [C] Strahlmittel-Rückstände mit hohem Fe-Gehalt	Salzlauge	10:1	24h	k.A.	Schütteln	Filtration	schrittweise Elution in 10-15 Schritten; hierdurch Einengung des Volumens von 1000 -> 50 mL	Biotests: <i>Vibrio fischeri</i> (Microtox™); <i>Scenedesmus subspicatus</i> <i>Daphnia magna</i>	Kampke-Thiel et al. 1994
MVA-Rückstände, kontaminierte Böden, z. T. nach Plasmapyrolyse / Vergasung	Deion. Wasser	10:1	24 ± 0,5h	20 ± 2°C	Roll-Rotation (100/min)	Filtration 0,45 µm		CEN Entwurf prEN 12457 (EU) Analytik (pH 5,6-8,7), Biotests: <i>Vibrio fischeri</i> (Microtox™); <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> ; <i>Daphnia magna</i> , <i>Lactuca sativa</i> (alle ohne pH-Korrektur)	Lapa et al. 2002
12 Schlämme aus der Oberflächenbehandlung von Metallen	Essigsäure; Essigsäure+NaOH	20:1	18h	k.A.	Rühren (30/min)			TCLP (US-EPA) Analytik, Biotests: <i>Vibrio fischeri</i> , <i>Daphnia magna</i>	Ortiz et al. 1995
Industrieabfälle: aus Pestizid-Produktion, Galvanisierung; <4mm	8 Extraktions-prozeduren: Wasser pH 4,5 +CO ₂ vs. Essigsäure/Na-Acetat pH 4,6; 20 vs. 40°C;	10:1; 16:1	4h; 24h	20 °C	Rühren			Analytik (Pestizide, Metalle, pH: 4,5-7,0; 4,4-9,1); Biotests: <i>Vibrio fischeri</i> Microtox™ ^{MT} , <i>Daphnia magna</i>	Calleja et al. 1986

Tab. A-3: Zusammenstellung von Elutionsmethoden für feste Abfälle (→ Forts.) (Forts.)

Abfallart	Elutionsmittel	flüssig/fest-Verhältnis (L/S)	Dauer	Temperatur	Bewegung	Abtrennung	sonstige Schritte	Norm, Richtlinie, Bemerkungen	Quelle
Industrieabfälle: [A] Galvanikschlamm, [B] Metallschlamm, [C] Sedimentationsschlamm; [D] Faulschlamm; [E] Lackreststoff	[1] H ₂ O + Essigsäure pH5,0 [2] H ₂ O + H ₂ SO ₄ + HNO ₃ pH3,0 [3] H ₂ O, keine pH-Korrektur	[1] 20:1 [2] 16:1 3x [3] 10:1	[1] 24h [2] 24h [3] 24h	k.A.	Schütteln	k.A.		[1] 1310 (US-EPA) [2] 1320 Mehrfach-Elution (US-EPA) [3] DIN 38414 (D) Analytik (TOC, BSB); Biotests: <i>Vibrio fischeri</i> ; Wachstumshemmtest Baeibischlamm. Tox-Werte der Biotestverfahren sind zwischen den 3 Elutionsverfahren gut vergleichbar	Strotmann et al. 1998
Industrieabfälle: [A] Galvanikrückstände (Cu-haltig) [B] Lackrückstände mit Lösemitteln, [C] E-Filterasche aus Steinkohle-Heizkraftwerk [D] Klärschlamm (entspricht nicht AbfklärV) [E] Klärschlamm nach AbfklärV	[1] H ₂ O keine pH-Korrektur [2] H ₂ O keine pH-Korrektur [3] H ₂ O, pH4, pH11	[1] 10:1 [2] 10:1, 3x ; 6x [3] 10:1	[1] 24h [2] je 24h [3] 24h	k.A.	Umwälzen (langsam, "über Kopf")	Zentrifugation: 2000g; 30min + Filtration (0,45µm)		[1] DIN 38414 S4 (D) (Einfachelution) [2] DIN 38414 S4 (D) (3-Fach-, 6-Fach-Elution); [3] pH_{stat}-Verfahren (D) Analytik; Biotests: <i>Leuciscus idus</i> ; <i>Danio rerio</i> (Fischeitest); <i>Daphnia magna</i> ; <i>Scenedesmus subspicatus</i> ; <i>Vibrio fischeri</i> , <i>Pseudomonas putida</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Lemna minor</i> bei Bedarf pH-Korrektur durch [3] v.a. aus Galvanikrückstand sehr viel mehr Metalle gelöst und deutlich höhere Toxizität (10-10000x); auch in 6. Elution noch deut. Toxizität (Leuchtbakt.); DOC-Gehalt korreliert rel. gut mit Toxizität (nur S4-Elution), allerdings keine Kausalität, sondern nur Indikatorfunktion	Vogel et al. 2000

Tab. A-3: Zusammenstellung von Elutionsmethoden für feste Abfälle (→ Forts.) (Forts.)

Abfallart	Elutionsmittel	flüssigfest-Verhältnis (L/S)	Dauer	Temperatur	Bewegung	Abtrennung	sonstige Schritte	Norm, Richtlinie, Bemerkungen	Quelle
synthet. Probenmaterial (Zement-Sand-Müll-Mischung)	[1] H ₂ O dest [2] H ₂ O dest [3] H ₂ O dest (pH 4, pH 7) [4] H ₂ O dest	[1] 5:1 [2] 100:1 [3] 10:1 [4] 10:1	[1] 2h, 8h, 24h, 48h, 72h, 102h, 168h, 384h [2] 3h, 3h [3] 24h [4] 8h, 16h	S1 20°C S2 k.A. S3 k.A. S4: k.A.	[1] — (statisch); [2] rühren 200/min [3] Orbital-Schüttler, 150/min; [4] Orbital-Schüttler, 150/min	Filtration 0,45 µm	Anzahl der Extraktionen: [1] 8 [2] 2 [3] 1 [4] 2	[1] NVN 5432 Tanktest (1991) [2] NVN 5432 Max. Availab. - Test (1991) [3] DIN 38414, modifiziert [4] CEN Compliance Test (Entwurf) Analytik: Metalle	Lewin 1996
Shredderfraktion aus Kfz-Entsorgung; Nachzerkleinerung auf <10mm	[1] H ₂ O dest [2] LAS 10mg/L [3] LAS 1000mg/L [4] Huminsäure 10mg/L; [5] Huminsäure 200mg/L [6] Eluat von Industrie-müllderponie	k.A.	24h	k.A.	Horizontalschüttler	Vor-Filtration (Glaswolle); Zentrifug. (700g, 10min); Filtration 0,45µm		experimentelle Methodik Analytik: PCB-Ausbeute: [1]: 68ng/L relativ 1,0 [2] 210ng/L 3,1 [3] 4600ng/L 67,6 [4] 79ng/L 1,2 [5] 310ng/L 4,6 [6] 130ng/L 1,9 nur 0,006% (H ₂ O dest) bis 2,6% (LAS 1000mg/L) des PCB-Gesamtgehaltes werden eluiert	Sakai et al. 1998
Abfälle (allg)	[1] Essigsäure 0,5N [2] Essigsäure pH 2,88; (+NaOH) pH 4,93 [3] H ₂ O dest [4] H ₂ O dest [5] H ₂ O dest [6] H ₂ O dest, CO ₂ -gesättigt [7] H ₂ O dest + Acetatpuffer pH 5 [8] H ₂ O dest pH 7, pH 4 (+HNO ₃) [9] H ₂ O dest, Anfang-pH 4 [10] H ₂ O dest, Anfang-pH 4 (HNO ₃) [11] H ₂ O dest (+HNO ₃)	[1] 20 : 1 [2] 20 : 1 [3] 10 : 1 [4] 10 : 1 [5] 10 : 1 [6] 10 : 1 [7] variabel [8] 50 : 1 [9] 20 : 1 [10] 4 : 1 [11A] 2 : 1 [11B] 10 : 1 [11C] 2 : 1, dann 2-10 : 1	[1] 24h [2] 8h [3] 24h [4] 24h +16h+16h [5] 24h +16h+16h [6] 2h, 4h [7] 2-9d 3h [8] 23h [9] 24h [10] 24h [11A] 24h [11B] 24h [11C] 6h +18h	[1] - [11] k.A.	[1] k.A. [2] Rotation 30/min [3] Rotation (langsam) od. Schütteln [4] Linearschüttler 60/min [5] Magnetrührer 120/min [6] CO ₂ -Durchströmung [7] Schütteln [8] Magnetrührer [9] Rotation [10] Schütteltisch [11] Schütteln (5-10/min)	[1], [3]-[6], [9], [11] Filtration 0,45µm [2] Filtration 0,6-0,8µm [7] Vacuum filtration [8] Filtration 0,5µm [10] Zentrifugieren, Filtration 0,45µm	[1] 1 Stufe [2] 20 Stufen [3] 1-3 Stufe [4] 1-3 Stufen [5] 1-3 Stufen [6] 2 Stufen [7] 5-6 Stufen [8] 2 Stufen [9] 5 Stufen [10] 4 Stufen [11A,B] 1 Stufe; [11C] 2 Stufen	[1] EPA ToxMethod 1311 (USA) [2] TCLP Method 1310 (USA) [3] DIN 38414S4 (D) [4] AFNOR XP X31-210 (F) [5] AFNOR X-31-211 (F) [6] TVA-Eluattest (CH) [7] Waste Research Unit Leaching Test (UK) [8] NEN 7341 Availability Test (NL) [9] NEN 7349 Serial Batch Test (NL) [10] Skaktest (S) [11] NF EN 12457 (CEE)	Jauzein et al. 1999

Zusammenstellung von Elutionsmethoden für feste Abfälle (→ Forts.)

Tab. A-3:
(Forts.)

Abfallart	Elutionsmittel	flüssig/fest-Verhältnis (LS)	Dauer	Temperatur	Bewegung	Abtrennung	sonstige Schritte	Norm, Richtlinie, Bemerkungen	Quelle
festе Abfälle <9,5mm	H ₂ O deion	10 : 1	24h	wie Umgebung	Kreisschüttler 15/min	Filtration 0,45µm	für Toxizitätstests geeignet	Umweltministerium Quebec (Canada, 1983)	zit. bei Jauzein et al. 1999
festе Abfälle <4mm	H ₂ O deion	10 : 1	24h ±0,5h	wie Umgebung (15-25°C)	Kreisschüttler 60/min	Filtration 0,45µm oder Zentrifugieren 2000g, 15min	zur chem. Charakterisierung	AFNOR NF XPX31-210 (Frankreich, 1998)	zit. bei Jauzein et al. 1999
gefährliche Abfälle <9,5mm	Acetatpuffer pH 2,9 od. pH 4,9	20 : 1	18h ±2h	wie Umgebung	k.A.	Filtration 0,45µm	zur chem. Charakterisierung, für Toxizitätstest kaum geeignet	Umweltministerium Quebec (Canada, 1992)	zit. bei Jauzein et al. 1999
gefährliche Abfälle <9,5mm +Schlämme	H ₂ O deion, pH 4,5	10 : 1	24h ±0,5h	wie Umgebung	Kreisschüttler 5-30min	Filtration (Glasfaser) 1,6µm	zur chem. Charakterisierung	Umweltministerium Quebec (Canada, 1984)	zit. bei Jauzein et al. 1999
festе Abfälle <9,5mm	Acetatpuffer pH 2,88 od. pH 4,93	20 : 1	18h	k.A.	Kreisschüttler 30min	Filtration 0,6-0,8µm	chem. Charakterisierung, Mobilität, für Toxizitätstests nicht geeignet	TCLP 1311 (US-EPA; nach CEN TC292/1994)	zit. bei Jauzein et al. 1999
festе Abfälle <9,5mm	H ₂ O + Essigsäure nach 1h, 3h, 6h und 22h auf pH 5,0 korrigieren	16 : 1 → 20 : 1	24h	20-25 °C	Kreisschüttler 10min	Filtration 0,45µm	chem. Charakterisierung, für Toxizitätstests wenig geeignet	164-GP-IMP ; Allg. Normbüro Canada (1987)	zit. bei Jauzein et al. 1999
festе Abfälle >10mm	synthetisches Wasser (Typ IV)	4 : 1	18h	20 ±2°C	k.A.	Filtration 0,45µm od. Zentrifugieren	chem. Charakterisierung	ASTM Methode A (nach CEN TC292/1994)	zit. bei Jauzein et al. 1999
festе Abfälle	Acetatpuffer 4,5 ±0,1	4 : 1	48h	20 ±2°C	k.A.	Filtration 0,45µm od. Zentrifugieren	chem. Charakterisierung	ASTM Methode B (nach CEN TC292/1994)	zit. bei Jauzein et al. 1999
festе Abfälle <4mm (90%)	H ₂ O deion pH 2,88 od. pH 4,93	2 : 1 (1.Stufe) 8 : 1 (2.Stufe)	6h + 18h = 24h	wie Umgebung	Linearschüttler 10/min	Filtration 0,45µm	Konformitätstest; für Toxizitätstests geeignet [nach Neutralisation ?]	EC-CEN TC292/WG2 (nach CEN TC292/1994)	zit. bei Jauzein et al. 1999
festе Abfälle körnig oder monolithisch	H ₂ O deion mit CO ₂ gesättigt; pH ca. 4,5	10 : 1	24h	wie Umgebung	ständiges Einblasen von CO ₂	Filtration 0,45µm	für Toxizitätstests geeignet	TVA-EHRATEST (nach CEN TC292/1994) Schweiz	zit. bei Jauzein et al. 1999

Tab. A-3: Zusammenstellung von Elutionsmethoden für feste Abfälle (→ Forts.) (Forts.)

Abfallart	Elutionsmittel	flüssigfest-Verhältnis (L/S)	Dauer	Temperatur	Bewegung	Abtrennung	sonstige Schritte	Norm, Richtlinie, Bemerkungen	Quelle
feste Abfälle <10mm, Sedimente und Schlämme	H ₂ O deion	10 : 1	24h	k.A.	Kreisschüttler	Filtration 0,45µm	3 sukzessive Stufen; chem. Charakterisierung, für Toxizitätstest geeignet	DIN 38414 S4 (nach CEN TC292/1994) Deutschland	zit. bei Jauzein et al. 1999
feste Abfälle <10mm	H ₂ O deion oder Acetatpuffer pH 5	1 : 1 (5 sukzessive Extraktionen, dann 10 : 1)	2-9d	wie Umgebung	Schütteln	k.A.	5-6 sukzessive Stufen; "komplexe und lange Prozedur"	Waste Unit Resarch (nach CEN TC292/1994) UK	zit. bei Jauzein et al. 1999
feste Abfälle <9,5mm	H ₂ O deion mit CO ₂ gesättigt. pH ca. 4,5	20 : 1	6h	k.A.	k.A.	k.A.	chem. Charakterisierung	Wasserextraktion+CO₂ (nach CEN TC292/1994) Italien	zit. bei Jauzein et al. 1999
feste Abfälle <125µm (95%)	H ₂ O deion +HNO ₃ pH 7,0 (3h), dann pH 4,0 (3h)	50 : 1	3h + 3h	k.A.	k.A.	Filtration 0,45µm	Verfügbarkeit, Mobilität unter extremen Bedingungen	Verfügbarkeitstest NEN-7341 (nach CEN TC292/1994) NL	zit. bei Jauzein et al. 1999
feste Abfälle <4mm (95%)	H ₂ O deion +HNO ₃ pH 4,0	20 : 1 (kumulativ: 100 : 1)	23h	k.A.	Kreisschüttler	Sedimentation + Filtration 0,45µm	5 sukzessive Schritte; chem. Charakterisierung	Serien-Batch-Extraktion NEN-7349 (nach CEN TC292/1994) NL	zit. bei Jauzein et al. 1999
feste Abfälle <20mm	H ₂ O deion +H ₂ SO ₄ pH 4,0	4 : 1 (kumulativ: 16 : 1)	24h	k.A.	Horizontalschüttler	Sedimentation + Filtration 0,45µm	4 sukzessive Schritte; chem. Charakterisierung	ENA Skattest (nach CEN TC292/1994) Schweden	zit. bei Jauzein et al. 1999
Hausmüll	5 stufige Elution: S1 Acetatpuffer 1M, pH 5 S2 NH ₂ OH-HCl 0,1 M; pH 2 S3 K ₄ P ₂ O ₇ 0,1 M; pH 9,5 S4 HN ₂ OH-HCl 0,04 M S5 HNO ₃ -HCl (aqua regia);	jeweils: 20:1; Rückstand in nächste Stufe überführt	S1 5h S2 45min S3 24h S4 6h S5 12h+3h	S1 20°C S2 20°C; S3 20°C; S4 60°C; S5 20°C + 3h 105°C	S1 rühren S2 rühren S3 rühren S4 rühren S5	k.A.		nur Metall-Analytik	Prudent et al. 1996

Tab. A-3: Zusammenstellung von Elutionsmethoden für feste Abfälle (→ Forts.)
(Forts.)

Abfallart	Elutionsmittel	flüssigfest-Verhältnis (L/S)	Dauer	Temperatur	Bewegung	Abtrennung	sonstige Schritte	Norm, Richtlinie, Bemerkungen	Quelle
Böden	H ₂ O deion	2,5 : 1 10 : 1	24 h	k.A.	Schütteln: A Überkopf 9/min B horizontal 145/min C horizontal 80/min;	Zentrifug.: 20000 g; 20min; oder Zentrifug. (650 g; 20min) + Filtration (0,7 µm)		Empfehlungen: L/S-Verhältnis mögl. eng wählen (2:1; 2,5:1) Schüttelmethode ist ohne Einfluss auf (analytische) Stoffausbeute Analytik; Biotests	Hundund Kördel 1996
Grundwasser + Deponiesicker- wasser	Zitronensäure, EDTA			k.A.				Festphasen-Extraktion von Grundwasser/Sickerwässern eliminiert Maskierung z.B. von organischen Verunrei- nungen durch anorganische (Ionen-)Matrix Biotests	Baun et al. 1999

Tab. A-3: Zusammenstellung von Elutionsmethoden für feste Abfälle
(Forts.)

Typ	Spezies	Endpunkt	Parameter	akut / chron.	Zeit- dauer	Durchführung	Richtlinie, Vorschrift	Bemerkungen	Quelle
Fische									
Deponie- Sickerwasser	Regenbogenforelle <i>Salmo gairdneri</i> Forelle <i>Oncorhynchus nerka</i>	Rest-Sauerstoff- Gehalt nach Tod aller Fische in dichten Testbehältern	TLV	akut	6-8h		APHA 1977	ROB-Test (Residual Oxygen Bioassay)	Cameron und Koch 1980 Atwater et al. 1983
Deponie- Sickerwasser; Industrie- Abfalleluat	Goldorfe <i>Leuciscus idus</i>	Mortalität	LC ₅₀	akut	96h		DIN 38412 T31		Hagendorf und Börner 1991 Brackemann et al. 2000
Deponie- Sickerwasser	Zebrafisch <i>Brachydanio rerio</i> Guppy <i>Poecilia reticulata</i> ; Regenbogenforelle <i>Salmo gairdneri</i> ; amerik. Eintize <i>Pimephales promelas</i>	Mortalität	LC ₅₀	akut	96h			frühe Entwicklungsstadien meist empfindlicher	Kristensen 1992
Deponie- Sickerwasser	Regenbogenforelle <i>Salmo gairdneri</i> ; <i>Oncorhynchus mykiss</i> ; Bachforelle <i>Salvelinus fontinalis</i>	Mortalität	LC ₅₀	akut	96h	statisch	Environment Canada (1990)		Rutherford et al. 2000 Ernst et al. 1994
Deponie- Sickerwasser	amerik. Eintize <i>Pimephales promelas</i>	Mortalität	LC ₅₀	akut	96h		US-EPA 600/3- 88/029 (1989), 600/4-89-001 (1988)		Nimmo et al. 1995
Deponie- Sickerwasser	Regenbogenforelle <i>Salmo gairdneri</i> ;	Mortalität	LC ₅₀	akut	96h	statisch	APHA 1977		Cameron und Koch 1980 Atwater et al. 1983
Deponie- Sickerwasser	Zebrabärbling <i>Brachydanio rerio</i>	Schlüpfrate, Länge, Mortalität	EC ₅₀ , LC ₅₀	subakut	7d	semi-statisch (1/d); Kontrollmedium: Leitungswasser	k.A.	"Embryo-Larven-Test"	Lenz et al. 1993 Troge et al. 1994
Eluate von (Zement- stabilisierten) Aschen+ Schlacken	Silverside <i>Menidia beryllina</i>	Mortalität, Biomasse	% Ver- ände- rung; (auch EC ₅₀)	subakut	7d	in Seewasser (Salinität 2,5%); keine pH-Kon- trolle (zwischen pH 7,0 und pH 9,5 kein pH- Effekt); Fütterung mit <i>Artemia</i> (Kleinkrebs)	experimentell [US-EPA]	erheblicher Anteil der beobachteten Toxizität durch Bindemittel Zement verursacht	Hamilton et al. 1993

Tab. A-4: Biotestmethoden, die bisher zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (z. T. auch Altlasten) eingesetzt wurden (→ Forts.)

Typ	Spezies	Endpunkt	Parameter	akut / chron.	Zeitdauer	Durchführung	Richtlinie, Vorschrift	Bemerkungen	Quelle
Deponie-Sickerwasser	Medaka <i>Oryzias latipes</i>	Schlüpfirate, Länge, Mortalität	EC ₅₀ , LC ₅₀	chronisch	10d+20d	Verdünnungs- + Kontrollmedium: Anzuchtmedium		"Embryo-Larven-Test"	Kaur et al. 1996
Amphibien									
kontaminierte Böden (Eluate)	Frosch <i>Xenopus laevis</i> (Embryonen) Frog Embryo Teratogenesis Assay –Xenopus (FETAX)	Mortalität; Teratogenität (Missbildungen); Wachstum	statist. Verteilung zu Kontrolle + neg. +pos. Kontrollen	akut	96h		ASTM 1991		Fort et al. 1995
kontaminierte Böden + MVA-Asche (Eluate)	Frosch <i>Xenopus laevis</i> (Embryonen)	Mortalität; Wachstumshemmung; Wachstumsstörungen (Missbildungen); Verhaltensstörungen EROD-Aktivität, DNA-Addukt-Test; Micronucleus-Test	LC ₅₀ , EC ₅₀	subakut	12h	semi-statisch (1/d)	AFNOR NFTA90-325		Bekaert et al. 2002
Anneliden (Ringelwürmer, Gliederwürmer)									
Böden	Regenwurm <i>Lumbricus terrestris</i> ; <i>Eisenia fetida</i>	Vermeidungsverhalten	statist. Verteilung zwischen Proben	akut	24h; 48h	einfache oder speziell gefertigte Testanordnung;	experimentell	ähnlich empfindlich oder empfindlicher als Reproduktionstest; Bodeneigenschaften haben (bei geeigneter Wahl des Kontrollboden) nur geringen Einfluss auf Verteilung der Tiere;	Wentzel und Guetta 1988 Stephenson et al. 1997 Hund-Rinke und Wiechering 2001 Heiden et al. 2000 (S.67,75) Pennington et al. 1999
Böden	Regenwurm <i>Eisenia fetida</i> , z. T. auch <i>Eisenia andrei</i> ; <i>Eisenia fetida fetida</i> ; <i>Eisenia fetida andrei</i> ; >2mo alt	Mortalität; Biomasseverlust	LC ₅₀ ; (EC ₅₀)	akut, subakut (statisch)	7d, 14d	in künstlichem Bodensubstrat pH 6,0±0,5 klimatisierter Raum 20°C±2°C	OECD 207 (1984); DIN/ISO 11268-1 (1993, 1997); EPA 1989; ASTM 1997	als Screening-Test geeignet nicht empfindlich auf Änderung der Substrat-Komgröße nicht anwendbar auf flüchtige Substanzen; möglicher Abbau der Prüfsbstanz nicht berücksichtigt	Riepert 1998 Stephenson et al. 2002 Heiden et al. 2000 Hund-Rinke et al. 2002

Tab. A4: Biotestmethoden, die bisher zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (z. T. auch: Altlasten) eingesetzt wurden (→ Forts.)

Typ	Spezies	Endpunkt	Parameter	akut / chron.	Zeitdauer	Durchführung	Richtlinie, Vorschrift	Bemerkungen	Quelle
Böden Sonderabfall (Eluate)	Regenwurm <i>Eisenia feida</i> , <i>Eisenia feida feida</i> ; <i>Eisenia feida andreii</i> ; 2mo - 1a alt	Wachstum, Mortalität, Reproduktion	EC ₅₀ ; NOEC LOEC	chronisch	4wo + 4wo	in künstlichem Bodensubstrat pH 6,0±0,5 klimatisierter Raum; 20°C±2°C an natürliche Böden adaptierbar (SCHRADER)	DIN/ISO (Vormom) 11268-2 (1998, 2000); BBA-Richtlinie (1991) OECD: geplant	<i>Eisenia andreii</i> ökologisch relevant + leichter kultivierbar als <i>Eisenia feida</i> . Reproduktion häufig der empfindlichste Endpunkt; empfindlich auf pH-Änderung nicht empfindlich auf Änderung der Substrat-Korngröße nicht anwendbar auf flüchtige Substanzen; möglicher Abbau der Prüfsubstanz nicht berücksichtigt	Riepert 1998 Stephenson et al. 2002 Schrader 1998 Heiden et al. 2000 S. 59
Böden	Regenwurm <i>Eisenia feida</i>	kombinierter Mortalität- /Reproduktionstest		chronisch	2wo + 2wo + 4wo		DIN/ISO 11268-1/-2 1993, 1996, 1997	Ermittlung der Bodenqualität	Hund-Rinke et al. 2002 Wilke+Fleischmann 2000
Böden	Regenwurm <i>Aporrectodea caliginosa</i>	Reproduktion	EC _x ; NOEC	chronisch	k.A.				Stephenson et al. 2002
Böden	Ringelwurm <i>Enchytraeus albidus</i> u.a. Spezies	Verhalten (Bewegungsaktivität, Aufenthaltsort)	statist. Verteilung zwischen den Proben	akut	48h	in künstlichem Bodensubstrat (OECD 1984); Dauerdunkel; Kontroll- + Testboden, durch Gaze getrennt.	experimentell; RÖMBKE 1991 (UBA 106 03 051/01)	empfindlicher als Akut- oder Reproduktionstest auch bei rel. extremen pH- Werten einsetzbar , die zB: Regenwurmtest nicht erlauben Aber: noch kaum Daten verfügbar	Heiden et al. 2000 S.113, 124
Böden	Ringelwurm <i>Enchytraeus crypticus</i>	Mortalität	LC ₅₀	akut	7d	in künstlichem Boden- substrat (Lufa 2.2) Dauerdunkel Kontroll- + Testboden	ISO/WD 16387 (2000); OECD 220		Hund-Rinke et al. 2002 Achazi et al. 2000
Böden	Ringelwurm <i>Enchytraeus crypticus</i>	kombinierter Mortalität-/Repro- duktionstest	LC ₅₀ ; EC ₅₀	akut + chronisch	7d, 21d, 28d	natürliches + kontami- niertes Material keine pH-Korrektur	Testvorschlag, experimentell		Heiden et al. 2000 S.121
Metalle in Böden	Ringelwurm <i>Enchytraeus albidus</i>	2-Generationen-Test	LC ₅₀ EC ₁₀ , EC ₅₀	chronisch	21d; 42d		experimentell	ähnlich empfindlich wie Standard chron. - Test mit adulten Tieren	Lock und Jarssen 2002
Böden	Ringelwurm <i>Enchytraeus albidus</i> <i>Enchytraeus crypticus</i>	Reproduktion	EC _x ; NOEC	chronisch	3wo + 3wo	in künstlichem Bodensubstrat	EG-Ringtest- Protokoll; OECD ISO 15677 (Entwurf 1999)	Beurteilung der Bodenqualität ökologisch relevanter und leichter kultivierbar, kürzere Generationszeit, geringerer Probenbedarf als <i>Eisenia feida</i>	Riepert 1998 Stephenson et al. 2002

Tab. A4: Biotestmethoden, die bisher zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (z. T. auch: Altlasten) eingesetzt wurden (→ Forts.)

Typ	Spezies	Endpunkt	Parameter	akut / chron.	Zeitdauer	Durchführung	Richtlinie, Vorschrift	Bemerkungen	Quelle
Böden	Ringelwurm <i>Enchytraeus albidus</i> <i>Enchytraeus crypticus</i>	Reproduktion; Mortalität (Adulte)	(LC ₅₀) EC _x ; NOEC	chronisch	2wo ; 4- 6wo oder 4wo	in künstlichem Bodensubstrat (OECD 1984) Dauerlicht (E.a.) bzw. Dauerdunkel (E.c.)	OECD 220 (2000) ISO/CD 16387 (2000) ASTM E 1676- 97 (2000), Entw	Meist empfindlicher als Akuttest	Heiden et al. 2000 S.105ff Wilke und Fleischmann 2000 Hund-Rinke et al. 2002 Achazi et al. 2000
Böden	<i>Cognettia sphagnetorum</i>	Reproduktion; Überlebensrate	LC ₅₀ ; EC _x ; NOEC	chronisch	10wo	in künstlichem Bodensubstrat (Torf, LUFA 2.2 Boden)	Entwurf SECOFASE 1995	Beurteilung der Bodenqualität	Riepert 1998
Nemathelminthen, Schlauchwürmer									
phenolhaltige Abwasser	Rädertierchen <i>Brachionus calyciflorus</i>	Mortalität	LC ₅₀	akut	24h			als Microbiotest-Kit ROTOKIT F™	Kahru et al. 2000 Becker van Slooten et al. 1999
Böden	Nematoden <i>Caenorhabditis elegans</i> <i>Plectus acuminatus</i>	k.A.	k.A.	akut, chronisch	k.A.	k.A.		leichte Kultur homogene Populationen	Stephenson et al. 2002
Collembolen, Springschwänze									
Böden	Springschwänze <i>Folsomia candida</i>	Vermeidungs- verhalten, Fluchtverhalten	statist. Verteilung; ≤20% der Tiere in Test- boden	akut	24h 48h	in künstlichem Bodensubstrat (dotiert) bzw. Testboden Brutschrank, Klimakammer	experimentell	Metalle: Cu-haltiges Substrat wird gemieden, Cd-haltiges wird bevorzugt! Bei Pestiziden (zB Betanal): Vermeidungs- und Fluchttest empfindlicher als LC ₅₀ , LC10	Heiden et al. 2000 S. 97ff
Böden	Springschwänze <i>Folsomia candida</i>	Mortalität	LC ₅₀	akut	7d 24h		ISO-Entwurf 11268-2 (1992) DIN/ISO 11267 (1999)	Beurteilung der Bodenqualität	Hund-Rinke et al. 2002
Böden Sonderabfall (Eluate)	Springschwänze <i>Folsomia candida</i>	Reproduktion evtl. Mortalität der Elterniere	LC ₅₀ ; EC ₁₀ ; NOEC	subakut, chronisch	7d 10d 28d	in künstlichem Bodensubstrat bzw. Testboden Brutschrank, Klimakammer	DIN/ISO (Vornorm) 11267 ISO/TC 190 SC4	Reproduktion meist empfind- licher als Mortalität, nicht anwend- bar auf flüchtige Substanzen; möglicher Abbau, wird nicht berücksichtigt; Hinweise für vergleichende Untersuchungen, Überwachung Bodenbeschaffenheit;	Riepert 1998 Schrader 1998 Hund-Rinke 2000 Wilke und Fleischmann 2000 Achazi et al. 2000

Tab. A4: Biotestmethoden, die bisher zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (z. T. auch: Altlasten) eingesetzt wurden (→ Forts.)

Typ	Spezies	Endpunkt	Parameter	akut / chron.	Zeit- dauer	Durchführung	Richtlinie, Vorschrift	Bemerkungen	Quelle
Böden	Spingschwänze <i>Folsomia fimetaria</i> <i>Isotoma tigrina</i> <i>Onychiurus folsomi</i>	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	Environment Canada (Entwicklung, 1998)	höhere ökologische Relevanz als <i>Folsomia candida</i>	Stephenson et al. 2002
Insekten									
Böden	Laufkäfer <i>Poecilus cupreus</i> (auch: Larven)	akute Toxizität	LC ₅₀	akut	14d	kontaminiertes Substrat	IOBC, EPPO, Richtlinien- wurf BBA 1994	Beurteilung der Bodenqualität	Riepert 1998
Böden	Kurzflügel <i>Philonifusus cognatus</i>	Reproduktion	(EC ₅₀)	chronisch	1wo + 6wo	k.A.	Richtlinie BBA 1994; SECOFASE	Beurteilung der Bodenqualität	Riepert 1998
Böden	Assel <i>Procello scaber</i>	Mortalität; Biomasse, Futtermittelnverbrauch	NOEC, (EC ₅₀)	chronisch	4wo + 4wo	in künstlichem Bodensubstrat; Exposition via Nahrung	Entwurf SECOFASE 1995	Beurteilung der Bodenqualität	Riepert 1998
Böden	Bodenraubmilbe <i>Hypoaspis aculeifer</i>	Reproduktion; Überlebensrate; Wachstum	NOEC, (EC ₅₀); LC ₅₀)	chronisch	3wo 3-4mo	in künstlichem Bodensubstrat od. LUFÄ-Boden Gips-Aktivkohle; Exposition via Beute	Entwurf BBA 1992 Entwurf SECOFASE 1995	Beurteilung der Bodenqualität	Riepert 1998
Böden	Hornmilben <i>Platynothrus peltifer</i>	Reproduktion; Überlebensrate; Wachstum	NOEC (EC ₅₀) LC ₅₀	chronisch	10wo	in künstlichem Bodensubstrat + Grünalgen	Entwurf SECOFASE 1995	Beurteilung der Bodenqualität; sehr empfindlich, wegen geringer Eiproduktion und langem Lebenszyklus (1a) wenig praktikabel	Riepert 1998
Protozoen									
phenol- haltiges Abwasser	Wimperntierchen <i>Tetrahymena thermophila</i>	Hemmung Wachstum; Futtermittelnverzehr	EC ₅₀	akut	24h	vor dem Test zentrifugieren	OECD	als Microbiotest-Kit PROTOXKIT F™	Czerniawska-Kusza und Ebis 2000 Karhu et al. 2000
Böden + Klärschlamm (Metalle)	Wimperntierchen <i>Colpoda steinii</i>	Hemmung Wachstum	EC ₅₀	akut	24h		experimentell	empfindlich auf Ni, Cu, Zn; empfindlicher als mikrobielle Biotests	Campbell et al. 1997

Tab. A4: Biotestmethoden, die bisher zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (z. T. auch: Atlanten) eingesetzt wurden (→ Forts.)

Typ	Spezies	Endpunkt	Parameter	akut / chron.	Zeitdauer	Durchführung	Richtlinie, Vorschrift	Bemerkungen	Quelle
Kleinkrebse Crustaceen									
Industrie- Abfall-eluate	Wasserfloh <i>Daphnia magna</i>	Immobilisierung	EC ₅₀ LC ₅₀	akut	24h		OECD 201, 202 (1981)		Ortiz et al. 1995
Eliuate von Industrie- Abfällen, Hausmüll, u.a.	Wasserfloh <i>Daphnia magna</i>	Immobilisierung	EC ₅₀	akut	24h 48h	Vorverdünnung 1:1 mit synthet. mittelhartem Wasser (250 mg/L CaCO ₃), 20°C	OECD 202 (1984); DIN 38412-30 (1989) DIN 38412-11 (1982) ISO 6341 (1996) O-Norm EN 26341 (1996)		Heiden et al. 2000 Hund-Rinke et al. 2002 Kampke-Thiel et al. 1994 Latif et al. 1995 Latif und Zach 2000 Vangheluwe et al. 2000 Becker van Slooten et al. 1999 Wilke und Fleischmann 2000
Müll-Eliuate (zT. unfiltriert); phenol- haltiges Ab- wasser, u.a.	Wasserfloh <i>Daphnia magna</i> (aus dominanten Eiern =Ephippia)	Immobilisierung, Mortalität	EC ₅₀ (LC ₅₀)	akut	24h 48h		OECD 202 (1984) ISO 6341 (1996)	als Microbiotest-Kit DAPHTOXKIT F™	Czerniewska-Kusza und Ebis 2000 Kahru 2000 Latif und Zach 2000
Industrie- Abfall-eluate, Sickerwasser	Wasserfloh <i>Daphnia magna</i>	Reproduktions- hemmung	EC ₅₀	chronisch	21d 28d	semi-statisch (3/wo)	OECD 202 (211)		Lambolez et al. 1994 Becker van Slooten et al. 1999
Industrie- Abfall-eluate, Sickerwasser	Wasserfloh <i>Daphnia pulex</i> (andere Verbreitung als <i>Daphnia magna</i> (zB. USA, Canada); auch: <i>Mysidopsis bahia</i> , <i>Nitocra spinipes</i> (marine Spezies)	Immobilisierung / Mortalität	EC ₅₀ / LC ₅₀	akut	24h 48h (96h)		US-EPA 600/4-91-002 APHA 1977;		Atwater et al. 1983 Clement et al. 1996 Ferrari et al. 1999 Kristensen et al. 1992 Nimmo et al. 1995
Industrie- Abfall-eluate, Sickerwasser	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Fortpflanzung	LC ₅₀	subakut	7d	semi-statisch (1/d)	Environment Canada 1992; US-EPA 600/4- 91-002	gegenüber dem chronischen <i>Daphnia magna</i> -Test (21d, 28d) günstiger: empfindlicher, häufigerer Mediumwechsel (statisch → semi-statisch); kürzere Versuchsdauer	Becker van Slooten et al. 1999 Ferard und Ferrari 1997 Rutherford et al. 2000

Tab. A4: Biotestmethoden, die bisher zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (z. T. auch: Altlasten) eingesetzt wurden (→ Forts.)

Typ	Spezies	Endpunkt	Parameter	akut / chron.	Zeit- dauer	Durchführung	Richtlinie, Vorschrift	Bemerkungen	Quelle
u.a. phenol- haltiges Abwasser, (Industrie-) Abfalleluate u.a.	Süßwasser-Kleinkrebs <i>Thamnocephalus platyurus</i>	Mortalität	LC ₅₀	akut	24h		CENTENO et al. 1995	meist empfindlicher als andere Crustaceentests; Microbiotest-Kit THAMNOTOXKIT F™	Czerniawska-Kusza und Ebis 2000 Persoone et al. 1994 Vangheluwe et al. 2000 Kahru et al. 2000 Mala et al. 2000 Becker van Slooten et al. 1999 Clement et al. 1996, 1997 Latif et al. 1995
Abfalleluate, Abwässer	Süßwasser-Kleinkrebs <i>Streptocephalus proboscideus</i>	Mortalität	LC ₅₀	akut	24h			Microbiotest-Kit STREPTOXKIT F™	Persoone et al. 1994 Latif et al. 1995
Eluate + Elutriate von (Zement sta- bilisierten) Aschen +Schlacken	Garnele <i>Mysidopsis bahia</i>	Mortalität, Biomasse, Fruchtbarkeit (weibl. Tiere mit Eiern/ Embryonen)	%, (auch EC ₅₀)	subakut	7d	meist keine pH-Kontrolle notwendig (zwischen pH 7,0 und pH 9,5 kein pH- Effekt) in Seewasser (Salinität 2,5%); Fütterung mit <i>Artemia</i> ;	experimentell	erheblicher Anteil der beobachteten Toxizität durch Bindemittel Zement verursacht	Hamilton et al. 1993

Tab. A4: Biotestmethoden, die bisher zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (Forts.) (z. T. auch: Altlasten) eingesetzt wurden (→ Forts.)

Typ	Spezies	Endpunkt	Parameter	akut / chron.	Zeitdauer	Durchführung	Richtlinie, Vorschrift	Bemerkungen	Quelle
Algen									
Deponie-Sickerwasser	<i>Raphidocelis subcapitata</i> (ehem.: <i>Selenastrum capricornutum</i>)	Photosyntheserate	EC ₅₀	akut	6h				Kristensen 1992
3 Sondermüll-Deponien (D); Sickerwasser	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Chlorophyll-a Fluoreszenz Änderung von I _{kt} (Fläche unter Kautsky-Kurve)	Änderung gegenüber Kontrolle	akut	2h		experimentell	Testung von Destillaten von Sickerwässern aus Sonderabfall-Deponien ökotoxisches Potenzial auch durch gasförmige Emissionen aus Sickerwasser v.a. durch H ₂ S + organische Narkotica	Brack et al. 1998
Eluate, Sonderabfälle	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Photosyntheserate; Fluoresceindiacetat aufnahme (Vitalität)	EC ₅₀	akut	4h			wenig salzeempfindlich	Wundram 1999 Wundram et al. 1996 Wundram und Bahard 1999 Brasser et al.
Hausmüll-Eluat, ua.	<i>Raphidocelis subcapitata</i> (ehem.: <i>Selenastrum capricornutum</i>)	Wachstums-Hemmung	EC ₅₀	akut, subakut	(24h, 48h), 72h (96h)	Schüttelkultur 23°C 8 kLux;	ISO 8692 (1989); DIN 38412 T33 (1991)+ Modif. DIN EN 28692 (1993)		Hund-Rinke et al. 2002 Heiden et al. 2000 Vaejasaari et al. 2000 Latif und Zach 2000 Becker van Slooten et al. 1999 Wilke und Fleischmann 2000
verschiedene Abfalleuate	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	Wachstums-Hemmung	EC ₅₀	akut, subakut	(24h, 48h) 72h		OECD 201 (1984)		Kampke-Thiel et al. 1994 Lamboloz et al. 1994 Vangheluwe et al. 2000
Sediment-Porenwasser; phenolhaltiges Abwasser	<i>Raphidocelis subcapitata</i> (ehem.: <i>Selenastrum capricornutum</i>) immobilisiert	Wachstums-Hemmung	EC ₅₀	subakut	72h	23°C geringeres Testvolumen (25 vs. 50 mL), geringerer Zeitaufwand (15 vs. 40 min/d)	OECD 201 (1984) ISO	Microbiotest-Kit ALGALTOXKIT F™ geringere Variabilität,	VandenBroele et al. 2000 Kahru et al. 2000 Latif und Zach 2000 Becker van Slooten et al. 1999 Czerniawska-Kusza und Ebis 2000 Mala et al. 2000
Asche Klärschlammverbrennung	<i>Raphidocelis subcapitata</i> (ehem.: <i>Selenastrum capricornutum</i>)	Wachstums-Hemmung	EC ₅₀	subakut	72h	MultiScreen™ (kommerzieller Mikroplatten-Test mit Membranfilter-Boden)	analog zu OECD ; ISO	als statischer + semi-statischer Test durchführbar (=1,1-3,3x empfindlicher) höhere Reproduzierbarkeit als Standard-OECD-Test	Radejski et al. 1995

Tab. A4: Biotestmethoden, die bisher zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (z. T. auch: Altlasten) eingesetzt wurden (→ Forts.)

Typ	Spezies	Endpunkt	Parameter	akut / chron.	Zeitdauer	Durchführung	Richtlinie, Vorschrift	Bemerkungen	Quelle
Deponie-Sickerwasser	<i>Raphidocelis subcapitata</i> (ehem.: <i>Selenastrum capricornutum</i>)	Wachstumshemmung	EC ₅₀	subakut	76h		Environment Canada (1992)	relativ empfindlichstes von 5 Testsystemen	Rutherford et al. 2000
Deponie-Sickerwasser	<i>Nitzschia palea</i> <i>Sketefonema costatus</i>	Wachstumshemmung	EC ₅₀	subakut	72h				Kristensen 1992
aquatische Pflanzen									
Deponie-Sickerwasser	Wasserlinse <i>Lemna minor</i>	Wachstumshemmung	EC ₅₀	subakut	96h				Kristensen 1992
Industrie-Abfallleulate Sedimente	Wasserlinse <i>Lemna minor</i>	Wachstumshemmung	EC ₅₀	akut, subakut	3d; >7d (8d), 14d		Devare und Bahadir 1994; OECD (1996)	relativ salzempfindlich	Jenner und Janssen-Mommen 1983 Brasser et al. 1998 Joutti et al. 2000 Wundram 1999 Wundram und Bahadir 1999
Deponie-Sickerwasser Industrie-Abfallleulate	Wasserlinse <i>Lemna minor</i> auch: <i>Lemna gibba</i>	Minderung Chlorophyll a-Gehalt	EC ₅₀	subakut	96h; >7d		OECD (1996)		Joutti et al. 2000 Kristensen et al. 1992
Alltlasten-Eluate/Sickerwässer	Wasserlinse <i>Lemna minor</i> <i>Lemna gibba</i>	Wachstumshemmung	EC ₅₀	subakut	5d, 7d		ASTM E 1415		Beckervan Slooten et al. 1999
terrestrische Pflanzen									
Abfallleulate	Radies <i>Raphanus sativus</i> ; Hirse <i>Sorghum vulgare</i> Weizen <i>Triticum aestivum</i>	Hemmung Wurzelwachstum	EC ₅₀	akut	48h (R.s.; T.a.) 72h (S.t.) 24-96h	neue Technik zur Exposition keimender Samen (→ gerades Wurzelwachstum)	experimentell	Einsatz von Lösungen, Eluaten etc.	Edwards et al. 1980
Hausmüll-Eluate, u.a.	Gartenkresse <i>Lepidium sativum</i>	Hemmung Wurzelwachstum	EC ₅₀	akut	48h	20°C dunkel	Neururer 1975		Latif und Zach 2000
Deponie-Sickerwasser	Radies <i>Raphanus sativus</i> Hirse <i>Sorghum vulgare</i>	Hemmung Keimung, Hemmung, Jungwachstum	EC ₅₀	akut	24-96h			Einsatz von Lösungen, Eluaten etc.	Kristensen 1992
Eluate, Sonderabfälle	Tabak <i>Nicotiana tabacum</i>	Chlorophyll-Fluoreszenz		akut	24-96h		experimentell		Wundram 1999 Brasser et al. 1998

Tab. A4 (Forts.) Biotestmethoden, die bisher zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (z. T. auch: Altlasten) eingesetzt wurden (→ Forts.)

Typ	Spezies	Endpunkt	Parameter	akut / chron.	Zeit- dauer	Durchführung	Richtlinie, Vorschrift	Bemerkungen	Quelle
Boden- verunrei- nungen	diverse (Nutz-)Pflanzen	Hemmung Sämlingsentwicklung		subakut	5-7d (-10d); 14d		OECD 208 in Überarbeitung; ASTM 1999	weniger empfindlich als Wachstumstests	Stephenson et al. 2002
Industrie- Abfalleluat	Gerste <i>Hordeum vulgare</i>	Hemmung Samenkeimung	EC ₅₀	subakut	4d, 7d		-		Jouffé et al. 2000
Boden- verunrei- nungen	Gerste <i>Hordeum vulgare</i>	Hemmung Wurzelwachstum		subakut	5d	Kontrollboden, Sand; in klimatisierbarem Raum	ISO 11269-1 (1993); DIN ISO 11269-1 (1997) ISO-DIS 11269-2 (1992)	nicht geeignet, die nachhaltige Eignung eines Bodens als Pflanzenstandort zu belegen	Heiden et al. 2000
Boden- verunrei- nungen	Kopfsalat <i>Lactuca sativa</i>	Hemmung Saataufgang	EC ₁₀ , EC ₅₀	subakut	5d	Sand in klimatisierbarem Raum	US-EPA 600/3- 88-029; ISO-Entwurf	nicht geeignet, die nachhaltige Eignung eines Bodens als Pflanzenstandort zu belegen	Heiden et al. 2000
Industrie- Abfalleluat	Spinat <i>Spinacea oleraca</i>	Hemmung Samenkeimung	EC ₅₀	subakut	4d, 7d		-		Jouffé et al. 2000
Industrie- Abfalleluat	Rot-Klee <i>Trifolium repens</i>	Hemmung Samenkeimung	EC ₅₀	subakut	4d, 7d		-		Jouffé et al. 2000
Industrie- Abfalleluat	Gartenkresse <i>Lepidium sativum</i>	Hemmung Samenkeimung + Wurzelwachstum	EC ₅₀	subakut	7d		ISTA (International Seed Testing Association)		LfU BaWü 1994
Hausmüll- Eluate, u.a.	Gartenkresse <i>Lepidium sativum</i>	Hemmung Wurzelwachstum	EC ₅₀	subakut	8d		LÜSSEM und RAHMANN 1980; DEVARE und BAHADIR 1994	rel. saizempfindlich	Wundram 1999 Wundram und Bahadir 1999 Brasser 1998
belastete Böden, Altlasten- Standorte	Hafer <i>Avena sativa</i> Raps <i>Brassica rapa</i> CrGC syn. Rbr auch andere regional- typische Spezies zB. C4-Pflanzen oder Fabaceen;	Aufgangsrate; Wuchshöhe, Biomasse (Gesamt, Spross, Blüten, Samen)	EC _x ; LOEC, NOEC	akut (Keim rate); subakut (Bio- masse); chronisch (Samen- ertrag)	48h 2 wo 5-6 (7-8)wo	Feststoff: sieben 5 mm + mischen mit Kontroll-, Referenz od. "künstl. Boden", LUFA Sp 2.2 → Verdünnungsreihe in geometrischer Reihe (Faktor ≤ 2); keine pH-Korrektur in Töpfen; Wachstum in Phyotron, Wuchs- kammer, GewHaus	ISO/CD 22030 (Draft Jan 2002)	Verfahren primär für Unter- suchung natürlicher + sanierter Böden ("Eignung als Lebensraum für Pflanzen"). Vermehrt als Stufe-2-Test für Prüfung von Chemikalien + Pflanzenschutzmittel; Auffahren der Samen weniger empfindlich als Biomassebildung	Stephenson et al. 2002 Heiden et al. 2000 S.29-33

Tab. A4: Biotestmethoden, die bisher zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (z. T. auch: Altlasten) eingesetzt wurden (→ Forts.)

Typ	Spezies	Endpunkt	Parameter	akut / chron.	Zeitdauer	Durchführung	Richtlinie, Vorschrift	Bemerkungen	Quelle
Eluate von Sonderabfällen: Verbrennungsrückstände, Filterstaube	Hirse <i>Sorghum bicolor</i> Radies <i>Raphanus sativus</i> Gartenkresse <i>Lepidium sativum</i>	Hemmung Sprosswachstum	EC ₅₀	subakut	(5d Auflaufen) +14d Wachstum	in Standardboden LUFA 2.2	ISO 11269-2 (1995)	bei Bodentests ist der Vergleich zwischen tatsächlicher und errechneter Biomasse in abgestuften Probe/Kontrollbodenmischungen aussagekräftiger als einfacher Proben vs. Kontrollboden-Vergleich	Wundram 1999 Wilke und Winkel 1999
Bodenqualität: belastete Böden, Altlasten- Standorte	je 1 Spezies aus [1] Reis <i>Oryza sativa</i> Weidelgras <i>Lolium perenne</i> Hafer <i>Avena sativa</i> Weizen <i>Triticum aestivum</i> Hirse <i>Sorghum bicolor</i> , [2] <i>Brassica alba</i> Raps <i>Brassica napus</i> Rüben <i>Brassica napu</i> Chinakohl <i>Brassica campestris</i> var. <i>chinesis</i> Radies <i>Raphanus sativus</i> , [3] Wicke <i>Vicia sativa</i> <i>Phaseolus aureus</i> Wiesensklie <i>Trifolium pratense</i> , <i>Trifolium ornithopodioides</i> Kopfsalat <i>Lactuca sativa</i> Gartenkresse <i>Lepidium sativum</i>	Hemmung Sprosswachstum	EC ₅₀	subakut	(5d Auflaufen) +14d Wachstum		OECD 208 (1984); ISO/DIS 11269-2	konzipiert für Prüfung von Chemikalien auf mögliche phytotoxische Eigenschaften. Wirkungen über Dampfphase und direkten Blattkontakt werden nicht berücksichtigt	Heiden et al. 2000 Wilke und Fleischmann 2000

Tab. A4: Biotestmethoden, die bisher zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (z. T. auch: Altlasten) eingesetzt wurden (→ Forts.)

Typ	Spezies	Endpunkt	Parameter	akut / chron.	Zeitdauer	Durchführung	Richtlinie, Vorschrift	Bemerkungen	Quelle
Boden- Qualität: belastete Böden, Altlasten- Standorte	je 1 Spezies aus [1] Roggen <i>Secale cereale</i> Weidelgras <i>Lolium perenne</i> Reis <i>Oryza sativa</i> Hafer <i>Avena sativa</i> Weizen <i>Triticum aestivum</i> Gerste <i>Hordeum vulgare</i> Hirse <i>Sorghum bicolor</i> Mais <i>Zea mays</i> [2] Senf <i>Sinapis alba</i> Raps <i>Brassica napus</i> Rübsen <i>Brassica napo</i> Chinakohl <i>Brassica campestris</i> var. chiensis Radies <i>Raphanus sativus</i> <i>Trifolium ornithopodioides</i> Kopfsalat <i>Lactuca sativa</i> Gartenkresse <i>Lepidium sativum</i> Tomate <i>Lycopersicon esculentum</i> <i>Phaseolus aureus</i>		EC ₅₀	akut / subakut	(5d Auf- laufen) +14d Wachs- tum		ISO 11269-2 (1995); DIN ISO 11269-2 (1997)	konzipiert für Prüfung von Chemikalien auf mögl. phytotoxische Eigenschaften. Hinweise zur Anpassung des Verfahrens für den Vergleich von Böden bekannter und unbekannter Beschaffenheit; Wirkungen über Dampfphase und direkten Blatt- kontakt werden <u>nicht</u> berücksichtigt	Heiden et al. 2000
Eluate, Sonderabfälle	Zellkulturen von Tabak <i>Nicotiana tabacum</i>	Wachstum; Chlorophyll- fluoreszenz	EC ₃₀	subakut	10d		experimentell		Wundram 1999

Tab. A4: Biotestmethoden, die bisher zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (z. T. auch: Altlasten) eingesetzt wurden (→ Forts.)

Typ	Spezies	Endpunkt	Parameter	akut / chron.	Zeit- dauer	Durchführung	Richtlinie, Vorschrift	Bemerkungen	Quelle
Bakterien									
belastete Böden, Altlasten-Standorte, Abfalleluate	Leuchtbakterium <i>Vibrio fischer</i> ^A	Lumineszenz	EC ₂₀ ; EC ₅₀ ; EC ₈₀	akut	(5min, 15min) 30min		DIN EN ISO 11348-1/-2/-3 (1999) DIN 38412 Teil 34 (1991)		Strotmann et al. 1998 Hund-Rinke et al. 2002 Heiden et al. 2000 Becker van Slooten et al. 1999 Wilke und Fleischmann 2000
belastete Böden	Leuchtbakterium <i>Vibrio fischer</i> ^A	Lumineszenz	G-L (20%)	akut	k.A.				Landgraf et al. 1995
Eluate, Sonderabfälle	Leuchtbakterium <i>Vibrio fischer</i> ^A Microtox TM	Lumineszenz	EC ₅₀	akut	15min; 5-30min				Ortiz et al. 1995 Kampke-Thiel et al. 1994 Kristensen et al. 1992 Schradler 1998 Wundram und Bahadir 1999 Vaejasaari et al. 2000
Sedimente	Leuchtbakterium <i>Vibrio fischer</i> ^A Microtox TM - Direct Sediment Toxicity Testing Procedure DSTTP	Lumineszenz	EC ₅₀	akut	15min; 30min			direkter Kontakt mit festen Proben (Sediment) halb-quantitative Test	Kwan und Dutka 1995
Sedimente, feste Industrie-Abfälle	Leuchtbakterium <i>Vibrio fischer</i> ^A Microtox TM - SPT (Solid Phase Test)	Lumineszenz	EC ₅₀	akut	15min; 30min			direkter Kontakt mit festen Proben (Sediment) Asche aus Sondermüll-Ver- brennung als Positiv-Kontrolle!!	Kwan und Dutka 1995 Ferrari 2000 Marsalek et al. 2000
Hausmüll-Eluate	Leuchtbakterium <i>Vibrio fischer</i> ^A lyophilisierte Zellen (Lumis Tox-Test)	Lumineszenz	EC ₅₀	akut	30min	auf pH 7,0 (±0,2) einstellen +2% NaCl als Verdün- nungsmedium 15°C	DIN 38412 Teil 34 (1991) Ö-Norm M6609 (1993)		Latif und Zach 2000
Belasteter Boden, Altlasten-Standorte	Leuchtbakterium <i>Vibrio fischer</i> ^A	Wachstums- Hemmung	EC ₅₀	subakut	7d		DIN 38412 Teil 37 (1999)		Hund-Rinke et al. 2002 Heiden et al. 2000 Wilke und Fleischmann 2000
Eluate, Industrie-abfälle	Leuchtbakterium <i>Vibrio fischer</i> ^A ("dunkle" Mutante) Mutatox TM	Lumineszenz (Reversion) 'mutagene Aktivität'		akut	24h				Joutfi et al. 2000 Wundram 1999 Wundram und Bahadir 1999 Schradler 1998

^A ehem. *Photobacterium phosphoreum*

^B ehem. *Selenastrum capricornutum*, auch: *Pseudokirchneriella subcapitata*

Tab. A4: Biotestmethoden, die bisher zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (Forts.) (z. T. auch: Altlasten) eingesetzt wurden (→ Forts.)

Typ	Spezies	Endpunkt	Parameter	akut / chron.	Zeit- dauer	Durchführung	Richtlinie, Vorschrift	Bemerkungen	Quelle
Eluate von z. T. verfestig- ten Industrie- abfällen	<i>Escherichia coli</i> (MetPAD; Toxi- ChromoPad®)	Hemmung der Synthese des Enzyms beta- Galactosidase		akut	4-5h			spezifische Empfindlichkeit für Metalle (qualitativ)	Joutti et al. 2000 Marsalek et al. 2000 Mala et al. 2000
Eluate Industrie- abfälle	<i>Escherichia coli</i> (MetPLATE)	Hemmung der Synthese des Enzyms beta- Galactosidase		akut	4-5h			spezifische Empfindlichkeit für Metalle	Joutti et al. 2000
Eluate Industrie- abfälle	<i>Escherichia coli</i> ToxiChromotestR	Hemmung der de- novo-Synthese des Enzyms beta- Galactosidase		akut	1,5h; 6h	Schnelltest, direkt in (Boden-)Suspension einsetzbar		halbquantitativer Test, sehr einfach durchführbar in (Boden-)Suspension empfindlicher als in Eluat	Joutti et al. 2000 Becker van Slooten et al. 1999 Wilke und Winkel 1999 Wilke und Fleischmann 2000
Sedimente, Baggergut, Flugasche, Schlacke	<i>Alcaligenes eutrophus</i> (BIOMET)	Lumineszenz metall- spezifische Stämme: AE1239; Cu; AE1433; Zn, Cd; AE2448; Pb; AE2440 Cr		akut	3-5h	auch für trübe + ge- färbte Proben (dann Zentrifugieren)		spezifische Empfindlichkeit für Metalle (quantitativ)	Van der Lelle et al. 2000
kontaminierter bzw. dotierter Boden	<i>Bacillus cereus</i> (Stamm Nr. 351) Kontakt-Test	Hemmung der Enzymaktivität (Dehydrogenase)	EC ₂₀ ; EC ₅₀	akut	2h	Bodensuspension (0,5g/mL)	experimentell	direkter Kontakt-Test mit Bodensuspension; ähnliche Empfindlichkeit wie <i>Vibrio fischeri</i> – Contact Assay; meist >10x empfindlicher als Eluat-Test	Römpagel et al. 1995
Eluate Industrie- abfälle	<i>Pseudomonas putida</i>	Wachstums- Hemmung	EC ₅₀	akut, subakut	16h 48h		DIN 38412 Teil 8 (1991)		Vaajasari et al. 2000
Industrie- Abfälle, Eluate	Mischpopulation aus Kläranlage (Aktivschlamm)	Atmungshemmung	EC ₅₀	sub- chronisch	5d		OFFHAUS 1965; OECD 209	'Sapromat' (nach OFFHAUS)	Kampke-Thiel et al. 1994 Wundram und Bahadir 1999 Schrader 1998 Becker van Slooten et al. 1999
Industrie- Abfälle, Eluate	Mischpopulation aus Belebtschlamm	Wachstums- Hemmung	EC ₂₀ EC ₅₀ EC ₈₀	k.A.	k.A.		in Anlehnung an ISO 15522 (1996)		Strotmann et al. 1998

Tab. A4: Biotestmethoden, die bisher zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (z. T. auch: Altlasten) eingesetzt wurden

ELUATE, FESTSTOFF

Abfall-Code	Abfallart	Testsystem(e)	Art der Probe, Behandlung	chem. Analyse	Probenbehandlung vor Biotest	Endpunkt	Zeitdauer / Messdauer	Ergebnisse / Bemerkungen	Quelle
0801 1001 1101	Galvanikrückstände, Lackrückstände, E-Filterasche aus Heizkraftwerk; Klärschlämme	Fische: Goldorfe <i>Leuciscus idus</i> ; Zébrabärling <i>Danio rerio</i> (Fischei-Test) Crustaceen: <i>Daphnia magna</i> Algen: <i>Scenedesmus subspicatus</i> Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> , <i>Pseudomonas putida</i> , aquat. Pflanzen: Wasserlinse <i>Lemna minor</i> Gentoxizität: <i>Salmonella typhimurium</i> (umu-Test)	Elution nach DIN 38414 (neutral) und mit pH _{sat} bei pH4; L/S 10:1; 24h; zentrifugieren, filtrieren 0,45µm	pH; Leitf. TOC; DOC Ag As Cd Cr Cu Co Hg Ni Pb Se Zn	A, B: Bei Flockung oder Trübung: Filtration pH-Wert Einstellung entsprechend der Testvorschriften	F: L.r. akute Toxizität, D.r.: C: akute Immobilisierung; A: Hemmung Zellvermehrung; B: V.f. Hemmung Lumineszenz; P.p. Hemmung Zellvermehrung aquat P: Hemmung Blattwachstum Gent: S.t. Reversion (mutagene Aktivität);	k.A.	nach pH _{sat} -Elution deutlich erhöhte Schwermetall-Gehalte (z.T. <100x) und Toxizität (10-12000x) pH-Wert dominiert die Elutionswirkung Eluat z.T. auch nach 6. Elution noch toxisch	Vogel et al. 2000
Eluate	Industrieabfälle: [A] Galvanikschlamm [B] Metallschlamm [C] Sedimentationsschlamm [D] Faulschlamm [E] Lackreststoff	Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> ^A	3 Elutions-Verfahren: [1] 1310 (US-EPA) [2] 1320 Mehrfach-Elution (US-EPA) [3] DIN 38414 (D);	CSB; TOC	k.A.	B: P.p. Hemmung Lumineszenz EC ₂₀ , EC ₅₀ , EC ₈₀ ; Hemmung Wachstum EC ₂₀ , EC ₅₀ , EC ₈₀	k.A.	Toxizitätswerte beider Tests sind zwischen den 3 Elutionsverfahren meist gut vergleichbar Abfall [E] > [A] > [B] ≈ [C] ≥ [D] ; beide Testverfahren mit ähnlicher Empfindlichkeit	Sirofmann et al. 1998
Eluate	feste Industrieabfälle (Metall-)Schlämme; Farbrückstände; Metall-Schlacken; Flugasche, Bodenasche aus Hausmüll- und Industrieverbrennung; PCB-kontam. Boden	Crustaceen: <i>Daphnia magna</i> Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> Microtox™, Algen: <i>Raphidocelis subcapitata</i> ^B Gentoxizität: <i>Salmonella typhimurium</i> TA97a; TA98, TA100, TA102 (±S9)	Eluate, für Ames-Test (S. typh.) um 80x / 40x aufkonzentriert	pH; CSB; KWs, CN Phenole, Cl SO ₄ ; Ca As Cd Cr Cu Hg Pb Sn Zn	Filtration mit Papierfilter	C: Beweglichkeits- hemmung; Reproduktions-Hemmung B: Lumineszenz- hemmung EC ₅₀ ? A: Wachstumshemmung Gent: Reversion (Mutation, Ames-Test)	C: 24h, 28d B: 30min A: 72h	grosse Toxizitäts-Unterschiede zw. Abfallarten Empfindlichkeit: Alge >> <i>Daphnia</i> (Repro) ≥ Microtox ≥ <i>Daphnia</i> (immob) (Öko-)Toxizität kann i. Allg. nicht mit Stoffgehalten korreliert werden (PCA)	Lambolez et al. 1994

^A *Vibrio fischeri*, früher: *Photobacterium phosphoreum*;

^B *Raphidocelis subcapitata*; früher: *Pseudokirchneriella subcapitata*, oder: *Kirchneriella subcapitata* oder: *Selenastrum capricornutum*

Tab. A-5: Einsatz von Biotests zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (z. T. auch: Altlasten, Böden) (→ Forts.)

Abfall-Code	AbfallArt	Testsystem(e)	Art der Probe, Behandlung	chem. Analyse	Probenbehandlung vor Biotest	Endpunkt	Zeitdauer / Messdauer	Ergebnisse / Bemerkungen	Quelle
1001	Flugasche aus Kraftwerk; Hochofenschlacke, jeweils mit Zement gebunden	Crustaceen: <i>Thamnocephalus platyurus</i> als Microbiotest THAMNOTOXKIT F™ Algen: <i>Raphidocelis subcapitata</i> ® Microbiotest ALGALTOXKIT F™ Bakterien: <i>Escherichia coli</i> (TOXICROMOPAD™)	z. T. Verfestigung mit Wasser (Zement) bzw. Kalkwasser (Asche+Schlacke); pulverisieren; Elution nach CEN "Compliance Test" (TC292, 1994) bei pH 3,5	Cd Cr Cu Ni Pb Zn	k.A.			Verfestigung mit Zement reduziert SM-Gehalt in Eluat; Zement-Eluate toxisch; Roh-Schlacke nicht toxisch, n. Verfestigung: mäßig toxisch; Flugasche stark toxisch (nur Algen), n. Verf.: wenig toxisch; Alge empfindlicher od. ähnl. empfindl. wie <i>Thamnoceph.</i> ; ToxiChromoPad nicht empf.	Mala et al. 2000
Eluate									
1001	Asche (Boden- + Flugasche) aus Kohleverbrennung	Bakterien: <i>Vibrio fischer</i> ^A (Microtox™)	2 Kohlequalitäten, 3 Verbrennungstemp. → Extraktion mit H ₂ O (pH 5,2; 24h)	nur total PAH (99-696 ng/kg)	Filtration mit Cellulose-Filter 0,45µm	B: Hemmung der Lumineszenz	B: 15 min	Toxizität Flugasche > Bodenasche kein signif. Einfluss von PAH-Gehalt auf Toxizität (geringer/unterschiedl. Wasserlöslich der PAHs)	Callen et al. 1998
Eluate									
1001	Flugasche aus Steinkohleverbrennung;	Säuger: Ratte <i>Rattus norvegicus</i> Wistar	als Feststoff	As Cd Cr Cu Hg Ni Pb Sb Se Ti Zn	k.A.	S: LD ₅₀ (14d)	S: 14d	LD ₅₀ >2000mg/kg KG; BWZ-S: 1	pers. Mitteilung H Puch VGB 2002
Feststoff									
1001	Flugasche aus Kohlekraftwerk	terr. Pflanzen: Chinakohl <i>Brassica chinensis</i> , <i>B. parachinensis</i>	Sieben (<2mm)	pH, Leitf. (1:25 in H ₂ O); total C; total N; total P, Cd Co Cu Fe Mn Mo Ni Pb Zn	Festprobe: sieben <2mm, mischen mit 2 Kontrollböden (Sand, lehmiger Sand)	terrP: Keimung, Spross-, Keimblatt-, Blattwachstum; Biomasse	terrP: 12d	Keimhemmung: EC ₅₀ 11-25% (4d); 21-27% (12d); Biomasse: EC ₅₀ 10-24%; Länge Spross: EC ₅₀ ≥30%; Keimblätter: EC ₅₀ 15-25%; 1. Blatt EC ₅₀ : 8-16% → Entwicklungsverzögerung aber: Förderung verschiedener Parameter bei 3-6% Ascheanteil	Wong und Wong 1989

^A *Vibrio fischeri*, früher: *Photobacterium phosphoreum*;

^B *Raphidocelis subcapitata*; früher: *Pseudokirchneriella subcapitata*, oder: *Kirchneriella subcapitata* oder: *Selenastrum capricornutum*

Tab. A-5: Einsatz von Biotests zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (Forts.) (z.T. auch: Atlanten, Böden) (→ Forts.)

Abfall-Code	Abfallart	Testsystem(e)	Art der Probe, Behandlung	chem. Analyse	Probenbehandlung vor Biotest	Endpunkt	Zeitdauer / Messdauer	Ergebnisse / Bemerkungen	Quelle
1001	Asche aus Kohleverbrennung (pulverisiert) PFA, "low-NO _x "-Asche (2 Fraktionen: fein, grob), Schlacke aus Kohle-Vergasung GCS (+kontaminierte Sedimente als Referenz)	aquat. Pflanzen: Wasserlinse <i>Lemna minor</i>	Eluat nach Extraktionsvorschrift EP (US-EPA 1980); H ₂ O+HNO ₃ (statt Essigsäure) pH 5, 7, 9 L/S: 10:1; 20:1; 40:1	pH, As B Cr Cu Fe Mo Ni Sb Se Zn	Eluat pH 5; 100%, weitere Stufen durch Verdünnen mit Gorham's Medium +2,5µM EDTA, pH5	EC ₅₀ (Frond-Wachstum)	14d	die Relation EC ₅₀ vs. L/S-Verhältnis ist unregelmässig und zT unerwartet: EC ₅₀ bei 20:1 am niedrigsten (=höchste Toxizität); bei 10:1 deutlich, bei 40:1 merklich höher! PFA, GCS rel. wenig toxisch, Sediment-Extrakt v.a. wg. Zn-Gehalt toxisch. Element-leaching aus "low-NO _x "-Asche höher als aus normalen Kohlenaschen, aus Schlacke minimal;	Jenner und Janssen-Mommen 1993
Eluate									
1001	Schlacke aus Kohle-Entgasungsprozess (CGS); pulverisierte Kohlenasche (PFA) als Referenzsubstanz	Makroinvertebraten: Regenwurm <i>Eisenia fetida</i> ; terr.Pflanzen: Cyperngras, gelbe Segge <i>Cyperus esculentus</i> (N-Fixerer, trägt sehr unterschiedl. Wasserregime); alle Varianten unter 2 Wasserregimen: mässig feucht [U] + Überstauung [W]	als Feststoff ; Mischung mit (handelsübl.) Topferde: 100%; 75%, 50%, 0%; 100%+NPK-Düngung	Al C Ca Fe K Mg Na Si SO ₃ Ti; As B Cr Cu Mo Ni Pb Sb Se Zn	k.A.	M: Mortalität (%), Biomasseveränderung; terrP: Biomasse (FG, TG); Wuchshöhe	M: 7wo; terrP: 10wo	M + terrP: Wachsminderung/ Biomasseverlust in allen GCS-Dosierungen vs. Topferde, aber nur unter [W]-Bedingungen dosisabhängig. terrP: GCS-Wirkung v.a. wegen Nährstoffmangel Akkumulation von As in <i>E.f.</i> ; von B und Mo in <i>C.e.</i> (v.a. unter [W]-Beding.	Jenner et al. 1992
Feststoff									
1001	Flugasche aus Steinkohleverbrennung; Eluat (5 Proben)	Fische: Goldorfe <i>Leuciscus idus</i> Crustaceen: <i>Daphnia magna</i> Algen: <i>Scenedesmus subspicatus</i> Bakterien: polyvalente Population aus Kläranlage (v.a. <i>Pseudomonas</i>)	Eluatgewinnung nach DIN 38414 S4	pH Leitf. CSB PAH Phenole, KW, F-, Cl-, SO ₄ , NO ₂ NO ₃ , NH ₄ CN, Ag As B Ba Be Ca Cd Co Cr Cu Fe Hg K Mg Mn Na Ni P Pb Sb Se Sn Ti V Zn	k.A.	F: LC (48h) C: Immobilisierung EC ₅₀ / LC ₅₀ (24h) A: Vermehrungshemmung EC ₁₀ (72h) B: Vermehrungshemmung	F: 48h C: 24h A: 72h B: k.A.	<i>Daphnia:</i> EC ₅₀ (70-)800->1000 mL/L; Alge: EC ₁₀ : 700- >1000mL/L Einstufung: Wassergefährdungsklasse (WGK) 0 "im Allgemeinen nicht wasser-gefährdend"	pers. Mitteilung H Puch VGB 2002
Eluate									

A *Vibrio fischeri*, früher: *Photobacterium phosphoreum*;
 B *Raphidocelis subcapitata*; früher: *Pseudokirchneriella subcapitata*, oder: *Kirchneriella subcapitata*
 oder: *Selenastrum capricornutum*

Tab. A-5: Einsatz von Biotests zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (Forts.) (z.T. auch: Attilasten, Böden) (→ Forts.)

Abfall-Code	AbfallArt	Testsystem(e)	Art der Probe, Behandlung	chem. Analyse	Probenbehandlung vor Biotest	Endpunkt	Zeitdauer / Messdauer	Ergebnisse / Bemerkungen	Quelle
1001 1201	Industrie-Abfälle (Färberei, Textil-Ind.; Nahrungs- mittel-Ind.; Metall- verarb.) Klärschlamm, Kraftwerks-Asche, Wäscher- schlämme; Rück- stände aus Kohle- entgasung; Öl- schiefer; As-kon- tam. Grundwasser	Crustaceen: <i>Daphnia magna</i>	feste Abfälle: Extrakte nach EPA (1978); 0,5N-Essigsäure pH5; Filtration 0,45 µm		Verdünnungs- wasser (Quellwasser, pH 7,8); Neutralisation aller Proben auf pH 7,0;	C: akute Immobilisierung / Letalität LC ₅₀ ; chron. Reproduktion; signif. Minderung gegen Kontrolle (p<0,05)	C: akut: 48h; chronisch: 28d	Industrieabfälle (v.a. Färberei + Versilberung) toxischer als Asche etc. aus K-Kraftwerk; Kohleentgasungs-Rückstände nicht toxisch; chron. Test oft nur wenig empfindlicher als akuter Nach 28d-Probenlagerung z.T. signif. Änderungen der Toxizität. Essigsäure ungeeignet als Elutionsmittel für Biotest	Millemann und Parkhurst 1980
Eluate									
1001 1201	Öl-haltiger Abfall aus Metallprodukt.) Flugasche aus Kraftwerk, hoher Zn-Gehalt; Entfärbungsrückstände (Zellulose-Prod.); Jarosit (Neben- produkt aus Ni-Co-Produktion, SM-reich)	Crustaceen: <i>Daphnia magna</i> Bakterien: <i>Pseudomonas putida</i> ; <i>Vibrio fischeri</i> Algen: <i>Raphidocelis subcapitata</i>	6 Elutions-Methoden	TOC, Mineral-Öl; Cl, SO ₄ ; Al, Cd, Co, Cr, Cu, Mo, Ni, Zn	pH-Einstellung auf pH 7 A: Filtration	C: Immobilisierung EC ₅₀ B: P.p. Wachstums- Hemmung EC ₅₀ ; V.f. Lumineszenz EC ₅₀ A: Wachstums- Hemmung EC ₅₀	C: (24h) 48h B: V.f. 48h; V.f. 30min A: 72h	Toxizität der Eluate ist annähernd durch chem.-analyt. Charakterisierung (jeweils kritische Schadstoffe) erklärbar; Elutionsmethode sollte mögl. geringe (=konzentrierte) Eluatmengen liefern; mög- lichst Microbiotests mit geringem Probenbedarf einsetzen!	Vaajasaari et al. 2000
Eluate									
1001 1201	Öl-haltiger Abfall aus Metallproduktion) Flugasche aus Kraftwerk, hoher Zn-Gehalt); Entfärbungsrückstände (Zellulose- Herstellung); Jarosit (Neben- produkt aus Ni-Co-Produktion, SM-reich)	Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> (Mutatox™); <i>Escherichia coli</i> (ToxiChromotest; MetPLATE, MetPAD) terrestrial Pflanzen: Gerste <i>Hordeum vulgare</i> ; Spinat <i>Spinacea oleracea</i> ; Rot-Klee <i>Trifolium repens</i> ; Wasserlinse <i>Lemna minor</i> Physiolog. Tests: Sub-Mitochondrien-Partikel aus Rinderherz (RET)	6 Elutions-Methoden	k.A.	bei Bedarf pH-Einstellung auf 5-8, Filtration	B: V.f. Lumineszenz Reversion "dunkler" Mutante; E.c. Enzym- Synthese-Hemmung (2 Tests) P: L.m. Wachstums- Hemmung; H.v.; S.o.; T.r.: Keimungs- Hemmung Physiol: Reverse Electron Transport RET	B: V.f. 24h; E.c. 6h bzw. 4-5h (2 Tests) P: L.m. 3d od. 5d; H.v.; S.o.; T.r.: 4d od. 7d Phys: 20min	deutlich unterschiedliche Charakterisierung der Abfall- Eluate; unterschiedliche Toxi- zitätsmuster, annähernd analog zu chem.-analyt. Charakterisierung <i>Lemna</i> - und RET-Test mit höchster, Keimungstest mit geringster Empfindlichkeit; Mutatox™-Ergebn. inkonsis- tent, schwer interpretierbar	Joutfi et al. 2000

^A *Vibrio fischeri*, früher: *Photobacterium phosphoreum*;

^B *Raphidocelis subcapitata*; früher: *Pseudokirchneriella subcapitata*, oder: *Kirchneriella subcapitata* oder: *Selenastrum capricornutum*

Tab. A-5: Einsatz von Biotests zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (Forts.) (z.T. auch: Altlasten, Böden) (→ Forts.)

Abfall-Code	Abfallart	Testsystem(e)	Art der Probe, Behandlung	chem. Analyse	Probenbehandlung vor Biotest	Endpunkt	Zeitdauer / Messdauer	Ergebnisse / Bemerkungen	Quelle
1010	Gießerei-Sande (zu Recycling als Auffüllmaterial etc. vorgesehen)	Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> MICROTOX™ (90%-Vergleichsprotokoll)	Eluat: L/S 4:1; 2%-NaCl; 18h; Zentrifug: 10000 g 16min; Filtr: 1,5µm	CSB	Einstellung auf pH 6,5-8	B: Hemmung Lumineszenz EC ₅₀	B: 5min; 15min	7 von 11 Proben ähnlich (oder weniger toxisch) wie ungebrauchter Sand; 4 v 11 Proben (z.T. schwach) toxisch Korrelation mit CSB (Zusammenhang mit verwendeten organ. Bindemitteln)	Bastian und Aleman 1998
Eluate									
1010 1901	[1] Bodenasche (Schlacke) aus MVA (F) [2] Schlacke aus Bleischmelze (Feststoff)	Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> ^A Microtox™ SolidPhase-Test terr. Pflanzen: Kopfsalat <i>Lactuca sativa</i>	Feststoff: Sieben auf <20 mm	pH; Cd Cu Fe Pb	Mahlen (<4mm), Zuzumischen zu Kontrollboden (Lehm): 3,4%; 10%, 34%, 50%, 100%	B: Hemmung Lumineszenz EC ₅₀ terrP: Hemmung Keimung, Frischgewicht; Trockengewicht EC ₅₀	B: 20min terrP: 14d	Probe [2] 18x-37x toxischer als [1] (hierbei gute Übereinstimmung B vs. terrP.) B jeweils deutlich (27 [1] - 45x [2]) empfindlicher als terrP.	Ferrari 2000
Feststoff									
1010 1901	[1] Bodenasche (Schlacke) aus MVA (F); [2] Schlacke aus Bleischmelze (Eluat)	Crustaceen: <i>Daphnia magna</i> , <i>Ceriodaphnia dubia</i> Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> ^A Microtox™ Algen: <i>Raphidocelis subcapitata</i> ^B terr. Pflanzen: Kopfsalat <i>Lactuca sativa</i>	Eluat: H ₂ O deion L/S 1:2 und 1:10 24h schütteln, filtrieren (pH >11)	pH; Cd Cu Fe Pb	Filtration durch 4-7 µm Papierfilter terrP: Eluat zu Kontrollboden (Lehm) für Microtox™ und Algentest: auf pH 8 korrigiert	C: Reproduktion EC ₅₀ B: Hemmung Lumineszenz EC ₅₀ A: Hemmung Wachstum EC ₅₀ terrP: Keimung, Frischgewicht; Trockengewicht	C: 7d C.d.; 21d D.m. B: 60min A: 72h P: 14d	Probe [2] 5x-2000x toxischer als [1] C: C.d. 2-5x empfindlicher als D.m.; die unterschiedliche L/S-Relation wirkt sich nur bei Probe [2] deutlich in den Biotests aus; Probe [1] im terrP-Test nicht toxisch	Ferrari 2000
Eluate									
1101	12 Schlämme aus der Oberflächenbehandlung von Metallen; Eluate	Crustaceen: <i>Daphnia magna</i> Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> ^A		CN, Cl, SO ₄ ; Ag Cd Cr Cu Fe Ni Pb Zn	Filtration	C: Immobilisierung EC ₅₀ B: Hemmung Lumineszenz EC ₅₀	C: 24h B: 15min	"ökotoxisch" wenn: Microtox™ EC ₅₀ ≤3000mg/L; <i>Daphnia magna</i> EC ₅₀ ≤750 mg/L vergleichbare Ergebnisse aus beiden Biotest-Systemen; aber: Klassifizierung nach Vorschlag EC-Direktive 102 final-SYN335 auf Basis der (Schad-) Stoffgehalte ist restriktiver	Ortiz et al. 1995
Eluate									

^A *Vibrio fischeri*, früher: *Photobacterium phosphoreum*;
^B *Raphidocelis subcapitata*; früher: *Pseudokirchneriella subcapitata*, oder: *Kirchneriella subcapitata*
oder: *Selenastrum capricornutum*

Tab. A-5: Einsatz von Biotests zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (Forts.) (z.T. auch: Attilasten, Böden) (→ Forts.)

Abfall-Code	AbfallArt	Testsystem(e)	Art der Probe, Behandlung	chem. Analyse	Probenbehandlung vor Biotest	Endpunkt	Zeitdauer / Messdauer	Ergebnisse / Bemerkungen	Quelle
1101	Abfälle aus Pestizid-Produktion [A], Galvanisierung [B]	Crustaceen: <i>Daphnia magna</i> Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> ^A Microtox™;	8 Extraktionsprozeduren: Wasser +CO ₂ vs. Essigsäure/Na-Acetat pH 4,6 20 vs. 40°C L/S-Relation; Extraktionszeit	pH, Leitf., CSB: 6 Pestizide: CN Cd Cr Cu Fe Ni	k.A.	C: Immobilisierung EC ₅₀ B: Hemmung Lumineszenz EC ₅₀	C: 24h B: 5min, 15min, 30min	rel. gute Übereinstimmung beider Testsysteme <i>D.m.</i> ist 42-3000x [A] bzw. 2-26x [B] empfindlicher als Microtox™, Metal-Extraktion stark von Elutionsbedingungen abhängig und durch Metallgehalte rel. gut erklärbar	Calleja et al. 1986
Eluate									
1101 1201	Industrieabfälle: Metallschleifschlamm, Fe-Stäube; Strahlmittelrückstände; Metallschlamm; Galvanikschlamm, Schlamm aus Fäll- und Löseprozess; + Strassenkehricht	Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> ^A	Vorbehandlungen: Zerkleinerung, Siebung; mechan. und /oder biolog. Aufbereitung: 5-34 wo, Untersuchungen im Zeitverlauf: 6, 9, 19, 29, 39, 49 wo	Feststoff: Glühverlust, TOC, As Cd Cr Cu Hg Ni Pb Zn Perkolat: pH Leitf TOC CSB BSB5 AOX NH ₄ , N, As Cl, Cd Cr Cu Hg Ni Zn,		B: Abnahme Leuchtintensität	B "Kurzzeit"	GL-Werte: 8 - 256	Ehrig, Brinkmann et al. 1997
Feststoff Perkolat									
1201 1901	[A] Elektro-Filterstaub aus MVA; [B] Strahlmittel-Rückstände mit 20% C _{orig} ; [C] Strahlmittel-Rückstände mit hohem Fe-Gehalt	Crustaceen: <i>Daphnia magna</i> Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> ^A Microtox™ Abwasserbakterien: Hemmtest nach OFFHAUS = Sapromat) Algen: <i>Scenedesmus subspicatus</i>	Kaskaden-Elution mit Salzlösung	Al As Ba Be Bi Ca Cd Co Cr Cu Fe Hg K Li Mg Mn Mo Na Ni Pb Rb Sb Si Sn Sr Ti Tl V Zn	k.A.	C: Immobilisierung EC ₅₀ B: Hemmung Lumineszenz EC ₅₀ ; O ₂ -Verbrauch; A: Hemmung Wachstum;	C: 24h B: V.f. 30min Sapromat: 5d A: 72h	hohe Toxizität der Eluate (EC ₅₀ : 0,16-45 mL/L) [A] >> [B] > [C] <i>Daphnia</i> > <i>Scenedesmus</i> > O ₂ -Verbrauch > Microtox™;	Kampke-Thiel et al. 1994
Eluate									
1901	Filterasche aus Verbrennung: A unbehandelt B nach HCl-Extraktion + Waschen, C nach B + Zementbindung	Bakterien: <i>Alcaligenes eutrophus</i> ; 2 Stämme mit 2 Metall-spezifischen lux-Genomen (Cu- bzw. Zn-, Cd-, Pb-Biosensor)	1 Feststoff (direkte Methode) Dosierung von Filterasche direkt zu Testsystem ins Medium 2 Extraktions-lösung (indirekte Methode): Extraktion mit minimal-Tris-Medium		Filtration	Induktion der Lumineszenz durch (verfügbaren) Metallgehalt	akut 3 h od. 4 h / 10 sec	Optimum-Kurve, wg. Toxizität (der Metalle) bei hohen Konz.; Vergleichstests mit Microtox™-Test nicht erfolgreich wg. hohem Cl-Gehalt	Corbiser et al. 1996
Feststoff Eluate									

^A *Vibrio fischeri*, früher: *Photobacterium phosphoreum*;

^B *Raphidocelis subcapitata*; früher: *Pseudokirchneriella subcapitata*, oder: *Kirchneriella subcapitata* oder: *Selenastrum capricornutum*

Tab. A-5: Einsatz von Biotests zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (Forts.) (z.T. auch: Altlasten, Böden) (→ Forts.)

Abfall-Code	AbfallArt	Testsystem(e)	Art der Probe, Behandlung	chem. Analyse	Probenbehandlung vor Biotest	Endpunkt	Zeitdauer / Messdauer	Ergebnisse / Bemerkungen	Quelle
1901	[A] Feinschlacke aus HM-Verbrennung; [B] Schmelzgratulat aus Hochtemperatur-Verbrennung von Hausmüll [C] gerötetes Material aus mech/biol. Abfallbehandlung	Fische: Goldorfe <i>Leuciscus idus</i> ; Zebraquariabling <i>Danio rerio</i> Fischei-Test Crustaceen: <i>Daphnia magna</i> Algen: <i>Scenedesmus subspicatus</i> Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> ; <i>Pseudomonas putida</i> ; aquat. Pflanzen: Wasserlinse <i>Lemna minor</i> Gentoxizität: <i>Salmonella typhimurium</i> (umu)	2 Elutionsverfahren: [1] ohne pH-Korrektur (nach DIN 38414-S4) [2] bei pH 4 (pH _{stat}) HNO ₃ ;	pH, Leitf., DOC, BSB ₅ , AOX, Ag As Cd Co Cr Cu Hg Ni Pb Zn	Neutralisation der Eluate (aus pH _{stat}) m. NaOH, sonst (pH 7,2-9,9) mit HCl (zur Simulation natürlicher Gewässer) bei Ausfällung: Filtration <u>nur</u> für Bakterien- und Algentests	F: L.r. akute Toxizität (LC ₅₀), D.r. (LC ₅₀), D.r. akute Immobilisierung EC ₅₀ A: Hemmung Zellvermehrung EC ₅₀ B: V.f. Hemmung Lumineszenz EC ₅₀ ; P.p. Hemmung Zellvermehrung; aquatP: Hemmung Blattwachstum Cent: S.t. (mut. Akt).	k.A. (alle Tests nach EN, DIN bzw. DIN-Entwurf)	saure Eluate mit deutlich höheren SM-Gehalten; deutlich toxischer: F: bis 6x; C: 2-200x; A: 2-5x; B: bis 600x aquatP: 4-16x; Empfindlichkeit: Leuchtbakt > Alge ≈ Daphnie ≥ Fisch (+Fischei); Bakterien (V.f.) nur im sauren Eluat sehr empfindlich; Toxizität v.a. durch SM (Cu I); Bewertungsschema in WGF	Brackemann et al. 2000 A,B
Eluate									
1901	Aschen, Schlacken, Filterstäube aus Hausmüll-Verbrennung (HMV); Elektro-Filterstäube aus Sonderabfallverbrennung SAV; Eluate mit Grundwasser oder Salzlösung	Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> ^A Microtox™; Mischpopulation von Abwasserbakterien (Hemmtest n. OFFHAUS = Sapromat) Crustaceen: Salzkrebschen <i>Artemia salina</i> Makroinvertebraten: Regenwurm <i>Eisenia fetida</i> ; <i>Lumbricus terrestris</i> , <i>Lumbricus rubellus</i> ; Springschwänze <i>Folsomia candida</i> ; <i>Sinella coeca</i> ; <i>Artemia salina</i> Gentoxizität: Mutatox™;	Elution (2 Salzlösungen IP21, IP9, Grundwasser: GW) in mehreren aufeinanderfolgenden Kaskaden	pH, Br Cl F NO ₃ ; Cd Co Cr Cu Mn Ni Pb S Sr Zn	Bei Bedarf (pH ≥ 10) Neutralisation auf Toleranzbereich	B: Hemmung Lumineszenz; Atmung C: Überlebensrate M: Mortalität; Hemmung Wachstum + Reproduktion Cent: Rückmutation v. "dunklen" Spontanmutanten;	B: Microtox™; 15-30min; Mutatox™; 12; 14; 16; 18; 20; 22; 24h Mischpop: 120h C: 2wo M: L.t.; L.r.; F.c.; 4Wo; S.c. 5Wo	Microtox™ GW-Eluate meist ähnl. toxisch (od. toxischer) als IP-Eluate; GW: Verdünnung (EC ₅₀): 25-8000; Microtox™ empfindlicher als Sapromat; Regenwurm: (Boden) keine Wirkung bzw. nur Salzwirkung erkennbar;	Schrader 1998
Eluate									
1901	Flugasche von MVA (Japan)	Crustaceen: <i>Daphnia magna</i> Algen: <i>Raphidocelis subcapitata</i> ^B	Eluat H ₂ O dest 1 g / 10 mL 6 h; filtern	pH, Cd Cr Cu Fe Hg Mn Pb Zn	Filtration C: pH-Einstellung auf 7,0-7,2 A: pH-Einstellung auf 8,0-8,2	C: D.m. Mortalität LC ₅₀ A: Wachstums- hemmung EC ₅₀	C: 48h A: 24h, 96h	Cd als (wahrscheinlich) toxischstes Element. Eluat rel. stark toxisch: 7x (Alge) bzw. 20-30x (Daphnia) toxischer als durch Cd-Konz. erklärbar, additiver (Alge) bzw. antagonistischer Effekt (<i>Daphnia</i>) mit übrigen Inhaltsstoffen	Kaneko 1996
Eluate									

^A *Vibrio fischeri*, früher: *Photobacterium phosphoreum*;
^B *Raphidocelis subcapitata*; früher: *Pseudokirchneriella subcapitata*, oder: *Kirchneriella subcapitata* oder: *Selenastrum capricornutum*

Tab. A-5: Einsatz von Biotests zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (Forts.) (z.T. auch: Atlanten, Böden) (→ Forts.)

Abfall-Code	Abfallart	Testsystem(e)	Art der Probe, Behandlung	chem. Analyse	Probenbehandlung vor Biotest	Endpunkt	Zeitdauer / Messdauer	Ergebnisse / Bemerkungen	Quelle
1901	Bodenasche (Schlacke) aus MVA (Feststoff);	terr. Pflanzen: Hafer <i>Avena sativa</i> Chinakohl <i>Brassica campestris cv. chinensis</i> Kopfsalat <i>Lactuca sativa</i>	Feststoff: Mahlen (<4mm), Zuschütten zu Referenzboden (3,4%; 10%, 34%, 50%, 100%)	pH; Cd Cu Fe Pb		Frischgewicht; Enzymaktivität (SOD, Peroxidase, Katalase, Glutathion-Reduktase)	10d	Biomasse: signif. Erhöhung(!) bei ≤10%; signif. Minderung bei ≥34% (L.s.) bzw. ≥50% (A.s.; B.c.); erhöhte Enzym-Aktivität bei ≥3,4% (alle Spezies) → Enzymaktivität empfindlicher, aber aufwendiger zu bestimmen	Ferrari et al. 1999
Feststoff									
1901	Bodenasche (Schlacke) aus MVA (F); Eluat	Crustaceen: <i>Daphnia magna</i> , <i>Ceriodaphnia dubia</i> Bakterien: <i>Vibrio fischer</i> ^A Microtox TM Algen: <i>Raphidocelis subcapitata</i> ^B terr. Pflanzen: Hafer <i>Avena sativa</i> , Chinakohl <i>Brassica campestris cv. chinensis</i> , Kopfsalat <i>Lactuca sativa</i>	Eluat: H ₂ O deion 1 : 10 24h schütteln, filtrieren (pH >11)	pH; Cd Cu Fe Pb	Filtration durch 4-7 µm Papierfilter terrP: Eluat zu Kontrollboden (Lehm) für Microtox TM und Algen-test: auf pH 8 korrigiert	C: Reproduktion EC ₅₀ B: Hemmung Lumineszenz EC ₅₀ A: Hemmung Wachstum EC ₅₀ P: Frischgewicht; Enzymaktivität (SOD, Peroxidase, Katalase, Glutathion-Reduktase)	C: 7d <i>C.d.</i> ; 21d <i>D.m.</i> B: 60min A: 72h P: 10d	C: <i>C.d.</i> empfindlicher als <i>D.m.</i> ; B: Microtox TM empfindlicher als Alge (pH 8) A: empfindlicher als <i>C.d.</i> , <i>D.m.</i> P: kein Biomasse-Effekt (weniger empfindlich als im Feststoff-Test); erhöhte Enzymaktivität bei ≥3,4%	Ferrari et al. 1999
Eluate									
1901	verglaster (=plasmabehalter) Abfall: verunreinigter Boden, Hausmüll, MVA-Schlacke (bottom ash)	Algen: <i>Raphidocelis subcapitata</i> ^B Bakterien: <i>Vibrio fischer</i> ^A Microtox TM terr. Pflanzen: Kopfsalat <i>Lactuca sativa</i> nach AFNOR X31-201	Zerkleinerung <4mm → Eluat H ₂ O deion 10:1; 24 h rollenschütteln	pH, elektr. Leitf F Cl, Phenol Index; NO ₂ ; NO ₃ ; SO ₄ ; Al As Cd Cr Cu Fe Hg Ni Pb Sn Zn (alle anderen Elemente <LOD)	Filtration mit 0,45 µm Membran terrP: Keimhemmung	A: Wuchshemmung B: Minderung Lumineszenz terrP: Keimhemmung	A: ≥3 d B: ≤30 min terrP: 7 d	Auswertung nach CEMWT (frz.) und Toxicity Classification System TCS (nach PERSOONE): geringe Eluierbarkeit, geringe (Öko)Toxizität der Eluate, v.a. Cl-Gehalt im Eluat durch Verglasung vermindert: [empff B > A > terrP [unempff]	Lapa et al. 2002A
Eluate									
1901	Bodenasche (Schlacke) aus MVA (B, F, D, I, UK)	Crustaceen: <i>Daphnia magna</i> Algen: <i>Raphidocelis subcapitata</i> ^B Bakterien: <i>Vibrio fischer</i> ^A Microtox TM (z.T. mit pH-Korrektur) terr. Pflanzen: Kopfsalat <i>Lactuca sativa</i>	Mischproben mahlen (<4 mm), langsames Schütteln mit deion H ₂ O 24 h → Eluat	NH ₄ , NO ₂ , F, pH, Phenole Sulfate, Total-Kohlenwasserstoffe, C _{org} , Al As Cd Cl Cr Cu Fe Pb Hg Ni Zn	Filtration 0,45µm Microtox TM . Test z.T. mit pH-Korrektur	C: EC ₅₀ : <0,5 - >95% A: EC ₁₂₀ 0,4 - 8,7% EC ₅₀ 2,3 - 25,7% B: EC ₅₀ <1 - >99% (pH-Korr.: 59 - >99%) terrP: >100% (=wenig empfindlich)	C 48h A: 5d B 15-30min P: 7 d	grosse Unterschiede in Element-Gehalten und Ökotoxizität zwischen Proben; Bewertung nach franz. Limit CEMWE: Toxic Units, Test Score, CWS	Lapa et al. 2002B
Eluate									

^A *Vibrio fischeri*, früher: *Photobacterium phosphoreum*

^B *Raphidocelis subcapitata*; früher: *Pseudokirchneriella subcapitata*, oder: *Kirchneriella subcapitata* oder: *Selenastrum capricornutum*

Tab. A-5: Einsatz von Biotests zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (Forts.) (z.T. auch: Alltasten, Böden) (→ Forts.)

Abfall-Code	Abfallart	Testsystem(e)	Art der Probe, Behandlung	chem. Analyse	Probenbehandlung vor Biotest	Endpunkt	Zeitdauer / Messdauer	Ergebnisse / Bemerkungen	Quelle
1901	Aschen, Schlacken, Filterstäube aus Hausmüll-Verbrennung (HMV); Elektro-Filterstäube aus Sonderabfall-Verbrennung SAV; Eluate mit Grundwasser oder Salzlösung	Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> ^A , Microtox TM , Abwasserbakterien (Hemmtest n. OFFHAUS = Saproamat) Algen: <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> terr.+aquat. Pflanzen: Kresse <i>Lepidium sativum</i> ; Wasserlinse <i>Lemna minor</i> Genotoxizität: Mutatox TM ;	Elution in mehreren aufeinanderfolgenden Kaskaden	pH, Leitf.; Redox-Pot., CSB, BSB5, TOC, AOX, Phenolindex-, Al B Ba Ca Cd Co Cr Cu Fe Hg K Mg Mn Mo Na Ni P Pb S Sn Sr Ti V Zn	Filtration	B: Hemmung Lumineszenz; Atmung A: Photosyntheseleistung L.s. Wurzellängenwachstum L.m.: Blattwachstum Gen: Rückmutation v. "dunklen" Spontanmutanten;	B: V.f. 30min (Microtox TM) A: 4h Pl: L.s.; L.m. 8d Gen: (Mutatox TM 24h)	SAV-Eluate deutlich toxischer (0,1-0,7mL/L) als HMV-Eluate (20-200mL/L); Microtox TM , Mutatox TM bei Eigenfärbung der Proben ungeeignet; hoher Salzgehalt der Eluate schädigt L.s. und L.m.; z.T. deutlich unterschiedliche Empfindlichkeit (und Spezifität) der Testsysteme; (Schad-) Stoffgehalt kann Toxizität nicht erklären	Wundram et al. 1998 Wundram und Bahadir 1999
Eluate									
1901	mit Zement stabilisierte (Mischungen von): Verbrennungsrückständen (Bodenasche BA (=Schlacke), Flug- asche FA) und Rückstände aus Abluftreinigung SR ; Zement als Referenz (ZE)	Fische: Silverside <i>Menidia beryllina</i> Crustaceen: Garnele <i>Mysidopsis bahia</i>	Eluate: Seewasser (Salinität: 1,8‰ bzw. 2,5‰); L/S ca. 1,5; statisch 1d, 5d, 10d; Elutriat: zerleinerte Probe (<16mm), L/S 4:1, 1h Mischen, 24h absetzen	in Feststoff: Al Ca Cd Cr Cu Fe Mg Ni Pb Si Zn; in Eluat/Elutriat: Cd Cu Pb	Vorverdünnung: 1:1; pH unverändert (pH 7,8 - 9,0)	F: Mortalität, Biomasse C: Mortalität, Biomasse, Fruchtbarkeit (weibl. Tiere mit Eiern/ Embryonen)	F: 7d C: 7d	kein signif. pH-Effekt (pH 7,0-9,5); ZE - Elutriat 100% toxisch f. <i>M.bahia</i> ; BA : nur 10d-Eluat +100% Elutriat toxisch f. <i>M.bahia</i> ; BA+FA : alle Eluate + Elutriat ≥25% (dosisabh.) toxisch f. <i>M.bahia</i> ; BA+SR : 10d-Eluat schwach toxisch f. beide; Elutriat 100% (f. <i>M.beryllina</i>) 50-100% f. <i>M.bahia</i> toxisch; Fazit: Großteil der Toxizität stammt von ZE!	Hamilton et al. 1993
Eluate Elutriate									
1901	MVA-Schlacken	Crustaceen: <i>Daphnia magna</i> Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> ^A Microtox TM terr. Pflanzen: Kresse <i>Lepidium sativum</i> in Hydrokultur	Vorbehandlungen: Zerkleinerung, Siebung; mechan. und /oder biolog. Aufbereitung: 5-34 wo Untersuchungen im Zeitverlauf: 6, 9, 19, 29, 39, 49 Wochen	Feststoff: Glühverlust, BSB, Sum PAH; As Cd Cr Cu Hg Ni Pb Zn; Eluat: NH ₄ , N, TOC, CSB, BSB5, AOX, As Cd Cr Cu Cl Hg Pb Ni Zn	k.A.	C: Mortalität B: Abnahme Leuchtintensität HP: Hemmung Wurzelwachstum in Hydrokultur	C 24h B "Kurzzeit" HP: 5 d	geringe Leuchtbakterien-Toxizität;	Ehrig, Brinkmann et al. 1997
Sickerwasser Eluate									

^A *Vibrio fischeri*, früher: *Photobacterium phosphoreum*;

^B *Raphidocelis subcapitata*; früher: *Pseudokirchneriella subcapitata*, oder: *Kirchneriella subcapitata* oder: *Selenastrum capricornutum*

Tab. A-5: Einsatz von Biotests zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (Forts.) (z.T. auch: Atlanten, Böden) (→ Forts.)

Abfall-Code	AbfallArt	Testsystem(e)	Art der Probe, Behandlung	chem. Analyse	Probenbehandlung vor Biotest	Endpunkt	Zeitdauer / Messdauer	Ergebnisse / Bemerkungen	Quelle
1901	Verbrennungsrückstände (Asche) von MVA (Frankr): Eluat	Algen: <i>Raphidocelis subcapitata</i> ^B	k.A.	k.A.	k.A.	Wachstums-Hemmung	72h	EC ₅₀ : 0,33% (statisch); 0,19% (semi-statisch) MultiScreen™ (kommerzieller Mikroporentest mit Membranfilter-Boden); als statischer + semistatischer (=1,1-3,3x empfindlicher) Test durchführbar; höhere Reproduzierbarkeit als Standard-OECD-Test	Radetski et al. 1995
Eluate								Abschätzung der Eigenschaft H14 'Ökotoxisch' aufgrund v. Wassergefährdungsklasse, da noch keine Kriterien zur Einschätzung der kompletten Ökotox.; WGK 1 → 'H14' nicht wahrsch.	pers. Mitteilung H Puch VGB 2002
1901	Rohaschel-/schlacke aus HMV								
1901	Aschen, Schlacken, Filterstäube aus Hausmüll-Verbrennung (HMV); Elektro-Filterstäube aus Sonderabfallverbrennung SAV; Eluate mit (Grundwasser GW oder) Salzlösung	Algen: <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> terr. Pflanzen: Kresse <i>Lepidium sativum</i> ; Tabak <i>Nicotiana tabacum</i> aquat. Pflanzen: Wasserlinse <i>Lemna minor</i> ,	Elution in mehreren aufeinanderfolgenden Kaskaden mit Salzlösungen	pH, Leitf.; Redox-Pot., CSB, BSB5, TOC, AOX, Phenolindex, Al As B Ba Ca Cd Co Cr Cu Fe Hg K Mg Mn Na Ni P Pb S Sn Ti V Zn	pH-Einstellung auf 6,1, Filtration mit Microfilter (0,45 µm)	A: Photosyntheseleistung; Fluorescein-acetat-Aufnahme (= Vitalität) L.s. Wurzellängen-Wachstum L.m.: Blattwachstum	B: V.f. 30min Microtox™ A: 4h PI: L.s.; L.m. 8d Gent: 24h Mutatox™	Agentest C.r. (2 Endpunkte) f. GW- und Salz-Eluate gut geeignet; deutl. Differenzierung der Abfallarten: EC ₅₀ : 0,2-800 (0,2-900) mL/L; L.m. + L.s.: nur für GW-Eluate geeignet; EC ₅₀ : 0,1-500 (0,7 - >400) mL/L; L.m. oft am empfindlichsten aller Pflanzentests; L.s. am unempfindlichsten; <u>aber:</u> Stress-bedingtes Wurzelwachstum in L.s.	Wundram 1999; Wundram et al. 1997
Eluate									
Industrie-Abfälle	Abfälle aus Lederindustrie (Gerbereien); Festproben, Schlämme;	Säuger: Ratte <i>Rattus norvegicus</i> 'Sprague-Dawley' Crustaceen: <i>Daphnia magna</i> Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i>	bei Feststoff-Proben: Zerkleinerung: <9,5mm → Eluat (nach US-EPA bzw. Spanischer Norm); L/S 16:1 (20:1); pH ≤5 (ggf. Essig-säure); Filtration 0,45µm	Ag Al As Ba Br Ca Cl Cr Cu Fe Hg K Mg Na Ni P S Si Sr Ti W Zn Phenole	B: Einstellung auf pH 6-8;	S: LD50; Gewicht, Autopsie C: Immobilisierung EC ₅₀ /LC ₅₀ B: Hemmung Lumineszenz EC ₅₀	S: k.A. C: kA. B: 15min	S: nur 2 Proben (höchste Toxizität lt. V.f.-Test) getestet (bei 200 mg/kg KG(d)); keine Effekte; C: EC ₅₀ : >750 mg/L; B: EC ₅₀ : 0,28%-58%	Font et al. 1998

^A *Vibrio fischeri*, früher: *Photobacterium phosphoreum*;
^B *Raphidocelis subcapitata*; früher: *Pseudokirchneriella subcapitata*, oder: *Kirchneriella subcapitata*
oder: *Selenastrum capricornutum*

Tab. A-5: Einsatz von Biotests zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (Forts.) (z.T. auch: Altlasten, Böden) (→ Forts.)

Abfall-Code	AbfallArt	Testsystem(e)	Art der Probe, Behandlung	chem. Analyse	Probenbehandlung vor Biotest	Endpunkt	Zeitdauer / Messdauer	Ergebnisse / Bemerkungen	Quelle
Sonderabfälle	Rückstände aus Kohlegewinnung, -verarbeitung, -vergasung (Aschen, Schlacken)	Crustaceen: <i>Daphnia magna</i>	3 Elutionsverfahren [1] ohne pH-Kontr. pH 5±0,2 [2] Essigsäure: pH 1,8±0,2 [3] HNO ₃	Ag Be Ca Cr Cu Fe Mg Mn Pb Zn	alle Proben auf pH 7,5 eingestellt	C: EC ₅₀ (LC ₅₀)	C: 48h	in allen [1]-Eluaten: keine Toxizität EC ₅₀ >100%; [2]-Eluate EC ₅₀ : 0,2% - 22%; [3]-Eluate extrem (Schwer-) Metallhaltig, nicht getestet enge Korrelation zwischen EC ₅₀ und SUM-Metallgehalte	Neufeld und Wallach 1984
Eluate									
Sonderabfälle	verschiedene Sonderabfälle, 31 wässrige Eluate	Fische: amerik. Elritze <i>Pimephales promelas</i> Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> ^A	wässrige Eluate, L/S 5:1; 24h, dekantiert		k.A.	F: akute Toxizität LC ₅₀ B: Hemmung Lumineszenz EC ₅₀	F: 96h B: 15min	Beurteilungsgrenze für "toxische" Abfälle: LC ₅₀ bzw. EC ₅₀ ≤750 mg/L; Übereinstimmung beider Verfahren: 84%; 6,5% falsch positiv; 9,5% falsch negativ	Bulich 1984
Eluate									
Sonderabfälle	UTD-relevante Abfalleluate, z.T. (Salzlauge) mit/ohne Schwermetall-Zusatz)	Abwasserbakterien: (Hemmung der Mikroorganismen-Atmung, BSB-Hemmung) Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> ^A LUMiStox Algen: <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> terr. + aquat. Pflanzen: zu salzempfindlich !	hohe Salzgehalte !! → nur salztolerante Organismen geeignet	pH, Leitfähigkeit; Redox-Pot., CSB, BSB5, TOC, AOX, Phenolindex, Cl, SO ₄ , As Cd Cr Cu Ni Pb Zn	k.A.	AWB: EC ₅₀ B: Hemmung Lumineszenz A: Photosynthese;	AWB: 30min B: 4 h;	die 3 Testsysteme sind rel. tolerant gegenüber hohen Salzgehalten	Wundram et al. 1996
Eluate									
Sonderabfälle	Bewertung von Abfällen v.a. für Untertagedeponien; v.a. Salztoleranz der Testorganismen wichtig	Makroinvertebraten: Regenwurm <i>Eisenia foetida</i> ; Collembolen Crustaceen: <i>Daphnia magna</i> Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> ^A Microtox TM ; (+Mutatox TM) Algen: <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> ; <i>Scenedesmus subspicatus</i> terr. + aquat. Pflanzen: Gartenkresse <i>Lepidium sativum</i> ; Tabak <i>Nicotiana tabacum</i> Hirse <i>Sorghum bicolor</i> Radies <i>Raphanus sativus</i> ; Wasserlinse <i>Lemna minor</i> ;			k.A.	Mi: Toxizität; C: Immobilisierung B: Lumineszenz, Reversion (mutagene Aktivität); Hemmung Sauerstoffbedarf A: Photosynthese; Wachstum HP: Wurzelwachstum; Chlorophyll-Fluoreszenz, oberird. Wachstum		Einzelstoff-Beurteilung führt bei Abfällen zu Fehlschlüssen; EluatGrenzwerte streuen meist 2-6 Grössenordnungen Einfluss der Elutionsmittel auf (Daphnien) Toxizität: z.T. Faktor 20-50;	Brasser 1998
Eluate									

^A *Vibrio fischeri*, früher: *Photobacterium phosphoreum*;

^B *Raphidocelis subcapitata*; früher: *Pseudokirchneriella subcapitata*, oder: *Kirchneriella subcapitata* oder: *Selenastrum capricornutum*

Tab. A-5: Einsatz von Biotests zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (Forts.) (z.T. auch: Atlanten, Böden) (→ Forts.)

Abfall-Code	Abfallart	Testsystem(e)	Art der Probe, Behandlung	chem. Analyse	Probenbehandlung vor Biotest	Endpunkt	Zeitdauer / Messdauer	Ergebnisse / Bemerkungen	Quelle
Industrie-Abfälle; Böden	5 unterschiedl. kontaminierte Böden (Schwermetalle, PAH, PCBs); 4 Abfälle (Industrieabfall, z.T. künstlich, +Schwermetalle, +PCBs)	Crustaceen: <i>Daphnia magna</i> ; <i>Thamnocephalus platyurus</i> Algen: <i>Raphidocelis subcapitata</i> ^B Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i>	6 Extraktionsverfahren: ● H ₂ O (24h, 2h) ● Phosphatpuffer (pH5, pH9) ● Methanol ● Dichlormethan +Hexan; ● superkrit CO ₂ , L/S: 10:1; 24h od. 2h; Filtration 0,45µm oder Dekantieren (n. 12h)	k.A.	k.A.	C: D.m.: Immobilisierung EC ₅₀ /LC ₅₀ ; T.p.: Mortalität LC ₅₀ A: Hemmung Wachstum B: Hemmung Lumineszenz	C: 24h A: 72h B: 40min	Empfindlichkeit: Alge > <i>Thamnoc.</i> ≥ <i>Vibrio f.</i> ≥ <i>Daphnia</i> ; aber: je nach Art des Abfalls z.T. deutliche Unterschiede;	Jauzein et al. 1999
Eluate									
Hausmüll, Industrie-Abfälle, Eluate , Deponie-Sickerwasser	unterschiedl. alte (Hausmüll-) Deponien: Eluate und Sicker-/Bohrlochwasser	Crustaceen: <i>Daphnia magna</i> Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i>	Eluatgewinnung nach DIN 38414 S4	Glühverlust, CSB, BSB5, TOC; Kohlenwasserstoffe	k.A.	k.A.	k.A.	Leuchtbakterien Test tendenziell empfindlicher als Daphnientest für Eluate (+Sicker-/Bohrlochwasser): G-L: 1-200 (4-800) vs. G-D: 1-4 (2-30).	Wirtz et al. 1996
Hausmüll	vorbehandelte, z.T. separierte Siedlungsabfälle Hausrestmüll +0, +10%, +30% Sperrmüll → DSR =Deponiesimulationsreaktoren Sickerwasser Presswasser Eluate (aus Auslaugtests)	Crustaceen: <i>Daphnia magna</i> Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> ^A , Microtox™ ter. Pflanzen: Gartenkresse <i>Lepidium sativum</i>	Vorbehandlungen: Zerkleinerung, Siebung; mechan. und /oder biolog. Aufbereitung (z.T. Vorrotte): 5-34 wo, Untersuchungen im Zeitverlauf: 6, 9, 19, 29, 39, 49 wo	Feststoff: Atmungsaktivität, Glühverlust, BSB, Sum PAH; PCB, As Cd Cr Cu Hg Ni Pb Zn; Eluat: NH ₄ , N _{tot} , TOC, CSB, BSB5, AOX, As Cd Cr Cu Cl Hg Pb Ni Zn, BTEX (in DSR-Sickerw)	k.A.	C: Immobilisierung/Mortalität B: Hemmung Lumineszenz terP: Hemmung Wurzelwachstum in Hydrokultur	C 24h B "Kurzzeit" terP: 5 d	Toxizität sinkt mit zunehmender Vorbehandlungs-Intensität; Rückgang Toxizität Woche 5-39(49); 3 Testsysteme unterstützen sich gegenseitig in Aussagekraft; Daphnien deutlich weniger empfindlich als Kresse, Leuchtbakt.	Ehlig, Brinkmann et al. 1997
Eluate (Perkolate)									

^A *Vibrio fischeri*, früher: *Photobacterium phosphoreum*;

^B *Raphidocelis subcapitata*; früher: *Pseudokirchneriella subcapitata*, oder: *Kirchneriella subcapitata* oder: *Selenastrum capricornutum*

Tab. A-5: Einsatz von Biotests zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (Forts.) (z.T. auch: Altlasten, Böden) (→ Forts.)

Abfall-Code	AbfallArt	Testsystem(e)	Art der Probe, Behandlung	chem. Analyse	Probenbehandlung vor Biotest	Endpunkt	Zeitdauer / Messdauer	Ergebnisse / Bemerkungen	Quelle
Hausmüll	Hausmüll: mechanische Aufbereitung, biologische Aufbereitung (A)	Crustaceen: <i>Daphnia magna</i> (konventionell + als Microbiotest DAPHTOXKIT F™) Algen: <i>Raphidocelis subcapitata</i> ^B (konventionell + als Microbiotest ALGALTOXKIT F™) Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> LUMISTox terr. Pflanzen: Gartenkresse <i>Lepidium sativum</i>	Sieben (<20mm), Eluat (nach DIN 38414-S4): H ₂ O deion L/S 10:1; 24h schütteln, zentrifugieren 5000 rpm, 5min → Gefrierlagerung	pH, Leitf., O ₂ , NH ₄ -N, NO ₂ -N, NO ₃ -N, BSB5; CSB, TOC, PO ₄ -P, SO ₄ , Cl, F, Fe	nach Auftauen: Filtration (0,45µm); keine Filtration für Daphnia-Test; Vorverdünnung 1:1 (Daphnia-Test), pH-Korrektur (LUMISTox)	C: EC ₅₀ Immobilisierung A: EC ₅₀ Wachstumshemmung B: EC ₅₀ Hemmung Lumineszenz terr.P: EC ₅₀ Hemmung Wurzelwachstum	C: 24h A: 72h B: 15min terr.P: 48h	bei zunehmender Aufbereitungsdauer (v.a. biolog.) meist deutl. abnehmende Toxizität (im Daphnien-Test zT auch zunehmend!); Kressetest + Algentest meist deutl. empfindlicher als Daphnien-Test; (sehr)gute Übereinstimmung zwischen konventionellen und kommerziellen Micro-Biotests	Latif und Zach 2000
Eluate									
Hausmüll	"neue" Siedlungsabfälle (Schad- und Wertstoffentfrachtet, geringer organ. Anteil)	Crustaceen: <i>Daphnia magna</i> Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> ^A Microtox™ terr. Pflanzen: Gartenkresse <i>Lepidium sativum</i> Physiolog.: Urease-Hemmtest	mech. Aufbereitung (Zerkleinerung, Siebung); zT. Metalabtrennung; Vorrotte; Ablagerung; Deponierung; Simulationsreaktor DSR Auslaug-Tests nach DIN38414-S4	CSB, BSB; TOC, As Cd Crb Cu Hg Ni Pb Zn BTEX	k.A.	C: Immobilisierung B: Hemmung Lumineszenz EC ₂₀ HP: Wurzelwachstum EC30; Chlorophyll-Fluoreszenz; oberird. Wachstum	k.A.	Müllzusammensetzung; Rückgang der Gehalte an org. + anorg. Schadstoffen seit 20 a; mechani/biol. (nicht: mechani.) Vorbehandlung vermindert Toxizität deutliche Unterschiede zw. Bakterien- und Kresse-Toxizität; Relation BSB/CSB bzw. BSB/TOC charakterisiert biolog. Abbaubarkeit	Brinkmann et al. 1995
Eluate (Perkolate)									
Hausmüll	k.A.	Crustaceen: <i>Daphnia magna</i> Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> ^A Microtox™ terr. Pflanzen: Gartenkresse <i>Lepidium sativum</i>	unterschiedliche Vorbehandlung (mechanisch; mechani./biolog.) → Eluate aus Deponie-Simulationsreaktor DSR	CSB, BSB; CSB, TOC, Schwermetalle (SM, nicht spezifiziert)	k.A.	C: Immobilisierung B: Hemmung Lumineszenz EC ₂₀	k.A.	unbehand. Abfall: hohe Toxizität im Microtox™-Test bei geringem SM-, aber hohem CSB-, TOC-Gehalt; anaerobe Vorbehandlung wirksamer als anaerobe (CSB-, TOC-Gehalt, Toxizität: V.f.; L.s.); geringere Empfindlichkeit bei <i>Daphnia m.</i>	Heim et al. 1996
Eluate (Perkolate)									

^A *Vibrio fischeri*, früher: *Photobacterium phosphoreum*;

^B *Raphidocelis subcapitata*; früher: *Pseudokirchneriella subcapitata*, oder: *Kirchneriella subcapitata* oder: *Selenastrum capricornutum*

Tab. A-5: Einsatz von Biotests zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (Forts.) (z.T. auch: Altlasten, Böden) (→ Forts.)

SICKERWÄSSER

Abfall-Code	Abfallart	Testsystem(e)	Art der Probe, Behandlung	chem. Analyse	Probenbehandlung vor Biotest	Endpunkt	Zeitdauer / Messdauer	Ergebnisse / Bemerkungen	Quelle
Sondermüll	3 Sondermüll-Deponien (D); Sickerwasser	Algen: <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Destillation der Sickerwasser in geschlossenem System → (5x-Konzentrierung der VOCs)	pH, Redox; Leitf., TOC, NH ₄ -N, NH ₃ , H ₂ S-S, H ₂ S + 39 organ. VOCs; BTEX, CKW, Kohlenwasserstoffe, PAH	k.A.	Chlorophyll-a Fluoreszenz; Änderung von I _{tot} (Fläche unt. Kautsky-Kurve) >3x Standard-abw. (=3,3%) der Kontrolle	2h	Ökotoxisches Potenzial auch durch gasförmige Emissionen aus Sickerwasser v.a. durch H ₂ S + organ. Narkotica	Brack et al. 1998
Deponie-Sickerwasser	27 Abwasser-, 3 Sickerwässer: ZellstoffProduktion-Klärschlamm-Deponie, 2 Mülldeponien	Crustaceen: <i>Daphnia magna</i> ; <i>Streptocephalus proboscideus</i> (Streptozoxit F); <i>Thamnocephalus platyurus</i> (Thamnotoxit F) Rotifera: <i>Brachionus calyciflorus</i> (Rotozoxit F),		pH, CSB, BSB5, gelöster O ₂ ; NO ₂ -N, NH ₄ -N	k.A.	G-Werte (nach DIN 38412; ≤10% Mortalität)		alle GL-Werte (3 Sickerwasser-Proben x 4 Testsysteme): 1; aus anderen Proben: die 3 Microbiotest-Kit sind ähnlich empfindlich wie <i>Daphnia magna</i> -Test; Thamnotoxit F ist empfindlicher als Streptozoxit F; kaum Zusammenhänge zw. Toxizität und chemischen Parametern	Latif et al. 1995
Hausmüll; Industriebiomüll; Industriebiomüll-Gemische	Hausmüll, Industriebiomüll, Sondermüll +zT Gemische	Crustaceen: <i>Daphnia magna</i> (nach AFNOR FN NT90-301) <i>Ceriodaphnia dubia</i> , <i>Thamnocephalus platyurus</i> Rotifera: <i>Brachionus calyciflorus</i> Protozoen <i>Spiristomum ambiguum</i> Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> ^A LUMISOx (n. AFNOR NT90-320) Algen: <i>Scenedesmus subspicatus</i> (n. AFNOR NT90-304) aquat. Pflanzen: <i>Lemna minor</i>	25 Sickerwässer oder Eluate (aus Grosslysimeter)	pH, elektr. Leitf., Alkalinität, CSB, DOC, N _{org} , NH ₃ , SO ₄ , Ca Cl Cu Fe K Mg Na Zn	Filteration (0,45 µm)			Hausmüll ist deutlich toxischer als reiner Industriebiomüll, noch toxischer: Gemische; [empf] Prot > Crust >> andere [unempf] PCA: 90% der ToxFälle durch 3 Testsysteme erfassbar; empfohlene Testbatterie: Bac + Prot + Alg + (aquaP od. Rot od. Crust)	Clement et al. 1996

^A *Vibrio fischeri*, früher: *Photobacterium phosphoreum*;

^B *Raphidocelis subcapitata*; früher: *Pseudokirchneriella subcapitata*, oder: *Kirchneriella subcapitata* oder: *Selenastrum capricornutum*

Tab. A-5: Einsatz von Biotests zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (Forts.) (z.T. auch: Atflasten, Böden) (→ Forts.)

Abfall-Code	AbfallArt	Testsystem(e)	Art der Probe, Behandlung	chem. Analyse	Probenbehandlung vor Biotest	Endpunkt	Zeitdauer / Messdauer	Ergebnisse / Bemerkungen	Quelle
Hausmüll, Industrieabfälle Lysimeter- und Deponie-Sickerwasser	Hausmüll, Industrieabfälle, Sondermüll +zT Gemische	aquat. Pflanzen: Wasserlinse <i>Lemna minor</i>	25 Sickerwässer oder Eluate (aus Grosslysimeter)	pH, elektr. Leitfähigkeit, Alkalinität, CSB, DOC, Norg, NH ₃ , SO ₄ , Ca Cl, Cu Fe K Mg Na Zn	teilweise pH-Einstellung	EC ₅₀ (Frond-Wachstum)		EC ₅₀ : 0,46% - 45,6% (v/v); schrittweise multiple Regression: Leitf + Alkalinität bzw. NH ₄ ⁺ + Alkalinität bestimmen Tox; bei pH>8 toxischer! NH ₃ statt NH ₄ ⁺ ;	Clement und Merlin 1995
Hausmüll + Industrieabfälle Depniesi-Sickerwasser	35 Hausmüll-/Industrieabfälle (Finland); 343 Sickerwasserproben	Crustaceen: <i>Daphnia magna</i>	bei hohem Gehalt von Schwefelstoffen: Filtration (Whatman GF/A)			Screening: Immobilisierung / Mortalität; Standard: Immobilisierung / Mortalität; mittlere Überlebensdauer	Screening : 1h; 24h; Standard: 24h, 48h	Screening: 33% leicht toxisch - toxisch; 67% nicht toxisch; Standard: mittlere EC ₅₀ : 59% (24h); 42% (48h); ≈normalverteilt; enge Korrelation zw. Screening + Standard-Test; Lit-Werte f EC ₅₀ : 20% - >60%	Assmuth und Penttilä 1995
Hausmüll + Industrieabfälle Depniesi-Sickerwasser	Hausmüll-Deponien; Haus- und Industrieabfälle Industrieabfälle Deponie	Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> ^A LUMISTox terr. + aquat. Pflanzen: Kresse <i>Lepidium sativum</i> ; Wasserlinse <i>Lemna minor</i>	Sickerwässer, zT nach biolog. Klärung	pH, Leitf.; Redox-Pot., CSB, BSBs, TOC, AOX, Phenolindex., Cl, SO ₄ , As Cd Cr Cu Ni Pb Zn	B: Neutralisation des pH, Anpassung des Salzgehalts (ca. 2% - NaCl)	B: Hemmung Lumineszenz L.s. Wurzellängen-Wachstum L.m.: Blattwachstum	B: 30min L.s. 8 d L.m.:	Deponie-Sickerwässer: biol. Klärung mindert Toxizität + Schadstoffparameter deutlich, Aussagen der Tests sind vergleichbar	Wundram et al. 1996
Hausmüll + Industrieabfälle Deponie-Sickerwasser	2 Hausmüll-Deponien A, B ; 1 Hausmüll-/Industrieabfälle Deponie C ; Sickerwasser	Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> ^A terr. + aquat. Pflanzen: Gartenkresse <i>Lepidium sativum</i> Rübsen <i>Brassica rapa</i> ; Wasserlinse <i>Lemna minor</i>	nur C ; 2 Behandlungen: u = unbehandelt; b = behandelt (durch Absetzen, Oxidation)	pH, Leitf.; RedoxPot.; CSB; BSB, TOC; aliphat. KW; Phenol-i., AOX; Cl, SO ₄ ; CN, VOC; As Ca Cd Cr Cu Fe K Mg Mn Na Ni P Pb Zn	Kontrolllösung mit KOH auf Proben-pH eingestellt	B: Lumineszenz P: L.s.; B.r. Wurzelwachstum; L.m.: Wachstum	B: 30 min. HP: 72h, 8 d	B: EC ₅₀ (in ml/l): 350(A); 180 (B) P: L.s.; B.r.; L.m.: 80;35; 30 (A) 50; 40; 40 (B) 150; 50; 40 (C-u) 900; 600; >1000 (C-b); deutliche Minderung von Toxizität und (z.T) Stoffparametern C-u → C-b	Devare und Bahadir 1994

^A *Vibrio fischeri*, früher: *Photobacterium phosphoreum*;
^B *Raphidocelis subcapitata*; früher: *Pseudokirchneriella subcapitata*, oder: *Kirchneriella subcapitata*
oder: *Selenastrum capricornutum*

Tab. A-5: Einsatz von Biotests zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (Forts.) (z.T. auch: Altlasten, Böden) (→ Forts.)

Abfall-Code	AbfallArt	Testsystem(e)	Art der Probe, Behandlung	chem. Analyse	Probenbehandlung vor Biotest	Endpunkt	Zeitdauer / Messdauer	Ergebnisse / Bemerkungen	Quelle
Hausmüll / Industriemüll / Deponiemüll / Sickerwässer	10 Hausmüll- / Industriemüll- / Deponien, 17 Sickerwässer	aquat. Pflanzen: Wasserlinse <i>Lemna minor</i>		pH, Leitf., CSB, Alkalinität, NH ₄ , Cu Fe Zn	k.A.	EC ₅₀ (Frond-Wachstum: Anzahl, Biomasse)	5d	Sickerwasser von reinem Industrieabfall meist weniger toxisch als von Hausmüll-Deponie; Toxizität meist durch NH ₄ , Alkalinität + Leitfähigkeit erklärbar	Clement und Bouvet 1993
Hausmüll / Sondermüll / Reststoffe; Müllkompost / Deponie-Sickerwasser	10 Hausmüll- (HM), 5 Sondermüll-SDM) 3 Reststoff- (RS) Deponien; Biomüllkompostanlage; Sickerwässer	Fische: k.A. Crustaceen: <i>Daphnia magna</i> Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> ^A Algen: k.A.	Sickerwässer zu verschiedenen Jahreszeiten 1 - 19 Parallelproben/Anlage	CSB, BSB5; AOX	k.A.	k.A.	k.A.	Empfindlichkeit: Leucht b > Daphn ≈ Fisch ≈ Alge; z.T. Zusammenhänge zB CSB/Fisch; CSB/Leucht b; AOX Leucht b.; vereinzelt Korrelation zw. Testsystemen: Fisch//Leucht b.; Daphn//Alge; Ökotox: Biokompost > Sondermüll ≈ Hausmüll > Reststoff	Hagendorf und Börrert 1991
Hausmüll / Industriemüll / Deponie-Sickerwasser	11 Hausmüll-deponie- Sickerwässer; 6 Industriemüll- wasser (davon 3 aus Gerbereien)	Fische: Zebrabärting <i>Brachydanio rerio</i> Crustaceen: Wasserfloh <i>Daphnia magna</i> , Flohkrebs <i>Gammarus fossarum</i> Insekten: Steinfliege <i>Dinocreas cephalotes</i> ; Eintagsfliegen <i>Ecdyonurus venosus</i> , <i>Ephemera danica</i> ; Köcherfliege <i>Sericostoma personatum</i> , <i>Hydropsyche dinarica</i> Schnecken: <i>Radix peregra-ovata</i> Gliederwürmer: Ringelwurm <i>Eiseniella tetraedra</i> ; Egel <i>Erpobdella octoculata</i> ; <i>Glossiphonia complanata</i> Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> ^A Microtox™		CSB; TOC, Leitf.; NH ₄ ; NO ₂ , NO ₃ , PO ₄ , SO ₄ , Cl, Ca Cd Cr Cu Fe K Mg Mn Na Zn	k.A.	Letalität LC ₅₀	96h	Vergleich der Empfindlichkeit v. 10 Makroinvertebraten (=MI; Wirbellosen) mit 3 Standard-Biotests; 5 der MI-Spezies deutlich unempfindlicher, 3 deutlich empfindlicher als Standard-Tests	Jeanund Fruget 1994

^A *Vibrio fischeri*, früher: *Photobacterium phosphoreum*;
^B *Raphidocelis subcapitata*; früher: *Pseudokirchneriella subcapitata*, oder: *Kirchneriella subcapitata*
oder: *Selenastrum capricornutum*

Tab. A-5: Einsatz von Biotests zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (Forts.) (z.T. auch: Altlasten, Böden) (→ Forts.)

Abfall-Code	Abfallart	Testsystem(e)	Art der Probe, Behandlung	chem. Analyse	Probenbehandlung vor Biotest	Endpunkt	Zeitdauer / Messdauer	Ergebnisse / Bemerkungen	Quelle
Hausmüll / Gewerbemüll	2 Sickerwässer aus Hausmüll- /Gewerbemüll-Deponien (BaWü)	Fische: Zebrabärbling <i>Brachydanio rerio</i> (E-L-Test) Crustaceen: <i>Daphnia magna</i> Algen: <i>Scenedesmus subspicatus</i> Zelltests: Z1 R1 Leberzellen von Regenbogenforelle <i>Oncorhynchus mykiss</i> (vorm: <i>Salmo gairdneri</i>); Z2: RTG2 Gonadenzellen der Regenbogenforelle; Z3: isolierte Leberzellen des Karpfens;	mehrfache Filtration siehe LENZ et al. 1993		Filtration Papierfilter 8µm 0,2µm (Steril-Filtration)	F: Embryo-Schlupfrate, Körperlänge C: Reproduktion Z1: Cytotoxizität (Kristalviolett); Z2: (Neutrotrot, MTT), Membranschädigung (LDH-Freisetzung; Glucosefreisetzung)	F: 144h semi-statisch C: 7-8d Z1: 24h; Z3: 6-8h	F: deutl. Wirkung: G-F 16-64 C: G-D: 16 A: G-A: 16 G-Z1: 2 G-Z2: 8 G-Z3: 4-64 Zelltests tendenziell bis deutlich weniger empfindlich als Organismen-Tests	Troge et al. 1994
Deponie-Sickerwasser	Mülldeponie-Sickerwasser (40 % Hausmüll; 60 % Industrieabfälle /Gewerbe müll)	Fische: amerik. Eiritze <i>Pimephales promelas</i> Crustaceen: <i>Daphnia magna</i> Algen: <i>Raphidocelis subcapitata</i> ^B Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> ^A Microtox™	gefiltert / ungefiltert je nach Testsystem	NO ₃ ; NO ₂ ; NH ₃ ; org-N; P; Ca-Härte; Leitf.; Cl; Pb Cd As Se Ag Cr Ba Be Hg Ni Mn Zn Cu Fe Vinylchlorid; methylenchlorid; DCE; ethylbenzol; MEK, MIBK, Hexanon	Filtration durch 4 Glasfaserfilter A: zusätzl. 0,45 µm Filter F: teilweise Filtration	F: LC10 (100% gefilt. Sickerw.); LC ₅₀ (100% gefilt. Sickerw) C: LC ₅₀ : 62-66% gefilt. Sickerw. A: Hemmung Wachstum; Minderung Chlorophyll-A-Gehalt: 1% < EC ₅₀ < 10% B: EC ₅₀ 14-17 %;	F 96h C 48h A: 13d B: 5min;	für einige Inhaltsstoffe wird LC ₅₀ (Reinstanz) für <i>Daphnia</i> erreicht oder überschritten, wg. Wasserhärte der Sickerwasser ist Wirkung aber weniger toxisch; v.a. NH ₄ ; Ag, Hg, Pb, Cd, Mn verursachen Toxizität	Plotkin und Ram 1984
Hausmüll / Industrie-Abfälle	Hausmüll, Industriemüll, Sondermüll + z.T. Gemische	Crustaceen: <i>Daphnia magna</i> (nach AFNOR FN NT90-301), <i>Ceriodaphnia dubia</i> , <i>Thamnocephalus platyurus</i> Rotifera: <i>Brachionus calyciflorus</i> Protozoen: <i>Spiristomum ambiguum</i> Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> ^A LUMISTox™ (n. AFNOR NT90-320) Algen: AFNOR NT90-304 aquat. Pflanzen: Wasserlinse <i>Lemna minor</i>	22 Sickerwässer oder Eluate (aus Grosslysimeter)	pH, elektr. Leitf., Alkalinität, CSB, DOC, N _{org} ; NH ₃ ; SO ₄ , Ca Cl Cu Fe K Mg Na Zn	k.A.			ToxicUnits (TU)= 100*[1/(E)C ₅₀] in %, multiple lineare Regression; PCA; Salinität und Herkunft bestimmen Chemismus; v.a. NH ₃ und Alkalinität verursachen Toxizität	Clement et al. 1997

^A *Vibrio fischeri*, früher: *Photobacterium phosphoreum*;

^B *Raphidocelis subcapitata*; früher: *Pseudokirchneriella subcapitata*, oder: *Kirchneriella subcapitata* oder: *Selenastrum capricornutum*

Tab. A-5: Einsatz von Biotests zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (Forts.) (z.T. auch: Atlanten, Böden) (→ Forts.)

Abfall-Code	Abfallart	Testsystem(e)	Art der Probe, Behandlung	chem. Analyse	Probenbehandlung vor Biotest	Endpunkt	Zeitdauer / Messdauer	Ergebnisse / Bemerkungen	Quelle
Hausmüll/ Gewer- bemüll	Sickerwässer aus 3 Hausmüll- /Gewerbemüll- Deponien, 1 Sondermüll- deponie SMD (alle: BaWü)	Fische: Zebrabärling <i>Brachydanio rerio</i> (Embryo-Larven-Test) Crustaceen: <i>Daphnia magna</i> Algen: <i>Scenedesmus subspicatus</i> Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> Microtox™ Zelltests: Z1 Leberzellen von Regenbogenforelle <i>Oncorhynchus mykiss</i> (vorm: <i>Salmo gairdneri</i>); Z2: Gonadenzellen der Regenbogenforelle; Z3: isolierte Leberzellen des Karpfens;			mehrfache Filtration: Papierfilter; 8µm, 0.2µm (=Steril- Filtration)	F: Embryo-Schlupf- rate; Körperlänge C: Reproduktion B: Lumineszenz Z1: Cytotoxizität (Kristallviolett) Z2; Z3: Cytotoxizität (Neutrotrot, MTT), Membranschädigung (LDH-Freisetzung; Glucosefreisetzung)	F: meist keine Wirkung; SMD: G-F 16; C: meist Förderung der Reproduktion; G-Z1: 64-128; G-Z2: 16-32; die Sicker- wässer aus "alter" Deponie kaum toxisch, aus "frischen" Hausmüll-Deponien meist deutlich toxischer als aus SMD	Lenz et al. 1993	
Deponie- Sicker- wasser (Haus-?) Abfälle	2 Deponien; Sickerwässer	Algen: <i>Chlorella vulgaris</i> ; <i>Chlorella pyrenoidosa</i> ; <i>Dunaliella tertiolecta</i> ; <i>Scenedesmus sp.</i> ;		pH, Leitf., Salinität; CSB; N, P, Cl K Na Mg Cd Cr Cu Fe Mn Ni Pb Zn	Filtration 0,22µm	A: Wachstums- Hemmung EC ₅₀	A: 12d	Empfindlichkeit: <i>D.t.</i> > <i>C.v.</i> > <i>C.p.</i> = <i>S.sp.</i> ; <i>v.a.</i> Ammonium + organ. Ver- bindungen (zB. leichtflüchtige Fettsäuren) bestimmen die Algen-Toxizität	Cheung et al. 1993
Haus- müll Deponie Sicker- wasser	4 Hausmüll- Deponien; Sickerwasser	Microbiotests: Protozoen: <i>Tetrahymena thermophila</i> Crustaceen: <i>Daphnia magna</i> , <i>Thamnocephalus platyurus</i> Algen: <i>Raphidocelis subcapitata</i> ^B			k.A.	P: EC ₅₀ C: <i>D.m.</i> EC ₅₀ ; <i>T.p.</i> LC ₅₀ A: EC ₅₀	P: 24h C: <i>D.m.</i> 24/48h; <i>T.p.</i> 24h A: 72h	relativ geringe Toxizitäts- unterschiede zwischen Sicker- wässern und Testsystemen; EC ₅₀ bzw. LC ₅₀ 19% - 36%	Czerniaw ska- Kusza und Ebis 2000
Haus- müll; Wasser Deponie Sicker- wasser	Hausmüll- Deponie, Sickerwasser ; Flusswasser (Vorfluter)	Fische: japan. Reisfisch, Medaka <i>Oryzias latipes</i> (Embryonen)		pH, Leitf., Salinität, DOC, BSB5, CSB, NH ₄ -N, NO ₃ -N, total- N, total-P, lösli. P	Verdünnung (0.5-8%) mit Anzucht- medium	LC ₅₀ ; EC ₅₀ (Ent- wicklungsschäden)	20d	Sickerwasser stark toxisch (LC ₅₀ <2,4%; EC ₅₀ 0,3-0,8%); Flusswasser (5 Proben, vor und nach Einleitung): EC ₅₀ >100%	Kaur et al. 1996

^A *Vibrio fischeri*, früher: *Photobacterium phosphoreum*;

^B *Raphidocelis subcapitata*; früher: *Pseudokirchneriella subcapitata*, oder: *Kirchneriella subcapitata*
oder: *Selenastrum capricornutum*

Tab. A-5: Einsatz von Biotests zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen
(Forts.) (z.T. auch: Altlasten, Böden) (→ Forts.)

Abfall-Code	AbfallArt	Testsystem(e)	Art der Probe, Behandlung	chem. Analyse	Probenbehandlung vor Biotest	Endpunkt	Zeitdauer / Messdauer	Ergebnisse / Bemerkungen	Quelle
Hausmüll	Hausmüll-Deponie (Kanada)	Fische: Regenbogenforelle <i>Oncorhynchus mykiss</i> (Jungtiere) Crustaceen: <i>Daphnia magna</i> ; <i>Ceriodaphnia dubia</i> Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> ^A Microtox TM ; Algen: <i>Raphidocelis subcapitata</i> ^B + <i>Gewässerfauna</i> Gentoxizität: <i>Salmonella typhimurium</i> TA97 TA98 TA100 TA102 häufig eingesetzt: Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> ^A Microtox TM ; Gentoxizität: <i>Salmonella th.</i> (Ames-Test) häufig eingesetzt: Algen: <i>Raphidocelis subcapitata</i> ^B , <i>Nitzschia palea</i> , <i>Skelentonema costatum</i> häufig eingesetzt: aquat. + terr. Pflanzen: <i>Wasserlinse Lemna minor</i> ; <i>Radies Raphanus sativus</i> , <i>Hirse Sorghum vulgare</i> häufig eingesetzt: Crustaceen: <i>Daphnia magna</i> , <i>Ceriodaphnia dubia</i> , <i>Mysidopsis bahia</i> (marin) häufig Fische: Zebrabärling <i>Brachydanio rerio</i> ; Guppy, Regenbogenforelle <i>Oncorhynchus mykiss</i> ; amerik. Elritze <i>Pimephales promelas</i>	Sickerwässer, z.T nach einfacher biolog. Klärung (Klärateiche)	pH, Härte, Leitf; Feststoffe, CSB, BSB5, NO ₃ , NH ₄ ; SO ₃ , Al As Ca Cd Cr Cu Fe K Mg Mn Na Ni P Pb Zn	k.A.	F: Mortalität C: <i>D.m.</i> Mortalität <i>C.d.</i> Mortalität, Reproduktion B: <i>V.f.</i> Lumineszenz A: Wachstumshemmung Gent: <i>S.f.</i> Reversion (Mutanten)	F: 96h C: <i>D.m.</i> 48h <i>C.d.</i> 7d B: <i>V.f.</i> 15min A: 76h	alle Proben (Kontrolle, Sickerw., Flusswasser) nicht toxisch für F, C (D.m.) B; für C (C.d.) nur 1 Kontrollprobe [!] leicht toxisch, A leicht-mässig toxisch; Makroinvertebraten im Fließgewässer nur im Nahbereich der Einleitung verändert	Rutherford et al. 2000
Deponie Sickerwasser									

^A *Vibrio fischeri*, früher: *Photobacterium phosphoreum*
^B *Raphidocelis subcapitata*; früher: *Pseudokirchneriella subcapitata*, oder: *Kirchneriella subcapitata*
 oder: *Selenastrum capricornutum*

Tab. A-5: Einsatz von Biotests zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (Forts.) (z.T. auch: Altlasten, Böden) (→ Forts.)

Abfall-Code	AbfallArt	Testsystem(e)	Art der Probe, Behandlung	chem. Analyse	Probenbehandlung vor Biotest	Endpunkt	Zeitdauer / Messdauer	Ergebnisse / Bemerkungen	Quelle
Hausmüll Labor/Ly- simeter, Deponie Sicker- wasser	Hausmülldeponien Labor- und Feldlysimeter; Sickerwässer (mehrfähriges Programm)	Fische: Regenbogenforelle <i>Oncorhynchus mykiss</i> Forelle <i>Oncorhynchus nerka</i> (Jungtiere) Crustaceen: <i>Daphnia pulex</i>		Alkalinität; Acidität, Härte TOC, CSB, BSB, Leitf.; Cl, NH ₃ , NH ₄ -N, N _{org} ; Ca Cr Hg Mg Ni P Zn	k.A.	F: akute Mortalität; Rest-Sauerstoff-Test (ROB) C: Mortalität	F: 96 h; C: 24; 48; 96 h	enge Korrelation LC ₅₀ Fisch vs. <i>Daphnia</i> ; -> <i>Daphnia</i> kann Fischtest ersetzen; 83% der Variabilität von LC ₅₀ <i>Daphnia</i> durch Zh, Tannin + Ammonium erklärbar	Atwater et al. 1983
Haus- müll Deponie Sicker- wasser	Hausmüll-Depo- nien (Halifax, Nova Scotia, CAN) Sickerwasser	Fische: Regenbogenforelle <i>Oncorhynchus mykiss</i> ; Bachforelle <i>Salvelinus fontinalis</i> Crustaceen: <i>Daphnia magna</i>	Sickerwasser, 5 Verdünnungs- stufen	Perkolat: BSB NH ₄ , SO ₄ , Härte, el. Leitf., pH Alkalinität, Trübung, ges. Fest-stoff; Mg Al As Cl Cd Cr Cu F Fe K Mn Ni Pb Zn	k.A.	F: Mortalität 96-h C: Mortalität /Immobilisierung	F: 96 h statisch C: 48 h statisch	allg. Fische empfindlicher als <i>Daphnia</i> ; Toxizität v.a. durch NH ₄ - Gehalt	Ernst et al. 1994
Haus- müll Deponie Sicker- wasser	Hausmüll- deponien, Sickerwässer	Fische: Regenbogenforelle <i>Salmo gairdneri</i>		pH, BSB5; CSB, TOC; Alkalinität; Acidität, NH ₃ N _{ges} ; P _{ges} ; Cl, SO ₄ , SO ₃ , CN, NO ₃ ; Tannin; Al As B Ba Be Ca Cd Cr Cu Fe Hg K Mn Mo Mg Na Ni Pb Ti V Zn	k.A.	F: akute Mortalität; Rest-Sauerstoff-Test (ROB)	F: 96 h (statisch); 6-8h (ROB)	Toxizität der Sickerwässer sehr unterschiedlich (Faktor 250); deutl. Rückgang nach 5a Deponiedauer (1/80); 94% der (Fisch-) Toxizität wird durch [NH ₃ , H ⁺], [Tannin], [Cu] erklärt !!	Cameron und Koch 1980
Haus- müll Deponie- Sicker- wasser	Sickerwasser aus Hausmüll- Deponie (Spanien)	Säugetiere: Albino-Ratte <i>Rattus norvegicus</i> var. 'Wistar' tterr. Pflanzen: Mausegerste <i>Hordeum murinum</i> ; Filz-Klee <i>Trifolium tomentosum</i> (entsprechen natürlicher Vegetation)	k.A.	k.A.	k.A.	S: allg. Erscheinung, Beweglichkeit, Reaktion, Futter- und Nahrungsaufnahme, Gewichtszunahme tterrP: Biomasse	S: 9wo tterrP: k.A.	S: 50% Sickerwasser als Trinkwasserquelle; nur ge- ringe, temporäre Minderung des Körpergewichts; sonst: keine Wirkungen tterrP: keine signif. Wirkungen, leichte Erhöhung der Biomasse durch Sickerwasser (<i>H.m.</i>)	Pastoret al. 1993

^A *Vibrio fischeri*, früher: *Photobacterium phosphoreum*;
^B *Raphidocelis subcapitata*; früher: *Pseudokirchneriella subcapitata*, oder: *Kirchneriella subcapitata*
oder: *Selenastrum capricornutum*

Tab. A-5: Einsatz von Biotests zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen
(Forts.) (z.T. auch: Altlasten, Böden) (→ Forts.)

Abfall-Code	AbfallArt	Testsystem(e)	Art der Probe, Behandlung	chem. Analyse	Probenbehandlung vor Biotest	Endpunkt	Zeitdauer / Messdauer	Ergebnisse / Bemerkungen	Quelle
Boden, Sedimente	Alliasten-Standorte (Boden- und Sedimentproben)	Makroinvertebraten: Regenwurm <i>Eisenia fetida</i> terr. Pflanzen: Kopfsalat <i>Lactuca sativa</i> (oder andere)	Feststoff: Siebung 6mm + Mischung mit "künstl. Boden" → Verdünnungsreihe		k.A.	M: Mortalität LC ₅₀ HP: Samenkeimung (LC ₅₀)	M: 14 d HP: 5 d		Parkhurst et al. 1991
Feststoff	80 Süßwasser-Sedimente (Belgien); Sediment	Insekten: Zuckmücken <i>Chironomus riparius</i> Crustaceen: Flohkrebse <i>Hyalolella azteca</i> (Jungtiere 7-14 d);					I: 10 d C: 10 d	statist. Auswertung der Test-Batterie mit PCA, Pearsons Produktmoment-Korrelation → Redundanz (PCA, ...); Erkennungskapazität (qualitativ); Diskriminanzstärke → nicht Einzeltest, sondern Testbatterie erforderlich Empfindlichkeit (mit vorgeschlagener (Mindest-) Testbatterie: R.s. > C.g. > I.p. > D.m. > H.a. > C.r. Microtox™ ist unempfindlich!	Vangheluwe et al. 2000
Sedimente	80 Süßwasser-Sedimente (Belgien); Porenwasser	Fische: afrikan. Wels <i>Clarias gariepinus</i> (Larven) Crustaceen: <i>Thamnocephalus platyurus</i> , <i>Daphnia magna</i> (Jungtiere <24 h) Algen: <i>Raphidocelis subcapitata</i> ^B Bakterien: <i>Vibrio fischeri</i> ^A Microtox™	Porenwassergewinnung durch Auspressen und Vakuumfiltration des Sediments (0,45 µm)			F: Mortalität C: T.p. Mortalität+ D.m. Immobilisierung A: Wuchshemmung B: Photoinhibition	F: 5 d C: T.p. 24 h D.m. 48 h A: 72 h B: 30 min		Yeardeley et al. 1996
Porenwasser	unterschiedl. belastete Böden (Minenböden ua) oder KCl, NH ₄ Cl, +2-Chloracetamid	Makroinvertebraten: Regenwurm <i>Eisenia foetida</i>			k.A.	Vermeidungsverhalten (subLetal) zwischen belastetem und Kontroll-Böden: statist. Verteilung	1-2 d	Vermeidungsverhalten <u>meist</u> empfindlicher als akute Toxizität	
Feststoff	(Gas-) Kondensat-kontaminierter Boden	terr. Pflanzen (Keimtests): Radies <i>Raphanus sativus</i> ; Salat <i>Lactuca sativa</i> Gerste <i>Hordeum vulgare</i> ; (Wuchstests): Luzerne <i>Medicago sativa</i> ; Quecke <i>Agropyron dasystachyum</i> ; Gurke <i>Cucumis sativa</i> Möhre <i>Daucus carota</i> Radies <i>Raphanus sativus</i> ; Rotschwingel <i>Festuca rubra</i> ; <i>Bouteloua gracilis</i> Mais <i>Zea mays</i>	Zumischung zu Referenzboden (0; 3; 6; 12; 25; 50; 70; 85; 100%)	total N; Monoethanolamin; Diethanolamin; Diisopropylamin; SUM Alkaline; BTEX, TVH		Keimungsrate; Sprosslänge; Wurzellänge; Sprossgewicht; Wurzelgewicht (jeweils FG, TG): EC ₂₀ ; EC ₅₀	Keimtests 5-10d; Wuchstest 14-50d	Empfindlichkeit: Spezies: A.d ≥ D.c. ≥ M.s ≥ B.g. ≥ R.s. ≥ Z.m. ≥ C.s. ≥ F.r. Endpunkt: Spross-TG ≥ Spross-FG ≥ Wurzel-TG ≥ Wurzel-Länge	Stephenson et al. 2000

^A *Vibrio fischeri*, früher: *Photobacterium phosphoreum*;

^B *Raphidocelis subcapitata*; früher: *Pseudokirchneriella subcapitata*, oder: *Kirchneriella subcapitata* oder: *Selenastrum capricornutum*

Tab. A-5: Einsatz von Biotests zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (Forts.) (z.T. auch: Allasten, Böden) (→ Forts.)

Abfall-Code	AbfallArt	Testsystem(e)	Art der Probe, Behandlung	chem. Analyse	Probenbehandlung vor Biotest	Endpunkt	Zeitdauer / Messdauer	Ergebnisse / Bemerkungen	Quelle
Böden	Bodenqualität : Belasteter Böden, Altlasten-Standorte	terr. Pflanzen: Hafer <i>Avena sativa</i> ; Raps <i>Brassica rapa</i> CrGC syn. Rbr; auch andere regional-typische Spezies zB. C4-Pflz oder Fabaceen; in Töpfen; Wachstum in Phyotron, Wuchskammer, GewHaus	Feststoff: Siebung 5 mm + Mischung mit Kontroll-, Referenz od. "künstl. Boden" Verdünnungsreihe in geometr. Reihe (Faktor <=2)		keine pH-Korrektur	Aufgangsrate; Wuchshöhe, Biomasse (Gesamt, Spross, Blüten, Samen) ECx; LOEC, NOEC	Keimrate: 48 h; 1. Biomasse: 2 wo 2. Biomasse: 5-6 wo (Raps) 7-8 wo (Hafer).		ISO/CD 22030 (Draft Jan 2002)
Feststoff									
Böden	(Gas-) Kondensat-kontaminierter Boden	Makroinvertebraten: Regenwurm <i>Lumbricus terrestris</i> , <i>Eisenia fetida</i>	Zumischung zu 2 Kontrollböden: 0; 0,5; 1; 3; 6; 12%)			akute Toxizität L.t.; E.f.: LC ₅₀ ; LOAEL, NOAEL; Reproduktion E.f.: Vermeidungsverhalten L.t.; E.f.: Verteilung zwischen Sektoren mit unterschiedl. Konzentration kontam. Boden	akut Tox.: 4d; 7d; 14d; 21d; Reproduktion: 70d Verhalten: 0; 24h; 72h	LC50 (14d): 10,5-11,8% (L.t.); 21-25,6% (E.f.); NOAEL: 6% (L.t.); 6-12% (E.f.); Vermeidung: 1-3% (L.t.); 6% (E.f.) → Vermeidungsverhalten ähnlich empfindlich wie NOAEL	Stephenson et al. 1997
Feststoff									
Böden	kontaminierte Böden	Amphibien: Frosch <i>Xenopus laevis</i> (Embryonen) = Frog Embryo Teratogenesis Assay – Xenopus (FETAX)	Eluat: 1 : 4 FETAX-Kulturlösung; 48 h schütteln (30/min), zentrifugieren	PAH, PCP, TCDD; As Hg Pb, VOC; Aldrin, Dieldrin, Endosulfan 4,4'-DDT; Kohlenwasserstoffe	teilweise pH-Einstellung mit NaOH auf pH 7	Mortalität; Teratogenität (Missbildungen); Wachstum	96h	signif. dosisabhängige Erhöhung von Mortalität und Teratogenität, zT. Wachstums-Minderung → FEXAT ist ausreichend empfindlich + robust für wässrige Bodenextrakte	Fort et al. 1995
Eluat									
Böden	2 Bodensubstrate aus Asche; Hausmüll	Bakterien: <i>Vibrio fischer</i> ^A	Eluat: 2%-KCl		k.A.	G-L (20%)	k.A.	Bodensubstrate: GL: 4; Hausmüll-Eluat: GL: 8	Landgraf et al. 1995
Eluate									
Böden	Altlasten-Standorte (Boden- und Sedimentproben)	Fische: amerik. Elritze <i>Pimephales promelas</i> Crustaceen: <i>Daphnia magna</i> od. <i>Daphnia pulex</i> (je nach Wasserhärte) Algen: <i>Raphidocelis subcapitata</i> ^B terr. Pflanzen: Kopfsalat <i>Lactuca sativa</i> (oder andere)	Eluate: 4 mL deion H ₂ O / g Feststoff; 48 h schütteln; zentrifugieren, filtern 0,45 µm Verdünnung meist in log-Serie		k.A.	F: Jungtiere (3-5 d) Mortalität LC ₅₀ C: Jungtiere (<24h) Mortalität LC ₅₀ A: Zellvermehrung EC ₅₀ terrP: Wurzellänge EC ₅₀	F: 48 h C: 48 h A: 4 d terrP: 5 d	häufig in Sickenwasser, Abwasser: Empfindlichkeit: [empf] Alge > Regenwurm > Daphnia = Wurzellänge => Samenkeimung [unempf]	Parkhurst et al. 1991

^A *Vibrio fischeri*, früher: *Photobacterium phosphoreum*;

^B *Raphidocelis subcapitata*; früher: *Pseudokirchneriella subcapitata*, oder: *Kirchneriella subcapitata* oder: *Selenastrum capricornutum*

Tab. A-5: Einsatz von Biotests zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen (Forts.) (z.T. auch: Altlasten, Böden)

Gruppe	Spezies	Medium	Prüfprinzip	Endpunkt	Dauer	Status	
Oligochaeten, Anneliden	Regenwürmer	<i>Eisenia fetida</i>	künstlicher Boden	Toxizitätstest	Mortalität, LC ₅₀	14 d	OECD207; DIN/ISO 11268-1
	Regenwürmer	<i>Eisenia fetida</i>	künstlicher oder belasteter Boden	Reproduktionstest	NOEC, ECx	4 wo + 4 wo	Din/ISO 11268-2; BBA-Richtlinie, OECD geplant
	Regenwürmer	<i>Eisenia fetida</i>		Freilandtest	Abundanz, Biomasse	12 mo	DIN/ISO 11268-3; BBA-Richtlinie
	Enchytraeen	<i>Enchytraeus albidus</i> ; <i>Enchytraeus crypticus</i>	künstlicher oder belasteter Boden	Reproduktionstest	NOEC, ECx	3 wo + 3 wo	ISO/CD 16387; EG-Ringtest-Protokoll; OECD 220 (Entwurf, 2000)
	Enchytraeen	<i>Cognettia sphagnetorum</i>	Torf	Reproduktionstest	Fragmentierung; Überlebensrate	10 w	SECOFASE Entwurf
Collembolen, Apterigota, Insecten, Arthropoden	Springschwänze	<i>Folsomia candida</i>	künstlicher oder belasteter Boden	Reproduktionstest	NOEC, ECx	4 w	DIN/ISO 11267
Isopoden, Porcellionidae	Asseln	<i>Porcellio scaber</i>	via Nahrung + künstlichem Boden	Toxizitätstest	Mortalität, Futterverbrauch, NOEC	4 wo + 4 wo	SECOFASE Entwurf
Acarina, Chelicerate, Arthropoda	Bodenraubmilben	<i>Hypoaspis aculeifer</i>	künstlicher Boden	Reproduktionstest	Überlebensrate, Wachstum	3 wo	SECOFASE Entwurf
Acarina, Chelicerate, Arthropoda	Bodenraubmilben	<i>Hypoaspis aculeifer</i>	Exposition über Beute: Enchytraeen, Collembolen	Reproduktionstest		3-4 mo	Entwurf BBA 1992
Acarina	Oribatida	<i>Platynothrus peltifer</i>	künstlicher Boden + Grünalgen	Reproduktionstest	Überlebensrate; LC ₅₀ ; NOEC	10 wo	SECOFASE Entwurf
Coleopteren Pterigota, Insecta, Arthropoda	Laufkäfer	<i>Poecilus cupreus</i>	kontaminiertes Substrat	akute Toxizität		14 d	IOBC, EPPO Richtlinienentwurf; BBA Richtlinie
Coleoptera, Staphylinidae	Kurzflügler	<i>Philonthus cognatus</i>		Reproduktionstest		1 wo + 6 wo	BBA-Richtlinie; SECOFASE

Tab. A-6: Ökotoxikologische Testverfahren mit tierischen Bodenorganismen zur Prüfung der Bodenqualität (RIEPERT 1998)