

Ermittlung der Eignung des Ammonium-oxidations- und Bodenatmungstests zur Bewertung der ökotoxikologischen Auswirkungen von Bauprodukten auf Böden

T 3077

T 3077

Dieser Forschungsbericht wurde mit modernsten Hochleistungskopierern auf Einzelanfrage hergestellt.

Die Originalmanuskripte wurden reprotechnisch, jedoch nicht inhaltlich überarbeitet. Die Druckqualität hängt von der reprotechnischen Eignung des Originalmanuskriptes ab, das uns vom Autor bzw. von der Forschungsstelle zur Verfügung gestellt wurde.

Im Originalmanuskript enthaltene Farbvorlagen, wie z.B. Farbfotos, können nur in Grautönen wiedergegeben werden. Liegen dem Fraunhofer IRB Verlag die Originalabbildungen vor, können gegen Berechnung Farbkopien angefertigt werden. Richten Sie Ihre Anfrage bitte an die untenstehende Adresse.

© by Fraunhofer IRB Verlag

2005, ISBN 3-8167-6847-4

Vervielfältigung, auch auszugsweise,
nur mit ausdrücklicher Zustimmung des Verlages.

Fraunhofer IRB Verlag

Fraunhofer-Informationszentrum Raum und Bau

Postfach 80 04 69
70504 Stuttgart

Nobelstraße 12
70569 Stuttgart

Telefon (07 11) 9 70 - 25 00

Telefax (07 11) 9 70 - 25 08

E-Mail irb@irb.fraunhofer.de

www.IRBbuch.de

**Ermittlung der Eignung des Ammoniumoxidations- und
Bodenatmungstests zur Bewertung der ökotoxikologischen
Auswirkungen von Bauprodukten auf Böden**

(Bewertung der ökotoxikologischen Auswirkungen von Bauprodukten auf Böden)

von

Prof. Dr. mult. Dr. h. c. K. Terytze
Dipl. - Geoökol. Evelyn Giese
cand. rer. nat. Robert Wagner
Freie Universität Berlin
Fachbereich Geowissenschaften,
AG-Organische Umweltgeochemie

Dr. Kerstin Hund-Rinke
Fraunhofer-Institut für Molekularbiologie und Angewandte Oekologie

Prof. Dr. Dr. Bernd Michael Wilke
Dipl.-Agr.Ing.(FH) Maike Mai
TU Berlin
Institut für Ökologie, Landschaftsbau, Abfallbelastung der Landschaft

Dr. Andreas Koch
Hygiene-Institut des Ruhrgebiets,

Im Auftrag des Deutschen Instituts für Bautechnik

Fassung 31.3.2005

Inhalt	Seite
Verzeichnis der Tabellen	3
Verzeichnis der Abbildungen	4
Abkürzungsverzeichnis	5
1 Hintergrund	6
2 Zielsetzungen	9
3 Beteiligte Institutionen	9
4 Literaturlauswertung	10
5 Arbeitsablauf und grundsätzliche Vorgehensweise	12
6 Auswahl der Testverfahren	13
7 Versuchsdurchführung	14
7.1 Qualitätssicherung	14
7.2 Herstellung von Probekörpern	15
7.3 Durchführung einzelner Untersuchungen	18
7.3.1 Material und Methoden	18
8. Bewertungsmaßstäbe für die biologischen Parameter	26
8.1.1 Bewertung des Leuchtbakterien-Lumineszenz-Hemmtest nach DIN EN ISO 11348-1-3 / Leuchtbakterien- Zellvermehrungs-Hemmtest nach DIN 38412-37	26
8.1.2 Bewertung des Algentests nach DIN 38412-33	26
8.1.3 Bewertung der biologischen Abbaubarkeit der organischen Inhaltsstoffe nach OECD 301 E	27
9 Ergebnisse der aquatische Tests und Abbautests (FhG)	27
10 Ergebnisse und Diskussion der terrestrischen Tests (TU Berlin)	32
11 Bewertungsmaßstäbe für Beurteilung der Böden hinsichtlich des Einbaus von Bauprodukten	45
12 Zusammenfassung und Gesamtdiskussion der Ergebnisse	48
13 Ausblick und weiterer Forschungsbedarf	52

Verzeichnis der Tabellen

Tabelle 1	Charakterisierung der Eluate
Tabelle 2	Korngrößenfraktion (Mittelwert aus zwei Parallelmessungen)
Tabelle 3	Wassergehalt in % bezogen auf die Trockenmasse der Böden
Tabelle 4	Maximale Wasserhaltekapazität in % der Böden
Tabelle 5	pH-Wert der Böden
Tabelle 6	TOC- Gehalt der Böden
Tabelle 7	Abdekantierte Eluatmengen
Tabelle 8	Wassergehalt der mit Eluat belegten Proben
Tabelle 9	Ergebnisse im Leuchtbakterien- Luminiszenstest
Tabelle 10	Ergebnisse im Leuchtbakterienwachstumstest
Tabelle 11	Ergebnisse im Algentest
Tabelle 12	Verlauf der DOC-Gehalte in den einzelnen Testansätzen im OECD- Screening- Abbautest
Tabelle 13	Klassifikation der Eluate gemäß ihrer Toxizität
Tabelle 14	Ergebnisse der Bodenatmung (t_{lag}) nach ein- und zwölfwöchiger Inkubation
Tabelle 15	Ergebnisse der Bodenatmung (μ) nach ein- und zwölfwöchiger Inkubation
Tabelle 16	Ergebnisse der Bodenatmung (C_R) nach ein- und zwölfwöchiger Inkubation
Tabelle 17	Zusammenfassung der biologischen Testergebnisse

Verzeichnis der Abbildungen

- Abb. 1 Prozentualer Abbau organischer Inhaltsstoffe (bezogen auf den DOC) im OECD- Screeningtest
- Abb. 2 Ergebnisse der potenziellen Nitrifikation – Inkubation 1 Woche
- Abb. 3 Ergebnisse der potenziellen Nitrifikation – Inkubation 12 Wochen
- Abb. 4 Bodenatmungskurve vom Sandboden – Inkubation 1 Woche
- Abb. 5 Bodenatmungskurve vom Sandboden – Inkubation 12 Wochen
- Abb. 6 Bodenatmungskurve vom Lehm Boden – Inkubation 1 Woche
- Abb. 7 Bodenatmungskurve vom Lehm Boden – Inkubation 12 Wochen
- Abb. 8 Maximale Wachstumsrate μ - Inkubation 1 Woche
- Abb. 9 Maximale Wachstumsrate μ - Inkubation 12 Wochen
- Abb.10 Lag-Phase t_{lag} – Inkubation 1 Woche
- Abb.11 Lag-Phase t_{lag} – Inkubation 12 Wochen
- Abb. 12 Zeit von der Substratzugabe bis zum Peakmaximum $t_{peakmax}$ – Inkubation 1 Woche
- Abb. 13 Zeit von der Substratzugabe bis zum Peakmaximum $t_{peakmax}$ – Inkubation 12 Wochen
- Abb. 14 Kumulative CO_2 – Abgabe bis zum Zeitpunkt des Peakmaximums in der Kontrolle C_R – Inkubation 1 Woche
- Abb. 15 Kumulative CO_2 – Abgabe bis zum Zeitpunkt des Peakmaximums in der Kontrolle C_R – Inkubation 12 Wochen

Abkürzungsverzeichnis

BauPG	Bauproduktengesetz
BSB	Biologischer Sauerstoffbedarf
C _{org} -Gehalt in %	Organischer Kohlenstoffgehalt in %
CUAPs	Common Understanding of Assessment Procedures
C _R	Kumulative CO ₂ -Abgabe von Substratzugabe bis zum Zeitpunkt des Peakmaximums in der Kontrolle
DIBt	Deutsches Institut für Bautechnik
DOC	Gelöster Gehalt an organischem Kohlenstoff
EC ₅₀	Konzentration, bei der 50 % der Versuchsorganismen einen bestimmten Effekt zeigen
LAA	Lehm+Acrylat Abklingphase
LAK	Lehm + Aqua dest. Kontrolle
LAM	Lehm + Acrylat Maximalphase
LEA	Lehm + Epoxid Abklingphase
LEM	Lehm + Epoxid Maximalphase
MBO	Musterbauordnung
R _B	Basalatmung
R _S	Substratinduzierte Atmung
SAA	Sand +Acrylat Abklingphase
SAK	Sand + Aqua dest. Kontrolle
SAM	Sand + Acrylat
SEA	Sand + Epoxid Abklingphase
SEM	Sand + Epoxid Maximalphase
STABW	Standardabweichung
t _{lag}	Lag-Phase
t _{peakmax}	Zeit von Substratzugabe bis zum Erreichen des Peakmaximums
TM	Trockenmasse
TOC	Gesamtgehalt an organischem Kohlenstoff
WHK _{max}	Maximale Wasserhaltekapazität
μ	Maximale Wachstumsgeschwindigkeit

1. Hintergrund

Entsprechend § 3 Musterbauordnung (MBO) bzw. den entsprechenden Landesbaugesetzen sowie § 5 Bauproduktengesetz (BauPG) ist der Boden- und Grundwasserschutz bei der Erteilung einer allgemeinen bauaufsichtlichen Zulassung für Bauprodukte sowie europäischer technischer Zulassungen zu beachten.

Mit dem DIBt-Merkblatt zur „Bewertung der Auswirkungen von Bauprodukten auf Boden und Grundwasser“ (Entwurf Fassung vom Januar 2005) wurde die Basis für eine Bewertung von Bauprodukten hinsichtlich der Besorgnis des Entstehens einer schädlichen Boden – und Grundwasserverunreinigung geschaffen.

Nach diesem Merkblatt sind vor allem so genannte erdberührte Bauteile, insbesondere die bei der Gründung von baulichen Anlagen verwendeten Bauprodukte zu bewerten.

Das im Merkblatt beschriebene Bewertungskonzept soll bei der Vorbereitung von Leitlinien für europäisch technische Zulassungen oder auch von Common Understanding of Assessment Procedures (CUAPs) für Einzelzulassungen nach Artikel 9.2 der Bauproduktenrichtlinie als deutscher Standpunkt eingebracht werden. Der Normenausschuss Bauwesen des DIN sieht in dem Bewertungskonzept einen wichtigen Beitrag im Rahmen der CEN-Arbeit zu den künftigen europäischen Prüfverfahren.

Zur Konkretisierung der Umsetzung der wesentlichen Anforderung „Hygiene, Gesundheit und Umweltschutz“ hat die Europäische Kommission das Leitpapier H „A harmonised approach relating to dangerous substances under the construction products directive“ veröffentlicht. Die hierin beschriebenen allgemeinen Prinzipien und Umsetzungsgrundsätze sind bei der Implementierung der Thematik „Auswirkungen von Bauprodukten auf Boden und Grundwasser“ in Produktnormen zu berücksichtigen. Gegenwärtig werden Aktivitäten bei der Europäischen Kommission und bei CEN diskutiert, vorbereitet oder laufen bereits, um das Ziel zu erreichen, dass in der kommenden so genannten 2. Generation von harmonisierten technischen Spezifikationen Anforderungen an gefährliche Substanzen im Kontext der wesentlichen Anforderung „Hygiene, Gesundheit und Umweltschutz“ konkretisiert werden können.

Die Prüfmethode für Gefahrstoffe sollen in der zweiten Normengeneration möglichst einheitlich sein und bereits bestehende Methoden und ggf. auch den Stand des Wissens aus anderen Produktbereichen berücksichtigen, um Kosten und

Aufwand in der Entwicklung und der Anwendung zu reduzieren. Existierende Prüfmethode anderer Bereiche (z.B. Abfall, Boden) könnten daher von einem horizontalen Umwelt- TC für Bauprodukte bei CEN auf ihre Anwendbarkeit geprüft und ggf. weiterentwickelt werden. Ein enger Informationsaustausch innerhalb von CEN als auch zwischen CEN und EOTA sollte Doppelentwicklungen vermeiden. Kurzfristig müssen die verfügbaren europäischen und nationalen Prüfmethode zusammengestellt werden.

Das im DIBt-Merkblatt beschriebene Konzept zur Bewertung der Auswirkungen von Bauprodukten auf Boden und Grundwasser sieht eine zweistufige Bewertung von Bauprodukten für deren Zulassung vor.

In der Stufe 1 werden anhand der gegenüber dem DIBt offen zu legenden Rezeptur diejenigen Inhaltsstoffe, die aus dem Bauprodukt in Boden oder Grundwasser eingetragen werden können, qualitativ ermittelt und bewertet.

Die Bewertung erfolgt anhand von

- im Merkblatt unter 3.1 festgelegten Ausschlusskriterien,
- gesicherten Erkenntnissen über die Unbedenklichkeit aller Inhaltsstoffe bezüglich der Besorgnis des Entstehens einer schädlichen Bodenveränderung und Grundwasserverunreinigung sowie
- dem Vergleich mit bereits auf der Grundlage des Merkblattes bewerteten Bauprodukten gleichartiger Zusammensetzung (1)

Die Anforderungen des Merkblattes gelten nicht als erfüllt, wenn ein Inhaltsstoff des Bauproduktes eines der Ausschlusskriterien erfüllt. Es kann demzufolge nicht bauaufsichtlich zugelassen werden. Die zweite Stufe des Bewertungskonzeptes ist dann nicht mehr durchzuführen.

Stufe 2 ist durchzuführen, wenn die unter 3.1 des Merkblattes aufgeführten Ausschlusskriterien nicht zum Tragen kommen.

Ein Bauprodukt kann die Anforderungen des Merkblattes erfüllen und bereits nach der Prüfung der Stufe 1 zugelassen werden, wenn

- es Nachweise über alle Inhaltsstoffe des zu bewertenden Bauproduktes gibt, die belegen, dass bei seinem Einsatz keine Gefahren für Boden und Grundwasser bestehen oder
- schon andere Bauprodukte gleichartiger Zusammensetzung geprüft und als unbedenklich im Sinne des Merkblattes eingestuft wurden. Außerdem muss in diesem Fall der geplante Einsatzfall durch die bereits stattgefundenen Prüfungen an anderen Bauprodukten gleichartiger Zusammensetzung mit abgedeckt sein.

Die Stufe 2 des Bewertungskonzeptes beinhaltet die Ermittlung und Bewertung der mobilisierbaren Inhaltsstoffe des zu bewertenden Bauprodukts. Mit diesem Vorgehen soll ermittelt werden, ob die Geringfügigkeitsschwellen am Ort der Beurteilung (siehe DIBt-Merkblatt, Abschnitte 2.1 und 2.2) überschritten oder relevante ökotoxikologische Wirkungen auf Boden und Grundwasser auftreten können. Dazu müssen entsprechende Eluate der Bauprodukte hergestellt werden, die hinsichtlich der

- allgemeinen Parameter (1. Schritt)
- der stofflichen Parameter (2. Schritt) sowie
- ggf. biologischen Parameter (3. Schritt)

untersucht und bewertet werden.

Der erste Schritt umfasst die Ermittlung und Bewertung der allgemeinen Parameter wie pH-Wert, elektrische Leitfähigkeit, Geruch, Färbung, Trübung und Neigung zur Schaumbildung. Für den pH-Wert und die elektrische Leitfähigkeit sind im Merkblatt bauproduktsspezifische Grenzwerte festgelegt.

Auf der Basis der Kenntnisse über die chemische Zusammensetzung des zu bewertenden Bauproduktes werden die stofflichen Parameter in einem zweiten Schritt bestimmt und bewertet. Diese Parameter werden über Eluate gewonnen. Die im Eluat gemessenen Stoffgehalte werden anhand der Geringfügigkeitsschwellen bewertet.

In einem dritten Schritt sind gegebenenfalls anhand der Eluate aus den Bauprodukten biologische Parameter zu ermitteln und entsprechende ökotoxikologische Testverfahren durchzuführen. Die biologischen Testverfahren des dritten Schritts sind dann durchzuführen, wenn nicht für alle zu erfassenden Stoffe Geringfügigkeitsschwellen vorliegen, die Geringfügigkeit der ökotoxikologischen

Wirkungen nicht belegt oder Stoffe nur über den Summenparameter TOC erfasst werden können.

Der dritte Schritt umfasst die Untersuchung des biologischen Abbauverhaltens und die ökotoxikologischen Auswirkungen der mobilisierbaren Inhaltsstoffe auf Boden und Grundwasser.

Die aquatischen Tests und die biologische Abbaubarkeit sind bereits im Merkblatt festgelegt worden. Mit den terrestrischen Verfahren soll sichergestellt werden, dass es nicht zu einer Beeinträchtigung der Lebensraumfunktion von Böden kommt. Es sind Bodenschichten bis zu einer Tiefe von 3,5 m zu beachten. Als Testabfolge ist ein Screening mit ggf. anschließenden Tests vorgesehen. Dieses Forschungsprojekt stellt die Grundlagen für die Festlegung der terrestrischen Testverfahren im Merkblatt, Teil II dar.

Die bisher vorgesehenen terrestrischen Testverfahren haben in Vorläuferprojekten nur eine geringe Sensitivität aufgewiesen, so dass andere terrestrische Verfahren geprüft werden müssen, um eine entsprechende ökotoxikologische Testbatterie entwickeln zu können.

2. Zielsetzung

Ziel des Forschungsvorhabens ist es, die Eignung des Ammoniumoxidationstests (DIN/ISO 15685) und Bodenatmungstests (DIN/ISO 17155) zur Bewertung der Auswirkung von Bauprodukten auf die bodenbiologischen Leistungen nachzuweisen. Die Ergebnisse des Forschungsvorhabens sind die Grundlage für die Festlegung einer ökotoxikologischen Testbatterie für den Teil II des DIBt-Merkblattes „Bewertungskonzepte für spezielle Bauprodukte“, hier am Beispiel von Bodeninjektionsmitteln und Kanalrohrsaniierungsmitteln. Um die Aussagekraft der aquatischen und terrestrischen Tests abschätzen und vergleichen zu können, sollen der Leuchtbakterien-Lumineszenz -Hemmtest (DIN EN ISO 11348-1 bis 3), der Leuchtbakterienwachstumstest (DIN 38412-37), der Abbautest (OECD 301 E = OECD-Screening-Test) und der Algentest (DIN 38412-33) durchgeführt werden. Der Daphnientests (DIN 38412-37) war nicht Gegenstand dieses Forschungsvorhabens.

3. Beteiligte Institutionen

a) FU Berlin, Fachbereich Geowissenschaften,
AG-Organische Umweltgeochemie

Leiter: Herr Prof. Dr. mult. Dr. h.c. Konstantin Terytze

Projektkoordinierung/wissenschaftliche Betreuung und Auswertung:

Frau Dipl.-Geoökol. Evelyn Giese

Herr Cand.rer.nat.Robert Wagner (Diplomand)

Malteserstraße 74-100, Haus H

12249 Berlin

b) Fraunhofer-Institut für Molekularbiologie und
Angewandte Oekologie (IME), Schmallenberg

Frau Dr. Kerstin Hund-Rinke

57392 Schmallenberg

c) TU Berlin, Institut für Ökologie, Landschaftsbau,
Abfallbelastung der Landschaft

Herr Prof. Dr. Dr. Bernd Michael Wilke/ Frau Dipl.Agr-Ing.(FH) Maike Mai

Franklinstr. 28-29

10587 Berlin

d) Hygiene-Institut des Ruhrgebiets,

Herr Dr. Andreas Koch,

Rotthausener Str. 19

45879 Gelsenkirchen

4. Literaturlauswertung

Die folgende Literatur –vor allem vorangegangene Forschungsberichte- wurden ausgewertet:

(1) DIBt (Deutsches Institut für Bautechnik) (2000): Merkblatt „Bewertung der Auswirkungen von Bauprodukten auf Boden und Grundwasser“ (Fassung: November 2000). Berlin: DIBt.

(2) DIBt (Deutsches Institut für Bautechnik) (2005): Entwurf Merkblatt „Bewertung der Auswirkungen von Bauprodukten auf Boden und Grundwasser“ (Fassung: Januar 2005). Berlin: DIBt.

(3) In: Schriften des Deutschen Instituts für Bautechnik Laborvergleichstest zur Ermittlung der Eignung des Daphnientests zur Untersuchung von Eluaten aus Bauprodukten gemäß „DIBt-Merkblatt zur Bewertung der Auswirkung von Bauprodukten auf Boden und Grundwasser“

(4) DIN EN ISO 11348-1 bis 3 (1999): Wasserbeschaffenheit — Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von *Vibrio fischeri* (Leuchtbakterienluminiszenstest)

Teil 1: Verfahren mit frisch gezüchteten Bakterien (ISO 11348-1:1998)
Ausgabe:1999-04

Teil 2: Verfahren mit flüssig getrockneten Bakterien (ISO 11348-2:1998)
Ausgabe:1999-04

Teil 3: Verfahren mit gefriergetrockneten Bakterien (ISO 11348-3:1998)
Ausgabe:1999-04

(5) DIN 38412-37 Leuchtbakterienwachstumstest

(6) OECD 301 E OECD – Screening-Abbautest

(7) DIN 38412-33 (1991): 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)
Ausgabe:1991-03

(8) DIN ISO 15685 (2001): Bodenbeschaffenheit – Bestimmung der potentiellen Nitrifizierung – Schnellverfahren mittels Ammoniumoxidation (ISO/DIS 15685:2001)
Ausgabe: 2001-07

(9) E DIN ISO 17155 (2001): Bodenbeschaffenheit – Bestimmung der Aktivität der Bodenmikroflora mit Hilfe von Atmungskurven (ISO/FDIS 17155:2001)
Ausgabe:2001-05

(10) Hund-Rinke K. (2003): Laborvergleichstest zur Ermittlung der Eignung des Daphnientests zur Untersuchung von Eluaten aus Bauprodukten gemäß „DIBt-Merkblatt zur Bewertung der Auswirkungen von Bauprodukten auf Boden und Grundwasser“. Fraunhofer Institut für Molekularbiologie und Angewandte Oekologie (Fh-IME). Endbericht für das Deutsche Institut für Bautechnik

(11) Hund-Rinke K. (2002): Exemplarische ökotoxikologische Beurteilung von Bauprodukten auf der Basis der im DIBt-Merkblatt „Bewertung der Auswirkungen von Bauprodukten auf Boden und Grundwasser“ genannten Verfahren. Fraunhofer Institut für Molekularbiologie und Angewandte Oekologie (Fh-IME). Abschlussbericht für die Deutsche Bauchemie e.V.

(12) DIN ISO 15799 (2004): Bodenbeschaffenheit – Anleitung zur Charakterisierung von Böden und Bodenmaterialien (ISO 15799:2003)

(13) Heiden, St. et al., 2000: Toxikologische Beurteilung von Böden; Gustav-Fischer-Verlag
Umweltbundesamt, 2003: Entwicklung ökotoxikologischer Orientierungswerte für Böden, FKZ 299 71 207, unveröffentlicht, Berlin

(14) DECHEMA, 2001: Biologische Testverfahren für Boden und Bodenmaterial, 7. Bericht des Interdisziplinären Arbeitskreises „Umweltbiotechnologie – Boden“, Eigenverlag, Frankfurt am Main

(15) Schinner, F. et al., 1993: Bodenbiologische Arbeitsmethoden, Springer-Verlag, 2. Auflage

(16) Domsch, K.H., 1985: Funktionen und Belastbarkeit des Bodens aus der Sicht der Bodenmikrobiologie, Verlag W. Kohlhammer, Stuttgart und Mainz

(17) Umweltbundesamt (2000): Wirkungen ausgewählter Schadstoffe auf Bodenorganismen, Texte 8/00

(18) Frische, T. (2003): Eine Biotestbatterie als ökotoxikologisches Beurteilungsinstrument in der Bodensanierung, Dissertation, unveröffentlicht

(19) LITZ, WICKE UND WILKE, 2002: Bodengefährdende Stoffe

5. Arbeitsablauf und grundsätzliche Vorgehensweise

Zeitplan (Stand April 2004)	Febr 04	März 04	Apr 04	Mai 04	Jun 04	Jul 04	Aug 04	Sept 04	Okt 04	Nov 04	Dez 04	Jan 05
Auswahl der Bauprodukte	→											
Auswahl der Testverfahren	→											
Auswahl der Böden		→										
Erstellung eines Zeitplanes			→									
1.Zwischenbericht Eluatherstellung				→								
aquatische Testverfahren				→								
terr. Tests - 1.Durchlauf				→								
Auswertung				→	→							
terr. Tests - 2. Durchlauf						→						
2. Zwischenbericht Auswertung							→		→			
Erstellung Gesamtbericht								→	→	→	→	

Im Hinblick auf die Zielsetzung, eine ökotoxikologische Testbatterie für die biologischen Parameter zur Bewertung der ökotoxikologischen Auswirkungen von Bauprodukten auf Böden zu entwickeln, wurde das folgende Herangehen gewählt:

- A) Auswahl von zwei Bauprodukten sowie deren stoffliche Charakterisierung
- B) Auswahl der anzuwendenden ökologischen Testverfahren
- C) Auswahl von zwei Böden sowie deren bodenkundliche und chemische Charakterisierung
- D) Koordinierung der beteiligten Forschungsinstitutionen
- E) Herstellung und Charakterisierung der Eluate aus den Bauprodukten
- F) Ermittlung der geeigneten Transport – und Lagerungsbedingungen für Eluate aus Bauprodukten
- G) Kontamination der Böden mit den Eluaten
- H) Durchführung der terrestrischen Testverfahren (nach DIN/ISO 17155 und 15685) – 1. Testphase
- I) Parallel dazu: Durchführung der aquatischen Testverfahren (nach DIN/ISO 11348 –2, 38412 - 37 und 38412 – 33) und der Abbautests (nach OECD 301 E (OECD-Screening- Test)
- J) Erste Darstellung und Auswertung der Versuchsergebnisse
- K) Dreimonatige Lagerung der kontaminierten Böden und des Referenzbodens zur Berücksichtigung der Alterung der Böden
- L) Wiederholung der terrestrischen Testverfahren (nach DIN/ISO 17155 und 15685)
- M) Auswertung und Darstellung der Versuchsergebnisse
- N) Vergleich mit den Ergebnissen vorangegangener Untersuchungen
- O) Bewertung der Eignung der angewandten ökotoxikologischen Methoden für die Bewertung der Auswirkungen von Bauprodukten auf Böden und Grundwasser
- P) Entwicklung von Bewertungskriterien und Empfehlungen für die Bewertung von Bauprodukten entsprechend Stufe 2, Schritt 3 „Ermittlung und Bewertung der biologischen Parameter“ des Bewertungskonzeptes zur Ermittlung der Auswirkungen von Bauprodukten auf Boden und Grundwasser
- Q) Vorschlag einer ökotoxikologischen Testbatterie

6. Auswahl der Testverfahren

Stufe 2, Schritt 3 des Konzeptes zur Bewertung der Auswirkungen von Bauprodukten auf Boden und Grundwasser sieht die Ermittlung und Bewertung der biologischen Parameter vor. Zu den im Merkblatt vorgesehenen ökotoxikologischen terrestrischen Tests gibt es bisher nur wenige Untersuchungsergebnisse für Bauprodukte. Ein vorangegangenes Forschungsvorhaben des Fraunhofer Instituts für Molekularbiologie und angewandte Oekologie hat deutlich gemacht, dass die bisher im Merkblatt vorgesehenen terrestrischen Testsysteme nur eine geringe Sensitivität bei der ökotoxikologischen Bewertung der Wirkungen von Bauprodukten auf Böden aufweisen. Außerdem sind der Regenwurmtest und Pflanzentest mit einem hohen zeitlichen und finanziellen Aufwand verbunden. Im Rahmen der Diskussion mit dem Projektbeirat wurde daher angeregt, anstelle dieser aufwändigen Tests den Ammoniumoxidationstest (DIN ISO 15685) mit der bodeneigenen Mikroflora durchzuführen. Dieser Test hat sich bei zahlreichen Untersuchungen als sehr empfindlich im Hinblick auf Schadstoffe herausgestellt. In der Praxis des Bodenschutzes wird neben dem Ammoniumoxidationstest in der Regel parallel die mikrobielle Atmung bestimmt. Während der Ammoniumoxidationstest die Reaktion der vergleichsweise kleinen Gruppe der Nitrifikanten im Boden wiedergibt, liefert die Atmungsmessung Informationen über die generelle mikrobielle Aktivität, da über diesen Parameter die aerobe und fakultativ anaerobe, heterotrophe Mikroflora erfasst wird. Im vorliegenden Vorhaben sollten beide Verfahren systematisch für ihre Eignung im Rahmen der Charakterisierung von Bauprodukten erprobt werden.

Beide Normen sind international anerkannt und haben sich als ökotoxikologische Testverfahren bereits in der Praxis bewährt:

- Bestimmung der Aktivität der Bodenmikroflora mit Hilfe von Atmungskurven DIN/ISO 17155
- Bestimmung der potentiellen Nitrifizierung (Schnellverfahren mittels Ammoniumoxidation) DIN/ISO 15685

Als aquatische Testverfahren sind in der überarbeiteten Version des Merkblattes (Stand Januar 2005) die Durchführung des Leuchtbakterien-Luminszenzhemmtests (DIN ISO 11348), des Leuchtbakterienwachstumstests (DIN 38412-37), des Algentests (DIN 38412-33) sowie des Daphnientests (DIN 38412-30) vorgeschrieben.

Der Schadstoffeintrag in den Boden erfolgt im Fall der Bauprodukte über Leaching, die Aufnahme durch Bodenorganismen mit Ausnahme des Regenwurms nur über wässrige Lösungen. Deshalb müssen die ökotoxikologischen Wirkungen über die Untersuchung eines wässrigen Eluates charakterisiert werden. Neben der Durchführung der genannten terrestrischen Testverfahren im vorliegenden Projekt werden daher auch ausgewählte aquatische Testverfahren einbezogen. Ziel war, Informationen bezüglich ihrer Sensitivität im Vergleich zu den terrestrischen Testverfahren zu erhalten.

Im DIBt-Merkblatt ist des Weiteren bei Eluaten mit erhöhten TOC- Gehalten (TOC > 50 mg/L) unbekannter chemischer Zusammensetzung die Durchführung eines Abbautests gefordert. Vorgeschrieben sind OECD-Tests nach Guideline 301. Diese Tests wurden ursprünglich für die Untersuchung von Reinsubstanzen konzipiert. Ihre Anwendbarkeit für Bauprodukteluate mit einer unbekannt organischen Belastung sollte daher in dem vorliegenden Projekt ebenfalls überprüft werden.

7. Versuchsdurchführung

7.1 Qualitätssicherung

Die Herstellung der Eluate erfolgte durch die inverse Säulenelution nach Schössner (2002). Die Säulenelution mit inverser Fließrichtung, die im Hygieneinstitut Gelsenkirchen entwickelt wurde, wurde 2002 in einem Forschungsauftrag für das DIBt optimiert und überarbeitet, so dass sie als Standardprüfmethode für Bodeninjektionsmittel und Kanalrohrsanierungsmittel eingesetzt werden kann und im Entwurf des Merkblattes zur Bewertung der Auswirkungen von Bauprodukten auf Boden und Grundwasser vom Januar 2005, Zusammenstellung der Elutions- und Extraktionsverfahren, Tabelle C 2 aufgeführt ist. Die inverse Säulenelution nach *Schössner* ist Bestandteil der Qualitätsmanagement-Arbeitsanweisung des Hygieneinstituts Gelsenkirchen (2003) und empfohlene Methode zur Untersuchung der Umweltverträglichkeit der International Society for Rock Mechanics (1995).

Bei allen biologischen Testverfahren handelt es sich um standardisierte und normierte bzw. in der Normung befindliche Methoden.

Die Beschreibung des ökotoxikologischen Potenzials der Prüfsubstanzen, die den Böden beigegeben wurde (in diesem Falle der Bauprodukt- Eluate) erfolgte gemäß DIN ISO 15799: 2004.

Die terrestrischen Testverfahren wurden jeweils mit 4 Wiederholungen durchgeführt. Alle Messungen erfolgten mit geeichten Messgeräten.

Die Probenvorbereitungen erfolgten nach DIN ISO 11464: 1996; die Bestimmung der physikalischen – chemischen Parameter

- Korngrößenverteilung in Anlehnung an E-DIN ISO 11277
- max. Wasserhaltekapazität in Anlehnung an E-DIN-ISO 11267
- pH-Wert nach DIN ISO 10390.

Die Anforderungen der Bundes-Bodenschutzverordnung Anhang 1 für die Probenahme, Analytik und Qualitätssicherung wurden eingehalten.

7.2 Herstellung von Probekörpern

In den Grundsätzen des Merkblattes „Bewertung der Auswirkungen von Bauprodukten auf Boden und Grundwasser“ wird gefordert, dass die Geringfügigkeitsschwellen an den Orten der Einhaltung derselben nicht überschritten werden dürfen. Um möglichst praxisnah die zu erwartenden Konzentrationen an den Orten der Einhaltung der Geringfügigkeitsschwellen sowie die ökotoxikologischen Wirkungen prognostizieren zu können, müssen Eluate der Bauprodukte hergestellt werden (1 und 2).

In der 18. Kalenderwoche wurden im Hygieneinstitut Gelsenkirchen je zwei Eluate (insgesamt ca. 11 l Eluat pro Bauprodukt) aus zwei Bauprodukten mittels Säulenelution nach *Schössner (1992)* hergestellt, die von der MC Bauchemie Müller GmbH & Co. KG zur Verfügung gestellt wurden. Es handelte sich um ein kalthärtendes Epoxidharz und um ein Injektionsmittel auf Acrylatbasis.

Von den Eluaten wurden je 10 l für die terrestrischen Untersuchungen an die TU Berlin, Institut für Ökologie, Landschaftsbau, Abfallbelastung der Landschaft ausgeliefert und je 1 l ging an die FHG in Schmallenberg für die Durchführung der aquatischen Untersuchungen.

Versuchsablauf:

1 kg eines 2-K kalthärtenden Epoxidharzes wurde angemischt, umgetopft, erneut gemischt und in eine Kuhle in der Sandsäule gefüllt. Der Wasserdurchfluss (4l/h) wurde nach einer Aushärtungszeit von 6 Stunden gestartet.

Vom Injektionsmittel auf Acrylatbasis wurde ebenfalls 1 kg von Hand angemischt und in eine Kuhle in der mit Feinstsand gefüllten Sandsäule gegeben. Der Wasserdurchfluss (4 l/h) wurde nach einer Aushärtungszeit von 10 Minuten gestartet. Die beiden Bauprodukte wurden unter Verwendung von Feinstsand mit einer Korngröße von 0,05 mm eluiert. Die Eluate wurden jeweils aus der Maximalphase und der Abklingphase der TOC – Gehalte (Total Organic Carbon) entnommen. Der TOC wurde dabei kontinuierlich gemessen. Eine Bestimmung der Spitzenwerte erfolgte in diesem Vorhaben nicht. Der Verlauf des TOC ist in den Abbildungen 1 und 2 graphisch dargestellt.

Die jeweils zwei Eluate der beiden Bauprodukte wurden durch das Hygieneinstitut Gelsenkirchen bezüglich der Parameter

- Geruch
- Färbung
- Trübung
- Neigung zur Schaumbildung

charakterisiert.

pH-Wert und elektrische Leitfähigkeit wurden durch die FHG bzw. die TU Berlin ermittelt: Die Charakterisierung der Eluate ist in Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1: Charakterisierung der Eluate

Eluat	pH (TU Berlin- Messung)	pH (FhG- Messung)	Elektr. Leitfähigkeit 25°C [mS/m] (TU-Messung)	DOC (mg/l) (FhG- Messung)
Acrylat Abklingphase	7,42	8,30	42,5	13,8
Acrylat Maximalphase ¹⁾	7,19	7,90	116,8	745
Epoxid Abklingphase	7,28	8,20	41,3	2,4
Epoxid Maximalphase ²⁾	7,40	8,30	39,2	9,8

¹⁾ leichter Niederschlag vorhanden, neigt zur Schaumbildung, Geruch

²⁾ leichter Niederschlag vorhanden

Bei allen Eluaten liegt der pH-Wert im leicht alkalischen Bereich. Die DOC-Gehalte liegen zwischen 2 und 745 mg/L.

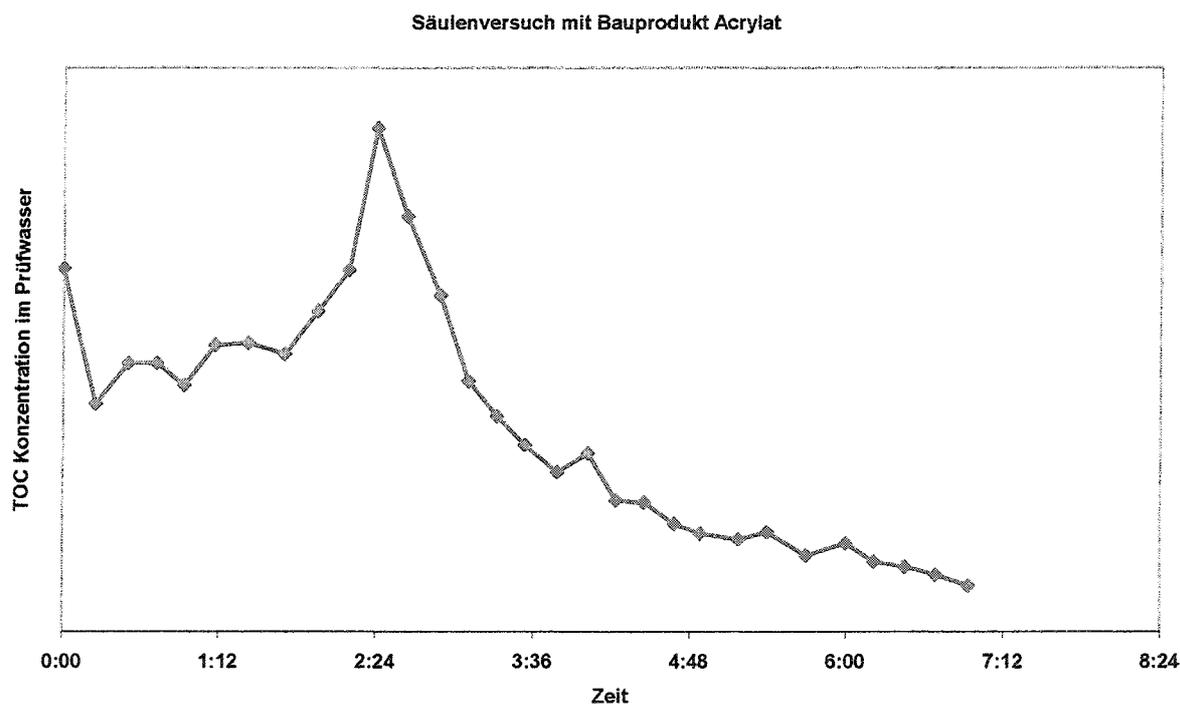


Abbildung 1: TOC- Verlauf im Prüfwasser für das Injektionsmittel auf Acrylatbasis

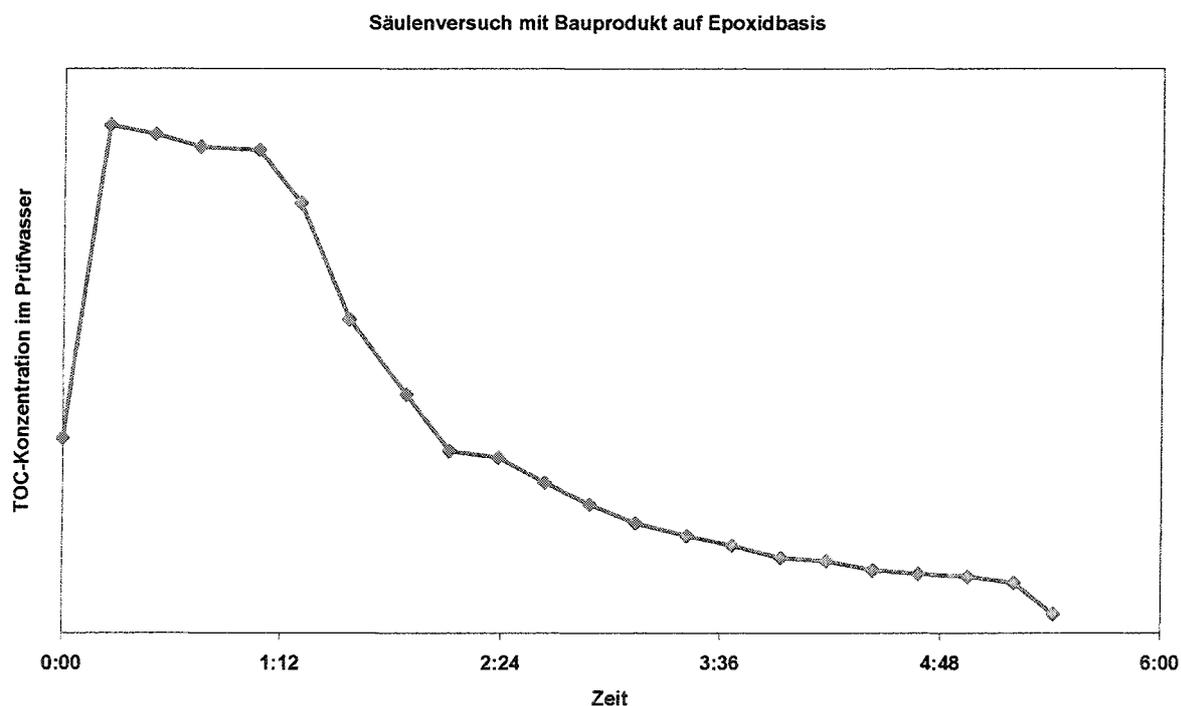


Abbildung 2: TOC- Verlauf im Prüfwasser für das Kanalrohrabdichtungsmittel auf Epoxidbasis

7.3 Durchführung einzelner Untersuchungen

Von der 19. KW bis zur 22. KW wurden die aquatischen Testverfahren

- Leuchtbakterienlumineszenztest nach DIN EN ISO 11348-2,

- Leuchtbakterien-Zellvermehrungs-Hemmtest nach DIN 38412-37,
- Algentest nach DIN 38412-33 und
- Abbautests gemäß OECD 301 E (Screening – Test)

für die vier Bauprodukteluat durchgeföhrt.

In der 19./20. Kalenderwoche fand die erste Testphase der terrestrischen Untersuchungen

- Bestimmung der potentiellen Nitrifizierung – Schnellverfahren mittels Ammoniumoxidation nach DIN ISO 15685 und
- Bestimmung der Aktivität der Bodenmikroflora mit Hilfe von Atmungskurven nach DIN ISO 17155

statt. Die zweite Testphase der terrestrischen Untersuchungen nach der vorgesehenen dreimonatigen Lagerung der Böden folgte in der 30./31. Woche.

7.3.1 Material und Methoden

- aquatische Testverfahren – (FhG)

Probenlagerung: Die Eluat-Proben wurden nach dem Eingang im Institut bis zu der jeweiligen Testdurchführung dunkel bei 4 °C gelagert.

a) Leuchtbakterienlumineszenztest gemäß DIN EN ISO 11348-2:

Der Test wurde nach DIN EN ISO 11348-2 mit flüssig getrockneten Bakterien (*Vibrio fischeri*) durchgeföhrt. Die Eluate wurden, falls erforderlich, vor der Testung auf einen pH zwischen 6 und 8 mit HCl eingestellt. Dies traf auf die Eluate Epoxid-max (pH 8,3 → 7,7), Epoxid nach 7 d (pH 8,2 → 7,6) und Acrylat nach 7 d (pH 8,3 → 7,8) zu.

Folgende Verdünnungsstufen (G-Werte) wurden untersucht:

G = 1 (80 % Eluat)

G = 2 (50 % Eluat)

G = 3 (33, 3 % Eluat)

G = 4 (25 % Eluat)

G = 6 (16, 7 % Eluat)

G = 8 (12, 5 % Eluat)

G = 12 (8, 3 % Eluat)

G = 16 (6, 25 % Eluat)

b) Leuchtbakterienwachstumstest gemäß DIN 38412-37

Der Test wurde nach DIN 38412-37 mit flüssig getrockneten Bakterien (*Vibrio fischeri*) durchgeführt. Die Eluate wurde, vor der Testung auf einen pH $7 \pm 0,2$ mit HCl eingestellt.

Folgende Verdünnungsstufen (G-Werte) wurden untersucht:

G = 2 (50 % Eluat)

G = 3 (33, 3 % Eluat)

G = 4 (25 % Eluat)

G = 6 (16, 7 % Eluat)

G = 8 (12, 5 % Eluat)

G = 16 (6, 25 % Eluat)

c) Algentest gemäß DIN 38412-33

Der Test wurde nach DIN 38412-33 mit *Desmodesmus subspicatus* durchgeführt. Die Eluate wurde, vor der Testung auf einen pH $7 \pm 0,2$ mit HCl eingestellt.

Folgende Verdünnungsstufen (G-Werte) wurden untersucht:

G = 1 (80 % Eluat)

G = 2 (50 % Eluat)

G = 3 (33, 3 % Eluat)

G = 4 (25 % Eluat)

G = 6 (16, 7 % Eluat)

G = 8 (12, 5 % Eluat)

G = 16 (6,25 % Eluat)

Acrylat max zusätzlich: G = 32 (3,13 % Eluat)

d) Abbautest gemäß OECD 301 E (OECD-Screening-Test)

Testprinzip:

Die Testsubstanz, bzw. in diesem Fall das Bauprodukteluat, wird als einzige Kohlenstoffquelle in ein Mineralmedium zugesetzt. Als Inokulum dient Kläranlagenauslauf. Der Abbau wird über Verschwinden von gelöstem Kohlenstoff verfolgt. Gemäß Vorschrift soll die Kohlenstoffkonzentration im Testansatz zum Zeitpunkt 0 zwischen 10 und 40 mg/L betragen. Aufgrund der DOC-Gehalte in den Eluaten und den zur Verfügung stehenden Eluatmengen von insgesamt 1 L für alle Tests wurde als Testvolumen 500 mL (Guideline: 1 L) gewählt.

Folgende Ansätze wurden untersucht:

Inokulum-Blindwert (Mineralmedium + Inokulum):	2 Parallelen
Referenz-Ansatz (Na-Benzoesäure + Mineralmedium + Inokulum):	2 Parallelen
Testansatz 1 (Acrylat max. + Mineralmedium + Inokulum):	2 Parallelen
Toxizitätskontrolle (Acrylat max. + Na-Benzoesäure + Mineralmedium + Inokulum):	1 Ansatz
Testansatz 2 (Acrylat nach 7 d + Mineralmedium + Inokulum):	1 Ansatz
Testansatz 3 (Epoxid max + Mineralmedium + Inokulum):	1 Ansatz

Gemäß DIBt-Merkblatt (Stand August 2004) muss das Abbauverhalten nur bei Eluaten mit TOC-Konzentrationen > 50 mg/L untersucht werden. Bei den vorliegenden Eluaten traf dieses Kriterium nur auf das Acrylateluat der Maximumphase zu. Zusätzlich wurden dennoch das Acrylateluat aus der Abklingphase sowie das Epoxideluat aus der Maximumphase in die Untersuchungen einbezogen, um einen größeren Informationspool zur Verfügung zu haben. Das Eluat Epoxid nach 7 d konnte aufgrund seines niedrigen DOC-Gehaltes (2,4 mg/L) in diesem Test nicht untersucht werden.

Der Abbau wird über Messung des DOC-Gehaltes verfolgt. Die Messungen wurden an folgenden Tagen durchgeführt: 0 (Testansatz), 3, 7, 17, 21 und 28. Für die Bestimmung wurden jeweils 10 mL entnommen und an einem TOC-Analysator 5050A von *Shimadzu* analysiert.

- terrestrische Testverfahren – (TU Berlin)

Auswahl der Böden

Beide verwendete Böden gehören zu den Referenzböden für Deutschland (REFESOL). Sie wurden auch in den vorangegangenen Forschungsprojekten den Fh-IME eingesetzt.

Boden 1 ist ein sorptionsschwacher Sandboden, der aus Sicht des Bodenschutzes den worst case repräsentiert. Nach der REFESOL-Nomenklatur handelt es sich um einen Boden aus der Kategorie 01-A. Boden 2 ist ein lehmiger Boden, der der REFESOL-Nomenklatur 03-G entspricht.

Die Bodenproben wurden vom Fh-IME zur Verfügung gestellt und von geschulten Fachleuten mit ausreichender Kenntnis über die Probenahme und die Handhabung von Bodenproben an den beiden Standorten entnommen.

Vorbereitung des Bodens:

Die Böden wurden nach Probenahme (24.03.04) bei 4 °C gelagert.

Die beiden für die terrestrischen Testverfahren ausgewählten Böden wurden physiko-chemisch hinsichtlich

- Bodenart, Korngrößenverteilung
- Wassergehalt in % bezogen auf die Trockenmasse
- Maximale Wasserhaltekapazität in %
- pH-Wert
- TOC (C_{org} in %)

charakterisiert:

Korngrößenverteilung

Die Bestimmung der Korngrößenverteilung erfolgte in Anlehnung an E DIN ISO 11277. Die erhaltenen Bodenproben wurden im luftgetrockneten Zustand auf 2 mm gesiebt. Das Material < 2mm wurde anschließend mit Wasserstoffperoxid zur Entfernung der organischen Substanz versehen. Danach wurden mit Hilfe des Verfahrens der Nasssiebung/Trockensiebung und der Pipettanalyse die einzelnen Kornfraktionen ermittelt.

Tabelle 2: Korngrößenfraktion (Mittelwert aus zwei Parallelmessungen)

Probennummer	Sand in %	Schluff in %	Ton in %
S (Boden 1)	66,82	27,00	6,18
L (Boden 2)	22,57	52,95	24,48

Wassergehalt

Der Wassergehalt der feldfrischen Bodenproben wurde durch Trocknung der Proben im Trockenschrank bei 105 °C bis zur Gewichtskonstanz bestimmt.

Tabelle . 3: Wassergehalt in % bezogen auf Trockenmasse

Probennummer	Wassergehalt in % bezogen auf Trockenmasse
S (Boden 1)	10,2
L (Boden 2)	28,95

Maximale Wasserhaltekapazität

Die Maximale Wasserhaltekapazität ist in Anlehnung an DIN ISO 11267 ermittelt worden. Hierbei werden Böden in einem Wasserbad wassergesättigt und anschließend auf ein wassergesättigtes Sandbad gesetzt. Wasser, das nicht durch Kapillarkräfte im Boden gehalten wird, fließt über das Sandbad ab. Nach Erreichen der Gewichtskonstanz werden die Proben gewogen und mindestens 24 Stunden bei 105 °C getrocknet.

Tabelle 4: Maximale Wasserhaltekapazität in %

Probennummer	Maximale Wasserhaltekapazität in %
S (Boden 1)	27,1
L (Boden 2)	64,0

pH-Wert

Der pH-Wert der Böden wurde nach DIN ISO 10390 gemessen. Mit Hilfe einer Glaselektrode erfolgte die Messung in einer Suspension von Boden (luftgetrocknet) und einer Calciumchloridlösung mit einer Stoffmengenkonzentration von 0,01 mol/l (pH-CaCl₂) im Volumenverhältnis von 1:5.

Tabelle.. 5: pH-Wert

Probennummer	pH-Wert nach 2h	pH-Wert nach 24h
S (Boden 1)	5,07	5,07
L (Boden 2)	5,43	5,44

TOC

Die Bestimmung des organischen Kohlenstoffes erfolgte über die Ermittlung des Gesamtkohlenstoffes und des anorganischen Kohlenstoffes im C-Mat 500 der Firma Ströhlein. Bei diesem Verfahren zur Bestimmung des Gesamtkohlenstoffes wird das Probenmaterial bei 900 °C in einem Sauerstoffstrom verbrannt und anschließend das gebildete Kohlenstoffdioxid im Infrarotphotometer (IR-Photometer) gemessen. Anorganischer Kohlenstoff wird durch Zugabe von Phosphorsäure und Erwärmung zu Kohlenstoffdioxid umgesetzt, der ebenfalls im Infrarotphotometer gemessen wird. Der organische Kohlenstoff wird aus der Differenz des Gesamtkohlenstoffes zum anorganischen Kohlenstoff errechnet.

Tabelle.6: TOC

Probennummer	C _{org} -Gehalt in %
S (Boden 1)	1,19
L (Boden 2)	2,63

Die Bodenproben wurden vor der Inkubation mit den Eluaten auf eine Korngröße von ≤ 2 mm gesiebt und auf ≤ 25 % der maximalen Wasserhaltekapazität abgetrocknet:

Sand: 5,75 % (= 21,2 % der WHK_{max})

Lehm: 16,74 % (= 26,2 % der WHK_{max})

Am ersten Maiwochenende (18 KW) erfolgte die Übergabe der Eluate an einen Mitarbeiter der FU Berlin. Anschließend wurden die Eluate an die TU Berlin transportiert. Der Transport der Eluate erfolgte in fünf braunen Liter Flaschen, die in Styropor eingeschlossen waren.

Nach Eingang der Eluate in der TU Berlin (am 03.05.04) wurden die Bodenproben (je 500 g TM- Äquivalent Boden) in inerten Gefäßen mit 333,5 g Eluat versetzt (667 ml/kg TM), so dass eine Suspension entstand, die verrührt wurde. Gleichzeitig wurde ein Kontrollansatz mit deionisiertem Wasser angesetzt. Das Belegen der Böden mit den Eluaten erfolgte in der TU Berlin entsprechend den Erkenntnissen des Fraunhofer-Instituts für Molekularbiologie und Angewandte Oekologie. Die Böden wurden schonend behandelt, da u.a. die Nitrifizierer sehr empfindlich auf Milieuveränderungen reagieren.

Diese Menge des zugesetzten Eluats wurde in einem Vorläufervorhaben in 2000 der FHG-IME für das DIBt abgeleitet (9). Dabei wurde von umweltrelevanten worst-case-Szenarien ausgegangen. Die Inkubationszeit betrug entsprechend den Testvorschriften zur Elution (DIN 38414-4) 24 h. Während der Inkubationszeit wurde mehrfach manuell gerührt.

Nach 24 Stunden Inkubationszeit wurden Boden und Überstand durch Dekantieren getrennt. Dabei entstand nahezu kein Bodenverlust.

Tabelle 7: abdekantierte Eluatmengen:

Probe	Kurzbezeichnung	abdekantierte Eluatmenge [g]
Sand + Aqua dest. (Kontrolle)	SAK	221
Sand + Acrylat Abklingphase	SAA	203
Sand + Acrylat Maximalphase	SAM	197
Sand + Epoxid Abklingphase	SEA	216
Sand + Epoxid Maximalphase	SEM	213
Lehm + Aqua dest. (Kontrolle)	LAK	80
Lehm + Acrylat Abklingphase	LAA	62
Lehm + Acrylat Maximalphase	LAM	64
Lehm + Epoxid Abklingphase	LEA	68
Lehm + Epoxid Maximalphase	LEM	76

Die Bodenproben wurden vor Untersuchungsbeginn (07.05.04) auf ca. 40 % der maximalen Wasserhaltekapazität (WHK_{max}) getrocknet (*Bei Wassergehalten >40% der maximalen Wasserhaltekapazität ist eine Siebung kaum durchzuführen.*). Um Schädigungen der Bodenmikroflora zu verhindern, erfolgte die Trocknung schonend bei Zimmertemperatur, wobei der Boden periodisch gewendet wurde.

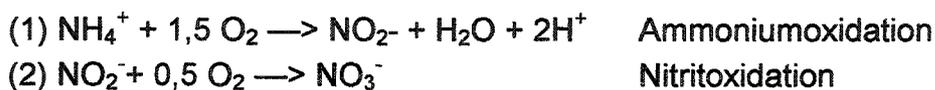
Vor Beginn der Untersuchungen wurde der Boden nochmals auf ≤ 2 mm gesiebt, um vor allem bei dem lehmigen Boden ein Verklumpen zu vermeiden und wieder die normale Bodenstruktur zu erhalten. Der Wassergehalt wurde mit Aqua dest. auf ca. 50 % der WHK_{max} eingestellt. Die weitere Lagerung bis zum Versuchsbeginn in der 19. KW und nach weiteren 3 Monaten (30.KW) erfolgte bei 4-20°C im Dunkeln, wobei die Sauerstoffzufuhr gewährleistet und Verdunstungsverluste durch Wägung und Zugabe von Aqua dest. ausgeglichen wurden.

Tabelle 8: Wassergehalt der mit Eluat belegten Proben

Probe	Kurzbezeichnung	Wassergehalt (%)	= % der WHK _{max}
Sand +Aqua dest. (Kontrolle)	SAK	13,60	50,15
Sand +Acrylat Abklingphase	SAA	13,63	50,26
Sand +Acrylat Maximalphase	SAM	13,53	49,91
Sand +Epoxid Abklingphase	SEA	13,05	48,14
Sand +Epoxid Maximalphase	SEM	13,11	48,36
Lehm +Aqua dest. (Kontrolle)	LAK	30,98	48,41
Lehm +Acrylat Abklingphase	LAA	30,80	48,13
Lehm +Acrylat Maximalphase	LAM	31,51	49,23
Lehm +Epoxid Abklingphase	LEA	31,15	48,66
Lehm +Epoxid Maximalphase	LEM	31,08	48,55

a) Bestimmung der potentiellen Nitrifizierung – Schnellverfahren mittels Ammoniumoxidation nach DIN ISO 15685 (2001)

Die Ammoniumoxidation ist der erste Schritt der autotrophen Nitrifikation und wird zur Bewertung der potenziellen Aktivität von nitrifizierenden Bakterien im Boden genutzt.



Autotrophe ammoniumoxidierende Bakterien im Boden werden einer auf einen pH-Wert von 7,2 gepufferten Bodensuspension Ammoniumsulfat ausgesetzt. Die weitere Nitrifikation, d.h. die Oxidation des abgegebenen Nitrits zu Nitrat durch nitritoxidierende Bakterien (2) wird durch Zugabe von Natriumchlorat gehemmt. Die dadurch entstehende Anreicherung von Nitrit wird nach 2 und 6 Stunden gemessen und daraus die potenzielle Aktivität der ammoniumoxidierenden Bakterien ermittelt. Damit wird nur die potenzielle Aktivität der Population, nicht deren Wachstum erfasst.

Der Test wurde mit den beiden nichtkontaminierten Kontrollböden (Sand und Lehm) und den mit den Eluaten kontaminierten Sand- und Lehmböden mit jeweils vier Parallelen durchgeführt.

b) Bestimmung der Aktivität der Bodenmikroflora mit Hilfe von Atmungskurven nach DIN ISO 17155 (2001)

Aerobe Mikroorganismen gewinnen ihre Energie aus der Atmung, d.h. der Oxidation organischer Nährstoffe durch molekularen Sauerstoff. Die Endprodukte der Veratmung organischer Substanzen im Boden sind CO_2 und Wasser. Mit Hilfe der analytischen Bestimmung des Stoffwechselproduktes CO_2 oder des O_2 -Verbrauches (hier der CO_2 -Abgabe) können die metabolischen Aktivitäten von Mikroorganismen in Bodenproben bestimmt werden.

Die Böden werden dazu auf den optimalen Wassergehalt eingestellt (siehe bei Probenvorbehandlung) und vorinkubiert, damit die durch die Behandlung evtl. verfügbaren Kohlenstoffquellen vor Beginn der Messung veratmet werden und die Bakterienpopulation sich zu Beginn der Messung im Ruhezustand befindet. Dann wird die Basalatmung gemessen. Die Basalatmung ist die gemessene CO_2 -Bildung oder der O_2 -Verbrauch einer Bodenprobe ohne den Zusatz von organischen Substanzen (konstant niedrige Atmungsraten). Danach werden eine leicht verwertbare Kohlenstoffquelle und Nährstoffe (Glucose + $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + KH_2PO_4) zugegeben. Aus den regelmäßig gemessenen (z. B. mindestens jede Stunde) Werten der CO_2 -Entwicklung bis zum Ende des Wachstumspeaks können außer der Basalatmung weitere verschiedene mikrobielle Parameter (substratinduzierte Atmung, Lag-Phase, maximale Wachstumsgeschwindigkeit, Zeit von der Substratzugabe bis zum Peakmaximum, kumulative CO_2 -Bildung) berechnet werden. Unter der substratinduzierten Atmung wird die gemessene Bodenatmung nach Versetzen des Bodens mit Substraten (hier Glucose + Ammonium + Phosphat, s.o.) verstanden. Die Lag- (Anlauf)-Phase ist die Zeitspanne von der Substratzugabe bis zum Beginn des exponentiellen Wachstums (bei unbelasteten Böden meist ≤ 20 h). Die maximale Wachstumsgeschwindigkeit entspricht der Steigerung der Atmungsraten während der exponentiellen Phase. Die Zeit von der Substratzugabe bis zum Peakmaximum (höchste Atmungsrate) liegt bei unbelasteten Böden bei ≤ 50 h. Die kumulative CO_2 -Abgabe zeigt die Menge des abgegebenen CO_2 vom Zeitpunkt der Substratzugabe bis zum Erreichen des Peakmaximums in der Kontrolle an.

Die Atmungsraten werden über die Zeit aufgetragen. Aus diesen Atmungskurven lassen sich die verschiedenen Parameter mathematisch ermitteln. Im Vergleich

der Atmungskurven von kontaminierten Böden gegenüber unbelasteten Böden lassen sich Verschiebungen (z.B. in der Steigung des exponentiellen Wachstums oder der Zeit bis zum Erreichen des Peakmaximums) erkennen, die zur Bewertung der aktiven heterotrophen mikrobiellen Biomasse in Böden und zur Beurteilung der Bodenqualität (ökotoxikologisches Potenzial) von Böden dient.

Der Test wurde mit den beiden nichtkontaminierten Kontrollböden (Sand und Lehm) und den mit den Eluatn kontaminierten Sand- und Lehmböden mit jeweils vier Parallelen durchgeführt.

8. Bewertungsmaßstäbe für die biologischen Parameter (aquatische Testverfahren und biol. Abbaubarkeit)

Der Einbau von Bauprodukten darf lt. DIBT- Merkblatt nicht zu relevanten ökotoxikologischen Wirkungen der mobilisierbaren Inhaltsstoffe in Boden und Grundwasser führen.

Dazu werden im Merkblatt aquatische Testverfahren sowie Verfahren zur Erfassung der biologischen Abbaubarkeit aufgeführt, für die bereits Bewertungsmaßstäbe zur Festlegung der Geringfügigkeit ökotoxikologischer Wirkungen entwickelt wurden.

Hinsichtlich der terrestrischen Verfahren wird im Merkblatt bisher nur festgelegt, dass der Einbau eines Bauproduktes vor allem nicht zur Beeinträchtigung der Lebensraumfunktion von Böden führen darf, wobei Bodenschichten bis zu 3,5 m Tiefe zu beachten sind.

In Kapitel 11 wird ein erster Vorschlag für einen Bewertungsmaßstab für das terrestrische Milieu hinsichtlich des Einbaus von Bauprodukten vorgelegt.

8.1.1. Bewertung des Leuchtbakterien-Lumineszens-Hemmtest nach DIN EN ISO 11348-1-3 / Leuchtbakterien-Zellvermehrungs-Hemmtest nach DIN 38412-37 hinsichtlich des Einbaus von Bauprodukten

Das Eluat des Bauproduktes soll die maximal zulässige Hemmung von weniger als 20 % bis zur Verdünnungsstufe 8 ($G_L \leq 8$) erreichen. Falls die Verdünnungsstufe $G_L > 8$ ist, ist der Zellvermehrungshemmtest zusätzlich durchzuführen werden. Wenn die für eine 20 %ige Hemmung notwendige Verdünnungsstufe G_{LW} für das Wachstum ≤ 2 beträgt, gilt der Test insgesamt als bestanden ((2) DIBt-Merkblatt, Entwurf Januar 2005).

8.1.2 Bewertung des Algentests nach DIN 38412-33 hinsichtlich des Einbaus von Bauprodukten

Das Eluat des Bauproduktes soll die maximal zulässige Hemmung von weniger als 20 % bis zur Verdünnungsstufe 4 ($G_A = 4$) oder bereits bei geringeren Verdünnungen erreicht haben. Für Bauprodukte, die erst nachträglich im Boden oder Grundwasser aushärten, gilt hiervon abweichend für das Eluat der TOC-Maximumphase $G_A \leq 8$. Höhere G_A -Werte werden unter Berücksichtigung der Ergebnisse des biologischen Abbaus bewertet und sind kein alleiniges Ausschlusskriterium. ((2) DIBt-Merkblatt, Entwurf Januar 2005)

8.1.3 Bewertung der biologischen Abbaubarkeit der organischen Inhaltsstoffe nach OECD 301 E

In Abhängigkeit des Messparameters gilt nach DIBt-Merkblatt vom Januar 2005 die biologische Abbaubarkeit eines Bauprodukt-Eluats als nachgewiesen, wenn die Verhältnisse von BSB/ThSB oder $CO_2/ThCO_2$ größer als 70 % sind ((2) DIBt-Merkblatt, Entwurf Januar 2005).

9. Ergebnisse und Diskussion der aquatische Tests und Abbautests (FHG)

a) Leuchtbakterienlumineszenztest nach DIN EN ISO 11348-1-3

Im Leuchtbakterientest wurden die in Tabelle 9 aufgeführten Ergebnisse erhalten. Die Ergebnisse der beiden Eluate aus der Maximumphase wurden durch eine Wiederholung bestätigt. Im Leuchtbakterienlumineszenztest ruft das Epoxid eine stärkere Wirkung hervor als das Acrylat, obwohl der DOC-Gehalt im Acrylat-Eluat deutlich höher liegt.

Tabelle 9 : Ergebnisse im Leuchtbakterienlumineszenztest

Eluat	Abkürzung	G-Wert	EC ₅₀ [%]
Epoxid-Maximalphase	EM	>> 16	2
Epoxid – Abklingphase (nach 7 d)	EA	1	Nicht bestimmbar
Acrylat-Maximalphase	AM	16	29
Acrylat – Abklingphase (nach 7 d)	AA	1	Nicht bestimmbar

b) Leuchtbakterienwachstumstest nach DIN 38412-37

Die Ergebnisse im Wachstumstest sind in Tabelle 10 aufgeführt. Nur das Eluat von Acrylat aus der Maximumphase zeigt eine Wirkung. Diese ist deutlich schwächer ausgeprägt als der Effekt im Lumineszenztest.

Tabelle 10: Ergebnisse im Leuchtbakterienwachstumstest

Eluat	Abkürzung	G-Wert	EC ₅₀ [%]
Epoxid-Maximalphase	EM	1	Nicht bestimmbar
Epoxid – Abklingphase (nach 7 d)	EA	1	Nicht bestimmbar
Acrylat-Maximalphase	AM	6	49
Acrylat – Abklingphase (nach 7 d)	AA	1	Nicht bestimmbar

c) Algentest nach DIN 38412-33

Im Algentest wurden die in Tabelle 11 aufgeführten Ergebnisse erhalten. Auch im Algentest zeigt, analog zum Leuchtbakterienwachstumstest, nur das Acrylat-Eluat aus der Maximumphase eine Wirkung an. Diese ist im Algentest jedoch deutlich stärker ausgeprägt als im Leuchtbakterienwachstumstest.

Tabelle 11: Ergebnisse im Algentest

Eluat	Abkürzung	G-Wert	EC ₅₀ [%]
Epoxid-Maximalphase	EM	1	Nicht bestimmbar
Epoxid – Abklingphase (nach 7 d)	EA	1	Nicht bestimmbar
Acrylat-Maximalphase	AM	>> 32	>> 3
Acrylat – Abklingphase (nach 7 d)	AA	1	Nicht bestimmbar

d) Abbautest nach OECD 301 E

Die Ergebnisse der DOC-Gehalte sowie des prozentualen Abbaus im OECD-Screening-Test sind aus Tabelle 12 und Abbildung 3 ersichtlich. Der Verlauf der Referenzsubstanz belegt die Gültigkeit des Tests. So beträgt der Abbau > 70 % an Tag 14. Für das Eluat Acrylat-max kann auch das zweite Validitätskriterium herangezogen werden. Dieses besagt, dass sich die beiden Parallelen um nicht mehr als 20 % unterscheiden dürfen.

Alle drei Eluate zeigen unterschiedliche Abbaukurven. Der Abbau von Acrylat-max setzt unmittelbar ein. Nach der regulären Testlaufzeit von 28 Tagen ist ein

Abbaugrad von 73 % erreicht. Der Verlauf der Toxizitätskontrolle, bestehend aus gut abbaubarer Referenzsubstanz und Eluat Acrylat-max, belegt, dass keine toxischen Inhaltsstoffe in Konzentrationen vorliegen, die zu einer deutlichen Hemmwirkung im Abbau führen. So liegt der DOC-Gehalt in der Toxizitätskontrolle am Testende mit ca. 32 mg/L nur um 11,5 mg/L höher als die Summe der DOC-Gehalte von Referenzsubstanz (0 mg/L) und Acrylat-max (20,5 mg/L). Der Abbaugrad beträgt 70 %. Nach der OECD-Richtlinie deutet ein Abbaugrad von < 35 % in der Toxizitätskontrolle auf eine Toxizität hin.

Das Eluat Acrylat nach 7 d führt nach einer anfänglichen lag-Phase zu einem nahezu vollständigen Abbau (94 %).

Die unterschiedlichen Verläufe deuten darauf hin, dass sich die beiden Eluate deutlich in ihren Inhaltsstoffen unterscheiden.

Im Gegensatz zu den Acrylat-Eluaten sind die organischen Inhaltsstoffe im Eluat Epoxid-max deutlich schlechter abzubauen. Nach der standardmäßigen Testlaufzeit von 28 Tagen wird nur ein Abbaugrad von 38 % erzielt. Da aufgrund der geringen Eluatmenge keine Toxizitätskontrolle durchgeführt werden konnte, kann jedoch nicht differenziert werden, ob der geringe Abbau durch eine Hemmung des mikrobiellen Inokulums infolge toxischer Inhaltsstoffe oder durch mikrobiell schlecht abbaubare Kohlenstoffquellen hervorgerufen wird. Auch ein Vergleich mit den mikrobiellen ökotoxikologischen Tests hilft nicht weiter, da das Eluat Epoxid-max zwar keine Toxizität im Leuchtbakterienwachstumstest, jedoch eine deutliche Hemmung im Leuchtbakterienlumineszenztest gezeigt hat.

Tabelle 12: Verlauf der DOC-Gehalte in den einzelnen Testansätzen im OECD-Screening-Test

	Inokulum-Blindwert [mg/L]		Referenzansatz Na-Benzoesäure [mg/L]		Testansatz 1: Acrylat-max [mg/L]		Toxizitätskontrolle: Acrylat-max + Na-Benzoesäure [mg/L]	Testansatz 2: Acrylat nach 7 d [mg/L]	Testansatz 1: Epoxid-max [mg/L]
Tag 0	0,000	0,000	29,20	29,42	75,10	75,09	105,1	4,270	9,350
Tag 3	0,455	0,000	5,158	5,163	61,02	59,16	87,16	4,681	7,380
Tag 7	0,000	0,000	0,770	1,067	50,72	47,54	55,27	4,309	8,533
Tag 17	0,000	0,000	0,000	0,563	30,05	31,62	36,78	1,996	7,781
Tag 21	0,000	0,000	0,000	0,020	24,44	32,13	36,34	0,556	6,374
Tag 28	0,000	0,000	0,000	0,000	18,82	22,18	31,88	0,244	5,837

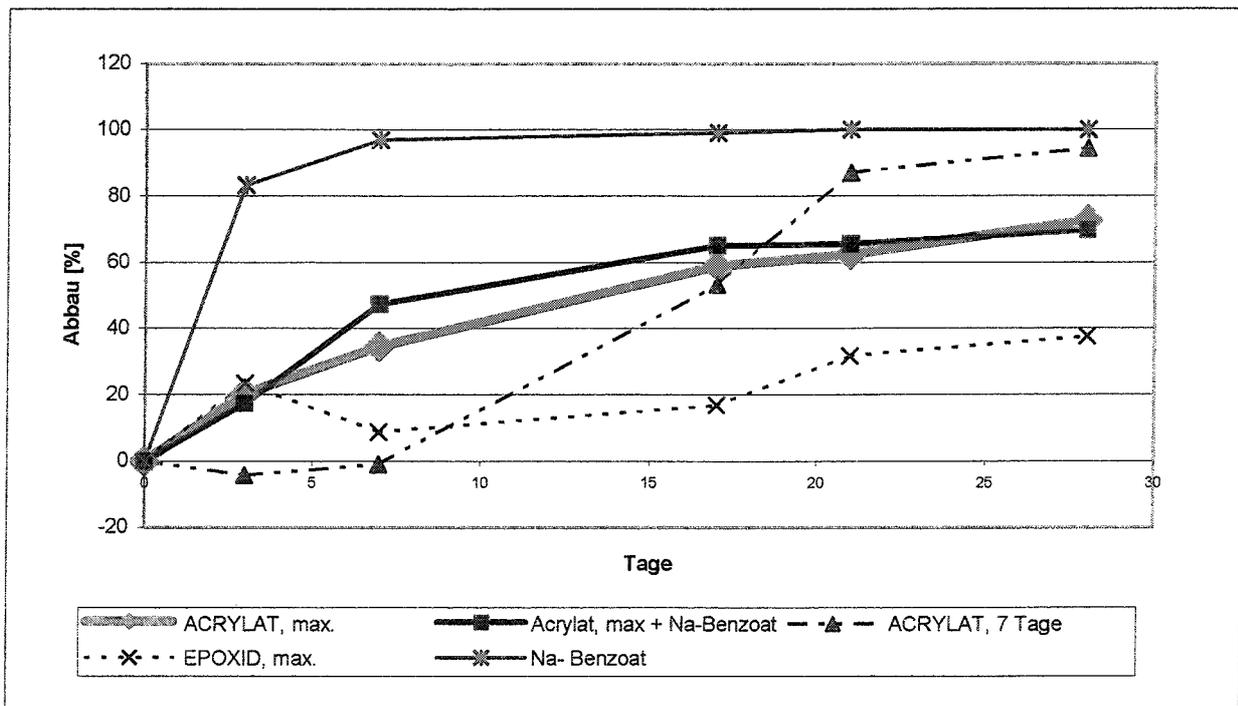


Abbildung 3 : Prozentualer Abbau organischer Inhaltsstoffe (bezogen auf DOC) im OECD-Screening-Test

e) Zusammenfassung

Gemäß DIBt-Merkblatt gilt ein Eluat als toxisch wenn ein G-Wert von 4 im Algentest (bei Produkten, die nachträglich im Boden und Grundwasser aushärten, gilt hiervon abweichend ein G-Wert von 8), von 8 im Leuchtbakterienlumineszenzhemmtest und von 2 im Leuchtbakterienwachstumshemmtest überschritten wird. In Tabelle 13 ist eine Zusammenfassung der Ergebnisse aufgeführt. Ein "+" zeigt Toxizität gemäß dieser Definition an. Führen mit einem Testsystem mehrere Eluate zu einer toxischen Wirkung, wird das Ausmaß der Toxizität durch die Anzahl an "+" gekennzeichnet.

Bei den Testsystemen dient zweimal das Wachstum als Testparameter (Leuchtbakterien und Algen). In beiden Fällen zeigt das Acrylat-Eluat aus der Maximumphase die stärkste Wirkung. Im Leuchtbakterienlumineszenztest wird dagegen das Epoxyd-Eluat aus der Maximumphase als das Eluat mit der stärksten toxischen Wirkung charakterisiert. Diese unterschiedliche Wirkung macht erneut deutlich, dass eine Testbatterie bestehend aus mehreren Testorganismen und –parametern die Sicherheit deutlich erhöht, toxische Effekte zu erkennen.

Die Ergebnisse aus dem Algen- und Leuchtbakterienlumineszenztest zeigen an, dass nach Einsatz der Injektionsmittel kurzzeitig ein Austrag von toxischen

Inhaltsstoffen stattfinden kann. Nach dem Aushärten der Produkte werden die bodenbiologischen Leistungen nach 3 Monaten nur geringfügig beeinträchtigt.

Tabelle 13: Klassifikation der Eluate gemäß ihrer Toxizität ("+" = toxisch gemäß DIBt-Merkblatt; die Anzahl an "+" (1 oder 2) zeigt beim Vorliegen von mehreren toxischen Eluaten innerhalb eines Testsystems die Intensität der toxischen Wirkung an)

Eluat	Leuchtbakterien-lumineszenztest	Leuchtbakterien-wachstumstest	Algentest
Epoxid-Maximalphase	++	-	-
Epoxid – Abklingphase (nach 7 d)	-	-	-
Acrylat-Maximalphase	+	+	+
Acrylat – Abklingphase (nach 7 d)	-	-	-

Für die biologische Abbaubarkeit ist im DIBt-Merkblatt aufgeführt, dass die biologische Abbaubarkeit als nachgewiesen gilt, wenn die Verhältnisse von BSB/ThSB oder $CO_2/THCO_2$ größer als 70 % sind. Nach der OECD-Richtlinie gilt eine Substanz als abbaubar, wenn mindestens 70 % DOC-Verlust nachweisbar ist. Wird ein Eluat wie eine Reinsubstanz behandelt, obwohl lt. vorliegenden Sicherheitsdatenblättern eine Substanzmischung vorliegt, wären beide Acrylat-Eluat biologisch abbaubar, das Epoxid-Eluat hingegen nicht.

Bei der Interpretation dieser Ergebnisse ist zu berücksichtigen, dass in den Bauprodukt-Eluaten eine Mischung von organischen Inhaltsstoffen vorliegt. Bei dem DOC-Gehalt wiederum handelt es sich um einen Summenparameter, mit dem nicht zwischen verschiedenen Substanzen differenziert werden kann. Somit ist es bei Bauprodukteluaten, die nicht zu 100 % abgebaut werden, selbst bei dem Überschreiten des Kriteriums von 70 % Abbau, durchaus möglich, dass Anteile der Mischung nicht angegriffen werden und diese akkumulieren.

10. Ergebnisse und Diskussion der terrestrischen Tests (TU Berlin)

a) Bestimmung der potentiellen Nitrifizierung – Schnellverfahren mittels Ammoniumoxidation nach E DIN ISO 15685

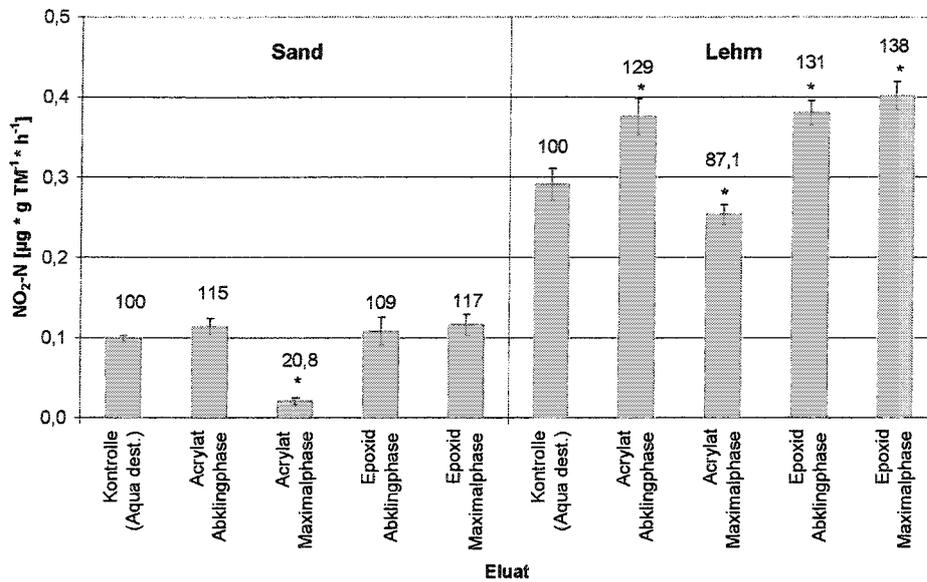


Abbildung. 4: Ergebnisse der potenziellen Nitrifikation – Inkubation 1 Woche

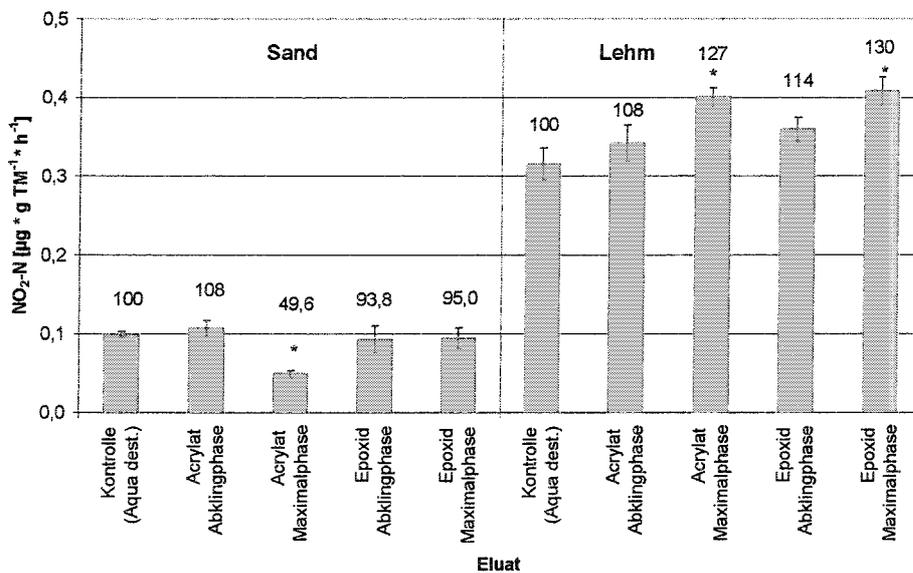


Abbildung. 5: Ergebnisse der potenziellen Nitrifikation – Inkubation 12 Wochen (signifikante Unterschiede zur Kontrolle auf der Basis $p \leq 0,05$ sind mit *gekennzeichnet, die Zahlenwerte über den Säulen geben die Werte in Prozent zur Kontrolle an)

Zum Acrylat-Eluat:

Die Ergebnisse der potenziellen Nitrifikation zeigen teilweise einen deutlichen Einfluss des Acrylat-Eluats auf diesen Parameter (siehe Abb. 4 und 5).

Nach einwöchiger Inkubation (erste Testphase) kommt es durch das Acrylat-Eluat aus der Maximalphase zu einer signifikanten Hemmung in beiden Böden (im Sandboden um 79 %, im Lehmboden um 13 %). Erwartungsgemäß fällt diese Wirkung beim Sandboden stärker als beim Lehmboden aus. Dagegen führt das Acrylat-Eluat aus der Abklingphase zu einer Förderung im Lehmboden (um 29 %).

Nach 3-monatiger Inkubation fällt die Hemmung im Sandboden durch das Acrylat-Eluat aus der Maximumphase nicht mehr ganz so stark aus, bleibt aber dennoch eindeutig (um 50 %).

Dagegen führt das Acrylat-Eluat aus der Maximalphase nach 3-monatiger Lagerungszeit der Böden im Lehmboden zu einer signifikanten Förderung (um 27 %), die darauf hin deuten kann, dass die mit den Eluaten zugegebenen Substanzen oder deren Abbauprodukte stickstoffhaltige organische Verbindungen enthalten, verwertet werden konnten. Dieses Ergebnis korreliert mit der im Abbautest gezeigten guten Abbaubarkeit des Acrylat-Eluats.

Dass dieser Effekt nur im Lehmboden auftrat, hängt vermutlich damit zusammen, dass die im Sandboden vorhandene geringere Population sich von dem nach einer Woche eintretenden toxischen Effekt offensichtlich nicht vollständig erholen konnte, während im Lehmboden eine größere Population überlebte und die Abbauprodukte des Acrylat-Eluats nutzen konnte.

Zum Epoxid-Eluat:

Nach einwöchiger Inkubation können bei den Epoxid-Eluaten signifikante Effekte (in diesem Falle Förderungen um 38 bzw. 31 %) auf die potenzielle Nitrifikation beobachtet werden. Diese Ergebnisse korrelieren nicht mit der Abbaubarkeit, denn das Epoxid – Eluat zeigte sich in den Abbautests als schlecht abbaubar. Die Förderungen müssen in diesem Falle andere Ursachen haben. Möglicherweise werden andere Nährstoffe im Lehmboden durch das Epoxid-Eluat herausgelöst. Dies würde auch erklären, dass entgegen den Erwartungen diese fördernden Effekte nur beim Lehmboden auftreten, während beim Sandboden keine signifikanten Wirkungen zu verzeichnen sind. Ebenfalls erklären würde dies, dass die fördernden Effekte nach 12 Wochen auch beim Lehmboden (14 bzw. 30 %) geringer ausfielen.

b) Bestimmung der Aktivität der Bodenmikroflora mit Hilfe von Atmungskurven nach E DIN ISO 17155

a) Sand

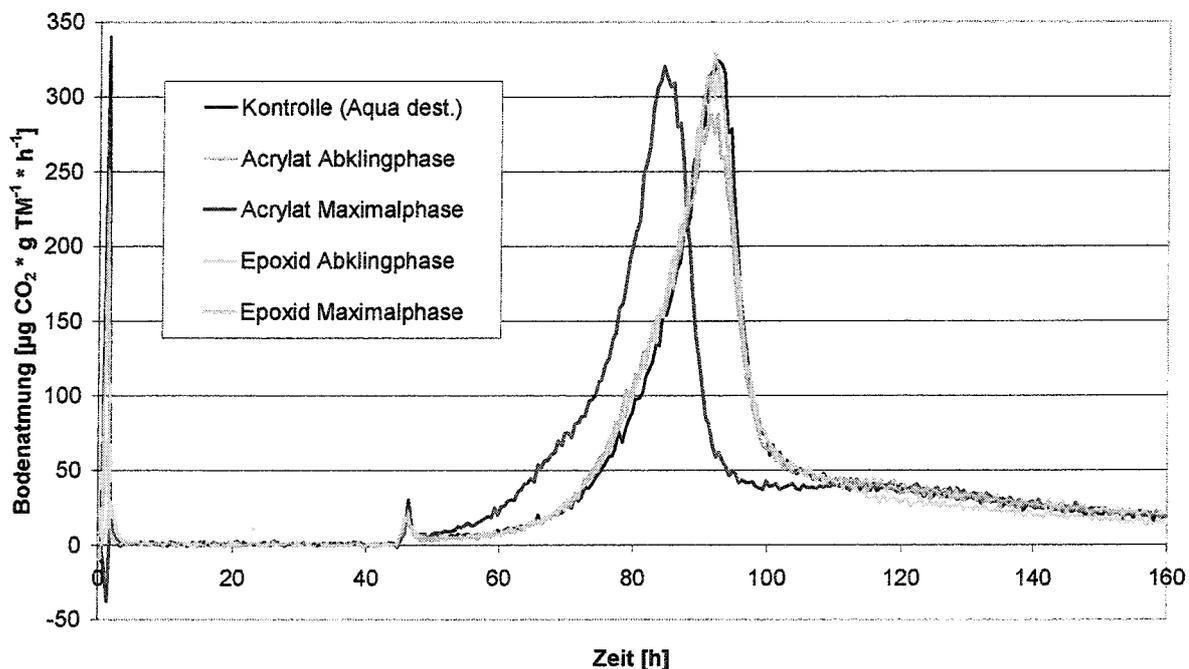


Abbildung 6: Bodenatmungskurve vom Sandboden – Inkubation 1 Woche

a) Sand

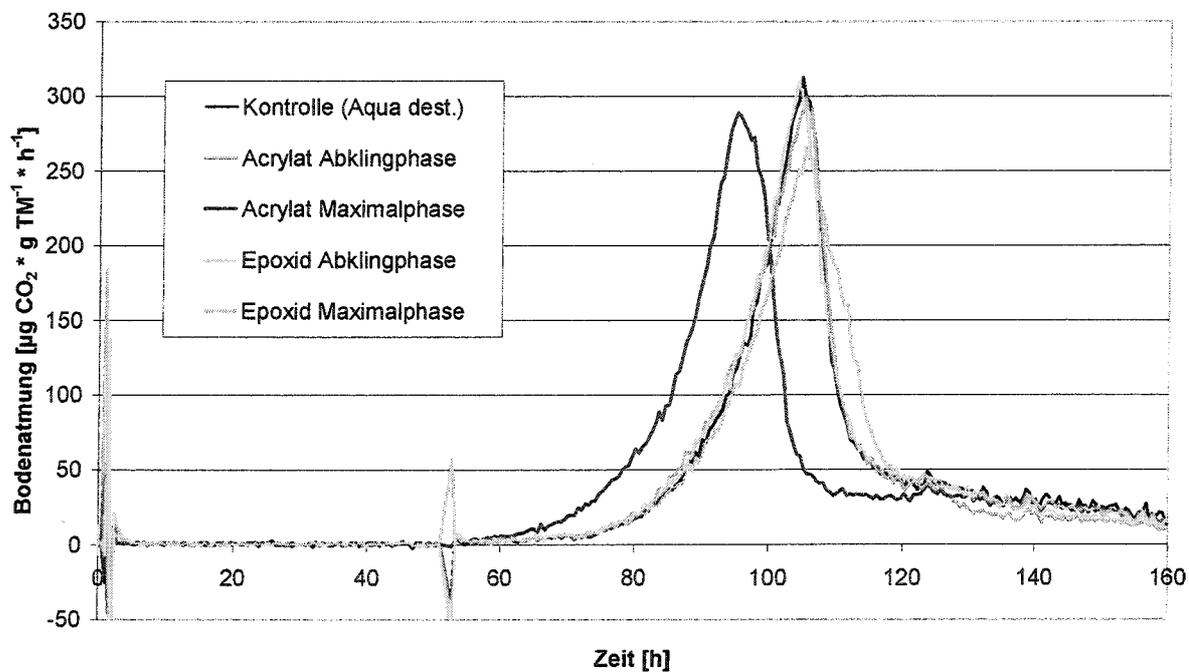


Abbildung 7: Bodenatmungskurve vom Sandboden – Inkubation 12 Wochen

b) Lehm

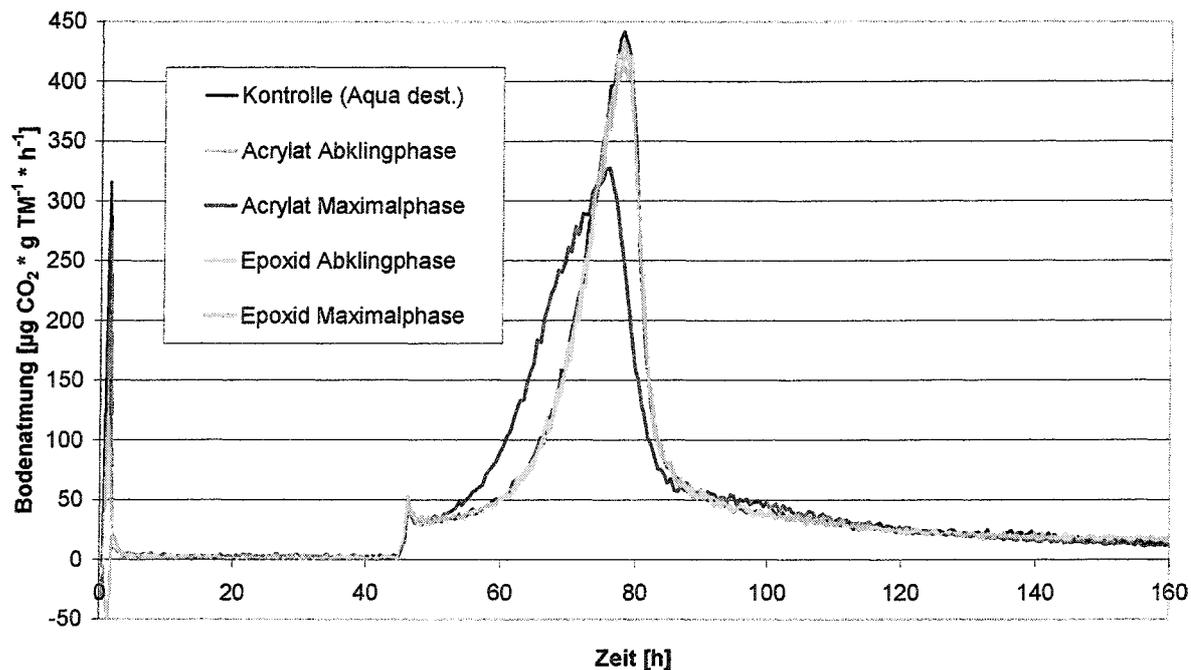


Abbildung 8: Bodenatmungskurve vom Lehmboden – Inkubation 1 Woche

b) Lehm

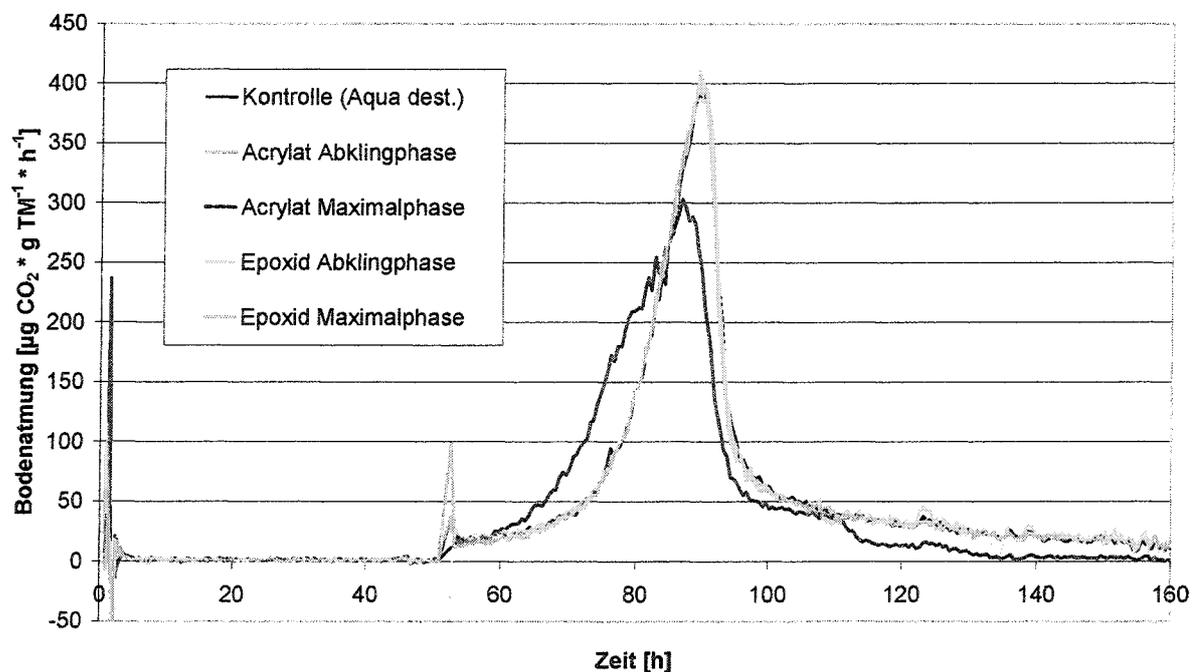


Abbildung 9: Bodenatmungskurve vom Lehmboden – Inkubation 12 Wochen

Die Ergebnisse der Bodenatmungskurven nach einer Inkubation von 1 und 12 Wochen ergaben nahezu gleiche Ergebnisse. Signifikante Wirkungen wurden vor allem vom Acrylat- Eluat der Maximalphase in den Parametern

- Maximale Wachstumsgeschwindigkeit (μ),
- Lag-Phase (t_{lag}),
- Zeit von Substratzugabe bis zum Erreichen des Peakmaximums ($t_{peakmax}$) und
- Kumulative CO_2 -Abgabe von Substratzugabe bis zum Zeitpunkt des Peakmaximums in der Kontrolle (C_R)

hervorgehoben.

Maximale Wachstumsgeschwindigkeit (μ)

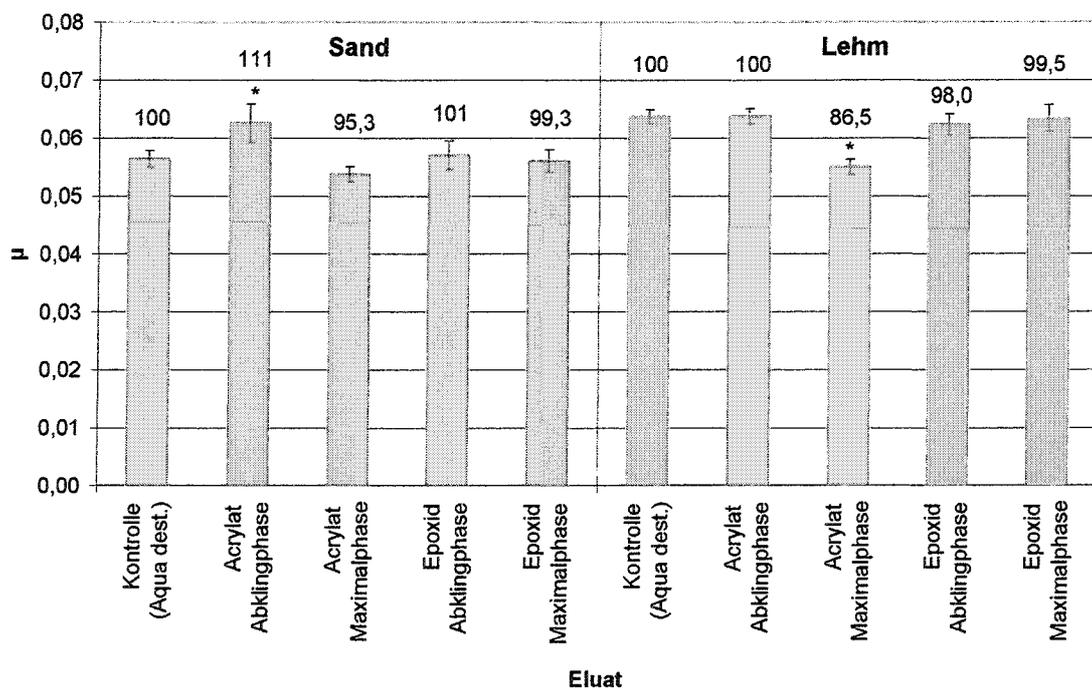


Abbildung 10: Maximale Wachstumsrate μ - Inkubation 1 Woche

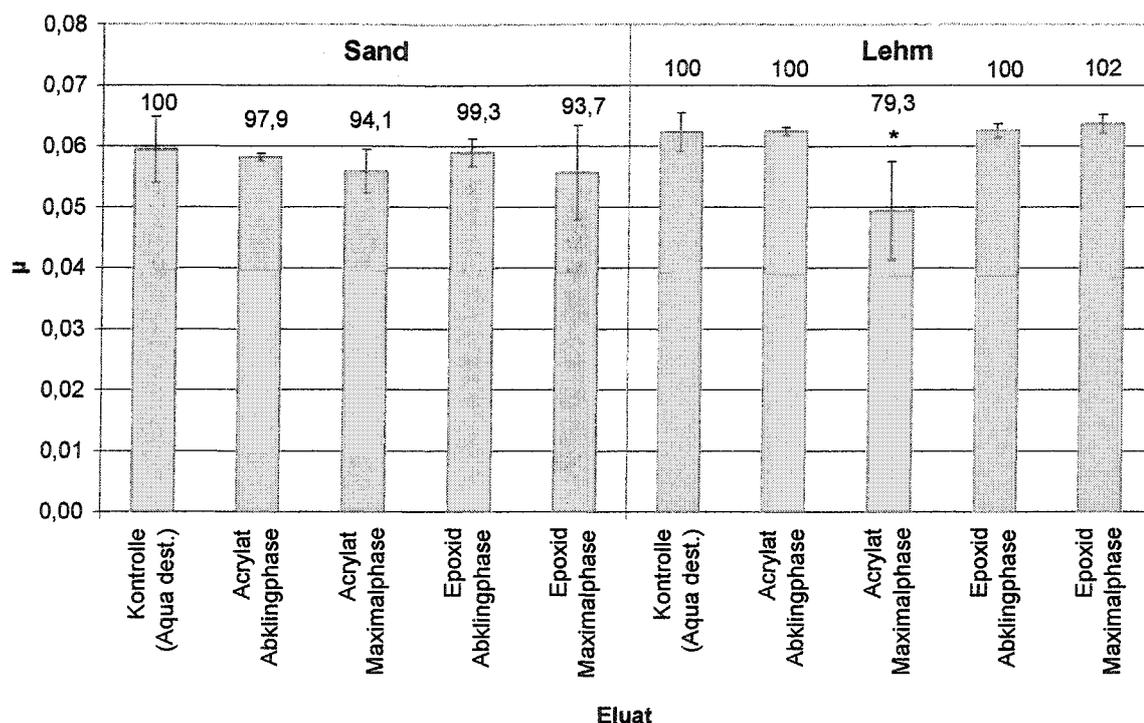

 Abbildung. 11: Maximale Wachstumsrate μ - Inkubation 12 Wochen

 Tabelle 15: Ergebnisse der Bodenatmung (μ) nach ein – und zwölfwöchiger Inkubation

Probe	μ				Mittelwerte in % der		Signifikanz ¹⁾
	Mittelwert		STABW		jeweiligen Kontrolle		
	1 w	12 w	1 w	12 w	1 w	12 w	
Sand + Aqua dest. (Kontrolle)	0,05	0,05	0,001	0,005	100,0	100	
Sand + Acrylat Abklingphase	0,06	0,05	0,003	0,001	110,9	97,7	*
Sand + Acrylat Maximalphase	0,05	0,05	0,001	0,004	95,3	94,1	
Sand + Epoxid Abklingphase	0,05	0,05	0,002	0,002	101,1	99,3	
Sand + Epoxid Maximalphase	0,05	0,05	0,001	0,008	99,3	93,7	
Lehm + Aqua dest. (Kontrolle)	0,06	0,06	0,001	0,003	100,0	100,0	
Lehm + Acrylat Abklingphase	0,06	0,06	0,001	0,001	100,2	100,4	
Lehm + Acrylat Maximalphase	0,05	0,04	0,001	0,008	86,5	79,3	*
Lehm + Epoxid Abklingphase	0,06	0,06	0,001	0,001	98,0	100,4	
Lehm + Epoxid Maximalphase	0,06	0,06	0,002	0,001	99,5	102,2	

¹⁾ auf der Basis $p \leq 0,05$ (Dunnett)

Wie Abb. 10 zeigt, wird die **maximale Wachstumsgeschwindigkeit** μ im Sandboden durch das Acrylat-Eluat aus der Abklingphase nach einer Woche leicht

erhöht, während das entsprechende Eluat der Maximalphase keine signifikanten Veränderungen in diesem Parameter hervorruft.

Im Lehmboden hingegen ist μ nach Zugabe des Acrylat-Eluates der Maximalphase signifikant niedriger. Nach 12 Wochen Inkubationszeit tritt dieser Effekt noch stärker hervor. Alle anderen Eluate bewirkten keine signifikanten Veränderungen in diesem Parameter.

Lag-Phase

Wie in den Atmungskurven (Abbildungen 6-9) und in den Abbildungen 12 und 13 deutlich zu sehen ist, verkürzte sich die **Lag-Phase t_{lag}** in den Böden mit dem Acrylat-Eluat aus der Maximalphase deutlich und zwar sowohl nach einwöchiger wie auch nach zwölfwöchiger Inkubationszeit. Im Sandboden setzte schon nach ca. 3 bis 5 Stunden exponentielles Wachstum ein, so dass sich die Lag-Phase nicht mehr genau bestimmen ließ. Auch im Lehmboden war die Lag-Phase durch dieses Eluat deutlich kürzer als in der Kontrolle. Alle anderen Eluate beeinflussten die Lag-Phase dagegen nicht. Die Einzelergebnisse sind in Tabelle 14 zusammengefasst.

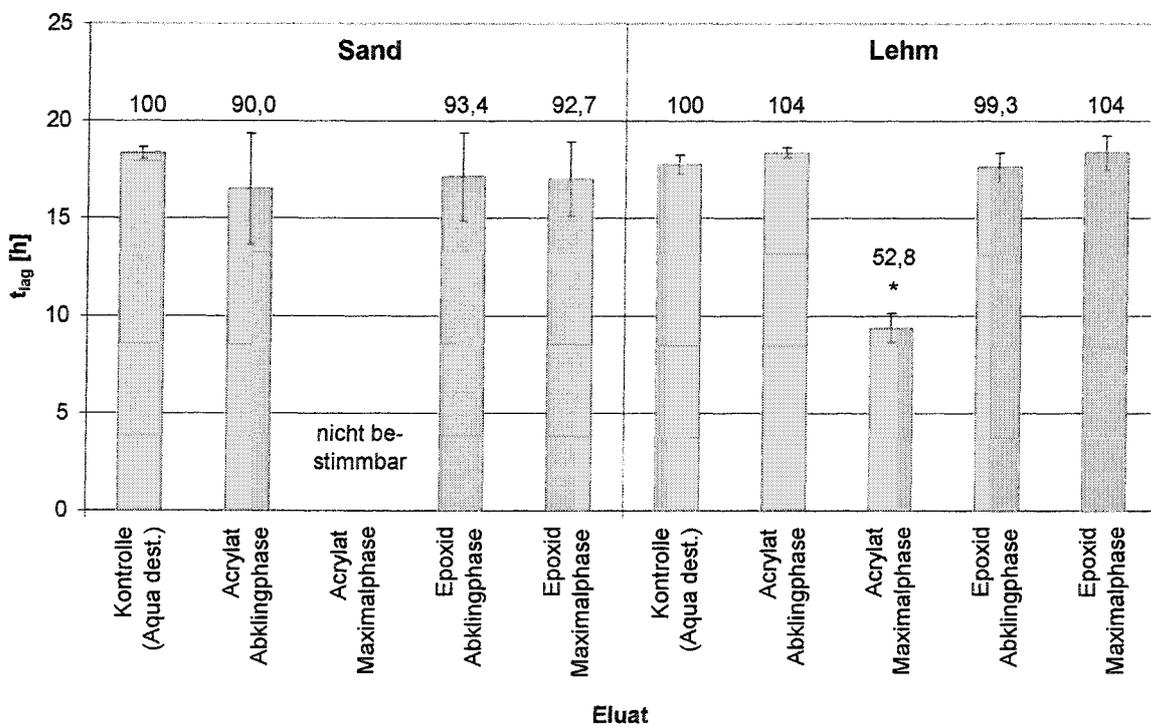


Abbildung. 12: Lag-Phase t_{lag} - Inkubation 1 Woche

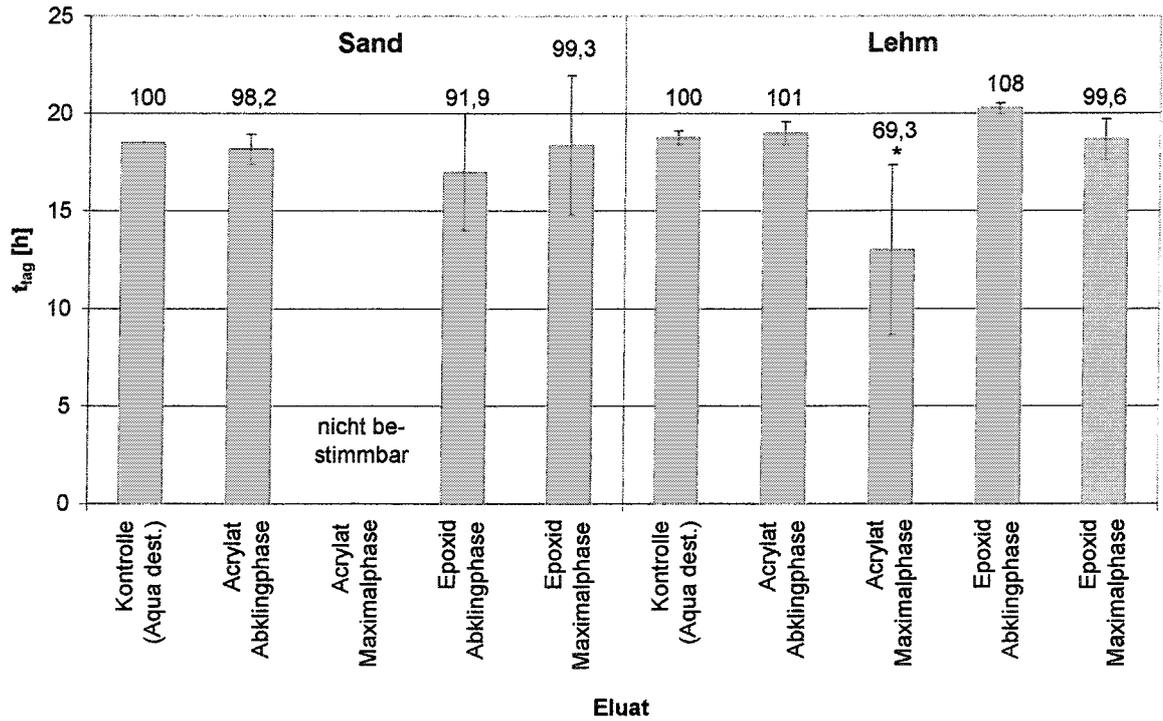

 Abbildung 13: Lag-Phase t_{lag} - Inkubation 12 Wochen

 Tabelle 14: Ergebnisse der Bodenatmung (t_{lag}) nach ein- und zwölfwöchiger Inkubation

Probe	t_{lag} [h]				Mittelwerte in % der jeweiligen Kontrolle		Signifikanz ¹⁾
	Mittelwert		STABW		1 w	12 w	
	1 w	12 w	1 w	12 w			
Sand + Aqua dest. (Kontrolle)	18,3	18,5	0,29	0,00	100,0	100	
Sand + Acrylat Abklingphase	16,5	18,2	2,86	0,76	90,0	98,2	
Sand+ Acrylat Maximalphase	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	
Sand + Epoxid Abklingphase	17,1	17,0	2,25	3,0	93,4	91,9	
Sand+ Epoxid Maximalphase	17,0	18,4	1,91	3,57	92,7	99,3	
Lehm+ Aqua dest. (Kontrolle)	17,8	18,8	0,50	0,35	100,0	100,0	
Lehm + Acrylat Abklingphase	18,4	19,0	0,25	0,58	103,5	101,3	
Lehm+ Acrylat Maximalphase	9,4	13,0	0,75	4,36	52,8	69,3	*
Lehm + Epoxid Abklingphase	17,6	20,3	0,75	0,29	99,3	108,0	
Lehm+ Epoxid Maximalphase	18,4	18,7	0,85	1,04	103,5	99,6	

¹⁾ auf der Basis $p \leq 0,05$ (Dunnett), n.b. = nicht bestimmbar

Zeit bis zum Erreichen des Peakmaximums

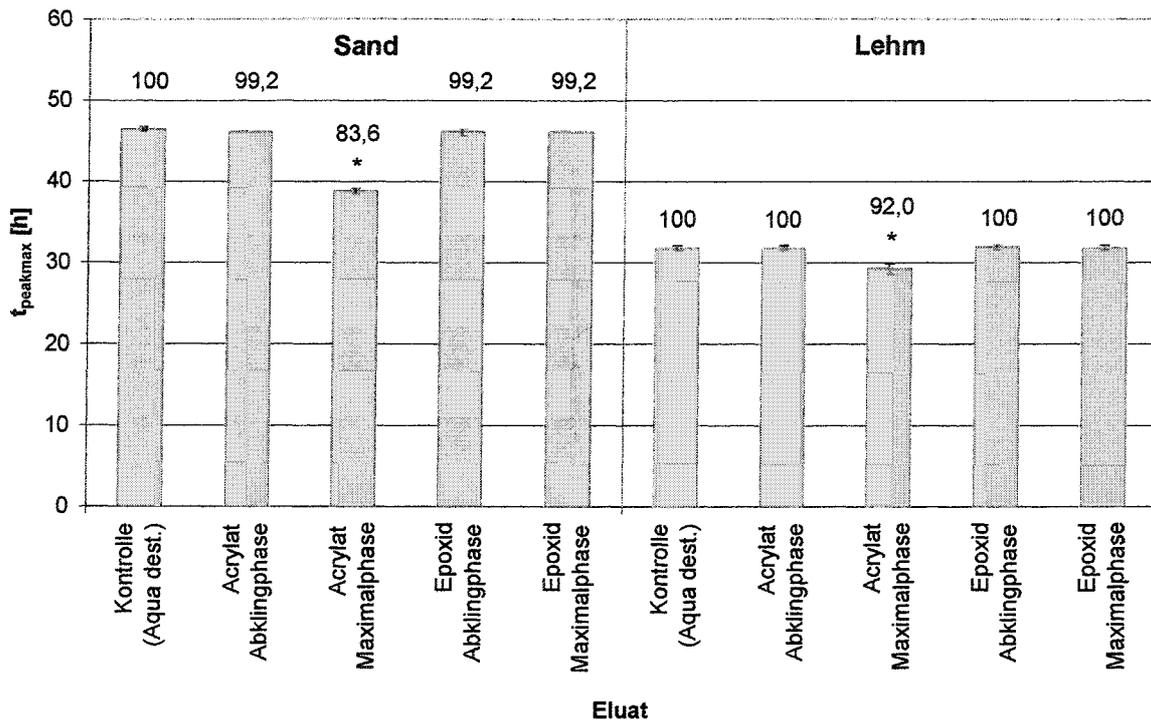


Abbildung 14: Zeit von Substratzugabe bis Peakmaximum $t_{peakmax}$ - Inkubation 1 Woche

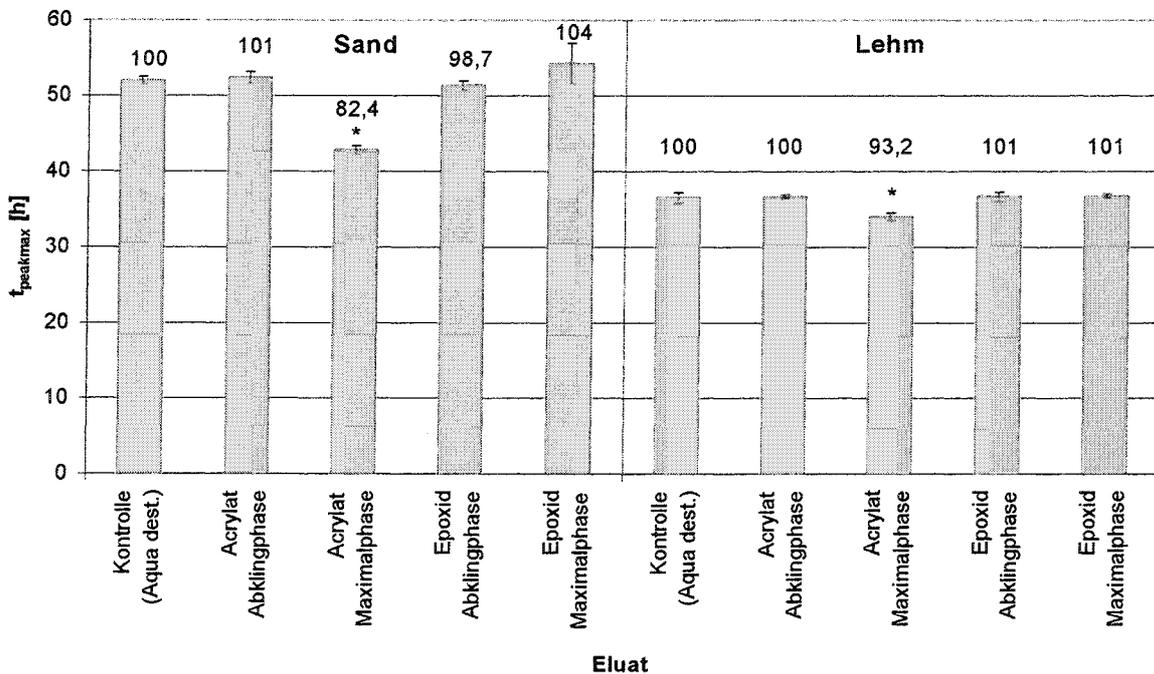


Abbildung 15: Zeit von Substratzugabe bis Peakmaximum $t_{peakmax}$ - Inkubation 12 Wochen

Die Zeit von Substratzugabe bis zum Erreichen des Peakmaximums $t_{peakmax}$ ist sowohl im Sandboden als auch im Lehmboden nach Zugabe des Acrylat-Eluates

aus der Maximalphase nach 1 Woche wie auch nach 12 Wochen kürzer. Alle anderen Eluate rufen keine Veränderungen dieses Parameters hervor.

kumulative CO₂-Abgabe C_R

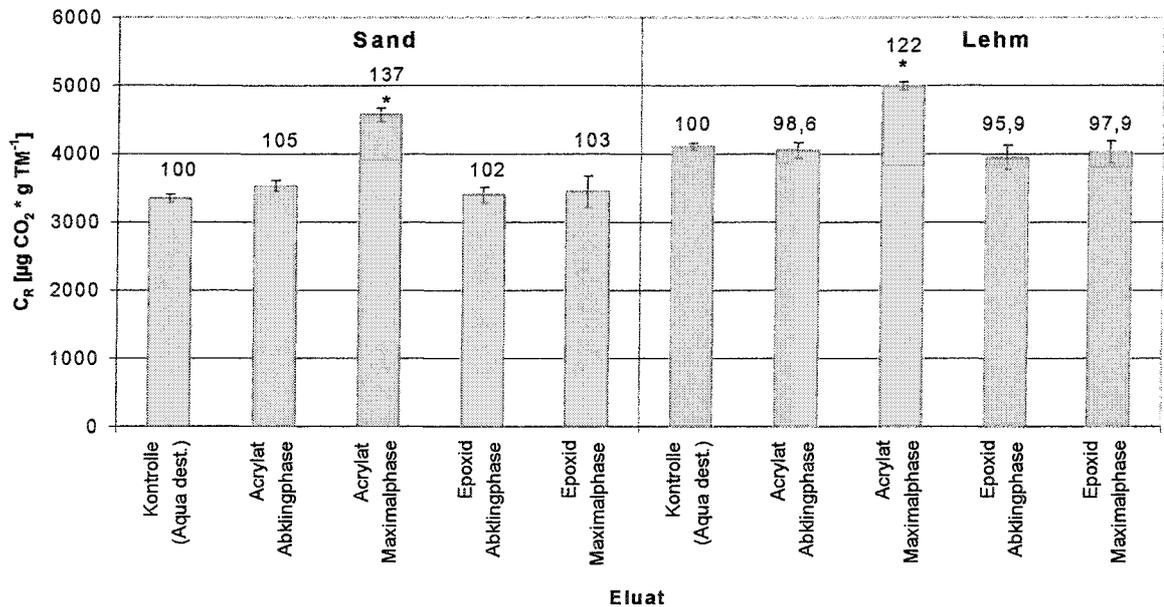


Abbildung 16: Kumulative CO₂-Abgabe bis zum Zeitpunkt des Peakmaximums in der Kontrolle C_R - Inkubation 1 Woche

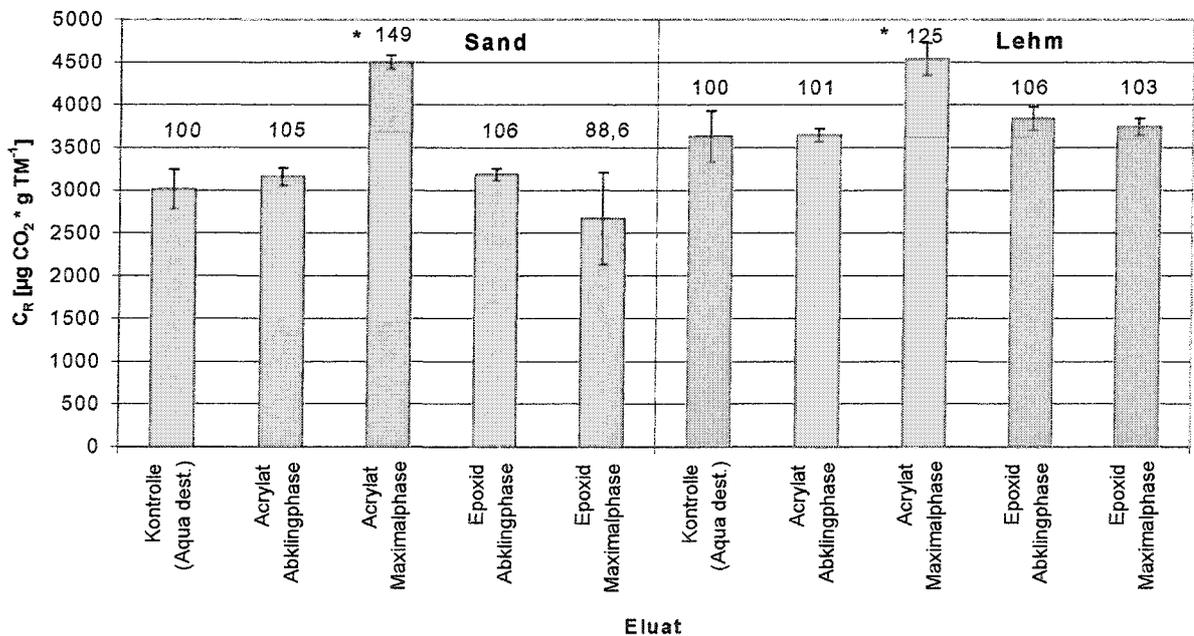


Abbildung. 17: Kumulative CO₂-Abgabe bis zum Zeitpunkt des Peakmaximums in der Kontrolle C_R - Inkubation 12 Wochen

Die kumulative CO₂-Abgabe (C_R) eignet sich besonders zur Kennzeichnung des Einflusses von zum Boden zugesetzten Chemikalien, da in diesem Parameter die

Veränderungen des Kurvenverlaufes sowohl auf der x-Achse (zeitliche Verschiebungen) als auch auf der y-Achse (Verschiebungen in der Höhe der Atmungsraten) kombiniert werden.

Wie Tabelle 16 eindeutig zeigt, wird in beiden Böden (Lehm und Sand) mit dem Acrylat-Eluat aus der Maximalphase im Vergleich zur Kontrolle bedeutend mehr CO₂ abgegeben, wobei der Effekt beim Sandboden höher ist. Die erhöhte CO₂-Abgabe resultiert dabei hauptsächlich aus der Verschiebung des Wachstumspeaks.

Die erkannten Effekte sind zusammen mit den anderen Effekten der Bodenatmung nicht ganz eindeutig zuzuordnen. Die Bodenatmung wird bei beiden Böden mit dem Acrylat-Eluat aus der Maximalphase, vor allem nach der Substratzugabe offensichtlich stimuliert. Die C-Quelle wird schneller verwertet als bei allen anderen Böden, was an der Verschiebung des Wachstumspeaks erkannt wird. Beim Sandboden tritt der Effekt stärker auf, was die Vermutung bestätigt, dass die Ursache in der Nährstoffsituation zu suchen ist. Möglicherweise werden Nährstoffe im Boden durch den Abbau des Eluats freigesetzt. Diese Vermutung wird dadurch bestätigt, dass die Effekte beim Sandboden nach 12 Wochen nochmals leicht gesteigert werden. Die Atmungsraten C_R sind nach 12 Wochen bei Sand + Acrylat um 49 % gegenüber der Kontrolle erhöht, bei Lehm+Acrylat um 25 %.

Ein hemmender Effekt tritt nicht auf.

Tabelle 16 : Ergebnisse der Bodenatmung (C_R) nach einwöchiger Inkubation

Probe	C _R [µg CO ₂ * g TM ⁻¹]				Mittelwerte in % der jeweiligen Kontrolle		Signifikanz ¹⁾
	Mittelwert		STABW		1 w	12 w	
	1 w	12 w	1 w	12 w			
Sand + Aqua dest. (Kontrolle)	3347	3014	58	231	100,0	100,0	
Sand + Acrylat Abklingphase	3525	3159	85	100	105,3	104,8	
Sand + Acrylat Maximalphase	4578	4499	96	77	136,8	149,3	*
Sand + Epoxid Abklingphase	3396	3186	115	68	101,5	105,7	
Sand + Epoxid Maximalphase	3442	2671	229	538	102,8	88,6	
Lehm + Aqua dest. (Kontrolle)	4111	3629	48	300	100,0	100,0	
Lehm + Acrylat Abklingphase	4054	3650	111	73	98,6	100,6	
Lehm + Acrylat Maximalphase	4997	4534	62	187	121,5	124,9	*
Lehm + Epoxid Abklingphase	3944	3840	183	137	95,9	105,8	
Lehm + Epoxid Maximalphase	4027	3742	159	99	97,9	103,1	

¹⁾ auf der Basis p ≤ 0,05 (Dunnett)

Durch alle anderen Eluate ist keine signifikante Wirkung feststellbar.

Aus den Werten sowie dem Verhältnis zwischen Basalatmung und substratinduzierter Atmung lassen sich in diesem Falle keine Schlüsse ziehen, da die Standardabweichungen zu hoch sind.

c) Zusammenfassung

Insgesamt werden durch die beiden terrestrischen Testverfahren deutliche Ergebnisse erzielt.

Die stärksten Effekte werden in jedem Test nach einwöchiger wie auch zwölfwöchiger Inkubationszeit in beiden Böden durch das **Eluat des Acrylats aus der Maximalphase** hervorgerufen. Die beiden **Epoxid-Eluate** wirken vor allem auf die potenzielle Nitrifikation.

Die Effekte durch das Eluat aus der Acrylat-Abklingphase sind vernachlässigbar gering.

Die festgestellten Wirkungen auf die terrestrische Mikrobiologie durch die Bauprodukt - Eluate treten in Form von Hemmungen oder Förderungen auf.

Wirkungen des Acrylat-Eluats

Die Nitrifikation wird durch das Acrylat-Eluat aus der Maximalphase im Sand- wie auch im Lehmboden nach einwöchiger Inkubation signifikant gehemmt, wobei der Effekt nach 12 Wochen nur noch beim Sandboden auftritt. Im Lehmboden hingegen tritt nach 12 Wochen eine Förderung der Nitrifikation ein, die mit der guten Abbaubarkeit des Acrylat – Eluats korreliert.

Die mikrobielle Atmungsaktivität wird durch das Acrylat-Eluat aus der Maximalphase verändert, jedoch nicht im Sinne einer Hemmung. Veränderungen ergaben sich im Verlauf der Atmungskurven bei allen Parametern (lag-Phase, Zeitpunkt bis Peakmaximum, Wachstumsrate, kumulative CO₂-Abgabe, Basalatmung und substratinduzierte Atmung). Diese sind zwar insgesamt als Stimulationen einzuordnen, die auch mit der guten Abbaubarkeit des Acrylats korrelieren, sollten jedoch differenziert betrachtet werden. Förderungen müssen nicht in jedem Falle positiv sein. Stimulationen können auch auf eine erhöhte Stressatmung oder die zusätzliche Verwertung von abgetöteten, also empfindlicheren Mikroorganismen-Populationen hinweisen.

Die Verschiebungen weisen insgesamt zwar nicht auf einen toxischen Boden hin, zeigen jedoch an, dass es zu Veränderungen des mikrobiellen Spektrums und des Metabolismus der Mikroorganismen kommt.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass eindeutige Wirkungen durch das Acrylat - Eluat aus der Maximalphase auf die Mikrobiologie beider Böden auftreten.

Wirkungen des Epoxid-Eluats

Die Nitrifikation wird nach ein – und zwölfwöchiger Inkubation einwöchiger Inkubation gefördert, wobei die Förderung nur im Lehmboden auftritt und nach 12 Wochen geringer ausfällt. Eine Erklärung wäre, dass durch die Inhaltsstoffe des Epoxid-Eluats aus dem Lehmboden stickstoffhaltige Nährstoffe herausgelöst werden, die dann verwertet werden.

Beim Epoxid-Eluat unterscheiden sich auch die Aussagen, die über die mikrobielle Atmungsaktivität und den OECD-Screening-Test gewonnen werden. So ist keine Beeinträchtigung in der mikrobiellen Atmungsaktivität, dagegen eine eingeschränkte Abbaubarkeit zu beobachten. Dies deckt sich mit Beobachtungen aus Untersuchungen zu verschiedenen organischen Chemikalien. Dabei zeigte sich wiederholt, dass von der mikrobiellen Atmungsaktivität nicht auf die Abbaubarkeit geschlossen werden kann, denn das Epoxid – Eluat hatte sich in den Abbautests als schlecht abbaubar gezeigt.

11. Diskussion von Bewertungsmaßstäben für das terrestrische Milieu hinsichtlich des Einbaus von Bauprodukten

Ziel des Forschungsvorhabens war die Überprüfung der Eignung der terrestrischen ökotoxikologischen Testverfahren

- Bestimmung der potentiellen Nitrifizierung – Schnellverfahren mittels Ammoniumoxidation nach DIN ISO 15685 (2001) und
- Bestimmung der Aktivität der Bodenmikroflora mit Hilfe von Atmungskurven nach DIN ISO 17155 (2001)

zur Bewertung der Auswirkungen von Bauprodukten auf den Boden.

Nach den Untersuchungen im Rahmen dieses Vorhabens reagierten die beiden Verfahren sehr sensibel, zeigen auch kleinere Veränderungen der Mikrobiologie an

und eignen sich damit nach erster Einschätzung zur Abbildung der Lebensraumfunktion in Böden für die Bewertung von Bauprodukten zusätzlich zu den Tests im aquatischen Milieu und zum Abbautest.

Beide Verfahren werden durch die DECHEMA-Arbeitsgruppe „Validierung biologischer Testmethoden für Böden“ (2001) (14) auch für die Überprüfung der Toxizität von Stoffen auf die Bodenmikroflora, d.h. der Wirkung auf den Lebensraum von Bodenmikroorganismen empfohlen.

Zulassungen von Bauprodukten dürfen nur erteilt werden, wenn durch die Anwendung der Bauprodukte schädliche Bodenveränderungen, in diesem Falle Veränderungen der Lebensraumfunktion von Bodenorganismen, nicht eintreten. Mit diesem Bewertungskonzept werden die Vorsorgepflichten gemäß § 7 BBodschG erfüllt.

Obwohl sich eine weitere Testphase zur Überprüfung und Absicherung der Ergebnisse anschließen muss, soll an dieser Stelle bereits ein erster Versuch zur Ableitung von Bewertungsmaßstäben diskutiert werden:

Der Einbau von Bauprodukten darf lt. E-DIBt-Merkblatt „Bewertung der Auswirkungen von Bauprodukten auf Boden und Grundwasser“ vom Januar 2005 nicht zur Beeinträchtigung der Lebensraumfunktion von Böden führen. Dabei geht man davon aus, dass Bodenschichten bis zu 3,5 m Tiefe zu betrachten sind.

Toxizität ist die Folge einer Wechselwirkung zwischen einem Stoff (Agens) und einem biologischen System (Rezeptor), wobei dem Wirkungspotenzial des Stoffes das Schutzpotenzial des biologischen Systems gegenübersteht. Zum Schutzpotenzial eines biologischen Systems gehört auch dessen Regenerationsfähigkeit. Diese ist bei niederen Organismen gut ausgeprägt.

DOMSCH et.al. (1983) leiteten eine „normale“ Wiedererholungszeit von 20-30 Tagen bei 15 ° C ab, die für ökologisch unbedenklich gehalten wird. MALKOMES (1985) hält unter der Voraussetzung, dass nach einer dreimonatigen Kulturzeit keine Beeinflussung mehr vorhanden sein sollte, Abweichungen bis 10 % nach 90 Tagen für kritisch und > 10 % als nicht tolerierbar.

Schwankungen der Stoffwechselaktivität der Mikroorganismen gibt es auch in der Natur. So kann beispielsweise die Stoffwechselaktivität der Mikroorganismen durch

abiotische Faktoren, z.B. während einer Vegetationsperiode bis zu 30 % beeinflusst werden. Die Wirkungen sollten deshalb dann nicht mehr toleriert werden, wenn sie sich von natürlichen Stresssituationen wie Trockenheit, Nässe und Frost unterscheiden.

Unter anderem auf der Grundlage dieser Erkenntnisse wurde bereits im Untersuchungsdesign festgelegt, dass die Tests nach drei Monaten zu wiederholen sind. Weitere Gründe für die Wiederholung der Tests nach drei Monaten waren mögliche Veränderungen, denen potenzielle Schadstoffe in Böden unterliegen (Alterungsprozesse) und die deren Wirkung beeinflussen kann. Es ist möglich, dass die toxische Wirkung von Stoffen durch diejenige der Metabolite übertroffen wird.

Diesen Aspekten sollte bei der Beurteilung der ökotoxikologischen Wirkungen von Bauprodukten auf Bodenmikroorganismen Rechnung getragen werden.

Die Bewertung sollte so erfolgen, dass im Vergleich zur Kontrolle unter Berücksichtigung der Alterung von Böden und Inhaltsstoffen eine erkennbare Wirkung auftritt.

Im Rahmen des Zulassungsverfahrens für Pflanzenschutzmittel (nach Pflanzenschutzmittelrichtlinie 91/414/EWG) werden bereits seit langem die Wirkungen auf die Aktivität der Bodenmikroflora untersucht. Die anzuwendenden Verfahren sind u.a. dem Anhang VI der o.g. Richtlinie zu entnehmen. Auch bei der Zulassung von Pflanzenschutzmitteln wird die Stoffwechselaktivität der mikrobiellen Biomasse hinsichtlich der Stickstoffumwandlung und der Kohlenstoffmineralisierung bewertet.

Die Zulassung wird nach Pflanzenschutzmittelrichtlinie 91/414/EWG, Anhang VI, nicht erteilt, wenn die Stickstoff- und Kohlenstoffmineralisation im Laborversuch nach 100 Tagen um mehr als 25 % **verringert oder vermehrt** ist. Sind die 25 % Wirkung erreicht, schließen sich ggf. weitere Untersuchungen zur Risikoabschätzung an.

Im Hinblick auf die einzuhaltenden Vorsorgeanforderungen des Bodenschutzes und unter Berücksichtigung der oben genannten Aspekte wird daher empfohlen, nicht unter der Wirkungsgrenze für Pflanzenschutzmittel zu bleiben. Entscheidend ist dabei die Wirkung nach drei Monaten Inkubationszeit, wobei die Tests nach einer Woche und nach drei Monaten durchzuführen sind.

Unter Berücksichtigung der von der Zulassung von Pflanzenschutzmitteln abweichenden Anforderungen und Randbedingungen wird zunächst vorgeschlagen, nur hemmende Effekte im Hinblick auf eine Zulassung des Bauprodukts negativ zu beurteilen.

Die Frage der Bewertung von Förderungen soll im zweiten Teil des Forschungsprojektes näher untersucht werden.

Vorschlag für einen Bewertungsmaßstab für das terrestrische Milieu hinsichtlich des Einbaus von Bauprodukten

1) *Bewertung der potentiellen Nitrifizierung – Schnellverfahren mittels Ammoniumoxidation nach DIN ISO 15685 (2001)*

Der Test ist nach einwöchiger und zwölfwöchiger Inkubationszeit durchzuführen.

Das Eluat des Bauproduktes soll die potenzielle Nitrifikation (Bildung von $\text{NO}_2\text{-N}$) im Vergleich zur Kontrolle nach drei Monaten um nicht mehr als 25 % hemmen.

2) *Bestimmung der Aktivität der Bodenmikroflora mit Hilfe von Atmungskurven nach E DIN ISO 17155*

Der Test ist nach einwöchiger und zwölfwöchiger Inkubationszeit durchzuführen.

Zur Bewertung der Bodenatmung werden von den ermittelten Parametern nur die Absolutwerte der kumulativen CO_2 - Bildung (C_R) nach einer Lagerungszeit der Böden von 3 Monaten herangezogen. Alle anderen Parameter (Basalatmung, substratinduzierte Atmung, Lag – Phase, Zeit bis zum Erreichen des Peakmaximums etc.) können als zusätzliche Informationen zur Wirkung des Bauprodukteluats herangezogen werden.

Begründung für die Auswahl des Parameters C_R : Die kumulative CO_2 -Abgabe (C_R) gibt die verschiedenen Veränderungen der Atmungskurve gegenüber der Kontrollvariante sehr empfindlich wieder und eignet sich deshalb besonders zur Kennzeichnung des Einflusses der Bauprodukt-Eluate. Außerdem ist die Bewertung der Wirkung mit dem Absolutwert der kumulativen CO_2 -Abgabe einfach und wenig angreifbar.

Das Eluat des Bauproduktes soll die kumulative CO_2 -Abgabe (C_R) im Vergleich zur Kontrolle nach drei Monaten um nicht mehr als 25 % hemmen.

12. Zusammenfassung und Schlussfolgerungen im Hinblick auf die Entwicklung einer ökotoxikologischen Testbatterie zur Bewertung der Wirkungen von Bauprodukten auf Böden und Grundwasser

Ziel des Forschungsvorhabens war die Überprüfung der Eignung der terrestrischen ökotoxikologischen Testverfahren

- Bestimmung der potentiellen Nitrifizierung – Schnellverfahren mittels Ammoniumoxidation nach DIN ISO 15685 (2001) und
- Bestimmung der Aktivität der Bodenmikroflora mit Hilfe von Atmungskurven nach DIN ISO 17155 (2001)

als Grundlage für die Entwicklung einer Bewertung der Auswirkungen von Bauprodukten auf den Boden. Vergleichend dazu sollten auch die bereits im Merkblatt enthaltenen aquatischen Testsysteme

- Leuchtbakterienlumineszenstest nach DIN EN ISO 11348-2,
- Leuchtbakterien-Zellvermehrungs-Hemmtest nach DIN 38412-37,
- Algentest nach DIN 38412-33

sowie der Abbautests gemäß OECD 301 E (Screening – Test) angewendet werden.

Es war nicht Ziel des Forschungsvorhabens, die für die Untersuchung zur Verfügung gestellten Bauprodukte hinsichtlich einer Zulassung nach E-DIBt-Merkblatt, Stand Januar 2005 zu bewerten.

Durch biologische Testverfahren ist es möglich, alle ökotoxikologischen Effekte von bioverfügbaren Schadstoffen, auch von Metaboliten und Begleitkontaminationen, die oberhalb der Nachweisgrenze liegen, integral zu erfassen. Dies ist durch die stoffliche Analytik nicht möglich. Bodenatmungskurven kennzeichnen die Aktivität und Abundanz der vorhandenen Bodenmikroorganismen, während mit der potenziellen Nitrifikation (Ammoniumoxidationstest) die Wirkung auf eine Spezialistengruppe, nitrifizierende Bakterien getestet wird (11).

Nach den Untersuchungen im Rahmen dieses Vorhabens reagierten die beiden Verfahren sehr sensibel, zeigen bereits geringfügige Veränderungen der Mikrobiologie an und eignen sich damit nach erster Einschätzung zur Abbildung der Lebensraumfunktion in Böden für die Bewertung von Bauprodukten zusätzlich zu den Tests im aquatischen Milieu und zum Abbautest.

Im Unterschied zu Untersuchungen von Altlastenböden ist es möglich, bei der terrestrischen Bewertung von Bauprodukten mit Referenzböden zu arbeiten, die einen direkten Vergleich zur unbelasteten Kontrolle ermöglichen.

In Tabelle 17 sind die Ergebnisse der im Vorhaben an den beiden Bauprodukt-Eluaten angewandten ökotoxikologischen Testverfahren unter Berücksichtigung der im DIBt-Merkblatt vom Januar 2005 aufgeführten und den unter 11. entwickelten Bewertungsmaßstäben für die terrestrischen Testverfahren zusammengefasst:

Tabelle 17 : Zusammenfassung der biologischen Testergebnisse

	Leucht- bakterien- lumineszenstes	Bakterien- wachs- tumstest	Algentest	Abbautest	Ammonifikation		Bodenatmung	
					Sand	Lehm	Sand	Lehm
Acrylat- Maximal- phase	X	X	X	X	X	X	X	X
Acrylat- Abkling- phase	X	X	X	X	X	X	X	X
Epoxid- Maximal- phase	X	X	X	X	X	X	X	X
Epoxid- Abkling- phase	X	X	X	*	X	X	X	X

X relevante Wirkung

X keine relevante Wirkung

* konnte aufgrund des niedrigen DOC nicht untersucht werden

Es zeigt sich erwartungsgemäß, dass die signifikantesten Wirkungen bei beiden Eluaten aus der Maximalphase auftraten.

In den terrestrischen Tests wie auch in den aquatischen wies das Acrylat-Eluat aus der Maximalphase die meisten und prozentual größten Abweichungen zur Kontrolle auf, während es sich im OECD-Screening-Test als gut abbaubar erwies.

Bei dem Epoxid-Eluat aus der Maximalphase zeigte sich, dass u.a. die Ergebnisse des Algentests nicht deckungsgleich mit dem Lumineszenztest sind. Die

Einbeziehung einer zweiten trophischen Gruppe in die Beurteilung von Bauprodukteluaten erscheint daher gerechtfertigt.

Bei dem Epoxid-Eluat unterscheiden sich die Aussagen, die über die mikrobielle Atmungsaktivität und den OECD-Screening-Test gewonnen werden. So ist keine Beeinträchtigung in der mikrobiellen Atmungsaktivität, dagegen eine eingeschränkte Abbaubarkeit zu beobachten. Dies deckt sich mit Beobachtungen aus Untersuchungen zu verschiedenen organischen Chemikalien. Dabei zeigte sich wiederholt, dass von der mikrobiellen Atmungsaktivität nicht auf die Abbaubarkeit geschlossen werden kann.

Die Ergebnisse aus dem Algen- und Leuchtbakterienlumineszenztest zeigen an, dass nach Einsatz der Injektionsmittel kurzzeitig ein Austrag von toxischen Inhaltsstoffen stattfinden kann. Nach dem Aushärten der Produkte findet längerfristig keine nennenswerte Beeinträchtigung des umgebenden Milieus statt.

Die hemmenden Effekte, die im Leuchtbakterienlumineszenztest und im Algentest durch das Acrylat aus der Maximumphase detektiert werden, werden auch über die Nitrifikationsuntersuchungen im Boden angezeigt. Dass die Effekte auf eine Substanzwirkung zurückzuführen sind, wird dadurch bestätigt, dass geringere Effekte im bindigen Boden mit seiner höheren Sorptionskapazität im Vergleich zum sandigen Boden erhalten werden, bzw. nach drei Monaten sogar in eine Förderung umschlagen.

In den Sandböden, die ja den worst case darstellen, treten hemmende Effekte häufiger auf.

Stimulationen der Stoffwechselaktivität von Bodenmikroorganismen durch die Eluate, z.B. im Lehmboden sind dennoch nicht pauschal positiv zu bewerten. Sie können eintreten, wenn der eingetragene Stoff von einigen Bodenorganismen als Substrat genutzt wird, aber auch, wenn durch den Stoff abgetötete Mikroorganismengruppen den überlebenden als Nahrung dienen. Möglich sind auch Effekte, bei denen durch Schadstoffe andere Nährstoffe desorbiert werden oder eine erhöhte Stressatmung im subtoxischen Bereich auftritt (18). Es ist auch möglich, dass synergistische oder additive Reaktionen auftreten. Daher sollten stimulierende

Effekte grundsätzlich genau analysiert werden, zumal es sich bei den Bauprodukten fast ausschließlich um Stoffgemische handelt, durch die sich Effekte auch überlappen können.

Die Eluate aus der Abklingphase weisen insgesamt keine relevanten Wirkungen auf.

Auf der Basis der Ergebnisse können folgende Aussagen getroffen werden:

- Der OECD-Screening-Test ist mit grundsätzlich auch für die Untersuchung der Abbaubarkeit von Eluaten geeignet. Gemäß Richtlinie gelten Reinsubstanzen, für die dieser Test entwickelt wurde, als biologisch abbaubar, wenn ein Abbaugrad von mindestens 70 % erzielt wird. Bei der Testung von Bauprodukteluaten muss jedoch berücksichtigt werden, dass in den Eluaten eine Mischung von organischen Inhaltsstoffen vorliegen kann. Bei dem DOC-Gehalt wiederum handelt es sich um einen Summenparameter, mit dem nicht zwischen verschiedenen Substanzen differenziert werden kann. Somit ist es bei Bauprodukteluaten, die nicht zu 100 % abgebaut werden, selbst bei dem Überschreiten des Kriteriums von 70 % Abbau, durchaus möglich, dass Anteile der Mischung nicht angegriffen werden und diese akkumulieren.
- Bei Untersuchungen zur biologischen Abbaubarkeit ist grundsätzlich eine Toxizitätskontrolle mitzuführen.
- Aufgrund des unterschiedlichen Responses von Algen- und Leuchtbakterienlumineszenztest wird entsprechend dem Entwurf des DIBt-Merkblattes vom August 2004 empfohlen, beide Testsysteme als verpflichtend in das Untersuchungsprogramm aufzunehmen.
- Das Anforderungsprofil an eine ökotoxikologische Testbatterie zur Bewertung der biologischen Parameter der Auswirkungen von Bauprodukten auf Boden und Grundwasser wird nach der ersten Testphase wie folgt eingeschätzt:

Anforderungen an die Testbatterie	Einschätzung
Schnelligkeit (incl. Vorbereitungszeit und Inkubationszeit)	●
Sensibilität	○
Adäquanz	■

Standardisierbarkeit	○
Reproduzierbarkeit	■
Interpretierbarkeit	○ soweit im Rahmen der Untersuchung von Schadstoffgemischen möglich
Praktikabilität	○

● nicht vorhanden
 ○ vorhanden
 ■ noch unklar

13. Ausblick und weiterer Forschungsbedarf

Zur Validierung der Ergebnisse dieses Forschungsvorhabens soll in einem zweiten Forschungsvorhaben eine Wiederholung mit gleichen Bauprodukten und zwei weiteren Böden, die sich von denen der vorliegenden Untersuchungen in ihren physiko-chemischen Eigenschaften unterscheiden, vorgenommen werden.

Es werden die beiden genannten terrestrischen Testverfahren und zum Vergleich nochmals der Abbautest durchgeführt. Damit soll auch die Anwendbarkeit/Übertragbarkeit des OECD-Abbautests nach Guideline 301 für Stoffgemische in Bauprodukteluaten nochmals überprüft werden. Dabei sind bei der Durchführung der Testverfahren in Ergänzung und Verbesserung der ersten Testphase folgende Aspekte zu beachten:

- Charakterisierung der Eluate gemäß E- Merkblatt DIBt vom Januar 2005
- Bei den Abbautests ist grundsätzlich eine Toxizitätskontrolle mitzuführen, wofür ausreichend Eluat zur Verfügung zu stellen ist.
- Ermittlung der TOC-Spitzenwerte bei der Eluatherstellung.

Im zweiten Forschungsvorhaben sollen die in beiden Vorhaben erhaltenen Ergebnisse sowie die Bewertungsmaßstäbe, vor allem für die Interpretation der Ergebnisse des Bodenatmungstests, weiterentwickelt und praxisrelevant für das DIBt-Merkblatt, Teil II aufbereitet werden, wobei ein Schwerpunkt auch auf die Überprüfung und Darstellung von Praktikabilität, Sensibilität, Adäquanz, Standardisierbarkeit und Interpretierbarkeit des Testdesigns gelegt werden soll.

Weiterhin sollen

- physikalisch-chemische und biologische Anforderungen an die Testböden
- Qualitätssicherungsmaßnahmen sowie

- Randbedingungen und Konventionen

festgelegt werden.

Besondere Beachtung soll auch die Interpretation und Bewertung von fördernden Effekten sowie die Integration und Gesamtdarstellung der Ergebnisse finden.

Hinsichtlich der Weiterentwicklung der Bewertungsmaßstäbe schlagen wir vor, für den Fall, dass sich die ökotoxikologische Unbedenklichkeit von Bauprodukten der getesteten Produktgruppe in den durchgeführten biologischen Testverfahren nicht erweist, eine weitere Bewertungsstufe mit einer anderen Trophiestufe anzuschließen. Dafür ist im Folgevorhaben ein Vorschlag für ein entsprechendes ein Testdesign zu entwickeln (z.B. chronische Tests und Reproduktionstest).

Anlage 1: Gesamtergebnisse der terrestrischen Tests - Nitrifikation

Mittelwerte und STABW der Ergebnisse der potenziellen Nitrifikation nach Inkubation 1 Woche

fett gedruckte Werte: statistisch signifikant zur Kontrolle auf der Basis $p < 0,05$ (Dunnett)

	Mittelwerte (absolut)									
	Sand Kontrolle	Sand Acrylat Abklingphase	Sand Acrylat Maximalphase	Sand Epoxid Abklingphase	Sand Epoxid Maximalphase	Lehm Kontrolle	Lehm Acrylat Abklingphase	Lehm Acrylat Maximalphase	Lehm Epoxid Abklingphase	Lehm Epoxid Maximalphase
NO ₂ -N [$\mu\text{g} \cdot \text{g TM}^{-1}$] 2h	0,204	0,201	0,094	0,203	0,215	0,583	0,679	0,506	0,665	0,682
NO ₂ -N [$\mu\text{g} \cdot \text{g TM}^{-1}$] 6h	0,600	0,655	0,176	0,600	0,653	1,746	2,181	1,519	2,187	2,288
NO ₂ -N [$\mu\text{g} \cdot \text{g TM}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$]	0,099	0,114	0,021	0,108	0,116	0,291	0,375	0,253	0,380	0,401
STABW (absolut)										
NO ₂ -N [$\mu\text{g} \cdot \text{g TM}^{-1}$] 2h	0,018	0,007	0,010	0,007	0,024	0,035	0,039	0,024	0,012	0,032
NO ₂ -N [$\mu\text{g} \cdot \text{g TM}^{-1}$] 6h	0,020	0,039	0,010	0,064	0,029	0,109	0,121	0,066	0,072	0,090
NO ₂ -N [$\mu\text{g} \cdot \text{g TM}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$]	0,004	0,010	0,004	0,004	0,002	0,020	0,023	0,012	0,015	0,018
Mittelwerte (in % der Kontrolle)										
NO ₂ -N [$\mu\text{g} \cdot \text{g TM}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$]	100,0	114,7	20,8	108,8	117,0	100,0	129,1	87,1	130,8	138,0

Mittelwerte und STABW der Ergebnisse der potenziellen Nitrifikation nach Inkubation 12 Wochen

fett gedruckte Werte: statistisch signifikant zur Kontrolle auf der Basis $p < 0,05$ (Dunnett)

	Mittelwerte (absolut)									
	Sand Kontrolle	Sand Acrylat Abklingphase	Sand Acrylat Maximalphase	Sand Epoxid Abklingphase	Sand Epoxid Maximalphase	Lehm Kontrolle	Lehm Acrylat Abklingphase	Lehm Acrylat Maximalphase	Lehm Epoxid Abklingphase	Lehm Epoxid Maximalphase
NO ₂ -N [$\mu\text{g} \cdot \text{g TM}^{-1}$] 2h	0,374	0,339	0,268	0,343	0,310	0,753	0,822	0,904	0,820	0,870
NO ₂ -N [$\mu\text{g} \cdot \text{g TM}^{-1}$] 6h	0,741	0,765	0,464	0,714	0,686	1,982	2,188	2,505	2,256	2,501
NO ₂ -N [$\mu\text{g} \cdot \text{g TM}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$]	0,099	0,107	0,049	0,093	0,094	0,315	0,342	0,400	0,359	0,408
STABW (absolut)										
NO ₂ -N [$\mu\text{g} \cdot \text{g TM}^{-1}$] 2h	0,050	0,013	0,011	0,017	0,006	0,022	0,063	0,082	0,033	0,038
NO ₂ -N [$\mu\text{g} \cdot \text{g TM}^{-1}$] 6h	0,013	0,055	0,009	0,015	0,005	0,080	0,047	0,179	0,042	0,188
NO ₂ -N [$\mu\text{g} \cdot \text{g TM}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$]	0,004	0,012	0,004	0,002	0,002	0,001	0,010	0,035	0,016	0,036
Mittelwerte (in % der Kontrolle)										
NO ₂ -N [$\mu\text{g} \cdot \text{g TM}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$]	100,0	107,9	49,6	93,8	95,0	100,0	108,4	127,1	113,9	129,5

Anlage 2: Gesamtergebnisse terrestrische Tests – Bodenatmung

Mittelwerte und STABW der Ergebnisse der Bodenatmungskurven nach Inkubation 1 Woche

fett gedruckte Werte: statistisch signifikant zur Kontrolle auf der Basis $p < 0,05$ (Dunnett)

	Sand Kontrolle	Sand Acrylat Abklingphase	Sand Acrylat Maximalphase	Sand Epoxid Abklingphase	Sand Epoxid Maximalphase	Lehm Kontrolle	Lehm Acrylat Abklingphase	Lehm Acrylat Maximalphase	Lehm Epoxid Abklingphase	Lehm Epoxid Maximalphase
Mittelwerte (absolut)										
R_B [$\mu\text{g CO}_2 \cdot \text{g TM}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$]	0,584	0,407	0,996	0,270	0,351	1,914	1,679	2,293	1,647	1,723
R_S [$\mu\text{g CO}_2 \cdot \text{g TM}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$]	5,528	4,066	6,656	5,128	4,709	32,2	32,4	33,1	31,183	33,530
Q_R	0,111	0,097	0,154	0,053	0,078	0,050	0,050	0,073	0,051	0,051
μ [h^{-1}]	0,056	0,063	0,054	0,057	0,056	0,064	0,064	0,055	0,062	0,063
t_{lag} [h]	18,3	16,5	—	17,1	17,0	17,8	18,4	9,4	17,6	18,4
t_{peakmax} [h]	46,4	46,1	38,8	46,1	46,1	31,8	31,8	29,3	31,9	31,8
C_R [$\mu\text{g CO}_2 \cdot \text{g TM}^{-1}$]	3347	3525	4578	3396	3442	4111	4054	4997	3944	4027
STABW (absolut)										
R_B [$\mu\text{g CO}_2 \cdot \text{g TM}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$]	0,311	0,352	0,179	0,172	0,144	0,181	0,138	0,273	0,014	0,309
R_S [$\mu\text{g CO}_2 \cdot \text{g TM}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$]	0,632	0,671	1,378	0,362	1,611	1,89	0,57	0,95	0,399	0,505
Q_R	0,066	0,091	0,036	0,030	0,027	0,006	0,003	0,011	0,002	0,009
μ [h^{-1}]	0,001	0,003	0,001	0,002	0,002	0,001	0,001	0,001	0,002	0,002
t_{lag} [h]	0,29	2,86	—	2,25	1,91	0,50	0,25	0,75	0,75	0,65
t_{peakmax} [h]	0,25	0,00	0,29	0,41	0,00	0,29	0,29	0,65	0,29	0,29
C_R [$\mu\text{g CO}_2 \cdot \text{g TM}^{-1}$]	58	85	96	115	229	48	111	62	183	159

Mittelwerte (in % der Kontrolle)										
	Sand Kontrolle	Sand Acrylat Abklingphase	Sand Acrylat Maximalphase	Sand Epoxid Abklingphase	Sand Epoxid Maximalphase	Lehm Kontrolle	Lehm Acrylat Abklingphase	Lehm Acrylat Maximalphase	Lehm Epoxid Abklingphase	Lehm Epoxid Maximalphase
R_B [$\mu\text{g CO}_2 \cdot \text{g TM}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$]	100	69,7	170,6	46,3	60,2	100	87,7	119,9	86,0	90,0
R_S [$\mu\text{g CO}_2 \cdot \text{g TM}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$]	100	73,6	120,4	92,8	85,2	100	100,6	102,8	96,8	104,1
Q_R	100	87,6	139,1	47,5	70,3	100	84,4	121,9	85,7	86,3
μ [h^{-1}]	100	110,9	95,3	101,1	99,3	100	100,2	86,5	98,0	99,5
t_{lag} [h]	100	90,0	—	93,4	92,7	100	103,5	52,8	99,3	103,5
t_{peakmax} [h]	100	99,2	83,6	99,2	99,2	100	100,0	92,0	100,3	100,0
C_R [$\mu\text{g CO}_2 \cdot \text{g TM}^{-1}$]	100	105,3	136,8	101,5	102,9	100	98,6	121,5	95,9	97,9

Mittelwerte und STABW der Ergebnisse der Bodenatmungskurven nach Inkubation 12 Wochen

fett gedruckte Werte: statistisch signifikant zur Kontrolle auf der Basis $p < 0,05$ (Dunnett)

	Sand Kontrolle	Sand Acrylat Abklingphase	Sand Acrylat Maximalphase	Sand Epoxid Abklingphase	Sand Epoxid Maximalphase	Lehm Kontrolle	Lehm Acrylat Abklingphase	Lehm Acrylat Maximalphase	Lehm Epoxid Abklingphase	Lehm Epoxid Maximalphase
Mittelwerte (absolut)										
R_B [$\mu\text{g CO}_2 \cdot \text{g TM}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$]	0,306	0,341	0,665	0,562	0,563	1,401	1,087	1,172	1,585	1,204
R_S [$\mu\text{g CO}_2 \cdot \text{g TM}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$]	2,702	2,368	3,620	2,288	2,386	17,655	16,974	16,517	19,672	14,353
Q_R	0,119	0,152	0,179	0,230	0,240	0,074	0,066	0,149	0,069	0,085
μ [h^{-1}]	0,059	0,058	0,056	0,059	0,056	0,062	0,062	0,049	0,063	0,064
t_{lag} [h]	18,5	18,2	---	17,0	18,4	18,8	19,0	13,0	20,3	18,7
$t_{peakmax}$ [h]	52,0	52,3	42,8	51,3	54,2	36,5	36,6	34,0	36,7	36,7
C_R [$\mu\text{g CO}_2 \cdot \text{g TM}^{-1}$]	3014	3159	4499	3186	2671	3629	3650	4534	3840	3742
STABW (absolut)										
R_B [$\mu\text{g CO}_2 \cdot \text{g TM}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$]	0,059	0,114	0,333	0,374	0,286	0,316	0,261	0,066	0,369	0,181
R_S [$\mu\text{g CO}_2 \cdot \text{g TM}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$]	0,553	0,017	0,924	0,128	0,746	3,379	4,495	6,730	1,977	0,488
Q_R	0,009	0,036	0,071	0,163	0,124	0,012	0,015	0,131	0,007	0,014
μ [h^{-1}]	0,005	0,001	0,004	0,002	0,008	0,003	0,001	0,008	0,001	0,001
t_{lag} [h]	0,00	0,76	---	3,0	3,57	0,35	0,58	4,36	0,29	1,04
$t_{peakmax}$ [h]	0,5	0,8	0,6	0,6	2,7	0,7	0,3	0,5	0,6	0,3
C_R [$\mu\text{g CO}_2 \cdot \text{g TM}^{-1}$]	231	100	77	68	538	300	73	187	137	99

Mittelwerte (in % der Kontrolle)										
	Sand Kontrolle	Sand Acrylat Abklingphase	Sand Acrylat Maximalphase	Sand Epoxid Abklingphase	Sand Epoxid Maximalphase	Lehm Kontrolle	Lehm Acrylat Abklingphase	Lehm Acrylat Maximalphase	Lehm Epoxid Abklingphase	Lehm Epoxid Maximalphase
R_B [$\mu\text{g CO}_2 \cdot \text{g TM}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$]	100	111,4	217,4	183,8	184,1	100	77,6	83,7	113,2	86,0
R_S [$\mu\text{g CO}_2 \cdot \text{g TM}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$]	100	87,6	134,0	84,7	88,3	100	96,1	93,6	111,4	81,3
Q_R	100	127,8	151,0	193,9	201,7	100	89,0	202,9	93,7	115,9
μ [h^{-1}]	100	97,9	94,1	99,3	93,7	100	100,4	79,3	100,4	102,2
t_{lag} [h]	100	98,2	---	91,9	99,3	100	101,3	69,3	108,0	99,6
$t_{peakmax}$ [h]	100	100,6	82,4	98,7	104,3	100	100,3	93,2	100,5	100,5
C_R [$\mu\text{g CO}_2 \cdot \text{g TM}^{-1}$]	100	104,8	149,3	105,7	88,6	100	100,6	124,9	105,8	103,1