

Bachelorarbeit

Umweltverträglichkeit von Löschmittelzusätzen in aquatischen Ökosystemen

Autor

Erik Vollmer

Matrikel-Nummer: 2083432

Student im Bachelorstudiengang Hazard Control/Gefahrenabwehr
an der Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg

Erstgutachterin

Frau Prof. Dr. Heise

Zweitgutachterin

Frau Prof. Dr. Knappe

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	6
Einleitung	6
Material und Methoden	8
Getestete Löschmittelzusätze	8
Ökotoxikologische Wirkung	9
Leuchtbakterientest	9
Algenwachstumshemmtest	13
Leichte biologische Abbaubarkeit / Bestimmung des BSB ₅	16
Vorversuche.....	21
Vorversuch 1: Untersuchung des Algenwachstums bei Zugabe von MOPS-Puffer	22
Vorversuch 2: Untersuchung, ob es zu einer Ausbreitung der LMZ über die Gasphase in den Probenplatten kommt	22
Umweltrisikoinalyse	23
Ergebnisse	25
Ökotoxikologische Wirkung	25
Leuchtbakterientests	25
Algenwachstumshemmtest	32
Vergleich der Ergebnisse aus AT und LBT.....	39
Test zur leichten biologischen Abbaubarkeit/Bestimmung des BSB ₅	40
Bestimmung des CSB.....	40
Bestimmung des BSB und Darstellung der Abbaukurven	41
Bestimmung der Abbaubarkeit.....	45
Vorversuche.....	46
Vorversuch 1: Untersuchung des Algenwachstums bei Zugabe von MOPS-Puffer	46
Vorversuch 2: Untersuchung, ob es zu einer Ausbreitung der LMZ über die Gasphase in den Probenplatten kommt	46
Umweltrisikoinalyse	51
Bestimmung der PEC	51
Bestimmung der PNEC	52
Berechnung der PEC/PNEC mit den EC ₅₀ -Werten aus dem Leuchtbakterientest.....	53
Berechnung der PEC/PNEC mit den EC ₅₀ -Werten aus dem Algenwachstumshemmtest und dem Vorversuch 2	55
Berechnung der PEC/PNEC mit den NOEC-Werten aus dem Algenwachstumshemmtest.....	57
Diskussion	59
Diskussion der Modifikationen in den Biotests.....	59
Modifikationen im Algenwachstumshemmtest.....	59
Modifikationen im Leuchtbakterientest	61

biologische Abbaubarkeit der LMZ im Klärwerk und im Gewässer	61
Prüfung der Vertrauenswürdigkeit der Ergebnisse aus dem LBT und dem AT	64
Prüfung der Vertrauenswürdigkeit der Ergebnisse aus dem Vorversuch 2	65
ökotoxikologische Wirkung	66
Hormesis	66
Empfindlichkeit der Testorganismen gegenüber den LMZ	68
Umweltrisikoaanalyse	68
Schlussfolgerung	73
Anhang 1 Artificial Sea Water	75
Anhang 2 Einstellung des Multimodereaders infinite® F200 der Firma Tecan	76
Anhang 2.1 Einstellungen bei der Messung der Lumineszenz im LBT	76
Anhang 2.2 Einstellungen bei der Messung der Fluoreszenz im AT	76
Literaturverzeichnis	77
Abbildungsverzeichnis	80
Tabellenverzeichnis	82
Abkürzungsverzeichnis	85
Glossar	86

Zusammenfassung

Löschmittelzusätze (LMZ) werden von der Feuerwehr zur Brandbekämpfung eingesetzt, da sie Tenside in unterschiedlicher Art und Konzentration enthalten und dadurch das Brandgut besser benetzen können. Somit wird dem Brandgut mehr Wärme entzogen und tiefer liegende Brandquellen können besser vom Löschmittel erreicht werden. Innerhalb dieser Bachelorarbeit soll untersucht werden, ob LMZ ein Umweltrisiko in aquatischen Ökosystemen, wie z.B. stehende oder fließende Gewässer, bewirken. So sollen mit dieser Arbeit die Nutzer von LMZ informiert werden, ob ein Einsatz dieser Mittel unbedenklich für die Umwelt ist oder ob Maßnahmen zur Begrenzung eines Umwelteintrags durchgeführt werden sollten. Zur Untersuchung eines potenziellen Umweltrisikos wurden vier im Handel erhältliche LMZ, welche Tenside in unterschiedlicher Art und Konzentration enthalten und als LMZ 1 bis 4 bezeichnet wurden, in Leuchtbakterientests (LBT), Algenwachstumshemmtests (AT) und Tests zur leichten biologischen Abbaubarkeit getestet. Die LBT und AT wurden zur Untersuchung der potentiellen ökotoxikologischen Wirkung der LMZ und zur Bestimmung von EC₅₀- und NOEC-Werten durchgeführt, sodass anhand der Ergebnisse PNEC-Werte berechnet und eine Umweltrisikoaanalyse durchgeführt wurde. Anhand von definierten Szenarien, stehenden Gewässern und Fällen wurden PEC/PNEC-Vergleiche durchgeführt, sodass im Endeffekt beobachtet werden konnte, in welcher Situation ein Umweltrisiko vorliegen könnte. Ebenfalls wurden zur Betrachtung des Umweltrisikos Tests zur leichten biologischen Abbaubarkeit durchgeführt, anhand derer die biologische Abbaubarkeit nach vier Tagen je LMZ in den Verdünnungen 1:1000 und 1:10000 in einer kommunalen Kläranlage und im Gewässer bestimmt wurde. Somit können Rückschlüsse darüber gewonnen werden, in welchem Zeitraum die LMZ in den getesteten Verdünnungen in aquatischen Ökosystemen vorhanden sind und ob ein kommunales Klärwerk in der Lage ist, diese Substanzen abzubauen.

Bei diesen Untersuchungen zeigte sich, dass keines der LMZ innerhalb von vier Tagen zu mehr als 50 % abgebaut wurde, sodass diese nicht vollständig von einer Kläranlage dem Abwasser entfernt werden können und für einen längeren Zeitraum in Gewässern vorhanden sind. Zwischen den LMZ und deren Verdünnungen bestanden jedoch Unterschiede. So reichten die ermittelten biologischen Abbaubarkeiten innerhalb von vier Tagen bei den LMZ von 0 % (LMZ 3 in 1:1000 Verdünnung) bis 33,21 % (LMZ 2 in 1:10000 Verdünnung). Neben der schlechten biologischen Abbaubarkeit kann ebenfalls eine Toxizität der LMZ gegenüber *Vibrio fischeri* im LBT und *Raphidocelis subcapitata* im AT festgestellt werden. So reicht die Spanne der ermittelten EC₅₀-Werte der LMZ von 28,56 mg/l (LMZ 1) bis 2737 mg/l (LMZ 2) im LBT und von kleiner als 9,80 mg/l (LMZ 1) bis 602,8 mg/l (LMZ 2) im AT. Demzufolge ist die Höhe des Umweltrisikos auch abhängig vom eingesetzten LMZ. Alle ermittelten PNEC-Werte liegen je LMZ unterhalb von der kleinsten für den Einsatz empfohlenen Konzentration bzw. der Zumischrate je Hersteller, sodass beim Eintrag dieser in ein aquatisches Ökosystem immer von einem Umweltrisiko ausgegangen und Maßnahmen zur Beseitigung oder Reduzierung des Umwelteintrags durchgeführt werden sollten.

Einleitung

Löschmittelzusätze (LMZ) werden vermehrt im In- und Ausland zur Brandbekämpfung von Feststoffbränden, speziell bei Waldbränden und Fahrzeugbränden, verwendet. Sie enthalten Tenside unterschiedlicher Art und Konzentration, die die Oberflächenspannung des Wassers, dem sie zugemischt werden, verringern. Durch die bessere Durchdringung können tiefer liegende Brandquellen besser erreicht werden. Zudem kann durch die stärkere Haftung des Löschmittels an der Oberfläche dem Brandgut mehr Wärme entzogen werden.

Tenside sind organische Verbindungen, die einen hydrophilen und ein hydrophoben Molekülbestandteil haben. Der hydrophobe und unpolare Bestandteil ist meist eine Alkylkette, während der hydrophile und polare entweder eine anionische oder eine kationische Gruppe ist. Tenside können beispielsweise Alkohole, Ester- und Etherverbindungen sein. Tenside haben den Nachteil, dass sie die Funktionalität von Zellmembranen negativ beeinflussen und dadurch toxisch wirken können. So fanden Rege et al. u.a. heraus, dass nicht-ionische Tenside abhängig von der Konzentration Peptidtransporter in der Zellmembran hemmen, was zur Störung der Zellaktivität führt [1]. Jones untersuchte die Wirkung von Tensiden auf Membranproteine genauer und fand heraus, dass bestimmte Membranproteine durch Tenside herausgelöst werden, was zum Auflösen der Membran und zum Zelltod führt [2].

Dass das potentielle Umweltrisiko von Tensiden nicht vernachlässigt werden kann, zeigt auch das Verbot von PFOS (Perfluorooctansulfonat) aus der Stoffgruppe der perfluorierten Tenside (PFT) durch die EU-Richtlinie 2006/122/EG [3]. PFOS wurde bis 2006 in Feuerlöschschäumen u.a. aufgrund seiner hohen Hitzebeständigkeit eingesetzt. Nach Prüfung des Umweltrisikos wurde der Stoff von der OECD als toxisch, potentiell kanzerogen, persistent und bioakkumulierbar eingestuft [4]. PFOS reichert sich in Gewässern und im menschlichen Blut an und kann über kontaminiertes Trinkwasser aufgenommen werden.

Derzeit sind in Deutschland keine Umweltrisikooanalysen für die Zulassung von LMZ gesetzlich gefordert. Ebenfalls besteht zurzeit auch keine DIN für LMZ, die die Zulassung dieser regelt. Nach REACH¹ sind Stoffe registrierungspflichtig, wenn sie eine hergestellte Menge von 1 t pro Jahr überschreiten und/oder besonders besorgniserregend sind. Eine Risikobewertung wird erst ab einer hergestellten Menge von 10 t pro Jahr nach REACH gefordert. Im Moment unterliegen Stoffgemische den Regelungen nach REACH nicht und werden nicht nach der CLP-Verordnung² nach Gefahren eingestuft und gekennzeichnet, was sich am 1.6.2015 ändern wird. Umweltrisikooanalysen von LMZ sind demzufolge freiwillig und werden, wenn gewünscht, von den Herstellern bei privaten Unternehmen in Auftrag gegeben. Die Ergebnisse dieser Risikoanalysen werden in den gesetzlich für jeden Stoff und jedes Stoffgemisch geforderten Sicherheitsdatenblättern bekannt gemacht, welche bei vielen Herstellern auf ihren Internetseiten erhältlich sind.

Bereits McDonald et al. führten Biotests zur Bestimmung einer potenziellen akuten Toxizität von Schaumlöschmitteln gegenüber Daphnien und Algen durch und kamen zu dem Ergebnis, dass LMZ bei Emission in aquatische Ökosysteme diese nachteilig beeinträchtigen könnten [5]. Eine negative Beeinflussung niedriger trophischer Niveaus, wie Algen, kann laut McDonald et al. auch die Gesundheit höherer trophischer Niveaus, wie Fische, gefährden, da niedrigere trophische Niveaus meist eine Nahrungsquelle für höhere darstellen [5].

Aufgrund der Erkenntnisse über das ökotoxikologische Verhalten von PFOS, der potenziellen Toxizität von Tensiden gegenüber Organismen und der fehlenden gesetzlichen Forderung nach einheitlichen Umweltrisikooanalysen bei der Zulassung von LMZ wurden in dieser Bachelorarbeit Biotests zur ökotoxikologischen Wirkung und zur biologischen Abbaubarkeit von LMZ mit dem Ziel, potentielle Umweltrisiken beim Eintrag von LMZ in aquatische Ökosysteme abschätzen zu können, durchgeführt. Mit dieser Arbeit sollen die Nutzer, also die Feuerwehren, darüber informiert werden, welche potentiellen Umweltrisiken mit dem Einsatz von LMZ einhergehen könnten und ob geeignete Maßnahmen zur Reduzierung oder Beseitigung einer potentiellen Umweltgefahr notwendig sind.

¹ Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals

² Regulation on Classification, Labelling and Packaging of Substances and Mixtures

Material und Methoden

Getestete Löschmittelzusätze

Die im Folgenden genannten LMZ werden für die Untersuchung ausgewählt, da sie Tenside in unterschiedlichen Konzentrationen enthalten. So kann die potentiell unterschiedliche Toxizität der LMZ untersucht werden, welche evtl. auf die Tenside zurückzuführen ist.

Die LMZ sind auf dem internationalen Markt verfügbar und werden vereinzelt in Deutschland eingesetzt. Sie wurden bis zum Testbeginn bei 15 °C bis 25 °C witterungsgeschützt gelagert.

Die folgenden Angaben zu den LMZ wurden den jeweiligen Sicherheitsdatenblättern der Hersteller entnommen.

LMZ 1

Beschreibung:	Multifunktionslöschmittelzusatz
pH-Wert:	6,9 bis 7,1
Dampfdruck:	2666 Pa (0,027 bar) bei 25 °C
Dichte:	0,98 g/cm ³ bei 20 °C
lg P _{ow} – Wert:	2
WGK:	1
Zumischrate:	0,5 % bis 1 %
Inhaltsstoffe:	aliphatische Triethanolaminseifen (Konzentration: 1 bis 4,5 %) lineare aliphatische Alkohole (Konzentration: 3 bis 10 %) Aminoalkylether und aliphatische Säuren (Konz.: 25 bis 55 %) Wasser (Konzentration: 35 bis 55 %)

LMZ 2

Beschreibung:	Schaummittelkonzentrat
pH-Wert:	7,0 bis 8,5
Dampfdruck:	2400 Pa (0,024 bar) bei 20 °C
Dichte:	1,05 g/cm ³ (in Bezug auf die Dichte von Wasser bei 25 °C und 1 bar)
lg P _{ow} – Wert:	nicht bekannt
WGK:	nicht bekannt
Zumischrate:	0,5 %
Inhaltsstoffe:	2-(2-butoxyethoxy)ethanol (Konzentration: 1 bis 20 %) Stärke (Konzentration: mehr als 1 %) Saccharose (Konzentration: mehr als 1 %)

LMZ 3

Beschreibung:	synthetisches Schaummittel
pH-Wert:	7 bis 10
Dampfdruck:	nicht bekannt
Dichte:	0,94 g/cm ³ bei 20 °C
lg P _{ow} – Wert:	nicht bekannt
WGK:	2
Zumischrate:	0,1 % bis 0,5 %
Inhaltsstoffe:	2-Butoxy-ethanol (Konzentration: 25 bis 30 %) Ethandiol (Konzentration: 10 bis 15 %) Alkohole, C12 bis C14, ethoxyliert, Sulfate, Natriumsalz (Konz.: 5 bis 10 %) Schwefelsäure, Mono-C6-C12-alkylester, Natriumsalz (Konz.: 1 bis 5 %) 2-(2-Butoxyethoxy)ethanol (Konzentration: 1 bis 5 %) Dodecanol-1 (Konzentration: 1 bis 5 %)

LMZ 4

Beschreibung:	Schaummittelkonzentrat
pH-Wert:	7 bis 9
Dampfdruck:	15.732 Pa (0,157 bar) bei 55 °C
Dichte:	1,1023 g/cm ³ (selbst gemessen mit 10 Messwerten und einer Abweichung von 2,44 % vom Mittelwert)
lg P _{ow} – Wert:	< 3
WGK:	2
Zumischrate:	0,1 % bis 1 %
Inhaltsstoffe:	Wasser (Konzentration: 81 % bis 85 %) Diethylenglycolbutylether (Konzentration: 8 % bis 9 %) Alkylsulfat, Aminalsatz (Konzentration: 3 % bis 4 %) Natriumalkylsulfat (Konzentration: 1 % bis 2 %) Surfactants (Konzentration: 3 % bis 4 %) Tolyltriazole (Konzentration: < 0,5 %)

Ökotoxikologische Wirkung

Die nun folgenden Biotests wurden mit dem Ziel durchgeführt, eine mögliche Toxizität der einzelnen Löschmittelzusätze zu erkennen, sodass mit den Messwerten eine Abschätzung des Umweltrisikos durchgeführt werden kann. Ziel ist es, Dosis-Wirkungs-Kurven für jedes LMZ zu erstellen (Programm GraphPad PRISM[®]) und ökotoxikologische Endpunkte (EC₅₀-Werte bzw. NOEC-Werte) zu bestimmen. Die Messwerte der Lumineszenz und der Fluoreszenz werden mit dem Multimodereader infinite[®] F200 der Firma Tecan erhoben. Die Einstellungen des Multimodereaders je nach Test sind in Anhang 2 beschrieben.

Leuchtbakterientest

Mit dem Leuchtbakterientest (LBT) wird die akute Toxizität eines Stoffes auf den Testorganismus *Vibrio fischeri*, einem fakultativ anaeroben, marinen und gram-negativen Bakterium, bestimmt. Es handelt sich bei dem Leuchtbakterientest um einen Schnelltest, da der Test über 30 min verläuft.

Die Versuche wurden in Anlehnung an die DIN EN ISO 11348-1 [6] durchgeführt.

Als Messparameter wird die Lumineszenz gemessen. Die verwendeten Bakterien emittieren bei Stoffwechselreaktionen Licht, sodass auf die metabolische Aktivität der Bakterien geschlossen und eine mögliche Hemmung erkannt und bestimmt werden kann.

Als Gültigkeitskriterien werden die nach DIN EN ISO 11348-1 definierten Kriterien herangezogen. Nach der DIN EN ISO 11348-1 dürfen die Kontrollen eine Abweichung der Parallelbestimmungen von ihrem Mittelwert von nicht mehr als 3 % aufweisen, die gemessene Hemmung bei 5 mg/l 3,5-DCP muss innerhalb von 20 % und 80 % liegen, die Abweichung der Parallelbestimmungen der Proben von ihrem Mittelwert darf nicht mehr als 3 %-Punkte betragen und der f_k -Wert muss zwischen 0,6 und 1,3 Einheiten liegen [6]. Der f_k -Wert gibt den Wert an, um den sich die Kontrolle in der Lumineszenz während der 30 minütigen Inkubation verändert. Er wird als Korrekturwert für die Berechnung der Hemmung verwendet.

Insgesamt wurden sieben LBT durchgeführt. Die getesteten Konzentrationen sind in mg/l des Ausgangsmaterials in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1: getestete Konzentrationen der Proben je Versuch in mg/l im LBT

	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4	Versuch 5	Versuch 6	Versuch 7
LMZ 1	36260,00	9800,00	9800,00	9800,00	9800,00	98,00	98,00
	22736,00	6174,00	6174,00	2940,00	2940,00	61,74	29,40
	15092,00	4116,00	4116,00	980,00	980,00	41,16	9,80
	11368,00	3038,00	3038,00	294,00	294,00	30,38	2,94
	7644,00	2058,00	2058,00	98,00	98,00	20,58	0,98
LMZ 2	52500,00	10500,00	10500,00	10500,00	10500,00	10500,00	10500,00
	32865,00	6615,00	6615,00	3150,00	3150,00	3150,00	3150,00
	21840,00	4410,00	4410,00	1050,00	1050,00	1050,00	1050,00
	16485,00	3255,00	3255,00	315,00	315,00	315,00	315,00
	11025,00	2205,00	2205,00	105,00	105,00	105,00	105,00
LMZ 3	47000,00	9400,00	9400,00	9400,00	9400,00	2820,00	940,00
	29422,00	5922,00	5922,00	2820,00	2820,00	940,00	282,00
	19552,00	3948,00	3948,00	940,00	940,00	282,00	94,00
	14758,00	2914,00	2914,00	282,00	282,00	94,00	28,20
	9870,00	1974,00	1974,00	94,00	94,00	28,20	9,40
LMZ 4	110230,00	11023,00	11023,00	11023,00	11023,00	11023,00	nicht getestet
	69114,21	6944,49	6944,49	3306,90	3306,90	3306,90	
	45965,91	4629,66	4629,66	1102,30	1102,30	1102,30	
	34501,99	3417,13	3417,13	330,69	330,69	330,69	
	23148,30	2314,83	2314,83	110,23	110,23	110,23	
Spülmittel	nicht getestet	nicht getestet	nicht getestet	nicht getestet	nicht getestet	nicht getestet	9206,30
							5799,97
							3866,65
							2761,89
							1933,32
							920,63
							276,19
92,06							

In Versuch 7 wurde zusätzlich im Handel erhältliches Spülmittelkonzentrat der Marke „ja! Spülmittel Konzentrat Ultra-Limone“ der Firma Beromin GmbH getestet, um den Vergleich der ökotoxikologischen Endpunkte der LMZ mit der Hemmwirkung durch ein handelsübliches Spülmittel zu erhalten. Das Spülmittelkonzentrat enthält in der Konzentration von 5 % bis 15 % anionische

Tenside und amphotere Tenside und in einer Konzentration, die kleiner als 5 % ist, nicht-ionische Tenside, sowie Farb-, Hilfs- und Duftstoffe. Außerdem sind Methylisothiazolinone und Benzisothiazolinone enthalten. Für das Spülmittel wurde eine Dichte von 920,6 g/l mit einer Standardabweichung des Mittelwertes von $\pm 45,56$ g/l und zehn Messwerten im Labor ermittelt.

Nach Versuch 1 wurden die Konzentrationen der Proben erniedrigt. Außerdem wurde nach Versuch 3 der Bereich der getesteten Konzentrationen logarithmisch gewählt und somit vergrößert. Dies wurde erforderlich, da alle bis dahin gemessenen Proben oberhalb von 50 % Hemmung lagen. Bei LMZ 1 und 3 lagen in den Versuchen 4 und 5 die meisten Hemmungen über 50 %, sodass hier eine Verringerung der Konzentration in den Versuchen 6 und 7 erforderlich wurde. LMZ 2 und 4 wurden in Versuch 6 in derselben Konzentration wie in Versuch 5 getestet, da hier Abweichungen der Parallelbestimmungen von ihrem Mittelwert von über 3 %-Punkten bei den meisten Konzentrationen auftraten. LMZ 4 wurde in Versuch 7 nicht getestet, da eine Bestimmung des EC_{50} -Wertes mit den Messwerten aus Versuch 6 möglich war. Da aufgrund hoher Abweichungen eine Bestimmung des EC_{50} -Wertes für LMZ 2 im Versuch 6 nicht möglich war, wurde es in Versuch 7 in den gleichen Konzentrationen getestet. Aufgrund hoher Hemmungen in den meisten der getesteten Konzentrationen in Versuch 6 wurde der Bereich der Konzentrationen von LMZ 1 im Versuch 7 wieder logarithmisch angeordnet. Bei LMZ 3 lagen in Versuch 6 die Hemmungen bei vier Konzentrationen oberhalb von 50 %, sodass eine kleinere Konzentration als 28,20 mg/l angesetzt wurde.

Negativkontrolle und Positivkontrolle

Die Negativkontrolle wurde mit künstlichem Meerwasser („Artificial Sea Water“, kurz: ASW) angesetzt, dessen Zusammensetzung in Anhang 1 beschrieben ist.

Die Positivkontrolle wurde mit 10 mg/l 3,5-Dichlorphenol (DCP) angesetzt, welches in den Endkonzentrationen von 8 mg/l und 5 mg/l getestet wurde.

pH-Wert und Salinität

Die Messung der Salinität der einzusetzenden Lösungen erfolgte zunächst mittels eines Refraktometers. Der pH-Wert wurde auf einen Wert zwischen 6,8 und 7,2 mit HCl oder NaOH und die Salinität auf einen Wert zwischen 2,0 % und 2,2 % durch Zugabe von NaCl eingestellt.

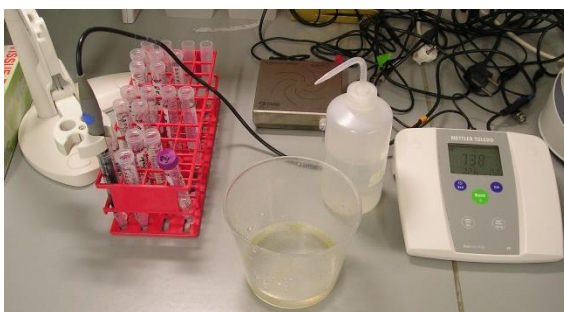


Abbildung 1: Messung der pH-Werte



Abbildung 2: Messung der Salinität mit dem Refraktometer

Aufgrund der fehlenden Pufferwirkung der Lösungen gestaltete sich die Einstellung des pH-Wertes als schwierig. Daher wurde entschieden, allen Ansätzen einen MOPS-Puffer³ (pH = 7,0; 1 M) mit einer Endkonzentration von 6,698 g/l zuzusetzen.

Da eine negative Beeinflussung der Messung der Salinität mit dem Refraktometer vermutet wurde, wurden die Proben mit einer vorher hergestellten 2,2 %-igen NaCl-Lösung angesetzt, deren Konzentration an NaCl vorher errechnet wurde.

Tabelle 2 stellt die Maßnahmen dar, die je Versuch zur Verbesserung der Einstellung des pH-Wertes und der Salinität durchgeführt wurden. Die Kreuze markieren den Versuch, in dem die Maßnahme durchgeführt wurde. Die Maßnahmen werden im Kapitel „Diskussion“ näher erläutert.

Tabelle 2: getroffene Maßnahmen bei der Einstellung des pH-Wertes und der Salinität je Versuch im LBT

	Versuch						
	1	2	3	4	5	6	7
Einstellung mit Refraktometer	x	x	x	x		x	
Verdünnung mit NaCl-Lösung					x	x	x
Einsetzen von MOPS-Puffer					x	x	x

Ansetzen des Tests und Messung der Lumineszenz

Die Proben wurden in einer 96-Well-Mikrotiterplatte vorgelegt und anschließend in den Kühlschrank bei 15 °C gestellt. Abbildung 3 zeigt das Pipettierschema, nach dem die Proben in den Test eingesetzt wurden.



G0: Kontrolle (ASW)
P: Probe
DCP: Positivkontrolle

Abbildung 3: Pipettierschema auf der 96-Well-Mikrotiterplatte

Die Bakterien wurden in eine weitere 96-Well-Mikrotiterplatte pipettiert und bei 15 °C in den Kühlschrank gestellt, wo sie 15 min inkubierten. Danach wurde die Lumineszenz zum Zeitpunkt t_0 gemessen und anschließend die Proben entsprechend der in Abbildung 3 dargestellten Belegung hinzugegeben. Die Platte wurde für 30 min bei 15 °C in den Kühlschrank gestellt. Danach wurde die Lumineszenz zum Zeitpunkt t_{30} gemessen.

³ MOPS: 3-(N-morpholino)propansulfonsäure

Algenwachstumshemmtest

Der Algenwachstumshemmtest (AT) ist ein Biotest über 72 Stunden, bei dem die Effekte einer Exposition über mehrere Algengenerationen verfolgt werden.

Die Algenwachstumshemmtests wurden in Anlehnung an die DIN EN ISO 8692 [7] durchgeführt.

Im AT wird die Wirkung einer Schadstoffexposition auf das Wachstum der Süßwasseralge *Raphidocelis subcapitata* untersucht. Als Messparameter wird die Höhe der Autofluoreszenz als Indikator des Chlorophyllgehalts gemessen. Durch die Absorption von Licht wird innerhalb der Atomhülle ein Elektron angeregt, welches auf ein höheres Energieniveau wechselt. Beim Wechsel vom höheren in das ursprüngliche Energieniveau emittiert das Molekül Licht, welches vom Messgerät gemessen wird.

Als Gültigkeitskriterien werden die in der DIN EN ISO 8692 definierten Kriterien verwendet. Demzufolge ist der Test gültig, wenn die Differenz der pH-Werte in den Kontrollansätzen zwischen Testbeginn und -ende kleiner als 1,5 Einheiten ist, die mittlere Algenwachstumsrate in den Kontrollen oberhalb von 1,4 je Tag und der Variationskoeffizient des Wachstums in den Kontrollansätzen unterhalb von 5 % liegen [7]. Zur Berechnung der mittleren Wachstumsrate wird die Wachstumsrate je Kontrollansatz berechnet, indem die Differenz zwischen der logarithmierten Zelldichte bei Testende und der bei Testbeginn durch die Testdauer dividiert wird, wonach dann der Mittelwert der einzelnen Wachstumsraten gebildet wird [7]. Eine mittlere Wachstumsrate von 1,4 je Tag entspricht einem Anstieg der Zelldichte um den Faktor 67 innerhalb von 72 h [7].

Insgesamt wurden fünf Algenwachstumshemmtests durchgeführt. Die getesteten Konzentrationen sind in mg/l des Ausgangsmaterials in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3: getestete Endkonzentrationen der LMZ je Versuch in mg/l im AT

	Versuch 1		Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4	Versuch 5
LMZ 1	784000	76538	7840,00	9800,00	9800,00	980,00
	490000	38318	4900,00	2940,00	2940,00	294,00
	245000	19110	2450,00	980,00	980,00	98,00
	122500	9604	1225,00	294,00	294,00	29,40
	61740	4802	617,40	98,00	98,00	9,80
LMZ 2		84000	8400,00	10500,00	10500,00	10500,00
		52500	5250,00	3150,00	3150,00	3150,00
		26250	2625,00	1050,00	1050,00	1050,00
		13125	1312,50	315,00	315,00	315,00
		6615	661,50	105,00	105,00	105,00
LMZ 3		752000	7520,00	9400,00	9400,00	940,00
		470000	4700,00	2820,00	2820,00	282,00
		235000	2350,00	940,00	940,00	94,00
		117500	1175,00	282,00	282,00	28,20
		59220	592,20	94,00	94,00	9,40
LMZ 4	881840	86090	8818,40	11023,00	11023,00	3306,90
	551150	43100	5511,50	3306,90	3306,90	1102,30
	275575	21495	2755,75	1102,30	1102,30	330,69
	137788	10803	1377,88	330,69	330,69	110,23
	69445	5401	694,45	110,23	110,23	33,07

Die LMZ wurden im Versuch 2 stärker als im Versuch 1 verdünnt, da es hier zu hohen Hemmungen des Wachstums kam. Da in Versuch 2 bei den meisten Probenkonzentrationen hohe Hemmungen

gemessen wurden, wurde der Bereich der Konzentrationen in Versuch 3 logarithmisch gewählt. In Versuch 4 wurden je LMZ die gleichen Konzentrationen getestet, da der Variationskoeffizient bei den meisten Proben oberhalb von 5 % lag. In Versuch 5 wurden die LMZ 1 und 3 in kleinen Konzentrationen getestet, da in Versuch 4 in den meisten Konzentrationen hohe Hemmungen auftraten. Da bei LMZ 4 im Versuch 4 bei vier der getesteten Konzentrationen die Hemmung oberhalb von 50 % lag, wurde eine kleinere Konzentration als 110,23 mg/l im Versuch 5 getestet. LMZ 2 wurde im Versuch 5 in den gleichen Konzentrationen wie in Versuch 4 getestet, da hier Variationskoeffizienten bei den meisten Konzentrationen ermittelt wurden, die oberhalb von 5 % lagen.

Ansetzen der Nährmedien

Fünf Tage vor Testbeginn wurde das 1× Nährmedium für das Züchten der Algenvorkultur hergestellt. Hierzu wurden 100 ml Nährmedium nach den Vorgaben der DIN EN ISO 8692 [7] bis auf eine Ausnahme hergestellt. Statt 0,1 ml wurden 0,6 ml der Algenstammlösung 4 (50 g/l NaHCO₃) dazugegeben. Vier Tage vor Testbeginn wurde die Algenvorkultur nach DIN EN ISO 8692 durch Überimpfen eines Milliliters einer ca. drei Monate alten Kultur in das 100 ml 1× Nährmedium hergestellt [7].

Einen Tag vor Testbeginn wurde das 10× Nährmedium hergestellt, wobei ebenfalls von der DIN EN ISO 8692 [7] abgewichen wurde, da statt 1 ml 6 ml der Algenstammlösung 4 dazugegeben wurden.

Ansetzen der Platten

Alle Proben wurden in transparenten 24-Well-Mikrotiterplatten angesetzt.

Die Negativkontrolle wurde mit Algen und Reinstwasser angesetzt, sodass geprüft werden konnte, wie hoch das Algenwachstum ohne LMZ ist.

Da generell nicht ausgeschlossen werden kann, dass sich vor Zugabe der Testorganismen bereits Algen in den Proben befinden würden, wurden Blindwerte (ohne Algen, dafür mit 1 × Nährmedium) in der untersten Zeile jeder Platte angesetzt.

Die Positivkontrolle wurde mit 10 mg/l 3,5-DCP hergestellt, welches in den Endkonzentrationen von 8 mg/l, 5 mg/l, 2,5 mg/l, 1,25 mg/l und 0,625 mg/l getestet wurde.

Insgesamt wurden eine Kontrollplatte, eine Positivkontrollplatte und je nach Versuch vier bis sechs Probenplatten mit LMZ hergestellt, welche in den Abbildungen 4 bis 9 dargestellt sind.

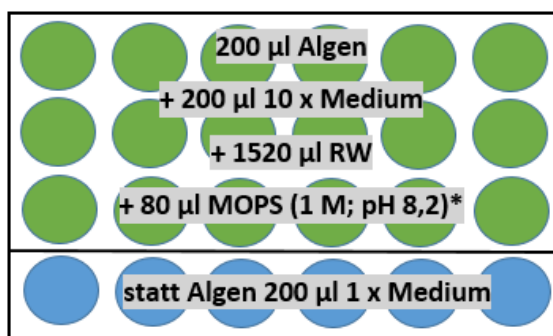


Abbildung 4: Pipettierschema der Kontrollplatte

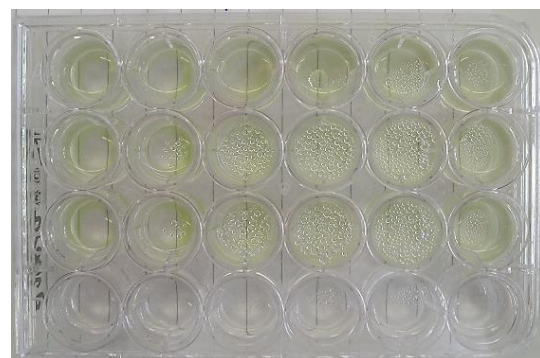


Abbildung 5: Kontrollplatte im Algentest














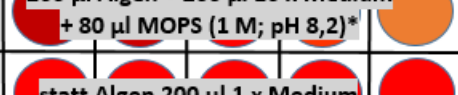


					
					
					
					

Abbildung 6: Pipettierschema der Positivkontrolle

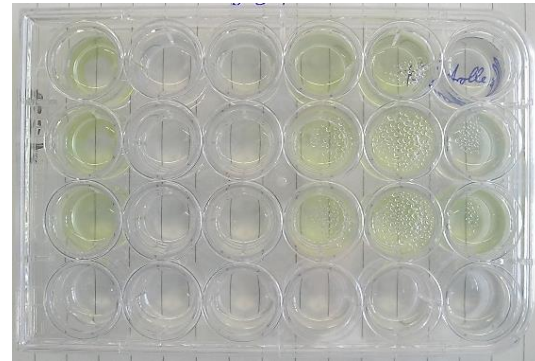


Abbildung 7: Positivkontrolle im Algentest










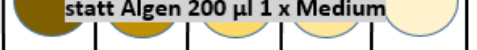
					
					
					
					

Abbildung 8: Pipettierschema der Probenplatte

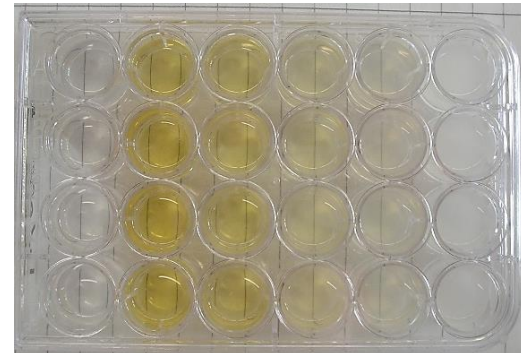






Abbildung 9: Probenplatte im Algentest

-  Kontrolle mit Algen
-  Blindprobe ohne Algen und ohne LMZ
-  LMZ in höchster Endkonzentration
-  3,5-DCP in höchster Endkonzentration

* MOPS-Puffer wurde nur in Versuch 4 verwendet

In Versuch 5 wurden die Platten von LMZ 2 und 4 nach dem in Abbildung 8 dargestellten Schema hergestellt. Bei LMZ 1 und 3 wurden die beiden höchsten Konzentrationen auf je einer weiteren Platte angesetzt, da eine Ausbreitung der LMZ in den höchsten Konzentrationen über die Gasphase vermutet wurde. Die restlichen Wells wurden als Kontrollen angesetzt.

Die Ausgangsfluoreszenz der Algenkultur wurde gemessen und die Kultur mit 1 × Nährmedium auf eine Anfangszellkonzentration von 10^4 Zellen je ml eingestellt. Danach wurden die Algen nach den oben dargestellten Pipettierschemata in die Platten gegeben. Anschließend erfolgte die Messung der Fluoreszenz am Tag 0 (T_0).

Die Platten wurden im Anschluss in den Algenschrank bei 20 °C auf einen Schüttler bei 250 rpm gestellt.

Messung der Fluoreszenz und Bestimmung des Algenwachstums

Die Messung der Fluoreszenz erfolgte alle 24 Stunden.

Um das Wachstum der Algen berechnen zu können, wird die Fluoreszenz der Blindprobe von der Fluoreszenz der mit Algen versehenen Wells subtrahiert. Je größer diese Differenz ist, desto größer ist die Anzahl der gewachsenen Algen. Zur Bestimmung der Hemmung des Wachstums wurde meist die Fluoreszenz der Kontrollplatte als Referenz gewählt, da die Kontrollen auf den Probenplatten häufig stark vom Wert der Kontrollplatte abwichen. In Versuch 5 wurde die Kontrollplatte nicht als Referenz

bei der Berechnung der Wachstumshemmungen verwendet, da das Algenwachstum hier geringer war, als in den Kontrollen auf den Probenplatten.

Modifikationen im Algentest

In Anpassung an die Eigenschaften der LMZ wurden Modifikationen getroffen, die in Tabelle 4 dargestellt sind. Diese Modifikationen wurden aufgrund von Beobachtungen und Ergebnissen aus den Vorversuchen getroffen. In Versuch 3 wurde das vorherige Schütteln der Mikrotiterplatten im Multimodereader abgestellt. In Versuch 4 wurde MOPS-Puffer (pH = 8,2; 1 M) in der Endkonzentration von 8,372 g/l je Well verwendet und der Parafilm, welcher zum luftdichten Verschluss der Platten verwendet wird, wurde nicht eingesetzt. Um ein Verdunsten der Proben durch den Verzicht auf Parafilm zu verhindern, wurden in Versuch 4 Behältnisse mit demineralisiertem Wasser in den Thermoschrank gestellt. Diese Modifikationen wurden in Versuch 5 nicht mehr durchgeführt. Aufgrund der Ergebnisse aus dem Vorversuch 2, welche im Kapitel „Diskussion“ näher beschrieben sind, wurden bei LMZ 1 und 3 die beiden höchsten Konzentrationen auf jeweils einer zweiten Mikrotiterplatte angesetzt. Näheres zu den hier durchgeführten Modifikationen ist im Kapitel „Diskussion“ näher beschrieben.

Tabelle 4: Maßnahmen zur Behebung von aufgetretenen Problemen je Versuch im AT

Versuche 1 und 2	Versuch 3	Versuch 4	Versuch 5
keine Maßnahmen	Messung der Fluoreszenz ohne vorheriges Schütteln der Mikrotiterplatten im Multimodereader	<ul style="list-style-type: none"> • Zugabe von 8,372 g/l MOPS-Puffer • Verzicht auf Parafilm, • Verwendung von Behältnissen mit demineralisiertem Wasser • Messung der Fluoreszenz ohne vorheriges Schütteln der Mikrotiterplatten im Multimodereader 	<ul style="list-style-type: none"> • Messung der Fluoreszenz ohne vorheriges Schütteln der Mikrotiterplatten im Multimodereader • höchste Endkonzentrationen von LMZ 1 und 3 auf einzelne Platten

Leichte biologische Abbaubarkeit / Bestimmung des BSB₅

Zur Untersuchung, ob und in welcher Menge die LMZ bei Emission in die Kanalisation im Klärwerk abgebaut werden, wurden Tests zur Bestimmung der leichten biologischen Abbaubarkeit in Anlehnung an die DIN EN 1899-1 [8] durchgeführt. Es wird die Annahme getroffen, dass die Emission der LMZ klärwerksnah erfolgt, sodass es zu keiner starken Verdünnung im Zulauf der Kläranlage kommt und die gesamte Menge an LMZ sofort und nicht über einen Zeitraum verteilt in die Kläranlage eintritt. Dadurch, dass das Ablaufmaterial einer Kläranlage verwendet wird, können auch Rückschlüsse auf die biologische Abbaubarkeit der LMZ in Gewässern gezogen werden.

Ziel der Versuche ist es, für jedes LMZ einen BSB₅-Wert (Biochemischer Sauerstoffbedarf nach fünf Tagen) zu ermitteln und somit Rückschlüsse auf die von Mikroorganismen abgebaute Menge an LMZ schließen zu können.

Der Biochemische Sauerstoffbedarf beschreibt die Menge an gelöstem Sauerstoff pro Liter Gemisch, die die Organismen zum Abbau organischer Verbindungen durch biochemische Oxidation in einem bestimmten Zeitraum benötigen. Der BSB wurde bei diesen Versuchen bis zum 5. Tag nach Ansetzen der Proben erhoben, sodass er folgend als BSB₅-Wert bezeichnet wird.

Zuerst wurde der CSB-Wert (Chemischer Sauerstoffbedarf) ermittelt, um abschätzen zu können, welcher BSB-Wert zu erwarten ist. Der CSB entspricht der Menge an gelöstem Sauerstoff pro Liter Gemisch, die zur Oxidation der im Gemisch befindlichen organischen Stoffe unter Verwendung eines Oxidationsmittels benötigt wird. Der CSB ist immer größer als der BSB, da durch Zugabe eines Oxidationsmittels eine größere Anzahl an organischen Stoffen oxidiert werden kann als bei biochemischen Prozessen. Zur Abschätzung des zu erwartenden BSB wird der gemessene CSB mit einem geeigneten Faktor multipliziert, welcher abhängig von der organischen Belastung in der Probe und kleiner als eins ist. Bei einer hohen organischen Belastung würde der Faktor bis nahe eins steigen. In dieser Arbeit wurde der Faktor von 0,5 nach WTW [9] verwendet. Eine Abschätzung des zu erwartenden BSB ist wichtig, da abhängig vom Sauerstoffbedarf unterschiedliche Volumina der vorher angesetzten Probenverdünnungen in die Messflaschen gegeben werden. So wird gewährleistet, dass genügend Sauerstoff für die biochemische Oxidation innerhalb der fünf Tage zur Verfügung steht. Tabelle 5 zeigt die einzusetzenden Volumina der Proben in Abhängigkeit zum erwarteten BSB. Je höher der BSB, desto geringer das einzusetzende Probenvolumen.

Tabelle 5: einzusetzende Volumina und Multiplikationsfaktoren in Abhängigkeit zum erwarteten BSB; abgeändert im Bereich des zu erwartenden BSB-Wertes von der Quelle: Bestimmung des Biochemischen Sauerstoffbedarfs (BSB), BSB-Fibel, Seite 24, WTW [9]

Erwarteter BSB-Wert [mg/L]	Einzusetzende Probenmenge [mL]	Faktor
0 – 40	432	1
40 – 80	365	2
80 – 200	250	5
200 – 400	164	10
400 – 800	97	20
800 – 2000	43,5	50
2000 – 4000	22,7	100

Der in der letzten Spalte von Tabelle 5 angegebene Faktor wird mit den gemessenen BSB-Werten multipliziert. Diese Faktoren sind abhängig von der eingesetzten Probenmenge.

Bestimmung des CSB

Zur Erhebung des CSB wurden Küvetten der Firma Hach Lange im Messbereich von 1000 mg O₂/l bis 10000 mg O₂/l verwendet, welche als Oxidationsmittel Kaliumdichromat und Quecksilbersulfat enthalten. Die LMZ mussten verdünnt werden, um im Messbereich zu liegen. Die verwendeten Verdünnungen zeigt Tabelle 6.

Tabelle 6: getestete Probenverdünnungen bei der Bestimmung des CSB

Probe	Verdünnung
LMZ 1	1:500
LMZ 2	1:50
LMZ 3	1:1100
LMZ 4	1:50
Glucose	1:15400
Blindprobe	1:100

Die Proben wurden in die Küvetten gegeben, für 15 min auf 171 °C erhitzt und danach an der Luft abgekühlt. Anschließend wurde der CSB im Photometer gemessen.



Abbildung 10: Gerätschaften für die Messung des CSB

Vorbereitung der Proben

Alle Proben wurden mit 0,9 %-iger NaCl-Lösung verdünnt, sodass die Differenz zwischen dem intrazellulären und dem extrazellulären osmotischen Druck bei den Organismen gering war. Auf die Herstellung der Nährlösungen nach DIN EN 1899-1 [8] wurde verzichtet, da davon ausgegangen wurde, dass sich genügend Nährstoffe im Ablauf der Kläranlage befinden. Es wurden Mikroorganismen aus dem Ablauf der Versuchs- und Forschungskläranlage der Universität Lübeck in Reinfeld verwendet, welche im Folgenden als Ablaufmaterial bezeichnet werden. Die organischen Substanzen, die mit dem Abwasser in eine Kläranlage transportiert werden, werden im Belebungsbecken abgebaut. Im Ablauf sollten daher nur noch wenige Substanzen vorhanden sein, die den Mikroorganismen als Substrat dienen und alternativ zum eingesetzten Probenmaterial abgebaut werden könnten. Zudem käme es im Belebungsbecken zu einer höheren Aktivität im Bereich der Nitrifikation als im Ablauf, sodass durch biochemische Oxidation des im Abwasser befindlichen Ammoniums zu Nitrat Sauerstoff verbraucht wird und die Messung des BSB dadurch verfälscht werden kann.

Um zu beweisen, inwieweit die Mikroorganismen im Ablauf der Kläranlage in der Lage sind, organische Substanzen abzubauen, wurde eine Positivkontrolle mit 25 mg/l Glucose angesetzt. Bei der Herstellung der Positivkontrolle wurde von der DIN EN 1899-1 abgewichen, da diese nur mit Glucose anstelle einer Glucose-Glutamat-Lösung hergestellt wurde [8].

Die Blindprobe wurde mit dem Ablaufmaterial der Kläranlage im Verhältnis 1:100 hergestellt, sodass BSB-Werte für den Abbau der sich noch im Ablaufmaterial befindlichen organischen Substanzen ermittelt werden konnten. Sie stellt die Referenz zu den gemessenen BSB-Werten der getesteten Proben dar.

Die LMZ wurden für den Test in den Verdünnungen 1:1000 und 1:10000 angesetzt. Die Verdünnung von 1:1000 wurde gewählt, da dies die geringste Konzentration der LMZ im Löschwasser darstellt, welche im Einsatz verwendet wird. Die Verdünnung von 1:10000 wurde angesetzt, da vermutet wurde, dass die LMZ in der Konzentration von 1:1000 toxisch auf die Organismen im Ablauf wirken könnten, sodass es zu keiner genauen Bestimmung der BSB₅-Werte kommen kann.

Tabelle 7 stellt die Verdünnungsfaktoren der einzelnen Proben im Test zur Bestimmung des BSB₅ dar. Zur Berechnung des Verdünnungsfaktors von Glucose wird die Dichte von Glucose, welche 1,54 g/cm³ beträgt [10], durch die getestete Konzentration von 25 mg/l dividiert.

Tabelle 7: Verdünnungsfaktoren je Probe im Test zur Bestimmung des BSB₅

Probe	Verdünnungsfaktor
Glucose	61600
Ablaufmaterial	100
LMZ	1000
	10000

Alle Proben wurden in 1 Liter-Messkolben angesetzt. Den Probenverdünnungen wurde Ablaufmaterial zugegeben, welches sich in der Endkonzentration von 2,0 Vol.-% in den LMZ-Probenverdünnungen und von 1,0 Vol.-% in der Positivkontrolle befand.

Die Proben wurden danach mit einem Dispergierer homogenisiert, wobei der Sauerstoffgehalt in den Proben erhöht wurde.



Abbildung 11: Dispergierer

Einsetzen der Volumina

Die Probenverdünnungen wurden direkt nach der Belüftung in die jeweiligen Überlaufkolben gefüllt und danach in die Messflaschen gegeben. Es gibt für jedes in die Messflasche einzusetzende Volumen einen Überlaufkolben, welcher so weit befüllt wird, bis sich keine Blasen mehr im Kolben befinden und der Flüssigkeitsspiegel auf der Höhe der Öffnung liegt.



Abbildung 12: Überlaufkolben in den Größen 164 ml; 250 ml; 365 ml und 432 ml (von links nach rechts)

Vor Einsetzen der angesetzten Probenverdünnungen in die Messflaschen wurden die Flaschen gründlich mit NaCl-Lsg. gespült. Nach Einsetzen der Probenverdünnungen wurde abhängig vom Volumen 1 g/l Allylthioharnstoff (ATH) als Nitrifikationshemmstoff hinzugegeben, um die Oxidation von Ammonium zu Nitrat zu hemmen. Tabelle 8 zeigt die geschätzte eingesetzte Konzentration an ATH in Abhängigkeit zum eingesetzten Volumen.

Tabelle 8: eingesetzte Konzentration von ATH je eingesetztes Volumen bei der Bestimmung des BSB₅

eingesetztes Volumen in ml	eingesetzte Konzentration von ATH in mg/l
432	0,45
365	0,35
164	0,20
97	0,10

Zudem wurden pro Probe zwei Natriumhydroxid-Plätzchen (170 mg bis 190 mg je Plätzchen) in einem Gummiköcher in der oberen Phase der Messflasche platziert, um entstehendes Kohlenstoffdioxid zu binden, damit kein Überdruck entsteht. Mit dem Gummiköcher wird die Messflasche luftdicht verschlossen.



Abbildung 13: 510 ml – Messflaschen mit OxiTop® -Messkopf

Messung des BSB

Auf die Messflaschen wurde ein „OxiTop®-Messkopf“ der Firma WTW GmbH aufgeschraubt und die Messflaschen wurden beschriftet auf Magnetrührer in einen Thermoschrank bei 20 °C gestellt. Die Proben wurden nach fünf Tagen aus dem Schrank entnommen und die Messwerte ausgelesen.



Abbildung 14: Messflaschen auf Magnetrühern im Thermoschrank

Berechnung des BSB

Die BSB-Werte je Tag (BSB_n) werden durch die Multiplikation der Messwerte der jeweiligen Probe mit dem Faktor nach Tabelle 5 und dem entsprechenden Verdünnungsfaktor aus Tabelle 7 berechnet. Von den BSB_n -Werten der Positivkontrolle und der LMZ werden die mit der Formel 1 berechneten BSB_n -Werte der Blindprobe ($BSB_{n,blind}$) in Abhängigkeit zur Konzentration des Ablaufmaterials in den Proben subtrahiert, welche 2,0 Vol.-% bei den LMZ-Probenverdünnungen und 1,0 Vol.-% bei der Positivkontrolle betrug. Die Formel 2 stellt die Berechnung der BSB_n -Werte der LMZ und die Formel 3 die Berechnung der BSB_n -Werte von Glucose dar.

$$(1) \quad BSB_{n,blind} = BSB_{n,mess,blind} \cdot \text{Verdünnungsfaktor} \cdot \text{Faktor}$$

$$(2) \quad BSB_{n,LMZ} = BSB_{n,mess,LMZ} \cdot \text{Faktor} \cdot \text{Verdünnungsfaktor} - BSB_{n,blind} \cdot \frac{1}{50}$$

$$(3) \quad BSB_{n,Glucose} = BSB_{n,mess,Glucose} \cdot \text{Faktor} \cdot \text{Verdünnungsfaktor} - BSB_{n,blind} \cdot \frac{1}{100}$$

Der Index n ist gleich der Inkubationszeit in Tagen. Der BSB-Wert am Tag des Teststarts (BSB_0) wird bei allen Proben mit 0 mg O_2/l angenommen.

Je Probe werden Abbaukurven erstellt, indem die BSB_n -Werte in der Einheit mg O_2/l in Abhängigkeit zur Zeit in Tagen aufgetragen werden.

Zur Berechnung der Abbaubarkeit der Proben am 5. Tag wird der BSB_5 -Wert je Probe durch den entsprechenden CSB-Wert dividiert.

Vorversuche

Die folgenden beiden Versuche (Vorversuch 1 und 2) wurden zur Optimierung des Algenwachstumshemmtests mit *Raphidocelis subcapitata* durchgeführt.

Vorversuch 1: Untersuchung des Algenwachstums bei Zugabe von MOPS-Puffer

Untersucht wird, ob durch Zugabe von MOPS-Puffer (pH = 8,2; 1 M) in der Endkonzentration von 8,372 g/l das Algenwachstum in den Wells erhöht werden kann. Aufgrund der Erkenntnisse von Neidhardt et al. wurde eine Endkonzentration von 8,372 g/l MOPS eingesetzt [11].

Es wurde eine Kontrollplatte mit drei Spalten ohne und drei mit 8,372 g/l MOPS-Puffer hergestellt. Der Test wurde über drei Tage in den Algenschrank bei 20 °C und auf einen Schüttler bei 250 rpm gestellt. Es wurde an allen Tagen im 24-Stunden-Rhythmus die Fluoreszenz gemessen und daraus die Wachstumsraten berechnet.

Vorversuch 2: Untersuchung, ob es zu einer Ausbreitung der LMZ über die Gasphase in den Probenplatten kommt

Da in den ersten vier Algentests Hemmungen des Wachstums in den Kontrollen auf den Platten von LMZ 1, 3 und 4 beobachtet wurden, wurde dieser Vorversuch durchgeführt. Ziel dieses Vorversuchs ist es, herauszufinden, ob eine Ausbreitung von LMZ über die Gasphase möglich ist, wodurch die Kontrollen auf der jeweiligen Platte beeinträchtigt werden würden. Dabei wurde nur LMZ 1 getestet, da es die größte Wachstumshemmung in den Kontrollen zeigte.

Das Prinzip dieses Vorversuchs ist, die verschiedenen Konzentrationen auf unterschiedliche Platten aufzubringen und den Einfluss auf die Kontrollen auf der jeweiligen Platte zu untersuchen. Hierzu wurden fünf Verdünnungsplatten mit LMZ 1, eine Extra-Kontrollplatte und eine Positivkontrolle mit 3,5-DCP hergestellt. Auf jeder Verdünnungsplatte von LMZ 1 wurde jeweils nur eine Konzentration getestet. LMZ 1 wurde in den Endkonzentrationen von 9800 mg/l, 980 mg/l, 98 mg/l, 9,80 mg/l und 0,98 mg/l getestet.

Abbildung 15 zeigt das bei diesem Vorversuch verwendete Pipettierschema für die Probenplatten, wobei hier fünf Probenplatten mit je einer der oben genannten Konzentration von LMZ 1 hergestellt wurden. Die Kontrollplatte und die Positivkontrollplatte wurden nach den in den Abbildungen 4 und 6 dargestellten Pipettierschemata angesetzt.

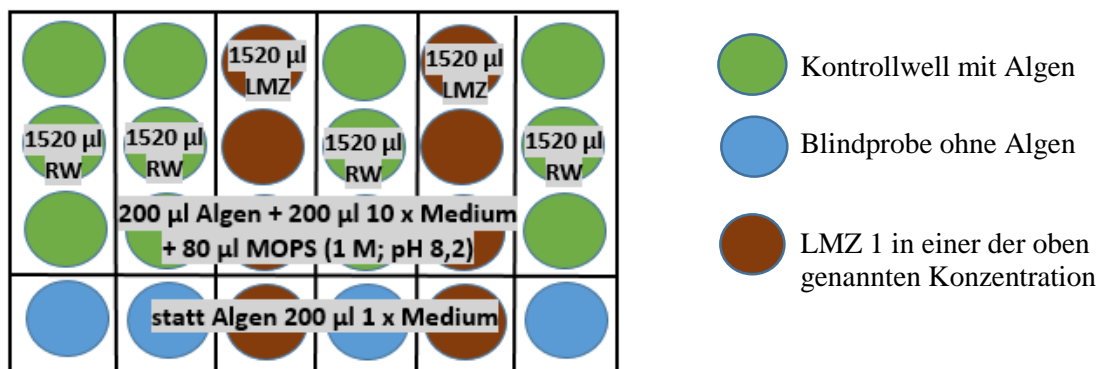


Abbildung 15: Pipettierschema der Probenplatten im Vorversuch 2

In Spalte 4 wurden Kontrollen zwischen die beiden gleichen LMZ-Konzentrationen gesetzt, um in den Messwerten sehen zu können, ob die Testsubstanz zum thermodynamischen Ausgleich aus den Probenwells austritt und die Kontrollen beeinträchtigt. Es wurde bei Testbeginn (T0) und -ende (T3)

die Fluoreszenz gemessen. Der Test wurde für drei Tage in den Algenschrank bei 20 °C und auf einen Schüttler bei 250 rpm gestellt.

Umweltrisikoaanalyse

Anhand der EC₅₀-Werte und NOEC-Werte aus den Leuchtbakterien- und Algenwachstumshemmtests wird eine Umweltrisikoaanalyse durchgeführt. Dazu werden zum einen die Predicted Environmental Concentration (PEC) und die Predicted No Effect Concentration (PNEC) bestimmt. Mit dem PEC-Wert wird die zu erwartende Konzentration einer Chemikalie, sowie ihr Eintrag, Verhalten und Schicksal in der Umwelt abgeschätzt. Mit dem PNEC-Wert wird die Konzentration einer Chemikalie abgeschätzt, bei der keine schädliche Wirkung auf die Organismen in der Umwelt zu erwarten ist. Werden beide Werte miteinander verglichen, so kann auf ein potentielles Umweltrisiko geschlossen werden. Hierzu wird der PEC durch den PNEC dividiert.

Ziel der Umweltrisikoaanalyse ist es, durch den PEC/PNEC-Vergleich auf ein mögliches ökotoxikologisches Risiko beim Eintrag von LMZ in ein Gewässer schließen zu können.

Anhand der EC₅₀-Werte und NOEC-Werte werden PNEC-Werte ermittelt, indem die ökotoxikologischen Endpunkte durch einen Sicherheitsfaktor nach TGD dividiert werden [12]. Formel 4 veranschaulicht die Berechnung des PNEC.

$$(4) \quad \text{PNEC} = \frac{\text{EC}_{50} \text{ bzw. NOEC}}{\text{Sicherheitsfaktor}}$$

Zur Berechnung des PEC werden drei Szenarien definiert, wovon exemplarisch zwei Brandeinsätze des Tagesgeschäftes der Feuerwehr („Kleinbrand“ und „mittelgroßer Brand“) und eines einen außergewöhnlichen Einsatz („Großbrand“) darstellen. Das Szenario „Kleinbrand“ stellt beispielsweise einen Fahrzeugbrand, das Szenario „mittelgroßer Brand“ einen Gebäudebrand und das Szenario „Großbrand“ einen Industriebrand dar. Beim Großbrand werden zur Brandbekämpfung zwei Arten von Hohlstrahlrohren (HSR) verwendet, die sich in ihrem Volumenstrom unterscheiden. Alle angegebenen Werte über die Art und Anzahl der eingesetzten HSR und die Einsatzdauer werden aus Erfahrungswerten abgeleitet. Die Volumenströme werden der DIN EN 15182-2 entnommen [13]. Alle definierten Parameter und der Verbrauch an LMZ je Szenario sind in Tabelle 9 dargestellt.

Tabelle 9: Szenarien mit Anzahl und Art der eingesetzten HSR, der Dauer und des Löschmittel- und LMZ-Verbrauches zur Berechnung des PEC

Szenario	Anzahl an eingesetzten HSR	Volumenstrom pro HSR in l/min	Dauer des Szenarios in min	Gesamtverbrauch an Löschmittel in l	LMZ-Verbrauch für 0,5 %-ige Zumischrate in l
Kleinbrand	1	235	10	2350	11,75
mittelgroßer Brand	2	235	20	9400	47,00
Großbrand	8	235	60	232800	1164,00
	4	500			

Für jedes der drei Szenarien werden Volumina an LMZ errechnet, welche bei einer Zumischrate von 0,5 Vol.-% appliziert würden. Die definierte Zumischrate deckt die empfohlenen Zumischraten aller getesteten LMZ ab. So liegen bei LMZ 1 die kleinste empfohlene Zumischrate und bei LMZ 3 die höchste bei 0,5 Vol.-%. Bei LMZ 2 liegt die empfohlene Zumischrate exakt bei 0,5 Vol.-%. Bei LMZ 4 liegt der Mittelwert der empfohlenen Zumischrate bei ca. 0,5 Vol.-%.

Es werden drei Fälle definiert, in denen die eingetragene Menge an LMZ in ein stehendes Gewässer betrachtet wird. Im *worst-case* soll das applizierte Volumen an LMZ je Szenario mit dem Faktor eins multipliziert werden, da davon ausgegangen wird, dass die gesamte applizierte Menge an LMZ in ein Gewässer gelangt. Im *realistic-case* soll das applizierte Volumen an LMZ je Szenario mit dem Faktor 0,9 multipliziert werden, da laut de Vries 5 % bis 10 % eines Löschwasserstrahls zur Löschwirkung beim konventionellen Löschangriff beitragen [14]. Im *best-case* wird das applizierte Volumen an LMZ je Szenario mit dem Faktor 0,5 multipliziert. Hier wird davon ausgegangen, dass nur die Hälfte des applizierten Volumens an LMZ in ein Gewässer gelangt. Im *realistic-case* und im *best-case* wird davon ausgegangen, dass ein Teil des LMZ-Volumens am Brandgut oder an anderen Objekten haften bleibt.

Als stehende Gewässer ohne große Zu- und Abfluss, in die die applizierte Menge an LMZ je Szenario und Fall emittiert wird, werden drei definiert, welche in Tabelle 10 dargestellt sind.

Tabelle 10: stehende Gewässer mit ihren Volumina zur PEC-Berechnung

Gewässer	Volumen in l
kleiner See	$1 \cdot 10^5$
mittelgroßer See	$1 \cdot 10^8$
großer See	$1 \cdot 10^{11}$

Die Volumina der Seen werden so definiert, dass sie sich um den Faktor 1000 vom nächst größeren See unterscheiden. Das Volumen des Gewässers „kleiner See“ orientiert sich am Volumen des Boberger Sees in Hamburg.

Zur Berechnung des PEC-Wertes werden der LMZ-Verbrauch je Szenario aus Tabelle 9 mit der Dichte des jeweiligen LMZ und dem Faktor je Fall (*worst-*, *realistic-* oder *best-case*) multipliziert und durch das Volumen des betrachteten Gewässers aus Tabelle 10 dividiert. Formel 5 veranschaulicht die Berechnung des PEC in mg/l.

$$(5) \quad \text{PEC} = \frac{\text{Verbrauch an LMZ} \cdot \text{Dichte des LMZ} \cdot \text{Faktor des betrachteten Falles}}{\text{Volumen des Gewässers}}$$

Nach Berechnung des PEC erfolgt der PEC/PNEC-Vergleich je Probe, Szenario, Gewässer und Fall. Für das Spülmittelkonzentrat werden ebenfalls ein PNEC und mehrere PEC-Werte berechnet, sowie der PEC/PNEC-Vergleich durchgeführt, um dadurch Referenzwerte zu erhalten.

Ergebnisse

Ökotoxikologische Wirkung

Leuchtbakterientests

Die Abweichungen der Parallelbestimmungen der Proben von ihrem Mittelwert liegen nicht bei jeder Probe unterhalb von 3 %-Punkten. In Versuch 6 liegt bei acht von neun Proben die Abweichung der Parallelbestimmungen oberhalb von 3 %-Punkten, in Versuch 7 ist dies bei sieben von neun Proben der Fall. In Versuch 6 liegt nur LMZ 3 im Experiment 2 und in Versuch 7 liegen Spülmittel im Experiment 2 und 3,5-DCP unterhalb von 3 %-Punkten. Alle anderen Gültigkeitskriterien werden eingehalten.

Die Abbildungen 16 bis 20 zeigen die Mittelwerte der Hemmung der metabolischen Aktivität der Bakterien in Abhängigkeit zur getesteten Probenkonzentration je LMZ und Experiment. Beim Experiment handelt es sich hier um eine Wiederholung der getesteten Probenkonzentrationen je LMZ, wobei bei LMZ 4 im Versuch 6 die Salinität von Experiment 1 mit der 2,2 %-iger NaCl-Lsg. und die von Experiment 2 anhand des Refraktometers eingestellt wurde. Je Probe werden die Abweichungen der Parallelbestimmungen von ihrem Mittelwert in %-Punkten je Probenkonzentration und Experiment in den Tabellen 11 bis 16 dargestellt. Alle Werte, die 3 %-Punkte überschreiten, sind in den Tabellen rot markiert.

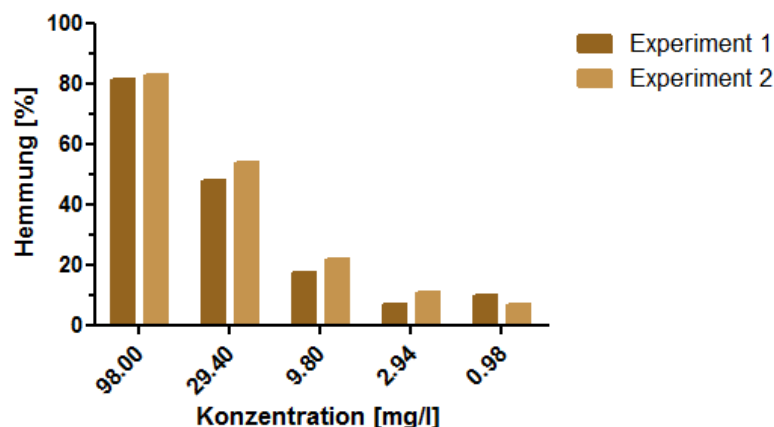


Abbildung 16: Mittelwerte der Hemmungen der metabolischen Aktivität im LBT in Abhängigkeit zur jeweiligen Konzentration von LMZ 1 je Experiment

Tabelle 11: Abweichungen der Parallelbestimmungen vom Mittelwert in %-Punkten je Konzentration des LMZ 1 und Experiments (E1 und E2) im LBT, alle Abweichungen oberhalb von 3 %-Punkten sind rot markiert

Probenkonzentration in mg/l:	98,00	29,40	9,80	2,94	0,98
Abweichung von E1 in %-Punkten:	1,05	1,39	1,43	4,77	2,00
Abweichung von E2 in %-Punkten:	6,37	0,24	4,40	2,46	3,41

In Abbildung 16 liegt bei LMZ 1 in der höchsten Konzentration von 98,00 mg/l eine Hemmung von 80 % in beiden Experimenten vor. Die Hemmung bei der kleinsten Konzentration von 0,98 mg/l

beträgt 10 % im Experiment 1 und 5 % im Experiment 2. Laut Tabelle 11 liegt im Experiment 1 eine von fünf Abweichungen vom Mittelwert oberhalb von 3 %-Punkten, wobei die höchste bei 4,77 %-Punkten (bei 2,94 mg/l) und die kleinste bei 1,05 %-Punkten (bei 98,00 mg/l) liegen. Im Experiment 2 überschreiten drei von fünf Abweichungen die 3 %-Punkte, wobei hier die höchste bei 6,37 %-Punkten (bei 98,00 mg/l) und die kleinste bei 0,24 %-Punkten (bei 29,40 mg/l) liegen.

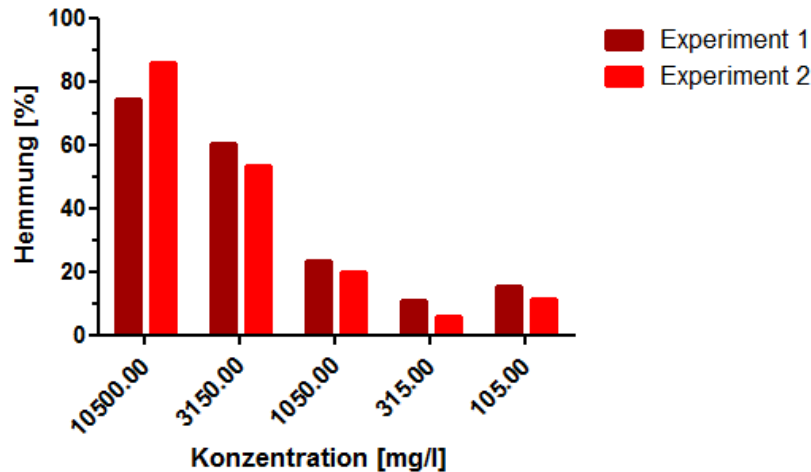


Abbildung 17: Mittelwerte der Hemmungen der metabolischen Aktivität im LBT in Abhängigkeit zur jeweiligen Konzentration von LMZ 2 je Experiment

Tabelle 12: Abweichungen der Parallelbestimmungen vom Mittelwert in %-Punkten je Konzentration des LMZ 2 und Experiments (E1 und E2) im LBT, alle Abweichungen oberhalb von 3 %-Punkten sind rot markiert

Probenkonzentration in mg/l:	10500,00	3150,00	1050,00	315,00	105,00
Abweichung von E1 in %-Punkten:	11,17	2,68	1,93	4,39	1,35
Abweichung von E2 in %-Punkten:	1,22	4,35	2,12	2,42	0,06

In Abbildung 17 beträgt die Hemmung bei LMZ 2 in der höchsten Konzentration von 10500,00 mg/l 85 % im Experiment 2 und 75 % im Experiment 1. Die Hemmung bei der kleinsten Konzentration von 105,00 mg/l beträgt 10 % im Experiment 2 und 15 % im Experiment 1. In Tabelle 12 überschreiten im Experiment 1 zwei von fünf Abweichungen vom Mittelwert die 3 %-Punkte. Die höchste Abweichung beträgt 11,17 %-Punkte (bei 10500,00 mg/l) und die kleinste 1,35 %-Punkte (bei 105,00 mg/l). Im Experiment 2 liegt eine von fünf Abweichungen oberhalb von 3 %-Punkten. Die höchste Abweichung liegt bei 4,35 %-Punkten (bei 3150,00 mg/l) und die kleinste bei 0,06 %-Punkten (bei 105,00 mg/l).

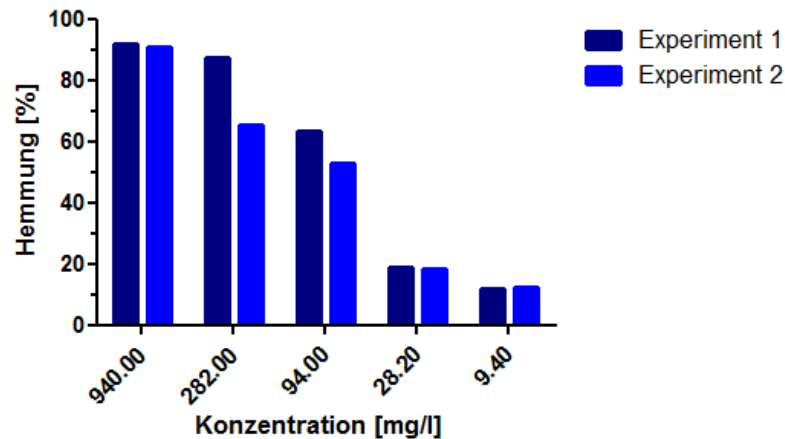


Abbildung 18: Mittelwerte der Hemmungen der metabolischen Aktivität im LBT in Abhängigkeit zur jeweiligen Konzentration von LMZ 3 je Experiment

Tabelle 13: Abweichungen der Parallelbestimmungen vom Mittelwert in %-Punkten je Konzentration des LMZ 3 und Experiments (E1 und E2) im LBT, alle Abweichungen oberhalb von 3 %-Punkten sind rot markiert

Probenkonzentration in mg/l:	940,00	282,00	94,00	28,20	9,40
Abweichung von E1 in %-Punkten:	0,08	0,32	0,73	4,39	0,83
Abweichung von E2 in %-Punkten:	0,56	21,45	9,11	1,84	0,28

LMZ 3 zeigt in Abbildung 18 bei der höchsten Konzentration von 940,00 mg/l eine Hemmung von 90 % und bei der kleinsten von 9,40 mg/l eine Hemmung von 10 % in beiden Experimenten. In Tabelle 13 liegt in Experiment 1 eine von fünf Abweichungen vom Mittelwert oberhalb von 3 %-Punkten, wobei die höchste 4,39 %-Punkte (bei 28,20 mg/l) und die kleinste 0,08 %-Punkte (bei 940,00 mg/l) betragen. Im Experiment 2 liegen zwei von fünf Abweichungen oberhalb von 3 %-Punkten, wobei die höchste bei 21,45 %-Punkten (bei 282,00 mg/l) und die kleinste bei 0,28 %-Punkten (bei 9,40 mg/l) liegen.

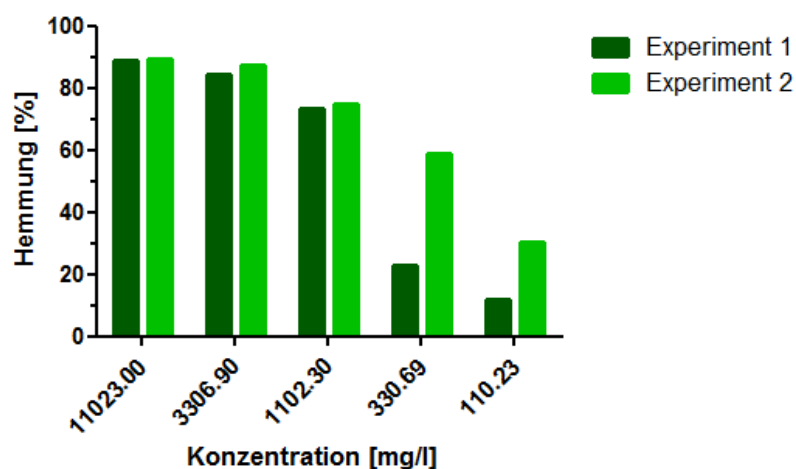


Abbildung 19: Mittelwerte der Hemmungen der metabolischen Aktivität im LBT in Abhängigkeit zur jeweiligen Konzentration von LMZ 4 je Experiment

Tabelle 14: Abweichungen der Parallelbestimmungen vom Mittelwert in %-Punkten je Konzentration des LMZ 4 und Experiments (E1 und E2) im LBT, alle Abweichungen oberhalb von 3 %-Punkten sind rot markiert

Probenkonzentration in mg/l:	11023,00	3306,90	1102,30	330,69	110,23
Abweichung von E1 in %-Punkten:	0,08	0,60	6,08	7,55	2,94
Abweichung von E2 in %-Punkten:	0,01	0,32	9,83	2,85	7,62

In Abbildung 19 weist LMZ 4 in der höchsten Konzentration von 11023,00 mg/l eine Hemmung von 90 % in beiden Experimenten auf. Die Hemmung bei der kleinsten Konzentration von 110,23 mg/l beträgt 10 % im Experiment 1 und 30 % im Experiment 2. In Tabelle 14 liegen im Experiment 1 zwei von fünf Abweichungen vom Mittelwert oberhalb von 3 %-Punkten, wobei die höchste bei 7,55 %-Punkten (bei 330,69 mg/l) und die kleinste bei 0,08 %-Punkten (bei 11023,00 mg/l) liegen. Im Experiment 2 überschreiten zwei von fünf Abweichungen die 3 %-Punkte. Die höchste liegt bei 9,83 %-Punkten (bei 1102,30 mg/l) und die kleinste bei 0,01 %-Punkten (bei 11023,00 mg/l).

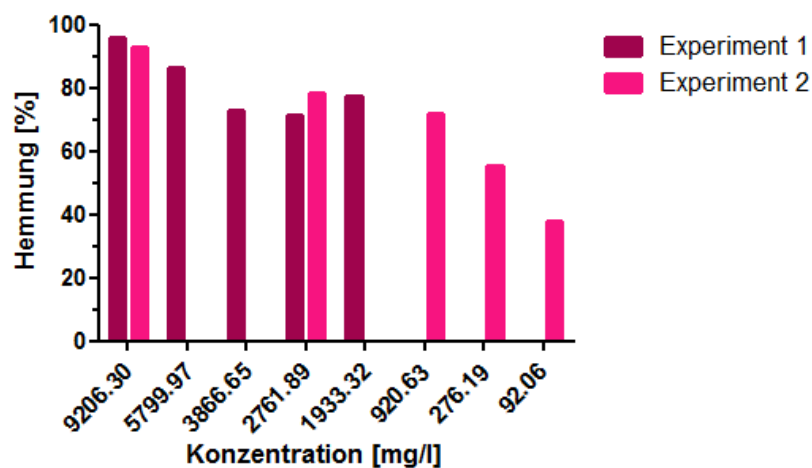


Abbildung 20: Mittelwerte der Hemmungen der metabolischen Aktivität im LBT in Abhängigkeit zur jeweiligen Konzentration vom Spülmittel je Experiment

Tabelle 15: Abweichungen der Parallelbestimmungen vom Mittelwert in %-Punkten je Konzentration des Spülmittels im Experiment 1 im LBT, alle Abweichungen oberhalb von 3 %-Punkten sind rot markiert

Probenkonzentration in mg/l:	9206,30	5799,79	3866,65	2761,89	1933,32
Abweichung von E1 in %-Punkten:	0,32	5,68	6,50	2,56	5,72

Tabelle 16: Abweichungen der Parallelbestimmungen vom Mittelwert in %-Punkten je Konzentration des Spülmittels im Experiment 2 im LBT

Probenkonzentration in mg/l:	9206,30	2761,89	920,63	276,19	92,06
Abweichung von E2 in %-Punkten:	2,88	0,11	0,12	1,99	1,60

In Abbildung 20 weist das Spülmittel eine Hemmung in der höchsten Konzentration von 9206,30 mg/l bei 95 % im Experiment 1 und 90 % im Experiment 2 auf. Bei 1933,32 mg/l beträgt die Hemmung

80 % und bei der kleinsten Konzentration von 92,06 mg/l 40 %. In Tabelle 15 überschreiten im Experiment 1 drei von fünf Abweichungen vom Mittelwert die 3 %-Punkte, wobei die höchste bei 6,50 %-Punkten (bei 3866,65 mg/l) und die kleinste bei 0,32 %-Punkten (bei 9206,30 mg/l) liegen. In Tabelle 16 liegen im Experiment 2 alle Abweichungen vom Mittelwert unterhalb von 3 %-Punkten. Die höchste Abweichung beträgt 2,88 %-Punkte (bei 9206,30 mg/l) und die kleinste 0,11 %-Punkte (bei 2761,89 mg/l).

Mit den Mittelwerten der Hemmungen aus den Abbildungen 16 bis 20 werden Dosis-Wirkungs-Kurven mittels nicht-linearer Regression (GraphPad PRISM®) erstellt. Zur Erstellung der Kurven wird die vom Programm definierte Regressionsfunktion „log(inhibitor) vs. Normalized response – Variable slope“ verwendet. Die Kurven der Experimente werden anhand des F-Tests miteinander verglichen, um zu prüfen, ob die Messwerte je Konzentration zwischen den Experimenten 1 und 2 signifikant verschieden sind. Das Signifikanzniveau α liegt bei 5 % (0,05). Wenn festgestellt wird, dass die Nullhypothese erfüllt ist bzw. der p-Wert oberhalb von 5 % liegt, wird nur die angepasste Kurve mit den ökotoxikologischen Endpunkten, der Steigung und der Genauigkeit dargestellt.

Die Abbildungen 21 bis 25 stellen die Dosis-Wirkungs-Kurven der Proben dar. Hierin ist die Hemmung in Abhängigkeit vom dekadischen Logarithmus der Probenkonzentration dargestellt. Der EC_{50} -Wert ist mit einer durchgehenden vertikalen Linie und das Vertrauensintervall von 95 % mit gestrichelten vertikalen Linien gekennzeichnet. Neben dem Diagramm sind die ökotoxikologischen Endpunkte, die Steigung und die Genauigkeit der Kurve angegeben.

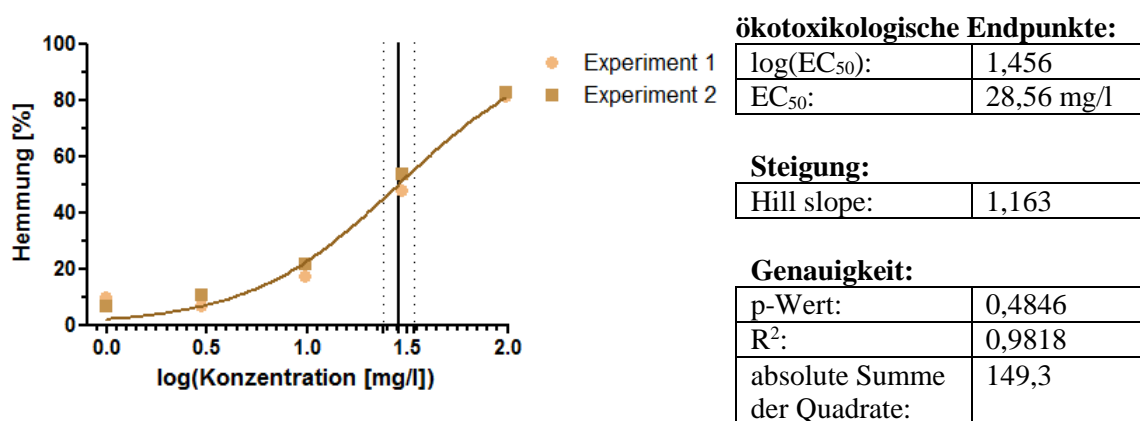
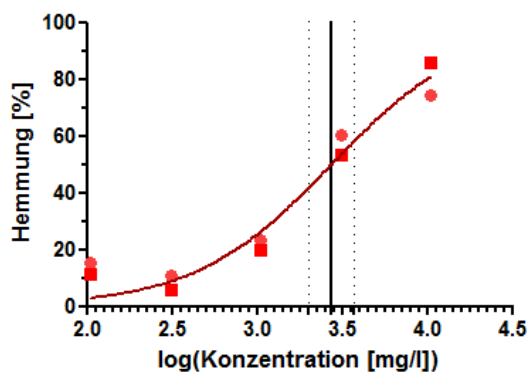


Abbildung 21: Dosis-Wirkungs-Kurve, EC_{50} -Wert, Steigung und Genauigkeit der Regressionskurve von LMZ 1 nach Kurvenanpassung im LBT, wobei die Hemmung in Abhängigkeit zur Konzentration des LMZ aufgetragen wurde

Beim Kurvenvergleich der Experimente 1 und 2 von LMZ 1 wird ein p-Wert von 0,4846 erhalten, welcher größer als das Signifikanzniveau ist, sodass sich die Messwerte je Konzentration der Experimente nicht signifikant voneinander unterscheiden. Demzufolge wird in Abbildung 21 nur eine Kurve dargestellt. Der EC_{50} -Wert liegt hierin bei 28,56 mg/l in einem Vertrauensintervall von 23,97 mg/l bis 34,02 mg/l.



- Experiment 1
- Experiment 2

ökotoxikologische Endpunkte:

log(EC ₅₀):	3,437
EC ₅₀ :	2737 mg/l

Steigung:

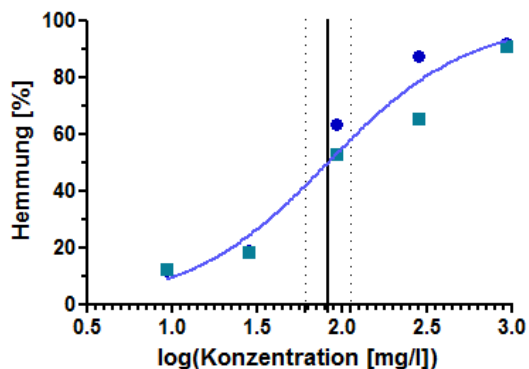
Hill slope:	1,073
-------------	-------

Genauigkeit:

p-Wert:	0,4779
R ² :	0,9485
absolute Summe der Quadrate:	405,2

Abbildung 22: Dosis-Wirkungs-Kurve, EC₅₀-Wert, Steigung und Genauigkeit der Regressionskurve von LMZ 2 nach Kurvenanpassung im LBT, wobei die Hemmung in Abhängigkeit zur Konzentration des LMZ aufgetragen wurde

Die Experimente 1 und 2 von LMZ 2 werden in Abbildung 22 in einer Kurve dargestellt, da der p-Wert 0,4779 beträgt und damit höher als das Signifikanzniveau liegt. Der EC₅₀-Wert von 2737 mg/l liegt in einem Vertrauensintervall von 2027 mg/l bis 3697 mg/l.



- Experiment 1
- Experiment 2

ökotoxikologische Endpunkte:

log(EC ₅₀):	1,920
EC ₅₀ :	83,21 mg/l

Steigung:

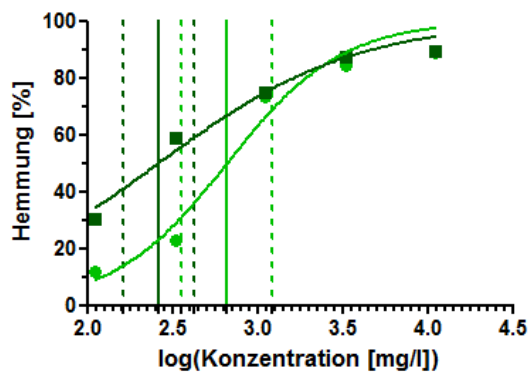
Hill slope:	1,061
-------------	-------

Genauigkeit:

p-Wert:	0,0734
R ² :	0,9564
absolute Summe der Quadrate:	438,7

Abbildung 23: Dosis-Wirkungs-Kurve, EC₅₀-Wert, Steigung und Genauigkeit der Regressionskurve von LMZ 3 nach Kurvenanpassung im LBT, wobei die Hemmung in Abhängigkeit zur Konzentration des LMZ aufgetragen wurde

Die Messwerte der Experimente 1 und 2 von LMZ 3 sind nicht signifikant verschieden, da der p-Wert oberhalb von 0,05 liegt, sodass nur die Kurve aus dem Ergebnis der Kurvenanpassung in Abbildung 23 dargestellt ist. Im Vergleich zu den anderen Kurvenanpassungen ist diese schlechter, da sie nur um 2 % oberhalb des Signifikanzniveaus liegt. Der EC₅₀-Wert liegt bei 83,21 mg/l im Vertrauensintervall von 61,04 mg/l bis 113,4 mg/l.



- Experiment 1
- Experiment 2

Experiment 1

ökotoxikologische Endpunkte:

log(EC ₅₀):	2,820
EC ₅₀ :	661,2 mg/l

Steigung:

Hill slope:	1,297
-------------	-------

Genauigkeit:

R ² :	0,9614
absolute Summe der Quadrate:	202,1

Experiment 2

ökotoxikologische Endpunkte:

log(EC ₅₀):	2,418
EC ₅₀ :	261,9 mg/l

Steigung:

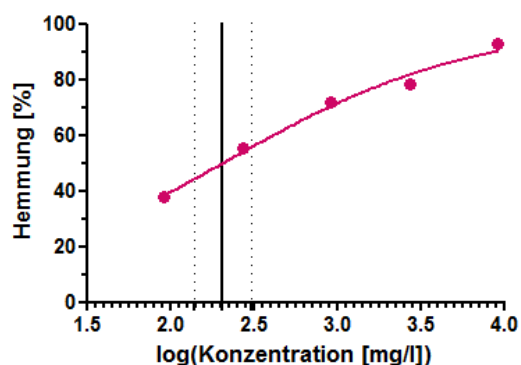
Hill slope:	0,7579
-------------	--------

Genauigkeit:

R ² :	0,9758
absolute Summe der Quadrate:	57,45

Abbildung 24: Dosis-Wirkungs-Kurven, EC₅₀-Wert, Steigung und Genauigkeit der Regressionskurve von LMZ 4 je Experiment im LBT, wobei die Hemmung in Abhängigkeit zur Konzentration des LMZ aufgetragen wurde

Als Ergebnis des Kurvenvergleiches wird bei LMZ 4 ein p-Wert von 0,0203 erhalten, welcher unterhalb des Signifikanzniveaus liegt. Demzufolge ist eine Kurvenanpassung nicht möglich und es werden die Kurven der beiden Experimente in Abbildung 24 dargestellt. Die oberen drei Tabellen in Abbildung 24 stellen die Werte der Kurve des Experiments 1 und die drei unteren die Werte der Kurve des Experiments 2 dar. Der EC₅₀-Wert von LMZ 4 im Experiment 1 liegt bei 661,2 mg/l in einem Vertrauensintervall von 359,8 mg/l bis 1215 mg/l. Der EC₅₀-Wert von LMZ 4 im Experiment 2 liegt bei 261,9 mg/l in einem Vertrauensintervall von 161,8 mg/l bis 423,9 mg/l.



ökotoxikologische Endpunkte:

log(EC ₅₀):	2,315
EC ₅₀ :	206,7 mg/l

Steigung:

Hill slope:	0,5832
-------------	--------

Genauigkeit:

R ² :	0,9868
absolute Summe der Quadrate:	23,74

Abbildung 25: Dosis-Wirkungs-Kurve, EC₅₀-Wert, Steigung und Genauigkeit der Regressionskurve von Spülmittel im Experiment 2 im LBT, wobei die Hemmung in Abhängigkeit zur Konzentration des Spülmittels aufgetragen wurde

Da die Hemmung in allen Konzentrationen vom Spülmittel im Experiment 1 größer als 50 % ist, kann hier kein EC_{50} -Wert bestimmt werden, sodass die Kurve von Experiment 1 in Abbildung 25 nicht dargestellt ist. Alle in den Tabellen von Abbildung 25 angegebenen Werte beziehen sich auf die dargestellte Kurve von Experiment 2. Der EC_{50} -Wert liegt bei 206,7 mg/l in einem Vertrauensintervall von 139,5 mg/l bis 306,3 mg/l.

In Tabelle 17 werden die EC_{50} -Werte und die Steigungen der Kurven (Hill slope) je Probe dargestellt. Bei LMZ 4 ist keine Kurvenanpassung möglich, sodass der EC_{50} -Wert und die Steigung je Experiment dargestellt werden. Beim Spülmittel werden nur der EC_{50} -Wert und die Steigung von Experiment 2 angegeben, da der EC_{50} -Wert von Experiment 1 nicht bestimmt werden kann.

Tabelle 17: EC_{50} -Werte und Steigungen (Hill slope) der Dosis-Wirkung-Kurven im LBT

Probe	EC_{50} [mg/l]	Hill slope
LMZ 1	28,56	1,163
LMZ 2	2737	1,073
LMZ 3	83,21	1,061
LMZ 4 Experiment 1	661,2	1,297
LMZ 4 Experiment 2	261,9	0,7579
Spülmittel Experiment 2	206,7	0,5832

LMZ 1 wirkt im LBT am toxischsten, da es den kleinsten EC_{50} -Wert aufweist. LMZ 2 wirkt hier am wenigsten toxisch, da es den größten EC_{50} -Wert aufweist. LMZ 3 hat den zweitkleinsten EC_{50} -Wert, wobei er um ca. 54 mg/l oberhalb von dem Wert von LMZ 1 liegt. Der EC_{50} -Wert von LMZ 4 im Experiment 1 ist am zweitgrößten, wobei er um ca. 2076 mg/l unterhalb von dem von LMZ 2 liegt. LMZ 4 liegt mit seinem EC_{50} -Wert um ca. 2475 mg/l unterhalb von dem von LMZ 2, sodass hier der drittgrößte Wert vorliegt. Auffallend ist, dass das Spülmittel mit einem EC_{50} -Wert von 206,7 mg/l im Experiment 2 etwa in der Mitte liegt, da LMZ 1 und 3 kleinere und LMZ 2 und 4 größere EC_{50} -Werte haben als das Spülmittel. So eignet sich das getestete Spülmittel gut als Referenz zu den getesteten LMZ im LBT.

Bei Betrachtung der Steigung der Dosis-Wirkungs-Kurven fällt auf, dass *Vibrio fischeri* am empfindlichsten auf LMZ 4 im Experiment 1 reagiert, da hier die größte Steigung vorliegt. Am wenigsten empfindlich reagieren die Testorganismen auf das Spülmittel, da hier die kleinste Steigung vorliegt. Bei Betrachtung der LMZ reagiert *Vibrio fischeri* am wenigsten empfindlich auf LMZ 4 im Experiment 2. Die zweitgrößte Steigung zeigt die Kurve von LMZ 1, gefolgt von LMZ 2. Die zweitkleinste Steigung zeigt LMZ 3. Zwar reagiert *Vibrio fischeri* am wenigsten empfindlich auf das getestete Spülmittel, dennoch ist der EC_{50} -Wert hier am drittkleinsten. LMZ 1 zeigt sowohl eine hohe akute Toxizität als auch eine hohe Empfindlichkeit gegenüber den Testorganismen. LMZ 2 besitzt im LBT zwar den größten EC_{50} -Wert, dennoch hat es die drittgrößte Steigung.

Algenwachstumshemmtest

Die Wachstumsraten der Kontrollen in allen Platten liegen unterhalb von 1,4 je Tag, wobei die höchste 1,19 und die kleinste 0,89 je Tag beträgt. Die Wachstumsrate in der Kontrollplatte beträgt 1,06 je Tag. Bei fünf von sieben Proben liegt der Variationskoeffizient der Kontrollen oberhalb von 5 %, wobei der höchste 10,06 % und der kleinste 1,33 % beträgt. Der Variationskoeffizient der Kontrollplatte beträgt 7,31 %. Alle weiteren Gültigkeitskriterien werden eingehalten.

In den Abbildungen 26 bis 30 sind die Mittelwerte der Hemmungen des Algenwachstums in Abhängigkeit zur getesteten Konzentration der Proben aufgetragen. In den Tabellen 18 bis 22 sind die

Variationskoeffizienten der Mittelwerte der Hemmungen je Probenkonzentration am 3. Tag (T3) des AT dargestellt. Variationskoeffizienten, die den Wert von 5 % überschreiten, sind in den Tabellen rot markiert.

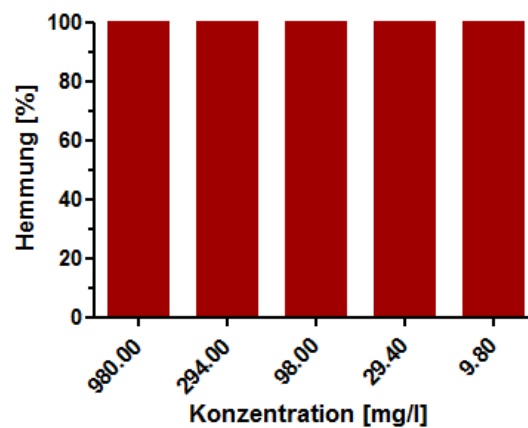


Abbildung 26: Mittelwerte der Hemmungen des Wachstums im AT in Abhängigkeit zur jeweiligen Konzentration des LMZ 1

Tabelle 18: Variationskoeffizienten der Mittelwerte der Hemmungen je Konzentration von LMZ 1 am 3. Tag (T3) des AT

Probenkonzentration in mg/l:	980,00	294,00	98,00	29,40	9,80
Variationskoeffizient bei T3 in %:	0,56	2,31	1,69	1,37	1,15

LMZ 1 zeigt in Abbildung 26 in allen getesteten Konzentrationen eine Hemmung von ca. 100 %. Die Variationskoeffizienten der Kontrollen liegen bei 7,86 % in der Platte mit den beiden höchsten Konzentrationen von LMZ 1 und bei 1,33 % in der zweiten Platte bei T3. In Tabelle 18 liegen alle Variationskoeffizienten der Proben unterhalb von 5 %.

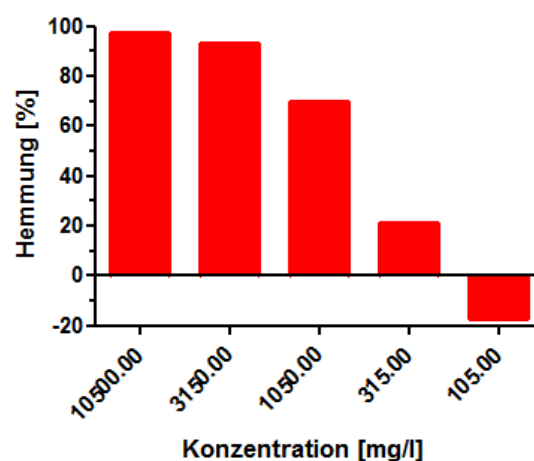


Abbildung 27: Mittelwerte der Hemmungen des Wachstums im AT in Abhängigkeit zur jeweiligen Konzentration des LMZ 2

Tabelle 19: Variationskoeffizienten der Mittelwerte der Hemmungen je Konzentration von LMZ 2 am 3. Tag (T3) des AT, alle Variationskoeffizienten oberhalb von 5 % sind rot markiert

Probenkonzentration in mg/l:	10500,00	3150,00	1050,00	315,00	105,00
Variationskoeffizient bei T3 in %:	16,44	9,89	12,79	7,91	31,03

In Abbildung 27 ist bei LMZ 2 in der kleinsten Konzentration von 105,00 mg/l eine Stimulation des Algenwachstums um 20 % (-20 % Hemmung) zu beobachten. Bei der höchsten Konzentration von 10500,00 mg/l liegt die Hemmung bei ca. 98 %. Der Variationskoeffizient der Kontrolle der Platte von LMZ 2 beträgt 1,98 % bei T3, welcher unterhalb von 5 % liegt. In Tabelle 19 liegen alle Variationskoeffizienten von LMZ 2 oberhalb von 5 %, wobei der größte bei 31,03 % (bei 105,00 mg/l) und der kleinste bei 7,91 % (bei 315,00 mg/l) liegen.

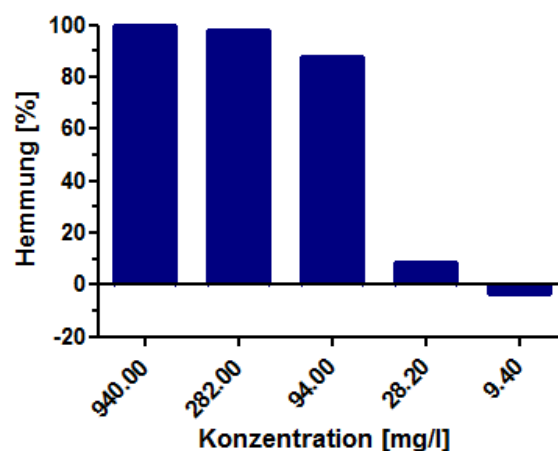


Abbildung 28: Mittelwerte der Hemmungen des Wachstums im AT in Abhängigkeit zur jeweiligen Konzentration des LMZ 3

Tabelle 20: Variationskoeffizienten der Mittelwerte der Hemmungen je Konzentration von LMZ 3 am 3. Tag (T3) des AT, alle Variationskoeffizienten oberhalb von 5 % sind rot markiert

Probenkonzentration in mg/l:	940,00	282,00	94,00	28,20	9,40
Variationskoeffizient bei T3 in %:	1,00	6,55	1,10	2,51	9,09

Bei LMZ 3 ist in Abbildung 28 eine Stimulation des Wachstums um 5 % (-5 % Hemmung) bei der kleinsten Konzentration von 9,40 mg/l zu beobachten. Bei der höchsten Konzentration von 940,00 mg/l wurde eine Hemmung von 100 % gemessen. Die Variationskoeffizienten der Kontrollen liegen bei 6,25 % in der Platte mit den beiden höchsten Konzentrationen von LMZ 3 und bei 10,06 % in der zweiten Platte bei T3. Beide liegen oberhalb von 5 %. In Tabelle 20 liegen zwei von fünf Variationskoeffizienten der Proben bei LMZ 3 oberhalb von 5 %, wobei der höchste bei 9,09 % (bei 9,40 mg/l) und der kleinste bei 1,00 % (bei 940,00 mg/l) liegen.

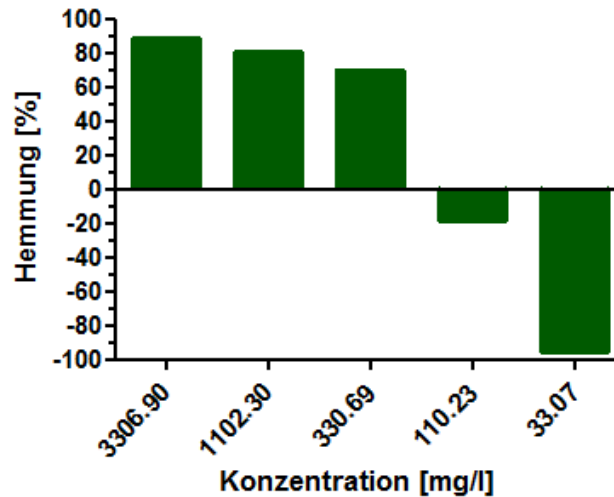


Abbildung 29: Mittelwerte der Hemmungen des Wachstums im AT in Abhängigkeit zur jeweiligen Konzentration des LMZ 4

Tabelle 21: Variationskoeffizienten der Mittelwerte der Hemmungen je Konzentration von LMZ 4 am 3. Tag (T3) des AT, alle Variationskoeffizienten oberhalb von 5 % sind rot markiert

Probenkonzentration in mg/l:	3306,90	1102,30	330,69	110,23	33,07
Variationskoeffizient bei T3 in %:	5,78	3,69	26,31	11,84	4,36

In Abbildung 29 ist bei LMZ 4 in den beiden kleinsten Konzentrationen eine Stimulation des Wachstums zu beobachten, welche bei 33,07 mg/l 98 % und bei 110,23 mg/l 20 % beträgt. Die Hemmung in der höchsten Konzentration liegt bei 90 %. Der Variationskoeffizient der Kontrolle der Platte von LMZ 4 beträgt 7,57 % bei T3 und liegt damit oberhalb von 5 %. In Tabelle 21 liegen drei von fünf Variationskoeffizienten der Proben von LMZ 4 oberhalb von 5 %, wobei der höchste bei 26,31 % und der kleinste bei 3,69 % liegen.

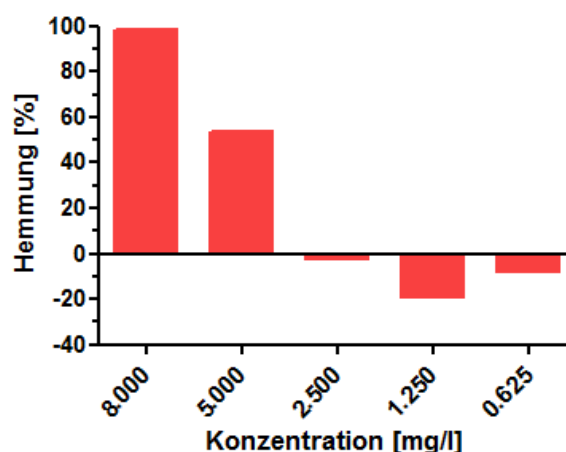


Abbildung 30: Mittelwerte der Hemmungen des Wachstums im AT in Abhängigkeit zur jeweiligen Konzentration von 3,5-DCP

Tabelle 22: Variationskoeffizienten der Mittelwerte der Hemmungen je Konzentration von 3,5-DCP am 3. Tag (T3) des AT, alle Variationskoeffizienten oberhalb von 5 % sind rot markiert

Probenkonzentration in mg/l:	8,000	5,000	2,500	1,250	0,625
Variationskoeffizient bei T3 in %:	9,87	13,37	2,42	5,95	9,38

In Abbildung 30 zeigt 3,5-DCP in den kleinsten Konzentrationen von 2,5 mg/l, 1,25 mg/l und 0,625 mg/l eine Stimulation des Wachstums, welche bei 2,5 mg/l 2 %, bei 1,25 mg/l 20 % und bei 0,625 mg/l 8 % beträgt. In der höchsten Konzentration von 3,5-DCP liegt die Hemmung bei 100 %. Der Variationskoeffizient der Kontrolle der Platte von 3,5-DCP beträgt 5,70 %. In Tabelle 22 liegen vier von fünf Variationskoeffizienten der Proben von 3,5-DCP oberhalb von 5 %, wobei der höchste bei 13,37 % (bei 5,000 mg/l) und der kleinste bei 2,42 % (bei 2,500 mg/l) liegen.

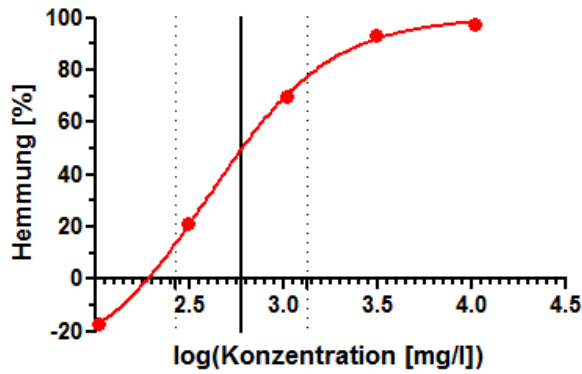
Für die Erstellung der Dosis-Wirkungs-Kurven mit den Daten aus den Abbildungen 26 bis 30 wird nach DIN EN ISO 8692 das Hormesis-Modell angewendet, da Stimulationen des Algenwachstums vorliegen [7]. Die Dosis-Wirkungs-Kurven der Proben werden mittels nicht-linearer Regression (GraphPad PRISM®) erstellt, indem die vom Programm definierte Regressionsfunktion „log(agonist) vs. Response – Find ECanything“ verwendet wird. Das Programm berechnet den EC₅₀-Wert bei 50 % der Differenz von der maximalen (y_{max}) und der minimalen Hemmung (y_{min}). Dadurch, dass y_{min} bei der Hormesis einen negativen Wert annimmt, würde der vom Programm ermittelte EC₅₀-Wert unterhalb von 50 % Hemmung liegen. Bei „log(agonist) vs. Response – Find ECanything“ ist es möglich, einen anderen EC_F-Wert neben dem EC₅₀-Wert zu bestimmen. In der Regressionsfunktion wird ein Wert für F definiert, bei dem der wirkliche EC₅₀-Wert liegt. Formel 6 zeigt die Berechnung der Konstanten F.

$$(6) \quad F = \frac{(50 \% + |y_{\min}|) \cdot 100}{(y_{\max} + |y_{\min}|)}$$

Es wird ein Vertrauensintervall von 95 % definiert. Nach der Bestimmung des EC₅₀-Wertes wird mit der Varianzanalyse One-way-ANOVA und dem Post-test nach Bonferroni der NOEC-Wert je Probe bestimmt. Dabei wird ein Signifikanzniveau von 5 % gewählt. Beim Vergleich zwischen der Hemmung je Probenkonzentration und der Kontrolle der jeweiligen Probenplatte wird der Wert als NOEC genommen, der als letzter einen p-Wert oberhalb von 0,05 aufweist.

In den Abbildungen 31 bis 34 sind die Dosis-Wirkungs-Kurven der Proben aufgetragen, worin die Hemmung des Algenwachstums in Abhängigkeit zum dekadischen Logarithmus der Probenkonzentrationen aufgetragen ist. Der EC₅₀-Wert ist mit einer durchgängigen vertikalen Linie und das Vertrauensintervall, in dem der EC₅₀-Wert liegt, mit gestrichelten vertikalen Linien dargestellt. Neben den Diagrammen befinden sich Tabellen, in denen die ökotoxikologischen Endpunkte, die Steigung und die Genauigkeit der Kurve dargestellt sind.

Eine Bestimmung des EC₅₀- und des NOEC-Wertes von LMZ 1 ist nicht möglich, da alle gemessenen Hemmungen oberhalb von 50 % liegen. Der EC₅₀-Wert liegt also unterhalb von der kleinsten getesteten Konzentration von 9,80 mg/l.



ökotoxikologische Endpunkte:

log(EC ₅₀):	2,78
EC ₅₀ :	602,8 mg/l
NOEC:	315,0 mg/l

Steigung:

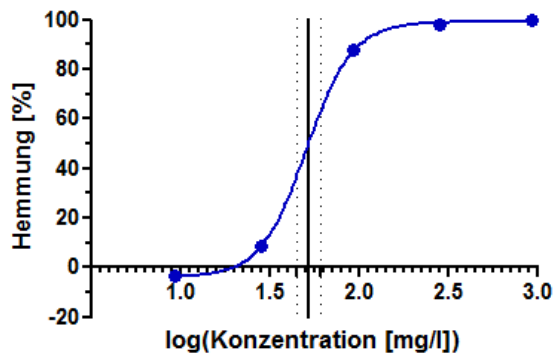
Hill slope:	1,353
-------------	-------

Genauigkeit:

R ² :	0,9044
absolute Summe der Quadrate:	3119

Abbildung 31: Dosis-Wirkungs-Kurve, EC₅₀-Wert, NOEC-Wert, Steigung und Genauigkeit der Regressionskurve von LMZ 2 im AT, wobei die Hemmung in Abhängigkeit zur Konzentration des LMZ aufgetragen wurde

Der EC₅₀-Wert von LMZ 2 liegt in Abbildung 31 bei 602,8 mg/l im Vertrauensintervall von 269,0 mg/l bis 1351 mg/l und wurde in GraphPad PRISM® bei der Konstanten F von 63,23 (EC_{63,23}) ermittelt.



ökotoxikologische Endpunkte:

log(EC ₅₀):	1,719
EC ₅₀ :	52,37 mg/l
NOEC:	28,20 mg/l

Steigung:

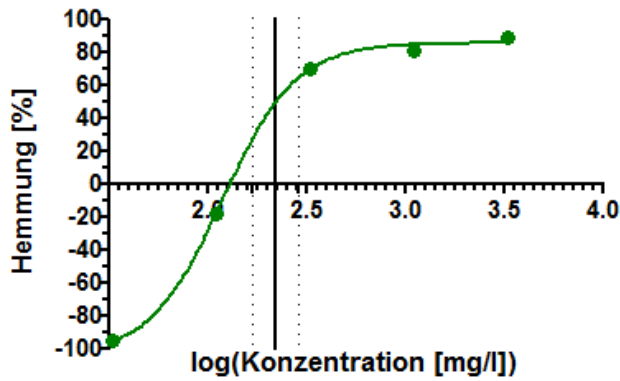
Hill slope:	3,385
-------------	-------

Genauigkeit:

R ² :	0,9931
absolute Summe der Quadrate:	218,3

Abbildung 32: Dosis-Wirkungs-Kurve, EC₅₀-Wert, NOEC-Wert, Steigung und Genauigkeit der Regressionskurve von LMZ 3 im AT, wobei die Hemmung in Abhängigkeit zur Konzentration des LMZ aufgetragen wurde

Der EC₅₀-Wert von LMZ 3 liegt in Abbildung 32 bei 52,37 mg/l im Vertrauensintervall von 45,00 mg/l bis 60,96 mg/l und wurde im Programm bei der Konstanten F von 52,39 (EC_{52,39}) bestimmt.



ökotoxikologische Endpunkte:

log(EC ₅₀):	2,347
EC ₅₀ :	222,2 mg/l
NOEC:	110,2 mg/l

Steigung:

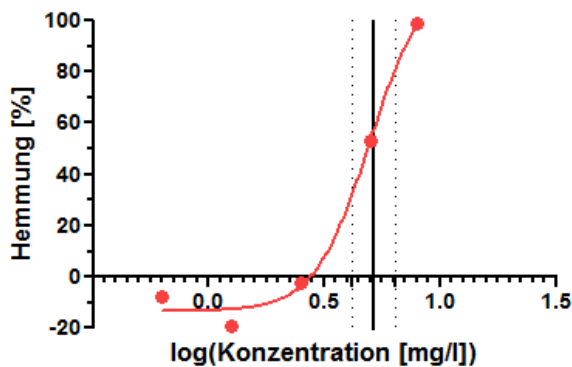
Hill slope:	2,357
-------------	-------

Genauigkeit:

R ² :	0,9878
absolute Summe der Quadrate:	948,2

Abbildung 33: Dosis-Wirkungs-Kurve, EC₅₀-Wert, NOEC-Wert, Steigung und Genauigkeit der Regressionskurve von LMZ 4 im AT, wobei die Hemmung in Abhängigkeit zur Konzentration des LMZ aufgetragen wurde

In Abbildung 33 liegt der EC₅₀-Wert von LMZ 4 bei 222,2 mg/l im Vertrauensintervall von 170,6 mg/l bis 289,5 mg/l. Der Wert für F beträgt 81,19 (EC_{81,19}).



ökotoxikologische Endpunkte:

log(EC ₅₀):	0,7120
EC ₅₀ :	5,152 mg/l
NOEC:	2,500 mg/l

Steigung:

Hill slope:	3,670
-------------	-------

Genauigkeit:

R ² :	0,9777
absolute Summe der Quadrate:	676,7

Abbildung 34: Dosis-Wirkungs-Kurve, EC₅₀-Wert, NOEC-Wert, Steigung und Genauigkeit der Regressionskurve von 3,5-DCP im AT, wobei die Hemmung in Abhängigkeit zur Konzentration von DCP aufgetragen wurde

In Abbildung 34 liegt der EC₅₀-Wert von 3,5-DCP bei 5,152 mg/l im Vertrauensintervall von 4,154 mg/l bis 6,391 mg/l und wurde bei einem Wert für F von 53,71 (EC_{53,71}) bestimmt.

In Tabelle 23 sind die Steigungen der Dosis-Wirkungs-Kurven (Hill slope), die EC₅₀- und NOEC-Werte der Proben im AT dargestellt.

Tabelle 23: Steigung der Dosis-Wirkungs-Kurve (Hill slope), der EC₅₀- und NOEC- Werte je Probe im AT

Probe	EC ₅₀ [mg/l]	NOEC [mg/l]	Hill slope
LMZ 1	< 9,800	nicht erhoben	nicht erhoben
LMZ 2	602,8	315,0	1,353
LMZ 3	52,37	28,20	3,385
LMZ 4	222,2	110,2	2,357
3,5-DCP	5,152	2,500	3,670

Bei Betrachtung der LMZ im Algentest wirkt LMZ 1 am toxischsten, da der EC₅₀-Wert am kleinsten ist. Der EC₅₀-Wert von LMZ 1 kann mit den hier vorliegenden Daten nicht exakt bestimmt werden, sodass bei der Betrachtung aller Proben unklar ist, ob LMZ 1 oder 3,5-DCP am toxischsten auf die Testorganismen wirkt. Bei beiden Proben liegen die kleinsten EC₅₀-Werte. Am wenigsten toxisch wirkt LMZ 2 auf *Raphidocelis subcapitata*, da es die größten EC₅₀- und NOEC-Werte aufweist. Zudem reagieren die Testorganismen am wenigsten empfindlich auf LMZ 2, da die Steigung am kleinsten ist. Für LMZ 1 kann aufgrund der vorliegenden Daten keine Steigung berechnet werden. Die größte Steigung liegt bei 3,5-DCP, sodass die Testorganismen am empfindlichsten auf die Positivkontrolle reagierten. LMZ 3 hat die zweitgrößte Steigung und die drittgrößten EC₅₀- und NOEC-Werte. LMZ 4 hat die drittgrößte Steigung und die zweitgrößten EC₅₀- und NOEC-Werte. Den kleinsten NOEC-Wert hat 3,5-DCP, sodass LMZ 2 und 4 nicht toxischer auf die Testorganismen wirkten als 3,5-DCP. Bei LMZ 2, 3 und 4 kann eine Stimulation des Algenwachstums in den kleinsten getesteten Konzentrationen der LMZ festgestellt werden. Hier muss geprüft werden, ob eine Hormesis stattgefunden hat.

Vergleich der Ergebnisse aus AT und LBT

In Tabelle 24 sind alle getesteten Proben mit den im Algentest und Leuchtbakterientest ermittelten EC₅₀- und NOEC-Werten dargestellt.

Tabelle 24: Vergleich der EC₅₀- und NOEC-Werte aus LBT und AT je getestete Probe

Probe	EC ₅₀ aus LBT [mg/l]	EC ₅₀ aus AT [mg/l]	NOEC aus AT [mg/l]
LMZ 1	28,56	< 9,800	nicht erhoben
LMZ 2	2737	602,8	315,0
LMZ 3	83,21	52,37	28,20
LMZ 4 Experiment 1	661,2	222,2	110,2
LMZ 4 Experiment 2	261,9		
Spülmittel Experiment 2	206,7	nicht getestet	nicht getestet
3,5-DCP	nicht erhoben	5,152	2,500

Im Algentest liegen alle ermittelten EC₅₀-Werte der LMZ unterhalb derer im LBT ermittelten. Wie stark der Unterschied im EC₅₀-Wert je LMZ beim Vergleich der Ergebnisse von AT und LBT ist, hängt vom getesteten LMZ ab. So liegt der EC₅₀-Wert von LMZ 1 im AT im Bereich von 1 mg/l bis 10 mg/l und ist somit um den Faktor zehn kleiner als der im LBT ermittelte Wert. Auch der im AT ermittelte EC₅₀-Wert von LMZ 2 liegt um den Faktor zehn unterhalb von dem im LBT ermittelten Wert. Zwar liegt bei LMZ 3 und 4 der jeweils im AT ermittelte EC₅₀-Wert in derselben Größenordnung wie die Werte im LBT, aber die im AT ermittelten Werte sind kleiner als die im LBT bestimmten. Demzufolge ist die akute Toxizität je LMZ gegenüber *Raphidocelis subcapitata* größer als die gegenüber *Vibrio fischeri*.

Zwar unterscheiden sich die EC₅₀-Werte im AT von jenen im LBT, dennoch liegt bei der Betrachtung der LMZ die größte akute Toxizität in beiden Tests bei LMZ 1 und die kleinste bei LMZ 2. Die zweitgrößte Toxizität liegt in beiden Tests bei LMZ 3, gefolgt von LMZ 4 im Experiment 1 und 2. Auch bei der Betrachtung der NOEC-Werte im AT kann diese Reihenfolge beobachtet werden.

Das Spülmittel wurde nur im LBT getestet, sodass an dieser Stelle kein Vergleich möglich ist.

Tabelle 25 stellt die Steigungen der Dosis-Wirkungs-Kurven im LBT und im AT je Probe dar. Es wird der von GraphPad PRISM® berechnete Hill slope je Probe dargestellt.

Tabelle 25: Vergleich der Steigungen der Dosis-Wirkungs-Kurven im LBT und AT je Probe unter Verwendung der Werte der Hill slope

Probe	Hill slope im LBT	Hill slope im AT
LMZ 1	1,163	nicht erhoben
LMZ 2	1,073	1,353
LMZ 3	1,061	3,385
LMZ 4 Experiment 1	1,297	2,357
LMZ 4 Experiment 2	0,7579	
Spülmittel Experiment 2	0,5832	nicht getestet
3,5-DCP	nicht erhoben	3,670

Die größte Steigung liegt im LBT bei der Dosis-Wirkungs-Kurve von LMZ 4 im Experiment 1, während die kleinste Steigung beim Spülmittel liegt. Die zweitgrößte Steigung zeigt die Kurve von LMZ 1, gefolgt von LMZ 2. Danach folgen LMZ 3 und LMZ 4 im Experiment 2. Im AT liegt die größte Steigung bei LMZ 3 und die kleinste bei LMZ 2. Die zweitgrößte Steigung liegt bei LMZ 4.

Die Werte der Steigungen der LMZ 2 bis 4 liegen im AT deutlich oberhalb derer im LBT, sodass *Raphidocelis subcapitata* empfindlicher auf die LMZ reagiert als *Vibrio fischeri*. *Raphidocelis subcapitata* reagiert auf LMZ 3 und *Vibrio fischeri* auf LMZ 4 im Experiment 1 von den getesteten LMZ am empfindlichsten. Bei der Betrachtung der LMZ reagiert *Vibrio fischeri* auf LMZ 3 und *Raphidocelis subcapitata* auf LMZ 2 am wenigsten empfindlich. Bei der Betrachtung aller getesteten Proben reagiert *Vibrio fischeri* am wenigsten empfindlich auf das Spülmittel. Die Organismen reagieren demzufolge unterschiedlich auf die getesteten LMZ.

Test zur leichten biologischen Abbaubarkeit/Bestimmung des BSB₅

Bestimmung des CSB

Tabelle 26 stellt die gemessenen CSB-Werte der angegebenen Probenverdünnungen und der unverdünnten Proben dar. Zur Berechnung der CSB-Werte der unverdünnten Proben wurde der CSB-Wert je Probe mit dem jeweiligen Verdünnungsfaktor multipliziert.

Tabelle 26: Messwerte des CSB je Probe in der angegebenen Verdünnung und umgerechnete CSB-Werte der unverdünnten Proben

Probe	Verdünnungsfaktor	gemessener CSB der verdünnten Probe [mg O ₂ /l]	gemessener CSB der unverdünnten Probe [mg O ₂ /l]
LMZ 1	500	3071	1535500
LMZ 2	50	6612	330600
LMZ 3	1100	1176	1293600
LMZ 4	50	6984	349200
Glucose	15400	155	2387000
Ablaufmaterial	100	29	2900

Die gemessenen CSB-Werte der unverdünnten Proben werden in die CSB-Werte der 1:1000 und 1:10000 verdünnten Proben mittels Division durch den entsprechenden Verdünnungsfaktor aus Tabelle 27 umgerechnet und mit dem Faktor 0,5 multipliziert, um den zu erwartenden BSB abschätzen zu können. Tabelle 27 stellt den CSB der 1:1000 und 1:10000 verdünnten Proben, den zu erwartenden

BSB und das in die Messflasche eingesetzte Volumen je Probe dar. Das eingesetzte Volumen bezieht sich auf den zu erwartenden BSB und wurde Tabelle 5 im Kapitel „Material und Methoden“ entnommen.

Tabelle 27: Verdünnungsfaktor, CSB-Wert, zu erwartender BSB und in die Messflasche eingesetztes Volumen je getestete Probenverdünnung

Probe	Verdünnungsfaktor	CSB der verdünnten Probe [mg O ₂ /l]	erwarteter BSB [mg O ₂ /l]	eingesetztes Volumen [ml]
LMZ 1	1000	1535,50	767,75	97
LMZ 1	10000	153,55	76,78	365
LMZ 2	1000	330,60	165,30	164
LMZ 2	10000	33,06	16,53	432
LMZ 3	1000	1293,60	646,80	97
LMZ 3	10000	129,36	64,68	365
LMZ 4	1000	349,20	174,60	164
LMZ 4	10000	34,92	17,46	432
Glucose	61600	38,75	19,38	432
Ablaufmaterial	100	29,00	14,50	432

Bestimmung des BSB und Darstellung der Abbaukurven

Alle Messwerte wurden am 5. Tag aus dem Speicher des OxiTop[®]-Messgerätes ausgelesen. In Tabelle 28 sind alle BSB-Messwerte je Probenverdünnung dargestellt. Bei einigen Proben konnte am 5. Tag kein Messwert erhoben werden, sodass eine leere Zelle dargestellt ist.

Tabelle 28: gemessene BSB-Werte je Probenverdünnung und Tag in mg O₂/l

Probe	Verdünnung	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5
LMZ 1	1:1000	0	0	1	1	
LMZ 1	1:10000	0	0	0	1	
LMZ 2	1:1000	0	0	2	2	
LMZ 2	1:10000	1	6	9	11	12
LMZ 3	1:1000	0	0	0	0	
LMZ 3	1:10000	0	3	3	4	
LMZ 4	1:1000	0	0	0	1	
LMZ 4	1:10000	0	2	4	6	
Glucose	1:61600	4	16	26	33	37
Ablaufmaterial	1:100	0	1	1	1	1

Alle gemessenen BSB-Werte der Blindprobe liegen unterhalb des von der DIN EN 1899-1 definierten Höchstwertes von 1,5 mg O₂/l [8], sodass sich wenige abbaubare Substanzen im Ablaufmaterial befanden und das Gültigkeitskriterium eingehalten wurde.

Die in Tabelle 29 dargestellten BSB-Werte des Ablaufmaterials pro Tag ($BSB_{n,blind}$) wurden mit den in Tabelle 28 angegebenen Messwerten des Ablaufmaterials ($BSB_{n,mess,blind}$) unter Verwendung der im Kapitel „Material und Methoden“ angegebenen Formel 1 berechnet.

Tabelle 29: berechnete BSB-Werte des Ablaufmaterials der Kläranlage je Tag in $mg\ O_2/l$

Probe	Verdünnungsfaktor	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5
Ablaufmaterial	100	0	100	100	100	100

Unter Verwendung der Formeln 2 und 3 aus dem Kapitel „Material und Methoden“ wurden die BSB-Werte der LMZ und von Glucose je Tag (BSB_n) mit den Messwerten aus Tabelle 28 ($BSB_{n,mess}$) und den berechneten BSB-Werten des Ablaufmaterials ($BSB_{n,blind}$) aus Tabelle 29 berechnet. Die Ergebnisse dieser Berechnungen sind in Tabelle 30 angegeben.

Tabelle 30: berechnete BSB-Werte der LMZ je Verdünnung und von Glucose je Tag in $mg\ O_2/l$

Probe	Verdünnung	Tag 0	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5
LMZ 2	1:1000	0	0	-2	19998	19998	
LMZ 2	1:10000	0	10000	59998	89998	109998	119998
LMZ 1	1:1000	0	0	-2	19998	19998	
LMZ 1	1:10000	0	0	-2	-2	19998	
LMZ 3	1:1000	0	0	-2	-2	-2	
LMZ 3	1:10000	0	0	59998	59998	79998	
LMZ 4	1:1000	0	0	-2	-2	9998	
LMZ 4	1:10000	0	0	19998	39998	59998	
Glucose	1:61600	0	246400	985599	1601599	2032799	2279199

Einige BSB-Werte liegen unterhalb von $0\ mg\ O_2/l$, was anzeigt, dass der biologische Abbau von bereits im Ablauf befindlichen Substanzen größer war als der der LMZ. Demzufolge fand an diesen Tagen kein oder ein geringer, nicht messbarer Abbau an LMZ statt, sodass die negativen Werte in den Abbildungen 35 bis 38 auf $0\ mg\ O_2/l$ gerundet werden.

Die Abbildungen 35 bis 38 stellen die Abbaukurven je unverdünnte Probe dar. Auf der vertikalen Achse sind die BSB-Werte in $mg\ O_2/l$ und auf der horizontalen Achse ist die Zeit in Tagen dargestellt. Da es nicht möglich ist, eine geeignete Regressionskurve zu bestimmen, werden alle Messpunkte mit einem gestrichelten Graph miteinander verbunden. Die Abbaukurven wurden mit Microsoft® EXCEL 2013 erstellt.

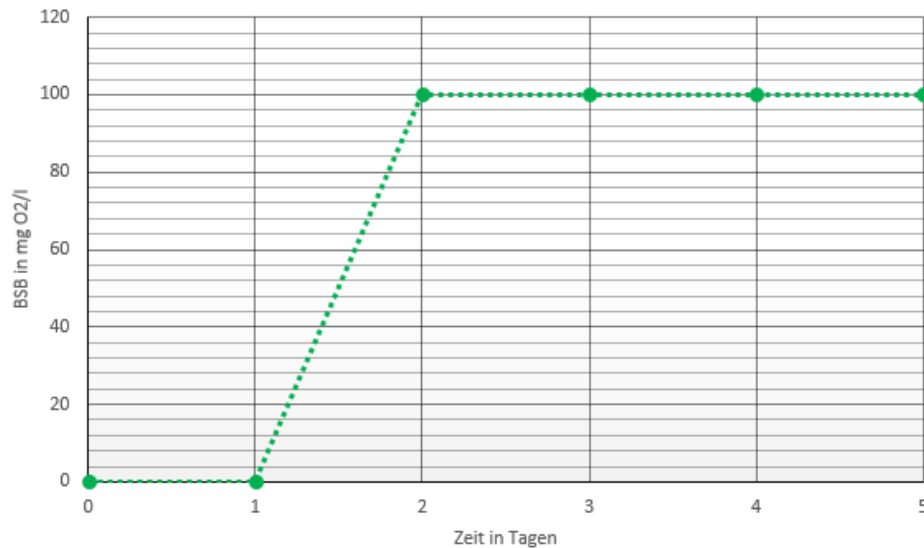


Abbildung 35: Abbaukurve des Ablaufmaterials der Kläranlage (Blindprobe) im Test zur Bestimmung des BSB₅, worin die BSB-Werte in Abhängigkeit zum Messtag aufgetragen sind

Die Abbaukurve des Ablaufmaterials der Kläranlage zeigt in Abbildung 35 bis zum 1. Tag einen kontinuierlichen Verlauf bei 0 mg O₂/l. Nach dem 1. Tag steigt sie bis auf 100 mg O₂/l innerhalb eines Tages an und verläuft ab dem 2. Tag konstant bei 100 mg O₂/l bis zum Testende. Bei der Betrachtung der Abbaukurve des Ablaufmaterials ist nach dem 2. Tag kein weiterer Sauerstoffverbrauch zu beobachten, sodass eine negative Beeinflussung der Ergebnisse durch organische Substanzen, die sich bereits im Ablauf der Kläranlage befinden und in größeren Mengen parallel abgebaut werden, auszuschließen ist.

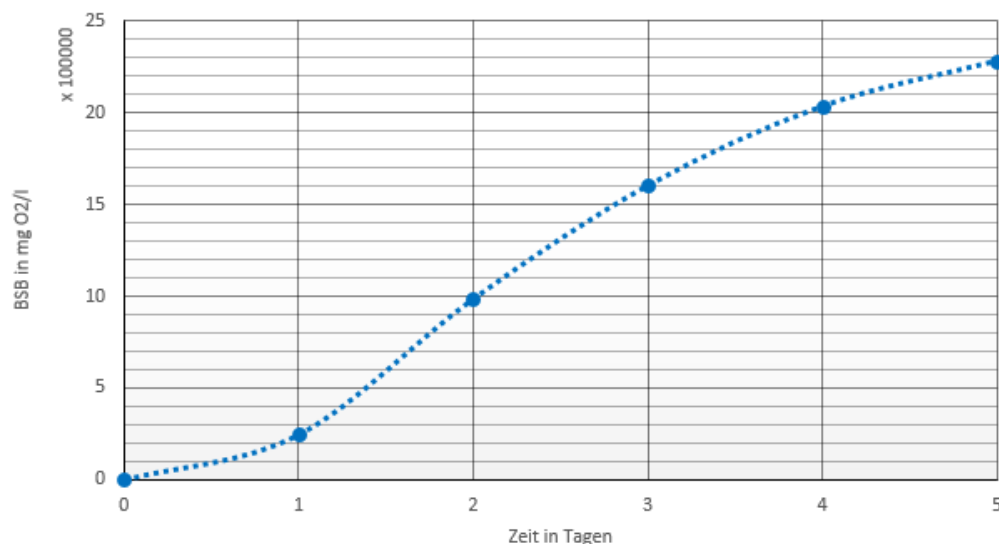


Abbildung 36: Abbaukurve von Glucose (Positivkontrolle) im Test zur Bestimmung des BSB₅, worin die BSB-Messwerte in Abhängigkeit zum Messtag aufgetragen sind

In Abbildung 36 ist die Kurve von Glucose dargestellt, welche bis zum 1. Tag eine geringe Steigung zeigt und danach bis zum 2. Tag zunimmt. Ab dem 2. Tag nimmt die Steigung stetig ab und die Kurve erreicht am 5. Tag einen BSB von ca. $23 \cdot 10^5$ mg O₂/l.

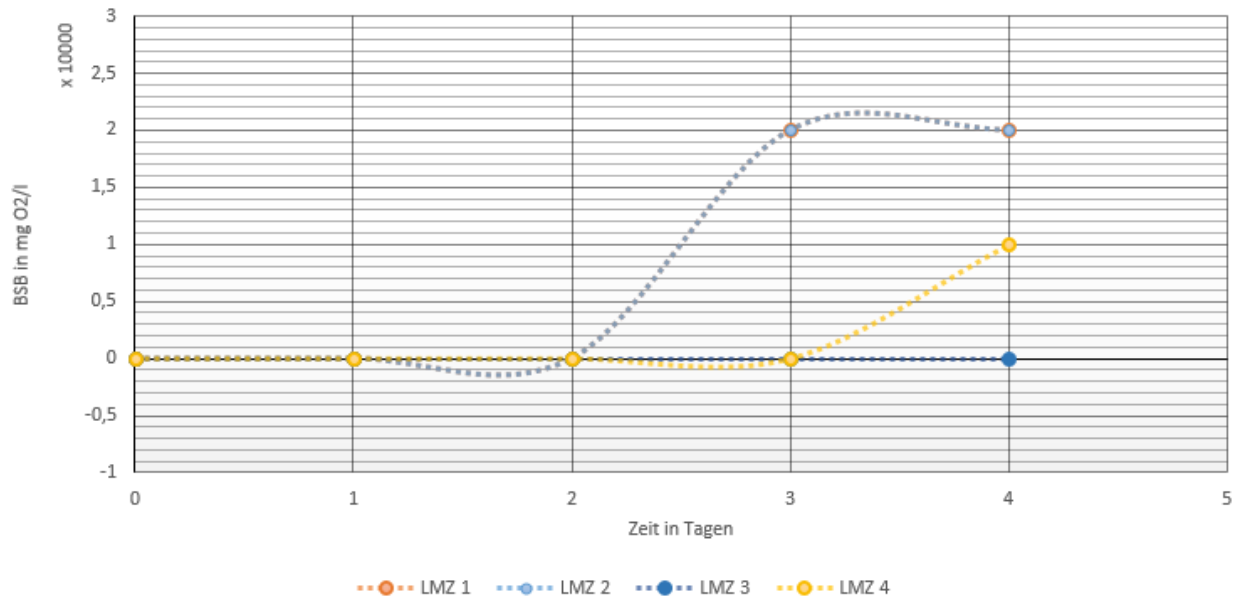


Abbildung 37: Abbaukurven der unverdünnten LMZ mit den Messwerten der 1:1000 verdünnten LMZ-Proben im Test zur Bestimmung des BSB₅, worin die BSB-Messwerte in Abhängigkeit zum Messtag aufgetragen sind

In Abbildung 37 sind die Abbaukurven der LMZ in der Verdünnung von 1:1000 dargestellt. Die Kurven von LMZ 2 und LMZ 1 überschneiden sich, sodass die Kurve von LMZ 1 in dieser Abbildung nicht dargestellt ist. Beide Kurven zeigen zunächst einen konstanten Verlauf bei 0 mg O₂/l und steigen zwischen dem 2. und 3. Tag auf $2 \cdot 10^4$ mg O₂/l an. Danach verlaufen beide Kurven konstant bei $2 \cdot 10^4$ mg O₂/l. Die Kurve von LMZ 3 zeigt einen konstanten Verlauf bei 0 mg O₂/l von Testbeginn bis zum 4. Tag. Die Abbaukurve von LMZ 4 verläuft bis zum 3. Tag konstant bei 0 mg O₂/l und steigt bis zum 4. Tag auf einen BSB von ca. $1 \cdot 10^4$ mg O₂/l an.

Bei Betrachtung von Abbildung 37 kann darauf geschlossen werden, dass die LMZ in der Verdünnung von 1:1000 die Aktivität der Mikroorganismen hemmen oder in einer geringen Menge abgebaut werden. In den ersten Tagen hemmten LMZ 1, 2 und 4 die Aktivität der Mikroorganismen oder wurden in geringen, nicht messbaren Mengen abgebaut. Danach verzeichnen die Abbaukurven der genannten LMZ einen geringen Anstieg. LMZ 3 wird in dieser Verdünnung nicht oder in geringen, nicht messbaren Mengen bis zum 4. Tag abgebaut.

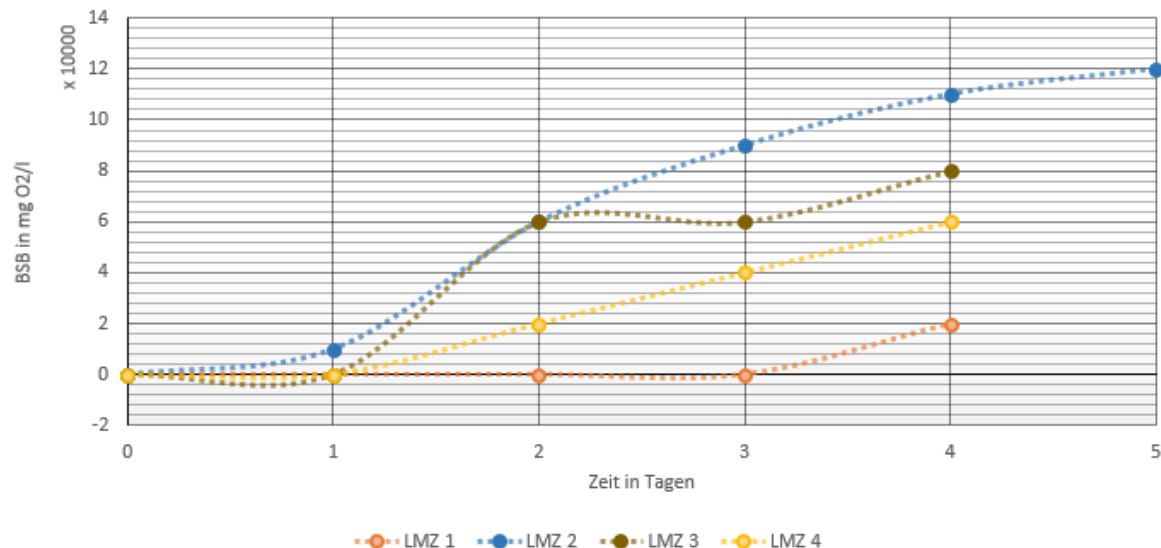


Abbildung 38: Abbaukurven der unverdünnten LMZ mit den Messwerten der 1:10000 verdünnten LMZ-Proben im Test zur Bestimmung des BSB₅, worin die BSB-Messwerte in Abhängigkeit zum Messtag aufgetragen sind

In Abbildung 38 sind die Abbaukurven der LMZ in der Verdünnung von 1:10000 dargestellt. Die Kurve von LMZ 1 zeigt einen konstanten Verlauf bei 0 mg O₂/l bis zum 3. Tag. Zwischen dem 3. und 4. Tag steigt die Kurve auf einen BSB von $2 \cdot 10^4$ mg O₂/l an. Die Abbaukurve von LMZ 2 verläuft bis zum 1. Tag mit einer geringen Steigung, welche bis zum 2. Tag zunimmt. Ab dem 2. Tag nimmt die Steigung ab und die Kurve erreicht am 5. Tag einen Wert von $12 \cdot 10^4$ mg O₂/l. Die Kurve von LMZ 3 verläuft bis zum 1. Tag konstant bei 0 mg O₂/l und zeigt zwischen dem 1. und 2. Tag eine hohe Zunahme der Steigung, sodass am 2. Tag ein Wert von $6 \cdot 10^4$ mg O₂/l erreicht wird. Die Kurve verläuft bis zum 3. Tag konstant bei $6 \cdot 10^4$ mg O₂/l und steigt danach auf einen Wert von $8 \cdot 10^4$ mg O₂/l an. Die Abbaukurve von LMZ 4 verläuft bis zum 1. Tag konstant bei 0 mg O₂/l und steigt danach stetig an, sodass sie ab dem 1. Tag eine Gerade beschreibt, welche am 4. Tag einen Wert von $6 \cdot 10^4$ mg O₂/l annimmt.

LMZ 1, 3 und 4 zeigen in der Verdünnung von 1:10000 eine anfängliche Hemmung, wobei die Abbaukurven von LMZ 3 und 4 nach dem 1. Tag und von LMZ 1 nach dem 3. Tag einen Anstieg im Sauerstoffverbrauch zeigen. Demzufolge wird LMZ 1 in dieser Verdünnung bis zum 3. Tag nicht oder in geringen, nicht messbaren Mengen abgebaut. Die Abbaukurve von LMZ 3 zeigt in der Verdünnung von 1:10000 zwischen dem 2. und 3. Tag keinen Anstieg im Sauerstoffverbrauch, was vermutlich nicht der Realität entspricht. Würde eine geeignete Regressionskurve durch die Messpunkte gelegt werden, so würde diese vermutlich einen ähnlichen Verlauf wie die Kurve von LMZ 2 aufweisen. Fakt ist, dass es nur anfangs zu einer Hemmung der Aktivität der Mikroorganismen oder einem geringen, nicht messbaren Abbau bei LMZ 3 in dieser Verdünnung gekommen ist. LMZ 2 zeigt in der Verdünnung von 1:10000 den höchsten biologischen Abbau.

Bestimmung der Abbaubarkeit

Da am 5. Tag Messwerte fehlen, kann kein BSB₅-Wert bei allen Proben erhoben werden, sodass der BSB₄-Wert zur Bestimmung der Abbaubarkeit je Probenverdünnung herangezogen wird.

Die in Tabelle 31 dargestellten BSB₄-Werte werden der Tabelle 30 entnommen und durch den Verdünnungsfaktor je Probenverdünnung dividiert. Die in Tabelle 31 dargestellten CSB-Werte werden

Tabelle 27 entnommen. Die Abbaubarkeit wird durch die Division des BSB₄-Wertes durch den CSB-Wert je Verdünnung der LMZ und von Glucose errechnet und in % in der Tabelle 31 angegeben.

Tabelle 31: Abbaubarkeit nach vier Tagen, BSB₄- und CSB-Wert je Verdünnung der LMZ und von Glucose

Probe	Verdünnungsfaktor	BSB ₄ [mg O ₂ /l]	CSB [mg O ₂ /l]	Abbaubarkeit nach 4 Tagen [%]
Glucose	61600	32,99	38,75	85,14
LMZ 1	1000	19,98	1535,50	1,30
LMZ 1	10000	1,98	153,55	1,29
LMZ 2	1000	19,98	330,60	6,04
LMZ 2	10000	10,98	33,06	33,21
LMZ 3	1000	0,00	1293,60	0,00
LMZ 3	10000	7,98	129,36	6,17
LMZ 4	1000	9,98	349,20	2,86
LMZ 4	10000	5,98	34,92	17,12

Da die Positivkontrolle eine Abbaubarkeit von 85,14 % innerhalb von vier und von ca. 95 % nach fünf Tagen aufweist, sind Messfehler, die durch verminderte Aktivität der Mikroorganismen im Ablaufmaterial auftreten, ausgeschlossen. Die Positivkontrolle zeigt die größte biologische Abbaubarkeit, während von den Löschmittelzusätzen LMZ 2 in der Verdünnung von 1:10000 die größte Abbaubarkeit zeigt. LMZ 1 zeigt in beiden Verdünnungen die geringsten Abbaubarkeiten, welche beim Vergleich miteinander einen ähnlichen Wert aufweisen. Demzufolge sollte bei LMZ 1 eine größere Verdünnung als 1:10000 getestet werden. LMZ 3 zeigt in der Verdünnung von 1:1000 keine Abbaubarkeit bis zum 4. Tag. Die zweitgrößte Abbaubarkeit zeigt LMZ 4, gefolgt von LMZ 3, beide in der Verdünnung von 1:10000. Die Abbaubarkeiten der LMZ 2, 3 und 4 liegen in der Verdünnung von 1:10000 oberhalb derer in der Verdünnung von 1:1000. Demzufolge werden diese LMZ oberhalb einer Verdünnung von 1:10000 besser abgebaut. Da die größte Abbaubarkeit bei den LMZ unterhalb von 50 % liegt, ist hier von keiner hohen Abbaubarkeit der LMZ in den getesteten Verdünnungen bis zum 4. Tag auszugehen.

Vorversuche

Vorversuch 1: Untersuchung des Algenwachstums bei Zugabe von MOPS-Puffer

Die Wachstumsrate der Spalten ohne MOPS-Puffer liegt bei 1,24 je Tag und derer mit MOPS-Puffer bei 0,93 je Tag. Damit wird mit der Zugabe von MOPS die Wachstumsrate verringert und die Wachstumsrate kann durch diese Maßnahme nicht erhöht werden, sodass MOPS im 5. AT nicht eingesetzt wurde.

Vorversuch 2: Untersuchung, ob es zu einer Ausbreitung der LMZ über die Gasphase in den Probenplatten kommt

Von den definierten Gültigkeitskriterien des Algentests wird nur die Differenz im pH-Wert von unter 1,5 Einheiten eingehalten. Die mittlere Wachstumsrate in den Kontrollen und die Variationskoeffizienten des Wachstums in den Kontrollansätzen können nicht berechnet werden, da

nur zu Testbeginn und –ende gemessen wurde. Der Variationskoeffizient der Kontrollplatte am 3. Tag (T3) liegt bei 24,78 % und somit oberhalb von 5 %.

Als Referenz zur Bestimmung der Hemmungen wird der Mittelwert des Wachstums in der Kontrollplatte verwendet.

In den Abbildungen 39 und 40 sind die Mittelwerte der Hemmungen des Algenwachstums in Abhängigkeit zur getesteten Konzentration der Proben aufgetragen. In den Tabellen 32 und 33 sind die Variationskoeffizienten der Mittelwerte der Hemmungen je Probenkonzentration am 3. Tag des Algentests dargestellt. Variationskoeffizienten, die den Wert von 5 % überschreiten, sind in den Tabellen rot markiert.

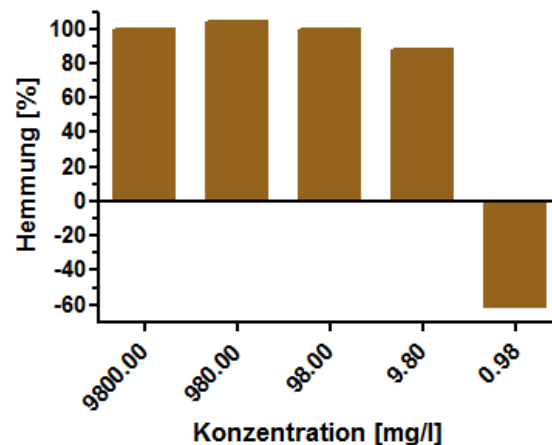


Abbildung 39: Mittelwerte der Hemmungen des Wachstums im Vorversuch 2 in Abhängigkeit zur jeweiligen Konzentration des LMZ 1

Tabelle 32: Variationskoeffizienten der Mittelwerte der Hemmungen je Konzentration von LMZ 1 am 3. Tag (T3) des Vorversuchs 2, alle Variationskoeffizienten oberhalb von 5 % sind rot markiert

Probenkonzentration in mg/l:	9800,00	980,00	98,00	9,80	0,98
Variationskoeffizient bei T3 in %:	7,11	4,20	3,79	4,31	12,24

In Abbildung 39 zeigt LMZ 1 in den höchsten Konzentrationen von 9800,00 mg/l, 980,00 mg/l und 98,00 mg/l eine Hemmung von ca. 100 %. LMZ 1 zeigt eine Hemmung von 90 % bei 9,80 mg/l und von -60 % in der kleinsten Konzentration von 0,98 mg/l. Somit ist bei 0,98 mg/l eine Stimulation und zwischen den beiden kleinsten Konzentrationen eine sehr starke Differenz der Hemmung zu beobachten. In Tabelle 32 liegen die Variationskoeffizienten von zwei von fünf Konzentrationen von LMZ 1 oberhalb von 5 %, wobei der höchste bei 12,24 % (bei 0,98 mg/l) und der kleinste bei 3,79 % (bei 98,00 mg/l) liegen.

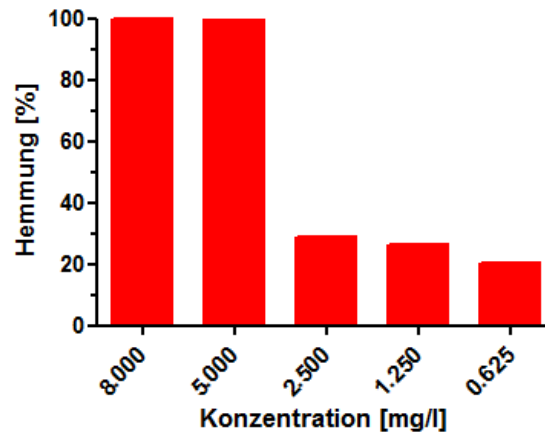


Abbildung 40: Mittelwerte der Hemmungen des Wachstums im Vorversuch 2 in Abhängigkeit zur jeweiligen Konzentration von 3,5-DCP

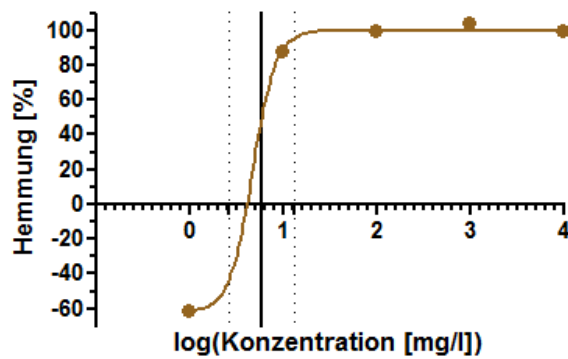
Tabelle 33: Variationskoeffizienten der Mittelwerte der Hemmungen je Konzentration von 3,5-DCP am 3. Tag (T3) des Vorversuchs 2, alle Variationskoeffizienten oberhalb von 5 % sind rot markiert

Probenkonzentration in mg/l:	8,000	5,000	2,500	1,250	0,625
Variationskoeffizient bei T3 in %:	4,81	6,10	25,19	9,13	5,45

In Abbildung 40 zeigt 3,5-DCP in den beiden höchsten Konzentrationen von 8,000 mg/l und 5,000 mg/l eine Hemmung von 100 % und in der kleinsten Konzentration eine Hemmung von 25 %. In Tabelle 33 liegen bei 3,5-DCP die Variationskoeffizienten bei vier von fünf Konzentrationen oberhalb von 5 %, wobei der höchste bei 25,19 % (bei 2,500 mg/l) und der kleinste bei 4,81 % (bei 8,000 mg/l) liegen.

Mit den Daten aus den Abbildungen 39 und 40 werden mittels nicht-linearer Regression (GraphPad PRISM®) Dosis-Wirkungs-Kurven erstellt. Es wird die vom Programm definierte Regressionsfunktion „log(agonist) vs. response – Find ECanything“ für die Darstellung der Kurve von LMZ 1 und die Funktion „log(inhibitor) vs. response – Variable slope (four parameters)“ für die Darstellung der Kurve von 3,5-DCP verwendet. Das Programm berechnet den EC_{50} -Wert bei 50 % der Differenz von der maximalen (y_{max}) und der minimalen Hemmung (y_{min}). Dadurch, dass y_{min} bei der Hormesis einen negativen Wert annimmt, würde der vom Programm ermittelte EC_{50} -Wert unterhalb von 50 % Hemmung liegen. Da bei der kleinsten Konzentration von LMZ 1 eine Stimulation des Wachstums auftritt, wird in der Regressionsfunktion ein Wert für F definiert, bei dem der wirkliche EC_{50} -Wert liegt. Die Konstante F wird mit der Formel 6 berechnet. Das Maximum der Kurve (y_{max}) wird als 100 % und das Minimum (y_{min}) bei -62 % definiert. Bei der Erstellung der Regressionsfunktion von 3,5-DCP werden diese Einstellungen nicht getätigt, da hier keine Stimulation gemessen wurde. In beiden Funktionen wird ein Vertrauensintervall von 95 % definiert. Der NOEC-Wert wird wie im Unterkapitel „Algenwachstumshemmtest“ dieses Kapitels beschrieben bestimmt.

In den Abbildungen 41 und 42 sind die Dosis-Wirkungs-Kurven von LMZ 1 und 3,5-DCP dargestellt, worin die Hemmung in Abhängigkeit von der Probenkonzentration aufgetragen ist. In den daneben dargestellten Tabellen sind die ökotoxikologischen Endpunkte (EC_{50} und NOEC), die Steigung und die Genauigkeit der Kurven dargestellt. Der EC_{50} -Wert ist mit einer durchgängigen vertikalen Linie und das Vertrauensintervall, in dem der EC_{50} -Wert liegt, mit gestrichelten vertikalen Linien dargestellt.



ökotoxikologische Endpunkte:

log(EC ₅₀):	0,7752
EC ₅₀ :	5,959 mg/l
NOEC:	nicht bestimmt

Steigung:

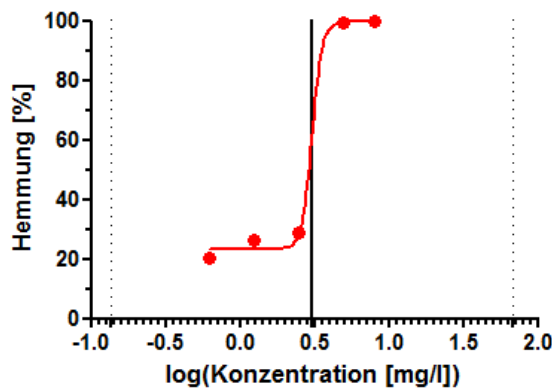
Hill slope:	2,694
-------------	-------

Genauigkeit:

R ² :	0,9804
absolute Summe der Quadrate:	2449

Abbildung 41: Dosis-Wirkungs-Kurve, EC₅₀- Wert, NOEC-Wert, Steigung und Genauigkeit der Regressionskurve von LMZ 1 im Vorversuch 2, worin die Hemmung in Abhängigkeit zur Konzentration des LMZ aufgetragen ist

In Abbildung 41 liegt der EC₅₀-Wert von LMZ 1 bei 5,959 mg/l in einem Vertrauensintervall von 2,694 mg/l bis 13,18 mg/l. Für die Konstante F wurde ein Wert von 69,02 errechnet.



ökotoxikologische Endpunkte:

log(EC ₅₀):	0,4860
EC ₅₀ :	3,062 mg/l
NOEC:	2,500 mg/l

Steigung:

Hill slope:	12,90
-------------	-------

Genauigkeit:

R ² :	0,9446
absolute Summe der Quadrate:	1174

Abbildung 42: Dosis-Wirkungs-Kurve, EC₅₀- Wert, NOEC-Wert, Steigung und Genauigkeit der Regressionskurve von 3,5-DCP im Vorversuch 2, worin die Hemmung in Abhängigkeit zur Konzentration von DCP aufgetragen ist

In Abbildung 42 beträgt der EC₅₀-Wert von 3,5-DCP 3,062 mg/l und liegt im Vertrauensintervall von 0,1359 mg/l bis 68,99 mg/l.

Der Mittelwert der gemessenen Fluoreszenz in den Kontrollansätzen der Spalte 4 jeder Probenplatte wurde bei Testbeginn (T0) und Testende (T3) berechnet. Tabelle 34 stellt die berechneten Mittelwerte in Abhängigkeit zur Probenplatte dar, auf der die gemessenen Kontrollansätze lagen.

Tabelle 34: Mittelwerte der Fluoreszenz der Kontrollansätze in Spalte 4 je Probenplatte bei Testbeginn (T0) und Testende (T3) im Vorversuch 2, welche in Abhängigkeit zur Platte mit der jeweiligen Konzentration von LMZ 1 dargestellt sind

Probenplatte von LMZ 1	Mittelwert der Fluoreszenz in den Kontrollen in Spalte 4	
	bei T0	bei T3
Platte mit 9800 mg/l	513	975
Platte mit 980,0 mg/l	526	1416
Platte mit 98,00 mg/l	516	2690
Platte mit 9,800 mg/l	518	2937
Platte mit 0,980 mg/l	511	3093

Bei T0 wird ein Mittelwert der Fluoreszenz in den Kontrollansätzen der Spalte 4 aller Probenplatten von 517 und bei T0 von 2222 erhalten. Auffallend ist, dass der Mittelwert der Fluoreszenz der Kontrollen je Platte in Spalte 4 bei Abnahme der in der jeweiligen Platte vorhandenen Konzentration des LMZ bei T3 zunimmt, während diese Beobachtung bei T0 nicht gemacht werden kann.

Tabelle 35 stellt die Variationskoeffizienten der Kontrollansätze in der Spalte 4 je Probenplatte in Abhängigkeit zur in der Platte befindlichen Konzentration des LMZ 1 dar.

Tabelle 35: Variationskoeffizienten der Kontrollansätze in Spalte 4 je angegebene Probenplatte von LMZ 1 bei Testbeginn (T0) und -ende (T3), alle Variationskoeffizienten oberhalb von 5 % sind rot markiert

Probenplatte von LMZ 1	Variationskoeffizient der Kontrollen in Spalte 4 in %	
	bei T0	bei T3
Platte mit 9800 mg/l	3,78	59,78
Platte mit 980,0 mg/l	3,26	26,43
Platte mit 98,00 mg/l	1,79	5,83
Platte mit 9,800 mg/l	1,02	12,45
Platte mit 0,980 mg/l	1,04	6,56

Bei T0 liegen alle Variationskoeffizienten unterhalb, während bei T3 alle oberhalb von 5 % liegen. Bei T3 beträgt der höchste Variationskoeffizient 59,78 % (in der Platte mit 9800 mg/l LMZ) und der kleinste 5,83 % (in der Platte mit 98,00 mg/l LMZ). Der Variationskoeffizient der Kontrollen in Spalte 4 aller Probenplatten beträgt 2,32 % bei T0 und 42,42 % bei T3.

Wie Vorversuch 2 zeigt, weisen die Mittelwerte der Fluoreszenz bei T0 in den Kontrollansätzen in Spalte 4 der Probenplatten keine hohe Abweichung voneinander auf. Der Variationskoeffizient aller Kontrollen in Spalte 4 liegt hier bei 2,32 %. Jedoch liegt bei T3 ein hoher Variationskoeffizient der Mittelwerte aller Kontrollen in Spalte 4 vor, welcher bei 42,42 % liegt. Ebenfalls kann bei T3 eine Zunahme des Mittelwertes der Fluoreszenz in den Kontrollen der Spalte 4 bei gleichzeitiger Abnahme der in der Platte getesteten Konzentration beobachtet werden. Demzufolge kann hier davon ausgegangen werden, dass sich LMZ 1 bei Langzeittests über die Gasphase ausbreitet. LMZ 1 breitet sich in Konzentrationen oberhalb von 98,00 mg/l stärker über die Gasphase aus, als in Konzentrationen unterhalb von 98,00 mg/l, sodass im 5. AT die beiden höchsten Konzentrationen von LMZ 1 auf extra Mikrotiterplatten gegeben wurden. So kann eine negative Beeinflussung der Kontrollen durch die Ausbreitung von LMZ 1 in der Gasphase verhindert werden. Diese Maßnahme wurde sowohl bei LMZ 1 als auch bei LMZ 3 durchgeführt, da bei beiden die größte Hemmung der Kontrollen in den Algenwachstumshemmtests beobachtet wurde.

Es kann beobachtet werden, dass bei einer Konzentration unterhalb von 9,80 mg/l ein EC₅₀-Wert bestimmt werden kann, sodass bei weiteren Algentests mit LMZ 1 Konzentrationen zwischen

9,80 mg/l und 0,98 mg/l getestet werden sollten. Ebenfalls tritt bei der kleinsten Konzentration von LMZ 1 eine Stimulation des Algenwachstums auf.

Umweltrisikoaanalyse

Bestimmung der PEC

Die PEC-Werte werden anhand der in Kapitel „Material und Methoden“ genannten Formel 5 je Probe, Gewässer, Szenario und Fall berechnet und in den Tabellen 36 bis 38 dargestellt.

Tabelle 36: PEC je Probe, Szenario und Gewässer im worst-case

Szenario	Gewässer	PEC in mg/l im <i>worst-case</i>				
		LMZ 1	LMZ 2	LMZ 3	LMZ 4	Spülmittel
Klein- brand	kleiner See	115,15	123,38	110,45	129,52	108,17
	mittel- großer See	0,11515	0,12338	0,11045	0,12952	0,10817
	großer See	0,00012	0,00012	0,00011	0,00013	0,00011
mittel- großer Brand	kleiner See	460,60	493,500	441,80	518,08	432,68
	mittel- großer See	0,46060	0,49350	0,44180	0,51808	0,43268
	großer See	0,00046	0,00049	0,00044	0,00052	0,00043
Groß- brand	kleiner See	11407	12222	10942	12831	10716
	mittel- großer See	11,407	12,222	10,942	12,831	10,716
	großer See	0,01141	0,01222	0,01094	0,01283	0,01072

Tabelle 37: PEC je Probe, Szenario und Gewässer im realistic-case

Szenario	Gewässer	PEC in mg/l im <i>realistic-case</i>				
		LMZ 1	LMZ 2	LMZ 3	LMZ 4	Spülmittel
Klein- brand	kleiner See	103,64	111,04	99,405	116,57	97,353
	mittel- großer See	0,10364	0,11104	0,09941	0,11657	0,09735
	großer See	0,00010	0,00011	0,00010	0,00012	0,00010
mittel- großer Brand	kleiner See	414,54	444,15	397,62	466,27	389,41
	mittel- großer See	0,41454	0,44415	0,39762	0,46627	0,38941
	großer See	0,00041	0,00044	0,00040	0,00047	0,00039
Groß- brand	kleiner See	10266	11000	9847,4	11548	9644,2
	mittel- großer See	10,266	11,000	9,8474	11,548	9,6442
	großer See	0,01027	0,01100	0,00985	0,01155	0,00964

Tabelle 38: PEC je Probe, Szenario und Gewässer im best-case

Szenario	Gewässer	PEC in mg/l im best-case				
		LMZ 1	LMZ 2	LMZ 3	LMZ 4	Spülmittel
Kleinbrand	kleiner See	57,575	61,688	55,225	64,760	54,085
	mittel-großer See	0,05758	0,06169	0,05523	0,06476	0,05409
	großer See	0,00006	0,00006	0,00006	0,00006	0,00005
mittel-großer Brand	kleiner See	230,30	246,75	220,90	259,04	216,34
	mittel-großer See	0,23030	0,24675	0,22090	0,25904	0,21634
	großer See	0,00023	0,00025	0,00022	0,00026	0,00022
Großbrand	kleiner See	5703,6	6111,0	5470,8	6415,4	5357,9
	mittel-großer See	5,7036	6,1110	5,4708	6,4154	5,3579
	großer See	0,00570	0,00611	0,00547	0,00642	0,00536

Bestimmung der PNEC

Die PNEC-Werte werden anhand der Formel 4 aus dem Kapitel „Material und Methoden“ unter Verwendung der EC₅₀- und NOEC-Werte aus dem LBT, AT und Vorversuch 2 berechnet und in Tabelle 39 dargestellt. Als Sicherheitsfaktor wurde der nach TGD definierte Faktor von 1000 verwendet [12].

Tabelle 39: PNEC je Probe in 10⁻³ mg/l, anhand der EC₅₀- und NOEC-Werte aus dem LBT, AT und Vorversuch 2 errechnet

Probe	Bestimmung des PNEC mit		
	EC ₅₀ -Werten aus LBT in 10 ⁻³ mg/l	EC ₅₀ -Werten aus AT und Vorversuch 2 in 10 ⁻³ mg/l	NOEC aus AT in 10 ⁻³ mg/l
LMZ 1	28,56	5,959	nicht erhoben
LMZ 2	2737	602,8	315,0
LMZ 3	83,21	52,37	28,20
LMZ 4 Experiment 1	661,2	222,2	110,2
LMZ 4 Experiment 2	261,9		
Spülmittel Experiment 2	206,7	nicht getestet	nicht getestet

Mit den PEC-Werten aus den Tabellen 36 bis 38 und den PNEC-Werten aus Tabelle 39 werden die PEC/PNEC-Werte je Probe, Szenario, Gewässer, Fall und ökotoxikologischem Test dargestellt. Für die in den Tabellen 40 bis 42 dargestellten Ergebnisse werden die PNEC-Werte, welche anhand der EC₅₀-Werte aus dem LBT ermittelt wurden, verwendet. Die in den Tabellen 43 bis 45 dargestellten PEC/PNEC-Werte werden anhand der PNEC-Werte, welche mit den EC₅₀-Werten aus dem AT und dem Vorversuch 2 berechnet wurden, ermittelt. In den Tabellen 46 bis 48 sind die PEC/PNEC-Werte für die PNEC-Werte, ermittelt aus den NOEC-Werten des AT, dargestellt. Alle PEC/PNEC-Werte, die unterhalb von oder bei eins liegen, werden grün dargestellt. Orange sind alle PEC/PNEC-Werte markiert, welche zwischen 100 und 10000 liegen und rot sind jene Werte markiert, welche oberhalb von oder bei 10000 liegen. Bei LMZ 4 wird in den Tabellen 40 bis 42 zwischen Experiment 1 (E1) und Experiment 2 (E2) unterschieden.

Berechnung der PEC/PNEC mit den EC₅₀-Werten aus dem Leuchtbakterientest

Tabelle 40: PEC/PNEC-Quotienten für die EC₅₀-Werte aus dem LBT je Probe, Szenario und Gewässer im worst-case, alle Werte unter und gleich eins sind grün, zwischen 100 und 10000 sind orange und über oder gleich 10000 sind rot markiert

Szenario	Gewässer	PEC/PNEC im <i>worst-case</i>					
		LMZ 1	LMZ 2	LMZ 3	LMZ 4 E 1	LMZ 4 E 2	Spül- mittel
Klein- brand	kleiner See	4031,9	45,077	1327,4	195,89	494,54	523,32
	mittel- großer See	4,0319	0,04508	1,3274	0,19589	0,49454	0,52332
	großer See	0,00403	0,00005	0,00133	0,00020	0,00049	0,00052
mittel- großer Brand	kleiner See	16127	180,31	5309,5	783,55	1978,2	2093,3
	mittel- großer See	16,127	0,18031	5,3095	0,78355	1,9782	2,0933
	großer See	0,01613	0,00018	0,00531	0,00078	0,00198	0,00209
Groß- brand	kleiner See	399412	4465,5	131494	19405	48991	51842
	mittel- großer See	399,41	4,4655	131,49	19,405	48,991	51,842
	großer See	0,39941	0,00447	0,13149	0,01941	0,04899	0,05184

Tabelle 41: PEC/PNEC-Quotienten für die EC₅₀-Werte aus dem LBT je Probe, Szenario und Gewässer im realistic-case, alle Werte unter und gleich eins sind grün, zwischen 100 und 10000 sind orange und über oder gleich 10000 sind rot markiert

Szenario	Gewässer	PEC/PNEC im <i>realistic-case</i>					
		LMZ 1	LMZ 2	LMZ 3	LMZ 4 E 1	LMZ 4 E 2	Spül- mittel
Klein- brand	kleiner See	3628,7	40,569	1194,6	176,30	445,09	470,99
	mittel- großer See	3,6287	0,04057	1,1946	0,17630	0,44509	0,47099
	großer See	0,00363	0,00004	0,00119	0,00018	0,00045	0,00047
mittel- großer Brand	kleiner See	14515	162,28	4778,5	705,19	1780,3	1884,0
	mittel- großer See	14,515	0,16228	4,7785	0,70519	1,7804	1,8840
	großer See	0,01451	0,00016	0,00478	0,00071	0,00178	0,00188
Groß- brand	kleiner See	359471	4018,9	118344	17465	44092	46658
	mittel- großer See	359,47	4,0189	118,34	17,465	44,092	46,658
	großer See	0,35947	0,00402	0,11834	0,01746	0,04409	0,04666

Tabelle 42: PEC/PNEC-Quotienten für die EC₅₀ -Werte aus dem LBT je Probe, Szenario und Gewässer im best-case, alle Werte unter und gleich eins sind grün, zwischen 100 und 10000 sind orange und über oder gleich 10000 sind rot markiert

Szenario	Gewässer	PEC/PNEC im <i>best-case</i>					
		LMZ 1	LMZ 2	LMZ 3	LMZ 4 E 1	LMZ 4 E 2	Spülmittel
Kleinbrand	kleiner See	2015,9	22,538	663,68	97,943	247,27	261,66
	mittelgroßer See	2,0159	0,02254	0,66368	0,09794	0,24727	0,26166
	großer See	0,00202	0,00002	0,00066	0,00010	0,00025	0,00026
mittelgroßer Brand	kleiner See	8063,7	90,153	2654,7	391,77	989,08	1046,6
	mittelgroßer See	8,0637	0,09015	2,6547	0,39177	0,98908	1,0466
	großer See	0,00806	0,00009	0,00265	0,00039	0,00099	0,00105
Großbrand	kleiner See	199706	2232,7	65747	9702,6	24496	25921
	mittelgroßer See	199,71	2,2327	65,747	9,7026	24,496	25,921
	großer See	0,19971	0,00223	0,06575	0,00970	0,02450	0,02592

Die PEC/PNEC-Werte aller Proben liegen in den Tabellen 40 bis 42 unabhängig vom Szenario bei der Emission in den großen See unterhalb von eins. Beim Großbrand und der Emission in den kleinen See liegen in den Tabellen 40 und 41 fünf von sechs Werte oberhalb von 10000, wobei es in Tabelle 42 nur vier von sechs sind. Beim Kleinbrand und der Emission in den kleinen See sind es fünf von sechs Werte, die zwischen 100 und 10000 liegen, wobei es in Tabelle 42 nur vier von sechs Werte sind. Beim selben Szenario und der Emission in den mittelgroßen See sind es in den Tabellen 40 und 41 vier von sechs Werte, die unterhalb von eins liegen, und in Tabelle 42 fünf von sechs. Beim mittelgroßen Brand und der Emission in den kleinen See weisen fünf von sechs PEC/PNEC einen Wert von über 100 auf, wobei der PEC/PNEC von LMZ 1 oberhalb von 10000 liegt. In Tabelle 42 sind es fünf von sechs PEC/PNEC, die zwischen 100 und 10000 liegen. Beim selben Szenario und der Emission in den mittelgroßen See weisen in den Tabellen 40 und 41 zwei von sechs und in der Tabelle 42 drei von sechs PEC/PNEC einen Wert auf, der sich unterhalb von eins befindet. Beim Großbrand und der Emission in den mittelgroßen See liegen in den Tabellen 40 und 41 zwei von sechs Werte zwischen 100 und 10000, wobei es in Tabelle 42 nur noch ein Wert ist.

Das Spülmittelkonzentrat weist in den Tabellen 40 bis 42 einen von neun PEC/PNEC, der oberhalb von 10000 liegt, zwei von neun, die zwischen 100 und 10000 liegen und vier von neun Werten, die unterhalb von eins liegen, auf. Bei LMZ 1 liegen in den Tabellen 40 und 41 vier PEC/PNEC oberhalb von 100, wovon zwei oberhalb von 10000 liegen. In Tabelle 42 sind es vier Werte von LMZ 1, die oberhalb von 100 liegen, wobei nur einer den Wert von 10000 überschreitet. Bei LMZ 1 liegen in den Tabellen 40 bis 42 drei PEC/PNEC unterhalb von eins. Bei LMZ 2 liegen in den Tabellen 40 bis 42 fünf von neun PEC/PNEC unterhalb von eins. In den Tabellen 40 und 41 weisen zwei PEC/PNEC von LMZ 2 einen Wert zwischen 100 und 10000 auf, in Tabelle 42 ist es ein Wert. LMZ 3 hat in den Tabellen 40 und 41 drei PEC/PNEC, die zwischen 100 und 10000 liegen, und drei, die unterhalb von eins liegen. In Tabelle 42 sind es bei LMZ 3 vier PEC/PNEC, die unterhalb von eins und zwei Werte, die zwischen 100 und 10000 liegen. LMZ 3 weist in den Tabellen 40 bis 42 beim Großbrand und der Emission in den kleinen See einen Wert auf, der oberhalb von 10000 liegt. Für LMZ 4 im Experiment 1 wurden in den Tabellen 40 bis 42 fünf PEC/PNEC berechnet, die unterhalb von eins liegen. In den Tabellen 40 und 41 liegen zwei PEC/PNEC von LMZ 4 im Experiment 1 zwischen 100 und 10000, in Tabelle 42 ist es ein PEC/PNEC. Ein Wert von LMZ 4 im Experiment 1 liegt oberhalb von 10000 in den Tabellen 40 und 41, wobei er in Tabelle 42 unterhalb von 10000 liegt. In den Tabellen 40 bis 42 weist LMZ 4 im Experiment 2 zwei PEC/PNEC auf, die zwischen 100 und 10000 liegen, und einen

Wert, der oberhalb von 10000 liegt, auf. Bei LMZ 4 im Experiment 2 liegen in den Tabellen 40 und 41 vier Werte und in Tabelle 42 fünf Werte unterhalb von eins.

Berechnung der PEC/PNEC mit den EC₅₀-Werten aus dem Algenwachstumshemmtest und dem Vorversuch 2

Tabelle 43: PEC/PNEC-Quotienten für die EC₅₀-Werte aus dem AT und dem Vorversuch 2 je LMZ, Szenario und Gewässer im worst-case, alle Werte unter und gleich eins sind grün, zwischen 100 und 10000 sind orange und über oder gleich 10000 sind rot markiert

Szenario	Gewässer	PEC/PNEC im <i>worst-case</i>			
		LMZ 1	LMZ 2	LMZ 3	LMZ 4
Klein- brand	kleiner See	19324	204,67	2109,0	582,90
	mittel- großer See	19,324	0,20467	2,1090	0,58290
	großer See	0,01932	0,00020	0,00211	0,00058
mittel- großer Brand	kleiner See	77295	818,68	8436,1	2331,6
	mittel- großer See	77,295	0,81868	8,4361	2,3316
	großer See	0,07729	0,00082	0,00844	0,00233
Groß- brand	kleiner See	1914281	20275	208929	57744
	mittel- großer See	1914,3	20,275	208,93	57,744
	großer See	1,9143	0,02028	0,20893	0,05774

Tabelle 44: PEC/PNEC-Quotienten für die EC₅₀-Werte aus dem AT und dem Vorversuch 2 je LMZ, Szenario und Gewässer im realistic-case, alle Werte unter und gleich eins sind grün, zwischen 100 und 10000 sind orange und über oder gleich 10000 sind rot markiert

Szenario	Gewässer	PEC/PNEC im <i>realistic-case</i>			
		LMZ 1	LMZ 2	LMZ 3	LMZ 4
Klein- brand	kleiner See	17391	184,20	1898,1	524,61
	mittel- großer See	17,391	0,18420	1,8981	0,52461
	großer See	0,01739	0,00018	0,00190	0,00052
mittel- großer Brand	kleiner See	69565	736,81	7592,5	2098,4
	mittel- großer See	69,565	0,73681	7,5925	2,0984
	großer See	0,06957	0,00074	0,00759	0,00210
Groß- brand	kleiner See	1722853	18248	188036	51970
	mittel- großer See	1722,9	18,248	188,04	51,970
	großer See	1,7229	0,01825	0,18804	0,05197

Tabelle 45: PEC/PNEC-Quotienten für die EC₅₀-Werte aus dem AT und dem Vorversuch 2 je LMZ, Szenario und Gewässer im best-case, alle Werte unter und gleich eins sind grün, zwischen 100 und 10000 sind orange und über oder gleich 10000 sind rot markiert

Szenario	Gewässer	PEC/PNEC im <i>best-case</i>			
		LMZ 1	LMZ 2	LMZ 3	LMZ 4
Klein- brand	kleiner See	9661,9	102,33	1054,5	291,45
	mittel- großer See	9,6619	0,10233	1,0545	0,29145
	großer See	0,00966	0,00010	0,00105	0,00029
mittel- großer Brand	kleiner See	38647	409,34	4218,1	1165,8
	mittel- großer See	38,647	0,40934	4,2181	1,1658
	großer See	0,03865	0,00041	0,00422	0,00117
Groß- brand	kleiner See	957140	10138	104464	28872
	mittel- großer See	957,14	10,138	104,46	28,872
	großer See	0,95714	0,01014	0,10446	0,02887

Beim Großbrand und der Emission in den kleinen See liegen in den Tabellen 43 bis 45 alle PEC/PNEC-Werte oberhalb von 10000. Bei der Emission in den großen See beim Klein- und mittelgroßen Brand liegen in den Tabellen 43 bis 45 alle PEC/PNEC unterhalb von eins. Bei der Emission in den großen See und beim Großbrand liegen in den Tabellen 43 und 44 drei von vier und in Tabelle 45 alle PEC/PNEC unterhalb von eins. Beim Kleinbrand und der Emission in den kleinen See liegen in den Tabellen 43 bis 45 alle PEC/PNEC oberhalb von 100, wobei in den Tabellen 43 und 44 ein Wert oberhalb von 10000 liegt. Beim selben Szenario und der Emission in den mittelgroßen See weisen in den Tabellen 43 bis 45 zwei von vier PEC/PNEC einen Wert von kleiner als eins auf. Im Szenario „mittelgroßer Brand“ und bei Emission in den kleinen See liegen alle PEC/PNEC oberhalb von 100, wobei der Wert bei LMZ 1 oberhalb von 10000 liegt. Beim selben Szenario und der Emission in den mittelgroßen See liegt in den Tabellen 43 bis 45 einer von vier PEC/PNEC unterhalb von eins. Bei der Emission in den mittelgroßen See und beim Großbrand befinden sich in den Tabellen 43 bis 45 zwei Werte, die zwischen 100 und 10000 liegen.

Bei LMZ 1 liegen in den Tabellen 43 und 44 zwei von neun und in Tabelle 45 drei von neun PEC/PNEC unterhalb von eins. In den Tabellen 43 bis 45 liegen vier PEC/PNEC von LMZ 1 oberhalb von 100, von denen in den Tabellen 43 und 44 drei und in der Tabelle 45 zwei Werte oberhalb von 10000 liegen. Bei LMZ 2 liegen in den Tabellen 43 bis 45 fünf von neun PEC/PNEC unterhalb von eins und drei von neun oberhalb von 100, von denen der Wert beim Großbrand und der Emission in den kleinen See oberhalb von 10000 liegt. Bei LMZ 3 liegen in den Tabellen 43 bis 45 drei PEC/PNEC unterhalb von eins und vier oberhalb von 100, von denen der Wert beim Großbrand und der Emission in den kleinen See oberhalb von 10000 liegt. Für LMZ 4 wurden in den Tabellen 43 bis 45 vier PEC/PNEC, die unterhalb von eins liegen, und drei, die oberhalb von 100 liegen, berechnet. Der PEC/PNEC beim Großbrand und der Emission von LMZ 4 in den kleinen See liegt in den Tabellen 43 bis 45 oberhalb von 10000.

Berechnung der PEC/PNEC mit den NOEC-Werten aus dem Algenwachstumshemmtest

Tabelle 46: PEC/PNEC-Quotienten für die NOEC -Werte aus dem AT je LMZ, Szenario und Gewässer im worst-case, alle Werte unter und gleich eins sind grün, zwischen 100 und 10000 sind orange und über oder gleich 10000 sind rot markiert

Szenario	Gewässer	PEC/PNEC im <i>worst-case</i>		
		LMZ 2	LMZ 3	LMZ 4
Klein- brand	kleiner See	391,67	3916,7	1175,3
	mittel- großer See	0,39167	3,9167	1,1753
	großer See	0,00039	0,00392	0,00118
mittel- großer Brand	kleiner See	1566,7	15667	4701,3
	mittel- großer See	1,5667	15,667	4,7013
	großer See	0,00157	0,01567	0,00470
Groß- brand	kleiner See	38800	388000	116432
	mittel- großer See	38,800	388,00	116,43
	großer See	0,03880	0,38800	0,11643

Tabelle 47: PEC/PNEC-Quotienten für die NOEC -Werte aus dem AT je LMZ, Szenario und Gewässer im realistic-case, alle Werte unter und gleich eins sind grün, zwischen 100 und 10000 sind orange und über oder gleich 10000 sind rot markiert

Szenario	Gewässer	PEC/PNEC im <i>realistic-case</i>		
		LMZ 2	LMZ 3	LMZ 4
Klein- brand	kleiner See	352,50	3525,0	1057,8
	mittel- großer See	0,35250	3,5250	1,0578
	großer See	0,00035	0,00353	0,00106
mittel- großer Brand	kleiner See	1410,0	14100	4231,2
	mittel- großer See	1,4100	14,100	4,2312
	großer See	0,00141	0,01410	0,00423
Groß- brand	kleiner See	34920	349200	104789
	mittel- großer See	34,920	349,20	104,79
	großer See	0,03492	0,34920	0,10479

Tabelle 48: PEC/PNEC-Quotienten für die NOEC -Werte aus dem AT je LMZ, Szenario und Gewässer im best-case, alle Werte unter und gleich eins sind grün, zwischen 100 und 10000 sind orange und über oder gleich 10000 sind rot markiert

Szenario	Gewässer	PEC/PNEC im <i>best-case</i>		
		LMZ 2	LMZ 3	LMZ 4
Kleinbrand	kleiner See	195,83	1958,3	587,66
	mittelgroßer See	0,19583	1,9583	0,58766
	großer See	0,00020	0,00196	0,00059
mittelgroßer Brand	kleiner See	783,33	7833,3	2350,6
	mittelgroßer See	0,78333	7,8333	2,3506
	großer See	0,00078	0,00783	0,00235
Großbrand	kleiner See	19400	194000	58216
	mittelgroßer See	19,400	194,00	58,216
	großer See	0,01940	0,19400	0,05822

Bei der Emission in den großen See liegen in den Tabellen 46 bis 48 unabhängig vom Szenario alle PEC/PNEC-Werte unterhalb von eins. Beim Großbrand und der Emission in den kleinen See liegen in den genannten Tabellen alle PEC/PNEC oberhalb von 10000. In den Tabellen 46 bis 48 liegen beim Kleinbrand und der Emission in den kleinen See alle PEC/PNEC zwischen 100 und 10000. Beim selben Szenario und der Emission in den mittelgroßen See liegen in den Tabellen 46 und 47 ein und in Tabelle 48 zwei von drei PEC/PNEC unterhalb von eins. Beim mittelgroßen Brand und der Emission in den kleinen See liegen alle PEC/PNEC oberhalb von 100, von denen in den Tabellen 46 und 47 ein Wert oberhalb von 10000 liegt. Beim selben Szenario und der Emission in den mittelgroßen See liegt in Tabelle 48 ein PEC/PNEC unterhalb von eins. Von den berechneten PEC/PNEC beim Großbrand und der Emission in den mittelgroßen See liegen in den Tabellen 46 und 47 zwei von drei und in Tabelle 48 ein Wert zwischen 100 und 10000.

Bei LMZ 2 liegen in den Tabellen 46 bis 48 drei von neun PEC/PNEC oberhalb von 100, von denen der Wert beim Großbrand und der Emission in den kleinen See oberhalb von 10000 liegt. In den Tabellen 46 und 47 liegen vier von neun und in Tabelle 48 fünf von neun PEC/PNEC von LMZ 2 unterhalb von eins. Bei LMZ 3 liegen in den Tabellen 46 bis 48 vier von neun PEC/PNEC oberhalb von 100, von denen in den Tabellen 46 und 47 zwei Werte und in der Tabelle 48 ein Wert oberhalb von 10000 liegen. In den Tabellen 46 bis 48 liegen drei von neun PEC/PNEC von LMZ 3 unterhalb von eins. LMZ 4 weist in den Tabellen 46 bis 48 einen Wert auf, der oberhalb von 10000 und beim Großbrand und der Emission in den kleinen See liegt. Bei LMZ 4 liegen in den Tabellen 46 und 47 drei und in Tabelle 48 zwei PEC/PNEC zwischen 100 und 10000. In den Tabellen 46 und 47 nehmen drei und in Tabelle 48 vier PEC/PNEC von LMZ 4 einen Wert an, der kleiner als eins ist.

Das Ergebnis der Umweltrisikoaanalyse ist, dass LMZ 1 und 3 das größte und LMZ 2 und 4 das kleinste Umweltrisiko zeigen. LMZ 1 und 3 zeigen ein größeres und LMZ 2 und 4 ein kleineres Umweltrisiko als das getestete Spülmittel. Je nachdem welche ökotoxikologischen Endpunkte zur Berechnung des PNEC herangezogen werden, sind unterschiedlich hohe Umweltrisiken zu erwarten. So ist das Umweltrisiko je LMZ bei Berechnung der PNEC-Werte mit den NOEC-Werten aus dem AT am größten, während es bei der Berechnung mit den EC₅₀-Werten aus dem LBT am geringsten ist. Bei der Betrachtung der Umweltrisikoaanalyse fällt auf, dass sich die Ergebnisse im *worst-case* und *realistic-case* kaum unterscheiden. Unterschiede bestehen nur zu den Werten des *best-case*.

Bei der Betrachtung der Szenarien fällt auf, dass bei der Emission aller getesteten LMZ in den großen See kein Umweltrisiko besteht, ausgenommen LMZ 1. LMZ 1 zeigt in der Umweltrisikoaanalyse mit den EC₅₀-Werten aus dem AT und dem Vorversuch 2 im *worst-case* und *realistic-case* beim

Großbrand und der Emission in den großen See ein Umweltrisiko. Unabhängig vom Szenario bewirken alle LMZ ein Umweltrisiko bei der Emission in den kleinen See. Das höchste Umweltrisiko je LMZ liegt beim Großbrand und der Emission in den kleinen See, während das kleinste beim Kleinbrand und der Emission in den großen See liegt.

Diskussion

Diskussion der Modifikationen in den Biotests

Aufgrund der physikalischen und chemischen Eigenschaften der LMZ waren Anpassungen der Methodik im AT und im LBT notwendig. Die getroffenen Modifikationen werden im Folgenden je Biotest diskutiert.

Modifikationen im Algenwachstumshemmtest

MOPS-Puffer

Im Versuch zur Untersuchung des Algenwachstums bei Zugabe von MOPS-Puffer (Vorversuch 1) kann keine Erhöhung des Algenwachstums in den Kontrollen festgestellt werden. Das Algenwachstum in den Kontrollen ohne MOPS ist größer als in jenen mit MOPS. Der MOPS-Puffer wurde in einer Endkonzentration von 8,372 g/l dem Algenmedium zugegeben, da Neidhardt et al. in ihren Versuchen bei derselben Konzentration eine Erhöhung des Wachstums der Testorganismen beobachteten [11]. Nun verwendeten Neidhardt et al. Bakterien und keine Algen als Testorganismen, sodass fraglich ist, ob die Ergebnisse dieser Untersuchungen auf Algen übertragbar sind. Im Vergleich zu den Untersuchungen von De Schamphelaere et al. kann festgestellt werden, dass zum einen eine andere Konzentration verwendet und zum anderen ein anderer pH-Wert eingestellt wurde. De Schamphelaere et al. fanden heraus, dass das Algenwachstum optimal bei einer Konzentration von 750 mg/l MOPS erhöht werden kann [15]. Zudem stellten De Schamphelaere et al. bei ihren Untersuchungen zur Verbesserung des Algenwachstums einen pH-Wert von ca. 7,6 ein [15]. In dieser Arbeit wurde ein pH-Wert von ca. 8,0 eingestellt, da dieser im Bereich des nach DIN EN ISO 8692 definierten pH-Wertes des Algenmediums liegt [7]. Dieser Wert wurde zu Testbeginn und –ende mit dem pH-Messgerät überprüft.

Da Michnowicz und Weaks in ihren Versuchen herausfanden, dass das Wachstum von *Selenastrum capricornutum* (umbenannt in: *Raphidocelis subcapitata*) bei pH-Werten von 6 bis 12 verbessert werden kann [16], liegt der Grund für das verminderte Algenwachstum nicht am Unterschied im pH-Wert. Der Grund für das verminderte Algenwachstum liegt vermutlich im Konzentrationsunterschied. Da De Schamphelaere et al. nur bis zu einer Konzentration von 1000 mg/l MOPS in Tests mit *Raphidocelis subcapitata* (ehemals: *Pseudokirchneriella Subcapitata*) testeten [15], fehlen hier Anhaltspunkte darüber, wie MOPS in höheren Konzentrationen auf die Testorganismen wirkt.

Verzicht auf Parafilm

In Versuch 4 des AT wurde Parafilm weggelassen, welcher zum luftdichten Verschluss der Mikrotiterplatten dient, sodass kein Verdunsten der Proben möglich ist. Ein Nachteil dieses luftdichten Verschlusses ist, dass den Algen nur das Kohlenstoffdioxid für die Photosynthese zur Verfügung steht, welches sich in der Luftschicht und gelöst in der Flüssigkeit in den Platten befindet. Laut Nyholm und

Källqvist ist gelöstes Kohlenstoffdioxid essentiell für das Algenwachstum und ein Mangel kann zur Hemmung des Wachstums führen [17]. Auch ein Mangel an sich in der Gasphase befindlichem CO₂ kann zu einer Hemmung des Wachstums führen.

Durch Weglassen des Parafilms könnte auch Kohlenstoffdioxid in den Innenraum der Platten diffundieren. Um zu verhindern, dass größere Mengen an Flüssigkeit in den Wells verdunsten, wurden Behältnisse mit demineralisiertem Wasser in den Algenschrank gestellt, sodass die Luftfeuchtigkeit erhöht wurde. Im Endeffekt konnte durch diese Maßnahme keine Erhöhung des Algenwachstums festgestellt werden, sodass sie in Versuch 5 weggelassen wurde. Vermutlich war die Menge an Kohlenstoffdioxid, die in den Platteninnenraum diffundierte nicht ausreichend, um eine Erhöhung des Algenwachstums zu bewirken. Da diese Maßnahme jedoch in Kombination zum Einsatz von MOPS-Puffer durchgeführt wurde, kann nicht genau gesagt werden, dass diese Maßnahme allein das Algenwachstum nicht erhöhen kann. Vielleicht hätte die Maßnahme das Wachstum erhöht, wäre kein MOPS eingesetzt worden. Dies sollte in weiteren Versuchen untersucht werden.

Messung der Fluoreszenz ohne Schütteln der Mikrotiterplatten

Das Schütteln der Mikrotiterplatten im Multimodereader musste abgestellt werden, da es sonst zu einem Eintrag an Flüssigkeit in den Raum zwischen den Wells kommt. Dies wurde in den ersten drei Versuchen bei den Mikrotiterplatten der LMZ beobachtet und die Ursache wurde erst in Versuch 3 gefunden. In den vorigen Versuchen wurde vermutet, dass durch das Schütteln der Platten bei 250 rpm auf den Schüttlern im Algenschrank die Ursache für Flüssigkeit im Raum zwischen den Wells liegt. Dieser Verdacht konnte in Versuchen, in denen nur eine mit LMZ und RW präparierte Platte über drei Tage auf den Schüttler gestellt wurde, ausgeräumt werden.

Dass Flüssigkeit aus den Wells bei einer im Multimodereader eingestellten Frequenz von 432 rpm austritt, kann durch die Herabsetzung der Oberflächenspannung des Wassers durch die LMZ erklärt werden, da in Algentests mit anderen Stoffen diese Beobachtung nicht gemacht wurde.

Ausbreitung der LMZ über die Gasphase in den Probenplatten

Der Versuch zur Untersuchung der Beeinflussung der Kontrollen auf den Mikrotiterplatten durch hohe Probenkonzentrationen in benachbarten Wells (Vorversuch 2) zeigte, dass es zu einer Ausbreitung der LMZ über die Gasphase beim Algenwachstumshemmtest kommt. Es wurde in Versuchen des AT beobachtet, dass das Algenwachstum in den Kontrollansätze in Mikrotiterplatten, die LMZ enthielten, geringer war, als das Wachstum in der Kontrollplatte. Diese Wachstumshemmung war bei LMZ 1 und 3 am größten. Wie Vorversuch 2 zeigt, hemmt LMZ 1 in Konzentrationen oberhalb von 98,00 mg/l das Algenwachstum in den Kontrollen mehr als unterhalb von 98,00 mg/l. Somit breitet sich LMZ 1 in hohen Konzentrationen über die Gasphase in Langzeittests aus.

Die Erklärung kann darin liegen, dass durch Herabsetzung der Oberflächenspannung von Wasser durch Hinzugabe von LMZ der Dampfdruck vom Wasser erniedrigt wird, sodass ein geringer Teil des Wassers verdunstet und dabei LMZ mitnimmt. Dieser Prozess scheint bei LMZ 1 und 3 in einem größeren Ausmaß abzulaufen, als bei LMZ 2 und 4, was Beobachtungen im AT belegen.

Modifikationen im Leuchtbakterientest

Einstellung der Salinität

Bei der Messung der Salinität mit dem Refraktometer wird ein Messfehler vermutet, da hier hohe Salzgehalte bei unverdünnten LMZ gemessen wurden, obwohl Salze nicht oder in geringen Konzentrationen in den diesen vorhanden sind. So enthalten laut den Sicherheitsdatenblättern nur LMZ 3 und 4 in Konzentrationen von 1 % bis 10 % Salze. Bei den beiden LMZ wurden Salinitäten gemessen, die deutlich oberhalb der angegebenen Konzentrationen liegen. Außerdem wurden hohe Salinitäten bei LMZ 1 und 2 gemessen, obwohl sie laut Sicherheitsdatenblättern keine Salze enthalten.

Da das Refraktometer anhand des Brechungsindex die Salinität eines Stoffes bestimmt, liegt die Vermutung nahe, dass durch die Konzentration von anderen in den LMZ enthaltenen Substanzen ein Messfehler bei der Bestimmung der Salinität vorliegt. Da die Bakterien im Test Salze in einer bestimmten Konzentration zur Aufrechterhaltung des osmotischen Drucks benötigen, wurde entschieden, alle LMZ mit einer vorher hergestellten 2,2 %-igen NaCl-Lösung zu verdünnen. Da in LMZ 3 und 4 Salze in geringer Konzentration vorhanden sind und diese innerhalb der Versuche höchstens 1:100 verdünnt wurden, können sie bei der Einstellung der Salinität vernachlässigt werden.

Einstellung des pH-Wertes

Aufgrund der verminderten Pufferwirkung der verdünnten Proben gestaltete sich die Einstellung des pH-Wertes im LBT schwierig, woraufhin überlegt wurde, ab dem 5. Versuch einen Puffer einzusetzen. Da Isidori et al. MOPS-Puffer in ihren Versuchen mit *Vibrio fischeri* in einer Konzentration von 5 g/l einsetzten und keine negative Beeinflussung des Tests durch eine mögliche Toxizität des Puffers gegenüber dem Testorganismen feststellten [18], wurde entschieden, die Einstellung des pH-Wertes mit diesem Puffer durchzuführen. Da Neidhardt et al. in ihren Versuchen feststellten, dass MOPS-Puffer, eingestellt auf einen pH-Wert von 7,2, in einer Verdünnung von 1:25 das Wachstum von Bakterien erhöhen kann, wurde entschieden, den MOPS-Puffer im LBT in derselben Verdünnung den Proben zuzugeben [11].

biologische Abbaubarkeit der LMZ im Klärwerk und im Gewässer

Wenn eine Substanz in ein aquatisches Ökosystem gelangt, stellt sich nicht nur die Frage nach einer potenziellen Toxizität, sondern auch jene, ob und wann die Substanz von Mikroorganismen abgebaut wird. Dieser Frage geht der Test zur leichten biologischen Abbaubarkeit nach. Aufgrund fehlender Daten kann der BSB₅ nicht bei allen Proben ermittelt werden, sodass im Folgenden die Abbaubarkeit der LMZ nach vier Tagen betrachtet wird.

Die LMZ 2, 3 und 4 werden in der Verdünnung von 1:10000 besser abgebaut als in der von 1:1000. Dass Schaummittel und LMZ in größeren Verdünnungen besser biologisch abgebaut werden, konnten auch Król et al. in ihren Versuchen herausfinden [19]. Bei LMZ 1 ist kein großer Unterschied in den Abbaubarkeiten bei 1:1000 und 1:10000 zu erkennen, sodass größere Verdünnungen untersucht werden müssen. Bei LMZ 3 findet bei einer Verdünnung von 1:1000 kein Abbau statt. Da ein geringer, nicht messbarer Abbau bei LMZ 3 in dieser Verdünnung nicht ausgeschlossen werden kann und ein Abbau in der Verdünnung von 1:10000 stattfindet, kann hier von keinem persistenten Stoff ausgegangen werden. Außerdem liegen bei LMZ 3 nur bis zum 4. Tag Messwerte vor, sodass der Verlauf der Abbaukurve nach dem 4. Tag unbekannt ist. Alle LMZ zeigen keine vollständige und gute biologische Abbaubarkeit bis zum 4. Tag, da alle Werte unterhalb von 50 % liegen. Auch Król et al. fanden in ihren Versuchen heraus, dass die biologische Abbaubarkeit bei den meisten von ihnen

getesteten Schaummitteln unterhalb von 50 % am 5. Tag liegen [19]. Natürlich können die Ergebnisse von Król et al. nur bedingt mit jenen in dieser Arbeit verglichen werden, da in dieser Arbeit nur der BSB₄ bei allen Proben vorliegt. Dennoch kann anhand dieses Vergleichs gesehen werden, dass LMZ bzw. Schaummittelkonzentrate nicht leicht biologisch abbaubar sind. Im Vergleich zu den von Okpokwasili und Olisa bestimmten biologischen Abbaubarkeiten für Tenside, die sich in flüssigen Waschmitteln und Shampoos befinden, ist festzustellen, dass sich die LMZ lange in aquatischen Ökosystemen befinden und dadurch ein hohes Umweltrisiko darstellen können. Okpokwasili und Olisa fanden heraus, dass alle sieben von ihnen getesteten Stoffe nach zwölf Tagen, aber nur fünf Stoffe nach drei Tagen zu mehr als 50 % biologisch abgebaut werden [20]. So wird beispielsweise Spencer, ein von Okpokwasili und Olisa getestetes flüssiges Waschmittel, zu 72 % nach drei und zu 80 % nach sechs Tagen abgebaut.

Zur Einschätzung des Umweltrisikos werden die Emission von LMZ in die Kanalisation und der anschließende biologische Abbau der Substanzen in einer kommunalen Kläranlage betrachtet. Es wird davon ausgegangen, dass die Emissionsquelle klärwerksnah liegt, da es sonst zu einer starken Verdünnung der LMZ im Abwasser kommt. Emittiert wird dann eine Verdünnung der LMZ von 1:1000 (0,1 Vol.-%), die die kleinste im Feuerwehreinsatz mögliche Verdünnung mit dem Löschwasser darstellt. In der Kanalisation würde dann eine geringe Verdünnung stattfinden.

Wird die Aufenthaltsdauer des Abwassers in einer kommunalen Kläranlage mit der Dauer der vollständigen biologischen Abbaubarkeit der LMZ verglichen, so können Rückschlüsse über die Fähigkeit einer Kläranlage geschlossen werden, diese Substanzen vollständig abzubauen zu können. Zur Betrachtung der Aufenthaltsdauer des Abwassers in einer Kläranlage werden die Daten des Klärwerks Bayreuth herangezogen, wonach das Abwasser ca. 48 Stunden in der Anlage gereinigt wird [21]. Die getesteten LMZ werden in den Verdünnungen von 1:1000 und 1:10000 nicht vollständig in einer kommunalen Kläranlage abgebaut, da sie auf Grundlage der erhobenen Daten nach zwei Tagen nicht vollständig biologisch abgebaut werden.

Zwar wird davon ausgegangen, dass es zu keiner Verdünnung der LMZ in der Kanalisation kommt, dennoch ist davon auszugehen, dass eine Verdünnung der LMZ im Belebungsbecken stattfindet, wo ein Großteil der Substanzen biologisch abgebaut wird. Die Größe des Belebungsbeckens ist abhängig von der Einwohnerzahl, deren Abwasser die kommunale Kläranlage reinigt. Als Beispiel zur Betrachtung der Verdünnung der LMZ im Belebungsbecken wird das Volumen des Belebungsbeckens der Kläranlage Straubing herangezogen, welches ein Volumen von 4100 m³ hat [22]. Es wird mit dem in den Szenarien der Umweltrisikoaanalyse im Kapitel „Material und Methoden“ definierten Gesamtverbrauch an Löschmittel je Szenario gerechnet. Zur Berechnung wird der LMZ-Verbrauch für eine Zumischrate von 0,1 % an der Einsatzstelle ausgerechnet und das Ergebnis wird durch das Volumen des Belebungsbeckens dividiert. Bei der Berechnung wird vom *worst-case* ausgegangen, heißt, die gesamte applizierte Menge an LMZ gelangt in die Kanalisation. Tabelle 49 zeigt die Ergebnisse der Berechnung der Konzentration der LMZ im Belebungsbecken.

Tabelle 49: Gesamtverbrauch an Löschmittel, LMZ-Verbrauch bei einer Zumischrate von 0,1 % und Konzentration an LMZ im Belebungsbecken der Kläranlage in Straubing je Szenario

Szenario	Gesamtverbrauch an Löschmittel in l	LMZ-Verbrauch für 0,1 %-ige Zumischrate in l	Konzentration im Belebungsbecken in %
Kleinbrand	2350	2,35	0,000057
mittelgroßer Brand	9400	9,40	0,000229
Großbrand	232800	232,80	0,005678

Werden die in Tabelle 49 errechneten Konzentrationen an LMZ im Belebungsbecken mit den im Test zur Bestimmung der leichten biologischen Abbaubarkeit getesteten verglichen, so kann festgestellt werden, dass die getesteten Konzentrationen deutlich oberhalb der berechneten liegen. Die getesteten Konzentrationen der LMZ waren 0,1 Vol.-% und 0,01 Vol.-%. Die höchste errechnete Konzentration im Belebungsbecken liegt bei 0,005678 Vol.-% im Szenario „Großbrand“. Bei der betrachteten kommunalen Kläranlage handelt es sich um eine kleine Abwasserreinigungsanlage. Wird eine große Abwasserreinigungsanlage, wie z.B. die Kläranlage Ruhleben in Berlin mit 16 Belebungsbecken und einem Gesamtvolumen dieser von 198500 m³ [23], betrachtet, so werden die LMZ deutlich stärker verdünnt. Um hier Rückschlüsse auf die Fähigkeit einer Kläranlage ziehen zu können, ob diese in der Lage ist, die getesteten LMZ abzubauen, sind weitere Versuche mit größeren Verdünnungen als 1:10000 notwendig. Der Test hat gezeigt, dass mit zunehmender Verdünnung die Abbaubarkeit der LMZ zunimmt. Außerdem wurde das Ablaufmaterial einer Kläranlage und kein Wasser aus dem Belebungsbecken verwendet, sodass zwar keine weiteren Substanzen, die parallel abgebaut worden, aber auch weniger Mikroorganismen als im Belebungsbecken vorhanden waren. Demzufolge ist eine Aussage über die Fähigkeit einer Kläranlage, die getesteten LMZ abzubauen zu können, mit den hierin verwendeten Verdünnungen und dem Abbaumedium nur bedingt möglich.

Fakt ist, dass LMZ 1 laut den Ergebnissen aus dem Test zur leichten biologischen Abbaubarkeit am schlechtesten biologisch abzubauen ist. LMZ 2 wird am besten biologisch abgebaut. Am zweitbesten wird LMZ 4 abgebaut, gefolgt von LMZ 3.

Da das Ablaufmaterial der Kläranlage zur Bestimmung der biologischen Abbaubarkeit verwendet wurde, können Rückschlüsse auf die biologische Abbaubarkeit der LMZ in Gewässern geschlossen werden, da davon auszugehen ist, dass die sich im Abfluss der Kläranlage befindlichen Mikroorganismen auch in Gewässern vorhanden sind. Hier erfahren die emittierten LMZ ebenfalls eine Verdünnung, die für den *worst-case* berechnet wird. Es wird mit dem in den Szenarien der Umweltrisikoaanalyse im Kapitel „Material und Methoden“ definierten Gesamtverbrauch an Löschmittel je Szenario gerechnet. Zur Berechnung wird der LMZ-Verbrauch für eine Zumischrate von 0,1 % an der Einsatzstelle ausgerechnet und das Ergebnis durch das Volumen des jeweiligen Gewässers dividiert. Damit soll geprüft werden, ob die getesteten Konzentrationen in der Nähe oder oberhalb der in den definierten Gewässern vorhandenen Konzentration an LMZ liegt. Tabelle 50 zeigt die Ergebnisse dieser Berechnung.

Tabelle 50: Konzentration an LMZ je Gewässer und Szenario bei einer Zumischrate von 0,1 %

Szenario	Gesamtverbrauch an Löschmittel in l	LMZ-Verbrauch für 0,1 %-ige Zumischrate in l	Gewässer	Volumen des Gewässers in l	Konzentration im Gewässer in Vol.-%
Kleinbrand	2350	2,35	kleiner See	$1 \cdot 10^5$	0,00235
			mittelgroßer See	$1 \cdot 10^8$	0,00000235
			großer See	$1 \cdot 10^{11}$	0,000000002
mittelgroßer Brand	9400	9,40	kleiner See	$1 \cdot 10^5$	0,0094
			mittelgroßer See	$1 \cdot 10^8$	0,0000094
			großer See	$1 \cdot 10^{11}$	0,000000009
Großbrand	232800	232,80	kleiner See	$1 \cdot 10^5$	0,2328
			mittelgroßer See	$1 \cdot 10^8$	0,0002328
			großer See	$1 \cdot 10^{11}$	0,000000232

Aus Tabelle 50 ist ersichtlich, dass die meisten Konzentrationen der LMZ im Gewässer unterhalb der kleinsten getesteten Konzentration von 0,01 Vol.-% liegen, sodass auch hier zur Untersuchung der

biologischen Abbaubarkeit weitere Verdünnungen erforderlich sind. Die errechnete Konzentration für das Szenario „Großbrand“ und den Eintrag in den kleinen See liegt oberhalb der getesteten Konzentrationen, sodass hier eine Betrachtung der biologischen Abbaubarkeit möglich ist. Auch beim Szenario „mittelgroßer Brand“ und dem Eintrag in den kleinen See ist eine Betrachtung der biologischen Abbaubarkeit möglich, da der errechnete Wert in der Nähe der kleinsten getesteten Konzentration liegt. In beiden Fällen kann gesagt werden, dass LMZ 1 zu ca. 1,30 % nach vier Tagen im See abgebaut wird. Beim Großbrand und der Emission in den kleinen See werden die LMZ nur geringfügig (stärkster Abbau hier bei LMZ 2 in der Konzentration von 0,1 Vol.-% bei 6,04 % am 4. Tag) oder gar nicht abgebaut. Beim mittelgroßen Brand und der Emission in den kleinen See wird LMZ 2 am besten und LMZ 1 am schlechtesten biologisch abgebaut. Der höchste biologische Abbau liegt hier zwar bei 33,21 % am 4. Tag (LMZ 2), aber da der Wert unterhalb von 50 % liegt, ist auch hier von keiner guten biologischen Abbaubarkeit nach vier Tagen auszugehen. Fakt ist, dass die LMZ in den Szenarien „Großbrand“ und „mittelgroßer Brand“ beim Eintrag in den kleinen See nicht schnell genug abgebaut werden, sodass die Stoffe länger im Gewässer verbleiben und ein hohes Umweltrisiko darstellen, da in beiden Szenarien und der Emission in den kleinen See in der Umweltrisikoaanalyse unabhängig vom Fall ein hohes oder sehr hohes Umweltrisiko für die aquatischen Organismen erkannt wurde.

Da die LMZ in den getesteten Konzentrationen keine gute biologische Abbaubarkeit nach vier Tagen zeigen, ist davon auszugehen, dass sie für einen längeren Zeitraum in Gewässern vorhanden sind, sollten sie in diesen Konzentrationen hierin vorliegen.

Prüfung der Vertrauenswürdigkeit der Ergebnisse aus dem LBT und dem AT

Die in dieser Arbeit durchgeführten Tests wurden in Anlehnung an die entsprechenden nationalen (DIN) und internationalen Normen (ISO) durchgeführt. Jegliche Abweichungen von ihnen sind im Kapitel „Material und Methoden“ dokumentiert. Alle Gültigkeitskriterien werden der entsprechenden DIN entnommen. Da die durchgeführten Biotests nach Ahlf und Heise Schwankungsbreiten von $\pm 15\%$ (AT) und $\pm 10\%$ Hemmung (LBT) haben [24], ist eine genaue Betrachtung der Vertrauenswürdigkeit der Daten im Folgenden notwendig. Zur Prüfung der Vertrauenswürdigkeit der Messwerte wird nach Klimisch et al. vorgegangen, da die Autoren die Einschätzung der Vertrauenswürdigkeit, Relevanz und Eignung der erhobenen Daten für das Risikomanagement in ihrem Bericht beschreiben [25]. Sie erstellten einheitliche Kriterien für die Kategorisierung der Vertrauenswürdigkeit der erhobenen Daten in Anlehnung an internationale Standards [25].

Zuerst wird geprüft, ob die Gültigkeitskriterien erfüllt sind. Dies ist bei den durchgeführten Biotests zur Untersuchung der ökotoxikologischen Wirkung nicht der Fall. So wird bei den Versuchen im LBT die Grenze von 3 %-Punkten der Abweichung der Parallelbestimmungen bei den meisten Proben überschritten. Im AT wird die Grenze von 5 % des Variationskoeffizienten der Kontrollen bei den meisten Proben überschritten und die Wachstumsraten liegen immer unterhalb von 1,4 je Tag. Die Messwerte werden nach Klimisch et al. in die Kategorie „vertrauenswürdig mit Einschränkungen“ eingestuft, da zwar die Gültigkeitskriterien für die Kategorie „vertrauenswürdig“ nicht eingehalten werden, aber mehrere Versuche und Experimente je Biotest durchgeführt wurden, was die Vertrauenswürdigkeit stärkt [25].

Im LBT liegen je getestete Konzentration der LMZ und je Versuch vier Messwerte vor, da jeweils zwei Experimente je LMZ angesetzt wurden. So kann durch den Vergleich der Messwerte je Konzentration zwischen den Experimenten in einem Versuch ermittelt werden, ob die Werte mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % aus der gleichen Grundgesamtheit kommen. Als Anhaltspunkt wurde hier ein p-Wert je Probe bestimmt. So sind die Messwerte je Konzentration von LMZ 1 bis 3 im LBT beim Vergleich der Experimente je LMZ nicht signifikant verschieden, da der p-Wert oberhalb von

0,05 liegt, während die Messwerte je Konzentration von LMZ 4 beim Vergleich der Experimente signifikant verschieden sind, da der p-Wert unterhalb von 0,05 liegt. Im Versuch 5 des AT wurden bei LMZ 1, 3 und 4 andere Konzentrationen als in den anderen Versuchen getestet, sodass ein Vergleich der Messwerte je Probenkonzentration zwischen den Versuchen nicht möglich ist. Nur LMZ 2 wurde in den Versuchen 3 bis 5 in den gleichen Konzentrationen getestet. Da der p-Wert bei LMZ 2 unterhalb von 0,05 liegt, sind die Messwerte je Probenkonzentration beim Vergleich der Versuche 3 bis 5 signifikant verschieden. Da bei LMZ 1, 3 und 4 mehr Messwerte, erhoben bei gleichen Konzentrationen der Probe, im LBT als im AT vorliegen, wird den Ergebnissen des LBT mehr vertraut. Da im LBT die Messwerte je Probenkonzentration von LMZ 2 nicht signifikant verschieden sind, wird hier ebenfalls den Ergebnissen des LBT mehr vertraut. Weil die Messwerte von LMZ 4 signifikant verschieden sind, wird im Folgenden betrachtet, wie oft und wie stark die Abweichungen der Parallelbestimmungen je Probenkonzentration die 3 %-Punkte überschreiten. Es sind zwei von fünf Abweichungen der Parallelbestimmungen von LMZ 4 je Experiment, die oberhalb von 3 %-Punkten liegen. Da die höchste Abweichung bei 7,55 %-Punkten im Experiment 1 und bei 9,83 %-Punkten im Experiment 2 des LMZ 4 liegt, wird den Ergebnissen von Experiment 1 mehr vertraut.

Den Ergebnissen von Spülmittel im Experiment 2 wird vertraut, da hier alle Gültigkeitskriterien erfüllt werden. Demnach sind die Ergebnisse nach Klimisch et al. in die Kategorie „vertrauenswürdig“ einzustufen [25]. Das Spülmittelkonzentrat wurde im AT nicht getestet und es liegen nur die Ergebnisse des Versuchs 7 im LBT vor, da der Stoff hierin erstmalig getestet wurde.

Prüfung der Vertrauenswürdigkeit der Ergebnisse aus dem Vorversuch 2

Den Messwerten der Hemmung je Probe wird für die Bestimmung von ökotoxikologischen Endpunkten nicht vertraut, da Gültigkeitskriterien nicht eingehalten werden. Auch wurde nur zu Testbeginn und –ende die Fluoreszenz gemessen. Hier gibt es zu viele Abweichungen vom definierten Standard nach der entsprechenden DIN, weshalb es sich bei diesem Test auch um einen Vorversuch zur Anpassung des Algentests handelt. Die Messwerte zur Bestimmung des EC₅₀-Wertes und des NOEC-Wertes sind nach Klimisch et al. als „nicht vertrauenswürdig“ einzustufen. Da es sich hierbei um Nebenergebnisse handelt und das Hauptziel darin lag, zu untersuchen, ob es zu einer Ausbreitung der LMZ in der Gasphase kommt, wird der Fokus nicht auf die Bestimmung der ökotoxikologischen Endpunkte gelegt.

Dennoch fällt auf, dass bei den höchsten Konzentrationen von LMZ 1 eine Hemmung von 100 % auftritt und bei Konzentrationen, die oberhalb von 9,80 mg/l liegen, die Hemmungen oberhalb von 50 % liegen. Dies kann auch im Versuch 5 des AT beobachtet werden. Demzufolge ist eine gewisse Vergleichbarkeit mit Ergebnissen aus einem in Anlehnung an die DIN durchgeführten Algentest zu beobachten.

Zwar werden die ökotoxikologischen Endpunkte für die Umweltrisikoaanalyse nicht verwendet, aber den Ergebnissen zur Thematik der Ausbreitung des LMZ 1 in der Gasphase kann vertraut werden, da hierin eine klare Struktur erkennbar ist. Während bei T0 die Messwerte der Fluoreszenz in den Kontrollen der Spalte 4 der Probenplatten nah beieinander liegen, so ist bei T3 eine Zunahme der Fluoreszenz in derselben Spalte je Probenplatte mit Abnahme der getesteten Probenkonzentration zu beobachten. Näheres ist im Unterkapitel „Ausbreitung der LMZ über die Gasphase in den Probenplatten“ dieses Kapitels beschrieben.

ökotoxikologische Wirkung

Die getesteten LMZ zeigen in den durchgeführten Tests zur Untersuchung der ökotoxikologischen Wirkung eine jeweils unterschiedliche akute Toxizität, welche stark zwischen den getesteten LMZ variiert. So wurde jeweils für LMZ 1 und 3 ein EC_{50} -Wert im LBT bestimmt, der im Bereich von 10 mg/l bis 100 mg/l liegt. Die EC_{50} -Werte von Spülmittel und LMZ 4 liegen im LBT im Bereich von 100 mg/l bis 1000 mg/l, also um den Faktor zehn höher als die EC_{50} -Werte von LMZ 1 und 3. Der EC_{50} -Wert von LMZ 2 liegt im LBT oberhalb von 1000 mg/l und somit um einen Faktor zehn höher als die EC_{50} -Werte von LMZ 4 und Spülmittel. Im AT liegt der kleinste EC_{50} -Wert unterhalb von 9,80 mg/l bei LMZ 1. LMZ 3 liegt mit dem EC_{50} -Wert von 52,37 mg/l fast um den Faktor zehn oberhalb des Wertes von LMZ 1. Die EC_{50} -Werte von LMZ 2 und 4 liegen um den Faktor zehn höher als der EC_{50} -Wert von LMZ 3, wobei LMZ 2 den größten und LMZ 4 den zweitgrößten EC_{50} -Wert aufweist. In beiden Tests zeigt LMZ 1 die höchste Toxizität, gefolgt von LMZ 3. LMZ 2 zeigt die kleinste und LMZ 4 die zweitkleinste Toxizität in beiden Tests. Das getestete Spülmittel zeigt die drittgrößte Toxizität im LBT.

McDonald et al. zeigten in Algentests mit *Selenastrum capricornutum* (umbenannt in: *Raphidocelis subcapitata*), dass die von ihnen getesteten LMZ und Schaummittelkonzentrate keine stark verschiedenen IC_{50} -Werte aufweisen, da sie in einem Bereich von 10 mg/l bis 48 mg/l liegen [5]. Dies kann in dieser Arbeit nicht festgestellt werden, da die EC_{50} -Werte hier in einem Bereich von 1 mg/l bis 1000 mg/l im AT liegen. Demzufolge wurde in dieser Arbeit eine größere Vielfalt an unterschiedlichen LMZ getestet. Dies liegt vermutlich darin begründet, dass die Konzentrationen an Tensiden in den getesteten LMZ stark schwanken. So haben LMZ 1 und 3 die größte (bis zu 70 %) und LMZ 2 und 4 die kleinste Konzentration (bis zu 20 %) an enthaltenen Tensiden. Dies erklärt auch, dass LMZ 1 und 3 die kleinsten und LMZ 2 und 4 die größten EC_{50} -Werte in beiden Tests aufweisen. Da das getestete Spülmittel Tenside in einer Konzentration enthält, die ähnlich derer in LMZ 2 und 4 ist (bis zu 20 %), kann darauf geschlossen werden, dass die Toxizität nicht nur von der Konzentration sondern auch von der Art der enthaltenen Tenside abhängig ist. Zwar wird das getestete Spülmittelkonzentrat derzeit nicht in der Brandbekämpfung eingesetzt, aber dennoch eignet es sich gut als Referenz, da es ein alltäglicher Gebrauchsgegenstand ist und auch in aquatische Ökosysteme gelangt kann.

Die Toxizität der getesteten LMZ beruht vermutlich auf den enthaltenen Tensiden, da diese laut Fent eine narkotische, bzw. unspezifische Wirkung auf Zellmembranen zeigen, weil sie vermutlich die Phospholipiddoppelschicht und die Membranproteine stören, sowie die Membranfluidität verändern [26]. Durch Störung dieser Komponenten wird die Zellmembran in ihrer Funktionalität gestört, was im Endeffekt z.B. auf die Störung des Stoffwechsels und der Atmung der Zelle hinauslaufen kann, was zum Zelltod führen kann. Laut Rege et al. können Tenside Peptidtransporter, die Membranproteine sind, hemmen, was zur Störung der Zellaktivität führen kann [1]. Jones entdeckte, dass Tenside das Herauslösen von Membranproteinen bewirken können, sodass es zu Strukturschäden in der Zellmembran und somit zu Zelltod kommen kann [2]. Dies beobachteten auch Anderberg et al. in ihren Versuchen mit Tensiden, wobei sie feststellten, dass die Wirkung auf Zellen abhängig von der Art und der Konzentration der Tenside ist [27]. So wirken anionische Tenside toxischer auf Zellen als nicht-ionische [27]. Demzufolge ist von einer Toxizität von Tensiden gegenüber Zellen und Organismen auszugehen, welche abhängig von der Art und Konzentration der Tenside ist.

Hormesis

Neben der ermittelten toxischen Wirkung der LMZ haben die LMZ 2, 3 und 4 im AT in den kleinsten getesteten Konzentrationen eine Stimulation des Algenwachstums gezeigt, wobei LMZ 4 die größte,

LMZ 2 die zweitgrößte und LMZ 3 die kleinste Stimulation zeigt. Somit kann nicht allgemein gesagt werden, dass LMZ aufgrund dessen, dass sie Tenside enthalten, immer toxisch wirken. Wie Anderberg et al. beobachteten, ist die Toxizität auch abhängig von der Konzentration der Tenside [27]. Auch McDonald et al. beobachteten eine Stimulation des Wachstums bei kleinen Konzentrationen in ihren Versuchen. Sie stellten fest, dass in LMZ und Schaummitteln enthaltene Ammonium und Phosphor in geringen Konzentrationen eine Stimulation des Wachstums bewirken, da sie als Nährstoffe von den Algen aufgenommen werden [5]. Laut Ahlf und Heise kann eine Stimulation des Algenwachstums auch andere Gründe als eine Hormesis haben, wie der Abbau der Proben während des Tests oder der Zusatz von Nährstoffen zum Testmedium [24]. Da in dieser Arbeit die Nährstoffe nach der in der DIN EN ISO 8692 definierten Art und Menge dem Medium zugegeben wurden und die LMZ eine geringe biologische Abbaubarkeit innerhalb von vier Tagen aufzeigen, liegt der Grund für die Stimulation vermutlich in der Hormesis, wobei ein abiotischer Abbau der LMZ aufgrund der vorliegenden Daten nicht vollständig ausgeschlossen werden kann. Ob in dieser Arbeit bei LMZ 2, 3 und 4 im AT eine Hormesis vorliegt, soll im Folgenden überprüft werden.

Kendig et al. definierten Hormesis als eine Dosis-Wirkungs-Beziehung für einen einzelnen Endpunkt, welche durch die Umkehrung der Wirkung zwischen kleinen und hohen Konzentrationen von Chemikalien, biologischen Molekülen, physische Stressoren oder anderen Wirkstoffen charakterisiert ist [28]. Nach Kendig et al. müssen eine Stimulation bei kleinen und eine Hemmung bei großen Konzentrationen eines Stoffes vorhanden sein, um von einer Hormesis ausgehen zu können [28]. Bei den oben genannten LMZ kann diese Beobachtung gemacht werden. Calabrese und Baldwin fanden in Ihren Untersuchungen heraus, dass die maximale Stimulation bei einer Hormesis meistens in einem Bereich von 30 % bis 60 % liegt [29]. Bei einer Unterschreitung dieses Bereiches ist es möglich, dass Stimulationen auf eine hohe Variabilität der Daten zurückzuführen ist. Da bei LMZ 2 und 3 der Mittelwert der Werte gemessen bei der kleinsten Konzentration unterhalb von 30 % liegt, ist hier vermutlich keine Hormesis aufgetreten. Zudem sind beide Werte nach Klimisch et al. als „nicht vertrauenswürdig“ einzustufen, da beide Variationskoeffizienten oberhalb von 5 % liegen und dies ein nach DIN EN ISO 8692 definiertes Gültigkeitskriterium ist [25] [7]. Wiederum liegt der Variationskoeffizient bei der kleinsten Konzentration von LMZ 4 unterhalb von 5 %, sodass diesem vertraut werden kann. Zudem liegt die Stimulation hier bei 98 %, sodass hier mit großer Wahrscheinlichkeit eine Hormesis vorliegt.

LMZ 1 zeigt im Vorversuch 2 ebenfalls eine Stimulation des Algenwachstums in der kleinsten Konzentration. Zwar liegt die Stimulation mit 60 % im Bereich von 30 % bis 60 %, aber der Wert ist nicht vertrauenswürdig, da der Variationskoeffizient hier oberhalb von 5 % liegt. Demzufolge ist hier aufgrund der vorliegenden Daten von keiner Hormesis auszugehen und es sollten weitere Versuche durchgeführt werden, in denen dies untersucht wird.

Der Grund für die Hormesis bei LMZ 4 kann darin liegen, dass sich Amine in einer Konzentration von 3 % bis 4 % im Gemisch befinden, welche förderlich für das Algenwachstum sein können. Jinqi und Houtian fanden in ihren Versuchen heraus, dass aromatische Amine von Algen als Nährstoffquelle genutzt werden können [30]. LMZ 4 enthält ebenfalls Sulfat in Konzentrationen von 1 % bis 2 %, welche ebenfalls förderlich für das Algenwachstum sein können. Arad et al. fanden heraus, dass ein Mangel an Sulfat die Photosynthese der Algen und die Produktion an Polysacchariden für die Zellmembran hemmt [31]. Demzufolge ist Sulfat auch wichtig für den Stoffwechsel und für das Wachstum von Algen. Da aber auch LMZ 1 Amine in Konzentrationen von 1 % bis 4,5 % enthält, kann nicht eindeutig gesagt werden, dass nur die Amine die Stimulation des Wachstums bewirken. Zum anderen ist es möglich, dass das Amin im LMZ 1 stärker gebunden ist als im LMZ 4, sodass es den Algen bei LMZ 1 nicht so einfach wie bei LMZ 4 zur Verfügung gestellt werden kann. Sulfate sind auch in LMZ 3 in Konzentrationen von 5 % bis 10 % enthalten, was eine höhere Konzentration als in LMZ 4 darstellt. Demzufolge liegt der Grund für die Stimulation des Wachstums vermutlich in der Kombination von Sulfat und Aminen, da beide Substanzen nur zusammen in LMZ 4 enthalten sind.

Die kleinste Konzentration von LMZ 4 wurde ausschließlich in Versuch 5 getestet, sodass ein Vergleich mit vorherigen Versuchen unmöglich ist und evtl. zur Bestätigung des Ergebnisses weitere Algentests durchzuführen sind. Zudem sollten weitere Konzentrationen, die kleiner als 33,07 mg/l sind, getestet werden, um beurteilen zu können, an welcher Stelle die Stimulation oder Hemmung nahe 0 % liegt. So kann auch festgestellt werden, ob das Maximum der Stimulation bei 98 % oder darüber liegt.

Empfindlichkeit der Testorganismen gegenüber den LMZ

Im AT liegen alle ermittelten EC_{50} -Werte der LMZ unterhalb derer im LBT ermittelten. Wie stark der Unterschied im EC_{50} -Wert je LMZ beim Vergleich der Ergebnisse von AT und LBT ist, hängt vom getesteten LMZ ab. So liegt der EC_{50} -Wert von LMZ 1 im AT um den Faktor zehn unterhalb von dem im LBT ermittelten Wert. Auch der im AT ermittelte EC_{50} -Wert von LMZ 2 liegt um den Faktor zehn unterhalb von dem im LBT ermittelten Wert. Zwar liegt bei LMZ 3 und 4 der jeweils im AT ermittelte EC_{50} -Wert in derselben Größenordnung wie die Werte im LBT, aber die im AT ermittelten Werte sind kleiner als die im LBT bestimmten. Auf der Basis der EC_{50} -Werte lässt sich schlussfolgern, dass die LMZ auf *Raphidocelis subcapitata* toxischer wirken als auf *Vibrio fischeri*.

Neben der Betrachtung der ökotoxikologischen Endpunkte ist auch die Betrachtung der Steigung der Dosis-Wirkungs-Kurve zur Abschätzung der Wirkungsweise der Substanzen erforderlich. Aufgrund der Steigung der Dosis-Wirkungs-Kurve können Erkenntnisse darüber gewonnen werden, wie empfindlich der jeweilige Organismus auf den getesteten Stoff reagiert. Bei der Betrachtung der Steigung wird der vom Programm GraphPad PRISM[®] bestimmte Hill slope herangezogen. Die größte Steigung im LBT weist die Dosis-Wirkungs-Kurve von LMZ 4 im Experiment 1 auf, während die kleinste Steigung die Kurve von Spülmittel im Experiment 2 aufweist. Die zweitgrößte Steigung zeigt die Kurve von LMZ 1, gefolgt von LMZ 2. Danach folgen LMZ 3 und LMZ 4 im Experiment 2. Im AT liegt die größte Steigung bei LMZ 3 und die kleinste bei LMZ 2. Die zweitgrößte Steigung liegt bei LMZ 4. Die Werte der Steigungen der LMZ 2 bis 4 liegen im AT deutlich oberhalb derer im LBT, wobei *Raphidocelis subcapitata* auf LMZ 3 und *Vibrio fischeri* auf LMZ 4 im Experiment 1 von den getesteten LMZ am empfindlichsten reagierte. Bei der Betrachtung der LMZ reagierte *Vibrio fischeri* auf LMZ 3 und *Raphidocelis subcapitata* auf LMZ 2 am wenigsten empfindlich. Bei der Betrachtung aller getesteten Proben reagierte *Vibrio fischeri* am wenigsten empfindlich auf das getestete Spülmittelkonzentrat. Auch hier kann beobachtet werden, dass *Raphidocelis subcapitata* empfindlicher auf die LMZ reagiert als *Vibrio fischeri*.

Der Unterschied in der Empfindlichkeit liegt vermutlich in der Tatsache, dass der LBT ein Kurzzeittest und der AT ein Langzeittest ist. Demzufolge werden die Effekte einer Exposition beim AT über mehrere Generationen verfolgt, als beim LBT, was den AT zu einem empfindlicheren Test macht. Auch Miller et al. beobachteten in ihren Versuchen, dass die verwendeten Algen empfindlicher auf die getesteten Schwermetalle, Herbizide und Insektizide reagierten, als die verwendeten Bakterien [32].

Umweltrisikoaanalyse

Zur Abschätzung eines potentiellen Umweltrisikos werden jene Ergebnisse, erhalten aus ökotoxikologischen Tests, herangezogen, die die Toxizität auf den empfindlichsten Organismus darstellen. Zur Bewertung der potenziellen Gefährlichkeit der LMZ auf die Gesamtheit der in aquatischen Ökosystemen lebenden Organismen wird ein geeigneter Sicherheitsfaktor nach TGD herangezogen [12], welcher zum einen von der Art des Biotests (Lang- oder Kurzzeittest) und zum

anderen von der Menge an ermittelten Ergebnissen abhängig ist. Eigentlich müssten die Ergebnisse aus dem Algentest in dieser BA zur Umweltrisikoaanalyse herangezogen werden, da *Raphidocelis subcapitata* empfindlicher auf die LMZ reagierte als *Vibrio fischeri*. Da laut Klimisch et al. die Messergebnisse für das Risikomanagement herangezogen werden sollen, denen mehr vertraut wird [25], werden zur Umweltrisikoaanalyse die Ergebnisse aus dem LBT herangezogen. Im LBT werden die Ergebnisse von LMZ 4 im Experiment 1 betrachtet, da diesen mehr vertraut wird. Der verwendete Sicherheitsfaktor beträgt nach TGD 1000, da die PNEC-Werte mit EC₅₀-Werten, erhalten aus einem Kurzzeittest, berechnet werden [12].

Nach der Berechnung des PNEC je LMZ wird betrachtet, ob eine Umweltgefährdung für aquatische Organismen vorliegt. Dazu werden in Tabelle 51 die kleinste empfohlene Konzentration je LMZ, entnommen aus den Sicherheitsdatenblättern, und der ermittelte PNEC je LMZ miteinander verglichen.

Tabelle 51: Vergleich der kleinsten empfohlenen Konzentration mit den aus den ökotoxikologischen Endpunkten aus dem LBT ermittelten PNEC je LMZ

LMZ	kleinste empfohlene Konzentration in mg/l	PNEC in µg/l
LMZ 1	4900	28,56
LMZ 2	5250	2737
LMZ 3	940	83,21
LMZ 4 (Experiment 1)	1102	661,2

Bei jedem der getesteten LMZ liegt die kleinste empfohlene Konzentration oberhalb des PNEC-Wertes. Dazu kommt, dass die biologische Abbaubarkeit der getesteten LMZ bis zum 4. Tag unterhalb von 50 % liegt, sodass die LMZ für eine längere Zeit als beispielsweise ein flüssiges Waschmittel (Spencer, siehe Okpokwasili und Olisa [20]) in aquatischen Ökosystemen vorhanden sind. Demzufolge ist von einer Umweltgefährdung für aquatische Organismen auszugehen, sollten einsatzbedingt LMZ in aquatische Ökosysteme gelangen. Im Folgenden wird die anhand der EC₅₀-Werte aus dem LBT im Kapitel „Ergebnisse“ durchgeführte Umweltrisikoaanalyse näher betrachtet. Zur Bewertung der Höhe des Umweltrisikos wird Tabelle 52 herangezogen.

Tabelle 52: Beschreibung des Umweltrisikos in Abhängigkeit zur Höhe des PEC/PNEC

PEC/PNEC	Beschreibung
< 1	kein Umweltrisiko
1 bis 10	geringes Umweltrisiko
10 bis 100	erhöhtes Umweltrisiko
100 bis 10000	hohes Umweltrisiko
> 10000	sehr hohes Umweltrisiko

Diese logarithmische Einteilung der PEC/PNEC-Werte wird anhand der Ergebnisse der Umweltrisikoaanalyse getätigt, da hierin PEC/PNEC-Werte ermittelt werden, die in ihrer Höhe sehr stark streuen. So liegen beispielsweise in Tabelle 40 im *worst-case* sechs PEC/PNEC im Bereich von 1 bis 10, fünf im Bereich von 10 bis 100, dreizehn im Bereich von 100 bis 10000 und sechs oberhalb von 10000. Demzufolge werden neben der Stufe „kein Umweltrisiko“ vier Stufen vom Autor dieser Arbeit definiert, die die Höhe des bestehenden Umweltrisikos beschreiben. Da die meisten PEC/PNEC-Werte bei einem bestehenden Umweltrisiko im Bereich von 100 bis 1000 liegen, könnte darüber nachgedacht werden, den Bereich der Stufe „hohes Umweltrisiko“ kleiner zu definieren. Zur Einhaltung der logarithmischen Struktur wird dies hier nicht gemacht. Liegt der PEC/PNEC unterhalb

von eins, so besteht kein Umweltrisiko, da die angenommene emittierte Menge an LMZ (PEC) kleiner als die angenommene toxische Konzentration der LMZ (PNEC) ist.

Bei der Betrachtung der Umweltrisikoaanalyse fällt auf, dass sich die Ergebnisse im *worst-case* und *realistic-case* kaum unterscheiden. Unterschiede bestehen nur zu den Werten des *best-case*. Zudem fällt auf, dass unabhängig vom definierten Szenario und vom LMZ bei einer Emission in den großen See kein Umweltrisiko für den gesamten See besteht. Auch besteht bei drei von vier LMZ im *best-case* und bei zwei von vier im *worst-case* und im *realistic-case* im Szenario „Kleinbrand“ und der Emission in den mittelgroßen See kein Umweltrisiko. Beim Szenario „mittelgroßer Brand“ und der Emission in den mittelgroßen See besteht bei zwei von vier LMZ in allen Fällen kein Umweltrisiko für den gesamten See. Bei der Emission in den kleinen See unabhängig vom Szenario besteht bei allen LMZ in allen Fällen ein Umweltrisiko. Im *worst-case* und *realistic-case* ist beim mittelgroßen Brand und der Emission in den kleinen See das Umweltrisiko hoch, während LMZ 2 im *best-case* ein erhöhtes Umweltrisiko zeigt. Beim selben Szenario und der Emission in den gleichen See zeigt LMZ 1 im *worst-case* und *realistic-case* als einzige Probe ein sehr hohes Umweltrisiko. Beim Großbrand und der Emission in den kleinen See zeigen im *worst-case* und *realistic-case* drei von vier LMZ ein sehr hohes Umweltrisiko, während LMZ 2 als einzige Probe ein hohes Risiko zeigt. Im selben Szenario und der Emission in denselben See besteht bei zwei von vier LMZ im *best-case* ein sehr hohes Umweltrisiko, während bei LMZ 2 und LMZ 4 im Experiment 1 ein hohes Risiko besteht. Beim Kleinbrand und der Emission in den mittelgroßen See besteht bei LMZ 1 und 3 im *worst-case* und *realistic-case* und im *best-case* nur bei LMZ 1 ein geringes Umweltrisiko für den gesamten See, während bei den anderen LMZ in allen Fällen keines besteht. Beim mittelgroßen Brand und der Emission in den mittelgroßen See besteht in allen Fällen bei LMZ 2 und LMZ 4 (E1) kein Umweltrisiko. LMZ 1 zeigt im selben Szenario und der Emission in dasselbe Gewässer ein erhöhtes Umweltrisiko im *worst-case* und *realistic-case* und ein geringes im *best-case*. LMZ 3 zeigt hier in allen Fällen ein geringes Umweltrisiko.

Zwangsläufig kommt es zu einer Risikounterschätzung in der unmittelbaren Nähe zur Emissionsquelle und zu einer Risikoüberschätzung am weitesten von der Emissionsquelle entfernten Punkt im Gewässer, da sich die Substanzen nicht unmittelbar nach der Emission im gesamten Gewässer ausbreiten. Zwar besteht bei der Emission von LMZ in den großen See unabhängig von Szenario und Fall kein Umweltrisiko für das gesamte Gewässer, dennoch besteht ein nicht zu vernachlässigendes Risiko für die Flora und Fauna in der unmittelbaren Nähe zur Emissionsquelle. An dieser Stelle werden für eine genauere Umweltrisikoaanalyse die unmittelbare Nähe zur Emissionsquelle und das Volumen des mittelgroßen und des kleinen Sees in Abhängigkeit zum Gesamtvolumen des großen Sees betrachtet. In Abbildung 43 werden beide Seen in den großen See und in unmittelbare Nähe zur Emissionsquelle gelegt.

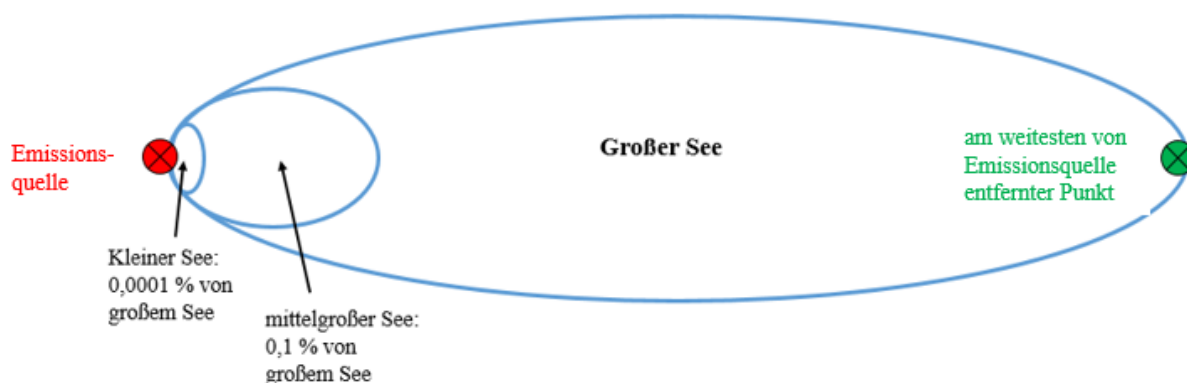


Abbildung 43: prozentualer Anteil des Volumens vom kleinen und mittelgroßen See am Volumen des großen Sees

Da es beim Großbrand und der Emission in den kleinen See in allen betrachteten Fällen und bei allen LMZ zu einem äußerst besorgniserregenden Umweltrisiko kommt, ist beim gleichen Szenario und dem Eintrag in den großen See in unmittelbarer Nähe zur Emissionsquelle von einem erheblichen Umweltrisiko auszugehen, während am weitest entfernten Punkt keines besteht. Bei den anderen beiden Szenarien ist unabhängig vom LMZ von einem hohen, nicht vernachlässigbaren Umweltrisiko in unmittelbarer Nähe zur Emissionsquelle auszugehen, da auch bei diesen Szenarien bei der Emission in den kleinen See hohe PEC/PNEC-Werte ermittelt werden. Demzufolge ist bei der Emission in den großen See bei allen LMZ und unabhängig vom Szenario von einem Umweltrisiko für 0,0001 % des Volumens des großen Sees, was 10 m³ sind, auszugehen. Dieses Volumen ist mit dem des Boberger Sees in Hamburg vergleichbar.

Beim Großbrand und der Emission in den großen See besteht für 0,1 % des Volumens des großen Sees, was 10000 m³ sind und dem Volumen des Öjendorfer Sees in Hamburg entspricht, ein Umweltrisiko. Das Umweltrisiko ist hier abhängig vom LMZ und Fall unterschiedlich hoch. So besteht bei LMZ 2 in allen Fällen ein sehr geringes Risiko, während bei LMZ 1 in allen Fällen ein hohes besteht. Bei LMZ 3 besteht im *worst-case* und *realistic-case* ein hohes und im *best-case* ein erhöhtes Risiko. LMZ 4 (im Experiment 1) zeigt im *worst-case* und im *realistic-case* ein erhöhtes und im *best-case* ein geringes Risiko.

Diese Betrachtung soll zeigen, dass für die Flora und Fauna in unterschiedlichen Anteilen des Gesamtvolumens des großen Sees ein Risiko besteht. Dies ist abhängig vom eingeleiteten LMZ und des Falls. Bisher wurde davon ausgegangen, dass sich die emittierte Menge der Proben gleichmäßig im Gewässer verteilt, was durch Zirkulation verursacht durch Wind und Regen geschehen kann. Zwar mögen die am weitest entfernten Punkt lebenden Organismen nicht unmittelbar negativ beeinträchtigt werden, dennoch kann es zu einer Schadstoffverschleppung an diesen Punkt kommen, da das aquatische Ökosystem ein dynamisches System ist. Außerdem wird davon ausgegangen, dass die definierten Gewässer keine großen Zu- und Abflüsse haben, sodass die Substanzen nicht durch hohe Strömungsgeschwindigkeiten unmittelbar aus den Gewässern abtransportiert werden. Als Emissionsquelle wird eine auf die je Szenario angegebene Einsatzdauer zeitlich beschränkte Punktquelle definiert.

Für eine genauere Umweltrisikoaanalyse sind Untersuchungen über das Bioakkumulationspotential und die Resorption und Aufnahme mit der Nahrung durch im Gewässer befindliche Organismen erforderlich. Es ist zu klären, ob sich die LMZ in den Organismen anreichern und inwiefern sie bioverfügbar sind. Ebenfalls sollte bei einigen LMZ der 1-Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizient (K_{ow} oder P_{ow}) bestimmt werden, da somit abgeschätzt werden kann, wie sich der Stoff im Gewässer verteilt. Dieser kann sich u.a. über Adsorption an Schwebstoffen oder die Wassersäule im Gewässer und in andere aquatische Systeme verteilen. In dieser BA wird von einer Ausbreitung in der Wassersäule aufgrund der in den Sicherheitsdatenblättern der LMZ aufgeführten hohen Wasserlöslichkeit ausgegangen. Auch ist davon auszugehen, dass beim Vorhandensein großer Zu- und Abflüsse die Substanz schnell verdünnt wird.

Ebenfalls muss betrachtet werden, wann die in den Szenarien definierten Mengen an LMZ in die Gewässer gelangen. Hierzu werden Fälle definiert, welche bestimmte Situationen wiederspiegeln. So ist beim *worst-case* von einer Brandbekämpfung eines Wasserfahrzeugs auf dem Gewässer mit LMZ auszugehen. Beim *realistic-case* könnte beispielsweise ein brennendes Objekt auf einem asphaltierten Boden in unmittelbarer Nähe zum Gewässer mit LMZ gelöscht werden. Im *best-case* würde das brennende Objekt weiter vom Gewässer entfernt liegen oder nach dem Brand sofort entfernt werden. Zwar wird im *best-case* davon ausgegangen, dass ein Teil der LMZ am brennenden Objekt haften bleiben, dennoch kann es durch Regen zum Abwaschen der LMZ von der Oberfläche kommen, wodurch ein Eintrag ins Ökosystem stattfindet.

Ein weiteres aquatisches Ökosystem ist das Grundwasser mit den darin lebenden Organismen. Grundwasser stellt auch eine für den Menschen wichtige Trinkwasserquelle dar, sodass ein Eintrag von LMZ in dieses Ökosystem ebenfalls großen Schaden anrichten kann. Bisher wurde ausschließlich das Risiko beim Eintrag von LMZ in ein Oberflächengewässer ohne große Zu- und Abflüsse betrachtet, aber auch eine Betrachtung des Risikos beim Eintrag von LMZ ins Grundwasser ist von entscheidender Bedeutung. Der Unterschied zur Emission in ein Oberflächengewässer besteht darin, dass es zuerst zu einer Bodenemission und danach zum Versickern in den Bodenschichten kommt, bevor die Substanz ins Grundwasser gelangt. Um eine adäquate Umweltrisikoaanalyse in diesem Fall durchführen zu können, ist die Bestimmung der Festkörper-Wasser-Verteilungskonstante (K_p) von ausschlaggebender Bedeutung. Bei einem hohen Wert für K_p adsorbiert die Substanz an im Boden befindlichen Festkörpern und es kommt zu keinem Versickern ins Grundwasser. Diese Konstante wurde in dieser BA nicht bestimmt, sodass hier keine Umweltrisikoaanalyse für eine Emission an LMZ ins Grundwasser durchgeführt wird. Hier besteht noch Untersuchungsbedarf.

Weitere aquatische Ökosysteme sind fließende Gewässer, z.B. Flüsse und Bäche, in welche ebenfalls LMZ emittiert werden kann. Beispielsweise kam es 1969 in Alaska zu einem Eintrag an LMZ in einen Fluss, wodurch es zu einem Fischsterben kam [33]. Dies zeigt deutlich, dass eine Betrachtung des Umweltrisikos auch hier notwendig ist. Eine Abschätzung des Umweltrisikos ist hier schwer, da die Betrachtung der Ausbreitung der LMZ nur mit präzisen Modellen möglich ist. Was gesagt werden kann, ist, dass es zu einer starken Verdünnung und einem schnellen Weitertransport der Stoffe kommt. Analog zur Betrachtung des Umweltrisikos bei stehenden Gewässern ist auch bei fließenden Gewässern von einem hohen Umweltrisiko bei der Emission der untersuchten LMZ in unmittelbarer Nähe zur Emissionsquelle auszugehen. Zwar sind durch den schnellen Weitertransport der LMZ im fließenden Gewässer die in unmittelbarer Nähe zur Emissionsquelle lebenden Organismen den Substanzen nicht so lange ausgesetzt wie im stehenden Gewässer, dennoch kann diese kurzzeitige Exposition zu schädlichen Wirkungen führen. Norris und Webb führten Biotests mit Fischen in fließenden Gewässern durch, in denen sie die Sterblichkeit der Fische bei Eintrag von LMZ in das Gewässer untersuchten [34]. Sie fanden heraus, dass die Höhe der Sterblichkeitsrate abhängig von der Art des Eintrags, der Charakteristik des fließenden Gewässers und von der Strömungsgeschwindigkeit ist. Hier sind ebenfalls weitere Untersuchungen mit den getesteten LMZ erforderlich, worin auch Fischtests durchgeführt werden sollten.

Innerhalb der Umweltrisikoaanalyse werden nur die getesteten LMZ betrachtet. Natürlich ist davon auszugehen, dass sich Verbrennungsprodukte bzw. Brandrückstände im abfließenden Löschwasser zusammen mit LMZ befinden, welche ebenfalls toxisch wirken könnten. Hierauf ist auch bei einem Brandeinsatz zu achten.

Aufgrund der Ergebnisse aus der Umweltrisikoaanalyse kann davon ausgegangen werden, dass es sich bei den hier getesteten LMZ um wassergefährdende Stoffe nach dem Wasserhaushaltsgesetz (WHG) handelt, denn sie sind geeignet, dauernd oder in einem nicht nur unerheblichen Ausmaß nachteilige Veränderungen der Wasserbeschaffenheit herbeizuführen [35]. Dies liegt darin begründet, dass die ermittelten PNEC-Werte bei allen getesteten LMZ unterhalb der kleinsten empfohlenen Konzentration liegen. Die LMZ 1, 3 und 4 wurden bereits von den Herstellern als wassergefährdende Stoffe in den Sicherheitsdatenblättern angegeben und in WGK eingestuft. So wurde LMZ 1 in die WGK 1 (schwach wassergefährdend) und die LMZ 3 und 4 in die WGK 2 (wassergefährdend) eingestuft. Es fällt auf, dass LMZ 1, das das höchste Umweltrisiko zeigt, in eine niedrigere WGK eingestuft wurde, als LMZ 3 und 4.

Da es sich um wassergefährdende Stoffe handelt, müssen nach § 62 WHG alle Anlagen zum Verwenden wassergefährdender Stoffe im Bereich öffentlicher Einrichtungen so beschaffen sein und so errichtet, unterhalten, betrieben und stillgelegt werden, dass eine nachteilige Veränderung der Eigenschaften von Gewässern nicht zu besorgen ist [35]. Damit sind alle löschmittelführenden und -abgebenden Armaturen gemeint, welche bei der Brandbekämpfung mit LMZ betrieben werden. Nach § 62 WHG ist beim Aufbau, Betrieb und Abbau dieser Armaturen darauf zu achten, dass keine LMZ

in oberirdische Gewässer und ins Grundwasser gelangen. Das WHG definiert in § 27 Bewirtschaftungsziele für oberirdische Gewässer, sodass eine Verschlechterung ihres ökologischen und chemischen Zustands vermieden und ein guter ökologischer und chemischer Zustand erhalten wird [35]. Diese Ziele könnten durch die falsche und unumsichtige Handhabung von LMZ im Einsatz gefährdet sein. Zwar verstoßen vorübergehende Verschlechterungen des Zustands eines Gewässers nach § 31 Artikel 1 WHG nicht gegen diese Ziele, wenn sie durch außergewöhnliche und unvorhersehbare Ereignisse, welche natürlich oder durch höhere Gewalt eingetreten sind, und durch Unfälle entstanden sind, aber es sind Maßnahmen zu treffen, um eine weitere Verschlechterung des Gewässerzustands zu verhindern [35], wie z.B. Löschwasserrückhaltesysteme. Dieser Abschnitt bezieht sich ausschließlich auf die vorübergehende Verschlechterung des Zustands von oberirdischen Gewässern. Da aber aufgrund der länger andauernden biologischen Abbaubarkeit der LMZ auch von einer länger bestehenden Zustandsverschlechterung ausgegangen werden kann, wird im Folgenden § 31 Artikel 2 WHG betrachtet. So verstoßen die Zustandsverschlechterungen nicht gegen die Bewirtschaftungsziele, wenn die Gründe von übergeordnetem öffentlichen Interesse sind [35], was bei der Brandbekämpfung immer gegeben ist. Aber, es ist laut § 31 Abschnitt 2 Satz 3 WHG zu prüfen, ob die Ziele, die mit der Veränderung des Gewässers verfolgt werden, nicht mit anderen geeigneteren Maßnahmen erreicht werden können, die wesentlich geringere nachteilige Auswirkungen auf die Umwelt haben, technisch durchführbar und nicht mit unverhältnismäßig hohem Aufwand verbunden sind [35]. Demnach ist zu überlegen, ob die Brandbekämpfung nicht auch mit Löschwasser ohne Zusatz von LMZ zum Erfolg führt, da Löschwasser weniger toxisch als die getesteten LMZ wirkt. Sollte sich doch für den Einsatz von Löschwasser mit Zusatz von LMZ entschieden werden, so sollte das LMZ verwendet werden, welches das niedrigste Umweltrisiko bewirkt. Auch eine Löschwasserrückhaltung kann eingerichtet werden, sofern dies aufgrund der Einsatzlage möglich ist. Ebenfalls kann eine geeignete Löschtechnik vom Strahlrohrführer angewendet werden, bei der eine geringere Menge an LMZ abgegeben wird und in die Umwelt gelangt.

Schlussfolgerung

Die Tests zur Bestimmung der ökotoxikologischen Wirkung haben gezeigt, dass aufgrund der physikalischen und chemischen Eigenschaften der LMZ Anpassungen der Tests notwendig sind. So ist aufgrund der Konzentration der in den LMZ enthaltenen Stoffe eine Einstellung der Salinität nicht möglich. MOPS-Puffer wurde im LBT eingesetzt, da die Pufferwirkung der LMZ bei höheren Verdünnungen abnahm. Im AT muss das Schütteln der Mikrotiterplatten im Multimodereader abgestellt werden und bei zwei LMZ müssen die beiden höchsten Konzentrationen auf eine weitere Mikrotiterplatte angesetzt werden.

Da in den Algenwachstumshemmtests die meisten Gültigkeitskriterien nicht erfüllt wurden und die Mikroalge *Raphidocelis subcapitata* empfindlicher auf die LMZ reagiert als *Vibrio fischeri*, sind weitere Algentests erforderlich. Zudem sollte die im Algentest festgestellte Hormesis bei LMZ 4 genauer untersucht werden, indem weitere Test mit der gleichen Konzentration, bei der die Stimulation des Algenwachstums auftrat, und mit kleineren Konzentrationen durchgeführt werden. So kann zum einen untersucht werden, ob die maximale Stimulation des Wachstums bei der kleinsten getesteten Konzentration liegt und bei welcher der stimulatorische Effekt beginnt bzw. eine Hemmung von nahe 0 % erreicht wird.

Aus diesem Grund wurden die Ergebnisse des LBT zur Betrachtung des Umweltrisikos herangezogen. LMZ 1 zeigt hier die größte Toxizität, gefolgt von LMZ 3. Beide LMZ sind toxischer als das getestete Spülmittel, da deren EC_{50} -Werte um den Faktor zehn unterhalb des EC_{50} -Wertes vom Spülmittel (206,7 mg/l) liegen. LMZ 2 ist am wenigsten toxisch, da es den größten EC_{50} -Wert von 2737 mg/l im LBT aufweist. LMZ 4 liegt mit dem EC_{50} -Wert von 661,2 mg/l um den Faktor zehn oberhalb von dem

von Spülmittel und um den gleichen Faktor unterhalb von dem Wert von LMZ 2, sodass LMZ 4 die drittgrößte Toxizität der getesteten LMZ aufweist. Alle PNEC-Werte liegen unterhalb der für den Einsatz empfohlenen Konzentration, sodass beim Eintrag von LMZ in ein aquatisches Ökosystem mit einer Beeinträchtigung der Lebensgemeinschaften zu rechnen ist. Sind die LMZ einmal in die Gewässer gelangt, wird das Risiko auch langfristig bestehen, denn die Ergebnisse aus den Tests zur biologischen Abbaubarkeit zeigen, dass alle LMZ nicht vollständig in einer kommunalen Kläranlage oder in einem Gewässer innerhalb von vier Tagen biologisch abgebaut werden. So liegt die biologische Abbaubarkeit aller LMZ nach vier Tagen unterhalb von 50 %, wobei die Abbaubarkeit von 0,00 % (LMZ 3 in 1:1000 Verdünnung) bis 33,21 % (LMZ 2 in 1:10000 Verdünnung) reicht. Bei LMZ 1 ist eine höhere Verdünnung als 98 mg/l im Test zu wählen, um adäquate Rückschlüsse auf den biologischen Abbau ziehen zu können.

Aus den erhobenen Daten ist zu folgern, dass vorsorglich Maßnahmen getroffen werden sollten, die die Umweltgefahr beseitigen oder verringern. So könnten Löschwasserrückhaltesysteme eingesetzt oder die Abgabe der LMZ minimiert werden, z.B. durch ein geeignetes Löschverfahren (Impulslöschverfahren, Painting, etc.). Auch die Auswahl der LMZ ist bei der Verringerung des Umweltrisikos entscheidend. So zeigt LMZ 2 das geringste Umweltrisiko bei Eintrag in ein aquatisches Ökosystem, während LMZ 1 das höchste zeigt.

Anhang 1 Artificial Sea Water

Zusammensetzung

KCl	0,7455 g/l
CaCl ₂ × 2 H ₂ O	1,4702 g/l
MgCl ₂ × 6 H ₂ O	10,165 g/l
NaCl	14,61 g/l

pH-Wert

7,2 ± 0,2

Besonderheit

autoklaviert

Anhang 2 Einstellung des Multimodereaders infinite® F200 der Firma Tecan

Anhang 2.1 Einstellungen bei der Messung der Lumineszenz im LBT

Plattendefinition:	Costar 96 Flat White (COS96fw)
Temperatur:	15 °C
Schütteln:	Dauer: 15 sec Modus: orbital Amplitude: 1 mm Frequenz: 432 rpm
Messung:	Lumineszenz
Lumineszenz:	Abschwächung: keine Integrationszeit: 1000 ms Ruhezeit: 1 ms

Anhang 2.2 Einstellungen bei der Messung der Fluoreszenz im AT

Plattenart:	Costar 24 Flat Transparent (COS24ft)
Schütteln:	abgestellt
Wartezeit:	1 sec
Messung:	Fluoreszenz Intensität
Fluoreszenz Intensität:	Wellenlänge: Anregung: 465 nm Emission: 680 nm Anzahl an Lichtblitzen: 50 Ruhezeit: 0 ms Modus: oben Verstärkung: 53 Integration: Verzögerungszeit: 0 µs Integrationszeit: 40 µs

Literaturverzeichnis

- [1] B.D. Rege, J.P.Y. Kao und J.E. Polli, „Effects of nonionic surfactants on membrane transporters in Caco-2 cell monolayers,“ *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, Bd. 16, Nr. 4-5, pp. 237-246, September 2002.
- [2] M.N. Jones, „Surfactants in membrane solubilisation,“ *International Journal of Pharmaceutics*, Bd. 177, Nr. 2, pp. 137-159, January 1999.
- [3] Europäische Union, „Richtlinie 2006/122/EG des Europäischen Parlaments und des Rates,“ 2006.
- [4] Environment directorate, „co-operation on existing chemicals, Hazard assessment of Perfluorooctane sulfonate (PFOS) and its salts, ENV/JM/RD(2002)17/FINAL,“ Organisation for Economic Co-operation and Development, 2002.
- [5] S. McDonald, S.J. Hamilton, K.J. Buhl und J.F. Heisinger, „Acute toxicity of fire control Chemicals to *Daphnia magna* (Straus) and *Selenastrum capricornutum* (Printz),“ *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Bd. 33, Nr. 1, pp. 62-72, February 1996.
- [6] DIN EN ISO 11348-1, Wasserbeschaffenheit – Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von *Vibrio fischeri* (Leuchtbakterientest) – Teil 1: Verfahren mit frisch gezüchteten Bakterien, 2007.
- [7] DIN EN ISO 8692, Wasserbeschaffenheit – Süßwasseralgen-Wachstumshemmtest mit einzelligen Grünalgen, 2012.
- [8] DIN EN 1899-1, „Wasserbeschaffenheit Bestimmung des Biochemischen Sauerstoffbedarfs nach n Tagen (BSBn) Teil 1: Verdünnungs- und Impfverfahren nach Zugabe von Allylthioharnstoff,“ 1998.
- [9] Wissenschaftlich-Technische Werkstätten und (Weilheim i. OB), BSB-Fibel, Grundlagen und Tips zur BSB-Messung, 1996.
- [10] Formelsammlung Formeln Tabellen Daten, 1 Hrsg., Berlin: Duden Paetec Schulbuchverlag, 2003.
- [11] F.C. Neidhardt, P.L. Bloch und D.F. Smith, „Culture Medium for Enterobacteria,“ *Journal of Bacteriology*, Bd. 119, Nr. 3, pp. 736-747, September 1974.
- [12] „Technical Guidance Document on Risk Assessment Part 2 Chapter 3 Environmental Risk assesment,“ European Communities, 2003.
- [13] DIN EN 15182-2, Strahlrohre für die Brandbekämpfung-Teil 2: Hohlstrahlrohre PN 16, 2010.
- [14] H. de Vries, Brandbekämpfung mit Wasser und Schaum, 3 Hrsg., ecomed Sicherheit, 2008.
- [15] K.A.C. De Schamphelaere, D.G. Heijerick und C.R. Janssen, „Comparison of the Effect of Different pH Buffering Techniques on the Toxicity of Copper and Zinc to *Daphnia Magna* and *Pseudokirchneriella Subcapitata*,“ *Ecotoxicology*, Bd. 13, Nr. 7, pp. 697-705, October 2004.

- [16] C.J. Michnowicz und T.E. Weaks, „Effects of pH on toxicity of As, Cr, Cu, Ni and Zn to *Selenastrum capricornutum* Printz,“ *Hydrobiologia*, Bd. 118, Nr. 3, pp. 299-305, November 1984.
- [17] N. Nyholm und T. Källqvist, „Methods for growth inhibition toxicity tests with freshwater algae,“ *Environmental Toxicology and Chemistry*, Bd. 8, Nr. 8, pp. 689-703, August 1989.
- [18] M. Isidori, M. Lavorgna, A. Nardelli und A. Parrella, „Toxicity identification evaluation of leachates from municipal solid waste landfills: a multispecies approach,“ *Chemosphere*, Bd. 52, Nr. 1, pp. 85-94, July 2003.
- [19] B. Krol, K. Prochaska und L. Chrzanowski, „Biodegradability of firefighting foams,“ *Fire Technology*, Bd. 48, Nr. 2, pp. 173-181, April 2012.
- [20] G. Okpokwasili und A. Olisa, „River-water biodegradation of surfactants in liquid detergents and shampoos,“ *Water Research*, Bd. 25, Nr. 11, pp. 1425-1429, November 1991.
- [21] Stadt Bayreuth, Abwasserbetrieb, „Klärwerk Bayreuth, Wasser in Reinkultur,“ 2010.
- [22] Ingenieurbüro Schreiner, „Ertüchtigung der biologischen Stufe, Kläranlage Straubing,“ <http://www.ing-schreiner.de/html/karanlage.html>.
- [23] „Klärwerk Ruhleben,“ Berliner Wasserbetriebe, www.bwb.de.
- [24] W. Ahlf und S. Heise, „Sediment Toxicity Assessment: Rationale for effect classes,“ *Journal of Soils and Sediments*, Bd. 5, Nr. 1, pp. 16-20, February 2005.
- [25] H.J. Klimisch, M. Andreae und U. Tillmann, „A Systematic Approach for Evaluating the Quality of Experimental Toxicological and Ecotoxicological Data,“ *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, Bd. 25, Nr. 1, pp. 1-5, February 1997.
- [26] K. Fent, *Ökotoxikologie Umweltchemie-Toxikologie-Ökologie*, 4 Hrsg., Schweiz: Georg Thieme Verlag KG, 2013.
- [27] E. Anderberg, C. Nyström und P. Artursson, „Epithelial transport of drugs in cell culture. VII: Effects of pharmaceutical surfactant excipients and bile acids on transepithelial permeability in monolayers of human intestinal epithelial (Caco-2) cells,“ *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Bd. 81, Nr. 9, pp. 879-887, September 1992.
- [28] E.L. Kendig, H.H. Le und S.M. Belcher, „Defining Hormesis: Evaluation of a complex concentration response phenomenon,“ *International Journal of Toxicology*, Bd. 29, Nr. 3, pp. 235-246, May/June 2010.
- [29] E.J. Calabrese und L.A. Baldwin, „Defining hormesis,“ *Human & Experimental Toxicology*, Bd. 21, Nr. 2, pp. 91-97, February 2002.
- [30] L. Jinqi und L. Houtian, „Degradation of azo dyes by algae,“ *Environmental Pollution*, Bd. 75, Nr. 3, pp. 273-278, 1992.
- [31] S. Arad, Y.B. Lerental und O. Dubinsky, „Effect of Nitrate and Sulfate Starvation on Polysaccharide Formation in *Rhodella reticulata**,“ *Bioresource Technology*, Bd. 42, Nr. 2, pp. 141-148, 1992.

- [32] W.E. Miller, S.A. Peterson, J.C. Greene und C.A. Callahan, „Comparative Toxicology of Laboratory Organisms for Assessing Hazardous Waste Sites,“ *Journal of Environmental Quality*, Bd. 14, Nr. 4, pp. 569-574, October 1985.
- [33] J.B. Hakala, R.K. Seemel, R. Richey und J.E. Keurtz, „Fire effects and rehabilitation methods--Swanson-Russian River fires,“ in *Fire in the Northern Environment--A symposium*, Portland, 1971, pp. 87-99.
- [34] L.A. Norris und W.L. Webb, „Effects of Fire Retardant on Water Quality,“ in *Proceedings of the Symposium on Fire and Watershed Management*, Sacramento, California, 1988, pp. 79-86.
- [35] Gesetz zur Ordnung des Wasserhaushalts, „Wasserhaushaltsgesetz-WHG,“ 2009.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Messung der pH-Werte	11
Abbildung 2: Messung der Salinität mit dem Refraktometer	11
Abbildung 3: Pipettierschema auf der 96-Well-Mikrotiterplatte	12
Abbildung 4: Pipettierschema der Kontrollplatte	14
Abbildung 5: Kontrollplatte im Algentest.....	14
Abbildung 6: Pipettierschema der Positivkontrolle	15
Abbildung 7: Positivkontrolle im Algentest	15
Abbildung 8: Pipettierschema der Probenplatte.....	15
Abbildung 9: Probenplatte im Algentest.....	15
Abbildung 10: Gerätschaften für die Messung des CSB.....	18
Abbildung 11: Dispergierer	19
Abbildung 12: Überlaufkolben in den Größen 164 ml; 250 ml; 365 ml und 432 ml (von links nach rechts)	20
Abbildung 13: 510 ml – Messflaschen mit OxiTop® -Messkopf.....	20
Abbildung 14: Messflaschen auf Magnetrührern im Thermoschrank.....	21
Abbildung 15: Pipettierschema der Probenplatten im Vorversuch 2	22
Abbildung 16: Mittelwerte der Hemmungen der metabolischen Aktivität im LBT in Abhängigkeit zur jeweiligen Konzentration von LMZ 1 je Experiment.....	25
Abbildung 17: Mittelwerte der Hemmungen der metabolischen Aktivität im LBT in Abhängigkeit zur jeweiligen Konzentration von LMZ 2 je Experiment.....	26
Abbildung 18: Mittelwerte der Hemmungen der metabolischen Aktivität im LBT in Abhängigkeit zur jeweiligen Konzentration von LMZ 3 je Experiment.....	27
Abbildung 19: Mittelwerte der Hemmungen der metabolischen Aktivität im LBT in Abhängigkeit zur jeweiligen Konzentration von LMZ 4 je Experiment.....	27
Abbildung 20: Mittelwerte der Hemmungen der metabolischen Aktivität im LBT in Abhängigkeit zur jeweiligen Konzentration vom Spülmittel je Experiment	28
Abbildung 21: Dosis-Wirkungs-Kurve, EC ₅₀ -Wert, Steigung und Genauigkeit der Regressionskurve von LMZ 1 nach Kurvenanpassung im LBT, wobei die Hemmung in Abhängigkeit zur Konzentration des LMZ aufgetragen wurde	29
Abbildung 22: Dosis-Wirkungs-Kurve, EC ₅₀ -Wert, Steigung und Genauigkeit der Regressionskurve von LMZ 2 nach Kurvenanpassung im LBT, wobei die Hemmung in Abhängigkeit zur Konzentration des LMZ aufgetragen wurde	30
Abbildung 23: Dosis-Wirkungs-Kurve, EC ₅₀ -Wert, Steigung und Genauigkeit der Regressionskurve von LMZ 3 nach Kurvenanpassung im LBT, wobei die Hemmung in Abhängigkeit zur Konzentration des LMZ aufgetragen wurde	30
Abbildung 24: Dosis-Wirkungs-Kurven, EC ₅₀ -Wert, Steigung und Genauigkeit der Regressionskurve von LMZ 4 je Experiment im LBT, wobei die Hemmung in Abhängigkeit zur Konzentration des LMZ aufgetragen wurde	31
Abbildung 25: Dosis-Wirkungs-Kurve, EC ₅₀ -Wert, Steigung und Genauigkeit der Regressionskurve von Spülmittel im Experiment 2 im LBT, wobei die Hemmung in Abhängigkeit zur Konzentration des Spülmittels aufgetragen wurde.....	31
Abbildung 26: Mittelwerte der Hemmungen des Wachstums im AT in Abhängigkeit zur jeweiligen Konzentration des LMZ 1	33
Abbildung 27: Mittelwerte der Hemmungen des Wachstums im AT in Abhängigkeit zur jeweiligen Konzentration des LMZ 2	33
Abbildung 28: Mittelwerte der Hemmungen des Wachstums im AT in Abhängigkeit zur jeweiligen Konzentration des LMZ 3	34

Abbildung 29: Mittelwerte der Hemmungen des Wachstums im AT in Abhängigkeit zur jeweiligen Konzentration des LMZ 4	35
Abbildung 30: Mittelwerte der Hemmungen des Wachstums im AT in Abhängigkeit zur jeweiligen Konzentration von 3,5-DCP	35
Abbildung 31: Dosis-Wirkungs-Kurve, EC ₅₀ -Wert, NOEC-Wert, Steigung und Genauigkeit der Regressionskurve von LMZ 2 im AT, wobei die Hemmung in Abhängigkeit zur Konzentration des LMZ aufgetragen wurde.....	37
Abbildung 32: Dosis-Wirkungs-Kurve, EC ₅₀ -Wert, NOEC-Wert, Steigung und Genauigkeit der Regressionskurve von LMZ 3 im AT, wobei die Hemmung in Abhängigkeit zur Konzentration des LMZ aufgetragen wurde.....	37
Abbildung 33: Dosis-Wirkungs-Kurve, EC ₅₀ -Wert, NOEC-Wert, Steigung und Genauigkeit der Regressionskurve von LMZ 4 im AT, wobei die Hemmung in Abhängigkeit zur Konzentration des LMZ aufgetragen wurde.....	38
Abbildung 34: Dosis-Wirkungs-Kurve, EC ₅₀ -Wert, NOEC-Wert, Steigung und Genauigkeit der Regressionskurve von 3,5- DCP im AT, wobei die Hemmung in Abhängigkeit zur Konzentration von DCP aufgetragen wurde	38
Abbildung 35: Abbaukurve des Ablaufmaterials der Kläranlage (Blindprobe) im Test zur Bestimmung des BSB ₅ , worin die BSB-Werte in Abhängigkeit zum Messtag aufgetragen sind	43
Abbildung 36: Abbaukurve von Glucose (Positivkontrolle) im Test zur Bestimmung des BSB ₅ , worin die BSB-Messwerte in Abhängigkeit zum Messtag aufgetragen sind.....	43
Abbildung 37: Abbaukurven der unverdünnten LMZ mit den Messwerten der 1:1000 verdünnten LMZ-Proben im Test zur Bestimmung des BSB ₅ , worin die BSB-Messwerte in Abhängigkeit zum Messtag aufgetragen sind	44
Abbildung 38: Abbaukurven der unverdünnten LMZ mit den Messwerten der 1:10000 verdünnten LMZ-Proben im Test zur Bestimmung des BSB ₅ , worin die BSB-Messwerte in Abhängigkeit zum Messtag aufgetragen sind	45
Abbildung 39: Mittelwerte der Hemmungen des Wachstums im Vorversuch 2 in Abhängigkeit zur jeweiligen Konzentration des LMZ 1	47
Abbildung 40: Mittelwerte der Hemmungen des Wachstums im Vorversuch 2 in Abhängigkeit zur jeweiligen Konzentration von 3,5-DCP	48
Abbildung 41: Dosis-Wirkungs-Kurve, EC ₅₀ - Wert, NOEC-Wert, Steigung und Genauigkeit der Regressionskurve von LMZ 1 im Vorversuch 2, worin die Hemmung in Abhängigkeit zur Konzentration des LMZ aufgetragen ist.....	49
Abbildung 42: Dosis-Wirkungs-Kurve, EC ₅₀ - Wert, NOEC-Wert, Steigung und Genauigkeit der Regressionskurve von 3,5-DCP im Vorversuch 2, worin die Hemmung in Abhängigkeit zur Konzentration von DCP aufgetragen ist.....	49
Abbildung 43: prozentualer Anteil des Volumens vom kleinen und mittelgroßen See am Volumen des großen Sees	70

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: getestete Konzentrationen der Proben je Versuch in mg/l im LBT	10
Tabelle 2: getroffene Maßnahmen bei der Einstellung des pH-Wertes und der Salinität je Versuch im LBT	12
Tabelle 3: getestete Endkonzentrationen der LMZ je Versuch in mg/l im AT	13
Tabelle 4: Maßnahmen zur Behebung von aufgetretenen Problemen je Versuch im AT	16
Tabelle 5: einzusetzende Volumina und Multiplikationsfaktoren in Abhängigkeit zum erwarteten BSB; abgeändert im Bereich des zu erwartenden BSB-Wertes von der Quelle: Bestimmung des Biochemischen Sauerstoffbedarfs (BSB), BSB-Fibel, Seite 24, WTW [9]	17
Tabelle 6: getestete Probenverdünnungen bei der Bestimmung des CSB	18
Tabelle 7: Verdünnungsfaktoren je Probe im Test zur Bestimmung des BSB ₅	19
Tabelle 8: eingesetzte Konzentration von ATH je eingesetztes Volumen bei der Bestimmung des BSB ₅	20
Tabelle 9: Szenarien mit Anzahl und Art der eingesetzten HSR, der Dauer und des Löschmittel- und LMZ-Verbrauches zur Berechnung des PEC	23
Tabelle 10: stehende Gewässer mit ihren Volumina zur PEC-Berechnung	24
Tabelle 11: Abweichungen der Parallelbestimmungen vom Mittelwert in %-Punkten je Konzentration des LMZ 1 und Experiments (E1 und E2) im LBT, alle Abweichungen oberhalb von 3 %-Punkten sind rot markiert	25
Tabelle 12: Abweichungen der Parallelbestimmungen vom Mittelwert in %-Punkten je Konzentration des LMZ 2 und Experiments (E1 und E2) im LBT, alle Abweichungen oberhalb von 3 %-Punkten sind rot markiert	26
Tabelle 13: Abweichungen der Parallelbestimmungen vom Mittelwert in %-Punkten je Konzentration des LMZ 3 und Experiments (E1 und E2) im LBT, alle Abweichungen oberhalb von 3 %-Punkten sind rot markiert	27
Tabelle 14: Abweichungen der Parallelbestimmungen vom Mittelwert in %-Punkten je Konzentration des LMZ 4 und Experiments (E1 und E2) im LBT, alle Abweichungen oberhalb von 3 %-Punkten sind rot markiert	28
Tabelle 15: Abweichungen der Parallelbestimmungen vom Mittelwert in %-Punkten je Konzentration des Spülmittels im Experiment 1 im LBT, alle Abweichungen oberhalb von 3 %-Punkten sind rot markiert	28
Tabelle 16: Abweichungen der Parallelbestimmungen vom Mittelwert in %-Punkten je Konzentration des Spülmittels im Experiment 2 im LBT	28
Tabelle 17: EC ₅₀ -Werte und Steigungen (Hill slope) der Dosis-Wirkung-Kurven im LBT	32
Tabelle 18: Variationskoeffizienten der Mittelwerte der Hemmungen je Konzentration von LMZ 1 am 3. Tag (T3) des AT	33
Tabelle 19: Variationskoeffizienten der Mittelwerte der Hemmungen je Konzentration von LMZ 2 am 3. Tag (T3) des AT, alle Variationskoeffizienten oberhalb von 5 % sind rot markiert	34
Tabelle 20: Variationskoeffizienten der Mittelwerte der Hemmungen je Konzentration von LMZ 3 am 3. Tag (T3) des AT, alle Variationskoeffizienten oberhalb von 5 % sind rot markiert	34
Tabelle 21: Variationskoeffizienten der Mittelwerte der Hemmungen je Konzentration von LMZ 4 am 3. Tag (T3) des AT, alle Variationskoeffizienten oberhalb von 5 % sind rot markiert	35
Tabelle 22: Variationskoeffizienten der Mittelwerte der Hemmungen je Konzentration von 3,5-DCP am 3. Tag (T3) des AT, alle Variationskoeffizienten oberhalb von 5 % sind rot markiert	36
Tabelle 23: Steigung der Dosis-Wirkungs-Kurve (Hill slope), der EC ₅₀ - und NOEC- Werte je Probe im AT	38
Tabelle 24: Vergleich der EC ₅₀ - und NOEC-Werte aus LBT und AT je getestete Probe	39
Tabelle 25: Vergleich der Steigungen der Dosis-Wirkungs-Kurven im LBT und AT je Probe unter Verwendung der Werte der Hill slope	40

Tabelle 26: Messwerte des CSB je Probe in der angegebenen Verdünnung und umgerechnete CSB-Werte der unverdünnten Proben.....	40
Tabelle 27: Verdünnungsfaktor, CSB-Wert, zu erwartender BSB und in die Messflasche eingesetztes Volumen je getestete Probenverdünnung.....	41
Tabelle 28: gemessene BSB-Werte je Probenverdünnung und Tag in mg O ₂ /l.....	41
Tabelle 29: berechnete BSB-Werte des Ablaufmaterials der Kläranlage je Tag in mg O ₂ /l.....	42
Tabelle 30: berechnete BSB-Werte der LMZ je Verdünnung und von Glucose je Tag in mg O ₂ /l.....	42
Tabelle 31: Abbaubarkeit nach vier Tagen, BSB ₄ - und CSB-Wert je Verdünnung der LMZ und von Glucose.....	46
Tabelle 32: Variationskoeffizienten der Mittelwerte der Hemmungen je Konzentration von LMZ 1 am 3. Tag (T3) des Vorversuchs 2, alle Variationskoeffizienten oberhalb von 5 % sind rot markiert.....	47
Tabelle 33: Variationskoeffizienten der Mittelwerte der Hemmungen je Konzentration von 3,5-DCP am 3. Tag (T3) des Vorversuchs 2, alle Variationskoeffizienten oberhalb von 5 % sind rot markiert.	48
Tabelle 34: Mittelwerte der Fluoreszenz der Kontrollansätze in Spalte 4 je Probenplatte bei Testbeginn (T0) und Testende (T3) im Vorversuch 2, welche in Abhängigkeit zur Platte mit der jeweiligen Konzentration von LMZ 1 dargestellt sind.....	50
Tabelle 35: Variationskoeffizienten der Kontrollansätze in Spalte 4 je angegebene Probenplatte von LMZ 1 bei Testbeginn (T0) und -ende (T3), alle Variationskoeffizienten oberhalb von 5 % sind rot markiert.....	50
Tabelle 36: PEC je Probe, Szenario und Gewässer im worst-case.....	51
Tabelle 37: PEC je Probe, Szenario und Gewässer im realistic-case.....	51
Tabelle 38: PEC je Probe, Szenario und Gewässer im best-case.....	52
Tabelle 39: PNEC je Probe in 10 ⁻³ mg/l, anhand der EC ₅₀ - und NOEC-Werte aus dem LBT, AT und Vorversuch 2 errechnet.....	52
Tabelle 40: PEC/PNEC-Quotienten für die EC ₅₀ -Werte aus dem LBT je Probe, Szenario und Gewässer im worst-case, alle Werte unter und gleich eins sind grün, zwischen 100 und 10000 sind orange und über oder gleich 10000 sind rot markiert.....	53
Tabelle 41: PEC/PNEC-Quotienten für die EC ₅₀ -Werte aus dem LBT je Probe, Szenario und Gewässer im realistic-case, alle Werte unter und gleich eins sind grün, zwischen 100 und 10000 sind orange und über oder gleich 10000 sind rot markiert.....	53
Tabelle 42: PEC/PNEC-Quotienten für die EC ₅₀ -Werte aus dem LBT je Probe, Szenario und Gewässer im best-case, alle Werte unter und gleich eins sind grün, zwischen 100 und 10000 sind orange und über oder gleich 10000 sind rot markiert.....	54
Tabelle 43: PEC/PNEC-Quotienten für die EC ₅₀ -Werte aus dem AT und dem Vorversuch 2 je LMZ, Szenario und Gewässer im worst-case, alle Werte unter und gleich eins sind grün, zwischen 100 und 10000 sind orange und über oder gleich 10000 sind rot markiert.....	55
Tabelle 44: PEC/PNEC-Quotienten für die EC ₅₀ -Werte aus dem AT und dem Vorversuch 2 je LMZ, Szenario und Gewässer im realistic-case, alle Werte unter und gleich eins sind grün, zwischen 100 und 10000 sind orange und über oder gleich 10000 sind rot markiert.....	55
Tabelle 45: PEC/PNEC-Quotienten für die EC ₅₀ -Werte aus dem AT und dem Vorversuch 2 je LMZ, Szenario und Gewässer im best-case, alle Werte unter und gleich eins sind grün, zwischen 100 und 10000 sind orange und über oder gleich 10000 sind rot markiert.....	56
Tabelle 46: PEC/PNEC-Quotienten für die NOEC -Werte aus dem AT je LMZ, Szenario und Gewässer im worst-case, alle Werte unter und gleich eins sind grün, zwischen 100 und 10000 sind orange und über oder gleich 10000 sind rot markiert.....	57
Tabelle 47: PEC/PNEC-Quotienten für die NOEC -Werte aus dem AT je LMZ, Szenario und Gewässer im realistic-case, alle Werte unter und gleich eins sind grün, zwischen 100 und 10000 sind orange und über oder gleich 10000 sind rot markiert.....	57
Tabelle 48: PEC/PNEC-Quotienten für die NOEC -Werte aus dem AT je LMZ, Szenario und Gewässer im best-case, alle Werte unter und gleich eins sind grün, zwischen 100 und 10000 sind orange und über oder gleich 10000 sind rot markiert.....	58

Tabelle 49: Gesamtverbrauch an Löschmittel, LMZ-Verbrauch bei einer Zumischrate von 0,1 % und Konzentration an LMZ im Belebungsbecken der Kläranlage in Straubing je Szenario.....	62
Tabelle 50: Konzentration an LMZ je Gewässer und Szenario bei einer Zumischrate von 0,1 %	63
Tabelle 51: Vergleich der kleinsten empfohlenen Konzentration mit den aus den ökotoxikologischen Endpunkten aus dem LBT ermittelten PNEC je LMZ	69
Tabelle 52: Beschreibung des Umweltrisikos in Abhängigkeit zur Höhe des PEC/PNEC	69

Abkürzungsverzeichnis

ASW	Artificial Sea Water
AT	Algenwachstumshemmtest
ATH	Allylthioharnstoff
BA	Bachelorarbeit
BSB	Biochemischer Sauerstoffbedarf
BSB _n	Biochemischer Sauerstoffbedarf nach n Tagen
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CLP	Regulation on Classification, Labelling and Packaging of Substances and Mixtures
CSB	Chemischer Sauerstoffbedarf
DCP	Dichlorphenol
DIN	Deutsches Institut für Normung
EC ₅₀	Effect Concentration
evtl.	eventuell
HSR	Hohlstrahlrohr
IC ₅₀	mittlere inhibitorische Konzentration
Konz.	Konzentration
LBT	Leuchtbakterientest
lg P _{OW}	logarithmierter 1-Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizient
LMZ	Löschmittelzusatz
Lsg.	Lösung
MOPS	3-(N-morpholino)propansulfonsäure
NOEC	No Observed Effect Concentration
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development
PEC	Predicted Environmental Concentration
PFOS	Perfluorooctansulfonat
PFT	Perfluorierte Tenside
PNEC	Predicted No Effect Concentration
P _{OW}	1-Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizient
REACH	Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals
RW	Reinstwasser
TGD	Technical Guidance Document on Risk Assessment
u.a.	unter anderem
WGK	Wassergefährdungsklasse
WHG	Wasserhaushaltsgesetz
WTW	Wissenschaftlich-Technische Werkstätten
z.B.	zum Beispiel

Glossar

abiotischer Abbau	erfolgt durch physikalische und chemische Vorgänge, z.B. durch Licht, Wärme, Oxidation, Reduktion; Hydrolyse
Ablaufmaterial	Mikroorganismen, die sich im Ablauf einer Kläranlage befinden
Absorption	Abschwächen der Intensität einer Teilchen- oder Wellenstrahlung beim Durchgang durch Materie, wobei ein Teil der Strahlungsenergie in andere Energieformen umgewandelt wird
Adsorption	Anlagerung von Substanzen an der Oberfläche eines festen Stoffes
akute Toxizität	Toxizität nach einmaliger Verabreichung oder nach einer kurzen Zeitperiode (meist 24 Stunden)
aliphatische Verbindungen	organische Verbindungen mit offenen Kohlenstoffketten
amphotere Tenside	Tenside, die sich sowohl als Säure als auch als Base verhalten; dies ist abhängig vom pH-Wert der Lösung
ANOVA	Varianzanalyse, mit dem Ziel, die Signifikanz von Mittelwertdifferenzen zu testen, indem Varianzen (Streuungen) analysiert werden; es wird die Inner-Gruppen-Streuung mit der Zwischen-Gruppen-Streuung verglichen
Autofluoreszenz	Fähigkeit von Organismen und Stoffen zur Emission von Licht bei Lichteinstrahlung
Bioakkumulation	Anreicherung von Stoffen im Organismus aus der Umwelt oder Nahrung
Bioakkumulationspotential	Potential eines Stoffes, sich in der belebten Umwelt anzureichern und letztendlich in der Nahrungskette aufzusteigen
Biochemischer Sauerstoffbedarf	Menge an gelöstem Sauerstoff pro Liter Gemisch, die die Organismen zum Abbau organischer Stoffe durch biochemische Oxidation in einem bestimmten Zeitraum benötigen
Bioverfügbarkeit	Substanz oder Teil von ihr wird von Organismen absorbiert und aufgenommen
Chemischer Sauerstoffbedarf	Menge an gelöstem Sauerstoff pro Liter Gemisch, die zur Oxidation der im Gemisch befindlichen organischen Verbindungen unter Verwendung eines Oxidationsmittels benötigt wird
Chlorophyll	grüner Pflanzenfarbstoff, der Energie durch Absorption von Licht gewinnt und der Photosynthese zur Verfügung stellt; Chlorophyll befindet sich in den Chloroplasten
Dispergierer	Maschine zur Homogenisierung der Probe; dabei wird Luft in die Probe eingebracht und der Sauerstoffgehalt erhöht
EC ₅₀ -Wert	Effektkonzentration bzw. mittlere Konzentration eines Stoffes im Medium, bei der 50 % des Effekts (z.B. Wachstumshemmung) innerhalb der Versuchsdauer auftritt
Emission	von einer Quelle ausgehende Stoffe und Verunreinigungen der Umwelt; Einbringen von Chemikalien in die Umwelt
fakultativ anaerob	Organismus ist in der Lage, in An- und Abwesenheit von Sauerstoff Energie zu gewinnen; Organismus kann fehlenden Sauerstoff durch alternative Elektronenakzeptoren ersetzen oder Fermentationsprozesse zur Energiegewinnung heranziehen
f _k -Wert	Korrekturwert für die Berechnung der Hemmung, um den sich die Kontrolle in der Lumineszenz während der 30 minütigen Inkubation verändert
Fluoreszenz	durch Einfall von Licht hervorgerufene Leuchterscheinung an Körpern; die einfallenden Lichtstrahlen (Primärstrahlung) erregen den fluoreszierenden Stoff zum Aussenden von Sekundärstrahlung

F-Test	Untersuchung, ob zwei oder mehrere Stichproben aus der gleichen normalverteilten Grundgesamtheit stammen bzw. signifikant verschieden sind
Hohlstrahlrohr	Löschmittel abgebende Armatur der Feuerwehr mit einer Schließvorrichtung und einer einstellbaren Strahlform
Hormesis	Dosis-Wirkungs-Beziehung mit entgegengesetzten Effekten bei kleinen und hohen Stoffkonzentrationen
IC ₅₀ -Wert	mittlere Konzentration eines Inhibitors, bei der ein Organismus in vitro zu 50 % blockiert wird
Inhibitor	Substanz, die chemische Vorgänge einschränkt oder verhindert
K _{ow} bzw. P _{ow}	Verteilungskonstante eines Stoffes in Oktanol und Wasser; Maß für die Fettlöslichkeit eines Stoffes; Parameter, mit dem auf die Bioakkumulation von Substanzen geschlossen werden kann
K _p	Verteilungskonstante, die die Verteilung eines Stoffes zwischen fester und flüssiger Phase beschreibt; gibt Aufschluss auf die Höhe der Adsorption eines Stoffes
Lumineszenz	ein Elektron fällt aus einem Zustand mit höherer Energie in einen Zustand niedrigerer Energie zurück und gibt bei diesem Prozess Licht ab; manche Organismen haben die Fähigkeit, Licht als Produkt aus biochemischen Prozessen abzugeben (Biolumineszenz)
Mikroorganismen	heterogene Gruppe unterschiedlicher kleiner, meist einzelliger Organismen, die eine Größe von 0,02 µm bis 1 mm haben; zu ihnen gehören tierische Einzeller, Hefen, kleine Hyphenpilze, Algen, Bakterien und Viren
mittlere Algenwachstumsrate	logarithmischer Anstieg der Zelldichte während der Testdauer
nicht-lineare Regression	Beziehung zwischen den Werten einer Gruppe von unabhängigen Variablen und einer abhängigen Variable, die durch ein mathematische Modell möglichst gut beschrieben werden soll
Nitrifikation	Oxidation von Ammonium zu Nitrat oder Nitrit
No Observed Effect Concentration (NOEC)	empirische Konzentration, bei der keine signifikanten, beobachtbaren Effekte nach längerer Expositionszeit auftreten
Nullhypothese	Annahme über die Wahrscheinlichkeitsverteilung einer oder mehrerer Zufallsvariablen
Ökosystem	funktionelle, geographisch umrissene Einheit bestehend aus verschiedenen Organismenarten und ihrem Lebensraum
Ökotoxikologie	Lehre von schädlichen Effekten durch Chemikalien auf Organismen, Lebensgemeinschaften und Ökosysteme
Osmose	einseitig verlaufender Diffusionsvorgang, der auftritt, wenn zwei gleichartige Lösungen unterschiedlicher Konzentration durch eine semipermeable (einseitig durchlässige) Membran getrennt sind
osmotischer Druck	Druck, den die in der Lösung befindlichen Moleküle und Ionen des gelösten Stoffes auf die für sie undurchlässige Membran ausüben
Oxidationsmittel	chemische Verbindungen, die in der Lage sind, Sauerstoff abzuspalten und der Oxidation eines Stoffes bereitzustellen
Predicted Environmental Concentration (PEC)	Konzentration einer Chemikalie, die aus ihrem Umwelteintrag, Verteilung und Schicksal in der Umwelt abgeschätzt wird
perfluorierte Tenside	Stoffgruppe industriell hergestellter organischer Verbindungen, bei denen die Wasserstoffatome am Kohlenstoffgerüst vollständig durch Fluoratome ersetzt worden sind
Persistenz	Beständigkeit organischer Chemikalien in der Umwelt
Predicted No Effect Concentration (PNEC)	geschätzte Konzentration einer Chemikalie, welche aufgrund von Toxizitätstests keine toxischen Wirkungen erzeugt; zur Berechnung des PNEC wird abhängig von Art und Anzahl der Toxizitätstests der

	EC ₅₀ - oder NOEC-Wert des empfindlichsten Organismus durch einen Sicherheitsfaktor nach TGD dividiert
Post-hoc-test	Beurteilung von signifikanten Mittelwertunterschieden nach Homogenitätskriterien
Post-test nach Bonferroni	Post-Hoc-Test, der im Rahmen einer Varianzanalyse zur Bestimmung von signifikanten Unterschieden zwischen Gruppenmittelwerten eingesetzt wird
p-Wert	Signifikanzwert, der andeutet, wie wahrscheinlich ein Stichprobenergebnis erhalten werden kann, wenn die Nullhypothese wahr ist
R ²	Bestimmtheitsmaß, mit welcher Genauigkeit der echte Wert durch den im Regressionsmodell ermittelten Wert getroffen wird; je näher er an 100 % gelangt, desto besser trifft das Regressionsmodell den realen Wert
Refraktometer	Instrument zur Bestimmung des Brechungsindex von Stoffen, sodass es z.B. die Konzentration von gelösten Stoffen und damit den Salzgehalt bestimmen kann
Reinstwasser	enthält nur Wassermoleküle und so gut wie keine Fremdstoffe; es hat eine Leitfähigkeit von 0,055 µS/cm bei 25 °C
Salinität	Salzgehalt
Sedimentation	Bildung eines Bodensatzes in Flüssigkeiten oder Gasen; Feststoffteilchen, die in einem flüssigen oder gasförmigen Dispersionsmittel verteilt sind, sinken dabei unter Einfluss der Schwerkraft wegen ihrer höheren Dichte auf den Boden
Signifikanzniveau	bezeichnet die Wahrscheinlichkeit, mit der im Rahmen eines Hypothesentests die Nullhypothese fälschlicherweise verworfen werden kann, obwohl sie richtig ist
Summe der Quadrate	innerhalb der statistischen Methode der kleinsten Quadrate wird eine Näherungsfunktion bestimmt, bei der die Summe der Quadrate der Abweichungen der Funktionswerte von den statistisch verteilten Werten ein Minimum ergibt
Tensid	organische Verbindung, die die Oberflächenspannung von Wasser herabsetzen kann; sie hat einen hydrophilen, polaren und einen hydrophoben, unpolaren Teil im Molekül
trophisches Niveau	Niveau in der Nahrungskette eines Ökosystem
Varianz	Streuungsmaß; Maß für die Abweichung einer Zufallsvariablen vom Erwartungswert
Variationskoeffizient	relatives Maß für die Streuung von Daten; Summe aller quadratischen Differenzen zwischen dem jeweiligen Wert und dem Erwartungswert der Größe
Vertrauensintervall	Intervall, das die Präzision der Lageschätzung eines Mittelwertes angibt
wassergefährdende Stoffe	Stoffe, die geeignet sind, dauernd oder in einem nicht nur unerheblichen Ausmaß nachteilige Veränderungen der Wasserbeschaffenheit herbeizuführen [35]
Wassergefährdungsklassen	dienen der Einstufung von wassergefährdenden Stoffen nach ihrer Gefährlichkeit
Zellmembran	besteht hauptsächlich aus Lipiden und Proteinen, deren Zusammensetzung zwischen verschiedenen Spezies und Zell- bzw. Membrantypen variiert; die Phospholipiddoppelschicht ermöglicht der Zellmembran Stabilität und Flexibilität
Zellmembranproteine	Proteine, die membranspezifische Funktionen wie Transport von Stoffen, Kommunikation oder Energieübertragung ausüben

Danksagung

Ich möchte mich bei Frau Heise bedanken, dass ich zur Durchführung meiner Versuche das ökotoxikologische Labor nutzen durfte.

Ebenfalls möchte ich mich bei Frau Stresius für die Erlaubnis und Unterstützung der Tests zur leichten biologischen Abbaubarkeit an der Forschungskläranlage in Reinfeld bedanken.

Bedanken möchte ich mich auch bei der Mitglieder der Gruppe „Ökotoxikologie“ für die fachliche Unterstützung bei meinen Versuchen.