

**Bioakkumulation und Biomagnifikation
sedimentgebundener Schadstoffe
in einer aquatischen Labornahrungskette**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften

vorgelegt beim Fachbereich Biologie und Informatik
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
in Frankfurt am Main

von
Michael Meller
aus Rüsselsheim

Frankfurt 2002

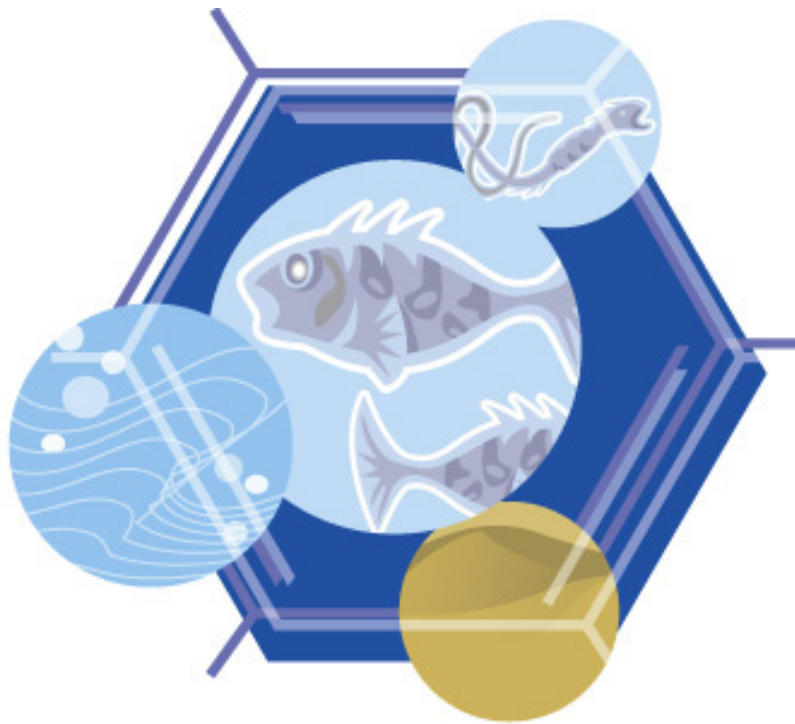
vom Fachbereich Biologie und Informatik der Johann Wolfgang Goethe-Universität als
Dissertation angenommen.

Dekan : Prof. Dr. phil. Bruno Streit

Gutachter : Prof. Dr. phil. Bruno Streit
Prof. Dr. rer. nat. Jörg Oehlmann

Datum der Disputation: 8. November 2002

**Bioakkumulation und Biomagnifikation
sedimentgebundener Schadstoffe
in einer aquatischen Labornahrungskette**



**von
Michael Meller**

Danke an

- die Gutachter:** Bruno Streit (J.W. Goethe-Universität Frankfurt/M) und Jörg Oehlmann (J.W. Goethe-Universität Frankfurt/M).
- die Geldgeber:** Umweltbundesamt, Berlin, für die Finanzierung des experimentellen Teils dieser Arbeit (Förderungskennzeichen 296 28 308) und Klosterhof Eckelsheim (www.klosterhof-eckelsheim.de) für die Finanzierung des theoretischen Teils dieser Arbeit.
- die Hauptdarsteller:** *G. aculeatus* und *T. tubifex*, die mit ihrer unfreiwilligen aber selbstlosen Mitarbeit diese Arbeit erst ermöglichten.
- die Partner:** Roland Nagel (Technische Universität Dresden), Bruno Streit, Carola Kussatz und Dieter Schudoma (Umweltbundesamt, Berlin) für konstruktive Kooperation.
- den Produzenten:** Novartis Crop Protection AG, Basel, Schweiz für die Bereitstellung der Testsubstanz Terbutryn.
- den Chef:** Jörg Römbke (ECT Oekotoxikologie GmbH) für eine dritte Chance.
- den Lehrer:** Philipp Egeler (ECT Oekotoxikologie GmbH) für... na, du weißt schon... die furchtbare Zusammenarbeit.
- die Helfer:** Peter Spörlein (Bayerisches Geologisches Landesamt Außenstelle Marktredwitz) für die Entwicklung und Etablierung von Methoden und die Probenaufarbeitung zur Rückstandsanalytik von HCB, PCB und Terbutryn. Gerhard Görge (Novartis Crop Protection AG) und Sabine Richter (Technische Universität Dresden) für Methoden zur Rückstandsanalytik von Terbutryn. Nicole Nielow (Ibacon GmbH, Rossdorf) und Mandy Tauscher (ECT Oekotoxikologie GmbH) für die Betreuung der Hauptdarsteller. Hans-Jörg Brehm für Illustrationen und grafische Dinge.
- den Gewinner:** Werner Schroth (Gewinner des Diss-Rennens).
- die Lieben:** Cäcilia Hanne für unzählige Tritte in den H..... Thomas Moser für seelischen Beistand bei vielen Niederlagen und wenigen Siegen, einem Aufstieg und einem Abstieg. Anke Seibert für unendlich viel Geduld. Und bei allen Ungenannten, die ich in dieser Zeit vernachlässigt habe.

Für Friederike, Thomas & Ute

Inhaltsverzeichnis

Seite

Abkürzungen	IV
Definitionen	V
1 Einleitung	1
2 Material und Methoden	5
2.1 Geräte und Materialien	5
2.2 Sediment.....	7
2.3 Wasser	8
2.4 Testorganismen.....	8
2.4.1 <i>Tubifex tubifex</i>	8
2.4.2 <i>Gasterosteus aculeatus</i>	11
2.5 Testsubstanzen	14
2.5.1 Hexachlorbenzol.....	14
2.5.2 Terbutryn.....	15
2.5.3 Radiochemikalien	16
2.6 Radioaktivitätsmessung.....	17
2.6.1 Messprinzip.....	17
2.6.2 Wasserproben	18
2.6.3 Sedimentproben	18
2.6.4 Wurmproben.....	18
2.6.5 Fischproben.....	19
2.7 Exposition	19
2.7.1 Wahl der Testsubstanzkonzentrationen.....	19
2.7.2 Applikation der Testsubstanzen.....	20
2.7.3 Versuchsaufbau	22
2.7.4 Versuchsdurchführung	24
2.7.5 Probennahme	27
2.8 Metabolismus.....	29
2.8.1 Extraktion.....	29
2.8.2 Analytik der Extrakte	31
2.9 Lipidbestimmung.....	32

2.10	DOC/TOC-Bestimmung	33
2.11	Bestimmung des organischen Gehaltes des Sedimentes	33
2.12	Mathematische Auswertung der Messdaten.....	34
2.12.1	Bestimmung der Anreicherungsfaktoren	34
2.12.2	Bestimmung der Fugazität.....	35
2.13	Übersicht über die experimentellen Expositionsszenarien	36
2.14	Nahrungsketten-Bioakkumulationsmodelle	38
2.14.1	Campfens/Mackay-Modell	38
2.14.2	Gobas-Modell.....	39
2.14.3	Gobas-Modell mit integriertem Morrison-Submodul	40
2.14.4	Applikation der Modelle auf die Labornahrungskette.....	41
2.14.5	Sensitivitäts-Analyse.....	46
3	Ergebnisse	47
3.1	Anreicherung von Hexachlorbenzol in der Labornahrungskette	47
3.1.1	Bioakkumulation bei Tubificiden.....	47
3.1.2	Bioakkumulation beim Stichling.....	48
3.1.3	Biomagnifikation beim Stichling.....	50
3.1.4	Biokonzentration beim Stichling	52
3.1.5	Metabolismus von Hexachlorbenzol	54
3.1.6	Anreicherung von Hexachlorbenzol im Überblick.....	55
3.2	Anreicherung von Terbutryn in der Labornahrungskette	57
3.2.1	Bioakkumulation bei Tubificiden.....	57
3.2.2	Bioakkumulation beim Stichling.....	58
3.2.3	Biokonzentration beim Stichling	61
3.2.4	Metabolismus von Terbutryn.....	63
3.2.5	Anreicherung von Terbutryn im Überblick.....	64
3.3	Applikation der Nahrungskettenmodelle auf die Labornahrungskette	67
3.3.1	Anreicherung von Hexachlorbenzol im Campfens/MacKay-Modell.....	67
3.3.2	Anreicherung von Hexachlorbenzol im Gobas-Modell	68
3.3.3	Sensitivitäts-Analyse des Campfens/MacKay-Modell am Beispiel HCB.....	71
3.3.4	Anreicherung von Terbutryn im Campfens/MacKay-Modell	75
3.3.5	Anreicherung von Terbutryn im Gobas-Modell	76

4	Diskussion.....	78
4.1	Methodik	78
4.2	Anreicherung von Hexachlorbenzol in der Labornahrungskette	82
4.2.1	Bioakkumulation bei Tubificiden.....	82
4.2.2	Bioakkumulation beim Stichling	84
4.2.3	Biomagnifikation beim Stichling.....	86
4.2.4	Biokonzentration beim Stichling	88
4.3	Anreicherung von Terbutryn in der Labornahrungskette	89
4.3.1	Bioakkumulation bei Tubificiden.....	89
4.3.2	Bioakkumulation beim Stichling	90
4.3.3	Biokonzentration beim Stichling	91
4.4	Differenzierung der Aufnahmepfade am Beispiel von Hexachlorbenzol.....	91
4.5	Labornahrungskette vs. Modellvorhersagen	93
4.6	Labornahrungskette vs. Monitoringdaten.....	99
4.7	Einordnung der Methoden in Konzepte der Risikoabschätzung.....	100
5	Zusammenfassung.....	104
6	Literatur	107

Abkürzungen

Häufig verwendete Abkürzungen (soweit nicht bei den Definitionen erläutert):

$C_{\text{Organismus}}$	Konzentration der Testsubstanz im Tier
C_{Sediment}	Konzentration der Testsubstanz im Sediment
C_{Wasser}	Konzentration der Testsubstanz im Wasser
$C_{\text{Kompartiment}}$	Konzentration der Testsubstanz im jeweiligem Kompartiment
DOC	<i>Dissolved Organic Carbon</i> (gelöster organischer Kohlenstoff)
dpm	<i>disintegrations per minute</i> (radioaktive Zerfälle pro Minute)
EC_x	<i>Effective Concentration</i> (Konzentration, bei der x % der Testorganismen in einer definierten Zeit den geprüften Effekt zeigen)
FG	Frischgewicht
<i>EqP</i>	<i>Equilibrium Partitioning</i>
HCB	Hexachlorbenzol
HPLC	<i>High Performance (bzw. Pressure) Liquid Chromatography</i> (Hochleistungs- bzw. Hochdruck-Flüssig-Chromatographie)
K_{OC}	Organischer Kohlenstoff/Wasser-Verteilungskoeffizient
K_{OW}	n-Oktanol/Wasser-Verteilungskoeffizient (Der Logarithmus von K_{OW} ($\log K_{OW}$) gilt als Maß für die Lipophilie einer Substanz)
k_e	Eliminationskonstante
k_s	Geschwindigkeitskonstante der Substanzaufnahme aus dem Sediment
LC_x	<i>Lethal Concentration</i> (Konzentration, bei der x % der Testorganismen in einer definierten Zeit sterben)
LSC	<i>Liquid Scintillation Counting</i> (Flüssig-Szintillationszählung)
NOEC	<i>No Observed Effect Concentration</i>
NOEL	<i>No Observed Effect Level</i>
PEC	<i>Predicted Environmental Concentration</i>
PNEC	<i>Predicted No Effect Concentration</i>
POC	<i>Particle-associated Organic Carbon</i> (Partikel-gebundener organischer Kohlenstoff)
TG	Trockengewicht
TGD	<i>Technical Guidance Documents in Support of The Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for New Substances and The Commission Regulation (EC) No. 1488/94 on Risk Assessment for Existing Substances, 1996</i>
TOC	<i>Total Organic Carbon</i> (Gesamtkohlenstoff)
ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i>
BUA	Beratergremium für umweltrelevante Altstoffe
EU	Europäische Union
OECD	<i>Organisation for Economic Cooperation and Development</i>
U.S. EPA	<i>Environmental Protection Agency (USA)</i>

Definitionen

Bioakkumulation ist die Konzentrationszunahme (Anreicherung) der Testsubstanz in einem Organismus ($C_{\text{Organismus}}$) gegenüber der Substanzkonzentration im umgebenden Medium (C_{Medium}). Bioakkumulation beinhaltet die Anreicherung über sämtliche möglichen Aufnahmepfade (Wasser, Sediment, Nahrung).

Biokonzentration ist die Konzentrationszunahme (Anreicherung) der Testsubstanz in einem Organismus gegenüber der Substanzkonzentration im umgebenden Medium, die ausschließlich aus der Aufnahme der Substanz über die Körperoberfläche resultiert.

Biomagnifikation ist die Konzentrationszunahme (Anreicherung) der Testsubstanz in einem Organismus, die ausschließlich bzw. vor allem aus der Aufnahme der Substanz über die Nahrung resultiert, gegenüber der Testsubstanzkonzentration im Futter. Biomagnifikation kann zum Transfer oder zur Bioakkumulation der Testsubstanz in Nahrungsketten oder -netzen führen.

Secondary poisoning beschreibt den Prozess, bei dem in einem Organismus aufgrund der Anreicherung einer Substanz über kontaminierte Nahrung (Biomagnifikation) Körperkonzentrationen erreicht werden, die zu schädlichen Effekten im betreffenden Organismus führen.

Die **Elimination** einer Testsubstanz ist die Ausscheidung der angereicherten Testsubstanz aus dem Testorganismus durch aktive oder passive Prozesse.

Der **steady state** ist definiert als das Gleichgewicht zwischen den während der Aufnahmeperiode simultan auftretenden Aufnahme- und Eliminationsvorgängen.

Der **Anreicherungsfaktor** (AF) ist der Quotient aus der Konzentration der Testsubstanz in einem Organismus ($C_{\text{Organismus}}$ in mg/g Frischgewicht) und der Konzentration der Testsubstanz im umgebenden Medium (C_{Medium} in mg/g Feuchtwicht bzw. mg/mL) zu jedem beliebigen Zeitpunkt, solange kein *steady state* besteht.

Der **Bioakkumulationsfaktor** (BAF) ist der Quotient aus der Konzentration der Testsubstanz in einem Organismus ($C_{\text{Organismus}}$ in mg/g Frischgewicht) und der Konzentration der Testsubstanz im umgebenden Medium (C_{Medium} in mg/g Feuchtwicht bzw. mg/mL) im *steady state*. Dieser Wert beinhaltet die Anreicherung über sämtliche mögli-

chen Aufnahmepfade. Zur Verdeutlichung der Bezugsgröße (z. B. des Mediums, welches im Nenner des Quotienten steht), wird der BAF mit einem entsprechenden Index versehen.

Der **Biokonzentrationsfaktor** (BCF) ist der Quotient aus der Konzentration der Testsubstanz im Organismus ($C_{\text{Organismus}}$ in mg/g Frischgewicht) und der Konzentration der Testsubstanz im umgebenden Medium (C_{Medium} in mg/g Feuchtwicht bzw. mg/mL) im *steady state*, wenn die Anreicherung der Substanz ausschließlich über die Körperoberfläche erfolgt.

Der **Biomagnifikations-** oder **Biotransferfaktor** (BMF bzw. BTF) ist der Quotient aus der Konzentration der Testsubstanz im Organismus ($C_{\text{Organismus}}$ in mg/g Frischgewicht) und der Konzentration der Testsubstanz im Futter oder im Nährorganismus (C_{Futter} in mg/g Frischgewicht) im *steady state*, wenn die Anreicherung der Substanz ausschließlich über die Nahrung erfolgt bzw. wenn biokonzentrations- und biomagnifikationsbedingte Anteile der Körperkonzentration experimentell und/oder rechnerisch voneinander unterschieden werden können.

Der **Biota-Sediment-Akkumulationsfaktor** (BSAF) ist der Quotient aus der auf den Lipidgehalt normierten Testsubstanzkonzentration im Organismus ($C_{\text{Organismus}}$ in mg/g Lipidgehalt) und der auf den organischen Kohlenstoffgehalt normierten Testsubstanzkonzentration im Sediment (C_{Sediment} in mg/g organischen Kohlenstoff) im *steady state*.

Fugazität (f) ist eine thermodynamische Größe, die als "*escaping tendency*" einer Chemikalie aus ihrem Medium interpretiert werden kann. Sie kann als Partialdruck, den die Chemikalie ausübt, gemessen werden (Einheit: [Pa]). Gleiche Fugazitäten einer Substanz in verschiedenen Medien repräsentieren ein chemisches Gleichgewicht. Die Fugazität ist mit der Chemikalienkonzentration (C) über die Fugazitäts-Kapazität (Z) verknüpft ($C = f \cdot Z$). Die Fugazitäts-Kapazität ist ein Maß für die Fähigkeit eines Mediums die Chemikalie aufzunehmen und ist damit mit der Löslichkeit der Substanz in diesem Medium verknüpft.

1 Einleitung

Seit den sechziger Jahren des zwanzigsten Jahrhunderts ist bekannt, dass bestimmte Chemikalien in Organismen angereichert werden können (Bioakkumulation). Durch den Verzehr dieser Organismen ist ein Transfer solcher Stoffe entlang einer Nahrungskette möglich. Beim Übergang von einer trophischen Ebene zur nächsten innerhalb des Nahrungsnetzes kann es zu einer erheblichen Anreicherung der Substanzen in den Prädatoren kommen (Biomagnifikation). Hierbei können in den Geweben der Organismen höherer trophischer Ebenen Chemikalienkonzentrationen in einem Ausmaß auftreten, bei dem schädliche Wirkungen nicht auszuschließen sind. Das bekannteste Beispiel für diesen Expositionsweg, welches das Phänomen der Bioakkumulation und Biomagnifikation auch in den Blickpunkt des öffentlichen Interesses rückte, ist der starke Populationsrückgang von Fischadlern durch das Insektizid DDT. Die Fischadler stellen das Endglied einer Nahrungskette (Wasser, Plankton, Fisch, Vogel) dar, in der es zu einer erheblichen Biomagnifikation von DDT kam (Woodwell 1967). Obwohl dieses Beispiel aus heutiger Sicht als starke Vereinfachung gelten kann (Streit 1992), ist der Gefährdungsweg heute so aktuell wie vor 30 Jahren (z. B. Streit 1998, Tanabe et al. 1998, Paasivirta 2000).

Umweltchemikalien, die über den Wasserkörper in aquatische Ökosysteme eingetragen werden, verteilen sich auf die verschiedenen Kompartimente des Mediums. Die Partitionierung zwischen freiem Wasserkörper, Schwebstoffen und Sedimenten ist abhängig von den physikalisch-chemischen Eigenschaften der jeweiligen Substanzen sowie der Kompartimente. Hydrophile Stoffe liegen vorwiegend gelöst im Wasserkörper vor, wohingegen lipophile Substanzen an im Wasser vorhandene Schwebstoffe und vor allem an Sedimente adsorbieren (z.B. Karickhoff et al. 1979). Sedimente stellen damit ein Reservoir für viele Umweltchemikalien dar. Sie werden seit einiger Zeit verstärkt als eigenes Umweltkompartiment betrachtet (z.B. EU 1996), da die Lebensgemeinschaften des Benthos, wichtige Glieder im Nährstoffkreislauf und Energiefluss aquatischer Ökosysteme, einer anderen Expositionssituation ausgesetzt sind als pelagische Organismen. Daher wird vermehrt empfohlen, für die Abschätzung der Risiken, die durch sedimentgebundene Chemikalien in der Umwelt entstehen können, sedimentspezifische Testmethoden zu entwickeln und anzuwenden (z.B. Ingersoll et al. 1995, ASTM 1995b, EU 1996).

Lipophile, sedimentgebundene Substanzen sind für endobenthische Tiere im hohen Maße bioverfügbar und können von diesen aufgenommen und angereichert werden (z. B. Oliver 1987, Egeler et al. 1997, Egeler et al. 1999b). Hierdurch können toxische Langzeitwirkungen z.B. bei Tubificiden aber auch bei anderen benthischen Tiergruppen auftreten. Schädigungen auf Individual- und Populationsebene sowie Folgen für benthische Artengemeinschaften sind demnach nicht auszuschließen (z.B. Rosso et al. 1994, Meller et al. 1998).

Die Sedimente und ihre Bewohner spielen eine wichtige Rolle für die Ernährung vieler, vor allem benthivorer Fische. Diese können mit ihrer Nahrung, die im wesentlichen aus benthischen Invertebraten besteht, in diesen angereicherte Chemikalien aufnehmen (z.B. Niimi & Cho 1980, Fisk et al. 1998). Die mehrfache Aufkonzentrierung sedimentgebundener Chemikalien über verschiedene trophische Ebenen kann dann in Prädatoren zu Körperkonzentrationen (*body burdens*) führen, die toxische Wirkungen (*secondary poisoning*) hervorrufen können (Dabrowska et al. 1996). Dadurch sind langfristig nicht abschätzbare Folgen auf die Funktionen des gesamten aquatischen Ökosystems möglich.

Die Bestimmung der Anreicherung von Chemikalien in den Geweben von Fischen aus dem umgebendem Medium (Biokonzentration) reicht somit nicht aus, um die Bioakkumulation sedimentgebundener Substanzen adäquat zu erfassen. Jedoch steht gegenwärtig zur Bewertung des ökotoxikologischen Gefährdungspotentials einer Substanz im Rahmen der Zulassung von Umweltchemikalien, sowie der Registrierung von Pflanzenschutzmitteln, die Biokonzentration bei Fischen im Mittelpunkt. Um diese zu bestimmen wird auf die zur Zeit einzige international akzeptierte und standardisierte Methode (OECD-Richtlinie 305; OECD 1996) zurückgegriffen. Da mit diesem Test lediglich die Exposition von Fischen gegenüber wassergelösten Chemikalien, nicht aber die Aufnahme über kontaminierte Schwebstoffe, Sedimente und Beutetiere erfasst wird, ist dieser Ansatz für die Bewertung der Anreicherung über den Nahrungspfad (Biomagnifikation) und den daraus entstehenden Risiken (z. B. *secondary poisoning*) unzureichend.

Um das skizzierte Defizit in der ökotoxikologischen Risikoabschätzung zu verkleinern, war das Ziel der vorliegenden Arbeit die Entwicklung und Erprobung einer Labormethode zur Untersuchung der Bioakkumulation und Biomagnifikation sedimentgebundener Chemikalien in Fischen. Hierzu sollte eine einfache, zwei trophische Stufen

umfassende, sedimentbasierende Nahrungskette etabliert werden. Anhand zweier Modellchemikalien mit bekanntem bzw. leicht abzuschätzendem Biomagnifikationspotential sollte das entwickelte Testdesign überprüft werden. In einem zweiten Schritt sollte die Arbeitshypothese bestätigt oder verworfen werden, dass die etablierte Methode zusammen mit mathematischen Modellen, welche die Bioakkumulation und Biomagnifikation in Nahrungsketten simulieren, als nützliches Instrument der Risikoabschätzung (*environmental risk assessment*) dienen kann. Nachfolgend werden kurz die Kriterien zur Auswahl eines geeigneten Sedimentes, der Nahrungskettenglieder sowie der mathematischen Modelle dargestellt.

Die Auswahl eines für ökotoxikologische Tests geeigneten Sediments ist schwierig. Bei Freilandsedimenten können abhängig von der Herkunft Kontaminationen durch Schadstoffe und mit dem Sediment eingeschleppte Organismen die Testergebnisse beeinflussen (Reynoldson et al. 1994, Suedel & Rodgers 1994). Die Heterogenität natürlicher Sedimente z.B. hinsichtlich der Korngrößenverteilung oder ihres organischen Gehaltes erschwert die Vergleichbarkeit der Ergebnisse (Walsh et al. 1992, Ahlf 1995, Förster et al. 1996). Zudem kann sich die Sedimentqualität während der Entnahme, des Transports und der Lagerung entscheidend ändern (z. B. ASTM 1995a). Um diesen Nachteilen zu begegnen werden vermehrt standardisierte, künstliche Sedimente eingesetzt (Suedel & Rodgers 1994, Naylor & Rodrigues 1995, Egeler et al. 1997, Meller et al. 1998, OECD 2001). Für die Experimente der vorliegenden Arbeit sollte daher ein Kunstsediment verwendet werden, das im wesentlichen auf der für Toxizitätstests mit Regenwürmern verwendeten Kunsterde (OECD 1984) basiert. Dieses Sediment wurde bereits erfolgreich in Bioakkumulations- und Toxizitätstests mit Tubificiden eingesetzt (Egeler et al. 1997, Meller et al. 1998).

Zur Untersuchung der Biomagnifikation sedimentgebundener Chemikalien sollte eine einfache, zwei trophische Stufen umfassende Nahrungskette im Labor etabliert werden. Hierzu sind Organismen auszuwählen, die möglichst auch in der Natur vorkommende Räuber-Beute-Verhältnisse repräsentieren. So kommen idealerweise benthische Primärkonsumenten als Beute sowie sedimentnah lebende Fische als Prädatoren in Frage. Die Organismen müssen die folgenden grundlegenden Bedingungen erfüllen: a) Lebensweise und Stoffwechsel sollten eine Anreicherung des Stoffes ermöglichen; b) die Toleranz gegenüber akuten Wirkungen der Chemikalie sollte relativ hoch sein; c) Haltung und Zucht der zu testenden Spezies im Labor sollten einfach sein; d) weltweite Verfügbarkeit und internationale Akzeptanz sollte im Interesse der Vergleichbarkeit gewährleistet

sein. Diese Kriterien werden nach gegenwärtigem Wissenstand sowohl von dem Schlammröhrenwurm *Tubifex tubifex* (Müller) als Beuteorganismus als auch vom Dreistachligen Stichling (*Gasterosteus aculeatus* LINNÉ) als Modell für einen Prädator erfüllt (siehe Kap. 2.4.).

Mathematische Modelle, welche die Bioakkumulation und Biomagnifikation von Chemikalien in Nahrungsketten simulieren, sind in der Fachliteratur zahlreich beschrieben. In den späten achtziger Jahren entwickelte Modelle basieren im allgemeinen ausschließlich auf pelagischen Nahrungsnetzen (Thomann 1989), wohingegen neuere Modelle auch benthische Nahrungsnetzkomponenten integrieren (z.B. Thomann et al. 1992, Gobas 1993, Campfens & Mackay 1997). Inwieweit diese jedoch bei Vorhersage von Biomagnifikationsprozessen und zur Risikoabschätzung nützlich sind, wird gegenwärtig kontrovers diskutiert (z.B. Burkhard 1998, Paasivirta 2000). Kriterien zur Auswahl der zu verwendenden Modelle waren eine ausreichende Veröffentlichung und Plausibilität der Modellgrundlagen, eine publizierte Evaluierung mit Freiland- oder Labordaten, die Akzeptanz bei Behörden sowie die Verfügbarkeit von Software.

Zusammenfassend waren im Rahmen der vorliegenden Arbeit folgende Punkte zu behandeln:

- Etablierung einer zwei trophische Stufen umfassenden Labornahrungskette und einer Methode zur Bestimmung der Bioakkumulation und Biomagnifikation sedimentgebundener Chemikalien.
- Überprüfung des Testsystems mit den Modellsubstanzen Hexachlorbenzol und Terbutryn (Bioakkumulationsszenario).
- Charakterisierung und Quantifizierung des Einflusses einzelner Expositionspfade an der Gesamtanreicherung der Modellchemikalien im Bioakkumulationsszenario durch vergleichende Exposition der Fische gegenüber dotiertem Wasser bzw. Sediment (Biokonzentrationsszenario) und vorexponierten Beutetieren (Biomagnifikationsszenario).
- Überprüfung der Arbeitshypothese, nach der die Labornahrungskette zusammen mit mathematischen Modellen zur Vorhersage der Bioakkumulation und Biomagnifikation von Chemikalien in Nahrungsketten, als nützliches Instrument der Risikoabschätzung dienen kann, durch den Vergleich der experimentell ermittelten Daten mit Modellvorhersagen.

2 Material und Methoden

2.1 Geräte und Materialien

- Aquariumpumpen mit und ohne Saugvorrichtung (WISA, Sauer, Wuppertal)
- Schaumstofffilter (Tetra Werke, Melle)
- Aquarien-Außenfilter (Eheim, Deizisau)
- Kreiselpumpe RenaFlow 600 C (Rena France, Annecy, Frankreich)
- Durchlaufkühlgeräte (Eheim, Deizisau)
- Thermometer Testo 110 (Testoterm GmbH & Co., Lenzkirch)
- Häcksler 3ER 90 Sbx-2 (A. Baumüller GmbH, Marktredwitz)
- Homogenisiergerät UltraTurrax T 25 (Janke & Kunkel, Staufen)
- Rührwerk RE 162 (Janke & Kunkel, Staufen)
- Binokular-Mikroskop Wild-Leica M 10 (Wild, Heerbrugg, Schweiz)
- Präzisionswaage Mettler PM 6000/9 (Mettler Instrumente AG, Greifensee, Schweiz)
- Analysenwaage Mettler Typ AE 240 (Mettler Instrumente AG, Greifensee, Schweiz)
- Klimaschrank Rumed 1200 (Rubarth, Laatzen)
- Trockenschrank Heraeus T 6200 (Heraeus, Hanau)
- Muffelofen Nabler Typ L51/SP (Nabler Industrieofenbau, Lilienthal/Bremen)
- Vollglasaquarien, Inhalt 20 L (Rebie, Bielefeld)
- Glasscheiben, 24 x 37 cm, mit 8 mm-Bohrungen (Glasbau Bockius, Rüsselsheim)
- Edelstahl Drahtgewebe Maschenweite 3 mm, Drahtstärke 1 mm (Bückmann GmbH, Mönchengladbach)
- Glaskartuschen 5 cm Durchmesser, 35 cm Länge, mit Schliffaufsätzen (Sonderanfertigung)
- Glaswolle (Merck Labor und Chemievertrieb, Frankfurt/Main)
- Glasfritten, 5 cm Durchmesser (Fisher Scientific, Nidderau)
- Exsikkator, 30 cm Durchmesser (Schott, Mainz)
- Schlauchpumpe IPS 12 (Ismatec)
- Kristallisationsschalen, 22,5 cm Durchmesser (Schott, Mainz)
- Ultraschallbad T 460/H (Elma, Singen)
- Sauerstoffmessgerät OXI 91 (WTW, Weilheim)
- pH Meter CG 804 digital (Schott-Geräte GmbH, Hofheim)
- Leitfähigkeitsmessgerät LF 96 (WTW, Weilheim)
- Vakuumpumpe ME 4 (Vacuubrand GmbH & Co., Wertheim)
- Luxmeter Mavolux digital (Gossen-Metrawatt GmbH, Nürnberg)
- Analytische Fertigtests (Merck, Darmstadt): Aquamerck Ammonium-Test, Aquamerck Nitrat-Test, Aquamerck Nitrit-Test, Aquamerck Gesamthärte-Test
- TOC-Analysengerät TOCOR 2 (Maihak, Hamburg)
- Zellulosemembranfilter Minisart RC 15 (Sartorius, Göttingen)
- Pasteurpipetten (Brand, Wertheim)
- Mikroliter-Injektionsspritzen (z. B. Knauer, Berlin)
- Quarzsand F36 (Quarzwerke Frechen GmbH, Frechen)

- Kaolin (Amberger Kaolinwerke, Hirschau)
- Torf (Gartenfachhandel)
- Fischfutter TetraMin[®] Großflocken Hauptfutter, Tetra AZ 300 Aufzuchtfutter (Tetra Werke, Melle)
- Meersalzmischung Tropic Marin (Fa. Dr. Biener GmbH Aquarientechnik, War-
tenberg)
- CO₂-Absorber-Flüssigkeit Carbosorb E (Packard, Dreieich)
- Szintillationscocktail Permafluor E (Packard, Dreieich)
- Szintillationscocktail Ultima Gold (Packard, Dreieich)
- Szintillationscocktail Rotiszint EcoPlus (Roth, Karlsruhe)
- Verbrennungs-Additiv CombustAid (Packard, Dreieich)
- Gewebsauflöser Soluene 350 (Packard, Dreieich)
- Gewebsauflöser Solvable (Packard, Dreieich)
- LSC-Polyethylen (PE)-Vials, 5 mL und 20 mL (Canberra Packard, Dreieich)
- Laborzentrifuge Varifuge RF (Heraeus, Hanau)
- Festphasenextraktions-Cartridges Sep-Pak Vac 6cc und 3cc, C18 (Waters, Mil-
ford, MA, U.S.A.)
- Fraktionssammler RediFrac (Pharmacia, Freiburg)
- HPLC-Pumpe L6200 (Merck Analytische HPLC-Systeme, Darmstadt)
- UV - Detektor Merck - Hitachi L 4000 (Merck Analytische HPLC-Systeme,
Darmstadt)
- ERMA Entgasungsgerät Degasser ERC-3612 (ERC, Alteglofsheim)
- Merck Autosampler AS 2000 A (Merck Analytische HPLC-Systeme, Darm-
stadt)
- Integrator D 2500 (Merck Analytische HPLC-Systeme, Darmstadt)
- HPLC-Säulen (Macherey & Nagel, Düren)
- Flüssig-Szintillations-Zähler (Liquid Scintillation Counter, LSC) Tri Carb 2500
TR mit automatischer Quench- und Lumineszenz-Korrektur (Canberra Packard,
Dreieich)
- Probenverbrennungsautomat Sample Oxidizer Tri Carb 307 (Canberra Packard,
Dreieich)
- Laborchemikalien in p.a.- bzw. HPLC-Qualität wurden von den Firmen Sigma-
Aldrich (Steinheim), Roth (Karlsruhe) bzw. Merck (Darmstadt) bezogen: Ace-
ton, Triethylenglykol (TEG), n-Hexan, Kaliumhydroxid (KOH), Cyclohexan,
Ammoniumacetat (CH₃COONH₄), Ethanol, Calciumchlorid (CaCl₂ x 2 H₂O),
Methanol, Magnesiumsulfat (MgSO₄ x 7 H₂O), Toluol, Natriumhydrogencarbo-
nat (NaHCO₃), Dichlormethan, Kaliumchlorid (KCl), Acetonitril
- Referenzchemikalien:
 - Hexachlorbenzol, Reinheit > 99,% (Sigma-Aldrich, Steinheim)
 - Terbutryn, Reinheit 99,8% (Novartis Crop Protection AG, Basel,
Schweiz)
- Radioaktiv markierte Chemikalien:
 - [U-¹⁴C-] Hexachlorbenzol (Internationaler Isotopen-Dienst, München)
 - ¹⁴C-Terbutryn (Novartis Crop Protection AG, Basel, Schweiz)
 - ¹⁴C-Spec-Chec (Packard, Dreieich)

2.2 Sediment

Für Haltung und Zucht der Tubificiden sowie für den Einsatz in den Experimenten wurde ein Kunstsediment verwendet, das im wesentlichen auf der für Toxizitätstests mit Regenwürmern verwendeten Kunsterde (OECD 1984) basiert. Dieses Sediment wurde bereits erfolgreich in Bioakkumulations- und Toxizitätstests mit Tubificiden eingesetzt (Egeler et al. 1997, Meller et al. 1998). Es besteht aus Quarzsand, Kaolin und Torfmehl sowie aus demineralisiertem Wasser und Calciumcarbonat (Tab. 1).

Tab. 1: Zusammensetzung des verwendeten Kunstsediments (nach Egeler et al. 1997 und Meller et al. 1998)

Bestandteil	Anteil am Sedi- ment- Trockengewicht	Eigenschaften
Quarzsand	76,0%	mehr als 80 % der Partikel 0,05 - 0,125 mm
Kaolin	22,0%	Kaolinitanteil ≥ 30 %
Torf	2,0%	Weißtorf in Übereinstimmung mit OECD Richtlinie 207 (OECD 1984)
CaCO ₃	$\leq 0,1\%$	CaCO ₃ , pulverisiert, chemisch rein
Aqua demin. (zuge- setzt)	$\approx 46,0\%$	Leitfähigkeit ≤ 10 $\mu\text{S}/\text{cm}$

Die Herstellung erfolgte in 4 Schritten:

- Luftgetrockneter, gehäckselter Torf wurde 1 : 11,5 (w/v) mit Aqua demin. versetzt. Zur vollständigen Benetzung der Torfpartikel wurde die Suspension mit Hilfe eines UltraTurrax 10 min homogenisiert und anschließend der pH-Wert mit CaCO₃ auf 5,0 - 5,5 eingestellt.
- Zur Stabilisierung des pH-Wertes und Etablierung einer mikrobiellen Komponente wurde die Torfmehlsuspension für 48 h bei Raumtemperatur unter leichtem Rühren konditioniert. Nach der Konditionierungsphase wurde der pH-Wert der Suspension erneut kontrolliert.
- 76% Quarzsand und 22% Kaolin wurden bis zur Homogenität vermischt.
- Nach der Zugabe der konditionierten Torfmehlsuspension zum Quarzsand-Kaolin-Gemisch wurde eine Feuchte von 46% (TG) mit Aqua demin. eingestellt. Das bis zur Homogenität verrührte Sediment konnte direkt verarbeitet oder im Kühlschrank bei 4°C bis zu 1 Monat aufbewahrt werden.

2.3 Wasser

Für Haltung, Zucht und Versuche wurde rekonstituiertes Süßwasser nach OECD-Richtlinie 203 (OECD 1992) verwendet.

Tab. 2: Zusammensetzung und physiko-chemische Parameter des verwendeten rekonstituierten Wassers nach OECD Richtlinie Nr. 203 (OECD 1992).

Salze	[mg/L]
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	294,00
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	123,25
NaHCO ₃	64,75
KCl	5,75
Eigenschaften nach 1 h Belüftung	
O ₂ -Gehalt [% Sättigung]	80 - 100
pH-Wert	7,5 - 8,0
Gesamthärte [°dH]	10 - 15

2.4 Testorganismen

2.4.1 *Tubifex tubifex*

Biologie

Als Stellvertreter der Sedimentbewohner limnischer Gewässer wurden Schlammröhrenwürmer der Art *Tubifex tubifex* (Tubificidae, Oligochaeta, Clitellata, Annelida) ausgewählt. Tubificiden leben mit dem Vorderkörper nach unten in selbstgegrabenen Gängen, die sie mit Schleim auskleiden. Das Hinterteil des Körpers wird zur Atmung meist aus dem Sediment in das freie Wasser gestreckt, wo es zum Zweck der Ventilation schlängelnde Bewegungen (Undulationen) ausführt (Wesenberg-Lund 1967). Als Sedimentfresser nehmen Tubificiden Sedimentpartikel auf und transportieren sie durch den Magen-Darm-Trakt an die Sedimentoberfläche. Während der Magen-Darm-Passage werden mit den Partikeln assoziierte Mikroorganismen verdaut (Brinkhurst & Cook 1974, Berry 1976).

Speziell *Tubifex tubifex* (MÜLLER) ist bekannt für seine außerordentliche Anpassungsfähigkeit an unterschiedliche Habitats (z. B. Wachs 1967). Die Tubificiden besitzen eine hohe ökologische Relevanz. Sie tragen erheblich zur Bioturbation der Grenzschichten in der Übergangszone vom Sediment zum freien Wasser bei (Volpers 1988). Vor allem aber dienen die Tubificiden zahlreichen pelagischen und benthischen Prädatoren als Nahrung. Sie bilden ein wichtiges Glied limnischer Nahrungsnetze und erscheinen daher geeignet zur Untersuchung von Biomagnifikationsvorgängen. Im

daher geeignet zur Untersuchung von Biomagnifikationsvorgängen. Im Gegensatz zu anderen, häufig in Sedimenttests eingesetzten benthischen Invertebraten (z.B. *Chironomus riparius*, *Hyalella azteca*), die zum Teil unter sehr aufwendigen Bedingungen gehalten werden müssen (U.S.EPA 1994, OECD 2001), stellt *T. tubifex* geringe Ansprüche an seine Haltungsbedingungen sowie an den Zeitaufwand für die Betreuung der Laborkulturen (Egeler 1997).



Abb. 1: *Tubifex tubifex*; Foto: Ph. Egeler (2001)

T. tubifex wird in standardisierten Bioassays zur Sedimentbewertung bereits seit einigen Jahren erfolgreich eingesetzt (Reynoldson et al. 1991, Martinez-Madrid et al. 1998, Rodriguez & Reynoldson 1999). Tubificiden sind relativ tolerant gegenüber einer Reihe organischer Xenobiotika, zumindest wenn letale Effekte betrachtet werden (z. B. Whitten & Goodnight 1966, Chapman & Brinkhurst 1984, Ammon 1985, Klerks & Bartholomew 1991, Meller et al. 1998). Für Bioakkumulationstests ist eine gewisse Toleranz gegenüber Chemikalienstress unabdingbar (ASTM 1995b), da akute oder chronische Effekte der Substanzen auf die Testorganismen die Ergebnisse solcher Tests beeinflussen können.

Seit langem ist bekannt, dass Tubificiden Chemikalien aus dem Sediment anreichern. Sowohl zur Akkumulation von hydrophoben Substanzen (z. B. Oliver 1987, Lotufo & Fleeger 1996, Egeler et al. 1997) als auch zur Anreicherung von Schwermetallen wurden etliche Untersuchungen publiziert (z. B. Klerks & Bartholomew 1991, Rosso et al. 1994).

Herkunft der Tiere

Die Tiere werden seit März 1994 bei der ECT Oekotoxikologie GmbH in semistatischen Monospezies-Kulturen gezüchtet (Egeler 1997). Ursprünglich wurden die Tiere von der Fa. FEE Fischfutter Etzbach (D-53894 Mechernich-Bergheim) unter der Sammelbezeichnung "Tubifex" bezogen. Nach Angabe des Händlers stammten die Würmer aus der Maas und ihren Nebenflüssen in Belgien. Die Identifizierung von *T. tubifex* erfolgte nach den Bestimmungsschlüsseln von Wachs und Brinkhurst (Wachs 1967, Brinkhurst 1971). Die Überprüfung der Artzugehörigkeit wurde von Dr. P. Rodriguez, Universität Bilbao, Spanien, durchgeführt (1995, pers. Mitt.).

Haltung und Zucht

Haltung und Zucht von *T. tubifex* erfolgte in künstlichen Sediment und rekonstituiertem Wasser (Egeler et al. 1997). Hierzu wurde in 2 L Glas-Kristallationsschalen eine 2 cm tiefe Schicht künstliches Sediment mit ca. 8 cm rekonstituiertem Wasser überschichtet. Der Wasserkörper wurde 2 cm oberhalb der Sedimentoberfläche über eine Pasteurpipette mit gefilterter (45 µm Luftfilter) Raumluft belüftet.

Um jeder Zeit Tiere einer definierten Altersklasse zur Verfügung zu haben, wurde wöchentlich neue Zuchtgefäße mit je 150 - 200 Kokons angesetzt. Dazu wurden die Kokons mit Hilfe einer Pasteurpipette in das Sediment eingebracht. Nach ca. 10 Wochen (Temperatur: $20 \pm 2^\circ\text{C}$; Lichtzyklus: 16 h hell und 8 h dunkel bei ≤ 100 -Lux) waren die aus den eingesetzten Kokons geschlüpften Tiere wieder geschlechtsreif und hatten neue Kokons abgelegt. Mit diesen Kokons wurden wiederum neue Zuchtgefäße angesetzt. Die adulten Würmer konnten dann in Versuchen eingesetzt werden.

Die Tubificiden wurden zweimal wöchentlich mit Fischfutter (z.B. TetraMin Hauptfutter oder Tetra AZ 100 Larvenaufzuchtfutter, Tetra, Melle) gefüttert. Es wurden 0,6 mg feingemahlene Fischfuttermehl pro cm^2 Sedimentoberfläche in Form einer Suspension (50 mg/mL in Aqua demin.) verabreicht. Um eine Anreicherung der Stoffwechselprodukte von Tubificiden und Mikroorganismen zu vermeiden, wurde einmal wöchentlich das Wasser gewechselt.

2.4.2 *Gasterosteus aculeatus*

Biologie

Als Modell für pelagische Prädatoren bot sich aus mehreren Gründen der Dreistachlige Stichling (*Gasterosteus aculeatus* LINNÉ, Gasterosteidae, Teleostei) an. Neuere Quellen nennen *Gasterosteus aculeatus aculeatus* als gegenwärtig valide Artbezeichnung (Froese & Pauly 1999). Der Einfachheit halber wird in der hier vorliegenden Arbeit weiter von *G. aculeatus* gesprochen.

Für diese Art sprechen vor allem seine räuberische Lebensweise, die im Labor gut handhabbare Körpergröße (≤ 10 cm; Sterba 1987) und seine geringen Ansprüche an die Haltungsbedingungen im Labor. Der Stichling ernährt sich hauptsächlich von Makroinvertebraten, indem er sowohl pelagische (z. B. Daphnien und andere Kleinkrebse) als auch sedimentbewohnende Tiere (z. B. Würmer und Insektenlarven) frisst (Wooton 1984). Im Labor lässt er sich in rekonstituiertem Wasser halten und mit handelsüblichem Fischfutter (z. B. TetraMin[®]) und tiefgekühlten Artemien (Allner 1997) füttern.



Abb. 2: Dreistachliger Stichling (*Gasterosteus aculeatus*). Foto: M. Möller (1998)

Sicher gibt es Fischarten, die von ihrer Lebensweise her in engerem Kontakt mit Sedimenten stehen, so z. B. *Ictalurus punctatus* (z. B. Dabrowska et al. 1996) im limnischen und *Pleuronectes* sp. (z. B. Chang et al. 1998) im marinen Bereich. Auch hinsichtlich der Zucht im Labor, die beim Stichling einigen Zeitaufwand erfordert (Allner 1997), sind andere Arten wie z. B. der Zebrabärbling *Danio rerio* leichter zu handhaben (Nagel 1988, Bruns 1997).

Der entscheidende Vorteil von *G. aculeatus* als Testfisch für die vorliegende Arbeit liegt jedoch in seinem Vorkommen in Süß- und Salzwasser der gesamten Nordhalbkugel (Wooton 1984, Sterba 1987). Dies ermöglicht die Durchführung von Tests sowohl unter limnischen als auch unter marinen Bedingungen (die in einem anderem Projektteil durchgeführt wurden) mit nur einer Fischart und dies ist wohl auch der Hauptgrund dafür, dass er beispielsweise von Environment Canada (Environment Canada 1990), OECD (OECD 1992, OECD 1996) und ASTM (ASTM 1994) als Testorganismus empfohlen wird.

Herkunft der Tiere

Die Fische zum Aufbau einer Stammkultur wurden über den Zierfischgroßhandel (Aquarien Glaser, Rodgau-Weiskirchen) bezogen. Für die Versuche wurden nur Tiere aus eigener Nachzucht verwendet.

Haltung und Zucht

Nach achtwöchiger Akklimatisierung an die Haltungsbedingungen (Tab. 3) wurde mit laichreifen Tieren die Nachzucht gestartet. Hierzu wurde jeweils ein Männchen in einem mit Quarzsand, Javamoos (*Vesicularia sp.*) und fädigen Algen ausgestatteten 40 L-Aquarium gehalten. Sobald das Tier aus fädigen Pflanzenteilen, die es mit Hilfe eines aus den Nebennieren abgesonderten Sekretes mit dem sandigen Untergrund verklebte, ein Nest gebaut hatte, wurden ein bis zwei laichreife Weibchen zugesetzt. Nach erfolgter Balz, Eiablage und Befruchtung wurden die Weibchen wieder aus dem Zuchtbecken entfernt. Nach etwa 24 h, wenn die Eier befruchtet und die Eihüllen genügend ausgehärtet waren, wurde das Nest entnommen. Das Männchen baute innerhalb weniger Tage ein neues Nest und war dann wieder paarungsbereit.

Tab. 3: Haltungsbedingungen für *Gasterosteus aculeatus*.

Temperatur	18 ± 2°C
Fütterung	TetraMin [®] Hauptfutter; <i>Artemia salina</i> (tiefgefroren) oder lebend
Lichtzyklus	16 h hell/8 h dunkel
Wassertyp	rekonstituiertes Wasser
Wasserwechsel	1 x wöchentlich

Die Eier, die zu einem Klumpen von 50 - 200 Stück verklebt waren, wurden aus dem Nest in eine Petrischale mit rekonstituiertem Wasser überführt. Unter einem Binokularmikroskop (Wild, Heerbrugg, Schweiz) wurde dieser Klumpen mit Hilfe einer Feder-

stahlpinzette und einer Präpariernadel aufgelöst. Die weitere Bebrütung fand nach Spülung der Eier mit frischem rekonstituiertem Wasser in 2,5 L-Glaskristallisationsschalen bei Raumtemperatur statt. Der Wasserkörper wurde über eine Pasteurpipette belüftet. Unbefruchtete Eier wurden verworfen. Die Zuchtschalen wurden arbeitstäglich auf Pilzbefall untersucht, wobei dicht nebeneinander liegende Eier vereinzelt wurden. Nach 5 - 7 Tagen schlüpften die Larven. Leere Eihüllen wurden entfernt. Sobald die ersten Larven geschlüpft waren, wurde eine dünne Schicht gereinigten Quarzsandes auf den Schalenboden gestreut, um durch die raue Oberfläche den Larven das Abstreifen der Eihüllen zu erleichtern. Nach 2-3 weiteren Tagen war der Dottersack der Larven aufgebraucht, und es wurde mit Tetra AZ 300 (Tetra Werke, Melle) gefüttert. Von diesem Zeitpunkt an war alle 2 Tage ein Wasserwechsel erforderlich, um das auf den Futterresten beginnende Pilzwachstum zu minimieren. 3 - 4 Tage nach dem Schlupf erhielten die Fischlarven einmal täglich lebende, ein bis zwei Tage alte Nauplienlarven (*Artemia salina*).

Nach einer Woche konnten die nun knapp 1 cm langen Jungfische in ein 20 L-Aquarium mit Schaumstofffilter überführt werden. Nach Zugabe von Javamoos und einigen Posthornschnellen (*Planorbarius corneus*), die anfallende Futterreste beseitigten und übermäßigen Algenwuchs verhinderten, waren die Aufzuchtmaßnahmen weitgehend abgeschlossen. Die Fische erhielten nun fein gemahlene TetraMin[®]-Hauptfutter zusätzlich zu den Artemia-Nauplien. Hatten sie mit einer Länge von etwa 3 cm die für die Experimente geeignete Größe erreicht, so wurde ausschließlich mit TetraMin[®]-Hauptfutter gefüttert.

Das verwendete rekonstituierte Wasser ist durch seinen geringen Gehalt an Spurenelementen zur Dauerhaltung der Stichlinge über mehrere Monate oder Jahre nicht geeignet. Daher wurde das Haltungswasser zusätzlich mit 0,28 g/L einer Meersalzmischung (Tropic Marin, Dr. Biener GmbH Aquarientechnik, Wartenberg) versetzt.

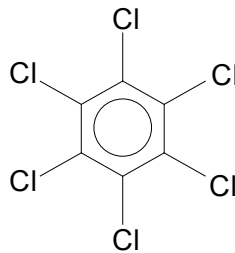
Für die Experimente wurden juvenile Stichlinge (3 - 8 Monate alt) aus den Zuchtansätzen entnommen und gewogen. Die Tiere wurden entsprechend OECD Richtlinie 305 (OECD 1996) so ausgewählt, dass die kleinsten Fische mindestens 2/3 des Gewichts der größten eingesetzten Fische besaßen. Diese Tiere wurden anschließend zur Akklimatisierung 2 - 4 Wochen unter Testbedingungen gehalten.

2.5 Testsubstanzen

2.5.1 Hexachlorbenzol

Als eine von zwei Modellsubstanzen wurde Hexachlorbenzol (HCB) für den Einsatz in den geplanten Biomagnifikationsstudien ausgewählt.

IUPAC-Name: Hexachlorbenzol
Summenformel: C_6Cl_6
Strukturformel:



Tab. 4: Kenndaten zur Umweltverteilung von Hexachlorbenzol (nach Rippen 1991); sofern nicht anders angegeben, beziehen sich die Werte auf Messungen bei 20°C.

Physiko-chemische Daten	Molekulargewicht	284,78
	Wasserlöslichkeit	8,4 µg/L (15-25°C)
	Henry-Konstante	10,32 Pa*m ³ /mol ⁽²⁾
	K_{oc} (Sediment)	10800 - 1200000
	log K_{ow}	5,72
Bioakkumulation	BCF (<i>Daphnia sp.</i>)	200-1130
	BCF (Mückenlarven)	750-73000
	BCF (Fisch)	≈ 1761 ⁽¹⁾ - 500000
	BAF (Tubificiden)	35 ⁽³⁾

⁽¹⁾ nach Nagel 1988; ⁽²⁾ ARS/U.S.DA 1995; ⁽³⁾ Egeler et al. 1999b, Mittelwert bzgl. Trockengewicht

Hexachlorbenzol wurde lange als Saatgutbeizmittel sowie als Ausgangsverbindung für das Fungizid Pentachlorphenol hergestellt und eingesetzt. Die Anwendung von HCB als Bestandteil von Pflanzenschutzmitteln ist seit 1975 in der Bundesrepublik Deutschland verboten. Die weltweite jährliche Herstellungsmenge belief sich 1990 immer noch auf ca. 10.000 t (Streit 1994). Seit 1985 wird es in Deutschland ausschließlich als Ausgangsstoff für die Produktion des Gummi-Additivstoffes Pentachlorthiophenol verwendet. Außerdem fällt es als Nebenprodukt bei der Herstellung von Tetrachlorethen und chlorierten Pestiziden an. Hexachlorbenzol wird immer wieder in Gewässern, vor allem

adsorbiert an Schwebstoffe und Sedimente, nachgewiesen (BUA 1994). HCB wurde in fischfressenden Endgliedern von Nahrungsnetzen wie Delphinen und Nerzen (Mink) in signifikanten Konzentrationen gefunden (z. B. Kuehl et al. 1991, Moore et al. 1997).

Für Hexachlorbenzol als Modellchemikalie spricht zudem die umfangreiche Basis an Daten zur Ökotoxikologie und Umweltverteilung (z. B. Rippen 1991, CEPA 1993, BUA 1994). Vor allem existieren für diese Substanz bereits standardisierte Testvorschriften zur Messung der Bioakkumulation aus Sedimenten (z.B. Egeler et al. 1997).

Die ebenfalls als Testsubstanzen möglichen Insektizide Lindan (γ -Hexachlorcyclohexan) und DDT besitzen wie das HCB eine Tendenz zur Biomagnifikation in Nahrungsketten (Biddinger & Gloss 1984, Romijn et al. 1993). Hinsichtlich der praktischen Durchführung der Experimente im Labor weisen diese beiden Chemikalien allerdings einen deutlichen Nachteil gegenüber Hexachlorbenzol auf. Beide Substanzen zeigen eine weit höhere Toxizität gegenüber aquatischen Organismen als HCB (z. B. Rippen 1991). Lindan zeigt zudem ein komplexes Bioakkumulationsverhalten (z. B. Füll 1996). Aus den geschilderten Gründen wurde HCB als Modellsubstanz ausgewählt, zumal die zu erarbeitenden Ergebnisse Modellcharakter haben sollten.

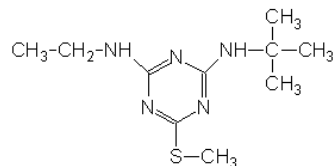
2.5.2 Terbutryn

IUPAC Name: N-tert-Butyl-N'-ethyl-6-methylsulfanyl-[1,3,5]triazine-2,4-diamine

CAS-Nr.: 886-50-0

Summenformel: $C_{10}H_{19}N_5S$

Strukturformel:



Die zweite Chemikalie, deren Anreicherung in der Labornahrungskette untersucht wurde, ist das Triazinherbizid Terbutryn. Triazinherbizide gehören zu den weltweit am meisten verwendeten Pflanzenschutzmitteln (Canle et al. 1998). Nach Angaben von Spectrum Laboratories adsorbiert Terbutryn, gelangt es in Oberflächengewässer, sehr schnell an Schwebstoffe und Sedimente. Hauptabbauprodukt in Boden ist Hydroxyter-

butryn (Spectrum Laboratories 1996). Terbutryn gilt mit einer LC_{50} (96 h) von etwa 3 g/L bei der Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*) bzw. von 4 mg/L bei Karpfen (*Cyprinus carpio*), Sonnenbarsch (*Lepomis macrochirus*) und Flußbarsch (*Perca fluviatilis*) nach Extension Toxicology Network (EXTOXNET 1998) als moderat toxisch für Fische. Gemessene Daten zur Bioakkumulation bzw. Biokonzentration in Fischen sind nicht publiziert.

Tab. 5: Kenndaten zur Umweltverteilung von Terbutryn.

Physiko-chemische Daten	Molekulargewicht	241,36
	Wasserlöslichkeit	25 mg/L (20°C) ⁽¹⁾
	Henry-Konstante	0,0031 Pa*m ³ /mol (25°C) ⁽²⁾
	K_{oc} (Boden)	800 - 11660 ⁽²⁾
	log K_{ow}	3,49 ⁽³⁾
	Dissoziationskonstante (pK_a)	4,07 ⁽²⁾
Bioakkumulation	BCF (<i>Asellus aquaticus</i>)	≈ 30 ⁽⁴⁾
	BCF (<i>Gammarus fossarum</i>)	≈ 13 ⁽⁴⁾
	BCF (<i>Lumbriculus variegatus</i>)	≈ 9 ⁽⁴⁾

⁽¹⁾ The Royal Society of Chemistry 1994; ⁽²⁾ ARS/U.S.DA 1995; ⁽³⁾ U.S.HHS 1993; ⁽⁴⁾ Nagel (1998, pers. Mitt.).

Da neben stark hydrophoben Substanzen wie HCB auch moderat lipophile Substanzen (z.B. Lindan) ein Biomagnifikationspotential in aquatischen Nahrungsketten aufweisen können (z.B. Biddinger & Gloss 1984), sollte als zweite Modellchemikalie eine Substanz mit einem log K_{OW} zwischen 3 und 4 ausgewählt werden. Aufgrund des bekannten komplexen Bioakkumulationsverhalten von Lindan (z. B. Füll 1996) wurde dem anhand des K_{OW} mit dem Lindan vergleichbaren Terbutryn der Vorzug gegeben (vgl. Kap. 2.5.1).

2.5.3 Radiochemikalien

Die beiden Modellsubstanzen HCB und Terbutryn wurden in ¹⁴C-markierter Form eingesetzt. ¹⁴C-HCB wurde in Cyclohexan gelöst, Terbutryn in Toluol/Dichlormethan/Methanol (1:1:1) gelöst bei $-20 \pm 2^\circ\text{C}$ gelagert (Tab. 6). Für beide Tracer wurde eine radiochemische Reinheitsprüfung mittels HPLC (Hochleistungs-Flüssig-Chromatographie) durchgeführt. Detaillierte Angaben zur Analytik von ¹⁴C-HCB und ¹⁴C-Terbutryn sind in Kap. 2.8 zu finden. Die Überprüfung von ¹⁴C-Terbutryn (2 Monate nach Eingangsdatum) ergab eine radiochemische Reinheit von $\geq 95\%$. Die radiochemische Reinheit von ¹⁴C-HCB lag bei $\geq 97\%$.

Tab. 6: Herkunft und Eigenschaften der verwendeten Radiochemikalien

	Hexachlorbenzol	Terbutryn
Tracer	[U- ¹⁴ C-] Hexachlorbenzol	2-(tert-butylamino)-4-(ethylamino)-6-(methylthio)-s-[2,4,6- ¹⁴ C]triazine
Hersteller	Internationaler Isotopen-Dienst, München (IIM)	Novartis Crop Protection AG, Basel, Schweiz
Spezifische Aktivität ⁽¹⁾	185 MBq/mmol	472,57 MBq/mmol
	0,65 MBq/mg	1,96 MBq/mg
	39.000 dpm/μg	117.500 dpm/μg
Radiochemische Reinheit ⁽¹⁾	> 97%	> 98%
Lösungsmittel	Cyclohexan	Toluol/Dichlormethan/Methanol (1:1:1)

⁽¹⁾ Angaben laut Hersteller

2.6 Radioaktivitätsmessung

2.6.1 Messprinzip

Für die Messung der Radioaktivität stand ein Flüssig-Szintillations-Zähler (Liquid Scintillation Counter, LSC; Tri Carb 2500 TR, Canberra Packard, Dreieich) mit automatischer Quench- und Lumineszenz-Korrektur zur Verfügung. Die zu messenden Proben wurden direkt oder nach entsprechender Aufbereitung (Kap. 2.6.2 - Kap. 2.6.5) mit einem geeigneten Szintillationscocktail (Ultima Gold XR, Canberra Packard, Dreieich, oder Rotiszint EcoPlus, Roth, Karlsruhe) versetzt und im LSC analysiert. Für stark salzhaltige oder alkalische Proben (z. B. Gewebeauflöser, Kalilauge) wurde als Szintillationscocktail Hionic Fluor (Canberra Packard, Dreieich) verwendet.

Zur Messung der mit Szintillationscocktail oder anderen Lösemitteln nicht extrahierbaren Radioaktivität wurden Proben mit Hilfe eines Probenverbrennungsautomaten (Tri-Carb 307, Canberra Packard, Dreieich) aufgearbeitet. Das bei der Verbrennung einer radioaktiv markierten Probe freiwerdende ¹⁴CO₂ wurde in einer Absorberlösung (Carbosorb, Canberra Packard, Dreieich) aufgefangen, mit Szintillationscocktail (Permafluor, Canberra Packard, Dreieich) versetzt und im LSC gemessen.

Aus den gemessenen Zählereignissen (counts per minute, cpm) wurden unter Berücksichtigung von Probenquench und Chemolumineszenz automatisch die entsprechenden Zerfallsraten (disintegrations per minute, dpm) ermittelt. Alle Messwerte wurden um

die Leerwert-Aktivität (*background*) sowie die Ausbeute korrigiert und anschließend auf die entsprechende Probengröße (dpm/mL bzw. dpm/g) normiert.

Die Radioaktivitätsausbeute in den mittels Gewebssauflöser vorbereiteten Proben war zuvor anhand eines Vorversuches bestimmt worden. Hierbei diente die nach vollständiger Verbrennung im Sample Oxidizer gemessene radioaktive Konzentration in zuvor homogenisierten und geteilten Proben als Referenz. Die Ausbeute in den mit Soluene bzw. Solvable behandelten Proben entsprach den Werten, die nach Verbrennung gefunden wurden.

2.6.2 Wasserproben

Wasserproben von je 4 - 5 mL wurden in 20 mL Polyethylenvials überführt, mit Szintillationscocktail (Ultima Gold XR oder Rotiszint EcoPlus) versetzt und im LSC gemessen.

2.6.3 Sedimentproben

Hexachlorbenzol enthaltende Proben wurden mit Szintillationscocktail (Ultima Gold XR oder Rotiszint EcoPlus) versetzt. Zunächst erfolgte eine gründliche Durchmischung, die durch eine 5-minütige Ultraschallbehandlung unterstützt wurde. Nach Absetzen der suspendierten Sedimentpartikel für 6 h wurden die Proben im LSC gemessen.

Terbutrynhaltige Sedimentproben wurden vor der Zugabe von Szintillationscocktail zusätzlich mit je 1 - 3 mL Methanol versetzt, 2 min im Ultraschallbad behandelt und dann für 4 h bei Raumtemperatur inkubiert. Die weitere Behandlung erfolgte analog den Methoden für HCB-haltige Sedimentproben.

2.6.4 Wurmproben

Bei der Aufarbeitung der Wurmproben wurde jede Probe mit 1 mL Gewebssauflöser (Soluene bzw. Solvable, Packard, Dreieich) versetzt, vier Stunden lang bei 60°C aufgelöst, neutralisiert, abgekühlt, mit Szintillationscocktail (Hionic Fluor) gemischt und im LSC gemessen.

2.6.5 Fischproben

Fischproben wurden in vier Portionen auf vier 20 mL-Vials verteilt, mit je 2 mL Soluene versetzt und vier Stunden lang bei 60°C aufgelöst. Nach zweiminütiger Ultraschallbehandlung erfolgte die schrittweise Entfärbung der Fischproben. Hierzu wurden die Proben mit je 100 µL 30%iger H₂O₂-Lösung versetzt und bei 60°C inkubiert bis die Reaktion im Vial abgeschlossen war. Diese Prozedur wurde so oft wiederholt (jedoch maximal fünfmal) bis die Färbung der Proben klar bis leicht gelblich war. Anschließend wurden 100 µL konzentrierte Salzsäure zugegeben, um den stark alkalischen Gewebsauflöser zu neutralisieren. Nach Abkühlung und Zugabe von Szintillationscocktail (Hi-ionic Fluor) wurden die Proben im LSC gemessen. Die in den vier Teilproben gemessenen Radioaktivitätswerte wurden nach Abzug der Backgroundaktivität zur Berechnung der Konzentration im Gesamtfisch addiert.

2.7 Exposition

2.7.1 Wahl der Testsubstanzkonzentrationen

Grundsätzlich sollten in Bioakkumulations- oder Biomagnifikationstests, wenn die reine Anreicherung oder die Kinetik einer Substanz bestimmt werden soll, möglichst niedrige Substanzkonzentrationen eingesetzt werden, um chronische oder gar akute Effekte zu vermeiden. Die gleichzeitige Bestimmung von Effektkonzentrationen und Bioakkumulationsdaten durch die Messung der *body burdens* oder Körperkonzentration am Ende von verlängerten Toxizitätstests - also mit relativ hohen Substanzkonzentrationen - erspart zwar Aufwand, da man hier nur einen statt zwei Tests durchführen muss; die in einem solchen Toxizitätstest gemessenen *body burdens* bzw. die entsprechenden Bioakkumulationsfaktoren (BAF) oder Biokonzentrationsfaktoren (BCF) sind jedoch kritisch zu betrachten, da sie bei Konzentrationen ermittelt werden, die möglicherweise Veränderungen in der Membranpermeabilität und/oder im Stoffwechsel hervorrufen. Solche Effekte können dann zu verändertem Anreicherungsverhalten führen (z. B. De Bruijn et al. 1991). Daher sind für die Bewertung der Anreicherung von Chemikalien grundsätzlich BAF/BCF, die bei niedrigen Konzentrationen gemessen wurden, den BAF/BCF aus Effekt-Tests vorzuziehen.

In den hier durchgeführten Experimenten wurden HCB-Konzentrationen im Bereich von 250-300 µg/kg Sediment (Feuchtgewicht) bzw. 360-440 µg/kg Sediment (Trocken-

gewicht) eingesetzt. Diese Konzentrationen liegen weit unter LOECs (*Lowest Observed Effect Concentrations*) für HCB (> 1.000 mg/kg Sediment) bei Tubificiden (Meller et al. 1998). Bei Fischen sind für HCB im Bereich der Wasserlöslichkeit von etwa 5 µg/L keine akuten Schadwirkungen bekannt (Rippen 1991, BUA 1994). Da weder höhere Sediment- noch Wasserkonzentrationen in den verschiedenen Expositionsszenarien eingesetzt wurden, konnten zumindest akute Effekte auf die Testorganismen ausgeschlossen werden.

Terbutryn wurde in Konzentrationen im Bereich von 40 µg/kg (FG) bzw. 60 µg/kg (TG) im Sediment oder im Bereich von 1 µg/L ins Wasser appliziert. Weder für den Stichling noch für *T. tubifex* oder andere Sedimentorganismen lagen Daten zur Toxizität von Terbutryn vor. Daher orientierten sich die in den Versuchen eingesetzten Konzentrationen im wesentlichen an der Nachweisgrenze der analytischen Methoden. Die in der vorliegenden Studie gewählten Konzentrationen liegen weit unter den im Agrochemicals Handbook (The Royal Society of Chemistry 1994) genannten Effektkonzentrationen (LC₅₀(96 h)) von 3 mg/L bei *Oncorhynchus mykiss* bzw. 4 mg bei *Lepomis macrochirus*, *Cyprinus carpio* und *Perca fluviatilis*.

Tab. 7: Nominelle Konzentrationen von ¹⁴C-HCB und ¹⁴C-Terbutryn zur Applikation in Sediment bzw. in Wasser.

Substanz		dpm/g (FG)	dpm/g (TG)	µg/g (FG)	µg/g (TG)
¹⁴ C-HCB	Sediment	10.000	14.600	0,26	0,38
	Wasser	≤ 195	---	≤ 0,005	---
¹⁴ C-Terbutryn	Sediment	5.000	7.300	0,04	0,06
	Wasser	110	---	0,001	---

Anhand entsprechender Kontrollansätze ohne HCB bzw. Terbutryn konnten keine Unterschiede zwischen den Kontrolltieren und den exponierten Testorganismen in den dotierten Ansätzen festgestellt werden.

2.7.2 Applikation der Testsubstanzen

Applikation ins Sediment

Zur Exposition der Organismen gegenüber kontaminiertem Sediment wurden die Testsubstanzen ins Sediment appliziert. Aufgrund der hohen Henry-Konstante von Hexachlorbenzol ist das Risiko schneller Verflüchtigung aus dem freien Wasser gegeben. Die

Applikation der Testsubstanz direkt ins Sediment verringert dieses Risiko, da HCB sehr stark an Sedimentpartikel adsorbiert (vgl. Tab. 4).

Die Applikation von Hexachlorbenzol erfolgte über die Dotierung eines Aliquots der Quarzsandfraktion (5 - 7% des gesamten Quarzsandes) des Kunstsediments. Hierzu wurde ^{14}C -HCB in Cyclohexan gelöst. Das Volumen des Lösungsmittels wurde so bemessen, dass eine vollständige Benetzung des Quarzsandaliquots gewährleistet war. Der gewaschene und getrocknete Quarzsand wurde mit der Tracerlösung getränkt. Nachdem (unter zwischenzeitlichem Rühren mit einem Edelstahlspatel) das Lösungsmittel vollständig verdunstet und der Quarzsand pulvertrocken war, wurde das Aliquot in das vorgelegte Kunstsediment eingerührt. Diese Methode gewährleistet eine ausreichend homogene Verteilung der radioaktiv markierten Testsubstanzen im Sediment (Egeler et al. 1997).

Für die Dotierung des Kunstsediments mit ^{14}C -Terbutryn wurde das benötigte Volumen aus der Stammlösung entnommen, das zur Lagerung des Tracers verwendete Lösemittelgemisch unter Stickstoff bis zur Trockne eingeeengt und der Rückstand anschließend mit 100 μL Aceton wieder aufgenommen. Diese Lösung wurde mit einem Teil (28%) des zur Kunstsedimentherstellung benötigten Wassers gründlich gemischt und anschließend 2 h gerührt, um das Aceton möglichst vollständig abdampfen zu lassen. Die wässrige Terbutrynlösung wurde dann in das vorgelegte Kunstsediment eingerührt. Das mit Testsubstanz versehene Sediment wurde unmittelbar nach der Herstellung in die Testgefäße überführt und, nachdem Sedimentproben zur Konzentrationsüberprüfung entnommen worden waren, mit rekonstituiertem Wasser überschichtet.

Applikation ins Wasser

Zur Bestimmung der Anreicherung im Fisch aus der Wasserphase (Biotransformation) wurden verschiedene Applikationsmethoden angewendet. Zum einen wurde die jeweilige Testchemikalie (^{14}C -HCB bzw. ^{14}C -Terbutryn) in wenig Aceton (< 0,1 mL Aceton/L Wasser) gelöst und direkt in das vorgelegte rekonstituierte Wasser mittels einer Mikroliterspritze appliziert und durch gründliches Rühren verteilt.



Abb. 3: Waschflasche mit HCB-beschichteten Glasperlen zur Dotierung des Wasserkörpers.

Aufgrund der hohen Anreicherung von Hexachlorbenzol in den Testfischen bei schwacher Wasserlöslichkeit wurde zur Messung der Biokonzentration von ^{14}C -HCB ein weiterer Test unter Anwendung einer zweiten Applikationsmethode in Anlehnung an Schuytema und Mitarbeiter durchgeführt (Schuytema et al. 1990). Hierzu wurden - analog zur Quarzsanddotierung - Glasperlen (\varnothing 1,5 mm) mit cyclohexanischer HCB-Lösung getränkt. Nachdem das Lösungsmittel verdampft war, wurden die nun mit HCB beschichteten Glasperlen in eine Gaswaschflasche überführt. Das in den Expositionsgläsern befindliche Wasser wurde mit Hilfe einer Schlauchpumpe (IPS 12, Ismatec) in einem Kreislaufsystem über die beschichteten Glasperlen und wieder ins Expositionsgläser geleitet, um eine kontinuierliche HCB-Abgabe ins Expositionsmedium zu gewährleisten.

2.7.3 Versuchsaufbau

Die Exposition von Stichlingen und Tubificiden fand bei $19 \pm 2^\circ\text{C}$ in 20 L- Vollglas-aquarien statt. Um das Entweichen radioaktiver Testsubstanz zu vermeiden, wurden die Becken mit Glasscheiben, die mit einer Kunststoffdichtung versehen waren, abgedeckt. Bohrungen in den Glasdeckeln ermöglichten die Zu- und Abführung der für die Belüftung des Wasserkörpers benötigten Luft. Eine Saugpumpe (ME 4, Vacuubrand) sorgte über Schlauchverbindungen für den nötigen Unterdruck im Luftraum über der Wasseroberfläche in den Becken, so dass Raumluft über eine Pasteurpipette in den Wasserkör-

per gesaugt wurde. Die Luft über der Wasseroberfläche wurde über ein System von gekühlten Waschflaschen geleitet, um flüchtige Testsubstanzanteile in Triethylenglykol sowie auftretendes $^{14}\text{CO}_2$ in 10%iger KOH-Lösung aufzufangen. Abb. 4 zeigt schematisch den Grundaufbau der experimentellen Anordnung bei der gemeinsamen Exposition von Stichlingen und benthischen Würmern gegenüber dotiertem Kunstsediment (Bioakkumulationsszenario).

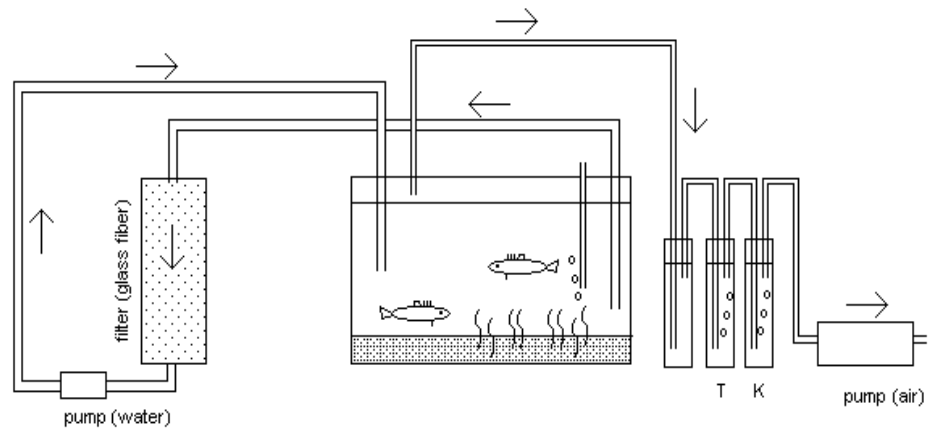


Abb. 4: Schematische Darstellung der Versuchsanordnung zur Exposition von Fischen gegenüber kontaminiertem Sediment (Bioakkumulationsszenario); T: Triethylenglykol, K: Kalilauge.

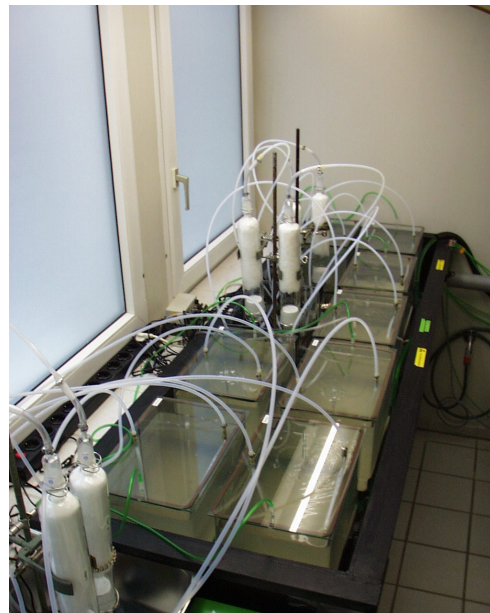


Abb. 5: Versuchsanordnung zur Exposition von Fischen gegenüber kontaminiertem Sediment.



Abb. 6: Versuchsanordnung zur Bioakkumulation in Tubificiden.

Bei der Exposition der Stichlinge gegenüber dotiertem Sediment entstand durch aufgewirbelte Sedimentpartikel eine starke Trübung des Wasserkörpers. Wie in Vorversuchen ermittelt wurde, beeinträchtigte diese Trübung die Fische erheblich beim Auffinden der Nahrung. Daher wurden im Testaufbau für das Bioakkumulationsszenario (Abb. 4, Abb. 5) Filter eingesetzt, um aufgewirbelte Schwebstoffe aus dem Wasser zu entfernen. Hierzu wurde in einem Rezirkulationssystem das Expositionswasser jedes Beckens mit Hilfe einer Kreiselpumpe (RenaFlow 600 C, Rena France, Annecy, Frankreich) über Teflonschlauchverbindungen in einen Glaszylinder (Durchmesser 5 cm, Länge 35 cm) mit Glaswolle gepumpt und gefiltert wieder ins Becken zurückgeleitet.

2.7.4 Versuchsdurchführung

Biokkumulation bei Tubificiden

Am Tag nach der Herstellung des dotierten Kunstsediments (vgl. Kap. 2.7.2) wurden die benötigten Würmer aus der Kultur entnommen, gewogen und in die mit dotiertem Kunstsediment versehenen Testgefäße überführt (Abb. 6). Für die Dauer der Aufnahmekinetik (bis zu 12 d) wurden die Tiere nicht zusätzlich gefüttert. Die Würmer, die für die Exposition der Fische im Biomagnifikations- und Bioakkumulationsszenario vorgesehen waren, wurden aufgrund der langen Expositionszeit (bis zu 60 d) mit 10 mL TetraMin[®]-Suspension (50 mg/mL) pro Woche gefüttert. Ein Wasserwechsel erfolgte einmal wöchentlich. Zu den jeweiligen Messzeitpunkten wurden Wasserproben und mit

Hilfe einer Saugpumpe Sediment mit Würmern entnommen. Die Würmer wurden aus dem entnommenen Sediment gesiebt, gewogen und anschließend entweder an Stichlinge verfüttert oder zur weiteren Aufarbeitung bei -20°C tiefgefroren (siehe auch Kap. 2.6).

Bioakkumulation beim Stichling



Die für den jeweiligen Versuch benötigten Fische wurden gewogen und für etwa zwei Wochen unter Testbedingungen akklimatisiert. Während dieser Akklimatisierungsphase wurden die zur Bioakkumulation vorgesehenen Würmer bereits in dotiertem Kunstsediment vorexponiert. Nachdem die Würmer den *steady state* erreicht hatten, wurden die akklimatisierten Fische nochmals gewogen und anschließend gegenüber dem dotiertem Sediment und den kontaminierten Würmern exponiert. Die Exposition erfolgte, indem den Fischen nach dem Einsetzen in die Testgefäße eine eigenständige Nahrungssuche gestattet wurde (Abb. 7).

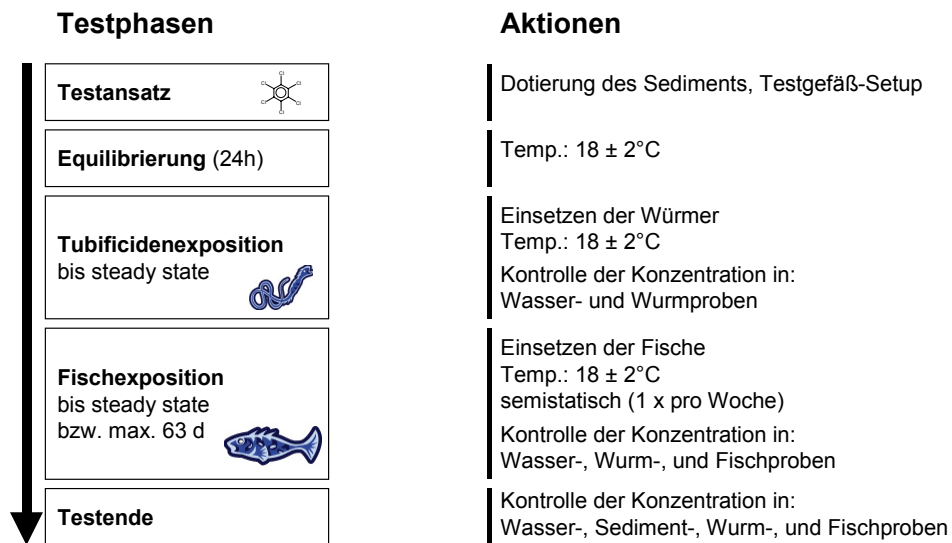
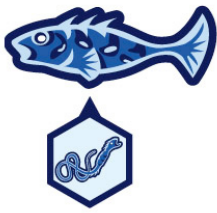


Abb. 7: Bioakkumulation und Biomagnifikation beim Stichling. Schematische Darstellung der Versuchsdurchführung.

Die Dosierung des Wurmbesatzes im Bioakkumulationsszenario ergab sich anhand von Vorversuchen, die zeigten, dass die Fische innerhalb einer Woche den Tubificidenbesatz (200% des Fischgewichts) auf etwa 110% des Fischgewichts (entspricht etwa 44%

des gesamten Tubificidenbesatzes) dezimierten. Dies entspricht einer täglichen Fraßrate von 12,8% des Fischgewichts, wobei bei den Fischen keine signifikante Änderung des Frischgewichts festzustellen war. Um nun den Besatz an Nährorganismen zwischen 100 und 200% Fischgewichts zu halten, wurden im Versuch wöchentlich die gefressenen Tubificiden durch die entsprechende Menge vorexponierter Würmer (12,8% des Fischgewichts x 7) ersetzt.

Biomagnifikation beim Stichling



Die Testdurchführung erfolgte entsprechend Abb. 7. Hier erfolgte allerdings im Gegensatz zum Bioakkumulationsszenario die Exposition der akklimatisierten Fische durch Verfütterung vorexponierter Würmer (im *steady state*) an separat in unkontaminiertem Wasser gehaltene Fische. Dazu mussten die Fische, um eine gleichmäßige Verteilung der kontaminierten Würmer an alle Einzeltiere sowie die genaue Bilanzierung der verabreichten Radioaktivität zu ermöglichen, durch Gitter getrennt gehalten und individuell gefüttert werden (Abb. 8). Hierzu wurden vorexponierte Würmer einmal täglich verfüttert, wobei jedem Fisch 4% des Fischgewichtes an Würmern zugeführt wurde. An den Messtagen wurden Fische jeweils vor dem Fütterungszeitpunkt, d.h. 24 Stunden nach der letzten Fütterung, entnommen. Eine Ausnahme hiervon stellte der erste Messpunkt dar, an dem Fischproben eine Stunde nach Fütterung entnommen wurden.

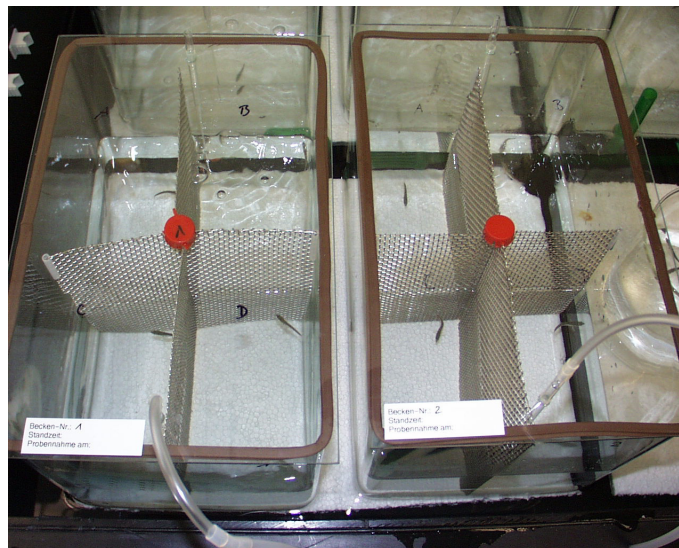


Abb. 8: Versuchsanordnung zur Exposition von Fischen gegenüber kontaminierten Würmern (Biomagnifikationsszenario).

Biokonzentration beim Stichling: Exposition gegenüber dem Wasserkörper



Die für den jeweiligen Versuch benötigten Fische wurden gewogen und für etwa zwei Wochen unter Testbedingungen akklimatisiert. Nach Dotierung (vgl. Kap. 2.7.2) des Wasserkörpers und Überprüfung der radioaktiven Konzentration wurden die erneut gewogenen Fische in die Testbecken überführt. Gefüttert wurde mit TetraMin[®] (zweimal täglich 0,75% des Fischgewichtes). Diese Futterration war anhand von Vorversuchen festgelegt worden, da die Fische bei Fütterung mit 2% des Fischgewichts pro Tag (OECD 1996) im Verlauf der Tests stark an Gewicht zunahmen. Ebenfalls täglich wurden Faeces und Futterreste abgesaugt. Um während der Expositionsdauer die Wasserqualität aufrechtzuerhalten, wurden auch die Biokonzentrationsversuche semistatisch durchgeführt. Hierbei wurde jeweils wöchentlich der Wasserkörper zu etwa zwei Dritteln ausgetauscht und die mit dem Abwasser entnommene Radioaktivität nachdosiert.

Biokonzentration: Exposition gegenüber dotiertem Sediment



Die Versuche zur Untersuchung der Biokonzentration durch Exposition der Fische gegenüber dotiertem Sediment dienten zur Ermittlung der Anreicherung ausschließlich aus Sediment und Wasserphase ohne den Einfluss der Tubificiden auf die Remobilisierung sedimentgebundener Substanzanteile (Karickhoff & Morris 1985, Thibodeaux et al. 2001) bzw. ohne die durch die Nahrungssuche der Fische entstehende Resuspension kontaminierter Sedimentpartikel. Die Durchführung erfolgte analog zum Bioakkumulationsszenario (vgl. Abb. 4, Abb. 5 und Abb. 7) mit dem Unterschied, dass den Stichlingen keine Tubificiden als Nahrungs- und Testsubstanzquelle angeboten wurden. Die Fische wurden mit unkontaminiertem Fischfutter (TetraMin[®]; zweimal täglich 0,75% des Fischgewichtes) gefüttert.

2.7.5 Probennahme

Die Exposition der Tiere dauerte bis zum Erreichen der *steady state*, jedoch maximal 63 Tage. Nach OECD-Richtlinie 305 (OECD 1996) gilt der *steady state* dann als erreicht, wenn der Konzentrationsverlauf in den Testorganismen in der graphischen Darstellung parallel zur Zeitachse erfolgt bzw. die Abweichung dreier aufeinanderfolgender Mes-

sungen nicht mehr als $\pm 20\%$ beträgt. Aus allen Ansätzen wurden, um den Verlauf der Konzentration (^{14}C -Radioaktivität in dpm/g bzw. dpm/mL Probe) in den jeweiligen Kompartimenten zu verfolgen, zu bestimmten Messzeitpunkten Sediment-, Wasser-, Wurm- und Fischproben entnommen.

Sedimentproben

Sedimentproben zur Konzentrationsbestimmung wurden jeweils zu Beginn und am Ende der Tests entnommen. Bei Versuchsende wurden zur Analytik von Ursubstanz und Metaboliten zusätzliche Proben genommen. Alle Proben wurden gewogen und in PE-Vials bis zur weiteren Aufarbeitung bei -20°C tiefgefroren (siehe Kap. 2.6.3 und Kap. 2.8).

Wasserproben

Wasserproben von je 4 - 5 mL wurden direkt im LSC gemessen (Kap. 2.6.2). Bei Versuchsende wurden mit Hilfe einer Saugpumpe Wasserproben zur Analytik von Ursubstanz und Metaboliten aus den Becken direkt in 1 L-Braunglasflaschen gesaugt und bis zur Aufarbeitung tiefgekühlt (Kap. 2.8).

Wurmproben

Die Entnahme von Würmern erfolgte ebenfalls mit Hilfe einer Saugpumpe. Hierzu wurde ein Teil des Sediments abgesaugt und in einem Glas-Erlenmeyerkolben aufgefangen. Aus diesem Sediment wurden die enthaltenen Würmer gesiebt, mit rekonstituiertem Wasser abgespült, auf einem mit rekonstituiertem Wasser gesättigten Kleenex von überschüssigem Wasser und Sedimentresten befreit, in vorgewogene PE-Vials überführt und gewogen. Anschließend wurden die Tiere, in denen die radioaktive Konzentration bzw. der Gehalt an Ursubstanz bestimmt werden sollte, bei -20°C abgetötet und bis zur weiteren Aufarbeitung gelagert (siehe Kap. 2.6.4 und Kap. 2.8). Würmer, die zur Verfütterung an Fische vorgesehen waren (Biomagnifikatikonsszenario), wurden - nach Abwiegen der für jeden einzelnen Fisch berechneten Menge (4% des Fischgewichts) - den in separaten Becken gehaltenen Stichlingen individuell verabreicht. Würmer, die für die Exposition der Stichlinge im Bioakkumulationsszenario eingesetzt werden sollten, wurden ebenfalls gewogen und anschließend in die entsprechenden Becken überführt. Um den Würmern ein Eingraben ins Sediment zu ermöglichen und um zu verhindern, dass sie von den Stichlingen sofort gefressen wurden, wurden sie unter einem Glastrichter auf die Sedimentoberfläche gesetzt (Möller 1998, pers. Mitteilung).

Fischproben

Zu jedem Messzeitpunkt wurden mindestens vier Fische entnommen. Bei Versuchsende wurden zur Analytik von Ursubstanz und Metaboliten zusätzliche Proben genommen. Die Tiere wurden durch Genickschnitt getötet, auf feuchtem Kleenex abgetupft und gewogen. Die anschließende Aufbewahrung der Fischproben bis zur Aufarbeitung erfolgte in PE-Vials bei -20°C (siehe Kap. 2.6.5 und Kap. 2.8).

2.8 Metabolismus

Da in den hier beschriebenen Experimenten mit radioaktiv markierten Testsubstanzen gearbeitet wurde, beruhte die Bestimmung der Konzentrationen in Wasser, Sediment, Würmern und Fischen zunächst ausschließlich auf der in den jeweiligen Proben gemessenen Radioaktivität. Diese Konzentrationen sind daher generell in dpm/g bzw. dpm/mL angegeben. Während der Tests eventuell entstehende Metabolite der Prüfsubstanzen sind dabei nicht berücksichtigt. Um nun einerseits die Stabilität der eingesetzten Tracer zu überprüfen und andererseits Bioakkumulationsfaktoren für die Ausgangs- oder Ursubstanz angeben zu können, war eine analytische Unterscheidung zur Ermittlung der relativen Anteile von Ursubstanz und Metaboliten an der Gesamtradioaktivität nötig. Diese Untersuchungen wurden anhand von Fisch-, Wurm-, Sediment- und Wasserproben, die bei Ende des jeweiligen Versuchs entnommen wurden, durchgeführt.

2.8.1 Extraktion

Wasserproben

Wasserproben wurden unter Verwendung von C18-Säulen (Sep-Pak Vac 6cc und 3cc, C18; Waters, Milford, MA, U.S.A.) mehrfach extrahiert und mit n-Hexan (Hexachlorbenzol) bzw. Methanol (Terbutryn) eluiert. Die Extrakte wurden vereinigt und im Stickstoffstrom bis zur Trockne eingengt. Anschließend wurde der Rückstand mit dem für die HPLC-Analytik vorgesehenen Laufmittel wieder aufgenommen und 10 min lang im Ultraschallbad behandelt. Nach Filtration (0,2 μm -Zellulose- bzw. Teflonfilter) und Zugabe von unmarkiertem Standard standen die aufgereinigten Extrakte für die HPLC-Analytik zur Verfügung. Nach jedem Behandlungsschritt wurde anhand entsprechender Aliquots die Radioaktivität bestimmt.

Sedimentproben

Sedimentproben wurden nach Auftauen und Bestimmung der Radioaktivität in 50 mL-Erlenmeyerkolben eingewogen (ca. 5-8 g FG), mit 10 mL des jeweiligen Extraktionsmittels überschichtet und im Ultraschallbad 10 min behandelt. Nach einstündigem Rühren und Sedimentation der Schwebstoffe über Nacht wurde der klare Überstand abpipettiert, volumetrisch quantifiziert und filtriert. Diese Schritte wurden je fünfmal wiederholt. Die Extrakte wurden vereinigt, im Stickstoffstrom bis zur Trockne eingengt und anschließend mit 1,6 mL des entsprechenden Laufmittels wieder aufgenommen. Nach Zugabe von unmarkiertem Standard war die Vorbereitung zur HPLC-Analytik abgeschlossen. Nach jedem Behandlungsschritt wurde anhand entsprechender Aliquots die Radioaktivität bestimmt.

Wurm- und Fischproben

Die zu extrahierenden Wurm- und Fischproben wurden nach Überschichtung mit dem jeweiligen Extraktionsmittel mit Hilfe eines UltraTurrax (Janke & Kunkel, Staufen) homogenisiert. Dieses Homogenat wurde 10 min bei 4.000 U/min (entsprechend 3.300 g) zentrifugiert (Laborzentrifuge Varifuge RF, Heraeus, Hanau). Der klare Überstand wurde abpipettiert, volumetrisch quantifiziert und filtriert. Diese Schritte wurden je dreimal (Fischproben) bzw. viermal (Wurmproben) wiederholt, wobei die abzentrifugierten Proben vom zweiten Extraktionsschritt an mittels Ultraschall und Reagenzglaschüttler mit dem Extraktionsmittel gemischt wurden. Die weitere Vorgehensweise entsprach der Behandlung der Sedimentextrakte. Nach jedem Behandlungsschritt wurde anhand entsprechender Aliquots die Radioaktivität bestimmt (Tab. 8).

Nichtextrahierbare Rückstände

Die nichtextrahierbaren Rückstände (*bound residues*) in Fisch-, Wurm- und Sedimentproben wurden quantifiziert, indem die entsprechenden Proben nach erfolgter Extraktion zunächst getrocknet und gewogen wurden. Nach vollständiger Verbrennung (Sample Oxidizer TriCarb 307, Packard, Dreieich) wurde die verbliebene Radioaktivität in Form von $^{14}\text{CO}_2$ aufgefangen und im LSC gemessen.

Tab. 8: Extraktion von ¹⁴C-HCB und ¹⁴C-Terbutryn aus Wasser-, Sediment-, Wurm- und Fischproben; Übersicht über die Einzelschritte.

Probe	Arbeitsschritte			Wiederholungen
		¹⁴ C-HCB	¹⁴ C-Terbutryn	
Wasser	1 Festphasenextraktion (C18-Cartridge, konditioniert mit MeOH)	n-Hexan	Methanol, anschließend mit A. deion.	je 2 x
	2 Extraktion der Probe	18 mL/min	18 mL/min	
	3 Elution des Rückstands	3 x 5 mL n-Hexan	2 x 5 mL Methanol	
	4 Einengung der vereinigten Eluate			
	5 Aufnahme mit Laufmittel	1,6 mL n-Hexan	1,6 mL Methanol:H ₂ O (70:30)	
	6 Zugabe von unmarkiertem Standard	0,5 mg/mL	0,1 mg/mL	
Sediment	1 Überschichten der Probe mit Extraktionsmittel,	n-Hexan; Methanol	Methanol:H ₂ O (4:1)	je 5 x
	2 Ultraschall	10 min	10 min	
	3 Rühren	60 min	60 min	
	4 Absetzen lassen	über Nacht	über Nacht	
	5 Entnahme des Überstandes			
	6 Filtration	0,2 µm (Teflon)	0,2 µm (Zellulose)	
	7 Einengung der vereinigten Extrakte			
	8 Wiederaufnahme mit Laufmittel	1,6 mL n-Hexan	1,6 mL Methanol:H ₂ O (70:30)	
	9 Ultraschallbehandlung	10 min	10 min	
	10 Filtration	0,2 µm (Teflon)	0,2 µm (Zellulose)	
	11 Zugabe von unmarkiertem Standard	0,5 mg/mL	0,1 mg/mL	
Wurm, Fisch	1 Homogenisierung mit 10 mL Extraktionsmittel	n-Hexan; Methanol	Methanol:Wasser (4:1)	Fisch: 3x Wurm: 4x
	2 Zentrifugation (Varifuge RF; Heraeus, Hanau)	10 min, 4000 U/min	10 min, 4000 U/min	
	3 Überstand abziehen			
	4 Filtration	0,2 µm (Teflon)	0,2 µm (Zellulose)	
	6 Einengung der vereinigten Extrakte			
	7 Wiederaufnahme mit 1,6 mL Laufmittel	n-Hexan	Methanol:H ₂ O (70:30)	
	8 Ultraschallbehandlung	10 min	10 min	
	9 Zugabe von unmarkiertem Standard	0,5 mg/mL	0,1 mg/mL	

2.8.2 Analytik der Extrakte

Hierfür standen eine HPLC-Anlage (L 4000 UV-Detektor, L 6200 A Intelligent Pump, AS 2000 A Autosampler, D 2500 Chromato-Integrator; Merck Hitachi, Merck Analyti-

sche HPLC-Systeme, Darmstadt) sowie ein Entgasungsgerät (Degasser ERC-3612; ERC, Alteglofsheim) zur Verfügung.

Die Untersuchung ^{14}C -HCB-haltiger Probenextrakte erfolgte mit einer "normal phase"-Trennsäule (ET 250/4 Nucleosil 100-7; Macherey & Nagel, Düren). ^{14}C -Terbutryn wurde über eine "reverse phase" Säule (ET 250/4 Nucleosil 100-7 C-18; Macherey & Nagel, Düren) aufgetrennt. Die Eluate wurden mit Hilfe eines Fraktionssammlers (RediFrac, Pharmacia, Freiburg) in 1 min-Fractionen aufgefangen, in 5 mL Szintillationsvials mit Szintillator versetzt und im LSC gemessen. Die Trennmethode für ^{14}C -Terbutryn wurden von Sabine Richter, TU Dresden, (Richter 1999, pers. Mitteilung) freundlicherweise zur Verfügung gestellt. Eine Übersicht über die Kenndaten der Trennmethode gibt Tab. 9.

Tab. 9: Trennbedingungen der radiochemischen Reinheitsprüfung und der Analytik der Extrakte von ^{14}C -HCB und ^{14}C -Terbutryn mittels HPLC.

Substanz	Laufmittel	Durchflußrate	Wellenlänge	Retentionszeit
^{14}C -HCB	n-Hexan (RotiSolv HPLC, Roth) mit 0,05 % Acetonitril (LiChrosolv, Merck); Ethanol LiChrosolv (Merck)	1 mL/min	254 nm	3 min
^{14}C -Terbutryn	Methanol/Wasser (70:30)	0,7 mL/min	230 nm	15 min

2.9 Lipidbestimmung

Der Lipidgehalt von Wurm- und Fischproben der Kontrollansätzen wurde am Ende der Expositionsphase mit Hilfe der *Smedes*-Methode gravimetrisch bestimmt (De Boer et al. 1999). Hierzu wurden die feuchten Teilproben (Feuchtgewicht je 0,5 - 5 g) mit je 20 mL Cyclohexan und 16 mL 2-Propanol versetzt und mittels eines UltraTurrax (10000 \pm 1000 U/min) homogenisiert. Nach Zugabe eines geeigneten Volumens demineralisiertem Wassers (siehe De Boer et al. 1999) und nochmaliger Homogenisation wurden die Proben zentrifugiert (4-6 min bei 825 \pm 20 x g U/min) und nach Phasentrennung die Cyclohexanphase abgezogen. Anschließend wurde das Gewebehomogenat mit 20 mL Cyclohexan/2-Propanol 87:13 (v/v) versetzt, erneut homogenisiert, zentrifugiert und die Cyclohexanphase abgezogen. Die vereinigten cyclohexanischen Extrakte wurden im N_2 -Strom bis zur Trockne eingengt und die verbleibenden Lipidrückstände mindestens 1 h bei 105 \pm 5°C getrocknet. Nach Wägung des getrockneten Extrakts konnte der Lipidgehalt (F_{Lipid}) nach Gleichung [1] bestimmt werden:

$$F_{\text{Lipid (FG)}} [\%] = \frac{\text{Lipidgewicht [g]} \times 100}{\text{Feuchtwicht der Probe [g]}}$$

Gleichung [1]

2.10 DOC/TOC-Bestimmung

Die Quantifizierung des TOC (*Total Organic Carbon*) im freien Wasserkörper erfolgte mittels eines TOC-Analysengerätes (TOCOR 2). Hierzu wurden die wässrigen Proben (20 – 60 mL) mit 2 Tropfen konz. HCl angesäuert und bei einer Temperatur von 840-870°C im TOCOR 2 verbrannt, wobei der in der Probe enthaltene Kohlenstoff quantitativ in CO₂ überführt und über ein Infrarot-Messprinzip quantifiziert wurde. Die Bestimmung des DOC (*Dissolved Organic Carbon*) erfolgte analog zur TOC-Analyse, allerdings wurden die Proben zuvor mit Hilfe eines Membranfilters (0.2 µm) gefiltert. Der mit Schwebstoffen und Partikeln assoziierte organische Kohlenstoff (POC) konnte dann nach Gleichung [2] berechnet werden:

$$\text{POC} = \text{TOC} - \text{DOC}$$

Gleichung [2]

2.11 Bestimmung des organischen Gehaltes des Sedimentes

Der Gehalt an organischer Substanz im Sediment wurde über den Glühverlust nach DIN 38414, Teil 3 bestimmt (DIN 1985b). Dazu wurden Proben künstlichen Sediments bis zur Gewichtskonstanz bei 105°C getrocknet (DIN 1985a) und anschließend in ausgeglühte Porzellantiegel (20 min, 550°C) eingewogen. Um Karbonat gebundenen Kohlenstoff zu entfernen wurden die Proben mit HCl (4 mol/L) versetzt und nach 2 – 4 h übernacht bei 60°C getrocknet. Anschließend wurden die Proben bei 550°C im Muffelofen für 1 – 2 h verascht und nach dem Abkühlen im Exsikkator (über Trockenmittel) gewogen. Danach wurden die Proben bis zur Gewichtskonstanz für jeweils weitere 30 min im vorgeheizten Ofen ausgeglüht. Der Anteil an organischem Kohlenstoff im Sediment (F_{OC}) konnte mittels Division des Gehalts an organischer Substanz durch 1,72 berechnet werden.

2.12 Mathematische Auswertung der Messdaten

2.12.1 Bestimmung der Anreicherungsfaktoren

Die radioaktive Konzentration in den Wurm- bzw. Fischproben jedes Replikates (dpm/g FG) wurde zunächst gegen die Zeit aufgetragen, um anhand des Konzentrationsverlaufs zu überprüfen, ob ein *steady state* erreicht wurde. Die ^{14}C -Aktivität in jeder Tierprobe (dpm/g FG) wurde durch die Konzentration im entsprechenden Bezugskompartiment (Wasser, Wurm und/oder Sediment) dividiert. So erhielt man die Anreicherungsfaktoren (AF) für die Einzelproben jedes Messzeitpunktes. Wurde ein *steady state* erreicht, so wurden mit Hilfe eines Computerprogramms (SPSS 7.5 für Windows, SPSS Inc.) durch nichtlineare Regressionsanalyse die Aufnahmekurven an die Mittelwerte der Anreicherungsfaktoren angepasst. Gleichung [3] beschreibt den zeitlichen Verlauf der Aufnahme als Ein-Kompartiment-Modell am Beispiel der Chemikalienanreicherung in einem Organismus aus dem Sediment:

$$\frac{dC_{\text{org}}}{dt} = k_s \cdot C_{\text{sed}} - k_e \cdot C_{\text{org}}$$

oder

$$C_{\text{org}} = \frac{k_s}{k_e} \cdot C_{\text{sed}} (1 - e^{-k_e t})$$

Gleichung [3]

wobei: C_{org} = Konzentration der Substanz in den Tieren [g Substanz pro g Tier];
 C_{sed} = Konzentration der Substanz im Sediment [g Substanz pro g Sediment];
 k_s = Sediment-Aufnahmekonstante [$\text{L kg}^{-1} \text{d}^{-1}$];
 k_e = Eliminationskonstante der Aufnahme [d^{-1}];
 t = Zeit [d].

Wird ein *steady state*, d.h. ein Gleichgewicht zwischen Aufnahme- und gleichzeitig auftretenden Eliminationsprozessen, erreicht, dann ist die Netto-Anreicherung der Testsubstanz gleich 0 und die Konzentration im Organismus (C_{org}) bleibt konstant. Auch wenn dieser Idealfall theoretisch erst bei $t = \infty$ eintritt, kann Gleichung [3] umgeformt werden zu:

$$C_{\text{org}} = \frac{k_s}{k_e} \cdot C_{\text{sed}}$$

oder

$$\frac{C_{\text{org}}}{C_{\text{sed}}} = \frac{k_s}{k_e} = \text{BAF}$$

Gleichung [4]

Mit Hilfe von $k_s/k_e \cdot C_{\text{sed}}$ kann dann die Konzentration in den Tieren im *steady state* berechnet werden.

Nach OECD Richtlinie 305 (OECD 1996) gilt der *steady state* dann als erreicht, wenn der Konzentrationsverlauf in den Testorganismen in der graphischen Darstellung parallel zur Zeitachse erfolgt bzw. die Abweichung dreier aufeinanderfolgender Messungen nicht mehr als $\pm 20\%$ beträgt. In Fällen, bei denen kein *steady state* eintrat, konnte in der Regel keine Anreicherungskurve nach Gleichung [3] berechnet werden.

Die Normierung der in den Proben gemessenen Radioaktivität auf ihren Gehalt an Ursubstanz sowie der daraus berechneten Anreicherungsfaktoren erfolgte nach entsprechender analytischer Aufarbeitung. Hierzu wurde dann der Metabolitanteil von der Gesamtaktivität abgezogen und nur die Konzentration an Ausgangssubstanz zur Bestimmung der Anreicherungsfaktoren verwendet.

Zur Normierung der Anreicherungsfaktoren auf das Trockengewicht, den Lipidgehalt der Organismen (F_{Lipid}) und den Gehalt an organischen Kohlenstoff im Sediment (F_{OC}) wurden die um den Metabolitanteil korrigierten Konzentrationen um die entsprechenden Faktoren korrigiert und zur Bestimmung der normierten Anreicherungsfaktoren herangezogen.

2.12.2 Bestimmung der Fugazität

Ein Ansatz zur Abschätzung und Erklärung von Bioakkumulations- und Biomagnifikationsprozessen ist die Fugazitätsmethode (*fugacity approach*) (z.B. Mackay 1991, Gobas et al. 1993a, Campfens & Mackay 1997, Gobas et al. 1999). Entsprechend diesem Ansatz kann das Wissen über die Lage des thermodynamischen Gleichgewichtszustandes zwischen Chemikalienkonzentration im Prädator und der Beute helfen, experimentell gewonnene Biomagnifikationsdaten zu interpretieren.

Die Fugazität (f) ist eine thermodynamische Größe, die als "*escaping tendency*" einer Chemikalie aus ihrem Medium interpretiert werden kann. Sie wird als Partialdruck, den die Chemikalie ausübt, gemessen (Einheit: [Pa]). Gleiche Fugazitäten einer Substanz in verschiedenen Medien repräsentieren ein chemisches Gleichgewicht. Die Fugazität ist mit der Chemikalienkonzentration (C) über die Fugazitäts-Kapazität (Z) verknüpft:

$$C = f \cdot Z$$

Gleichung [5]

Die Fugazitäts-Kapazität ist ein Maß für die Fähigkeit eines Mediums, die Chemikalie aufzunehmen, und ist damit mit der Löslichkeit der Substanz in diesem Medium verknüpft.

Ein Fugazitätsverhältnis von 1 spiegelt ein Gleichgewicht zwischen zwei Medien wie z.B. Fischen und Tubificiden wieder ($f_{\text{Fisch}}/f_{\text{Wurm}} = 1$), während ein Verhältnis größer 1 bedeutet, dass die Konzentration der Chemikalie im Fisch die Gleichgewichtskonzentration mit dem korrespondierenden Medium überschreitet ($f_{\text{Fisch}}/f_{\text{Wurm}} > 1$). Ein Verhältnis kleiner 1 dagegen drückt aus, dass die Konzentration der Chemikalie im Fisch nicht ihre Gleichgewichtskonzentration erreicht hat ($f_{\text{Fisch}}/f_{\text{Wurm}} < 1$).

Die Fugazitäten für Wasser, Sediment, Tubificiden und Fischen wurden nach Mackay (1991) und Campfens & Mackay (1997) berechnet. Hierzu wurden folgende Fugazitäts-Kapazitäten angenommen:

$$\begin{aligned} Z_{\text{Wasser}} &= 1/H \\ Z_{\text{Sediment}} &= (K_{\text{OC}} \cdot F_{\text{OC}} \cdot p_{\text{Sediment}})/H \\ Z_{\text{Organismus}} &= (K_{\text{OW}} \cdot F_{\text{Lipid}})/H \end{aligned}$$

Gleichung [6]

mit: H = Henry-Konstante in Pa m³/mol
 F_{OC} = Gehalt organischer Kohlenstoff
 F_{Lipid} = Lipidgehalt
 p_{Sediment} = Dichte der Sedimentpartikel in kg/L





Für die vorliegende Arbeit wurde die Fugazität im Sediment mit einer Dichte der Sedimentpartikel von 1,5 kg/L und unter der Annahme $K_{\text{OC}} = 0,41K_{\text{OW}}$ (Karickhoff 1981) berechnet.

2.13 Übersicht über die experimentellen Expositionsszenarien




Zur Abschätzung der Anteile der verschiedenen Aufnahmepfade an der Gesamtbioakkumulation im Fisch von ¹⁴C-HCB und ¹⁴C-Terbutryn wurden verschiedene Expositionsszenarien untersucht. Für beide Prüfsubstanzen wurde, parallel zu den hier tabellarisch dargestellten Versuchen, die Bioakkumulation im zweiten Nahrungsketten-

glied, den Tubificiden, durch Exposition gegenüber dotiertem Sediment untersucht (Tab. 10, Tab. 11).

Tab. 10: Übersicht der Expositionsszenarien zur Anreicherung von ^{14}C -Hexachlorbenzol in *G. aculeatus*.

Expositionsszenario:				
	Biokonzentration	Biokonzentration	Biomagnifikation	Bioakkumulation
				
Test-organismus	<i>G. aculeatus</i>	<i>G. aculeatus</i>	<i>G. aculeatus</i>	<i>G. aculeatus</i>
Dotiertes Kompartiment	Wasser	Sediment	Tubificiden	Tubificiden Sediment
Aufnahmepfade	Wasser	Sediment Wasser (incl. Schwebstoffe)	Nahrung	Nahrung Sediment Wasser (incl. Schwebstoffe)
Dauer	28 Tage	63 Tage	60 Tage	63 Tage

Tab. 11: Übersicht der Expositionsszenarien zur Anreicherung von ^{14}C -Terbutryn in *G. aculeatus*.

Expositionsszenario:			
	Biokonzentration	Biokonzentration	Bioakkumulation
			
Test-organismus	<i>G. aculeatus</i>	<i>G. aculeatus</i>	<i>G. aculeatus</i>
Dotiertes Kompartiment	Wasser	Sediment	Tubificiden Sediment
Aufnahmepfade	Wasser	Sediment Wasser (incl. Schwebstoffe)	Nahrung Sediment Wasser (incl. Schwebstoffe)
Dauer	11 Tage	28 Tage	28 Tage

2.14 Nahrungsketten-Bioakkumulationsmodelle

2.14.1 Campfens/Mackay-Modell

Das von Campfens & Mackay (1997) publizierte Modell wurde zur Vorhersage der Anreicherung von PCBs in Organismen des Lake Ontario entwickelt und stellt eine Erweiterung des Modells von Clark und Mitarbeitern dar (Clark et al. 1990). Es beschreibt die Bioakkumulation von hydrophoben, organischen Chemikalien in aquatischen Nahrungsnetzen bestehend aus n Organismen (frei definierbar) basierend auf dem Fugazitätsansatz (Mackay 1991). Die Akkumulation kann sowohl durch die Aufnahme der Chemikalie über die Nahrung als auch über Diffusion direkt aus dem Wasserkörper oder dem Porenwasser des Sedimentes erfolgen. Im *steady state* ergibt sich für Fische:

$$f_W D_W + f_A D_A = f_F (D_W + D_E + D_M + D_G)$$

Gleichung [7]

mit:

- f = Fugazität für Wasser (W); Futter (A); F (Fisch)
- D_W = Austausch mit Wasser (*gill ventilation*)
- D_A = Aufnahme aus Futter
- D_E = Elimination durch Ausscheidung
- D_M = Elimination durch Metabolismus
- D_G = *growth dilution*

Hierbei beruht die Fugazität im Wasser (f_W) auf dem im Wasser gelösten Anteil der Chemikalie. Die Korrektur der Gesamtkonzentration auf den bioverfügbaren Anteil erfolgt über den Gehalt an organischen Kohlenstoff der Schwebstoffe unter der Annahme $K_{OC} = 0,41K_{OW}$ (Mackay 1991, vgl. hierzu Karickhoff 1981).

Für benthische Organismen wird in Gleichung [7] f_W ersetzt durch die Fugazität im Sediment, wobei hier die Gesamtkonzentration im Sediment auf den im Porenwasser gelösten Anteil der Substanz bezogen wird. Die Korrektur der Gesamtkonzentration erfolgt über den Gehalt an organischem Kohlenstoff im Sediment ebenfalls unter der Annahme $K_{OC} = 0,41K_{OW}$. Das Modell sieht allerdings nicht die Ingestion von Sediment vor. Für Sedimentingestierer (wie z.B. benthische Oligochaeten) wird ein Gleichgewicht mit dem Porenwasser angenommen, und Gleichung [7] vereinfacht sich um den Futteraufnahme-Term (D_A) und den Ausscheidungs-Term (D_E). Für Organismen, die zwischen Sediment und Wasserkörper wandern (z.B. Mysiden), setzt sich die Biokonzentration aus der Chemikalienaufnahme aus dem Porenwasser und dem Wasserkörper zusammen, wobei beide Expositionspfade entsprechend der Verweildauer des Organis-

mus im jeweiligen Medium gewichtet werden. Alle weiteren Details sind ausführlich beschrieben in Campfens & Mackay (1997).

Die Modellgrundlagen erscheinen ausreichend plausibel, vor allem vor dem Hintergrund, dass der Fugazitätsansatz in zahlreichen Veröffentlichungen zur Erklärung von Biomagnifikationsprozessen herangezogen wird (z.B. Gobas et al. 1993a, Gobas et al. 1993b, Russell et al. 1995, Gobas et al. 1999, vgl. Kap. 4.2.3). Das Modell wurde von den Autoren (siehe Campfens & Mackay 1997) mit Monitoring-Daten zum Verhalten von PCBs im Lake Ontario (Flint 1986, Oliver & Niimi 1988) evaluiert. Eine Softwareversion ist als BASIC-Programm einschließlich des Quellcodes via Internet verfügbar (www.trentu.ca). Der Einfachheit halber wird das Modell im folgenden nur noch Campfens/Mackay-Modell genannt.

2.14.2 Gobas-Modell

Ebenso wie das Campfens/Mackay-Modell wurde das von Gobas (1993) veröffentlichte *steady-state*-Modell zur Vorhersage der Anreicherung von PCBs in den Nahrungsnetzen des Lake Ontario entwickelt. Die Bioakkumulation im Fisch kann durch die Aufnahme der Chemikalie sowohl über die Nahrung als auch über Diffusion aus dem Wasserkörper erfolgen. Im Gegensatz zum Fugazitätsansatz des Campfens/Mackay-Modelles wird hier die Konzentration im Fisch als Funktion der Konzentrationen im Wasser und im Futter und den entsprechenden Aufnahme- und Eliminationskonstanten dargestellt. Im *steady state* gilt:

$$C_F = (k_1 C_{WD} + k_D C_D) / (k_2 + k_E + k_M + k_G)$$

Gleichung [8]

mit:	C	=	Konzentration in Fisch (F); in Wasser (WD); Futter (D)
	k_1	=	Aufnahmekonstante: Wasser/Kiemen [$L \text{ kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$]
	k_2	=	Eliminationskonstante: Wasser/Kiemen [d^{-1}]
	k_D	=	Aufnahmekonstante: Futter [$\text{kg}_{\text{Futter}} \text{ kg}_{\text{Fisch}}^{-1} \text{ d}^{-1}$]
	k_E	=	Eliminationskonstante: Faeces-Ausscheidung [d^{-1}]
	k_M	=	Eliminationskonstante: Metabolismus [d^{-1}]
	k_G	=	Eliminationskonstante: <i>growth dilution</i> [d^{-1}]

Dabei beruht die Konzentration im Wasser (C_{WD}) auf dem im Wasser gelöstem Anteil der Chemikalie. Die Korrektur der Gesamtkonzentration auf den bioverfügbaren Anteil erfolgt über den Gehalt an organischem Kohlenstoff der Schwebstoffe unter der Annahme $K_{OC} = K_{OW}$.

Die Vorhersage der Anreicherung in benthischen Invertebraten erfolgt über das *equilibrium partitioning*-Konzept, das von einem thermodynamischen Verteilungsgleichgewicht einer Chemikalie zwischen dem organischen Kohlenstoff des Sedimentes, dem Porenwasser und den Lipiden der Organismen ausgeht (für eine detaillierte Übersicht zum *equilibrium partitioning*-Konzept siehe Di Toro et al. 1991).

In dem Modell wird obligatorisch die Biokonzentration in pelagischem Phyto- und Zooplankton bestimmt. Wie für benthische Invertebraten wird von einem *equilibrium partitioning* Ansatz ausgegangen, wobei der lipidnormalisierte BCF gleich dem K_{OW} ist. Die Chemikalienkonzentration des Phytoplanktons wird bei Modellierung der Zooplanktons ignoriert. Beide Organismengruppen können bei der Modellapplikation vom Anwender aus dem Nahrungsnetz ausgeschlossen werden. Alle weiteren Details sind ausführlich beschrieben in Gobas (1993).

Das Modell wurde vom Autor (siehe Gobas 1993) mit Monitoring-Daten zum Verhalten von PCBs im Lake Ontario (Flint 1986, Oliver & Niimi 1988) evaluiert. Zudem wurde es intensiven Untersuchungen unterzogen (Burkhard 1998) und von der U.S.EPA zur Abschätzung von Bioakkumulationsfaktoren eingesetzt (U.S.EPA 1995). Eine Softwareversion ist als Windows-Programm in der Version 1.0 via Internet verfügbar (www.rem.sfu.ca). Der Einfachheit halber wird das Modell im folgenden nur noch Gobas-Modell genannt.

2.14.3 Gobas-Modell mit integriertem Morrison-Submodul

Das Gobas-Modell in der aktuellen Programmversion 1.1 steht ebenfalls im Internet zum Download zur Verfügung (www.rem.sfu.ca). Es integriert ein weiterentwickeltes Submodul zur Bioakkumulation in benthischen Invertebraten (Morrison et al. 1996). Das Morrison-Submodul geht im Gegensatz zum *equilibrium partitioning*-Konzept nicht von einem thermodynamischen Gleichgewicht zwischen Sediment, Porenwasser und Organismus aus. Es postuliert die Chemikalienaufnahme aus dem freien Wasserkörper, da die respiratorische Oberfläche der benthischen Invertebraten im intensiven Kontakt mit dem Wasserkörper steht. Weiterhin geht das Modell von einem *steady state* der Chemikalienkonzentrationen zwischen Wasserkörper, Sediment, Schwebstoffen und Porenwasser aus, die sich in einem chemischen Ungleichgewicht befinden können.

Die Aufnahme der Chemikalie kann im Modell über die respiratorische Oberfläche aus dem Wasserkörper und über die Nahrung erfolgen, wobei für die Nahrungsaufnahme zwischen zwei Strategien unterschieden wird: Detrivore und Filtrierer. Im Aufnahme/Eliminations-Gleichgewicht ist die Summe dieser Aufnahmeprozesse gleich der Summe der Eliminationsprozesse über die respiratorische Oberfläche, die Faeces und den Metabolismus.

Die Korrektur der Chemikalienkonzentration auf den bioverfügbaren Anteil erfolgt über den Gehalt an organischen Kohlenstoff der Schwebstoffe unter der Annahme $K_{OC} = 0,41K_{OW}$ (vgl. Kap. 2.14.2 und Karickhoff 1981). Alle weiteren Details sind ausführlich beschrieben in Morrison et al. (1996).

Die in das Morrison-Submodul eingehenden Parameter zur Definition der benthischen Organismen wie Biomasse, Futterrate, Nahrungszusammensetzung und Absorptionseffizienz (*gut absorption efficiency*) sind allerdings in der Programmversion 1.1 des Gobas-Modell nicht offen zugänglich. Der einzig definierbare Parameter ist der Lipidgehalt der benthischen Invertebraten. Das Modell erlaubt im Gegensatz zur Vorgängerversion den Ausschluss des Zooplankton aus den Berechnungen.

Das Morrison-Submodul für benthische Organismen wurde von den Autoren mit Monitoring-Daten zum Verhalten von PCBs im Lake Erie und Lake Ontario evaluiert (Morrison et al. 1996, Morrison et al. 1997, Morrison et al. 1998, Morrison et al. 1999). Der Einfachheit halber wird das Modell im folgenden nur noch Gobas/Morrison-Modell genannt.

2.14.4 Applikation der Modelle auf die Labornahrungskette

Die Modelle wurden auf die Daten zur Bioakkumulation von HCB (Gobas-Modell, Gobas/Morrison-Modell, Campfens/Mackay-Modell) und Terbutryn (Gobas/Morrison-Modell, Campfens/Mackay-Modell) in der Labornahrungskette angewendet, wobei die Stichlinge sich in allen Modellapplikationen zu 100% von Tubificiden ernähren, während Phyto- und Zooplankton aus der Nahrungskette ausgeschlossen wurden (Tab. 12, Tab. 13). Im Folgenden werden kurz die Verfahren zur Abschätzung einzelner Parameter erläutert.

Die Konzentration an Schwebstoffen im Wasserkörper und deren Gehalt an organischem Kohlenstoff wurde über den mittels TOC/DOC-Bestimmung ermittelten POC-Gehalt des Wassers von 30 µg/L abgeschätzt ($POC = \text{Konz.}_{(\text{Schwebstoffe})} * OC_{(\text{Schwebstoffe})}$; vgl. Tab. 16).

Im Campfens/Mackay-Modell wurde die Dichte der Organismen gleich 1 gesetzt (vgl. Campfens & Mackay 1997).

Im Fall von HCB ist die Transformation in Metabolite im Organismus zu vernachlässigen (vgl. Kap. 3.1.5), deshalb wurden für die Halbwertszeit 500000 Tage (Campfens/Mackay-Modell) und eine Transformationsrate von 0 (Gobas-Modell) angenommen. Für Terbutryn wurden Halbwertszeit ($t_{1/2}$) und Transformationsrate (k_M) über eine Kinetik erster Ordnung auf Basis des gemessenen Verhältnisses Urs-substanz/Metabolite abgeschätzt (Lyman et al. 1990).

$$-dC/dt = k_M \cdot C$$

$$\text{mit: } t_{1/2} = 0,693/k_M$$

Gleichung [9]

Der *digestion factor* (Q_D) oder maximale Biomagnifikationsfaktor, der das Verhältnis zwischen ingestiertem Futter und ausgeschiedenen Faeces beschreibt, wurde für alle Applikationen des Campfens/Mackay-Modell auf 3 gesetzt (Gobas et al. 1993b, Campfens & Mackay 1997). Weder im Gobas-Modell noch im Morrison-Submodul ist der maximale Biomagnifikationsfaktor frei wählbar. Für Fische gilt im Gobas-Modell $Q_D = 4$ (umgerechnet nach Gobas 1993) und für benthische Invertebraten im Morrison-Submodul $Q_D = 1,05$ (umgerechnet nach Morrison et al. 1996).

Die Absorptionseffizienz beschreibt das Ausmaß, in welchem die Chemikalie im Darm vom Organismus absorbiert wird. Für alle Applikationen des Campfens/Mackay-Modell wurde E nach Gleichung [10] mit dem K_{OW} korreliert (Gobas 1993):

$$1/E = E_{(\text{Wasser})} \cdot K_{OW} + E_{(\text{organisch})}$$

Gleichung [10]

Um eine Absorptionseffizienz für HCB von 60% zu erhalten (vgl. Kap. 3.1.3), wurden die Parameter $E_{(\text{Wasser})} = 5 \cdot 10^{-8}$ und $E_{(\text{organisch})} = 1,639$ gesetzt. Da für Terbutryn keine vergleichbaren Untersuchungen durchgeführt wurden und auch in der Literatur keine Angaben zu finden sind, wurden diese Werte für $E_{(\text{Wasser})}$ und $E_{(\text{organisch})}$ *a priori* beibehalten. Dies entspricht einer Absorptionseffizienz von 61%. E wird im Gobas-Modell ebenfalls nach Gleichung [10] berechnet, wobei $E_{(\text{organisch})} = 2,3$ ist (Gobas 1993). Morrison et al. (1996) geben E für PCBs in benthische Invertebraten mit 72% an. Ob eine Korrelation von E mit dem K_{OW} im Morrison-Submodul implementiert ist, kann der Originalarbeit nicht entnommen werden.

Tubificiden strecken zur Respiration den hinteren Teil ihres Körpers meist aus dem Sediment in das freie Wasser. Im Gegensatz zu Campfens & Mackay (1997), die für benthische Oligochaeten eine ausschließliche Exposition gegenüber dem Porenwasser vorsehen, wurden hier im Campfens/Mackay-Modell die Expositionspfade aufgeteilt: 80% gegenüber dem Porenwasser und 20% gegenüber dem Wasserkörper.

Alle nicht erwähnten Parameter sind den Originalarbeiten zu entnehmen und wurden nicht verändert.

Tab. 12: Zusammenfassung der Modellparameter zur Applikation des Gobas-Modell, Gobas/Morrison-Modell und Campfens/Mackay-Modell auf Daten zur Bioakkumulation von Hexachlorbenzol in der Labor-nahrungskette.

	Gobas-Modell ^{(a) (b)}	Campfens/Mackay-Modell
Substanzeigenschaften		
Molekülgewicht	284,78 ^(c)	284,78 ^(c)
Henry-Konstante [Pa m ³ mol ⁻¹]	10,32 ^(d)	10,32 ^(d)
log <i>K</i> _{OW}	5,72 ^(c)	5,72 ^(c)
System Eigenschaften		
Chemikalien-Konz. im Wasser [µg/L]	0,215 (0,021)	0,215
Chemikalien-Konz. im Sediment [µg/g] (TG)	0,347 (0,011)	0,347
Konzentration von Schwebstoffen [g/m ³]	10 ^(e)	10 ^(e)
Organischer C-Gehalt der Schwebstoffe [%]	0,3 ^(e)	0,3 ^(e)
Organischer C-Gehalt im Sediment [%] (TG)	1,7	1,7
Volumen-% Sedimentpartikel	-	26
pH-Wert im Wasserkörper	7,5 (0,5)	-
Temperatur im Wasserkörper [°C]	19 (2)	-
Nahrungskettenglieder		
Phytoplankton		
Lipidgehalt [%] (FG)	0,5 ^(f)	-
Zooplankton		
Lipidgehalt [%] (FG)	5,0 ^(f)	-
Nahrung	-	-
benthischer Detrivore: <i>Tubifex tubifex</i>		
Biomasse [mg] (FG)	-	10
Lipidgehalt [%] (FG)	2,72 (1,52)	2,72
Metabolismus: Rate [d ⁻¹]; Halbwertszeit [d]	-	500000 d
Wachstumsrate [%/d]	-	1,4 ^(g)
Anteil der Respiration aus dem Wasserkörper	-	0,2 ^(g)
Anteil der Respiration aus dem Sediment	-	0,8 ^(g)
Nahrung	-	-
Prädator: <i>Gasterosteus aculeatus</i>		
Biomasse [mg] (FG)	566 (80,4)	566
Lipidgehalt [%] (FG)	6,61 (4,56)	6,61
Metabolismus: Rate [d ⁻¹]; Halbwertszeit [d]	0 d ⁻¹	500000 d
<i>Digestion Factor</i> <i>Q</i> _D	-	3 ^(h)
Wachstumsrate [%/d]	-	0,37
Fütterungsrate in % Körpergewicht [%/d]	-	12,8
Anteil der Respiration aus dem Wasserkörper	-	1 ^(h)
Anteil der Respiration aus dem Sediment	-	0 ^(h)
Absorptionseffizienz Parameter (organisch)	-	1,639 ⁽ⁱ⁾
Absorptionseffizienz Parameter (Wasser)	-	5,3*10 ⁻⁸ ⁽ⁱ⁾
Absorptionseffizienz (<i>E</i>) [%]	-	60 ⁽ⁱ⁾
Nahrung	100% Tubifex	100% Tubifex

^(a) Parameter gelten auch für das Gobas/Morrison-Modell; ^(b) Standardabweichungen in Klammern; ^(c) Rippen 1991; ^(d) ARS/U.S.DA 1995; ^(e) Wert geschätzt, basierend auf eigenen Messungen; ^(f) Gobas 1993; ^(g) Wert geschätzt; ^(h) Campfens & Mackay 1997; ⁽ⁱ⁾ Wert geschätzt, basierend auf eigenen Messungen und Campfens & Mackay 1997.

Tab. 13: Zusammenfassung der Modellparameter zur Applikation des Gobas/Morrison-Modell und Campfens/Mackay-Modell auf Daten zur Bioakkumulation von Terbutryn in der Labornahrungskette.

	Gobas/Morrison-Modell ^(a)	Campfens/Mackay-Modell
Substanzeigenschaften		
Molekülgewicht	241,36	241,36
Henry-Konstante [Pa m ³ mol ⁻¹]	0,0031 ^(b)	0,0031 ^(b)
log <i>K</i> _{OW}	3,49 ^(c)	3,49 ^(c)
System Eigenschaften		
Chemikalien-Konz. im Wasser [ng/L]	366,5 (11,0) ⁽ⁱ⁾	366,5 ⁽ⁱ⁾
Chemikalien-Konz. im Sediment [ng/g] (TG)	24,7 (3,0) ⁽ⁱ⁾	24,7 ⁽ⁱ⁾
Konzentration von Schwebstoffen [g/m ³]	10 ^(d)	10 ^(d)
Organischer C-Gehalt der Schwebstoffe [%]	0,3 ^(d)	0,3 ^(d)
Organischer C-Gehalt im Sediment [%] (TG)	1,7	1,7
Volumen-% Sedimentpartikel	-	26
pH-Wert im Wasserkörper	7,5 (0,5)	-
Temperatur im Wasserkörper [°C]	19 (2)	-
Nahrungskettenglieder		
Phytoplankton		
Lipidgehalt [%] (FG)	0,5 ^(e)	-
benthischer Detrivore: <i>Tubifex tubifex</i>		
Biomasse [mg] (FG)	-	10
Lipidgehalt [%] (FG)	1,79 (0,30)	1,79
Metabolismus: Rate [d ⁻¹]; Halbwertszeit [d]	-	83 d ^(f)
Wachstumsrate [%/d]	-	1,4 ^(g)
Anteil der Respiration aus dem Wasserkörper	-	0,2 ^(g)
Anteil der Respiration aus dem Sediment	-	0,8 ^(g)
Nahrung	-	-
Prädator: <i>Gasterosteus aculeatus</i>		
Biomasse [mg] (FG)	505 (51,5)	505
Lipidgehalt [%] (FG)	5,11 (1,73)	5,11
Metabolismus: Rate [d ⁻¹]; Halbwertszeit [d]	0,693 d ⁻¹ ^(f)	1,0 d ^(f)
<i>Digestion Factor</i> <i>Q</i> _D	-	3 ^(h)
Wachstumsrate [%/d]	-	0,37
Fütterungsrate in % Körpergewicht [%/d]	-	12,8
Anteil der Respiration aus dem Wasserkörper	-	1 ^(h)
Anteil der Respiration aus dem Sediment	-	0 ^(h)
Absorptionseffizienz Parameter (organisch)	-	1,639 ⁽ⁱ⁾
Absorptionseffizienz Parameter (Wasser)	-	5,3*10 ⁻⁸ ⁽ⁱ⁾
Absorptionseffizienz (<i>E</i>) [%]	-	61 ⁽ⁱ⁾
Nahrung	100% Tubifex	100% Tubifex

^(a) Standardabweichungen in Klammern; ^(b) ARS/U.S.DA 1995; ^(c) U.S.HHS 1993; ^(d) Wert geschätzt, basierend auf eigenen Messungen; ^(e) Gobas 1993; ^(f) Wert geschätzt; ^(g) Abschätzung über Kinetik erster Ordnung auf Basis des gemessenen Verhältnisses Urschubstanz/Metabolite; ^(h) Campfens & Mackay 1997; ⁽ⁱ⁾ Wert geschätzt, basierend auf eigenen Messungen und Campfens & Mackay 1997; ^(j) Aufgrund des komplexen Konzentrationsverlauf im Bioakkumulationsszenario wurden zur Modellierung die Terbutryn-Konzentrationen zu Versuchsende (d 28) herangezogen (vgl. Kap. 3.2).

2.14.5 Sensitivitäts-Analyse

Zur Verifizierung der von den Modellen vorhergesagten Ergebnisse wurde am Beispiel von Hexachlorbenzol eine zweistufige Sensitivitäts-Analyse durchgeführt. Zudem erlaubt diese Analyse die Identifizierung derjenigen Parameter, welche die Bioakkumulation in der Modellnahrungskette am stärksten beeinflussen. Grundvoraussetzung für eine Sensitivitäts-Analyse ist allerdings, dass alle Modellparameter frei zugänglich sind und verändert werden können (Penning de Vries & Plentinger 1996). Da allerdings sowohl im Gobas-Modell als auch im Gobas/Morrison-Modell einige Parameter nicht zugänglich sind, wurde auf eine Sensitivitäts-Analyse dieser Modelle verzichtet (vgl. hierzu Kap 2.14.2, 2.14.3 und 2.14.4).

Zur Identifizierung völlig insensitiver Modellparameter wurde in einer ersten Stufe eine logische Sensitivitäts-Analyse (*factor screening*) angewendet (Penning de Vries & Plentinger 1996). Hierzu wurden einzelne Parameter jeweils um den Faktor $\times 2$ und $\times 0,5$ variiert, während alle anderen Faktoren konstant belassen wurden. Abweichungen von diesem Analyseschema ergaben sich aus biologischen oder physikochemischen Limitierungen der Parameter. Anhand der prozentualen Änderungen der vorhergesagten Gewebekonzentrationen (FG) in Tubificiden und Fischen wurden die am empfindlichsten reagierenden Faktoren ausgewählt und in einem zweiten Schritt einer *one-at-a-time* Sensitivitäts-Analyse unterzogen. Hierbei werden die Reaktionen der Modellvorhersagen auf Veränderungen einzelner ausgewählter Parameter (in kleinen Schritten über ein vorgegebenes Intervall untersucht, während alle übrigen Faktoren konstant belassen werden (Penning de Vries & Plentinger 1996).

3 Ergebnisse

3.1 Anreicherung von Hexachlorbenzol in der Labornahrungskette

3.1.1 Bioakkumulation bei Tubificiden

^{14}C -Hexachlorbenzol wurde in einer Konzentration von 9287 dpm/g (FG) (13560 dpm/g TG) Sediment über dotierten Quarzsand appliziert. Dies entsprach einer HCB-Konzentration von 238 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (FG) bzw. 348 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (TG) im Sediment. *Tubifex tubifex* wurde in diesem Sediment einerseits zur Bestimmung der Anreicherungskinetik und andererseits zur späteren Verfütterung an die Stichlinge exponiert. Im Bioakkumulationsszenario war nach weniger als 10 Tagen ein Aufnahme-Eliminationsgleichgewicht (*steady state*) erreicht. Obwohl die Konzentration im Wurmgewebe über die Versuchsdauer schwankte, lässt sich mittels nichtlinearer Regressionsanalyse ein BAF von 7,8 ermitteln (Abb. 9).

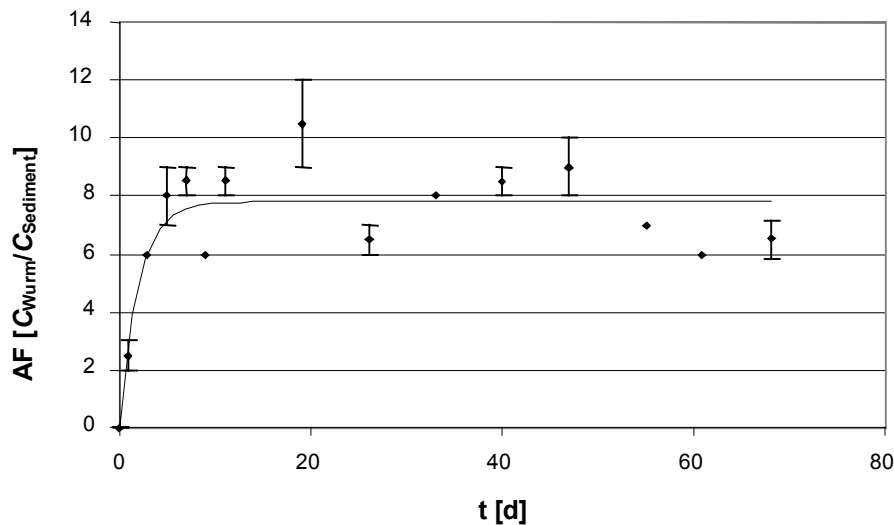


Abb. 9: Bioakkumulation von ^{14}C -HCB in *T. tubifex* in dotiertem Sediment. Anreicherungsfaktoren (AF [$C_{\text{Wurm}}/C_{\text{Sediment}}$]), Mittelwerte mit Standardfehler; n=4-6)

Die Anwesenheit von Fischen beeinflusst die Anreicherung von HCB in *T. tubifex* signifikant. Die Radioaktivität in den Würmern stieg deutlich an, nachdem Fische in die Ansätze mit vorexponierten Würmern eingesetzt wurden. Die Anreicherungsfaktoren in den Tubificiden gegenüber dem Sediment stieg von 7,8 auf etwa 14, während er in den Ansätzen ohne Fische nicht weiter anstieg (Abb. 10).

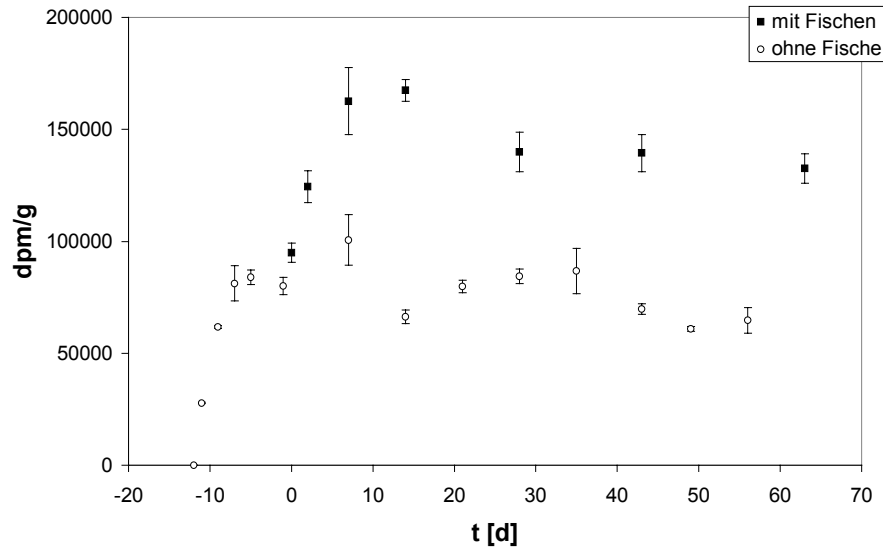


Abb. 10: Verlauf der ^{14}C -HCB-Konzentration [dpm/g] in *T. tubifex* vor und nach Einsetzen von Fischen an Tag 0 (Bioakkumulationsansatz) (Mittelwerte mit Standardfehler; n=2-4; an Tag 63: n=8).

Bei einer zweiten Exposition von Tubificiden in HCB-dotiertem Kunstsediment zur Verfütterung an separat gehaltene Stichlinge (Biomagnifikationsszenario) wurde ein Bioakkumulationsfaktor von 25 ermittelt.

3.1.2 Bioakkumulation beim Stichling

Im Bioakkumulationsansatz wird die Summe der verfügbaren Testsubstanz aus allen Kompartimenten im Fisch gemessen. Die Teilprozesse der Aufnahme aus Wasserkörper, Sediment und Nahrung werden in diesem Ansatz überlagert von der resultierenden Gesamtanreicherung im Fisch. Hierzu wurden die Stichlinge gegenüber HCB-dotiertem Sediment (9287 dpm/g FG; 13560 dpm/g TG; bzw. 238 $\mu\text{g}/\text{kg}$ FG; 348 $\mu\text{g}/\text{kg}$ TG) und vorexponierten Tubificiden exponiert (vgl. Kap. 3.1.1).

Nach etwa 30 Tagen stellte sich ein *steady state* ein, und die Konzentration in den Fischen änderte sich nicht mehr (Abb. 11). Mittels nichtlinearer Regression lässt sich für die Stichlinge ein $\text{BAF}_{\text{Fisch/Wurm}}$ von 3,5 bezogen auf die Konzentration in den Futterorganismen berechnen, der nach etwa 60 Tagen erreicht wird (Abb. 12).

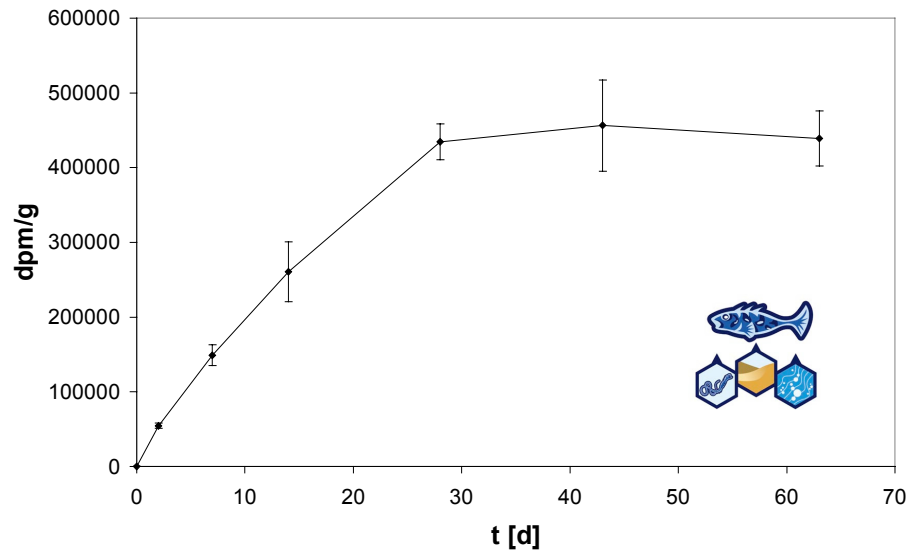


Abb. 11: Bioakkumulation von ¹⁴C-Hexachlorbenzol in *G. aculeatus*. Exposition gegenüber kontaminierten Tubificiden in dotiertem Sediment. Konzentrationsverlauf ([dpm/g], Mittelwerte mit Standardfehler; n = 4-6).

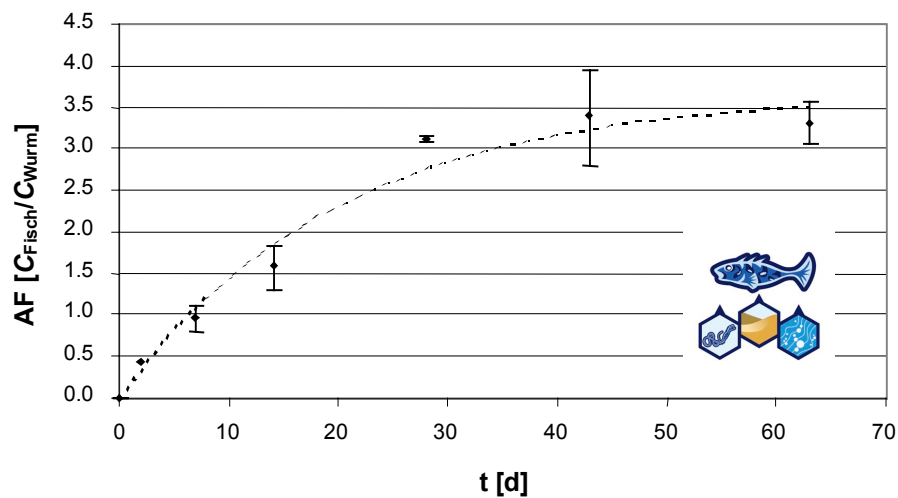


Abb. 12: Bioakkumulation von ¹⁴C-Hexachlorbenzol in *G. aculeatus*. Exposition gegenüber kontaminierten Tubificiden in dotiertem Sediment. Anreicherungsfaktoren (AF [C_{Fisch}/C_{Wurm}], Mittelwerte mit Standardfehler; n=4-6).

Bei Versuchsende (Auflösung der Expositionsgefäße) war zu beobachten, dass bei ca. 40 -50% der aus dem Sediment herausgesiebten Würmern caudale Körperregionen fehlten. Dies lässt den Schluss zu, dass die Fische bei ihrer Jagd auf Tubificiden oft nicht den ganzen Wurm fraßen, sondern nur das in den Wasserkörper gestreckte Hinterteil der Würmer erbeuteten.

3.1.3 Biomagnifikation beim Stichling

Im Biomagnifikationsansatz erfolgte die Exposition der Fische ausschließlich über die Nahrung. Hierzu wurden in ^{14}C -HCB-dotiertem Sediment (10363 dpm/g FG, 15130 dpm/g TG entsprechend 266 $\mu\text{g}/\text{kg}$ FG, 388 $\mu\text{g}/\text{kg}$ TG) vorexponierte Tubificiden, die sich im steady state befanden, an separat gehaltene Stichlinge verfüttert.

Es stellte sich über die Versuchsdauer von 60 Tagen keine Sättigung der Konzentration in den Fischen ein, sondern die Körperkonzentration stieg kontinuierlich an. Bezogen auf die ^{14}C -HCB-Konzentration in den täglich verfütterten Tubificiden lässt sich bei Versuchsende für den Fisch ein Anreicherungsfaktor $\text{AF}_{\text{Fisch/Wurm}}$ von 1,3 berechnen (Abb. 13, Abb. 14).

Bildet man das Verhältnis der im Fisch wiedergefundenen und der über das Futter applizierten Substanzmenge, so lässt sich der Anteil berechnen, der jeweils 24 Stunden nach der Applikation, das heißt, nach Darmpassage und Elimination im Körpergewebe der Stichlinge inkorporiert ist. Dieser Anteil an der ingestierten Substanzmenge nahm im Laufe der 60-tägigen Exposition ab und betrug zu Versuchsende ca. 0,6 (Abb. 15).

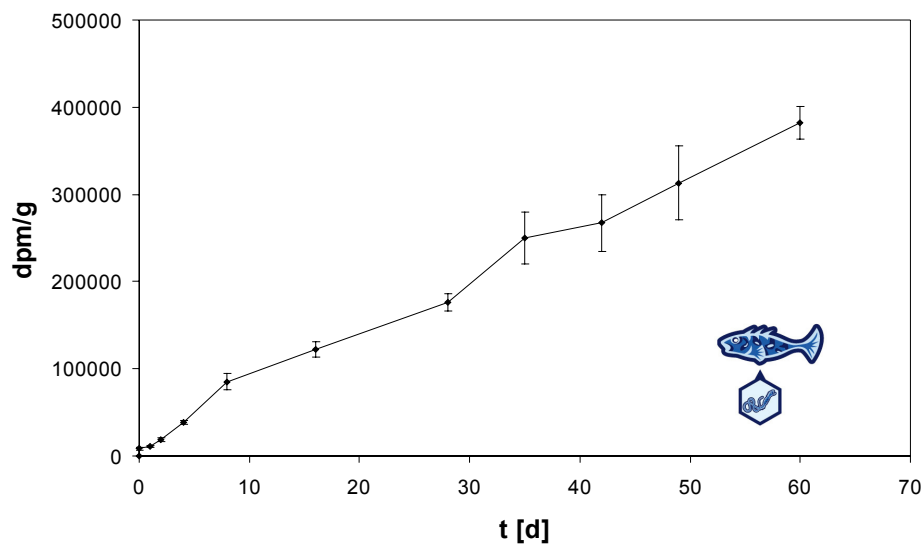


Abb. 13: Biomagnifikation von ^{14}C -Hexachlorbenzol in *G. aculeatus*. Exposition gegenüber kontaminierten Tubificiden. Konzentrationsverlauf ([dpm/g], Mittelwerte mit Standardfehler; n = 4; Tag 35 und Tag 42: n=3).

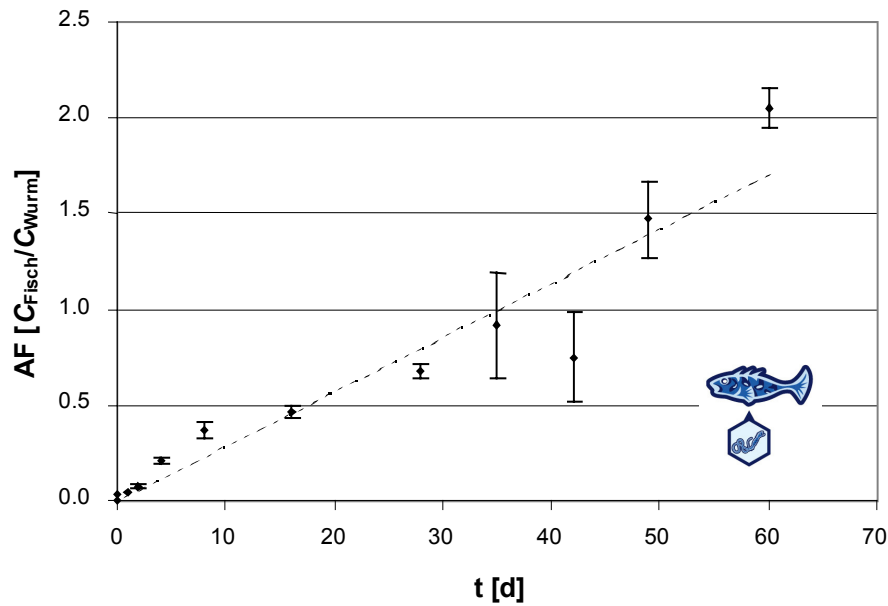


Abb. 14: Biomagnifikation von ^{14}C -Hexachlorbenzol in *G. aculeatus*. Exposition gegenüber kontaminierten Tubificiden in dotiertem Sediment. Anreicherungsfaktoren (AF [$C_{\text{Fisch}}/C_{\text{Wurm}}$], Mittelwerte mit Standardfehler; $n=4$; Tag 35 und Tag 42: $n=3$).

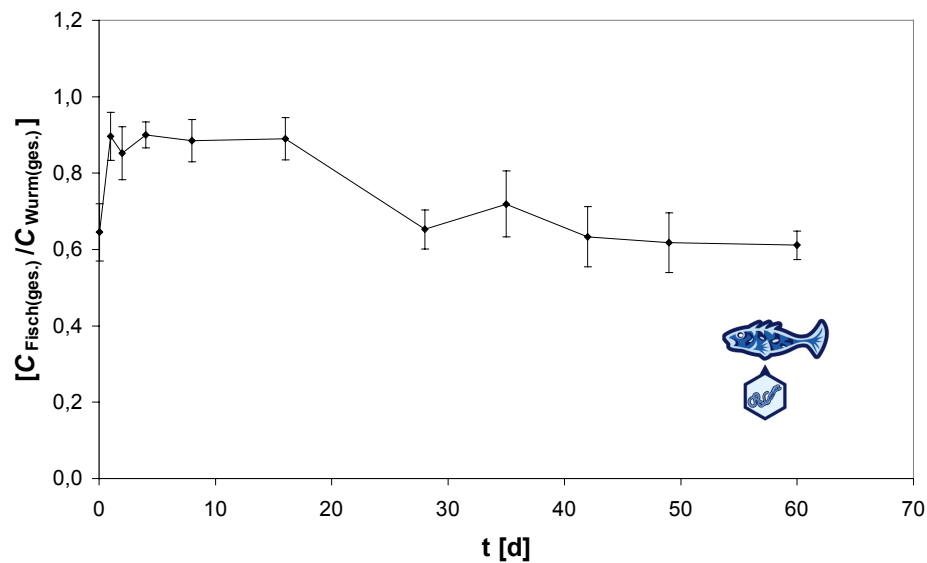


Abb. 15: Verlauf des Verhältnisses zwischen gemessener und verabreichter Radioaktivität im Stihling bei Verfütterung vorexponierter Tubificiden; $C_{\text{Fisch(ges.)}}$: im Fisch gemessene ^{14}C -Aktivität; $C_{\text{Wurm(ges.)}}$: dem Fisch insgesamt verabreichte ^{14}C -Aktivität.

Trotz täglicher Entfernung der Faeces aus den Becken und semistatischer Versuchsdurchführung stieg die radioaktive Konzentration im Wasserkörper zwar sehr langsam aber stetig an. Diese Werte lagen mit etwa 2 bis 4 dpm pro mL sehr nah an der Nachweisgrenze und sind daher mit einer gewissen messtechnisch bedingten

weissgrenze und sind daher mit einer gewissen messtechnisch bedingten Unsicherheit behaftet. Für alle weiteren Berechnungen wurde eine mittlere Wasserkonzentration von 2,1 dpm/mL zugrunde gelegt (vgl. Kap. 3.1.6).

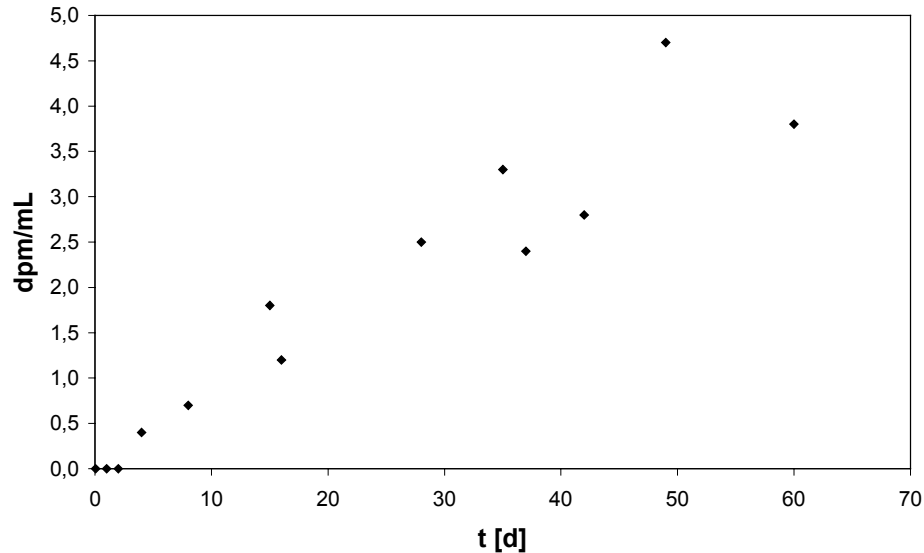


Abb. 16: Konzentration von ^{14}C -HCB in den Fischexpositionsbecken, Mittelwerte in dpm/mL (n=2).

3.1.4 Biokonzentration beim Stichling

Biokonzentration: Exposition gegenüber dem Wasserkörper

Die Konzentration in den Fischen stieg bis Testtag 12 stetig an. Zwischen dem 12. und dem 21. Testtag deutet sich die Einstellung eines *steady state* an. Der an Tag 28 gemessene Wert liegt jedoch zu hoch und damit leicht außerhalb des $\pm 20\%$ -Kriteriums der OECD Richtlinie 305 zum Erreichen eines *steady state* (OECD 1996). Der für Tag 28 bestimmte Anreicherungsfaktor lag bei 23136 (Abb. 17). In einem nachgeschalteten, separaten Experiment wurden Stichlinge über 47 Tage in kontaminiertem Wasser gehalten und bei Versuchsende aufgearbeitet. Dort konnte ein Anreicherungsfaktor von 31116 ermittelt werden. Dies deutet an, dass auch bei längerer Exposition keine wesentlich höhere Anreicherung in den Fischen zu erwarten ist.

Die Überprüfung der Anreicherungskinetik mittels nichtlinearer Regressionsanalyse ergab die Einstellung des *steady state* nach 28 d. Hierbei konnte ein BCF von 19147 ermittelt werden (Abb. 18).

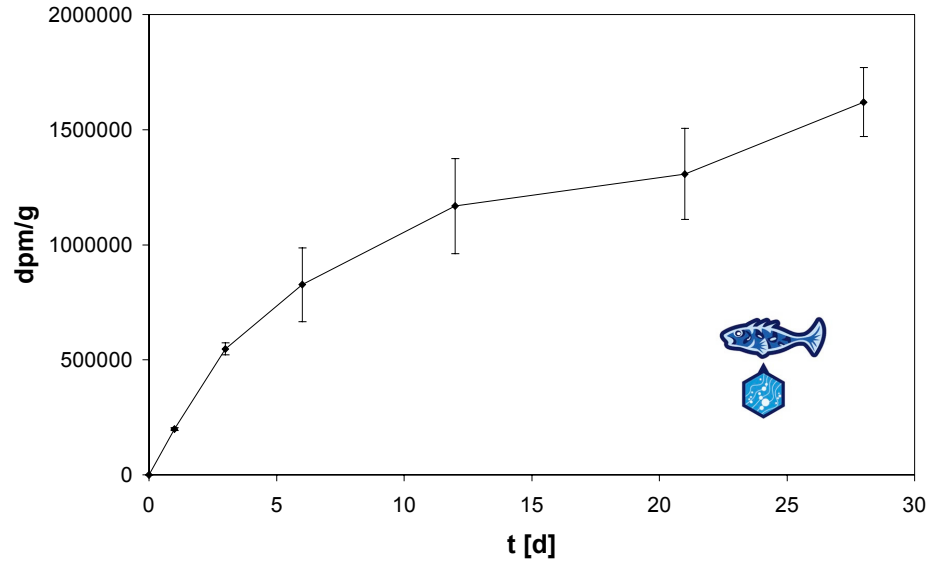


Abb. 17: Biokonzentration von ^{14}C -Hexachlorbenzol in *G. aculeatus*. Exposition über den Wasserkörper. Konzentrationsverlauf ([dpm/g], Mittelwerte mit Standardfehler; n=6; Tag 28: n=8).

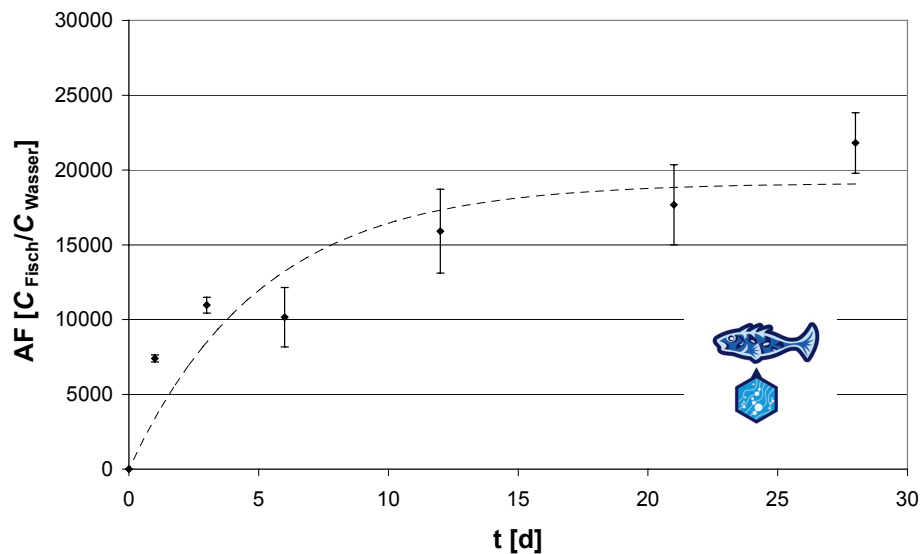


Abb. 18: Biokonzentration von ^{14}C -Hexachlorbenzol in *G. aculeatus*. Exposition über den Wasserkörper. Anreicherungsfaktoren (AF [$C_{\text{Fisch}}/C_{\text{Wasser}}$], Mittelwerte mit Standardfehler; n=6; Tag 28: n=8).

Biokonzentration: Exposition gegenüber dotiertem Sediment

Die Stichlinge wurden gegenüber ^{14}C -HCB-dotiertem Sediment (9287 dpm/g FG; 13560 dpm/g TG; bzw. 238 $\mu\text{g}/\text{kg}$ FG; 348 $\mu\text{g}/\text{kg}$ TG) exponiert. Hierbei erfolgte eine Aufnahme der Testsubstanz über den Kontakt mit dem Sediment und aus dem Wasserkörper. Die ^{14}C -HCB-Konzentration in den sedimentexponierten Fischen erreichte kein *steady state*. Die bei Versuchsende in den Stichlingen gemessene Konzentration betrug

mit 119860 dpm/g nur etwa die Hälfte der bei Exposition gegenüber Sediment und Tubificiden ermittelten Konzentration von 434400 dpm/g FG. Die Anreicherungsfaktoren im Fisch, $AF_{\text{Fisch/Sediment}} = 13$ und $AF_{\text{Fisch/Wasser}} = 36800$ liegen damit deutlich niedriger als die entsprechenden Faktoren im Ansatz mit Tubificiden (Abb. 19) (vgl. hierzu Kap. 3.1.1 und 3.1.2).

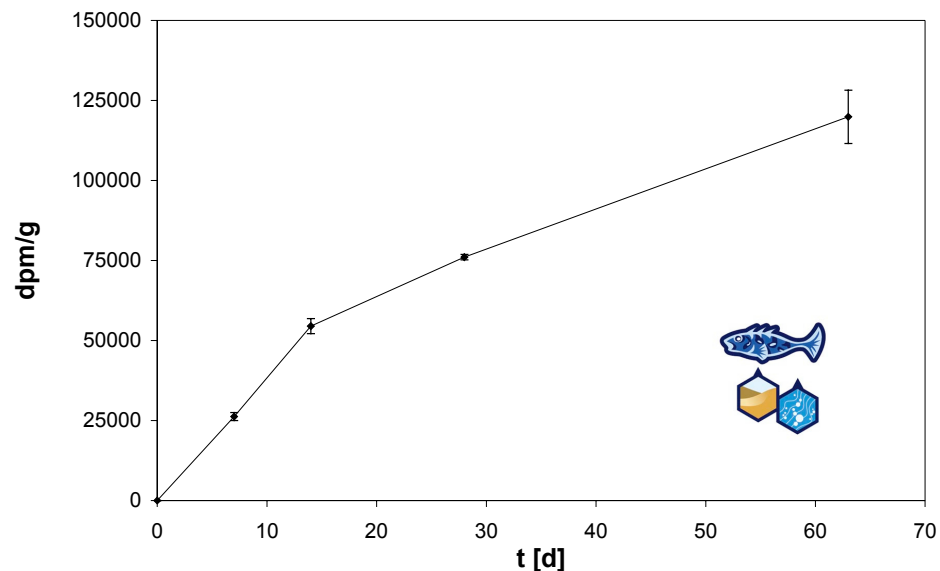


Abb. 19 Biokonzentration von ^{14}C -Hexachlorbenzol in *G. aculeatus*. Exposition gegenüber dotiertem Sediment. Konzentrationsverlauf ([dpm/g], Mittelwerte mit Standardfehler; n=4; Tag 63: n=2).

3.1.5 Metabolismus von Hexachlorbenzol

Die aus den mit ^{14}C -Hexachlorbenzol kontaminierten Proben extrahierten Rückstände lagen zu mehr als 90% als Ursubstanz vor. Bei den Fisch- und Wurmproben befand sich die Radioaktivität ausschließlich in den hexanischen Extrakten, mit Methanol konnte weniger als 1% der Radioaktivität extrahiert werden (Tab. 14).

In den nach hexanischer und methanolischer Extraktion im Oxidizer verbrannten Proben befanden sich nur vernachlässigbar geringe Mengen an Radioaktivität (*bound residues*). Damit ist eine Umrechnung von den auf der ^{14}C -Aktivität beruhenden Bioakkumulationsfaktoren in auf Ursubstanz basierenden Bioakkumulationsfaktoren nicht notwendig und die Angabe von HCB-Konzentrationen in μg bzw. ng ohne Korrektur (Ursubstanz/Metabolite) möglich (vgl. Kap. 3.1.6).





Tab. 14: Aufteilung der Gesamtradioaktivität in den gesammelten Extrakten aus dem Bioakkumulationsszenario in Urschubstanz (Hexachlorbenzol), Metabolite und Restaktivität (*bound residues*).

	Hexachlorbenzol	Metabolite	Restaktivität
Fisch	99,8%	≤1%	0,1%
Wurm	99,2%	≤1%	0,5%
Sediment	97,3%	≤3%	3,3%
Wasser	93,1%	≤7%	0,0%

3.1.6 Anreicherung von Hexachlorbenzol im Überblick

In den Stichlingen fand in allen untersuchten Expositionsszenarien eine deutliche Anreicherung von Hexachlorbenzol gegenüber dem jeweiligem Bezugskompartiment statt (Tab. 15). Die Normierung der Anreicherungsfaktoren auf den Gehalt an organischen Kohlenstoff im Sediment und den Lipidgehalt der Organismen und die Berechnung der Fugazitäten für Wasser, Sediment, Tubificiden und Fische kann die Interpretation der Daten und einen Vergleich der verschiedenen Expositionsszenarien erleichtern (Tab. 16, Tab. 17, Tab. 18).





Tab. 15: Anreicherung von Hexachlorbenzol in Fischen; Konzentrationsangaben (C) in µg/g Frischgewicht bzw. in µg/L.

	Expositionsszenario:			
	Biokonzentration	Biokonzentration	Biomagnifikation	Bioakkumulation
				
C_{Wasser} [µg/L]	1,796	0,085	0,054	0,215
C_{Sediment} [µg/g]	---	0,238	0,266	0,238
C_{Wurm} [µg/g]	---	---	7,48	3,54
C_{Fisch} [µg/g]	41,55	3,06	9,81	11,14

Tab. 16: Bioakkumulation von Hexachlorbenzol. Totaler organischer C-Gehalt (TOC), gelöster organischer C-Gehalt (DOC), partikelassoziertes organisches C (POC), Verhältnis Trockengewicht (TG) zu Feuchtgewicht (FG), organischer Gehalt (F_{OC}) und Lipidgehalt (F_{Lipid}) in Wasser, Sediment, *T. tubifex* und Stichlingen.





	Wasser	Sediment	<i>T. tubifex</i>	Stichling
TOC [mg C/L]	1,41	---	---	---
DOC [mg C/L]	1,38	---	---	---
POC [mg C/L]	0,03	---	---	---
TG/FG	---	68,5 %	14,0 %	35,0 %
F_{oc} (FG)	---	1,1 %	---	---
F_{oc} (TG)	---	1,7 %	---	---
F_{Lipid} (FG)	---	---	2,7 %	6,6 %
F_{Lipid} (TG)	---	---	19,7 %	19,2 %

Tab. 17: Anreicherung von Hexachlorbenzol in Fischen; Anreicherungsfaktoren in Fischen (AF) als $C_{Fisch}/C_{Kompartiment}$ basierend auf Feuchtgewicht (FG), Trockengewicht (TG), Lipidgehalt und Gehalt an organischem Kohlenstoff (OC).

Expositionsszenario:				
	Biokonzentration	Biokonzentration	Biomagnifikation	Bioakkumulation
				
AF_{Fisch/Wasser}				
FG/FG	23100	36800	---	52500
TG/FG	66080	105270	---	150190
Lipid/FG	349650	557020	---	794660
AF_{Fisch/Sediment}				
FG/FG	---	13	(37) ⁽¹⁾	47
TG/TG	---	25	72 ⁽¹⁾	92
Lipid/OC	---	2	6 ⁽¹⁾	8
AF_{Fisch/Wurm}				
FG/FG	---	---	1,3	3,2
TG/TG	---	---	0,5	1,3
Lipid/Lipid	---	---	0,5	1,3

⁽¹⁾ indirekt berechnet, Sediment und Fische in separaten Testgefäßen.

Tab. 18: Anreicherung von Hexachlorbenzol in Fischen; berechnete Fugazitäten (f) für Wasser, Sediment, Tubificiden und Fische in den verschiedenen Expositionsszenarien.

	Expositionsszenario:			
	Biokonzentration	Biokonzentration	Biomagnifikation	Bioakkumulation
				
f_{Wasser} [μPa]	65,1	3,1	2,0	7,8
f_{Sediment} [μPa]	---	3,5	4,0	3,5
f_{Wurm} [μPa]	---	---	19,0	8,9
f_{Fisch} [μPa]	43,3	3,2	10,2	11,6

3.2 Anreicherung von Terbutryn in der Labornahrungskette

3.2.1 Bioakkumulation bei Tubificiden

Die Tubificiden wurden gegenüber ^{14}C -Terbutryn-dotiertem Sediment exponiert (4153 dpm/g FG; 6063 dpm/g TG; bzw. 35,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ FG; 51,6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ TG). Nach weniger als fünf Tagen erreichte die Konzentration in den Würmern zunächst ein *steady state*. Danach fiel die Gewebekonzentration annähernd kontinuierlich bis zum Versuchende nach 28 Tagen ab (Abb. 20, durchgezogene Linie). Diese Abnahme ist vermutlich bedingt durch eine Abnahme der ^{14}C -Aktivität im Sediment auf ca. die Hälfte der Ausgangskonzentration im Versuchsverlauf (vgl. Tab. 20).

Aufgrund dieses komplexen Konzentrationsverlaufs konnten die zur Verfügung stehenden mathematischen Modelle nicht an die vorhandenen Daten angepasst werden, so dass der Bioakkumulationsfaktor anhand des Verhältnisses der Konzentration im Wurm und im Sediment zum jeweiligen Messzeitpunkt gebildet wurde. So lässt sich für die Tubificiden ein Anreicherungsfaktor ($\text{AF}_{\text{Wurm/Sediment}}$) von 4,4 und nach Korrektur auf den Gehalt an Ursubstanz von 4,1 (vgl. Kap. 3.2.4) am Tag 28 der Exposition berechnen.

Wie schon für HCB beobachtet, beeinflusste die Anwesenheit von Fischen auch die Anreicherung von ^{14}C -Terbutryn in Tubificiden. Nach Einsetzen der Fische stieg die ^{14}C -Konzentration in den Tubificiden noch einmal an (Abb. 20, gestrichelte Linie).

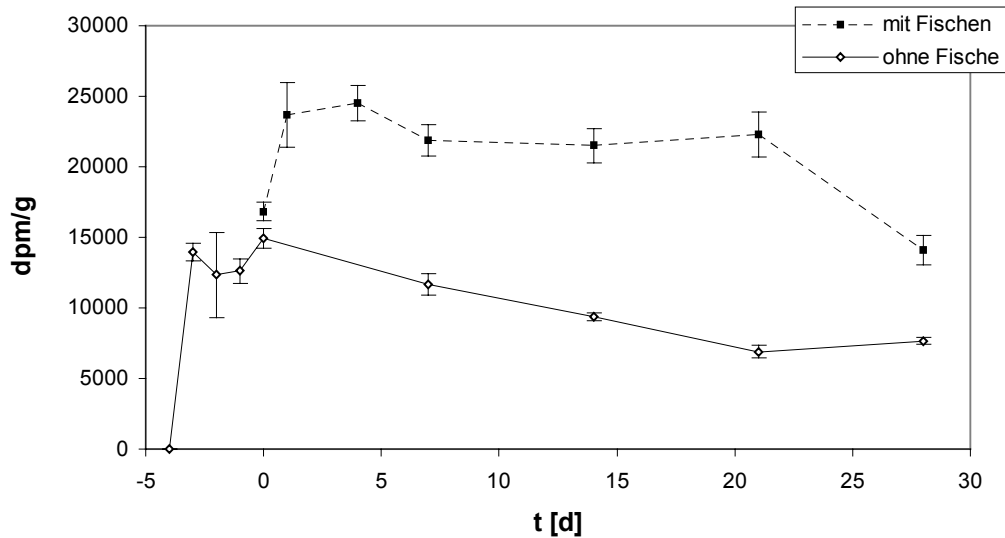


Abb. 20: Verlauf der ^{14}C -Terbutryn-Konzentration [dpm/g] in *T. tubifex* vor und nach Einsetzen von Fischen an Tag 0 (Bioakkumulationsansatz) (Mittelwerte mit Standardfehler; n=4 - 16).

3.2.2 Bioakkumulation beim Stichling

Zur Bestimmung der Anreicherung von Terbutryn im Fisch über alle möglichen Aufnahmepfade wurden die Stichlinge gegenüber ^{14}C -Terbutryn-dotiertem Sediment (4153 dpm/g FG; 6063 dpm/g TG; bzw. 35,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ FG; 51,6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ TG) und vorexponierten Tubificiden exponiert (vgl. Kap. 3.1.1, 3.1.2 und 3.2.1).

Ähnlich wie bei den Tubificiden (Kap. 3.2.1) stieg die Konzentration von ^{14}C -Terbutryn im Fisch schnell an und fällt anschließend bis zum Versucheende an Tag 28 ab (Abb. 22). Dieser Konzentrationsverlauf in den Tieren korrelierte mit dem Verlauf der ^{14}C -Aktivität im freien Wasserkörper (Abb. 21). Eine Erklärung für die versuchstechnisch bedingte Verarmung des Systems an Radioaktivität wird in Kap. 4.1 gegeben.

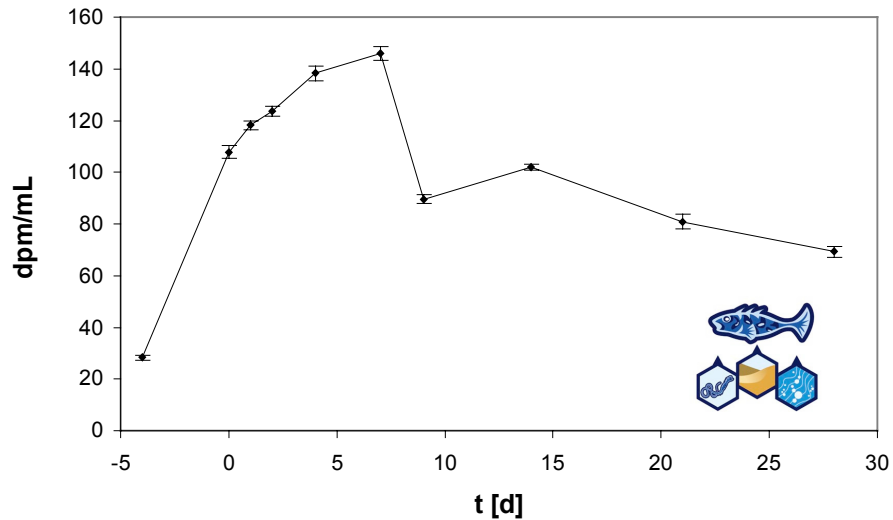


Abb. 21: Bioakkumulation von ¹⁴C-Terbutryn in *G. aculeatus*. Konzentrationsverlauf im Wasserkörper ([dpm/mL], Mittelwerte der 4 Replikate mit Standardfehler).

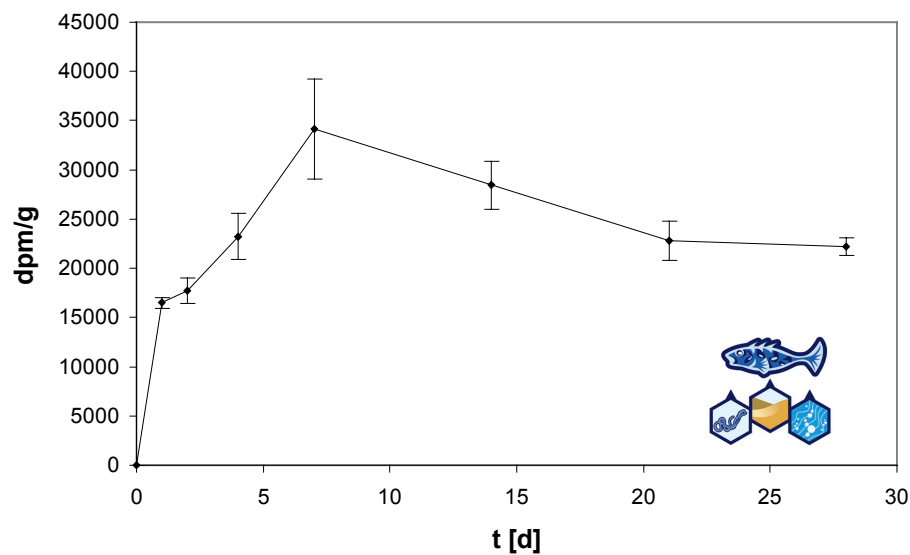


Abb. 22: Bioakkumulation von ¹⁴C-Terbutryn in *G. aculeatus*. Exposition gegenüber kontaminierten Tubificiden in dotiertem Sediment. Konzentrationsverlauf ([dpm/g], Mittelwerte mit Standardfehler; n = 4; Tag 28: n = 6).

Auf Basis der Anreicherungsfaktoren bezogen auf die Konzentration in den Futterorganismen ($AF_{\text{Fisch/Wurm}}$) stellte sich nach etwa 10 Tagen ein *steady state* ein. Mittels nichtlinearer Regression lässt sich für die Stichlinge ein BAF von 1,3 berechnen (Abb. 23). Eine bessere Anpassung erlaubt die nichtlineare Regression auf Basis der Anreicherungsfaktoren bezogen auf die Konzentration im Wasserkörper ($AF_{\text{Fisch/Wasser}}$). Der so berechnete BAF betrug 288 (Abb. 24).

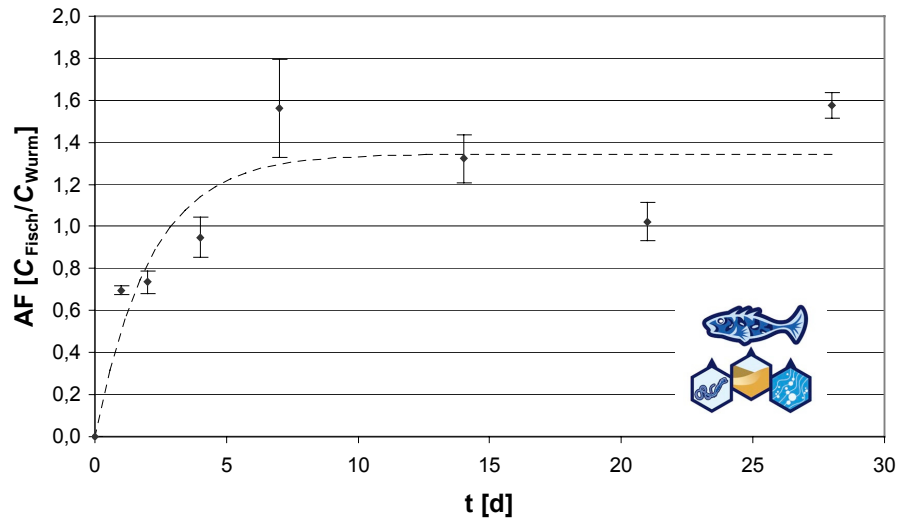


Abb. 23: Bioakkumulation von ¹⁴C-Terbutryn in *G. aculeatus*. Exposition gegenüber kontaminierten Tubificiden in dotiertem Sediment. Anreicherungsfaktoren (AF [C_{Fisch}/C_{Wurm}], Mittelwerte mit Standardfehler; n = 4; Tag 28: n = 8).

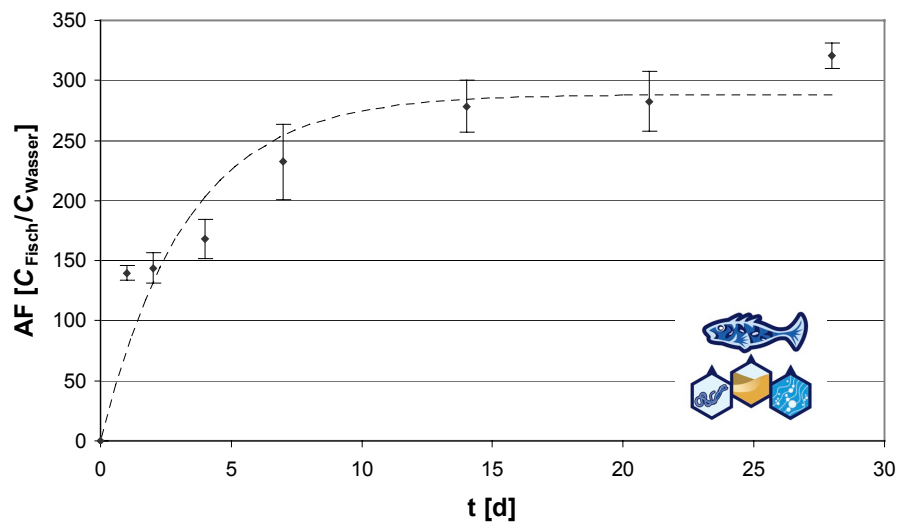


Abb. 24: Bioakkumulation von ¹⁴C-Terbutryn in *G. aculeatus*. Exposition gegenüber kontaminierten Tubificiden in dotiertem Sediment. Anreicherungsfaktoren (AF [C_{Fisch}/C_{Wasser}], Mittelwerte mit Standardfehler; n = 4; Tag 28: n = 8).

Wie im HCB-Bioakkumulationsszenario war auch hier zu beobachten, dass bei ca. 40 - 50% der bei Versuchsende aus dem Sediment gesiebten Würmern caudale Körperregionen fehlten (vgl. Kap. 3.1.2).

3.2.3 Biokonzentration beim Stichling

Biokonzentration: Exposition gegenüber dem Wasserkörper

Bei Exposition von Stichlingen in dotiertem Wasser (109 dpm/mL) stellte sich nach etwa 4 Tagen ein Aufnahme-Eliminationsgleichgewicht (*steady state*) ein (Abb. 25). Mittels nichtlinearer Regressionsanalyse kann ein BCF von 228 berechnet werden (Abb. 26).

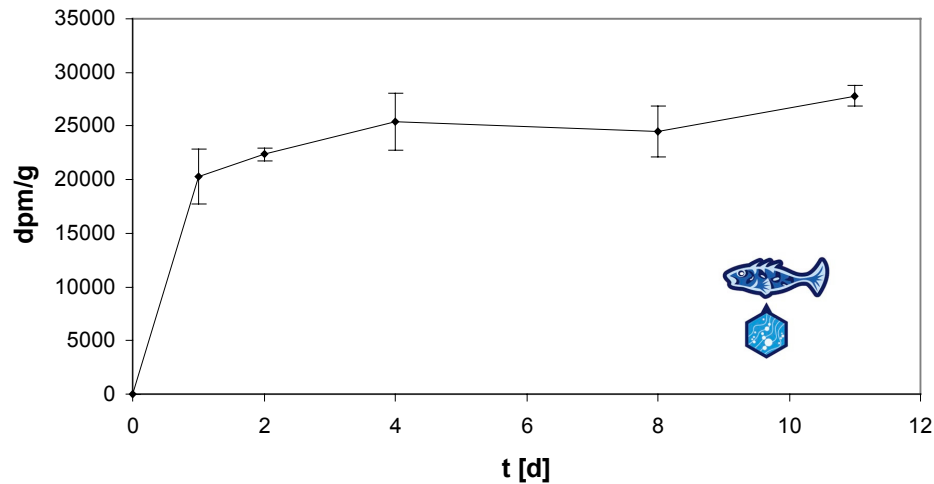


Abb. 25: Biokonzentration von ^{14}C -Terbutryn in *G. aculeatus*. Exposition über den Wasserkörper. Konzentrationsverlauf ([dpm/g], Mittelwerte mit Standardfehler; n=4; Tag 11: n=12).

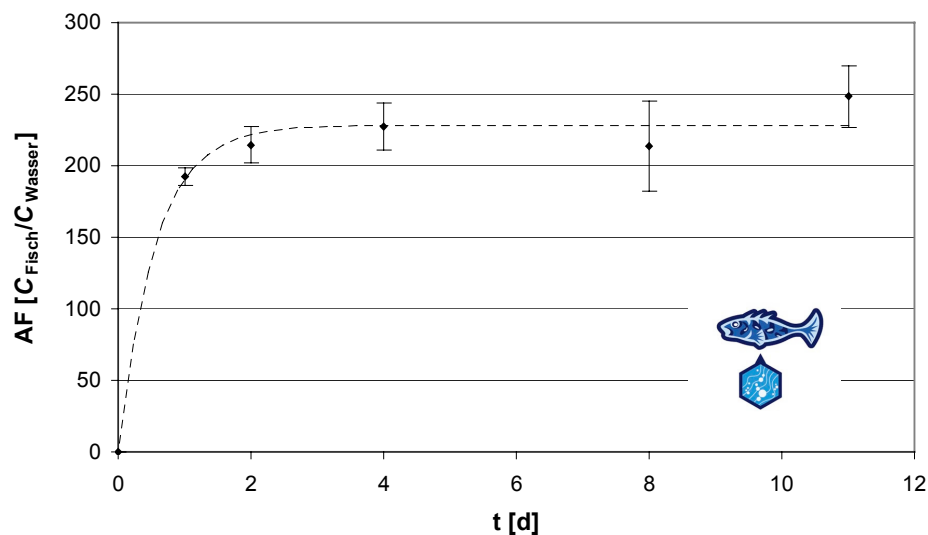


Abb. 26: Biokonzentration von ^{14}C -Terbutryn in *G. aculeatus*. Exposition über den Wasserkörper. Anreicherungsfaktoren (AF [$C_{\text{Fisch}}/C_{\text{Wasser}}$], Mittelwerte mit Standardfehler; n=4; Tag 11: n=12).

Biokonzentration: Exposition gegenüber dotiertem Sediment

Zur Exposition der Fische gegenüber kontaminiertem Sediment wurde künstliches Sediment mit ^{14}C -Terbutryn dotiert (4075 dpm/g FG; 5949 dpm/g TG; bzw. 34,7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ FG; 50,6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ TG). Wie auch im Bioakkumulationsszenario (vgl. Kap. 3.2.2) diffundierte auch hier Terbutryn schnell in den Wasserkörper, und anschließend verarmte das System über die Versuchszeit an Radioaktivität. Zu Versuchsende konnten nur noch ca. 75% der eingesetzten Aktivität im Sediment wiedergefunden werden (Abb. 27).

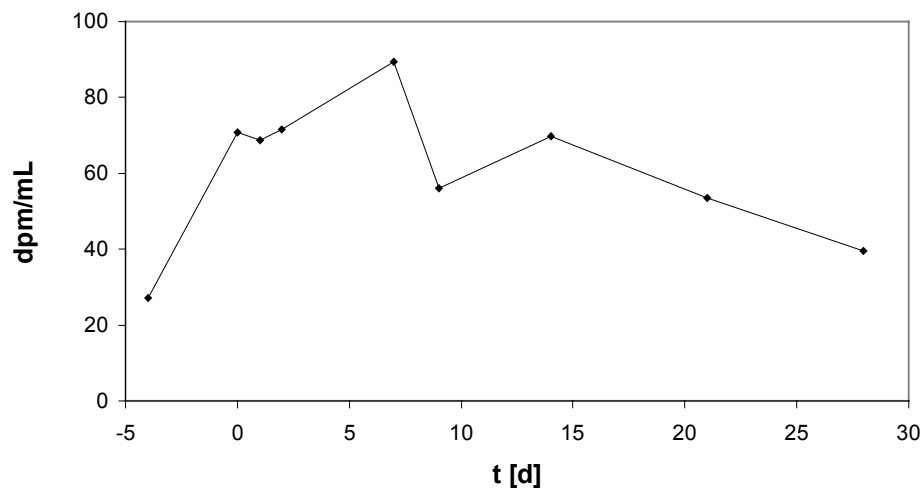


Abb. 27: Biokonzentration von ^{14}C -Terbutryn in *G. aculeatus*. Exposition gegenüber dotiertem Sediment. Konzentrationsverlauf im Wasserkörper ([dpm/mL]).

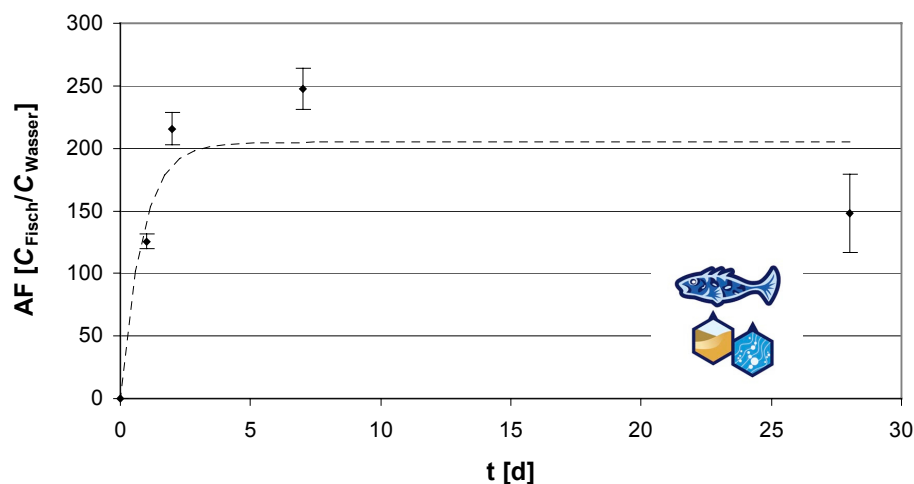


Abb. 28: Biokonzentration von ^{14}C -Terbutryn in *G. aculeatus*. Exposition gegenüber dotiertem Sediment. Anreicherungsfaktoren (AF [$C_{\text{Fisch}}/C_{\text{Wasser}}$], Mittelwerte mit Standardfehler; n=2; Tag 28: n=4).

Die Konzentration im Stichling folgte dem Konzentrationsverlauf im Wasserkörper und nahm gegen Versuchende ab. Die Anreicherungsfaktoren gegenüber der Aktivität im Wasser zeigen, dass die Anwesenheit von kontaminierten Sediment nicht zu einer höheren Anreicherung von ^{14}C -Terbutryn führte als die Exposition in dotiertem Wasser (vgl. Abb. 26). An Tag 7 (höchste Konzentration in den Fischen) kann ein $\text{AF}_{\text{Fisch/Wasser}}$ von 247 und am Versuchsende (Tag 28) ein $\text{AF}_{\text{Fisch/Wasser}}$ von 168 berechnet werden. Mittels nichtlinearer Regressionsanalyse kann ein BCF von 205 nach ca. 5 Tagen ermittelt werden (Abb. 28).

3.2.4 Metabolismus von Terbutryn

Das im Bioakkumulationsszenario eingesetzte ^{14}C -Terbutryn wurde in den Fischen zu 84% zu einem polareren Metaboliten umgesetzt. Lediglich 5% wurden in Proben von Tag 28 als Terbutryn identifiziert. In Wurm- und Sedimentproben wurden dagegen 81% bzw. 86% der Gesamtaktivität als Terbutryn wiedergefunden. Im Wasser konnte der gleiche Metabolit wie in den Fischproben gemessen werden (37% der Gesamtaktivität) (Tab. 19). Daher müssen die auf Basis der ^{14}C -Aktivität ermittelten Bioakkumulationsfaktoren um die jeweiligen Metabolitanteile korrigiert werden (Tab. 21, Tab. 22).









Tab. 19: Aufteilung der Gesamtradioaktivität in den gesammelten Extrakten aus dem Bioakkumulationsszenario in Ursubstanz (Terbutryn), Metabolite und Restaktivität (*bound residues*).

	Terbutryn	Metabolite	Restaktivität
Fisch	4,9%	85%	11%
Wurm	81,0%	9%	10%
Sediment	85,8%	4%	9%
Wasser	62,3%	36%	1%

3.2.5 Anreicherung von Terbutryn im Überblick


Aufgrund der schwankenden Konzentrationen in Sediment und Wasserkörper zum einem und zum anderen durch die hohe Metabolisierungsrate von Terbutryn in den Fischen ist die Beurteilung der Anreicherung von Terbutryn komplex. Auf Basis der Gesamtradioaktivitäten fand in den Stichlingen in allen untersuchten Expositionsszenarien eine mäßige Anreicherung von ^{14}C -Terbutryn gegenüber dem jeweiligem Bezugskompartiment statt (Tab. 20). Nach Korrektur der Konzentrationen auf den Gehalt an Ursubstanz im Bioakkumulationsszenario kann allerdings nicht mehr von einer Anreicherung von Terbutryn innerhalb der Labornahrungskette ausgegangen werden (Tab. 21). Dies wird noch deutlicher, wenn die Anreicherungsfaktoren auf den Gehalt an organischem Kohlenstoff im Sediment und den Lipidgehalt der Organismen normiert werden (Tab. 22, Tab. 23).

Tab. 20: Anreicherung von ^{14}C -Terbutryn in Fischen; Gesamtaktivitäten (C) in dpm/g Frischgewicht bzw. in dpm/mL; Anreicherungsfaktoren in Fischen (AF) als $C_{\text{Fisch}}/C_{\text{Kompartiment}}$.


	Expositionsszenario:							
	Biokonzentration		Biokonzentration			Bioakkumulation		
								
Messpunkt [d]	11	0	7	28	0	7	28	
C_{Wasser} [dpm/mL]	109	71	89	39	108	146	69	
C_{Sediment} [dpm/g]	---	4075	---	2997	4153	---	2322	
C_{Wurm} [dpm/g]	---	---	---	---	16825	24495 ⁽¹⁾	15634	
C_{Fisch} [dpm/g]	27810	---	21964	6565	---	34320	22300	
$AF_{\text{Fisch/Wasser}}$	253	---	247	168	---	235	323	
$AF_{\text{Fisch/Sediment}}$	---	---	---	2,2	---	---	10	
$AF_{\text{Fisch/Wurm}}$	---	---	---	---	---	1,4	1,4	

⁽¹⁾ Messwert an Tag 4.

Tab. 21: Bioakkumulation von Terbutryn; Konzentrationen und Fugazitäten in Wasser, Sediment, Tubificiden und Fischen nach 28 Tagen; Konzentrationsangaben korrigiert auf den Gehalt an Ursubstanz (C in ng/g Frischgewicht bzw. in ng/L; Fugazitäten in nPa).

Expositionsszenario:	Bioakkumulation	
		
	C [ng/L] / [ng/g]	Fugazität [nPa]
Wasser	366,5	4,7
Sediment	16,9	15,2
Wurm	107,7	25,0
Fisch	9,3	0,8

Tab. 22: Bioakkumulation von Terbutryn in Fischen; Anreicherungsfaktoren in Fischen (AF) als $C_{\text{Fisch}}/C_{\text{Kompartiment}}$ basierend auf Feuchtgewicht (FG) Trocken- gewicht (TG), Lipidgehalt und Gehalt an organischem Kohlenstoff (OC).

Expositionsszenario:	Bioakkumulation
	
$AF_{\text{Fisch/Wasser}}$	
FG/FG	25
TG/FG	88
Lipid/FG	488
$AF_{\text{Fisch/Sediment}}$	
FG/FG	0,55
TG/TG	1,30
Lipid/OC	0,12
$AF_{\text{Fisch/Wurm}}$	
FG/FG	0,09
TG/TG	0,06
Lipid/Lipid	0,03

Tab. 23: Bioakkumulation von Terbutryn. Totaler organischer C-Gehalt (TOC), gelöster organischer C-Gehalt (DOC), partikelassoziiertes organisches C (POC), Verhältnis Trockengewicht (TG) zu Feuchtgewicht (FG), organischer Gehalt (F_{OC}) und Lipidgehalt (F_{Lipid}) in Wasser, Sediment, *T. tubifex* und Stichling.

	Wasser	Sediment	<i>T. tubifex</i>	Stichling
TOC [mg C/L]	1,41	---	---	---
DOC [mg C/L]	1,38	---	---	---
POC [mg C/L]	0,03	---	---	---
TG/FG	---	68,5 %	19,3 %	29,0 %
F_{oc} (FG)	---	1,1 %		
F_{oc} (TG)	---	1,7 %	---	---
F_{Lipid} (FG)	---	---	1,8 %	5,1 %
F_{Lipid} (TG)	---	---	9,4 %	18,0 %

3.3 Applikation der Nahrungskettenmodelle auf die Labornahrungskette

3.3.1 Anreicherung von Hexachlorbenzol im Campfens/MacKay-Modell

Die Applikation des Campfens/Mackay-Modell auf das Szenario zur Bioakkumulation von Hexachlorbenzol in der Labornahrungskette sagt eine Anreicherung von HCB innerhalb der Nahrungskette voraus. Allerdings unterschätzt die Modellvorhersage die im Labor gemessene Anreicherung von sedimentgebundenem HCB (Tab. 24). Die Gewebekonzentration in den Tubificiden wird um den Faktor 2,1 und in den Fischen um den Faktor 1,4 unterschätzt (vgl. Tab. 15).

Tab. 24: Anreicherung von HCB im Campfens/MacKay-Modell. Vorhergesagte *steady state*-Konzentrationen, Fugazitäten und HCB-Flüsse in Wasser, Sediment und den trophischen Stufen der Modellnahrungskette.

System	Fugazität [Pa]	Konzentration [µg/L] bzw. [µg/g]
Wasser (gesamt)	7,8E-06	0,215
Wasser (gelöst)	7,8E-06	0,214
Wasser (an Schwebstoffe absorbiert)	7,8E-06	0,001
Sediment (partikel-assoziiert) (TG)	3,4E-06	0,348
Porenwasser (gelöst)	3,4E-06	0,095
Nahrungskettenglieder	Fugazität [Pa]	Konzentration [µg/g]
<i>Tubifex tubifex</i> (gesamt)	4,2E-06	1,66
<i>Tubifex tubifex</i> (Lipid)	4,2E-06	60,99
<i>Gasterosteus aculeatus</i> (gesamt)	8,1E-06	7,76
<i>Gasterosteus aculeatus</i> (Lipid)	8,1E-06	117,39
Aufnahme/Elimination Flux	<i>T. tubifex</i> [ng/d]	<i>G. aculeatus</i> [ng/d]
Aufnahme über Respiration	10,5	212,5
Brutto Aufnahme über Futter	-.	120,2
Netto Aufnahme über Futter	-.	72,1
Aufnahme gesamt	10,5	284,6
Elimination über Respiration	10,2	222,0
Elimination über Faeces	-.	46,3
Elimination über Metabolismus	0,0	0,0
<i>Growth Dilution</i>	0,2	16,3
Elimination gesamt	10,5	284,5

-. Modell liefert keinen Wert.

Die Analyse des Aufnahme/Elimination-Fluxes im *steady state* zeigt, dass 75% der HCB Aufnahme in den Stichlingen über die respiratorische Oberfläche aus dem umgebenden Wasser und 25% über die Nahrung erfolgt. Der Großteil des Hexachlorbenzols wird über die Kiemen eliminiert (78%). Die Ausscheidung von Faeces trägt mit 16%

zur Gesamtelimination bei und durch das Wachstum der Tiere wird die Gewebekonzentration um 6% verdünnt (*growth dilution*) (Tab. 24).

3.3.2 Anreicherung von Hexachlorbenzol im Gobas-Modell

Das Gobas-Modell unterschätzt die im Labor gemessene Anreicherung von sedimentgebundenem HCB deutlicher als das Campfens/Mackay-Modell (Tab. 25). Die Gewebekonzentration in den Tubificiden wird hier um den Faktor 6,3 und in den Fischen um den Faktor 1,7 unterschätzt (vgl. Tab. 15).

Tab. 25: Anreicherung von HCB im Gobas-Modell. Vorhergesagte *steady state*-Konzentrationen, Fugazitäten und HCB-Flüsse in Wasser, Sediment und den trophischen Stufen der Modellnahrungskette.

System	Fugazität [Pa]	Konzentration [µg/L] bzw. [µg/g]
Wasser (gesamt)	7,7E-06	0,215
Wasser (gelöst)	7,7E-06	0,212
Sediment (TG)	1,4E-06	0,348
Nahrungskettenglieder	Fugazität [Pa]	Konzentration [µg/g]
Phytoplankton (gesamt)	7,7E-06	0,56
Phytoplankton (Lipid)	7,7E-06	111,00
Zooplankton (gesamt)	7,7E-06	5,56
Zooplankton (Lipid)	7,7E-06	111,00
<i>Tubifex tubifex</i> (gesamt)	1,4E-06	0,56
<i>Tubifex tubifex</i> (Lipid)	1,4E-06	20,50
<i>Gasterosteus aculeatus</i> (gesamt)	6,7E-06	6,45
<i>Gasterosteus aculeatus</i> (Lipid)	6,7E-06	97,70
Aufnahme/Elimination Flux	<i>T. tubifex</i> [ng/d]	<i>G. aculeatus</i> [ng/d]
Aufnahme über Respiration	.-	211,0
Aufnahme über Futter	.-	28,6
Aufnahme gesamt	.-	239,6
Elimination über Respiration	.-	185,0
Elimination über Faeces	.-	21,8
Elimination über Metabolismus	.-	0,0
Growth Dilution	.-	32,6
Elimination gesamt	.-	239,4

.- Modell liefert keinen Wert.

Die Analyse des Aufnahme/Elimination-Fluxes im *steady state* zeigt, dass in der Gobas-Modellvorhersage 88% der HCB Aufnahme in den Stichlingen über die respiratorische Oberfläche und lediglich 12% über die Nahrung erfolgt. Der Großteil des Hexachlorbenzols wird auch bei dieser Vorhersage über die Kiemen eliminiert (77%). Die Aus-

scheidung von Faeces trägt mit 9% zur Gesamtelimination bei und durch *growth dilution* wird die Gewebekonzentration um 14% verdünnt. Tubificiden, Phyto- und Zooplankton stehen im thermodynamischen Gleichgewicht mit dem HCB im Sediment respektive Wasser (gleiche Fugazitäten) und reichern demzufolge entsprechend ihrem Lipidgehalt die Substanz an. Da für die Modellierung die beiden Trophieebenen Phyto- und Zooplankton aus der Modellnahrungskette ausgeschlossen wurden, wird im folgenden nicht weiter auf sie eingegangen (Tab. 25).

Das Gobas-Modell mit integriertem Morrison-Submodul unterschätzt die gemessene HCB-Anreicherung nur sehr geringfügig (Tab. 26). Die Gewebekonzentration weicht sowohl in den Tubificiden als auch in den Fischen nur um den Faktor 1,1 von den gemessenen Werten ab (vgl. Tab. 15).

Tab. 26: Anreicherung von HCB im Gobas-Modell mit integriertem Morrison-Submodul. Vorhergesagte *steady state*-Konzentrationen, Fugazitäten und HCB-Flüsse in Wasser, Sediment und den trophischen Stufen der Modellnahrungskette. Alle Werte sind Mittelwerte auf der Basis von 10000 Monte-Carlo-Simulationen.

System	Fugazität [Pa]	Konzentration [µg/L] bzw. [µg/g]
Wasser (gesamt)	7,6E-06	0,214
Wasser (gelöst)	7,6E-06	0,212
Sediment (TG)	1,3E-06	0,348
Nahrungskettenglieder	Fugazität [Pa]	Konzentration [µg/g]
Phytoplankton (gesamt)	6,9E-06	0,57
Phytoplankton (Lipid)	6,9E-06	113,17
<i>Tubifex tubifex</i> (gesamt)	7,1E-06	3,30
<i>Tubifex tubifex</i> (Lipid)	7,1E-06	116,07
<i>Gasterosteus aculeatus</i> (gesamt)	8,8E-06	10,29
<i>Gasterosteus aculeatus</i> (Lipid)	8,8E-06	146,02
Aufnahme/Elimination Flux	<i>T. tubifex</i> [ng/d]	<i>G. aculeatus</i> [ng/d]
Aufnahme über Respiration	--	210,4
Aufnahme über Futter	--	170,6
Aufnahme gesamt	--	381,0
Elimination über Respiration	--	270,4
Elimination über Faeces	--	46,6
Elimination über Metabolismus	--	0,0
Growth Dilution	--	64,0
Elimination gesamt	--	381,0

-- Modell liefert keinen Wert.

Die Analyse des Aufnahme/Elimination-Fluxes im *steady state* zeigt, dass im Gobas/Morrison-Modell die HCB Aufnahme in den Stichlingen über die respiratorische Oberfläche mit 55% deutlich unter den Vorhersagen der anderen Modell liegt, während 45% der Gesamtaufnahme über die Nahrung erfolgt. Der Großteil des Hexachlorbenzols wird auch bei dieser Vorhersage über die Kiemen eliminiert (71%). Die Ausscheidung von Faeces trägt mit 12% zur Gesamtelimination bei, und durch *growth dilution* wird die Gewebekonzentration um 17% verdünnt. Die vorhergesagte Anreicherung in den Tubificiden ist hier deutlich höher als im Gobas-Modell und mit der Anreicherung im Phytoplankton vergleichbar, da im Gobas/Morrison-Modell für benthische Organismen nicht von einer Aufnahme aus dem Porenwasser sondern aus dem freien Wasserkörper ausgegangen wird. Da für die Modellierung die Trophieebene Phytoplankton aus der Modellnahrungskette ausgeschlossen wurde, wird im Folgenden nicht weiter auf sie eingegangen (Tab. 26).

3.3.3 Sensitivitäts-Analyse des Campfens/MacKay-Modell am Beispiel HCB

Die logische Sensitivitäts-Analyse des Campfens/Mackay-Modell auf Basis der Applikation des Modells auf die Daten des Bioakkumulationsszenario mit HCB zeigt, dass der Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizient (K_{OW}), die Konzentration der Chemikalie im Wasser und im Sediment, der organische Gehalt des Sedimentes (F_{OC}) und der Lipidgehalt der Nahrungskettenglieder den größten Einfluss aller Parameter auf die Modellvorhersagen haben (Tab. 27).

Tab. 27: Logische Sensitivitäts-Analyse des Campfens/MacKay-Modelles. Änderungen der vorhergesagten Gewebekonzentrationen (FG) in Tubificiden und Fischen nach Variierung der Modellparameter um den Faktor x 2 und x 0,5.

	Änderung der Modellvorhersagen in %		
	Input ⁽¹⁾	$C_{Tubifex}$ ⁽¹⁾	C_{Fisch} ⁽¹⁾
physiko-chemische Eigenschaften			
Molekülgewicht		< 1 / < 1	< 1 / < 1
Henry-Konstante		< 1 / < 1	< 1 / < 1
log K_{OW}	7,0 / 3,0	385,2 / -34,5	624,0 / 99,7
System Eigenschaften			
Chemikalien Konzentration im Wasser		36,0 / -18,0	83,8 / -41,9
Chemikalien Konzentration im Sediment		64,0 / -32,0	16,2 / -8,1
Konzentration von Schwebstoffen		< 1 / < 1	< 1 / < 1
Organischer C-Gehalt der Schwebstoffe		< 1 / < 1	< 1 / < 1
Organischer C-Gehalt im Sediment (F_{OC})		-32,0 / 64,0	-8,1 / 16,2
Nahrungskettenglieder			
benthischer Detrivore: <i>Tubifex tubifex</i>			
Biomasse		< 1 / < 1	< 1 / < 1
Lipidgehalt		95,7 / -49,4	6,9 / -4,8
Wachstumsrate		-2,2 / 1,1	< 1 / < 1
Anteil der Respiration aus dem Wasserkörper	0,3 / 0,1	10,0 / -10,0	3,0 / -2,5
Prädator: <i>Gasterosteus aculeatus</i>			
Biomasse		-	< 1 / < 1
Lipidgehalt		-	89,2 / -48,5
<i>Digestion Factor QD</i>		-	9,0 / -13,7
Wachstumsrate		-	-5,0 / 3,0
Fütterungsrate in % Körpergewicht		-	8,0 / -5,0
Absorptionseffizienz (E)	90% / 30%	-	4,2 / -4,9

⁽¹⁾ Variierung der Modellparameter jeweils um "Faktor 2" (x 2 / x 0,5); Abweichungen von diesem Analyseschema ergeben sich aus biologischen oder physikochemischen Limitierungen.

Die zweite Stufe der Sensitivitäts-Analyse (*one-at-a-time* Sensitivitäts-Analyse) der vier in der ersten Stufe ausgewählten Modellparameter zeigt den drastischen Einfluss des K_{OW} auf die Modellvorhersagen. Über einem log K_{OW} von ca. 5,5 steigt die Gewebekonzentration der Chemikalie im Fisch deutlich an. Zwischen einen log K_{OW} von 5,5

und 6,0 schneiden sich die Kurven der Fugazitäten aller Medien. Dies führt zu einem mäßigen Anstieg der Konzentration in den Tubificiden und einem starken Anstieg der Aufnahme der Substanz in den Fischen über die Nahrung. Das Verhältnis der Elimination aus den Stichlingen über die respiratorische Oberflächen und der Ausscheidung von Faeces verschiebt sich ab diesen Punkt hin zur Elimination über den Kot (Abb. 29).

Mit der Zunahme des organischen Gehaltes im Sediment (F_{OC}) sinkt die vorhergesagte Anreicherung der Chemikalie sowohl in Tubificiden als auch in den Fischen. Die Aufnahme in den Stichlingen über die Nahrung sinkt mit zunehmendem organischen Gehalt. Ab einem OC-Gehalt von 2% befinden sich die Fische annähernd in einem thermodynamischen Gleichgewicht mit dem Wasser ($f_{Fisch}/f_{Wasser} \approx 1$) und dementsprechend verringert sich der relative Anteil der Elimination der Substanz über die Kiemen (Abb. 30).

Mit zunehmendem Lipidgehalt der Würmer steigen die vorhergesagte Gewebekonzentration in den Tubificiden und die Aufnahme der Chemikalie in den Fischen über die Nahrung linear an. Da das Verhältnis der Fugazitäten zwischen Fisch und Wasser größer wird ($f_{Fisch}/f_{Wasser} > 1$), kommt es mit zunehmendem Lipidgehalt zu einem Nettoverlust über die Kiemen (Abb. 31).

Bei niedrigem Fettgehalt der Fische übersteigt die Fugazität in den Stichlingen die des Wassers ($f_{Fisch}/f_{Wasser} > 1$), und die Folge ist ein Nettoverlust der Chemikalie über die Kiemen. Mit zunehmendem Lipidgehalt sinkt die Fugazität in den Stichlingen. Als Folge nimmt die Elimination über die respiratorische Oberfläche ab, und die vorhergesagte Gewebekonzentration in den Stichlingen steigt an, bis sich Fische und Wasser in einem chemischen Gleichgewicht befinden ($f_{Fisch}/f_{Wasser} = 1$) (Abb. 32).

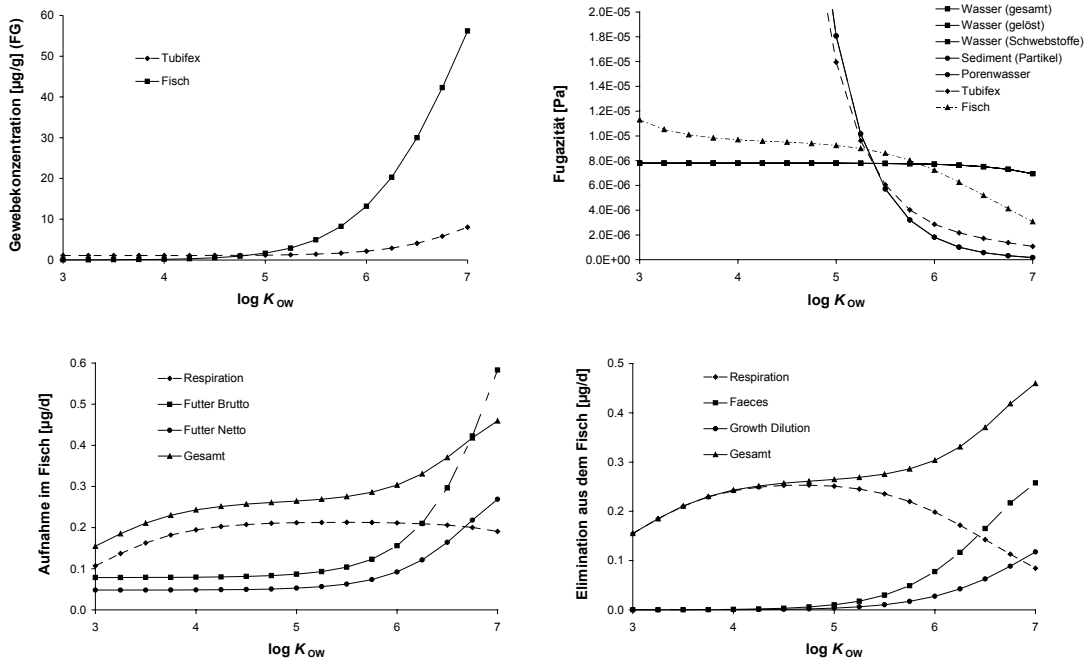


Abb. 29: Sensitivitäts-Analyse des Campfens/Mackay-Modells. Änderungen der Modellvorhersagen in Abhängigkeit vom $\log K_{ow}$.

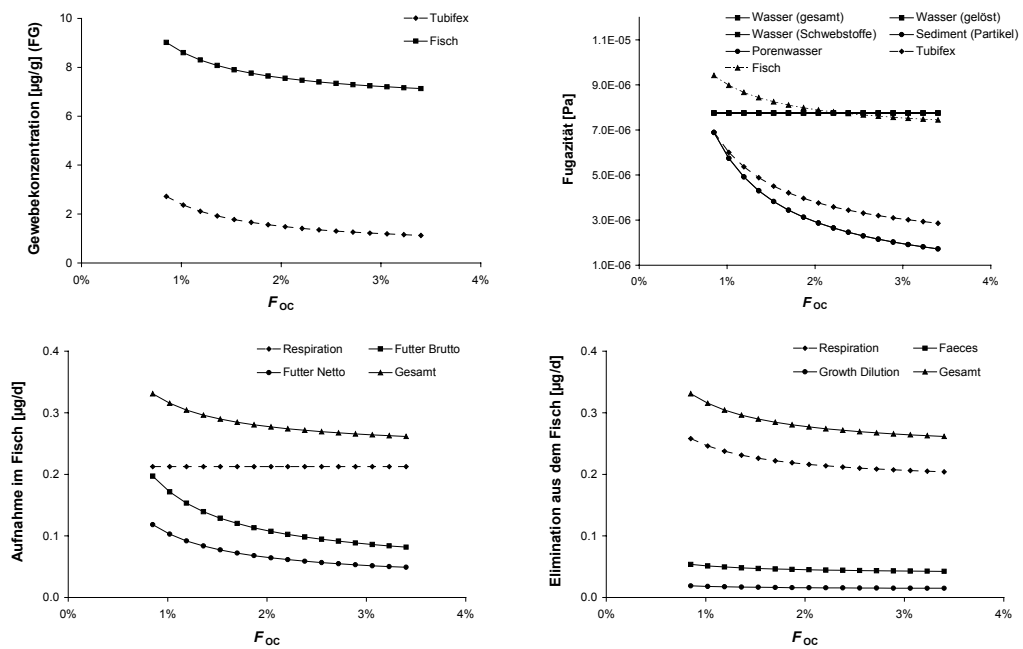


Abb. 30: Sensitivitäts-Analyse des Campfens/Mackay-Modells. Änderungen der Modellvorhersagen in Abhängigkeit vom Gehalt an organischen Kohlenstoff im Sediment (F_{oc}).

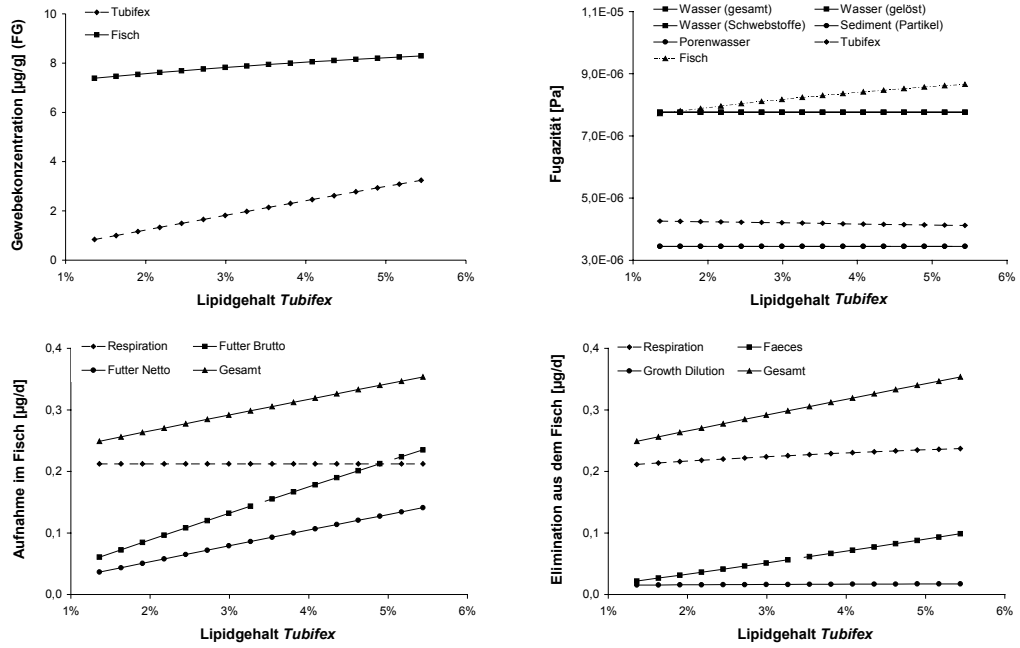


Abb. 31: Sensitivitäts-Analyse des Campfens/Mackay-Modells. Änderungen der Modellvorhersagen in Abhängigkeit vom Lipidgehalt der Würmer.

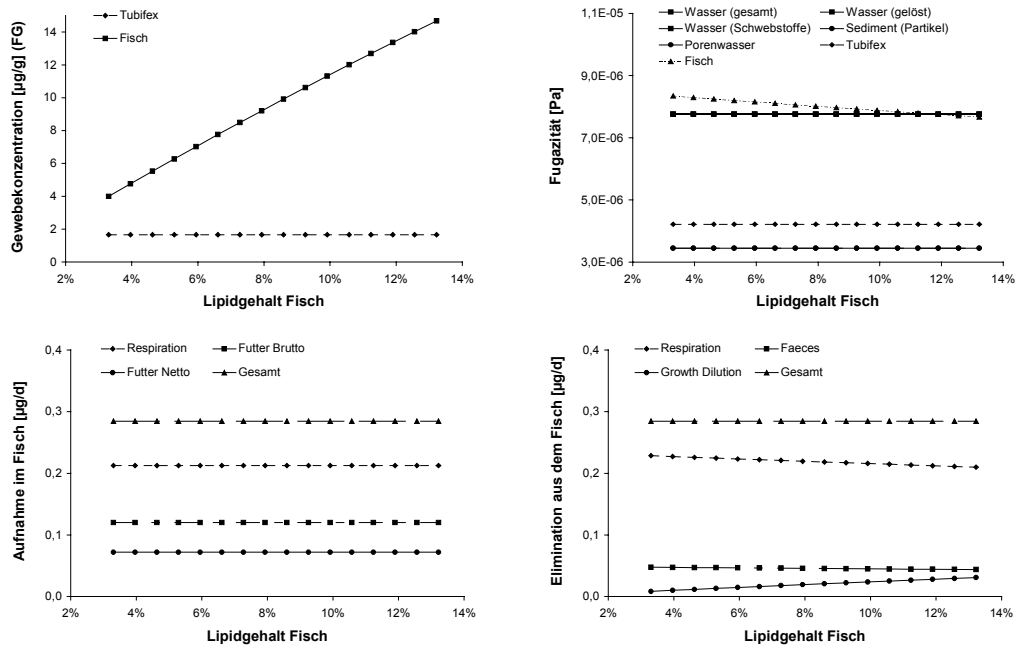


Abb. 32: Sensitivitäts-Analyse des Campfens/Mackay-Modells. Änderungen der Modellvorhersagen in Abhängigkeit vom Lipidgehalt der Fische.

3.3.4 Anreicherung von Terbutryn im Campfens/MacKay-Modell

Die Applikation des Campfens/Mackay-Modell auf das Szenario zur Bioakkumulation von Terbutryn in der Labornahrungskette bestätigt die experimentellen Befunde und sagt keine Anreicherung von Terbutryn innerhalb der Nahrungskette vorher (Tab. 28). Allerdings unterschätzt die Modellvorhersage die gemessenen Terbutryn-Gewebekonzentration in den Tubificiden um den Faktor 2,0. Dagegen wird die Konzentration in den Stichlingen deutlich überschätzt (Faktor 5,8) (vgl. Tab. 20, Tab. 21).

Tab. 28: Anreicherung von Terbutryn im Campfens/MacKay-Modell. Vorhergesagte *steady state*-Konzentrationen, Fugazitäten und Terbutryn-Flüsse in Wasser, Sediment und den trophischen Stufen der Modellnahrungskette.

System	Fugazität [Pa]	Konzentration [ng/L] bzw. [ng/g]
Wasser (gesamt)	4,7E-09	366,5
Wasser (gelöst)	4,7E-09	366,5
Wasser (an Schwebstoffe absorbiert)	4,7E-09	0,01
Sediment (partikel-assoziiert) (TG)	1,5E-08	24,7
Porenwasser (gelöst)	1,5E-08	1,1

Nahrungskettenglieder	Fugazität [Pa]	Konzentration [ng/g]
<i>Tubifex tubifex</i> (gesamt)	1,3E-08	54,8
<i>Tubifex tubifex</i> (Lipid)	1,3E-08	3061,0
<i>Gasterosteus aculeatus</i> (gesamt)	4,4E-09	54,0
<i>Gasterosteus aculeatus</i> (Lipid)	4,4E-09	1057,3

Aufnahme/Elimination Flux	<i>T. tubifex</i> [ng/d]	<i>G. aculeatus</i> [ng/d]
Aufnahme über Respiration	66,090	257,2
Brutto Aufnahme über Futter	-.-	3,5
Netto Aufnahme über Futter	-.-	2,2
Aufnahme gesamt	66,090	259,4
Elimination über Respiration	66,080	240,1
Elimination über Faeces	-.-	0,2
Elimination über Metabolismus	0,005	18,9
<i>Growth Dilution</i>	0,008	0,1
Elimination gesamt	66,092	259,4

-.- Modell liefert keinen Wert.

Die Analyse des Aufnahme/Elimination-Fluxes im *steady state* zeigt, dass die Anreicherung von Terbutryn in den Fischen dominiert wird von der Aufnahme über die respiratorische Oberfläche aus dem umgebenden Wasser (99,2%), während die Aufnahme über die Nahrung (0,8%) vernachlässigbar ist. Der Großteil des Terbutryns wird über die Kiemen eliminiert (92,6%). Die Elimination durch Metabolisierung der Substanz trägt

mit 7,3% zur Gesamtelimination bei. Keinen Einfluss haben die Elimination über Faeces (0,1%) und *growth dilution* (0,04%) (Tab. 28).

3.3.5 Anreicherung von Terbutryn im Gobas-Modell

Wie das Campfens/Mackay-Modell (vgl. Kap. 3.3.4) sagt die Applikation des Gobas/Morrison-Modell auf das Szenario zur Bioakkumulation von Terbutryn in der Labornahrungskette keine Anreicherung von Terbutryn innerhalb der Nahrungskette vorher (Tab. 29). Allerdings unterschätzt auch das Gobas/Morrison-Modell die gemessenen Terbutryn-Gewebekonzentration in den Tubificiden (Faktor 5,2) und überschätzt die Konzentration in den Stichlingen (Faktor 6,5) (vgl. Tab. 20, Tab. 21).

Tab. 29: Anreicherung von Terbutryn im Gobas-Modell mit integriertem Morrison-Submodul. Vorhergesagte *steady state*-Konzentrationen, Fugazitäten und HCB-Flüsse in Wasser, Sediment und den trophischen Stufen der Modellnahrungskette. Alle Werte sind Mittelwerte auf der Basis von 10000 Monte-Carlo-Simulationen.

System	Fugazität [Pa]	Konzentration [ng/L] bzw. [ng/g]
Wasser (gesamt)	4,69E-09	365,5
Wasser (gelöst)	4,69E-09	365,5
Sediment (TG)	5,56E-09	24,7
Nahrungskettenglieder	Fugazität [Pa]	Konzentration [ng/g]
Phytoplankton (gesamt)	4,22E-09	5,8
Phytoplankton (Lipid)	4,22E-09	1161,1
<i>Tubifex tubifex</i> (gesamt)	4,25E-09	20,8
<i>Tubifex tubifex</i> (Lipid)	4,25E-09	1166,8
<i>Gasterosteus aculeatus</i> (gesamt)	4,23E-09	60,0
<i>Gasterosteus aculeatus</i> (Lipid)	4,23E-09	1162,7
Aufnahme/Elimination Flux	<i>T. tubifex</i> [ng/d]	<i>G. aculeatus</i> [ng/d]
Aufnahme über Respiration	--	328,3
Aufnahme über Futter	--	1,0
Aufnahme gesamt	--	329,3
Elimination über Respiration	--	328,8
Elimination über Faeces	--	0,2
Elimination über Metabolismus	--	--
Growth Dilution	--	0,3
Elimination gesamt	--	329,3

-- Modell liefert keinen Wert.

Die Analyse des Aufnahme/Elimination-Fluxes im *steady state* zeigt, dass die Anreicherung von Terbutryn in den Fischen dominiert wird von der Aufnahme über die respira-

torische Oberfläche aus dem umgebenden Wasser (99,7%), während die Aufnahme über die Nahrung (0,3%) vernachlässigbar ist. Der Großteil des Terbutryns wird über die Kiemen eliminiert (99,8%). Keinen Einfluss haben Elimination über Faeces (0,06%) und *growth dilution* (0,1%). Für die Elimination durch Metabolisierung der Substanz wird vom Modell kein Wert vorhergesagt (Tab. 29).

4 Diskussion

4.1 Methodik

Verschiedene Punkte der für die vorliegenden Arbeit etablierten Labornahrungskette und der verschiedenen Expositionsszenarien erscheinen für die Interpretation der gewonnenen Daten als besonders wichtig und sollen daher vor der Diskussion der Einzelergebnisse eingehend erörtert werden:

- Eignung der ausgewählten Spezies als Nahrungskettenglieder;
- Auswahl der Futterrate für das Bioakkumulations- und das Biomagnifikations-szenario;
- Dotierung der Sedimente;
- Versuchsdurchführung: Semistatisch vs. Durchfluss;
- Eignung der ausgewählten Chemikalien als Modellsubstanzen;
- Bestimmung der Elimination.

Nahrungskettenglieder

Der Einsatz von *T. tubifex* in der zweistufigen Labornahrungskette gestaltete sich äußerst unproblematisch. Neben den in Kap. 2.4.1 beschriebenen Vorzügen dieser Art als Testorganismus für die Bestimmung der Bioakkumulation sedimentgebundener Schadstoffe wie ökologischer Relevanz und existierende standardisierte Testvorschriften, zeichnen *T. tubifex* besonders seine einfache Handhabung und Zucht aus. Beide Eigenschaften gewährleisten die permanente Verfügbarkeit der für die Versuche im Rahmen der vorliegenden Arbeit benötigten großen Mengen an Würmern.

Der Dreistachlige Stichling zeigt ein ausgeprägtes Sozialverhalten, das in Gruppen, wie sie im Versuch eingesetzt wurden, dazu führt, dass in der Regel ein Männchen dominant wird und die übrigen Gruppenmitglieder unterdrückt. Dies wirkt sich auf das Fraßverhalten der Tiere aus, denn das jeweils dominante Tier frisst deutlich am meisten. Dies führt zum einen zu einer wesentlich stärkeren Gewichtszunahme und zum anderen zu einer höheren Anreicherung der mit den Würmern aufgenommenen Chemikalie. Was wiederum in einer erhöhten Streuung der Messwerte resultieren kann. Dieses Problem wird vermieden oder verringert, wenn zur gemeinsamen Exposition in größeren Gruppen ausschließlich juvenile Stichlinge, die ein solches Verhalten nicht zeigen, verwendet werden.

Den Fischen sollte im Bioakkumulationsszenario eine selbstständige Nahrungssuche ermöglicht werden. In Vorversuchen zeigte sich allerdings, dass auf der Jagd nach Tubificiden die Stichlinge erhebliche Mengen Sediment aufwirbeln, wobei feine Sedimentpartikel (hauptsächlich Kaolin) nicht sofort wieder sedimentieren und somit der Wasserkörper durch diese Schwebstoffe getrübt wird. Dadurch wird den sich hauptsächlich visuell orientierenden Stichlingen durch das getrübte Wasser die Sicht auf ihre Nahrung genommen. Zusätzlicher Stress entsteht für die Tiere, wenn zu ihren Artgenossen wenig oder kein Sichtkontakt besteht. Die Fische geraten in Panik, wenn sie sich im trüben Wasser unversehens begegnen, und wirbeln durch ihr Fluchtverhalten weitere Partikel auf. Erst durch das kontinuierliche Filtrieren des Testwassers über Glaswollefilter konnte dieses Problem minimiert werden. Der Nachteil dieser Filtertechnik ist jedoch der deutlich komplexere Versuchsaufbau (siehe hierzu Abb. 4 und Abb. 5).

Auswahl der Futterrate für das Bioakkumulations- und das Biomagnifikationsszenario

Standen den Stichlingen im Sediment lebende Tubificiden ad libitum zur Verfügung, wurde in Vorversuchen eine tägliche Fraßrate von 12,8% ihres eigenen Frischgewichts ermittelt. Durch das wöchentliche Einsetzen von vorexponierten Tubificiden im Bioakkumulationsszenario wurde der Wurmbesatz in den Testbecken aufrechterhalten (vgl. Kap. 2.7.4). Im HCB-Bioakkumulationsszenario nahm die mittlere Biomasse der Stichlinge über den Versuchszeitraum um 23,3% (FG) zu. Das entsprach einer mittleren Wachstumsrate von 0,37% pro Tag.

Bei annähernd gleicher Sedimentkonzentration von HCB lag der $BAF_{\text{Wurm/Sediment}}$ der vorexponierten Würmer im Biomagnifikationsszenario um den Faktor 3,2 über dem im Bioakkumulationsszenario (vgl. Kap. 3.1.1). Um in beiden Szenarien eine gleiche tägliche HCB-Dosis zu gewährleisten wurde die Futterrate im Biomagnifikationsszenario um den Faktor 3,2 auf 4% des Fischgewichtes reduziert. Wie sich im Versuchsverlauf zeigte, war mit dieser Futterrate kein Wachstum der Stichlinge gewährleistet. Vielmehr nahm die mittlere Biomasse der Fische um 1,7% ab. Dieser Gewichtsverlust kann als gering eingestuft werden und hatte vermutlich keine Auswirkungen auf die Testergebnisse.

Dotierung der Sedimente

Für die Dotierung eines Sedimentes muss eine homogene Verteilung der Testsubstanz im Sediment gewährleistet sein (Hill et al. 1993). Sowohl die direkte Applikation ins Sediment über eine wässrige Lösung als auch die Dotierung eines Aliquots der Quarzsandfraktion des Kunstsediments sind standardisierte und international akzeptierte Verfahren (OECD 2001). Durch die Bestimmung der Gesamtradioaktivität in Aliquots der frisch dotierten Sedimente wurde zudem eine ausreichend homogene Verteilung der Prüfsubstanzen demonstriert. Für HCB betrug die Abweichung vom Mittelwert $< \pm 6\%$ ($n = 8$) und für Terbutryn $< \pm 5\%$ ($n = 13$).

An das Dotieren des Sedimentes und das Überschichten mit dem Wasserkörper sollte sich noch vor Exposition der Tiere eine Phase anschließen, in der aufgewirbelte Sedimentpartikel sedimentieren können und sich ein Gleichgewicht der Testsubstanz zwischen Sediment, Porenwasser und Wasserkörper einstellen kann (Hill et al. 1993). Die Etablierung eines echten HCB-Gleichgewichtes zwischen den einzelnen Medien kann mehrere Tage bis hin zu Monaten dauern (z.B. Jepsen et al. 1995, Chen et al. 2000). Die Equilibrierungsphase der hier durchgeführten Versuche von 24 Stunden sollte jedoch nicht zu einer Gleichgewichtseinstellung der Prüfsubstanzen zwischen den verschiedenen Medien dienen. Vielmehr war diese Phase dazu ausgelegt, das Sedimentieren aufgewirbelter Sedimentpartikel zu ermöglichen, da ein Gleichgewicht zu diesem Zeitpunkt für die Zielsetzung der Experimente (Vorexposition von *T. tubifex* zur späteren Verfütterung an Fische) nicht zwingend erforderlich war. Nach dem Einsetzen der Würmer in das Sediment wurden so lange Wurmproben analysiert, bis die Chemikalienkonzentration in den Tieren konstant blieb. Mit dem Erreichen eines *steady states* in den Tubificiden wurde von einem Gleichgewicht zwischen den Medien ausgegangen. Somit konnte auf eine vorgeschaltete Phase zur Einstellung eines Gleichgewichtes der Testsubstanz zwischen Sediment, Porenwasser und Wasserkörper verzichtet werden.

Versuchsdurchführung: Semistatisch vs. Durchfluss

Die Frage nach statischer/semistatischer Versuchsdurchführung oder Durchflussverfahren ist in Abhängigkeit von Substanzeigenschaften und Zielsetzung der Untersuchungen individuell zu beantworten. Für Versuche in Sediment-Wasser Testsystemen mit dem Ziel, stark hydrophobe, sedimentgebundene Substanzen zu untersuchen ist eine statische/semistatische Versuchsdurchführung die Methode der Wahl. Im Idealfall stellt sich hierbei ein Konzentrationsgleichgewicht zwischen Sediment und überstehendem Was-

ser ein. Für klassische Biokonzentrationsexperimente (Exposition ausschließlich über den Wasserkörper) empfiehlt die OECD-Richtlinie 305 das Durchflussverfahren (OECD 1996). Da die beim Durchflussverfahren anfallenden großen Mengen an Abwasser beim Einsatz radioaktiv markierter Isotope einen erheblichen Entsorgungsaufwand darstellen, wurden die Biokonzentrationsversuche dieser Arbeit semistatisch durchgeführt. Die hierbei aufgetretenen Konzentrationsschwankungen sind als gering einzustufen und hatten, wie anhand der Aufnahmekinetiken zu sehen ist, keinen Einfluss auf die Testergebnisse. Kritisch zu betrachten ist der trotz semistatischer Versuchsführung und täglicher Entfernung der Faeces langsame Anstieg der Wasserkonzentration im HCB-Biomagnifikationsszenario (Abb. 16). Dies impliziert die Möglichkeit der Wiederaufnahme bereits eliminiertes Testsubstanzen durch die Fische. Das Fugazitätsverhältnis von HCB in Fischen und Wasser ($f_{\text{Fisch}}/f_{\text{Wasser}} = 5,1$) legt jedoch die Vermutung nahe, dass die im Fisch gemessene Konzentration tatsächlich auf der Ingestion kontaminierter Tubificiden beruhte, da die Konzentration in den Fischen weit über einer Konzentration lag, die auf einem thermodynamischen Gleichgewicht mit dem Wasser beruhen würde (vgl. Kap. 2.12.2, 4.2.2, 4.2.3).

Eignung der ausgewählten Chemikalien als Modellsubstanzen

^{14}C -Terbutryn wurde im hier vorgestellten Testsystem nach Applikation ins Sediment zu deutlich höheren Anteilen ins überstehende Wasser freigesetzt als Hexachlorbenzol. Die relativ hohe Wasserlöslichkeit der Substanz bewirkte, dass im Laufe der Expositionsphasen sedimentgebundenes ^{14}C -Terbutryn in die Wasserphase diffundierte. Diese Umverteilung der Testsubstanzen wurde durch die Bioturbation der Würmer sowie durch Fische, die bei der Nahrungssuche Sediment resuspendierten, noch verstärkt. Um die Wasserqualität aufrechtzuerhalten, wurden die Versuche semistatisch durchgeführt. Durch die wöchentlichen Wasserwechsel wurde dem System über den Versuchszeitraum aus dem Sediment remobilisierte Radioaktivität entzogen. Dies führte zu einer Abnahme der Aktivität im Wasserkörper und letztendlich über Diffusion, Bioturbation und Sedimentresuspension auch im Sediment. Um diese Verarmung des Wasser-Sediment-Systems an Testsubstanzen zu verhindern und ein Gleichgewicht zwischen Sediment- und Wasserkonzentration aufrechtzuerhalten, wäre für Stoffe wie Terbutryn eine Nachdosierung ins Wasser nötig. Eine solche Maßnahme hat jedoch nur dann Sinn, wenn die Testsubstanzen, die dem System entzogen werden, nicht nennenswert metabolisiert werden. Zumindest bei Verwendung radioaktiv markierter Testsubstanzen erhält man während der Aufnahme einer Anreicherungskinetik keine Information, ob die gemessene

Aktivität auf Ursubstanz oder Metaboliten beruht. Daher ist es bei stark metabolisierten Chemikalien kritisch zu betrachten, wenn entzogene Radioaktivität durch Ursubstanz ersetzt wird.

Die für die vorliegende Arbeit entwickelte Testmethode eignet sich daher weniger für gut wasserlösliche Substanzen, wie Terbutryn, sondern primär für die Überprüfung der Bioakkumulation und Biomagnifikation von hoch lipophilen Chemikalien, die bei geringer Wasserlöslichkeit stark an Sedimentpartikel adsorbieren. Dies konnte am Beispiel von Hexachlorbenzol gezeigt werden.

Bestimmung der Elimination

Um eine Gesamteinschätzung der Bioakkumulation oder Biokonzentration einer Chemikalie abgeben zu können, ist es sinnvoll, neben der Anreicherung des Stoffes auch dessen Elimination aus dem Testorganismus zu untersuchen (Franke et al. 1994, Beek et al. 2000). Wird nämlich die Substanz nach Wegfall der Exposition, d.h. nach Verbringen der Testorganismen in fremdstofffreies Medium bzw. nach Verfütterung unkontaminierter Nahrung, nicht vollständig ausgeschieden, so besteht das Risiko für einen Transfer dieser "*bound residues*" an Organismen höherer trophischer Ebenen (Beek et al. 2000). Aufgrund der Komplexizität der Versuchsanordnungen sowie der langen Versuchsdauer konnten im Rahmen der vorliegenden Arbeit Eliminationskinetiken für die verschiedenen Expositionsszenarien nicht bestimmt werden. Diese Entscheidung bedeutet aber nicht, dass die generelle Notwendigkeit der Bestimmung der Elimination in Frage gestellt wird.

4.2 Anreicherung von Hexachlorbenzol in der Labornahrungskette

4.2.1 Bioakkumulation bei Tubificiden

Es konnte gezeigt werden, dass sediment-assoziiertes HCB in *T. tubifex* schnell angereichert wird. Nach weniger als zehn Tagen war ein *steady state* in den Tubificiden erreicht. Der hier ermittelte $BAF_{\text{Wurm/Sediment}}$ von 7,8 stimmt gut mit publizierten Anreicherungsfaktoren aus dotiertem künstlichem Sediment (Egeler et al. 1997, Egeler et al. 1999c) und dotiertem Freilandsediment (Oliver 1987) überein.. Die Schwankungen der HCB-Konzentration im Wurmgewebe über den weiteren Versuchsverlauf sind vermutlich auf Schwankungen des Lipidgehaltes der Tiere zurückzuführen, da nach Abschluss der Aufnahmeperiode die Tubificiden einmal wöchentlich gefüttert wurden.

Bei der zweiten Exposition von *T. tubifex* zur Verfütterung an separat gehaltene Stichlinge im Biomagnifikationsszenario wurde dieser Bioakkumulationsfaktor mit einem $BAF_{\text{Wurm/Sediment}}$ von 25 deutlich überschritten. Dieser noch im Bereich der biologischen Variabilität liegende Unterschied in den Anreicherungsfaktoren um den Faktor 3,2 könnte auch mit einem höheren Fettgehalt der Tubificiden zu diesem Zeitpunkt erklärt werden. Dies hätte zur Folge, dass mehr HCB in den Lipidfraktionen der Würmer gespeichert werden könnte. Diese Vermutung bleibt allerdings unbewiesen, da in diesem Experiment der Lipidgehalt der Würmer nicht bestimmt wurde.

Im Mittelpunkt der hier vorgestellten Untersuchungen stand die Weitergabe von sedimentgebundenen Substanzen innerhalb einer limnischen Nahrungskette. Daher wurde - um Naturnähe zu wahren - zur Bestimmung der Chemikalien-Konzentrationen in den Tubificiden auf eine vorherige Entleerung des Darminhaltes verzichtet. Auch im Freiland wird der Darminhalt der Beute vom Prädator mit aufgenommen. Bei einem mittleren Darminhalt von 15% des Trockengewichtes der Tubificiden (Oliver 1987) ergibt sich ein Anteil von ca. 2% am Feuchtgewicht der Würmer. Wie Egeler et al. (1999c) am Beispiel von Lindan zeigen konnten, scheint dieser niedrige Anteil des Darminhaltes am Feuchtgewicht der Würmer keinen entscheidenden Einfluss an der Gesamtanreicherung von sedimentgebundenem Lindan in Tubificiden zu haben.

Nachdem die Tubificiden ein *steady state* erreicht hatten, wurden für das Bioakkumulationsszenario Fische in die Ansätze mit den vorexponierten Würmern eingesetzt. In der Folge stieg die HCB-Konzentration in den Tubificiden signifikant an (vgl. Abb. 10). Die Ursache für dieses Phänomen ist vermutlich in der Ausscheidung kontaminierter Faeces durch die Stichlinge zu suchen. Die zu Boden sinkenden Faeces können den detritivoren Tubificiden als Nahrung dienen. Dies bedeutet aber auch, dass HCB welches von den Fischen durch die Ausscheidung von Faeces eliminiert wird, über den Umweg der Benthosfauna zurück in die Nahrungskette gelangen kann. Eine Aufklärung dieser Zusammenhänge bedarf über den Rahmen dieser Arbeit hinausgehender Untersuchungen.

Ein weiterer interessanter Aspekt von Tubificiden als Labornahrungskettenglied ergibt sich aus Beobachtungen von Lucan-Bouche et al. (1999), die in Kupfer und Blei exponierten *T. tubifex* eine stark ungleichmäßige Verteilung der Metalle im Körper der Würmer feststellten. Dabei reicherten sich beide Metalle im Hinterteil des Wurmkörpers an. Hierin vermuten die Autoren in Verbindung mit der beobachteten Autotomie cauda-

ler Körperregionen einen für *T. tubifex* spezifischen Dekontaminationsprozess. Aufgrund von quantifizierbaren Autotomieeffekten bei gegenüber sedimentgebundenem Kupfersulfat bzw. Lindan exponierten Tubificiden der Arten *T. tubifex* und *Limnodrilus hoffmeisteri* (Meller et al. 1998) kann angenommen werden, dass dieser Dekontaminationsprozess nicht auf *T. tubifex* und Metalle beschränkt ist, sondern auf andere Tubificidenarten und organische Chemikalien übertragbar ist. Da die Stichlinge bei ihrer Jagd auf Tubificiden im Bioakkumulationsszenario oft nicht den ganzen Wurm fraßen, sondern nur das in den Wasserkörper gestreckte Hinterteil der Würmer erbeuteten, kann davon ausgegangen werden, dass eine Anreicherung von Chemikalien in den caudalen Körperregionen von *T. tubifex* im Rahmen eines Dekontaminationsvorganges zu einer verstärkten Weitergabe von sedimentgebundenen Substanzen an die nächste trophische Ebene führen kann.

4.2.2 Bioakkumulation beim Stichling

Im Bioakkumulationsszenario wird die Summe der verfügbaren Testsubstanz aus allen Kompartimenten im Fisch bestimmt. Die Teilprozesse der Aufnahme aus Wasserkörper, Sediment und Nahrung sind in diesem Ansatz überlagert von der resultierenden Gesamtanreicherung im Fisch. Anhand der Anreicherungsfaktoren gegenüber den Kompartimenten Wasser ($AF_{\text{Fisch/Wasser}} (\text{FG/FG}) = 52500$), Sediment ($AF_{\text{Fisch/Sediment}} (\text{FG/FG}) = 47$) und Nahrung ($AF_{\text{Fisch/Wurm}} (\text{FG/FG}) = 3,2$) wird deutlich, dass sedimentgebundenes HCB in den Stichlingen stark angereichert wurde (vgl. Tab. 17). Da die Gewebekonzentration von HCB im Räuber die Konzentration in seiner Beute überstieg ($AF_{\text{Fisch/Wurm}} > 1$), kann von einer Aufkonzentrierung der Chemikalie entlang der Labornahrungskette ausgegangen werden (Biomagnifikation). Diese Schlussfolgerung wird auch bestätigt, wenn, wie von zahlreichen Autoren empfohlen, auf den Fettgehalt in Fisch und Nahrung normierte Konzentrationen betrachtet werden (z.B. Landrum & Fisher 1998, Gobas et al. 1999). Dieser lipidnormierte Anreicherungsfaktor betrug 1,3 und zeigt somit auch eine Biomagnifikation von HCB in der Labornahrungskette an.

Dieses Ergebnis stimmt gut überein mit den von Berglund et al. (2000) ermittelten Biomagnifikationsfaktoren ($BMF_{\text{Fisch/Zooplankton}}$) für PCB-Verbindungen in pelagischen, limnischen Nahrungsketten. Die Autoren fanden eine deutliche Korrelation der Biomagnifikation mit dem K_{ow} . PCBs mit einem $\log K_{ow} > 6$ zeigten einen $BMF > 1$, wohingegen weniger lipophile Verbindungen nicht entlang der Nahrungsketten

aufkonzentriert wurden. Mit einem $\log K_{ow}$ von 5,72 liegt HCB nahe an diesem von Berglund et al. (2000) ermittelten Schwellenwert.

Dem Fugazitätsansatz (*fugacity approach*) zufolge erlaubt das Wissen über die Lage des thermodynamischen Gleichgewichtes zwischen der Chemikalienkonzentration im Fisch und den einzelnen korrespondierenden Medien experimentell, gewonnene Bioakkumulationsdaten zu interpretieren (z.B. Mackay 1991, Gobas et al. 1999) (siehe Kap. 2.12.2). Damit wird eine Einschätzung möglich, ob sich die HCB-Konzentration in den Stichlingen im Gleichgewicht mit einzelnen Aufnahmepfaden befand.

Das Verhältnis der HCB-Fugazitäten zwischen Sediment und Wasser ($f_{\text{Sediment}}/f_{\text{Wasser}}$) im Biokonzentrationsszenario mit Sediment (ohne Würmer) betrug 1,1 (vgl. Tab. 18). Damit kann davon ausgegangen werden, dass sich zwischen Sediment und Wasserkörper ein thermodynamisches Gleichgewicht eingestellt hatte. Im Bioakkumulationsszenario dagegen war das Verhältnis deutlich kleiner als 1 ($f_{\text{Sediment}}/f_{\text{Wasser}} = 0,5$). Offensichtlich überstieg hier die HCB-Konzentration im Wasserkörper ihre Gleichgewichtskonzentration mit dem Sediment. Sehr wahrscheinlich kann dieser Anstieg der Konzentration im Wasser auf die Aktivität der Tubificiden im Sediment zurückgeführt werden (Matisoff et al. 1999). Die durch die Würmer bedingte Bioturbation der Sediment-Wasser-Grenzschicht induziert durch Remobilisierung sedimentgebundener Substanzanteile einen HCB-Flux vom Sediment in den Wasserkörper (Karickhoff & Morris 1985, Thibodeaux et al. 2001).

Die Fugazitätsverhältnisse zwischen Fisch und Wasser ($f_{\text{Fisch}}/f_{\text{Wasser}} = 1,5$) sowie zwischen Fisch und Wurm ($f_{\text{Fisch}}/f_{\text{Wurm}} = 1,3$) deuten darauf hin, dass die HCB-Konzentration in den Stichlingen nahe der Gleichgewichtskonzentration mit den Substanzkonzentrationen im Wasser und in der Nahrung war. Allerdings war die in den Fischen gemessene Konzentration leicht höher als eine Gewebekonzentration, die ausschließlich auf einem thermodynamischen Gleichgewicht mit dem Wasser oder dem Futter beruhen würde. Das Verhältnis der Fugazitäten zwischen Fisch und Sediment ($f_{\text{Fisch}}/f_{\text{Sediment}} = 3,3$) demonstriert, dass die HCB-Konzentration im Fischgewebe weit entfernt von einem Gleichgewicht mit dem Sediment war. Basierend auf den aus dem Fugazitätsansatz gewonnenen Erkenntnissen erscheinen die Aufnahme aus dem Wasserkörper und über die Nahrung die Hauptaufnahmepfade von HCB in den Fischen zu sein. Dahingegen ist der Beitrag zur Gesamtanreicherung im Fischgewebe durch die Anwesenheit von kontaminiertem Sediment als relativ klein einzustufen (vgl. hierzu Kap. 4.4).

4.2.3 Biomagnifikation beim Stichling

Im Biomagnifikationsszenario stieg die HCB-Konzentration in den Fischen bis zum Ende der 60-tägigen Exposition stetig an. Es stellte sich kein *steady state* in den Stichlingen ein (Abb. 13). Auch die Analyse des Fugazitätsverhältnis zwischen Fisch und Wurm ($f_{\text{Fisch}}/f_{\text{Wurm}} = 0,5$) zeigt, dass die Konzentration in den Stichlingen noch deutlich unter ihrer thermodynamischen Gleichgewichtskonzentration mit den Würmern lag (Tab. 18). Daher ist davon auszugehen, dass eine verlängerte Exposition zu einem weiteren Anstieg der HCB-Konzentration und letztendlich zu einem *steady state* in den Testorganismen geführt hätte. Der für Tag 60 berechnete $AF_{\text{Fisch/Wurm}}$ von 1,3 (basierend auf Feuchtgewicht) bzw. von 0,5 (lipidnormiert) zeigt keine Biomagnifikation an. Allerdings ist aus den oben dargelegten Gründen das Ergebnis dieses Versuches kritisch zu betrachten und eine Biomagnifikation von HCB in der Nahrungskette *T. tubifex* und *G. aculeatus* bei verlängerter Exposition oder im Freiland nicht auszuschließen. Die Hinweise aus der Literatur hierauf sind widersprüchlich. In Fütterungsstudien mit HCB-dotiertem kommerziellem Fischfutter ermittelten Fisk et al. (1998) für juvenile Regenbogenforellen lipidnormierte Biomagnifikationsfaktoren von 1,4 – 2,3, während Clark & Mackay (1991) keine Biomagnifikation von HCB in Guppies feststellen konnten.

Zwei der entscheidenden Faktoren, die eine Aufnahme von Chemikalien über die Nahrung und damit eine Biomagnifikation bestimmen, sind Absorptions- und Assimilationseffizienz (Gobas et al. 1999, Mackay & Fraser 2000). Absorption ist die Aufnahme eines Stoffes über die Zellmembranen der Darmwand. Die Absorptionseffizienz, die in der Literatur oft auch als *gut uptake efficiency* bezeichnet wird, berechnet sich aus dem Verhältnis zwischen dem in der Darmwand absorbierten Anteil des Stoffes und dem mit dem Futter ingestierten Stoff (Penry 1998). Dagegen beschreibt die Assimilationseffizienz den Anteil eines absorbierten Stoffes, der in das Körpergewebe inkorporiert wird und der aus dem Verhältnis der Anteile zwischen inkorporiertem und ingestiertem Stoff bestimmt wird (Penry 1998). Damit kann die Assimilation als Absorption minus Exkretion betrachtet werden (Wang & Fisher 1999). Da im Biomagnifikationsszenario die Konzentration im Fisch jeweils 24 Stunden nach der letzten Fütterung mit kontaminierten Tubificiden bestimmt wurde, kann davon ausgegangen werden, dass die in den Stichlingen wiedergefundene Substanzmenge nach Darmpassage und Elimination im Körpergewebe inkorporiert war. Daher kann aus dem Verhältnis der im Fisch gemesse-

nen und der über das Futter applizierten Substanzmenge eine Assimilationseffizienz von ca. 60% ermittelt werden (Abb. 15).

Wenn, wie im Biomagnifikationsszenario, die Gewebekonzentration im Organismus annähernd linear ansteigt, kann von einer niedrigen Eliminationsrate der Chemikalie ausgegangen werden. Deshalb kann die Absorptionseffizienz aus der Steigung der Geraden bestimmt werden (Gobas et al. 1993a). Somit könnte die Absorptionseffizienz im vorliegenden Fall näherungsweise ebenfalls durch das Verhältnis der im Fisch gemessenen und der über das Futter applizierten Substanzmenge bestimmt werden. Auch ohne diese Annahme kann von einer Absorptionseffizienz von mindestens 60% ausgegangen werden, da per definitionem die Absorptions- größer als die Assimilationseffizienz ist (Penry 1998, Wang & Fisher 1999). Das bedeutet, dass mindestens 60% des über kontaminierte Tubificiden ingestierten HCB über die Zellmembranen der Darmwand absorbiert und 60% im Stichlingsgewebe inkorporiert wurde (Assimilation).

In den späten 60er Jahren wurde ein erster Versuch unternommen, die Mechanismen der Biomagnifikation in Nahrungsketten zu erklären. Der Anstieg der Gewebekonzentration von z.B. DDT von einer trophischen Stufe zur nächsten wurde mit der im Organismus stattfindenden Transformation von kontaminierter Biomasse zu Energie erklärt (Woodwell 1967). Connolly & Pedersen (1988) konnten als erste an Monitoringdaten zeigen, dass im Zuge der Biomagnifikation nicht nur die Konzentration einer Chemikalie, sondern auch deren Fugazität im Räuber gegenüber seiner Beute ansteigt. Nach dem heutigen Stand des Wissens wird der Transport einer Chemikalie entlang der Nahrungskette entgegen diesen thermodynamischem Gradienten durch den Anstieg der Fugazität des Stoffes im Verdauungstrakt des Prädators in Folge der Nahrungsverdauung erklärt (Gobas et al. 1993a, Gobas et al. 1993b, Russell et al. 1995). Vorwiegend durch die Verdauung von Lipiden und deren Absorption über die Darmwand kann die Fugazität im verbleibenden Darminhalt auf Werte ansteigen, welche die Fugazität der Chemikalie im Gewebe überschreiten. Dieser Anstieg ermöglicht dann eine simple passive Diffusion der Substanz über die Zellmembranen der Darmwand (Gobas et al. 1999). Dieses Phänomen wird von Mackay & Fraser (2000) sehr anschaulich als Verlust der *solvent capacity* der Lipidfraktion beschrieben. Obwohl die Lipidphase den Fugazitätsanstieg zu dominieren scheint, tragen auch Verdauung und Absorption von anderen organischen Materialien (z.B. Kohlenhydrate, Proteine) hierzu bei. Demzufolge kann die Art des Futters und dessen Zusammensetzung einen entscheidenden Einfluss auf die Aufnahme

einer Chemikalie über die Nahrung im Fisch haben (Gobas et al. 1999). Bei Exposition von Fischen gegenüber HCB-dotiertem kommerziellen Fischfutter sind in der Literatur Absorptionseffizienzen von 46 - 50% bei Goldfischen (Gobas et al. 1993a) und eine Assimilationseffizienz von 34% bei juvenilen Regenbogenforellen (Fisk et al. 1998) beschrieben. Die in der vorliegenden Arbeit bestimmten deutlich höheren Effizienzen weisen daraufhin, dass die Exposition von Fischen gegenüber kontaminierten Tubificiden ein *worst case* Szenario darstellt. Deshalb ist in Verbindung mit einer erleichterten Extrapolation der Daten auf das Freiland durch das natürliche Räuber-Beute-Verhältnis von Tubificiden und Stichlingen diese Expositionsform zur Untersuchung der Anreicherung einer Chemikalie ausschließlich über den Nahrungspfad zu bevorzugen.

4.2.4 Biokonzentration beim Stichling

Der im Biokonzentrationsszenario ermittelte $BCF_{\text{Fisch/Wasser}}$ war bei alleiniger Exposition gegenüber dem Wasserkörper mit 23100 deutlich niedriger als der Anreicherungsfaktor in Anwesenheit von dotiertem Sediment ($AF_{\text{Fisch/Wasser}} = 36800$), obwohl bei der Exposition gegenüber Sediment klar erkennbar auch nach 63 Tagen noch kein *steady state* erreicht wurde (Abb. 19, Tab. 17). Dieser Unterschied beruht vermutlich auf der Anwesenheit organischer Partikel in der Wasserphase. In der Literatur liegen widersprüchliche Aussagen zu diesem Zusammenhang vor. Zum Beispiel beschreiben mehrere Autoren eine negative Korrelation der Akkumulation organischer Chemikalien mit dem organischen Gehalt im Wasser (Neff 1984, Landrum et al. 1987, Weinstein & Oris 1999, Steinberg et al. 2000), während Lores et al. (1993) keinen Einfluss von Huminsäuren im Wasser auf die HCB-Konzentration in Fischen feststellen konnten. Clements et al. (1994) beschreiben erhöhte Gewebekonzentrationen in Fischen, die direkt gegenüber mit Benzo[a]pyren und Fluoranthen dotiertem Sediment exponiert wurden im Vergleich zur Exposition ausschließlich über Wasser. Auch Schuytema et al. (1988) fanden bei Exposition von Dickkopfelritzen gegenüber HCB-dotiertem Sediment signifikant höhere $BCF_{\text{Fisch/Wasser}}$ Werte im Vergleich zu Expositionsszenarien mit Wasser als einzigem Aufnahmepfad. Der auch in der vorliegenden Arbeit beobachtete Anstieg der Anreicherungsfaktoren von HCB in Fischen in Gegenwart von kontaminierten Sediment kann mehrere mögliche Ursachen haben. Zum einen kann es aufgrund der großen Austauschoberfläche der Kiemen beim intensiven Kontakt von Kiemen und kontaminierten Schwebstoffen zu einer verstärkten Desorption des partikel-assoziierten HCB's kom-

men und zum anderen können die Fische kontaminiertes Sediment ingestieren (Kolok et al. 1996).

4.3 Anreicherung von Terbutryn in der Labornahrungskette

4.3.1 Bioakkumulation bei Tubificiden

Auf Grund der Abnahme der Substanzkonzentration im Sediment und des damit verbundenen komplexen Konzentrationsverlaufes im Organismusgewebe sind die gewonnenen Daten schwer zu interpretieren (siehe hierzu Kap. 4.1). Dennoch konnte gezeigt werden, dass sich in den gegenüber ^{14}C -Terbutryn-dotiertem Sediment exponierten Tubificiden schnell ein *steady state* (nach weniger als fünf Tagen) einstellte. Trotz der abnehmenden Gewebekonzentration im Versuchsverlauf zeigt der nach 28 Tagen ermittelte Anreicherungsfaktor auf Basis der Gesamtradioaktivität ($\text{AF}_{\text{Wurm/Sediment}} = 4,4$), dass ^{14}C -Terbutryn in den Würmern gegenüber dem Sediment angereichert wurde (vgl. Kap. 3.2.1).

Zur Bioakkumulation von Terbutryn in aquatischen Organismen sind keine Daten publiziert. Unter der Annahme, dass die Lipophilie einer Chemikalie entscheidenden Einfluss auf ihre Bioakkumulation hat, sollte allerdings der Vergleich mit einer Substanz ähnlicher Lipophilie eine grobe Einschätzung der Ergebnisse erlauben. So untersuchten Egeler et al. (1997) die Anreicherung von γ -Hexachlorcyclohexan in den Tubificiden *T. tubifex* und *Limnodrilus hoffmeisteri* gegenüber dotiertem künstlichem Sediment. Dabei ermittelten sie für das anhand des K_{OW} mit Terbutryn vergleichbare Lindan ($\log K_{\text{OW}} = 3,63$; Rippen 1991) auch vergleichbare Bioakkumulationsfaktoren ($\text{BAF}_{\text{Wurm/Sediment}} = 4,1 - 5,0$; bezüglich Feuchtgewicht). Somit kann davon ausgegangen werden, dass sich sehr schnell ein Aufnahme-Eliminationsgleichgewicht in den Tubificiden einstellte und die Gewebekonzentration der abnehmenden Konzentration von Terbutryn im Sediment folgte und dies somit keinen entscheidenden Einfluss auf die Höhe der ermittelten Anreicherungsfaktoren hatte. Der beobachtete Einfluss der Anwesenheit von Fischen auf die Anreicherung der Testsubstanz in Tubificiden trat auch bei Terbutryn auf und wurde bereits im Zusammenhang mit HCB eingehend diskutiert (Kap. 4.2.1).

4.3.2 Bioakkumulation beim Stichling

Wie auch bei der Bioakkumulation in Tubificiden erschwert der Rückgang der Prüfsubstanzmenge im Testsystem die Interpretation der gewonnenen Daten. Der Verlauf der ^{14}C -Aktivität im Fischgewebe während der Expositionsphase ist eng korreliert mit der Konzentration des ^{14}C -Terbutryn im freiem Wasserkörper (Abb. 21, Abb. 22). Daher lässt sich auch die Kinetik der Anreicherungsfaktoren deutlich besser an die Konzentration im Wasser anpassen als an die Konzentration im Futter (Abb. 23, Abb. 24). Da bei Versuchsende nach 28 Tagen die ^{14}C -Aktivität im Gewebe des Räubers die Konzentration in seiner Beute überstieg ($AF_{\text{Fisch/Wurm}} = 1,4$), könnte auf den ersten Blick von einer Biomagnifikation von Terbutryn in der Labornahrungskette ausgegangen werden. Allerdings wurde Terbutryn in den Stichlingen zum überwiegenden Teil zu einem polareren Metaboliten transformiert (Tab. 19). Daher müssen zur Abschätzung der Anreicherung von Terbutryn die auf den Gehalt an Ursubstanz korrigierten Gewebekonzentrationen und Anreicherungsfaktoren betrachtet werden (Tab. 21, Tab. 22). Hierbei wird deutlich, dass Terbutryn nicht entlang der Labornahrungskette aufkonzentriert wurde ($AF_{\text{Fisch/Wurm}} = 0,09$). Hohe Metabolisierungsraten der untersuchten Substanz im Organismus können in einem niedrigen BCF (bezüglich der Ursubstanz) resultieren (De Bruijn & Hermens 1991, Sijm & Opperhuizen 1988). Damit steigt die Eliminationsrate der Ursubstanz an, was aber nicht notwendigerweise bedeuten muss, dass die Metabolite aus dem Organismus eliminiert werden (Sijm & Hermens 2000). Stabile Metabolite können so durch mögliche negative Effekte auf den Organismus oder den Transfer an die nächste trophische Ebene ein Risiko darstellen (Beek et al. 2000). Es ist demnach nicht zu vernachlässigen, dass sich im Fischgewebe signifikante Mengen eines Abbauproduktes von Terbutryn anreicherten. Über das Bioakkumulationspotential dieses Metaboliten könnten Untersuchungen zur Elimination von ^{14}C -Terbutryn oder die Identifikation dieser Substanz und nachfolgende Bioakkumulationsmessungen Aufschluss geben (vgl. hierzu Franke 1996, Beek et al. 2000). Aufgrund des komplexen Versuchsaufbaus und der langen Expositionsphasen wurden solche Untersuchungen in der vorliegenden Arbeit nicht durchgeführt.

Die Analyse der Fugazitätsverhältnisse zwischen den Fischen und den einzelnen Kompartimenten ($f_{\text{Fisch}}/f_{\text{Wasser}} = 0,16$; $f_{\text{Fisch}}/f_{\text{Sediment}} = 0,05$; $f_{\text{Fisch}}/f_{\text{Futter}} = 0,03$) deutet daraufhin, dass die Terbutryn-Konzentration in den Stichlingen weit unter einer Konzentration lag, die auf thermodynamischen Gleichgewichten mit dem Wasser, Sediment oder dem Futter beruhen würde. Diese Reduktion der Fugazität von Terbutryn im Stichlingsge-

webe ist auf die Metabolisierung der Substanz in den Fischen zurückzuführen. Im Gegensatz zum Bioakkumulationsszenario mit HCB (Kap. 4.2.2) ist für Terbutryn auf Basis des Fugazitätsansatzes keine Differenzierung der Aufnahmepfade im Stichling möglich.

4.3.3 Biokonzentration beim Stichling

Ziel der Biokonzentrationsversuche mit Terbutryn war eine Zuordnung der Anteile einzelner Aufnahmepfade an der Gesamtanreicherung im Fisch im Bioakkumulationsszenario. Daher konnte hierbei auf eine Differenzierung nach Ursubstanz und Metaboliten verzichtet werden, da diese, wie im Folgenden gezeigt wird, keinen zusätzlichen Erkenntnisgewinn dargestellt hätte.

Bei ausschließlicher Exposition über den Wasserkörper stellte sich in den Stichlingen schnell ein *steady state* ein und ^{14}C -Terbutryn wurde mit einem BCF von 228 angereichert (Abb. 26). Auch im Experiment zur Exposition der Fische gegenüber dotiertem Sediment erschwerte die Verarmung des Testsystems an Prüfsubstanz durch die nach Tag sieben absinkende Gewebekonzentration eine Interpretation der Daten. Jedoch ist klar erkennbar, dass im Gegensatz zu den Befunden für HCB (vgl. Kap. 4.2.4) die Anwesenheit von kontaminiertem Sediment nicht zu einer Erhöhung der Anreicherung von ^{14}C -Terbutryn im Fisch führte. So war der Anreicherungsfaktor nach elf Tagen im klassischen Biokonzentrationsversuch ($AF_{\text{Fisch/Wasser}} = 253$) nahezu identisch mit dem $AF_{\text{Fisch/Wasser}}$ von 247 bei Exposition gegenüber dotiertem Sediment zum Zeitpunkt der höchsten gemessenen ^{14}C -Aktivität im Wasserkörper (Tag 7; Tab. 20). Auch die Anwesenheit kontaminierter Beute im Bioakkumulationsszenario hatte keine stärkere Anreicherung in den Fischen zur Folge ($AF_{\text{Fisch/Wasser}} = 235$; Tag 7). Damit kann davon ausgegangen werden, dass der Hauptaufnahmepfad von ^{14}C -Terbutryn in Stichlingen das umgebende Wasser ist, während die Anwesenheit kontaminierten Sediments und die Aufnahme über die Nahrung eine untergeordnete Rolle spielen.

4.4 Differenzierung der Aufnahmepfade am Beispiel von Hexachlorbenzol

Aus dem Vergleich der untersuchten HCB-Expositionsszenarien wird deutlich, dass die Anreicherungsfaktoren im Fisch bezüglich der einzelnen Kompartimente ($AF_{\text{Fisch/Wasser}}$, $AF_{\text{Fisch/Sediment}}$, $AF_{\text{Fisch/Wurm}}$) mit zunehmender Anzahl der Aufnahmepfade anstiegen

(Tab. 17). In Freilandstudien zur Bioakkumulation wird oft einfach die Konzentration der untersuchten Chemikalie im Organismus durch die jeweilige Konzentration des Stoffes in Wasser, Sediment oder der Beute dividiert, um Biokonzentrations-, Bioakkumulations- oder Biomagnifikationsfaktoren zu bestimmen, unabhängig von der eigentlichen Quelle der akkumulierten Substanz. Wenn aus Labor-Biokonzentrationstests bzw. aus Studien zur Aufnahme via Nahrung vergleichbare Daten vorliegen, kann der Beitrag der verschiedenen Aufnahmepfade zur Gesamtbioakkumulation im Fisch grob abgeschätzt werden (vgl. hierzu Qiao et al. 2000). Für die nachfolgenden Betrachtungen sei jedoch ausdrücklich darauf hingewiesen, dass sowohl die Biomagnifikation als auch die Biokonzentration idealisierte Grenzfälle darstellen, die in Reinform weder im Freiland noch unter Laborbedingungen kaum auftreten.

Auf der Grundlage der dargestellten Ergebnisse der verschiedenen Expositionsszenarien, wird im Folgenden eine im Rahmen dieser Arbeit entwickelte, simple Abschätzung für HCB präsentiert. Hierbei werden mit Hilfe der Anreicherungs-faktoren aus Biokonzentrations- und Biomagnifikationsszenario diejenigen HCB-Konzentrationen in den Fischen des Bioakkumulationsszenarios berechnet, die auf einen einzelnen Aufnahmepfad zurückzuführen sind. Der $BCF_{\text{Fisch/Wasser}}$ aus dem Biokonzentrationsversuch (Exposition gegenüber dem Wasserkörper) wird mit der Konzentration im Wasser des Bioakkumulationsszenario (C_{Wasser}) multipliziert. Es wird angenommen, dass das Produkt dem Anteil der Konzentration im Fisch entspricht, der über kontaminiertes Wasser aufgenommen wurde ($C_{\text{Fisch(Wasser)}}$):

$$C_{\text{Fisch(Wasser)}} = BCF_{\text{Fisch/Wasser}} \cdot C_{\text{Wasser}} \quad \text{Gleichung [11]}$$

Der über die Nahrung aufgenommene Anteil an HCB ($C_{\text{Fisch(Wurm)}}$) wird abgeschätzt durch die Multiplikation des $AF_{\text{Fisch/Wurm}}$ aus dem Biomagnifikationsszenario mit der Konzentration in den Würmern des Bioakkumulationsszenario (C_{Wurm}):

$$C_{\text{Fisch(Wurm)}} = AF_{\text{Fisch/Wurm}} \cdot C_{\text{Wurm}} \quad \text{Gleichung [12]}$$

Anschließend werden die berechneten Konzentrationen für die Aufnahme über das Wasser und die Nahrung von der im Fisch gemessenen Gesamtkonzentration (C_{Fisch}) abgezogen, um den über das kontaminierte Sediment aufgenommenen Anteil zu erhal-

ten ($C_{\text{Fisch(Sediment)}}$):

$$C_{\text{Fisch(Sediment)}} = C_{\text{Fisch}} - (C_{\text{Fisch(Wasser)}} + C_{\text{Fisch(Wurm)}})$$

Gleichung [13]

Tab. 30: Bioakkumulation von HCB in der Labornahrungskette: relativer Anteil der verschiedenen Aufnahmepfade an der Gesamtanreicherung; Konzentrationsangaben (C) in $\mu\text{g/g}$ (FG).

	$C_{\text{Fisch(gesamt)}}^{(a)}$	$C_{\text{Fisch(Wasser)}}$	$C_{\text{Fisch(Sediment)}}$	$C_{\text{Fisch(Wurm)}}$
in $\mu\text{g/g}$	11,1	5,0	1,6	4,6
in % der Gesamtkonzentration	100	45	14	41

^(a) gemessene Gewebekonzentration im Bioakkumulationsszenario

Nach dieser Abschätzung wird die Fugazitäts gestützte Vorhersage bestätigt (vgl. Kap. 4.2.2), dass HCB von den Fischen im Bioakkumulationsszenario theoretisch zu ungefähr gleichen Teilen über das Wasser (45%) und über die Nahrung (41%) aufgenommen wurde. Der Anteil des über kontaminiertes Sediment angereicherten HCB war mit 14% relativ niedrig (Tab. 30). Allerdings erhöhte sich, wie in Kap. 4.2.4 beschrieben, die Bioakkumulation im Fisch erheblich, wenn nicht nur der Wasserpfad, sondern auch Sediment als HCB-Quelle zur Verfügung stand.

4.5 Labornahrungskette vs. Modellvorhersagen

Die Analyse der experimentellen Daten auf Konzentrations- (Kap. 4.4) und Fugazitätsbasis (Kap. 4.2.2) zeigt, dass die Aufnahme von HCB aus dem Wasser und über die Nahrung zu etwa gleichen Teilen zu der Gesamtanreicherung im Fisch beitragen. Basierend auf dieser Erkenntnis ist es nicht sinnvoll, die Bioakkumulation von HCB in Stichlingen mit einem einzelnen Aufnahmepfad zu erklären. Deshalb kann eine Vorhersage der Bioakkumulation und Biomagnifikation sedimentgebundener Substanzen in aquatischen Nahrungsketten nicht einfach mit Hilfe des *Equilibrium Partitioning (EqP)* Modells erfolgen (Connolly & Pedersen 1988, Mackay & Fraser 2000). Für eine detaillierte Zusammenfassung der *EqP*-Theorie siehe Di Toro et al. (1991). Vielmehr sind Modelle notwendig, wie z.B. die hier angewandeten Modelle (Gobas 1993, Morrison et al. 1996, Campfens & Mackay 1997), welche zwischen den verschiedenen Aufnahmepfaden differenzieren. Die Vorhersagen der drei Modelle bei Applikation auf die Daten der Labornahrungskette stimmen gut mit den experimentell bestimmten Konzentrationen von

HCB und Terbutryn in den Tubificiden und Fischen überein. Die Unterschiede zwischen gemessenen und vorhergesagten Gewebekonzentrationen von weniger als einer Größenordnung sind als gering einzustufen, obwohl die Modellparameter *a priori* eingestellt und nicht auf die experimentellen Ergebnisse kalibriert wurden (Tab. 31, Tab. 32).

Tab. 31: Bioakkumulation von HCB in der Labornahrungskette. Gemessene und vorhergesagte *steady state* Konzentrationen in Gesamtgeweben von *T. tubifex* und *G. aculeatus* (alle Angaben in $\mu\text{g/g}$; lipidnormiert).

	Gemessen ^(a)	Campfens/Mackay- Modell	Gobas- Modell	Gobas/Morrison- Modell
C_{Wurm}	130,2	61,0	20,5	116,1
C_{Fisch}	168,7	117,4	97,7	146,0

^(a) gemessene Gewebekonzentration im Bioakkumulationsszenario

Tab. 32: Bioakkumulation von Terbutryn in der Labornahrungskette. Gemessene und vorhergesagte *steady state* Konzentrationen in Gesamtgeweben von *T. tubifex* und *G. aculeatus* (alle Angaben in $\mu\text{g/g}$; lipidnormiert).

	Gemessen ^(a)	Campfens/Mackay- Modell	Gobas/Morrison- Modell
C_{Wurm}	6,023	3,061	1,167
C_{Fisch}	0,182	1,057	1,163

^(a) gemessene Gewebekonzentration im Bioakkumulationsszenario

Für HCB sagen alle drei Modelle auf Basis der lipidnormierten Gewebekonzentrationen eine Biomagnifikation in der Labornahrungskette vorher. Die Modelle unterschätzen die gemessenen Konzentrationen in den Fischen mit einem Faktor von 1,1 – 1,7 nur geringfügig. Die Konzentration in den Tubificiden wird vom Gobas/Morrison-Modell annähernd korrekt vorhergesagt (Unterschätzung um Faktor 1,1), während sie im Campfens/Mackay-Modell (Faktor 2,1) und Gobas-Modell (Faktor 6,3) deutlicher unterschätzt wird.

Infolge des komplexen Konzentrationsverlaufes im Terbutryn-Bioakkumulationsszenario (vgl. Kap. 4.1 und 4.3.2) gestaltete sich die Applikation der Modelle auf die Labornahrungskette im Vergleich zu HCB deutlich schwieriger und die Vorhersagen werden ungenauer. Vor allem die experimentell nachgewiesene starke Metabolisierung von Terbutryn in den Stichlingen wird von den Modellen deutlich unterschätzt. Dies

resultiert in einer Überschätzung der Terbutryn-Konzentration in den Fischen. Allerdings bleiben zwei Punkte festzuhalten:

- Die Modelle sagen keine Aufkonzentrierung von Terbutryn in der Labornahrungskette vorher und bestätigen damit den experimentellen Befund.
- Die Modellvorhersagen bestärken die in Kap. 4.3.3 gewonnene Annahme, dass die Anreicherung von Terbutryn in den Fischen dominiert wird von der Aufnahme aus dem umgebenden Wasser über die respiratorische Oberfläche (> 99%). Aufgrund der dargestellten Probleme und der damit verbundenen Schwierigkeiten bei der Interpretation der Modellvorhersagen wird im Folgenden nicht weiter auf die Modellberechnungen für Terbutryn eingegangen.

Die zweistufige Sensitivitäts-Analyse des Campfens/Mackay-Modells auf Basis der Applikation des Modells auf die Daten des HCB-Bioakkumulationsszenario demonstrierte, dass sowohl abiotische als auch organismusspezifische Parameter die Modellvorhersagen stark beeinflussen. Den größten Einfluss auf die Ergebnisse der Modellierung haben die Chemikalienkonzentration in Wasser und Sediment, der K_{OW} , der organische Gehalt des Sedimentes, sowie der Lipidgehalt der Nahrungskettenglieder (Tab. 27). Im Folgenden soll auf diese Schlüsselparameter einzeln eingegangen werden.

Die Substanzkonzentration in Wasser und Sediment hat naturgemäß starke Auswirkungen auf die Modellvorhersagen. Da sich allerdings die erhöhten Gewebekonzentrationen bei steigenden Konzentrationen der Substanz im Wasser oder Sediment nicht auf die Berechnung der Anreicherungsfaktoren bezüglich des jeweiligen Mediums auswirken sollten, wurde auf eine Analyse dieses Parameters in der zweiten Stufe der Sensitivitäts-Analyse verzichtet.

Die Abhängigkeit der Bioakkumulation und Biomagnifikation organischer Chemikalien in aquatischen Nahrungsketten vom K_{OW} ist in der Literatur hinreichend beschrieben und für viele Substanzen sowohl in Laborexperimenten (z.B. Fisk et al. 1998, Andersson et al. 2001) als auch in Freilandstudien belegt worden (z.B. Fisk et al. 2001, Russell et al. 1999, Berglund et al. 2000). Mackay & Fraser (2000) postulieren, dass für stark hydrophobe Chemikalien ($\log K_{OW} > 6,5$) Aufnahme und Elimination über die Kiemen und für Substanzen mit einem $\log K_{OW} < 4$ das Futter keine Rolle spielen. Die Sensitivitäts-Analyse des Campfens/Mackay-Modells demonstriert, dass sich zwischen einem $\log K_{OW}$ von 5,5 und 6 die Kurven der Fugazitäten aller Kompartimente der La-

bornahrungskette schneiden. Dadurch nimmt mit steigendem K_{OW} die Chemikalienaufnahme in den Fischen über die Nahrung zu und eine Biomagnifikation wird angezeigt (Abb. 29). Dies ist im Einklang mit der im HCB-Bioakkumulationsszenario gemessenen Biomagnifikation. HCB mit einem $\log K_{OW}$ von 5,72 liegt in diesem Übergangsbereich.

Der organische Kohlenstoffgehalt im Sediment beeinflusst nach dem *EqP*-Modell die Bioverfügbarkeit organischer Xenobiotika für benthische Organismen (Karickhoff et al. 1979, Di Toro et al. 1991). Diesem Ansatz zufolge nimmt die Bioverfügbarkeit nicht-ionischer organischer Chemikalien mit zunehmendem Gehalt an organischem Kohlenstoff ab. Da im Campfens/Mackay-Modell die Vorhersage der Anreicherung in benthischen Invertebraten auf Basis des *EqP*-Ansatzes erfolgt, ist die in der Sensitivitäts-Analyse beobachtete Abnahme der Substanzkonzentration in den Tubificiden mit zunehmendem organischem Gehalt und die daraus resultierende geringere Weitergabe der Chemikalie in der Nahrungskette erwartungsgemäß (Abb. 30). Für die Applikationen des Campfens/Mackay-Modells wurde aufgrund der Tatsache, dass Tubificiden den Hinterkörper zur Atmung in den freien Wasserkörper strecken, die Exposition der Würmer auf 80% gegenüber dem Porenwasser und 20% gegenüber dem Wasserkörper aufgeteilt (vgl. Kap. 2.14.4). Durch diese Aufteilung der Expositionspfade fällt im Vergleich zur ausschließlichen Exposition gegenüber dem Porenwasser die Abnahme der Substanzkonzentration in den Tubificiden schwächer aus, da der zunehmende organische Gehalt im Sediment keinen Einfluss auf die Anreicherung von HCB aus dem Wasserkörper hat.

Da das *EqP*-Modell von einem Verteilungsgleichgewicht zwischen organischem Kohlenstoff, Porenwasser und den Lipiden der Organismen ausgeht, beeinflusst folgerichtig der Lipidgehalt der Würmer die Akkumulation der Chemikalie in den Tubificiden. Jedoch wirkt sich hier die Aufteilung der Expositionspfade für Tubificiden (siehe oben) nicht abschwächend auf den beobachteten Effekt aus, da im Campfens/Mackay-Modell sowohl die Anreicherung in den Würmern aus dem Porenwasser als auch aus dem Wasserkörper nach dem *EqP*-Modell berechnet wird. Mit zunehmenden Lipidgehalt der Tubificiden kommt es nicht nur zu einer Zunahme der Substanzkonzentration in den Würmern, sondern auch zu einem linearen Anstieg der Gewebekonzentration in den Fischen. Im Campfens/Mackay-Modell wird die Brutto-Aufnahme aus der Nahrung im Prädator (D_A) berechnet aus dem Produkt der Absorptionseffizienz (E_A) mit der Futter-

rate (G_A) und der Fugazitätskapazität des Futters (Z_A), wobei Z_A dem $Z_{\text{Organismus}}$ aus Gleichung [6] entspricht:

$$D_A = E_A \cdot G_A \cdot Z_A \quad ; \text{ mit: } Z_A = K_{OW}/H \cdot F_{Lipid}$$

Gleichung [14]

Nach Gleichung [14] ist D_A über die Fugazitätskapazität linear mit dem Lipidgehalt der Nahrung verknüpft und die Aufnahme über das Futter steigt mit zunehmendem Lipidgehalt in Verbindung mit der ansteigenden Konzentration in den Tubificiden linear an. Durch das größer werdende Fugazitätsverhältnis ($f_{\text{Fisch}}/f_{\text{Wasser}} > 1$) kommt es in den Fischen zu einem Nettoverlust über die Kiemen (Abb. 31).

Die Chemikalienkonzentration im Fisch steigt proportional zu seinem Lipidgehalt an (Abb. 32). Dieser lineare Zusammenhang ist im Campfens/Mackay-Modell über Gleichung [5] und Gleichung [6] implementiert. Die Aufnahme im Fisch bleibt dagegen konstant, da die Geschwindigkeitskonstante der Aufnahme aus dem Wasser (k_1) lediglich von organismusspezifischen Konstanten (Lipidgehalt geht hier nicht ein) und der Lipophilie der Chemikalie (K_{OW}) bestimmt wird. Das bedeutet, dass sich die Expositionszeit bei steigendem Lipidgehalt und konstanter Aufnahmegeschwindigkeit bis zum Erreichen der höheren Gewebekonzentrationen im *steady state* deutlich verlängert (Mackay & Fraser 2000). Dagegen wird die Eliminationskonstante (k_e) aus dem Verhältnis k_1 zu $F_{Lipid} \cdot K_{OW}$ berechnet. Damit erklärt sich der Nettoverlust der Chemikalie über die Kiemen bei niedrigem Fettgehalt der Fische und die Abnahme der Elimination über die respiratorische Oberfläche mit zunehmendem Lipidgehalt.

Die Analyse des Aufnahme/Elimination-Fluxes von HCB im Fisch im *steady state* erlaubt einen tieferen Einblick in die Modellvorhersagen und gibt eine Erklärung für die oben geschilderte Unterschätzung der vorhergesagten HCB-Konzentrationen in Stichlingen. Sowohl das Campfens/Mackay- als auch das Gobas-Modell unterschätzen die Aufnahme von HCB im Fisch über die Nahrung (Abb. 33; vgl. Kap. 4.4). Dies resultiert aus einer Unterschätzung der Anreicherung in den Tubificiden (Tab. 31, Tab. 32). Bei den Modellen liegt die Annahme zu Grunde, dass die Bioakkumulation in benthischen Organismen der *EqP*-Theorie zufolge nur über die Aufnahme der Chemikalie aus dem Porenwasser erfolgt. Hierbei bleibt die Exposition gegenüber der Nahrung unberücksichtigt. Allerdings werden die Hinweise immer zahlreicher, dass die Aufnahme von sedimentgebundenen Chemikalien in benthischen Invertebraten nicht zu vernachlässi-

gen ist (z.B. Landrum 1989, Boese et al. 1990, Kaag et al. 1997, Forbes & Forbes 1997, Forbes et al. 1998, Bott & Standley 2000). Die Annahmen der *EqP*-Theorie scheinen auch für die hier vorgestellte Bioakkumulation von sedimentassoziiertem HCB in Tubificiden unzureichend zu sein. Dies wird umso deutlicher bei Betrachtung der Vorhersagen des Gobas/Morrison-Modells. Im Morrison-Submodul kann die Aufnahme der Chemikalie in benthische Organismen über die respiratorische Oberfläche aus dem Wasserkörper und über die Nahrung erfolgen. Das Gobas-Modell mit integriertem Morrison-Submodul sagt die experimentell gemessene HCB-Konzentration in Tubificiden annähernd exakt vorher und als Folge davon auch die Gesamtanreicherung und den relativen Anteil der vom Stichling über die Nahrung aufgenommenen Substanz.

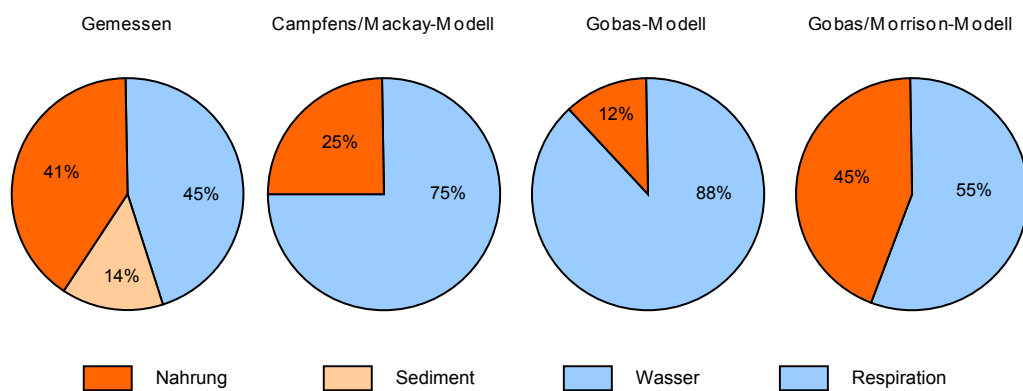


Abb. 33: Differenzierung der Akkumulation von HCB in Stichlingen nach Aufnahmepfaden. Relative Anteile der Aufnahme über Nahrung, Respiration, bzw. Wasser und Sediment an der Gesamtanreicherung.

Aus der Applikation der Bioakkumulationsmodelle auf die Labornahrungskette lassen sich abschließend folgende Schlussfolgerungen zusammenfassen:

- Die Aussagekraft der Modellvorhersagen sind im hohem Maß abhängig von der zu Grunde gelegten Datenbasis. Daher sollte bei der Erhebung und Auswahl der eingesetzten Daten besondere Sorgfalt auf die Datenqualität (z.B. Plausibilität, Reproduzierbarkeit der Ergebnisse) gelegt werden. Insbesondere die Schlüsselparameter K_{OW} , organischer Gehalt des Sedimentes und Lipidgehalt der Nahrungskettenglieder sollten diesen Anforderungen genügen.
- Das Gobas-Modell zeichnet sich nach Integration des Morrison-Submoduls durch sehr gute Vorhersagen der Bioakkumulation von HCB aus. Jedoch kann die Anwendung der aktuellen Windows-Programmversion 1.1 nicht empfohlen werden, da nicht alle Parameter frei definierbar sind. Dies gilt insbesondere für wichtige Para-

meter des Morrison-Submoduls für benthische Invertebraten (z.B. Biomasse, Futterrate, Nahrungszusammensetzung und Absorptionseffizienz).

- Das Campfens/Mackay-Modell zeichnet sich durch seine offene Struktur aus (jeder Parameter ist definierbar). Diese gewährleistet zum einen intensive Analysen der Modellvorhersagen und zum anderen die Erweiterbarkeit des Modells. Zum Beispiel erscheint anhand der hier vorgestellten Ergebnisse die Implementierung eines benthischen Submoduls, das die Aufnahme über die Nahrung berücksichtigt, als äußerst nützlich. Zudem wäre eine einfache Erweiterung des Modells auf Topprädatoren wie Vögel oder Säugetiere möglich.
- Die Modelle können bei entsprechender Weiterentwicklung als nützliche Instrumente für eine erste Abschätzung des Risikos der Bioakkumulation sedimentgebundener, hoch lipophiler Substanzen in aquatischen Nahrungsketten dienen.
- Hierfür sind weitere Datensätze aus Versuchen mit der Labornahrungskette notwendig, um die vorhandenen bzw. optimierten Modelle zu validieren.
- Zum gegenwärtigen Entwicklungsstand ist die Labornahrungskette jedoch den Modellen vorzuziehen, da sie die konservativeren Daten liefert.

4.6 Labornahrungskette vs. Monitoringdaten

Zur Anreicherung von Terbutryn in aquatischen oder auch terrestrischen Organismen im Freiland liegen keine Monitoringdaten aus der Literatur vor. Deshalb wird im Folgenden nur auf HCB eingegangen. Obwohl die Verwendung dieser Substanz seit langem stark eingeschränkt ist, wird HCB auch heute noch in der aquatischen Umwelt gefunden. Ein Reservoir für diesen Altstoff stellen Sedimente dar, aus denen HCB zum Beispiel durch Überflutungen oder Sanierungsmaßnahmen, wie z.B. Ausbaggerungen, freigesetzt werden kann (Fengler & Seel 2001). Seit mehr als 30 Jahren wird HCB weltweit sowohl in limnischen und marinen als auch in terrestrischen Organismen nachgewiesen (z.B. Johnson et al. 1974, Streit et al. 1995, Senthilkumar et al. 2001, Borga et al. 2001). Hierbei wurde HCB in Vertretern der unterschiedlichsten trophischen Ebenen gefunden: z.B. Zooplankton (Russell et al. 1999, Fisk et al. 2001, Borga et al. 2001), benthische Invertebraten (Russell et al. 1999, Fisk et al. 2001), Fische (Kuehl et al. 1991, Russell et al. 1995), marine Säugetiere (Vetter et al. 1996, Kleivane & Skaare 1998) und Seevögel (Fisk et al. 2001, Borga et al. 2001).

Aus Untersuchungen von Nahrungsketten bzw. -netzen zum Biomagnifikationspotential von HCB liegen in der Literatur unterschiedliche Befunde vor. So fanden zum Bei-

spiel Russel et al. (1995) in einer Fischpopulation des Lake Erie bestehend aus *Morone chrysops* (Prädator) und *Notropis atherinoides* (Beute) und Russel et al. (1999) in einem deutlich komplexeren Nahrungsnetz des Detroit River (Zooplankton, 6 benthische Invertebratenarten und 14 Fischarten) keine Hinweise auf eine Biomagnifikation von HCB. Dagegen konnten Fisk et al. (2001) in einer arktischen, marinen Nahrungskette der nördlichen Baffin Bay (2 Makrozooplanktonarten, 1 Fischart und 7 Seevogelarten) eine deutliche Biomagnifikation feststellen, während der $BMF_{\text{Robbe/Fisch}} < 1$ war. Borga et al. (2001) wiesen zwischen allen trophischen Ebenen eines marinen Nahrungsnetzes der Barentssee (Makrozooplankton, 2 Fischarten und 4 Seevogelarten) eine Biomagnifikation von HCB nach.

Wie aus diesen Beispielen leicht erkennbar wird, ist die Beurteilung des Potentials einer Chemikalie, innerhalb eines Nahrungsnetzes aufkonzentriert zu werden, anhand von im Freiland gewonnenen Monitoringdaten problematisch. Es bleibt festzuhalten, dass die Ergebnisse und Schlussfolgerungen sowohl vom Ökosystem als auch von der Auswahl der untersuchten Taxa abhängig sind. Die Voraussetzung für die Bestimmung von Biomagnifikationsfaktoren im Freiland ist eine detaillierte Kenntnis der Räuber-Beute-Beziehungen im Ökosystem. Allerdings ist die Analyse dieser Beziehungen in komplexen Nahrungsnetzen schwierig und oft nicht eindeutig.

Die Labornahrungskette stellt wie jedes andere Labortestsystem eine starke Vereinfachung der biologischen Realität dar. Diese Vereinfachung ermöglicht allerdings dem Anwender - im Gegensatz zum Freiland - Anteile an der Gesamtanreicherung im Fisch einzelnen Aufnahmepfaden zuzuordnen. Die Labornahrungskette ist als Hilfsmittel zu verstehen, das Biomagnifikationspotential eines Stoffes zu beurteilen und erhebt nicht den Anspruch der Übertragbarkeit ihrer Ergebnisse auf jedes Ökosystem.

4.7 Einordnung der Methoden in Konzepte der Risikoabschätzung

Zur Einbindung der Bioakkumulation und Biomagnifikation in ein *environmental risk assessment* existieren zur Zeit diverse Vorschläge für Bewertungskonzepte (z.B. Van de Plassche 1994, Suedel et al. 1994, ECETOC 1996, Beek et al. 2000). Die Bewertung des Bioakkumulationspotentials einer Chemikalie wird von nationalen und internationalen Zulassungsbehörden sehr unterschiedlich durchgeführt (für eine detaillierte Übersicht siehe Egeler et al. 1999d und Beek et al. 2000). Für die Mitgliedsstaaten der

Europäischen Union ist das Verfahren der Risikoabschätzung für Pestizide in der Directive 91//414/EEC (EU 1991) und für Chemikalien im *Technical Guidance Document* (TGD; EU 1996) festgelegt.

Für Pestizide sind Biokonzentrationsstudien mit Fischen ab einem $\log K_{OW}$ des Wirkstoffes von 3 bei nachgewiesener Persistenz ($DT_{90} < 10$ Tage in Sediment-Wasser-Systemen) obligatorisch. Eine Zulassung wird nicht erteilt, wenn der höchste Biokonzentrationsfaktor (BCF_{Fisch}) bei biologisch leicht abbaubare Wirkstoffen, mehr als 1000 und für die Pflanzenschutzmittel mit sonstigen Wirkstoffen mehr als 100 beträgt. Es sei denn, eine geeignete Risikoabschätzung erbringt den Beweis, daß bei Anwendung des Pflanzenschutzmittels unter den vorgeschlagenen Bedingungen keine unannehmbaren Auswirkungen auf die Lebensfähigkeit der direkt und indirekt (Räuber) exponierten Arten eintreten (EU 1991, EU 1997). Ein einheitliches Bewertungskonzept zur Risikoabschätzung der Bioakkumulation und Biomagnifikation ist allerdings nicht festgelegt.

Für neu zuzulassende Stoffe erfolgt die Risikoabschätzung gemäß dem TGD (EU 1996) in Abhängigkeit von der jährlich in den Umlauf gebrachten Stoffmenge. In der Grundstufe (1 - 100t/a) wird ein Bioakkumulationspotential anhand der physikochemischen Eigenschaften der Chemikalie abgeschätzt. Kriterien hierbei sind unter anderem: $\log K_{OW} \geq 3$, adsorptive Eigenschaften, Zugehörigkeit zu Substanzklassen mit bekanntem Bioakkumulationspotential, Struktureigenschaften, Persistenz. Wird ein Bioakkumulationspotential erkannt, kann bereits in der Grundstufe eine Bioakkumulationsstudie mit Fischen gefordert werden (bei bestehendem Risiko von *secondary poisoning*), während in Stufe 1 (100 - 1000t/a) eine solche Bioakkumulationsstudie verpflichtend ist. In Stufe 2 ($> 1000t/a$) kann eine weitere Studie mit anderen Organismen gefordert werden. Hier muss ausdrücklich darauf hingewiesen werden, dass gegenwärtig zur Bestimmung der Bioakkumulation von Pestiziden und Chemikalien, als einziges international akzeptiertes und standardisiertes Instrument, die OECD-Richtlinie 305 (OECD 1996) genutzt wird.

Die Risikobewertung von Biomagnifikation und *secondary poisoning* wird im TGD ausschließlich am Beispiel einer reduzierten Modellnahrungskette (Wasser \Rightarrow Fisch \Rightarrow fischfressender Vogel oder Säugetier) vorgenommen (EU 1996). Ausgehend von Expositionsdaten (PEC_{Wasser}), Biokonzentrationsfaktoren in Fischen (BCF_{Fisch} ; gemessen oder

abgeschätzt) und Säugertoxizitätsdaten (NOEL aus Fütterungsstudien) wird anhand einer einfachen $PEC_{\text{oral}}/PNEC_{\text{oral}}$ Berechnung eine Risikoabschätzung vorgenommen.

Sowohl im Bewertungskonzept zur Bioakkumulation als auch zur Biomagnifikation von Chemikalien und Pestiziden steht das Kompartiment Wasser im Mittelpunkt. Chemikalien, die zum Großteil an Sedimente gebunden vorliegen und deren potentiellen Transfer innerhalb aquatischer Nahrungsketten (z.B. Sediment \Rightarrow benthische Invertebraten \Rightarrow Fisch), werden nicht berücksichtigt.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde am Beispiel von HCB gezeigt, dass bei der Bewertung der Anreicherung sedimentgebundener Stoffe in Fischen die alleinige Betrachtung der Biokonzentration zu einer Unterschätzung der Bioakkumulation führen kann. Die hier etablierte Labornahrungskette und die untersuchten Modelle (in erster Linie das Campfens/Mackay-Modell) könnten daher eine zweistufige Alternative zu den Biokonzentrationsstudien nach OECD-Richtlinie 305 (OECD 1996) darstellen, wenn der zu bewertende Stoff eine ausgeprägte Tendenz zeigt, an Schwebstoffe und Sedimente zu adsorbieren. Da die experimentelle Bestimmung der Bioakkumulation mit Hilfe der Labornahrungskette sehr zeit- und kostenintensiv ist, sollten in einer ersten Stufe das Bioakkumulationspotential mit Hilfe z.B. des Campfens/Mackay-Modell überprüft werden. Wird hierbei eine Bioakkumulation des Stoffes vorhergesagt, kann in der zweiten Stufe mit Hilfe der Labornahrungskette das Risiko bestätigt oder entkräftet werden.

Zudem kann durch diese zweistufige Strategie das Kompartiment Sediment mit seiner benthischen Fauna in die Risikobewertung der Biomagnifikation von Chemikalien nach dem TGD (EU 1996) und von Pestiziden nach Annex VI der Direktive 91//414/EEC (EU 1997) eingebunden werden (Sediment \Rightarrow benthische Invertebraten \Rightarrow Fisch \Rightarrow fischfressender Vogel oder Säugetier). So könnte in der ersten Stufe die Abschätzung der PEC_{oral} nicht über den BCF_{Fisch} , sondern mit Hilfe z.B. des Campfens/Mackay-Modells erfolgen. Wird hierbei ein Risiko erkannt ($PEC_{\text{oral}}/PNEC_{\text{oral}} > 1$), kann als weiterführende Maßnahme zur Datenverbesserung die Bestimmung der PEC_{oral} durch die Labornahrungskette erfolgen.

Zusammenfassend bleibt demnach festzuhalten, dass sowohl die in dieser Arbeit etablierte Labornahrungskette als auch die analysierten Modelle nach gegenwärtigem Kenntnisstand einen erheblichen Fortschritt in der Risikoabschätzung der Bioakkumula-

tion und Biomagnifikation sedimentgebundener Stoffe darstellen können. Für eine abschließende Beurteilung der vorgestellten Methoden bedarf es allerdings einer Verbreiterung der Datenbasis.

5 Zusammenfassung

Lipophile, sedimentgebundene Substanzen sind für endobenthische Tiere in hohem Maße bioverfügbar und können von diesen aufgenommen und angereichert werden. Für benthivore Fische besteht damit das Risiko, diese Chemikalien mit der Nahrung aufzunehmen. Die Aufkonzentrierung sedimentgebundener Chemikalien über zwei oder mehr trophische Ebenen (Biomagnifikation) kann somit durch die Bestimmung der Biokonzentration von Chemikalien in Fischen nach der OECD-Richtlinie 305 (OECD 1996) nicht adäquat erfasst werden.

Zur standardisierten Bestimmung der Bioakkumulation und Biomagnifikation wurde eine einfache, zwei trophische Stufen umfassende Labornahrungskette etabliert. Diese bestand aus dem endobenthischen Oligochaeten *Tubifex tubifex* (MÜLLER) als Beute und dem Dreistachligen Stichling (*Gasterosteus aculeatus* LINNÉ) als Prädator. Die Experimente wurden mit ¹⁴C-markiertem Hexachlorbenzol und Terbutryn in dotiertem künstlichem Sediment und rekonstituiertem Wasser durchgeführt. Um den Einfluss einzelner Expositionspfade an der Gesamtanreicherung der Modellchemikalien zu quantifizieren, wurden die Fische gegenüber dotiertem Wasser bzw. dotiertem Sediment (Biokonzentrationsszenario), vorexponierten Würmern (Biomagnifikationsszenario) und Kombinationen dieser Aufnahmepfade (Bioakkumulationsszenario) exponiert.

Sedimentgebundenes HCB wurde im Bioakkumulationsszenario sowohl in den Tubificiden ($BAF_{\text{Wurm/Sediment (FG/FG)}} = 7,8$) als auch in den Fischen ($AF_{\text{Fisch/Wasser (FG/FG)}} = 52500$; $AF_{\text{Fisch/Sediment (FG/FG)}} = 47$; $AF_{\text{Fisch/Wurm (FG/FG)}} = 3,2$) deutlich angereichert. Da die Gewebekonzentration von HCB im Räuber, auch auf Basis lipidnormierter Konzentrationen, die Konzentration in seiner Beute überstieg ($AF_{\text{Fisch/Wurm (lipidnormiert)}} = 1,3$), kann von einer Aufkonzentrierung der Chemikalie entlang der Labornahrungskette ausgegangen werden (Biomagnifikation). Es konnte gezeigt werden, dass die Exposition gegenüber der Kombination sämtlicher Aufnahmepfade zu deutlich höherer Anreicherung in den Fischen führte als im Falle einzelner Expositionspfade. Ein Vergleich der Ergebnisse der einzelnen Expositionsszenarien erlaubt den Schluss, dass HCB von den Fischen im Bioakkumulationsszenario zu ungefähr gleichen Teilen über das Wasser (45%) und

über die Nahrung (41%) aufgenommen wurde, während die Anwesenheit kontaminierter Sediments nur mit 14% zur Gesamtanreicherung beitrug.

^{14}C -Terbutryn wurde im Bioakkumulationsszenario - auf Basis der Gesamtradioaktivität - sowohl in den Tubificiden ($\text{AF}_{\text{Wurm/Sediment (FG/FG)}} = 4,4$) als auch in den Fischen ($\text{AF}_{\text{Fisch/Wasser (FG/FG)}} = 323$; $\text{AF}_{\text{Fisch/Sediment (FG/FG)}} = 10$; $\text{AF}_{\text{Fisch/Wurm (FG/FG)}} = 1,4$) angereichert. Allerdings wurde Terbutryn in den Stichlingen zum überwiegenden Teil zu einem polareren Metaboliten transformiert (84%). Daher müssen zur Abschätzung der Anreicherung von Terbutryn die auf den Gehalt an Ursubstanz korrigierten Gewebekonzentrationen und Anreicherungsfaktoren betrachtet werden. Hierbei wird deutlich, dass Terbutryn nicht entlang der Labornahrungskette aufkonzentriert wurde ($\text{AF}_{\text{Fisch/Wurm}} = 0,09$). Ein Vergleich der Ergebnisse der einzelnen Expositionsszenarien zeigt, dass der Hauptaufnahmepfad von ^{14}C -Terbutryn in Stichlingen das umgebende Wasser ist, während die Anwesenheit kontaminierten Sediments und die Aufnahme über die Nahrung eine untergeordnete Rolle spielen.

Da die Messung der Bioakkumulation und Biomagnifikation von sedimentassoziierten Substanzen sehr aufwendig ist, werden zur Abschätzung ihres Risikopotentials vermehrt mathematische Modelle entwickelt und eingesetzt, die eine Chemikalienanreicherung in Nahrungsketten vorhersagen sollen. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden die Vorhersagen dreier Modelle mit den experimentell ermittelten Daten verglichen. Hierdurch sollte sowohl die Eignung des entwickelten Testsystems als auch der verwendeten Modelle als nützliche Instrumente des *environmental risk assessment* überprüft werden.

Die Vorhersagen der drei Modelle bei Applikation auf die Daten der Labornahrungskette stimmen gut mit den experimentell bestimmten Konzentrationen von HCB und Terbutryn in den Tubificiden und Fischen überein.

Für HCB sagen alle drei Modelle eine Biomagnifikation in der Labornahrungskette vorher. Die Modelle unterschätzen die gemessenen Konzentrationen in den Fischen mit einem Faktor von 1,1 – 1,7 nur geringfügig. Die Konzentration in den Tubificiden wird vom Gobas/Morrison-Modell sehr präzise vorhergesagt (Unterschätzung um Faktor 1,1), während sie im Campfens/Mackay-Modell (Faktor 2,1) und Gobas-Modell (Faktor

6,3) deutlicher unterschätzt wird. Speziell die dem Campfens/Mackay- und Gobas-Modell zugrundeliegenden Annahmen zur Anreicherung in benthischen Organismen erwiesen sich für HCB und Tubificiden als unzureichend zu sein, da die Modelle hierbei nur die Aufnahme aus dem Porenwasser berücksichtigen.

Für Terbutryn sind die Modellvorhersagen sehr viel ungenauer als für HCB, da vor allem die starke Metabolisierung von Terbutryn in den Stichlingen unterschätzt wird. Dies resultiert in einer Überschätzung der Terbutryn-Konzentration in den Fischen (Faktor 5,8 – 6,4). Allerdings bleiben zwei Punkte festzuhalten: 1) Die Modelle sagen keine Biomagnifikation von Terbutryn in der Labornahrungskette vorher. 2) Die Modellvorhersagen bestärken die Annahme, dass die Anreicherung von Terbutryn in den Fischen dominiert ist von der Aufnahme aus dem umgebenden Wasser über die respiratorische Oberfläche.

Die analysierten Modelle können bei entsprechender Weiterentwicklung als nützliche Instrumente für eine erste Abschätzung des Risikos der Bioakkumulation sedimentgebundener, hoch lipophiler Substanzen in aquatischen Nahrungsketten im Rahmen der Risikoabschätzung (*environmental risk assessment*) dienen. Zum gegenwärtigen Entwicklungsstand ist die Labornahrungskette jedoch den Modellen vorzuziehen, da sie die konservativeren Daten liefert. Für eine abschließende Beurteilung der vorgestellten Methoden bedarf es allerdings einer Verbreiterung der Datenbasis.

6 Literatur

Ahlf, W. (1995) Aquatische Ökotoxikologie: Biotests an Sedimenten. In: Steinberg, Bernhardt & Klapper (eds), Handbuch Angewandte Limnologie. Ecomed Verlagsgesellschaft, Landsberg.

Allner, B. (1997) Toxikokinetik von 3,4-Dichloranilin beim dreistachligen Stichling (*Gasterosteus aculeatus*) unter besonderer Berücksichtigung der Fortpflanzungsphysiologie. Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität, Mainz.

Ammon, H. U. (1985) Worm toxicity tests using *Tubifex tubifex*. FAO Workshop, Versailles, Les Colloques de l'INRA 31, 303-317.

Andersson, P. L., A. H. Berg, R. Bjerselius, L. Norrgren, H. Olsen, P. E. Olsson, S. Orn & M. Tysklind (2001) Bioaccumulation of selected PCBs in zebrafish, three-spined stickleback, and Arctic char after three different routes of exposure. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 40[4], 519-530.

ARS/U.S.D.A (1995) ARS Pesticide Properties Database. www.arsusda.gov/ppdb.html. Agricultural Research Service/U.S. Department of Agriculture.

ASTM (1994) Standard guide for conducting acute, chronic and life-cycle aquatic toxicity tests with polychaetous annelids. American Society for Testing and Materials, Philadelphia PA.

ASTM (1995a) Standard guide for collection, storage characterization and manipulation of sediments for toxicological testing. American Society for Testing and Materials, Philadelphia PA, 855 pp.

ASTM (1995b) Standard guide for determination of bioaccumulation of sediment-associated contaminants by benthic invertebrates. American Society for Testing and Materials, Philadelphia PA, 1189 pp.

Beek, B., S. A. Böhling, C. Franke, U. Jöhncke & G. Studinger (2000) The assessment of bioaccumulation. In: O. Hutzinger (ed), The Handbook of Environmental Chemistry, Vol. 2, Reactions and Processes, Part J. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg: 235-276.

Berglund, O., P. Larsson, G. Ewald & L. Okla (2000) Bioaccumulation and differential partitioning of polychlorinated biphenyls in freshwater, planktonic food webs. Can. J. Fisheries Aquat. Sci. 57[6], 1160-1168.

Berry, A. D. (1976) Detritus, microorganisms and animal in freshwater. In: J. M. Anderson & A. MacFayden (eds), The Role of Terrestrial and Aquatic Organisms in Decomposition Processes. 323-338.

Biddinger, G. R. & S. P. Gloss (1984) The importance of trophic transfer in the bioaccumulation of chemical contaminants in aquatic ecosystems. Resid. Rev. 91, 103-145.

Boese, B. L., H. Lee, II, D. T. Specht, R. C. Randall & M. H. Winsor (1990) Comparison of aqueous and solid-phase uptake for Hexachlorobenzene in the Tellinid Clam *Macoma nasuta* (Conrad): A mass balance approach. Environ. Toxicol. Chem. 9, 221-231.

Borga, K., G. W. Gabrielsen & J. U. Skaare (2001) Biomagnification of organochlorines along a Barents Sea food chain. Environ. Pollut. 113[2], 187-198.

Bott, T. L. & L. J. Standley (2000) Transfer of benzo[a]pyrene and 2,2',5,5' tetrachlorobiphenyl from bacteria and algae to sediment-associated freshwater invertebrates. Environ. Sci. Technol. 34[23], 4936-4942.

Brinkhurst, R. O. (1971) A guide for the identification of british aquatic Oligochaeta.

Brinkhurst, R. O. & D. G. Cook (1974) Aquatic earthworms (Annelida: Oligochaeta). In: G. W. Hart, Jr. & S. I. M. Fuller (eds), Pollution Ecology of Freshwater Invertebrates. Academic Press, New York.

- Bruns, E. (1997) Toxikokinetik und Toxikodynamik von 2,4-Dinitrophenol und Chlortoluron beim Zebrafisch (*Brachydanio rerio*). Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität, Mainz.
- BUA (1994) Hexachlorbenzol. BUA-Stoffbericht 119. Hirzel, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart.
- Burkhard, L. P. (1998) Comparison of two models for predicting bioaccumulation of hydrophobic organic chemicals in a Great Lakes food web. *Environ Toxicol Chem* 17[3], 383-393.
- Campfens, J. & D. Mackay (1997) Fugacity-based model of PCB bioaccumulation in complex aquatic food webs. *Environ Sci Technol* 31[2], 577-583.
- Canle, L. M., M. I. Fernandez, J. A. Santaballa & S. Steenken (1998) Photodegradation of triazine-based pesticides: Laser flash photolysis of s-triazines. Rzepa, H. S. and Kappe, O. Imperial College Press. Electronic Conference on Heterocyclic Chemistry, 29.06. - 24.07.1998.
- CEPA (1993) Canadian Environment Protection Act. Priority substances list assessment report: Hexachlorobenzene. Ottawa, Canada, Canada Communication Group - Publishing.
- Chang, S., V. S. Zdanowicz & R. A. Murchelano (1998) Associations between liver lesions in winter flounder (*Pleuronectes americanus*) and sediment chemical contaminants from north-east United States estuaries. *Ices J Mar Sci* 55[5], 954-969.
- Chapman, P. M. & R. O. Brinkhurst (1984) Lethal and sublethal tolerances of aquatic oligochaetes with reference to their use as a biotic index of pollution. *Hydrobiologia* 115, 139-144.
- Chen, W., A. T. Kan, G. M. Fu & M. B. Tomson (2000) Factors affecting the release of hydrophobic organic contaminants from natural sediments. *Environ.Toxicol.Chem.* 19[10], 2401-2408.
- Clark, K. E., F. A. P. C. Gobas & D. Mackay (1990) Model of organic chemical uptake and clearance by fish from food and water. *Environ Sci Technol* 31[2], 577-583.
- Clark, K. E. & D. Mackay (1991) Dietary uptake and biomagnification of four chlorinated hydrocarbons by guppies. *Environ.Toxicol.Chem.* 10, 1205-1217.
- Clements, W. H., J. T. Oris & T. E. Wissing, 1994. Accumulation and food chain transfer of fluoranthene and benzo[a]pyrene in *Chironomus riparius* and *Lepomis macrochirus*, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 26: 261-266.
- Connolly, J. P. & C. J. Pedersen (1988) A thermodynamic-based evaluation of organic chemical accumulation in aquatic organisms. *Environ.Sci.Technol.* 22, 99-103.
- Dabrowska, H., S. W. Fisher, K. Dabrowski & A. E. Staubus (1996) Dietary uptake efficiency of HCBP in channel catfish: The effect of fish contaminant body burden. *Env.Toxicol.Chem.* 15, 746-749.
- De Boer, J., F. Smedes, D. Wells & A. Allan (1999) Report on the Quash interlaboratory study on the determination of total-lipid in fish and shellfish. Round 1 SBT-2. Exercise 1000. EU, Standards, Measurement and Testing Programme.
- De Bruijn, J. & J. Hermens, 1991. Uptake and elimination kinetics of organophosphorous pesticides in the guppy (*Poecilia reticulata*): Correlations with the octanol/water partition coefficient, *Environ. Toxicol. Chem.* 10: 791-804.
- De Bruijn, J., E. Yedema, W. Seinen & J. Hermens (1991) Lethal body burdens of four organophosphorous pesticides in the guppy (*Poecilia reticulata*). *Aquat.Toxicol.* 20, 111-122.

Di Toro, D. M., C. S. Zarba, D. J. Hansen, W. J. Berry, R. C. Swartz, C. E. Cowan, S. P. Pavlou, S. E. Allen, N. A. Thomas & P. R. Paquin (1991) Technical basis for establishing sediment quality criteria for nonionic organic chemicals by using equilibrium partitioning. *Environ.Toxicol.Chem.* 10, 1541-1583.

DIN (1985a) DIN 38414 Teil 2. Schlamm und Sedimente (Gruppe S). Bestimmung des Wassergehaltes und des Trockenrückstandes bzw. der Trockensubstanz.

DIN (1985b) DIN 38414 Teil 3. Schlamm und Sedimente (Gruppe S). Bestimmung des Glührückstandes und des Glührückstandes der Trockenmasse eines Schlammes.

ECETOC (1996) The role of bioaccumulation in environmental risk assessment: The aquatic environment and related food webs. Technical Report No. 67. European Centre of Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals.

Egeler, Ph. (1997) Bioakkumulation von Lindan und Hexachlorbenzol bei den Schlammröhrenwürmern *Tubifex tubifex* (Müller) und *Limnodrilus hoffmeisteri* (Claparède) - Entwicklung und Erprobung eines Testverfahrens mit künstlichem Sediment. Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

Egeler, Ph., J. Römbke, T. Knacker, C. Franke & G. Studinger (1999a) Workshop on "Bioaccumulation: Sediment test using benthic oligochaetes", 26.- 27.04.1999, Hochheim/Main, Germany. Abschlußbericht zum F + E-Vorhaben 298 67 419. Berlin, Umweltbundesamt.

Egeler, Ph., J. Römbke, T. Knacker, H. J. Schallnaß, M. Meller & R. Nagel (1999b) Entwicklung und Erprobung eines Bioakkumulationstests mit endobenthischen Organismen. UBA-Text Nr. 2/99. Forschungsbericht 206 03 106/03, UBA-FB 97-060. Berlin, Umweltbundesamt.

Egeler, Ph., J. Römbke, M. Meller, T. Knacker, C. Franke, G. Studinger & R. Nagel (1997) Bioaccumulation of lindane and hexachlorobenzene by tubificid sludgeworms (Oligochaeta) under standardised laboratory conditions. *Chemosphere* 35[4], 835-852.

Egeler, Ph., J. Römbke, M. Meller, T. Knacker & R. Nagel (1999c) Bioaccumulation test with Tubificid Sludgeworms in artificial media - development of a standardisable method. *Hydrobiologia* 406, 271-280.

Egeler, Ph., J. Römbke, M. Meller, P. Spörlein & T. Knacker (1999d) Bewertung der Biomagnifikation gefährlicher Stoffe aus limnischen und marinen Sedimenten. Forschungsbericht UBA-F+E 296 28 308. Berlin, Germany, Umweltbundesamt.

Environment Canada (1990) Biological Test Method: Acute Lethality Test using the Threespine Stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). Environmental Protection Series. Report EPS 1/RM/10. Canada, Environment Canada.

EU (1991) Council Directive 91/414/EEC of 15 July 1991 concerning the placing of plant protection products on the market. Official Journal of the European Communities L220, 34 Annex II .

EU (1996) Technical Guidance Documents in Support of The Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for New Substances and The Commission Regulation (EC) No. 1488/94 on Risk Assessment for Existing Substances. EU, Brussels.

EU (1997) Council Directive 97/57/EC of 22 September 1997 establishing Annex VI to Directive 91/414/EEC concerning the placing of plant protection products on the market, Official Journal L 265 , 27/09/1997 p. 0087 - 0109.

EXTOXNET (1998) Pesticide Information Profile. Extension Toxicology Network. A Pesticide information project of cooperative extension offices of Cornell University, Michigan State University, Oregon State University and University of California at Davis. ace.orst.edu/info/extoxnet/pips/terbutryn.htm.

- Fengler, S. & P. Seel (2001) Ausgewählte Ergebnisse aus den orientierenden Messungen gefährlicher Stoffe. Friedberg. Vortrag, Prioritäre Stoffe im Bereich der Wasserpolitik (EU-WRRL). Fortbildungsveranstaltung des Hessischen Landesamt für Umwelt und Geologie, 28. November 2001.
- Fisk, A. T., K. A. Hobson & R. J. Norstrom (2001) Influence of chemical and biological factors on trophic transfer of persistent organic pollutants in the northwater polynya marine food web. *Environ.Sci.Technol.* 35[4], 732-738.
- Fisk, A. T., R. J. Norstrom, C. D. Cymbalisky & D. C. G. Muir (1998) Dietary accumulation and depuration of hydrophobic organochlorines: Bioaccumulation parameters and their relationship with the octanol/water partition coefficient. *Environ Toxicol Chem* 17[5], 951-961.
- Flint, R. W. (1986) Hypothesized carbon flow through the deep water Lake Ontario food web. *J.Great Lakes Res.* 12, 344-354.
- Forbes, T. L., V. E. Forbes, A. Giessing, R. Hansen & L. K. Kure (1998) Relative role of pore water versus ingested sediment in bioavailability of organic contaminants in marine sediments. *Environ Toxicol Chem* 17[12], 2453-2462.
- Forbes, V. E. & T. L. Forbes (1997) Dietary absorption of sediment-bound fluoranthene by a deposit-feeding gastropod using the C-14:Cr-51 dual-labeling method. *Environ Toxicol Chem* 16[5], 1002-1009.
- Förster, B., T. Knacker, R. Nagel & W. Ahlf (1996) Vergleichende Darstellung der Ansätze zur Bewertung des ökotoxikologischen Risikos für benthische Organismen. Forschungsbericht No. 360 01 004. Berlin, Germany, Umweltbundesamt.
- Franke, C. (1996) How meaningful is the bioconcentration factor for risk assessment? *Chemosphere* 32, 1897-1905.
- Franke, C., G. Studinger, G. Berger, S. Böhling, U. Bruckmann, D. Cohors-Fresenborg & U. Jöhnke (1994) The assessment of bioaccumulation. *Chemosphere* 29, 1501-1514.
- Froese, R. & D. Pauly (1999) FishBase 99. website . 24-9-1999.
- Füll, C. (1996) Bioakkumulation und Metabolismus von γ -1,2,3,4,5,6-Hexachlorcyclohexan (Lindan) und 2-(2,4-Dichlorphenoxy)-Propionsäure (Dichlorprop) beim Regenwurm *Lumbricus rubellus* (Oligochaeta, Lumbricidae). Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
- Gobas, F. A. P. C. (1993) A model for predicting the bioaccumulation of hydrophobic organic chemicals in aquatic food webs: Application to Lake Ontario. *Ecol.Model.* 69, 1-17.
- Gobas, F. A. P. C., J. R. McCorquodale & G. D. Haffner (1993a) Intestinal absorption and biomagnification of organochlorines. *Environ.Toxicol.Chem.* 12, 567-576.
- Gobas, F. A. P. C., J. B. Wilcockson, R. W. Russell & G. D. Haffner (1999) Mechanism of biomagnification in fish under laboratory and field conditions. *Environ Sci Technol* 33[1], 133-141.
- Gobas, F. A. P. C., X. Zhang & R. Wells, 1993b. Gastrointestinal magnification - the mechanism of biomagnification and food chain accumulation of organic chemicals, *Environmental Science & Technology* 27: 2855-2863.
- Hill, I. R., P. Matthiesen & F. Heimbach (1993) Guidance Document on Sediment Toxicity Tests and Bioassays for Freshwater and Marine Environments. From the Workshop on Sediment Toxicity Assessment, 8-10 November 1993, SETAC-Europe.
- Ingersoll, C. G., G. T. Ankley, D. A. Benoit, E. L. Brunson, G. A. Burton, F. J. Dwyer, R. A. Hoke, P. F. Landrum, T. J. Norberg-King & P. V. Winger (1995) Toxicity and bioaccumulation of sediment-

associated contaminants using freshwater invertebrates: A review of methods and applications. *Environ.Toxicol.Chem.* 11, 1885-1894.

Jepsen, R., S. Borglin, W. Lick & D. L. Swackhammer (1995) Parameters affecting the adsorption of Hexachlorobenzene to natural sediments. *Environ.Toxicol.Chem.* Vol 14, 1487-1497.

Johnson, J. L., D. L. Stalling & J. W. Hogan (1974) Hexachlorobenzene (HCB) residues in Fish. *Bull.Environ.Contam.Toxicol.* 11[5], 393-398.

Kaag, N. H. B. M., E. M. Foekema, M. C. T. Scholten & N. M. vanStraalen (1997) Comparison of contaminant accumulation in three species of marine invertebrates with different feeding habits. *Environ Toxicol Chem* 16[5], 837-842.

Karickhoff, S. W. (1981) Semi-empirical estimation of sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments and soils. *Chemosphere* 10, 833-846.

Karickhoff, S. W., D. S. Brown & T. A. Scott (1979) Sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments. *Water Res.* 13, 241-248.

Karickhoff, S. W. & K. R. Morris (1985) Impact of tubificid oligochaetes on pollutant transport in bottom sediments. *Environ.Sci.Technol.* 19, 51-56.

Kleivane, L. & J. U. Skaare (1998) Organochlorine contaminants in northeast Atlantic minke whales (*Balaenoptera acutorostrata*). *Environmental Pollution* 101, 231-239.

Klerks, P. L. & P. R. Bartholomew (1991) Cadmium accumulation and detoxification in a Cd-resistant population of the oligochaete *Limnodrilus hoffmeisteri*. *Aquat.Toxicol.* 19, 97-112.

Kolok, A. S., K. J. Groetsch & J. T. Oris (1996) The role of water ventilation and sediment ingestion on the uptake of hexachlorobenzene by Gizzard Shad (*Dorosoma cepedianum*). *Environ.Toxicol.and Chem.* 15, 1760-1762.

Kuehl, D. W., R. Haebler & C. Potter (1991) Chemical residues in dolphins from the U.S. atlantic coast including Atlantic Bottlenose obtained during the 1987/88 mass mortality. *Chemosphere* 22, 1071-1084.

Landrum, P. F. (1989) Bioavailability and toxicokinetics of polycyclic aromatic hydrocarbons sorbed to sediments for the Amphipod *Pontoporeia hoyi*. *Environ.Sci.Technol.* 23, 588-595.

Landrum, P. F. & S. W. Fisher (1998) Influence of lipids on the bioaccumulation and trophic transfer of organic contaminants in aquatic organisms. In: M. T. Arts & B. C. Wainman (eds), *Lipids in Freshwater Ecosystems*. Springer-Verlag, New York: 203-234.

Landrum, P. F., S. R. Nihart, B. J. Eadie & L. R. Herche (1987) Reduction in bioavailability of organic contaminants to the amphipod *Pontoporeia hoyi* by dissolved organic matter of sediment interstitial waters. *Environ.Toxicol.Chem.* 6, 11-20.

Lores, E. M., J. M. Patrick & J. K. Summers (1993) Humic acid effects on uptake of hexachlorobenzene and hexachlorobiphenyl by sheepshead minnows in static sediment/water systems. *Environ.Toxicol.Chem.* 12, 541-550.

Lotufo, G. R. & J. W. Fleeger (1996) Toxicity of sediment-associated Pyrene and Phenanthrene to *Limnodrilus hoffmeisteri* (Oligochaeta: Tubificidae). *Environ.Toxicol.Chem.* 15, 1508-1516.

Lucan-Bouche, M. L., S. BiagiantiRisbourg, F. Arsac & G. Vernet (1999) An original decontamination process developed by the aquatic oligochaete *Tubifex tubifex* exposed to copper and lead. *Aquat Toxicol* 45[1], 9-17.

- Lyman, W. J., W. F. Reehl & D. H. Rosenblatt (1990) Handbook of Chemical Property Estimation Methods. Environmental Behavior of Organic Compounds. American Chemical Society, Washington, DC.
- Mackay, D. (1991) Multimedia Environmental Models: the Fugacity Approach. Lewis Publishers Inc., Chelsea MI, 257 pp.
- Mackay, D. & A. Fraser (2000) Bioaccumulation of persistent organic chemicals: mechanisms and models. Environ.Pollut. 110[3], 375-391.
- Martinez-Madrid, M., P. Rodriguez, J. I. PerezIglesias & E. Navarro (1998) Sediment toxicity bioassays for assessment of contaminated sites in the Nervion River (Northern Spain). 2. *Tubifex tubifex* reproduction sediment bioassay. Ecotoxicology 8[2], 111-124.
- Matisoff, G., X. S. Wang & P. L. Mccall (1999) Biological redistribution of lake sediments by tubificid oligochaetes: *Branchiura sowerbyi* and *Limnodrilus hoffmeisteri*/ *Tubifex tubifex*. J Great Lakes Res 25[1], 205-219.
- Meller, M., P. Egeler, J. Rombke, H. Schallnass, R. Nagel & B. Streit (1998) Short-term toxicity of lindane, hexachlorobenzene, and copper sulfate to tubificid sludgeworms (Oligochaeta) in artificial media. Ecotoxicol Environ Safety 39[1], 10-20.
- Moore, D. R. J., R. L. Breton & K. Lloyd (1997) The effects of hexachlorobenzene on mink in the Canadian environment: An ecological risk assessment. Environ Toxicol Chem 16[5], 1042-1050.
- Morrison, H. A., F. A. P. C. Gobas, R. Lazar & G. D. Haffner, 1996. Development and verification of a bioaccumulation model for organic contaminants in benthic invertebrates, Environmental Science & Technology 30: 3377-3384.
- Morrison, H. A., F. A. P. C. Gobas, R. Lazar, D. M. Whittle & G. D. Haffner (1997) Development and verification of a benthic/pelagic food web bioaccumulation model for PCB congeners in western Lake Erie. Environ Sci Technol 31[11], 3267-3273.
- Morrison, H. A., F. A. P. C. Gobas, R. Lazar, D. M. Whittle & G. D. Haffner (1998) Projected changes to the trophodynamics of PCBs in the western Lake Erie ecosystem attributed to the presence of zebra mussels (*Dreissena polymorpha*). Environ Sci Technol 32[24], 3862-3867.
- Morrison, H. A., D. M. Whittle, C. D. Metcalfe & A. J. Niimi (1999) Application of a food web bioaccumulation model for the prediction of polychlorinated biphenyl, dioxin, and furan congener concentrations in Lake Ontario aquatic biota. Can J Fisheries Aquat Sci 56[8], 1389-1400.
- Nagel, R. (1988) Umweltchemikalien und Fische - Beiträge zu einer Bewertung. Habilitationsschrift, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
- Naylor, C. & C. Rodrigues (1995) Development of a test method for *Chironomus riparius* using a formulated sediment. Chemosphere 31, 3291-3303.
- Neff, J. M. (1984) Bioaccumulation of organic micropollutants from sediments and suspended particles by aquatic animals. Fresenius Z.Anal.Chem. 319, 132-136.
- Niimi, A. J. & C. Y. Cho (1980) Uptake of hexachlorobenzene (HCB) from feed by rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). Bull.Environ.Contam.Toxicol. 24, 834-839.
- OECD (1984) Guideline for Testing of Chemicals, TG 207 Earthworm, Acute Toxicity Test. OECD, Paris, France.
- OECD (1992) Guidelines for Testing of Chemicals No. 203. Fish, Acute Toxicity Test. OECD, Paris, France.

OECD (1996) Guidelines for Testing of Chemicals No. 305. Bioconcentration: Flow-through Fish Test. OECD, Paris, France.

OECD (2001) Guidelines for Testing of Chemicals, Proposal for a new Guideline 218, Sediment-Water Chironomid Toxicity Test Using Spiked Sediment. OECD, Paris, France.

Oliver, B. G. (1987) Biouptake of chlorinated hydrocarbons from laboratory-spiked and field sediments by oligochaete worms. *Environ.Sci.Technol.* 21, 785-790.

Oliver, B. G. & A. J. Niimi (1988) Trophodynamic analysis of polychlorinated biphenyl congeners and other chlorinated hydrocarbons in the Lake Ontario ecosystem. *Environ Sci Technol* 22, 388-397.

Paasivirta, J. (2000) Long-term effects of bioaccumulation in ecosystems. In: O. Hutzinger (ed), *The Handbook of Environmental Chemistry, Vol. 2, Reactions and Processes, Part J.* Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg: 201-234.

Penning de Vries, F. & M. Plentinger (1996) CAMASE - Guidelines for modelling. www.bib.wau.nl/camase/modguide.html . 5-1-2001.

Penry, D. L. (1998) Applications of efficiency measurements in bioaccumulation studies: Definitions, clarifications, and a critique of methods. *Environ Toxicol Chem* 17[8], 1633-1639.

Qiao, P., F. A. P. C. Gobas & A. P. Farrell (2000) Relative contributions of aqueous and dietary uptake of hydrophobic chemicals to the body burden in juvenile rainbow trout. *Arch.Environ.Contam Toxicol.* 39[3], 369-377.

Reynoldson, T. B., K. E. Day, C. Clarke & D. Milani (1994) Effect of indigenous animals of chronic endpoints in freshwater sediment toxicity tests. *Environ.Toxicol.Chem.* 13, 973-977.

Reynoldson, T. B., S. P. Thompson & J. L. Bamsey (1991) A sediment bioassay using the tubificid oligochaete worm *Tubifex tubifex*. *Environ.Toxicol.Chem.* 10, 1061-1072.

Rippen, G. (1991) *Handbuch der Umweltchemikalien. Physikalisch-chemische und ökotoxikologische Daten ausgewählter chemischer Stoffe.* 10. Erg. Lfg. 6/91. Ecomed Verlagsgesellschaft, Landsberg.

Rodriguez, P. & T. B. Reynoldson (1999) Laboratory methods and criteria for sediment bioassessment. In: A. Mudroch, J. M. Azcue & P. Mudroch (eds), *Manual of Bioassessment of aquatic sediment quality.* Lewis Publishers/CRC Press LLC, Boca Raton.: 83-133.

Romijn, C. A. F. M., R. Luttik, D. Van de Meent, W. Slooff & J. H. Canton (1993) Presentation of a General Algorithm to Include Effect Assessment on Secondary Poisoning in the Derivation of Environmental Quality Criteria. Part 1: Aquatic food chains. *Ecotox.Envir.Safety* 26, 61-85.

Rosso, A., M. Lafont & A. Exinger (1994) Impact of heavy metals on benthic oligochaete communities in the river Ill and its tributaries. *Wat.Sci.Tech.* 29, 241-248.

Russell, R. W., F. A. P. C. Gobas & G. D. Haffner (1999) Role of chemical and ecological factors in trophic transfer of organic chemicals in aquatic food webs. *Environ Toxicol Chem* 18[6], 1250-1257.

Russell, R. W., R. Lazar & G. D. Haffner, 1995. Biomagnification of organochlorines in Lake Erie white bass, *Environ. Toxicol. Chem.* 14: 719-724.

Schuytema, G. S., D. F. Krawczyk, W. L. Griffis, A. V. Nebeker & M. L. Robideaux (1988) Comparative uptake of Hexachlorbenzene by Fathead Minnows, Amphipods and oligochaete worms from water and sediment. *Environ.Toxicol.Chem.* 7, 1035-1045.

Schuytema, G. S., D. F. Krawczyk, W. L. Griffis, A. V. Nebeker & M. L. Robideaux (1990) Hexachlorobenzene uptake by fathead minnows and macroinvertebrates in recirculating sediment/water systems. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 19, 1-9.

Senthilkumar, K., K. Kannan, A. Subramanian & S. Tanabe (2001) Accumulation of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in sediments, aquatic organisms, birds, bird eggs and bat collected from South India. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 8[1], 35-47.

Sijm, D. T. H. M. & J. Hermens (2000) Internal effect concentration: Link between bioaccumulation and ecotoxicity for organic chemicals. In: O. Hutzinger (ed), *The Handbook of Environmental Chemistry*, Vol. 2, Reactions and Processes, Part J. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg: 167-200.

Sijm, D. T. H. M. & A. Opperhuizen, 1988. Biotransformation, bioaccumulation and lethality of 2,8-dichlorodibenzo-p-dioxin: A proposal to explain the biotic fate and toxicity of PCDD's and PCDF's, *Chemosphere*. 17: 83-99.

Spectrum Laboratories (1996) Chemical Fact Sheet - CAS No. 886500 (Terbutryn).

Steinberg, C. E. W., M. Haitzer, R. Bruggemann, I. V. Perminova, N. Y. Yashchenko & V. S. Petrosyan (2000) Towards a quantitative structure activity relationship (QSAR) of dissolved humic substances as detoxifying agents in freshwaters. *Int. Rev. Hydrobiol.* 85[2-3], 253-266.

Sterba, G. (1987) *Süßwasserfische der Welt*. Urania-Verlag, Leipzig.

Streit, B. (1992) Bioaccumulation processes in ecosystems. *Experientia* 48, 955-970.

Streit, B. (1994) *Lexikon Ökotoxikologie*. 2. aktualisierte und erweiterte Auflage. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim.

Streit, B. (1998) Bioaccumulation of contaminants in fish. In: T. Braunbeck, D. E. Hinton & B. Streit (eds), *Fish Ecotoxicology*. Birkhäuser Verlag, Basel, Schweiz.

Streit, B., S. Winter & A. Nagel (1995) Bioaccumulation of selected organochlorines in Bats and Tits: Influence of Chemistry and Biology. *Environ. Sci. & Pollut. Res.* 2[4], 194-195.

Suedel, B. C., J. A. Boraczek, R. K. Peddicord, P. A. Clifford & T. M. Dillon (1994) Trophic transfer and biomagnification potential of contaminants in aquatic ecosystems. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 136, 21-89.

Suedel, B. C. & J. H. Rodgers (1994) Development of formulated reference sediments for freshwater and estuarine sediment testing. *Environ. Toxicol. Chem.* 13, 1163-1175.

Tanabe, S., K. Senthilkumar, K. Kannan & A. N. Subramanian (1998) Accumulation features of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in resident and migratory birds from South India. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 34, 387-397.

The Royal Society of Chemistry (1994) *The Agrochemicals Handbook*. 3rd edition, update 5 - January 1994. The Royal Society of Chemistry Information Services, Cambridge UK.

Thibodeaux, L. J., K. T. Valsaraj & D. D. Reible (2001) Bioturbation-driven transport of hydrophobic organic contaminants from bed sediment. *Environ. Eng. Sci.* 18[4], 215-223.

Thomann, R. V. (1989) Bioaccumulation model of organic chemical distribution in aquatic food chains. *Environ. Sci. Technol.* 23, 699-707.

Thomann, R. V., J. P. Connolly & T. F. Parkerton (1992) An equilibrium model of organic chemical accumulation in aquatic food webs with sediment interactions. *Environ. Toxicol. Chem.* 11, 615-629.

- U.S.EPA (1994) Procedures for assessing the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates. EPA 600/R-94/024. US Environmental Protection Agency, Duluth MN.
- U.S.EPA (1995) Great Lakes Water Quality Initiative Technical Support Document for the Procedure to Determine Bioaccumulation Factors. EPA 820-8-95-005. US Environmental Protection Agency. Office of Water, 4301.
- U.S.HHS (1993) Hazardous Substance Data Base. U.S. Department of Health and Human Services, Washington DC.
- Van de Plassche, E. J. (1994) Towards integrated environmental quality objectives for several compounds with a potential for secondary poisoning. RIVM National Institute of Public Health and Environmental Protection, Bilthoven, Netherlands.
- Vetter, W., B. Luckas, G. Heidemann & K. Skírnisson (1996) Organochlorine residues in marine mammals from the Northern hemisphere - a consideration of the composition of organochlorine residues in the blubber of marine mammals. *Sci.Total Environ.* 186, 29-39.
- Volpers, M. (1988) Lokomotorische Aktivitäten und Defäkationsraten von Tubificiden in Abhängigkeit von Temperatur und Sauerstoff. Diplomarbeit, Universität Köln.
- Wachs, B. (1967) Die häufigsten hämoglobinführenden Oligochaeten der mitteleuropäischen Binnengewässer. *Hydrobiologia* 30, 225-247.
- Walsh, G. E., D. E. Weber & L. K. Esry (1992) Synthetic substrata for propagation and testing of soil and sediment organisms. *Pedobiologia* 36, 1-10.
- Wang, W. X. & N. S. Fisher (1999) Assimilation efficiencies of chemical contaminants in aquatic invertebrates: A synthesis. *Environ Toxicol Chem* 18[9], 2034-2045.
- Weinstein, J. E. & J. T. Oris (1999) Humic acids reduce the bioaccumulation and photoinduced toxicity of fluoranthene fish. *Environ Toxicol Chem* 18[9], 2087-2094.
- Wesenberg-Lund, C. (1967) Biologie der Süßwassertiere. Wirbellose Tiere. Verlag von J. Cramer, Lehre.
- Whitten, B. K. & C. J. Goodnight (1966) Toxicity of some common insecticides to Tubificids. *J.Wat.Pollut.Control Fed.* 38, 227-235.
- Woodwell, G. M. (1967) Toxic substances and ecological cycles. *Sci.Am.* 216 24, -31.
- Wootton, R. J. (1984) A functional biology of sticklebacks. Functional Biology Series. Croom Helm, London & Sydney.

Lebenslauf

Zur Person: **Michael Meller**, geboren am 12.12.64 in Rüsselsheim/M

Schulen

1971 - 1975 Grundschule: Albrecht Dürer Schule, Rüsselsheim
1975 - 1977 Förderstufe: Albrecht Dürer Schule, Rüsselsheim
1977 - 1985 Gymnasium: Max Planck Gymnasium, Rüsselsheim
1985 Abitur am Max Planck Gymnasium, Rüsselsheim

Studium

1988 - 1996 Studium der Biologie an der Johann Wolfgang Goethe-Universität,
Frankfurt/Main
Hauptfach: Botanik; Nebenfächer: Zoologie, Biochemie, Mikrobiologie
Diplomarbeit bei der ECT Oekotoxikologie GmbH, Flörsheim/M:
"Entwicklung zweier Sediment-Toxizitätstests mit Tubificiden und Chi-
ronomiden. Vergleich subletaler und letaler Effekte dreier Chemikalien."

Berufliche Erfahrungen

1991 - 1993 studentische Hilfskraft am Battelle-Institut, Frankfurt/M, Abt. Ökotoxi-
kologie
1993 3-monatiger Studienaufenthalt am Instituto Nacional de Pesquisas da
Amazônia (INPA), Manaus/AM, Brasil, Abt. Entomologia
1995 - 1996 studentische Hilfskraft bei der ECT Oekotoxikologie GmbH, Flörs-
heim/M
1996 wissenschaftlicher Mitarbeiter bei der ECT Oekotoxikologie GmbH,
Flörsheim/M
1996 - 1997 wissenschaftlicher Mitarbeiter am Staatlichem Museum für Naturkun-
de, Karlsruhe
1997 Stipendium des Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e
Tecnológico (CNPq), Brasília, Brasil, für halbjährigem Forschungs-
aufenthalt am Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Centro de
Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Ocidental (EMBRAPA-CPAA),
Manaus/AM, Brasil.
ab 1997 wissenschaftlicher Mitarbeiter bei der ECT Oekotoxikologie GmbH,
Flörsheim/M