

Abhängigkeit der G-Werte im Wasserlinsen- und Algentest von der Berechnungsmethode der Hemmwerte und der absoluten Wachstumsrate der Kontrolle

Matthias Eberius

Der Simulation verschiedener Wasserlinsenteste lag die Frage zugrunde, inwieweit sich der über Biomasseintegral und Biomassezuwachs ermittelte G-Wert ändert, wenn bei konstanter Hemmung der Wachstumsrate (willkürlich gewählter Fixpunkt 20 % Hemmung der Wachstumsrate bei Verdünnungsstufe 512), die absolute Wachstumsrate der Kontrolle und der Steilheit der Konzentrations-Wirkungsbeziehung sich verändert.

Die absolute Wachstumsrate der Kontrolle wird in Biotestnormen nur durch Minimalwerte begrenzt, die Steilheit der Konzentrations-Wirkungsbeziehung ist probenspezifisch, also gar nicht normierbar.

Um ein Gefühl für die Größe der Effekte für Bioteste mit exponentiellem Wachstum zu bekommen, wurden sowohl typische absolute Wachstumsraten des Algenteste als auch des Wasserlinsenteste eingesetzt.

Als Randbedingungen dieser numerischen Simulation wurde strikt exponentielles Wachstum und eine log-lineare Konzentrations-Wirkungsbeziehung der Wachstumsrate angenommen. Derartige annähernd log-lineare Beziehungen wurden bei Wasserlinsen für die Konzentrations-Wirkungsbeziehung der Wachstumsrate öfter beobachtet, das Modell kann aber auch auf eine sigmoide Beziehung erweitert werden. Um die verschiedenen Testszenarien vergleichbar zu machen und möglichst große Bereiche der Konzentrations-Wirkungsbeziehung abzudecken, wurde für eine 20 %ige Hemmung der Wachstumsrate für $G = 512$ festgelegt, d. h. der G-Wert aller Proben ist 768. Eine 20 %ige Hemmung der Wachstumsrate entspricht je nach absoluter Wachstumsrate der Kontrolle einer 37 bis 44 %igen Hemmung der Endwerte (final biomass). Der hohe G-Wert hat keinen Einfluß auf das zu erzielende Ergebnis, da es dort immer nur relative Differenzen zwischen G-Stufen geht, die unabhängig vom Absolutwert der G-Stufe bzw. der Konzentration immer gleich bleiben. Für die Steilheit der Konzentrations-Wirkungsbeziehung wurden 4 Fälle aus realen Versuchen abstrahiert.

So entspricht das Szenario „steil“ der Steigung in einem Test mit Dichlorphenol, „mittel“, einem Test mit Trifluralin, „flach“ einem Test mit Kaliumdichromat und das Szenario „sehr flach“ einem Test mit einer Umweltprobe. Die letzteren Daten wurden freundlicherweise von Frau Vietoris (LUA NW) zur Verfügung gestellt. Bei den Wachstumsraten der Wasserlinsen (Testdauer 7 Tage) wurde der minimale nach OECD valide Wert von $0,275 \text{ d}^{-1}$, ein mittlerer Wert von $0,325 \text{ d}^{-1}$ und eine hohe Wachstumsrate von $0,375 \text{ d}^{-1}$ verwendet.

Aus Vergleichsgründen wurden auch Daten für den dreitägigen Algentest mit der minimalen validen absoluten Wachstumsrate $0,9 \text{ d}^{-1}$ und der hohen aber noch erreichbaren absoluten Wachstumsrate von $1,9 \text{ d}^{-1}$ mitberechnet. Dies soll nur demonstrieren

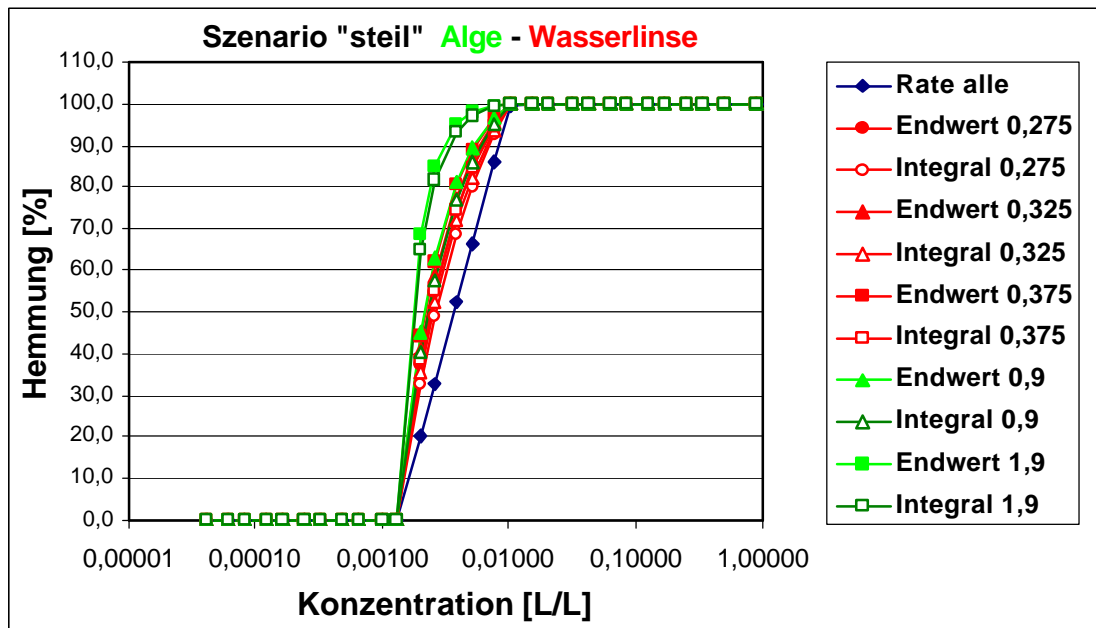
ren, daß die hier diskutierte Problematik kein Spezialfall des Wasserlinsenteste ist, sondern genauso beim umfassend genormten und zur Feststellung von G-Stufen häufig eingesetzten Algentest auftreten kann.

Die Graphiken dienen der Darstellung der Konzentrations-Wirkungsbeziehungen nach Umrechnung der Verdünnungsstufen in Volumenanteile. In den Tabellen zu jedem Szenario sind jeweils die Felder dick umrandet, die der ersten Verdünnungsstufe entsprechen, bei der die nach der in der ersten Spalte angegebenen Methode und absoluten Wachstumsrate der Kontrolle berechneten Hemmwerte erstmals die 20 % Marke unterschreiten. Die fettgedruckte Zahl in der Zeile „Rate alle“ ist als Orientierungspunkt der 20 %ige Hemmwert der Wachstumsrate; kursiv/unterstrichen ist der erste Hemmwert der Wachstumsrate, der die 10 % Marke unterschreitet.

Die angegebenen Wachstumsrate 0,275, 0,325 und 0,375 beziehen sich auf den Wasserlinsentest mit 7 Tagen, die Werte 0,9 und 1,9 jeweils auf den Algentest mit 3 Tagen Dauer.

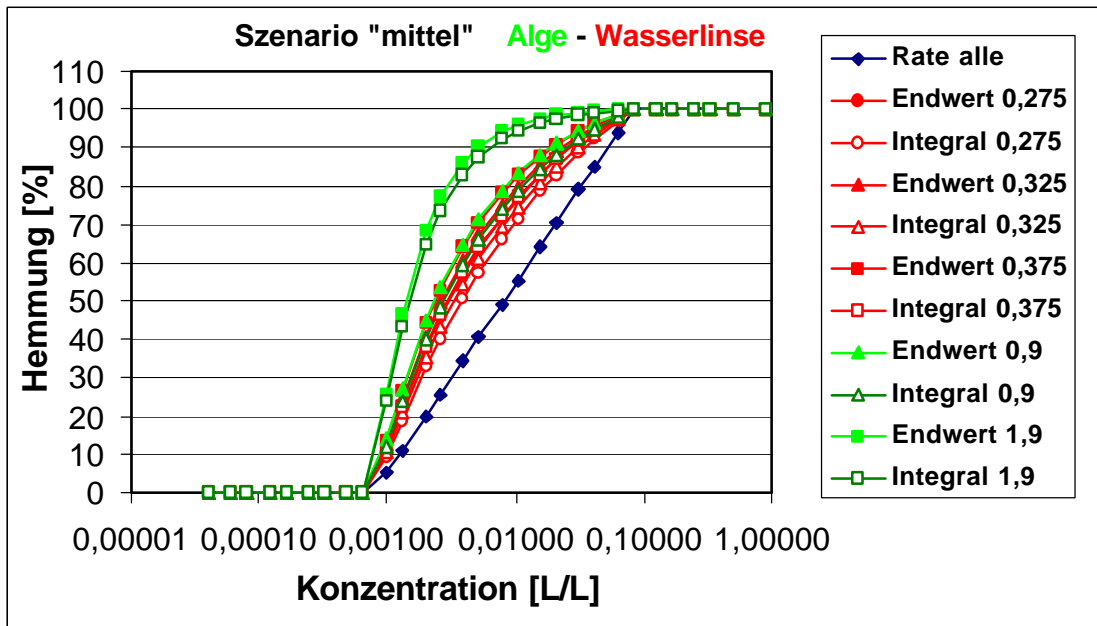
Für das Szenario „steil“ gibt es keine G-Wert-Unterschiede zwischen den Berechnungsmethoden und absoluten Wachstumsraten der Kontrolle, die von der absoluten Wachstumsrate oder der Berechnungsmethode abhängig wären.

G-Wert	12288	8192	6144	4096	3072	2048	1536	1024	768	512	384
Rate alle	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	<u>20,1</u>	32,8
Endwert 0,275	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	37,6	54,8
Integral 0,275	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	32,7	49,0
Endwert 0,325	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	40,9	58,6
Integral 0,325	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	35,5	52,2
Endwert 0,375	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	44,2	62,2
Integral 0,375	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	38,3	55,4
Endwert 0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	44,9	63,0
Integral 0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	40,3	57,7
Endwert 1,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	68,5	84,8
Integral 1,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	64,9	81,7



Für das Szenario „mittel“ liegen die aus der Hemmung von Endwert und Integral ermittelten G-Werte für die Wasserlinsen und die niedrige Algenwachstumsrate um eine Stufe, für die hohe absolute Wachstumsrate der Algen schon um 2 Stufen unterhalb der mit der Hemmung der Wachstumsrate ermittelten G-Werte. Die Berechnungsmethode beginnt also, Einfluß auf das Ergebnis auszuüben. Hier zeichnet sich schon bei einem Wert ab, daß das Biomasseintegral trotz strikt exponentiellen Wachstums generell zu etwas niedrigeren G-Werten führt als der Biomassezuwachs. Die angegebenen Wachstumsrate 0,275, 0,325 und 0,375 beziehen sich auf den Wasserlinsentest mit 7 Tagen, die Werte 0,9 und 1,9 jeweils auf den Algentest mit 3 Tagen Dauer.

G-Wert	12288	8192	6144	4096	3072	2048	1536	1024	768	512	384
Rate alle	0	0	0	0	0,0	0,0	0,0	<u>5,2</u>	10,8	20,1	25,7
Endwert 0,275	0	0	0	0	0,0	0,0	0,0	11,1	22,0	37,5	45,7
Integral 0,275	0	0	0	0	0,0	0,0	0,0	9,4	18,8	32,7	40,2
Endwert 0,325	0	0	0	0	0,0	0,0	0,0	12,4	24,3	40,8	49,3
Integral 0,325	0	0	0	0	0,0	0,0	0,0	10,4	20,6	35,4	43,3
Endwert 0,375	0	0	0	0	0,0	0,0	0,0	13,7	26,6	44,1	52,9
Integral 0,375	0	0	0	0	0,0	0,0	0,0	11,4	22,5	38,2	46,3
Endwert 0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	14,0	27,1	44,8	53,6
Integral 0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	12,2	24,0	40,2	48,6
Endwert 1,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	25,7	46,2	68,3	77,1
Integral 1,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	23,8	43,2	64,8	73,6



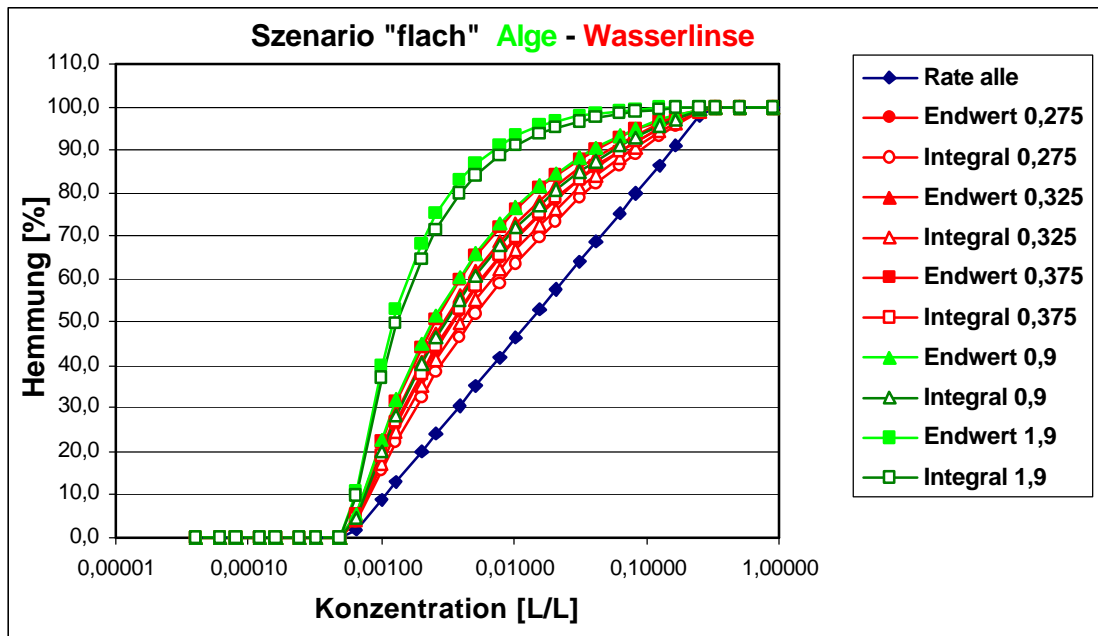
Wiederholung Erläuterung: Die Graphiken dienen der Darstellung der Konzentrations-Wirkungsbeziehungen nach Umrechnung der Verdünnungsstufen in Volumenanteile. In den Tabellen zu jedem Szenario sind jeweils die Felder dick umrandet, die der ersten Verdünnungsstufe entsprechen, bei der die nach der in der ersten Spalte angegebenen Methode und absoluten Wachstumsrate der Kontrolle berechneten Hemmwerte erstmals die 20 % Marke unterschreiten. Die fettgedruckte Zahl in der Zeile „Rate alle“ ist als Orientierungspunkt der 20 %ige Hemmwert der Wachstumsrate; kursiv/unterstrichen ist der erste Hemmwert der Wachstumsrate, der die 10 % Marke unterschreitet.

Die angegebenen Wachstumsrate 0,275, 0,325 und 0,375 beziehen sich auf den Wasserlinsentest mit 7 Tagen, die Werte 0,9 und 1,9 jeweils auf den Algentest mit 3 Tagen Dauer.

Auch für das Szenario „flach“ zeigt sich, daß die G-Stufe der Hemmung der Wachstumsrate um 1 oder 2 Stufen von den über Integral und Endwert ermittelten Stufen abweicht. Bei den Wasserlinsen kann durch Minimierung der absoluten Wachstumsrate in den Grenzen der OECD-Norm (μ mindestens $0,275 \text{ d}^{-1}$) und/oder die Berechnung der Hemmung aus dem Integral die G-Stufe um eine Einheit verkleinert werden. Durch die grobe Rasterung des Verdünnungsschemas treten bei den hier gewählten Parametern bei den Algen trotz stark unterschiedlicher absoluter Wachstumsraten keine Verschiebungen der G-Stufen auf. Die Zahlenwerte in der Tabelle zeigen jedoch, daß dies kein genereller Zustand ist, da die Hemmwerte für $\mu=1,9 \text{ d}^{-1}$ fast doppelt so hoch sind wie die für $\mu=0,9 \text{ d}^{-1}$, aber bei der Verdünnungsstufe 1024 zumindest knapp immer über 20 % liegen.

G-Wert	12288	8192	6144	4096	3072	2048	1536	1024	768	512	384
Rate alle	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	8,9	13,1	20,0	24,3
Endwert 0,275	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,4	18,4	26,1	37,5	43,7
Integral 0,275	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,7	15,7	22,4	32,6	38,4
Endwert 0,325	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,9	20,4	28,7	40,8	47,3
Integral 0,325	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,1	17,2	24,5	35,4	41,3
Endwert 0,375	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,5	22,4	31,4	44,1	50,8
Integral 0,375	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,5	18,9	26,7	38,1	44,4

Endwert 0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,6	22,9	32,0	44,8	51,5
Integral 0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,9	20,1	28,3	40,2	46,6
Endwert 1,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	10,7	39,9	52,8	68,3	75,2
Integral 1,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	9,9	37,2	49,6	64,7	71,6

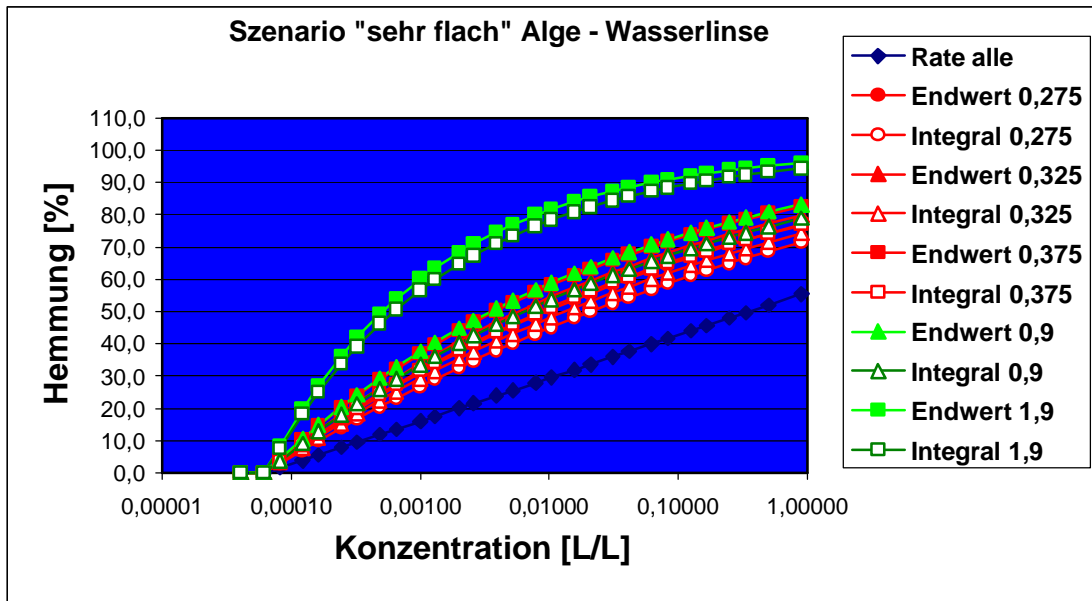


Wiederholung Erläuterung: Die Graphiken dienen der Darstellung der Konzentrations-Wirkungsbeziehungen nach Umrechnung der Verdünnungsstufen in Volumenanteile. In den Tabellen zu jedem Szenario sind jeweils die Felder dick umrandet, die der ersten Verdünnungsstufe entsprechen, bei der die nach der in der ersten Spalte angegebenen Methode und absoluten Wachstumsrate der Kontrolle berechneten Hemmwerte erstmals die 20 % Marke unterschreiten. Die fettgedruckte Zahl in der Zeile „Rate alle“ ist als Orientierungspunkt der 20 %ige Hemmwert der Wachstumsrate; kursiv/unterstrichen ist der erste Hemmwert der Wachstumsrate, der die 10 % Marke unterschreitet.

Die angegebenen Wachstumsrate 0,275, 0,325 und 0,375 beziehen sich auf den Wasserlinsentest mit 7 Tagen, die Werte 0,9 und 1,9 jeweils auf den Algentest mit 3 Tagen Dauer.

Beim Szenario „sehr flach“ streuen die G-Werte sowohl für Algen als auch für Wasserlinsen über jeweils 2 Stufen in Abhängigkeit von der absoluten Wachstumsrate und der Auswertungsmethode Integral oder Endwert. Hohe Wachstumsraten erhöhen bei beiden Teste die G-Stufe um 1 bis 2 je nach Auswertungsparameter (Endwert bzw. Integral) Die Wasserlinsen erscheinen dabei aufgrund der Mathematik (Nichtberücksichtigung der absoluten Wachstumsrate und der Testdauer in den Formeln beider Methoden) um 2 Verdünnungsstufen (Faktor 2) „unempfindlicher“ als die Algen. Die G-Stufe der Hemmung der Wachstumsrate liegt um 4 – 7 G-Stufen niedriger!

G-Wert	12288	8192	6144	4096	3072	2048	1536	1024	768	512	384
Rate alle	1,5	3,8	5,5	7,8	<u>9,5</u>	11,8	13,5	16,0	17,5	20,0	21,5
Endwert 0,275	3,3	8,3	11,7	16,4	19,6	23,9	26,8	31,0	33,5	37,4	39,7
Integral 0,275	2,7	7,0	9,9	13,9	16,7	20,4	23,0	26,8	29,0	32,6	34,7
Endwert 0,325	3,7	9,3	13,1	18,2	21,7	26,3	29,5	34,0	36,6	40,8	43,2
Integral 0,325	3,0	7,7	11,0	15,3	18,3	22,4	25,2	29,2	31,6	35,3	37,5
Endwert 0,375	4,1	10,3	14,5	20,0	23,8	28,8	32,2	37,0	39,7	44,1	46,5
Integral 0,375	3,4	8,5	12,1	16,8	20,1	24,4	27,4	31,7	34,2	38,1	40,4
Endwert 0,9	4,2	10,5	14,8	20,4	24,3	29,4	32,8	37,6	40,4	44,8	47,3
Integral 0,9	3,6	9,2	12,9	18,0	21,4	26,0	29,1	33,5	36,1	40,2	42,5
Endwert 1,9	8,1	19,6	26,9	36,1	42,0	49,3	53,9	60,0	63,4	68,3	70,9
Integral 1,9	7,4	18,2	25,0	33,6	39,2	46,1	50,6	56,6	59,9	64,7	67,4



Wiederholung Erläuterung: Die Graphiken dienen der Darstellung der Konzentrations-Wirkungsbeziehungen nach Umrechnung der Verdünnungsstufen in Volumenanteile. In den Tabellen zu jedem Szenario sind jeweils die Felder dick umrandet, die der ersten Verdünnungsstufe entsprechen, bei der die nach der in der ersten Spalte angegebenen Methode und absoluten Wachstumsrate der Kontrolle berechneten Hemmwerte erstmals die 20 % Marke unterschreiten. Die fettgedruckte Zahl in der Zeile „Rate alle“ ist als Orientierungspunkt der 20 %ige Hemmwert der Wachstumsrate; kursiv/unterstrichen ist der erste Hemmwert der Wachstumsrate, der die 10 % Marke unterschreitet.

Die angegebenen Wachstumsrate 0,275, 0,325 und 0,375 beziehen sich auf den Wasserlinsentest mit 7 Tagen, die Werte 0,9 und 1,9 jeweils auf den Algentest mit 3 Tagen Dauer.

Zusammenfassung und Diskussion

Die durch Normen erlaubten und praktisch möglichen Unterschiede bei den absoluten Wachstumsraten und die Wahl zwischen Biomasseintegral und Zuwachs als Berechnungsgrundlage führen auch in Extremfällen zu maximal 2 G-Stufen Veränderung innerhalb eines Testsystems. Dies kann auf Einleitungserlaubnis und Abwasserabgaben erhebliche Effekte haben, wenn die Berechnungsmethoden und absoluten Wachstumsraten nicht sorgfältig in die Normen integriert werden.

Im Extremfall (sehr flache Konzentrations-Wirkungsbeziehung, maximale gegen minimale absolute Wachstumsraten der Kontrollen) führen die Unterschiede der absoluten Wachstumsrate dazu, daß für die gleiche Hemmung der Wachstumsrate 4 G-Stufen „Empfindlichkeitsdifferenz“ zwischen Algen und Wasserlinsen liegen. Direkte Vergleiche der „Empfindlichkeit“ beider Systeme sind folglich auf der Basis von Biomasseintegral und Endwert nicht zulässig.

Die Auswertung über die Wachstumsrate setzt dagegen, wenn die Toxizitätseinstufungen konstant bleiben sollen, statt einer 20 %igen Hemmung des Biomasseintegrals eine etwa 8 – 10 %ige Hemmung der Wachstumsrate für Wasserlinsen und eine 4 – 6 %ige Hemmung für Algen voraus.

Für die weitere Bewertung der Relevanz dieser Simulation sollten mehr Daten über die Steilheit der Konzentrations-Wirkungsbeziehung für Umweltproben gesammelt und das in der Simulation zugrundegelegte log-lineare Dosis-Wirkungsmodell überprüft und gegebenenfalls optimiert werden.

Werden statt G-Werten EC-Werte ermittelt, wächst die sichtbare Differenz zwischen den verschiedenen Wachstumsraten und Auswertungsverfahren wesentlich dramatischer, was die vorgestellten Graphiken und die Zahlenwerte der Tabellen sehr deutlich zeigen. Dementsprechend hoch ist die Brisanz der unterschiedlichen Absolutwerte für die Bewertung nach einem einheitlichen Schema von festgelegten Auslöseschwellen (z. B. EC_{50} als Maßstab für Toxizität).

Generell zeigen derartige Simulationen dementsprechend die Wichtigkeit der weitgehenden Normierung von Randbedingungen (Testdauer, absolute Wachstumsraten der Kontrollen) und Auswertungsmethoden zur Ermittlung vergleichbarer Ergebnisse. Wo eine Normierung nur begrenzt (absolute Wachstumsrate der Kontrolle) oder gar nicht (Steilheit der Konzentrations-Wirkungsbeziehung) möglich ist, kann eine Einbeziehung dieser Testparameter in die Auswertungsmethode u. U. weiterhelfen.