

Texte 7/02

UMWELTFORSCHUNGSPLAN DES BUNDESMINISTERIUMS FÜR UMWELT,
NATURSCHUTZ UND REAKTORSICHERHEIT

Forschungsbericht 298 64 416
UBA-FB 000205

Standardisierung und Validierung eines Bioakkumulationstests mit terrestrischen Oligochaeten

von

**Eric Bruns, Philipp Egeler , Thomas Moser , Jörg Römbke,, Adam Scheffczyk,
Peter Spörlein**

ECT Oekotoxikologie GmbH, Flörsheim am Main

Kurzfassung

Auf der Grundlage einer Literaturlauswertung wurde ein Vefahren zur Bestimmung der Bioakkumulation im Boden entwickelt. Hierzu wurden zwei verschiedene Testsubstrate (Kunsterde nach OECD 207 und der Standardboden LUFA 2.2) verwendet. Als Testorganismen dienten zwei Enchytraeenspezies (*Enchytraeus luxuriosus* und *Enchytraeus albidus*) und zwei Vertreter der Lumbricidae: (*Eisenia fetida* und *Lumbricus rubellus*). Zwei Modellchemikalien (Lindan und Hexachlorbenzol) wurden toxikokine-tisch untersucht. Für die Durchführung der Bioakkumulationsversuche wurden ausschließlich ¹⁴C markierte Radiochemikalien eingesetzt. Vor Beginn der Untersuchungen zur Bioakkumulation wurde zunächst die akute und chronische Toxizität der beiden Modellchemikalien gegenüber den verwendeten Enchytraeenspezies bestimmt. Die Abschätzung der Toxizität gegenüber den Lumbricidae erfolgte aufgrund von Literaturdaten. Basierend auf den gewonnenen Erkenntnissen über die Toxizität der Modellchemikalien gegenüber den vier Testspezies wurden geeignete Testsubstanzkonzentrationen festgelegt. Die Aufnahme- und Eliminationsphasen wurden über einen Zeitraum von jeweils mindestens 21 Tagen untersucht. Für die beiden Lumbricidenspezies *E. fetida* und *L. rubellus* variierten die Bioakkumulationsfaktoren zwischen 1,3 und 5,8, je nach Chemikalie und Testsubstrat. Die für die beiden Enchytraeenspezies ermittelten Bioakkumulationsfaktoren lagen zwischen 11,7 und 34,9 und waren somit deutlich höher als bei den Lumbriciden. Alle vier verwendeten Spezies und die beiden Testsubstrate erwiesen sich als geeignet zur Durchführung von Bioakkumulationsversuchen. Die Messung der Radioaktivität im Organismus war im Falle der Enchytraeen einfacher und schneller als bei den Regenwürmern, da sie mittels Gewebsauflösung und anschließender Messung im LSC bestimmt wurden. Dadurch war es möglich, die Messwerte bereits 24 h nach dem jeweiligen Messpunkt zu erhalten. Die Regenwurmproben konnten aufgrund ihrer Größe und Färbung nicht mit derselben Methode

aufgearbeitet werden und wurden daher im Sample Oxidizer verbrannt. Die Vorteile der Lumbriciden lagen hauptsächlich in der wesentlich einfacheren Handhabung der Tiere.

Die durchgeführten Versuche zeigten, dass das Testsystem standardisierbar ist und eine Validierung im Rahmen eines Laborvergleichsversuchs angestrebt werden sollte. Ein Richtlinienentwurf zur Durchführung von Bioakkumulationsstudien mit terrestrischen Oligochaeten ist dem Bericht als Anhang beigelegt.

Summary

Based on the results of a literature review a method for the determination of bioaccumulation in soil has been developed. Two different test substrates (artificial soil according to OECD 207 and LUFA standard soil 2.2) were used. As test organisms two enchytraeid species (*Enchytraeus luxuriosus* and *Enchytraeus albidus*) and two representatives of the Lumbricidae (*Eisenia fetida* and *Lumbricus rubellus*) were chosen. Two model chemicals (Lindane and Hexachlorobenzene) were investigated for their toxicokinetic behaviour. For the performance of the bioaccumulation tests only ¹⁴C labeled radiochemicals were used. Before undergoing the investigations on bioaccumulation the acute and chronic toxicity of both model chemicals for the two enchytraeid species was determined. The assessment of the toxicity for the Lumbricidae was performed according to literature data. Based on these data of the toxicity of the two model chemicals suitable test substance concentrations were defined. The accumulation as well as the elimination period were investigated for time periods of at least 21 days.

For the two lumbricid species *Eisenia fetida* and *Lumbricus rubellus* the bioaccumulation factors varied between 1.3 and 5.8, depending on the chemical and the test substrate. The bioaccumulation factors calculated in the case of the two enchytraeid species varied between 11.7 and 34.9 and therefore were considerably higher compared to those determined for lumbricids. All four test species and both test substrates are suitable for the performance of bioaccumulation tests. The measurement of the radioactivity was easier and less time demanding in the case of the enchytraeids since it was measured by liquid scintillation counting after solubilising of the tissues. So the results were maintained within 24 hours after the respective measurement point. The lumbricid samples could not be handled in the same way caused by the higher quantity and the colouration of the samples, therefore they had to be treated by the Sample Oxidizer. On the other hand the advantages of the lumbricids are based mostly on their larger size and, therefore, easier handling.

The performed tests demonstrated that the test system is standardisable and therefore should be validated in a laboratory ring test. A draft guideline for the performance of bioaccumulation studies with terrestrial oligochaetes is attached as an Annex to this report.