

Abschlussbericht Teilprojekt 6

Bewertung biozidhaltiger Baustoffe

Projektverbund BayÖkotox

Ökotoxikologische Bewertung von Stoffen in der Umwelt

Projektnehmende/Bearbeitende

Hochschule Coburg Inst. f. Bioanalytik

Prof. Dr. Stefan Kalkhof

Prof. Dr. Matthias Noll

Dr. Julia Kenzel

Nadine Kiefer, Fabienne Reiß

Dominik Stapf, Viktoria Schyma

Lena Schuhmann

Friedrich-Streib-Str. 2; 96450 Coburg

Tel.: 09561 317 210

E-Mail: stefan.kalkhof@hs-coburg.de

Web: <https://www.hs-coburg.de/forschung/institute/institut-fuer-bioanalytik.html>

Kooperationspartner

Fraunhofer-Institut für

Molekularbiologie und Angewandte
Ökologie

Prof. Dr. Christoph Schäfers

Dr. Michael Klein

Dr. Judith Klein

Dr. Karlheinz Weinfurthner

SGS-Analytics GmbH

Limbach Analytics

Berichtszeitraum:

1. Februar 2020 bis 15. Juni 2023

Finanziert durch

Bayerisches Staatsministerium für Umwelt und Verbraucherschutz

Rosenkavalierplatz 2; 81925 München



finanziert durch
Bayerisches Staatsministerium für
Umwelt und Verbraucherschutz



Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	2
Abkürzungsverzeichnis	3
1 Kurzzusammenfassung	4
2 Einleitung	5
3 Aufgabenstellung	7
4 Vorgehensweise	8
4.1 Fassadenbewitterung und Analytik.....	8
4.1.1 Bewitterungen.....	8
4.1.2 Analytik der erzeugten Eluate.....	11
4.2 Ökotoxikologische Untersuchungen.....	11
4.2.1 Ökotoxikologische Bewertung der in verschiedenen Bewitterungs- versuchen erzeugten Eluate.....	11
4.2.2 Auswirkungen von UV-Abbau und Verkapselung auf die Ökotoxizität von Fassadeneluat.....	12
4.2.3 Auswirkung von Bioziden aus Baustoffen auf das Bodenmikrobiom....	12
4.3 Bodenverteilung von Bioziden, sowie deren Modellierung.....	14
4.3.1 Analytik der Biozide sowie deren Abbauprodukte im Boden.....	14
4.3.2 Experimentell bestimmte Parameter zur Simulation von Biozidverteilungen.....	14
4.3.3 Simulation.....	15
4.3.4 Experimentelle Validierung.....	16
5 Ergebnisse und Diskussion	17
5.1 Fassadenbewitterungen.....	17
5.2 Simulation.....	19
5.3 Ökotoxizität von Bioziden auf Modellorganismen.....	24
5.4 Effekte der Biozide aus Baustoffen auf das Bodenmikrobiom.....	24
6 Zusammenfassung	32
7 Ausblick	33
8 Veröffentlichungen	34
Literaturverzeichnis	36
Abbildungsverzeichnis	40

Abkürzungsverzeichnis

AP	Arbeitspaket
BIT	Benzisothiazolinon
BrdU	Bromodesoxyuridin
CMIT	Chlormethylisothiazolinon
DiBT	Deutsches Institut für Bautechnik
DNA	Desoxyribonucleinsäure; englisch: deoxyribonucleic acid
ETAG	European Technical Approval Guideline
FK	Filmkonservierer
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
I	Isoproturon
LC-MS	Flüssigkeitschromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung
MIT	Methylisothiazolinon
OIT / O	Octylisothiazolinon
(q)PCR	(Quantitative) Polymerase-Kettenreaktion, englisch: <i>quantitative polymerase chain reaction</i>
PELMO	Pesticide Leaching Model
RNA	Ribonucleinsäure; englisch: <i>ribonucleic acid</i>
TB / T	Terbutryn
TI	Terbutryn + Isoproturon
TK	Topfkonservierer
TO	Terbutryn + Octylisothiazolinon
IO	Octylisothiazolinon+ Isoproturon
TIO	Terbutryn + Isoproturon + Octylisothiazolinon
Prefix T-	Totale DNA Fraktion \triangleq alle Mikroorganismen (ledend, tot, sporuliert, relict DNA)
Prefix A-	Aktive DNA Fraktion \triangleq nur aktive proliferierende Mikroorganismen

1 Kurzzusammenfassung

Der Einsatz von Bioziden in Baustoffen hat eine hohe Umweltrelevanz. Um biogenen Bewuchs zu verhindern und die Haltbarkeit von Bauprodukten zu verlängern, werden Baustoffen Biozide in Form von Filmschutzmitteln und Topfkonservierungsmitteln zugesetzt. Diese Biozide können durch Auswaschung in die Umwelt gelangen.

Um die Belastung des Bodens durch den niederschlagsbedingten diskontinuierlichen Biozideintrag umfassend zu charakterisieren und dadurch Ansätze für neue Bewertungsverfahren zu liefern, wurden folgende Untersuchungen durchgeführt: (i) Herstellung von Eluaten in Labor- und Freilandversuchen, (ii) Simulation des Biozidaustrags und Modellierung der Verteilung von Bioziden im Boden sowie die experimentelle Validierung, (iii) Evaluierung der Eluatwirkung mit etablierten ökotoxikologischen Tests und (iv) Untersuchung der Veränderung der Biodiversität und mikrobiologischen Aktivität.

Die Untersuchungen zeigten, dass die Auswaschung von Topfkonservierern schnell und in hohen Konzentrationen erfolgte. Im Gegensatz dazu waschen sich Filmkonservierer über einen langen Zeitraum in geringen Konzentrationen aus. Zudem konnte gezeigt werden, dass Verkapselung und Bestrahlung die Konzentration an ausgewaschenen Bioziden verringerten.

Die Kopplung der Modellierungsprogramme PELMO und COMLEAM ermöglichte eine nach Bodentiefen aufgelöste Vorhersage der Biozidkonzentrationen und damit eine Abschätzung der Gefährdungsbeurteilung für das Umweltisiko von Bioziden aus Fassaden für das Umweltkompartiment Boden. Die Eluate aus dem Tauchtest gemäß DIN EN 16105 sowie des ersten Monats des Freilandversuchs wirken selbst unter Berücksichtigung einer realistischen Verdünnung toxisch auf mehrere Modellorganismen.

Die physikochemischen Bodenparameter und die globale Aktivität und Funktion des Bodenmikrobioms wurden durch Biozide und Biozidkombinationen nicht verändert. Allerdings konnte eine signifikante Verringerung der bakteriellen und pilzlichen Genkopienzahl festgestellt werden. Die Untersuchung der aktiven Mikroorganismen des Bodenmikrobioms zeigte, dass die Biozide und Biozidkombinationen sowohl die mikrobielle Zusammensetzung als auch die Funktion änderten. Biozidkombinationen hatten stärkeren Einfluss auf das Bodenmikrobiom als einzelne Biozide.

Die Ergebnisse des Projektes zeigen, dass eine Omics-basierte Methodik im Vergleich zu den derzeitigen Methoden (DIN-Normen) eine umfassendere quantitative und qualitative Informationstiefe liefert und somit die Bewertung des Biozideinsatzes in Baustoffen als Umweltisiko für den Boden erleichtert. Als Fazit sollte der aktuelle Biozideinsatz besonders in der frühen Phase nach dem Bau als ökotoxikologisch bedenklich angesehen werden.

2 Einleitung

Das Auftreten von Mikroorganismen an Fassaden hat unerwünschte Auswirkungen auf Gebäude und kann zu Farbveränderungen führen. Darüber hinaus sind einige der auf den Fassaden lebenden Mikroorganismen nicht nur in der Lage, farbige Biofilme zu bilden, sondern führen auch zu einer Verschlechterung der Baumaterialien [1]. Deshalb werden in der Regel Biozide in Putz- und Farbformulierungen zugegeben, um eine Besiedlung durch Mikroorganismen zu verhindern oder zumindest hinauszuzögern. Die Verwendung von Bioziden wird durch das Europäische Parlament und den Europäischen Rat in der Biozid-Produkt-Verordnung geregelt [2].

Einfache Putz- oder Farbprodukte enthalten in der Regel eine Mischung aus mehreren Bioziden mit einem geschätzten Gesamtgehalt von etwa 0,5 % [3]. Jedes Baumaterial hat eine andere Biozidzusammensetzung, die auf die spezifische Anwendung und die Materialeigenschaften zugeschnitten ist. Daher findet sich eine breite Palette von Bioziden und Biozidformulierungen mit unterschiedlicher Konzentration und Freisetzungsvermögen in Bauwerken. Bei Fassaden lassen diese sich überwiegend in Film- und Topfkonservierungsmittel unterteilen. Jedes Biozid in der Anwendung birgt ein potenzielles Risiko der Freisetzung in die Umwelt.

Eine erste systematische Studie hat gezeigt, dass die aus Baumaterialien freigesetzten Mengen an Bioziden in der gleichen Größenordnung wie die Mengen der am häufigsten verwendeten landwirtschaftlichen Pestizide in Schweizer Oberflächengewässern liegt. Im Gegensatz zu landwirtschaftlichen Quellen wurden diese Substanzen hier jahreszeitunabhängig nachgewiesen [4]. Darüber hinaus hat eine deutsche Studie über die Biozidbelastung in kleinen hessischen Flüssen gezeigt, dass einige der in Fassadenbeschichtungen verwendeten Biozide, wie z. B. Terbutryn, noch immer in Oberflächengewässern und städtischen Regenwasserkämen vorhanden sind, obwohl ihre Verwendung in der Landwirtschaft seit Juli 2003 verboten ist. Es liegen zahlreiche Studien zur Auswaschung von Bioziden aus Gebäudeoberflächen vor, die eindeutig darauf hinweisen, dass Baustoffe neben der Landwirtschaft eine weitere Verschmutzungsquelle für Biozide darstellen [5–8].

Die Auswaschung selbst ist ein sehr komplexer Prozess und die Wirkung der wichtigsten Parameter zur Vorhersage der Auswaschung und ihrer Mechanismen wurde kürzlich von Paijens et al. [8] zusammengefasst. Die vier Hauptparameter, die die Auslaugung beeinflussen, sind: (a) Witterungsbedingungen, (b) Materialeigenschaften, (c) Abbauverhalten und (d) Standort und Architektur.

Eine Literaturrecherche hat gezeigt, dass der Auswaschungsprozess von Bioziden aus Baumaterialien bereits gut untersucht ist. Auch das ökotoxikologische Potenzial dieser auswaschbaren Stoffe für die aquatische Umwelt wurde evaluiert [5,9–11]. Im Gegensatz dazu liegen kaum Daten über die Toxizität solcher auswaschbaren Stoffe auf die terrestrische Umwelt und ihre Bodenorganismen einschließlich des Mikrobioms vor [12]. Darüber hinaus ist der Vergleich zwischen Versuchsanordnungen und ihrem Toxizitätspotenzial kompliziert, da der Auswaschungsprozess multiparametrisch ist und die verfügbaren terrestrischen ökotoxikologischen Tests nur ein lückenhaftes Bild der Diversität, Abundanz und Aktivität der mikrobiellen Gemeinschaften im Boden liefern [13]. Daher ist die Toxizität von Bioziden aus Baumaterialien

für die Bodenumwelt bisher weitgehend unbekannt. Die nachhaltige Produktivität landwirtschaftlicher Flächen wird durch die Abundanz, Aktivität und Zusammensetzung von Mikroorganismen bestimmt [14], was auch für städtische Böden und ländliche Gebiete in Siedlungen gilt. Die Fruchtbarkeit des Bodens wird durch mikrobielle Gemeinschaften im Boden verbessert. Diese bilden einen wichtigen und mobilen Pool für lebenswichtige Bodenfunktionen, wie beispielsweise die Bodenfruchtbarkeit, Filter-, Puffer- und Speicherfunktion und als Lebensraum. Diese Bodenfunktionen werden durch biochemische Prozesse, den mikrobiellen Abbau von organischem Material und den Nährstoffkreislauf aufrechterhalten [15]. Obwohl viele Daten über die Auswirkungen von Pestiziden auf das Bodenmikrobiom vorliegen, können diese Daten für eine Abschätzung der Toxizität von Bioziden auf Baumaterialien nur bedingt verwendet werden. Die Testrichtlinien sind aufgrund der unterschiedlichen Aufnahmewege und des dadurch abweichenden Schwerpunkts der bisherigen Forschung nicht direkt übertragbar.

Das komplexe Zusammenspiel der vielen zu berücksichtigenden Parameter (Abbildung 1) macht eine Einschätzung des Gefährdungspotentials von Bioziden für den Boden schwierig und erfordert das Schaffen einer Datengrundlage und von Modellen zur Simulation und Identifikation der wesentlichen Parameter.

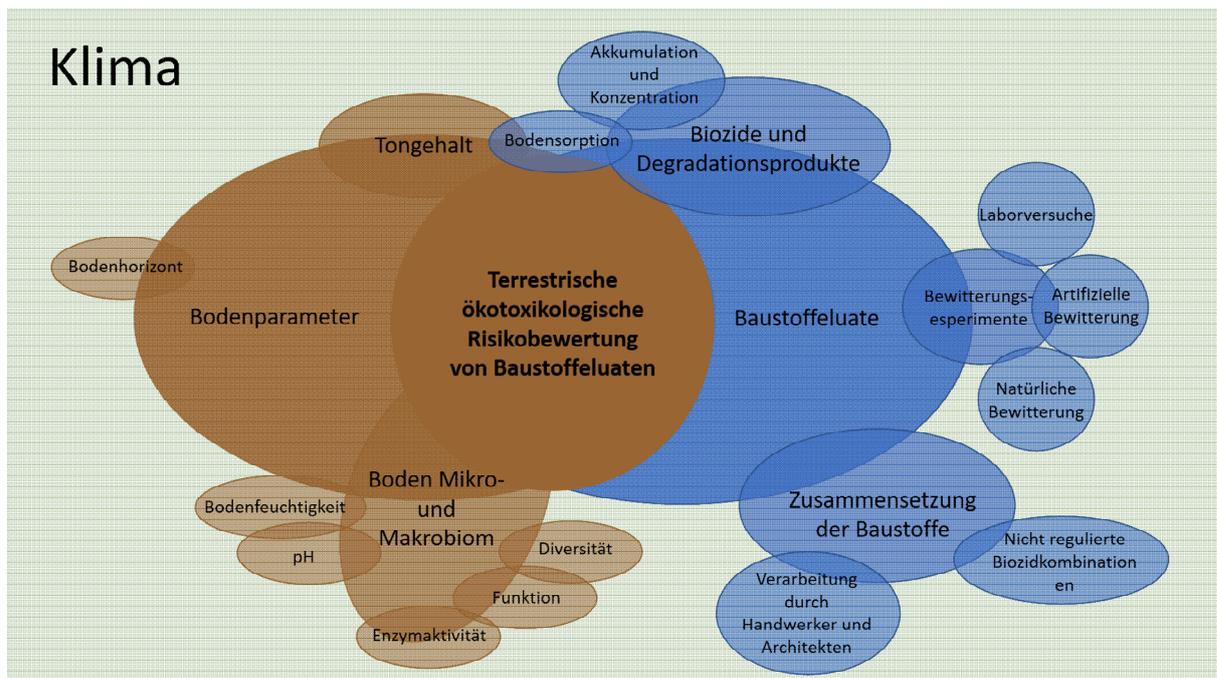


Abbildung 1: Überblick über die Parameter, die für die vollständige terrestrische ökotoxikologische Bewertung von Baustoffeluat berücksichtigt werden müssen. Braun: Bodenbedingte Faktoren, Blau: Eluatbedingte Faktoren.

3 Aufgabenstellung

Das Projekt hatte zum Ziel, die ökotoxikologische Gefährdung durch aus Putzen und Farben auswaschbaren Bioziden zu untersuchen und in diesem Anwendungsfeld noch selten eingesetzte Methoden zu evaluieren sowie Modelle zur Abschätzung der Gefährdung zu entwickeln.

Dafür sollte zunächst der Austrag von Bioziden aus Fassaden durch verschiedene Verfahren abgebildet werden, welche in ihrer Komplexität und Nähe zur Realität variieren. Außerdem sollten Einflussfaktoren auf die Auswaschung untersucht werden. Die auf Basis dieser Verfahren gewonnenen Fassadeneluatate sollten ökotoxikologisch bewertet werden. Hierfür wurden verschiedene Modellorganismen herangezogen.

Zur Bewertung der Effekte von Einzelbioziden, Biozidkombinationen und Fassadeneluataten wurden verschiedene Bodeninkubationsstudien im Labor und im Freilandversuch durchgeführt. Neben der Analyse des Einflusses der Behandlungen auf physikochemische Bodenparameter wie pH-Wert, Anionen und Glühverlust wurde das Bodenmikrobiom zum einen global mittels CO₂-Produktion und zum anderen dessen Quantität, Zusammensetzung und Aktivität mittels molekularbiologischer Methoden untersucht.

Darüber hinaus sollten Modelle zur Abschätzung der Bodenbelastung durch Baustoffbiozide entwickelt, Parameter dieser Modellierungen identifiziert und die Modelle experimentell überprüft werden. Insgesamt sollen diese Arbeitsschritte eine Risikoabschätzung für Biozide in Baustoffen insbesondere nach Bodeneintrag ermöglichen.

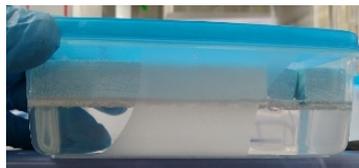
4 Vorgehensweise

4.1 Fassadenbewitterung und Analytik

4.1.1 Bewitterungen

Zur Herstellung von Fassadenabläufen für nachfolgende Charakterisierung und ökotoxikologische Tests wurden zwei Bewitterungsstudien durchgeführt. Bei der ersten Studie wurden Prüffassaden entsprechend einer allgemein verwendeten Standardformulierung des Dr. Robert-Murjahn-Institutes (RMI) mit 350 ppm Biozidgehalt im Putz und 500 ppm in der Farbe hergestellt. Die Fassadenprüfmuster bestanden generell aus einem biozidfreien Unterputz, einem Oberputz und einem Farbanstrich. Als Biozide wurden Mischformulierungen der Firma Thor GmbH zugegeben (Acticide MKB 3 und Acticide SR 2081). Bei Acticide SR 2081 handelt es sich um ein Topfkonservierungsmittel mit den Bioziden Benzisothiazolinon (BIT), Methylisothiazolinon (MIT) und Chlormethylisothiazolinon (CMIT). Acticide SR 2081 ist ein Filmkonservierungsmittel mit den Bioziden Octylisothiazolinon (OIT), Terbutryn (TB), Zink-Pyridin und Zinkoxid. Insgesamt wurden drei verschiedene Bewitterungsformen untersucht: Ein einjähriger Freilandversuch lokalisiert am Parkplatz der Sonneberger Straße in Coburg (Abbildung 2, Abbildung 3), ein Bewitterungsverfahren mit einer Bewitterungskammer (Q-SUN XE-1) sowie eine diskontinuierliche Immersion gemäß der DIN EN 16105 (Tabelle 1). Es wurden verschiedene Prüfformulierungen hergestellt, wobei unterschieden wurde, ob sich die Filmkonservierer im Putz, in der Farbe oder in beiden Schichten befanden. Zur Kontrolle der ökotoxikologischen Wirkung wurde außerdem eine komplett biozidfreie Prüffassade hergestellt. Die generelle Bezeichnung der Prüfmuster gliedert sich in die Bewitterungsform (F- für Freilandbewitterung, B- für Bewitterungskammer, D- für DIN geprüfte Fassaden) und wird nachfolgend in die jeweils enthaltene Biozidkonzentration differenziert (-B für die Blindprobe ohne Biozide, -U für die Probe, welche lediglich Topfkonservierer enthält, -UO für die Probe, welche Topfkonservierer enthält sowie Filmkonservierer im Oberputz, -UF für die Probe, welche Topfkonservierer enthält und lediglich Filmkonservierer in der Farbe und UOF für die Probe, welche Topf- sowie Filmkonservierer in Farbe und Oberputz-Schichten enthält) (Tabelle 2).

Tabelle 1: Vergleich der eingesetzten Prüfverfahren bezüglich des Umfangs, des Informationsgehaltes und der Limitationen.

Aspekte	Freilandprüfung	Artifizielle Bewitterung von Prüfmustern in der Bewitterungskammer	Artifizielle Bewitterung gemäß Tauchtests (DIN 16105)
			
Dauer	1 Jahr	4 Wochen	3 Wochen

Aspekte	Freilandprüfung	Artifizielle Bewitterung von Prüfmustern in der Bewitterungskammer	Artifizielle Bewitterung gemäß Tauchtests (DIN 16105)
Einsatz	Studium von Langzeitbelastungen	Darstellung von extremen Regen und UV-Strahlungsbedingungen	Reproduzierbares genormtes Prüfverfahren
Berücksichtigt	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Regen ✓ Hitze ✓ Kälte ✓ Sonne ✓ Tau ✓ Wind 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Regen ✓ Hitze ✓ Kälte ✓ Sonne 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Wasserkontakt ✓ DIN 16105 Trocknungsphasen
Pros	Realitätsnähe	Kontrollierte Witterungsbedingungen, Kontrollierte reproduzierbare Strahlungsintensität	Evaluiertes Testverfahren, gute Reproduzierbarkeit, geringe Eluatmengen
Cons	Großer Zeit- und Platzbedarf, keine Reproduzierbarkeit	Noch keine genormte Durchführung	Keine Berücksichtigung von Witterungsschwankungen und UV-induziertem Biozid-Abbau

Tabelle 2: Darstellung der verwendeten Prüfmuster und deren Biozidkombinationen sowie die eingesetzten Bewitterungsformen.

Prüfmusterbezeichnung	Enthaltene Biozidkombinationen im Putz	Enthaltene Biozidkombinationen in Farbe	Bewitterungsform
B	Keine Biozidkombination	Keine Biozidkombination	Freiland, DIN EN 16105; Bewitterungskammer
U	TK (MIT, CMIT, BIT)	TK (MIT, CMIT, BIT)	Freiland, DIN EN 16105
UF	TK (MIT, CMIT, BIT)	TK (MIT, CMIT, BIT); FK (Terbutryn, OIT, Zink-Pyrithion)	Freiland, DIN EN 16105
UO	TK (MIT, CMIT, BIT); FK (Terbutryn, OIT, Zink-Pyrithion)	TK (MIT, CMIT, BIT)	Freiland, DIN EN 16105
UOF	TK (MIT, CMIT, BIT); FK (Terbutryn, OIT, Zink-Pyrithion)	TK (MIT, CMIT, BIT); FK (Terbutryn, OIT, Zink-Pyrithion)	Freiland, DIN EN 16105; Bewitterungskammer

Im zweiten Versuch zur Auswaschung von Bioziden aus Fassaden sollten der Einfluss der Kapselung sowie der UV-Abbau der Biozide untersucht werden. Dazu wurden wiederum Testfassaden hergestellt - diesmal jedoch nur eine biozidfreie Putz- und Farbformulierung sowie eine Formulierung mit Topf- und Filmkonservierungsmitteln in der Putz- und Farbschicht. Bei der Prüfkörperformulierung mit Biozidzusatz, die sowohl Film- als auch Topfkonservierer enthielt, wurden einmal Prüfkörper mit eingekapselten Filmkonservierern und einmal Prüfkörper mit freien Filmkonservierern zugesetzt. Alle drei Kombinationen (biozidfrei, Filmkonservierer unverkapselt, Filmkonservierer verkapselt) wurden in zwei Gruppen eingeteilt. Eine Gruppe wurde zwei Wochen im Dunkeln gelagert, die andere Gruppe wurde zwei Wochen in der Bewitterungskammer bestrahlt. Die Bestrahlungsintensität orientierte sich an zwei durchschnittlichen Sommerwochen in Deutschland. Anschließend wurden die Prüfkörper der diskontinuierlichen Tauchprüfung nach DIN EN 16105 unterzogen. Diesmal betrug die Zielkonzentration für jedes Biozid 350 ppm in der Putzschicht und 500 ppm in der Farbschicht, wobei die Biozide als Einzelsuspensionen von der Thor GmbH zur Dosierung zur Verfügung gestellt wurden. Diese enthielten die Biozide BIT (ACTICIDE BCL 2) und eine Mischung aus CIT/MIT (ACTICIDE MV). Als Topfkonservierungsmittel für die unverkapselten Biozide wurden TB (ACTICIDE SR2044), OIT und (ACTICIDE OTW) und Dichloroctylisothiazolinon (DCOIT, ACTICIDE DTC) verwendet. Als verkapselte Biozidsuspensionen wurden ebenfalls TB (ACTICIDE ATA20), OIT (ACTICIDE OTA20) und DCOIT (ACTICIDE DCA10) verwendet.

4.1.2 Analytik der erzeugten Eluate

Die im ersten Bewitterungsversuch erzeugten Eluate wurden mittels Flüssigchromatographie (HPLC) und einem Dioden-array Detektor (DAD) quantifiziert. Die Messlängenwellen wurden für MIT, CMIT und OIT bei 280 nm, für TB bei 240 nm und für BIT bei 317 nm festgelegt. Für die Quantifizierung wurde eine externe Kalibrierung verwendet. Die Eluate des zweiten Bewitterungsversuchs wurde mit einer HPLC gekoppelt mit Tandem-Massenspektrometer (MS-MS) gemessen, wobei über isotopenmarkierte Standards quantifiziert wurde.

4.2 Ökotoxikologische Untersuchungen

4.2.1 Ökotoxikologische Bewertung der in verschiedenen Bewitterungsversuchen erzeugten Eluate

Für die ökotoxikologischen Tests wurden jeweils die Eluate des ersten Monats des Freilandversuchs sowie die neun Zyklen der Immersion und die vier Phasen der artifiziiellen Bewitterung mittels Bewitterungskammer je nach Biozidkonzentration gepoolt. Da in der Realität Fassadeneluate immer durch horizontalen Regen verdünnt werden, wurde ein Verdünnungsfaktor von 5,19 verwendet. Dieser setzt sich zusammen aus einem experimentell bestimmten Prozentsatz an Fassadenablauf im Bezug zur Gesamtregenmenge und dem in der ECHA beschriebenen Verhältnis von einem Standardhaus und der zu berücksichtigenden Bodenfläche.

Anschließend wurden die Eluate der Prüfmuster mit Topf- und Filmkonservierern im Putz und Farbe und zum Vergleich ohne Biozide umfangreich auf deren toxische Wirkung mit Sediment- und aquatischen Modellorganismen untersucht. Dies Tests umfassten Daphnien, Algen,

Leuchtbakterien, Zebrafischeier, Sedimentwürmer und Zuckmücken sowie den Umu-Test. Zudem wurde zur Bewertung der Gesamtbodentoxizitätstests die Bodenatmung und Stickstoffbildung geprüft. Für die verschiedenen Kombinationen (-B, -U, -UO, -UF, -UOF) und die Bewitterungsformen, bei denen alle Kombinationen getestet wurden (D-, F-), wurden zudem Algen- und Leuchtbakterientests durchgeführt. Diese Prüfungen erfolgten ebenfalls bei einer Eluatverdünnung von 5,19.

4.2.2 Auswirkungen von UV-Abbau und Verkapselung auf die Ökotoxizität von Fassadeneluat

Für die zweite Studie zur Auswaschung wurden die verschiedenen Kombinationen von freien, verkapselten, bestrahlten und nicht bestrahlten Prüfmustern jeweils als Triplikate nach der DIN EN 16105 geprüft. Von den insgesamt 9 Zyklen wurden für jedes Triplikat die Zyklen 1-4 und die Zyklen 5-9 vereinigt und verdünnt auf ihre Toxizität gegenüber Algen und Leuchtbakterien geprüft.

4.2.3 Auswirkung von Bioziden aus Baustoffen auf das Bodenmikrobiom

Zur Beurteilung der Effekte von Bioziden aus Baustoffen wurden innerhalb des Projektes drei Inkubationsstudien durchgeführt. Aufgrund der geringen Datengrundlage aus öffentlich verfügbaren Quellen zur Wirkung von Bioziden auf das Bodenmikrobiom, wurde zuerst ein 28-tägiger Inkubationsversuch mit einzelnen Bioziden und Biozidkombinationen (i) durchgeführt. In den darauffolgenden Inkubationsversuchen wurden Fassadeneluate aus dem oben beschriebenen Freilandversuch für die Bodenbehandlung verwendet. Zum einen erfolgte die Beaufschlagung der Bodemikrokosmen einmalig mit Fassadeneluat im Laborversuch (ii) analog zum ersten Inkubationsversuch (i). Um die Realität des Eintrages von Bioziden aus Baustoffen nachzustellen, erfolgte ein Inkubationsversuch im Freien (iii), bei welchem das Fassadeneluat mehrmals mit Auftreten der Regenereignisse in die Böden eingetragen wurde. Für alle Inkubationsstudien wurde der durch das Umweltbundesamt empfohlene Referenzboden RefeSol-02A des Fraunhofer-Instituts für Molekularbiologie und Angewandte Ökologie (Schmallenberg) verwendet.

4.2.3.1 Mikrokosmenversuch 1: Einzelne Biozide und Biozidkombinationen

Die Biozide Terbutryn (T), Isoproturon (I) und Octylisothiazolinon (O) wurden sowohl einzeln als auch in Kombination (T+I; T+O; I+O; T+I+O) in einer Konzentration von 10 µg Biozid pro g Boden getestet und mit einem Referenzversuch ohne Biozidzugabe verglichen. Pro Biozid bzw. Kombination wurden fünf unabhängige, biologische Replikate in Flaschen für 28 Tage im Dunkeln bei Raumtemperatur inkubiert. Während des Inkubationszeitraums wurde alle sieben Tage die Wasserhaltekapazität auf 50 % eingestellt und somit konstant gehalten, was eine gleichbleibend hohe Bioverfügbarkeit der Biozide im Boden sicherstellen sollte. Nach 28 Tagen wurden sowohl physikochemische Bodenparameter wie pH, Anionen und Glühverlust erhoben, als auch die globale Aktivität des Bodenmikrobioms mittels CO₂-Produktion und die Zusammensetzung und Quantität der mikrobiellen Lebensgemeinschaft mittels molekularbiologischer Methoden untersucht. Zum einen wurde mit den totalen DNA-Proben eine quantitative PCR Analyse durchgeführt, um die Genkopienzahlen sowohl für Bakterien als auch für Pilze zu bestimmen. Außerdem wurden DNA-Proben von der totalen und der mittels BrdU angereicherten aktiven Fraktion zur Hochdurchsatz-Amplikonsequenzierung verschickt, um

die Zusammensetzung des pilzlichen und bakteriellen Bodenmikrobioms zu analysieren. Der erhaltene Datensatz wurde hinsichtlich der α - (OTU Richness) und β -Diversität (Bray-Curtis Similarität) untersucht. Im Anschluss wurden die Datensätze mit funktionellen Datenbanken (FAPROTAX [16,17], FungalTraits [18]) abgeglichen, um eine Aussage über die Funktion des Bodenmikrobioms treffen zu können.

4.2.3.2 Mikrokosmenversuch 2: Einfachbeaufschlagung mit unterschiedlichen Fassadeneluaten

Die in 4.1.1. erzeugten Fassadeneluate wurden, wie bereits in 4.2.1 beschrieben, verdünnt in den Boden eingetragen und im Falle des Freilandversuches der erste Monat für die Analyse vereinigt. Die Inkubation, Beprobung und Auswertung wurde analog zur Mikrokosmenstudie 1 (4.2.3.1) durchgeführt, um eine Vergleichbarkeit der beiden Versuche zu gewährleisten. Für die Mikrokosmenversuche wurden alle abiotischen Parameter, wie Temperatur, Feuchtigkeit und Licht, konstant gehalten, um eine bessere Reproduzierbarkeit und Vergleichbarkeit zwischen den Proben und Experimenten zu gewährleisten (Tabelle 3). Dieser Inkubationsversuch wurde mit den Fassadeneluaten von allen Putz- und Farbschichtkombinationen (-B, -U, -UF, -UO, -UOF) von allen Bewitterungsformen (D-, B-, F-) (siehe Tabelle 2) durchgeführt.

Tabelle 3: Übersicht der Durchgeführten Bodeninkubationsversuche mit Auflistung der Konstanten und Variablen

	Mikrokosmenversuch 1	Mikrokosmenversuch 2	Bodenfreilandversuch
Konstanten	<ul style="list-style-type: none"> • Bodentyp • Temperatur • Wassergehalt • Dunkel • Biozidkonzentration • 28 Tage 	<ul style="list-style-type: none"> • Bodentyp • Temperatur • Wassergehalt • Dunkel • 28 Tage 	<ul style="list-style-type: none"> • Bodentyp • Temperaturverlauf bei allen Behandlungsformen gleich • Dunkel
Variablen	<ul style="list-style-type: none"> • Biozidbehandlung 	<ul style="list-style-type: none"> • Prüfmuster • Ausgewaschene Konzentration 	<ul style="list-style-type: none"> • Ausgewaschene Konzentration • Feuchtigkeitsmenge • Dauer
Inkubationssystem	Geschlossen	Geschlossen	Offen

4.2.3.3 Bodenfreilandversuch: Mehrfachbeaufschlagung des Bodens im freien mit Fassadeneluaten aus dem Freilandversuch

Im Rahmen dieser Studie wurde der Boden im Freien und in unmittelbarer Nähe eines Hauses inkubiert. Somit unterlag der Versuch weitestgehend den realen Witterungsbedingungen. Um den Niederschlagseintrag kontrollieren zu können, wurden die Inkubationsgefäße durch einen Deckel vor direktem Niederschlag geschützt. Die Niederschlagsmenge wurde anhand der Oberfläche des Inkubationsgefäßes bestimmt und mit dem prozentualen Anteil an Fassaden-

eluat (Bestimmung im Freilandversuch) versetzt. Die Fassadeneluate wurden mit jedem Regenereignis in verdünnter Form auf den Boden gegeben. Durch dieses Vorgehen wurde das reale Szenario der Auswaschung und des Eintrags in den Boden nachgestellt.



Abbildung 4: Versuchsaufbau Bodenfreilandversuch mit Feuchtigkeitssensoren.

Probennahmen fanden nach 28 Tagen und nach 63 Tagen statt. Am Tag jeder Probennahme wurde eine CO₂-Flussmessung am Morgen und Nachmittag durchgeführt und die chemischen Bodenparameter bestimmt. Analog zu den vorangegangenen Mikrokosmenstudien wurden DNA-Proben von der totalen und der mittels BrdU angereicherten aktiven Fraktion zur Hochdurchsatz-Amplikonsequenzierung verschickt, um die Zusammensetzung des pilzlichen und bakteriellen Bodenmikrobioms zu analysieren.

4.3 Bodenverteilung von Bioziden, sowie deren Modellierung

4.3.1 Analytik der Biozide sowie deren Abbauprodukte im Boden

Um Biozide im Boden analysieren zu können, müssen sie extrahiert werden. Dazu wurden zwei Extraktionsprotokolle erstellt. Das erste dient der Extraktion der untransformierten Biozide, wobei dreimal mit Methanol extrahiert wurde. Ein zweites wurde für die Abbauprodukte der Biozide optimiert, die in ihren chemischen Eigenschaften variabler, aber überwiegend polarer erwartet wurden. Für letztere wurden vier Extraktionszyklen mit zwei verschiedenen Extraktionsmitteln gewählt, einer Mischung aus Reinstwasser und Methanol (25/75, v/v) und einer Mischung aus Reinstwasser mit 10% Ameisensäure und Methanol (1/99, v/v).

4.3.2 Experimentell bestimmte Parameter zur Simulation von Biozidverteilungen

Für die in Bezug auf Zeitverlauf und Bodentiefe aufgelöste Vorhersage der Biozidverteilung und Konzentration im Boden spielen Adsorption und Abbau eine wesentliche Rolle. Die Adsorption der Biozide wurde an dem im Projekt verwendeten Referenzboden RefeSoiL 02A gemäß OECD 106 bestimmt [19]. Es wurden zwei Serien von Abbaustudien für MIT, CMIT, OIT und TB durchgeführt. Eine erste Abbaustudie diente zur Bestimmung der DT50-Werte. Die ermittelten Werte wurden zur Modellierung der Biozidverteilung mit PELMO verwendet. In

einer zweiten Studie wurden Abbaukinetiken ermittelt und unterstützt durch den Einsatz isoto-
penmarkierter Standards Abbauprodukte identifiziert. Anhand der Abbaukinetiken wurden zu-
dem erste Rückschlüsse auf die Persistenz im Boden gezogen.

Bei der Bestimmung der Adsorptionskonstanten und in der ersten Abbaustudie wurden die Bi-
ozide wie oben beschrieben mittels HPLC-DAD quantifiziert sowie zusätzlich mittels HPLC-
MS/MS analysiert. Die Quantifizierung erfolgte bei der MS-basierten Analytik mittels isoto-
penmarkierten Standards.

In der zweiten Abbaustudie wurden zur Identifizierung der Abbauprodukte bereits zu Beginn
des Versuchs isoto-
penmarkierte Standards in äquimolarem Verhältnis zugegeben, so dass
alle Biozide sowie die gebildeten Abbauprodukte spezifische Isotopenmuster aufwiesen. Diese
Strategie erlaubte die vereinfachte Ermittlung von Abbauprodukten. Eine Quantifizierung er-
folgte Biozide erfolgte in diesem Versuch mittels externer Kalibrierung.

4.3.3 Simulation

Für die Simulation der Biozidverteilung im Boden wurde das für die landwirtschaftliche Nutzung
etablierte Programm PELMO herangezogen [20]. Dieses benötigt als Eingangsparameter Wet-
terdaten, Bodendaten, Substanzdaten, sowie Eintragsdaten.

Da sich bei der Elution von Stoffen aus Fassaden die Eintragsmengen und -häufigkeiten we-
sentlich von der Verwendung in der Landwirtschaft unterscheiden, wurden drei verschiedene
Szenarien geprüft: (i) experimentelle Eluatdaten (ii) simulierte Eluatkonzentrationen auf der
Basis realer Bewitterungsdaten und (iii) Simulation auf der Basis eines Tauchtestes. Konkret
wurden zum einen die Eluatkonzentrationen eines Freilandversuchs aus der Schweiz als Ein-
gangskonzentrationen herangezogen [5]. In einem zweiten Szenario bildete der selbe Ver-
such die Grundlage für eine Simulation mit der Software COMLEAM, um die Emissionen sehr
spezifisch an die Wetterbedingungen, die Geometrie, das Material und die Substanzen anzu-
passen [21]. Im dritten Szenario wurden mit einem Tauchversuch gemäß DIN EN 16105 Emis-
sionskurven für die untersuchten Biozide ermittelt, welche anschließend für eine COMLEAM
Simulation zu Grunde gelegt wurden [22]. Ein von der ECHA definiertes Modellhaus
(beschrieben unter "Supplement to the methodology for risk evaluation of biocides. Emission
scenario document for biocides used as masonry preservatives. (product type 10)" [23]) wurde
für diese Simulationen verwendet. Bei den Materialeigenschaften wurden die Eigenschaften
der verwendeten Prüffassaden nachgebildet. Als Wetterdaten wurden sowohl für COMLEAM
als auch für PELMO dieselben Daten über den Zeitraum des Freilandversuchs verwendet,
damit die Eintrags- und Regenereignisse zur selben Zeit stattfinden. Als Bodenparameter für
PELMO wurden die Daten des RefeSoil 02A verwendet. Bei den Substanzeigenschaften wur-
den für bodenunabhängige Parameter Literaturwerte genommen. Die stark bodenabhängigen
Abbau- und Adsorptionskonstanten wurden hingegen wie zuvor beschrieben experimentell be-
stimmt. Da Abbau und Adsorption als wesentliche Parameter für die Simulation im Boden er-
mittelt wurden, wurde neben den unterschiedlichen Eintragszenarien auch der Einfluss dieser
Parameter untersucht. Hierfür wurde eine Simulation mit Literaturwerten nachgezogen und mit
den experimentell ermittelten Werten verglichen.

4.3.4 Experimentelle Validierung

Zur experimentellen Überprüfung der Simulation wurde ein neuer Versuchsaufbau konzipiert und erprobt, der es ermöglicht, über einen Zeitraum von drei Monaten bei bis zu zehn Zeitpunkten Proben aus sechs Bodentiefen zu entnehmen. Als Applikationsszenario wurde die Emission gemäß DIN EN 16105 geprüft und mit COMLEAM simuliert. Der stündlich vorhergesagte Eintrag wurde jeweils auf tägliche Werte über 90 Tage gemittelt. Drei identische Versuchsaufbauten wurden aufgestellt, mit Boden befüllt (50% Wasserhaltekapazität) und über 90 Tage wurde der Eintrag in täglicher Auflösung nachgestellt. Zu zehn Zeitpunkten wurden bei allen drei Versuchsaufbauten Bodenproben entnommen (jeweils in 0 cm, 5 cm, 10 cm, 15 cm, 20 cm und 25 cm Tiefe).

5 Ergebnisse und Diskussion

5.1 Fassadenbewitterungen

Für die zwei Klassen (TK und FK) der Biozide wurde jeweils im Freilandversuch und im Labor derselbe Trend bezüglich des Auswaschverhaltens beobachtet. Topfkonservierer werden bei Kontakt mit Feuchtigkeit sehr schnell und vollständig ausgewaschen, wohingegen Filmkonservierer über einen längeren Zeitraum in geringen Konzentrationen ausgewaschen werden. Exemplarisch sind die Konzentrationen der ersten Hälfte der Immersionsprüfung (Zyklus 1-4) und der zweiten Hälfte der Immersionsprüfung (Zyklus 5-9) dargestellt (Abbildung 5). Während Filmkonservierer über die komplette DIN-Prüfung in geringen Konzentrationen ausgewaschen wurden (maximal $0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), wurden Topfkonservierer in Konzentrationen von etwa $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ausgewaschen, waren hingegen aber bereits nach dem dritten Zyklus zu 86 % ausgetragen (nicht gezeigt). Auch im Freilandversuch erfolgte die Elution der Topfkonservierer zu Beginn und bereits nach zwei Wochen keine messbaren Konzentrationen an Topfkonservierern mehr nachweisbar, wohingegen Topfkonservierer auch zu späteren Zeitpunkten detektiert wurden.

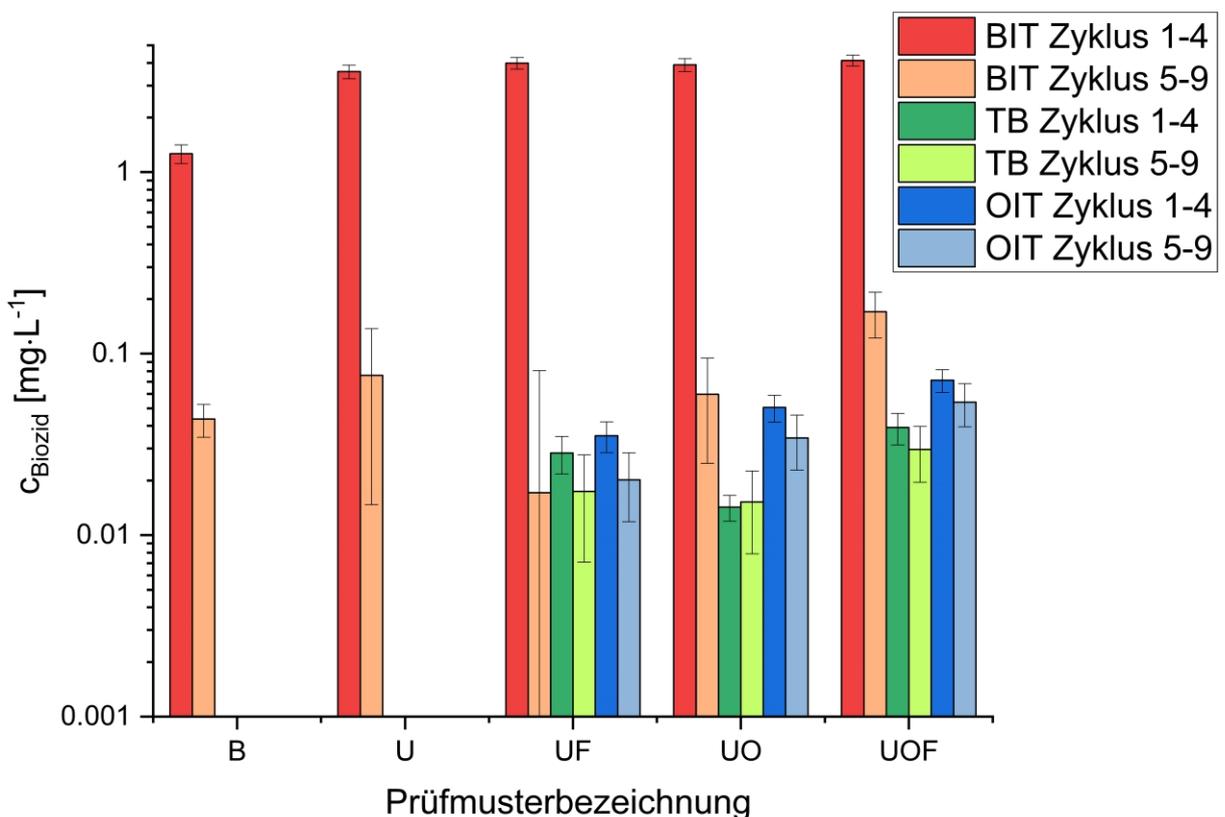


Abbildung 5: Auswaschverhalten von Bioziden geprüft über 9 Zyklen nach DIN EN 16105. Dargestellt ist das Auswaschverhalten der Biozide Benzisothiazolinon (BIT, rot / orange), Terbutryn (TB, grün/hellgrün) und Octylisothiazolinon (OIT, blau/hellblau). Die Konzentrationen wurden jeweils über die ersten vier Zyklen und über die letzten fünf Zyklen aufsummiert. Geprüft wurden unterschiedliche Verteilungen der Biozide in einem Putz-/Farbsystem. Prüfmuster UOF enthält Filmkonservierer in Putz und Farbe, Prüfmuster UO enthält Filmkonservierer im Oberputz, Prüfmuster UF (enthält Filmkonservierer in Farbe, Prüfmuster U enthält lediglich Topfkonservierer, Prüfmuster B ist biozidfrei.

Es wurden vergleichend die drei verschiedenen Bewitterungsarten Eintauchversuch (DIN EN 16105), Freilandbewitterung und künstliche Bewitterung in der Bewitterungskammer durchgeführt. Für die künstliche Bewitterung in der Bewitterungskammer gibt es keine genormten Protokolle. Es wurde versucht, ein Jahr in vier Wochen abzubilden, indem Strahlungs- und Wetterdaten des Deutschen Wetterdienstes ausgewertet und die Vierteljahresmittelwerte für Deutschland in Protokolle für eine einwöchige Bewitterung umgerechnet wurden. Dabei wurden relativ hohe Wassermengen und Bestrahlungsstärken verwendet, wodurch die Biozide möglicherweise zu stark verdünnt bzw. durch die Bestrahlung abgebaut wurden. Entsprechend konnten bei der künstlichen Bewitterung keine Biozide in den Eluatn nachgewiesen werden. Bei der DIN-Prüfung und dem einjährigen Freilandversuch konnte bei beiden Bewitterungsarten eine schnelle Auswaschung der Topfkonservierer in hohen Konzentrationen von bis zu $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ pro Tauchzyklus/Regenereignis beobachtet werden. Bereits nach dem dritten Regenereignis sowie dem dritten Immersionszyklus, konnte kein BIT mehr nachgewiesen werden, welches mit einem Anteil von 94 % in der ursprünglich verwendeten Topfkonservierermischung der konzentrierteste Topfkonservierer war. Im Freilandversuch konnten die Filmkonservierer nur bei einzelnen Regenereignissen nachgewiesen werden, aber auf Grund der geringen Konzentrationen nicht quantifiziert werden. Im Tauchversuch konnten die Filmkonservierer über den gesamten Versuch in geringerer Konzentration quantifiziert werden. Ein Unterschied, ob sich die Filmkonservierungsmittel in der Putzschicht oder in der Farbschicht befanden, konnte nicht festgestellt werden (Abbildung 5).

Die Wirkung der Verkapselung von Bioziden wurde bezüglich des Freisetzungsverhaltens sowie der Photostabilität untersucht. Für die verkapselte Variante konnte eine signifikant geringere Auswaschung beobachtet werden. Bezüglich der Photostabilität wurde hingegen festgestellt, dass verkapselte Biozide wie frei vorliegende Filmkonservierer durch Bestrahlung stark abgebaut werden. Bei OIT wurde bei den nicht bestrahlten freien Prüfmustern über die komplette Prüfung $87,26 \pm 4,8 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$ ausgewaschen, wobei bei den bestrahlten freien Prüfmustern mit $44,50 \pm 3,3 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$ nur ca. die Hälfte ausgewaschen wurde. Bei dem verkapselten nicht bestrahlten Prüfmuster wurde mit $17,22 \pm 1,2 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$ deutlich weniger ausgewaschen als bei der freien Probe. Jedoch wirkte sich die Bestrahlung geringer auf die Auswaschung aus und es wurden bei der bestrahlten verkapselten Probe immer noch $12,8 \pm 0,9 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$ ausgewaschen. Für Terbutryn wurde bei den nicht bestrahlten freien Prüfmustern über die komplette Prüfung $1,46 \pm 0,1 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$ ausgewaschen, wobei bei den bestrahlten freien Prüfmustern mit $0,72 \pm 0,006 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$ ebenfalls nur ca. die Hälfte ausgewaschen wurde. Bei dem verkapselten nicht bestrahlten Prüfmuster wurde mit $0,49 \pm 0,05 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$ deutlich weniger ausgewaschen als

bei der freien Probe. Anders als bei OIT wirkte sich die Bestrahlung auch hier auf die Auswaschung aus und es wurden bei der bestrahlten verkapselten Probe $0,28 \pm 0,003 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$ ausgewaschen. Anders als bei der kompletten Bewitterung mittels Bewitterungskammer, wurde in diesem Versuchsaufbau lediglich die Bestrahlung simuliert. Außerdem wurde darauf verzichtet das Verfahren zeitlich beschleunigt abzubilden. Zwei durchschnittliche Sommerwochen in Deutschland wurden nachgebildet, wobei auch Tages- und Nachzyklen berücksichtigt wurden.

Zusammenfassend konnte beobachtet werden, dass sowohl Verkapselung als auch Bestrahlung die Menge an ausgewaschenen Filmkonservierern deutlich reduziert. Ob die Biozide ursprünglich in der Farb- oder Putzschicht vorlagen, hat keinen wesentlichen Einfluss auf den Austrag. Eine Bewitterung mittels Bewitterungskammer abzubilden, funktioniert für ein zeitlich gerafftes Verfahren auf Grund der beschriebenen Problematik noch nicht. Jedoch konnten zwei Wochen im Sommer ohne Regen damit für nachfolgende Versuche erfolgreich abgebildet werden. Generell waschen sich Topfkonservierer sehr schnell in hohen Konzentrationen bei den ersten Wasserkontaktereignissen aus und Filmkonservierer über einen langen Zeitraum in geringen Konzentrationen.

5.2 Simulation

Für die Simulation der Biozidverteilung im Boden wurden drei Eingangsszenarien verglichen. Die Daten einer 2008-2009 durchgeführten Feldstudie wurden einerseits als Eingangsdaten definiert und unverändert in PELMO eingespeist (Szenario I) [5]. Außerdem wurden auf Basis der Austragsdaten Emissionskurven abgeleitet und zur Simulation in COMLEAM verwendet (Szenario II). Die Simulation wurde außerdem mit Emissionskurven basierend auf DIN EN 16105 Austragsdaten derselben Prüfmuster durchgeführt (Szenario III) [22]. Weitere zu definierende Parameter wie die Materialeigenschaften und initiale Biozidkonzentrationen orientierten sich an den in den Publikationen angegebenen Werten. Für die Wetterdaten wurden die von den Schweizern aufgenommenen Daten während des Feldversuchs verwendet. Lediglich für BIT waren keine Emissionsdaten verfügbar, weshalb die Daten der internen Prüfung nach DIN EN 16105 verwendet wurden, um eine Emissionskurve abzubilden.

Im Feldversuch wurde an 34 Tagen Eluate nach Regenevents gesammelt und analysiert. Diese bestimmten Eluatkonzentrationen wurden entsprechend als Bodeneintrag für die Bodenverteilungssimulation mittels PELMO für Szenario I verwendet. In den Szenarien II und III wurde ein Eintrag stündlich mittels COMLEAM simuliert, was in 1039 Zeitpunkten für den Biozideintrag resultierte. Die kumulative Konzentration der Eintragsszenarien betrug $1174 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$ für TB und $875 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$ für OIT für den Feldversuch (Szenario I), bei $291 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$ für TB und $1241 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$ für OIT für die COMLEAM Simulation auf Basis der DIN Prüfung (Szenario III) und $742 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$ für TB und $713 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$ für OIT für die COMELAM Simulation auf Basis des Feldversuchs (Szenario II) (Tabelle 4).

Tabelle 4: Vergleich der kumulativen Eintragskonzentration für die Biozide OIT und TB bezogen auf drei unterschiedliche Eintragungsszenarien.

Eintragungsszenario	C _{TB} [mg·m ⁻²]	C _{OIT} [mg·m ⁻²]
Szenario I: Freilandversuch (unverändert)	1174	875
Szenario II: Freilandversuchsdaten als Grundlage für eine Simulation mit COMLEAM	742	713
Szenario III: Immersionsdaten als Grundlage für eine Simulation mit COMLEAM	291	1241

Betrachtet man die Eintragungshäufigkeiten, so unterscheiden sich beide COMLEAM-Simulationen signifikant vom natürlichen Wetterexperiment (p-Werte < 0,0001). Um die Eintragskonzentrationen trotz unterschiedlicher Eintragungshäufigkeit statistisch zu vergleichen, wurden die einzelnen Einträge der mit COMLEAM simulierten Szenarien entsprechend der Messintervalle des Freilandversuches aufsummiert. Damit wurden ebenfalls 34 Eintragszeitpunkte erhalten und es konnten die Konzentrationen verglichen werden. Für die OIT-Eintragskonzentrationen wurde dabei kein signifikanten Unterschied festgestellt. Für TB weicht das Szenario III jedoch von der auf dem Feldversuch basierenden Simulation (Szenario I) sowie dem Feldversuch (Szenario II) signifikant ab (p-Wert < 0,0001).

Die Unterschiede zwischen den Eintragskonzentrationen der Stoffe für die verschiedenen Szenarien lassen sich durch die Art der Bewitterungsversuche erklären. Der Vorteil eines natürlichen Bewitterungsexperiments ist, dass alle Wetterparameter wie UV-Strahlung, Temperaturschwankungen, Frost, Tau und andere erfasst werden. Der große Nachteil solcher Experimente ist die Reproduzierbarkeit. Sie sind kaum reproduzierbar und daher nicht mit anderen Orten oder Daten vergleichbar [12]. Alle Wetterparameter werden für das natürliche Verwitterungsexperiment als direkt und für das mit COMELAM gekoppelte Experiment als indirekt betrachtet, da sie die Emissionskurve beeinflussen. Im dritten und letzten Szenario wurden die Auslaugungsversuche nach DIN EN 16105 als Daten für die Erstellung der Emissionskurve für die weitere Simulation mit COMLEAM verwendet. Der große Nachteil der DIN EN 16105 ist, dass Wetterparameter nicht berücksichtigt werden. Auch ist der Wasserfassadenanteil sehr hoch, was zu einer Überschätzung der Auswaschung, insbesondere für polare Biozide, führen kann. Andererseits handelt es sich um eine einfache Methode mit guter Reproduzierbarkeit und Vergleichbarkeit. Um die Unterschiede der drei Szenarien hinsichtlich der Biozidverteilung in verschiedenen Bodenschichten zu untersuchen, wurde eine PELMO-Simulation in fünf Bodenschichten (0 - 2,5 cm, 2,5 - 5 cm, 5 - 7,5 cm, 7,5 - 10 cm und 10 - 12,5 cm) über 600 Tage durchgeführt. Zum Vergleich der verschiedenen Szenarien wurden die Konzentrationen zu einem festen Zeitpunkt verglichen, außerdem wurde eine lineare Regression für die verschiedenen Szenarien und Schichten durchgeführt.

Wenn die verschiedenen Aufnahmeszenarien zu einem bestimmten Zeitpunkt (300 Tage) für TB verglichen wurden, unterschieden sich alle Szenarien unabhängig von der Schicht nur in-

nerhalb einer Größenordnung (Tabelle 5). Für die obere Schicht lag der Unterschied der Aufnahmeszenarien in einem Bereich von $1,8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \pm 39 \%$. Für tiefere Bodenschichten (7,5 - 10 cm) war der Einfluss der Eintragungsszenarien geringer. In dieser Schicht lag die Konzentration bei $0,066 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \pm 4,6 \%$.

Tabelle 5: Biozidkonzentrationen simuliert mit PELMO. Verglichen werden die Konzentration bei 300 Tagen für drei unterschiedliche Eintragungsszenarien bei der Bodenschicht 0-2,5 cm, sowie der Bodenschicht 7,5-10 cm.

Eintragungsszenario	C_{TB} [mg·kg⁻¹] (0-2,5cm Bodenschicht)	C_{TB} [mg·kg⁻¹] (7,5-10cm Bodenschicht)
Szenario I: Freilandversuch (unverändert)	2,54	0,10
Szenario II: Freilandversuchsdaten als Grundlage für eine Simulation mit COMLEAM	1,96	0,073
Szenario III: Immersionsdaten als Grundlage für eine Simulation mit COMLEAM	0,95	0,024

Auch in der tieferen Bodenschicht unterschieden sie sich mindestens um eine Größenordnung. Die Schwankung der Werte nahm jedoch bei den beiden vorgestellten Werten für tiefer werdende Bodenschichten von 39 % auf 5 % ab. Für einen besseren Vergleich mit allen Zeitpunkten wurde eine lineare Korrelation zwischen den Szenarien für jede Schicht hergestellt. Für TB war für jede Schicht und alle Szenarien eine Korrelation (Pearson's R über 0,588) zu erkennen, außerdem nahm die Stärke der Korrelation mit der Bodentiefe zu (Pearson's R über 0,854 in und über der Schicht 5-7,5 cm). In Bezug auf OIT wurde ebenfalls eine Korrelation zwischen den Szenarien deutlich (Pearson's R über 0,511). Wohingegen beim Vergleich der beiden COMLEAM-basierten Szenarien der R-Wert für die ersten beiden Bodenschichten 0,5 betrug. Für die Schicht 0 - 2,5 cm konnte fast keine Korrelation nachgewiesen werden (Pearson's R = 0,065). Für die Schicht 2,5 - 5 cm konnte eine schwache Korrelation gezeigt werden (Pearson's R = 0,363). TB weist lange Halbwertszeiten auf und stellt ein hohes Risiko für die Bodenumwelt dar, weshalb es bereits seit 2004 für die Verwendung als Pestizid verboten ist. Aufgrund des bereits angedeuteten hohen Risikos für die Bodenumwelt sollte der Einfluss der Fassadenelektrolyte als Risikofaktor berücksichtigt werden, z.B. für Versickerungsmulden in städtischen Gebieten. Für OIT könnten die DIN-basierten Emissionskonzentrationen die Biozidkonzentration in der oberen Bodenschicht überbewerten. Wenn dieses Szenario für die Risikobewertung verwendet wird, sollte es sorgfältig interpretiert und als Worst-Case-Szenario betrachtet werden. Für die Langzeitwirkung, Akkumulationstendenzen und Bodentiefenverteilungen kann die Kombination verschiedener Auslaugungsexperimente mit COMLEAM und PELMO ein nützliches Werkzeug sein, welches die Möglichkeit bietet, verschiedene Gebäudegeometrien, Materialeigenschaften und Wetterparameter leicht anzupassen.

Zusätzlich zu den verschiedenen Eintragsszenarien wurde der Einfluss von Abbau und Adsorption auf die Simulation geprüft. Die Halbwertszeiten im Boden sind sehr stark von den gewählten Bodenparametern abhängig und variieren beispielsweise für Terbutryn zwischen 9 und 231 Tagen [24–27].

Der Adsorptionskoeffizient K_{oc} wurde nach der OECD Guideline 106 ermittelt [19]. BIT weist mit einem K_{oc} von $2110,9 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ die größte Adsorptionstendenz auf. Allerdings war BIT auch das einzige Biozid, dessen Adsorption reversibel war. Der K_{oc} von TB lag bei $1206,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ und für OIT bei $812,2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Die experimentell ermittelten Halbwertszeiten für den Abbau im Boden lagen für BIT unter einem Tag und für TB und OIT bei 14 Tagen.

Die in der Literatur beschriebene Halbwertszeit für BIT lag ebenfalls bei unter einem Tag, allerdings wurde die Adsorption mit einem K_{oc} Wert von $196,87 \text{ L}\cdot\text{kg}^{-1}$ als deutlich schwächer beschrieben [28]. Für das Biozid OIT wurden für die auf Literaturwerten basierte Modellierung die Assessment Reports für die Beurteilung als Produkt Typ 8 (Holzschutzmittel) herangezogen. Darin wurden Halbwertszeiten von knapp einem Tag beschrieben, sowie die mittlere Adsorption für drei Böden und ein Sediment mit K_{oc} Werten von $982 \text{ L}\cdot\text{kg}^{-1}$ und einem $1/n$ von $0,8427$ [28]. Für Terbutryn waren keine Assessment Reports verfügbar, weshalb als Quelle die Pesticide Properties DataBase (PPDB) (beschrieben von [25]) herangezogen wurde. Für den Abbau wurden Halbwertszeiten von 74 Tagen beschrieben, für die Adsorption wurden K_{oc} Werte von $518 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$ und einem reziproken Freundlich-Exponenten $1/n$ von $1,10$ angegeben [29].

Die tiefenabhängige Verteilung der Biozide im Boden bei den Simulationen auf der Basis von experimentell-bestimmten Werten mit den Simulationen auf der Basis der Literaturwerte wurde mittels linearer Regression verglichen. Dies ergab, dass für OIT ein deutlicher Unterschied in allen Schichten bestand (Pearson R maximal $0,6$). Hingegen korrelierten für die beiden anderen Biozide die Simulationen jeweils sehr gut (Pearson R mindestens $0,726$).

Wohingegen die Verteilung für Terbutryn und BIT unabhängig von der Datenquelle (Literatur oder Experiment) gut korreliert, ist der Unterschied bei den vorhergesagten absoluten Konzentrationen zwischen den 2 Simulationen teils um mehrere Größenordnungen unterschiedlich (Abbildung 6). So betragen die vorhergesagten Maximalkonzentrationen für Terbutryn für die Bodenschicht $7,5\text{-}10 \text{ cm}$ beispielsweise $4,9\cdot 10^{-3} \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ bei der Simulation mit den experimentell ermittelten Werten und $1,15 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ für die Simulation mit den Literaturwerten. Die Zeitpunkte, an denen Konzentrationsspitzen auftreten, unterschieden sich ebenfalls deutlich voneinander. Bei der Simulation mit den experimentellen Werten wird die maximale Konzentration an Tag 303 und bei den Literaturwerten an Tag 564 simuliert. Die mit den Literaturwerten simulierten Daten zeigten für Terbutryn zudem einen deutlichen Trend zur Aufkonzentrierung in tieferen Bodenschichten. Für jedes der drei Biozide konnten beim Vergleich der 2 Simulationen Konzentrationsunterschiede in den Extremwerten von mindestens drei Größenordnungen beobachtet werden (Abbildung 6). Zusammenfassend sollten die bodenabhängige Substanzparameter der Adsorption und Abbaukinetik daher experimentell für den jeweiligen Boden bestimmt bzw. zumindest unter Berücksichtigung des jeweiligen Bodentyps ausgewählt werden

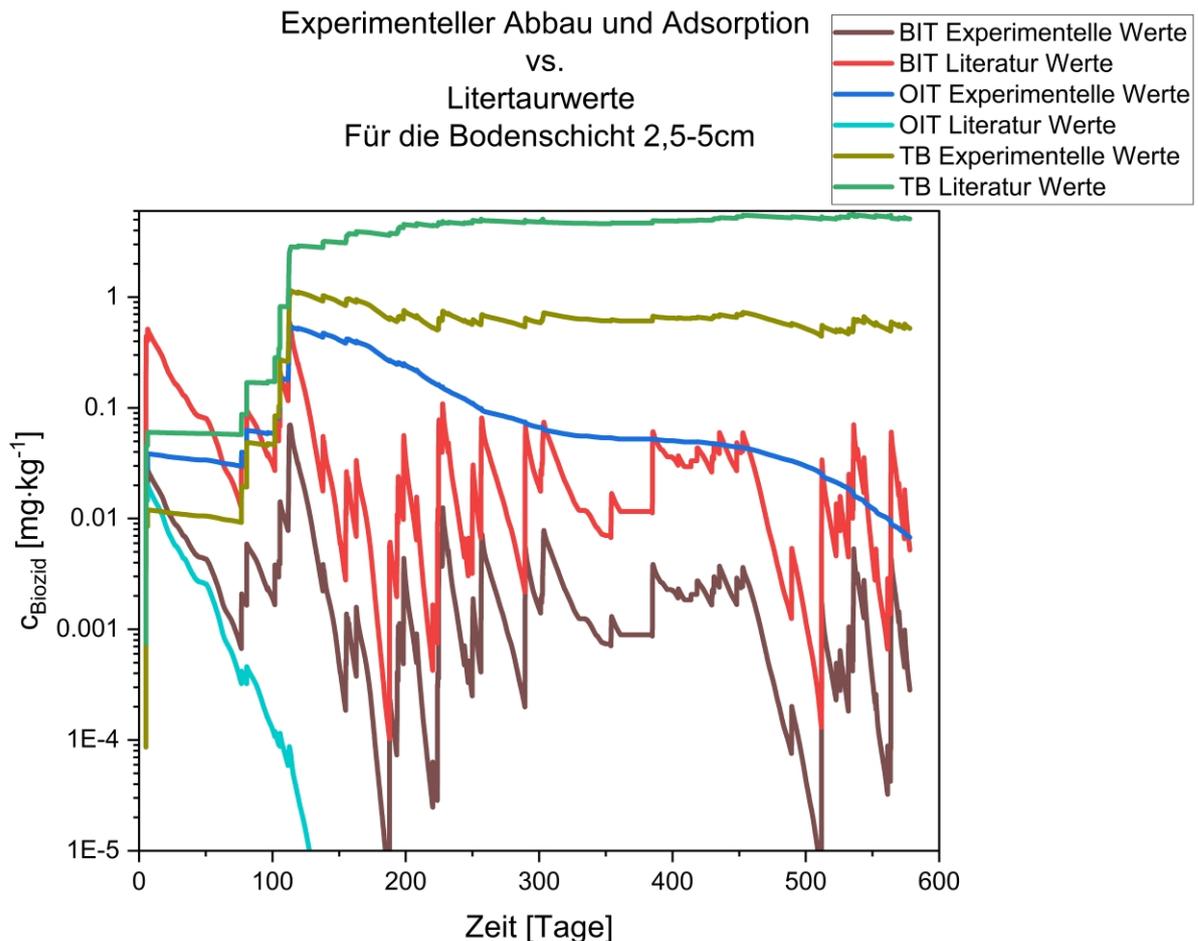


Abbildung 6: Biozidverteilung in der Bodenschicht 2,5-5 cm.

Abgebildet sind die Verläufe für die experimentellen Adsorptions- und Abbauwerte sowie die Literaturwerte für die Biozide BIT, TB und OIT.

Außerdem wurde ein experimentelles Setup entwickelt, um die simulierten Daten zu überprüfen. Hierfür wurden 90 Tage des DIN-basierten Eintrag-Szenarios in täglicher Auflösung repliziert und an zehn Zeitpunkten in sechs Bodentiefen (0 cm, 5 cm, 10 cm, 15 cm, 20 cm, 25 cm) Proben genommen. Dabei wurde eine deutlich tiefere Verteilung von TB und OIT in Bodenschichten bis zu 25 cm sowie ein größerer Effekt von Trocknungs- oder Starkregeneignissen auf die Verteilung aller Biozide beobachtet. Die tiefere Verteilung kann unter anderem durch die Poren erklärt werden, die zwangsläufig bei der Probennahme entstehen. Um diesen Effekt bestmöglich abzubilden, wurde die Dispersionslänge der Simulation von 5 cm auf 20 cm erhöht, um so einen Makroporenfluss abzubilden. Die experimentellen Werte stimmten für die oberen Bodenschichten oberhalb von 5 cm in einem Intervall von einer Zehnerpotenz überein. Für die unteren Bodenschichten wurde die Differenz jedoch höher und auch durch die Simulationen mit Makroporen konnten keine Biozide in Bodenschichten unter 15 cm vorausgesagt werden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass durch eine Kombination von COMLEAM und PELMO eine Simulation des Austrags von Bioziden aus Fassaden und deren Eintrag in den Boden möglich ist. Unter der Voraussetzung, dass die Absorptions- und Abbauwerte der Substanzen bodenabhängig ermittelt wurden, lässt sich das Gefährdungspotential von Bioziden in

Bezug auf Akkumulation abschätzen. Experimentell lassen sich die vorhergesagten Konzentrationen in oberen Bodenschichten nachweisen, auch wenn Wetterereignisse wie Starkregen oder Trockenperioden bei der Simulation deutlich weniger Einfluss zeigen. Allerdings konnte die Verteilung in tieferen Bodenschichten nicht simuliert werden. Ob die Präsenz der Biozide in tieferen Schichten dem experimentellen Aufbau oder der Annahme eines direkt eingestellten Adsorptionsgleichgewichts des Modells geschuldet ist, sollte in zukünftigen Studien untersucht werden.

5.3 Ökotoxizität von Bioziden auf Modellorganismen

Die Fassadeneluate der drei Bewitterungsversuche (Immersionstest gemäß DIN 16105, Freilandversuch und Bewitterungskammer) wurden verdünnt (Faktor 5,19) und auf deren Toxizität gegenüber Leuchtbakterien, Algen, Daphnien, Fischeier, Zuckmücken, Sedimentwürmer sowie Gentoxizität mittels Umu-Tests überprüft. Dabei zeigten sich toxische Effekte der biozidhaltigen Freilandeluate auf Leuchtbakterien, Zuckmücken und Sedimentwürmer. Eine erhöhte Toxizität der biozidhaltigen DIN und Freilandeluate konnte außerdem auf die Organismen Leuchtbakterien, Algen, Daphnien und Fischeier gezeigt werden.

Zusätzlich wurde untersucht, ob und ggf. wie stark eine Verkapselung sowie eine Bestrahlung von Bioziden die Toxizität reduziert. Dies wurde anhand der Modellorganismen Algen und Leuchtbakterien untersucht. Hierfür wurden die Proben unverdünnt gemessen, um auch bei reduzierter Toxizität noch Unterschiede detektieren zu können. Um zudem zu ermitteln, ob die ökotoxische Wirkung primär durch schnell ausgewaschene Topfkonservierer oder durch Filmkonservierer hervorgerufen wird, wurden jeweils Zyklus 1-4 (dominiert durch Topfkonservierer) und Zyklus 5-9 (nahezu topfkonservierer-frei) der DIN Prüfung vereinigt und getrennt gemessen. Es zeigte sich dabei eine erhöhte Toxizität der ersten Zyklen. Die Toxizität der Leuchtbakterien für die Proben des Zyklus 1-4 lag beispielsweise bei allen biozidhaltigen Proben bei einem G-Wert von 96, wohingegen bei Zyklus 5-9 nur noch G-Werte von 1-4 gemessen wurden. Die Algentoxizität reduzierte sich ebenfalls und es wurden G-Werte von 12-32 (Zyklus 1-4) sowie 6-12 (Zyklus 5-9) bestimmt. Die Effekte sind daher hauptsächlich durch Topfkonservierer induziert

Im Vergleich der Bewitterungsverfahren wiesen die Eluate der Freilandbewitterung die höchste Toxizität auf. Dies könnte darin begründet sein, dass hier der erste Monat gepoolt und für die Toxizitätstests verschickt wurde. Dieser wies noch eine erhöhte Konzentration an Topfkonservierern auf, welche bei den weiteren Fassadeneluatensamplungen bei zunehmender Lebensdauer stark abnahm. In Bezug auf die untersuchten Organismen konnte gezeigt werden, dass Leuchtbakterien als Organismus überaus sensibel auf Topfkonservierer reagieren, während sich die Algen am besten als Indikator für Filmkonservierer eignen.

5.4 Effekte der Biozide aus Baustoffen auf das Bodenmikrobiom

Die Effekte von Einzelbioziden, Biozidkombinationen und verdünnten Fassadeneluatensamplungen auf das Bodenmikrobiom wurden mittels molekularbiologischer Methoden untersucht. Die Zusammensetzung und Aktivität des Bodenmikrobioms wird durch die physikochemischen Bodenparameter bestimmt. Deshalb ist es notwendig, diese im Rahmen der Inkubationsversuche auf

Veränderungen zu überprüfen. Die Korrelationsanalyse der erhobenen Umweltfaktoren zeigte, dass sich die physikochemischen Bodenparameter, wie pH Wert, Ionen und Glühverlust, zwischen den Behandlungsgruppen der verschiedenen Inkubationsversuche nicht signifikant von der Kontrolle unterschieden. Dementsprechend können Unterschiede in der Zusammensetzung und der Quantität des Bodenmikrobioms auf die Biozidbehandlung zurückgeführt werden. Der Mikrokosmenversuch 2 und der Bodenfreilandversuch (Tabelle 3) konnten zum Projektende noch nicht vollständig ausgewertet und bearbeitet werden, sodass hier nun die Ergebnisse aus dem Mikrokosmenversuch 1 diskutiert werden (Reiß et al. 2023, under revision, s. Veröffentlichungen). Die vollständige Auswertung von Mikrokosmenversuch 2 und Bodenfreilandversuch soll nach Projektende abgeschlossen werden.

Die Wasserkontrolle wies, wie erwartet, für die totale Fraktion der Bakterien ($4,5 \cdot 10^7 \cdot \text{g}^{-1}$) und der Pilze ($2,2 \cdot 10^5 \cdot \text{g}^{-1}$) die höchste Genkopienzahl auf (Abbildung 7). Die Biozid-Behandlung bewirkte eine Verringerung der bakteriellen und pilzlichen Genkopienzahl, was mit den zuvor beobachteten Ergebnissen aus der Literatur übereinstimmt [30]. Die Einzelbiozid-Behandlung zeigte keine signifikante Auswirkung auf die Gesamtanzahl der bakteriellen (Abbildung 7 A) und pilzlichen Genkopien verglichen mit der Wasserkontrolle (Abbildung 7 B). Die Gesamtzahl der bakteriellen und pilzlichen Genkopien wurde durch die Biozidkombinationen T-TI ($p = 1,782 \cdot 10^{-5}$), T-TO ($p = 5,495 \cdot 10^{-6}$), T-IO ($p = 3,132 \cdot 10^{-6}$) und T-TIO ($p = 7,621 \cdot 10^{-7}$) im Vergleich zur Wasserkontrolle deutlich reduziert (Abbildung 7). Die Gesamtzahl der bakteriellen Genkopien war bei den Einzelbiozidbehandlungen T-T, T-I und T-O deutlich höher als bei den Kombinationen T-TO ($p_T = 6,68 \cdot 10^{-4}$, $p_I = 1,98 \cdot 10^{-4}$, $p_O = 0,03$), T-IO ($p_T = 3,79 \cdot 10^{-4}$, $p_I = 1,12 \cdot 10^{-4}$, $p_O = 0,02$) und T-TIO ($p_T = 5,82 \cdot 10^{-5}$, $p_I = 1,84 \cdot 10^{-5}$, $p_O = 0,003$).

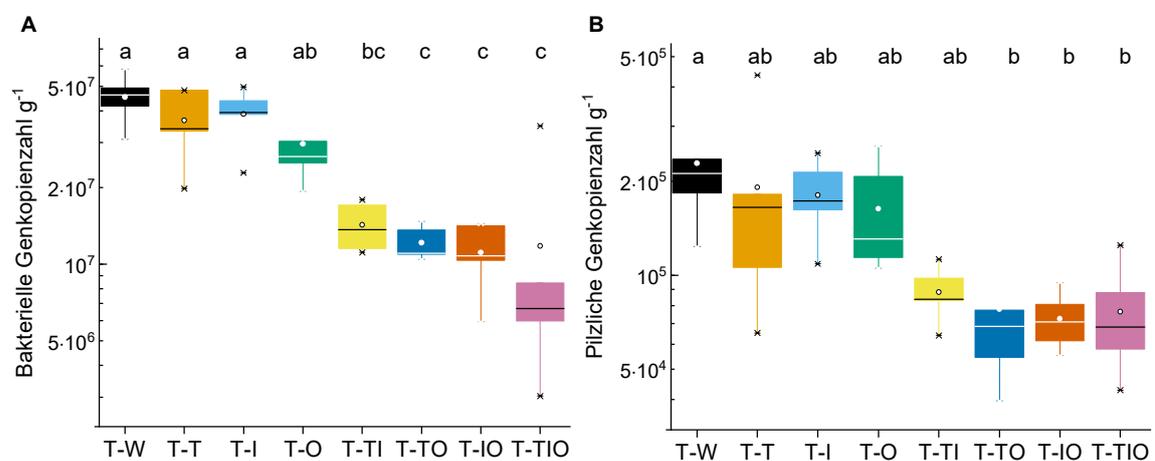


Abbildung 7: Totale bakterielle (A) und (B) pilzliche Genkopienzahl nach verschiedenen Biozidbehandlungen (n = 5). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen statistisch signifikante Unterschiede gemäß Tukeys Test ($p < 0,05$). Ausreißer wurden mit dem Grubbs-Test ($p = 0,05$) identifiziert und für die Statistik nicht berücksichtigt. (T-: Totale Fraktion des Nukleinsäureextraktes; W: Wasserkontrolle; T: Terbutryn; I: Isoproturon; O: Octylisothiazolinon; Terbutryn + Isoproturon (TI); Terbutryn + Octylisothiazolinon (TO); Isoproturon + Octylisothiazolinon (IO); Terbutryn + Isoproturon + Octylisothiazolinon (TIO)).

Die Gesamtanzahl der Pilzgenkopien bei der Behandlung mit einem Biozid und bei T-TI unterschied sich nicht signifikant ($p = 0,07198$) von der Behandlung mit der Wasserkontrolle. T-TI unterschied sich nicht signifikant von T-TO, T-IO und T-TIO. Die Behandlung T-TIO hatte sowohl die geringste bakterielle als auch pilzliche Genkopienzahl. Die bakterielle und pilzliche Genkopienzahl war bei der T-TIO-Behandlung im Vergleich zur Wasserkontrolle um 66,5 % bzw. 74 % reduziert (Pilze: $p = 0,039$; Bakterien: $p = 7,621 \cdot 10^{-7}$). Da Terbutryn und Octylisothiazolinon bekanntermaßen fungizid wirken, ist dies ein Hinweis darauf, dass die Effekte auf die Bakterien nicht allein durch das Vorhandensein von Bioziden verursacht werden, sondern auch durch die Verringerung oder Inaktivierung der assoziierten Pilze. Die Studie zeigte, dass Einzelbiozid-Behandlungen eine geringere Wirkung auf die bakteriellen und pilzlichen Genkopien hatten, als die kombinierten Biozid-Behandlungen, selbst wenn die Summe der Biozid-Konzentrationen in jeder Behandlung gleich war. Ein vergleichbares Ergebnis konnte für die bakterielle und pilzliche OTU Richness beobachtet werden (Abbildung 8).

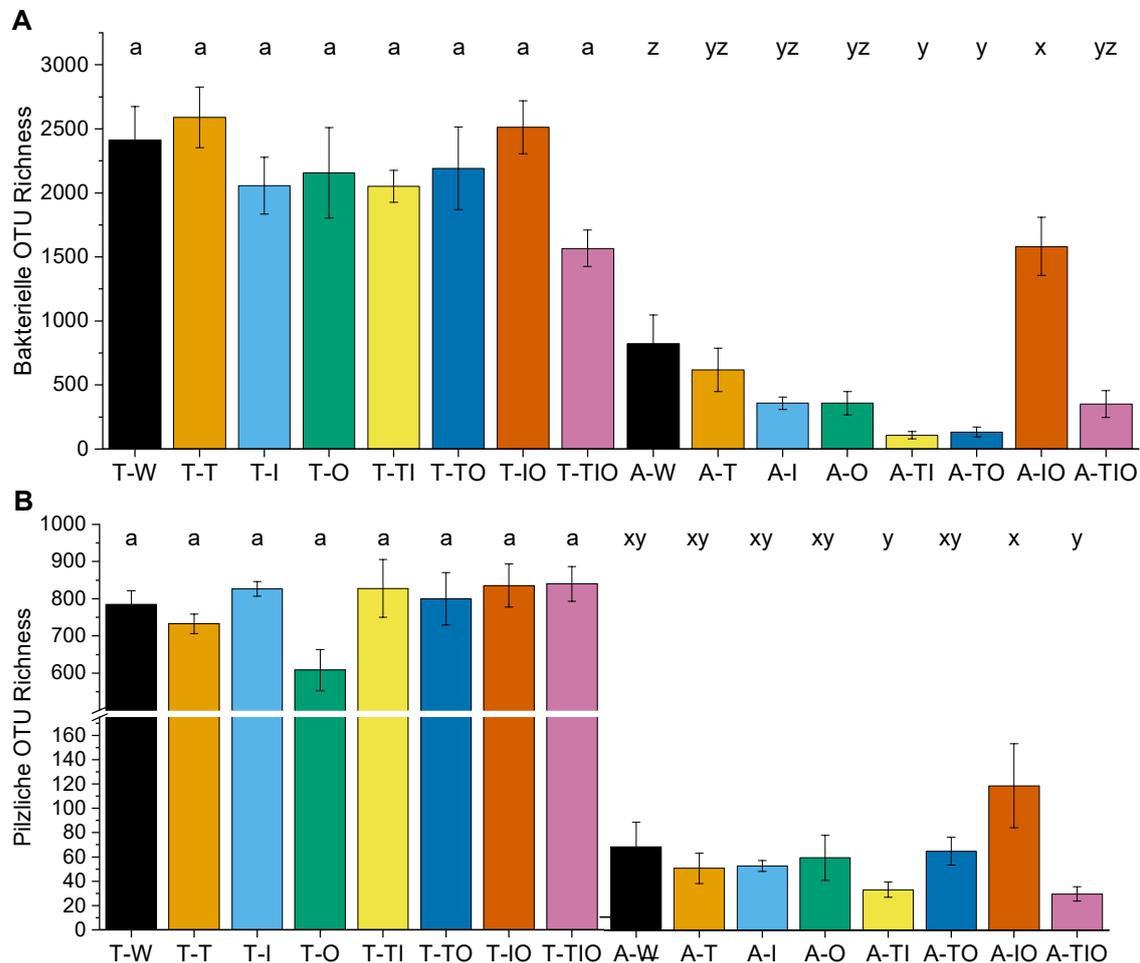


Abbildung 8: Bakterielle (A) und pilzliche (B) OTU Richness nach verschiedenen Biozidbehandlungen (n = 5). Unterschiedliche Buchstaben zeigen statistisch signifikante Unterschiede an. Die statistische Prüfung wurde mit dem Friedman-Test durchgeführt und ergab keine signifikanten Unterschiede für die bakterielle und pilzliche OTU Richness der totalen Fraktion gemäß Tukeys-Test ($P < 0,05$). Statistisch signifikante Unterschiede in-

nerhalb der aktiven Fraktion sind durch unterschiedliche Buchstaben gekennzeichnet. (T- Totale Fraktion; A- Aktive Fraktion; W: Wasserkontrolle; T: Terbutryn; I: Isoproturon; O: Octylisothiazolinon; Terbutryn + Isoproturon (TI); Terbutryn + Octylisothiazolinon (TO); Isoproturon + Octylisothiazolinon (IO); Terbutryn + Isoproturon + Octylisothiazolinon (TIO).

Betrachtet man die Diversität-Indices, konnten auch hier keine Veränderungen in der totalen Fraktion festgestellt werden. Diese Ergebnisse entsprachen unserer Erwartung und deuten außerdem darauf hin, dass die totale mikrobielle Gemeinschaft entweder (i) nicht betroffen war, (ii) ruhte, (iii) DNA aus Nekromasse enthielt oder (iv) in sporulierter Form vorlag, was die mit Bioziden aktiv interagierenden Gemeinschaftsmitglieder überlagerten.

Im Gegensatz dazu konnten in der aktiven Fraktion der mikrobiellen Gemeinschaft deutliche Veränderungen der OTU Richness durch den kombinierten Einsatz von Bioziden gezeigt werden. Jede einzelne Biozidbehandlung verringerte die bakterielle und pilzliche OTU Richness (Abbildung 8). Auf der Ebene der gesamten mikrobiellen Gemeinschaftszusammensetzung wurden kürzlich ähnliche Verschiebungen in Sedimenten mit Glutaraldehyd oder Aldehyd freisetzenden Einzelbehandlungen mit Bioziden beobachtet [31]. Allerdings unterschieden sich sowohl die Umweltbedingungen als auch die Biozide von der vorliegenden Arbeit. Die OTU Richness an aktiven Bakterien und Pilzen nahm durch die kombinierte Biozidbehandlung im Vergleich zur entsprechenden Wasserkontrolle zu. Darüber hinaus wurde auch die Zusammensetzung der aktiven Bakterien- und Pilzgemeinschaft im Boden durch die kombinierten Biozidbehandlungen verändert, was nach unserem Kenntnisstand bisher noch nicht untersucht wurde. Die stärksten Auswirkungen wurden bei den kombinierten Biozidbehandlungen A-IO und A-TIO sowohl bei der Zusammensetzung der Bakterien- als auch der Pilzgemeinschaft beobachtet. Dies unterstützt unsere Erwartung, dass Biozidkombinationen einen größeren Einfluss auf die Zusammensetzung der mikrobiellen Bodengemeinschaft haben als einzelne Biozidbehandlungen. Interessanterweise zeigten A-IO und A-TIO signifikante Auswirkungen, die A-TO-Behandlung hingegen nicht. Dies legt die Vermutung nahe, dass das Vorhandensein von Isoproturon in Kombination mit Octylisothiazolinon die Ursache für diese Wirkung sein könnte.

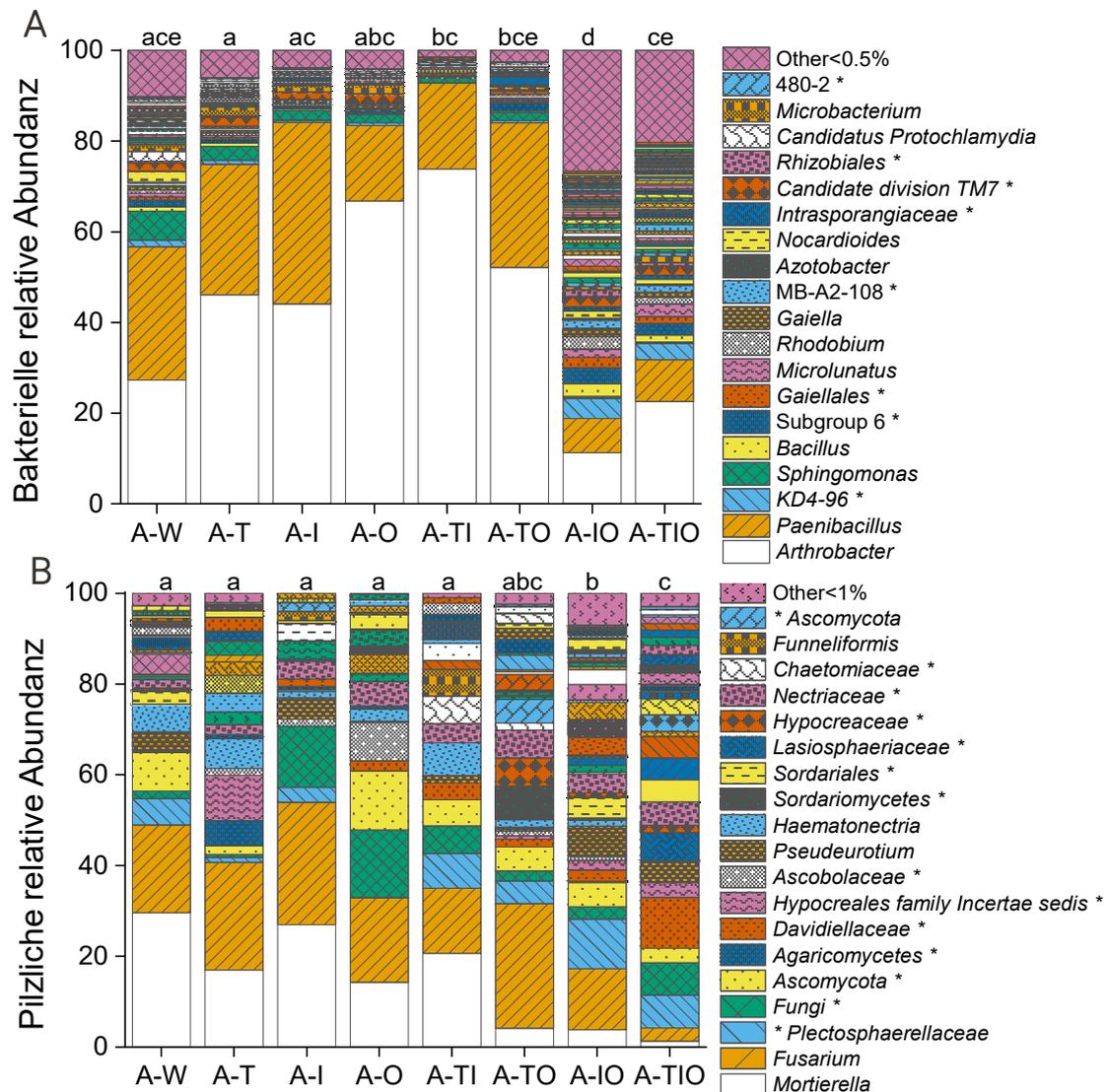


Abbildung 9: Gemittelte aktive bakterielle (a) und pilzliche (b) Zusammensetzung des Bodenmikrobioms auf Gattungsebene nach Biozidbehandlungen (n = 5). Die Legende hebt Pilz- und Bakteriengattungen mit einer relativen Häufigkeit von > 2 % (Bakterien) und > 5 % (Pilze) hervor. Gemäß der einseitigen nichtparametrischen multivariaten Analyse auf der Grundlage der Bray-Curtis-Ähnlichkeiten zeigen unterschiedliche Buchstaben statistisch signifikante Unterschiede an ($p < 0,05$, $n = 5$). (A- Aktive Fraktion; W: Wasserkontrolle; T: Terbutryn; I: Isoproturon; O: Octylisothiazolinon; Terbutryn + Isoproturon (TI); Terbutryn + Octylisothiazolinon (TO); Isoproturon + Octylisothiazolinon (IO); Terbutryn + Isoproturon + Octylisothiazolinon (TIO)).

Die Wirkung der Biozidkombinationen auf die Zusammensetzung des aktiven bakteriellen und pilzlichen Bodenmikrobioms unterschied sich signifikant von der Mehrheit der Einzelbiozidbehandlungen (Abbildung 9). Die Markierung aktiver Mitglieder der mikrobiellen Gemeinschaften

mittels BrdU wurde in aktuellen Studien zur Untersuchung mikrobieller Gemeinschaften in verschiedenen Umweltkompartimenten häufig angewandt [32–34], was ihre universelle Anwendbarkeit in vielen Umwelthabitaten (z. B. Rhizosphäre, arktischer Boden, Totholz) zeigte und zu zuverlässigen Ergebnissen führte.

Für jede Behandlung wurden Indikatorspeziesanalysen durchgeführt, um die Auswirkungen der Behandlung auf die Zusammensetzung des aktiven bakteriellen und pilzlichen Bodenmikrobioms auf Gattungsebene zu bewerten. Die Indikatorspeziesanalyse ist ein statistisches Verfahren zur Identifizierung, welche Spezies anhand von statistischen Indikatorwerten signifikant mit Biozidbehandlungen assoziiert sind. Dieser Index wird verwendet, um den Vorhersagewert von Taxa als Indikatoren für Biozidbehandlungen zu bewerten [35]. Die meisten Bodenindikator-Mikroorganismen wurden in der aktiven bakteriellen Gemeinschaftszusammensetzung bei der A-IO-Behandlung gefunden, was mit der höheren Richness im Vergleich zu den anderen Behandlungen einherging (Abbildung 8). Mehrere Arten chemoheterotropher Bakterien wurden in der A-IO-Behandlung als Indikatoren identifiziert. Die Indikatorspezies mit den höchsten Sequenzlesehäufigkeiten in der A-IO-Behandlung war ein nicht klassifiziertes Mitglied der postulierten Gattung KD4-96. Mitglieder dieser Gattung wurden häufig in kontaminierten Böden nachgewiesen [36,37]. Im Vergleich zu den am häufigsten vorkommenden Indikatorarten waren die Indikatorarten mit der höchsten Assoziation mit der A-IO-Behandlung Mitglieder der Gattung *Bacillus*. Diese sind bekannt dafür, Diuron abzubauen, das ebenfalls ein Phenylharnstoff-Herbizid wie Isoproturon ist [38,39]. Nicht-klassifizierte Mitglieder der Klasse *Tremellomyces* wurden als Indikatorspezies für die Zusammensetzung des aktiven pilzlichen Bodenmikrobioms in der A-IO-Behandlung identifiziert. Mitglieder von *Tremellomyces* zeigen aufgrund der Produktion von Flavonoiden antioxidative Eigenschaften [40]. Die Flavonoide haben analoge Strukturen zu Thiazolen und ähneln strukturell dem Octylisothiazolinon [41,42]. Phenylharnstoff-Herbizide wie Isoproturon können die Anzahl der Flavonoide reduzieren [43]. Darüber hinaus sind Flavonoide an der Biosynthese von Anthocyanpigmenten und kondensierten Tanninen, Flavonen und Phytoalexinen aus Hülsenfrüchten im Flavonoid-Stoffwechsel beteiligt, der am Cytochrom P450 stattfindet [44]. Da Cytochrom P450 das Ziel von Isoproturon ist, ist so eine Verringerung der Toxizität besonders für Mitglieder der *Tremellomyces* möglich.

Nicht nur die Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft wurde durch die Biozidbehandlung verändert, sondern auch die funktionelle Zusammensetzung der Bakterien und Pilze. Zwischen den verschiedenen Biozidbehandlungen konnten nur geringe Unterschiede in der totalen bakteriellen, funktionellen Zusammensetzung festgestellt werden. Lediglich die Behandlungen T-T und T-IO unterschieden sich von den anderen Biozidbehandlungen (Daten nicht gezeigt). Im Gegensatz dazu, blieb die funktionelle Zusammensetzung der aktiven Bakteriengemeinschaft bei der Mehrzahl der Biozidbehandlungen gleich (Abbildung 10). Nur die A-IO-Behandlung unterschied sich von der Wasserkontrolle. Die wichtigsten funktionellen Zuordnungen der aktiven und der totalen Bakteriengemeinschaft waren Nitrifikation und aerobe Chemoheterotrophie.

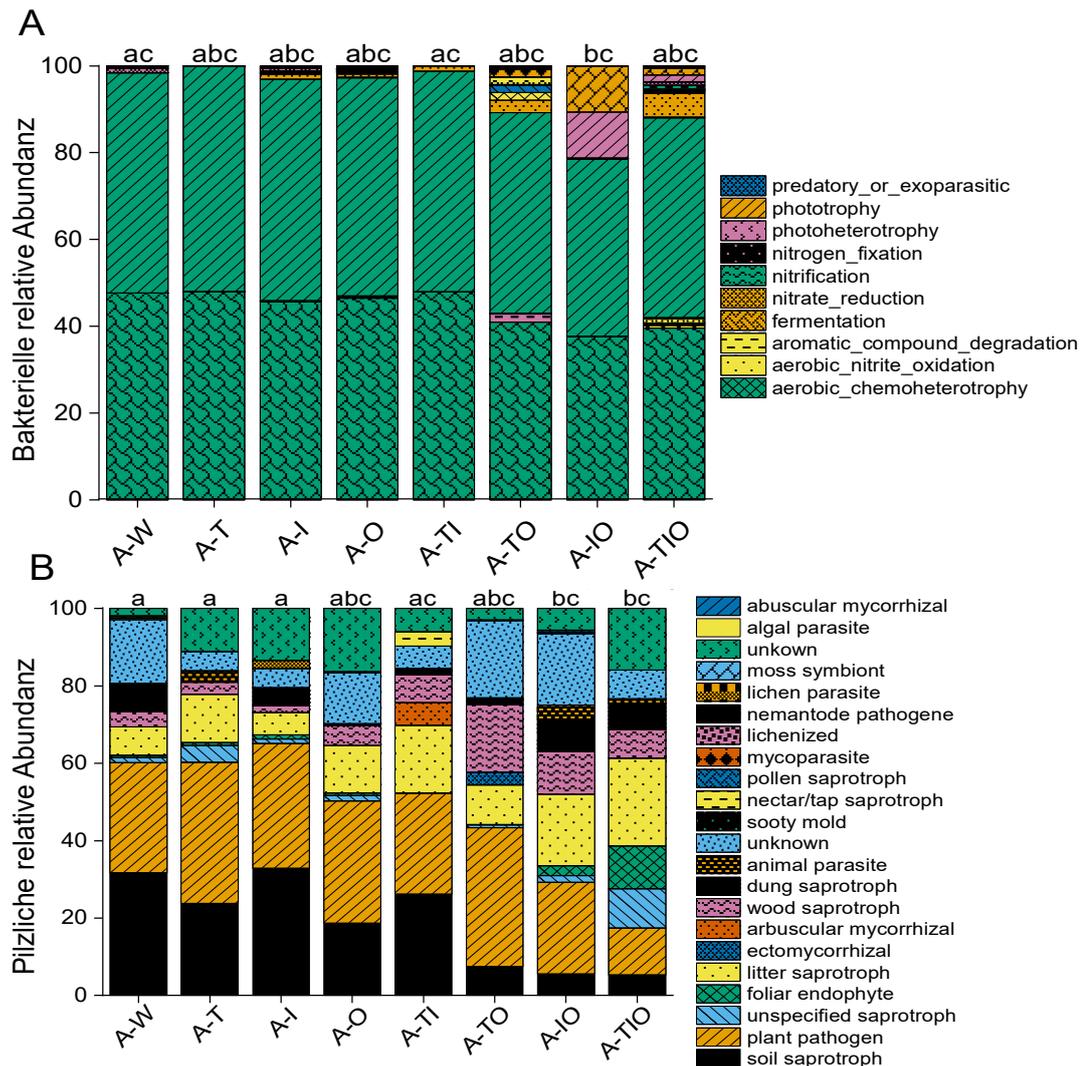


Abbildung 10: Zusammensetzung der aktiven, bakteriellen Funktionen auf OTU-Ebene (a) und der Pilzfunktionen auf Gattungsebene (b) nach Biozidbehandlungen (n = 5). Die kurze Legende hebt bakterielle Funktionen mit einer relativen Häufigkeit von > 1 % hervor. Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen statistisch signifikante Unterschiede gemäß der einseitigen nichtparametrischen multivariaten Analyse ($p = 0,05$). (A- Aktive Fraktion; W: Wasserkontrolle; T: Terbutryn; I: Isoproturon; O: Octylisothiazolinon; Terbutryn + Isoproturon (TI); Terbutryn + Octylisothiazolinon (TO); Isoproturon + Octylisothiazolinon (IO); Terbutryn + Isoproturon + Octylisothiazolinon (TIO)).

Während die Auswirkungen der Biozide auf die bakteriellen Funktionen relativ gering sind, konnten bereits enorme Veränderungen in der funktionellen Zusammensetzung der gesamten Pilzgemeinschaft festgestellt werden. Mit Ausnahme der T-O-Behandlung unterschieden sich alle Biozidbehandlungen in ihrer funktionellen Zusammensetzung von der jeweiligen Wasserkontrolle. Darüber hinaus wurden große Verschiebungen in der funktionellen Zusammensetzung der aktiven Pilzgemeinschaft beobachtet (Abbildung 10). Während sich die einzelnen

Biozidbehandlungen A-T und A-I nicht unterschieden, zeigten die kombinierten Biozidbehandlungen A-TO, A-IO und A-TIO enorme Verschiebungen in ihrer funktionellen Zusammensetzung im Vergleich zur jeweiligen Wasserkontrolle. Der stärkste Rückgang in der funktionellen Zusammensetzung wurde bei den saprotrophen Bodenorganismen als Ergebnis der kombinierten Biozidbehandlung festgestellt (Abbildung 10).

Darüber hinaus konzentrierten wir uns auf die Gattungen, die nur in der jeweiligen Wasserkontrolle vorhanden waren, aber in den Biozidbehandlungen fehlten. Für die Zusammensetzung der aktiven Bodenbakteriengemeinschaft wurden Mitglieder der Gattungen *Desulfotomaculum*, *Lachnospira* und *Methyloversatilis* identifiziert, die in allen Biozidbehandlungen fehlten. Mitglieder der Gattungen *Desulfotomaculum* [45] und *Lachnospira* [46] können in Böden als Endosporen persistieren. *Desulfotomaculum* und *Lachnospira* wurden in der gesamten Bakteriengemeinschaft der Wasserkontrolle und aller Biozidbehandlungen gefunden. Im Gegensatz dazu fehlten diese Gattungen in jeder Biozidbehandlung in der Zusammensetzung der aktiven Bakteriengemeinschaft, waren aber in der jeweiligen Wasserkontrolle vorhanden. Daraus schließen wir, dass die meisten Mitglieder der Gattungen *Desulfotomaculum* und *Lachnospira* Endosporen gebildet haben, um den Biozidstress zu umgehen. Dieses Ergebnis zeigte, wie wichtig die Differenzierung zwischen den aktiven und inaktiven Mikroorganismen ist. Obwohl Unterschiede in der funktionellen Zusammensetzung des Bodenmikrobioms aufgrund von Biozidbehandlungen festgestellt werden konnten, veränderten sich die physikalisch-chemischen Parameter des Bodens und Bodenatmung nicht. Dies deckt sich mit unserer Erwartung, dass die Biozid-Behandlungen die Umweltfunktionen des Bodens nicht beeinflussen. Die funktionelle Redundanz der Zusammensetzung der mikrobiellen Bodengemeinschaft wird den Verlust oder die Inaktivierung von funktionell wichtigen Mitgliedern der Gemeinschaft bei dieser kurzfristigen Beobachtung abfedern. Unsere Studie zeigte, dass Biozidkombinationen ein größeres ökotoxikologisches Risiko darstellen als einzelne Biozide. Die langfristigen Auswirkungen von Biozidmischungen auf die mikrobiellen Bodenfunktionen sollten in künftigen Studien weiter untersucht werden.

6 Zusammenfassung

Biozide werden eingesetzt, um Fassaden, Putze und Farben vor mikrobiellem Befall und biologischem Abbau zu schützen. Durch Regenereignisse können sie ausgewaschen werden und in die Umwelt gelangen. Die im Projekt untersuchten Fassadeneluate aus dem ersten Monat des Freilandversuchs zeigten ökotoxikologische Effekte auf verschiedene Modellorganismen, auch unter Berücksichtigung der Verdünnung durch Horizontalregen. Grundsätzlich kann zwischen polaren Topfkonservierungsmitteln, die sehr schnell ausgetragen und abgebaut werden, und hydrophoben Filmkonservierungsmitteln, die über einen sehr langen Zeitraum in geringen Konzentrationen ausgetragen werden und eine höhere Persistenz in der Umwelt aufweisen, unterschieden werden. Durch gezielte Verkapselung der Biozide, aber auch durch ungewollten, bestrahlungsbedingten Abbau kann die Konzentration der ausgetragenen Biozide und damit auch die ökotoxikologische Belastung der Umwelt reduziert werden.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass der kombinierte Eintrag von Bioziden, die häufig in Baumaterialien verwendet werden, die Bodenatmung, die physikalisch-chemischen Eigenschaften des Bodens und das gesamte Bodenmikrobiom nicht signifikant verändert. Biozide haben jedoch enorme Auswirkungen auf die aktiven mikrobiellen Gemeinschaften im Boden und die damit verbundenen Funktionen. Mit der BrdU-Methode konnten wir untersuchen, welche Mitglieder des Bodenmikrobioms von Biozidbehandlungen profitieren und welche nicht. Die Ergebnisse dieser Studie unterstreichen die Bedeutung weiterer eingehender Forschung auf diesem Gebiet, insbesondere angesichts der großen Mengen an Bioziden, die derzeit in Baumaterialien verwendet werden. Das aktive Bodenmikrobiom ist ein idealer Indikator für die Auswirkungen von Bioziden, die häufig in Baumaterialien verwendet werden. Daher kann es als ökotoxikologisches Maß für die Untersuchung der Auswirkungen von Biozidbehandlungen auf die biologische Vielfalt und die Funktionen des Bodens verwendet werden.

Obwohl Bodenmikroorganismen nicht das Ziel der in Baustoffen eingesetzten Biozide und Biozidmische sind, beeinflussen sie die Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft im Boden und ihre Funktionsmuster. Die Menge und Kombinationen von Bioziden in Böden, die durch die kontinuierliche Freisetzung aus Gebäuden verursacht werden, sind eine wichtige Quelle der Bodenverschmutzung, die in künftiger Umweltforschung berücksichtigt werden sollte.

Für eine allumfassende Gefährdungsbeurteilung für das Umweltkompartiment Boden ist eine tiefenabhängige Abschätzung der Biozidverteilung im Boden essenziell. Hierfür wurde eine Methode entwickelt, die eine Kombination aus den zwei Simulationsprogrammen COMLEAM und PELMO umfasst und diskontinuierlichen, niederschlagsbedingten wiederholten Eintrag berücksichtigt. Es lassen sich Parameter wie Emissionskurven, Wetterdaten, Materialeigenschaften, Geometrien und substanzspezifische Daten flexibel anpassen und auf die Szenarien zur Gefährdungsbeurteilung adaptieren. Zur Überprüfung der Modelle wurde ein experimentelles Set-Up entwickelt, um die vorhergesagten Konzentrationen zu überprüfen. Dabei wurde eine gute Übereinstimmung für die oberen Bodenschichten bis 5 cm ermittelt. Allerdings konnte experimentell eine deutlich tiefere Verteilung der Biozide gefunden werden als durch die Modelle vorhergesagt wurde, so dass eine Optimierung der Modelle zukünftig vorteilhaft ist.

7 Ausblick

Die Auswirkungen von ökotoxikologischen Effekten zu Beginn des Lebenszyklus einer Fassade, welche durch Topfkonservierer getrieben sind, wurde bisher nur unzureichend in Gefährdungsbeurteilungen berücksichtigt. Diese Effekte sollten in weiteren Studien erfasst und auf Effektgröße und Reversibilität geprüft werden.

Auch wenn mit konventionellen Methoden ggf. keine signifikanten Effekte nachweisbar sind, stellen, wie mit Omics-basierten Methoden gezeigt werden konnte, biozidhaltige Eluate einen potentiellen Stressor für unser Bodenökosystem dar. Deshalb sollte in Zukunft der Fokus vermehrt auf die phylogenetischen Effekte mittels Hochdurchsatz-Amplikonsequenzierung -idealerweise der aktiven Fraktion- gesetzt werden.

Die Berücksichtigung weiterer Stressfaktoren für eine Gesamtbeurteilung des Bodenhabitats ist notwendig. Daher sollte auch der Effekt von Mischtoxizitäten umfassender untersucht werden. Innerhalb des Mikrokosmenversuchs 1 wurden Indikatorspezies für den RefeSoil 02A identifiziert. In zukünftigen Studien sollten weitere Böden, insbesondere urbane Böden, molekularbiologisch im Detail untersucht werden, um weitere Indikatorspezies zu identifizieren. Ein Katalog mit bodenübergreifenden Indikatorspezies könnte als Grundlage einer neuen Untersuchungsmethode genutzt werden, um die Bodenbelastung zu beurteilen.

Modellierungen mittels COMLEAM und PELMO ermöglichen die Abschätzung des Biozid-Austrags aus Fassaden und deren Verteilung im Boden. Unsere Simulationen zeigten dabei, dass für eine korrekte Abschätzung die Böden chemisch und mikrobiell definiert und klassifiziert werden müssen. Dies gilt insbesondere in Bezug auf die Adsorption und Abbaueigenschaften. Um die Simulationen insbesondere in Bezug auf tiefere Schichten noch weiter zu verbessern, sollte die Verteilung von Bioziden aus Fassaden tiefenabhängig in einem Freilandversuch ermittelt werden.

8 Veröffentlichungen

Peer-Review-Publikationen

Reiß F, Kiefer N, Purahong, W, Borken, Kalkhof S, Noll M. Active soil microbial composition and proliferation are directly affected by the presence of biocides from building materials. (under revision)

Reiß F, Schumann A, Sohl L, Thamm M, Scheiner R, Noll M. Fungicides and insecticides can alter the microbial community on the cuticle of honeybees. (under review)

Thamm M, Reiß F, Sohl L, Gabel M, Noll M, Scheiner R. Solitary bees host more bacteria and fungi on their cuticle than social bees. (in preparation)

Reiß F, Kiefer N, Noll M, Kalkhof S. Application, release, ecotoxicological assessment of biocide in building materials and its soil microbial response. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2021 Aug 27;224:112707. doi: 10.1016/j.ecoenv.2021.112707.

Poster und Vorträge

Nadine Kiefer, Fabienne Reiß, Eva-Maria Wittmann, Matthias Noll, Stefan Kalkhof. Forschungsprojekt BayÖkotox. Online Vortrag, Projekttreffen „Beregnete Fassaden“, 2020

Nadine Kiefer, Fabienne Reiß, Eva-Maria Wittmann, Matthias Noll, Stefan Kalkhof. Update des Coburger BayÖkoTox-Projektes: Beeinflussung der mikrobiellen Diversität durch fassadenrelevante Biozide und Biozidmischung. Online Vortrag, Projekttreffen „Beregnete Fassaden“, 2021

Matthias Noll, Fabienne Reiß, Nadine Kiefer and Stefan Kalkhof. Application and release of biocide in building materials and its soil microbial response. Online presentation, SEMINAR IN FOCUS AREA ENVIRONMENT – Activity field “Environmental pollutants” and Priority Theme “Microbiologically influenced corrosion (MIC)”, 2022

Stefan Kalkhof, Nadine Kiefer, Moritz Nichterlein, Michal Fabienne Reiß, Michal Ciok, Olivier Befolo, Moritz Nichterlein, Negar Nouri, Jens Grubert, Gerd-Uwe Flechsig, Matthias Noll. Release and distribution of biocides from facades and their ecotoxicological effect on soil organisms, Abschlusskolloquium zum Forschungsvorhaben „Entwicklung eines Modells zur Bewertung der Umwelteigenschaften üblicher Putze und Mörtel im Außenbereich“, 2022, Valley (IBP Holzkirchen)

Nadine Kiefer, Fabienne Reiß, Judith Klein, Michael Klein, Ulf Biermann, Matthias Noll, Stefan Kalkhof: Measurement and simulation of distribution, degradation, maximal soil concentrations and ecotoxic effects of biocides being released from building facades, poster presentation, SETAC 2022, Copenhagen, DNK

Fabienne Reiß, Nadine Kiefer, Stefan Kalkhof, Matthias Noll. Soil microbial composition and replication directly respond to the presence of biocides from building materials, poster presentation, SETAC 2022, Copenhagen, DNK

Nadine Kiefer, Fabienne Reiß, Judith Klein, Michael Klein, Matthias Noll, Stefan Kalkhof: Measurement and simulation of distribution, degradation, maximal soil concentrations and ecotoxic effects of biocides being released from building facades, poster presentation, SETAC 2023, Dublin, IRL

Fabienne Reiß, Nadine Kiefer, Stefan Kalkhof, Matthias Noll. Biocides containing façade eluates alter soil microbial community composition and activity, platform presentation, SETAC 2023, IRL

Fabienne Reiß, Antonia Schuhmann, Leon Sohl, Markus Thamm, Ricarda Scheiner, Matthias Noll. Fungicide and insecticides can alter the microbial community on the cuticle of honeybees, poster presentation, SETAC 2023, IRL

Literaturverzeichnis

- [1] Negi, A., Sarethy, I. P. (2019). Microbial Biodeterioration of Cultural Heritage: Events, Colonization, and Analyses. *Microbial ecology* **78**/4, 1014–1029.
- [2] VERORDNUNG (EU) Nr. 528/2012 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES, 22.5.2012. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/PDF/?uri=CELEX:32012R0528&from=DE> (letzter Zugriff am 19.3.2020Uhr).
- [3] Burkhardt, M., Zuleeg, S., Vonbank, R., Schmid, P., Hean, S., Lamani, X., Bester, K., Boller, M. (2011). Leaching of additives from construction materials to urban storm water runoff. *Water Sci Technol* **63**/9, 1974–1982.
- [4] Wittmer, I. K., Scheidegger, R., Bader, H.-P., Singer, H., Stamm, C. (2011). Loss rates of urban biocides can exceed those of agricultural pesticides. *The Science of the total environment* **409**/5, 920–932.
- [5] Burkhardt, M., Zuleeg, S., Vonbank, R., Bester, K., Carmeliet, J., Boller, M., Wangler, T. (2012). Leaching of biocides from façades under natural weather conditions. *Environmental science & technology* **46**/10, 5497–5503.
- [6] Hensen, B., Lange, J., Jackisch, N., Zieger, F., Olsson, O., Kümmerer, K. (2018). Entry of biocides and their transformation products into groundwater via urban stormwater infiltration systems. *Water research* **144**, 413–423.
- [7] Linke, F., Olsson, O., Preusser, F., Kümmerer, K., Schnarr, L., Bork, M., Lange, J. (2021). Sources and pathways of biocides and their transformation products in urban water infrastructure of a 2 ha urban district.
- [8] Paijens, C., Bressy, A., Frère, B., Moilleron, R. (2020). Biocide emissions from building materials during wet weather: identification of substances, mechanism of release and transfer to the aquatic environment. *Environmental science and pollution research international* **27**/4, 3768–3791.
- [9] Hernández-Moreno, D., Blázquez, M., Andreu-Sánchez, O., Bermejo-Nogales, A., Fernández-Cruz, M. L. (2019). Acute hazard of biocides for the aquatic environmental compartment from a life-cycle perspective. *The Science of the total environment* **658**, 416–423.
- [10] Kresmann, S., Arokia, A. H. R., Koch, C., Sures, B. (2018). Ecotoxicological potential of the biocides terbutryn, octhilinone and methylisothiazolinone: Underestimated risk from biocidal pathways? *The Science of the total environment* **625**, 900–908.
- [11] Vermeirssen, E. L. M., Campiche, S., Dietschweiler, C., Werner, I., Burkhardt, M. (2018). Ecotoxicological Assessment of Immersion Samples from Facade Render Containing Free or Encapsulated Biocides. *Environmental toxicology and chemistry* **37**/8, 2246–2256.
- [12] Reiß, F., Kiefer, N., Noll, M., Kalkhof, S. (2021). Application, release, ecotoxicological assessment of biocide in building materials and its soil microbial response. *Ecotoxicology and environmental safety* **224**, 112707.

- [13] Bandow, N., Aitken, M. D., Geburtig, A., Kalbe, U., Piechotta, C., Schoknecht, U., Simon, F.-G., Stephan, I. (2020). Using Environmental Simulations to Test the Release of Hazardous Substances from Polymer-Based Products: Are Realism and Pragmatism Mutually Exclusive Objectives? *Materials* (Basel, Switzerland) **13**/12, 2709.
- [14] van der Heijden, M. G. A., Bardgett, R. D., van Straalen, N. M. (2008). The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology letters* **11**/3, 296–310.
- [15] Sheeba, Pratap Singh, V., Kumar Srivastava, P., Mohan Prasad, S. (2011). Differential physiological and biochemical responses of two cyanobacteria *Nostoc muscorum* and *Phormidium foveolarum* against oxyfluorfen and UV-B radiation. *Ecotoxicology and environmental safety* **74**/7, 1981–1993.
- [16] Sansupa, C., Wahdan, S. F. M., Hossen, S., Disayathanoowat, T., Wubet, T., Purahong, W. (2021). Can We Use Functional Annotation of Prokaryotic Taxa (FAPROTAX) to Assign the Ecological Functions of Soil Bacteria? *Applied Sciences* **11**/2, 688.
- [17] Louca, S., Parfrey, L. W., Doebeli, M. (2016). Decoupling function and taxonomy in the global ocean microbiome. *Science* (New York, N.Y.) **353**/6305, 1272–1277.
- [18] Pölme, S., Abarenkov, K., Henrik Nilsson, R., Lindahl, B. D., Clemmensen, K. E., Kauserud, H., Nguyen, N., Kjøller, R., Bates, S. T., Baldrian, P., Frøslev, T. G., Adojaan, K., Vizzini, A., Suija, A., Pfister, D., Baral, H.-O., Järv, H., Madrid, H., Nordén, J., Liu, J.-K., Pawlowska, J., Pöldmaa, K., Pärtel, K., Runnel, K., Hansen, K., Larsson, K.-H., Hyde, K. D., Sandoval-Denis, M., Smith, M. E., Toome-Heller, M., Wijayawardene, N. N., Menolli, N., Reynolds, N. K., Drenkhan, R., Maharachchikumbura, S. S. N., Gibertoni, T. B., Læssøe, T., Davis, W., Tokarev, Y., Corrales, A., Soares, A. M., Agan, A., Machado, A. R., Argüelles-Moyao, A., Detheridge, A., Meiras-Otoni, A. de, Verbeken, A., Dutta, A. K., Cui, B.-K., Pradeep, C. K., Marín, C., Stanton, D., Gohar, D., Wanasinghe, D. N., Otsing, E., Aslani, F., Griffith, G. W., Lumbsch, T. H., Grossart, H.-P., Masigol, H., Timling, I., Hiiesalu, I., Oja, J., Kupagme, J. Y., Geml, J., Alvarez-Manjarrez, J., Ilves, K., Loit, K., Adamson, K., Nara, K., Küngas, K., Rojas-Jimenez, K., Bitenieks, K., Irinyi, L., Nagy, L. G., Soonvald, L., Zhou, L.-W., Wagner, L., Aime, M. C., Öpik, M., Mujica, M. I., Metsoja, M., Ryberg, M., Vasar, M., Murata, M., Nelsen, M. P., Cleary, M., Samarakoon, M. C., Doilom, M., Bahram, M., Hagh-Doust, N., Dulya, O., Johnston, P., Kohout, P., Chen, Q., Tian, Q., Nandi, R., Amiri, R., Perera, R. H., dos Santos Chikowski, R., Mendes-Alvarenga, R. L., Garibay-Orijel, R., Gielen, R., Phookamsak, R., Jayawardena, R. S., Rahimlou, S., Karunarathna, S. C., Tibpromma, S., Brown, S. P., Sepp, S.-K., Mundra, S., Luo, Z.-H., Bose, T., Vahter, T., Netherway, T., Yang, T., May, T., Varga, T., Li, W., Coimbra, V. R. M., Oliveira, V. R. T. de, Lima, V. X. de, Mikryukov, V. S., Lu, Y., Matsuda, Y., Miyamoto, Y., Kõljalg, U., Tedersoo, L. (2021). Correction to: FungalTraits: a user friendly traits database of fungi and fungus-like stramenopiles. *Fungal Diversity* **107**/1, 129–132.
- [19] OECD, Organisation for Economic Co-operation and Development (2000). Test No. 106: Adsorption -- Desorption Using a Batch Equilibrium Method. OECD Publishing, Paris.
- [20] Klein, M., 1995. PELMO Pesticide Leaching Model, version 2.0. Fraunhofer-Institut für Umweltchemie und Ökotoxikologie (1995).
- [21] COMLEAM Website (2022). <https://www.comleam.ch/de> (letzter Zugriff am 15.10.2022).

- [22] Schoknecht, U., Gruycheva, J., Mathies, H., Bergmann, H., Burkhardt, M. (2009). Leaching of Biocides Used in Façade Coatings under Laboratory Test Conditions. *Environmental science & technology* **43**/24, 9321–9328.
- [23] Emission scenario documents - ECHA (2023). <https://echa.europa.eu/de/guidance-documents/guidance-on-biocides-legislation/emission-scenario-documents> (letzter Zugriff am 13.4.2023).
- [24] Bollmann, U. E., Fernández-Calviño, D., Brandt, K. K., Storgaard, M. S., Sanderson, H., Bester, K. (2017). Biocide Runoff from Building Facades: Degradation Kinetics in Soil. *Environmental science & technology* **51**/7, 3694–3702.
- [25] Lewis, K. A., Tzilivakis, J., Warner, D. J., Green, A. (2016). An international database for pesticide risk assessments and management. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal* **22**/4, 1050–1064.
- [26] Daho, M. B. (1994). Ecotoxicological evaluation of the herbicide terbutryn. Swedish National Chemicals Inspectorate, Uppsala.
- [27] Donati, L., Funari, E. (1993). Review of leaching characteristics of triazines and their degradation products. *Annali dell'Istituto superiore di sanita* **29**, 225–241.
- [28] ECHA (2021). Information on biocides - ECHA. <https://echa.europa.eu/web/guest/information-on-chemicals/biocidal-active-substances> (letzter Zugriff am 16.7.2021).
- [29] University of Hertfordshire (2022). Terbutryn (Ref: GS 14260). <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/624.htm> (letzter Zugriff am 28.10.2022).
- [30] Milosevic, N., Govedarica, M. (2002). Effect of herbicides on microbiological properties of soil. *Zb Mat srp prir nauk* **102**, 5–21.
- [31] Shi, X., Oliveira, D. A. F., Holsten, L., Steinhauer, K., Rezende, J. R. de (2021). Long-Term Biocide Efficacy and Its Effect on a Souring Microbial Community. *Applied and environmental microbiology* **87**/17, e0084221.
- [32] McMahon, S. K., Wallenstein, M. D., Schimel, J. P. (2011). A cross-seasonal comparison of active and total bacterial community composition in Arctic tundra soil using bromodeoxyuridine labeling. *Soil Biology and Biochemistry* **43**/2, 287–295.
- [33] Wahdan, S. F. M., Heintz-Buschart, A., Sansupa, C., Tanunchai, B., Wu, Y.-T., Schädler, M., Noll, M., Purahong, W., Buscot, F. (2021). Targeting the Active Rhizosphere Microbiome of *Trifolium pratense* in Grassland Evidences a Stronger-Than-Expected Below-ground Biodiversity-Ecosystem Functioning Link. *Frontiers in microbiology* **12**, 629169.
- [34] Purahong, W., Tanunchai, B., Muszynski, S., Maurer, F., Wahdan, S. F. M., Malter, J., Buscot, F., Noll, M. (2022). Cross-kingdom interactions and functional patterns of active microbiota matter in governing deadwood decay. *Proceedings. Biological sciences* **289**/1974, 20220130.
- [35] Cáceres, M. de, Legendre, P. (2009). Associations between species and groups of sites: indices and statistical inference. *Ecology* **90**/12, 3566–3574.
- [36] Wegner, C.-E., Liesack, W. (2017). Unexpected Dominance of Elusive Acidobacteria in Early Industrial Soft Coal Slags. *Frontiers in microbiology* **8**, 1023.
- [37] Gołębiewski, M., Deja-Sikora, E., Cichosz, M., Tretyn, A., Wróbel, B. (2014). 16S rDNA pyrosequencing analysis of bacterial community in heavy metals polluted soils. *Microb Ecol* **67**/3, 635–647.
- [38] Tegene, B. G., Tenkegna, T. A. (2020). Mode of Action, Mechanism and Role of Microbes in Bioremediation Service for Environmental Pollution Management. *J Biotechnol Bioinforma Res*, 1–18.

- [39] Ngigi, A., Getenga, Z., Boga, H., Ndalut, P. (2011). Biodegradation of phenylurea herbicide diuron by microorganisms from long-term-treated sugarcane-cultivated soils in Kenya. *Toxicological & Environmental Chemistry* **93/8**, 1623–1635.
- [40] Gusman, J. K., Lin, C.-Y., Shih, Y.-C. (2014). The optimum submerged culture condition of the culinary-medicinal white jelly mushroom (*Tremellomycetes*) and its antioxidant properties. *International journal of medicinal mushrooms* **16/3**, 293–302.
- [41] Gorbulenko, N. V., Turov, A. V., Khilya, V. P. (1995). Chemistry of modified flavonoids. XVIII. Thiazole analogs of isoflavones. Homologous and isomeric series. *Chem Heterocycl Compd* **31/4**, 441–448.
- [42] Zhao, G., Lan, D., Qi, G. (2017). Design and development of some thiazole-based flavanoids as novel antibacterial against pathogens causing surgical site infection for possible benefit in bone trauma via inhibition of DNA gyrase. *Chemical biology & drug design* **90/5**, 778–790.
- [43] Ali, R. M., Abbas, H. M. (2011). Response of salt stressed barley seedlings to phenylurea. *Plant Soil Environ.* **49/No. 4**, 158–162.
- [44] Ayabe, S., Akashi, T. (2006). Cytochrome P450s in flavonoid metabolism. *Phytochem Rev* **5/2-3**, 271–282.
- [45] Aüllo, T., Ranchou-Peyruse, A., Ollivier, B., Magot, M. (2013). *Desulfotomaculum* spp. and related gram-positive sulfate-reducing bacteria in deep subsurface environments. *Frontiers in microbiology* **4**, 362.
- [46] Cornick, N. A., Jensen, N. S., Stahl, D. A., Hartman, P. A., Allison, M. J. (1994). *Lachnospira pectinoschiza* sp. nov., an anaerobic pectinophile from the pig intestine. *International journal of systematic bacteriology* **44/1**, 87–93.

Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1: Überblick über die Parameter, die für die vollständige terrestrische ökotoxikologische Bewertung von Baustoffeluataten berücksichtigt werden müssen. 6
- Abbildung 2: Experimenteller Aufbau zur natürlichen Verwitterung. a) Versuchsaufbau. Die mit einem Putzsystem bedeckten L-Steine wurden in westlicher (F-I) und östlicher Richtung (F-II) platziert, wobei die Rinnen am Boden der bedeckten Fläche und die Glasflaschen zum Auffangen der Eluate angebracht wurden. b) Verputzter Stein mit integrierten Sensoren. Feuchtigkeitssensor (rot), elektrischer Leitfähigkeits- und Temperatursensor, die zwischen der unteren und der oberen Putzschicht integriert sind. Lufttemperatur- und Luftfeuchtigkeitssensor (blau). 10
- Abbildung 3: Ausrichtung des natürlichen Verwitterungsversuchs. Zwei L-förmige Steine wurden mit der bedeckten Oberfläche in westlicher und östlicher Richtung platziert. Die in dieser Studie vorgestellten Putz- und Farbkombinationen wurden farblich gekennzeichnet. Für jede Richtung und Biozid-Kombination wurden drei Steine innerhalb des Versuchsgebiets platziert. 10
- Abbildung 4: Versuchsaufbau Bodenfreilandversuch mit Feuchtigkeitssensoren. 14
- Abbildung 5: Auswaschverhalten von Filmkonservierern geprüft über 9 Zyklen nach DIN EN 16105. Dargestellt ist das Auswaschverhalten der Filmkonservierer Terbutryn (TB) und Ocylinone (OIT). Geprüft wurden unterschiedliche Verteilungen der Biozide in einem Putz-/Farbsystem. Das Prüfmuster UOF (blau) enthält Filmkonservierer in Putz und Farbe, das Prüfmuster UO (rot) enthält im Oberputz Filmkonservierer und das Prüfmuster UF (schwarz) enthält Filmkonservierer in der Farbe. 18
- Abbildung 6: Biozidverteilung in der Bodenschicht 2,5-5 cm. Abgebildet sind die Verläufe für die experimentellen Adsorptions- und Abbauwerte sowie die Literaturwerte für die Biozide BIT, TB und OIT. 23
- Abbildung 7: Totale bakterielle (A) und (B) pilzliche Genkopienzahl nach verschiedenen Biozidbehandlungen (n = 5). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen statistisch signifikante Unterschiede gemäß Tukeys Test ($p < 0,05$). Ausreißer wurden mit dem Grubbs-Test ($p = 0,05$) identifiziert und für die Statistik nicht berücksichtigt. (T-: Totale Fraktion des Nukleinsäureextraktes; W: Wasserkontrolle; T: Terbutryn; I: Isoproturon; O: Octylisothiazolinon; Terbutryn + Isoproturon (TI); Terbutryn + Octylisothiazolinon (TO); Isoproturon + Octylisothiazolinon (IO); Terbutryn + Isoproturon + Octylisothiazolinon (TIO)). 25
- Abbildung 8: Bakterielle (A) und pilzliche (B) OTU Richness nach verschiedenen Biozidbehandlungen (n = 5). Unterschiedliche Buchstaben zeigen statistisch signifikante Unterschiede an. Die statistische Prüfung wurde mit dem Friedmann-Test durchgeführt und ergab keine signifikanten

	Unterschiede für die bakterielle und pilzliche OTU Richness der totalen Fraktion gemäß Tukeys-Test ($P < 0,05$). Statistisch signifikante Unterschiede innerhalb der aktiven Fraktion sind durch unterschiedliche Buchstaben gekennzeichnet. (T- Totale Fraktion; A- Aktive Fraktion; W: Wasserkontrolle; T: Terbutryn; I: Isoproturon; O: Octylisothiazolinon; Terbutryn + Isoproturon (TI); Terbutryn + Octylisothiazolinon (TO); Isoproturon + Octylisothiazolinon (IO); Terbutryn + Isoproturon + Octylisothiazolinon (TIO)).....	26
Abbildung 9:	Gemittelte aktive bakterielle (a) und pilzliche (b) Zusammensetzung des Bodenmikrobioms auf Gattungsebene nach Biozidbehandlungen ($n = 5$). Die Legende hebt Pilz- und Bakteriengattungen mit einer relativen Häufigkeit von $> 2\%$ (Bakterien) und $> 5\%$ (Pilze) hervor. Gemäß der einseitigen nichtparametrischen multivariaten Analyse auf der Grundlage der Bray-Curtis-Ähnlichkeiten zeigen unterschiedliche Buchstaben statistisch signifikante Unterschiede an ($p < 0,05$, $n = 5$). (A- Aktive Fraktion; W: Wasserkontrolle; T: Terbutryn; I: Isoproturon; O: Octylisothiazolinon; Terbutryn + Isoproturon (TI); Terbutryn + Octylisothiazolinon (TO); Isoproturon + Octylisothiazolinon (IO); Terbutryn + Isoproturon + Octylisothiazolinon (TIO)).....	28
Abbildung 10:	Zusammensetzung der aktiven, bakteriellen Funktionen auf OTU-Ebene (a) und der Pilzfunktionen auf Gattungsebene (b) nach Biozidbehandlungen ($n = 5$). Die kurze Legende hebt bakterielle Funktionen mit einer relativen Häufigkeit von $> 1\%$ hervor. Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen statistisch signifikante Unterschiede gemäß der einseitigen nichtparametrischen multivariaten Analyse ($p = 0,05$). (A- Aktive Fraktion; W: Wasserkontrolle; T: Terbutryn; I: Isoproturon; O: Octylisothiazolinon; Terbutryn + Isoproturon (TI); Terbutryn + Octylisothiazolinon (TO); Isoproturon + Octylisothiazolinon (IO); Terbutryn + Isoproturon + Octylisothiazolinon (TIO)).....	30