

**Bestimmung der nicht akut giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Fischen  
über Verdünnungsstufen (DIN 38 412 - L31)**

**1 Arbeitsgrundlagen**

- DIN 38 402- A11; Probenahme von Abwasser (Dezember 1995)
- DIN 38 402- A30; Vorbehandlung, Homogenisierung und Teilung heterogener Wasserproben (Juli 1998)
- DIN 38 412- L1; Allgemeine Hinweise zur Planung, Durchführung und Auswertung biologischer Testverfahren (Juni 1982)
- DIN 38 412- L31; Bestimmung der nicht akut giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Fischen über Verdünnungsstufen (März 1989)
- AQS-Merkblätter  
für die Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung  
Herausgegeben von der Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA)  
Erich Schmidt Verlag GmbH & Co., Berlin 1991

**2 Zweck**

Zur Bestimmung der nicht akut giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Fischen ist nach o.g. Norm zu verfahren. Das vorliegende Merkblatt enthält Ergänzungen und Hinweise für die praktische Durchführung. Es legt außerdem verbindliche Maßnahmen zur analytischen Qualitätssicherung (AQS) fest. Aus Gründen des Tierschutzes und wegen nicht vorhandener Normalverteilung der Ergebnisse wird bei diesem Test auf die sonst üblichen Analytischen Qualitätskontrollen (z.B. Mehrfachbestimmungen, Kontrollen mit Referenzsubstanzen, Ringtests) in der Regel verzichtet.

**3 Hälterung der Testfische**

- Das zur Fischhälterung verwendete Trinkwasser erreicht die geforderte Chlorfreiheit durch intensive Belüftung.
- Es ist sicherzustellen und nachzuweisen, daß die Kupferkonzentration des Hälterungswassers 0,01 mg/l nicht übersteigt.
- Im Falle zu hoher Kupferkonzentrationen im verwendeten Trinkwasser kann z.B. ein Selektivionen-austauscher vorgeschaltet werden.
- Neubeschaffte Tiere werden mindestens 1 Woche von noch vorhandenen Fischen isoliert gehalten.
- Es ist arbeitstäglich zu kontrollieren und zu protokollieren, ob Fische während der Hälterung verendet sind oder Krankheiten aufweisen.  
Wenn die Sterblichkeitsrate bezogen auf den Bestand zu Beginn des wöchentlichen Beobachtungszeitraumes mehr als 2 % beträgt, sollten mit den Fischen aus dieser Charge zunächst keine Versuche mehr durchgeführt werden.
- Der Korpulenzindex ist anhand einer repräsentativen Stichprobe zu ermitteln. Dies kann entweder, in monatlichem Abstand, mindestens jedoch für jede Lieferung, mit Fischen aus der Nachhälterung erfolgen, oder mit Fischen durchgeführt werden, die im Test verendet sind.

Soweit in Ausnahmefällen Fische verwendet werden, die mit Länge und/oder Korpulenzindex außerhalb der in der Norm vorgegebenen Intervalle liegen, ist dies zu begründen.

**Anmerkung 1:** *Eine schonende Vermessung der Fische kann z.B. durch Differenzwägung und Längenmessung in einem wassergefüllten Glaszylinder erfolgen*

**Anmerkung 2:** *Bei der 107. Bund- / Länderbesprechung zu § 7a WHG wurde beschlossen, daß in der Anlage "Analysen- und Meßverfahren" zur Rahmen-Abwasser-Verwaltungsvorschrift die Spalte "Verfahren" bei dem Verfahren zur Bestimmung der Fischgiftigkeit folgender Hinweis eingefügt wird: "Die Angaben zu Punkt 9.1 zum Korpulenzindex und zur Körperlänge haben keine Gültigkeit. Die Fische sollen einjährig sein und eine Körperlänge von 5 - 10 cm aufweisen"*

- Ist eine Adaptation der Testfische nach 9.2 der Norm (Hälterung mindestens 48 h vor Testbeginn bei 20 °C) erforderlich, sollte die Anpassung der Testfische an diese Temperatur im Hälterungswasser möglichst langsam erfolgen.
- Über die Hälterung ist ein Protokoll zu fertigen (Muster s. Seite 7).

#### 4 Probenahme

Für die Probenahme und den Transport sollten Gefäße aus Glas verwendet werden.

Müssen die Proben eingefroren werden, können Gefäße aus Polypropylen oder Polyethylen eingesetzt werden.

#### 5 Probenkonservierung

Die nach Pkt. 4 erhaltene Probe soll möglichst bald nach der Entnahme getestet werden. Eine Konservierung darf gemäß DIN 38 412 - L1 (Juni 1982) nur durch Kühlen (2 - 4 °C für weniger als 2 Tage) oder Tiefgefrieren ( $\leq -18$  °C, für weniger als 2 Wochen) der Probe erfolgen. Es kann sinnvoll sein, die Probe nach Homogenisierung (s. 6) in Teilproben abzufüllen und die Teilproben tiefzugefrieren, wenn erst nach Vorliegen des Testergebnisses weitere Verdünnungsstufen getestet werden (z.B. bei Überschreitung eines Überwachungswertes). Weitere Hinweise zur Probenkonservierung siehe DIN 38 412 - L1. Konservierungsmaßnahmen sind zu dokumentieren.

#### 6 Probenvorbehandlung

- Die nach Pkt. 5 konservierte Probe/Teilprobe muß vor dem Test auf eine Temperatur von  $20 \pm 1$  °C gebracht werden. Das Auftauen tiefgefrorener Proben kann z.B. in einem maximal 40 °C warmen Wasserbad erfolgen.
- Die Probe/Teilprobe wird nach DIN 38 402 - A30/33 homogenisiert.
- Der pH-Wert des Abwassers vor Testbeginn wird dokumentiert. Falls erforderlich, wird das Abwasser vor Ansatz der Verdünnung durch Zusatz von Salzsäure oder Natriumhydroxid-Lösung auf einen pH-Wert von  $7,0 \pm 0,2$  eingestellt. Die Konzentration der zur Neutralisierung erforderlichen Säure oder Base ist so zu wählen, daß das zuzugebende Volumen möglichst klein ist.

#### 7 Verdünnungswasser

- Es wird Verdünnungswasser mit einer Temperatur von  $20 \pm 1$  °C verwendet.
- Wird Trinkwasser als Verdünnungswasser eingesetzt, so ist zu bestätigen und zu dokumentieren, daß die Konzentrationen an Calcium- und Magnesium-Ionen sowie die Säurekapazität in den Bereichen liegen, die in der DIN 38 412 - L31 gefordert werden.

## 8 Durchführung

- Die Fischcharge, aus der die verwendeten Testfische entnommen werden, ist anzugeben.
- Die Einhaltung der geforderten Temperatur des Testwassers von  $20 \pm 1$  °C während der Testdauer ist zu überprüfen und zu dokumentieren.  
Erfahrungsgemäß ist die Temperaturkonstanz des Testwassers bei entsprechender Raumklimatisierung gewährleistet. In der Regel ist die Kontrolle in einem geeigneten Referenzbecken hinreichend. Zur Kontrolle können Minimum/Maximum-Thermometer verwendet werden. Dann genügt die Angabe der Minimum- und der Maximum-Temperatur.
- Die Einhaltung des Mindestsauerstoffgehaltes von 4 mg/l O<sub>2</sub> während der Testdauer ist zu überprüfen und zu dokumentieren.  
Erfahrungsgemäß wird der Mindestsauerstoffgehalt bei konstanter Dauerbelüftung eingehalten, wenn der gemessene Sauerstoffgehalt zu Beginn und am Ende des Tests mindestens 4 mg/l beträgt. Wird der Test ohne Belüftung durchgeführt, so ist der Sauerstoffgehalt mehrmals zu messen und zu dokumentieren. Bei stark sauerstoffzehrenden Abwässern wird eine kontinuierliche Registrierung des Sauerstoffgehaltes vorgeschlagen.
- Im alkalischen Bereich bedingen hohe Ammonium-Gehalte erhöhte Konzentrationen von freiem, fischtoxischem Ammoniak. Bei Ammoniumgehalten > 10 mg/l in der zu prüfenden Verdünnungsstufe kann durch pH-Konstanthaltung sichergestellt werden, daß der pH-Wert nicht über pH = 7,2 steigt, damit die Ammoniaktoxizität nicht zur Wirkung kommt.
- Zur Dokumentation der Testdurchführung ist ein entsprechendes Testprotokoll (z.B. Musterprotokoll, s. Seite 5) anzufertigen.

## 9 Sonstige Maßnahmen

Die Durchführung des Fischtests ist genehmigungs- bzw. anzeigepflichtig gemäß Tierschutzgesetz.

Gemäß §11 Abs. 1 des Tierschutzgesetzes bedarf es zur Zucht und Hälterung von Wirbeltieren zu Versuchszwecken der Erlaubnis durch die zuständige Behörde. Ein entsprechender Nachweis ist bei den Lieferanten der Testfische anzufordern.

Unter dem Aspekt des Tierschutzes werden folgende Maßnahmen empfohlen:

- Bei Durchführung des Fischtests im Rahmen der Abwasserüberwachung sollte die erste anzusetzende Verdünnungsstufe nicht unter dem zu überprüfenden Überwachungswert bzw. dem erklärten Wert liegen.
- Wird der Tod eines Fisches vor Ablauf der 48h-Testdauer in der Kontrolle oder in einer Verdünnungsstufe festgestellt, so ist der Test im ganzen bzw. in der betroffenen Verdünnungsstufe vorzeitig abzubrechen.

zurückgezogen 10/2019

zurückgezogen 10/2019

**TESTPROTOKOLL** (Mindestangaben)**Fischttest nach DIN 38 412 - L31**\_\_\_\_\_  
Untersuchungsstelle**Angaben zur Probe:**

Probenahme-Stelle: \_\_\_\_\_

Probenehmer: \_\_\_\_\_

Proben-Nummer: \_\_\_\_\_

pH-Wert: \_\_\_\_\_

Probenahme-Datum: \_\_\_\_\_

Uhrzeit: \_\_\_\_\_

Sonstige Angaben  
zur Probe (z.B. Leitfähigkeit, Geruch):  
\_\_\_\_\_**Probenvorbereitung:**Konservierung der Probe:  keine  gekühlt  tiefgefroren

eingefroren am: \_\_\_\_\_

aufgetaut am: \_\_\_\_\_

pH-Wert: Einstellung auf: \_\_\_\_\_

mit: \_\_\_\_\_

Homogenisierung der Probe durch: \_\_\_\_\_

**Testfische:**

Fisch-Chargen: \_\_\_\_\_

Temperaturadaption der Fische erforderlich ?

 nein ja

Abweichung vom Korpulenzindex ?

 nein ja (Begründung!)

Abweichung von der Länge ?

 nein ja (Begründung!)**Versuchsdurchführung:**

Verdünnungswasser:

 synthetisch Trinkwasser

Belüftung im Testansatz ?

 nein ja

pH-Wert-Konstanthaltung ?

 nein ja

Temperatur:

Minimum: \_\_\_\_\_

°C

Maximum: \_\_\_\_\_

°C

Testbeginn: Datum/Uhrzeit: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

Handzeichen \_\_\_\_\_

Verdünnungs- stufe G	tote Fische		pH-Wert		O <sub>2</sub> (mg/l)	
	____ h	48 h	Anfang	Ende	Anfang	Ende
Kontrolle						

**Bemerkungen:** (z.B. Begründung für Abweichungen vom Korpulenzindex)Ergebnis:  $G_A =$  \_\_\_\_\_

zurückgezogen 10/2019

zurückgezogen 10/2019



## HÄLTUNGSPROTOKOLL (Mindestangaben)

**Fischtest nach DIN 38 412 - L31**

Untersuchungsstelle

---

Fischcharge:

Lieferdatum:

Lieferant:

Art des Futters:

Datum	Anzahl entnommener Fische	Anzahl verwendeter Fische	Bestand	Sterblichkeitsrate (%)	Bemerkungen *)	Hältetemp. (°C)	Hdz.

Länge (cm) Minimum/Maximum	Korpulenzindex (g/cm <sup>3</sup> ) Minimum/Maximum	Anzahl Vermessener Fische

\*) z.B. über Krankheiten, Parasitenbefall  
Hdz : Handzeichen