



**INTERNATIONALE KOMMISSION ZUM SCHUTZE DES RHEINS
COMMISSION INTERNATIONALE POUR LA PROTECTION DU RHIN**

**Empfehlung zur Ausweitung der Rheinüberwachung
durch Biotestverfahren**

Essen, Juli 1990



Empfehlung zur Ausweitung der Rheinüberwachung durch Biotestverfahren

1. Emissionsüberwachung

Die Emittentenüberwachung im Kläranlagenauslauf und die Überwachung von Kühlwasserabläufen stellen ein Warnsystem dar, das auf die Bereiche Beweissicherung sowie Vorsorge im Sinne von Schutz der menschlichen Gesundheit (z.B. Einstellung der Nutzung von Uferfiltraten für die Trinkwassergewinnung) ausgerichtet ist. Es ist anzustreben, für komplex zusammengesetzte Abwässer dieselben biologischen Testverfahren (insbesondere Fisch- und Daphnientests) anzuwenden, die auch für die direkte Überwachung des Gewässers (Immission) zur Verfügung stehen.

Zur Zeit gibt es keine kontinuierliche Emittentenüberwachung mittels Biotests. Im Rahmen der IKSR sollte über die weitere Entwicklung bzw. den Einsatz von Biotests bei den Emittenten ein intensiver Informationsaustausch erfolgen und ggf. eine Abstimmung vorgenommen werden. Im Rahmen des APR ist der Einsatz von Biotests bei den Emittenten in Betracht zu ziehen.

2. Immissionsüberwachung

Der kontinuierliche Fisch- und Daphnientest, der bereits an einigen Meßstellen am Rhein implementiert ist, bezieht sich vor allem auf die Ermittlung der kurzfristigen (akuten) Toxizität. Der Daphnientest läßt sich über das Kriterium Reproduktion auch zur Feststellung der chronischen Toxizität verwenden; ist dann allerdings nicht als Schnellindikationstest zu betreiben. Wenn Daphnien sich innerhalb eines bestimmten Zeitraumes nicht vermehren, liegen reproduktionshemmende, also chronische Wirkungen vor. Der kontinuierliche Daphnientest und der Fischttest prüfen auf Änderungen im Schwimmverhalten.

Bei Alarmauslösung durch die zum Einsatz gebrachten Biotests sind die entnommenen Wasserproben chemisch zu untersuchen, um Hinweise auf die die Giftwirkung verursachenden Chemikalien zu erhalten.

Eine Ausweitung des Einsatzes des Fisch- und Daphnientests auf die internationalen Meßstationen, wo ein Gefahrenpotential für Störfälle gegeben ist, ist anzustreben.

Des weiteren sollten mittelfristig auch kontinuierliche Testverfahren mit Funktionsträgern auf den Trophieebenen Bakterien und Algen zum Einsatz kommen, um auch Stoffe erfassen zu können, die primär auf pflanzliche Organismen und auf Bakterien wirken.

Zusammenfassend wird festgestellt, daß Biotests sowohl im Emissions- als auch im Immissionsbereich zusammen mit der chemisch-physikalischen Analytik und der biologischen Untersuchung einen wichtigen Baustein zur Verbesserung des Gewässerschutzes bilden.

INTERNATIONALE KOMMISSION ZUM SCHUTZE DES RHEINS GEGEN VERUNREINIGUNG

Anwendbarkeit von Biotestverfahren für die
Emissions- und Immissionsüberwachung des Rheins

1. Allgemeines

Da die Störfallproblematik im Rhein eine kontinuierliche länderübergreifende Überwachung des Gewässerzustandes über das bisherige Maß hinaus erfordert, erhielt die Untergruppe Pl "Lebensgemeinschaften" den Auftrag, die Anwendbarkeit von Biotestverfahren für die Emissions- und Immissionsüberwachung des Rheins zu prüfen. Das entsprechende Mandat hatte folgenden Wortlaut:

- c. Bis Anfang Mai 1989 Erstellen einer Übersicht der zur Zeit einsatzfähigen Biotests gemäß Anlage B des APR unter Angabe der testspezifischen Empfindlichkeit (z.B. Aussageart, Konzentrationsbereich, Stoffgruppen), um eine Beurteilung der Tests auf ihre eventuelle Eignung für eine Einleiterüberwachung zu ermöglichen.
- d. Bis Anfang Oktober 1989 untersuchen, ob ein kontinuierliches Monitoringprogramm zur Erkennung plötzlich ansteigender toxisch wirkender Substanzen im Rhein unter Angabe der einzusetzenden biologischen Prüfsysteme geeignet ist und Erstellen einer Kostenschätzung.
- e. Prüfen, ob und inwieweit die Ergebnisse der unterschiedlichen Tests Aussagen über die Abwasser-/Gewässerqualität ermöglichen oder unterstützen können.

Bei der Überwachung der Schadstoffe allein auf der Basis des chemischen Monitoring werden Verunreinigungen vornehmlich stoffspezifisch und zeitlich-punktuell erfaßt. Die stoffspezifisch

ausgerichtete Rückstandsanalytik in Organismen (aktives und passives Biomonitoring) ist ebenfalls dem chemischen Monitoring zuzurechnen.

Da aber nur für einen Teil der Schadstoffe toxikologische Erkenntnisse vorliegen, erscheint es notwendig, zusätzlich ein kontinuierlich arbeitendes Überwachungssystem auf der Basis eines biologischen Monitoring zu etablieren und dieses sinnvoll mit der chemisch-physikalischen Überwachung zu verbinden.

Konzeptionell kann zwischen Untersuchungsverfahren unterschieden werden, die auf subzellulärer Ebene ansetzen, die den Gesamtorganismus oder die Population betreffen oder auf die übergeordnete biozönotische Ebene (Ökosystem) abgestellt sind.

Bei der Untersuchung von Veränderungen auf der Populations- und Ökosystemebene treten erhebliche Schwierigkeiten auf: Aufgrund der Komplexität der Zusammenhänge, die mit Hilfe von Untersuchungen zur Produktionsleistung und zur Erfassung von Abundanz und Artenzusammensetzung auf verschiedenen Trophieebenen erfaßt werden sollen, sowie aufgrund der saisonalen Dynamik des Ökosystems, dürfte der wissenschaftliche Nachweis anthropogen verursachter Veränderungen frühestens nach Jahren möglich sein. Demgegenüber geben Untersuchungen auf subzellulärer Ebene und auf der Organismenebene innerhalb vergleichsweise kurzer Zeiträume Auskunft über das Vorliegen eines ökotoxischen Wirkpotentials, sie haben aber den Nachteil, daß aus dem Nachweis einer akuten oder chronischen Toxizität in der Regel nicht auf Veränderungen in der Population oder gar im Ökosystem geschlossen werden kann. Für ein sinnvolles biologisches Monitoring müssen daher alle Meßstrategien, die langfristige Beobachtung von Veränderungen in den aquatischen Lebensgemeinschaften und die akuten sowie chronischen Toxizitätsuntersuchungen Anwendung finden.

Biotests in strengem Sinn können eine akute Toxizität anzeigen. Sie bilden in diesen Fällen ein biologisches Warnsystem, das den Anforderungen einer Schnellindikation von Schadstoffwirkungen auf

der Organismenebene genügen soll. Zu diesem Zweck werden Reaktionen von Organismen, die künstlich in das zu prüfende Medium eingebracht werden, meßtechnisch erfaßt. Derzeit bereits standardisierte Biotestverfahren beziehen sich hauptsächlich auf Sterblichkeits-, Hemmungs- oder Mutagenitätsreaktionen.

In der Bundesrepublik Deutschland wurde in den letzten beiden Jahren ein "Rahmenkonzept für Forschungsvorhaben zur Entwicklung, Erprobung und Implementation von Biotestverfahren zur Überwachung des Rheins" unter Beteiligung niederländischer Experten erarbeitet (P 14/89). Dieses Arbeitsdokument enthält wesentliche technische Details über die z.Z. einsatzfähigen und noch zu erprobenden Biotestverfahren.

Grundsätzlich sind zwei Möglichkeiten beim Einsatz eines biologischen Warnsystems gegeben, die Kontrolle der Abwassereinleitungen (Emission) und die direkte Überwachung des Gewässers (Immission).

2. Biotestverfahren in der Emissionsüberwachung

Bei der Überwachung von Abwasser mittels biologischer Testverfahren ist grundsätzlich zu unterscheiden zwischen der Überwachung der Einleitung von gereinigtem Abwasser bzw. Kühlwasser in den Vorfluter und der von Abwasserteilströmen vor Eintritt in betriebliche Kläranlagen. Lediglich letzteres kann im eigentlichen Sinne als "Frühwarnsystem" bezeichnet werden: Bei Alarmauslösung durch die eingesetzten biologischen Testverfahren besteht die Möglichkeit, die Abwasserteilströme vor einer akuten Beeinträchtigung der mikrobiellen Abbauleistung im Kläranlagenbetrieb in gesonderte Auffang- bzw. Rückhaltebecken umzuleiten. Für die biologische Überwachung erscheint daher unter dem Schutzziel "Erhalt des funktionsgerechten Kläranlagenbetriebs" der Einsatz von Bakterien-Toximetern ausreichend.

Die Bestandsaufnahme der z.Z. in den Mitgliedstaaten der IKSR angewandten Biotestverfahren für die Emissionsüberwachung zeigt auf:

Schweiz

In der Schweiz gibt es z.Z. keinen regelmäßigen Einsatz von Biotests in der Emissionsüberwachung.

Frankreich

Die in Frankreich eingesetzten Biotests (Abwasser- und Oberflächengewässerkontrolle für die Trinkwasserentnahme) sind untenstehender Tabelle zu entnehmen. Zur Zeit werden nur statische Biotests verwandt.

	Daphnien 24 Std	Mikrotox	Mutagenität (Ames)	Molch	Alarmtest (Forelle)	Fisch 8 Tage (1)	Alge (2)	Cholin- esterase- hemmung	biolog. Abbau- barkeit (Bakt.)
Agence Financière de Bassin (*)	+	+	(+)	R			(+)	(+)	
Wasseraufbereiter		+	+		+				
Industrie - Bassin Rhin-Meuse (#)	+	+					(+)		+
Industrie - andere Bassins (#)	+	+					(+)		

(*) Die 6 Agences sind Auftraggeber der erwähnten Tests, die in unabhängigen Labors durchgeführt werden

(#) Einschließlich Auswaschung der Deponieabwässer

R = Studie läuft
(+) zeitweilige Anwendung

(1) *Brachydano rerio*
(2) *Selenastrum*, *Chlorella*

Die bisherigen Erfahrungen werden kurz erläutert:

Für die Festlegung der Höhe der Abwasserabgabe wird in erster Linie der 24 Std. Daphnientest eingesetzt.

In zweiter Linie wird der 24 Std. Daphnientest bei Untersuchungen angewandt, die bei einem Anlagenbetreiber durchgeführt werden, der technische Unterstützung durch die Agence de l'Eau beantragt hat. In diesem Falle wird er zusammen mit dem Mikrotox-Test angewandt, der (in der Größenordnung) vergleichbare Ergebnisse liefert, aber schneller ist und geringere Kosten mit sich bringt.

Als Mutagenitätstest wird insbesondere der Ames-Test gelegentlich angewandt; seine Anwendung ist mit dem Ziel fortzuentwickeln, die Wirksamkeit der Abwasseraufbereitung zu kontrollieren.

Die Tests an Fischen oder Algen werden z. Z. nur gelegentlich in recht spezifischen Fällen gebraucht, das gilt ebenfalls für den Cholinesterasehemmtest, der nur dann anspricht, wenn die Probe organische Phosphorverbindungen oder Carbamate enthält.

Insgesamt wird die Bedeutung der Biotests für die Überwachung der Gewässer oder Einleitungen gerade erst erkannt und die Technik muß noch im Sinne größerer Flexibilität und Tragweite weiterentwickelt werden.

Bundesrepublik Deutschland

Für die Ermittlung der Schädlichkeit des Abwassers wird gemäß dem Abwasserabgabegesetz der Bundesrepublik Deutschland der statische Fischtest zur Festsetzung der Abwasserabgabe herangezogen. Hauptsächlich kommen Biotests derzeit bei der Immissionsüberwachung zur Anwendung. Einige Emittenten setzen jedoch bereits Biotests für die Eigenüberwachung ein:

Emissionsüberwachung durch Emittenten

BASF, Ludwigshafen

Fischtest
Daphnientest

Hoechst AG, Hoechst

Fischtest
Daphnientest

Bayer AG, Leverkusen, Dormagen, Uerdingen

Fischtest
Daphnientest
O₂-Konsumptionstest

Unabhängig von der oben erwähnten Festsetzung der Abwasserabgabe sind die Bestrebungen nach § 7 a WHG in der Bundesrepublik Deutschland, statische Toxizitätstests auf den vier Trophieebenen Bakterien, Algen, Kleinkrebse und Fische sowohl für die Indizierung und Beurteilung von innerbetrieblichen Abwasserteilströmen mit gefährlichen Inhaltsstoffen zu verwenden, als auch als behördliche Überwachungsparameter für die Abwassereinleitung. Biotests sind für Abwassereinleitungen und für Abwasserteilströme insofern von Belang, als daß die Anforderungen an die Abwasserreinigung dem Stand der Technik entsprechen müssen, wenn die Abwässer gefährliche Stoffe enthalten. Da bei den komplex zusammengesetzten Abwässern die chemischen Analysen nicht ausreichen, muß ergänzend die summarische Erfassung des Wassergefährdungspotentials über Toxizitätsmeßsysteme erfolgen. Die vorhandenen Biotestverfahren werden diskontinuierlich entsprechend dem behördlichen Bedarf im batch-Versuch durchgeführt werden. Wenn behördlicherseits festgestellt wird, daß das industrielle Abwasser die Bedingungen nach § 7a WHG erfüllt, d.h. dem spezifisch pro Industriebranche festgesetzten "Stand der Technik" entspricht, kann die zuvor gemäß Abwasserabgabegesetz festgelegte Abwassergebühr halbiert werden.

Bei stichprobenartigen Einleiterkontrollen werden von den zuständigen Überwachungsbehörden der Bundesrepublik Deutschland im Bedarfsfall Biotests eingesetzt.

Niederlande

Für die Bewilligung einer Abwassergenehmigung stehen in den Niederlanden für die Beurteilung von Abwasserströmen nachstehende (semi)-statische Biotests zur Verfügung, die jedoch z.Z. noch nicht alle ausreichend getestet sind.

Testtyp	Ausführung
akut: Bakterien (Mikrotox) Algen (Chlorella/Scenedesmus) Wasserflöhe (Daphnia) Fische (Poecilia) Mutagenität (XAD + Ames)	Fabrikant OECD 202 OECD 202 OECD 203 OECD 471
semi-statisch: Wasserflöhe (Daphnia), 21 d Fische (Poecilia), 14 d	OECD 202 OECD 204
reinigungstechnisch: nitrifikationshemmend respirationshemmend	NEN 6511 NEN 6512
spezifisch (Entw./Anw.): Phytotoxizität (Entenflott) Fische-ELS (Zebrafisch) Fische-Mutagenität (Notobranchius)	-- -- --

Eine Anwendung von Biotests ist nur dann sinnvoll, wenn prozeß-technologische Kenntnisse und chemische Analysen nicht ausreichen, Abwasserströme auf ihre Umweltverträglichkeit adäquat zu beurteilen.

Bei der Erstellung von Abwassergenehmigungen werden in den Niederlanden vorzugsweise Kombinationen von Tests mit Organismen verschiedener trophischer Niveaus: Mikrotox, Algen, Wasserflöhe, Fische und der Ames-Test für Mutagenität angewandt. Neben den

akuten Tests werden, falls nötig, länger dauernde Tests mit Wasserflöhen und/oder Fischen ausgeführt.

Zur Beurteilung möglicher negativer Wirkungen des Abwassers auf den biologischen Reinigungsprozeß werden Nitrifikations- und Respirationshemmungstests verwandt.

(Halb)-statische Biotests für die regelmäßige Kontrolle der Abwassergenehmigungen müssen eindeutig und einfach in der Ausführung sein.

In den Niederlanden beschränkt sich eine solche Anwendung (halb)-statischer Biotests zur Zeit auf die Verwendung eines kurzfristigen Fisch- oder Wasserflohtests bei der Beurteilung der Abwasserströme in pestizid-formulierenden Betrieben. Weitere Verwendungsmöglichkeiten dieser Kontrollfunktion werden zur Zeit untersucht.

Kontinuierliche Biotests (Bioalarmsysteme) eignen sich für die Prozeßregelung und die Störfallanzeige. Ihre Anwendung ist immer sinnvoll, da Abwasserströme in ihrer Zusammensetzung stets komplex sind, stark variieren können und stoffselektive Monitoren nur Einzelkomponenten quantifizieren, aber keine Wirkungen messen können.

Kontinuierliche Biotests, die die Respirations- oder Nitrifikationshemmung messen, sind in der Praxis anwendbar.

In einigen Jahren wird die Überprüfung der Systeme mit Fischen, Wasserflöhen und Muscheln hinsichtlich ihrer Verwendbarkeit in der Abwasserbeurteilung abgeschlossen sein. Die Anschaffungskosten variieren zwischen hfl. 30.000,-- und hfl. 70.000,--. Weitere Systeme mit Algen, Insekten und Biosensoren befinden sich z.Z. in unterschiedlichen Entwicklungsstadien.

In den Niederlanden wird z. Z. bei der Festsetzung der Abwasserabgabe kein Gebrauch von Biotests gemacht.

Die Verwendung von Biotests gibt keinen Aufschluß über stoffspezifische Abwassercharakteristika. Hierfür sind ergänzende chemische Analysen erforderlich.

3. Biotestverfahren in der Immissionsüberwachung

Die Bestandsaufnahme der z.Z. in den Mitgliedstaaten angewandten Biotestverfahren für die Immissionsüberwachung ergibt:

Schweiz

Die in Basel geplante neue internationale Meßstation, die von der Schweiz und Baden-Württemberg gemeinsam erstellt und betrieben werden soll, wird voraussichtlich mit einem Daphnientest ausgerüstet. Der zusätzliche Einsatz eines Algen-, Bakterien- oder Cholinesterasehemmtests wird geprüft.

Frankreich

Aufgrund der in Frankreich verfügbaren Kenntnisse scheinen zwei Möglichkeiten ins Auge gefaßt werden zu können; diese beiden Optionen befinden sich nicht im gleichen Entwicklungsstadium.

Die erste Option ist die eines Mikrotox-Tests im batch-Verfahren, der für die Flußwasserkontrolle, welches zu Trinkwasser aufbereitet werden soll, eingesetzt wird. Der Test soll in Verantwortlichkeit des Trinkwasseraufbereiteters durchgeführt werden. Dieses System ist zudem leicht durch Zwischenschaltung einer Verdünnungsstufe auf Abwässer umzustellen.

Die zweite Option wird derzeit auf der Grundlage eines Algentests entwickelt.

Bundesrepublik Deutschland

Untersuchung des Rheins mit Biotests durch Behörden der Bundesrepublik Deutschland

Baden-Württemberg:

Landesanstalt für Umweltschutz, Karlsruhe

Dynamische Biotests
an der

Station Maxau: Strömungsfischtest
 Dynamischer Daphnientest
 Dauerexponat mit Flußkrebsen
 Gammariden, Asseln u.a.

Im Störfall
zusätzlich
statische Tests
im Labor:

Leuchtbakterientest
Algentest
Daphnientest
Gammarustest
Lemnatest

Rheinland-Pfalz/Hessen:

Landesamt für Wasserwirtschaft, Mainz
Hessische Landesanstalt für Umwelt, Wiesbaden

Gemeinsame Station Mainz: Strömungsfischtest
(dynamisch) Dynamischer Daphnientest

Im Störfall zusätzlich: Leuchtbakterientest
(statisch) Daphnientest

Nordrhein-Westfalen:

Landesamt für Wasser und Abfall, Düsseldorf

Station Bad Honnef: Strömungsfischtest
(dynamisch) Dynamischer Daphnientest

Station Düsseldorf: Strömungsfischtest
(dynamisch) Dynamischer Daphnientest

Station Kleve-Bimmen: Strömungsfischtest
(dynamisch) Dynamischer Daphnientest

Im Störfall zusätzlich: (statische Tests)	Leuchtbakterientest O ₂ -Konsumptionstest Bakterien-Zellvermehrungshemmtest Algentest Daphnientest Kressetest Fischttest
--	---

Bundesanstalt für Gewässerkunde, Koblenz

Station Koblenz: (dynamisch)	Strömungsfischttest
---------------------------------	---------------------

Im Störfall zusätzlich: (statische Tests)	Leuchtbakterientest Algentest Daphnientest Fischttest
--	--

In der Bundesrepublik Deutschland befinden sich z.Z. weitere Biotests im Rahmen eines vom Umweltbundesamt, Berlin, geförderten Forschungsvorhabens in der Entwicklung und Erprobung. Diese 6 Teilvorhaben beziehen sich im einzelnen auf:

1. Leuchtbakterientest und Algen-Sauerstoffproduktionstest
2. Toxalarm und Behaviorquant, Koordination
3. Cyanobakterien-Elektrode und WRC-Fischmonitor
4. Spontane Algenfluoreszenz
5. Verzögerte Algenfluoreszenz
6. Laborcontainer

Niederlande

Untersuchung des Rheins mit Biotests durch Behörden der Niederlande

Rijkswaterstaat (DBW/RIZA), Lelystad

Station Lobith:
(dynamisch)

Strömungsfischttest
Daphnientest ab 1990

im Störfall zusätzlich
statische Tests

Leuchtbakterientest
stat. Daphnientest
Fischttest
Mückenlarventest

4. Ausweitung der Rheinüberwachung durch Biotestverfahren

4.1 Emissionsüberwachung

Die Emittentenüberwachung im Kläranlagenauslauf und die Überwachung von Kühlwasserabläufen stellen ein Warnsystem dar, das auf die Bereiche Beweissicherung sowie Vorsorge im Sinne von Schutz der menschlichen Gesundheit (z.B. Einstellung der Nutzung von Uferfiltraten für die Trinkwassergewinnung) ausgerichtet ist. Es ist anzustreben, für komplex zusammengesetzte Abwässer dieselben biologischen Testverfahren (insbesondere Fisch- und Daphnientests) anzuwenden, die auch für die direkte Überwachung des Gewässers (Immission) zur Verfügung stehen.

Zur Zeit gibt es keine kontinuierliche Emittentenüberwachung mittels Biotests. Im Rahmen der IKSR sollte über die weitere Entwicklung bzw. den Einsatz von Biotests bei den Emittenten ein intensiver Informationsaustausch erfolgen und ggf. eine Abstimmung vorgenommen werden. Im Rahmen des APR ist der Einsatz von Biotests bei den Emittenten in Betracht zu ziehen.

4.2 Immissionsüberwachung

Der kontinuierliche Fisch- und Daphnientest, der bereits an den angegebenen Meßstellen am Rhein implementiert ist, bezieht sich vor allem auf die Ermittlung der kurzfristigen (akuten) Toxizität. Der Daphnientest läßt sich über das Kriterium Reproduktion auch zur Feststellung der chronischen Toxizität verwenden, ist dann allerdings nicht als Schnellindikationstest zu betreiben. Wenn Daphnien sich innerhalb eines bestimmten Zeitraumes nicht vermehren, liegen reproduktionshemmende, also chronische Wirkungen vor. Der kontinuierliche Daphnientest und der Fischttest prüfen auf Änderungen im Schwimmverhalten.

Bei Alarmauslösung durch die zum Einsatz gebrachten Biotests sind die entnommenen Wasserproben chemisch zu untersuchen, um Hinweise auf die die Giftwirkung verursachenden Chemikalien zu erhalten.

Eine Ausweitung des Einsatzes des Fisch- und Daphnientests auf die internationalen Meßstationen, wo ein Gefahrenpotential für Störfälle gegeben ist, ist anzustreben.

Des weiteren sollten mittelfristig auch kontinuierliche Testverfahren mit Funktionsträgern aus den Trophieebenen Bakterien und Algen zum Einsatz kommen, um auch Stoffe erfassen zu können, die primär auf pflanzliche Organismen und auf Bakterien wirken.

Zusammenfassend wird festgestellt, daß Biotests sowohl im Emissions- als auch im Immissionsbereich zusammen mit der chemisch-physikalischen Analytik und der biologischen Untersuchung einen wichtigen Baustein zur Verbesserung des Gewässerschutzes bilden.