

# **EMPFEHLUNG ZUM EINSATZ VON KONTINUIERLICHEN BIOTESTVERFAHREN FÜR DIE GEWÄSSERÜBERWACHUNG**

**erstellt vom LAWA AK 'Biomonitoring' im Oktober 1995**

## **1. ARBEITSAUFTRAG**

Der LAWA-Arbeitskreis "Biomonitoring" wurde von der LAWA-AG"O" beauftragt, eine bundesweite Empfehlung für den Einsatz von kontinuierlichen Biotestverfahren für die Fließgewässerüberwachung zu erarbeiten. Grundlage sollten sowohl die Ergebnisse der Bund/Länder-Projektgruppe "Wirkungstests Rhein (WIR)" (1995) als auch die in den Bundesländern gesammelten Erfahrungen sein. Dabei sollten die Grenzen und Möglichkeiten des Einsatzes aufgezeigt werden.

Unter kontinuierlichen Biotestverfahren werden vom Arbeitskreis Testverfahren verstanden, in denen lebende, intakte Wasserorganismen incl. Bakterien eingesetzt werden. Biosensoren, in denen Gewebe, Zellen, Organellen, Membranen oder Biomoleküle zur Detektion von Schadstoffen verwendet werden, sind nicht Bestandteil dieses Empfehlungspapiers.

## **2. ZIELE DES EINSATZES VON KONTINUIERLICHEN BIOTESTVERFAHREN**

Biotestverfahren werden seit mehreren Jahrzehnten in verschiedenen Bereichen der Gewässerüberwachung eingesetzt. Es handelt sich hierbei um Testmethoden, die die Wirkung biologisch schädlicher oder auch fördernder Stoffe auf ausgewählte Testorganismen prüfen. Das Ziel eines biologischen Effektmonitorings sollte es sein, möglichst viele Stoffe in ihrer Einzel- und Summenwirkung auf die aquatischen Systeme zu erfassen, da es unmöglich ist, die Vielfalt der in Umlauf befindlichen Stoffe durch Einzelstoffanalytik aufzuspüren und in ihrer Wirkung zu charakterisieren. Aufgrund der unterschiedlichen Wirkspezifitäten von Schadstoffen müssen daher mehrere Testverfahren mit verschiedenartigen Organismen gleichzeitig eingesetzt werden.

Bei den Biotestverfahren wird zwischen statischen (Labor-) Biotests und dynamischen Biotests unterschieden, die in verschiedenen Anwendungsbereichen eingesetzt werden.

Statische Biotests mit aquatischen Organismen spielen in der Bundesrepublik Deutschland sowohl beim Vollzug des Wasserhaushaltsgesetzes (§§ 7a und 19g WHG) und des Abwasserabgabengesetzes (AbwAG) als auch bei der Zulassung von Stoffen nach dem Chemikaliengesetz (ChemG) und dem Pflanzenschutzgesetz (PflSchG) eine bedeutende Rolle. Bei statischen Biotestverfahren wird in der Regel die Wirkung eines bestimmten Testwassers (z.B. Abwasser, Oberflächenwasser) oder einer Chemikalie auf die eingesetzten Testorganismen nach einer vor-

gegebenen Zeit (z.B. 24 h oder 48 h) ermittelt. Bei diesen akuten Tests findet während der Testdauer in der Regel kein Austausch des Testmediums statt.

Dagegen werden bei kontinuierlichen (dynamischen) Biotestverfahren die Testorganismen kontinuierlich oder in semikontinuierlichen Systemen im Takt weniger Minuten mit frischem Medium, z.B. Flußwasser in Kontakt gebracht. In Testautomaten werden im Durchfluß Änderungen von stoffwechsel- oder verhaltensphysiologischen Parametern als Folge subletaler Effekte gemessen. Die Bezeichnung "Biomonitor" charakterisiert die Hauptfunktion als Überwachungs- und Warnsystem zur Identifikation summarischer Schadstoffwirkungen. Der Einsatz kontinuierlicher Biotestverfahren in der Immissions- und Emissionsüberwachung bietet die Möglichkeit, zeitlich lückenlos Wasser zu überwachen. Bei der Immissionsüberwachung werden sie hauptsächlich als Warnsysteme eingesetzt, die oberhalb der Grundbelastung des Gewässers z.B. störfallbedingte Spitzenbelastungen anzeigen. In Verbindung mit der chemischen Analyse und weiterführenden biologischen Untersuchungen dienen sie der Beweissicherung bei unerlaubten Einleitungen und Störfällen. Bei der Emissionüberwachung können sie als kontinuierliches Screening die Überwachung mit genormten statischen Biotests ergänzen.

Eine Erörterung der Möglichkeiten des Einsatzes von kontinuierlichen Biotestverfahren zur Emissionsüberwachung wird Gegenstand eines weiteren Empfehlungsberichtes des Arbeitskreises sein.

### **3. ERGEBNISSE EINER VERGLEICHENDEN STUDIE ZUR FUNKTION, AUS-SAGEKRAFT UND PRAKTIKABILITÄT KONTINUIERLICHER BIOTEST-VERFAHREN UND DARAUSS ABGELEITETE EMPFEHLUNGEN**

Vor dem Hintergrund des Sandoz-Störfalles wurde die Internationale Kommission zum Schutze des Rheins (IKSR) anlässlich der 7. Umweltministerkonferenz der Rheinanliegerstaaten am 19.12.1986 in Rotterdam beauftragt, die nationalen Untersuchungsprogramme im Rheineinzugsgebiet einer Überprüfung zu unterziehen. Hierbei sollte auch der verstärkte Einsatz biologischer Testverfahren berücksichtigt werden. Entsprechend einem Arbeitsauftrag der Deutschen Rheinschutzkommission (DK) wurde daraufhin vom Arbeitsausschuß "Meßmethoden" die Bund/Länder-Projektgruppe "Wirkungstests Rhein" (WIR) eingerichtet, die im November 1989 ein Rahmenkonzept für Forschungsvorhaben zur "Entwicklung, Erprobung und Implementation von Biotestverfahren zur Überwachung des Rheins" vorlegte. In diesem Verbundforschungsvorhaben wurden schließlich Testverfahren mit Organismen verschiedener Trophieebenen (Produzenten, Primär- und Sekundärkonsumenten sowie Destruenten) entwickelt und erprobt. In 8 Teilvorhaben wurden von 1989 bis 1993 insgesamt 22 Biomonitore erprobt, mit

denen die biologische Wirkungspalette mit primär bakterizid, insektizid oder herbizid wirkenden Stoffen möglichst breit abgedeckt werden sollte.

In den Rhein-Meßstationen Bimmen und Bad Honnef, einem mobilen Meßcontainer am Rhein und Untermain sowie in der Bundesanstalt für Gewässerkunde wurden die Biomonitore in dem Zeitraum von 1990 - 1991 im praktischen Betrieb erprobt. Erfahrungen mit Testgeräten an anderen Meßstationen wurden ebenfalls in die Bewertung mit einbezogen. Es wurden ferner Chemikaliestests im Labor sowie Abwassertests und vergleichende Aufstockungsexperimente am Gewässer durchgeführt.

Die Ergebnisse der Erprobung der einzelnen Biomonitore sind detailliert in den Abschlußberichten zu den Teilvorhaben dargelegt; die wesentlichen Ergebnisse aller Vorhaben wurden in dem Gesamtabschlußbericht des Verbundforschungsvorhabens (UBA-Berichte 1/95) zusammengefaßt.

Das Verbundforschungsvorhaben hat gezeigt, daß Biomonitore für die Detektion von Schadstoffspitzenbelastungen in Gewässern grundsätzlich geeignet sind.

Aus der Vielzahl der geprüften Testverfahren wurden für jede Trophiestufe besonders geeignete Verfahren für die Gewässerüberwachung ausgewählt. Dazu wurde ein Beurteilungsraster aufgestellt, anhand dessen die Biomonitore nach objektiven Maßstäben miteinander verglichen werden konnten. Die Kriterien zur Beurteilung der wissenschaftlichen Aussagekraft der Meßdaten und der gerätetechnischen Zuverlässigkeit im routinemäßigen Betrieb sind in nachfolgender Tabelle aufgeführt:

Tab. 1: Bewertungskriterien und Gewichtung für kontinuierliche Biotestverfahren

Kriterium	Gewichtung	Kriterium	Gewichtung
Sensitivität (Gewässer)	A	Sensitivität (Abwassertest)	A
Standzeit	A	EDV-Ausstattung	A
Störanfälligkeit	A	Verfügbarkeit	A
Plausibilitätsprüfung	A	Sensitivität (Labor)	B
Betriebsfreundlichkeit	B	Materialeinsatz	B
Wartungsbedarf	B	Testorganismen	B
Platzbedarf	B	Refraktärzeit	B
Meßbereich	B	Anschaffungskosten	C

(A = sehr wichtig oder grundsätzliche Anforderung, B = wichtig, C = weniger wichtig)  
(Erläuterungen zu den Kriterien s. UBA-Berichte 1/95, S. 31 - 41)

Auf Grundlage der Beurteilungskriterien (Eignungsklassifikation) wurden von der das Vorhaben begleitenden **Projektgruppe "WIR"** folgende Empfehlungen zum Einsatz und Betrieb der Testsysteme für die Überwachung des Rheins ausgesprochen (UBA-Texte 34/94):

Es ist anzustreben, in geeigneten Meßstationen jeweils eine Testbatterie aus Biomonitoren mit Funktionsträgern unterschiedlicher Trophieebenen zu implementieren, da Biotests mit Organismen verschiedener Trophiestufen untereinander nicht ersetzbar sind.

a) Soweit noch nicht geschehen, wird der "Dynamische Daphnientest" oder ein vergleichbares System vorrangig zur Implementation vorgeschlagen.

*Der "Dynamische Daphnientest" wurde von der Projektgruppe "Wirkungstests Rhein" bereits 1989 zur Implementation an Gewässermeßstationen empfohlen. Ein Arbeitsgruppenbericht mit dem Titel "Der Dynamische Daphnientest - Erfahrungen und praktische Hinweise" (Hrsg.:LUA-NRW, 1994) gibt einen Überblick über die Funktionsweise und das Meßprinzip des Daphnientests, faßt die bislang gewonnenen praktischen Erfahrungen zusammen, gibt experimentelle Hinweise zum Betrieb des Testsystems, beschreibt die bestehenden Auswertungsansätze und erläutert den bei der Beschaffung des Testsystems erforderlichen Raum- und Investitionsbedarf.*

b) Ein Fluoreszenz-Algentest wird als zweites Testsystem zur Implementation vorgeschlagen. Hier empfiehlt die Projektgruppe "WIR" den "DF-Algentest".

*Für den Meßstationsbetrieb kommen von den Algentests zur Zeit nur das "Biosens-Algentoximeter" und der "DF-Algentest" in Frage, da für die übrigen Testsysteme noch nicht in ausreichendem Umfang Erfahrungen vorliegen. Aufgrund der Beurteilung der Gerätetauglichkeit und der, wenn auch geringfügig, höheren Sensitivität im Aufstockungsexperiment, wird der "DF-Algentest" zur Empfehlung vorgeschlagen.*

c) Nach Implementation von Daphnien- und Algentestautomaten ist die Ausstattung der Meßstationen mit einem geeigneten Bakterientest anzustreben. Es sollte die derzeit noch nicht abgeschlossene Entwicklung der Leuchtbakterientestautomaten abgewartet werden.

*Von den Bakterientests könnte derzeit nur das mit Schwachstellen behaftete "Toxiguard" für den Meßstationseinsatz vorgeschlagen werden. Statt einer Weiterentwicklung dieses Testsystems wird jedoch aufgrund seiner besonderen Bedeutung bei der Überwachung von Abwassereinleitungen (Rahmen-VwV nach § 7 a WHG) ein Leuchtbakterientest zur Implementation empfohlen. Aufgrund mangelnder Erfahrungen*

*im Freilandbetrieb ist ein abschließendes Urteil über die derzeit zur Verfügung stehenden Testautomaten nicht möglich.*

d) Falls weitere personelle und finanzielle Kapazitäten vorhanden sind, wird der "Dreissena-Monitor" oder ein vergleichbares System als weiterer Bestandteil der Testbatterie empfohlen.

*Der "Dreissena-Monitor" hat an mehreren Standorten seine hohe Praxistauglichkeit bewiesen. Da die zu empfehlende Testbatterie primär aus jeweils einem Test der Ebenen Bakterien (Destruenten), photosynthetisch aktive Organismen (Primärproduzenten) und aquatische Tiere (Primär- und Sekundärkonsumenten) bestehen sollte und mit dem Dynamischen Daphnientest bereits ein gut geeignetes Testverfahren mit Wassertieren zur Verfügung steht, wird der "Dreissena-Monitor" nur als 4. Priorität für den Einsatz in Meßstationen vorgeschlagen.*

e) Fischttests werden derzeit nicht zur Implementation empfohlen.

*Die Notwendigkeit eines Fischttests wurde kontrovers diskutiert. Die bislang eingesetzten Strömungsfischttests werden aufgrund ihrer geringen Empfindlichkeit nicht empfohlen. Der "WRC-Fischmonitor" ist zwar - wie der "Koblenzer Verhaltensfischttest" - gegenüber Schadstoffen sensitiver, verursacht jedoch sehr hohe Kosten bei der Anschaffung und ist im Hinblick auf eine artgerechte Tierhaltung als problematisch zu beurteilen. Als potentiellles Fischttestverfahren käme nur der Verhaltensfischttest in Betracht.*

Die Ergebnisse des Verbundforschungsvorhabens und die daraus abgeleiteten Empfehlungen wurden von Flußgebiets-Kommissionen aufgegriffen.

Die **Deutsche Kommission zur Reinhaltung des Rheins (DK)** hat auf ihrer 99. Sitzung am 8. Dezember 1993 in Mainz zum Einsatz von kontinuierlichen Biotestverfahren sinngemäß folgenden Beschluß gefaßt:

1. Für die Implementation wird sowohl ein kontinuierlicher Daphnientest als auch ein Fluoreszenz-Algentest (vorrangig der DF-Algentest) empfohlen.
2. Danach ist die Ausstattung der Meßstationen mit einem geeigneten Bakterientest anzustreben (Leuchtbakterientest nach Entwicklung zur Praxisreife).
3. Langfristig sollten die Fischttests durch andere, empfindlichere Biotests ersetzt werden.
4. Nach Möglichkeit sollte zusätzlich ein Muscheltest (Dreissena-Monitor oder vergleichbare Systeme) betrieben werden.

Auch die Arbeitsgruppe "Betrieb von Meßstationen" der **Internationalen Kommission zum Schutz der Elbe** (IKSE) ist den Empfehlungen der Projektgruppe "WIR" im Oktober 1994 weitgehend gefolgt.

#### **4. ERFAHRUNGEN MIT DEM EINSATZ VON KONTINUIERLICHEN BIOTESTVERFAHREN IN VERSCHIEDENEN FLUSSGEBIETEN**

##### **4.1. ERFAHRUNGEN DER BUNDESLÄNDER**

Grundlage der vorliegend zusammengestellten Erfahrungen mit dem Betrieb von kontinuierlichen Biotestverfahren ist eine hierzu vom LAWA-Arbeitskreis durchgeführte Umfrage bei den für die Gewässerüberwachung zuständigen Landesbehörden. Es zeigt sich, daß der Dynamische Daphnientest das am häufigsten eingesetzte kontinuierliche Biotestverfahren darstellt. In der Häufigkeit der Verbreitung folgt der Strömungsfischtest an zweiter Stelle, gefolgt von Dreissenamonitor und den kontinuierlichen Algentesten (s. Karte). Für die beiden letztgenannten Verfahren ist mittelfristig eine deutliche Zunahme der eingesetzten Geräte zu erkennen.

Hinsichtlich der durch kontinuierliche Biotestverfahren ausgelösten Alarme ist in den letzten Jahren insgesamt ein Rückgang zu beobachten. Alarme, die sich mit bekannt gewordenen Schadensfällen hätten verknüpfen lassen, traten in den letzten Jahren nur vereinzelt auf.

##### **4.1.1. Dynamischer Daphnientest**

Die Auswertung der Umfrage bei den Landesbehörden zeigt, daß der Dynamische Daphnientest die weiteste Verbreitung der zur Verfügung stehenden Testsysteme gefunden hat.

<b>Biotestverfahren</b>	<b>installiert seit/ab:</b>	<b>Meßstelle, Betreiber</b>	<b>Gewässer</b>
Dynamischer Daphnientest	1990	Berlin-Mühlendamm Schleuse, Senatsverwaltung für Stadtentwicklung und Umweltschutz	Spree Fluß-km 17
Dynamischer Daphnientest	1994	Bremen-Hemelingen, Senator für Frauen, Gesundheit, Jugend, Soziales und Umweltschutz	Weser Fluß-km 361,1

Dynamischer Daphnientest	1989	Bischofsheim, Hessische Landesanstalt für Umwelt	Main Fluß-km 5
Dynamischer Daphnientest	1993	Dessau, Staatliches Amt für Umweltschutz Dessau/Wittenberg	Mulde Fluß-km 7,6
Dynamischer Daphnientest	1995	Gorsdorf, Staatliches Amt für Umweltschutz Dessau/Wittenberg	Schwarze Elster Fluß-km 3,8
Dynamischer Daphnientest	1993	Schmilka, Staatliche Umweltbetriebsgesellschaft Sachsen	Elbe Fluß-km 4,1
Dynamischer Daphnientest	1993	Zehren, Staatliche Umweltbetriebsgesellschaft Sachsen	Elbe Fluß-km 87,8
Dynamischer Daphnientest	1991	Magdeburg, Staatliches Amt für Umweltschutz Magdeburg	Elbe (li) Fluß-km 318,1
Dynamischer Daphnientest	1988	Bunthaus, Amt für Umweltuntersuchungen der Umweltbehörde Hamburg	Elbe Fluß-km 609,8
Dynamischer Daphnientest	1988 bis Mitte 1996	Altenwerder, Amt für Umweltuntersuchungen der Umweltbehörde Hamburg	Elbe Fluß-km 621
Dynamischer Daphnientest	1988	Seemannshöft, Amt für Umweltuntersuchungen der Umweltbehörde Hamburg	Elbe (li) Fluß-km 628,8
Dynamischer Daphnientest	1988	Blankenese, Amt für Umweltuntersuchungen der Umweltbehörde Hamburg	Elbe (re) Fluß-km 634,3
Dynamischer Daphnientest	1995	Wandsbecker Chaussee, Amt für Umweltuntersuchungen der Umweltbehörde Hamburg	Wandse
Dynamischer Daphnientest	vorauss. 1996	Bille-Serrahn, Amt für Umweltuntersuchungen der Umweltbehörde Hamburg	Bille

Dynamischer Daphnientest	1990	Iffezheim, Landesanstalt für Umwelt Baden-Württemberg	Rhein (re) Fluß-km 333,8
Dynamischer Daphnientest	1988	Karlsruhe, Landesanstalt für Umwelt Baden-Württemberg	Rhein (re) Fluß-km 359,2
Dynamischer Daphnientest (2 Geräte)	1995 2)	Worms, Landesamt für Wasserwirtschaft Rheinland-Pfalz	Rhein Fluß-km 443,3
Dynamischer Daphnientest (2 Geräte)	1989	Mainz-Wiesbaden, Landesamt für Wasserwirtschaft Rheinland-Pfalz	Rhein Fluß-km 498,5
Dynamischer Daphnientest	1993	Koblenz, Bundesanstalt für Gewässerkunde	Rhein (li) Fluß-km 590,4
Dynamischer Daphnientest	vor 1985	Bad Honnef, Landesumweltamt Nordrhein-Westfalen	Rhein (re) Fluß-km 640
Dynamischer Daphnientest	1989	Düsseldorf-Flehe, Landesumweltamt Nordrhein-Westfalen	Rhein (re) Fluß-km 735
Dynamischer Daphnientest	vorauss. 1996	Düsseldorf-Rathausufer, Landesumweltamt Nordrhein-Westfalen	Rhein (re) Fluß-km 744,3
Dynamischer Daphnientest	vor 1985	Kleve-Bimmen, Landesumweltamt Nordrhein-Westfalen	Rhein (li) Fluß-km 865
Dynamischer Daphnientest	vorauss. 1995	Hattingen, Landesumweltamt Nordrhein-Westfalen	Ruhr (li) Fluß-km 56
Dynamischer Daphnientest	1989	Fröndenberg, Landesumweltamt Nordrhein-Westfalen	Ruhr (re) Fluß-km 111,5
Dynamischer Daphnientest	1990	Opladen, Landesumweltamt Nordrhein-Westfalen	Wupper (re) Fluß-km 5,5
Dynamischer Daphnientest	vorauss. 1996 3)	Schwandorf, Bayerisches Staatsministerium für Landesentwicklung und Umweltfragen	Naab Fluß-km 36,9



- 1) Wegen fehlendem Betreuungspersonal nach halbjährigem Probetrieb wieder abgeschaltet.
- 2) Noch in der Erprobungsphase.
- 3) Es handelt sich hier um eine mobile Meßstation.

Seit über 10 Jahren liegen aus Meßstationen in Nordrhein-Westfalen Erfahrungen mit dem Dynamischen Daphnientest vor. Nach den ersten positiven Erfahrungen wurden weitere Meßstationen am Rhein und auch in anderen Flußgebieten mit dem Dynamischen Daphnientest der Fa. Elektron ausgestattet. Auf diese Weise konnten die Betreiber vielerlei positive und negative Erkenntnisse gewinnen.

Im technischen Betrieb stellte sich heraus, daß eine Standzeit von 7 Tagen erreicht werden kann, bevor die Testorganismen ausgetauscht werden müssen. Allerdings kann es vorkommen, daß die Daphnien bei zu hohen Temperaturen im System schon vorher absterben. Im Sommer, bei hohem Nahrungsangebot, wurde festgestellt, daß sich die Tiere innerhalb der vorgesehenen Standzeit vermehren. Die damit verbundene Erhöhung der Impulszahlen kann zu Fehlalarmen führen. Die kontinuierliche Zuführung von Testwasser ist nicht immer gewährleistet. So führen hohe Schwebstoffgehalte zu einem Verstopfen der Testkammersiebe und damit zu einem Überlaufen der Testkammern. Wenn durch die Verstopfungen der Durchfluß gestört ist, wird dies vom Gerät nicht zuverlässig registriert. Man erhält trotz vorhandener Durchflußwächter fehlerhafte Meßwerte. Durch Temperaturerhöhungen im System (Temperierung, Beleuchtung) kommt es zu unspezifischen Ausgasungen. Die Luftblasen können den Testwasserfluß unterbrechen. Die Temperierungseinrichtungen sind nicht in der Lage, unter allen Bedingungen eine Temperatur von 20°C zu gewährleisten. Um diese Probleme zu beherrschen und das im übrigen weitgehend inerte Material zu reinigen und gegebenenfalls auszutauschen, ist insgesamt ein Wartungsaufwand von 3 bis 4 Stunden pro Woche am Einsatzort anzusetzen. Dazu kommt der Aufwand für Zucht und Pflege der Testtiere.

*Daphnia magna* hat sich als geeigneter Testorganismus erwiesen. In welchem Alter die Daphnien in das System eingesetzt werden, muß an die Bedingungen jedes Standorts angepaßt werden (Futtermangel im Winter; Jungtierproduktion im Sommer).

Die Schwellenwerte zur Alarmauslösung werden dynamisch ausgelegt. Die dazu notwendige Programmierung erfolgt eigens unabhängig von der Geräteimplementation. Die Auswertung wird dadurch erschwert, daß in rechter und linker Kammer deutlich unterschiedliche Impulsraten auftreten können. Es fehlt noch ein allgemein akzeptierter Algorithmus zur Alarmerkennung. Gerade an dieser Stelle wurde bei allen Anwendern deutlich, daß der Daphnientest nur mit Unterstützung von besonders qualifiziertem Personal ausgeführt werden kann.

Teilweise wurde beim Dynamischen Daphnientest eine im Vergleich zum Dreissena-Monitor geringere Sensitivität beobachtet.

Die aufgezeigten Problempunkte werden Gegenstand des zweiten Anwendertreffens zum Dynamischen Daphnientest am 15./16. November 1995 in Hamburg sein.

#### 4.1.2 Fischtests

Kontinuierliche Strömungsfischttests wurden als erste Biomonitoring in Meßstationen am Rhein eingesetzt. Die damals aktuellen Belastungsarten haben inzwischen an Bedeutung verloren, so daß in den letzten Jahren die Anzahl der Alarme drastisch abgenommen hat.

<b>Biotestverfahren</b>	<b>installiert seit/ab:</b>	<b>Meßstelle, Betreiber</b>	<b>Gewässer</b>
Strömungsfischttest (Kerren)	1990 <sup>1)</sup>	Berlin-Mühlendamm Schleuse, Senatsverwaltung für Stadt- entwicklung und Umweltschutz	Spree Fluß-km 17
Strömungsfischttest (Kerren)	1979	Bremen-Hemelingen, Senator für Frauen, Gesundheit, Jugend, Soziales und Umweltschutz	Weser Fluß-km 361,1
Strömungsfischttest (Kerren)	1993 <sup>2)</sup>	Weil a.R., LfU Baden- Württemberg/Schweizerische Eidgenossenschaft	Rhein Fluß-km 171,3
Strömungsfischttest (Kerren)	1990	Iffezheim, Landesanstalt für Umwelt Baden-Württemberg	Rhein (re) Fluß-km 333,8
Strömungsfischttest (Kerren)	1989	Karlsruhe, Landesanstalt für Umwelt Baden-Württemberg	Rhein (re) Fluß-km 359,2
Strömungsfischttest (Kerren)	1972	Bad Honnef, Landesumwelt- amt Nordrhein-Westfalen	Rhein (re) Fluß-km 640
Strömungsfischttest (Kerren)	1989	Düsseldorf-Flehe, Landesum- weltamt Nordrhein-Westfalen	Rhein (re) Fluß-km 735
Strömungsfischttest (Kerren)	1972	Kleve-Bimmen, Landesumwelt- amt Nordrhein-Westfalen	Rhein (li) Fluß-km 865
Strömungsfischttest (Kerren)	1988	Wesel, Landesumweltamt Nordrhein-Westfalen	Lippe (re) Fluß-km 3,6

Strömungsfischtest (Kerren)	1991 <sup>4)</sup>	Menden, Staatliches Umweltamt Hagen	Hönne
Strömungsfischtest (Kerren)	1994	Schalksmühle, Staatliches Umweltamt Hagen	Volme
Strömungsfischtest (Passavant)	1989 <sup>5)</sup>	Bischofsheim, Hessische Landesanstalt für Umwelt	Main Fluß-km 5
Strömungsfischtest (Passavant/Eigenbau)	1976 <sup>3)</sup>	Mainz-Wiesbaden, Landesamt für Wasserwirtschaft Rheinland-Pfalz	Rhein Fluß-km 498,5
Strömungsfischtest (Passavant)	1976 <sup>3)</sup>	Mainz-Wiesbaden, Landesamt für Wasserwirtschaft Rheinland-Pfalz	Rhein Fluß-km 498,5
Koblenzer Verhaltensfischtest	1993	Koblenz, Bundesanstalt für Gewässerkunde	Rhein Fluß-km 590,4

- 1) Wird mit Ablauf des Jahres 1995 nicht mehr betrieben
- 2) Wegen fehlendem Betreuungspersonal nach halbjährigem Probebetrieb wieder abgeschaltet.
- 3) Mit Inbetriebnahme der Rheingütestation Worms nicht mehr weiter betrieben.
- 4) Wurde 1994 abgeschaltet. Ein neuer Standort wird gesucht.
- 5) Abgeschaltet in 1995

#### **4.1.2.1 Strömungsfischtest Aqua-Tox-Control (Kerren)**

Eine Temperierung des Testsystems ist wegen der großen durchlaufenden Wassermengen in der Regel nicht möglich. Der Testwasserstrom wird nicht überwacht, so daß Ausfälle nicht angezeigt werden. Die Einstellung der Geräteempfindlichkeit ist problematisch und nicht reproduzierbar. Die geforderte Standzeit von 1 Woche wird wegen der geringen Störanfälligkeit eingehalten, zur Wartung werden wöchentlich ca. 2 Stunden vor Ort benötigt.

Es war zeitweise nicht möglich, den Testanforderungen entsprechende Goldorfen zu beziehen. Zu kleine Individuen entweichen aus der Testkammer, zu große können sich verletzen.

Der Alarm wird durch Überschreitung des eingestellten Impulsgrenzwertes angezeigt.

#### **4.1.2.2 Strömungsfischtest Passavant**

Die letzten drei noch in Betrieb befindlichen Fischtests dieser Bauart werden im Laufe des Jahres 1995 außer Betrieb genommen, weil es zum einen viele Fehlalarme gab, zum anderen offensichtliche Gewässerverunreinigungen vom Gerät nicht registriert wurden.

#### **4.1.2.3 Koblenzer Verhaltensfischtest**

Der Koblenzer Verhaltensfischtest mit BehavioQuant<sup>R</sup> wurde im Rahmen des Verbundforschungsvorhabens "Wirkungstests Rhein" weiterentwickelt und wird seitdem in der Meßstation Koblenz von der BfG betrieben. Das Gerät läuft zur Zeit störungsfrei.

### **4.1.3. Muscheltests**

#### **4.1.3.1 Dreissena-Monitor**

Der Dreissena-Monitor findet zunehmende Anwendung in der Gewässerüberwachung. Folgende Erfahrungen der Betreiber liegen vor:

Eine Temperierung ist nicht notwendig. Ein deutlich verringerter Durchfluß beeinflusst die Funktionsfähigkeit des Monitors nicht. Durchflußstörungen treten im Regelfall nicht auf. Die Nachjustierung der einzelnen Muscheln ist relativ aufwendig, erfordert Fingerspitzengefühl und eine längere Einarbeitungszeit. Die Wartungszeit beträgt 2 bis 5 Stunden pro Woche. Die

angestrebte Standzeit von 7 Tagen wird gut erreicht. Ein Nachteil ist jedoch, daß nach Stromausfall die Messung nicht wieder von allein anläuft.

Die Mimik für die Justierung korrodiert relativ schnell (Standzeit unter 1 Jahr).

Da eine Laborzucht der Muscheln nicht möglich ist, erfolgt eine Beschaffung der Tiere aus dem Freiland. Unter Umständen kann diese Beschaffung schwierig sein.

Teilweise wurde eine hohe Sterblichkeit der Tiere festgestellt.

Ein Auswerteprogramm für die dynamische Grenzwertbildung und die Alarmerkennung wird mit dem Gerät mitgeliefert. Zahlreiche plausible Alarme wurden im letzten Jahr registriert (Schmilka/Elbe).

Inaktive Muscheln werden vom Gerät automatisch von der Messung ausgeschlossen und angezeigt.

#### **4.1.3.2 Mossel-Monitor**

Der Mossel-Monitor wird derzeit in Deutschland nur in Koblenz (BfG) betrieben. Dort liegen folgende Erfahrungen vor:

Eine Temperierung ist nicht notwendig. Ein deutlich verringerter Durchfluß beeinflusst die Funktionsfähigkeit des Monitors nicht. Durchflußstörungen treten im Regelfall nicht auf. Eine Nachjustierung der Muscheln ist nicht nötig.

Die Wartungszeit beträgt 30 Minuten/Woche. Bei Neubestückung ist pro Muschel mit 30 Minuten zu rechnen. Die angestrebte Standzeit von 7 Tagen wird erreicht. Das Material ist inert und korrosionsbeständig.

Da eine Laborzucht der Muscheln nicht möglich ist, erfolgt eine Beschaffung der Tiere aus dem Freiland. Unter Umständen kann diese Beschaffung schwierig sein. Die Sterblichkeit der Tiere ist gering. Es werden relativ wenige Tier benötigt.

Ein Auswerteprogramm für die dynamische Grenzwertbildung und die Alarmerkennung wird mit dem Gerät mitgeliefert.

<b>Biotestverfahren</b>	<b>installiert seit/ab:</b>	<b>Meßstelle, Betreiber</b>	<b>Gewässer</b>
Dreissena-Monitor (Borcherding & Volpers)	1994	Schmilka, Staatliche Umweltbetriebsgesellschaft Sachsen	Elbe Fluß-km 4,1
Dreissena-Monitor (Borcherding & Volpers)	vorauss. 1995	Domitzsch, Staatliche Umweltbetriebsgesellschaft Sachsen	Elbe
Dreissena-Monitor (Borcherding & Volpers)	vorauss. 1995	Bad Dübén, Staatliche Umweltbetriebsgesellschaft Sachsen	Mulde
Dreissena-Monitor (Borcherding & Volpers)	vorauss. 1996	Görlitz, Staatliche Umweltbetriebsgesellschaft Sachsen	Neiße
Dreissena-Monitor (Borcherding & Volpers)	1992	Karlsruhe, Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württem- berg	Rhein (re) Fluß-km 359,2
Dreissena-Monitor (Borcherding & Volpers)	vorauss. 1995	Düsseldorf-Rathausufer, Landesumweltamt Nordrhein- Westfalen	Rhein (re) Fluß-km 744,3
Dreissena-Monitor (Borcherding & Volpers)	vorauss. 1995	Hattingen, Ruhrverband	Ruhr (li) Fluß-km 56
Dreissena-Monitor (Borcherding & Volpers)	1992	Fröndenberg, Ruhrverband	Ruhr (re) Fluß-km 111,5
Dreissena-Monitor (Borcherding & Volpers)	1992	Bergheim, Erftverband	Erft
Dreissena-Monitor (Borcherding & Volpers)	1995 <sup>1)</sup>	Schwandorf, Bayerisches Staats- ministerium für Landesentwick- lung und Umweltfragen	Naab Fluß-km 36,9
Mossel-Monitor	1993	Koblenz, Bundesanstalt für Gewässerkunde	Rhein (li) Fluß-km 590,4

1) Noch in der Erprobungsphase. Es handelt sich hier um eine mobile Meßstation.

#### 4.1.4. Algentests

Für kontinuierliche Algenteste liegen bisher sehr wenige Erfahrungen aus dem kontinuierlichen Betrieb am Gewässer vor.

In der bisherigen Laborerprobungsphase sind beim DF-Algentest keine besonderen Probleme aufgetreten. Die Standzeit von 7 Tagen kann bisher aufgrund des zu geringen Nährlösungsvorrates nicht eingehalten werden. Beim LAR/bbe-Algentest, der in Hamburg betrieben wird, zeigen erste Erfahrungen im Freiland keine größeren Probleme. Dieses System zeichnet sich durch besondere Wartungsfreundlichkeit aus. Die angestrebte Standzeit von 7 Tagen wird gut erreicht.

Die Anzucht der Algen im Labor stellt kein Problem dar.

Für die kontinuierliche Auswertung existieren noch keine Erfahrungen.

<b>Biotestverfahren</b>	<b>installiert seit/ab:</b>	<b>Meßstelle, Betreiber</b>	<b>Gewässer</b>
DF-Algentest (Uni Regensburg)	1995 <sup>1)</sup>	Bischofsheim, Hessische Landesanstalt für Umwelt	Main Fluß-km 5
DF-Algentest (Uni Regensburg)	1995 <sup>2)</sup>	Schwandorf, Bayerisches Staatsministerium für Landesentwicklung und Umweltfragen	Naab Fluß-km 36,9
DF-Algentest (Uni Regensburg)	vorauss. 1995	Karlsruhe, Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg	Rhein (re) Fluß-km 359,2
DF-Algentest (Uni Regensburg)	vorauss. 1996	Worms, LfU Baden-Württemberg LfU Hessen, LfW Rheinland-Pfalz ,	Rhein (li) Fluß-km 443
bbe-Algentoximeter	vorauss. 1996	Blankenese, Amt für Umweltuntersuchungen der Umweltbehörde Hamburg	Elbe (re) Fluß-km 634,3
Algentoximeter (LAR)	1995	Seemannshöft, Amt für Umweltuntersuchungen der Umweltbehörde Hamburg	Elbe (li) Fluß-km 628,8
FluOx-Algentest	vorauss. 1995 <sup>1)</sup>	Bad Honnef, Landesumweltamt Nordrhein-Westfalen	Rhein (re) Fluß-km 640
bbe-Algentoximeter	1995	Seemannshöft, Amt für Umweltuntersuchungen der Umweltbehörde Hamburg	Elbe (li) Fluß-km 628,8

1) Noch in der Erprobungsphase.

2) Es handelt sich hier um eine mobile Meßstation.

#### **4.1.5 Bakterientests**

Zur Zeit werden die Geräte Toxiguard - mit Aufwuchsbakterien - und Toxalarm - mit frei beweglichen Bakterien - zur Gewässerüberwachung eingesetzt, Leuchtbakterientestgeräte sind zur Zeit in Entwicklung bzw. Erprobung.

##### **4.1.5.1 Toxiguard und Toxalarm**

Probleme treten durch das Zuwachsen der Schläuche mit Bakterien auf. Der durch notwendige Spülungen bedingte Wartungsaufwand liegt bei ca. 3 h pro Woche. Die Standzeit liegt zwischen 3 und 7 Tagen, eine tägliche Wartung ist zu empfehlen.

Es werden Bakterienpopulationen aus dem Testgewässer angezogen, die im Jahresgang hinsichtlich ihrer physiologischen Eigenschaften nicht stabil sind. In den Wintermonaten wächst der Biofilm im Toxiguard-Gerät oft sehr langsam an.

Spezielle Auswerteprogramme sind zur Zeit nicht verfügbar, andererseits sind Alarme leicht erkennbar.

Nach den vorliegenden Erfahrungen ist das Bakterientoximeter `Toxalarm` besonders wartungsintensiv bzw. störanfällig. Die größte Schwachstelle des Gerätes sind die für Verstopfungen sehr anfälligen dünnen Schläuche. Durch tägliches Spülen (10 Minuten) aller testwasser - und/oder bakteriensuspensionfördernder Schläuche mit 2 %iger Citronensäure kann der Bewuchs der Schläuche auf ein akzeptables Maß reduziert werden. Der Wartungsaufwand bewegt sich damit allerdings nicht in dem Rahmen, der für eine kontinuierlich arbeitende Meßstation vorausgesetzt wird.



<b>Biotestverfahren</b>	<b>installiert seit/ab:</b>	<b>Meßstelle, Betreiber</b>	<b>Gewässer</b>
Bakterientest `Toxalarm` (LAR)	1990 <sup>3)</sup>	Berlin-Mühlendamm Schleuse, Senatsverwaltung für Stadtent- wicklung und Umweltschutz	Spree Fluß-km 17
Bakterientest `Toxiguard`	1993	Koblenz, Bundesanstalt für Gewässerkunde	Rhein (li) Fluß-km 590,4
Bakterientest `Toxalarm` (LAR)	1988	Seemannshöft, Amt für Umweltuntersuchungen der Umweltbehörde Hamburg	Elbe (li) Fluß-km 628,8
Bakterientest `Toxalarm` (LAR)	1988	Blankenese, Amt für Umwelt- untersuchungen der Umwelt- behörde Hamburg	Elbe (re) Fluß-km 634,3
Leuchtbakterientest (Uni Regensburg)	vorauss. 1996 <sup>2)</sup>	Schwandorf, Bayerisches Staats- ministerium für Landesentwick- lung und Umweltfragen	Naab Fluß-km 36,9
BioLum-Leuchtbakterientest	vorauss. 1995 <sup>1)</sup>	Bad Honnef, Landesumweltamt Nordrhein-Westfalen	Rhein (re) Fluß-km 640

1) Noch in der Erprobungsphase.

2) Es handelt sich hier um eine mobile Meßstation.

3) Wird mit Ablauf des Jahres 1995 nicht mehr weiter betrieben.

#### **4.2 ERFAHRUNGEN IN DEN NIEDERLANDEN (DBW/RIZA)**

Seit den 70er Jahren werden in den Niederlanden kontinuierliche Biotestverfahren zur Gewässerüberwachung eingesetzt. In den 80er Jahren wurden die anfänglich eingesetzten Fischtestsysteme nach Spoor et al. (1977) und Poels (1977) durch den Strömungsfischttest nach Juhnke und Besch (1971) ersetzt. (z. Literatur: s. UBA-Berichte 1/95)

Im Jahre 1988 wurden gemeinsam von DBW/RIZA (Dienst für Binnengewässer/Institut für Inlandwassermanagement und Abwasserbehandlung) und einigen Trinkwasserversorgungsunternehmen Biotestsysteme einer Prüfung unterzogen. Hierbei kristallisierten sich lediglich der Strömungsfischttest und der Dynamische Daphnientest als geeignete Testsysteme heraus. Beide Biomonitoring wurden in Kontrollstationen an Rhein und Maas installiert, wobei der Strömungsfischttest bereits im Rahmen des laufenden Überwachungsprogramms betrieben wurde.

Während des Einsatzes in der Meßstation Lobith am Rhein sowie an der Maas zeichnete sich der Strömungsfischttest durch geringe Fehlalarmhäufigkeit, einfache Bedienungsweise und einen vergleichsweise geringen Wartungsaufwand von rund 6 Stunden pro Woche aus. Als Mängel erwiesen sich die fehlenden Eichungsmöglichkeiten der Empfindlichkeitseinstellung und die fehlende EDV-Ausstattung.

In den Jahren 1988 und 1989 zeigte der Strömungsfischttest rund 20 Alarme. In einigen Fällen wurden erhöhten Konzentrationen verschiedener Stoffe festgestellt. Bei dem im Februar 1989 in der Meßstation Lobith registrierten Alarm wurden gleichzeitig erhöhte Konzentrationen an Fluoranthen, Pyren und Trioxan gemessen. Analysen wurden jedoch nicht bei allen Biotestalarmen durchgeführt oder fielen negativ aus. 1990 wurden nur noch 3 Alarme am Rhein und nur noch in einem Fall ein Alarm an der Maas registriert. Infolge der verbesserten Wasserqualität erwies sich der Strömungsfischttest zunehmend als zu unempfindlich. 1991 wurden an der Maas 2 Alarme registriert. Die chemische Analyse ergab erhöhte Konzentrationen von 7  $\mu\text{g/l}$  Tributylphosphat bzw. 18  $\mu\text{g/l}$  Trichlormethan.

Neben dem Strömungsfischttest wurde der Dynamische Daphnientest in niederländischen Meßstationen erprobt. Es zeigte sich, daß der Dynamische Daphnientest aufgrund seiner schwierigeren Handhabung umfassende Erfahrungen im Umgang mit dem Testsystem erforderte. Bei hohen Schwebstoffgehalten traten Probleme im Testablauf auf, welche durch den Einbau von Filtrierungseinrichtungen behoben werden konnten. Bei Wassertemperaturen von rund 20°C innerhalb der einwöchigen Testphase traten Jungtiere auf. Bei 17°C +/- 1°C konnte zwar das Auftreten von Jungtieren verzögert werden, in Verbindung mit der Temperaturreduzierung kam es jedoch zur Bildung von Luftblasen.

Um Fehlalarme zu vermeiden, wurden die Alarmkriterien dahingehend modifiziert, daß ein Alarm erst dann ausgelöst wird, wenn in beiden Kammern die dynamischen Alarmschwellen über- bzw. unterschritten werden.

Der Wartungsbedarf beträgt beim Dynamischen Daphnientest nach den Erfahrungen in niederländischen Meßstationen etwa einen halben Tag pro Woche.

## **5. MÖGLICHKEITEN UND GRENZEN KONTINUIERLICHER BIOTEST-VERFAHREN - EMPFEHLUNGEN ZUM EINSATZ**

### **5.1 MÖGLICHKEITEN UND GRENZEN DER FLIEBGWÄSSERÜBERWACHUNG MIT KONTINUIERLICHEN BIOTESTVERFAHREN**

Zur Überwachung der Wasserqualität werden in Meßprogrammen derzeit überwiegend chemisch-physikalische Methoden eingesetzt. Anhand der Konzentrationen der analysierten Stoffe können Wirkungen von Stoffen im Gewässer einschließlich synergistischer und antagonistischer Effekte von Stoffgemischen nur unzulänglich abgeschätzt werden. Diese kann nur durch biologische Systeme direkt erfaßt werden. Dabei können von kontinuierlichen Biotestverfahren auch solche Schadstoffe mit biologischer Wirkung erkannt werden, die nicht in analytischen Untersuchungsrastern enthalten sind oder die eine sehr hohe Nachweisgrenze haben.

Die im Biotestsystem betrachteten Reaktionen der Organismen sind in der Regel unspezifisch (integrale Testkriterien wie Schwimmverhalten, Leuchten, Sauerstoffproduktion usw.), d.h. im Hinblick auf eine angezeigte Schadwirkung ist kein Rückschluß auf den oder die zugrundeliegenden Stoffe möglich. Wenn neben der wichtigen Information über die Anwesenheit einer Schadstoffwelle im Gewässer diese auch qualitativ und quantitativ beschrieben werden soll, ist die chemische Analytik unverzichtbar. Häufig können die für einen Alarm ursächlichen Stoffe jedoch nicht ermittelt werden. Denn trotz ausgefeilter Analysentechnik ist nur ein bestimmter Ausschnitt der in Gewässern vorhandenen Stoffvielfalt zu erfassen. Außerdem können die Bestimmungsgrenzen der Analysenverfahren über den für Organismen schädlichen Konzentrationen liegen oder Schadstoffspitzen durch die Strategie einer Mischprobenentnahme verwischt werden. Auch Kombinationswirkungen von Stoffgemischen, in denen einzelne Konzentrationen nicht auffällig erhöht sind, oder von Stoffen im Zusammenhang mit den im Gewässer vorliegenden Bedingungen können ursächlich für eine Alarmauslösung sein.

Eine fehlende Identifizierung des die Organismen beeinträchtigenden Stoffes ist insofern unbefriedigend, als dadurch zwei Ziele eines zeitnahen Überwachungssystems nur unvollständig erreicht werden können: Die Suche nach dem Verursacher gestaltet sich schwierig, weil nicht rückwirkend mit denselben Methoden Immissions- und Emissionsproben analysiert werden können, und die fehlende Identifizierung erschwert Wasserwerken eine Beurteilung, ob und welche zusätzlichen Maßnahmen ggf. zum Schutz des Trinkwassers ergriffen werden müssen, wenn ein Abstellen der Wasserentnahme, z.B. bei Entnahme mittels Uferfiltration, nicht direkt möglich ist.

Aufgrund der mit anderen Methoden nicht zu erhaltenden direkten Informationen über kurzfristige Wirkungen von stoßartigen Gewässerverunreinigungen stellen kontinuierliche Biotestverfahren nach Ansicht des LAWA-Arbeitskreises "Biomonitoring" trotz der genannten Einschränkungen eine notwendige Ergänzung zu physikalisch-chemischen Analyseverfahren bei der Gewässerüberwachung dar:

- Sie ermöglichen eine kontinuierliche, zeitnahe Erfassung der Wirkung von Stoßbelastungen.
- Sowohl positive (Alarm) als auch negative (Entwarnung) Testergebnisse können direkt zur Bewertung von analytisch nachgewiesenen Stoßbelastungen herangezogen werden.
- Die Feststellung einer Schädigung im kontinuierlichen Biotest ist stets ein Hinweis auf eine potentielle Schädigung der Gewässerbiozönose. Sie kann daher Veranlassung sein, weitergehende biologische Untersuchungen durchzuführen, um Auswirkungen auf die Gewässerbiozönose festzustellen, von der die Testorganismen ja nur einzelne trophische Niveaus repräsentieren. So wurden beispielsweise an verschiedenen Stellen im Rhein künstliche Substrate ausgebracht, die im Alarmfall unabhängig vom Wasserstand unverzüglich auf ihre Besiedlung hin überprüft werden können.
- An kleineren Flüssen, an denen aufgrund ihrer geringen Grundbelastung keine umfangreichen chemischen Überwachungsprogramme durchgeführt werden, können kontinuierliche Biotestverfahren bei Stoßbelastungen als "Trigger" für weitergehende chemische Analysen eingesetzt werden.
- An allen Gewässern geht von einer kontinuierlichen Überwachung auch eine nicht zu unterschätzende Abschreckung für illegale Einleiter aus.

## 5.2 FAZIT UND EMPFEHLUNGEN

Zur Ausweitung der kontinuierlichen biologischen Gewässerüberwachung werden auf Grundlage der Ergebnisse des Verbundforschungsvorhabens und der Erfahrungen, die darüber hinaus in den einzelnen Ländern gemacht wurden, von dem LAWA-Arbeitskreis "Biomonitoring" folgende Empfehlungen zum Einsatz und Betrieb der Testsysteme an Gewässern ausgesprochen:

Kontinuierliche Biotestverfahren sind für die Detektion von Schadstoffspitzenbelastungen in Fließgewässern grundsätzlich geeignet. Zur ersten zeitnahen Abschätzung der Wirkung sind sie sogar unverzichtbar. Da Biotestverfahren verschiedener trophischer Ebenen untereinander nicht ersetzbar sind, ist anzustreben, in geeigneten Meßstationen jeweils eine Testbatterie mit Funktionsträgern unterschiedlicher trophischer Ebenen zu implementieren.

Zu den generellen Anforderungen an biologische Testsysteme gehören die Plausibilität der Meßdaten und die gerätetechnische Zuverlässigkeit im routinemäßigen Betrieb. Die bisher bei den

Länderbehörden gewonnenen Erfahrungen mit dem Betrieb einzelner kontinuierlicher Biotestgeräte lassen es nicht zu, bestimmte Geräte oder Verfahren uneingeschränkt zu empfehlen. Vielmehr besteht für Verfahren jeder Trophieebene noch Entwicklungs- und Erprobungsbedarf.

Nach dem derzeitigen Kenntnisstand lassen sich aus Sicht des **LAWA-Arbeitskreises "Biomonitoring"** für die einzelnen Trophieebenen folgende Empfehlungen zum Einsatz von Biotestautomaten formulieren:

**Destruenten (Bakterien):**

Keiner der derzeit auf dem Markt befindlichen und von Länderbehörden erprobten Bakterientests ist für die Fließgewässerüberwachung geeignet. Es sollte deshalb die derzeit noch nicht abgeschlossene Entwicklung der Leuchtbakterien-Testautomaten abgewartet werden.

**Produzenten (Algen):**

Hier bieten sich aufgrund der Ergebnisse des Verbundforschungsvorhabens Fluoreszenz-Algentests an. Empfehlungen für ein bestimmtes Algentestgerät können derzeit nicht ausgesprochen werden. Die laufende Praxiserprobung der auf dem Markt befindlichen unterschiedlichen Geräte bleibt abzuwarten.

**Primärkonsumenten (Daphnien, Muscheln):**

Die Beobachtung des Schwimmverhaltens der Daphnien als Testkriterium hat sich bewährt. Bezüglich der Meßaufnahme des Schwimmverhaltens bestehen derzeit noch erhebliche Mängel bei den auf dem Markt befindlichen Geräten. Daraus ergeben sich zeitweilig Probleme bei der Auswertung der Meßverläufe und damit der automatischen Alarmerkennung. Hinsichtlich der gerätetechnischen Zuverlässigkeit müssen beim Dynamischen Daphnientest vom Hersteller noch entscheidende Verbesserungen vorgenommen werden.

Die vorhandenen Muscheltests (Dreissena-Monitor, Mossel-Monitor) arbeiten an ihren Einsatzorten bislang weitgehend zuverlässig. Problematisch ist u. U. die Beschaffung der Testorganismen im Freiland. Die konzeptionellen und technischen Unterschiede zwischen den beiden Tests müssen für jeden neuen potentiellen Standort neu bewertet werden. Eine eindeutige Präferenz kann an dieser Stelle nicht ausgesprochen werden.

**Sekundärkonsumenten (Fische):**

Die in der Vergangenheit eingesetzten Strömungsfischttests genügen den heutigen Anforderungen vielfach nicht mehr. Vielversprechend sind dagegen die Ergebnisse, die während der Entwicklung

und des Einsatzes des Koblenzer Verhaltensfischtests mit BehavioQuant<sup>R</sup> gewonnen wurden. Zur endgültigen Beurteilung dieses Tests fehlt lediglich noch ein weiterer Probelauf an einem anderen Standort.

### **5.3 RANDBEDINGUNGEN BEIM BETRIEB VON KONTINUIERLICHEN BIOTEST-VERFAHREN**

Beim Betrieb von kontinuierlichen Biotestverfahren in Meßstationen sind aufgrund der vorliegenden Erfahrungen folgende Anforderungen zu beachten:

Es hat sich gezeigt, daß Anpassungen der Testgeräte an die lokalen Bedingungen unverzichtbar sind. Sie sollten daher Bestandteil der Installation und des laufenden Betriebs sein. Zu nennen sind beispielsweise die Zufütterung bei mangelndem Nahrungsangebot für die Testorganismen oder die Einstellung der Empfindlichkeit der Alarmauslösung, die als optimale Balance zwischen "Fehlalarmen" und zu schwacher Reaktion anzusehen ist.

In der Meßstation müssen Bedingungen herrschen (Klima, Beleuchtung usw.), welche die Testorganismen nicht beeinträchtigen.

Eine ständige on-line Übertragung der Biotest-Daten zum betreuenden Personal bzw. zur Alarmzentrale muß bei einem biologischen Frühwarnsystem gewährleistet sein.

Alarmsituationen müssen interpretiert werden unter Berücksichtigung einer Anzahl von Umweltparametern, die Organismen beeinflussen, aber nicht notwendigerweise schädlich sind (z. B. Temperatur, pH-Wert, elektr. Leitfähigkeit, Trübung).

Bei der Suche nach den Ursachen einer Alarmauslösung darf man sich weder auf die üblichen Rückstellproben (Tagesmischproben) noch auf ereignisgesteuerte Probennahmen alleine verlassen. Es empfiehlt sich, parallel zu den kontinuierlichen Biotests eine rechnergesteuerte Probennahmeeinrichtung (z. B. selbstentleender (Rückstell-) Probennehmer) zu betreiben, bei der Mischproben jeweils über einen kurzen Zeitraum (z. B. 1 Stunde) entnommen und im Falle eines Alarmereignisses nicht verworfen werden.

Selbst bei weitgehender Automation der Messung und Datenaufbereitung ist zum sachgerechten Betrieb (Wartung und Pflege) und zur fachkundigen Beurteilung der von den Systemen gelieferten Daten besonders qualifiziertes Personal erforderlich.

Während die Geräte so ausgelegt sein sollen, daß die routinemäßige Wartung mit technischem Personal, z. B. Biol.-Techn. Assistenten durchgeführt werden kann, ist im Zuge der Implementation und bei der Beurteilung von Alarmsituationen höher qualifiziertes Personal erforder-

lich. Dies betrifft im Alarmfall z. B. die Interpretation der biologischen Vorgänge der Schädigung, die Beurteilung des Grades der potentiellen Schädigung des Ökosystems und die Herstellung der Bezüge zum chemischen Monitoring. Auch die Einrichtung und Anpassung eines neuen Meßplatzes an die örtlichen Gegebenheiten ist ohne die fachkundige Beurteilung und ggf. Beeinflussung aller auf die Testorganismen und ihre Reaktionen einwirkenden Faktoren nicht möglich.

#### **5.4 AUSBLICK**

Der oben aufgezeigte Entwicklungs- und Erprobungsbedarf belegt, daß das hier erarbeitete Papier zukünftig fortgeschrieben werden muß. Nachdem die offenen Probleme gelöst sind, wird es möglich sein, zu konkreteren Empfehlungen für kontinuierliche Biotestsysteme zu gelangen.

Die relativ kleine Zahl der Anwender sollte sich regelmäßig miteinander fachlich austauschen, damit beispielsweise technische Detaillösungen unmittelbar für alle Anwender verfügbar gemacht werden können.

Dabei könnten darüber hinaus Vorschläge erarbeitet werden, wie kontinuierlichen Biotests in mobilen Meßstationen an kleinen Fließgewässern betrieben werden können.

Sowohl für die hier näher betrachteten kontinuierlichen Biotestsysteme als auch für Geräte, die sich an Fließgewässern als zu unempfindlich erwiesen haben, eröffnet sich mit der Möglichkeit, direkt Emittenten zu überwachen, ein neues weites Anwendungsfeld. Die Beurteilung dieses für den Gewässerschutz wichtigen Aspektes wird Gegenstand eines weiteren Papiers des LAWA-Arbeitskreises "Biomonitoring" sein.

#### **Literatur:**

Bund/Länder-Projektgruppe "Wirkungstests Rhein" (WIR): Kontinuierliche Biotestverfahren zur Überwachung des Rheins. UBA-Berichte 1/95, Erich Schmidt Verlag, Berlin 289 S, 1995.

**Kontinuierliche Biotestverfahren zur Gewässerüberwachung – Übersicht zu den Empfehlungen in Kapitel 5.2**

**(Stand Oktober 1995)**

*Dateiname: Tabelle-S-24-25.doc*





## Kurzbeschreibung der kontinuierlichen Biotestverfahren \*)

\*) bis auf 8. '1 Hz-Fluoreszenz-Toximeter' entnommen aus: "UBA-Texte 34/94: Kontinuierliche Biotestverfahren zur Überwachung des Rheins. - Zusammenfassung, Empfehlungen und Darstellungen der Testverfahren."

### 1. Dynamischer Daphnientest

*Daphnia magna* STRAUS gehört in die Klasse der Krebstiere (Crustacea) und nimmt als Konsument niederer Ordnung eine ökologisch bedeutende Stellung zwischen den Destruenten (z. B. Bakterien) bzw. Primärproduzenten (z. B. Algen) und den Konsumenten höherer Ordnung (z.B. Fischen) in der Nahrungskette ein. Im statischen Daphnientest (nach DIN 38412 Teil 11 und 30) wird im Rahmen von Substanz- und Abwasseruntersuchungen die Schwimmfähigkeit der Daphnien nach 24 h bestimmt.

Der Dynamische Daphnientest wurde im Landesamt für Wasser und Abfall NRW entwickelt und wird als automatischer Biomonitor zur kontinuierlichen Gewässerüberwachung seit 1982 in Nordrhein-Westfalen eingesetzt. Im Dynamischen Daphnientest nach KNIE dient die Änderung der Schwimmaktivität als Testkriterium: Im Durchflußsystem wird die Schwimmaktivität von Daphnien mit Hilfe von Lichtschranken registriert. Sobald Veränderungen in der Qualität des Testwassers auftreten, reagieren die Tiere mit Abweichungen ihres Schwimmverhaltens. Sie schwimmen langsamer oder reagieren mit gesteigerten Aktivitäten. Das Testsystem der Fa. Elektron besteht im wesentlichen aus 2 Testkammern mit einem selbstansaugenden Pumpensystem. Mit optischen Sensoren werden die Verhaltensänderungen in einem bestimmten Meßzyklus gemessen und als Impulse elektronisch ausgewertet. Der Parameter "Impulse pro 10-Minuten-Meßzyklus" beider Meßkammern wird automatisch an einen Computer gesendet. Bei Überschreitung eines definierten Grenzwertes wird ein Alarm ausgelöst.

Abb. 1: Schemazeichnung des Dynamischen Daphnientests

## **2. Koblenzer Verhaltensfischtest**

Beim Koblenzer Verhaltensfischtest mit dem Meßsystem Behavioquant werden Verhaltensänderungen von Fischen in Anhängigkeit von schädigenden Wasserinhaltsstoffen registriert. Als Meßgröße werden sechs Verhaltensparameter von zwei Testfischschwärmen - bestehend aus jeweils 6 Goldorfen - herangezogen. Für jedes einzelne Tier werden Motilität (zurückgelegter Weg pro Zeiteinheit), Bewegungsin Konstanz, mittlere Schwimmhöhe, mittlere horizontale Position und Zahl der Wendungen pro Zeiteinheit erfaßt. Als weiteres, ökotoxikologisch relevantes Kriterium wird das Abstandsverhalten der Tiere innerhalb des Schwarms gemessen und bewertet.

Flußwasser wird mit einer geringen Durchflußrate, die keine rheotaktische Reaktion auslöst, durch zwei Meßaquarien geleitet. Die Fische werden mit je einer Videokamera pro Meßaquarium über einen Spiegel, der im 45° Winkel vor dem Meßaquarium angebracht ist, kontinuierlich im 15-Minuten-Rhythmus für jeweils 2 Minuten beobachtet. Die Kameras sind über einen Multiplexer gekoppelt, der insgesamt 16 Videokameras verwalten kann. Das fortlaufende Video-

signal wird digitalisiert und in einem PC mit einer systemeigenen Software ausgewertet. Die aktuelle Messung wird jeweils mit den Messungen der vorangegangenen 2 Stunden statistisch verglichen und hinsichtlich eines Gewässeralarms bewertet.

Abb. 2: Schemazeichnung des Koblenzer Verhaltensfischtests

### 3. Mosselmonitor

Im Mosselmonitor<sup>R</sup> wird die Distanz der beiden Schalenhälften der Zebrauschel *Dreissena polymorpha* ermittelt. Die Abstandmessung erfolgt unter Ausnutzung der elektromagnetischen Induktion mit Hilfe zweier auf den Schalenhälften befestigten Spulen. Die aufgenommenen Daten werden intern mittels eines Mikrocomputers mit integrierter Software anhand festgelegter Kriterien ausgewertet. Die Weite der Schalenöffnung wird in ihrem zeitlichen Verlauf betrachtet,

dabei werden hinsichtlich eines möglichen Schadstoffeinflusses die vier Alarmkriterien "Schalen geschlossen", "Ansteigende Schalenbewegungsaktivität", "Abnehmende Schalenöffnungsweite" und "Tod der Muschel" individuell für jede der 8 eingesetzten Muscheln erfaßt. Werden die eingestellten Schwellenwerte überschritten, wird ein Alarm ausgelöst.

Abb. 3: Schemazeichnung des Mosselmonitors

#### **4. Dreissena-Monitor**

Das Testprinzip des Dreissena-Monitors beruht auf den Schalenbewegungen der Süßwassermuschel *Dreissena polymorpha*. Testgrundlage ist ein digitales Ja-Nein-Signal, das durch den Einfluß eines auf der Muschelschale befestigten Magneten auf einen Reed-Schalter erzeugt wird.

Das Testwasser fließt durch zwei Flußwasserrinnen, in denen jeweils bis zu 42 Muscheln angebracht sind. Über ein Zeitintervall von 5 Minuten werden der Prozentsatz offener Muscheln und die Häufigkeit der Schalenbewegungen per Computer berechnet und on-line bezüglich einer möglichen Schadstoffwirkung ausgewertet. Sinkt der prozentuale Anteil offener Muscheln oder steigt die Häufigkeit der Schalenbewegungen sprunghaft an, so deutet dies auf einen Schadstoffeinfluß hin.

Abb.4: Aufbau des Dreissena-Monitors

### **Algentests**

Algentoxische Substanzen (z. B. Herbizide) greifen sehr häufig in die Photosyntheseprozesse ein und führen zu Minderungen der photosynthetischen Aktivität. Anhand von Messungen der Sauerstoffproduktion und der Fluoreszenzsignale können toxische Substanzen im Gewässer detektiert werden.

Bei Schädigungen der Photosynthese verändert sich sowohl die spontane, variable als auch die verzögerte Fluoreszenz. Photosynthetisch nicht verwertete Energie wird u.a. als spontane in-vivo Chl $a$ -Fluoreszenz emittiert (685 nm). Vitale und intakte Algen geben nur geringe Mengen an Fluoreszenz ab, während bei einer Schädigung der Algen mit algiziden Stoffen (z. B. Herbiziden) die Fluoreszenz zunimmt. Die Eigenschaft von Pflanzen, nach Belichtung im Dunkeln Licht abzustrahlen, wird als verzögerte Fluoreszenz ('Delayed Fluorescence' DF), bezeichnet. Die Abklingkinetik der verzögerten Fluoreszenz wird durch Photosyntheseinhibitoren verändert und kann als Indiz für algentoxische Substanzen herangezogen werden.

## 5. DF-Algentest

Der DF-Algentest (DF = Delayed Fluorescence) zur Messung der verzögerten Fluoreszenz besteht aus einem Zweikanal-DF-Fluorometer, der einen direkten Vergleich der Abklingkurven der Referenzprobe mit der schadstoffbelasteten Probe ermöglicht. Als Referenzprobe kann synthetisches Testwasser, Leitungswasser oder eine Rückstellprobe des Gewässers verwendet werden. Zur Verstärkung der Meßsignale wird ein Photomultiplier zwischengeschaltet.

Abb. 5: Schema des DF-Algentests

In regelmäßigen Teilabständen wird die Abklingkurve der verzögerten Fluoreszenz für eine Probe und Referenz gemessen. Die Analyse der Abklingkurven, d.h. die Differenz von Form und Flächenintegral unter den Probe- bzw. Referenz-Kurven ist ein Maß für die Schädigung durch vorhandene Giftstoffe. Die Anzucht der Testorganismen erfolgt in einem Bioreaktor nach dem chemostatischen Prinzip. Als Testorganismen können verschiedene Grün- und Blaualgen eingesetzt werden. Der im Gerät integrierte Steuerrechner enthält einen zweikanaligen Photonen-zähler und steuert den zeitlichen Ablauf des Meßvorgangs. Er ist mit einem PC verbunden. Dieser berechnet die Flächendifferenz der Abklingkurven, stellt die Meßwerte dar und druckt sie aus und leitet diese, sowie Alarmmeldungen, an einen Zentralrechner weiter.

## 6. FluOx-Algentest

Zur kombinierten Erfassung von Fluoreszenz- und Sauerstoffsignalen wurde der FluOx-<sup>R</sup> Algentest entwickelt, mit dem kontinuierlich die photosynthetische Aktivität einer Algensuspension im Wasser gemessen wird. Unter Verwendung eines Puls-Amplituden-Modulations-Fluorometers werden verschiedene Fluoreszenzsignale erzeugt. Zusätzlich wird die Sauerstoffentwicklung erfaßt.

Abb. 6: Schema des FluOx-Algentests



Mit moduliertem Fluoreszenzmeßlicht werden in zeitlicher Abfolge die Grundfluoreszenz, die maximale Fluoreszenzausbeute sowie die Kurvenverläufe des schnellen Anstiegs und der langsamen Abnahme der Fluoreszenz und die Sauerstoffproduktionsrate gemessen. Anschließend werden mehrere, aufeinanderfolgende Lichtblitze zur Bestimmung des Elektronenflusses der Elektronentransportkette, der Membranspannung und der Quantenausbeute am Photosystem II gegeben. Ein wichtiges Vitalitätskriterium ist die Höhe der maximalen Fluoreszenz, gemessen als Verhältnis der maximalen Fluoreszenz zur Grundfluoreszenz. Insgesamt werden 11 Parameter berechnet, die Rückschlüsse über die Art und den Umfang einer möglichen Schädigung der Photosynthese zulassen.

## **7. Biosens-Algentoximeter**

Mit dem Biosens-Algentoximeter wird die prompte Fluoreszenz über Impulslichtanregung gemessen. Das Testgerät besteht im Prinzip aus einer Fluoreszenz-Meßeinrichtung (dem Fluorometer), einem Algenkulturautomaten und einem MSR-Computer. Der Fluorosensor umfaßt eine Xenon-Hochdruck-Blitzlampe zur Impulslichtanregung bei 435 nm und eine Silizium-Photodiode zur Detektion des Fluoreszenzsignals bei 685 nm.

Abb. 7: Schema des Biosens-Algentoximeters

Im kurzen Abstand von 8 Sekunden wird eine Blitzfolge von 8 Einzelblitzen ausgelöst. Die Auswertung der Fluoreszenzintensität erfolgt im stationären Bereich als Mittelwert aus den Fluoreszenzintensitäten der Blitze  $F_4$  bis  $F_8$ . Jeder Meßzyklus besteht aus 3 Meßvorgängen, in denen jeweils die Fluoreszenzintensität der Wasserprobe, der Algenkultur und der Testküvette bestimmt wird. Aus dieser Rechnung leitet sich der Bewertungsparameter, der sogenannte ET-Wert (ET = Effektive Toxizität) ab. Der gesamte Meßablauf und die Datenerfassung erfolgen computergesteuert. Die Testalge wird in einem Glasfermenter nach einem turbidostatischen Verfahren kultiviert, so daß sie in einem gleichbleibenden physiologisch definierten Zustand für den Test herangezogen werden kann.

### **8. 1-Hz-Fluoreszenz-Toximeter**

Das 1-Hz-Fluoreszenz-Toximeter testet kontinuierlich Wasser auf toxischer Substanzen. Hierfür werden automatisch und unabhängig vom Probenwasser Algen gezüchtet. Die gezüchteten, standardisierten Algen werden zum Testwasser hinzudosiert und die Konzentration des aktiven Chlorophylls bzw. dessen Photosyntheseleistung mit dem 1 Hz-Fluorometer bestimmt.

Abb. 8: 1-Hz-Fluoreszenz-Algentoximeter

Bei Schädigung der Algen z.B. durch Herbizide verändert sich die Konzentration des aktiven Chlorophylls bzw. dessen Aktivität und es wird ein Alarm ausgelöst. Zur Erhöhung der Empfindlichkeit und Meßsicherheit wird im Gerät zusätzlich eine weitergehende automatische Fluoreszenzanalyse durchgeführt, die Fluoreszenzveränderungen im Sekundenbereich abtastet und auf markante Veränderungen untersucht. Zusätzlich arbeitet das 1-Hz-Fluoreszenz-Toximeter als Meßgerät zur präzisen Bestimmung der Algenkonzentration im Wasser. Diese Messung entspricht der des bbe 1Hz-Fluorometers A42A03. Neben der hohen Empfindlichkeit zeichnet sich das Gerät aus durch selbständige Korrektur der Probenparameter bei Blau- und Grünalgen, automatische Reinigung der Kammer und der Zuleitung, Zuchtkontrolle über Lebend-chlorophyllmessung, geringe Algenzudosierung zur Erhöhung des Schadstoff-pro-Alge-Verhältnisses, präzise - von alternden Pumpenschläuchen unabhängige - Algendosierung. Alle Abläufe und Werte- bzw. Alarmausgaben werden durch einen integrierten Rechner gesteuert.

## **Bakterientests**

Bakterien spielen insbesondere bei der Kläranlagen- und auch bei der Abwasserüberwachung als Testorganismen eine große Rolle. Eine Vielzahl von Bakterientests basieren auf der Messung der Atmungsintensität. Beim Leuchtbakterientest dient die Leuchtintensität als Meßkriterium. Im statischen Leuchtbakterientest, normiert nach DIN 38412, Teil 34, wird die nach 30 min Kontaktzeit gemessene Abnahme der Leuchtintensität von *Photobacterium phosphoreum* gegenüber einem Kontrollansatz als Testkriterium verwendet.

### **9. Regensburger Leuchtbakterientest**

Die Meßtechnik zur Registrierung der verzögerten Fluoreszenz (s. DF-Algentest) ist geeignet, auch das Lumineszenzsignal von Leuchtbakterien aufzunehmen. Als Modifikation des DF-Algentests wurde von der Universität Regensburg ein Leuchtbakterientest entwickelt. Testkriterium ist auch bei diesem Testgerät die Hemmung der Lumineszenz von *Photobacterium phosphoreum*.

Wie der DF-Algentest ist der Leuchtbakterientest mit zwei Meßkanälen für Referenz und Probe ausgestattet. Der Meßzyklus beginnt mit der Probenahme, wobei jeweils eine aktuelle Gewässerprobe sowie eine Referenzprobe mit Reinwasser angelegt wird. Zur Bevorratung der Leuchtbakterien wurde ein Peltier-Kühlthermostat in das Gerät integriert. Der Apparat wurde um eine Einrichtung zum Zudosieren einer Salzlösung ergänzt. Mittels einer konzentrierten Salzlösung wird ein Salzgehalt von 30 g/l eingestellt. Danach werden jeweils 100 µl einer

Leuchtbakteriensuspension mit den Proben vermischt. Jede Sekunde wird anschließend die Lumineszenzintensität gemessen. Die Intensität der Lumineszenz wird über 15 Minuten verfolgt. Es ergeben sich zwei Lumineszenzkurven, die in der Regel eine langsame Abnahme der Intensität in beiden Meßkanälen zeigen.

Abb. 9: Schemazeichnung des Regensburger Leuchtbakterientests

## 10. BioLum-Leuchtbakterientest

Im Landesamt für Wasser und Abfall Nordrhein-Westfalen, Düsseldorf wurde der automatisierte Leuchtbakterientest Lumino 2000 (wird als Biolum<sup>R</sup> von der Fa. Kolibri - Umweltanalytik und on-line-Monitoring GmbH, Schwerte vertrieben) entwickelt. Testparameter ist die Hemmung der bakteriellen Lumineszenz von Lebendkulturen von *Photobacterium phosphoreum*. Testwasser, Kontrollwasser und NaCl-Lösung (3% im Testansatz) werden in ein Mischgefäß gepumpt. Anschließend wird die gekühlte Leuchtbakteriensuspension zum Testansatz zugegeben und im Verhältnis 1 : 20 mit diesem gemischt. Die Leuchtintensität wird mit einem Photomultiplier gemessen. Nach der 2-minütigen Anfangsmessung wird die Probe über eine Warteposition zu der Position transportiert, an der die abschließende Messung durchgeführt wird.

Abb. 10: Schemazeichnung des Leuchtbakterientests BioLum

Mit einem Computer werden die Meßwerte der Anfangs- und Abschlußleuchtintensität erfaßt und die prozentuale Hemmung der Leuchtakterien im Testansatz errechnet. Abschließend wird die probeführende Glasküvette über eine Kippvorrichtung entleert und ausgespült. Alle Ablaufschritte (Spülzyklen, Befüllschritte und Meßzyklen) werden automatisch geregelt.