

Biologische Toxizitätstests

Im Umweltbereich gewinnen Untersuchungsverfahren eine steigende Bedeutung, bei denen über die reine Meßwertgewinnung hinaus Summenwirkungen von Schadstoffen auf biologische Systeme erfaßt werden. Diese Methodik des „Biological Monitoring“ zählt heute schon zu den Standardverfahren, beispielsweise für die Bewertung von Abwässern. Diese Arbeitsrichtung wurde in der Regel von Biologen begründet und wird heute in großem Umfang in der Praxis angewendet. Die Diskussionsgruppe Analytik im Umweltschutz (DAU) bei der Gesellschaft Deutscher Chemiker hat

deshalb drei namhafte deutsche Vertreter dieser Arbeitsrichtung gebeten, Arbeitsweisen und Erfahrungen bei „Biologischen Toxizitätstests“ auf einer Sitzung der DAU vorzutragen. Da diese Ausführungen großes Interesse bei in der Umweltanalytik tätigen Chemikern erwarten lassen, sind auf der Grundlage dieser Vorträge die hier publizierten drei Fachbeiträge erarbeitet worden.

*Prof. Dr. E. Lahmann, Berlin
1. Vorsitzender der DAU*

Teil I: Anwendung in der Umweltanalytik

J. Knie

Landesamt für Wasser und Abfall Nordrhein-Westfalen, Auf dem Draap 25, D-4000 Düsseldorf

Einleitung

Der Umstand, daß bei vielen Organismen auf Störungen der Umwelt Reaktionen sichtbar oder meßbar sind, hat dazu geführt, diese für einige umwelttypische Spezies verfahrenstechnisch aufzuarbeiten und sie gezielt zur Detektion von Schädwirkungen einzusetzen. Als biologische Tests sind diese Verfahren heute neben der chemischen Analytik Bestandteil der Umweltanalytik.

Ein bedeutsamer umweltrelevanter Belastungspfad ist der Eintrag chemischer Stoffe in Fließgewässer. Bislang wurde (und wird noch) diese Form der Belastung hauptsächlich über die Bestimmung einiger Summenparameter (z.B. CSB, TOC, AOX) und – gemessen an der Vielzahl der vorkommenden Stoffe – relativ weniger Einzelstoffe (z.B. Schwermetalle) verfolgt.

Biologische Systeme, zum Einsatz gebracht als **biologische Testverfahren**, können die Lücken der chemisch-analytischen Gewässerüberwachung schließen. Über das Kriterium **Wirkung**, als Funktion aller stoffwechselphysiologischen Lebensvorgänge, erfassen sie die Gesamtheit aller Stoffe und stofflichen Prozesse im Gewässer und ergänzen damit die chemische Analyse.

1 Anforderungen an biologische Tests

1. Verfügbarkeit

Ein biologisches System für Testzwecke sollte jederzeit verfügbar sein. Das setzt die Möglichkeit von Zucht oder Kul-

tur voraus. Von Vorteil ist, wenn beides im Labor des Anwenders unter kontrollierten Bedingungen geschehen kann.

2. Standardisierbarkeit

Die Rahmenbedingungen für Zucht, Kultur oder Hälterung biologischer Systeme sollten in der Weise standardisierbar sein, daß sie in anderen Labors vergleichbar einzuhalten sind. Das betrifft auch die Testdurchführung.

3. Reproduzierbarkeit

Das Signal eines biologischen Systems (Testkriterium) als Reaktion auf Schadstoffeinflüsse muß eindeutig definierbar und unter gleichen Konditionen reproduzierbar sein. Zur Reproduzierbarkeit tragen entscheidend die standardisierten Rahmenbedingungen bei.

4. Empfindlichkeit

Biologische Systeme sollten gemäß dem Einsatzzweck eine ausreichende Empfindlichkeit haben, die sie allein auf tatsächliche Intoxikationen des zu untersuchenden Mediums ansprechen läßt. Hypersensibilität ist mit dem Risiko verbunden, daß harmlose Parameter oder Randerscheinungen Schadstoffwirkungen vortäuschen können. Die Empfindlichkeit sollte sich auf ein möglichst breites Spektrum von Schadstoffen erstrecken.

5. Praktikabilität

Die Testdurchführung sollte überschaubar und rationell sein. Moderne Laborgeräte und sonstige technische Hilfsmittel sollten verwendbar, Testablauf und Auswertung automatisierbar sein.

An biologische Tests werden häufig Maßstäbe hinsichtlich der Reproduzierbarkeit angelegt, die nur zum Ziel haben können, die Tests zu diskreditieren.

Biologische Tests befassen sich mit lebender Materie und Leben ist, in welcher Form auch immer, variabel. Biologische Systeme weisen daher auch unter identischen äußeren Bedingungen physiologische Konditionsunterschiede auf, die sich im Testergebnis niederschlagen.

2 Anwendungen der biologischen Tests

2.1 Emissionskontrolle

Die erste Verankerung eines Biotests in gesetzlichem Rahmen erfolgte in der Bundesrepublik 1976 im Abwasserabgabengesetz mit der Installation des **Fischtests**. Der Fischttest mit Goldorfen hat sich dabei gut bewährt, ging doch seit seiner Einführung die Fischtoxizität von Abwasser generell ganz erheblich zurück.

Doch zeigte sich bald, daß fischungiftige Abwässer nicht zwangsläufig ohne jede Toxizität sein müssen. Nachzuweisen ist das z.B. in Vorflutern, wo es nach Einleitung von nicht fischtoxischem Abwasser dennoch zu Schädigungen der **Biozönose** kommt. Das betreffende Abwasser beinhaltet demnach Stoffe, die selektiv auf andere Organismengruppen wirken.

Um Gewässergefährdungen solcher Art auszuschließen, ist es erforderlich, neben den Fischen andere Testorganismen zur Abwasserkontrolle einzusetzen. Erst mit einer **Palette mehrerer Biotests** mit Organismen unterschiedlicher trophischer Ebene wird es möglich sein, Wirknachweise auf breiter Basis zu erbringen. In den neuen Verwaltungsvorschriften zu § 7a des Wasserhaushaltsgesetzes wird durch Aufnahme mehrerer Biotests dem Rechnung getragen.

In Nordrhein-Westfalen ist die Praxis der Abwasserkontrolle mit diversen Biotests bereits weit fortgeschritten. Größere Einleiter überwachen ihr Abwasser schon seit längerem unverbindlich aus Eigeninteresse mit verschiedenen Tests; teils sind sie im Rahmen wasserrechtlicher Bescheide in Form der Eigenüberwachung dazu angehalten. Der Aufnahme – neben dem Fischttest – weiterer biologischer Überwachungsparameter in Wasserrechtsbescheide sind langjährige Untersuchungen zur Ermittlung geeigneter Tests behördlicherseits vorausgegangen. Anschließend kam es zu Vergleichsuntersuchungen zwischen Behörden und Einleitern. Die Einbindung der „neuen“ Biotests in die amtliche Überwachung steht allerdings erst am Anfang.

Im Prinzip sind sich Behörden und Einleiter einig darüber, daß biologische Tests nötig und sinnvoll sind. Die Bereitschaft, sie anzuwenden, wird letztlich auch dadurch gefördert, daß die derzeitige Überwachungssituation durch die

zunehmende Anzahl der zu messenden Einzelstoffe auszufern droht, und es von Vorteil sein kann, die im allgemeinen kostengünstigeren natürlichen Summenparameter zu benutzen. Neben diesem wirtschaftlichen Aspekt scheint auf Einleiterseite auch die folgende Erkenntnis zu wachsen:

- (1) vor dem Hintergrund der wachsenden Sensibilität der öffentlichen Meinung zum Thema Abwasser ist die Abwasserbeschaffenheit unter Ausklammerung der Wirkungsseite nicht mehr glaubhaft zu beschreiben,
- (2) eigene Sanierungsmaßnahmen lassen sich am besten anhand dieses Kriteriums darstellen.

2.2 Immissionsüberwachung

Ziel der Immissionsüberwachung:

1. Schutz der menschlichen Gesundheit bei Nutzung von Gewässern für die Trinkwassergewinnung, für Fischerei oder Sport und Freizeit.
2. Schutz der aquatischen Biozönose, Erhaltung der Artenvielfalt.
3. Erfassung des derzeitigen Belastungszustandes sowie in positiver wie negativer Richtung abweichender Veränderungen.
4. Nachweis der Effektivität gesetzlicher Gewässerschutzmaßnahmen.

Die Stärke biologischer Systeme, Wirkungen integral aufzuzeigen, kommt im Immissionsbereich voll zum Tragen. Mit ihren Reaktionen spiegeln die biologischen Systeme das ökotoxische Wirkpotential der Gesamtheit aller in Gewässern vorkommenden Stoffe und stofflichen Vorgänge wider.

Die Gewässerüberwachung mit biologischen Systemen sollte auf zwei Ebenen erfolgen:

- (1) in Form kurzfristig auf akute, subakute oder chronische Toxizität reagierender Toxizitätstests auf Organismen-, Zell- oder subzellulärer Ebene;
- (2) auf der Ebene von Populationen oder des gesamten Ökosystems zum langfristigen Nachweis schadstoffbedingter Veränderungen im Gewässer. Bei letzterem gestaltet sich die Abgrenzung von natürlichen bzw. schadstoffverursachten Ereignissen schwierig.

Die immissionsseitige Anwendung kurzfristig reagierender Systeme findet zunehmend Verbreitung. Dabei werden in den meisten Fällen bewährte Testsysteme mit *Algen*, *Daphnien*, *Fischen*, *Bakterien* und *Leuchtbakterien* eingesetzt, wobei die Testmethoden der Gewässerüberwachung angepaßt und ständig verfeinert werden. Neben diesen Tests zur Ermittlung der **akuten Toxizität** werden auch solche erprobt, die z.B. auf der Basis von Zustandsänderungen von Zellverbänden, DNS-Veränderungen, enzymatischen oder anderen Stoffwechselreaktionen oder Verhaltensmustern **chronische Wirkungen** signalisieren.

Ein Mangel, der zur Zeit fast allen Testsystemen anhaftet, ist der Umstand, daß die Tests im Labor mit Stich- oder Mischproben durchgeführt werden müssen (→ Absatz 2.4).

2.3 Andere Einsatzmöglichkeiten

Biologische Tests der beschriebenen Art sind grundsätzlich zur Untersuchung aller wäßrigen Medien geeignet. Anwendungseinschränkungen sind in den jeweiligen Testverfahren angemerkt.

Im Bereich der Überwachung von **Oberflächenwasser** für Trinkwasserzwecke können Biotests vor Intoxikationen warnen, die beispielsweise durch *Unfälle* mit chemischen Stoffen, durch *unsachgemäßes Ausbringen* von Stoffen, aber auch durch *Sabotageakte* hervorgerufen werden können. Am Ende von Trinkwasseraufbereitungsschritten können Tests, vor Chlorierung des Wassers, der Funktionskontrolle der jeweiligen Maßnahmen dienen.

Aktuell ist der Einsatz von Biotests zum Nachweis von **Schadstoffen im Grundwasser**. Durch jahrzehntelange Anwendung von chemischen Stoffen im terrestrischen Milieu, besonders in der Landwirtschaft, haben sich diese, teils unter Änderung ihrer chemischen Struktur, vielfach in Grundwasserkörpern angereichert. Für die Trinkwasserversorgung bedeutet das eine ernstzunehmende Gefahr.

Nicht minder aktuell ist die Benutzung biologischer Systeme zur Detektion von Ausmaß und Umfang des **Schadstoffaustrages aus Altlasten**. Schadstoffe können über die Bodenpassage ins Grundwasser oder über Sickerwässer in Oberflächengewässer gelangen. Anhand chemischer Parameter ist eine toxische Belastung des austretenden Wassers häufig nicht nachzuweisen, wohl aber durch die Reaktion von Testorganismen.

Geeignet sind Biotests auch zur **innerbetrieblichen Überwachung von Abwasserteilströmen** vor deren Eintritt in eine **Kläranlage**. Hier bieten sich vor allem Bakterientests an, die auf mögliche Störungen der mikrobiellen Abbautätigkeit in der Kläranlage hinweisen.

2.4 Durchflußsysteme

Im Rahmen der Gewässerüberwachung und Abwasserkontrolle werden die meisten chemischen und biologischen Parameter in Wasserproben bestimmt, die am Untersuchungs-ort als **Stich-** oder **Mischproben** gezogen und ins Labor gebracht werden. Der Untersucher erhält somit nur sporadisch und, je nach Art und Anzahl der chemischen Analysen und durchgeführten Biotests, eine mehr oder weniger lückenhafte Information über den Zustand des untersuchten Wassers – und zwar rückwirkend für den Zeitpunkt der Probenahme. Besonders für fließendes Wasser mit einem sich eventuell ständig ändernden Chemismus ist das unbefriedigend; denn es könnten sich, je nach Funktion und Nutzung des jeweiligen Wassertyps, Situationen ergeben, die ein schnelles Eingreifen erfordern. Bei der Stichproben-

methode kann allein schon beim Ziehen, Transport, Aufbereitung und Messung der Proben so viel Zeit vergehen, daß für geeignete Maßnahmen kaum noch Handlungsspielraum bleibt.

Auf biologischer Seite gibt es mit dem **Dynamischen Daphnien-Test** und verschiedenen Testsystemen mit Fischen sowie mit Bakterien erste Ansätze, mit Hilfe von kontinuierlich im Durchfluß arbeitenden **Testautomaten** eine lückenlose Überwachung von Wasser und Abwasser zu gewährleisten.

Die Testautomaten werden vor Ort installiert, und das zu untersuchende Wasser fließt im Bypass ständig durch die Geräte. Betreiber der Anlagen erhalten über bestimmte Reaktionen der eingesetzten Daphnien, Fische und Bakterien fortlaufend wirkungsbezogene Informationen über den Zustand des Wassers. Bei schadstoffbedingten Verschlechterungen der Wasserqualität wird ausreichend früh Alarm ausgelöst.

Mit solchen Testautomaten können bei einer flächendeckenden Gewässerüberwachung auch Schadstoffemissionen leicht eingegrenzt werden. Auf der anderen Seite können Emittenten anhand der lückenlosen Dokumentation der Testdaten nachweisen, daß sie nicht Quelle eines Schadstoffeintrages sind.

Andere **biologische Warnsysteme** zur Indikation von Schadstoffwirkungen mit den verschiedensten Organismen befinden sich zur Zeit in Entwicklung. Sie sind, wie die zuvor genannten, in erster Linie zur Feststellung von **akuten Schädwirkungen** konzipiert. Die sich bereits bei der Entwicklung von Testautomaten zur akuten Wirkanzeige abzeichnenden methodischen und verfahrenstechnischen Schwierigkeiten lassen für künftige Testgeräte zum **chronischen Wirknachweis** die Probleme erahnen.

Ausblick

Biologische Testsysteme können unter den Aspekten der *Vorsorge*, *Beweissicherung* und *Funktionskontrolle* vielfältig eingesetzt werden. Noch ist weiterer Forschungs- und Entwicklungsbedarf erkennbar, insbesondere hinsichtlich der Nutzbarmachung von Signalen biologischer Systeme infolge **Schadstoffeinwirkungen** und deren technischer Darstellung. Viele biologische Reaktionen lassen sich zur Zeit mit vertretbarem Aufwand nicht in allgemein anwendbare Testverfahren umsetzen. Entwicklungsbedarf besteht weiterhin bei der **Automatisierung** von Tests.

Insgesamt zeichnet sich für die Gegenwart ab, daß eine zufriedenstellende Überwachung von Wasser und Abwasser mit biologischen Systemen schon jetzt möglich ist.