
Materialien

Nr. 1

Der Dynamische Daphnientest – Erfahrungen und praktische Hinweise –

Bericht der Bund/Länder-Projektgruppe
„Wirkungstests Rhein“

Essen 1994

IMPRESSUM

**Herausgegeben vom
Landesumweltamt Nordrhein-Westfalen
Wallneyer Str. 6 • 45133 Essen • Telefon (02 01) 79 95 - 0**

Gedruckt auf 100 % Altpapier ohne Chlorbleiche

An der Erstellung des Berichtes haben die in der Projektgruppe "Wirkungstests Rhein" vertretenen Bundes- und Länderbehörden sowie weitere in das F+E-Vorhaben "Entwicklung, Erprobung und Implementation von Biotestverfahren zur Überwachung des Rheins" eingebundene Institutionen mitgewirkt:

Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft,
Lazarettstraße 67, 80636 München

Bundesanstalt für Gewässerkunde,
Kaiserin-Augusta-Anlagen 15-17, 56003 Koblenz

Dr. U. Noack-Laboratorium für Angewandte Biologie,
Richthofenstraße 29, 31137 Hildesheim

Hessische Landesanstalt für Umwelt,
Rheingaustraße 186, 65203 Wiesbaden

Institut für Wasser-, Boden- und Lufthygiene des Bundesgesundheitsamtes,
Corrensplatz, 12307 Berlin

Landesamt für Wasser und Abfall Nordrhein-Westfalen,
Auf dem Draap 25, 40221 Düsseldorf

Landesamt für Wasserwirtschaft Rheinland-Pfalz, Am Zollhafen 9, 55118 Mainz

Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg,
Griesbachstraße 1, 76185 Karlsruhe

Projekträger "Biologie, Energie, Ökologie" des BMFT, Forschungszentrum Jülich
GmbH, Postfach 19 13, 52425 Jülich

Rijkswaterstaat, Maerlant 6, NL - 8200 AA Lelystad

Staatliches Institut für Gesundheit und Umwelt des Saarlandes, Malstatter Straße
17, 66117 Saarbrücken

Technische Universität Berlin, Institut für Ökologie, Goerzallee 253, 14167 Berlin

Umweltbehörde Hamburg, Amt für Umweltuntersuchungen,
Marckmannstraße 129b, 20539 Hamburg

Umweltbundesamt, Bismarckplatz 1, 14191 Berlin

Universität Bonn, Institut für Landwirtschaftliche Botanik,
Meckenheimer Allee 176, 53115 Bonn

Universität Köln, Zoologisches Institut, Weyertal 119, 50931 Köln

Universität Regensburg, Institut für Physik II,
Universitätsstraße 31, 93040 Regensburg

Die Projektgruppe dankt Frau Dipl.-Biol. Puzicha (Landesamt für Wasserwirtschaft Rheinland-Pfalz, Mainz) und Herrn Prof. und Dir. Dr. Knie (Institut für Wasser-, Boden- und Lufthygiene, Berlin) für die Erstellung des Berichtes.

Inhalt

	Seite
1. Vorwort	5
2. Einleitung	6
3. Funktionsweise/ Meßprinzip	6
4. Experimentelle Hinweise	8
4.1 Testorganismen	8
4.2 Einsetzen in die Testkammer	9
4.3 Materialien	9
4.4 Filtrierung des Testwassers	9
4.5 Temperierung des Testwassers	11
4.6 Meßzyklen	11
4.7 Kontrollwasser	12
4.8 Jungtiere	12
4.9 Fütterung	12
4.10 Alarmschwellen	14
4.10.1 Unter Laborbedingungen	14
4.10.2 Unter Freilandbedingungen.....	15
4.11 Wartung, Reinigung	18
5. Aufwand für den Aufbau des Testsystems	18
6. Erfahrungen mit dem Testsystem	19
6.1 Laborbetrieb	19
6.2 Freilandbetrieb	20
6.2.1 Hessen	20
6.2.2 Baden-Württemberg	20
6.2.3 Hamburg	26
6.2.4 Nordrhein-Westfalen	28
7. Daphnientestgerät Aqua-Tox-Control-Daphnia	35
8. Literatur	36
9. Anhang	38

1. Vorwort

Infolge des Sandoz-Störfalls wurde die Internationale Konferenz zum Schutz 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 Kommission zur Reinhaltung des Rheins (DKRR) wurde daraufhin vom Arbeitsausschuß "Meßmethoden" eine Bund/Länder-Projektgruppe "Wirkungstests Rhein" eingerichtet, die im November 1989 ein Rahmenkonzept für Forschungsvorhaben zur Entwicklung, Erprobung und Implementation von Biotestsverfahren zur Überwachung des Rhein vorlegte und die Forschungsvorhaben wissenschaftlich begleitete. Die Ergebnisse der Forschungsvorhaben wurden in einem Gesamtabschlußbericht (ANONYMUS 1994) zusammengefaßt. Auf Grundlage dieser Arbeiten hat die Projektgruppe dem Arbeitsausschuß "Meßmethoden" Empfehlungen zum Einsatz und Betrieb kontinuierlicher Biotestverfahren vorgelegt, die von der DKRR im Dezember 1993 zur Kenntnis genommen wurden. Die DKRR empfiehlt, in den Meßstationen der Deutschen Kommission auf Grundlage der Empfehlungen Biotestautomaten zur Anwendung zu bringen.

Die Projektgruppe "Wirkungstests Rhein" empfiehlt vorrangig die Anwendung des Dynamischen Daphnientestes oder gleichwertiger Daphnientestverfahren in Meßstationen.

Der Dynamische Daphnientest wird bereits in einer Reihe von Bundesländern zur kontinuierlichen biologischen Gewässerüberwachung eingesetzt. Der vorliegende Bericht gibt einen Überblick über die Funktionsweise und das Meßprinzip des Testsystems. Er faßt die praktischen Erfahrungen zusammen, die in einzelnen Landesämtern und Institutionen gewonnen wurden, gibt experimentelle Hinweise zum Betrieb des Testsystems, beschreibt die bestehenden Auswertungsansätze und erläutert den zur Implementation des Biomonitoring erforderlichen Raum- und Investitionsbedarf. Mit den Handlungsempfehlungen wird den Betreibern der Testanlagen die Möglichkeit gegeben, den Betrieb und die Auswertungsverfahren zu vereinheitlichen.

2. Einleitung

Die Forderung nach einer wirksamen Dauerüberwachung von Fließgewässern ist in den letzten Jahren aufgrund einiger spektakulärer Gewässerstörfälle immer stärker geworden.

Da chemische Routineanalysen nur einen Bruchteil der potentiell ins Wasser gelangenden Schadstoffe erfassen können, kommt biologischen, kontinuierlich arbeitenden Monitorsystemen eine besondere Bedeutung zu. Sie sollen diese Schadstoffe integral erfassen und rasch anzeigen.

Im Falle einer Anzeige kann in Abhängigkeit vom Ausmaß einer Reaktion der Testorganismen Alarm ausgelöst werden.

Die im Alarmfall einzuleitenden Maßnahmen beinhalten in der Regel den Versuch einer chemisch-analytischen Stoffidentifizierung und gegebenenfalls Schutzmaßnahmen für das Gewässer oder Trinkwasser.

Eines dieser biologischen Monitorsysteme ist der kontinuierliche Daphnientest. In der Regel wird das Gerät nicht isoliert als einziges Alarm- und Überwachungssystem in einer Meßstation betrieben, sondern zusammen mit anderen kontinuierlich arbeitenden biologischen, chemischen und physikalischen Meßeinrichtungen. Vielfach werden Daten per Datenfernübertragung in eine Meßwertzentrale geleitet, wo sie gegeneinander abgeglichen werden. Bei Auffälligkeiten im Biomonitor können die Daten der anderen Geräte als erste Interpretationshilfe zur Ursachenfindung herangezogen werden.

3. Funktionsweise / Meßprinzip

Die hier folgenden Ausführungen beziehen sich auf den 'Dynamischen Daphnientest' der Fa. Elektron, Krefeld.

Als Testorganismen werden Wasserflöhe der Art *Daphnia magna* Straus eingesetzt.

Das Testsystem arbeitet mit selbstansaugenden Pumpen im Durchfluß. Ein kleiner Teilstrom (500 ml/h) des zu überwachenden Wassers fließt durch eine Testkammer, in der sich die Daphnien befinden. Testkriterium ist die Schwimmaktivität der Daphnien. Sie wird mit Hilfe optischer Sensoren registriert.

Das Schwimmverhalten von Daphnien in unbelastetem Wasser ist gekennzeichnet durch relativ gleichmäßige und ruhige Bewegungen. Schadstoffe im Wasser führen zu Veränderungen des Schwimmverhaltens: Je nach Art, Konzentration und Ein-

wirkzeit der Stoffe schwimmen die Daphnien schneller oder langsamer als zuvor. Weichen diese Verhaltensänderungen um ein bestimmtes Maß vom Normalverhalten ab, wird durch das Testsystem ein Alarm ausgelöst. Der Betreiber der Anlage erhält somit eine Information über die Verschlechterung der Wasserqualität, noch lange bevor ein Testtier gestorben ist.

Im Gerät befinden sich zwei, durch eine Zwischenwand getrennte Testkammern mit getrennter Wasserzufuhr, wodurch sich mehrere Anwendungsmöglichkeiten ergeben:

1. Beide Testkammern können parallel mit dem zu überwachenden Wasser beschickt werden.
2. Kontrollwasser kann in der einen Testkammer mit Testwasser in der anderen vergleichend gemessen werden und schließlich können
3. zwei verschiedene Wassertypen gleichzeitig getestet werden.

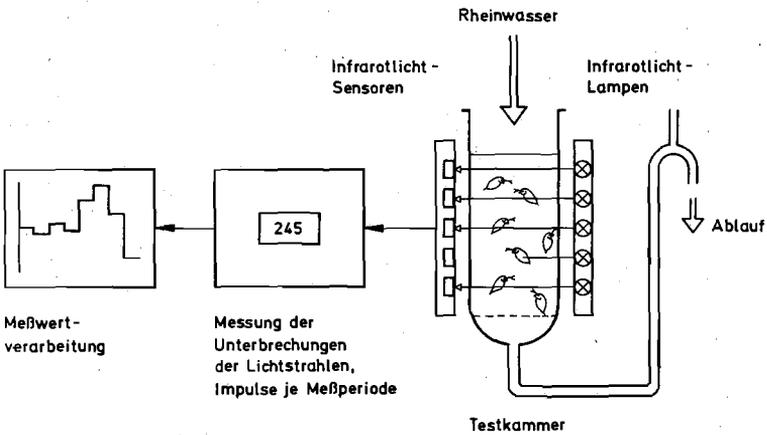


Abb. 1: Schemazeichnung des Dynamischen Daphnientests

Der gesamte Testablauf ist automatisiert. Die von den Lichtsensoren registrierten Schwimmbewegungen der Daphnien werden als Impulse über verschiedene

Zwischenschritte in digitale Signale umgewandelt, die am Gerät angezeigt, ausgedruckt oder mitgeschrieben werden. Über eine V 24-Schnittstelle können die ermittelten Daten weitergeleitet und mit einem Rechner ausgewertet werden (Abb. 1). In der ab 1990 erhältlichen Version des Dynamischen Daphnientests ist ein Rechner mit Monitor integriert. Über diesen erfolgt nicht nur die Steuerung des Testsystems, sondern auch die Festlegung und Protokollierung der Testbedingungen bis hin zur Auswertung der Testdaten und ihre Darstellung auf dem Bildschirm. Zur Sicherung der Daten werden diese zugleich auf Diskette gespeichert. Zur Vermeidung von Fehlinformationen durch Funktionsstörungen am Gerät werden bei diesem Typ, für beide Testkammern getrennt, Funktionen wie Wassertemperatur und Durchfluß kontinuierlich überwacht. Entsprechen einer oder beide Parameter nicht der Sollvorgabe, wird dies am Gerät angezeigt und bei Anschluß des Gerätes an ein Datentransfersystem auch zur Erfassungsstelle weitergeleitet. Bei Unterbrechung des Wasserdurchflusses (z.B. defekte Pumpe, verstopfte oder poröse oder abgeplatzte Leitung) wird die betroffene Testeinheit automatisch außer Betrieb gesetzt, so daß Überschwemmungen vermieden werden.

Das Funktionsüberwachungssystem ist vor allem beim Einsatz des Gerätes in unbemannten Stationen von Bedeutung (KNIE 1990).

4. Experimentelle Hinweise

Im folgenden sind einige wichtige Punkte aufgeführt, die zur Vereinheitlichung der Testdurchführung beitragen sollen, um auch die Testergebnisse bei der Anwendung des Dynamischen Daphnientests vergleichbarer zu machen.

4.1 Testorganismen

- Art: *Daphnia magna* Straus.
- Herkunft: Geklonte Zucht, beziehbar vom Institut für Wasser-, Boden- und Lufthygiene in Berlin.
- Zuchtbedingungen: Nach DIN 38 412 Teil 11 und Teil 30; empfohlen wird jedoch das Zuchtmedium M4 nach Elendt-Schneider (ELENDET 1990).
- Alter der Testtiere zu Testbeginn: ca. 24 - 48 Stunden.
- Zustand: vitale und gefütterte Tiere.

4.2 Einsetzen in die Testkammer

- Langsame Temperaturadaptation der Daphnien an die Testwassertemperatur.
- Testkammer zur Hälfte mit Zuchtwasser füllen.
- Sitz des Siebchens überprüfen, evtl. Luftblasen unter dem Siebchen durch Schütteln desselben entfernen; Stiel des Siebchens parallel zum Ablaufrohr positionieren und gegebenenfalls fixieren.
- 20 Daphnien mit Vollpipette in Testkammer überführen.
- Wasserführende Zuleitungen bis an die Oberfläche des Wassers in der Testkammer heranzuführen; evtl. Position nach Einschleiben der Testkammer korrigieren.
- Weitere Vorgehensweise nach Betriebsanleitung.

4.3 Materialien

- Alle wasserzuführenden Leitungen sollten aus PTFE (Teflon) bestehen, da bei anderem Material Adsorptions- und Desorptionseffekte auftreten.
- Die Testkammern sollten aus Glas, die Siebeinsätze aus Edelstahl gefertigt sein.
- Verbindungen zwischen zwei verschiedenen Materialien (z.B. Teflon- Glas) falls nötig mit Silikon-Schlauchstücken in der Weise herstellen, daß ein möglichst geringer Kontakt zwischen Wasser und Silikonschlauch stattfindet.

4.4 Filtrierung des Testwassers

Schwefstoffe im Testwasser können Meßwerte vortäuschen oder zu mechanischen Schädigungen der Daphnien führen (Verkleben der Antennen). Sie können ebenfalls das am Grund der Testkammer befindliche Siebchen zusetzen, so daß die Testkammer überläuft. Sie sollten deshalb entfernt werden. Da sich manche Schadstoffe, wie Pentachlorphenol oder Hexachlorbenzol bevorzugt an kleinere Schwefstoffteilchen (unter 100 μm) anlagern, sollten diese nicht herausgefiltert werden. Als Filter eignen sich z.B. mit Teflonwatte oder mit Glasperlen ($d = 2 \text{ mm}$) gefüllte Gaswaschflaschen. Ihr Volumen (500-1000 ml) richtet sich nach dem Schwefstoffgehalt des Wassers an der jeweiligen Untersuchungsstelle. Die mit

Hilfe dieser Anordnung erreichte Schwebstoffentfernung kann in der Regel auch bei hoher Schwebstofffracht (z.B. bei Hochwasser) eine Standzeit von 1 Woche gewährleisten. Gleichzeitig bieten die im Wasser verbleibenden Restschwebstoffe (z.B. Algen) eine ausreichende Ernährungsgrundlage für die Tiere, so daß eine Zufütterung nicht notwendig ist. Je dichter die Filterpackung ist, desto geringer wird das Wasservolumen in der Flasche und damit die Aufenthaltszeit des Testwassers in der Filterflasche. Beide Testkammern sollten aus derselben Filterflasche versorgt werden.

Eine weitere Methode, Schwebstoffe aus dem Wasser abzutrennen, wird in Hamburg praktiziert (Abb. 2). Durch eine hohe Durchflußgeschwindigkeit in einem 45° geneigten Rohr werden große und schwere Partikel mitgerissen. Zwischen der nach oben wirkenden Rückstaukraft und dem in Strömungsrichtung wirkenden Strömungsimpuls muß ein Partikel, das in den senkrechten Rohrabschnitt gelangt, eine 135° Richtungsänderung vollziehen.

Abscheider

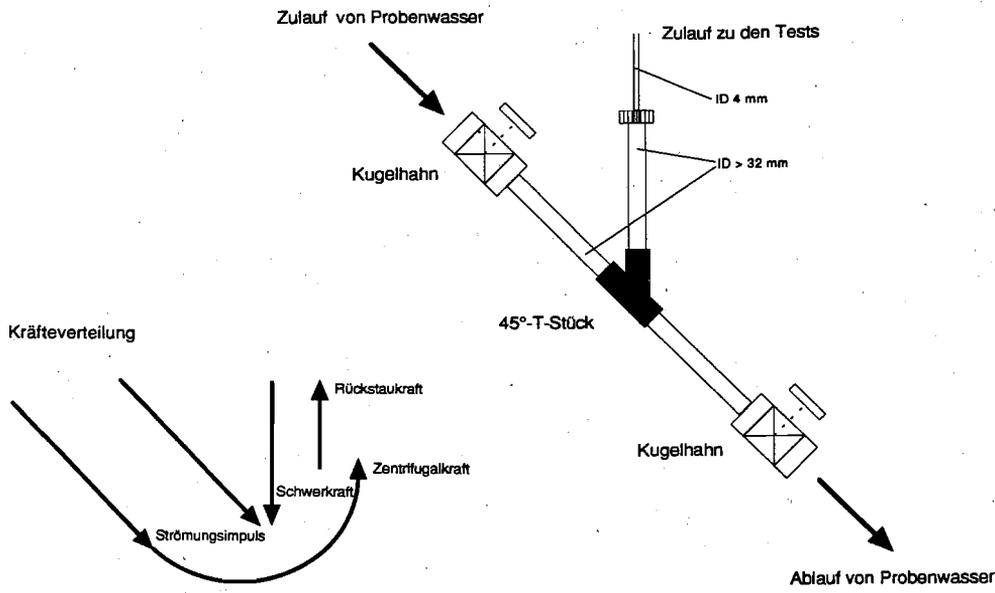


Abb. 2: Filtrierung des Testwassers vor Eintritt in das Dynamische Daphnientestgerät.

Bei der Richtungsänderung kommen Radialkräfte zum Tragen, die eine Abscheidewirkung durch Zentrifugalkräfte bewirken. Auf die Partikel im senkrecht stehenden, strömungsberuhigten Teil des Abscheiders wirkt die Schwerkraft. Die Abscheideleistung wird durch das Verhältnis des senkrechten großen Innenrohrdurchmessers (ID) zum kleinen Testwasserzulauf noch verbessert. Partikel, die eine ähnliche Dichte wie das Elbwasser haben, können nicht abgeschieden werden. Der notwendige Rückstau im 45° Teil, der die Austrittsmenge an Probewasser bestimmt, wird über die Einstellung des Kugelhahnes unterhalb des senkrechten Rohrabchnittes festgelegt. Für Reinigungsarbeiten sind Schraubverbindungen angebracht. Durch die hohen Strömungsgeschwindigkeiten ist der Bewuchs und die Menge der Ablagerungen sehr gering. Über einen Stauregler (Kugelventil) kann der Volumenstrom so eingestellt werden, daß aus dem Steigrohr Wasser in ein nachgeschaltetes Glasgefäß fließt, aus dem das Testwasser angesaugt wird. Über den Wasserstand im Glasgefäß ist der Wasserdruck im System kontrollierbar. Leichtere Schwebstoffe können sich in diesem Glasgefäß noch absetzen.

4.5 Temperierung des Testwassers

Um gleichbleibende Testbedingungen im Ablauf des Jahres zu gewährleisten, ist die Temperatur des Testwassers konstant zu halten. Sie soll bei $20 \pm 2^\circ\text{C}$ liegen. Temperiert werden kann durch externe Temperiereinrichtungen (Heiz-Kühl-Thermostate) oder durch das im Gerät eingebaute System (Zubehör). In Hamburg hat sich eine handelsübliche beheizte Meßgasleitung mit elektronischem Regler bewährt. Hier liegt ein Heizdraht um die zuführenden Testwasserleitungen. Diese Leitungen können aus der Heizung einfach herausgenommen werden, was die Wartung und Reinigung erleichtert.

4.6 Meßzyklen

Ein Meßzyklus ist die Zeitspanne, in der die Aktivitätsmeßwerte gesammelt werden. Der kürzeste einstellbare Meßzyklus beträgt 1 Minute, der längste 99 Minuten. In der Praxis hat sich gezeigt, daß bei 20 eingesetzten Daphnien ein Meßzyklus von 10 Minuten ausreicht, um die natürliche Schwankungsbreite der Aktivitätswerte statistisch auszugleichen. Eine Verkürzung der Zyklusdauer bringt ebensowenig einen Vorteil wie die Erhöhung der Daphnienzahl. Jede Verlängerung der Zyklusdauer geht zu Lasten der Funktion des Testgerätes als Warninstrument.

4.7 Kontrollwasser

Das 2-Kammer-Testsystem ermöglicht einen Aktivitätsvergleich zwischen dem Testwasser und einem unbelasteten Kontrollwasser (z.B. Daphnienzuchtwasser). Dies ist für Laborversuche oder Aufstockungsexperimente mit Flußwasser interessant. Dabei treten zwangsläufig Meßwertdifferenzen auf, da Daphnien auf jeden Wassertyp unterschiedlich reagieren und es nicht möglich ist, die Beschaffenheit des Kontrollwassers der Beschaffenheit des Testwassers anzugleichen. Schädwirkungen des Testwassers können dennoch erkannt werden, wenn die Meßwertdifferenzen von den zuvor festgestellten Werten um ein bestimmtes Maß abweichen.

4.8 Jungtiere

Bei guter Ernährungslage im Oberflächengewässer (Frühjahr bis Herbst) können die eingesetzten Daphnien am 5.-6. Lebenstag Jungtiere bekommen. Bei einer Standzeit des Tests von einer Woche kann sich dadurch unter optimalen Bedingungen die Anzahl der Daphnien von ursprünglich 20 auf weit über 200 pro Testkammer erhöhen. Dieses für die Qualität des Gewässers an sich gute Anzeichen hat zur Folge, daß die gemessenen Aktivitätswerte entsprechend steigen. Die Meßwertzunahme ist von einer schadstoffbedingten Aktivitätsänderung in der Regel gut abzugrenzen (vergleiche 4.10).

4.9 Fütterung

Während des Betriebes des Dynamischen Daphnientests mit Testphasen von einer Woche (Standzeit) an Oberflächengewässern ist in der Regel keine Fütterung der Daphnien nötig, da fast ganzjährig genug Algen im Testwasser vorhanden sind. In den Wintermonaten ist das Futterangebot jedoch gering, so daß die Daphnien im Vergleich zum Sommer (s. Abb. 3) deutlich im Wachstum zurückbleiben; die Meßwerte pro Meßzyklus sind reduziert (Abb. 4). Jungtiere treten innerhalb des Testzeitraums unter sonst gleichen Bedingungen nicht oder in geringerer Anzahl am Ende der Testwoche auf. Am Main dauerte die "Winterperiode" etwa von November bis Februar.

Mit Hilfe eines externen Futterautomaten (Grünalgen, Monokultur) kann das Nahrungsdefizit ausgeglichen werden.

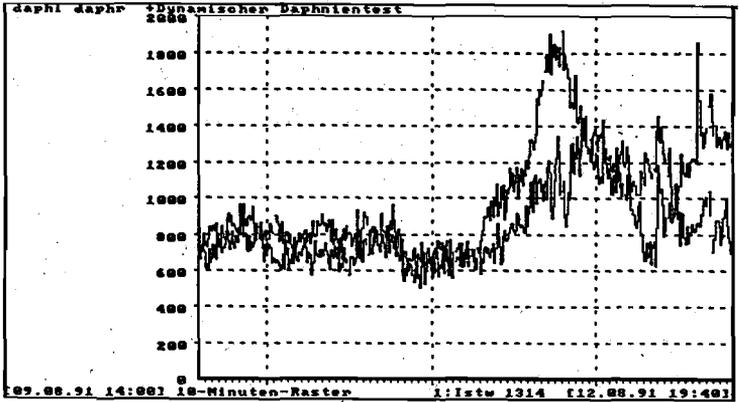


Abb. 3: Impulsverlauf beider Testkammern nach Einsatz neuer Daphnien im Sommer (August 1991, Main, 2-Tages-Ausschnitt). Der schnelle Impulsanstieg ist deutlich zu erkennen. Am vierten Testtag betragen die Meßwerte bereits ungefähr das Dreifache des Ausgangsniveaus.

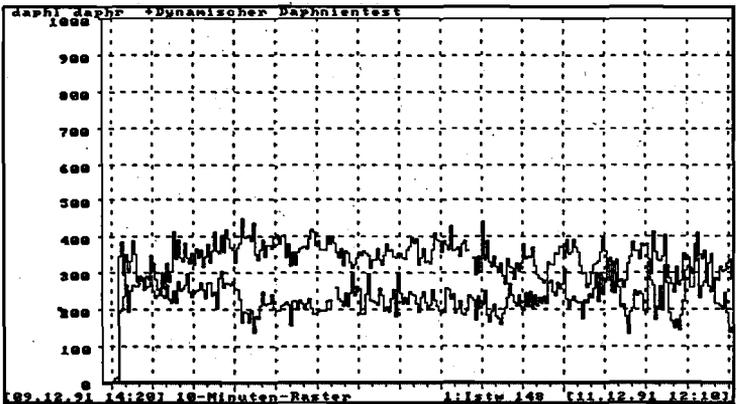


Abb. 4: Impulsverlauf beider Testkammern nach Einsatz neuer Daphnien im Winter (Dezember 1991, Main, 2-Tages-Ausschnitt). Das Impulsniveau stieg später und langsamer an als in der Sommerperiode.

4.10 Alarmschwellen

Durch Verhaltensänderungen der Daphnien werden schadstoffbedingte Veränderungen in der Wasserqualität angezeigt. Die Daphnien reagieren mit Hemmungen der Schwimmaktivität oder mit Hyperaktivitäten (Abb. 6). Diese müssen vom Normalverhalten, typischerweise einer Zunahme der Impulse aufgrund des Größenzunahme und u.U. Vermehrung der Daphnien abgegrenzt werden, um Fehlinterpretationen beim Einsatz der Geräte in der Überwachungspraxis zu vermeiden. So konnte z.B. nach einer dreijährigen Testerfahrung am Main kein Verlaufsmuster aufgestellt werden, aus dem der genaue Zeitpunkt des ersten Auftretens von Jungtieren, sowie deren Anzahl und tägliche Vermehrungsrate zu bestimmen gewesen wäre. Eine dynamische Alarmschwelle muß diesen Umständen gerecht werden.

Vor der Festlegung von Alarmschwellen sind zunächst Erfahrungen über die Normalaktivität der Daphnien mit dem zu überwachenden Wasser zu sammeln, indem mehrere Probeläufe über jeweils 24 Stunden oder besser Probeläufe über durchgehend eine Woche durchgeführt werden. Die Eingewöhnungsphase der Tiere wird nicht mit in die Datenauswertung einbezogen.

Durch Einzelstoffuntersuchungen im Labor kann festgestellt werden, ab welchem Grad der Abweichung vom normalen Bewegungsmuster der Daphnien von einem schädigenden Einfluß ausgegangen werden muß. Durch diese Untersuchungen erhält man Alarmschwellen, die jedoch nicht einfach auf die Freilandmessungen übertragen werden können, weil dort in der Regel Mischwässer mit wechselnder Zusammensetzung oder mit einer Grundbelastung vorliegen. Deshalb müssen die Alarmschwellen im Freilandbetrieb für jedes Gewässer neu ermittelt werden. Eine bessere Absicherung von Alarmschwellen für den Betrieb vor Ort kann durch Aufstocken des zu überwachenden Wassers mit verschiedenen Stoffen unterschiedlicher Stoffklassen erzielt werden.

4.10.1 Unter Laborbedingungen

BOTTERWEG (1989) und PUZICHA (1989) ermittelten im Labor das charakteristische Schwimmverhalten von Daphnien unter den Bedingungen der Testgeräte (Normalverhalten der Daphnien) und unter Verwendung verschiedener unbelasteter Wässer. Aus diesen Versuchen resultiert bei PUZICHA eine schon mit einer Sicherheitsspanne beaufschlagte untere Alarmschwelle der Schwimmaktivität von 100 Impulse bei einem 10 Minuten-Meßzyklus und 20 Daphnien pro Testkammer. Diese Alarmschwelle wurde ohne das Einwirken von chemischen Stoffen in

keinem Fall unterschritten. Die obere Alarmschwelle liegt bei dem Mittelwert des Normalverhaltens plus dem Dreifachen der Standardabweichung. Der Mittelwert wird über einen Zeitraum von 24 Stunden aus dem 10 Minuten-Meßzyklus berechnet. Bei Anwendung dieser Alarmschwelle werden geräte- oder biologisch bedingte Schwankungen der Impulsmengen aufgefangen. BOTTERWEG setzt als obere und untere Grenzen den Mittelwert zu- bzw. abzüglich des Doppelten der Standardabweichung vom Mittelwert des Normalverhaltens.

Für den Laborbetrieb unter weitgehend konstanten Bedingungen sind beide Verfahren akzeptabel. Im praktischen Betrieb des Testgerätes vor Ort erweisen sich die Alarmschwellen, mit Ausnahme des 100 Impuls-Wertes, unter Umständen als zu eng gesetzt. Hier erfordern die nicht kalkulierbaren Variablen eines Gewässers gegebenenfalls eine größere Spannbreite (vergleiche 4.10.2).

4.10.2 Unter Freilandbedingungen

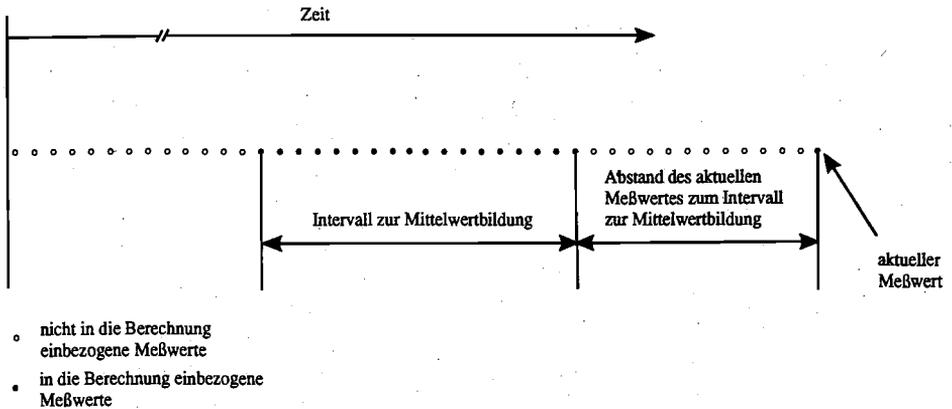
Auf der Grundlage von langjährigen Erfahrungen bei der Wasser- und Abwasserüberwachung durch das Landesamt für Wasser- und Abwasser Nordrhein-Westfalen (KNIE 1990) und auf der Grundlage experimenteller Arbeiten (PUZICHA 1989) kann eine statische untere Alarmschwelle bei einem Meßwert von 100 Impulsen pro 10 Minuten-Meßzyklus pro 20 Daphnien festgelegt werden. Eine Unterschreitung dieses Wertes weist auf eine deutliche Beeinträchtigung der Schwimmfähigkeit der Daphnien hin. Gegebenenfalls ist diese statische Untergrenze bei besonderen Gewässersituationen (z.B. im Winter bei geringem Futterangebot) noch weiter herabzusetzen.

Berechnung der dynamischen Unter- und Obergrenze:

Dynamische Alarmschwellen sollen es erlauben, ein durch Schadstoffe verändertes Verhalten der Daphnien sicher gegen eine zu erwartende Normalaktivität abzugrenzen.

Bei der oberen Alarmschwelle ist zu berücksichtigen, daß die Meßwerte, bei einer angenommenen Standzeit des Gerätes von einer Woche, mit zunehmendem Wachstum der Daphnien steigen. Außerdem muß auch die mögliche Vermehrung der Daphnien unter optimalen Bedingungen einkalkuliert werden (vergleiche 4.7). Eine starre obere Alarmschwelle ist von daher nicht sinnvoll. Wird sie zu tief angesetzt, kann sie allein aufgrund der biologischen Gegebenheiten überschritten werden. Wird sie, um dem vorzubeugen, zu hoch angesetzt, werden Hyperaktivitäten vor allem in den ersten Tagen mit relativ niedrigen Meßwerten nicht er-

kannt. Deshalb ist die obere Alarmschwelle im Ablauf der Woche gleitend zu gestalten. Folgende Vorgehensweise zur Berechnung von dynamischen Alarmschwellen wurde von Daphnientestanwendern auf einem gemeinsamen Treffen im Februar 1991 in Hamburg vorgeschlagen (PUZICHA & BLOHM 1991):



Das Normalverhalten der Daphnien wird aus einem vorher definierten gleitenden Bereich der vorangegangenen Meßwerte ermittelt: Es wird ein Mittelwert der registrierten Impulse aus einem Intervall vor dem zu betrachtenden aktuellen Meßwert gebildet. Zwischen dem aktuellen Meßwert und dem Intervall zur Mittelwertbildung werden einige Meßwerte ausgelassen, um eine schleichende schadstoffbedingte Aktivitätsänderung nicht zu verdecken.

Zu dem Mittelwert wird die Standardabweichung errechnet. Die obere Alarmschwelle ist der Mittelwert zuzüglich eines Sicherheitsbereiches, z.B. die 3-fache Standardabweichung (= 99% Sicherheit). Die untere Alarmschwelle ist der Mittelwert abzüglich dieses Sicherheitsbereiches. Die dynamischen Alarmgrenzen werden fortlaufend für jeden neuen Meßwert errechnet.

Beispiel:

Mittelwert:	250 Impulse
Standardabweichung:	34 Impulse
Sicherheit / Faktor:	3 (z.B. für 99 % Sicherheit)

Daraus folgt die

obere Alarmschwelle: $250 \text{ Impulse} + (34 \text{ Impulse} \times 3) = 352 \text{ Impulse.}$

und die

untere Alarmschwelle: $250 \text{ Impulse} - (34 \text{ Impulse} \times 3) = 148 \text{ Impulse.}$

Dies bedeutet: wenn der aktuelle Impulswert 352 überschreitet bzw. 148 unterschreitet, liegt eine Alarmsituation vor.

Das Absinken der Impulse unter die untere statische Alarmschwelle führt in jedem Fall zur Alarmauslösung.

Die Randbedingungen zur Definition des Meßwertintervalls, welches zur Findung des dynamischen Mittelwerts dient, müssen von jedem Anwender an die jeweiligen Standortbedingungen der einzelnen Gewässer angeglichen werden. Die Anzahl der einbezogenen Meßwerte sowie der Abstand zwischen dem Intervall und dem aktuellen Meßwert sind die einzustellenden Parameter des Modells. Das Mittelwertintervall, d.h. die Anzahl der Meßwerte, die für die Berechnung des dynamischen Mittelwertes herangezogen werden, soll so bemessen sein, daß die Charakteristik der Kurve des Meßwertverlaufes erhalten bleibt. Je kleiner es gewählt wird, umso eher bildet sich jede Bewegung der Meßwerte ab; ist es zu groß, wird der Kurvenverlauf zu stark idealisiert. Der dynamische Mittelwert soll in etwa den zu erwartenden Meßwert angeben. Wird der Abstand zwischen dem Mittelwertintervall und dem aktuellem Meßwert zu groß gewählt, so liegen diese beiden Werte zeitlich so weit auseinander, daß sie nicht mehr verglichen werden dürfen. Ist er sehr klein, werden nur noch sprunghafte Änderungen erfaßt.

Beim Doppelkammersystem sollten die Meßwerte der einzelnen Kammern getrennt betrachtet werden. Beide Impulsverläufe können sowohl im zeitlichen Verlauf wie auch im Niveau Unterschiede aufweisen. Bei einer Alarmschwellenüberschreitung eines Kanals sollte auch im zweiten eine gleichartige Änderung zu erkennen sein.

Im folgenden wird das in der Umweltbehörde Hamburg angewandte Berechnungsmodell für die Ermittlung von dynamischen Alarmschwellen vorgestellt:

Das Modell ist eine konsequente Weiterführung des oben vorgestellten Berechnungsmodells. Der entscheidende Unterschied ist die Berechnung der Abweichung (Differenz) zwischen dem aktuellen Meßwert und dem Mittelwert der

Impulse. Die Abweichung wird durch einfache Subtraktion des aktuellen Meßwertes vom Mittelwert gebildet. Diese Abweichungen sind im Gegensatz zu den Meßwerten selbst annähernd normalverteilt, und lassen somit eine statistische Auswertung unter Zuhilfenahme ihres Mittelwertes und ihrer Standardabweichung zu. Durch diese Vorgehensweise werden sehr langsame Impulszu- und abnahmen der Daphnien, welche typischerweise im Laufe eines Meßzyklus auftreten (z.B. aufgrund der Größenzunahme der Daphnien bzw. ihrer Vermehrung), weitgehend eliminiert.

Die Berechnung der Grenzen ergibt sich somit wie folgt:

dynamische Obergrenze = mittlere Abweichung + 3*Standardabweichung

dynamische Untergrenze = mittlere Abweichung - 3*Standardabweichung

4.11 Wartung, Reinigung

Entsprechend der Standzeit des Gerätes ist die Wartung und der Austausch der Testtiere (s. 4.2) wöchentlich vorzunehmen. Die erforderliche Reinigung aller Leitungen, Testgefäße, Filter und Siebeinsätze kann in der Regel mit sauberem Wasser ausreichend gut durchgeführt werden. Bei stärkerer Verschmutzung sind Beläge mit 0,1 N Salzsäure oder 0,1 N Natronlauge zu entfernen. Auch eine Reinigung in der Laborspülmaschine ist möglich. Die Schläuche in den Schlauchpumpen sind alle 4 Wochen sowie zusätzlich nach Alarmsituationen zu erneuern.

Die Wartungsdauer vor Ort beträgt nach den Erfahrungen der Gerätebetreiber mindestens 60 bis 90 Minuten, wenn zur Beschleunigung der Wartung in den Wasserkontrollstationen von allen Testutensilien ein doppelter Satz verwendet wird. Wenn ein neuer Satz in Betrieb genommen wird, kann der andere benutzte Satz im Zentrallabor gereinigt oder durch neue Teile ergänzt werden.

5. Aufwand für den Aufbau des Testsystems

Der Aufwand für die Installation des Testgerätes ist relativ gering. Benötigt werden ein 220 V-Anschluß sowie eine Zuleitung des zu überwachenden Wassers in der Nähe des Gerätes. Es ist zu empfehlen, das Wasser mit Hilfe der eingebauten selbstansaugenden Pumpen über möglichst kurze Strecken zu transportieren, da mit längerem Transportweg die Verweilzeit des Wassers in der Leitung bis zur Ankunft in der Testkammer steigt; was im Alarmfall zu bedenken

wäre. Wegen der Gefahr von Stromausfällen wird der Einbau von Spannungsspitzenfiltern für den Daphnientest und die Zusatzgeräte empfohlen.

Die Stellfläche für das Gerät beträgt etwa 60 x 70 x 100 cm, zuzüglich Platz zur Installation von Schwebstoffabscheidern und Temperiereinrichtungen. Voraussetzung für den Betrieb des Dynamischen Daphnientest ist eine Daphnienzucht unter standardisierten Bedingungen. Dies wird aber durch im Handel erhältliche Zuchtanlagen (z.B. Fa. Welabo, Düsseldorf) erleichtert. Die Daphnienzucht sowie die Bedienung und Wartung des Gerätes sollten von einer Fachkraft (z.B. BTA) durchgeführt werden.

Für die Auswertung der Testergebnisse sind bis zu einigen Stunden pro Woche erforderlich.

Die Investitionskosten belaufen sich auf 28.-54.000 DM (Stand: Januar 1994) je nach Ausstattung des Meßsystems (z.B. Rechneinheit und Software, Peltier-Thermo-Elemente, Durchflußmesser).

6. Erfahrungen mit dem Testsystem

6.1 Laborbetrieb

Bevor der Dynamische Daphnientest zur Überwachung von Gewässern zum Einsatz kommt, wird er von den Anwendern in der Regel im Labor erprobt. Neben der Zuverlässigkeitsprüfung der mechanischen und elektronischen Komponenten und dem Sammeln von Erfahrungen im Umgang mit dem Test steht im Laborbetrieb vor allem die Sensibilitätsprüfung des Testsystems im Vordergrund. Die EC-Werte aus den statischen Daphnientests nach DIN 38 412, Teil 11 werden hierbei nur als Anhaltspunkt herangezogen, da ein über einen 10 Minuten-Meßzyklus angelegter Verhaltenstest nicht mit dem Zustand der Schwimmfähigkeit einer Testpopulation nach einer Exposition von 24 Stunden im statischen Daphnientest verglichen werden kann. Im Verhaltenstest wird in der Regel der Einfluß eines Schadstoffs früher registriert als im statischen Test.

BOTTERWEG (1989) von der Rijkswaterstaat (Niederlande) wies bei der Prüfung von chemischen Stoffen die gute Reproduzierbarkeit der Testergebnisse mit einer Empfindlichkeit deutlich unter den Werten für den statischen Test nach. Ebenfalls gut reproduzierbare Ergebnisse fanden PUZICHA (1989) und MATTHIAS & PUZICHA (1990) von der Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg. Sie kommen zu dem Resultat, daß der Dynamische Daphnientest zum Nachweis daphnientoxischer Stoffe geeignet und daß die automatische Dauerüberwachung

mit dem Testgerät nicht nur ein wesentlicher Vorteil bei der Erkennung von Gewässerstörfällen ist, sondern daß dadurch auch im Alarmfall geeignete Maßnahmen schneller eingeleitet werden können.

6.2 Freilandbetrieb

6.2.1 Hessen

Die Hessische Landesanstalt für Umwelt betreibt ein Daphnientestgerät in der Meßstation Bischofsheim am Main. Ein zweites wurde im Rahmen eines Pilotprojektes an einer Kühlwasser-Einleitung eines Industriebetriebes eingesetzt (DEVENTER 1990).

Die bislang im Labor durchgeführten Kontrollversuche zeigten, daß bei einem Besatz von 20 Daphnien ein durchschnittliches Impulsniveau von < 150 Impulse pro Meßzyklus erzielt wurde. Um Veränderungen der Schwimmaktivität besser auflösen zu können, wurden deshalb in weiteren Laborversuchen und später an den Freilandstandorten je 30 Daphnien pro Testkammer eingesetzt (DEVENTER 1990). Bei den durchgeführten Laborversuchen konnten in der Regel gut reproduzierbare Normalkurven der Schwimmaktivität erzielt werden. Abweichungen vom durchschnittlichen Impulsniveau waren auf Störungen durch Minderung des Zuflusses oder durch Schwebstoffe (mangelnde Filtration) zurückzuführen. Aufgrund der positiven Ergebnisse der Hessischen Landesanstalt für Umwelt beim Betrieb des Dynamischen Daphnientests wurde im Freilandbetrieb eine Störfallsimulation durchgeführt: o-Xylol wurde in verschiedenen Konzentrationen (50, 5 und 1 mg/l) dem Kühlwasser zugesetzt und im Vergleich zu nicht zusätzlich kontaminiertem Kühlwasser getestet. Dabei erzielten alle 3 Konzentrationen eine sofortige deutliche Abnahme der Bewegungsaktivität der Daphnien, 50 mg/l o-Xylol führten zum Tod der Daphnien innerhalb von wenigen Minuten.

6.2.2 Baden-Württemberg

In Baden-Württemberg wurde das erste "Dynamische Daphnientestgerät" 1988 von der Landesanstalt für Umweltschutz (LFU) in der Rhein-Gütemeßstationen Karlsruhe (km 359,2) in Betrieb genommen. Mit der Fertigstellung der Meßstation Iffezheim (km 334,1) wurde 1991 ein weiteres Daphnientestgerät zur Rheinüberwachung eingesetzt. Auch die 1993 eingeweihte Meßstation Weil (km 171,4), die gemeinsam mit der Schweiz (Gewässerschutzamt Basel) betrieben wird, ist mit einem Daphnientestgerät ausgestattet.

Das Wasser wird mit Hilfe von Tauchpumpen an der Ufersohle dem Rhein entnommen und in die Stationsgebäude gepumpt. Dort werden beide Meßküvetten des Gerätes parallel mit vorfiltriertem, auf 20°C temperiertem Rheinwasser beschickt. Pro Küvette werden jeweils 20 Daphnien im Alter von 2 Tagen eingesetzt, die für eine Woche im Gerät verbleiben und danach erneut gegen junge Tiere ausgetauscht werden. Die im Daphnientest ermittelten Impulshäufigkeiten (10 Minuten Meßzyklen) werden in der Station auf einen Datensammler geleitet und sind per Modem für die zentrale Rechenanlage der LFU verfügbar.

Bei der Erstinbetriebnahme in Karlsruhe wurde das Daphnientestgerät (Fa. Elektron) ohne Vorfiltration direkt mit Rheinwasser beschickt. Dies führte bereits nach wenigen Tagen zu Verstopfungen durch sedimentierende Partikel in den zuführenden Schläuchen und Glasküvetten. Ohne eine Vorfiltration des Wassers lag die maximale Standzeit bei 3-4 Tagen, danach traten Durchflußstörungen auf, die zum Absterben der eingesetzten Tiere führten. Eine Ausdehnung der Standzeit auf 7 Tage wurde durch Vorschalten einer Sedimentfalle (Abb. 5) ermöglicht. Diese besteht aus einer Gaswaschflasche, die mit Glasperlen ($d = 2 \text{ mm}$) gefüllt wurde. Die wöchentliche Reinigung dieses Systems ist relativ einfach.

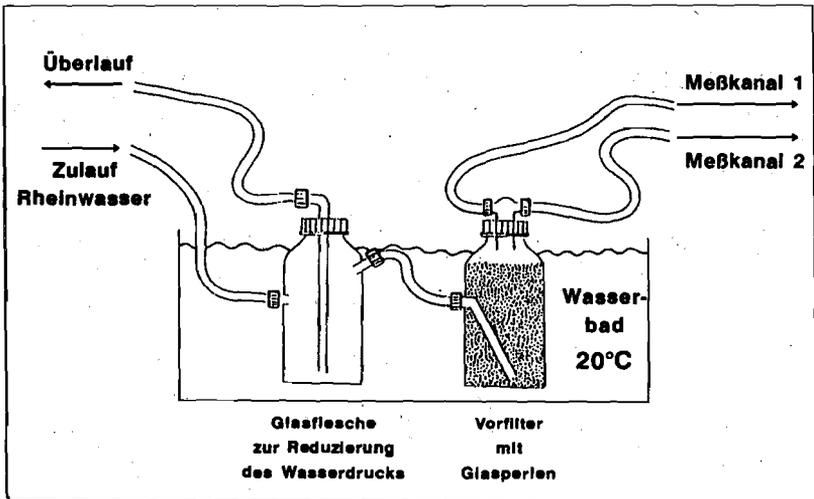


Abb. 5: Temperier- und Vorfiltrationseinheit für das Dynamische Daphnientestgerät

Die mit Hilfe dieser Anordnung erreichte Schwebstoffentfernung kann auch bei hoher Schwebstofffracht im Fluß (z.B. bei Hochwasser) eine Standzeit von 1 Woche gewährleisten. Gleichzeitig bieten die im Wasser verbleibenden Restschwebstoffe eine ausreichende Ernährungsgrundlage für die Tiere, so daß eine Zufütterung nicht notwendig ist. Ein weiterer Vorteil dieses Systems liegt darin, daß weitgehend inertes Material (Glas) verwendet wird. Darüber hinaus wird das Wasservolumen in der Flasche und damit die Aufenthaltszeit des Testwassers aufgrund der relativ dichten Packung der Glaskügelchen gering gehalten. Das geringe Totvolumen und die recht einfache Reinigung der Glasperlen stellen aus unserer Sicht einen kleinen Vorteil gegenüber der häufig verwendeten Teflonwatte dar.

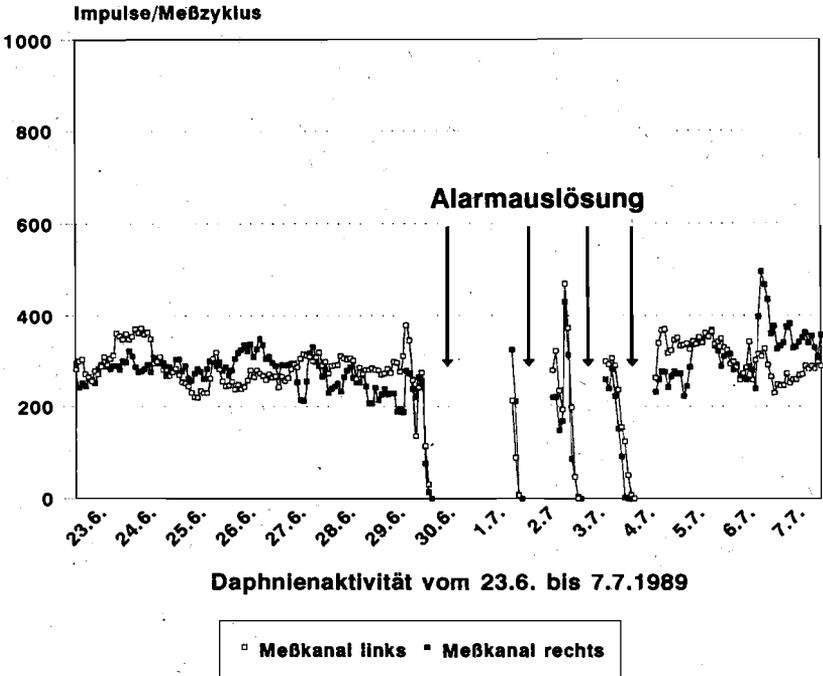


Abb. 6: Mehrfache Alarmmeldung des Testgerätes in der Meßstation Karlsruhe

Die Verwendung von Inert-Materialien hat sich bei verschiedenen Gelegenheiten im Labortest wie auch beim Meßstationsbetrieb als notwendig erwiesen. Große Probleme verursachten die vom Hersteller serienmäßig eingebauten Wasserzuführungsschläuche aus Silikongummi. Diese adsorbierten im Wasser enthaltene

Schadstoffe in hohem Maße und verringerten die Nachweisempfindlichkeit somit ganz wesentlich. Auf der anderen Seite wurden adsorbierte Schadstoffe nach Durchlauf einer Schadstoffwelle auch wieder desorbiert. Dies zeigte sich beispielsweise anhand eines Störfalles Ende Juni/Anfang Juli 1989, als mehrfach ein Alarm registriert wurde (Abb. 6).

Während dieses Zeitraumes wurden tote Daphnien mehrfach durch neue Testtiere ersetzt, die wiederum innerhalb kürzester Zeit starben. Die anfangs in Laborversuchen (statisches Testverfahren) mit Rückstellproben nachgewiesene Toxizität des Wassers war später nicht mehr nachweisbar, obwohl die Daphnien im Gerät noch starben. Erst nach dem Austausch der Silikonschläuche zeigten die Daphnien wiederum normales Verhalten.

Unter "Normalbedingungen" verursachen die in die Küvetten eingesetzten Jungdaphnien pro 10 Min-Meßzyklus im Rheinwasser ca. 200 - 400 Unterbrechungen der Lichtschranken (Impulse). Mit zunehmendem Alter werden die Tiere größer und können somit auch häufiger die Lichtschranken auslösen.

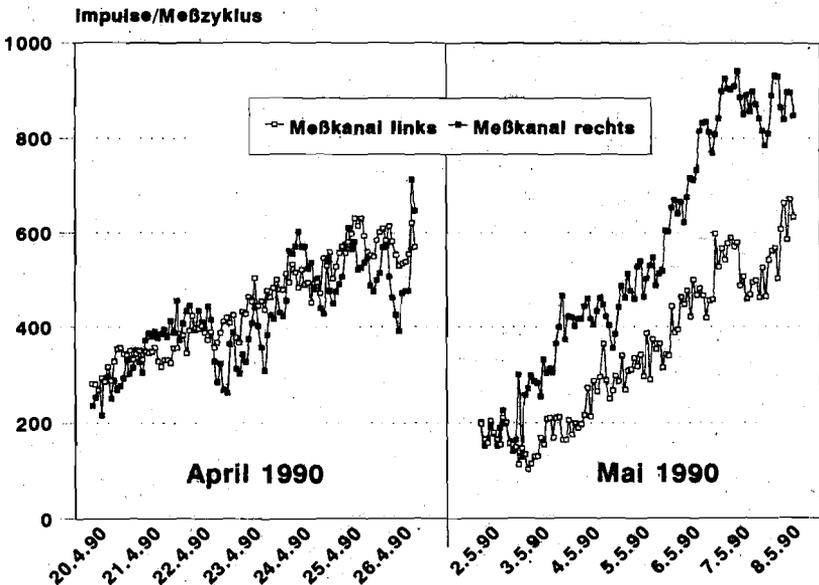


Abb. 7: Stark ansteigende Daphnienaktivität aufgrund besonders günstiger Wachstumsbedingungen

Besonders deutlich wird dies häufig im Frühjahr, wenn die Tiere vermutlich aufgrund besonders günstiger Nahrungsverhältnisse im Rheinwasser extrem schnell wachsen und aufgrund der Größenzunahme eine größere Impulshäufigkeit erreichen. Während einer Meßperiode Anfang Mai 1990 (Abb. 7) wurden dabei nach einer Woche Jungtiere zwischen den voll ausgewachsenen Alttieren gefunden. Die Impulszahlen stiegen dabei von ca. 200 innerhalb einer Woche auf etwa 1000 an. Zu anderen Zeiten blieb die Daphnienaktivität im Regelfall jedoch meist zwischen 200 - 400 Impulsen.

Die im Meßstationsbetrieb unter natürlichen Bedingungen auftretenden Schwankungen in der Impulshäufigkeit erschweren die Definition einer alarmrelevanten Situation, also einer durch Schadstoffe ausgelösten Verhaltensänderung. Die Alarmauslösung erfolgt in Baden-Württemberg bisher nur bei Unterschreitung eines Minimalwertes (100 Impulse/10 min). Eine Alarmdefinition aufgrund dynamisch ermittelter Grenzwertberechnung ist vorgesehen, bedarf aber noch der Softwareanpassung. Die Unterschreitung eines statischen Grenzwertes ist relativ sicher als alarmrelevant zu anzusehen, wenn andere Faktoren (Betriebsstörungen) ausfallen. Ein großer Teil der möglichen Betriebsstörungen ist leicht zu erkennen, wenn die beiden im Gerät vorhandenen Meßkanäle parallel mit dem Testwasser beschickt werden. Dies erleichtert die Interpretation der Meßergebnisse in der Praxis ganz wesentlich, da bei Störung eines Meßkanals (z.B. aufgrund einer Verstopfung) der andere noch eine normale Daphnienaktivität aufzeigt. Falsche Alarmauslösungen aufgrund von Betriebsstörungen sind somit leichter zu erkennen und können via Datenfernübertragung auch ohne eine Begehung der Station als Fehler erkannt werden. Die Parallelität der Messung verbessert damit die Aussagekraft des Testsystems ganz deutlich.

Das Vorhandensein von Schadstoffen zeigt sich generell in einer signifikanten Veränderung des Schwimmverhaltens. Bei dauerhafter Schadstoffzufuhr in entsprechend hoher Dosis nimmt die Aktivität der Tiere aufgrund von Lähmungserscheinungen bzw. Tod stark ab und geht gegen Null.

Vor der Aktivitätsabnahme ist aber häufig auch eine besondere Aktivitätszunahme der Tiere zu beobachten (Abb. 8), da die Daphnien den Schadstoff sensorisch wahrnehmen und mit entsprechenden Schwimmbewegungen (Flucht ?) reagieren. Derartige Hyperaktivitäten können als solche nur erkannt werden, wenn die Dynamik der Aktivitätssteigerung berücksichtigt wird, da ja hohe Impulszahlen, wie oben erwähnt, auch unter natürlichen Bedingungen auftreten können.

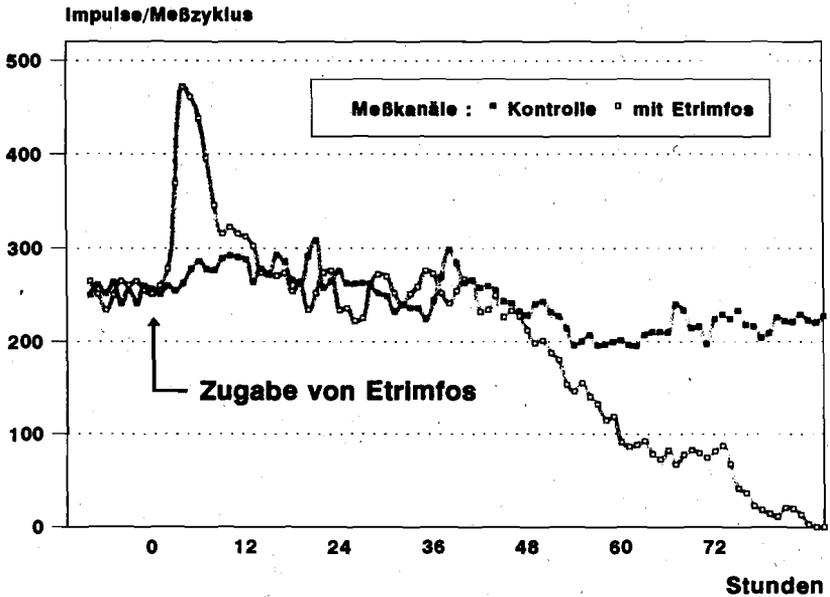


Abb. 8: Einfluß einer Pestizidzugabe ($4 \mu\text{g/l}$ Etrifos) auf die Schwimmaktivität von Daphnien

Die bei der LFU praktizierte Grenzwertfestsetzung von 100 Impulsen/10 min hat im Jahr 1988 einmal und im Jahr 1989 zweimal zur Alarmauslösung geführt. Bis zum jetzigen Zeitpunkt sind keine weiteren Störfälle nachweisbar gewesen. Insgesamt ist die Zahl der mit Hilfe des Daphnientestgerätes detektierten Gewässerstörfälle in Karlsruhe und Iffezheim recht gering. Diese günstige Situation mag vielleicht auf den Standort zurückzuführen sein, da der industrielle Problembereich des Großraumes Basel ca. 200 km von der Station entfernt liegt. Mit der neu in Betrieb genommenen schweizerisch/baden-württembergischen Meßstation Weil, die unterhalb der Stadt Basel liegt, lassen sich für diesen Bereich sicherlich neue Erkenntnisse erwarten. Auch die geplante Auswertung mittels dynamischer Grenzwertberechnungen mag zu einer Empfindlichkeitssteigerung des Meßsystems führen.

6.2.3 Hamburg

Seit 1988 sind vier Hamburger Elbemeßstationen (Abb. 9) im Rahmen eines Frühwarnsystems mit dynamischen Toxizitätstests (Testbatterie: Daphnien-, Fisch- und Bakterientest) zur frühzeitigen Erkennung plötzlich auftretender Gewässerbelastungen ausgerüstet (Blohm et al., 1990). In dem Doppelkammergerät der Firma Elektron (Krefeld) wird eine der beiden Kammern konventionell mit Daphnien betrieben, während die zweite Kammer mit jungen Fischen (Guppys) besetzt ist.

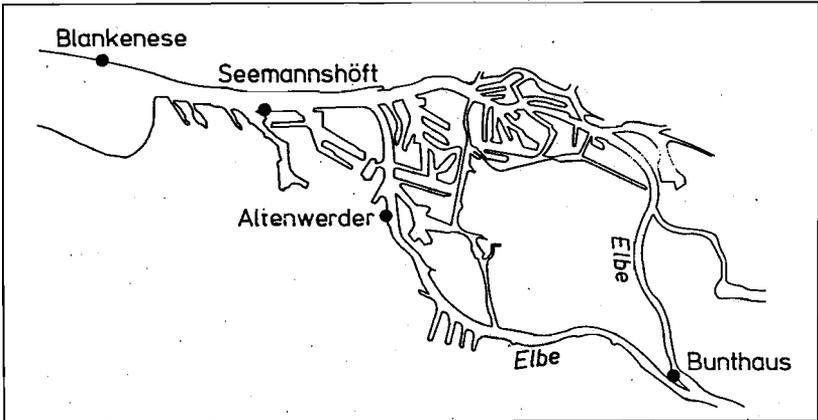


Abb. 9: Gewässergütemeßstationen mit Biomonitoren am Hamburger Elbabschnitt

Nach Einführung des Gerätes wurden die weiter oben diskutierten Änderungen wie die Installation einer Temperatureinheit, einer Vorfiltration sowie die Verwendung inerte Materialien vorgenommen. Weiterhin mußte die Ausführung der Meßküvetten geändert werden. Sie sind sehr vorsichtig zu handhaben und mit recht großen Fertigungstoleranzen behaftet, was eine zusätzliche Fixierung in der Halterung notwendig macht. Um die mechanische Stabilität der Küvette zu

erhöhen, wurde eine Silikonnaht zwischen Steigrohr und Wandung angebracht. Einen weiteren Schwachpunkt bildet das Siebgitter, welches die Testorganismen am Entweichen hindern soll. Durch Bewegungen des Siebstieles - hervorgerufen durch Bewegungen des Stationspontons - werden Störimpulse verursacht. Ein Fixieren des Stiels konnte diese Fehlerursache beheben.

Untersuchungen der Hamburger Umweltbehörde haben aufgezeigt, daß die Kondition der eingesetzten Organismen einen Einfluß auf die Reproduzierbarkeit von Ergebnissen aus Chemikalienprüfungen hat (KRAUSE 1990). Die Kondition der Testorganismen hängt stark von den gegebenen Zuchtbedingungen ab. Die vitalsten Daphnien wurden unter naturnahen Bedingungen in Elbwasser gezüchtet. Als Maßstab für die Vitalität der Daphnien kann die Impulsrate ohne Einfluß eines Schadstoffes (Nulleffekt) verwendet werden. 10 bis zu 24 Stunden alte Daphnien aus der Elbwasserzucht erzielten eine anfängliche Impulsrate von 150 bis 200 Impulsen pro 10 Minuten (Abb. 10).

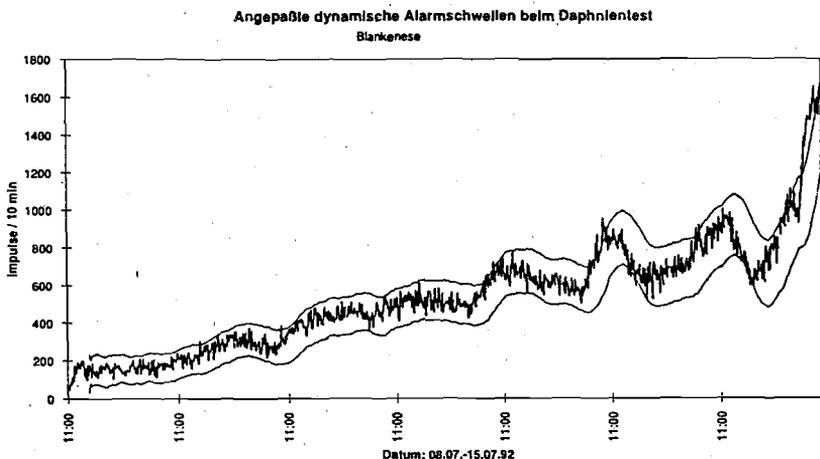


Abb. 10: Verlauf der registrierten Impulsraten einer Meßkammer, eingehüllt von den dynamischen Alarmschwellen (berechnet nach Hamburger Modell). Die Daten wurden in Blankenese in der Zeit vom 08.07. bis 15.07.1992 aufgenommen.

Daphnien aus einer standardisierten Zucht nach DIN 38412, Teil 30 waren weit weniger vital. Da dem in der Norm beschriebenen Zuchtmedium wesentliche Spurenelemente fehlen, wird zur Zeit auf das M4-Medium nach Elendt-Schneider

(s. 4.1) umgestellt. Einen weiteren Einfluß auf die Impulsrate hat das Alter der eingesetzten Tiere. Hier besteht offenbar eine Abhängigkeit zur Größe der Daphnien (KNIE 1988, PUZICHA 1989, HERBST et al. 1989). Grundsätzlich ist es wichtig, neben dem Alter die Schwimmaktivität der in die Meßküvette einzusetzenden Daphnien zu beachten. Konkret bedeutet das, daß nur die augenscheinlich schwimmaktivsten Daphnien eingesetzt werden.

Weiterhin konnte aufgezeigt werden, daß vitale - also Daphnien mit einer hohen anfänglichen Impulsrate (Elbwasserzucht) - offenbar sensitiver gegenüber gewissen Chemikalien (hier Kaliumdichromat) sind als Daphnien der standardisierten Zucht.

Grundsätzlich sind die Erfahrungen der Hamburger Umweltbehörde mit dem Dynamischen Daphnientest positiv. Die Auswertung und Interpretation der gewonnenen Daten ist schwierig und erfordert viel Erfahrung, die wöchentliche Wartung sowie die Handhabung des Gerätes sind unkompliziert.

6.2.4 Nordrhein-Westfalen

Vom Landesamt für Wasser und Abfall NW (LWA) werden Dynamische Daphnientests bereits seit 1978 zur Gewässerüberwachung eingesetzt.

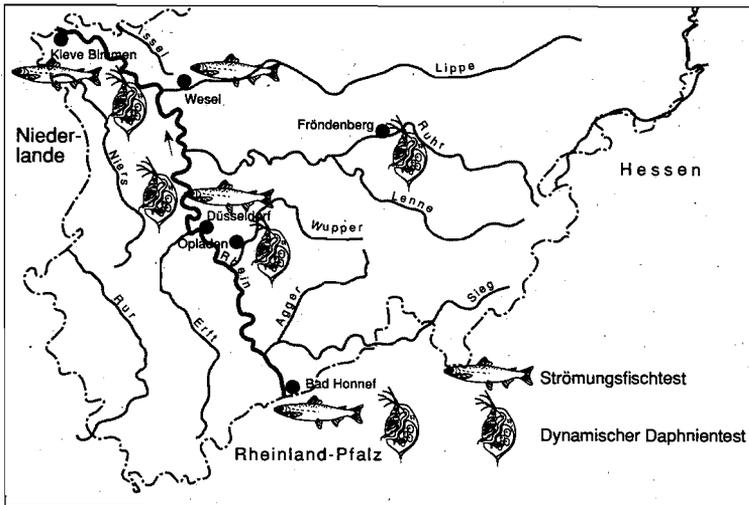


Abb. 11: Standorte der Wirkungsteststationen des Landesamtes für Wasser und Abfall an nordrhein-westfälischen Fließgewässern.

Die Testgeräte sind in bemannten und unbemannten Wasserkontrollstationen am Rhein und seinen Nebenflüssen installiert (Abb. 11). Über Datenfernübertragung sind die Tests mit dem LWA verbunden (KNIE 1990).

Die Erfahrungen des LWA mit dem Dynamischen Daphnientest sind durchweg positiv. So wurden bisher viele der im Rhein bekannt gewordenen Störfälle mit dem Testsystem nachgewiesen. Einige toxische Stoffe konnten wegen ihrer chemischen Eigenschaften vom Daphnientest nicht angezeigt werden, oder sie lagen unter den Wirkgrenzen für Daphnien und wurden deshalb nicht registriert. Darüber hinaus konnten mit dem Test Schadereignisse aufgedeckt werden, die teilweise den Tod der Testtiere zur Folge hatten, ohne daß die verursachenden Stoffe analytisch identifiziert oder die Verursacher festgestellt werden konnten (KNIE 1987).

Seine größte Bewährungsprobe bestand das Testsystem im November 1986 nach dem Brand bei der Schweizer Firma Sandoz. Die Passage der mit Löschwasser in den Rhein gespülten Schadstoffe konnte in Bad Honnef sowohl analytisch (Tab. 1) als auch mit dem Dynamischen Daphnientest (Abb. 12) verfolgt werden (KNIE 1988).

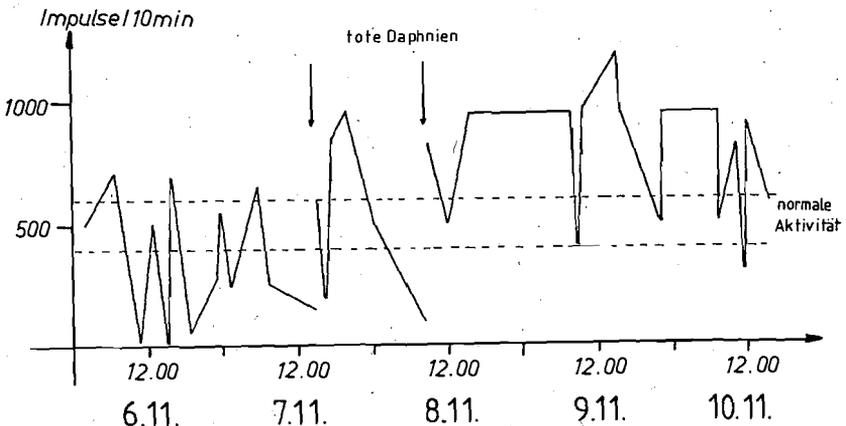


Abb. 12: Schwimmaktivität der Daphnien im dynamischen Tests im Verlauf der "Sandoz-Welle", gemessen in der WKSt. Rhein-Süd, Bad Honnef.

Tab. 1: Ergebnisse der im LWA durchgeführten chemischen Analysen des Rheinwassers bei Bad Honnef nach dem Sandoz-Störfall (alle Angaben in µg/l) (aus: LWA 1986)

Probenahmeort, Probenahmedatum	Uhrzeit	Disulfoton	Thiometon	Etriphos	Propetamphos	Parathion-Ethyl	Summe Phosphor-Säure-ester	Metoxuron	Atrazin
Bad Honnef, km 640									
06.-07.11.1986	17.00-04.00	0,7	0,3	0,2	<0,1	<0,1	1,2	0,27	0,40
07.11.1986	04.00-08.00	5,2	2,0	0,9	0,5	<0,1	8,6	0,28	0,45
07.11.1986	08.00-14.00	8,5	3,3	1,1	0,9	0,1	13,8		
07.11.1986	14.00-18.00	8,9	3,5	1,1	1,0	0,1	14,6	0,20	0,80
07.11.1986	18.00-24.00	5,2	2,0	0,7	0,7	<0,1	8,6		
08.11.1986	00.00-06.00	3,9	1,4	0,6	0,5	<0,1	6,4		
08.11.1986	06.00-12.00	2,6	1,0	0,4	0,4	<0,1	4,4		
08.11.1986	12.00-18.00	2,7	0,9	0,4	0,4	<0,1	4,4		
08.11.1986	18.00-24.00	2,2	0,7	0,4	0,4	<0,1	3,7		
09.11.1986	00.00-06.00	1,9	0,6	0,3	0,3	<0,1	3,1		
10.11.1986	00.00-06.00	0,7	0,2	0,2	0,2	<0,1	1,3	0,19	0,77
11.11.1986	00.00-06.00	0,4	0,2	0,1	0,1	<0,1	<0,1	0,8	

nach: LWA (1986)

An der Meßstation Fröndenberg-Halingen/Ruhr führte im November 1990 eine unerlaubte Einleitung, die unter anderem auch größere Mengen an Tetrachlorethen enthielt, zur Alarmauslösung im Dynamischen Daphnientest: Die am 16.11. eingesetzten Daphnien zeigten im Test nicht den sonst üblichen Anstieg der Impulsrate, sondern das Alarmschwellenniveau von 100 Impulsen pro 10 Minuten Meßzyklus wurde am 18.11. unterschritten. Im Rahmen des routinemäßigen

gaschromatographischen Screenings (Stichproben zur Bestimmung der leichtflüchtigen Halogenkohlenwasserstoffe) wurden Anstieg und Abnahme der Tetrachlorethen-Konzentrationen verfolgt (Abb. 13). Die am 19.11. nach Durchgang der Schadstoffwelle eingesetzten Daphnien zeigten im Dynamischen Daphnientest den normalen, wachstumsbedingten Anstieg der Impulsrate.

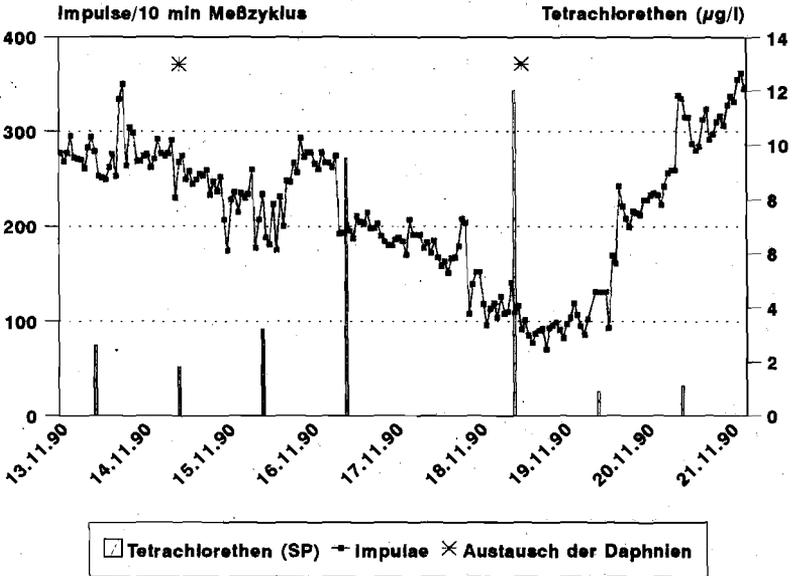


Abb. 13: Verlauf der Daphnienaktivität in Abhängigkeit von der Konzentration an Tetrachlorethen (Stichproben), gemessen an der Meßstation Fröndenberg-Haltingen/Ruhr (km 111,5)

Im Oktober 1991 wurden in der Wupper erhöhte Konzentrationen des Insektizids Isofenphos festgestellt (v. DANWITZ et al. 1992). An der Meßstelle Opladen/Wupper führten Konzentrationen bis zu 2 µg/l Isofenphos (Tagesmischprobe) zu einer deutlichen Abnahme der Daphnienaktivität bis hin zum Sterben der Tiere (Abb. 14).

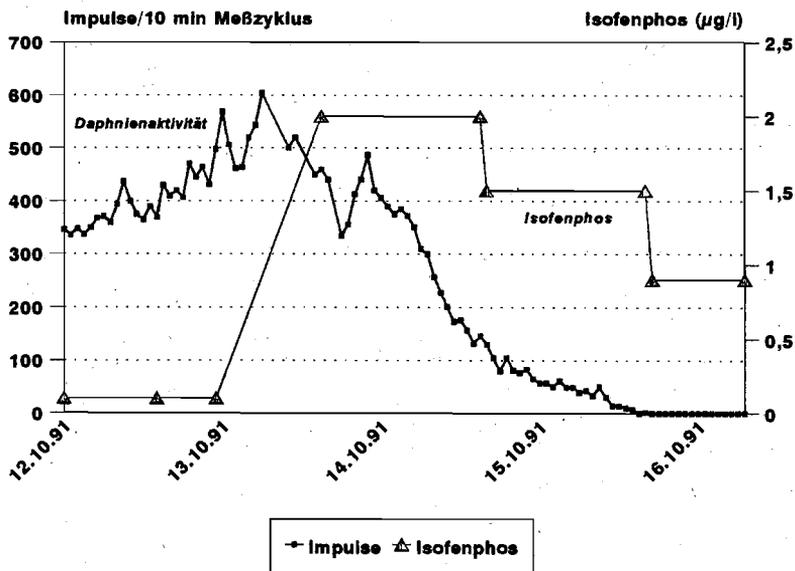


Abb. 14: Verlauf der Daphnienaktivität in Abhängigkeit von der Konzentration an Isofenphos (Mischproben) in der Wupper (Meßstation Opladen).

Als Beispiel einer systemübergreifenden Warnung durch Biotests vor Schadstoffen sind zwei Fälle vom Niederrhein aufgeführt: Im Januar und im Februar 1990 wiesen in der niederländischen Meßstation Lobith der Fischtest der Fa. Kerren und in der Wasserkontrollstation des LWA in Kleve-Bimmen der Dynamische Daphnientest gleichzeitig auf eine Vergiftung des Rheinwassers hin (Tab. 2 und Tab. 3).

Tab. 2: Stoffe, die im Januar 1990 in der niederländischen Meßstation Lobith Fischtestalarm und in der Wasserkontrollstation des LWA in Kleve-Bimmen Daphnientestalarm auslösten

Angaben zur Probe

Proben-Nr.	Art der Probe	Datum	Zeit
1	24-h Mischprobe XAD-Anreicherung	03.-04.01.90	8 - 8 Uhr
2	Stichprobe Fischtest	03.01.90	22.30 Uhr

Analysenergebnisse ($\mu\text{g/l}$)

	Probe-Nr.		durchschnittliche Konzentration im Rheinwasser	Toxizitätsdaten LC ₅₀ Fisch (mg/l)
	1	2		
Trichlorethylphosphat	0,2	0,2	< 0,05	
Atrazin	0,1	0,1	< 0,1	4,5
Pyrazon	0,2	0,1	< 0,05	0,48
Triphenylphosphin-oxid	0,18		< 0,05	26
Cholinesterase-Hemmer		0,37	< 0,3	

Tab. 3: Stoffe, die im Februar 1990 in der niederländischen Meßstation Lobith Fischtestalarm und in der Wasserkontrollstation des LWA in Kleve-Bimmen Daphnientestalarm auslösten

Angaben zur Probe

Proben-Nr.	Art der Probe	Datum	Zeit
1	24-h Mischprobe XAD-Anreicherung	07.-08.02.90	8 - 8 Uhr
2	Stichprobe Fischtest	08.02.90	12.00 Uhr
Routineproben: 3	8-h Mischprobe XAD-1-Anreicherung	November 89	
4	Mischprobe XAD-1-Anreicherung	Dezember 89	
5	Mischprobe XAD-1-Anreicherung	Januar 90	

Analysenergebnisse ($\mu\text{g/l}$)

Probe-Nr.	durchschnittliche Konzentration im Rheinwasser					Toxizitätsdaten LC ₅₀ Fisch (mg/l)
	1	2	3	4	5	
iso-Hexanol	<0,1	9,8	<0,1	<0,1	<0,1	129
Trichlorethyl- phosphat	0,6	0,2	0,1	0,4	0,8	26
Benzothiazol	0,3	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	51
2-Nitroanilin	1,1	0,2	1,8	0,4	0,2	5,6

7. Daphnientestgerät Aqua-Tox-Control-Daphnia

Seit 1991 bietet auch die Fa. Kerren (Viersen) ein kontinuierlich arbeitendes Daphnientestgerät an - das Aqua-Tox-Control-Daphnia. In diesem Testsystem werden durch Wechselbeleuchtung in der Testkammer die Daphnien gezielt jeweils in Richtung des Lichtes gelenkt und die Bewegungen durch Sensoren erfaßt.

Das Testgerät beinhaltet zwei ca. 140 ml fassende Testkammern, an deren oberen und unteren Ende sich je eine LED-Lichtquelle befindet. Die Testkammern sind lichtgeschützt, so daß die Tiere durch äußere Einflüsse nicht gestört werden. Während der Testphase werden die Kammern von oben beleuchtet, in der Ruhephase von unten. In der Ruhephase schwimmen die Daphnien folglich aus dem oberen Kammerbereich zur Basis der Testkammer, wo sie Futter aufnehmen können. Während des gesamten Testbetriebes wird kontinuierlich mit Grünalgen (*Scenedesmus subspicatus*) gefüttert. Die aktive Bewegung der Tiere zum Licht wird durch eine Infrarot-Lichtschranke detektiert. Die Empfindlichkeit der IR-Lichtschranke ist je nach Testwasser regulierbar. Die Helligkeit der LED-Beleuchtung ist ebenfalls einstellbar. Das Testwasser durchströmt von unten die Testkammern. Nach oben sind die Kammern durch Siebe bedeckt, durch die die während des Testbetriebes geschlüpften Jungtiere ausgespült werden sollen. Zusätzlich erhältlich ist eine Daphnienzuchtanlage. Die Anschaffungskosten für das Gerät betragen ca. 40.000 DM, inklusive Zuchtanlage rund 50.000 DM.

Bislang sind noch keine gesicherten Aussagen bezüglich der Praxistauglichkeit des Gerätes möglich.

8. Literatur

- ANONYMUS (in Vorb.): Kontinuierliche Biotestverfahren zur Überwachung des Rheins. Erarbeitet von der Bund-Länder-Projektgruppe "Wirkungstests Rhein (WIR)". UBA-Berichte, in Vorbereitung.
- BLOHM, W., R. DANNENBERG, P. ENGER-EHLER, K. ROCH (1990): Kontinuierliche Messungen an Oberflächengewässern in Hamburg, Automatische Wassergütemeßsysteme. Hamburger Umweltberichte 31. Freie und Hansestadt Hamburg, Umweltbehörde (Hrsg.).
- BLOHM, W. (1993): Erfahrungsbericht über das Biologische Frühwarnsystem der Umweltbehörde Hamburg. Umweltbehörde Hamburg, Amt für Umweltuntersuchungen.
- BOTTERWEG, J. (1989): Testen in een bioalrmsysteem met watervlooiën onder laboratorium-omstandigheden. Studentenverlag DBW/RIZA, Michelle de la Haye, Lelystad.
- DANWITZ, B. v., C. MERSCHHEMKE, H.-J. LÖBBEL, P. STEIN (1992): Zeitnahe Gewässerüberwachung mit kontinuierlichen Biotests. Gewässerschutz-Wasser-Abwasser 134, 55-65.
- DEVENTER, K. (1990): Der Dynamische Daphnientest: Erste Erfahrungen in der Immissions- und Emissionsüberwachung an Gewässern und Einleitungen in Hessen. Hessische Landesanstalt für Umwelt, Wiesbaden Heft 112.
- DIN 38412, Teil 11: Bestimmung der Wirkung von Wasserinhaltsstoffen auf Kleinkrebse (Daphnien-Kurzzeitest) (L11), 1982.
- DIN 38412, Teil 30: Bestimmung der nicht akut giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Daphnien über Verdünnungsstufen (L30), 1989.
- ELENDT, B.-P. (1990): Selenium deficiency in Crustacea. An ultrastructural approach to antennal damage in *Daphnia magna* Straus. Protoplasma 154, 25-33.
- HERBST V., KLEESIEK W., LÖFFLER J. (1989): Toximeter - der Einsatz kontinuierlich arbeitender Testsysteme in automatischen Gütemeßstationen. Mitteilungen aus dem Niedersächsischen Landesamt für Wasserwirtschaft (Hrsg.), Hildesheim.
- KNIE, J. (1987): Der Dynamische Daphnientest - praktische Erfahrungen bei der Gewässerüberwachung -. Gewässerschutz-Wasser-Abwasser 102, 341-356.
- KNIE, J. (1988): Der Dynamische Daphnientest - ein automatischer Biomonitor zur Überwachung von Gewässern und Abwässern. Wasser und Boden 12, 310-312.
- KNIE, J. (1990): Betriebserfahrungen mit biologischen Testanlagen, VDI-Umwelt 20, 517-519.

- KRAUSE, R. (1990): Störfallsimulation und Auswertemöglichkeiten am Dynamischen Daphnien- und Fischtest und ToxAlarm. Diplomarbeit an der Fachhochschule Lübeck, Fachbereich Angewandte Naturwissenschaften, Studiengang Technisches Gesundheitswesen.
- LANDESAMT FÜR WASSER UND ABFALL NORDRHEIN-WESTFALEN (1986): Brand bei Sandoz und Folgen für den Rhein in NRW. LWA Sonderbericht, November 1986, 13 S.
- MATTHIAS, U., H. PUZICHA (1990): Erfahrungen mit dem Dynamischen Daphnientest. Zeitschrift für Wasser- und Abwasserforschung 23, 193-198. VCH Verlagsges. Weinheim.
- PUZICHA, H. (1989): Untersuchungen über die Auswirkungen verschiedener Pestizide auf die Schwimffähigkeit von *Daphnia magna* Straus mit Hilfe des Dynamischen Daphnientests. Diplomarbeit an der Fakultät für Bio- und Geowissenschaften, TU Karlsruhe.
- PUZICHA, H., W. BLOHM (1991): Ergebnisprotokoll vom 1. Arbeitstreffen zum Austausch von Erfahrungen über den Einsatz des Dynamischen Daphnientests in Meßstationen zur Gewässerüberwachung. Veranstaltung am 14./15. Februar 1991 in Hamburg. Landesamt für Wasserwirtschaft Rheinland-Pfalz, Mainz, 1-15.

9. Anhang

Wartungsprotokoll (Muster)

Meßstation:

Datum:

- Beginn des Meßzyklus: Datum/Uhrzeit/.....

Alter der eingesetzten Daphnien: [] 2-24 h [] 24-48 h

Anzahl
eingesetzter Daphnien : linke Kammer [] rechte Kammer []

- Ende des Meßzyklus: (Datum/Uhrzeit)/.....

Anzahl
wiedergefundener Daphnien: linke Kammer [] rechte Kammer []

davon schwimmunfähig: [] []

Anzahl Jungtiere: [] []

Alarmer / Impulsauffälligkeiten:

Datum	Uhrzeit von - bis	stat. Alarm (Impulse < 100)	dynam. Alarm	Kammer	
				links	rechts
.....	[]	[]	[]	[]
.....	[]	[]	[]	[]
.....	[]	[]	[]	[]
.....	[]	[]	[]	[]
.....	[]	[]	[]	[]
.....	[]	[]	[]	[]
.....	[]	[]	[]	[]
.....	[]	[]	[]	[]
.....	[]	[]	[]	[]
.....	[]	[]	[]	[]

Bemerkungen: (z.B. sonstige Arbeiten in der Station, Stromausfälle etc.)

Handzeichen: _____

Funktionskontrolle	Störung?	(ggf. Erläuterung bei ja)
<input type="checkbox"/> Zufuhr des Testwassers zur Filtriereinrichtung;	<input type="checkbox"/> nein, <input type="checkbox"/> ja
<input type="checkbox"/> Ansaugen des Testwassers aus der Filtriereinrichtung,	<input type="checkbox"/> nein, <input type="checkbox"/> ja
<input type="checkbox"/> Wasserstand Meßküvette links,	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja
<input type="checkbox"/> " rechts,	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja
<input type="checkbox"/> Ablauf des Testwassers links,	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja
<input type="checkbox"/> " rechts,	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja
<input type="checkbox"/> Beleuchtung links,	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja
<input type="checkbox"/> " rechts,	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja
<input type="checkbox"/> Lichtschranken links,	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja
<input type="checkbox"/> " rechts,	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja
<input type="checkbox"/> Temperatur i. d. Meßküvette links, eingestellt ____ °C, gemessen ____ °C		
<input type="checkbox"/> Temperatur i. d. Meßküvette rechts, eingestellt ____ °C, gemessen ____ °C		
(<input type="checkbox"/> Farbbänder, Schreiberstifte, Druckerrollen, Papiervorschub)		
(<input type="checkbox"/> Speicherkapazität der Datendiskette [<input type="checkbox"/>] Tage)		

Reinigungsarbeiten (am Ende eines Meßzyklus):

- Filtriereinrichtung
- Pumpenschläuche
- Ablaufschläuche
- Durchflußmeßeinrichtung
- (Anschlußstutzen des Kühlelementes)
- (Flußwasser-Vorlaufgefäß)
- Austausch der Pumpenschläuche (alle 3 Monate bzw. nach Alarmfällen)
- o.g. Störungen behoben ?

Bemerkungen: _____

Handzeichen: _____

Information über neue Technische Umweltverwaltung in Nordrhein-Westfalen

Die Technische Umweltverwaltung in Nordrhein-Westfalen wurde neu organisiert und das

Landesumweltamt Nordrhein-Westfalen

gegründet. Im Landesumweltamt Nordrhein-Westfalen (LUA NRW), das seit dem 1. April 1994 arbeitet, sind die Vorläuferinstitutionen *Landesamt für Wasser und Abfall*, *Landesanstalt für Immissionsschutz*, *Bodenschutzzentrum*, *Bodenschutzabteilung der Landesanstalt für Ökologie* und *das Fachinformationszentrum für gefährliche und umweltrelevante Stoffe* zusammengeführt worden.

Ein ausführliches Verzeichnis aller lieferbaren Schriften des *Landesumweltamtes NRW* und seiner *Vorläufer-Institutionen* ist erhältlich unter der gemeinsamen Postanschrift

Landesumweltamt NRW, Postfach 10 23 63, 45023 Essen
(Hausanschrift: Wallneyer Straße 6, 45133 Essen)

oder unter der Telefon/Telefax-Nr.

(02 01) 79 95-0 (Telefon); (02 01) 79 95-446/447 (Telefax).

Seit 1. April 1994 sind bisher folgende „Materialien“ des neugegründeten Landesumweltamtes NRW erschienen:

- 1 Der Dynamische Daphnientest
– Erfahrungen und praktische Hinweise –
Essen: Landesumweltamt NRW 1994, 44 S.

15,00 DM