

# **Einsatz von Biotests zur Beurteilung von Industrieabwasser (Übersichtstudie)**

Studie zur Toxizität im Industrieabwasser - Modul 1

Xenia Klaus & Miriam Langer  
Muttenz, 28.02.2021

**Im Auftrag des Bundesamtes für Umwelt (BAFU)**

## **Impressum**

### **Auftraggeber:**

Bundesamt für Umwelt (BAFU)  
Abteilung Wasser  
CH-3003 Bern

Das BAFU ist ein Amt des Eidg. Departements für Umwelt, Verkehr, Energie und Kommunikation (UVEK).

### **Auftragnehmer:**

Institut für Ecopreneurship (IEC)  
Hochschule für Life Sciences, Fachhochschule Nordwestschweiz, Muttenz

### **Autorinnen:**

Xenia Klaus, Miriam Langer

### **Begleitung BAFU:**

Saskia Zimmermann-Steffens (BAFU)  
Rebekka Gulde (Verband Schweizerische Abwasser- und Gewässerschutzfachleute, Glattbrugg)

### **Hinweis:**

Diese Studie/dieser Bericht wurde im Auftrag des Bundesamtes für Umwelt (BAFU) verfasst. Für den Inhalt ist allein der Auftragnehmer verantwortlich.

**Anmerkungen der Autorinnen:**

Der vorliegende Bericht fasst den aktuellen Wissensstand zum Einsatz von Biotests zur Untersuchung von Industrieabwässern zusammen. Die Erkenntnisse entstammen der Literatur und aus Gesprächen mit Fachexperten von Behörden, Verbänden und der Privatwirtschaft. Der Bericht wurde mit Sorgfalt und nach bestem Gewissen erstellt. Für die Richtigkeit, Vollständigkeit und Aktualität übernimmt die FHNW jedoch keine Gewähr. Haftungsansprüche wegen Schäden materieller oder immaterieller Art, welche durch die Anwendung der Publikation entstehen können, werden ausgeschlossen.

## Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung		7
1	Situation in der Schweiz	9
1.1	Quellen von Stoffeinträgen	9
1.2	Stoffeinträge aus Industrie und Gewerbe	10
1.3	Situationsanalyse zu Stoffeinträgen aus Industrie und Gewerbe	11
2	Grundlagen	13
2.1	Gesetzliche Grundlagen	13
2.2	Ökotoxikologische Grundlagen	13
2.2.1	Biotests in der aquatischen Ökotoxikologie	14
3	Projekt «Übersichtsstudie zum Einsatz von Biotest für die Beurteilung von Industrieabwasser»	20
3.1	Erfahrungsaustausch zwischen Industrie und Forschung	20
3.2	Hintergrund	20
3.3	Aufgabenstellung	22
3.4	Abbautest	22
3.4.1	Abgrenzung zwischen Abbautest und Biotest	22
3.4.2	Zahn-Wellens-Test / Stucki-Test	23
3.5	Umsetzung	27
4	Beurteilung von industriellen und gewerblichen Abwässern	28
4.1	Biotests für die Beurteilung von Abwasserproben	28
4.2	Ausgewählte Biotests zur Beurteilung von Industrieabwässern	42
4.3	Herausforderungen bei der Anwendung von Biotests mit Industrieabwasser	45
4.3.1	Matrixeffekte	45
4.3.2	Einfluss der Probenahmen	46
4.3.3	Interpretationen	47

4.4	Online-Monitoring Systeme	48
5	Einsatz von Biotests für die Beurteilung von Industrieabwasser: Internationaler Einsatz und Kenntnisstand	51
5.1	Einsatz von Biotests zur Beurteilung von Gesamt-Abwasserproben	51
5.1.1	Whole Effluent Toxicity (WET) Testing	51
5.1.2	Whole Effluent Assessment (WEA)	55
5.1.3	Anwendung von Whole Effluent Assessment / Whole Effluent Toxicity Testing	59
5.2	Anwendung in Deutschland	63
5.2.1	Umsetzung	63
5.2.2	Einordnung	68
5.3	Gesetzliche Grundlagen zu Industrieabwasser in der Europäischen Union (EU)	70
5.4	Anwendung in den USA	71
5.5	Anwendung in Kanada	73
5.5.1	Ontario	74
5.5.2	Hinweise für die praktische Umsetzung	76
6	Einsatz von Biotests in der Schweiz	78
6.1	«Strategie Micropoll» und der Einsatz von Biotests zur Beurteilung von Abwasserreinigungsprozessen	78
6.2	«Biotestscreening» zur Erfassung der Toxizität von Industrieabwasser in der Schweiz	80
6.3	Befragungen der Kantone	83
6.3.1	Spezialfall Kühlwasser	84
6.4	Austausch mit Branchenverbänden	85
6.5	Erfahrungsaustausch mit Betrieben – Betriebsbesuche und -befragungen	86
6.5.1	Hintergrund	86
6.5.2	Ablauf Betriebsbesuche	87
6.5.3	Erkenntnisse aus den Betriebsbefragungen	87

6.5.4	Ausweitung der Umfrage	97
6.6	Zusammenfassung der Erfahrungen zum Einsatz von Biotests in der Schweiz	104
7	Untersuchungskonzept zur Beurteilung von Industrieabwässern	105
7.1	Untersuchungskonzept	105
7.2	Interpretationshilfe - Abschätzung der Toxizität und Salzkorrektur	111
7.3	Erläuterungen zum Untersuchungskonzept	119
7.4	Vorgehensempfehlungen	120
8	Einsatz von Biotests zur Beurteilung von Deponiesickerwasser	122
8.1	Gesetzliche Grundlagen	122
8.2	Anwendung in der Praxis	123
8.3	Schlussfolgerungen	123
8.4	Vorgehensempfehlungen	124
9	Fazit	125
10	Begriffe und Abkürzungen	126
11	Verzeichnisse	129
11.1	Literatur	129
11.2	Abbildungsverzeichnis	133
11.3	Tabellenverzeichnis	136
11.4	Guidelines	138
11.5	Gesetzliche Grundlagen	140
12	Anhang	141

## Zusammenfassung

Mikroverunreinigungen werden aus unterschiedlichen Quellen direkt oder indirekt (z.B. über Abwasserreinigungsanlagen) in die Gewässer eingetragen. Ein Teil dieser Stoffeinträge stammt aus Industrie- und Gewerbebetrieben. Die stoffliche Zusammensetzung von Industrieabwässern ist oft unbekannt und zusätzlich dynamisch. Durch chemische Analysen können einzelne Stoffe zwar gezielt detektiert werden, nicht untersuchte Substanzen, Transformationsprodukte sowie Kombinationswirkungen von Stoffmischungen werden dadurch aber nicht abgedeckt. Um problematische Abwässer zu identifizieren, ist die Ergänzung der chemischen Analytik mit Biotests sinnvoll. Ökotoxikologische Biotests setzen dabei unter anderem ganze Organismen oder Zellen ein, um den Effekt einer spezifischen Exposition zu messen. Zusätzlich ermöglichen es manche biologischen Testmethoden, einen negativen Einfluss auf die Biologie in der Kläranlage abzuschätzen.

Biotests werden schon seit mehreren Jahrzehnten für die Untersuchung von Gesamt-Abwasserproben genutzt und in Nordamerika und in Europa in unterschiedlichen Ländern regelmässig angewendet, wie z.B. in Deutschland für die Beurteilung der Abwässer von direkteinleitenden Industriebetrieben. Auch in der Schweiz werden Biotests bereits in einzelnen Betrieben gezielt eingesetzt, um die Toxizität von Betriebsabwässern einzuschätzen. Es entstand daher der Wunsch seitens der Betriebe und des BAFU, solche Erfahrungen weiteren Betrieben zur Verfügung zu stellen und konkrete Vorgehensempfehlungen für die Beurteilung von industriellen und gewerblichen Abwässern abzuleiten.

Innerhalb des Projekts «Übersichtsstudie zum Einsatz von Biotests für die Untersuchung von Industrieabwässern und Vorschlag eines Untersuchungskonzepts» im Auftrag des Bundesamtes für Umwelt wird das vorhandene Wissen in der Schweiz und im Ausland zum Einsatz von Biotests gesammelt und ein praktisch anwendbares Konzept für die Untersuchung von Industrieabwässern mit Biotests entwickelt. Neben einer extensiven Literaturrecherche und dem Austausch mit Fachexperten werden die Erfahrungen und Bedürfnisse von einzelnen Betrieben in Befragungen und in einer Online-Umfrage eingeholt.

Die Erkenntnisse aus den Umfragen ergaben, dass innerhalb der Schweiz nur wenig Erfahrung in der Anwendung von Biotests für die Untersuchung von industriellen und gewerblichen Ab-

wässern besteht. Der Einsatz von Biotests für die Identifizierung von problematischen Abwässern stellt aber aus Sicht der Behörden und einzelner Betriebe eine interessante Möglichkeit dar, problematische Abwässer mit toxischem Potential zu identifizieren (z.B. für die ARA). Zur Abschätzung einer möglichen Toxizität für die ARA-Biologie werden biologische Testmethoden bereits häufiger eingesetzt. Die Kombination eines Abbautests mit einer geeigneten Biotestbatterie stellt zudem eine interessante Möglichkeit dar, toxische und persistente Stoffe zu identifizieren (Brack et al., 2019). Dadurch werden neue Optionen generiert, solche Stoffe bis zu Quelle zurückzuverfolgen, was letztendlich Möglichkeiten für wirkungsvolle Massnahmen an der Quelle eröffnet.

Das vorgeschlagene Untersuchungskonzept besteht aus

- einem Abbautest zur Abschätzung der Persistenz,
- Nitrifikations- und/oder Respirationshemmtests zur Abschätzung der ARA-Toxizität,
- einer Biotestbatterie zur Identifikation von ökotoxikologisch relevanten Substanzen.

Um einen möglichen Einfluss von Matrixeffekten auszuschliessen, wird vorgeschlagen, abiotische Parameter wie Leitfähigkeit, Salzgehalt und pH an die Toleranzbereiche der eingesetzten Organismen im Biotest anzupassen. Das Untersuchungskonzept schlägt zu diesem Zweck eine Interpretationshilfe für die Salzkorrektur vor.

Für eine künftige praktische Anwendung des Untersuchungskonzepts ist die (Weiter-)Entwicklung eines verkürzten Abbautests erforderlich, was derzeit in einem weiteren BAFU-finanzierten Projekt von Michael Thomann an der FHNW angegangen wird. Weiter steht die Prüfung der Praxistauglichkeit des Untersuchungskonzepts im Einsatz mit unterschiedlichen Betriebs- und Branchenabwässern noch aus, um letztendlich eine breite Anwendbarkeit und Interpretation zu ermöglichen.



# **1 Situation in der Schweiz**

Der Bau von Abwasserreinigungsanlagen (ARA) im 20. Jahrhundert stellt eine wichtige Innovation im Schweizer Gewässerschutz dar. Die Wasserqualität wurde durch die biologische Abwasserbehandlung massgeblich verbessert und die Belastung der Gewässer mit Nährstoffen und problematischen Substanzen ging stark zurück. Trotz des grossflächigen Ausbaus der Abwasserinfrastrukturen gelangen jedoch nach wie vor Substanzen unterschiedlichen Ursprungs (z.B. Medikamente, Industriechemikalien oder Biozide im Nano- oder Mikrogramm-Konzentrationsbereich) in die Gewässer, da nicht alle Stoffe in der biologischen Abwasserbehandlungsstufe (vollständig) abgebaut und mit dem gereinigten Abwasser in die Vorfluter eingeleitet werden. Diese persistenten und teilweise toxischen Stoffeinträge in die Gewässer bleiben eine grosse Herausforderung für den heutigen und künftigen Gewässerschutz in der Schweiz.

## **1.1 Quellen von Stoffeinträgen**

Rückstände von Substanzen können aus unterschiedlichen Quellen wie Haushalt, Landwirtschaft oder Industrie und Gewerbe direkt oder indirekt in die Gewässer gelangen. Verschiedene Massnahmen wurden in der Schweiz bereits ergriffen, um diese Einträge zu reduzieren. Dazu zählen der Ausbau der Abwasserreinigungsanlagen mit einer zusätzlichen vierten Reinigungsstufe (durch Aktivkohle oder Ozonung), die grossflächige Sanierung von Altlasten und der Aktionsplan Pflanzenschutzmittel zur Reduktion der Pestizideinträge. Grundsätzlich stammen die Stoffrückstände in den Gewässern entweder aus diffusen Einträgen (z.B. aus der Landwirtschaft oder durch Abschwemmung von Siedlungsflächen) oder sie werden aus Punktquellen über die Kläranlagen mit dem gereinigten Abwasser in die Gewässer eingetragen (z.B. aus häuslichem oder industriellem Abwasser).

Einträge von Stoffrückständen aus den Haushalten und aus Industrie und Gewerbe sollen durch den Ausbau von ARA mit der vierten Reinigungsstufe weiter stark reduziert werden. Hierfür ist die Finanzierung seit dem 1. Januar 2016 gesetzlich in der Gewässerschutzverordnung geregelt. In Kombination zu den Optimierungen in der Abwasserreinigung sind weitere Massnahmen und Untersuchungen erforderlich, um kurzfristig mehr Kenntnisse über die Stoffeinträge zu erhalten und um langfristig die Wasserqualität in den Schweizer Gewässern nachhaltig zu verbessern.

Im Bericht «Massnahmen an der Quelle zur Reduktion der Mikroverunreinigungen in den Gewässern» beschloss der Bundesrat im Jahr 2017, weitere Massnahmen am Ursprungsort zu ergreifen, um Mikroverunreinigungen in den Gewässern langfristig zu reduzieren (Bundesrat, 2017). Neben einer konsequenteren Umsetzung der bestehenden Regelungen und der umweltgerechten Anwendung und Entsorgung von Produkten (u.a. Arzneimittel oder Pflanzenschutzmittel), schlägt der Bundesrat vor, den Wissenstand zu einzelnen für Mikroverunreinigungen verantwortliche Quellen stark zu verbessern.

## **1.2 Stoffeinträge aus Industrie und Gewerbe**

Über den Anteil an Stoffeinträgen aus Industrie und Gewerbe in Oberflächengewässer ist zum aktuellen Stand noch wenig bekannt (Braun and Gälli, 2014). Es ist anzunehmen, dass die Zusammensetzung von Substanzen aus Betrieben vielfältig und die Frachten teilweise beträchtlich sind. Der Bundesrat schätzt die Einträge aus Industrie und Gewerbe in seinem Bericht auf einen Anteil von rund 20 Prozent der gemessenen Gesamtfrachten an Mikroverunreinigungen ein (Bundesrat, 2017). In einer Studie von Anliker et al. 2020 wurde beispielhaft festgestellt, dass Abwasser aus der verarbeitenden pharmazeutischen Industrie verglichen zu kommunalem Abwasser zehnmal so viele potenzielle Stoffeinträge mit oft hohen Spitzenkonzentrationen (von bis zu 214 µg/L) generiert, die deutlich über den typischen kommunalen Abwasserkonzentrationen liegen (Anliker et al., 2020).

Die Zusammensetzung von industriellem Abwasser ist oftmals variabel und damit schlecht vorhersehbar, da diese von der Branche und der jeweiligen Produktion abhängig ist. Auch innerhalb eines Betriebes kann die Abwasserzusammensetzung sehr dynamisch je nach Auftragslage und Produktionsspektrum sein. Insgesamt weist industrielles Abwasser eine schlechtere biologische Abbaubarkeit auf als kommunales Abwasser, aufgrund der oftmals komplexeren Zusammensetzung schwer abbaubarer Substanzen oder wenn Spitzenbelastungen auftreten (Wunderlin et al., 2021; siehe auch 1.3). Die Aufbereitung von industriellem Abwasser stellt somit eine grosse Herausforderung dar.

Im folgenden Bericht schliesst der Begriff «Industrieabwasser» oder «industrielles Abwasser» das betriebliche Abwasser aus Industrie und Gewerbe ein.

### 1.3 Situationsanalyse zu Stoffeinträgen aus Industrie und Gewerbe<sup>1</sup>

Die «Situationsanalyse Stoffeinträge aus Industrie und Gewerbe in Gewässer» (Wunderlin et al., 2021), die von der VSA-Plattform Verfahrenstechnik Mikroverunreinigungen zurzeit erarbeitet wird, setzt eine Empfehlung aus dem Bundesratsbericht «Massnahmen an der Quelle zur Reduktion von Mikroverunreinigungen in den Gewässern» um (Bundesrat, 2017). Im Projekt sollen das Wissen zu Stoffeinträgen aus Industrie und Gewerbe zusammengetragen und systematisiert und mögliche Massnahmen zur Reduktion von Stoffeinträgen geprüft werden. Der technische Bericht zur Situationsanalyse ist aktuell in Arbeit. Dieser enthält sowohl aktuelles Wissen zu Stoffeinträgen aus Industrie und Gewerbe, identifiziert Wissenslücken sowie relevante Prozesse und Branchen und schlägt mögliche Handlungsempfehlungen vor.

Die Situationsanalyse gibt eine Übersicht zu den Branchen und branchenübergreifenden Prozessen, die nach Einschätzung von Experten Stoffeinträge verursachen. Dadurch entsteht ein Überblick, über die Branchen, welche abwasserrelevante Prozesse einsetzen und welche Prozesse zu möglichen persistenten Rückständen führen. Als Branchen mit relevanten Prozessen wurden in der Situationsanalyse die chemisch-physikalische Behandlung von flüssigen Sonderabfällen, die Herstellung und Verarbeitung von chemisch/pharmazeutischen Produkten, die Metalloberflächenbehandlung/Galvanik, die Herstellung und Verarbeitung von Lebensmitteln, Wäschereien, Malergewerbe sowie das Auto-/Transportgewerbe identifiziert (siehe **Tabelle 1**).

Ein Teil der in **Tabelle 1** aufgezählten Branchen zeichnet sich durch dynamische und komplexe Produktionsprozesse aus, die eine bedeutende Rolle für den Eintrag in die Gewässer spielen, da sie einerseits Stossbelastungen hoher organischer Frachten verursachen und andererseits variable Abwasserteilströme mit unbekannter Stoffzusammensetzung generieren können. Neben den Produktionsprozessen wurde branchenübergreifend anfallendes Abwasser aus Heiz- und Kühlprozessen als relevante Quelle für den Eintrag von Stoffrückständen identifiziert (u.a. durch darin enthaltene Biozide).

<sup>1</sup> Die folgenden Erkenntnisse der VSA-Situationsanalyse über «Stoffeinträge aus Industrie und Gewerbe in Gewässer» wurden aus dem aktuellen Berichtsentwurf vom Dezember 2020 entnommen

**Tabelle 1** Übersicht der Branchen, die gemäss der Situationsanalyse abwasserrelevante Prozesse einsetzen und somit zu möglichen Stoffeinträgen in die Gewässer führen können (adaptiert nach Wunderlin et al., 2021, in prep.). Neben Abwasser aus Produktionsprozessen mit oftmals variabler Stoffzusammensetzung sind Kühl- und Heizprozesse relevant für den Eintrag von Stoffrückständen (z.B. durch Biozide in Kühlabwässern).

Branchen mit relevanten Prozessen für Stoffeinträge in die Gewässer	
▪	Chemisch-physikalische Behandlung von flüssigen Sonderabfällen
▪	Herstellung und Verarbeitung von chemisch/pharmazeutischen Produkten
▪	Metalloberflächenbehandlung/Galvanik
▪	Herstellung und Verarbeitung von Lebensmitteln
▪	Wäschereien
▪	Malergewerbe
▪	Auto-/Transportgewerbe

Unterschiedliche technische Massnahmen und Barrieren werden von den Betrieben bereits eingesetzt, um die gesetzlichen Anforderungen nach Stand der Technik einzuhalten (z.B. pH-Neutralisation, Entfernung von Schwermetallen). Um Stoffeinträge effizient zu reduzieren sind zudem Optimierungen in den Produktionsprozessen oder im Abwassermanagement (z.B. durch Triage der Abwasserströme und anschliessender Verbrennung oder Filtration) sowie eine verbesserte Abwasservorbehandlung im Einsatz.

Trotz der Identifikation von relevanten Branchen und Prozessen innerhalb der Situationsanalyse bleibt es schwierig zu definieren, welche Stoffeinträge relevant für die Gewässer sind. Für die meisten bekannten Mikroverunreinigungen ist kein numerischer Einleitwert definiert; sie werden lediglich durch den DOC<sup>2</sup>-Summenwert abgedeckt. Der DOC kann in Untersuchungen aber ers- tens nicht mit einer auftretenden Toxizität korreliert werden (siehe 5.1.2). Zweitens wird meist lediglich ein DOC-Abbau von > 85% DOC<sup>3</sup> angestrebt, wodurch nicht ausgeschlossen werden kann, dass in der verbleibenden Fraktion noch schwer abbaubare Stoffrückstände in die Gewässer gelangen. Auch soll an dieser Stelle angemerkt werden, dass der Grossteil der Substanzen und deren Transformationsprodukte unbekannt ist, was eine grosse Herausforderung darstellt.

<sup>2</sup> Der DOC (= *Dissolved Organic Carbon*) beschreibt den Gehalt am gesamten gelösten organischen Kohlenstoff in einer Probe und wird als Summenwert ausgedrückt.

<sup>3</sup> Allgemeine Anforderung an den Reinigungseffekt in der ARA für die Einleitung von kommunalem Abwasser in die Gewässer gemäss Anhang 3.1 GSchV.

## **2 Grundlagen**

### **2.1 Gesetzliche Grundlagen**

Die wichtigste Grundlage der eidgenössischen Gewässerschutzgesetzgebung bilden das Vorsorgeprinzip (Art. 1 USG) und das Verunreinigungsverbot (Art. 6 GSchG), welche die Gewässer grundsätzlich vor nachteiligen Einflüssen bewahren sollen. In der Gewässerschutzverordnung (GSchV) werden Anforderungen an die Einleitung von Abwasser unterschiedlicher Herkunft genauer definiert sowie wird vorgeschrieben, dass Abwasser aus industriellen Betrieben nach dem Stand der Technik behandelt werden soll, um Verunreinigungen der Gewässer zu vermeiden, sofern die zu ergreifenden Massnahmen verhältnismässig sind. Zudem müssen die allgemeinen und die besonderen Anforderungen an Industrieabwasser für die Einleitung in das Gewässer oder in die öffentliche Kanalisation eingehalten werden (Anhang 2 und Anhang 3.2 GSchV).

Betriebe, die ihr Abwasser in die Gewässer oder in die öffentliche Kanalisation einleiten, müssen im Produktionsprozess und bei der betrieblichen Abwasservorbehandlung Massnahmen nach Stand der Technik treffen. Ziel ist, dass so wenig Abwasser anfällt und so wenig Stoffe, die Gewässer verunreinigen können, abgeleitet werden als dies technisch und betrieblich möglich und wirtschaftlich tragbar ist. Verschmutztes Abwasser darf weder verdünnt noch mit anderem Abwasser vermischt werden, um die Anforderungen einzuhalten («Verdünnungsverbot»), jedoch ist die Verdünnung erlaubt, wenn dies für die Behandlung des Abwassers zweckmässig ist und dadurch nicht mehr Stoffe, die Gewässer verunreinigen können, abgeleitet werden als bei getrennter Behandlung (Anhang 3.2 GSchV, Ziff. 1, Abs. 2).

### **2.2 Ökotoxikologische Grundlagen**

Die Ökotoxikologie beschäftigt sich mit schädlichen Auswirkungen von anthropogenen Stoffen auf einzelne Zellen, Lebewesen, Populationen, Lebensgemeinschaften und ganze Ökosysteme. Sie integriert sowohl umweltchemische, toxikologische und ökologische Aspekte und hat zum Ziel, direkte und indirekte Auswirkungen von Chemikalien auf alle biologischen Stufen des Ökosystems zu analysieren und zu verstehen (Fent, 2013).

Ökotoxikologische Testmethoden werden seit mehreren Jahrzehnten für die Risikobewertung von Chemikalien genutzt oder sie dienen der Qualitätssicherung z.B. von Abwasserwasseraufbereitungen (z.B. Folgeprojekte aus der Strategie «Micropoll», siehe 6.1). Für die Abschätzung effektiver Auswirkungen von Stoffeinträgen aus Landwirtschaft, Siedlungen und Industriebetrieben gewinnt die Ökotoxikologie in Kombination mit der chemischen Analytik immer mehr an Bedeutung (z.B. für die Beurteilung von Mikroverunreinigungen in Gewässern innerhalb von Projekten wie «NAWA Spez» oder «Ecoimpact», siehe auch Götz et al., 2011; Stamm et al., 2017; Junghans and Langer, 2019). Im Fachbereich der Ökotoxikologie wird auch der Frage nachgegangen, welche Auswirkungen Schadstoffe auf aquatische Ökosysteme haben können. Aquatische Systeme standen in der Ökotoxikologie historisch im Vordergrund (Fent, 2013).

### **2.2.1 Biotests in der aquatischen Ökotoxikologie**

Biotests sind «Analysemethoden, die lebende Zellen, Organismen oder Gemeinschaften in definierter Art und Anzahl einsetzen, um deren Reaktion auf eine Exposition zu messen» (Fent, 2013). Diese werden in der aquatischen Ökotoxikologie schon seit mehreren Jahrzehnten angewendet, um die Toxizität von Wasserproben aus der Umwelt abzuschätzen.

Die chemische Analytik ermöglicht die Quantifizierung von bekannten Stoffen in einer Probe. Unbekannte Spurenstoffe zu identifizieren ist, aber trotz bestehender Methoden wie die Massenspektrometrie anspruchsvoller (Singer et al., 2009). Biotests ermöglichen es, die toxischen Effekte einer gesamten Probe mit allen bekannten und unbekannten Substanzen sowie Mischungen zu messen, sofern der Testorganismus für die enthaltenen Substanzen sensitiv ist (Escher et al., 2012). In Kombination mit chemischen Analysen sind Biotests deshalb eine wichtige Ergänzung für die Abschätzung des toxischen Potentials von Substanzen und Stoffmischungen in einer Probe (Gefährdungsabschätzung) (Escher et al., 2012; Kienle et al., 2015a). Mit Biotests können deshalb kritische Proben oder Abwasserströme identifiziert werden.

Ein anderer Ansatz wird durch die ökotoxikologische Risikobewertung abgedeckt, die die Risiken von Einzelsubstanzen in die Gewässer theoretisch und auf Grundlage der berechneten Verdünnung im Vorfluter sowie aufgrund laborbasierter Einzelsubstanzprüfungen mit Modellorganismen kalkuliert (siehe auch Fent, 2013). Im Idealfall werden die Ergebnisse der Gefähr-

dungsabschätzung und der Risikobewertung in ökotoxikologische Beurteilungen von Einzelsubstanzen oder Stoffmischungen integriert, um aussagekräftige Erkenntnisse über das toxische Potential einer Probe zu erhalten.

Es existieren Biotests, die sich sowohl für eine Abschätzung der akuten als auch der chronischen Toxizität für Gewässerorganismen eignen. Je nach Fragestellung steht eine Vielzahl an bewährten und standardisierten Testsystemen für verschiedene trophische Ebenen im Gewässer zur Verfügung, um die Toxizität von einzelnen Substanzen oder Mischungen zu beurteilen. Dazu werden Modellorganismen (wie z.B. Fischeier, Algen, Wasserflöhe usw.) der zu untersuchenden Wasserprobe in unterschiedlichen Verdünnungsstufen ausgesetzt. Als Ergebnis erhält man in einer definierten Zeit eine organismische Antwort (z.B. Wachstum, Lebensfähigkeit, Schwimmgeschwindigkeit, Entwicklung etc.), die in Abhängigkeit von der eingesetzten Verdünnung mehr oder weniger von einer unbelasteten Vergleichsprobe abweicht und somit eine Schadwirkung auf Gewässerorganismen widerspiegelt. Diese beobachteten Effekte in Abhängigkeit der Verdünnungsstufe werden in einer Dosis-Wirkungsbeziehung dargestellt, um daraus schliesslich die folgenden definierten Werte zu ermitteln (siehe auch Kienle et al., 2015a):

- Die Effektkonzentration **EC<sub>x</sub>** ist die Konzentration oder der Anteil der Probe in Prozent (% der Probe), bei der innerhalb eines definierten Zeitraums bei x% der untersuchten Organismen ein induzierbarer Effekt (= Endpunkt wie z.B. Letalität oder Wachstumshemmung) auftritt. Bei akuten Tests kommt eher der EC<sub>50</sub> (= Konzentration oder Verdünnungsstufe, bei der bei 50% der Organismen der definierte Effekt auftritt), bei chronischen Tests der EC<sub>10</sub> oder EC<sub>20</sub> zu tragen. Generell gilt: je niedriger der EC<sub>x</sub>-Wert ausfällt, d.h. je tiefer die gemessene Konzentration der Probe ist, bei der ein x% Effekt auftritt, desto toxischer ist die zu untersuchende Probe einzuordnen. In **Abbildung 1** ist ein Beispiel für eine Dosis-Wirkungsbeziehung zur Bestimmung des EC<sub>50</sub> dargestellt.
- Als letale Konzentration **LC<sub>x</sub>** wird der Anteil der getesteten Substanz x% bezeichnet, bei der bei x% (meist 50%) der getesteten Organismen eine Letalität auftritt. Im Vergleich zum EC<sub>50</sub> ist der LC<sub>50</sub> spezifischer, da der induzierte Effekt (= Letalität) ausgedrückt wird. Der LC<sub>50</sub> wird insbesondere innerhalb von Einzelsubstanzbewertungen angegeben.
- Die **NOEC** oder *No Observed Effect Concentration* (auch als *No Observed Effect Level*, NOEL bezeichnet) ist die höchste getestete Konzentration einer Probe, die noch zu keinem

statistisch signifikanten Effekt bei den getesteten Organismen führt. Dieser Wert wird v.a. für die Beurteilung chronischer Testsysteme verwendet.

- Die **LOEC** oder *Lowest Observed Effect Concentration* (auch als *Lowest Observed Effect Level*, LOEL bezeichnet) ist die niedrigste getestete Konzentration der Probe, die einen statistisch signifikanten Effekt bei den getesteten Organismen bewirkt.

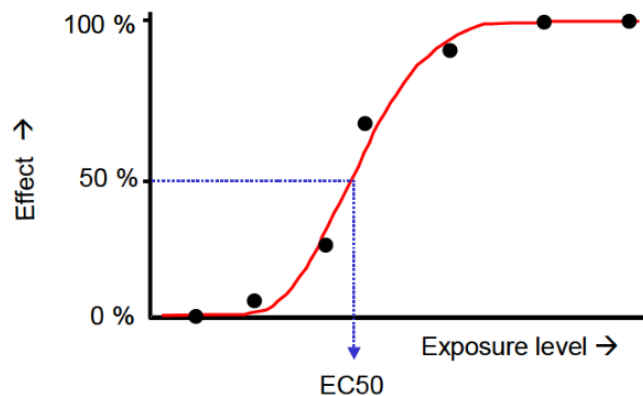
Die für die Auswertung der Biotests aufgeführten Werte sind in **Tabelle 2** nochmals zusammengefasst.

**Tabelle 2** In der Ökotoxikologie häufig verwendete Werte für die Auswertung von Biotestergebnissen (adaptiert nach Kienle et al., 2015a). Die innerhalb der getesteten Verdünnungen gemessenen Effekte werden in eine Dosis-Wirkungskurve übertragen, um daraus die spezifischen Werte zu ermitteln (siehe auch **Abbildung 1**).

WERT	KURZBESCHREIBUNG
<b>EC<sub>x</sub></b>	Effektkonzentration der Probe x%, bei der innerhalb eines definierten Zeitraums bei x% der getesteten Organismen der definierte Effekt auftritt. Bei akuten Tests wird der EC <sub>50</sub> , bei chronischen Tests der EC <sub>10</sub> oder seltener der EC <sub>20</sub> angewendet.
<b>LC<sub>x</sub></b>	Effektkonzentration der Substanz x%, bei der innerhalb eines definierten Zeitraums bei x% der getesteten Organismen letale Effekte auftreten. Meist als LC <sub>50</sub> in der Einzelsubstanzbewertung ausgedrückt.
<b>NOEC</b>	<i>No Observed Effect Concentration</i> oder höchste Konzentration der Probe, bei der noch keine signifikanten Effekte gemessen werden.
<b>LOEC</b>	<i>Lowest Observed Effect Concentration</i> oder die niedrigste getestete Konzentration der Probe, bei der ein signifikanter Effekt gemessen wird.



Für die Beurteilung einer akuten Toxizität steht der  $EC_{50}$  in der Ökotoxikologie im Vordergrund (siehe **Abbildung 1**). Der  $EC_{50}$ -Wert wird in der Literatur alternativ als *Toxic Unit*<sup>4</sup> angegeben (siehe auch 7.2 bzw. **Abbildung 19**).



**Abbildung 1** Dosis-Wirkungsbeziehung zur Bestimmung des  $EC_{50}$ -Werts, d.h. die Konzentration bzw. Verdünnung, bei der bei 50% der Testorganismen ein definierter Effekt (ein vorgängig bestimmter Endpunkt) auftritt (Abbildung aus WEA Report 2005).

Biotests werden *in vivo* oder *in vitro* durchgeführt. Für die Tests werden üblicherweise lebende Organismen (*in vivo*) oder deren Zellen (*in vitro*) von Arten verwendet, die stellvertretend für die verschiedenen trophischen Ebenen in der natürlichen Lebensgemeinschaft von Gewässern stehen (z.B. Bakterien, Algen oder Fische). Für die standardisierten Testsysteme bestehen international gültige Anleitungen und Richtlinien (z.B. nach OECD oder nach europäischer ISO Norm).

<sup>4</sup> Die *Toxic Unit* (TU, = toxische Einheit) wird gemäss WEA Guidance Report (OSPAR Commission (2007)) wie folgt berechnet:

$$TU = 100/EC_{50}$$

Nachdem früher *in vivo* Tests an lebenden Individuen in ihrer Häufigkeit dominierten, nehmen gegenwärtig *in vitro* Tests – also zellbasierte Biotests – in der praktischen Anwendung deutlich zu. Neben ethischen Aspekten sind auch andere positive Effekte von *in vitro* Tests der Grund hierfür, wie

- die vereinfachte Handhabung der Kulturen,
- die oftmals kürzere Expositionsdauer der Zellen mit den Wasserproben,
- die geringen benötigten Probenmengen durch die Miniaturisierung der *in vitro* Tests.

Oft wird bei *in vitro* Biotests jedoch eine Festphasenextraktion oder *Solid-Phase Extraction* (SPE) vorausgesetzt, eine Art selektive Aufkonzentrierung der Wasserprobe. Die Festphasenextraktion ermöglicht, dass Stoffrückstände auch in tiefen Konzentrationen in zellbasierten Tests detektierbar werden. Es muss jedoch dabei berücksichtigt werden, dass nur ein Teil der in der Probe enthaltenen Substanzen mit speziellen physikalisch-chemischen Eigenschaften aufkonzentriert wird. Der andere Teil der Substanzen, insbesondere polare Substanzen, werden durch den Extraktionsprozess eliminiert, was zu einem Toxizitätsverlust der Probe und zum Ausschluss von relevanten Substanzen führen kann. Diese Selektivität durch die SPE führt somit zu einer Überrepräsentierung von nicht-polaren Substanzen und einem *Blind Spot* in der chemischen Analytik (siehe auch 4.3.3) und in der Folge auch bei *in vitro* Untersuchungen (Brack and Burgess, 2011; Burgess et al., 2013).

Wenn eine Festphasenextraktion notwendig ist, erhöht sich der zeitliche Aufwand für die Probenvorbereitung wesentlich. Bei *in vivo* Tests kann mit den nativen Wasserproben oder deren Verdünnung gearbeitet werden, wodurch keine Selektion der zu untersuchten Substanzen auftritt und die Bioverfügbarkeit der Substanzen gewährleistet ist (Burgess et al., 2013). Andererseits weisen *in vivo* Biotests durch den fehlenden Aufkonzentrierungsschritt eine geringere Sensitivität als *in vitro* Tests auf.

Generell können zellbasierte Systeme Tests an oder im lebenden Organismus nicht vollständig ersetzen, da bei Zelltests die «Vorhersagbarkeit von Effekten auf höheren biologischen Ebenen aufgrund der gewonnenen Daten begrenzt» ist (Kienle et al., 2015a). Ergebnisse von *in vivo* Tests ermöglichen zwar Aussagen mit erhöhter ökologischer Relevanz, erfordern aber oft eine längere Expositionsdauer. Die Auswahl der effektiven Testsysteme ist schliesslich abhängig von der Fragestellung und dem Untersuchungskonzept sowie von der vorhandenen Infrastruktur. **Tabelle 3** fasst die Definition und Vor- und Nachteile von *in vivo* bzw. *in vitro* Biotests zusammen.

**Tabelle 3** Definitionen *in vivo* und *in vitro* Biotests und ihre Vor- und Nachteile (adaptiert nach Kienle et al., 2015a).

TEST-SYSTEME	<i>in vivo</i>	<i>in vitro</i>
<b>Definition</b>	<p>Testsysteme, die Effekte am lebenden Modellorganismus zur Untersuchung der Schadwirkung auf ganze Organismen messen.</p> <p>Erfassen i.d.R. die Wirkung aller Substanzen in einer Probe, für die der Modellorganismus sensitiv ist.</p>	<p>Zellbasierte Testsysteme, die Effekte basierend auf zellulären Mechanismen messen.</p> <p>Erfassen v.a. spezifische Wirkungen von Schadstoffen.</p>
<b>Vorteile</b>	<p>Geben Hinweise für Wirkungen auf höheren trophischen Ebenen (z.B. Populationsebene) und sind somit von ökologischer Relevanz.</p> <p>Erfassen eine breite Substanzpalette und integrative Effekte (inkl. Mischtoxizität) in einer Probe.</p>	<p>Messen spezifische Effekte und zeigen explizite Auswirkungen von Substanz(en)/-gruppen.</p> <p>Aussagen in relativ kurzer Dauer möglich.</p> <p>Viele Testkits erhältlich (d.h. aufwändige Kulturerhaltung nicht zwingend notwendig).</p>
<b>Nachteile</b>	<p>Nur begrenzte Aussagen möglich über die zu verursachende(n) Substanz(en)/-gruppen.</p> <p>Oft längere Expositionszeit (insbesondere bei chronischen Tests).</p> <p>Kulturerhaltung oftmals aufwändig.</p>	<p>Nur begrenzte Aussagen zu Effekten auf höheren Ebenen (z.B. Populationsebene) möglich.</p> <p>Zeigen nur spezifische Effekte bzw. Substanzen an (Mischungstoxizität weniger ersichtlich).</p>

### **3 Projekt «Übersichtsstudie zum Einsatz von Biotest für die Beurteilung von Industrieabwasser»**

#### **3.1 Erfahrungsaustausch zwischen Industrie und Forschung**

Im September 2018 fand ein Erfahrungsaustausch zwischen Vertreterinnen und Vertreter der Behörden, der Industrie und aus der Forschung zum Thema «Biotests und Industrie» statt. Neben verschiedenen Beiträgen aus der Praxis von Betrieben und Behörden, wurden auch verschiedene Aspekte im Zusammenhang mit Biotests für die Beurteilung von Industrieabwasser diskutiert.

Von verschiedenen Seiten wurde dabei das Bedürfnis formuliert, einen Leitfaden für die Beurteilung von Industrieabwässern mittels Biotests zur Verfügung zu haben. Es wurde konkret der Wunsch formuliert, Projekte in diese Richtung anzuschieben. Diese Veranstaltung war der Startschuss für weitere Aktivitäten im Zusammenhang mit Biotests und Industrie.

#### **3.2 Hintergrund**

Derzeit ist wenig über die Zusammensetzung und den Anteil von Stoffeinträge aus Industrie und Gewerbe bekannt (siehe 1.2). Durch industrielle oder gewerbliche Abwässer können toxische Stoffrückstände in die Gewässer gelangen. Diese persistenten Stoffeinträge sind für einen nachhaltigen Gewässerschutz von grosser Bedeutung, bleiben aber derzeit häufig unerkannt (Gälli et al., 2009). Zudem ist es schwierig, die dafür verantwortlichen relevanten Abwasserströme zu identifizieren, um geeignete Optimierungen im Abwassermanagement umzusetzen<sup>5</sup> (Wunderlin et al., 2021; siehe auch 1.3).

Durch chemische Analysen der Industrieabwässer werden bisher v.a. diejenigen Substanzen abgedeckt, die bereits bekannt sind und von den Betrieben wissentlich in der Produktion eingesetzt werden. Andere Stoffe sowie Neben- und Zwischenprodukte und Substanzmischungen können jedoch nicht durch bisherige chemische Analysen abgedeckt werden, da nach ihnen nicht gezielt «chemisch» gesucht wird bzw. werden kann (Escher et al., 2012).

<sup>5</sup> Siehe Bericht von Arcadis im Auftrag des Bundesamts für Umwelt aus dem Jahr 2018: «Übersicht abwasserrelevante Prozesse und Stoffe in Industrie und Gewerbe».

In der eidgenössischen Gewässerschutzgesetzgebung existieren nur für einzelne Parameter Anforderungen oder Grenzwerte für die Einleitung von industriellem Abwasser in die Gewässer (Anhang 3.2 GSchV). Die meisten Substanzen sowie deren toxisches Potential werden durch diese Vorgaben daher nicht abgebildet. Es ist davon auszugehen, dass nur ein geringer Anteil der Stoffe aus Industrie und Gewerbe einen negativen Einfluss auf die Umwelt haben.

Nun stellt sich die Frage, wie aus dem ganzen Umfang von chemischen Stoffen diejenigen identifiziert werden können, welches kritisches Potential innehaben. Dass die Antwort auf diese Frage lohnenswert ist, zeigt die Erfahrung: In den letzten Jahren reagierten Schweizer Unternehmen, nachdem kritische Substanzen in deren Prozessen identifiziert wurden mit effizienten Massnahmen an der Quelle (siehe 1.3 sowie 6.5.3). Dadurch konnten die Emissionen signifikant reduziert werden, wodurch die Unternehmen ihren Beitrag zum Umweltschutz leisten konnten. Ökotoxikologische Biotests bieten einen geeigneten Ansatz, um das toxische Potential von gesamten Abwasserproben zu visualisieren und dadurch letztendlich problematische Stoffeinträge zu identifizieren.

In einigen Ländern werden Biotests bereits seit längerer Zeit zur Beurteilung von Abwasser kommunaler oder industrieller Herkunft genutzt (siehe 5). In der Schweiz bestehen bisher nur vereinzelt Erfahrungen zum Einsatz von Biotests zur Beurteilung von Abwasser aus Industrie und Gewerbe (siehe 6).

Für die Entwicklung einer praktischen Vorgehensempfehlung zum Thema Biotests zur Beurteilung von Industrieabwasser sind deshalb die Erkenntnisse aus Literatur und Praxis von grosser Bedeutung.

Die vorliegende Übersichtsstudie hat zum Ziel den nationalen und internationalen Wissensstand zum Einsatz von Biotests für die Beurteilung von Industrieabwässern zusammenzutragen und auszuwerten, um in der Folge ein anwendungsorientiertes Vorgehen für die praktische Umsetzung eines Untersuchungskonzepts zu entwickeln.

### 3.3 Aufgabenstellung

Das vom Bundesamt für Umwelt (BAFU) in Auftrag gegebene Projekt «Übersichtsstudie zum Einsatz von Biotests zur Beurteilung von Industrieabwasser und Vorschlag eines Bewertungskonzepts» sieht folgende Ziele vor:

1. Aktuelles nationales und internationales Wissen aus Literatur und Praxis zum Einsatz von Biotests zur Beurteilung von Abwässern aus Industrie und Gewerbe wird zusammengestellt.
2. Aus den gewonnenen Erkenntnissen aus der Übersichtsstudie wird ein Vorschlag für ein praktisch umsetzbares Untersuchungskonzept entwickelt.

### 3.4 Abbautest

#### 3.4.1 Abgrenzung zwischen Abbautest und Biotest

Die Abgrenzung zwischen Abbautests zur Abschätzung der Abbaubarkeit des enthaltenen DOCs und zur Abschätzung der negativen Auswirkungen auf die Aktivität des Belebtschlammes stellt sich nicht einfach dar. Beide Testmethoden nutzen Belebtschlamm, um eine Aussage zu den Stoffrückständen in einer Abwasserprobe zu machen. In der vorliegenden Studie (und den innerhalb des Projekts durchgeführten Befragungen) wurde die Abgrenzung wie folgt vorgenommen:

- **Biotests** sind Analysemethoden, die lebende Zellen oder ganze Organismen einsetzen, um Effekte auf eine bestimmte Exposition zu messen (Fent, 2013). Biotests werden in der aquatischen Ökotoxikologie angewendet, um toxische Auswirkungen von Einzelsubstanzen oder Substanzmischungen z.B. im Abwasser auf Wasserflöhe (Daphnien), Algen oder Mikroorganismengemeinschaft im Belebtschlamm abzuschätzen.
- **Abbautests** dienen im Allgemeinen dazu, die Abbaubarkeit einer Substanz oder eine Substanzmischung zu testen. Der Abbautest, z.B. der klassische Zahn-Wellens-Test nach OECD 302 B, misst also nicht den Effekt der Abwasserbestandteile auf die Mikroorganismen im Belebtschlamm und wird deshalb im vorliegenden Projekt nicht als Biotest angesehen. Wenn ein Abbautest in Kombination mit einem Nitrifikations- oder Respirationshemmtest (d.h. unter Zugabe einer Stickstoff- oder Kohlenstoff-Quelle) durchgeführt wird, bei-

spielsweise um die Toxizität des Abwassers auf die Belebtschlamm-Mikroorganismen abzuschätzen, handelt es sich bei diesem Teil jedoch gemäss Definition ebenfalls um einen Bio-test.

### 3.4.2 Zahn-Wellens-Test / Stucki-Test

Es stehen unterschiedliche Tests zur Abschätzung der Abbaubarkeit einer Substanz oder einer Abwasserprobe zur Verfügung (siehe Anhang A1). Der gängigste Abbautest ist der Zahn-Wellens-Test nach OECD 302b (OECD, 1992). Der Zahn-Wellens-Test dient zur Bestimmung der aeroben biologischen Abbaubarkeit organischer Einzelverbindungen. Als Ergebnis enthält man i.d.R. den CSB<sup>6</sup>- oder DOC-Eliminationsgrad sowie den refraktären<sup>7</sup> CSB oder DOC. Für die Durchführung wird Belebtschlamm zusammen mit der zu untersuchenden Substanz und Nährsalzen homogenisiert und anschliessend bei Raumtemperatur (20°C bis 25°C) und ohne Lichteinfluss über einen Zeitraum von 28 Tagen belüftet. Bei einer Elimination des DOC in der Probe von mindestens 70% wird von *inherent biodegradation*<sup>8</sup> nach OECD gesprochen.

Gerhard Stucki aus der ehemaligen Ciba Spezialitätenchemie AG in Basel passte den ursprünglichen Zahn-Wellens-Test durch unterschiedliche Modifikationen für Routineuntersuchungen zur Abklärung von der biologischen Abbaubarkeit von Chemie- und Pharmaabwässern an (Stucki, 2000). Dieser modifizierte Zahn-Wellens-Test wird auch noch heute in der Schweizer Industrie breit angewendet und ist als «Stucki-Test» (oder selten auch «ARA-Gängigkeitstest») bekannt. **Tabelle 4** gibt eine Übersicht zu den Unterschieden zwischen dem klassischen Zahn-Wellens-Test (nach OECD, 1992) und dem modifizierten Zahn-Wellens-Test nach Stucki (Stucki, 2000).

**Tabelle 4** Vergleich des Abbautests nach Zahn-Wellens nach OECD 302 B (OECD, 1992) und des modifizierten Abbautests nach Stucki (Stucki, 2000). (Daten wurden tw. der Präsentation von Alessandro Piazzoli, Envilab vom 5.11.20, FBK VSA entnommen).

<sup>6</sup> Der chemische Sauerstoffbedarf (CSB) ist ein wichtiger Summenparameter für die Beurteilung von Abwasser. Er gibt die Konzentration Sauerstoff an, die benötigt würde, um die in der Probe enthaltenen organischen Stoffe zu oxidieren. Das heisst je grösser die Abnahme des CSB, desto höher die Abnahme der organischen Stoffe und desto besser wurde die Probe abgebaut.

<sup>7</sup> Schwer abbauende und deshalb in der untersuchten Probe verbleibende organische-chemische Verbindungen

<sup>8</sup> Definition nach OECD: Der Begriff *inherent biodegradable* (inherent biologisch abbaubar) stellt eine Klassifizierung von Chemikalien dar, für die es einen eindeutigen Nachweis der biologischen Abbaubarkeit (primär oder endgültig) in einem beliebigen Test der biologischen Abbaubarkeit gibt.

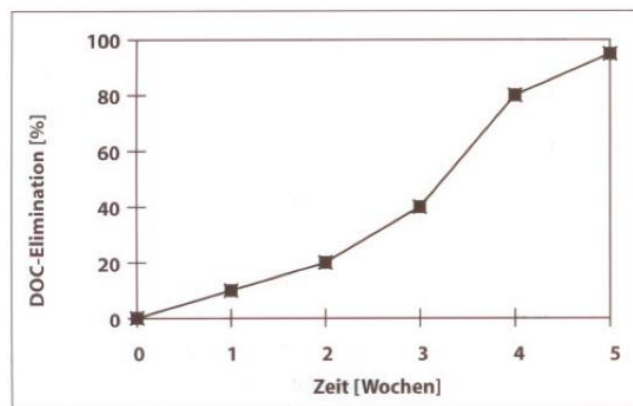
TESTSYS- TEME	ZAHN-WELLENS-TEST (OECD, 1992)	STUCKI-TEST (NACH STUCKI, 2000)
Zeitdauer	28 Tage	Bis zu 21 Tage, Aussage über Abbaubarkeit evt. schon ab 14 Tagen möglich
Belebt- schlamm	0.2 – 1 g/l	0.2 g/l
DOC	max. 400 mg/l	max. 200 mg/l
Leitfähigkeit	max. 20 mS/cm	max. 20 mS/cm
Kontrollen	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Kontrolle: Nährmedium + Kontrollsubstanz (Diethylenglycol)</li> <li>▪ Blind: Nährmedium</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Referenz: Nährmedium, NH<sub>4</sub> + Co-Substrat</li> <li>▪ Blind: Nährmedium + NH<sub>4</sub></li> <li>▪ Abwasseransatz: Abwasserprobe + HgCl<sub>2</sub></li> </ul>
Bemerkun- gen	Messung von DOC-Abbau	Messung von DOC-Abbau, Nitrit und Nitrat möglich; Co-Substrat = synthetisches Abwasser (MeOH, Acetat, Phtalat)
Biotest?	Nein, keine Aussage über Toxizität möglich	Ja, Aussage über Toxizität auf C- und N-Abbau möglich (= ARA-Toxizität)

Die Modifikationen nach Stucki betreffen die Konzentration des Belebtschlammes und die Zugabe einer Kohlenstoffquelle (synthetisches Abwasser bestehend aus Methanol, Acetat und Phtalat) und von Ammonium. Durch die Zugabe dieser Kohlenstoff- (C) und Stickstoff- (N) Substrate wird eine zusätzliche Aussage bezüglich der Toxizität auf den Kohlenstoff- bzw. Stickstoff-Abbau in der ARA möglich (Stucki, 2000). Der Stucki-Test ist also per Definition nach 3.4.1 als Abbautest und Biotest einzuordnen.

Ein relevanter limitierender Faktor bei der Durchführung des Zahn-Wellens-Tests (und des Stucki-Tests) ist die benötigte zeitliche Dauer. Für den Aufbau der nicht adaptierten Bakterienpopulation im Schlamm und eine optimale Schlammadaption innerhalb des Tests werden mehrere Wochen (insgesamt 28 Tage) benötigt. In der Praxis wird deshalb bereits vermehrt ein verkürzter Abbautest (Dauer 7 bis 14 Tage) durchgeführt, der zur rascheren Einschätzung führt, aber nicht in jedem Fall eine sichere Aussage bezüglich Abbaubarkeit liefern kann. Nach Stucki reicht in der Praxis die Testdauer von 14 Tagen in vielen Fällen aus, sofern nach dieser Zeit



eine ausreichende Elimination<sup>9</sup> des zu untersuchenden Abwassers ausgemacht werden kann. Steigt die Elimination jedoch auch nach zwei Wochen weiterhin an, sollte der Test gemäss Stucki auf 21 oder 28 Tage ausgedehnt werden. In **Abbildung 2** ist ein Beispiel eines Zahn-Wellens-Tests für die Substanz Thiophen aufgezeigt, die erst nach vier Wochen zu über 80% abgebaut wurde und auch danach noch weiter eliminiert wurde. Die Ursache dafür ist darin begründet, dass der verwendete Klärschlamm aus einer ARA stammte, die nicht für den Abbau der Substanz adaptiert war und sich die Bakterienpopulation, die diese Abwasserinhaltsstoffe abbauen, erst noch aufbauen mussten (Stucki, 2000).



**Abbildung 2** Beispiel für einen durchgeführten Zahn-Wellens-Test mit der Substanz Thiophen, die im durchgeführten erst nach über vier Wochen ausreichende Elimination auszumachen war. Die Ursache für den verlangsamten Abbau liegt vermutlich daran, dass das verwendete Impfgut aus einer Kläranlage stammte, die bisher kein Thiophen-haltiges Abwasser behandeln musste (Abbildung aus Stucki 2000)

In der Praxis stellt es sich zudem bei der Beurteilung von Industrieabwässern als Problem dar, dass bei der Durchführung von Abbautests ohne chemische Analyse der Inhaltsstoffe nur allgemeine Aussagen über den DOC-Eliminationsgrad und den refraktären DOC möglich sind. Wenn der DOC in einem Abwasser zu 85% abgebaut wird, wie durch die GSchV für kommunale ARA gefordert (Anhang 3.1 GSchV), sind persistente Rückstände von toxischen Substanzen in den restlichen 15% möglich.

<sup>9</sup> Ob eine Elimination des DOC als «ausreichend» gilt, hängt von den Einleitungsbedingungen in die ARA resp. von den betrieblich festgelegten Anforderungen für die Abbaubarkeit einer Substanz resp. eines Abwassers ab. Gemäss Anhang 3.1 GSchV liegt die Abbaubarkeit für kommunales Abwasser bei mind. 85 % (Anhang 3.1 GSchV).

Seit August 2020 ist am Institut für Ecopreneurship der FHNW (Arbeitsgruppe Umwelttechnik von Dr. Michael Thomann) in Zusammenarbeit mit der VSA-Plattform Verfahrenstechnik Mikroverunreinigungen das Projekt «Entwicklung eines reproduzierbaren und zeiteffizienten Abbautests für Industrieabwasser» im Gange. Dieses wurde vom BAFU in Auftrag gegeben und hat zum Ziel einen anwendungsorientierten Abbautest für die gezielten Bedürfnisse in der Praxis auf Grundlage eines Testsystems von Eawag und Envilab zu entwickeln.

Der von der Eawag und Envilab entwickelte «ARA-Gängigkeitstest» (modifiziert nach OECD 302 B; nicht publiziert) zeichnet sich durch eine hohe Zeiteffizienz (Aussagen möglich ab 4 bis 24 Stunden, max. innerhalb weniger Tage) aus und ermöglicht vergleichbar zum Stucki-Test eine Aussage über die Toxizität auf den C- und N-Abbau. Die Verdünnung der Abwasserprobe auf die realen Verhältnisse in der ARA mit kommunalem Abwasser sowie der erhöhte Schlammgehalt generieren eine realistische Aussage über die Abbaubarkeit in kurzer Zeit.

Basierend auf den Anpassungen im ARA-Gängigkeitstest (durch Erhöhung des Schlammgehalts, evt. Zugabe von C- und N-Quelle) soll innerhalb des Projekts ein biologischer Testansatz entwickelt werden, der Aussagen zur Abbaubarkeit und zur ARA-Toxizität in kurzer Zeit ermöglicht, ohne dass eine Verdünnung der Probe auf die Verhältnisse in der ARA erfolgt. Für die Abschätzung der Toxizität ist es erforderlich, dass die Probe möglichst unverdünnt getestet wird, damit toxische Effekte nicht verschleiert werden.

Neben den bekannten und v.a. in der pharmazeutischen und chemischen Industrie bewährten Zahn-Wellens- und Stucki-Tests gibt es eine Reihe weiterer Abbautests, die ebenfalls eine Abschätzung der Abbaubarkeit ermöglichen. Eine Auswahl weiterer Anleitungen für die Abschätzung der Abbaubarkeit findet sich im Anhang (siehe A1 Übersicht Abbautests).

### 3.5 Umsetzung

Die Erarbeitung der Übersichtsstudie und die Entwicklung des Untersuchungskonzepts basieren auf einer breiten Literaturstudie und den intensiven Erfahrungsaustausch mit unterschiedlichen Akteuren. Im Folgenden sind die einzelnen Schritte für die Umsetzung aufgeführt:

- Literaturrecherche (u.a. Projektberichte, Guidelines, wissenschaftliche Publikationen)
- Rücksprache mit ausgewählten kantonalen Fachstellen (nach Vorsondierung durch BAFU)
- Erfahrungsaustausch mit der VSA-Plattform Verfahrenstechnik Mikroverunreinigungen zu den gewonnenen Erkenntnissen der Situationsanalyse über «Stoffeinträge aus Industrie und Gewerbe in Gewässer»
- Vorauswahl relevanter Branchen für Betriebsumfrage
- Information und Einbezug der beteiligten Branchenverbände
- Kontaktaufnahme mit Betrieben, die bereits über Erfahrungen im Einsatz von Biotests verfügen (u.a. Teilnehmende des Erfahrungsaustauschs Industrie und Forschung)
- Entwicklung eines strukturierten Fragekatalogs resp. Gesprächsleitfadens zur Vorbereitung und Durchführung der Interviews bei den Betrieben (siehe Fragekatalog im Anhang )
- Erstellung einer Online-Umfrage für den E-Mail-Versand durch die Branchenverbände
- Austausch zum Thema mit nationalen und internationalen Fachexperten
- Erarbeitung eines praktisch umsetzbaren Untersuchungskonzepts
- Entwicklung einer Testbatterie
- Erstellung einer Interpretationshilfe
- Vorschlag eines Vorgehens für die Salzkorrektur

## 4 Beurteilung von industriellen und gewerblichen Abwässern

### 4.1 Biotests für die Beurteilung von Abwasserproben

Es gibt eine grosse Anzahl an biologischen Testsystemen, die in der aquatischen Ökotoxikologie eingesetzt werden. Der Bericht «Methoden zur Beurteilung der Wasserqualität anhand von ökotoxikologischen Biotests» des Oekotoxizentrums von Kienle et al. generiert eine breite Übersicht über die unterschiedlichen Biotests und deren Anwendung (Kienle et al., 2015a).

Doch nicht alle biologischen Testsysteme eignen sich für eine Durchführung mit Abwasser; diese werden vorzugsweise für effektbasierte oder Substanz(gruppen)-basierte Aussagen und demnach v.a. im *Risk Assessment*<sup>10</sup> für die Einzelsubstanzbewertung eingesetzt. Je nach Fragestellung ist der Einsatz unterschiedlicher Testsysteme für die Beurteilung von Abwasser sinnvoll. Dies soll an dem folgenden Beispiel aufgezeigt werden: Der Photosynthesehemmtest mit Grünalgen eignet sich spezifisch für die Abschätzung der Toxizität von Herbiziden, die inhibierend auf das Photosynthesesystem II wirken, während der Wachstumshemmtest mit Grünalgen unspezifische Wirkungen von Chemikalien erfasst. Das Oekotoxizentrum führt den kombinierten Algentest durch, der beide Ansätze verknüpft (Escher and Rutishauser, 2007). Für die Beurteilung der Wasserqualität in landwirtschaftlich beeinflussten Gewässern wird durch die Kombination der beiden Ansätze eine grosse Bandbreite an Herbiziden angezeigt. Wenn jedoch nur die Frage nach einer generellen Toxizität in einer Abwasserprobe besteht und keine Hinweise auf Herbizidrückstände vermutet werden (wie dies bei industriellen Abwässern der Fall ist), ist es ausreichend, einen Algen-Wachstumshemmtest durchzuführen.

Für die Abschätzung des toxischen Potentials in Abwasserproben bieten sich allgemein Testsysteme an, die nicht nur auf spezifische Schadstoffe/-gruppen reagieren (d.h. unspezifische Wirkungen erfassen), sondern mehrere Wirkungsweisen integrieren (= apikaler Endpunkt) und trotzdem sensitiv auf Abweichungen in der Probe reagieren. Zudem sind robuste Systeme vorzuziehen, die nicht anfällig auf Matrixeffekte wie Abweichungen des pH oder der Leitfähigkeit sind. Die Ergebnisse sollten ebenfalls klar interpretierbar und für die Gewässerlebensgemeinschaft aussagekräftige Schlussfolgerungen liefern (d.h. Auswahl von repräsentativen Testorga-

<sup>10</sup> Risk Assessment = Risikobewertung, die prospektiv, d.h. vorgängig zum Einsatz der Substanz vorgenommen wird.

nismen). Zudem sind Testmethoden interessant, die mit der nativen Abwasserprobe durchgeführt werden, damit die Effekte alle in der Probe enthaltenen Stoffe berücksichtigt werden und nicht durch eine Festphasenextraktion verfälscht werden.

Für die Auswahl der Biotests zur Beurteilung der industriellen und gewerblichen Abwässer wurden folgende Kriterien definiert (siehe auch **Tabelle 5**):

- Unspezifische Wirkungsweisen werden erfasst (apikale Endpunkte) und die Mischtoxizität gut abgebildet
- Organismen und/oder Endpunkt sind relevant fürs Gewässer
- Anwendung in Bezug auf die Laborinfrastruktur und die explizite Testdurchführung ist relativ simpel und kostengünstig, um Ressourcen für die Anwender zu reduzieren
- Die Methoden sind zeiteffizient, um rasche Aussagen über die Toxizität der Abwässer treffen zu können
- Im Einsatz mit komplexen Abwässern werden robuste Testsysteme angewendet, die gegenüber Abweichungen von Matrixeffekten nicht anfällig sind
- Eine standardisierte Durchführung durch international anerkannte Richtlinien und Erfahrung erhöht die Aussagekraft gegenüber Behörden und Privatwirtschaft.

Unter Berücksichtigung der Kriterien aus **Tabelle 5** werden im Folgenden Biotests aufgeführt, die sich generell für eine Abschätzung der allgemeinen Toxizität von Gesamt-Abwasserproben eignen. Bei den vorgeschlagenen Tests handelt es sich ausschliesslich um standardisierte und anerkannte Testsysteme, die eine breite Anwendung ermöglichen und sich in der Praxis bewährt haben. Die Auswahl erfolgte auf Grundlage der Informationen aus der Methodenempfehlung nach Kienle et al., 2015a in Ergänzung der innerhalb von WET und WEA vorgeschlagenen bewährten Biotests (siehe 5.1.3).

**Tabelle 6** enthält eine Übersicht über die Wirkungsweisen, die Details zu der Durchführung der Tests und deren international gültigen Standards.

**Tabelle 5** Kriterien für die Auswahl von geeigneten Biotestsystemen für die Untersuchung von Industrieabwasser

#### **TESTKRITERIEN FÜR DIE ANWENDUNG IM INDUSTRIEABWASSER**

- Integration verschiedener Wirkungen (= apikale Endpunkte)
- Ökologische Relevanz
- Simple Anwendung (Labor / Durchführung)
- Zeitnahe Ergebnisse
- Robust / resistent gegenüber Matrixeffekten
- Anwendungserfahrung im Abwasser / standardisiert

**Tabelle 6** Übersicht ausgewählter standardisierter Biotestsysteme und ihre Wirkungsweisen, Eigenschaften (in vivo/in vitro, akute/chronische Toxizität) Zeitdauer und Referenzen bzw. Guidelines (Tabelle adaptiert nach Kienle et al., 2015a)

BIOTEST	<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	Testorganismus	Toxizität	Wirkungsweise / Endpunkt	Dauer	Bemerkungen	Guideline	Testkit?
<b>Algentest</b>	<i>in vitro</i>	<i>Raphidocelis subcapitata</i>	chronisch	Hemmung Wachstum u/o Photosynthese	72 h	Kombinierter Algentest zur Abschätzung der Photosynthese- und der Wachstumshemmung möglich (Oekotoxzentrum)	OECD 201	Ja
<b>Ames-Test</b>	<i>in vitro</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	akut	Anzahl rückmutierte Kolonien; Mutagenität	3 d	Gentechnisch veränderter Bakterienstamm	ISO 11350:2012	Ja
<b>Bakterien-Atmungshemmtest</b>	<i>in vivo</i>	Mikroorganismen aus Belebtschlamm	akut	Hemmung Atmungsrate / Sauerstoffaufnahme	0.5 – 3 h	Kann zur Abschätzung der ARA-Toxizität (Schutz der Biologie) eingesetzt werden	OECD 209	Ja
<b>Bakterien-Nitrifikationshemmtest</b>	<i>in vivo</i>	Mikroorganismen aus Belebtschlamm	akut	Hemmung Nitrifikationsaktivität	3 – 24 h	In Kombination mit Zahn-Wellens-Abbautest nach 302 B möglich, integriert in Stucki-Test (ebenfalls relevant für Schutz der ARA-Biologie)	ISO 9509:2006	Ja
<b>Daphnientest akut</b>	<i>in vivo</i>	<i>Daphnia magna</i>	akut	Immobilität / Sterblichkeit	72 h		OECD 202 ISO 6341:2012	Ja
<b>Daphnientest chronisch</b>	<i>in vivo</i>	<i>Daphnia magna</i> / <i>Ceriodaphnia dubia</i>	chronisch	Hemmung Reproduktion	21 d / 8 d	Test mit kleinerer Art ( <i>Ceriodaphnia dubia</i> ) ist in 1 Woche durchführbar	OECD 211	Nein
<b>FET Fisch Embryo Akut Toxizitäts-Test</b>	<i>in vivo</i>	<i>Danio rerio</i>	akut	Sterblichkeit, Ei-Koagulation; Deformationen	96 h		OECD 236	Nein
<b>FELST Fish Early Life Stage Toxicity Test</b>	<i>in vivo</i>	<i>Danio rerio</i>	chronisch	Sterblichkeit, Schlupfrate, Deformationen	14 d		OECD 210 ISO 12890:1999	Nein
<b>Fischeitest</b>	<i>in vivo</i>	div. Fischarten, u.a. <i>Danio rerio</i>	subchronisch / chronisch	Sterblichkeit, Schlupfrate, Deformationen	48 h		ISO 15088:2007	Nein

<b>Fischzellinientests RTgill-W1 Zellinientest</b>	<i>in vitro</i>	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	akut	Hemmung Zellebensfähigkeit	24 h	Lebensfähigkeit der Kiemenzellen wird auf Grundlage von fluoreszierenden Indikator-Farbstoffen bewertet	ISO 21115:2019	Nein
<b>Leuchtbakterien-test</b>	<i>in vivo</i>	<i>Aliivibrio fischeri</i>	akut	Hemmung Biolumineszenz durch Störung ATP-Bildung	30 min	Testkits z.B. Microtox® / Lumistox®	ISO 11348:2007	Ja
<b>Umu(C)-Test</b>	<i>in vitro</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	akut	Induktion von DNA Reparaturmechanismen; Gentoxizität	1.5 d		ISO 13829:2000	Ja
<b>Wasserlinsentest / Lemnatest</b>	<i>in vivo</i>	<i>Lemna minor</i>	chronisch	Hemmung Wachstum	7 d	Für Einzelsubstanzen / Abwasserproben geeignet	OECD 221 ISO 20079:2005	Nein
<b>YES / YAS Yeast Estrogen / Androgen Screen</b>	<i>in vitro</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	akut	Östrogene / Androgene Disruption	96 h		ISO 19040:2018	Ja



Die in **Tabelle 6** aufgeführten Testsysteme werden im Folgenden in alphabetischer Ordnung vorgestellt und ihre Vorteile und Nachteile bei der Durchführung aufgezeigt (siehe **Tabelle 7**).

- Beim **Algentest** (OECD Test Nr. 201) handelt es sich um einen standardisierten Test, bei dem jahrzehntelange Erfahrung bei der Anwendung (auch mit Abwasser) besteht. Das System wird beispielsweise seit mehreren Jahrzehnten in Deutschland für die Beurteilung von Abwässern aus unterschiedlichen Branchen eingesetzt (deutsche Abwasserverordnung, siehe auch Ausführungen unter 5.2). Der Algentest ermöglicht die Abschätzung chronischer Effekte, reagiert auf unterschiedliche Effekte und Substanzen äusserst sensitiv und repräsentiert mit den Grünalgen die Ebene der Primärkonsumenten. Als Endpunkt fungiert die Hemmung des Zellwachstums. Für die Abschätzung der Wirkungen von Pflanzenschutzmitteln kann mit einem modifizierten Algentest zusätzlich die Hemmung auf die Photosynthese abgeschätzt werden (kombinierter Algentest). Der Vorteil ist insbesondere der relativ unkomplizierte Unterhalt der Kultur. Als nachteilig stellt sich der Aufwand für die Initiierung der Algenkultur dar, was zeitintensiv ist und steriles Arbeiten resp. die benötigte Laborinfrastruktur erfordert. Aus diesem Grund wird in der Praxis der Algentest an externe spezialisierte Auftragslabors vergeben, wodurch der Test höhere Kosten verursacht. Mit einer Testdauer von rund drei Tagen sind keine schnellen Ergebnisse verfügbar, auch reagieren die Algen generell eher sensibel auf Matrixeffekte.
- Der **Ames-Test** (ISO 11350:2012) ermöglicht, die Mutagenität eines Stoffes oder einer Probe als Endpunkt zu erfassen. In diesem standardisierten Test werden mutierte Bakterienstämme eingesetzt, die nicht mehr fähig sind, eine bestimmte Aminosäure zu produzieren. Wenn diese Bakterienstämme schliesslich einer mutagenen Substanz oder Probe ausgesetzt werden, könnten einzelne Bakterienkolonien zurückmutieren und dadurch die Fähigkeit zurückerlangen, diese Aminosäure zu produzieren. Der Test ermöglicht aussagekräftige und relevante Ergebnisse in Bezug auf mutagene Substanzen und zeigt einen konkreten Handlungsbedarf an (für mutagene Substanzen besteht eine Null-Toleranz, d.h. es gelten keine Grenzwerte, sondern Mutagenität wird als Eigenschaft grundsätzlich nicht geduldet). Im Vergleich zum Umu(C)-Test werden nicht nur gentoxische Substanzen ausgemacht, sondern generell mutagene Effekte mit hoher Relevanz detektiert. Es besteht zudem einige Anwendungserfahrung im Abwasser- und anderen Bereichen. Auch für die Abschätzung der Kanzerogenität zeigt der Ames-Test gute Korrelationen gemäss durchgeführten Studien mit Nagern (Ashby and Styles, 1978). Durch die Zugabe von S9-Leberextrakt (aus der Rattenle-

ber) werden Enzymreaktionen von Wirbeltieren abgebildet, die in den Bakterien nicht exprimiert werden. Für die Durchführung des Ames-Tests wird jedoch eine aufwändige Aufkonzentrierung (SPE) erforderlich, weshalb meist ein Auftragslabor für die Durchführung eingesetzt wird. Die externe Durchführung und/oder das Testkit führen zu höheren Kosten. Auch die Testdauer ist mit drei Tagen als eher lang einzuschätzen.

- Die Respirationshemmung von Bakterien (= **Bakterien-Atmungshemmtest**) wird entweder durch einen Online-Toxizitätsanalysator (stetig, z.B. LAR Biomonitor®) oder bedarfsweise im Labor durch Zugabe einer Kohlenstoffquelle (z.B. im Abbautest) im aktivierten Belebtschlamm (OECD Test Nr. 209) gemessen. Alternativ werden spezifische Einzelmesssysteme (z.B. Oxitop®) zur Abschätzung des biochemischen Sauerstoffbedarfs BSB eingesetzt. Die Wirkungsweise ist jedoch im Prinzip die Gleiche: die Atmungshemmung von Mikroorganismen im Belebtschlamm in der Abwasserprobe wird im Vergleich zu einer Referenzprobe gemessen. Wenn die Differenz der Atmungsrate zu gross wird, zeigt dies eine Hemmung und somit eine Toxizität für die Biologie der ARA an. Im Belebtschlamm wird die gesamte mikrobielle Zusammensetzung der einzelnen ARA repräsentiert, die bereits an wiederkehrende Abwässer adaptiert ist. D.h. es handelt sich somit um eine realistische Toxizitätsabschätzung für die ARA-Biologie (Anzeiger für ARA-Toxizität). Weitere Vorteile des Atmungshemmtests sind schnelle Ergebnisse (unmittelbare Messung bei Online-Systemen, beim klassischen Atmungshemmtest oder bei Einzelmesssystemen bis zu drei Stunden) sowie eine Durchführung ohne Kulturunterhalt, sofern Belebtschlamm zur Verfügung steht. Nachteilig bei der Anwendung der Einzelmesssysteme ist die fehlende Aussagekraft bezüglich der Adaptierung in der ARA, da hier nicht zwingend Belebtschlamm verwendet wird. Beim Toxizitätsanalysator besteht zusätzlich Aufwand in Bezug auf die Wartung des Systems und den Belebtschlammunterhalt (wenn keine betriebseigene Anlage vorhanden ist).
- Der **Bakterien-Nitrifikationshemmtest** (ISO 9509:2006) beruht auf der Messung der Hemmung der nitrifizierenden Bakterien, die beispielsweise in einer Belebtschlammprobe vorkommen. Die Nitrifizierung stellt in den meisten ARA einen relevanten Prozess dar und sollte demnach bei der Prüfung der Funktionsfähigkeit einer ARA miteinbezogen werden. Der Nitrifikationshemmtest ist standardisiert und kann in einen Abbautest (z.B. im Zahn-Welens-Test) implementiert werden. Die Abwässer können aber auch mittels eines Toxizitätsanalysators kontinuierlich überwacht werden (z.B. LAR Nitritox®). Generell liefert der Nitrifikationshemmtest schnelle Resultate und bedeutet wenig Mehraufwand, um einen zusätzlichen Endpunkt anzuzeigen. Die Kombination des Nitrifikationshemmtests zusammen mit

dem Abbautest ist harmonisiert und wird bereits häufig eingesetzt (z.B. innerhalb des Stucki-Tests (Stucki, 2000); siehe auch 3.4.2). Der Test kann wie der Atmungshemmtest grundsätzlich betriebsintern durchgeführt werden und benötigt keinen Unterhalt einer Kultur. Der Nachteil ist, dass die Nitrifikationshemmtest anders als der Atmungshemmtest keine generelle Toxizität in einer Probe anzeigt, sondern lediglich die Hemmung der Nitrifikation abbildet. Die Nitrifikation stellt zwar einen relevanten Behandlungsprozess dar, dieser ist aber nicht für alle ARA-Einzugsgebiete relevant, da ein Nitrifizierungsschritt nicht durch alle ARA erfolgt.

- Daphnien (*Daphnia magna*) oder Wasserflöhe können für die Abschätzung von akuten oder chronischen Effekten eingesetzt werden. Der **Daphnientest** (akut nach OECD Test Nr. 202 und ISO 6341:2012; chronisch nach OECD Test Nr. 211) ist standardisiert und wird schon jahrzehntelang in unterschiedlichen Bereichen für die Toxizitätsuntersuchung eingesetzt. Daphnien repräsentieren als Primärkonsumenten wichtige Organismen der Gewässerfauna. Der akute Test zeigt einen apikalen Endpunkt auf (= Motilitätseinschränkung und/oder Mortalität) und ist ziemlich robust gegenüber Matrixeffekten. Der chronische Daphnientest ist ebenfalls harmonisiert und sehr sensitiv. Er eignet sich besonders für die Untersuchung von gereinigtem Abwasser oder im Gewässer. Die Testdurchführung für beide Tests benötigt nur wenige Messgeräte und ist relativ simpel. Nachteilig ist die lange Testdauer von insgesamt drei Tagen (akut) und 21 Tagen (chronisch) sowie der Aufwand für den Unterhalt einer Daphnienkultur. Somit wird der Test oft durch ein externes Auftragslabor durchgeführt. Zudem wird eine grössere Probemenge von mindestens 250 ml benötigt, was ebenfalls Ressourcen (Platz und Material) benötigt. Der chronische Test kann stattdessen mittels einer kleineren Wasserflohart (*Ceriodaphnia dubia*) durchgeführt werden und liefert nach sieben Tagen relativ schnelle Ergebnisse. Auch hier ist es jedoch negativ anzusehen, dass die Ceriodaphnien als Kultur unterhalten werden müssen und dazu nur wenig spezialisierte Auftragslabors in der Schweiz bestehen. Ceriodaphnien sind zudem sensitiv gegenüber Matrixeffekten.
- Fische wurden bereits früher verbreitet für ökotoxikologische Untersuchungen eingesetzt (Fischtest nach OECD Test Nr. 203). Auch zur Abschätzung der Ökotoxizität von Abwässern wurden Fische in Tierversuchen unterschiedlichen Verdünnungen ausgesetzt. Testmethoden, die Fische einsetzen sind für ökotoxikologische Aussagen von grosser Relevanz, da diese Hinweise für hohe trophische Ebenen geben und Sekundärkonsumenten im Gewässer repräsentieren. Der Einsatz ganzer Organismen ist jedoch nicht mehr zeitgemäss und

ethisch nicht vertretbar sowie entspricht dieser nicht den 3R-Prinzipien<sup>11</sup>. Als Weiterentwicklung des Fischtests gelten der **Fish Early Life Stage Toxicity Test (FELST)** nach OECD Test Nr. 210) und der **Fisch Embryo-Akut-Toxizitätstest (FET)** nach OECD Test Nr. 236). Im FELST werden Fischlarven zur Beurteilung von Abwasserproben eingesetzt, um ökotoxikologische Aussagen mit hoher ökologischer Relevanz zu erhalten. Der FET-Test bildet die gesamte Ei- und Embryonalentwicklung ab, indem die befruchteten Fischeier der zu prüfenden Substanz ausgesetzt und die Entwicklung von bestimmten Indikatoren in der Ei- und Embryonalentwicklung beobachtet werden. Aufgrund der neurologischen Entwicklung von Fischeiern und -larven werden beide Tests nicht als Tierversuch angesehen und können demnach auch mit weniger Anforderungen für die Labors durchgeführt werden. Die Nachteile beider Tests liegen in der langen Testdauer und dem aufwändigen Unterhalt einer Fischkultur. Oft werden diese Tests deshalb von spezialisierten Auftragslaboren durchgeführt, was sehr kostenintensiv ist. FELST und FET eignen sich demnach nur in Ausnahmefällen und nicht für Routine-Monitorings. Beide Testmethoden sind zudem ethisch nicht mehr zeitgemäss.

- Aus den obengenannten Gründen wird heute häufig auf den **Fischeitest** (ISO 15088:2007) zurückgegriffen. Auch in der deutschen Abwasserverordnung ist der Fischeitest seit 2005 verankert<sup>12</sup>. Der Vorteil des Fischeitests liegt in der guten Vergleichbarkeit zum klassischen Fischtest und somit der hohen Aussagekraft sowie der breiten Anwendungserfahrung (aufgrund der gesetzlichen Vorgaben in Deutschland, siehe 5.2). Wie auch der FELST/FET gilt der Fischeitest nicht als Tierversuch. Mit einer Testdauer von 48 Stunden ist der Fischeitest zudem deutlich kürzer als seine Vorgänger. Jedoch werden für den Fischeitest eine Fischkultur und ein spezialisiertes Labor benötigt, weshalb diese Tests oft im Auftrag mit erhöhtem Aufwand (finanziell, infrastrukturell) durchgeführt werden. Schliesslich stellt sich generell die Frage, ob die Eihaut eine Barriere gegenüber den ausgesetzten Substanzen resp. den Wasserproben darstellt und die Abbildung von toxischen Effekten deshalb verfälscht wird.

<sup>11</sup> Die 3R-Prinzipien (*Replace – Reduce – Refine*) verlangen Tierversuche zu ersetzen, zu reduzieren oder zu verbessern. So dürfen nur Tierversuche bewilligt werden, wenn keine alternativen Methoden zur Beantwortung einer Fragestellung vorhanden sind sowie muss die Anzahl Versuchstiere auf ein Minimum reduziert werden (siehe auch [www.blv.admin.ch/blv/de/home/tiere/tierversuche/3r-prinzipien.html](http://www.blv.admin.ch/blv/de/home/tiere/tierversuche/3r-prinzipien.html)).

<sup>12</sup> Siehe z.B. Endbericht über die Einführung des Fischeitests in NRW, Februar 2007 unter [www.lanuv.nrw.de/fileadmin/forschung/wasser/information/fischeitest\\_abschlussbericht.pdf](http://www.lanuv.nrw.de/fileadmin/forschung/wasser/information/fischeitest_abschlussbericht.pdf)

- Ethisch unbedenklicher und zeitgemässer ist die Option der **Fischzellinientests** (z.B. RTgill-W1 Zellinientest), die insbesondere zelluläre Wirkmechanismen von Schadstoffen abbilden und gleichzeitig die Stufe der Sekundärkonsumenten repräsentieren. Der Vorteil liegt neben ethischen Aspekten ebenfalls darin, dass diese Tests nicht als Tierversuche deklariert werden müssen und sie innerhalb von 24 Stunden schnelle Ergebnisse liefern. Eine neue ISO-Guideline, welche durch die Eawag entwickelt wurde, schlägt ein standardisiertes Vorgehen für die Umsetzung des RTgill-W1 Kiemenzelllinie der Regenbogenforelle vor, um die Lebensfähigkeit der ausgesetzten Zellen gegenüber einer Testchemikalie oder einer Wasserprobe zu untersuchen (ISO 21115:2019). Der RTgill-W1 Zellinientest zeigt eine gute Korrelation gegenüber des akuten Fisch- und Fischembryotests (Knöbel et al., 2012). Jedoch werden spezialisierte Labors und ein gekonnter Umgang mit Zellkulturen vorausgesetzt, weshalb diese Tests oft von Auftragslaboren durchgeführt werden. Unklar ist ebenso, wie repräsentativ Zelltests für die Beurteilung von Abwasserproben sind, da die Aussagen abhängig vom gewählten Endpunkt sind.
- Der **Leuchtbakterientest** (oder auch bekannt als Microtox® oder Lumistox® nach ISO 11348:2007) beruht auf der Messung der Hemmung der Leuchtkraft von marinen Bakterien. Werden diese einer toxischen Substanz oder Probe ausgesetzt, kann deren natürliche Leuchtkraft gehemmt werden. Der standardisierte Test wird breit angewandt und für unterschiedliche Abwässer genutzt. Von Vorteil sind eindeutig die simple und schnelle Durchführung des Tests und die damit verbundene zeitnahe Erlangung von Ergebnissen. Der Test ist zudem robust gegenüber Matrixeffekten (z.B. Leitfähigkeit und hohe Salzkonzentrationen), aber sensitiv auf Temperatureinflüsse.
- Der **Umu(C)-Test** (ISO 13829:2000) zeigt Gentoxizität an, indem er misst, ob das DNA-Reparatursystem von Bakterien anspringt, wenn diese einem gentoxischen Stoff ausgesetzt werden. Die Gentoxizität stellt wie die Mutagenität einen relevanten Wirkmechanismus dar, jedoch muss eine gentoxische Substanz nicht zwingend mutagen agieren. D.h. mutagene Substanzen werden nicht unbedingt durch den Umu(C)-Test ermittelt, da deren Wirkmechanismus nicht unter allen Umständen über das Reparatursystem der Bakterienzellen erfolgt. Der Test ist jedoch relativ schnell und simpel durchführbar und kann deshalb als Screening-Test (auch für mutagene Proben) fungieren (die Testdauer beträgt rund 1.5 Tage). Zudem handelt es sich um ein standardisiertes Testsystem, das international harmonisiert angewendet wird (z.B. Einsatz für die Beurteilung von Abwasserproben in der deutschen Abwas-

serverordnung, siehe auch 5.2). Wie auch innerhalb des Ames-Test kann fakultativ die metabolische Aktivierung der Gentoxinen durch die Zugabe von S9-Leberextrakt erfolgen, um Enzymreaktionen von Wirbeltieren in der Untersuchung abzubilden.

- Der **Wasserlinsen-** oder **Lemnatest** (OECD Test Nr. 221 / ISO 20079:2005) steht als Alternative zum Algentest repräsentierend für die Primärproduzenten. Er reagiert ebenfalls sensitiv für unterschiedliche Substanzgruppen und wurde für breite Anwendungen harmonisiert. Das Testsystem ist zwar standardisiert, jedoch wurde es trotz Bestrebungen aus politischen Gründen nicht in die deutsche Abwasserverordnung aufgenommen (für Erläuterungen zum Vorgehen in Deutschland siehe 5.2.1). Mit einer Testdauer von 7 Tagen gehört der Wasserlinsentest zu den zeitintensiven Testmethoden, er bildet dafür aber chronische Effekte ab. Für die Durchführung wird eine Wasserlinsenkultur und ein spezialisiertes Labor benötigt. Zudem sind grössere Probemengen erforderlich, weshalb für die Testdurchführung und für die Lagerung der Proben viel Platz benötigt wird.
- Der **YES- /YAS-Test** (ISO 19040:2018) ist ein bewährtes standardisiertes System für das Abbilden endokriner Effekte (YES: östrogene Disruptoren, YAS: androgene Disruptoren). Es bestehen Testkits, die eine unkomplizierte Anwendung ermöglichen. Für die Untersuchung von abwasserbelasteten Gewässern sind hormonelle Einflüsse zwar bedeutend, für die generelle Beurteilung von Industrieabwässern haben endokrine Effekte jedoch weniger Relevanz. In der Auflistung dürfen diese Testsysteme trotzdem nicht fehlen, da z.B. in der Produktion von hormonellen Wirkstoffen auch östrogene bzw. androgene Rückstände in die Betriebsabwässer gelangen können. Der YES-/ YAS-Test wird im vorliegenden Bericht nicht im Detail behandelt.

In **Tabelle 7** sind für diese ausgewählten Biotests zusätzliche Anforderungen für die Durchführung aller genannten Tests sowie deren Vorteile und Nachteile nochmals übersichtlich dargestellt.

**Tabelle 7** Übersicht ausgewählter Biotestsysteme, die sich für die Anwendung mit Abwasserproben grundsätzlich eignen, die jeweiligen Voraussetzungen für eine Durchführung und die Vorteile und Nachteile ihrer Anwendung (adaptiert nach Kienle et al., 2015a).

BIOTEST	Testorganismus	Voraussetzung	Guideline	Vorteile	Nachteile
<b>Algentest</b>	<i>Raphidocelis subcapitata</i>	Algenkultur	OECD 201	Standardisiert Anwendungserfahrung Kleines Probenvolumen erforderlich Kulturunterhalt unkompliziert Simple Durchführung Sensitiver Test Repräsentiert Primärkonsumenten Chronische Effekte	Aufbereitung der Algenkultur zeitintensiv Steriles Arbeiten und spezielles Messgerät erforderlich Sensitiv gegenüber Matrixeffekten Zeitdauer von 3 Tagen
<b>Ames-Test</b>	<i>Salmonella typhimurium</i>	Testkit	ISO 11350:2012	Standardisiert Erfasst Mutagenität als Endpunkt (relevant für Null-Toleranz-Ansatz) Breite Anwendungserfahrung vorhanden (Abwasser- und andere Bereiche) Gute Korrelation mit Kanzerogenitäts-Test S9-Enzymmix enthalten mit Relevanz für Wirbeltiere	Benötigt Aufkonzentrierung (Festphasenextraktion) Bildet nur Mutagenität und nicht generelle Genotoxizität ab Auftragslabor oder Testkit Relativ teuer Dauer 3 d
<b>Bakterien-Atmungs-hemmtest</b>	Mikroorganismen aus Belebtschlamm	Toxanalysator / Testkit	OECD 209	Standardisiert Repräsentiert die (adaptierte) ARA Microbiocommunity Anzeiger für ARA Toxizität → ARA-Schutz Sehr schnelle Ergebnisse (Toxanalysator) Betriebsinterne Durchführung Keine Kultur erforderlich	Bei Testkit keine Adaptierung an Klärschlamm vorhanden Beschaffung von Schlamm aus ARA erforderlich Unterhalt des Toxanalysators
<b>Bakterien-Nitrifikations-hemmtest</b>	Mikroorganismen aus Belebtschlamm	Toxanalysator / Testkit	ISO 9509:2006	Standardisiert Anwendungserfahrung Einfluss auf Nitrifizierung als relevanter Prozess (zusätzlicher Endpunkt) Mögliche Implementierung in Zahn-Wellens-Test / Stucki Test Anzeiger für ARA-Toxizität → ARA-Schutz Schnelle Ergebnisse möglich Betriebsinterne Durchführung Keine Kultur erforderlich	Nitrifikationshemmung sagt nichts über generelle Toxizität aus Bei Testkit keine Verwendung von Klärschlamm, darum keine Adaption

<b>Daphnientest akut</b>	<i>Daphnia magna</i>	Daphnienkultur	OECD 202 ISO 6341:2012	Standardisiert Anwendungserfahrung auch mit Abwasser Akuter Test Apikaler Endpunkt Repräsentiert Primärkonsumenten Wenig Messgeräte erforderlich Nicht sensitiv für Matrixeffekte Robust Einfache Überprüfung des Endpunkts Einfache Testdurchführung	Lange Dauer 3 d akuter Test Kulturunterhalt Grosses Probevolumen benötigt Externes Auftragslabor
<b>Daphnientest chronisch</b>	<i>Daphnia magna</i> / <i>Ceriodaphnia dubia</i>	Daphnienkultur	OECD 211	Standardisiert Sensitiver Test Chronischer Test	Sehr sensitiv für hohe Salzkonzentrationen (deshalb für Industrieabwässer weniger geeignet) Kulturunterhalt Lange Testdauer (21-28 d bei D. magna / 7 d bei Ceriodaphnia) Wenige spezialisierte Auftragslabor Grosse Probemenge Grosser Aufwand
<b>FET / FELST</b>	<i>Danio rerio</i> ; <i>Oncorhynchus mykiss</i>	Fischkultur	OECD 236 OECD 210 ISO 12890:1999	Standardisiert Aussagen für höhere trophische Ebenen möglich (repräsentiert Sekundärkonsumenten und die relevante Spezies Fische) Hohe ökologische Relevanz Kein Tierversuch (aufgrund des neurologischen Levels)	Ethisch nicht mehr zeitgemäss Lange Testdauer (FELST Regenbogenforelle ~69 d) Kostenintensiv Nur in Ausnahmefällen anwendbar (nicht für Routine-Monitoring) Durchführung in spezialisierten Auftragslabors Kulturunterhalt
<b>Fischeitest</b>	div. Fischarten, u.a. <i>Danio rerio</i>	Fischkultur	ISO 15088:2007	Standardisiert Aussagen für höhere trophische Ebenen möglich (repräsentiert Sekundärkonsumenten und die relevante Spezies Fische) Kein Tierversuch (aufgrund des neurologischen Levels) Vergleichbarkeit zu früherem Fischtest gegeben Anwendungserfahrung (v.a. in Deutschland durch Vorgabe in AbwV) Testdauer (48 h)	Ethisch nicht mehr zeitgemäss, Unterhalt Fischkultur (Handhabung, Kosten und Platz limitierend) Grosser Aufwand (Kultur und Durchführung) Speziallabor erforderlich Aussagekraft fraglich (Eihaut als Barriere?)



<b>Fischzell- nientests (RTgill-W1 Zellnientest)</b>	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Handhabung mit Zelllinien, Zelllabor	ISO 21115:2019	Standardisiert (neue ISO Guideline) Aussagen für höhere trophische Ebenen möglich (reprä- sentiert Sekundärkonsumenten und die relevante Spezies Fische) Ethisch vertretbarer als Fischeitest Kein Tierversuch	Aufwändige Handhabung und Infrastruktur Zellkulturequipment (nur in Speziallabors) Repräsentativ für Abwasser? Aussage abhängig vom gewählten Endpunkt
<b>Leuchtbakteri- entest</b>	<i>Aliivibrio fischeri</i>	Testkit	ISO 11348:2007	Standardisiert Einfache und schnelle Durchführung Rasche Ergebnisse Robust Einfaches Handling Repräsentiert Bakterien	Sensitivität relativ gering
<b>Umu(C)-Test</b>	<i>Salmonella typhimurium</i>	Testkit	ISO 13829:2000	Standardisiert Rasche Ergebnisse Zeigt Gentoxizität an, indem das Reparatursystem von Bakterien anspringt Relevanter Wirkmechanismus S9-Enzymmix enthalten mit Relevanz für Wirbeltiere Anwendungserfahrung mit Abwasser (v.a. in Deutschland AbwV)	Gentoxizität kann auch innerhalb Mutagenitätstest abge- schätzt werden Deckt durch die Wirkungsweise nicht alle mutagenen Substanzen ab Spezialisiertes Auftragslabor erforderlich Kulturunterhalt
<b>Wasserlinsen- test</b>	<i>Lemna minor</i>	Wasserlinsen- kultur	OECD 221 ISO 20079:2005	Standardisiert Sensitivität hoch Harmonisiert Chronischer Test	Kulturunterhalt Gemessene Effekte können auch durch Algentest abge- deckt werden? Lange Testdauer (7 d) Spezialisiertes Auftragslabor erforderlich Grosse Probemenge erforderlich (Platz) Keine Aufnahme in D AbwV aus politischen Gründen
<b>YES / YAS</b>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Testkit	ISO 19040:2018	Standardisiert Bewährtes Testsystem für endokrine Aktivität	Nicht relevant für Industrieabwässer (eher für kommuna- les Abwasser)

## 4.2 Ausgewählte Biotests zur Beurteilung von Industrieabwässern

In Kapitel 4.1 wurden unterschiedliche Kriterien aufgeführt, die für die Auswahl geeigneter Testsysteme für die Untersuchung von Industrieabwasser von Bedeutung sind (siehe **Tabelle 5**).

**Tabelle 6** und **Tabelle 7** generierten schliesslich eine Übersicht der bewährten und standardisierten Testsysteme für die Untersuchung von Abwasserproben und deren Vor- und Nachteile.

In der folgenden **Tabelle 8** wurden die relevanten Kriterien und ausgewählten Testsysteme in einer Matrix zusammengeführt und einzeln bewertet. Einzelne Testsysteme aus **Tabelle 7** werden im Folgenden nicht mehr speziell aufgeführt und gewertet, da sie z.B. aus ethischer Sicht nicht mehr zeitgemäss sind (FELST-Test) oder sie aufgrund ihres Wirkmechanismus nicht speziell auf Industrieabwasserproblematik abzielen (z.B. YES/YAS). Die Bewertungsmatrix in **Tabelle 8** zeigt auf, wie gut die erforderlichen Testkriterien jeweils auf die ausgewählten Biotests zutreffen und verteilt dementsprechend Punkte (siehe Bewertungsskala). Schliesslich wird der Durchschnitt der verteilten Punkte je Testsystem gerechnet (siehe Spalte «Eignung für Industrieabwasser-Untersuchung»).

Die Eignung für Industrieabwasseruntersuchung wird durch den Mittelwert der erreichten Punkte (durch Plus-Zeichen «+» dargestellt) berechnet. Als gut geeignet für die Industrieabwasser-Untersuchung gelten diejenigen Testsysteme, die zwischen 2.5 (= gut zutreffend) und 3 (= voll zutreffend) eingestuft wurden (siehe **Tabelle 8**):

- Algentest (**2.5**)
- Bakterien-Atmungshemmtest (**2.8**)
- Bakterien-Nitrifikationshemmtest (**2.5**)
- Daphnientest akut (**2.8**)
- Leuchtbakterientest (**2.6**)

Zudem werden der Ames-Test und der Fischzellinientest (unterstrichen, siehe **Tabelle 8**) ebenfalls als geeignet für die Untersuchung von Industrieabwasser eingeschätzt, obwohl sie die geforderten Punkte nicht erreicht haben. Folgende Gründe sind dabei zu nennen.

**Tabelle 8** Bewertung der ausgewählten Biotestsysteme aufgrund ausgewählter Kriterien, die für die Beurteilung von Industrieabwasser als bedeutend eingestuft wurden. Unter «Eignung für Industrieabwasser-Untersuchung» (dunkelgrau) wurde der Durchschnitt der vergebenen Punkte (+) gerechnet. Alle diejenigen Testsysteme, die im Durchschnitt zwischen 2.5 und 3 liegen (**fett markiert**) eignen sich gut für die Untersuchung von Industrieabwasser. Für die Beurteilung der Gentoxizität bzw. Mutagenität wird der Ames-Test dem Umu(C)-Test vorgezogen, da Mutagenität ein Ausschlusskriterium ist (Null-Toleranz) und durch Wirkungsweise des Umu(C)-Tests nicht alle mutagene Substanzen abgedeckt werden (unterstrichen). Die hohe Abweichung in der Bewertung des Fischeitests im Vergleich zum Fischzellinientest gründet auf der grossen Anwendungserfahrung (z.B. in Deutschland) und der relativ neuen Entwicklung von geeigneten Fischzellinientests (darum ungenügende Informationen). Aufgrund von ethischen Aspekten wird daher der Fischzellinientest dem Fischeitest ebenfalls vorgezogen (unterstrichen).

<b>EIGENSCHAFT</b> <b>BIOTEST</b>	Integration Wirkungen (apikale Endpunkte)	Ökologische Relevanz	Simple Anwendung (Labor/Durchführung)	Zeitnahe Ergebnisse	Robust / Resistenz ggü. Matrixeffekte	Anwendungserfahrung im Abwasser	Eignung für Industrieabwasseruntersuchung
<b>Algentest</b>	+++	+++	++	++	++	+++	<b>2.5</b>
<b>Ames-Test</b>	-	++	++	++	+++	+	<u>1.7</u>
<b>Bakterien-Atmungs-hemmtest</b>	+++	+++ (ARA)	++	+++	+++	+++	<b>2.8</b>
<b>Bakterien-Nitrifikations-hemmtest</b>	++	++ (ARA)	++	+++	+++	+++	<b>2.5</b>
<b>Daphnientest akut</b>	+++	+++	+++	++	+++	+++	<b>2.8</b>
<b>Daphnientest chronisch</b>	+++	+++	++	-	++	++	2
<b>Fischeitest</b>	+++	+++	+	++	++	+++	2.3
<b>Fischzellinientests (RTgill-W1 Zellinientest)</b>	++	+++	+	++	?	?	<u>1.3(?)</u>
<b>Leuchtbakterientest</b>	+++	+	+++	+++	+++	+++	<b>2.6</b>
<b>Umu(C)-Test</b>	+	++	++	+++	?	+++	1.8
<b>Wasserlinsentest</b>	+++	+++	+	+	++	++	2

#### BEWERTUNGSSKALA:

+++ voll zutreffend  
 ++ zutreffend  
 + teilweise zutreffend  
 – nicht zutreffend  
 ? unbekannt / ungenügende Informationen

- Für die Beurteilung von mutagenen Effekten wird der Ames-Test dem Umu(C)-Test vorgezogen, obwohl diese sich gemäss der Bewertung ähnlich gut eignen (Umu(C) = 1.8, Ames = 1.7). Der Ames-Test wird gegenüber dem Umu(C)-Test bevorzugt, da Mutagenität ein Ausschlusskriterium für die Einleitung darstellt (Null-Toleranz, siehe 4.1) und da durch den *Mode of Action*<sup>13</sup> des Umu(C)-Tests nicht alle mutagene Substanzen abgedeckt werden (nicht alle mutagenen Substanzen lösen das Reparatursystem der DNA, also den Endpunkt des Umu(C)-Tests, aus).
- Der Fischeitest wird zwar im Vergleich zum Fischzellinientest deutlich höher gewertet, was u.a. auf die grosse Anwendungserfahrung zurückzuführen ist (z.B. in Deutschland), der Fischzellinientest wird aus ethischen Aspekten jedoch eindeutig dem Fischeitest vorgezogen. Die tiefere Wertung des Fischzellinientests ist darauf zurückzuführen, dass geeignete Testmethoden erst seit kurzem entwickelt und standardisiert sind (z.B. RTgill-W1 Zelllinientest), weshalb bei der Bewertung einige unbekannte Faktoren aufgrund von ungenügenden Informationen auszumachen sind.

In **Tabelle 9** werden die ausgewählten Biotests, die sich für die Anwendung mit Industrieabwasser eignen, einzeln aufgelistet.

**Tabelle 9** Auswahl an Biotestsystemen, die sich aufgrund der definierten Kriterien und der Bewertung gemäss **Tabelle 8** für die Beurteilung von Industrieabwässern eignen.

BIOTEST	<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>	Testorganismus	Toxizität	Wirkungsweise / Endpunkt	Dauer	Guideline
<b>Algentest</b>	<i>in vitro</i>	<i>Raphidocelis subcapitata</i>	chronisch	Hemmung Wachstum u/o Photosynthese	72 h	OECD 201
<b>Ames-Test</b>	<i>in vitro</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	akut	Anzahl rückmutierte Kolonien; Mutagenität	3 d	ISO 11350
<b>Bakterien-Atmungshemmtest</b>	<i>in vivo</i>	Mikroorganismen aus Belebtschlamm	akut	Hemmung Atmungsrate / Sauerstoffaufnahme	0.5 – 3 h	OECD 209
<b>Bakterien-Nitrifikationshemmtest</b>	<i>in vivo</i>	Mikroorganismen aus Belebtschlamm	akut	Hemmung Nitrifikationsaktivität	3 – 24 h	ISO 9509
<b>Daphnientest akut</b>	<i>in vivo</i>	<i>Daphnia magna</i>	akut	Immobilität / Sterblichkeit	72 h	OECD 202
<b>Fischzellinientests (RTgill-W1 Zellinientest)</b>	<i>in vitro</i>	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	akut	Hemmung Zelllebensfähigkeit	24 h	ISO 21115
<b>Leuchtbakterien-test</b>	<i>in vivo</i>	<i>Aliivibrio fischeri</i>	akut	Hemmung Biolumineszenz durch Störung ATP-Bildung	30 min	ISO 11348

<sup>13</sup> Die *Mode of Action* (MOA) beschreibt den Wirkmechanismus einer bestimmten Exposition (z.B. einer Substanz) auf den Organismus oder die Zelle

## 4.3 Herausforderungen bei der Anwendung von Biotests mit Industrieabwasser

### 4.3.1 Matrixeffekte

Matrixeffekte oder *Confounding Factors*<sup>14</sup> können einen Einfluss auf die Ergebnisse von Biotests haben. Diese entstehen durch Abweichungen der Grundanforderungen eines Biotests, z.B. wenn die abiotischen Parameter in einer Probe nicht im organismusspezifischen Toleranzbereich liegen. Unerwünschte Effekte beispielsweise durch das Auftreten einer erhöhten Salzkonzentration oder durch starke Abweichungen des pHs können die Ergebnisse der Biotests beeinflussen. Wichtige physikalisch-chemischen Parameter sind hierbei:

- Salzkonzentration/erhöhte Leitfähigkeit
- pH
- Temperatur
- Gehalt organischer Kohlenstoff
- Ammonium und Sulfat

Wenn sich die abiotischen Parameter ausserhalb des organismusspezifischen Toleranzbereichs befinden, kann anhand der Testergebnisse nicht unterschieden werden, ob die gemessenen Effekte durch eine erhöhte Toxizität oder durch die Abweichungen der genannten physikalisch-chemischen Eigenschaften aufgetreten sind. Die Ergebnisse der durchgeführten Biotests können auf diese Weise an Aussagekraft verlieren oder verfälscht werden (falsch-negative oder falsch-positive Aussagen). Matrixeffekte müssen demnach immer in Abwasseruntersuchungen mittels Biotests in Betracht gezogen werden. Dies wird in den meisten standardisierten Anleitungen berücksichtigt.

Das Auftreten von Matrixeffekten ist in kleinen Verdünnungsstufen im Biotest (d.h. in 100% Abwasserproben) eher zu erwarten aufgrund von erhöhten Salzgehalten. Mit steigender Verdünnung der Abwasserprobe (erwartungsgemäss ab einer Verdünnung von 87.5% Medium und 12.5% Abwasser, was gemäss der deutschen Abwasserverordnung einer Verdünnungsstufe von G= 4 entspricht, siehe auch 5.2.1 oder **Tabelle 11**) spielen die Matrixeffekte jedoch eine immer geringere Rolle. Wenn in hohen Verdünnungen noch immer eine Toxizität auftritt, muss in

<sup>14</sup> Gemäss Definition sind *Confounding Factors* Variablen, die einen Einfluss auf untersuchte Zusammenhänge zwischen zwei anderen Variablen haben und die Untersuchung der Beziehung von zwei Kausalfaktoren somit verzerrt wird.

Erwägung gezogen werden, dass die toxischen Effekte auf die Substanzen und nicht auf Matrixeffekte zurückzuführen sind (siehe auch Abschätzung der Salzkorrektur im hier entwickelten Untersuchungskonzept unter 7.2). Deshalb ist es sehr wichtig die chemisch-physikalischen Faktoren bei der Testdurchführung zu kennen, um ein differenziertes Bild von möglichen Einflüssen zu erhalten, die nicht auf toxische Substanzen zurückzuführen sind.

Ein Projekt im Rahmen einer Bachelorarbeit an der FHNW ging im Herbst 2020 der Frage nach, in welcher Bandbreite Matrixeffekte auf die Testergebnisse von Leuchtbakterien-, Algen- und Daphnientest auftreten können. Ziel des Projekts war, den organismusspezifischen Bereich für bedeutende chemisch-physikalischen Parameter zu bestimmen. Die Testorganismen wurden dazu bewusst hohen Salzkonzentrationen, stark abweichenden pH-Werten, einem erhöhten DOC und hohen Konzentrationen von Nitrit, Ammonium und Sulfat ausgesetzt, um zu untersuchen, bei welchen Abweichungen dieser abiotischen Parameter relevante Einflüsse auf die Testergebnisse zu erwarten sind.

Die Ergebnisse aus der Bachelorarbeit zeigten, dass erwartungsgemäss durch starke Abweichungen des pH-Wertes (Werte von unter 4.5 bzw. über 10) durch erhöhte Leitfähigkeiten (für Daphnien und Algen lag der ermittelte  $EC_{50}$  bei rund  $8 \text{ mS/cm}^2$ ), Effekte auf die Testorganismen auszumachen sind. Es gab zudem Hinweise, dass Parameter wie Ammonium ( $\text{NH}_4$ ) und Sulfat ( $\text{SO}_4$ ) in sehr hohen Konzentrationen keine messbaren Auswirkungen auf die Organismen hatten (für Daphnien wurden Werte für  $\text{NH}_4$  bis zu  $45 \text{ mg/l}$  und für  $\text{SO}_4$  bis zu  $2 \text{ g/l}$  ermittelt). Um exakte Aussagen zu den organismusspezifischen Toleranzbereichen für die unterschiedlichen Parameter zu machen, müssen einzelne Tests wiederholt und verifiziert werden.

Für die praktische Anwendung des hier vorgeschlagenen Untersuchungskonzept (Kapitel 7) sind die exakten Toleranzwerte der einzelnen Parameter zur Abschätzung der organismusspezifischen Bereiche erforderlich, um mögliche Matrixeffekte aufgrund von Abweichungen der Leitfähigkeit und des pH zu berücksichtigen.

#### **4.3.2 Einfluss der Probenahmen**

Nicht alle betrieblichen Prozesse oder Produktionsschritte generieren dieselbe Abwasserzusammensetzung. Besonders innerhalb von Produktionsbetrieben werden einzelne Produkte oft chargenweise hergestellt. Werden die Abwasserproben zufällig als Stichprobe gezogen, haben diese Beprobungen nicht zwingend eine allgemeingültige Aussagekraft bezüglich ihres toxischen Potentials.

Um eine reelle und aussagekräftige Abschätzung zu ermöglichen, müssen demnach mehrere Proben in unterschiedlichen Zeiträumen resp. aus verschiedenen Produktionen oder aber Sammelproben erhoben und untersucht werden. Eine weitere Möglichkeit stellt ein Online-Monitoring dar, welches den Abwasserstrom über einen definierten Zeitraum stetig untersucht (siehe auch 4.4).

Für die Beurteilung von betrieblichen Abwässern ist eine detaillierte Planung der Probenahme notwendig, um bei der Anwendung von Biotests aussagekräftige Resultate zu generieren.

#### 4.3.3 Interpretationen

Die Beurteilung von Abwasserproben mittels Biotests ermöglicht eine Einschätzung der gesamten Toxizität und ersetzt keine substanzbasierte chemische Untersuchung. Werden toxische Effekte eines biologisch behandelten Abwassers in einem Biotest – unter Ausschluss von Matrixeffekten – sichtbar, gibt dies Hinweise auf (persistente) Stoffrückstände in einer Probe, welche durch die Abwasserbehandlung nicht abgebaut werden konnten. Allerdings kann nicht auf die Toxizitäts-verursachende Substanz geschlossen werden. Für die gezielte Identifikation der verursachenden toxischen Substanzen hat sich eine Kombination von Biotests mit einem chemischen *Non-Target Screening*<sup>15</sup> in einer hohen zeitlichen Auflösung als geeignet gezeigt. Auch ist in manchen Publikationen für solche Fragestellungen ein *Toxicity Identification Evaluation* (TIE) oder *Effect-Directed Analysis* (EDA) Ansatz vorgeschlagen worden. In diesen Ansätzen werden die Proben zunächst aufgrund ihrer Stoffeigenschaften fraktioniert und die jeweiligen Fraktionierungen anschliessend mit einem Biotest untersucht. Schlägt der Biotest in einem der fraktionierten Proben an, kann diese entweder weiter fraktioniert werden und erneut mit einem Biotest getestet oder in einer chemischen *Non-Target* Analyse weiter untersucht werden. Der TIE-Ansatz hat sich in Nordamerika etabliert, der EDA-Ansatz wird in Europa und Nordamerika angewendet (Burgess et al., 2013; Li et al., 2018).

Wird eine Probe in einer Festphasenextraktion (SPE) aufkonzentriert, können sich möglicherweise Lücken in der chemischen Analyse ergeben, die insbesondere polare Substanzen betreffen (siehe auch 2.2.1). Handelt es sich bei den polaren Substanzen um persistente, mobile und

<sup>15</sup> Chemische Analysen, die es ermöglichen unbekannte Substanzen in einer Probe aufgrund ihrer Eigenschaften z.B. Polarität oder Molekularmasse aufzuspüren und zuzuordnen.

toxische (PMT)<sup>16</sup> Substanzen, die schwierig zu detektieren sind, kann das die Abwasser- und Trinkwasseraufbereitung vor Probleme stellen (Reemtsma et al., 2016). Als Beispiel sind hier Trifluoressigsäure (TFA) und 1,4-Dioxan zu nennen, die als sogenannte PMT Substanzen gelten (Rüdel et al., 2020). TFA wird als Nebenprodukt aus chemischen Produktionen generiert und spielt sowohl bei der Anreicherung in der Umwelt als auch bei der Aufbereitung von Trinkwasser eine erhöhte Rolle. Die Entfernung von TFA mit gängigen Behandlungsmethoden wie Ozonierung oder Aktivkohle ist nicht möglich (Scheurer et al., 2017). 1,4-Dioxan wird als Lösungsmittel in vielen verschiedenen Prozessen verwendet und stammt aus sehr unterschiedlichen Quellen. Da sowohl die Detektion und die Behandlung von 1,4-Dioxan für die Trinkwasseraufbereitung nicht trivial sind, muss ein gezieltes Monitoring erfolgen, um die Einträge und Herkunft von 1,4-Dioxan zu untersuchen und Behandlungsmassnahmen umzusetzen (Rüdel et al., 2020).

Die Interpretation von Resultaten aus Biotests ist komplex und setzt teilweise weitere oder ergänzende Untersuchungen voraus.

#### **4.4 Online-Monitoring Systeme**

Die Basis für einen nachhaltigen Gewässerschutz bildet eine funktionierende Abwasserreinigung. In der Schweiz leiten die meisten industriellen und gewerblichen Betriebe ihre Abwässer in die öffentliche Kanalisation. Bei der Einleitung ist es von grosser Bedeutung, dass erstens die ARA nicht aufgrund der eingeleiteten Abwässer Schaden nimmt und folglich nicht mehr funktionsfähig ist und die Abwässer nicht mehr nachhaltig reinigen kann und zweitens die eingeleiteten Betriebsabwässer biologisch abbaubar sind und in der Folge das Gewässer nicht schädigen.

Nur wenige Betriebe in der Schweiz verfügen über eine eigene Industriekläranlage oder lassen ihre Abwässer in einer spezialisierten Industriekläranlage behandeln (Braun and Gälli, 2014) wie z.B. in Schweizerhalle im Kanton Basel-Landschaft. Der Schutz der ARA ist aber für Direkt- und Indirekteinleiter sehr relevant, da in beiden genannten Fällen (1. Schädigung der ARA-Biologie und 2. ungenügend abbaubare Abwässer) das Gewässer belastet wird. Somit kann eine mögliche toxische Auswirkung eines spezifischen Abwassers auf die Belebtschlamm Bakterien

<sup>16</sup> PMT oder PMOC (*persistent mobile organic compounds*) können sich aufgrund der persistenten Eigenschaften in der Umwelt anreichern und sind aufgrund ihrer sehr hohen Polarität und Wasserlöslichkeit schwer in Aufbereitungsprozessen zu entfernen (Reemtsma et al. (2016).



der ARA (ARA-Toxizität) von rechtlicher und finanzieller Relevanz für die Betriebe sein, die zusätzlich mit Reputationsschäden einhergehen kann. Das Bewusstsein für diese Thematik ist weit verbreitet, weshalb im Gespräch mit den Betrieben (siehe 6.5) die Wichtigkeit des ARA-Schutzes als oberstes Ziel betont wurde.

Zur steten Überwachung des abgeleiteten Abwassers in die öffentliche Kanalisation oder in die eigene Kläranlage ist ein automatisches Alarmsystem praktikabel, da Abwasser je nach Produktion und Zusammensetzung sehr variabel sein kann (siehe auch 1.2). Auf dem Markt existieren mehrere Biomonitorsystemen, die z.B. für die kontinuierliche Überwachung von Abwassersystemen oder für die Qualitätssicherung von Trinkwasseraufbereitung genutzt werden.

Zur Überwachung der Abwassertoxizität vor der Einleitung gehören BSB<sub>5</sub>-Messsysteme, die die Respirationsrate von im Belebtschlamm enthaltenen Mikroorganismen im Vergleich zu einer Referenzwasserprobe messen und einen Alarm auslösen, sobald die Atmungsrate, der im Belebtschlamm enthaltenen Mikroorganismen abnimmt (siehe auch 4.1). Diese Toxizitätsanalytoren werden als Warnsystem für die Einleitung von toxischen Abwässern in die Kläranlage genutzt. Hintergrund ist hier, dass toxische Substanzen im Abwasser einen Einfluss auf die biologische Aktivität des Klärschlammes haben. Sobald ein Alarm durch das Gerät ausgelöst wird, können im Betrieb schnelle Rückhaltungsmassnahmen eingeleitet und der Kläranlagenbetreiber über mögliche Gefahr informiert werden.

Ein weiterführendes Projekt zur «Prüfung einer Online-Toxizitätsüberwachung von Zuflüssen aus Industrieabwasser auf die kommunale ARA» an der FHNW wurde zu diesem Zweck vom BAFU im Jahr 2020 in Auftrag gegeben. Dieses sieht vor, den Nutzen und die Sensitivität von Online-Toxizitätsanalytoren für die Beurteilung von Industrieabwasser zu prüfen, bevor diese in die ARA eingeleitet werden. Dazu wurde auf Basis einer Variantenstudie der LAR Biomonitor<sup>17</sup> als geeignetes Gerät ausgewählt, um dessen Funktionsweise bei Einleitung von Abwässern unterschiedlicher Herkunft und unter Zugabe spezifischer Substanzen zu prüfen. Ab Januar 2021 wird der Biomonitor innerhalb des *Process Technology Center* (PTC) am FHNW-Campus in Muttenz in Betrieb genommen. Nach rund zwei Monaten im Normalbetrieb (i.d.R. wird kommunales Abwasser aus dem Campus zugeführt) sind spezifische Versuche ab Frühling 2021 geplant, die es vorsehen, die Reaktionen des Biomonitor gezielt unter Zugabe von problematischen Substanzen zu untersuchen. Darunter sollen auch häufig detektierte Substanzen aus

<sup>17</sup> Siehe [www.lar.com/de/produkte/lar/bsb-toxizitaets-analytik/bsb-analysator-biomonitor/](http://www.lar.com/de/produkte/lar/bsb-toxizitaets-analytik/bsb-analysator-biomonitor/) für mehr Informationen

Industrieabwässern zum Einsatz kommen. Zur Evaluation der Sensitivität des Biomonitoring, wird die Toxizität und die Abbaubarkeit der getesteten Substanzen im Zuge des Projekts in gängigen Abbau-, Respirations- und Nitrifikationshemmtests verglichen.

Zur Überwachung von gereinigtem Industrieabwasser sind auch Online-Biomonitoring interessant, die auf Organismen basieren. Im gemeinsamen Projekt OnBiA der FHNW und des Ökotoxizitätszentrums werden zurzeit verschiedene Online-Biomonitoring-Systeme (DaphTox, AlgaToximeter, Sensaguard, Toxmate) in der Eawag-Versuchsanlage eingesetzt, um den Einsatz und die Qualität der Reaktionen von unterschiedlichen Testorganismen auf gereinigte Abwässer stetig zu testen. Der Einsatz von kontinuierlich messenden Online-Biomonitoring mit Alarmgebung stellt eine vielversprechende Möglichkeit dar, die Einleitung von schädlichen Substanzen in die ARA bzw. in das Gewässer frühzeitig zu visualisieren und Reaktionsmöglichkeiten zu eröffnen. Die Weiterführung des Projekts inkl. der Implementierung der Biomonitoring in einer grösseren ARA mit Industrieinfluss sind derzeit in Planung.

## 5 Einsatz von Biotests für die Beurteilung von Industrieabwasser: Internationaler Einsatz und Kenntnisstand

### 5.1 Einsatz von Biotests zur Beurteilung von Gesamt-Abwasserproben

Biotests werden nicht nur für die Untersuchung von Oberflächengewässerproben genutzt, sondern werden auch für die Beurteilung von Abwasserproben eingesetzt. In Literatur und Praxis kommen dabei unterschiedliche Methoden zur Durchführung und Auswertung zur Anwendung. International werden Biotests schon seit mehr als 20 Jahren erfolgreich zur Bewertung von Abwässern eingesetzt.

Die Durchführung von Biotests zur Abwasseruntersuchung beruht unter anderem auf Methoden, die in den USA durch die U.S. Environmental Protection Agency (US EPA) in ihrer Richtlinie *Method Guidance and Recommendations for Whole Effluent Toxicity Testing* definiert (US EPA, 2000) sowie durch die europäische *OSPAR Commission*<sup>18</sup> in diversen Dokumenten als *Whole Effluent Assessment* beschrieben wurde (OSPAR Commission, 2005). Beide Methoden zielen auf eine Beurteilung von Gesamt-Abwasserproben ab und wenden ökotoxikologische Testsysteme an mit der Absicht, kombinierte Effekte aller in einer Probe enthaltener Substanzen sichtbar zu machen. Die daraus gezogenen Erkenntnisse haben dadurch eine höhere ökologische Relevanz und zeigen an, welche Abwasserströme für spätere Umweltauswirkungen relevanter sind (ECETOC European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals, 2004).

#### 5.1.1 Whole Effluent Toxicity (WET) Testing

Per Definition «beschreibt die *Whole Effluent Toxicity* (WET) den aggregierten toxischen Effekt einer wässrigen Probe gemessen an einer Antwort eines Organismus aufgrund der Exposition mit der Probe (z.B. Letalität, Wachstum oder Reproduktion)». <sup>19</sup>

Das WET Testing wurde ab 1985 in der USA entwickelt und zielte darauf ab, bekannte und bewährte Testsysteme aus der Einzelsubstanzbeurteilung für die Bewertung von Abwasserproben einzusetzen (Chapman, 2000). Der Ursprung dieser Idee ist, dass nicht alle Chemikalien und

<sup>18</sup> Die Convention for the Protection of the Marine Environment of the North-East Atlantic wurde aus der OSlo und PARiser Kommission im Jahr 1992 gegründet.

<sup>19</sup> Übersetzt von [www.epa.gov/npdcs/whole-effluent-toxicity-wet](http://www.epa.gov/npdcs/whole-effluent-toxicity-wet)

ihre Kombinationen, die in den Abwässern vorkommen, getestet werden können und nicht für alle bekannten Chemikalien Toxizitätsdaten vorliegen. So versuchte man diejenigen Gewässer mittels bestehender Testmethoden zu untersuchen, die nachweislich durch Abwasser industrieller oder kommunaler Herkunft beeinflusst waren. Dieses Vorgehen wurde schliesslich mit der Zeit standardisiert (SETAC, 2004).

Die US Umweltbehörde EPA veröffentlichte im Jahr 1995 eine Vorschrift, um bestehende Testmethoden für die Untersuchung der gesamten Abwassertoxizität (WET) zu standardisieren, damit diese für die Überwachung innerhalb des *National Pollutant Discharge Elimination System* (NPDES) verwendet werden konnten. Die Aufnahme der WET-Methoden in das NPDES-Programm vervollständigte den *Clean Water Act*<sup>20</sup>, welcher vorsah Wasserlebewesen nachhaltig zu schützen und die Einleitung von toxischen Schadstoffen in schädlichen Mengen zu verbieten. Die US EPA stellt auf ihrer Website<sup>21</sup> unterschiedliche Dokumente mit Hinweisen für die Auswahl geeigneter Testsysteme, zur Auswertung der Resultate und für die Hälterung der Organismen zur Verfügung.

Im Jahr 2000 wurde von der US EPA die *Method Guidance and Recommendations for Whole Effluent Toxicity (WET) Testing* publiziert (US EPA, 2000). Dabei handelt es sich um einen Leitfaden für die Anwendung der WET-Methode mit generellen Empfehlungen für die Durchführung von genehmigten Testmethoden und die Interpretation der generierten Resultate. Innerhalb des WET-Berichts *Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms* aus dem Jahr 2002<sup>22</sup> wird die Anwendung von unterschiedlichen Testsystemen zur Untersuchung der Toxizität von Abwässern und der Vorfluter detailliert aufgeführt und beschrieben (US EPA, 2002a).

Die US EPA empfiehlt die vorgeschlagenen WET-Methoden und chemikalien-spezifischen Untersuchungsmethoden zu kombinieren. Zu diesem Zweck wurde in den 1980er Jahren in den

<sup>20</sup> Das «Gesetz über sauberes Wasser» (Clean Water Act, CWA) trat 1972 mit dem Ziel in Kraft, "die chemische, physikalische und biologische Integrität der Gewässer der Nation wiederherzustellen". Zusammen mit anderen spezifischen Zielen besagt der CWA, dass "es die nationale Politik ist, dass die Einleitung von toxischen Schadstoffen in toxischen Mengen verboten ist".

<sup>21</sup> siehe [www.epa.gov/cwa-methods/whole-effluent-toxicity-methods](http://www.epa.gov/cwa-methods/whole-effluent-toxicity-methods)

<sup>22</sup> Die erste Version der Methodenempfehlung für die Untersuchung der akuten Toxizität stammt bereits aus dem Jahr 1993 und wurde somit vor der Publikation der WET-Guideline veröffentlicht. Im folgenden Bericht wurde nur die aktuellste Version der Methodenempfehlung (5. Edition, 2002) berücksichtigt.

USA die *Toxicity Identification Evaluation* (TIE)<sup>23</sup> entwickelt, die zum Ziel hatte, die im Biotest quantifizierte Toxizität auf die verursachenden Stoffe zurückzuführen, um den dafür verantwortlichen industriellen und kommunalen Einleitern Hinweise auf mögliche Optimierungen in den Prozessen geben zu können. Der TIE-Ansatz besteht aus drei Phasen, die die eine beobachtete Toxizität I) charakterisieren II) identifizieren und III) bestätigen. Nach der Durchführung eines *in vivo* Biotests um die gesamtheitliche Toxizität zu erfassen, werden die unterschiedlichen Stoffe in einer Probe nach ihren Eigenschaften klassifiziert, um daraus mögliche toxische Effekte abzuleiten (Phase I), die verursachenden Stoffklassen bzw. -eigenschaften werden evt. in Kombination mit chemischen Analysen bestimmt (Phase II) und schliesslich erfolgt die Bestätigung der verursachenden Komponenten durch unabhängige Beweisführung, z.B. durch Zugabe der verursachenden Komponente zur Probe und erneuter Biotestuntersuchung (Phase III) (Burgess et al., 2013). Die Methoden für die Anwendung eines TIE-Ansatz wurde in den letzten Jahren stark optimiert und werden beispielsweise auch für die Toxizitätsabschätzung von Sedimenten angewendet (Li et al., 2018).

Die verwendeten Testmethoden und gewählten Testorganismen, die zur Charakterisierung der akuten Toxizität von Abwässern bzw. der Vorfluter verwendet werden, hängen von den Anforderungen der Aufsichtsbehörde und den definierten Zielen (i.e. zur Überwachung oder zur Überprüfung von Massnahmen zur Reduktion der Toxizität) der Untersuchung ab (US EPA, 2002a). Die in der Methodenempfehlung aus dem Jahr 2002 vorgeschlagenen Testorganismen für Süsswasser- bzw. Salzwasseruntersuchungen sind in **Tabelle 10** aufgeführt.

Für die Untersuchung der chronischen Toxizität bestehen zwei eigene detaillierte Methodenempfehlungen<sup>24</sup> (US EPA, 2002b, 2002c) für die Untersuchung von Süsswasserorganismen und Methoden für marine bzw. Mündungsgebiete. Die in den beiden Methodenempfehlungen vorgeschlagenen Testorganismen sind ebenfalls in **Tabelle 10** aufgeführt.

<sup>23</sup> Diverse Anleitungen und Vorgehensempfehlungen zu der Durchführung von TIE bestehen auf der Website der US EPA, z.B. drei Leitfaden zu den unterschiedlichen Phasen im TIE (siehe «Methods for aquatic toxicity identification evaluations», Phase I / Phase II / Phase III)

<sup>24</sup> Die ersten Versionen der beiden Methodenempfehlungen für die Untersuchung der chronischen Toxizität stammen bereits aus dem Jahr 1994 und wurden somit vor der Publikation der WET-Guideline veröffentlicht. Im folgenden Bericht wurden nur die aktuellsten Versionen (4. bzw. 3. Edition, 2002) berücksichtigt.

**Tabelle 10** Vorgeschlagene Testorganismen für die Untersuchung der akuten Toxizität von Abwasser- oder Gewässerproben gemäss der Methodenempfehlung der US EPA (US EPA, 2002a, 2002b). Die Tabelle wurde zudem ergänzt mit Testorganismen, die gemäss Website der US EPA vorgeschlagen werden ([www.epa.gov/cwa-methods/whole-effluent-toxicity-methods](http://www.epa.gov/cwa-methods/whole-effluent-toxicity-methods), Stand Dezember 2020).

	SÜSSWASSER	SALZWASSER
<b>AKUT</b>	<i>Ceriodaphnia dubia</i> (kleiner Wasserfloh) <i>Cyprinella leedsi</i> (Weissfischart) <i>Daphnia magna</i> / <i>Daphnia pulex</i> (grosser / gemeiner Wasserfloh) <i>Oncorhynchus mykiss</i> (Regenbogenforelle) <i>Pimephales promelas</i> (Dickkopfritze) <i>Salvelinus fontinalis</i> (Bachsaibling)	<i>Americamysis bahia</i> (kleine Schwebegarnele) <i>Cyprinodon variegatus</i> (Karpfenartige) <i>Menidia beryllina</i> (Ährenfisch)
<b>CHRONISCH</b>	<i>Ceriodaphnia dubia</i> (kleiner Wasserfloh) <i>Pimephales promelas</i> (Dickkopfritze) <i>Selenastrum capricornutum</i> (Grünalge)	<i>Americamysis bahia</i> (kleine Schwebegarnele) <i>Cyprinodon variegatus</i> (Edelsteinkärpfling) <i>Menidia beryllina</i> (Ährenfisch) <i>Arbacia punctulata</i> (Seeigel)

Neben Vorgaben zur Probenahme und Hälterung der Organismen, wird für die Datenauswertung und Rapportierung der durchgeführten Tests ein geeignetes Vorgehen vorgeschlagen. Für die Bestimmung des LC<sub>50</sub> (*lethal concentration*, d.h. die letale Konzentration, bei der eine Mortalität von 50% der Testorganismen auszumachen ist) sind beispielsweise je nach Ausgang der Tests unterschiedliche statistische Methoden erforderlich, um den LC<sub>50</sub>-Wert zuverlässig zu berechnen. Die Methodenempfehlung für die Untersuchung akuter Toxizität gibt dazu detaillierte Hilfestellungen.

Ziel der Methodenempfehlungen der US EPA ist die Entwicklung von standardisiertem Vorgehen für die Untersuchung der akuten und chronischen Toxizität in den Gewässern innerhalb von unterschiedlichen Laboratorien zur Erfüllung des *Clean Water Act*.

### 5.1.2 Whole Effluent Assessment (WEA)

Der Begriff *Whole Effluent Assessment* (WEA) wurde von der *OSPAR Commission* in den neunziger Jahren ins Leben gerufen. Den Ursprung nahm die WEA-Methode in einer Arbeitsgruppe rund um Punktquellen zwischen unterschiedlichen Mitgliederstaaten und wurde schliesslich in einem konkreteren Workshop der OSPAR im Jahr 1997 konkretisiert. Innerhalb dieses Workshops wurde festgestellt, dass Biotests ein geeignetes Werkzeug darstellen, um zusätzliche Informationen über Abwasserqualität und insbesondere über komplexe Abwässer mit möglichen Umweltauswirkungen festzustellen. Da jedoch zu wenig praktische Erfahrung vorhanden war, um Toxizitätswerte festzulegen und um Biotests in den Mitgliederstaaten gesetzlich zu verankern, wurde das *Background Document concerning the Elaboration of Programmes and Measures relating to Whole Effluent Assessment*<sup>25</sup> im Jahr 2000 publiziert, welches die unterschiedlichen Strategien und Vorgehen der verschiedenen Mitgliederstaaten zusammenfasst und beschreibt (OSPAR Commission, 2000).

Auf der Website der OSPAR Commission<sup>26</sup> sind unterschiedliche Dokumente für den anwendungsorientierten Einsatz von biologischen Testmethoden zur Beurteilung von Abwasserproben verfügbar, die in verschiedenen europäischen Ländern in die gesetzlichen Grundlagen bezüglich der Einleitung von Abwasser einfließen.

Das *WEA Background Document* aus dem Jahr 2000 gibt einen breiten Überblick über die zur Verfügung stehenden Testorganismen, über die vorhandenen Teststandards sowie über die Datenauswertungen der Tests und fasst schliesslich die Erfahrungen der OSPAR-Vertragsstaaten zusammen. Beispielsweise schlägt das *WEA Background Document* unterschiedliche Testorganismen für eine Abwasseruntersuchung vor, je nachdem ob Einflüsse auf das Gewässer oder die ARA untersucht werden sollen (siehe **Abbildung 3**). Im Anhang des *WEA Background Document* ist schliesslich eine detaillierte und übersichtliche Tabelle für akute Tests mit unterschiedlichen Testorganismen enthalten (siehe Annex III; OSPAR Commission, 2000).

<sup>25</sup> Im Folgenden als *WEA Background Document* definiert (unter [www.ospar.org/documents?v=6903](http://www.ospar.org/documents?v=6903) verfügbar).

<sup>26</sup> Unter der Arbeitsgruppe des *OSPAR Hazardous Substances & Eutrophication Committee*: [www.ospar.org/work-areas/hasec](http://www.ospar.org/work-areas/hasec)

Der *Whole Effluent Assessment Report*<sup>27</sup> aus dem Jahr 2005 (OSPAR Commission, 2005) ordnet die WEA-Methode im Rahmen der Ziele der *OSPAR Hazardous Substances Strategy*<sup>28</sup> ein. Innerhalb einer Expertengruppe des *OSPAR Hazardous Substances Committee* wurde schliesslich die Anwendbarkeit der WEA-Methode und des WEA Reports reflektiert und in einem praktikablen Leitfaden konkretisiert: dem *Practical Guidance Document on Whole Effluent Assessment*.

Test Species	Receiving Environment		
	Freshwater	Estuarine or Coastal Water	Treatment Plant
<b>Bacteria</b>	<i>Vibrio fischeri</i>	<i>Vibrio fischeri</i>	<i>Vibrio fischeri</i> , Activated sludge (inhibition of respiration, nitrification) Anaerobic Sludge (inhibition of CH <sub>4</sub> & CO <sub>2</sub> production)
<b>Crustaceans</b>	<i>Daphnia magna</i> <i>Brachionus calyciflorus</i>	<i>Tigriopus brevicornis</i> <i>Tisbe battagliai</i> <i>Brachionus plicatilis</i> <i>Crangon crangon</i>	<i>Daphnia magna</i>
<b>Fish</b>	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	<i>Pleuronectes flesus</i> <i>Scophthalmus maximus</i>	
<b>Plants/Algae</b>	<i>Lemna minor</i> <i>Chlorella vulgaris</i> <i>Selenastrum capricornutum</i>	<i>Skeletonema costatum</i>	<i>Lemna minor</i> <i>Chlorella vulgaris</i> <i>Selenastrum capricornutum</i>

**Abbildung 3** Vorgeschlagene Testorganismen für die Untersuchung der Einflüsse auf das Gewässer oder die ARA (Abbildung aus dem WEA Background Document 2000).

<sup>27</sup> Im Folgenden als *WEA Report* definiert (unter [www.ospar.org/documents?v=7018](http://www.ospar.org/documents?v=7018) verfügbar).

<sup>28</sup> Anfang 2000 zielte die *Hazardous Substances Strategy* der *OSPAR Commission* auf eine kontinuierliche Reduktion der Stoffeinträge in Meeresregionen bis hin zu Konzentrationen im Normal- (für natürlich vorkommende Substanzen) resp. im Nullbereich (für anthropogen verursachte Substanzen) bis im Jahr 2020 (siehe auch WEA Report 2005).



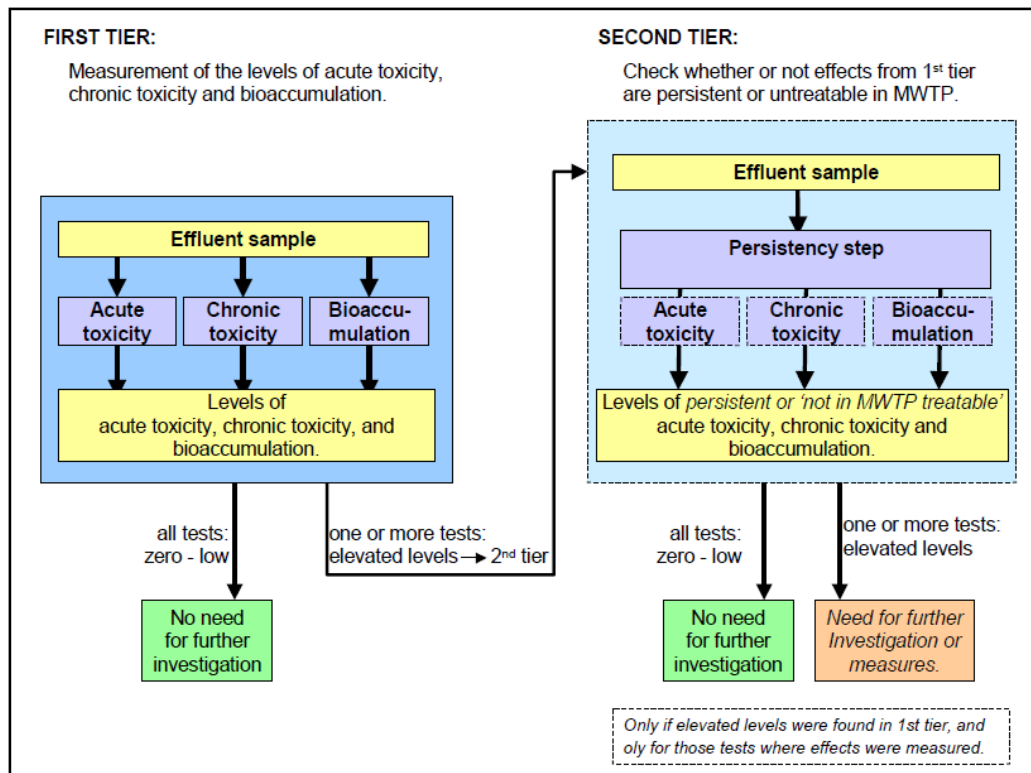
Das *Practical Guidance Document on Whole Effluent Assessment*<sup>29</sup> (OSPAR Commission, 2007) empfiehlt bei der Beurteilung von Abwasserproben unterschiedliche Parameter wie Persistenz, Bioakkumulation und akute bzw. chronische Toxizität zu berücksichtigen, die durch das vorgeschlagene Vorgehen nach WEA untersucht werden. Für die Abschätzung von Persistenz wird beispielsweise ein abgestuftes Verfahren vorgeschlagen (**Abbildung 4**).

Gemäss diesem Vorgehen wird die Probe nur dann auf Persistenz und allenfalls weitere Parameter untersucht (*Second Tier*), wenn nach der ersten Durchführung von unterschiedlichen Tests Hinweise für Toxizität bestehen (*First Tier* mit Tests zur Abschätzung der akuten oder chronischen Toxizität sowie der Bioakkumulation). Im *Second Tier* werden dann auch nur diejenigen Tests nochmals durchgeführt, die eine erhöhte Toxizität angezeigt haben. Dieses Vorgehen spart somit Zeit und Geld und reduziert die benötigte Anzahl Testorganismen im Sinne der 3R-Prinzipien<sup>30</sup>.

Bei einem Vergleich der Toxizität vor und nach dem biologischen Abbau (simuliert durch einen Abbautest) kann abgeschätzt werden, ob relevante Substanzen in der Probe nach der ARA bestehen bleiben und in die Gewässer gelangen. Eine Korrelation zwischen der DOC-Reduktion und der Abnahme der Toxizität wird grundsätzlich ausgeschlossen, weshalb mögliche persistente Rückstände in einer Probe nicht durch die Messung des DOC nach dem biologischen Abbau gemessen werden können.

<sup>29</sup> Im Folgenden als *WEA Guidance Document* definiert (unter [www.ospar.org/documents?v=7018](http://www.ospar.org/documents?v=7018) verfügbar).

<sup>30</sup> Die 3R-Prinzipien (*Replace – Reduce – Refine*) verlangen Tierversuche zu ersetzen, zu reduzieren oder zu verbessern. So dürfen nur Tierversuche bewilligt werden, wenn keine alternativen Methoden zur Beantwortung einer Fragestellung vorhanden sind sowie muss die Anzahl Versuchstiere auf ein Minimum reduziert werden (siehe auch [www.blv.admin.ch/blv/de/home/tiere/tierversuche/3r-prinzipien.html](http://www.blv.admin.ch/blv/de/home/tiere/tierversuche/3r-prinzipien.html)).



**Abbildung 4** Vorschlag für das abgestufte Vorgehen zur Abschätzung von persistenten Stoffeinträgen. Um persistente Substanzen oder Stoffrückstände auszumachen, wird ein zweistufiges Verfahren gemäss der WEA-Strategie vorgeschlagen. Dieses sieht vor, dass eine zweite Stufe (*Second Tier*) an Biotests nur für diejenigen Toxizitätstest vorgesehen ist, die in der ersten Stufe (*First Tier*) ein erhöhtes Toxizitätslevel aufzeigten. Das Vorhandensein von persistenten Substanzen wird schliesslich ersichtlich, wenn auch nach der biologischen Behandlung noch Toxizität (akut, chronisch oder bioakkumulierend) ausgemacht werden kann (*Persistency Step*) (Abbildung aus WEA Practical Guidance Document, 2007).

### 5.1.3 Anwendung von Whole Effluent Assessment / Whole Effluent Toxicity Testing

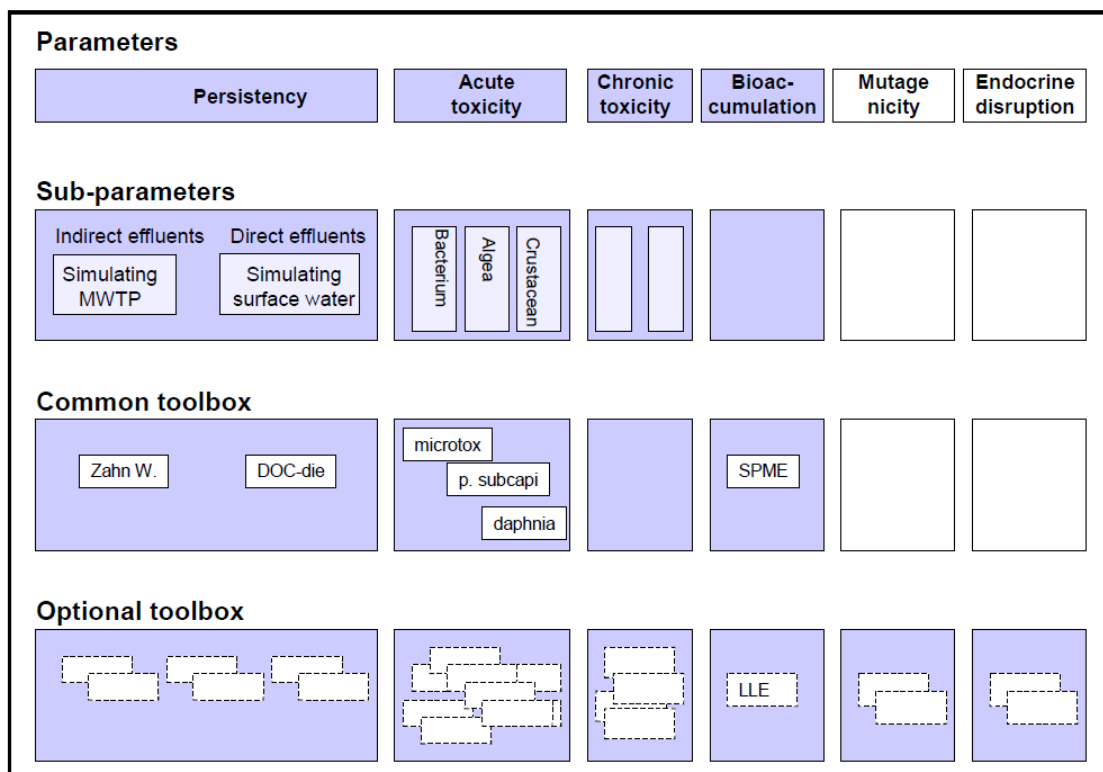
Die beiden Ansätze WET und WEA fliessen weltweit in die Beurteilung von Abwasserproben ein. In einigen Ländern ist der Einsatz von Biotests für die Überwachung einer funktionsfähigen Abwasserreinigung oder bei der Zulassung von Kläranlagen vorgeschrieben. So sind Biotests z.B. in Deutschland für die Einleitung von Abwässer aus direkteinleitenden Industriebetrieben vorgeschrieben (siehe 5.2) oder sie werden in Schweden und Dänemark in einem abgestuften Verfahren für die Zulassung von grösseren Industrieanlagen eingesetzt (Schultz et al., 2011). In den USA wird WET *Testing* für die Genehmigung von Abwasseranlagen eingesetzt (siehe 5.4).

Generell geben beide beschriebenen Methoden wichtige Hinweise zum möglichen Vorgehen für die Beurteilung von Gesamt-Abwasserproben. Unterschiede in den beiden Methoden sind in der Spezifität der vorgeschlagenen Biotests auszumachen: während WET *Testing* in den USA wenig spezifische Wirkungsweisen (z.B. Bioakkumulation oder Gentoxizität) in die Untersuchungen miteinbezieht, werden diese Endpunkte in europäischen Ländern innerhalb der OSPAR ebenfalls berücksichtigt (Power and Boumphrey, 2004).

Das *WEA Guidance Document* (OSPAR Commission, 2007) schlägt z.B. eine *Toolbox* vor, die bei Untersuchungen von Abwasserproben als Grundlage dient, um die nach WEA definierten relevanten Parameter zu bestimmen (siehe **Abbildung 5**). Die *Toolbox* nach WEA in **Abbildung 5** besteht aus einer *Common Toolbox*, die bewährte, breit anerkannte und v.a. robuste Testmethoden für die Abschätzung der unterschiedlichen Parameter (z.B. Persistenz oder akute Toxizität) enthält und einer *Optional Toolbox*, welche für spezifische oder künftig relevante Fragestellungen adaptiert werden kann. In der *Common Toolbox* werden so beispielsweise der Zahn-Wellens-Test für die Simulation des biologischen Abbaus einer ARA bzw. für die Abschätzung der Persistenz vorgeschlagen und die bewährten Systeme für die Beurteilung der akuten Toxizität von Abwasserproben bestehend aus Daphnien-, Algen- und Leuchtbakterientest definiert (OSPAR Commission, 2007). Parameter wie Mutagenität oder endokrine Disruption galten zur Zeit der Entwicklung von WEA noch nicht als Standard, weshalb diese in der *Common Toolbox* nicht weiter ausgeführt wurden. Für heutige Studien empfiehlt es sich jedoch, einen Einsatz von Biotests zu prüfen, die diese Fragestellungen abdecken.

Die vorgeschlagene *Toolbox* in **Abbildung 5** gibt ein beispielhaftes Vorgehen für einen möglichen Versuchsaufbau gemäss WEA vor. Die explizite Umsetzung der einzelnen Testmethoden

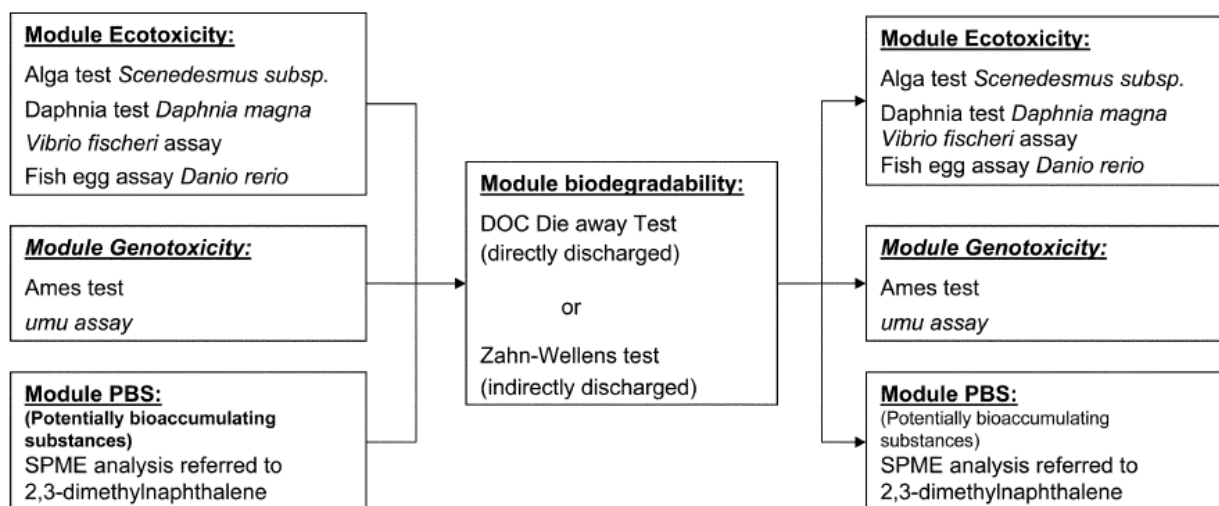
in der Praxis basiert schliesslich auf den Testanleitungen nach OECD bzw. den ISO-Normen, in welchen die explizite Testdurchführung detailliert beschrieben wird. Der Aufbau der *Toolbox* gibt eine vereinfachte Anleitung für ein Vorgehen vor, welches je nach Fragestellung adaptiert oder erweitert werden kann.



**Abbildung 5** Vorschlag für eine *Common* bzw. eine *Optional Toolbox* zur Bestimmung der Toxizität in Gesamt-Abwasserproben nach WEA. Die *Common Toolbox* zeigt ein mögliches Vorgehen für eine Untersuchung von Abwässern auf, welche bewährte und anerkannte Testmethoden enthält, um die nach WEA definierten Parameter zu bestimmen. Die *Optional Toolbox* ermöglicht eine flexible Adaptierung oder Erweiterung dieser Testmethoden für spezifische und/oder aktuelle Fragestellungen (Abbildung aus dem WEA Guidance Document; OSPAR Commission, 2007).

Innerhalb der Studie von Gartiser et al. aus dem Jahr 2009 wurde die Anwendung der in Deutschland standardisierten Testmethoden und die praktische Anwendung des WEA-Testkonzepts untersucht. Dabei wurde für unterschiedliche Industriesektoren in Deutschland (darunter direkt- und indirekt einleitende Betriebe aus Textil-, Automobil-, Pharma-, Chemie- und Papierbranche) ein WEA durchgeführt, um das toxische Potential der anfallenden Industrieabwässer abzuschätzen und anschliessend miteinander zu vergleichen. Die Ergebnisse der Studie zeigten gemäss deutschen Anforderungen nur geringe ökotoxische Effekte der unbehandelten Abwässer auf (maximale G-Werte  $G_{Ei} = 6$ ,  $G_A = 8$  und  $G_L = 24$ , für Ausführungen zu G-Werten

siehe 5.2.1), wobei die Toxizität nach der biologischen Behandlung generell sehr tief eingeschätzt wurde. Nur in einem Fall konnte der vorgegebene  $G_{EI}$ -Wert (siehe 5.2) nicht eingehalten werden (Spezialitäten-Chemiebetrieb), sowie wurde eine Mutagenität im Ames-Test vor und nach dem Abbautest detektiert. Zwei einzelne Proben zeigten zudem eine schwache, aber vernachlässigbare Zunahme der Toxizität nach dem Abbautest an (Pharma/Chemie- und Papierherstellung). Allgemein konnte der Zahn-Wellens-Test als geeignetes Instrument für die Simulation der biologischen Behandlung der Abwässer innerhalb der Studie ausgemacht werden. Zudem wurde festgestellt, dass sich die Kombination von Abbautest und Biotest gemäss WEA auch für die Beurteilung von indirekteinleitenden Betrieben eignet, die bisher in der deutschen Abwasserverordnung nicht berücksichtigt werden. In **Abbildung 6** ist das angewandte Testkonzept der Studie ersichtlich (Gartiser et al., 2009).



**Abbildung 6** Beispiel für ein Testkonzept innerhalb einer WEA-Studie, wie dieses für eine Untersuchung unterschiedlicher industrieller Branchen in Deutschland durchgeführt wurde (Gartiser et al., 2009)

Innerhalb einer früheren Studie im Jahr 1999 von Tonkes et al. konnte aufgezeigt werden, dass Untersuchungen von industriellen Einleitungen mittels Biotests bei einem Grossteil der eingeleiteten unbehandelten Abwässer (bei 15 von 17 Abwässer aus sechs Industriebranchen, v.a. aus der chemischen Industrie) eine akute Toxizität bei mindestens einem Testorganismus anzeigten, wobei diese Toxizität bei rund der Hälfte der Abwasserproben nicht durch chemische oder physikalische Parameter hervorgesagt werden konnten. Tonkes et al. zogen daraus den Schluss, dass Biotests für die Untersuchung von komplexen Industrieabwässern zusätzlich wichtige Informationen liefern, um akute toxische Effekte im Abwasser auszumachen, welche insbesondere bei komplexen Industrieeinleitern, nicht abschliessend durch chemische Analysen erfasst werden können (Tonkes et al., 1999).

Im Rahmen des *Baltic Sea Project* – ein gemeinsames EU-Projekt der baltischen Länder Dänemark, Estland, Finnland, Deutschland, Lettland, Litauen, Polen, Russland und Schweden zum Schutz des baltischen Meers – wurde von 2009 bis 2012 COHIBA (*Project on Control of Hazardous substances In the Baltic Sea region*) ins Leben gerufen. Dieses Projekt zielte darauf ab, gemeinsame Methoden und neue Instrumente zu entwickeln, um das baltische Meer nachhaltig von gefährlichen Substanzen zu schützen. Zur Bewertung der Toxizität von Abwässern und zur Identifizierung von Umweltrisiken für das Meer wurde der WEA-Ansatz und dazu geeignete Testmethoden<sup>31</sup> vorgeschlagen. Der Bericht *Whole Effluent Assessment (WEA) – Proposed Recommendations for the Use of Toxicity Limits* entstand innerhalb von COHIBA und gibt Anwendungsempfehlungen und Limitierungen für die Umsetzung von WEA in den am Projekt beteiligten Ländern (Schultz et al., 2011).

Biologische Testsysteme für die Beurteilung der Ökotoxizität werden bereits in einigen Ländern routinemässig für die Beurteilung von Industrieabwasser eingesetzt. In wenigen Ländern sind Biotests gesetzlich vorgeschrieben. In den folgenden Kapiteln sind das Vorgehen und die Anforderungen einzelner Länder detailliert beschrieben. Die Erfahrungen aus den Ländern stammen aus Gesprächen mit Behördenverantwortlichen oder aus Literatur- und Internetrecherchen.

<sup>31</sup> Zu den vorgeschlagenen Testmethoden gehören z.B. der akute Daphnientest, der Leuchtbakterientest, der Algentest, der Fischebryotest, der Fischzellinientest, der Umu-Test, der Ames-Test und der YES/YAS-Test und weitere spezifischere Testsysteme (Schultz et al. (2011)).

## 5.2 Anwendung in Deutschland

### 5.2.1 Umsetzung

Deutschland weist jahrelange Erfahrungen in der Anwendung von Biotests für die Beurteilung von industriellen Abwässern auf. Für die Einleitung von industriellem und gewerblichem Abwasser bestehen in der deutschen Bundesgesetzgebung drei unterschiedliche Grundlagen:

- Das Wasserhaushaltsgesetz WHG (Gesetz zur Ordnung des Wasserhaushalts) hat als Kern des Gewässerschutzrechts zum Zweck, die Gewässer als Bestandteil des Naturhaushalts, als Lebensgrundlage des Menschen, als Lebensraum für Tiere und Pflanzen sowie als nutzbares Gut durch eine nachhaltige Gewässerbewirtschaftung zu schützen (WHG §1).
- Das Abwasserabgabengesetz AbwAG (Gesetz über Abgaben für das Einleiten von Abwasser in Gewässer) regelt die Vorgaben und die Umsetzung über die Pflicht, Abgaben für das Einleiten von Abwasser in ein Gewässer zu entrichten.
- Die Abwasserverordnung AbwV (Verordnung über Anforderungen an das Einleiten von Abwasser in Gewässer) enthält Mindestanforderungen für die Einleitung von Abwasser in die Gewässer.

Die deutsche Abwasserverordnung (AbwV) verlangt bereits seit 1997 eine Überprüfung der Betriebsabwässer mittels Biotests für direkteinleitende Industriebetriebe. Für die unterschiedlichen Branchen werden gemäss den verschiedenen Anhängen in der AbwV die Durchführung spezifischer Biotests und die Einhaltung definierter G-Werte verlangt (**Tabelle 12**).

In Deutschland hat sich bei der Untersuchung von Industrieabwasser eine Angabe der Toxizität in Verdünnungsstufen – sogenannte G-Werte – etabliert. Die G-Werte ergeben sich aus der niedrigsten Verdünnungsstufe, bei der kein toxischer Effekt auf die untersuchten Organismen beobachtet wird. Hohe G-Werte bedeuten eine hohe Toxizität und niedrige G-Werte eine tiefe Toxizität des untersuchten Abwassers. Die G-Werte sind hergeleitete Werte, die analog zu den *Toxic Units*<sup>32</sup> (siehe auch 7.2) als ökotoxikologische Grenzwerte genutzt werden. Der G-Wert entspricht der kleinsten Verdünnung der Probe, bei der keine messbaren Effekte auftreten dürfen, die die testspezifischen Schwankungen überschreiten. Die testspezifischen Schwankungen

<sup>32</sup> Die *Toxic Unit* wird wie folgt berechnet  $TU = 100/EC_{50}$

sind je Testorganismus in den unterschiedlichen ISO-Guidelines<sup>33</sup> definiert und entsprechen dem EC<sub>10</sub> für den Fischeitest, den Daphnientest und den Algentest sowie dem EC<sub>20</sub> für den Leuchtbakterientest.

Wenn der G-Wert als 2 definiert wird, handelt es sich um eine 1:2 Verdünnung der Probe, bei einem G-Wert 4 um eine 1:4 Verdünnung (= 25% Abwasser und 75% Verdünnung) usw. Ein geforderter G-Wert von 2 bedeutet, dass bei einer Verdünnung der Abwasserprobe von 50% keine messbaren Effekte auftreten dürfen (siehe oben). Die Anforderungen an die Durchführung der Tests sind in den zugehörigen ISO Guidelines<sup>34</sup> geregelt. Eine Übersicht der G-Werte und die jeweiligen Verdünnungsstufen der Abwasserproben sind in **Tabelle 11** ersichtlich.

**Tabelle 11** Übersicht der G-Werte aus der deutschen Abwasserverordnung und deren Verdünnungsstufen.

G-WERT	1	2	3	4	6	6	8
ANTEIL ABWASSER %	100	50	33.3	25	16.67	3.125	12.5

Für die unterschiedlichen Testorganismen, die in den ökotoxikologischen Tests repräsentativ für die Gewässerlebensgemeinschaft eingesetzt werden, wurden in der Abwasserverordnung unterschiedliche G-Werte definiert (siehe **Tabelle 12**). Die einzuhaltenden G-Werte unterscheiden sich auch abhängig von der Branche. Diese einzelnen Vorgaben für die spezifischen Branchen sind in den jeweiligen Anhängen der Abwasserverordnung geregelt. In den jeweiligen Anhängen ist somit für jede Branche vorgegeben, welche Biotests durchgeführt und welche G-Werte eingehalten werden müssen. **Tabelle 12** gibt eine Übersicht dazu.

Die G-Werte in der Abwasserverordnung werden als Grenzwerte für die Direkteinleitung der Abwässer aus den Betrieben unterschiedlicher Branchen genutzt. Massgebender Grenzwert ist dabei für die meisten Branchen der G<sub>Ei</sub>-Wert aus dem Fischeitest (siehe **Tabelle 12**). Wenn der G<sub>Ei</sub> wiederholt nicht eingehalten wird, hat dies Einfluss auf die Höhe der Abwasserabgaben für diese Betriebe. D.h. je toxischer die Betriebsabwässer sind, desto höher fallen die Kosten für die Betriebe aus. Diese Anforderung erhöht somit den Druck auf die Betriebe, funktionierende Produktions- und Abwasserreinigungsprozesse zu begünstigen.

<sup>33</sup> Fischeitest nach ISO 15088, Daphnientest nach ISO 38412-30, Algentest nach ISO 38412-33, Leuchtbakterientest nach ISO 11348-1 bzw. -2, Wasserlinsentest nach ISO 20079 und umu-Test nach ISO 38415-3

<sup>34</sup> Fischeitest nach ISO 15088, Daphnientest nach ISO 38412-30, Algentest nach ISO 38412-33, Leuchtbakterientest nach ISO 11348-1 bzw. -2, Wasserlinsentest nach ISO 20079 und umu-Test nach ISO 38415-3



Für den Vollzug der gesetzlichen Anforderungen sind in Deutschland die Bundesländer verantwortlich. Die regelmässige Überwachung der Abwässer erfolgt eigens durch die Betriebe (Selbstüberwachung gemäss Selbstüberwachungsverordnung Abwasser SÜwVO Abw) und wird von den Umweltämtern der Bundesländer stichprobenartig überprüft. Innerhalb der Selbstüberwachung nehmen die Betriebe die Proben in einem definierten Zeitraum (je nach Betriebsgrösse und Branche zwischen einmal bis zweimal monatlich) und führen anschliessend die Untersuchung der Proben intern (selten) oder durch ein Auftragslabor (in den meisten Fällen) durch. Die Betriebe sind anschliessend verpflichtet, die Ergebnisse an die Bundesländer zu übermitteln.

Die Überprüfung der Selbstüberwachung erfolgt schliesslich durch die Bundesländer. Die Umweltämter verfügen meist über eigene Laborinfrastrukturen, um die erforderlichen Tests durchzuführen. Es wird eine stichprobenartige Überprüfung der Ergebnisse und der Beprobung durch die Umweltämter der Bundesländer umgesetzt. Die Umweltlabore der Bundesländer führen somit regelmässig ebenfalls Biotests mit den Abwasserproben aus den Betrieben durch. Abweichungen zwischen Biotestergebnissen der Unternehmen und der Ämter müssen bilateral geklärt werden. Überschreitungen der vorgegebenen G-Werte haben unterschiedliche Auswirkungen zur Folge. Bei wiederholten Abweichungen im  $G_{Ei}$ -Wert, hat dies Auswirkung auf die Höhe der Abwasserabgaben für die Betriebe. Dabei darf nur ein einzelner  $G_{Ei}$ -Wert aus insgesamt fünf erhobenen Werten die Vorgaben überschreiten (meist  $G_{Ei} = 2$ ) resp. müssen 4 aus 5 erhobenen  $G_{Ei}$ -Werten eingehalten werden<sup>35</sup>. Bei wiederholten Überschreitungen innerhalb dieser definierten Anzahl hat dies eine Erhöhung der Abwasserabgabe zur Folge (gemäss Gesetz über Abgaben für das Einleiten von Abwasser in Gewässer, Abwasserabgabengesetz AbwAG<sup>36</sup>). Die erhobenen G-Werte aus den Daphnien-, Algen-, Leuchtbakterien- und Umu(C)-Tests haben bei Überschreitungen keine finanziellen Auswirkungen, sondern es greift lediglich das Ordnungsrecht aufgrund der Verletzung der Einleitungsbedingungen. In diesem Fall finden Gesprä-

<sup>35</sup> § 6 Abs. 1 AbwV (Einhaltung der Anforderungen): «Ist ein nach dieser Verordnung einzuhaltender oder in der wasserrechtlichen Zulassung festgesetzter Wert nach dem Ergebnis einer Überprüfung im Rahmen der staatlichen Überwachung nicht eingehalten, gilt er dennoch als eingehalten, wenn die Ergebnisse dieser und der vier vorausgegangenen staatlichen Überprüfungen in vier Fällen den jeweils maßgebenden Wert nicht überschreiten und kein Ergebnis den Wert um mehr als 100 Prozent übersteigt. (...)»

<sup>36</sup> § 3 Abs. 1 AbwAG (Bewertungsgrundlage): «Die Abwasserabgabe richtet sich nach der Schädlichkeit des Abwassers, die unter Zugrundelegung der oxidierbaren Stoffe, des Phosphors, des Stickstoffs, der organischen Halogenverbindungen, der Metalle Quecksilber, Cadmium, Chrom, Nickel, Blei, Kupfer und ihrer Verbindungen sowie der Giftigkeit des Abwassers gegenüber Fischeiern nach der Anlage zu diesem Gesetz in Schadeinheiten bestimmt wird.(...)»

che zwischen der Aufsichtsbehörde und dem Betrieb statt, um die Ursache für die Überschreitung zu suchen und Massnahmen zu definieren. In Nordrhein-Westfalen<sup>37</sup> (NRW) wird beispielsweise die Bezirksregierung vom Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz (LANUV) über die Verletzung der Einleitbedingungen informiert. Je nach Grösse und Struktur in den Bundesländern sind die Verantwortlichkeiten unterschiedlich geregelt.

**Tabelle 12** Mindestanforderungen an die gemessene Toxizität in Verdünnungsreihen von Abwasserproben ausgewählter Branchen gemäss Abwasserverordnung in Deutschland. Für die Bestimmung der Höhe der Abwasserabgaben hat der einzig der  $G_{EI}$ -Wert aus dem Fischeitest Konsequenzen. Für die Metallbearbeitung bzw. -verarbeitungsbranche sind unterschiedliche  $G_{EI}$ -Werte für verschiedene Prozesse vorgeschrieben (adaptierte Tabelle von Brigitte von Danwitz, LANUV NRW).

		Fischeitest	Daphnien-test	Leuchtbakterientest	Algentest	Umu(C)-Test
ANHANG ZUR ABW	BRANCHE / HERKUNFTSBE-REICH	$G_{EI}$	$G_D$	$G_L$	$G_A$	$G_U$
13	Holzfaserplatten	2				
19	Zellstofferzeugung	2				
22	Chemische Industrie (Anforderungen für vorhandene Einleitungen)	2	8	32	16	1.5
23	Anlagen zur biologischen Behandlung von Abfällen (Anforderungen an das Abwasser vor Vermischung)	2	4	4		
24	Eisen-, Stahl und Tempergiesserei	2				
27	Behandlung von Abfällen durch chemische und physikalische Verfahren (CP-Anlagen) sowie Altölarbeitung	2	4	4		
31	Kühlwasser			12		
32	Verarbeitung von Kautschuk und Latizes, Herstellung und Verarbeitung von Gummi	2		12		
40	Metallbearbeitung, Metallverarbeitung	2;4;6				

<sup>37</sup> Für mehr Informationen zu Abwassereinleitungen industrieller Herkunft in NRW siehe auch [www.lanuv.nrw.de/fileadmin/lanuv/wasser/abwasser/lagebericht/pdf/2018/ESTAb2018\\_Kapitel8\\_IndustriellesAbwasser.pdf](http://www.lanuv.nrw.de/fileadmin/lanuv/wasser/abwasser/lagebericht/pdf/2018/ESTAb2018_Kapitel8_IndustriellesAbwasser.pdf)

Neben den obgenannten Biotests, die in den unterschiedlichen Anhängen der AbwV gefordert werden, wurde zeitweise die Aufnahme des Wasserlinsen-Wachstumshemmtests für die Papierindustrie (Anhang 28 AbwV «Herstellung von Papier und Pappe») diskutiert, da es aufgrund erhobener Wirktestdaten für spezifische Branchen Hinweise für eine erhöhte Toxizität auf Wasserlinsen aufgrund von Papierindustriewässern gab. Innerhalb des Berichts von Öller 2015 wurden diese Zusammenhänge jedoch widerlegt (Öller, 2015), weshalb die Aufnahme des Wasserlinsentests in die Abwasserverordnung im Jahr 2018 schliesslich abgelehnt wurde.

In der deutschen Abwasserverordnung wird den Matrixeffekten (siehe 4.3.1) Rechnung in Form von Salzkorrekturwerten getragen. Der Gehalt von Chlorid und Sulfat muss dazu in jeder Probe bestimmt werden, um in der untersuchten Probe einen möglichen Toxizitätseffekt aufgrund eines erhöhten Salzgehalts auszuschliessen. Für beide Parameter wurde in der Abwasserverordnung ein maximaler Wert für die einzelnen Testorganismen bestimmt, der nicht überschritten werden soll. Weicht die Summe des Chlorid- und Sulfatgehalts von diesem Wert ab, wird ein errechneter Salzkorrekturfaktor eingesetzt, was folglich höhere G-Werte erlaubt<sup>38</sup>. Das Rechnungsbeispiel in **Tabelle 13** zeigt auf, wie eine gemessene Überschreitung des  $G_{Ei}$ -Wert aufgrund der Salzkorrekturregelung hinfällig wird und als eingehalten gilt.

**Tabelle 13** Fiktives Rechnungsbeispiel für die Anwendung der Salzkorrekturregelung gemäss § 6 AbwV: der  $G_{Ei}$ -Wert ( $G_{Ei}$  gemessen = 6) für ein chemisches Betriebsabwasser (X1) wird aufgrund des Salzgehalts (Summe Salzgehalt = 12000 mg/l) entsprechend um den errechneten Korrekturwert (Summe Salzgehalt / organismusspezifische Wirkschwelle für den Fischeitest = 3 g/l) adaptiert, weshalb der gemessene  $G_{Ei}$  Wert um den errechneten Korrekturwert korrigiert wird (Differenz zwischen  $G_{Ei}$  und Korrekturwert =  $G_{Ei}$  korrigiert = 2). Aufgrund der Salzkorrektur gilt deshalb der  $G_{Ei}$ -Wert als eingehalten.

Abwasser-probe	Gehalt Chlorid [mg/l]	Gehalt Sulfat [mg/l]	Summe Chlorid+Sulfat [mg/l]	Summe / 3000 mg (Korrekturwert)	$G_{Ei}$ gemessen	$G_{Ei}$ korrigiert (Differenz)
X1	10000	2000	12000	4	6	2

<sup>38</sup> §6 Abs. 4 AbwV (Einhaltung der Anforderungen): «(...) Die festgestellte Überschreitung (...) muss auf einem Gehalt an Sulfat und Chlorid beruhen, der über der Wirkschwelle liegt. Die organismusspezifische Wirkschwelle (...) beträgt beim Fischei 3 Gramm pro Liter, bei Daphnien 2 Gramm pro Liter, bei Algen 0,7 Gramm pro Liter und bei Leuchtbakterien 15 Gramm pro Liter. (...) Der Korrekturwert wird ermittelt aus der Summe der Konzentrationen von Chlorid und Sulfat im Abwasser, ausgedrückt in Gramm pro Liter, geteilt durch die jeweils organismusspezifische Wirkschwelle. Entspricht der ermittelte Korrekturwert nicht einer Verdünnungsstufe der im Bestimmungsverfahren festgesetzten Verdünnungsfolge, so ist die nächsthöhere Verdünnungsstufe als Korrekturwert zu verwenden.»

Die Biotests werden mit den betrieblich vorbehandelten Abwässern durchgeführt, d.h. es handelt sich nicht um biologisch gereinigte Abwässer oder Proben, die einen Abbautest durchlaufen haben. Gemäss Auskunft vom LANUV leiten heute viele Betriebe in NRW in eine kommunale ARA ein, da ansonsten bei rein industriellen Kläranlagen in der Biologie eine Kohlenstoffquelle fehlt. Dabei werden die Proben vor der Vermischung mit den kommunalen Abwässern gezogen und untersucht. Nach Rücksprache mit dem LANUV wäre ein Abbautest für die Behörde nicht praktikabel aufgrund der zeitlichen und platzbedingten Limitierungen.

### 5.2.2 Einordnung

- Unterschied zur Schweiz:

Im Gegensatz zu der Schweiz bestehen in Deutschland gesetzliche Vorgaben für die Durchführung von Biotests zur Untersuchung der Betriebsabwässer. Die Umsetzung dazu ist jedoch nicht trivial und wird in den Bundesländern teilweise unterschiedlich gehandhabt (z.B. Salzkorrekturfaktor, siehe weiter unten). Generell unterscheidet sich die Situation in der Schweiz grundlegend, da nur die wenigsten Schweizer Industriebetriebe direkt in die Gewässer einleiten resp. über eine eigene Betriebskläranlage verfügen. Die Verantwortung für die umweltgerechte Aufbereitung des Abwassers und die anschliessende Einleitung ins Gewässer liegt also vermehrt bei den kommunalen Kläranlagen, wobei die Betriebe ihrerseits dazu verpflichtet sind, keine problematischen Abwässer in die ARA einzuleiten und diese damit zu schädigen.

- G-Werte:

Grundsätzlich ist es auffällig, dass sich die für eine Einleitung erforderlichen G-Werte je nach Branche in Deutschland stark unterscheiden. Historisch wurden die G-Werte in Kooperation zwischen den deutschen Bundesländern und mit den einzelnen Industriebranchen festgelegt. Das heisst, die heute noch gültigen G-Werte in der Abwasserverordnung wurden im «Gleichgewicht der Umsetzbarkeit» gewählt. Sie spiegeln dementsprechend die Aufbereitungsmöglichkeiten nach Stand der Technik für die einzelnen Branchen aus dem Jahre 1997 wider und wurden seither nicht mehr angepasst. Die G-Werte sind demnach im Sinne der Industrie gewählt, da die Aufnahme von obligatorischen Biotests in die Abwasserverordnung ansonsten gescheitert wäre.

- Bedeutung des Fischeitests (=  $G_{EI}$ -Wert):

Der  $G_{EI}$ -Wert wird für die Abwässer aus beinahe allen Branchen gefordert und beträgt in den meisten Anhängen  $G_{EI}=2$ . Das bedeutet, dass Effekte auf Fische deutlich stärker gewichtet werden als Effekte auf unteren tropischen Ebenen bzw. die Gesamtheit an ökologischen Schutzziele. Eine Überschreitung des  $G_{EI}$ - Wertes hat zudem direkt eine Auswirkung auf die Abwasserabgabe und führt somit zu finanziellen Konsequenzen für die Betriebe<sup>39</sup>. Bei Überschreitungen der anderen Biotests wird zwar der Dialog zu den Betrieben gesucht, wenn eine Verletzung der Einleitbedingungen ausgemacht werden kann, diese haben aber keine Erhöhung der Abwasserabgaben zur Folge. Die Fokussierung auf den Fischeitest könnte aufgrund der geschichtlichen Entwicklung und öffentlichen Aufmerksamkeit getrieben sein, ist aber vom ökologischen Standpunkt ausgehend nicht begründbar.

- Salzkorrektur:

Die Umsetzung der Salzkorrekturregelung ist nicht trivial, da die Vorgaben in der AbwV nicht klar formuliert sind und in der Vergangenheit die Diskussion bestand, dass diese mit höher-rangigem Recht nicht vereinbar sei. Letzteres konnte jedoch widerlegt werden (Kotulla and Glückert, 2016). Generell führt der Einbezug des Salzkorrekturfaktors zu industriefreundlichen Werten, welche eine vorhandene Toxizität möglicherweise maskieren. Vertreter der Umweltämter berichteten, dass in manchen (aber durchaus nicht allen) Proben, deren Salzgehalt überschritten ist, dennoch keine Toxizität in den Biotests nachgewiesen werden kann. Das Vorgehen in Deutschland nimmt somit eine Maskierung von toxischen Effekten durch die vorhandenen abiotischen Faktoren in Kauf. Wiederholte Anpassungen und die komplexe Umschreibung der Regelung in der Abwasserverordnung führen zudem dazu, dass die Salzkorrektur nicht einheitlich in den Bundesländern umgesetzt wird<sup>40</sup>.

<sup>39</sup> Gemäss § 3 Abs. 1 AbwAG: «Die Abwasserabgabe richtet sich nach der Schädlichkeit des Abwassers, die unter Zugrundelegung der oxidierbaren Stoffe, des Phosphors, des Stickstoffs, der organischen Halogenverbindungen, der Metalle Quecksilber, Cadmium, Chrom, Nickel, Blei, Kupfer und ihrer Verbindungen sowie der Giftigkeit des Abwassers gegenüber Fischeiern nach der Anlage zu diesem Gesetz in Schadeinheiten bestimmt wird. (...)»

<sup>40</sup> Informationen aus diversen Quellen, siehe z.B. Kotulla und Glückert 2016 oder [www.ask-eu.de/Artikel/29023/Abwasserabgabe-und-sogenannte-Salzkorrektur.htm](http://www.ask-eu.de/Artikel/29023/Abwasserabgabe-und-sogenannte-Salzkorrektur.htm)

### 5.3 Gesetzliche Grundlagen zu Industrieabwasser in der Europäischen Union (EU)

Die BMG Engineering AG verfasste im Jahr 2015 einen weiterführenden Bericht über Mikroverunreinigungen aus Industrie und Gewerbe, der sich der Gesetzgebung und dem Vollzug in ausgewählten EU-Staaten widmet (Braun and Gälli, 2015). Im Folgenden sind die wichtigsten Erkenntnisse aus dem Bericht von Braun und Gälli zusammengefasst.

Grundlagen für den Schutz der Gewässer in der EU sind in der Wasserrahmenrichtlinie (WRRL) geregelt, die seit 2000 in Kraft ist. Darin legt die Europäische Union (EU) einen Rahmen für den Schutz und die Bewirtschaftung der Gewässer in den Mitgliedstaaten fest. Generelles «Ziel ist es, bis 2015 einen guten ökologischen und chemischen Zustand aller Gewässer in der Europäischen Union zu erreichen.»<sup>41</sup> (Braun and Gälli, 2015).

In der EU stützen sich die gesetzlichen Vorgaben für die Einleitung der Abwässer aus der Industrie auf die Industrieemissionsrichtlinie (Richtlinie 2010/75/EU), die 2011 in Kraft getreten ist. Die Industrieemissionsrichtlinie ersetzte die frühere IVU-Richtlinie (Richtlinie 2008/1/EG) und «dient der integrierten Vermeidung und Verminderung von Umweltverschmutzung aus industrieller Tätigkeit. Sie beinhaltet Vorschriften zur Genehmigung und behördlichen Überwachung von Anlagen, regelt die Berichtspflichten des Betreibers und die Berichtspflichten der Mitgliedsstaaten»<sup>42</sup>. Innerhalb der Industrieemissionsrichtlinie wurden die unterschiedlichen bestehenden Richtlinien mit Vorgaben für Emissionen aus der Industrie in die Umwelt zusammengefasst (Braun and Gälli, 2015).

Teil der Industrieemissionsrichtlinie sind auch die «Besten Verfügbaren Techniken» (BVT). Es wird dabei zwischen BVT-Merkblättern (auch BREFs genannt) und BVT-Schlussfolgerungen unterschieden. Die BVT-Merkblätter enthalten detaillierte Verfahrensbeschreibungen für Anlagen und Prozesse aus industrieller und gewerblicher Tätigkeit, eine Auflistung über die damit auftretenden Emissionen und mögliche Massnahmen, um möglicherweise auftretende Emissionen zu mindern. Die BVT-Merkblätter waren bereits Teil der früheren IVU-Richtlinie und wurden bei in Kraft treten der Industrieemissionsrichtlinie überarbeitet und mit BVT-Schlussfolgerungen versehen. Die BVT-Schlussfolgerungen enthalten schliesslich die verbindlichen «Besten Verfügbaren Techniken» und schlagen konkrete Emissionsgrenzwerte vor, welche bei der Erteilung

<sup>41</sup> Zitat aus Bericht von Braun und Gälli 2015

<sup>42</sup> Zitat aus Bericht von Braun und Gälli 2015

von Genehmigungen eingehalten werden müssen. Die Anforderungen aus den BVT-Schlussfolgerungen sind in die nationalen Gesetzgebungen der Mitgliedsstaaten aufzunehmen (Braun and Gälli, 2015).

Bei den BVT-Schlussfolgerungen handelt es sich also nicht mehr nur um Empfehlungen, wie diese früher in den BVT-Merkblättern zu berücksichtigen waren, sondern um Anforderungen, die durch die Mitgliedstaaten der EU eingehalten werden müssen. Die BVT-Schlussfolgerungen werden dann innerhalb des sogenannten «Sevilla-Prozess» offiziell beschlossen und durch die Europäische Kommission publiziert. Der Sevilla-Prozess sorgt also auf EU-Ebene dafür, dass einheitliche Umweltstandards erarbeitet werden und faire Wettbewerbsbedingungen innerhalb der EU gelten (Braun and Gälli, 2015).

In Rahmen des Sevilla-Prozesses wurde seitens Umweltbundesamt Deutschland versucht, den Einsatz von Biotests für die Beurteilung von industriellen und gewerblichen Abwässern aus unterschiedlichen Branchen ebenfalls auf EU-Ebene in den BVT-Merkblättern zu verankern. Dieses Vorhaben scheiterte jedoch vorerst im Jahr 2016<sup>43</sup> (Braun and Gälli, 2015).

#### **5.4 Anwendung in den USA**

In den USA wird *WET Testing* gemäss US EPA<sup>44</sup> für die Beurteilung der Wasserqualität, die Entwicklung von Einleitungsgrenzwerten und die Überprüfung der Einhaltung von Vorschriften verwendet. Die Anwendung von WET Tests ist innerhalb des *Clean Water Act* (siehe 5.1.1) eine regulatorische Anforderung für die Erteilung von Genehmigungen (Grothe et al., 1996). Speziell ist die Beurteilung von Abwässern durch biologische Methoden im Rahmen der Zulassungsprüfung für kommunale und industrielle Abwasseranlagen gemäss NPDES (siehe 5.1.1) erforderlich (Kienle et al., 2015a).

Einleitungsgenehmigungen beinhalten oft WET-Tests zur Überwachung der Einleitungsbedingungen und werden von den zuständigen Behörden der Bundesstaaten erteilt. Die Ergebnisse aus den Tests werden mit den für die Toxizität festgelegten Wasserqualitätskriterien verglichen.

<sup>43</sup>Biotests (Fischei-, Daphnien-, Leuchtbakterien- Wasserlinsen-, Algentest) werden zwar im Anhang der BVT-Schlussfolgerungen in der Chemiebranche als Überwachungsmethode vorgeschlagen, sind aber optional «nach einer ersten Charakterisierung auf Basis einer Risikobewertung» einzusetzen; siehe [https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/2503/dokumente/cww\\_schlussfolgerungen\\_deutsch\\_9\\_6\\_16.pdf](https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/2503/dokumente/cww_schlussfolgerungen_deutsch_9_6_16.pdf)

<sup>44</sup> siehe Website [www.epa.gov/npdes/permit-limits-whole-effluent-toxicity-wet](http://www.epa.gov/npdes/permit-limits-whole-effluent-toxicity-wet)

Wenn über einen längeren Zeitraum eine Toxizität aus derselben Quelle beobachtet wird, ist ein *Toxicity Identification Evaluation* (TIE, siehe 5.1.1) erforderlich, um die Toxizität verursachenden Komponenten zu identifizieren (SETAC, 2004). Eine Ursachensuche durch Anwendung des TIE-Ansatzes ist in einzelnen Bundesstaaten vorgeschrieben, wenn die vorgegebene Toxizitätswerte in den Biotests nicht eingehalten werden (Power and Boumphrey, 2004). Durch Einsatz einer *Toxicity Reduction Evaluation* (TRE) können schliesslich effektive Massnahmen entwickelt und implementiert werden, damit die Einleitungsbedingungen wieder eingehalten werden (SETAC, 2004).

Die erhobenen WET-Testdaten werden schliesslich innerhalb des NPDES Programms (siehe 5.1.1) genutzt, um die Genehmigungsprozesse zu optimieren oder um neue Grenzwerte zu bestimmen (Power and Boumphrey, 2004).

Power und Boumphrey brachten in ihrer Übersichtstudie zu den internationalen Trends in der Anwendung von Biotests für das Abwassermanagement aus dem Jahr 2004 in Erfahrung, dass in den USA ein kombinierter Ansatz bestehend aus emissions- und immissionsbasierten Standards<sup>45</sup> gesetzlich vorgeschrieben ist, aber die meisten Industrie-einleitungen zumindest früher lediglich auf Vorgaben basierten, was die Industriebranchen als Stand der Technik erwartungsgemäss erreichen konnten. Erst durch die Implementierung von WET *Testing* in das NPDES-Programm (siehe 5.1.1) wurde sichergestellt, dass eine Biotest-Überwachung in den Genehmigungen vorgeschrieben wird (Power and Boumphrey, 2004). Die US EPA empfiehlt den Behörden der Bundesstaaten die Integration von WET-Tests, von chemikalienspezifischen Wasserqualitätskriterien und einer biologischen Gewässerüberwachung in die Einleitungsgenehmigungen (Burgos and Ellwood, 1999).

Von 23 befragten Regierungsbehörden im Jahr 1999, integrierten 22 WET-Tests und chemikalienspezifische Wasserqualitätskriterien in ihren Genehmigungen. Zusätzlich wurden von 7 der 23 Behörden ein Gewässermonitoring mit biologischen Testmethoden (*effects-based standards*) vorgeschrieben. Biologische Monitoringmethoden würden dabei oft als Kontrolle dafür verwendet, dass die Abflussvorschriften wirksam sind (Burgos and Ellwood, 1999)

<sup>45</sup> Der emissionsbasierte Ansatz stützt sich nach Whitehouse (2001) auf die «beste verfügbare Technik» eines Industriesektors. Dieser setzt meist bei Einleitungsgrenzwerten o.ä. an und berücksichtigt die direkten Auswirkungen in der Umwelt nicht, während der immissionsbasierte Ansatz z.B. mittels Environmental Quality Standards (EQS) prüft, ob die möglichen Auswirkungen, die auf die Umwelt zu erwarten sind, akzeptabel sind (Whitehouse (2001).



Eine Auflistung der für die Durchführung eines *WET Testing* zugelassenen Biotests ist auf der Website<sup>46</sup> des US EPA publiziert (siehe auch 5.1.1). Die Bundesbehörden schreiben schliesslich die Durchführung der einzelnen Biotests von Fall zu Fall vor. Damit die empfindlichsten Spezies identifiziert werden können, wird gemäss US EPA die Durchführung von Tests mit jeweils einem Wirbellosen, einem Wirbeltier und einer Pflanze vorgeschlagen. In den USA werden auch Testmethoden zur Abschätzung von chronischen Effekten hoch gewichtet (Grothe et al., 1996).

Die US EPA stellt auf ihrer Website unterschiedliche Dokumente zur Verfügung mit Hinweisen für die Auswahl geeigneter Testsysteme, zur Auswertung der Resultate, zur Durchführung von TIE und für die Hälterung der Testorganismen<sup>47</sup>. Die *Society of Environmental Toxicology and Chemistry* (SETAC) führt dazu regelmässig Workshops und Weiterbildungen (z.B. Labortrainings) durch.

Vertiefte Informationen zu der praktischen Umsetzung von *WET Testing* in den USA wurden nicht in Erfahrung gebracht.

## **5.5 Anwendung in Kanada**

In Kanada wird *WET Testing* standardmässig eingesetzt, um die Überwachung von einleitenden Industriebetrieben zu gewährleisten. Bei der Recherche im Zuge des vorliegenden Projekts wurden Informationen der Umweltbehörde von Kanada (Environment Canada) und im Speziellen von der Provinz Ontario eingeholt.

Die in Kanada zugelassenen biologischen Testmethoden für Süss- und Salzwasser sind auf der Website<sup>48</sup> von *Environment and Climate Change Canada* (ECCC) aufgeführt. Die Methodenempfehlungen wurden jedoch in den insgesamt 13 Provinzen bzw. Territorien unterschiedlich in die gesetzlichen Vorschriften aufgenommen. Auch die Erfassung der erhobenen Biotestdaten wird je nach Provinz unterschiedlich gehandhabt. So werden die Ergebnisse aus den Biotests zum einen direkt von den Unternehmen in bestehende Datenbanken eingegeben oder die Daten werden den für die jeweilige Branche zuständigen Umweltverantwortlichen zur Verfügung

<sup>46</sup> Auflistung unter [www.epa.gov/cwa-methods/whole-effluent-toxicity-methods](http://www.epa.gov/cwa-methods/whole-effluent-toxicity-methods)

<sup>47</sup> siehe [www.epa.gov/cwa-methods/whole-effluent-toxicity-methods](http://www.epa.gov/cwa-methods/whole-effluent-toxicity-methods)

<sup>48</sup> [www.canada.ca/en/environment-climate-change/services/wildlife-research-landscape-science/biological-test-method-publications.html](http://www.canada.ca/en/environment-climate-change/services/wildlife-research-landscape-science/biological-test-method-publications.html)

gestellt. Zusätzlich werden auch physikalisch-chemische Parameter erfasst, die gemäss gesetzlich festgelegten Einleitgrenzwerten zu überwachen und einzuhalten sind.

Die kanadaweit geltenden Methoden für die Durchführung eines WET *Testings* enthalten durchgehend Anweisungen, die zwingend («*must*») einzuhalten sind oder empfohlen («*should*») werden, um aussagekräftige Testergebnisse zu generieren. Das betrifft beispielsweise Anweisungen zur Temperatur beim Transport der Proben oder bei der Testdurchführung. Die *must*- und *should*-Anweisungen dienen im Allgemeinen dazu, Matrixeffekte zu reduzieren.

Die Provinzregierungen in Kanada verfügen über akkreditierte Laboratorien, welche die von den Betrieben an die Behörden gelieferten Ergebnisse periodisch überprüfen. Diese Laboratorien sind auch an der Methodenentwicklung und -verbesserung beteiligt, um sicherzustellen, dass die Standardmethoden technisch und wirtschaftlich durchführbar sind und über alle Details verfügen, die zur Gewährleistung qualitativ hochwertiger Daten und rechtlich vertretbarer Ergebnisse erforderlich sind.

### **5.5.1 Ontario**

In der Provinz Ontario<sup>49</sup> bestehen Vorschriften zum WET *Testing* seit 1990. Die Durchführung von Biotests in Ontario wird normalerweise von den Industriebetrieben im Auftrag an Dienstleistungs- und Beratungsunternehmen vergeben. Dabei werden vornehmlich die von den kanadischen Umweltbehörden vorgeschlagenen Testmethoden (siehe 5.5) für die Untersuchung eingesetzt. Zu diesen Testmethoden gehören der akute Fischtest mit der Regenbogenforelle, der Fischeitest mit der Dickkopfelritze sowie der akute und chronische Daphnientest (siehe auch 5.1.1). Obwohl die kanadische Bundesbehörde pflanzenbasierte Test oft als sehr empfindlich einordnet, wurden in Ontario bisher keine Pflanzentests in die Testbatterie zur Überwachung von Abwässern aufgenommen. Die explizit verwendeten Methoden hängen von dem zugehörigen Industriesektor oder vom jeweiligen Zulassungsverfahren ab.

<sup>49</sup> Der Ontario Water Resources Act ([www.ontario.ca/laws/statute/90o40#BK48](http://www.ontario.ca/laws/statute/90o40#BK48)) und der Ontario Environmental Protection Act ([www.ontario.ca/laws/statute/90e19](http://www.ontario.ca/laws/statute/90e19)) sowie der Federal Fisheries Act (<https://laws-lois.justice.gc.ca/eng/acts/f-14/Fullex.html>) enthalten alle Aussagen, die (auf unterschiedliche Weise) besagen, dass niemand eine "schädliche Substanz" deponieren oder die Deponierung einer "schädlichen Substanz" zulassen darf, die "beeinträchtigen" oder eine "nachteilige Wirkung" haben kann.

Bei allen in Ontario standardmässig eingesetzten Testmethoden handelt es sich um robuste und bewährte Systeme, die für unterschiedliche Branchen anwendbar sind. Branchenspezifische Vorgaben betreffen also nicht die gewählten Testmethoden, sondern haben beispielsweise Einfluss auf die Testdurchführung in Bezug auf den jeweiligen Stand der Technik, den es zu erreichen gibt oder wie die Testdurchführung überwacht werden muss.

Spezifische Vorgaben zur Anwendung von Biotests für die Überwachung von Abwassereinleitungen sind für neun bedeutende Industriesektoren in einzelnen Verordnungen<sup>50</sup> geregelt sowie gibt es Vorschriften für die Einleitungen aus Kläranlagen<sup>51</sup>. Für andere Industriesektoren kann die Anforderung an die Durchführung von Biotests aber auch in den Umweltzulassungen (*Environmental Compliance Approvals*, ECA) enthalten sein. Im Dezember 2018 gab die Regierung von Ontario bekannt, dass in Zukunft geplant sei, diese neun Verordnungen aufzuheben und die jeweiligen Anforderungen in die Betriebsgenehmigungen zur Einhaltung von Umweltauflagen (ECA) aufzunehmen.

Innerhalb der meisten Branchen ist ein neues Unternehmen verpflichtet, monatlich Proben für die Beurteilung der akuten Toxizität zu entnehmen, solange bis die Vorgaben (z.B. <50% Mortalität) über 12 Monate hintereinander eingehalten wurden. Nach Ablauf dieser Testphase, wird der Abstand der Probenahmen verringert (Standard sind vierteljährliche akute Tests und halbjährliche chronische Tests). Wenn ein Betrieb durchweg gute Testergebnisse erzielt, hat dies Einfluss auf die zeitlichen Abstände der Testdurchführungen. Umweltschutzmassnahmen werden demnach belohnt, wenn diese wirkungsvoll sind.

Wenn ein Biotest jedoch eine Toxizität anzeigt (i.e. wenn der  $LC_{50}$  beim Fischei- oder Daphnientest erreicht wird), besteht für die Unternehmen eine Meldungspflicht sowie müssen geeignete Massnahmen eingeleitet werden. In der Folge wird der Betrieb verwarnet und muss sich auf einen monatlichen Untersuchungsrythmus umstellen, bis die Toxizitätswerte für insgesamt 12 Monate in Folge wieder eingehalten wurden. Für die Ursachensuche kann der betroffene Betrieb ein Beratungsunternehmen beauftragen, auch werden die Massnahmen in Zusammenarbeit mit der umweltbeauftragten behördlichen Instanz umgesetzt. Sollte das Unternehmen nachweislich die Sorgfaltspflicht verletzt haben, sind auch Geldbussen oder Verzeigungen möglich.

<sup>50</sup> Darunter die chemische und mineralische Industrie sowie Metall- und Papierproduktion, siehe auch [www.ontario.ca/page/rules-treating-industrial-wastewater](http://www.ontario.ca/page/rules-treating-industrial-wastewater)

<sup>51</sup> [www.ontario.ca/laws/regulation/930435](http://www.ontario.ca/laws/regulation/930435)

Speziell in Ontario ist, dass die Behörden eine Untersuchung der unverdünnten und unveränderten Abwässer direkt von der industriellen Einleitungsstelle beproben und diese Probe auf die akute Letalität untersuchen. So wird sichergestellt, dass die Industriebetriebe gleich behandelt werden unabhängig des Vorfluters bzw. des Abwasserreinigungssystems, in welches sie einleiten. Im Vergleich dazu werde beispielsweise in den USA üblicherweise eine Testverdünnungsreihe anhand des jeweiligen Abflusses im Vorfluter berechnet und hergestellt. In Bezug auf subletale Effekte ist das Vorgehen in Ontario jedoch lückenhaft, da diese innerhalb dieser Untersuchung nicht berücksichtigt werden.

### **5.5.2 Hinweise für die praktische Umsetzung**

Aufgrund der langjährigen Erfahrung in Ontario mit der Anwendung von Biotestsystemen für die Untersuchung von industriellen Abwässern wurden folgende wichtige Hinweise für eine praktische Umsetzung formuliert:

- Die Tests sollen in einem Labor durchgeführt werden, welches über ein gut etabliertes Qualitätssystem verfügt (ISO/IEC 17025 für «Gute Laborpraxis GLP»). Dies ist entscheidend, um die Reproduzierbarkeit der Testergebnisse zu gewährleisten. Die Qualitätssicherung der Daten ist insbesondere bei der Generierung von Daten, die rechtlich vertretbar sein müssen, wichtig. Die meisten Laboratorien in Kanada sind für Abwasserbiotests akkreditiert und können online eingesehen werden<sup>52</sup>.
- Eine zentralisierte Datenbank für die Eingabe der erhobenen Daten (z.B. der erhobenen LC<sub>50</sub>-Werte) ist sinnvoll, um Optimierungen anzustreben. Durch die konsequente Zusammenführung der Daten, ist ersichtlich, wie sich die Abwasserqualität durch die Einführung von Vorschriften verbessert oder verschlechtert. Neben letalen Daten sind aber auch subletale Daten von Interesse, um Auswirkungen von problematischen Abwässern auszumachen, die nicht im Endpunkt Letalität erfasst wurden. Für eine allgemeine Beurteilung der Abwasserqualität unterschiedlicher Branchen oder zum Verständnis von ökologischen Risiken sind die breite Erfassung und Verfügbarkeit von biologischen Testdaten sehr wichtig anzusehen, was längerfristig auch Auswirkungen auf zukünftige gesetzliche Vorschriften haben kann.

<sup>52</sup> siehe z.B. [www.caladirectory.ca/](http://www.caladirectory.ca/)

- Es sollte ein einheitlicher und konsistenter Ansatz für die statistische Analyse der generierten Testergebnisse angestrebt werden. Die kanadische Umweltbehörde publizierte einen statistischen Leitfaden<sup>53</sup> und erarbeitete mit dem Entwickler der Statistiksoftware (CETIS<sup>54</sup>) einfach zu bedienende Module, die den Anforderungen der spezifischen ECCC-Methoden entsprechen.
- Die kanadische Bundesregierung und die Provinzregierung von Ontario arbeiten eng zusammen, um ihre Toxizitätstestmethoden zu harmonisieren. Auf diese Weise wird sichergestellt, dass ein Einleiter in der Lage ist, sowohl die Anforderungen des Bundes als auch die der Provinzen zu erfüllen. Die gesetzlichen Vorschriften der Provinzen müssen mindestens so streng sein wie die Bundesanforderungen, können aber strenger sein.

<sup>53</sup> *Test Reference* EPS1/RM/46, siehe [publications.gc.ca/site/eng/278313/publication.html](http://publications.gc.ca/site/eng/278313/publication.html)

<sup>54</sup> [www.tidepool-scientific.com/Cetis/Cetis.html](http://www.tidepool-scientific.com/Cetis/Cetis.html)

## 6 Einsatz von Biotests in der Schweiz

### 6.1 «Strategie Micropoll» und der Einsatz von Biotests zur Beurteilung von Abwasserreinigungsprozessen

In der Schweiz wurden bereits in mehreren Studien Biotests für die Beurteilung von Abwässern eingesetzt. Besondere Bedeutung kam den biologischen Testsystemen bei der Variantenstudie zum Ausbau der Kläranlagen mit der vierten Reinigungsstufe zu («Strategie Micropoll»). Mit Inkrafttreten der gesetzlichen Anpassungen in der GSchV ab 1. Januar 2016 müssen ausgewählte Kläranlagen mit einer zusätzlichen Reinigungsstufe ausgestattet werden.

Die «Strategie Micropoll» wurde von 2006 bis 2010 durch das BAFU verfolgt und hatte zum Ziel, ein Vorgehen zu entwickeln, um den Eintrag von Mikroverunreinigung in die Gewässer zu reduzieren. Aus den erarbeiteten Grundlagen wurde schliesslich u.a. der Ausbau der Kläranlagen mit einer vierten Reinigungsstufe beschlossen, was zu verschiedenen weiterführenden Projekten führte. Darin wurde im Detail u.a. mit Hilfe von Biotests untersucht, welche Methoden sich für den Ausbau der Kläranlagen mit der vierten Reinigungsstufe (z.B. durch Aktivkohle oder Ozonung) besonders eignen. Der Einsatz von Biotests diente der Untersuchung der Toxizität nach der Reduktion von Mikroverunreinigungen und zur Abschätzung, ob toxische Transformationsprodukte durch den zusätzlichen Reinigungsschritt generiert werden. Biotests trugen somit zur Beurteilung der Effizienz der unterschiedlichen Reinigungsmethoden bei.

Kienle et al. prüften 2015 die im Rahmen von Micropoll entwickelte Biotestbatterie<sup>55</sup> und kamen schliesslich zum Schluss, dass sich die Anwendung von ökotoxikologischen Biotests für die Beurteilung unterschiedlicher Methoden in der weiterführenden Abwasserreinigung eignet. Zudem zeigte sich, dass es kein einzelnes Testsystem für die Beurteilung der gesamtheitlichen Toxizität in einer Abwasserprobe gibt, sondern eine Biotestbatterie eingesetzt werden soll, die unterschiedliche Wirkweisen abdeckt. Für spezifische Aussagen (z.B. Entstehung mutagener Produkte durch die Ozonung) ziehen Kienle et al. *in vitro* Systeme *in vivo* Biotests vor (Kienle et al., 2015b).

<sup>55</sup> Die Biotestbatterie bestand u.a. aus *in vitro* Systemen wie YES-Test, unterschiedlichen CALUX-Systemen (endokrine Wirkungen), dem Mikrokern-, dem UmuC- und dem Ames-Test und dem kombinierten Algentest und aus *in vivo* Systemen wie Grünalgenwachstumstest, dem Leuchtbakterientest, dem chronischen Daphnientest, Fortpflanzungstests mit Glanzwürmern und Schnecken, Frassaktivitätstests mit Bachflohkrebsen, und dem Fischei- sowie dem *Fish early life stage toxicity* -Test (Kienle et al. (2015b).

Von Wunderlin et al. wurde als Folgeprojekt von Micropoll im Jahr 2015 ein Testverfahren zur Vorabklärung, ob und für welche Abwässer eine Ozonung als vierte Reinigungsstufe beim Ausbau der Kläranlagen geeignet ist, entwickelt, welches Biotests<sup>56</sup> einsetzte. Bei der Ozonung können je nach Industrie- oder Gewerbeinfluss problematische Stoffe (z.B. Bromat oder Nitrosamine) gebildet werden, weshalb sich diese Methode nicht für den Ausbau von allen ARA (z.B. mit bedeutendem industriellem Anteil) eignet. Der Ames-Test zeigt beispielsweise an, ob sich mutagene Metaboliten durch den Ozonungsschritt gebildet haben und spielt daher bei der Methodenauswahl eine wichtige Rolle (Wunderlin, 2015).

Das Projekt «ReTREAT» von Böhler et al. testete 2017 in der Folge verschiedene biologische Verfahren zur Nachbehandlung der Ozonung. Mittels Einsatzes von Biotests wurde die Wirksamkeit der unterschiedlichen biologischen Nachbehandlungen bezüglich der Reduktion der Toxizität beurteilt. Dazu wurden die behandelten Abwässer mit einer Biotestbatterie<sup>57</sup> untersucht. Die Studie zeigte, dass sich die allenfalls durch die Ozonung gebildeten problematischen Stoffe durch eine biologische Nachbehandlung mit allen untersuchten Methoden verbesserte und toxische Effekte verringert wurden (Böhler et al., 2017).

Gemäss der VSA-Empfehlung «Abklärungen Verfahrenseignung Ozonung» aus dem Jahr 2017 wird der Einsatz einer Biotestbatterie<sup>58</sup> für die Abschätzung möglicher toxischer Effekte von Oxidationsnebenprodukten empfohlen. Wird in den Biotests eine Zunahme der Toxizität durch die Behandlung mit Ozon und anschliessender Nachbehandlung gemessen, ist die Ozonung als vierten Reinigungsschritt grundsätzlich auszuschliessen (Wunderlin, 2017). Bei den Variantenstudien zum Ausbau der Kläranlagen in der Schweiz leistet die Anwendung der vorgeschlagenen Biotestbatterie einen wichtigen Beitrag zur Abklärung der Verfahrenseignung und sollte standardmässig eingesetzt werden, wenn die Ozonung als zusätzlichen Reinigungsschritt in Betracht gezogen wird (Grelot et al., 2020).

Die Folgestudien aus der Strategie Micropoll und die Begleitung der Umsetzung der vierten Reinigungsstufe zeigten, dass der Einsatz von unterschiedlichen Biotests für die Beurteilung von

<sup>56</sup> Innerhalb des Testverfahrens wurden Algen-, Ames-, Hefezell-, Daphnien- und Fischeitests eingesetzt (Wunderlin (2015)).

<sup>57</sup> Die verwendete Biotestbatterie bestand aus Ames-, Daphnien-, Glanzwürmer- und dem *Fish Early Life Stage Toxicity* (FELST) Tests (Böhler et al. (2017)).

<sup>58</sup> Die empfohlene Biotestbatterie besteht aus Ames-Test, chronischem Daphnientest und kombiniertem Algentest (Minimalset) sowie zusätzlich Fischeitests, UmuC-Test und Leuchtbakterientest (optional) (Wunderlin (2017)).

Abwasserreinigungsprozessen eine wichtige Ergänzung darstellt, um geeignete Verfahren für die Aufbereitung von Abwässern zu entwickeln und um schliesslich den Anteil von persistenten und toxischen Stoffeinträgen in die Gewässer nachhaltig zu verringern.

## **6.2 «Biotestscreening» zur Erfassung der Toxizität von Industrieabwasser in der Schweiz**

Der Hauptteil der industriellen und gewerblichen Betriebe in der Schweiz leiten als Indirekteinleiter ihre Abwässer in die öffentliche Kanalisation ein, um diese in einer regionalen Kläranlage zu behandeln (Braun and Gälli, 2014). In den meisten Fällen ist nicht bekannt, welche Stoffzusammensetzung im Betriebsabwasser enthalten ist und ob dieses auch nach der biologischen Behandlung durch persistente Substanzen toxisch für das Gewässer sein könnte.

Im Projekt «Abbau- und Biotests in Industrieabwässern – Erste Schweizer Screeningstudie zur Erfassung der Toxizität und stofflichen Belastung» (kurz «Biotestscreening»), das von 2017 bis 2018 im Auftrag des BAFU durchgeführt wurde, sind Abwässer aus unterschiedlichen Branchen zum ersten Mal in der Schweiz gezielt auf ihre Toxizität untersucht worden. Envilab AG verfasste dazu einen Bericht<sup>59</sup>. Eine gemeinsame Publikation von BAFU, Envilab, Arcadis, VSA und FHNW wurde im Oktober 2020 in Aqua und Gas veröffentlicht (Otto et al., 2020).

Die Screeningstudie hatte zum Ziel aufzuzeigen, ob die untersuchten Betriebsabwässer auch nach einer simulierten biologischen Behandlung durch einen Abbautest noch eine Toxizität aufweisen. Zu diesem Zweck wurden Abwässer aus verschiedenen Branchen (u.a. Chemie, Pharma, Biotech, Metall, Entsorgung sowie Textilien und Wäscherei) mit Biotests untersucht und das toxische Potential der unterschiedlichen Abwässer und der darin enthaltenen Stoffe erfasst (Otto et al., 2020). Die Abwässer wurden in einem dreistufigen Verfahren untersucht bestehend aus:

1. der Charakterisierung des Rohabwassers und des Einsatzes von Biotests im vorbehandelten Rohabwasser,
2. der Untersuchung der biologischen Abbaubarkeit durch den Zahn-Wellens-Test,
3. der Durchführung von Biotests im biologisch behandelten Abwasser.

<sup>59</sup> Bericht Envilab AG im Auftrag des BAFU «Screening von Schweizer Industrieabwässern mit Biotests», Version 1.2 vom 11. Oktober 2018



Die Ergebnisse aus der Studie sind in **Abbildung 7** ersichtlich. Die Studie zeigte auf, dass eine vorhandene Toxizität der Abwässer durch die biologische Behandlung (simuliert durch Zahn-Wellens-Test) bei rund 42% der untersuchten Fälle (insgesamt 15 Abwasserproben aus sechs unterschiedlichen Branchen) abnahm. Gleichzeitig war aber in 11% aller untersuchten Proben auch nach dem Abbautest noch eine sehr hohe Toxizität ( $TU^{60} > 10$ ) in mindestens einem Biotest auszumachen, in weiteren 6% war eine generelle Toxizität ( $10 > TU^{61} > 2$ ) auszumachen. Ein einzelnes Betriebsabwasser zeigte in allen drei durchgeführten Biotests auch nach dem Abbau noch eine Toxizität an. Dieselbe Probe führte im Daphnientest nach dem Abbautest sogar noch zu einer höheren Toxizität. Zusammenfassend nahm die Toxizität von den Betriebsabwässern in den meisten Fällen zwar deutlich ab, jedoch wiesen einzelne Abwässer trotz der biologischen Behandlung immer noch eine Toxizität gegenüber den einzelnen Testorganismen auf. In einem Fall war eine Abwasserprobe sogar für alle untersuchten Organismen auch nach dem biologischen Abbau noch toxisch. In der Studie konnte generell kein Zusammenhang von hohen DOC-Werten mit der Toxizität in den Biotests hergestellt werden (Otto et al., 2020).

Die Anwendung des vorgeschlagenen Screening-Tools zeigte teilweise auch dessen Schwächen auf. So mussten einzelne Proben mit sehr hohem DOC-Anteil stark verdünnt werden, damit die Vorgaben des Zahn-Wellens-Tests ( $DOC \leq 400 \text{ mg/l}$ ; OECD 302 b) eingehalten werden konnten. Durch diese teilweise starken Verdünnungen ist es möglich, dass die enthaltenen toxischen Substanzen derart verdünnt wurden, dass sie unterhalb der Sensitivitätsschwelle der verwendeten Biotests lagen. Diese Verdünnung könnten somit mögliche Toxizitätseffekte verbergen und im Vergleich zu falsch-negativen Resultaten führen. Die Vorgabe des Zahn-Wellens-Test bezüglich des DOC-Gehalts führt dadurch zur Ungleichbehandlung der unterschiedlichen Proben aus den unterschiedlichen Branchen. Weiter konnten in mehreren Fällen kein spezifischer Toxizitätswert angegeben werden, da weder für die höchste noch die tiefste getestete Konzentration ein  $EC_{50}$ -Wert berechenbar war. Auch wurde in dieser Studie für alle Tests der gleiche Belebtschlamm verwendet. Das Screening-Tool hat demzufolge Optimierungsspielraum, indem die Abbautests jeweils mit an die Abwässer adaptiertem Klärschlamm durchgeführt werden, da dies eine realistischere Aussage bezüglich des Abbaus in der ARA ermöglicht. Für aussagekräftigere Ergebnisse wäre zudem zu überlegen, anstatt den einzelnen zufälligen Stichproben, Mischproben der Abwässer zu untersuchen.

<sup>60</sup> Die *Toxic Unit* wird wie folgt berechnet  $TU = 100/EC_{50}$

<sup>61</sup> Die *Toxic Unit* wird wie folgt berechnet  $TU = 100/EC_{50}$

Die Studie gab Hinweise darauf, dass keine klare Charakterisierung der Branchenabwässer bezüglich des toxischen Potentials möglich ist. Zudem zeigten die Abwässer auch innerhalb der gleichen Branchen – sowohl vor als auch nach der simulierten biologischen Behandlung – grosse Unterschiede bezüglich DOC, Leitfähigkeit und pH auf. So mussten einzelne Proben stark verdünnt werden, um den Abbaustest nach ISO-Guideline durchführen zu können, was in der Folge auch Auswirkungen auf die Sensitivität der Biotests hatte.

Abwasser	TU-Wert (Verdünnungsfaktor)					
	Leuchtbakterien		Algen		Daphnien	
	Vor Abbau	Nach Abbau	Vor Abbau	Nach Abbau	Vor Abbau	Nach Abbau
Entsorger 1	< 34,2	< 8	< 9,17	< 5	< 9,8	< 4
Entsorger 2	< 44,1	< 22,4	< 22,6	13,2	< 22,5	11
Entsorger 3	< 2	1,7	7,3	2,3	15	130
Chemie 1	385	< 17,2	> 1000	< 10,7	3448	17
Chemie 2	< 18	< 10,1	< 50,8	6,2	67,6	6,7
Chemie 3	< 2	< 2	< 2	< 1,25	< 2	< 1
Pharmaproduktion	17	< 3,8	< 18,8	< 1,9	17	< 1,9
Metallverarb. / Galvanik 1	< 2	< 2	< 2	< 1,25	1,7	< 1
Metallverarb. / Galvanik 2	42	< 4	22	< 4	3333	21
Metallverarb. / Galvanik 3	9,8	< 2	14,8	< 1,25	< 2	1,0
Metallverarb. / Galvanik 4	< 2	< 2	< 2	< 1,25	28	1,0
Wäscherei 1	16	< 2	12	< 1,25	31,6	< 1
Wäscherei 2	37	< 2	127	< 1,25	333	< 1
Textil 1	9,2	< 2	< 100	< 1,25	7,1	< 1
Textil 2	7,8	< 2	16	< 1,25	4,5	< 1

**Abbildung 7** Übersicht der Resultate aus den Biotests, die im Rahmen der Biotestscreening-Studie erhoben wurden. Die Toxic Units (TU) werden wie folgt berechnet:  $TU = 100/EC_{50}$  (siehe auch 7.2). Farbschema: grün = nicht toxisch; gelb-grün = nicht oder wenig toxisch; gelb = wenig toxisch; orange = toxisch; rot = sehr toxisch; keine Farbe = Toxizität nicht beurteilbar; <: bei der höchsten getesteten Abwasserkonzentration war der Effekt kleiner als 50%; >: bei der niedrigsten getesteten Abwasserkonzentration trat ein Effekt von mehr als 50% auf (Abbildung aus Otto et al., 2020).

Zusammenfassend zeigte die Studie neben dem Vergleich unterschiedlicher Branchenabwässer auf, dass sich die Beurteilung von industriellen Abwässern mit Biotests nach einem vorgängig durchgeführten Abbaustest grundsätzlich als Untersuchungsmethode eignet und wichtige Hinweise für die Abschätzung von persistenten Stoffrückständen mit toxischem Potential liefern kann, welche auch nach der biologischen Reinigung in der ARA noch im Abwasser bestehen. Es wäre erstrebenswert ähnliche Untersuchungen in einem grösseren Massstab und mit mehreren Proben anzudenken, um die Ergebnisse zu bestätigen und eine Aussage bezüglich der Toxizität unterschiedlicher Industriebranchenabwässer und deren Variabilität zu ermöglichen. Die Studie ist ein wichtiger Hinweis, dass die aktuell geforderte Einleitvoraussetzung (mind. 85 %) auf den DOC begründet, die Realität bezüglich Mikroverunreinigung nicht ausreichend abbildet.

### 6.3 Befragungen der Kantone

Durch das BAFU, Sektion Gewässerschutz wurden im Herbst 2019 die verantwortlichen Ansprechpersonen der kantonalen Umweltfachämter per E-Mail zu ihren Erfahrungen im Umgang mit Biotests befragt. Basierend auf den erhaltenen (unvollständigen) Rückmeldungen verfügen die Kantone bis auf zwei Ausnahmen meist über keine praktischen Erfahrungen in der Anwendung oder Interpretation von Biotests für die Untersuchung von Industrieabwässern (siehe **Tabelle 14**). Diese Tatsache ist darauf zurückzuführen, dass derartige Tests bis anhin nicht in der Gewässerschutzgesetzgebung gefordert werden. In den Bewilligungsverfahren von Abwasseranlagen könnte die Durchführung von Biotests vorgeschrieben werden, wird aber nach Aussage der befragten Kantone vereinzelt nur für anfallende Kühlwässer verlangt (siehe unten, 6.3.1). Deshalb steht es den Betrieben offen, erhobene Daten aus Biotests den Kantonen zur Verfügung zu stellen.

Auf diese Weise haben die kantonalen Gewässerschutzstellen nur vereinzelt Einblick in die mittels Biotests erhobenen Untersuchungen der Betriebe. Einige Kantone gaben zwar an, dass ihres Wissens in wenigen Betrieben (v.a. pharmazeutische und chemische Produktionen) Biotests durchgeführt werden (z.B. Kanton Genf, Kanton Waadt). Die Details zu der Häufigkeit, zu den verwendeten Tests und deren Ergebnisse sind jedoch aus den genannten Gründen oft nicht bekannt.

Gemäss Rücksprache mit zwei kantonalen Vertretern (Kanton Aargau und Kanton Luzern) führten diese bereits selbst Leuchtbakterientests zur Beurteilung von Kühlwasser innerhalb der kantonalen Umweltlabors durch. Im Kanton Luzern wird der Leuchtbakterien bei der Einleitung von Kühlwässern generell verlangt (siehe 6.3.1).

**Tabelle 14** Zusammenstellung einzelner Rückmeldungen aus den Kantonen nach Anfrage durch das BAFU und in gewissen Fällen nach erneuter Kontaktaufnahme durch die FHNW. Mit den Kantonen AG, BE, BL und LU wurde durch die FHNW vertiefte Rücksprache zum Thema gehalten. In vielen der befragten Kantone ist das Interesse am Einsatz von Biotests für die Beurteilung von Industrieabwässern vorhanden, in den meisten Kantonen bestehen jedoch keine Kenntnisse oder Erfahrungen zur Anwendung von Biotests in den Betrieben.

KANTON	RÜCKMELDUNG
AG	Leuchtbakterientest wurde früher mehrfach durch das Umweltlabor durchgeführt, um verschiedene Proben zu testen. Aufgrund der fehlenden Sensitivität wird er heute nicht mehr angewendet, da der Nutzen den Aufwand nicht rechtfertigt. Interesse an Entwicklung geeigneter Systeme seitens des Kantons ist gross.
BE	Keine grösseren Chemie-/Pharmabetriebe im Kanton, der Austausch zum Thema ist aber in Zusammenhang mit anderen Branchen von Interesse.
BL	Interesse vorhanden, aber keine Kenntnisse über regelmässige Anwendung im Kanton.
GE	Kenntnisse über die Anwendung in zwei pharmazeutischen Betrieben.
JU	Interesse vorhanden, aber keine Kenntnisse über Anwendung im Kanton.
LU	Der Leuchtbakterientest wird bei der Einleitung von Kühlwasser verlangt und meist durch kantonales Labor durchgeführt. Sonst keine Erfahrungen, da auch wenige grosse Pharma/Chemiebetriebe. Interesse an Entwicklung geeigneter Systeme seitens des Kantons ist gross.
NE	Keine Erfahrungen und wenig Interesse, da wenige Pharma/Chemiebetriebe (Fokus liegt auf problematischen Einträgen aus der mechanischen Industrie).
SO	Kenntnisse über Anwendung von Leuchtbakterientest in einem Entsorgungsbetrieb.
VD	Kenntnisse über Anwendung bei einzelnen Pharmaunternehmen in der Einzelstoffbewertung, da aber nicht vom Kanton verlangt, wenig Erfahrungen.

### 6.3.1 Spezialfall Kühlwasser

Rechtlich gelten Kühlwässer als unverschmutztes Abwasser und sollen demnach nicht in die ARA eingeleitet werden (GSchV Anhang 3.2 Ziff. 1 Art. 2). Insbesondere bei anfallenden grossen Mengen ist eine Gewässereinleitung der Einleitung in die ARA vorzuziehen, um die ARA nicht mit grossen Wassermengen zu belasten. Grössere Mengen an Kühlwasser fallen beispielsweise an, wenn Revisionen oder Produktionspausen im Betrieb anstehen.

Kühlwässer können zum Schutz der Produktionsmaschinen durch Biofilmbewuchs mit Bioziden versetzt sein und dürfen dann nicht in die Gewässer eingeleitet werden (da es sich dann nicht mehr um unverschmutztes Abwasser handelt). In den meisten Fällen werden diese biozidhaltigen Kühlwässer im Kreislauf geführt und es fallen im Normalbetrieb keine Abwässer an. Bei anstehenden Revisionen stellt sich dann die Frage, ob die anfallenden grossen Mengen Kühlwasser toxische Auswirkungen für die Gewässerorganismen haben können.

Der Leuchtbakterientest wurde gemäss den Ausführungen der beiden obengenannten kantonalen Vertreter angewendet, um sicher zu gehen, dass die Kühlwässer direkt in das Gewässer eingeleitet werden können und keine negativen Auswirkungen durch Biozide oder andere Stoffrückstände entstehen. Dabei haben sich beide Kantonsvertreter für die Einordnung der Toxizität an den Werten der deutschen Abwasserverordnung orientiert (für Kühlwässer gilt ein G-Wert von  $G_L = 12$ , siehe **Tabelle 12**).

Generell ist eine Orientierung an der deutschen Abwasserverordnung in den genannten Fällen sinnvoll, da es sich bei den Einleitungen um eine Direkteinleitung in das Gewässer handelt. Es stellt sich hier jedoch die Frage, ob die alleinige Sensitivität von Leuchtbakterien ausreichend ist und der (zusätzliche) Einsatz von anderen Testorganismen sinnvoll wären. Da Biozide im Kühlwasser gezielt gegen Algenbewuchs eingesetzt werden, wäre zudem abzuwägen, ob mögliche Effekte für die Algen ebenfalls in die Untersuchung miteinzubeziehen wären. Auch soll an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, dass die G-Werte in der deutschen Abwasserverordnung für tiefere trophische Ebenen vergleichsweise hoch angesetzt sind, d.h. für Leuchtbakterien wird eine relativ hohe Toxizität akzeptiert (siehe Kap. 5.2). Zur Visualisierung: bei einem  $G_L = 12$  muss bei einem Abwasseranteil von lediglich 0.05% noch eine Hemmung von 50% der Leuchtwirkung (=  $EC_{50}$ ) von *Aliivibrio fischeri* unterschritten werden.

Die Untersuchung von Kühlwässern mit einer Biotestbatterie ist sowohl bei einer Einleitung ins Gewässer als auch in die ARA zu prüfen, da persistente Stoffrückstände bei unvollständigem Abbau in die ARA ebenfalls in die Gewässer gelangen können. Im vorliegenden Projekt wurden Abwässer aus Heiz- und Kühlprozessen nicht im Detail behandelt.

#### **6.4 Austausch mit Branchenverbänden**

Für eine nachhaltige und erfolgreiche Zusammenarbeit mit den im Projekt involvierten Akteuren war ein regelmässiger Austausch mit den zuständigen Branchenverbänden von grosser Bedeu-

tung. Innerhalb der Übersichtsstudie bestand in erster Linie ein regelmässiger Informationsaustausch mit Science Industries, dem Wirtschaftsverband für Chemie, Pharma und Life Sciences, um sicherzustellen, dass die Kontaktaufnahme und die Betriebsbesuche im Sinne des Verbandes erfolgten und um eine vertrauenswürdige Kommunikation gegenüber den Betrieben zu fördern. Da insbesondere die grösseren Firmen im Pharma- und Chemiebereich, aber auch aus weiteren Branchen, Mitglieder im Verband sind, war die Zusammenarbeit mit der Umweltverantwortlichen Person von Science Industries vor allem zu Projektbeginn prioritär. Die Online-Umfrage ab Sommer 2020 (siehe 6.5.4) wurde vorgängig mit Science Industries besprochen und über den E-Mail-Verteiler des Verbands an die Umweltfachpersonen der Mitgliederbetriebe versandt.

Um die Erfahrungen und Bedürfnisse von weiteren Branchen einzuholen, wurde zudem Kontakt mit der Schweizer Stiftung für Oberflächentechnik (SSO) (Kontaktaufnahme via VSA-Plattform Verfahrenstechnik Mikroverunreinigungen), dem Verband der Betreiber Schweizerischer Abfallverwertungsanlagen (VBSA) und der Schweizerischen Organisation der Wirtschaft für Umweltschutz, Arbeitssicherheit und Gesundheitsschutz (Eco Swiss) aufgenommen. Die Zusammenarbeit bezog sich hier lediglich auf den Versand der Online-Umfrage an die Verbandsmitglieder, was schliesslich durch SSO und VBSA umgesetzt wurde.

## **6.5 Erfahrungsaustausch mit Betrieben – Betriebsbesuche und -befragungen**

### **6.5.1 Hintergrund**

Um die Erfahrungen und Bedürfnisse zur Anwendung von Biotests für die Untersuchung von Industrieabwasser in den Betrieben realistisch zu erfassen, wurden gezielt Betriebe für ein Interview angefragt. Zu Beginn der Umfrageperiode im Dezember wurden insbesondere industrielle Betriebe aus den Branchen Pharma, Chemie und Biotech kontaktiert. Diese Betriebe verfügten einerseits über ein Vorwissen aufgrund der Teilnahme am Erfahrungsaustausch Industrie und Forschung vom September 2018 (siehe 3.1) oder sie brachten bereits Erfahrungen in der Anwendung von Biotests mit. Für die Branchen Pharma, Chemie und Biotech wurden innerhalb der Situationsanalyse nachgewiesene Stoffeinträge ins Gewässer zusammengetragen. Diese Branchen sind durch ein dynamisches und breites Substanzspektrum gekennzeichnet. Weiter wurde von Experten der Eintrag von Stoffen aus der Metall- und Galvanikbranche sowie dem Entsorgungssektor als wahrscheinlich eingestuft (z.B. innerhalb der Situationsanalyse, siehe 1.3). Diese Branchen wurden in einem zweiten Schritt unter Einbezug der jeweiligen Verbände (siehe 6.4) für ein Gespräch angefragt.

In den Monaten Januar und Februar 2020 fanden Betriebsbesuche und vertiefte Gespräche statt. Diese wurden von der FHNW zusammen mit der VSA-Plattform Verfahrenstechnik Mikroverunreinigungen durchgeführt. Da die Befragungen auf vertraulicher Basis erfolgten, werden die befragten Unternehmen im Folgenden anonymisiert dargestellt.

### **6.5.2 Ablauf Betriebsbesuche**

Innerhalb der Betriebsbesuche wurde zunächst die Übersichtsstudie zum Einsatz von Biotests für die Beurteilung von Industrieabwässern vorgestellt. Anschliessend wurde im freien Austausch diskutiert, welche Erfahrungen in der Anwendung von Biotests in den Firmen bestehen und die Antworten abschliessend in einem standardisierten Fragebogen festgehalten.

Ein wichtiger Teil des Erfahrungsaustauschs bestand zudem aus der Einführung in das betriebsinterne Abwassermanagement, welches bei den befragten Betrieben jeweils stark variierte. Dies ist beispielsweise auf das Produktionsspektrum oder die gezielten Aufträge zurückzuführen. Da sich die Wissensgrundlagen bezüglich des Einsatzes von Biotests für die Untersuchung von Industrieabwasser seitens der Betriebe deutlich voneinander unterschieden, wurden Informationen in beide Richtungen ausgetauscht. Der freie Informationsaustausch wurde von allen Beteiligten geschätzt.

In einem weiteren Teil wurden die Erkenntnisse im Sinne einer repräsentativen Auswertung auf der Grundlage eines strukturierten Fragekatalogs zum Schluss zusammengefasst. Auf diese Weise wurde die Vergleichbarkeit zwischen den Betrieben gewährleistet. Der Fragekatalog diente als Gesprächsleitfaden, wurde vorgängig zur Vorbereitung des Gesprächs verteilt und die Antworten zum Schluss mit allen Beteiligten diskutiert. Der unausgefüllte Fragekatalog ist im Anhang (A2 Fragekatalog zum Thema Biotests für Abwasseruntersuchung) zu finden.

### **6.5.3 Erkenntnisse aus den Betriebsbefragungen**

#### **6.5.3.1 Branche**

Die Branche Pharma/Chemie/Biotech ist von grosser Bedeutung für die Erarbeitung dieser Übersichtsstudie. Einerseits besteht bereits einiges an Wissen in Bezug auf die Durchführung und/oder Interpretation von Biotests innerhalb der Einzelsubstanzbewertung. Andererseits ist das Spektrum der eingesetzten Substanzen sehr breit, oft variabel und es beinhaltet Stoffe mit hoher biologischer Potenz. Die daraus anfallenden komplexen Produktionsabwässer erfordert die Entwicklung funktionierender Instrumente. Biotests sind als Instrument zur Beurteilung von

komplexen Abwässern geeignet, da sie Gesamtabwasserproben auf ihre Toxizität zu beurteilen und Effekte von unterschiedlichen Substanzen und Rückstände abbilden.

#### 6.5.3.1.1 Betriebe

Insgesamt wurden sechs Betriebe (Betriebe A bis F) aus der Branche Pharma, Chemie und Biotech in vertieften Interviews befragt. Davon wurden die Interviews bei fünf Betrieben (A bis E) vor Ort und mit einem Betrieb (F) virtuell durchgeführt. Von sechs befragten Betrieben waren es fünf produzierende Firmen (B bis F). Ein Betrieb produziert nicht selbst, sondern behandelt das Abwasser von mehreren einleitenden Pharma- und Chemiebetrieben vor und leitet es schliesslich in die gemeinsame Industriekläranlage. **Tabelle 15** zeigt die Einteilung der befragten Betriebe und gibt eine Übersicht über die anfallenden Mengen Abwasser und den Ort der Einleitung.

**Tabelle 15** Übersicht der befragten Betriebe und Zuordnung innerhalb der Branche mit durchschnittlicher Tagesmenge des Abwassers und der Einteilung nach deren Einteilung in unterschiedliche Typen von ARA

BE-TRIEB	BRANCHE	ABWASSER MENGE/TAG	ARA	VERTEILUNG
A	Pharma Chemie	500	Industrie-ARA	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Industriekläranlage</li> <li>■ kommunale ARA</li> <li>■ eigene ARA</li> </ul>
B	Chemie	200	Kommunale ARA	
C	Pharma Chemie	4000	Betriebseigene ARA	
D	Pharma Biotech	450	Industrie-ARA	
E	Pharma Chemie Biotech	10000	Betriebseigene ARA	
F	Chemie	70000	Industrie-ARA	



#### 6.5.3.1.2 Abwassermanagement

Das betriebsinterne Abwassermanagement unterscheidet sich von Betrieb zu Betrieb deutlich (siehe **Tabelle 15**). Die vorbehandelten Abwässer aus den Betrieben A, D und F werden in eine Industriekläranlage geführt. Das gereinigte industrielle Abwasser wird entweder vor der biologischen Behandlung (Betrieb A) oder nach dem Biologiebecken (Betriebe D und F) mit dem separat behandelten kommunalen Abwasser gemischt und dann ins Oberflächengewässer eingeleitet. Der Betrieb B leitet als einziger der befragten Betriebe nach der betriebseigenen Vorbehandlung in eine kommunale ARA ein. Die Betriebe C und E verfügen über eine eigene Industriekläranlage

Der auffällig hohe Anteil der befragten Betriebe, die in eine Industriekläranlage resp. in eine betriebseigene ARA einleiten ist für die Schweiz im Allgemeinen wahrscheinlich nicht repräsentativ. Ein Grossteil der Schweizer Betriebe sind Indirekteinleiter und führen ihre anfallenden Betriebsabwässer in eine kommunale ARA (Braun and Gälli, 2014).

Auch wenn die Entsorgung und die einzelnen Schritte der Abwasservorbehandlung im Detail unterschiedlich sind, gehen die befragten Chemie- und Pharmabetriebe im Grundsatz bei der Entsorgung von Produktionsabwässern ähnlich vor. **Abbildung 8** zeigt das generelle Vorgehen im Abwassermanagement und mögliche Zwischenschritte bei der Vorbehandlung der Produktionsabwässer in Pharma- und Chemiebetrieben (für Erläuterungen zum Abwasserkataster siehe 6.5.3.1.3 und **Abbildung 9**).

#### 6.5.3.1.3 Betriebsabwasser

Bei der Produktentwicklung von neuen Arzneimitteln<sup>62</sup> fallen Abwässer in unterschiedlichen Mengen an. Anfallende Abwässer aus der Forschungsabteilung werden oft direkt in die Verbrennung geführt, da sich eine vertiefte Analyse zur fachgerechten Entsorgung aufgrund der

<sup>62</sup> Bei der Produktentwicklung eines neuen Arzneimittels werden bereits einige Schritte unternommen, um die Auswirkungen der eingesetzten Wirkstoffe auf die Umwelt abzuschätzen. Für die Zulassung wird ein zweistufiges Verfahren vorgenommen. In einem ersten Schritt wird die vermutete Umweltkonzentration (*Predicted Environmental Concentration*, PEC) anhand von den zu erwarteten Konsumationsmengen (z.B. Ausscheidung im Körper, Verdünnung in Kläranlage und im Gewässer etc.) und von chemisch-physikalischen Daten berechnet. In einem zweiten Schritt wird das Schicksal der Substanz in der Umwelt abgeschätzt und eine ökotoxikologische Gefährdungsabschätzung durchgeführt. Die *Predicted Non-Effect Concentration* (PNEC) basiert auf vorhandenen physikalisch-chemischen Daten, auf die Durchführung von Abbautests und auf die Ergebnisse von Biotests (vorhandene Daten oder neu erhobene Biotestdaten). Die Abschätzung der Ökotoxizität erfolgt meist auf der Grundlage von Algentests, chronischen Daphnientests und Fischeitests. Liegt das Verhältnis von PEC:PNEC unter 1 sind keine weiteren Tests erforderlich, ist es aber grösser als 1, besteht ein Risiko, welches durch zusätzliche Untersuchungen und weitere Biotests vertieft analysiert werden muss.

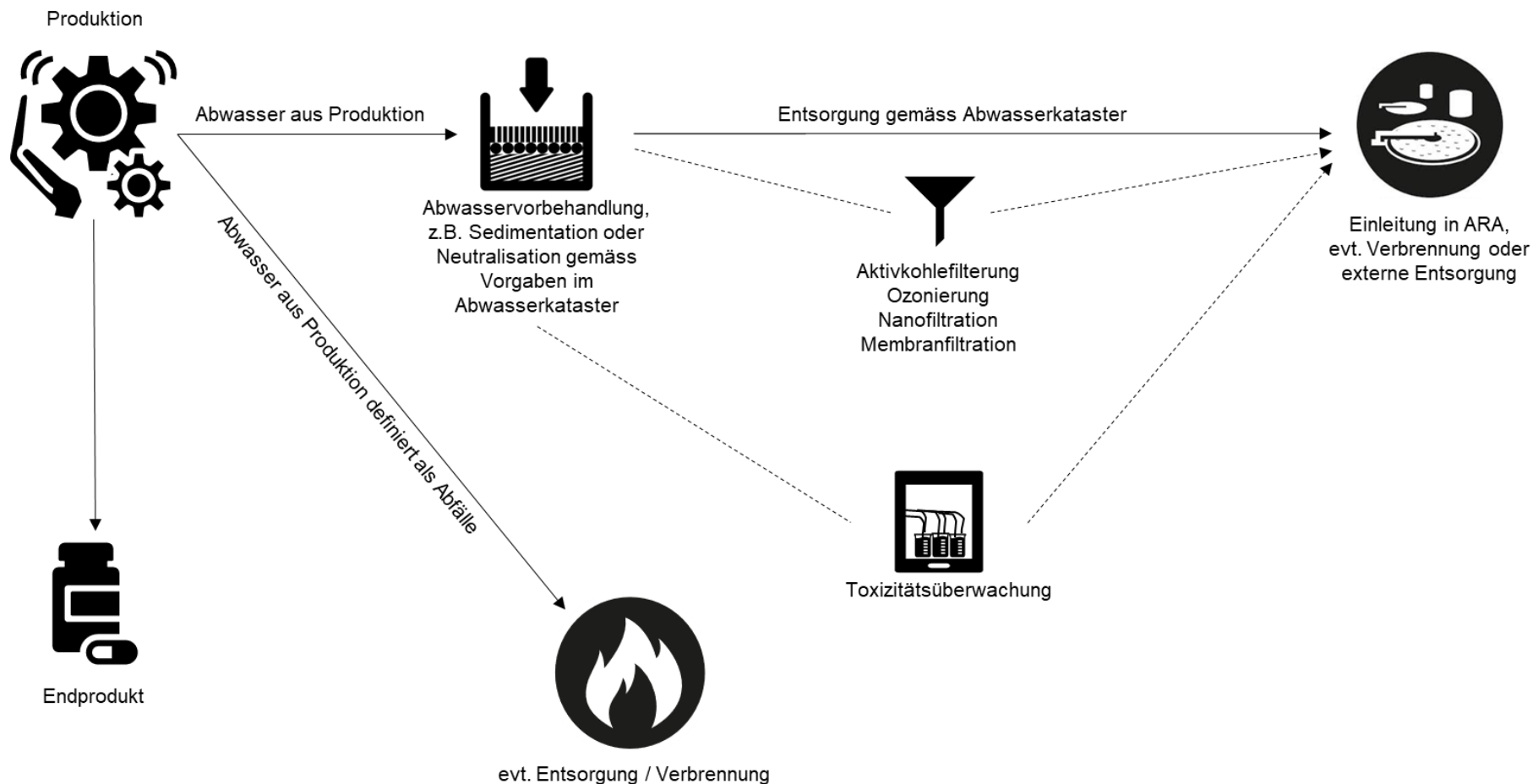
kleinen Abwassermengen nicht lohnt. Dem kommt hinzu, dass entwickelte Wirkstoffe häufig erst gar nicht die Pilotierungsstufe erreichen und weiterführende Untersuchungen deshalb nicht lohnenswert sind.

In der Pilotierungsstufe werden die neu entwickelten Wirkstoffe in einem grösseren Massstab hergestellt und die Produktionsvorgehen allenfalls adaptiert. In diesem Stadium werden Abwasserproben gezogen und vertieft auf ihre Abbaubarkeit (meist durch Zahn-Wellens-Test oder Stucki-Test) untersucht. In diese Untersuchung fliessen auch teilweise theoretische Überlegungen zu den Ausgangsstoffen oder chemisch-physikalische Daten ein. Wenn vorhanden, werden hier auch bestehende Biotestdaten berücksichtigt.

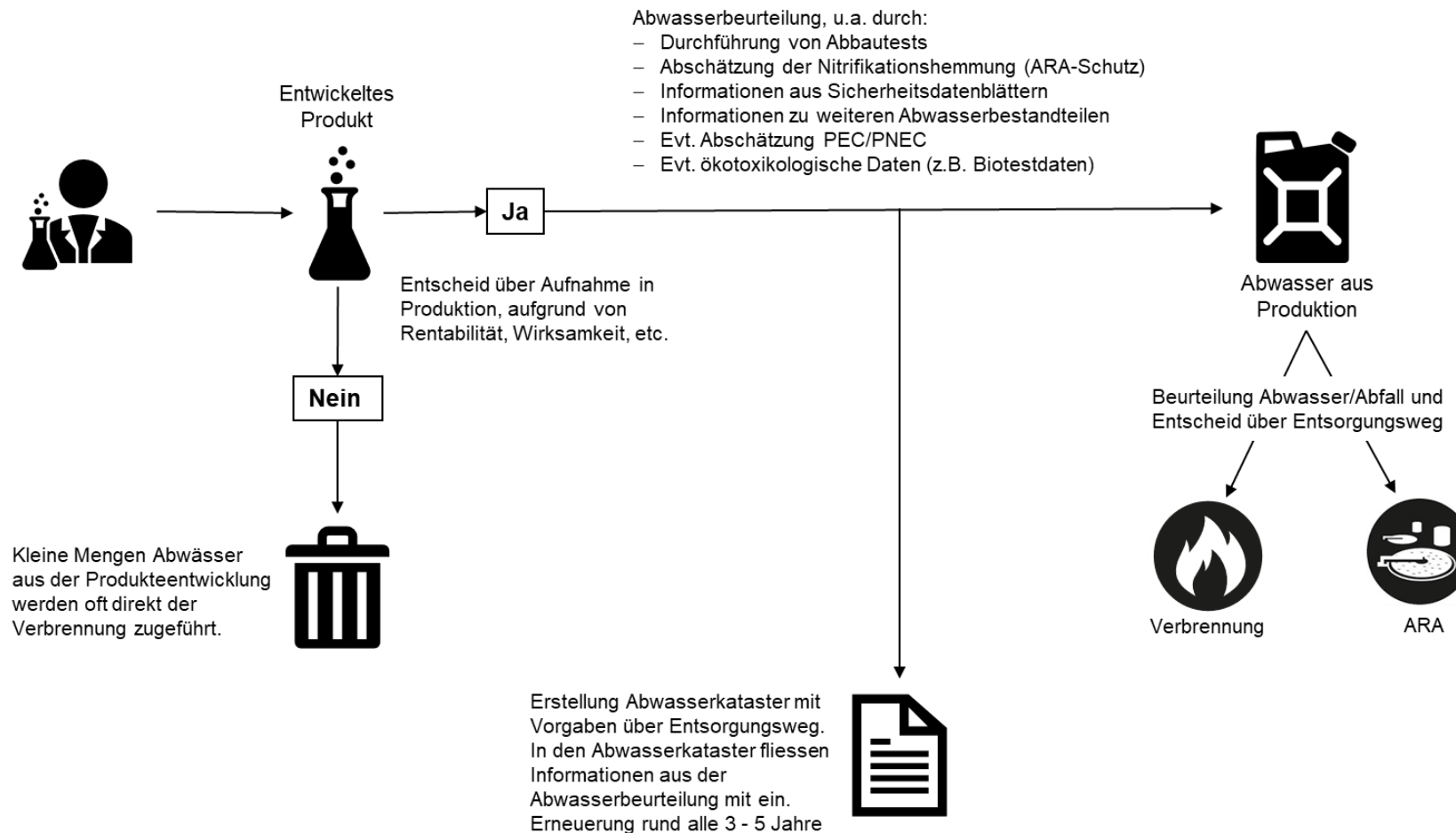
Wird der entwickelte Wirkstoff in die Produktion aufgenommen, wird schliesslich u.a. auf Grundlage der Erkenntnisse aus der Abwasseruntersuchung ein Abwasserkataster<sup>63</sup> erstellt, der Vorgaben über die fachgerechte Entsorgung enthält. In den Abwasserkataster fliessen Daten aus Abbautests, aus Nitrifikationshemmtests, aus vorhandenen ökotoxikologischen Daten (z.B. PEC/PNEC) und Informationen über weitere bekannte Abwasserbestandteile ein. Nach den Vorgaben ist das Abwasser schliesslich aus der jeweiligen Produktionslinie zu behandeln (z.B. Vorbehandlungsschritte, Entsorgung als Abfall, etc.). Die Abwasserkataster werden schliesslich durchschnittlich alle drei bis fünf Jahre überprüft und an neue Begebenheiten angepasst. Bei allfälligen Adaptionen in der Produktion ist auch der Abwasserkataster entsprechend anzupassen.

**Abbildung 9** zeigt das Vorgehen für die Abwasserbeurteilung bei der Produkteentwicklung in der Pharma- und Chemiebranche in groben Schritten auf. Je nach Betriebsstruktur unterscheiden sich die einzelnen Schritte bei der Abwasserbeurteilung, da z.B. ein im Auftragsverhältnis produzierender Betrieb oft auch abhängig von externen Vorgaben und Einflüssen ist.

<sup>63</sup> Auch als Abwasserdeklaration oder Abwasserkarte bezeichnet



**Abbildung 8** Generelles Vorgehen im Abwassermanagement in Pharma- und Chemiebetrieben. Wenn ein Produkt erfolgreich in die Produktion aufgenommen wurde, wird das bei der Produktion anfallende Abwasser gemäss Vorgaben im Abwasserkataster vorbehandelt und entsorgt. Als Abfälle definierte Abwässer werden direkt in die externe Entsorgung oder die Verbrennung geführt. Die Abwässer werden nach entsprechender Vorbehandlung wie z.B. Neutralisation und Sedimentation und evt. durch anschliessende Filtration z.B. durch Aktivkohle oder Ozonierung in die ARA eingeleitet oder wenn nötig der Verbrennung oder externen Entsorgung zugeführt. Der Abwasserkataster wird alle 3 bis 5 Jahre überprüft oder bei Anpassungen in der Produktion entsprechend adaptiert. Zum Schutz der ARA kann zusätzlich eine Toxizitätsüberwachung dienen z.B. in Form eines Biomonitors oder einer Pilot-ARA für die Überwachung der Respirationshemmung im Belebtschlamm. Die zusätzliche Aufbereitung mit Aktivkohle, Ozonierung oder Nano- bzw. Membranfiltration erfolgt nicht standardmässig. Auch eine automatische Toxizitätsüberwachung wird nicht von allen befragten Betrieben eingesetzt. Die optionalen Aufbereitungs- resp. Überwachungsmethoden sind mit gestrichelten Linien (- - - -) dargestellt.



**Abbildung 9** Übersicht des generellen Vorgehens zur Abwasserbeurteilung in der Produkteentwicklung eines Pharma- oder Chemiebetriebs. Nach der Entwicklung eines neuen Produktes und einem positiven Entscheid zur Aufnahme in die Produktion wird das Abwasser auf die Abbaubarkeit und die Nitrifikationshemmung untersucht. Vorhandene Informationen zu den Abwasserinhaltsstoffen oder bestehende ökotoxikologische Daten fließen ebenso in die Beurteilung mit ein. Auf Grundlage der Abwasserbeurteilung werden die Abfälle bzw. Abwässer schliesslich vorbehandelt und in die Verbrennung geführt oder in die ARA eingeleitet. Die anfallenden Abwässer aus der Produkteentwicklung werden oft direkt der Verbrennung zugeführt, da nur kleine Mengen generiert werden. Die Erkenntnisse aus der Abwasserbeurteilung fließen schliesslich in die Erstellung des Abwasserkatasters mit ein, welcher Vorgaben über den jeweiligen Entsorgungsweg für die Abwässer aus unterschiedlichen Produktionslinien enthält und durchschnittlich alle 3 bis 5 Jahre erneuert oder stetig bei Veränderungen oder Anpassungen in der Produktion adaptiert wird.

#### 6.5.3.1.4 Einsatz von Biotests

In den befragten Pharma- und Chemieunternehmen werden ausgedehnte Biotest-Kampagnen nicht routinemässig für die Beurteilung der Abwässer durchgeführt. Zur Abschätzung der Toxizität für die ARA-Biologie werden in allen befragten Firmen Nitrifikationshemmtests durchgeführt, wobei diese in fünf Betrieben in Kombination mit einem Abbautest erfolgen (Zahn-Wellens-Test nach OECD 302 B in Kombination mit Nitrifikationshemmtest). Die Respirationshemmung wird in zwei Betrieben regelmässig im Labor überprüft. In drei Betrieben werden BSB<sub>5</sub>-Toxizitätsanalysatoren für die Überwachung der ARA-Toxizität eingesetzt (davon zweimal als Online-Toxizitätsanalysator und einmal als Pilot-ARA). Ein Betrieb plant die Implementierung eines Online-Biomonitors und setzt bisher Testkits für die Abschätzung der Nitrifikations- und Respirationshemmung ein. **Tabelle 16** zeigt die in den befragten Betrieben eingesetzten Biotestsysteme für die Abschätzung der ARA-Toxizität auf.

Biotests mit höheren Organismen und Endpunkten wurden in den befragten Betrieben nur sehr vereinzelt z.B. innerhalb von spezifischen Messkampagnen eingesetzt. Drei Betriebe setzten bereits Leuchtbakterien, Algen, Daphnien ein sowie wurden in einem Betrieb zusätzlich Fischebryotests und UmuC-Tests innerhalb einer Kampagne durchgeführt. Nur ein Betrieb setzte auch Wasserlinsen zur Abschätzung der Toxizität ein. Die genannten Biotests wurden jeweils durch beauftragte externe Labors durchgeführt. Die in den befragten Betrieben eingesetzten Testsysteme für die Abschätzung der Toxizität und der Grund für deren Anwendung sind in **Tabelle 16** ersichtlich.

**Tabelle 16** Übersicht über die verwendeten Biotestsysteme (aufgeteilt in Systeme zur Abschätzung der ARA-Toxizität und der Gesamt-Toxizität), Spezifikationen zu deren Ausführung, die Häufigkeit der Durchführung und der Grund für die Anwendung bei den befragten Betrieben A bis F.

BETRIEB	Testsysteme ARA-Toxizität	Testsysteme Gesamt-Toxizität	Spezifikationen	Häufigkeit	Grund der Anwendung
<b>A</b>	Atmungshemmtest Nitrifikationshemmtest	-	Online-Überwachung durch Toxizitätsanalysator und Pilot-ARA	Stetige Überwachung der Atmungshemmung	Überwachung der ARA-Toxizität und bei neuen unbekannten Abwässern sowie zur Überprüfung des Abwasserkatasters
<b>B</b>	Atmungshemmtest Nitrifikationshemmtest	-	Testkits (BioFix®) zur Überprüfung der Atmungs- und Nitrifikationshemmung	Punktuell	Bei Auffälligkeiten im ARA-Ablauf
<b>C</b>	Atmungshemmtest Nitrifikationshemmtest	Leuchtbakterien Daphnien Algen Fischembryo Umu(C)	Online-Überwachung der BSB <sub>5</sub> -Atmungshemmung (BioMonitor® von LAR) und gezielte Kampagnen (externe Durchführung)	Stetige Überwachung der Atmungshemmung und einmalige Kampagne mit weiteren Testsystemen	Stetige Überwachung der ARA-Toxizität; einmalige Untersuchung der Abwässer auf Toxizität
<b>D</b>	Atmungshemmtest Nitrifikationshemmtest	Leuchtbakterien Daphnien Algen	Stetige Überwachung der Pilot-ARA und gezielte Kampagnen	Stetige Überwachung der ARA-Toxizität und mehrmalige Biotest-Kampagnen in Vergangenheit	Stetige Überwachung und bedarfsweise zur konkreten Überprüfung (z.B. bei Einführung neuer Filtersystemen)
<b>E</b>	Atmungshemmtest Nitrifikationshemmtest	Leuchtbakterien Wasserlinsen Daphnien Algen	Regelmässige Durchführung von Atmungshemmtests im eigenen Labor und Biotests (extern)	Regelmässige Durchführung, 1x wöchentlich	Regelmässige Überwachung
<b>F</b>	Atmungshemmtest Nitrifikationshemmtest	-	Regelmässige Durchführung durch externes Labor	Regelmässige Durchführung	Neue Produktionslinien oder Erneuerung des Abwasserkatasters

#### **6.5.3.1.5 Erfahrungen**

Bei den befragten Betrieben unterscheiden sich die Erfahrungen mit dem Einsatz von Biotests. Zwar werden Biotests zur Abschätzung der Toxizität breit angewendet, Erfahrungen zum Einsatz von Systemen für die Abschätzung der Gesamt-Toxizität bestehen aber nur bei drei der befragten Betriebe (C, D und E).

Betrieb E machte gute Erfahrungen mit dem regelmässigen Einsatz von Biotests. Dieser Betrieb setzt seit einiger Zeit grundsätzlich auf die Beurteilung des biologisch gereinigten Abwassers mittels Biotests ergänzend zu chemischen Analysen. Dabei werden wöchentliche Untersuchungen des ARA-Auslaufs mit Wasserlinsen- und Algentests als Qualitätsprüfung der Abwassereinigung eingesetzt. In der Vergangenheit konnte durch den Einsatz dieser Biotests in einem Fall eine algentoxische Substanz, welche als Nebenprodukt in der Wirkstoffherstellung generiert wurde, in Kombination mit einer Zeitreihenanalyse detektiert und geeignete Optimierungen der Produktionsprozesse eingeleitet werden.

Betrieb C machte ebenfalls innerhalb einer vertieften Kampagne zur Qualitätsprüfung der eigenen Abwasserreinigungsanlage gute Erfahrungen mit dem Einsatz einer Biotestbatterie. Auf Grundlage der Anforderungen der deutschen Abwasserverordnung wurden durch die eingesetzten Tests einzig im Algentest eine Toxizität der gereinigten Abwässer angezeigt. Der Grossteil der eingesetzten Testsysteme zeigte keine toxischen Effekte an. Betrieb C plant nun der Algtoxizität in einer weiteren Kampagne nachzugehen z.B. durch Beprobung von Abwasserteilströmen und ist interessiert auch künftig vermehrt Biotests einzusetzen, um die Qualität der Abwasserreinigungsprozesse zu prüfen.

Betrieb D führte ebenfalls bereits Biotestkampagnen durch, z.B. zur Überwachung von Adaptionen in der Abwasserbehandlung. Für die Beurteilung einer neu eingesetzten Nanofiltration ist zurzeit eine einmalige Biotestkampagne in Planung. Zum jetzigen Stand sollen Biotests weiterhin nur innerhalb von Kampagnen bedarfsweise eingesetzt werden.

Betriebe A, B und F führten in Vergangenheit keine Biotests für die Abschätzung der Gesamtoxizität durch, sondern lediglich zur Überwachung der ARA-Toxizität (siehe oben). Weitergehende Biotestkampagnen waren zum Zeitpunkt der Befragung nicht in Planung.

#### 6.5.3.1.6 Fazit der Betriebsgespräche

- Die befragten Betriebe nutzen Biotests zur Abschätzung der ARA-Toxizität, um mögliche Effekte ihrer Betriebsabwässer auf die Kläranlage auszuschliessen. Die Atmungs- und Nitrifikationshemmung der Abwässer wird in allen befragten Betrieben (meist in Kombination mit dem Zahn-Wellens-Test) beurteilt.
- Der zeitliche Aufwand für die Durchführung des Abbautests (Zahn-Wellens-Test) und der Biotests wird als Herausforderung betrachtet. Zeitnahe Ergebnisse (insbesondere in Bezug auf den Abbautest) sind grundsätzlich wünschenswert.
- Ein Leitfaden für den Einsatz von Biotests für die Beurteilung der Gesamt-Toxizität wird als wichtig erachtet. Dabei ist es wünschenswert, nicht nur die Anwendung (wann, wie), sondern auch Unterstützung bei der Interpretation von Ergebnissen zu berücksichtigen. Die Interpretation der Ergebnisse von Biotests wird als schwierig und aufwändig eingeschätzt.
- Der Schutz der ARA-Biologie ist für die Betriebe von grösstem Interesse. Die Einleitung des Abwassers via eines Online-Toxizitätsanalysators zur Messung der Respirationshemmung stellt eine gute Möglichkeit zur Überwachung dar und wird bereits vereinzelt genutzt.
- Ein funktionierendes Online-Monitoringsystem basierend auf biologischen Endpunkten wird als sinnvoll empfunden, denn damit könnten direkte Effekte zeitnah gemessen werden, bevor die Abwässer in die Kanalisation geleitet werden.
- Die mögliche Rückverfolgung von toxischen Stoffrückständen an die Produktionsquelle und damit die Eröffnung einer Optimierung der Abwasserprozesse spielt beim bisherigen Vorgehen zumeist eine geringere Rolle.
- Aufgrund der Erfahrung in einem der befragten Betriebe kann die Kombination von Biotests mit chemischen non-Target-Analysen nützlich sein, da auf diese Art auch toxische Nebenprodukte detektiert werden können (mithilfe einer Zeitreihenanalyse).
- Die Umweltabteilungen sind meist offen für den Einsatz von biologischen Testmethoden, während die Produktionsabteilungen dem eher kritischer gegenüberstehen. Je nach Betriebsstruktur und Verantwortlichkeiten sind die Implementierung von neuen Methoden und Prozessanpassungen komplex.
- Bei Produktionsbetrieben fallen insbesondere bei Forschungs- und Entwicklungsschritten oftmals kleinere und daher «unrelevante» Mengen an, was betriebsintern eine aufwändige Beurteilung mit Biotests nicht rechtfertigt. Diese Abwässer werden dann direkt der Verbrennung/externen Entsorgung zugeführt.



- Wechselnde Produktionslinien oder Auftragsproduktionen sind eine grosse Herausforderung für ein effizientes Abwassermanagement. Oftmals ist es für die Betriebe sinnvoller, das Abwasser anderweitig zu entsorgen (z.B. Verbrennung), anstatt Abklärungen zur Toxizität durchzuführen, auch wenn diese Entsorgungswege teuer sind. Die Betriebe betonen die energetische und CO<sub>2</sub>-Belastung durch die Verbrennung von Abwässern.
- Das Interesse an möglichen persistenten Stoffeinträgen in die Gewässer ist in den befragten Betrieben geringer als das Interesse am Schutz ARA-Biologie. Aus Sicht der Betriebe ist die Aussage über die Abbaubarkeit der Produktionsabwässer grundsätzlich genügend, indem sie sich auf die Resultate aus Abbautests stützen. Verbleibende (persistente) toxische Rückstände werden durch Abbautests jedoch nicht berücksichtigt und können somit in die Gewässer gelangen.
- Die Durchführung von regelmässigen Biotest-Kampagnen oder die regelmässige Anwendung von geeigneten Testsystemen liefern wichtige Informationen über die Qualität der Abwasserreinigungsprozesse und ermöglichen die Detektion von toxischen Abwasserbestandteilen (z.B. Zwischen- und Nebenprodukte) oder von problematischen Prozessen (z.B. Reinigungsprozesse). Betriebe, die bereits über Erfahrung verfügten, verzichteten auch künftig nicht auf den Einsatz von Biotests.

#### **6.5.4 Ausweitung der Umfrage**

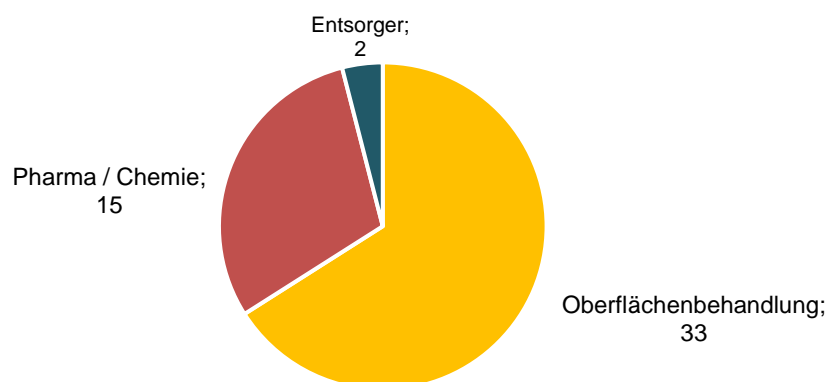
Die ausserordentliche Lage im Zusammenhang mit der Covid-19-Pandemie erschwerte den Kontakt mit den Ansprechpersonen in den Betrieben sowie nahm das Interesse an einem Austausch deutlich ab. Um die Erfahrungen und Bedürfnisse von weiteren Betrieben und anderen Branchen einzuholen, wurde eine Online-Umfrage erstellt. Die Online-Umfrage diente dazu auszumachen, ob die angefragten Betriebe und Branchen am Thema grundsätzlich interessiert sind und wo Erfahrungen in der Anwendung von Biotests bestehen. Zudem ermöglichte die Umfrage auch eine strukturiertere Auswertung der Antworten.

Auf Grundlage der Erkenntnisse aus der von der VSA-Plattform Verfahrenstechnik Mikroverunreinigungen erstellten Situationsanalyse wurden die Verbände der Metall- und Galvanikunternehmen sowie der Verband der Entsorgungsunternehmen für die Unterstützung bei der Umfrage angefragt.

Der Aufbau der Online-Umfrage orientierte sich am Ablauf der Betriebsgespräche. Das Ziel der Online-Umfrage war es aber nicht spezifische Informationen aus den Betrieben abzuholen, sondern einen Eindruck zum Wissensstand zu erhalten. Weiter war es das Ziel, die Betriebe für den Einsatz von Biotests zu sensibilisieren und auszumachen, welche Firmen für Rücksprachen oder weiterführende Projekte in Frage kommen könnten. In Absprache mit der VSA-Plattform Verfahrenstechnik Mikroverunreinigungen wurden zuerst Fragen zum generellen Vorgehen in der Abwasserentsorgung gestellt und schliesslich auf die Erfahrungen in der Anwendung von Abbautests eingegangen. Das Ziel war es hier, die Bedürfnisse im Hinblick auf die Entwicklung eines verkürzten Abbautests abzuschätzen. Im letzten Teil der Umfrage wurde auf die Anwendung von Biotests eingegangen, um den Kenntnisstand in diesem Bereich auszumachen und die Bereitschaft für einen Einsatz von Biotests abzuwägen. Die Fragen der Umfrage sind im Anhang zu finden.

#### 6.5.4.1 Ergebnisse der Online-Umfrage

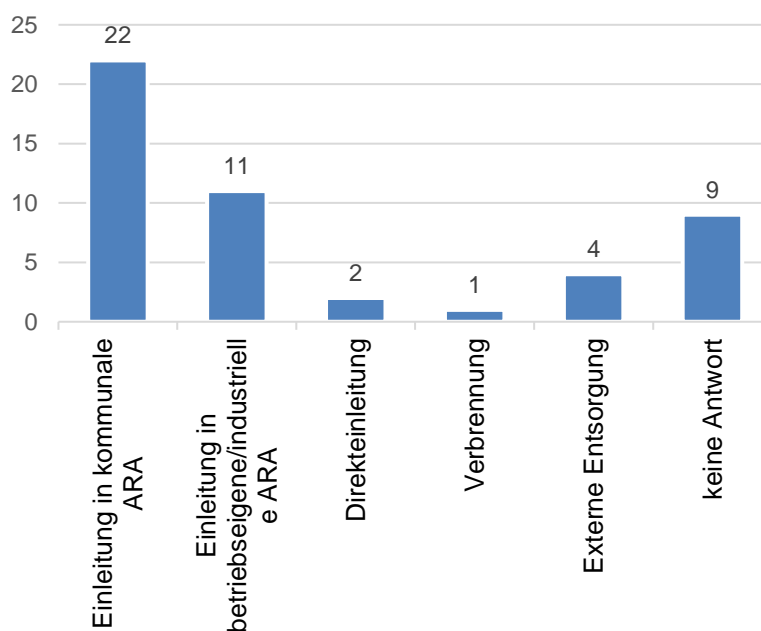
Die Online-Umfrage wurde von Juli 2020 bis im Oktober 2020 zu unterschiedlichen Zeiten an die Kontaktlisten der ausgewählten Branchenverbände versandt. Insgesamt 50 Betriebe nahmen an der Umfrage teil. In **Abbildung 10** ist die Aufteilung der Umfrageteilnehmenden auf die drei befragten Branchen ersichtlich. Zwei Drittel der teilnehmenden Betriebe stammt aus der Metallbranche, knapp ein Drittel gehört zu der Pharma- und Chemiebranche, während lediglich zwei Betriebe aus der Entsorgungsbranche teilnahmen.



**Abbildung 10** Verteilung der teilnehmenden Betriebe auf die befragten Branchen. Der grösste Teil stammt aus der Oberflächenbehandlung (gelb), gefolgt von der Pharma-/Chemiebranche (rot) und einem vernachlässigbaren Anteil Entsorgungsunternehmen (blau).

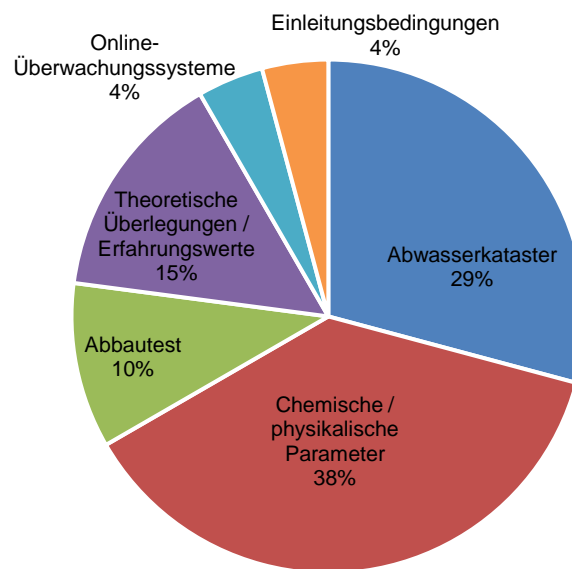
Aufgrund der optionalen Fragestruktur mussten nicht alle Fragen zwingend beantwortet werden sowie waren es bei einigen Fragen Mehrfachantworten möglich. Im Folgenden werden die schlüssigsten Antworten zu den drei Themenbereichen Abwasserentsorgung, Abbautest und Biotest aufgeführt.

Von insgesamt 50 teilnehmenden Betriebe fällt bei 44 Betrieben in der Produktion Abwasser an. Das anfallende Betriebsabwasser wird jeweils auf unterschiedlichem Weg entsorgt, wie dies in **Abbildung 11** ersichtlich ist. Die Hälfte der befragten Betriebe leitet in eine kommunale ARA ein (davon 9 aus Pharma/Chemie, 13 aus Oberflächenbehandlung und 1 Entsorger), ein Viertel der Betriebe führt ihre Abwässer ausschliesslich oder zusätzlich in eine eigene Betriebskläranlage und/oder in eine industrielle ARA (davon 5 aus Pharma/Chemie, 6 aus Oberflächenbehandlung und 1 Entsorger). Nur wenige Betriebe leiten direkt ins Gewässer ein oder lassen die Abwässer extern entsorgen oder verbrennen. Es lässt sich jedoch festhalten, dass die fachgerechte Entsorgung auf die jeweilige Produktionslinie ankommt, weshalb einzelne Betriebe mehrere Entsorgungswege anwenden.



**Abbildung 11** Übersicht der unterschiedlichen Entsorgungswege der Betriebsabwässer. Die meisten befragten Betriebe leiten in eine kommunale ARA ein, während ein Viertel über eine eigene Betriebskläranlage verfügt oder in eine grössere Industriekläranlage einleitet. Der Anteil anderer Entsorgungswege für die Betriebsabwässer direkt in den Vorfluter, in die Verbrennung oder in die externe Entsorgung sind vernachlässigbar.

Die Entscheidung über den Entsorgungsweg der Betriebsabwässer unterscheidet sich für die einzelnen Betriebe (siehe **Abbildung 12**). Um die Einleitungsbedingungen einzuhalten, werden die Abwässer meist auf chemische und/oder abiotische Parameter untersucht, wie dies von 38% der befragten Betriebe bestätigt wurde (davon 8 aus Pharma/Chemie, 10 aus Oberflächenbehandlung und 1 Entsorger). Über die Entsorgung wird aber in rund einem Drittel der Betriebe auch über die Vorgaben in den Abwasserkataster und aufgrund von Einleitungsbedingungen entschieden. Sieben Betriebe führen theoretische Berechnungen durch und/oder stützen sich auf Erfahrungswerte. Nur insgesamt 10% der Betriebe wenden Abbautests an und zwei Betriebe verfügen über Online-Überwachungssysteme.

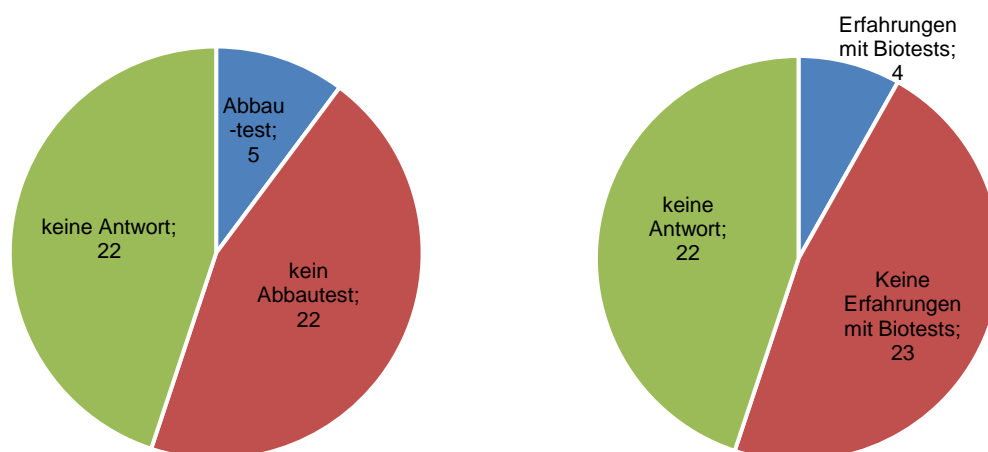


**Abbildung 12** Übersicht der Entscheidungsgrundlagen für die Entsorgung der Betriebsabwässer in allen Branchen. Die meisten befragten Betriebe stützen sich auf chemische Untersuchungen, gefolgt von den Angaben im Abwasserkataster. Nur einzelne Betriebe wenden theoretische Überlegungen und Erfahrungswerte an. Abbautests werden nur von insgesamt fünf Betrieben angewendet und zwei Betriebe verfügen über ein Online-Toxizitätsüberwachungssystem.

Abbautests werden gemäss Auskunft der befragten Betriebe nur von insgesamt fünf Betrieben verwendet (davon alle aus Pharma/Chemie). Wie in **Abbildung 13** ersichtlich wurde die Frage jedoch nur von rund der Hälfte der Betriebe beantwortet. Dies, und die Tatsache, dass gemäss **Abbildung 12** mehrere Betriebe auf Grundlage eines Abwasserkatasters über den Entsorgungsweg entscheiden, lässt vermuten, dass der Anteil von Betrieben, die einen Abbautest

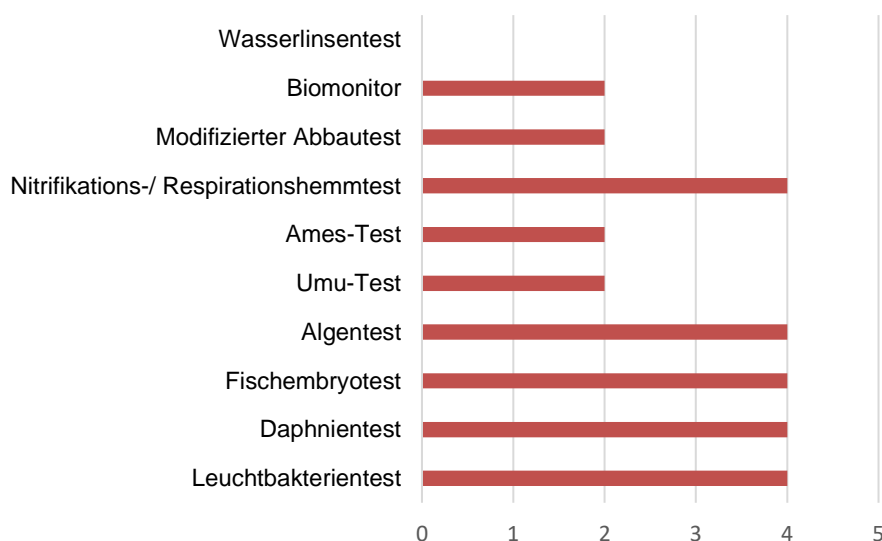
durchführen in der Realität grösser ist. Erwartungsgemäss werden aber Abbautests vornehmlich in der Pharma-/Chemie-Branche eingesetzt und finden in der Metall- oder Entsorgungsin-  
dustrie wenig Verwendung.

Dieselben Bedingungen und Argumente treffen auch auf die Anwendung von Biotests zu (siehe **Abbildung 13**). Insgesamt vier der befragten Betriebe, die diese Frage beantwortet haben, ga-  
ben Erfahrungen mit Biotests an (davon 3 aus Pharma/Chemie und 1 Entsorger).



**Abbildung 13** Übersicht der Betriebe, die gemäss eigener Auskunft einen Abbautest durchführen und/oder bereits Erfahrungen mit der Anwendung von Biotests gemacht haben. Rund die Hälfte der befragten Betriebe beantwortete die beiden Fragen nicht, wes-  
halb der Anteil der Betriebe, die einen Abbautest durchführen vermutlich grösser einzuschätzen ist (z.B. zur Erstellung eines Ab-  
wasserkataster). Der Anteil Betriebe, der bereits Erfahrungen mit der Durchführung von Biotests hat, ist erwartungsgemäss relativ  
gering, jedoch wurde auch diese Frage nicht von allen teilnehmenden Betrieben beantwortet.

Bei den insgesamt vier Betrieben (siehe **Abbildung 13**), die bereits Erfahrungen mit der Durch-  
führung von Biotests gemacht haben, wurden unterschiedliche Testsysteme eingesetzt (siehe  
**Abbildung 14**). Bewährte Systeme wie Leuchtbakterien-, Daphnien-, Algen-, Fischembryo oder  
-ei sowie der Respirations- und Nitrifikationshemmtest wurden von allen vier Betrieben einge-  
setzt. Spezifischere Testsysteme z.B. zur Detektion von mutagenen Rückständen wurden weni-  
ger häufig verwendet. Biomonitoring zur Toxizitätsüberwachung und der modifizierte Abbautest  
wurden ebenfalls nur in zwei Betrieben eingesetzt, während der Wasserlinsentest gänzlich nicht  
bekannt ist. Es ist überraschend, dass der modifizierte Abbautest (Zahn-Wellens-Test in Kombi-  
nation mit Nitrifikationshemmtest) nicht häufiger angewendet wird, es kann aber nicht ausge-  
schlossen werden, dass entweder der Begriff nicht verständlich war oder dieser nicht als Biotest  
eingeordnet wurde.



**Abbildung 14** Übersicht der eingesetzten Biotestsysteme, die bereits von den befragten Betrieben eingesetzt wurden. Bewährte Systeme mit Belebtschlamm zur Abschätzung der Nitrifikations- und Respirationshemmung sowie Tests mit Algen, Fischembryonen, Daphnien und Leuchtbakterien wurden von allen Betrieben eingesetzt, die bereits über Erfahrungen mit Biotests verfügen. Spezifischere Testsysteme wie der Ames- oder Umu-Test kamen weniger häufig zum Einsatz. Biomonitore zur Online-Toxizitätsüberwachung und den modifizierten Abbautest setzten zwei Betriebe ein. Zum Wasserlinsentest besteht keine Erfahrung.

#### 6.5.4.2 Einordnung der Ergebnisse aus der Online-Umfrage

- Die Online-Umfrage hatte nicht prioritär zum Ziel, detaillierte und abschliessende Antworten zu der Abwasserbehandlung, zu der Anwendung von Abbautests und zur Durchführung von Biotests zu generieren. Vielmehr sollte ein erster Eindruck entstehen, ob in den befragten Branchen ein Interesse zum Thema besteht und welche Betriebe für allfällige weiterführende Auskünfte und Projekte angefragt werden können.
- Aufgrund der gewählten «optionalen» Fragestruktur (Mehrfachantworten möglich, keine zwingende Beantwortung einzelner Fragen, Umfrage musste nicht beendet werden), sind die quantitativen Ergebnisse kritisch zu betrachten, da nicht alle Betriebe die Umfrage bis zum Ende durchführten oder einzelne Antworten bewusst nicht beantwortet wurden. Von insgesamt 50 teilnehmenden Betrieben beendete nur die Hälfte die Umfrage (davon 7 aus Pharma/Chemie, 16 Oberflächenbehandlung und 1 Entsorger).
- In zwei Fällen ist bekannt, dass Unternehmen aus der Betriebsbefragung auch an der Online-Umfrage teilgenommen haben. Die Erfahrungen von zwei Betrieben erscheinen sowohl in den Erkenntnissen aus den Betriebsbefragungen (unter 6.5.3) und in den Ergebnissen

der Online-Umfrage (unter 6.5.4.1). In weiteren unbekannten Fällen (aufgrund einer anonymen Teilnahme) sind redundante Beantwortungen ebenfalls möglich, was nachträglich nicht mehr zurückverfolgt werden kann.

- Wie sich schon in den Betriebsgesprächen zeigte, ist die Unterscheidung von Abbautests und Biotests schwierig, da es sich in beiden Fällen um biologische Testmethoden handelt. Zwar wurde der Unterschied der beiden Tests zu Beginn der Umfrage definiert, jedoch sind Verwechslungen oder Vermischungen stets möglich. Die Definition des «modifizierten Abbautest» (z.B. Stucki-Test) könnte ebenfalls unklar gewesen sein, was ebenfalls erklären würde, weshalb nur so wenige Antworten darauf fielen.
- Die Online-Umfrage wurde von den Branchenverbänden an die Umweltfachpersonen in den Betrieben versandt. Je nach Unternehmensstruktur wurden allenfalls nicht die für die Abwasserentsorgung verantwortlichen Ansprechpersonen erreicht, weshalb einzelne Detailantworten fehlerhaft sein könnten (z.B. Unterschiede der Tests, Anwendung von Abbautests etc.) oder an der Umfrage aus fehlendem Interesse nicht teilgenommen wurde.
- Generell besteht die Möglichkeit, dass das Wissen zu der Anwendung von Tests nicht aktuell ist, beispielsweise wenn dieses bei Personalwechsel nicht weitergegeben wurde oder durch nicht vorhandene fachliche Kenntnisse.

## **6.6 Zusammenfassung der Erfahrungen zum Einsatz von Biotests in der Schweiz**

Der Austausch mit den Kantonen, Branchenverbänden und Betrieben zeigte, dass die Erfahrungen im Einsatz von Biotests für die Beurteilung von Industrieabwässern in der Schweiz gering sind. Die Anwendung von biologischen Testsystemen beschränkte sich in den meisten Fällen auf die Abschätzung der Toxizität für die ARA-Biologie, d.h. auf die Anwendung des Nitrifikations- und Respirationshemmtests.

Jedoch konnte ebenfalls aufgezeigt werden, dass das Interesse an der Entwicklung geeigneter Instrumente für die Identifizierung von problematischen Abwässern bei allen beteiligten Akteuren besteht.

Auf Behördenseite ist die Handhabung aufgrund fehlender gesetzlicher Vorgaben beschränkt. Es sind daher auch wenige Kenntnisse (und keine Daten) zum Einsatz von Biotests in den Betrieben vorhanden. Vorgehensempfehlungen könnten für die Kantone hilfreich sein, damit geeignete Tests eingesetzt und interpretiert werden können. Die Vorgaben dazu könnten dann beispielsweise in die Betriebs- oder Einleitungsbedingungen aufgenommen werden.

Bei den Betrieben liegt der Fokus v.a. auf dem Schutz der ARA, jedoch ist auch die Qualitätsprüfung der eigenen Vorbehandlungs- und Abwasserreinigungsprozesse von Bedeutung. Einzelne Betriebe setzen dabei auf den regelmässigen Einsatz von Biotestsystemen, meist aber werden Biotests nur in spezifischen Messkampagnen eingesetzt.

Für die Betriebe sind zeitnahe und aussagekräftige Ergebnisse relevant, um Produktionsabwässer zu beurteilen. Die Entwicklung eines verkürzten Abbautests ist deshalb für die Abschätzung der Abbaubarkeit (und die ARA-Toxizität), aber auch für eine praktische Anwendung einer Biotestbatterie erforderlich.

Für eine praktische Anwendung von Biotests und die Interpretation der Daten fehlen in der Schweiz Vorgehensempfehlungen. Das Bedürfnis zur Entwicklung eines Leitfadens und einer geeigneten Interpretationshilfe für den Einsatz von Biotests für die Beurteilung von Industrieabwässern besteht seitens Behörden, Branchenverbänden und den Betrieben.



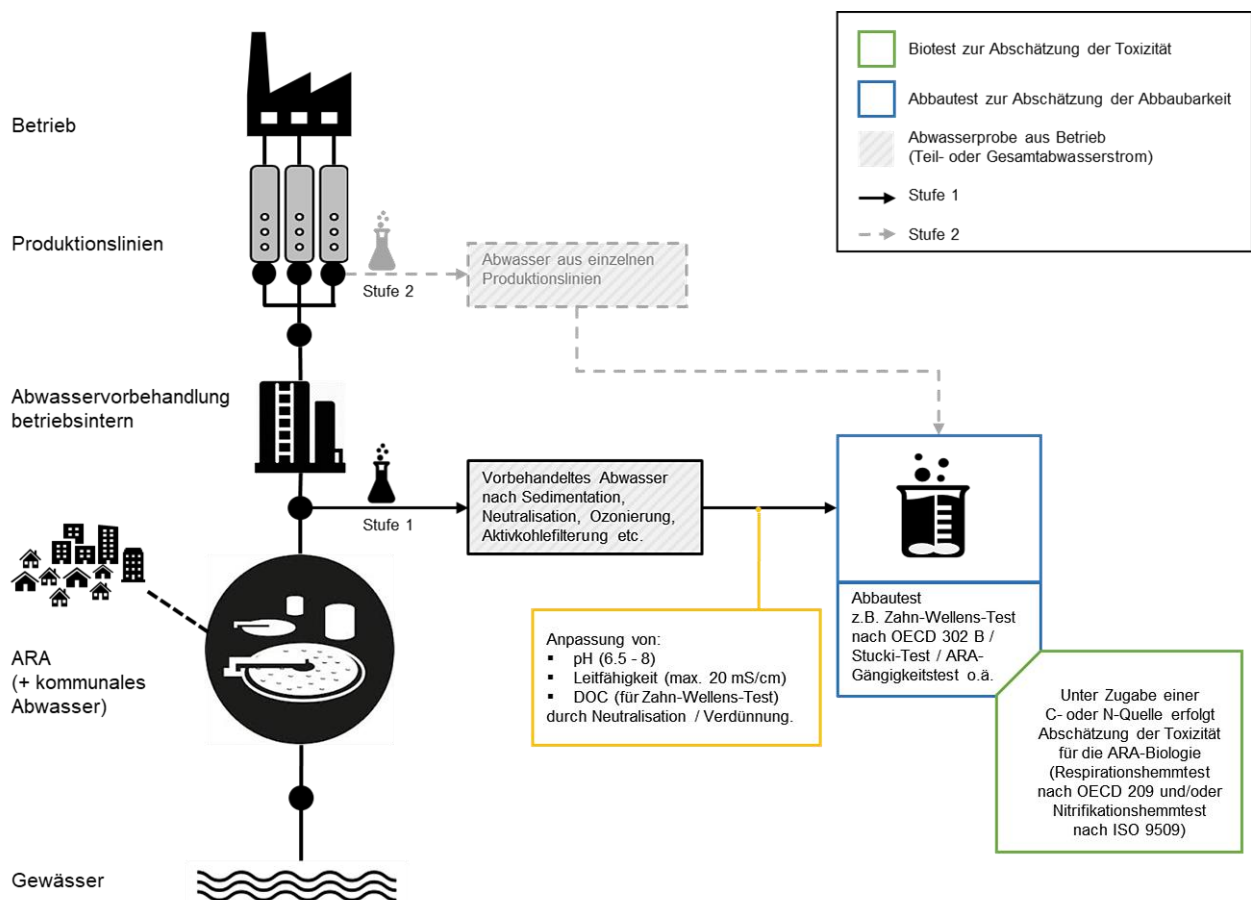
## 7 Untersuchungskonzept zur Beurteilung von Industrieabwässern

### 7.1 Untersuchungskonzept

Die Kombination von Abbautest und Biotest zur Beurteilung von Industrieabwässern wurde als vielversprechendes Vorgehen identifiziert (z.B. Gartiser et al., 2009; Otto et al., 2020). Das hier vorgeschlagene anwendungsorientierte kombinierte Untersuchungskonzept (**Abbildung 16**) entwickelt diese Ideen weiter und soll dazu dienen, Abwasserproben mit persistenten Stoffrückständen mit toxischem Potential im Betriebsabwasser zu detektieren. Durch diese Erkenntnisse eröffnen sich neue Möglichkeiten des Abwassermanagements und dessen Optimierung direkt an der Quelle.

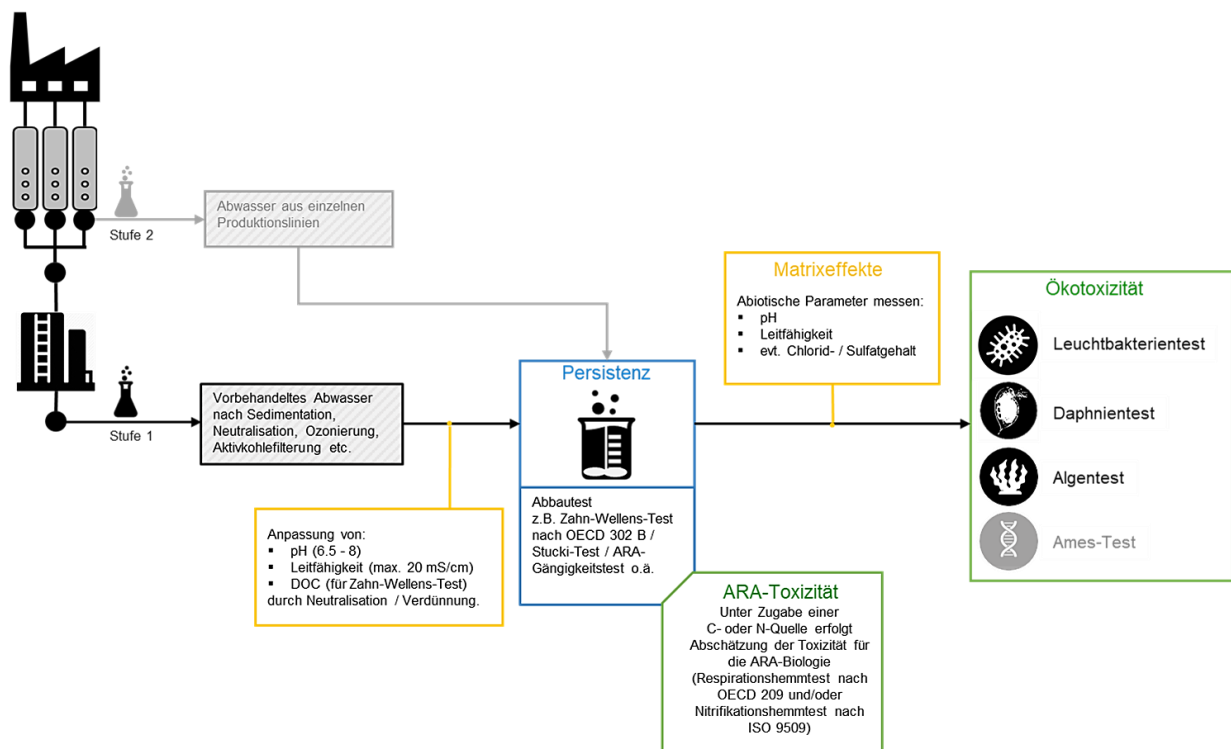
Das vorgeschlagene Untersuchungskonzept in **Abbildung 16** zeigt die einzelnen Vorgehensschritte auf, **Abbildung 19** und **Abbildung 20** dienen als Interpretationshilfe für die Abschätzung der Toxizität und die Salzkorrektur. Das Untersuchungskonzept wird im Folgenden schrittweise erläutert.

**Abbildung 15** zeigt auf, wo die Probenahme des Abwassers im Betrieb erfolgen soll. Zur Abschätzung der Persistenz wird das vorbehandelte Betriebsabwasser (Gesamtabwasserstrom) in der ersten Stufe (Stufe 1) vor der Einleitung in die ARA in einen Abbautest überführt (blauer Kasten; z.B. Zahn-Wellens-Test, Stucki-Test oder ARA-Gängigkeitstest), um die biologische Behandlung der ARA zu simulieren. Abiotische Parameter wie pH, Leitfähigkeit oder DOC müssen in diesem Schritt auf die vorgegebenen Bedingungen für den gewählten Abbautest angepasst werden (gelber Kasten). Unter Zugabe einer Kohlenstoff- bzw. Stickstoffquelle, wie dies z.B. innerhalb des Stucki-Tests vorgesehen ist, wird bereits überprüft, ob eine ARA-Toxizität besteht (grüner Kasten). Der Schutz der ARA steht für die Betriebe an hoher Stelle und ermöglicht eine erste ökotoxische Einschätzung durch den Abbautest in Kombination mit einem Respirations- und einem Nitrifikationshemmtest. In Stufe 2 erfolgt die Untersuchung des Abwassers aus einzelnen Produktionslinien (Teilabwasserstrom), wenn die Ursachensuche von problematischen Stoffen angegangen wird oder wenn nur eine einzelne Produktion z.B. bei Neueinführungen untersucht wird (hellgrau, gestrichelt).



**Abbildung 15** Vorgehen zur Abschätzung der Persistenz und der ARA-Toxizität. In Stufe 1 werden die vorbehandelten Abwässer (Gesamtabwasserstrom) in einen Abbautest (z.B. Zahn-Wellens-Test) geführt (blau), um eine biologische Behandlung zu simulieren. Um keine Effekte aufgrund von abiotischen Faktoren im Abbautest zu generieren, wird der pH angepasst und die Probe verdünnt bis die Leitfähigkeit und der DOC in dem für den gewählten Abbautest zulässigen Bereich liegen (gelb). Unter Zugabe einer Kohlenstoff- (C) oder Stickstoff-(N) Quelle kann innerhalb des Abbautests zusätzlich die ARA-Toxizität abgeschätzt werden (grün: Nitrifikations- und/oder Respirationshemmtest). In Stufe 2 wird das Abwasser aus einzelnen Produktionslinien ebenfalls auf die Persistenz und ARA-Toxizität untersucht (hellgrau/gestrichelt).

Wie in **Abbildung 16** ersichtlich, wird die biologisch behandelte Abwasserprobe anschliessend mit einer Biotestbatterie (grüner Kasten) bestehend aus einem Leuchtbakterientest, einem Daphnientest und einem Algentest (sowie fakultativ bei Verdacht auf mutagene Substanzen einem Ames-Test) auf deren toxisches Potential untersucht. Zuvor müssen die abiotischen Parameter wie pH, Leitfähigkeit, Salzgehalt (Chlorid/Sulfat) gemessen werden (gelber Kasten), um mögliche Matrixeffekte innerhalb der angewendeten Biotests abzuschätzen. Damit keine Matrixeffekte erwartet werden, muss der organismusspezifische Bereich der einzelnen Testorganismen eingehalten werden (= EC<sub>20</sub> experimentell ermittelt, siehe 7.2 oder **Abbildung 19**).

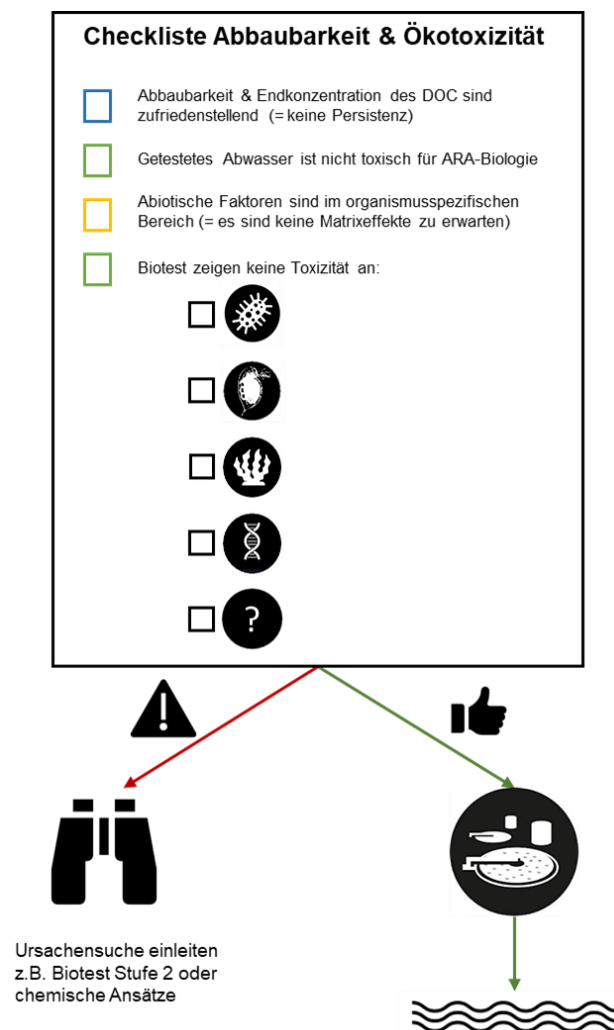


**Abbildung 16** Die biologisch behandelte Abwasserprobe wird nach Abschätzung der Persistenz und der ARA-Toxizität auf deren pH, die Leitfähigkeit und evt. ihren Salzgehalt überprüft, um mögliche Matrixeffekte innerhalb der angewendeten Biotests abzuschätzen. Anschliessend wird die Probe in einer Biotestbatterie bestehend aus einem Leuchtbakterientest, einem Daphnientest, einem Algentest und optional in einem Ames-Test (z.B. bei Verdacht auf mutagene Substanzen) untersucht.

Nach Durchführung der Biotests wird mittels Checkliste «Abbaubarkeit & Ökotoxizität» (siehe **Abbildung 17**) überprüft, ob die einzelnen Vorgaben (Persistenz, ARA-Toxizität, Matrixeffekte und Ökotoxizität) für die Einleitung in die ARA erfüllt werden. Sofern alle *Checkboxen* in der Checkliste erfüllt werden, sind keine toxischen Rückstände zu erwarten und das spezifische Abwasser aus dem Betrieb kann in Bezug auf die Abbaubarkeit und Ökotoxizität in die ARA eingeleitet werden. Werden einzelne Punkte der Checkliste nicht erfüllt (z.B. Probe ist nur ungenügend abbaubar (= persistent) oder es besteht die Möglichkeit einer ARA-Toxizität) oder zeigt die Probe in mindestens einem Biotest eine Toxizität an (siehe 7.2), ist eine Ursachensuche in Erwägung zu ziehen. Als nicht toxisch ist ein Abwasser einzuordnen, wenn dieses bei 50% Verdünnung keinen  $EC_{50}$  (= TU von  $2^{64}$ ) erreicht (siehe 7.2).

<sup>64</sup>TU = Toxic Unit, wird mit folgender Formel berechnet:  $TU = 100/EC_{50}$ . Umgerechnet bedeutet TU = 2: ein untersuchtes Abwasser (biologisch behandelt) darf in Verdünnungsstufe 2, also bei 50% Verdünnung, noch einen  $EC_{50}$ , das heisst bei 50% der getesteten Organismen einen Effekt auslösen. Bei höheren Werten gilt das Abwasser als toxisch.

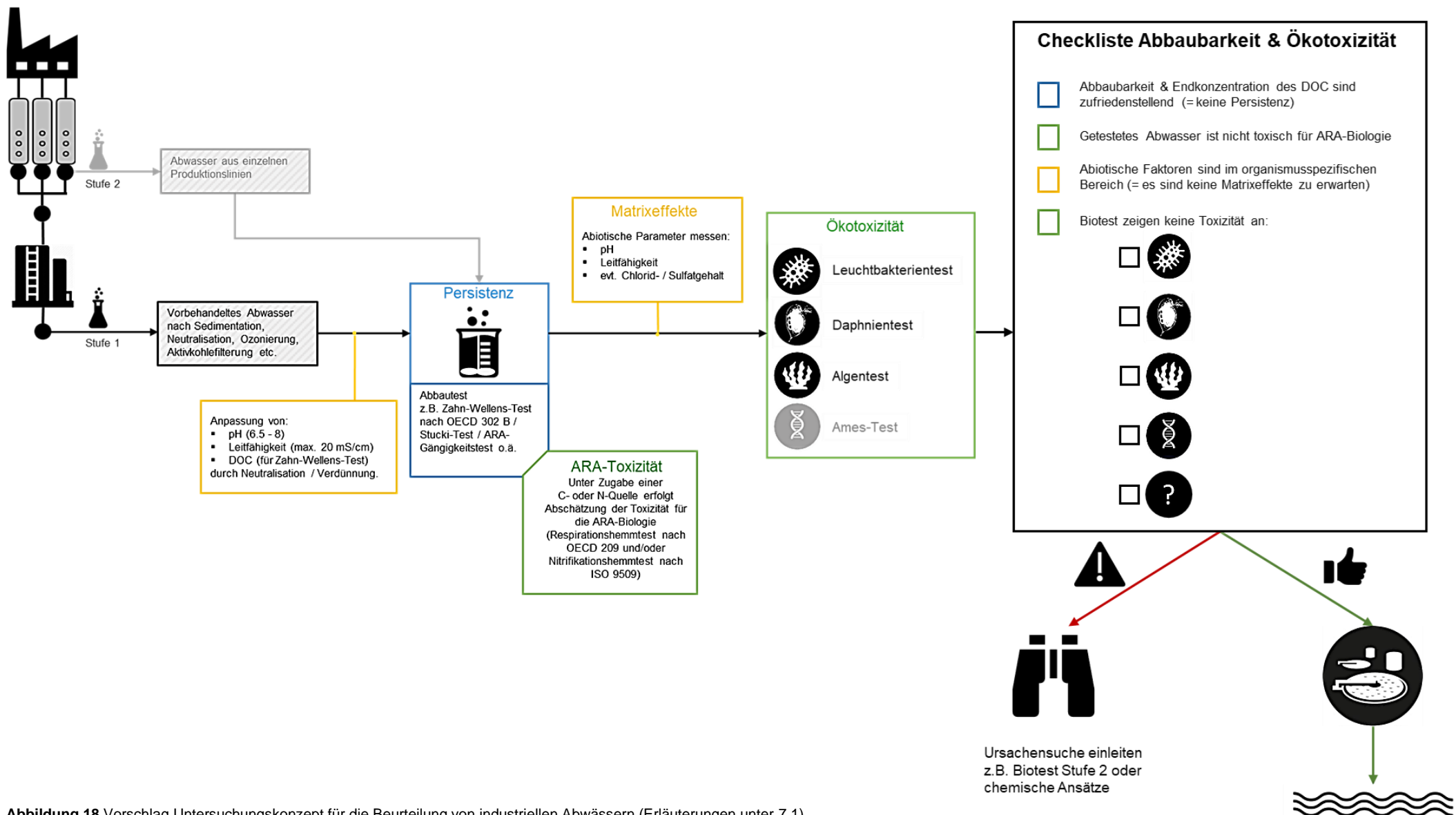
Die Ursachensuche kann beispielsweise nur durch chemische Analysen erfolgen oder aber chemische Untersuchungen in Kombination mit wiederholten Biotestuntersuchungen einbeziehen (z.B. innerhalb Stufe 2). Zur Eingrenzung innerhalb der Ursachensuche und für mögliche betriebliche Prozessoptimierungen ist es dienlich, die Untersuchung von Abwässern aus den einzelnen Produktionslinien (Stufe 2) analog zur Stufe 1 durchzuführen.



**Abbildung 17** Checkliste zur Überprüfung der einzelnen Schritte im Untersuchungskonzept. Wenn alle Checkboxen erfüllt werden, kann das getestete Abwasser in das Gewässer eingeleitet werden. Werden nicht alle vorgegebenen Punkte eingehalten oder zeigt die Probe in einem Biotest eine Toxizität an, muss die Ursachensuche (chemische Ansätze oder durch weiterführende Biotests z.B. von Stufe 2) eingeleitet werden.

Insgesamt wird das Vorgehen für die Untersuchung von Betriebsabwässern abgekürzt, wenn ein Betrieb über eine betriebseigene ARA verfügt, ohne dass eine Verdünnung durch andere Abwässer (z.B. durch Einleitung anderer Betriebe) erfolgt. In diesem Szenario kann das biologisch gereinigte Abwasser aus der ARA direkt mit Biotests untersucht werden, ohne Durchführung eines Abbautests.

In **Abbildung 18** ist das gesamte Untersuchungskonzept ersichtlich. Als Interpretationshilfe für die Biotests und die «Salzkorrektur» dient **Abbildung 19** (Erläuterungen unter 7.2).



**Abbildung 18** Vorschlag Untersuchungskonzept für die Beurteilung von industriellen Abwässern (Erläuterungen unter 7.1).

## 7.2 Interpretationshilfe - Abschätzung der Toxizität und Salzkorrektur

Insbesondere in den Branchen Chemie/Pharma oder Sonderabfallentsorgung treten erhöhte Salzkonzentrationen in den Abwässern auf. Diese erhöhten Salzkonzentrationen können einen Einfluss auf die im Biotest eingesetzten Organismen haben und Toxizitätseffekte in den Biotests anzeigen. Um keine verfälschten Resultate aufgrund des erhöhten Salzgehalts zu generieren, ist es wichtig, neben einem Untersuchungskonzept ein systematisches Vorgehen für die Abschätzung von möglichen Effekten aufgrund von Abweichungen im Salzgehalt (messbar aufgrund einer hohen Leitfähigkeit) zu verfolgen (**Abbildung 19**).

Innerhalb der durchgeführten Biotests (grüner Kasten), gemäss des in **Abbildung 18** (unter 7.1) vorgeschlagenen Untersuchungskonzepts, werden jeweils Verdünnungsreihen der Abwasserprobe angesetzt, um daraus eine Dosis-Wirkungsbeziehung zu erstellen (siehe 2.2.1 für Erläuterungen). Die Verdünnungsreihen werden meist in einem jeweiligen Verhältnis von 1:2 angesetzt (d.h. Stufe 1: 100% Abwasserprobe, Stufe 2: 50% Abwasser / 50% Testmedium, Stufe 3: 25% Abwasser / 75% Testmedium, usw.). Das Verdünnungsverhältnis kann bedarfsweise angepasst werden.

In der höchsten gewählten Konzentration der Abwasserprobe (Verdünnungsstufe 1: 100% Abwasser) wird die Leitfähigkeit (sowie evt. der Gehalt an Chlorid und Sulfat) gemessen und notiert (gelber Kasten). Aufgrund der gemessenen Leitfähigkeit kommen drei unterschiedliche Szenarien zum Einsatz:

- **Szenario 1: Leitfähigkeit liegt im organismusspezifischen Bereich**

Liegt die Leitfähigkeit in Verdünnungsstufe 1 im organismusspezifischen Bereich<sup>65</sup> (d.h. wird der experimentell ermittelte  $EC_{20}$  für die Leitfähigkeit der einzelnen Testorganismen nicht erreicht), werden die vorgeschlagenen Biotests in der gewählten Verdünnungsreihe (meist im Verhältnis 1:2, siehe oben) durchgeführt.

<sup>65</sup> Provisorische Maximalwerte der geduldeten Leitfähigkeit (LF) für Daphnien (D), Algen (A) und Leuchtbakterien (L) liegen bei  $LF_D = 6 \text{ mS/cm}$ ;  $LF_A = 6 \text{ mS/cm}$  und  $LF_L = 73 \text{ mS/cm}$ . Die provisorischen Maximalwerte basieren auf experimentell ermittelten  $EC_{20}$ -Werten und sind noch zu verifizieren.

Aufgrund der erhobenen Effekte in den einzelnen Verdünnungen des Biotests wird schliesslich eine Dosis-Wirkungsbeziehung erstellt und der  $EC_{50}$ -Wert, d.h. diejenige Verdünnung, bei der die Hälfte der Organismen einen toxischen Effekt aufzeigen, hergeleitet (siehe 2.2.1). Der  $EC_{50}$ -Wert ist wiederum die Basis, um die *Toxic Unit* (TU = toxische Einheit)<sup>66</sup> zu berechnen ( $TU = 100/EC_{50}$ ).

Liegen nun die berechneten TU für einen Biotest unter 2 ( $TU \leq 2$ ), ist im vorgeschlagenen Beurteilungskonzept keine relevante Toxizität zu erwarten. Übersetzt heisst der Wert  $TU = 2$ <sup>67</sup>, dass bei der Verdünnung der Probe mit Faktor 2 (also zu 50% Verdünnung) ein  $EC_{50}$  erreicht werden darf. D.h. es tritt bei 50% der getesteten Organismen ein Effekt auf.

Wird der Wert von  $TU = 2$ <sup>68</sup> jedoch überschritten ( $TU > 2$ ), weist die Probe eine Toxizität auf, weshalb die Ursachensuche (siehe **Abbildung 18**) in Erwägung gezogen werden kann (z.B. durch Untersuchung der Abwässer einzelner Produktionslinien in Stufe 2).

#### ▪ **Szenario 2: Leitfähigkeit liegt nicht im organismusspezifischen Bereich**

Liegt die Leitfähigkeit in Verdünnungsstufe 1 nicht im organismusspezifischen Bereich<sup>69</sup> (d.h. wird der experimentell ermittelte  $EC_{20}$  für die Leitfähigkeit der einzelnen Testorganismen erreicht), ist die Probe zu verdünnen bis die Leitfähigkeit im Toleranzbereich des Testorganismus liegt. Anschliessend ist die Verdünnungsreihe für den Biotests ausgehend von dieser Verdünnung (= Verdünnungsstufe X) neu anzusetzen. Hier wird in den meisten Fällen ein Verdünnungsverhältnis von 1:2 (siehe oben) gewählt, grundsätzlich kann der Verdünnungsfaktor jedoch angepasst werden.

<sup>66</sup> Definition von *Toxic Unit* und die offizielle Berechnung gemäss WEA Guidance Report (OSPAR Commission (2007)).

<sup>67</sup> Umgerechnet bedeutet  $TU = 2$ : ein untersuchtes Abwasser (biologisch behandelt) darf in Verdünnungsstufe 2, also bei 50% Verdünnung, noch einen  $EC_{50}$ , das heisst bei 50% der getesteten Organismen einen Effekt auslösen. Bei höheren Werten gilt das Abwasser als toxisch.

<sup>68</sup> Bei der Untersuchung von Gewässerproben und unverschmutzten Abwasserproben ist eine grundlegende «Hintergrund-Toxizität» (*Background*) zu erwarten, was den Wert  $TU = 2$  rechtfertigt und bedeutet, dass die gemessenen toxischen Effekte nicht der Probe zugeordnet werden können.

<sup>69</sup> Provisorische Maximalwerte der geduldeten Leitfähigkeit (LF) für Daphnien (D), Algen (A) und Leuchtbakterien (L) liegen bei  $LF_D = 6 \text{ mS/cm}$ ;  $LF_A = 6 \text{ mS/cm}$  und  $LF_L = 73 \text{ mS/cm}$ . Die provisorischen Maximalwerte basieren auf experimentell ermittelten  $EC_{20}$ -Werten und sind noch zu verifizieren.



Aufgrund der erhobenen Effekte in den einzelnen Verdünnungen des Biotests wird schliesslich eine Dosis-Wirkungsbeziehung erstellt und der  $EC_{50}$ -Wert, d.h. diejenige Verdünnung, bei der die Hälfte der Organismen einen toxischen Effekt aufzeigen, hergeleitet (siehe 2.2.1). Der  $EC_{50}$ -Wert ist wiederum die Basis, um die *Toxic Unit* (TU = toxische Einheit)<sup>70</sup> zu berechnen ( $TU = 100/EC_{50}$ ).

Aufgrund der erfolgten Verdünnung zum Erreichen des organismusspezifischen Bereichs muss dieser Verdünnungsfaktor nun in die Beurteilung der ermittelten TU eingerechnet werden. Die Verdünnung aufgrund des erhöhten Salzgehalts stellt ein Kompromiss dar, da möglicherweise Substanzen in der Probe unterhalb des Sensitivitätslimits im Biotest mitverdünnt werden. Gleichzeitig soll der verursachende Betrieb durch erhöhte Salzgehalte nicht mit falsch-positiven Ergebnissen konfrontiert werden, die evt. Konsequenzen mit sich bringen könnten.

Zu diesem Zweck wird diejenige Verdünnungsstufe X, die als Ausgangsverdünnung gewählt wurde und bei der die Probe im organismusspezifischen Bereich liegt, in die Beurteilung mit eingerechnet. Der Wert von X wird dann als TU eingesetzt, die nicht erreicht werden sollten ( $TU < X$ ). Wenn also im Biotest kein  $EC_{50}$  berechnet werden kann, wird der Wert X (die TU liegen also unter der Verdünnungsstufe X) nicht erreicht und das Abwasser kann eingeleitet werden.

Wird der Wert X erreicht oder überschritten ( $TU = X$  oder  $TU > X$ ), bedeutet dies, dass ein  $EC_{50}$  in der Probe ermittelt wurde, der trotz der Verdünnung der Probe sichtbar wurde. Die toxischen Effekte werden möglicherweise durch die Exposition des Abwassers und nicht durch den erhöhten Salzgehalt hervorgerufen. Das Abwasser wird demnach als toxisch beurteilt und eine Ursachensuche sollte in Erwägung gezogen werden (siehe **Abbildung 18**).

- **Szenario 3: Verdünnte Probe aus dem Abbautest, Leitfähigkeit liegt (nicht) im organismusspezifischen Bereich**

Bei stark salzhaltigen Abwässern (Leitfähigkeit > 20 mS/cm) erfolgt bereits ein erster Verdünnungsschritt vor der Durchführung des Abbautest (siehe 7.1 oder **Abbildung 15**). Dieser Verdünnungsfaktor Y muss in die Ermittlung der TU eingerechnet werden (**Abbildung 20**). Die Verdünnung aufgrund des erhöhten Salzgehalts stellt ein Kompromiss dar, da möglich-

<sup>70</sup> Definition von *Toxic Unit* und die offizielle Berechnung gemäss WEA Guidance Report (OSPAR Commission (2007)).

weise Substanzen in der Probe unterhalb des Sensitivitätslimits im Biotest mitverdünnt werden. Gleichzeitig soll der verursachende Betrieb durch erhöhte Salzgehalte nicht mit falsch-positiven Ergebnissen konfrontiert werden, die evt. Konsequenzen mit sich bringen könnten.

In der Abwasserprobe aus dem Abbautest, die bereits um den Faktor Y verdünnt wurde, wird die Leitfähigkeit gemessen, um zu prüfen, ob diese im für den jeweiligen Testorganismus spezifischen Toleranzbereich liegt. Liegt die Leitfähigkeit in Verdünnungsstufe 1 im organismusspezifischen Bereich<sup>71</sup> (d.h. wird der experimentell ermittelte EC<sub>20</sub> für die Leitfähigkeit der einzelnen Testorganismen nicht erreicht), werden die vorgeschlagenen Biotests in der gewählten Verdünnungsreihe durchgeführt (siehe **Szenario 1**).

Liegt die Leitfähigkeit in Verdünnungsstufe 1 nicht im organismusspezifischen Bereich<sup>72</sup> (d.h. wird der experimentell ermittelte EC<sub>20</sub> für die Leitfähigkeit der einzelnen Testorganismen erreicht), ist die Probe zu verdünnen bis die Leitfähigkeit im Toleranzbereich des Testorganismus liegt. Anschliessend ist die Verdünnungsreihe für den Biotests ausgehend von dieser Verdünnung (= Verdünnungsstufe X) neu anzusetzen (siehe **Szenario 2**).

Aufgrund der erhobenen Effekte in den einzelnen Verdünnungen des Biotests wird schliesslich eine Dosis-Wirkungsbeziehung erstellt und der EC<sub>50</sub>-Wert, d.h. diejenige Verdünnung, bei der die Hälfte der Organismen einen toxischen Effekt aufzeigen, hergeleitet (siehe 2.2.1). Der EC<sub>50</sub>-Wert ist wiederum die Basis, um die *Toxic Unit* (TU = toxische Einheit)<sup>73</sup> zu berechnen ( $TU = 100/EC_{50}$ ).

Aufgrund der erfolgten Verdünnung zum Erreichen des organismusspezifischen Bereichs müssen nun beide Verdünnungsfaktoren X (Verdünnungsreihe Biotest) und Y (Verdünnungsfaktor Abbautest) in die Beurteilung der ermittelten TU eingerechnet werden.

Die Verdünnungsstufe X, die als Ausgangsverdünnung gewählt wurde und bei der die Probe im organismusspezifischen Bereich liegt sowie der Verdünnungsfaktor Y (für die Durchführung des Abbautests, max. 20 mS/cm) werden nun in die Beurteilung mit eingerechnet. Der Summenwert von X und Y (X + Y) wird dann als TU eingesetzt, die nicht erreicht werden

<sup>71</sup> Provisorische Maximalwerte der geduldeten Leitfähigkeit (LF) für Daphnien (D), Algen (A) und Leuchtbakterien (L) liegen bei LF<sub>D</sub>= 6 mS/cm; LF<sub>A</sub>= 6 mS/cm und LF<sub>L</sub>= 73 mS/cm. Die provisorischen Maximalwerte basieren auf experimentell ermittelten EC<sub>20</sub>-Werten und sind noch zu verifizieren.

<sup>72</sup> Provisorische Maximalwerte der geduldeten Leitfähigkeit (LF) für Daphnien (D), Algen (A) und Leuchtbakterien (L) liegen bei LF<sub>D</sub>= 6 mS/cm; LF<sub>A</sub>= 6 mS/cm und LF<sub>L</sub>= 73 mS/cm. Die provisorischen Maximalwerte basieren auf experimentell ermittelten EC<sub>20</sub>-Werten und sind noch zu verifizieren.

<sup>73</sup> Definition von *Toxic Unit* und die offizielle Berechnung gemäss WEA Guidance Report (OSPAR Commission (2007)).

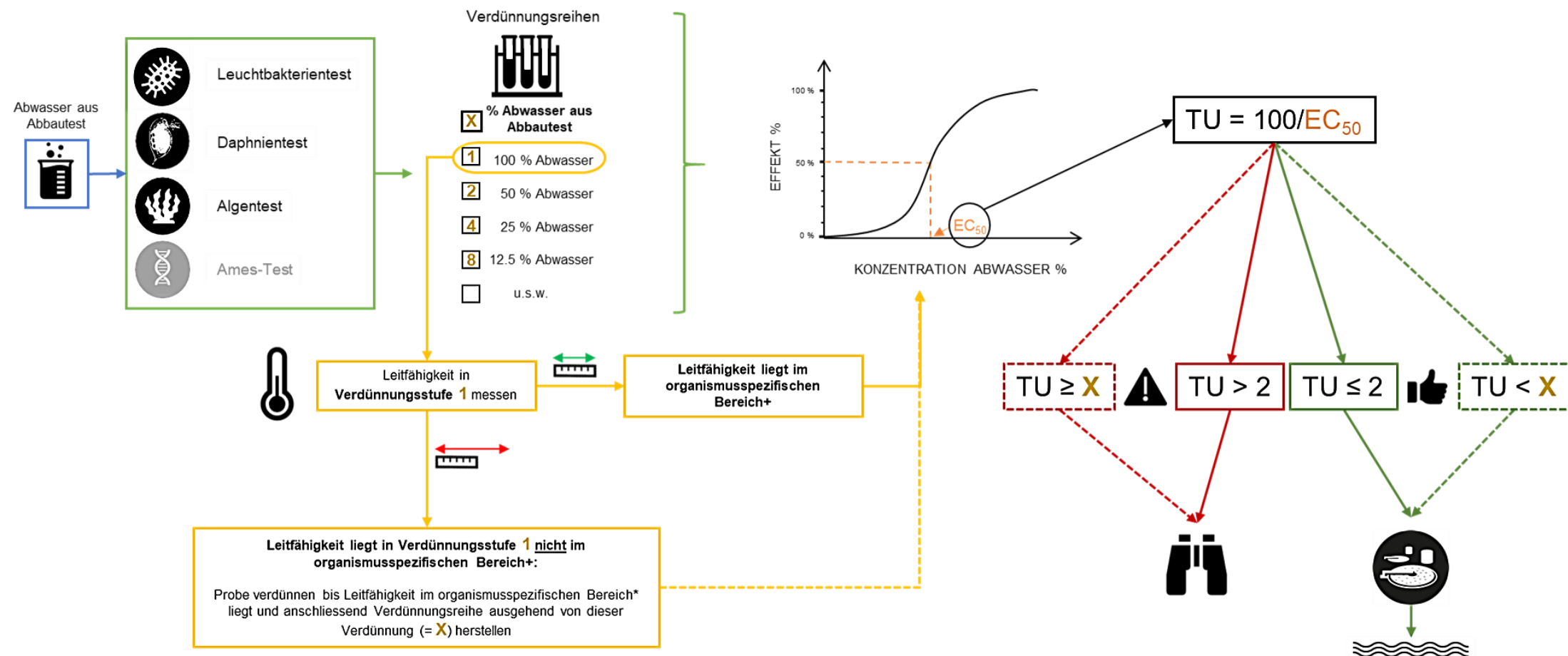
dürfen, um das Abwasser einzuleiten ( $TU < X + Y$ ). Wenn also im Biotest kein  $EC_{50}$  berechnet werden kann, wird der Wert  $X + Y$  (die ermittelten TU liegen also unter der Summe der Verdünnungsstufe X und dem Verdünnungsfaktor Y) nicht erreicht und das Abwasser kann eingeleitet werden.

Wird aber der Wert  $X + Y$  erreicht oder überschritten ( $TU = (X + Y)$  oder  $TU > (X + Y)$ ), bedeutet dies, dass ein  $EC_{50}$  in der Probe ermittelt wurde, der trotz der mehrmaligen Verdünnung der Probe sichtbar wurde. Die toxischen Effekte werden möglicherweise durch die Exposition des Abwassers und nicht durch den erhöhten Salzgehalt hervorgerufen. Das Abwasser wird also als toxisch beurteilt und die Ursachensuche sollte in Erwägung gezogen werden (siehe **Abbildung 18**).

Im Folgenden werden die einzelnen Szenarien für die Interpretation der Toxizitätswerte und die Anwendung der Salzkorrektur zusammengefasst.

### **Zusammenfassung Interpretationshilfe und Salzkorrektur:**

- **Szenario 1** in **Abbildung 19** kommt bei unverdünnten Abwasserproben zu tragen (d.h. für die einzelnen Testorganismen liegt die Leitfähigkeit im Toleranzbereich resp. der  $EC_{20}$  wird nicht erreicht). Wenn  $TU \leq 2$  kann das Abwasser in die ARA eingeleitet werden. Liegen die ermittelten TU über dem Wert 2, sollte eine Ursachensuche in Erwägung gezogen werden. Muss die Abwasserprobe in Verdünnungsstufe 1 verdünnt werden, um im organismusspezifischen Bereich für die Leitfähigkeit zu liegen, ist **Szenario 2** in **Abbildung 19** zu berücksichtigen. Wurde die Probe aufgrund eines erhöhten Salzgehalts bereits verdünnt, um den Abbautest durchzuführen kommt **Szenario 3** (**Abbildung 20**) zum Einsatz.
- **Szenario 2** (**Abbildung 19**) kommt zu tragen, wenn die Probe aufgrund eines erhöhten Gehalts an Salz verdünnt wurde. Die Verdünnungsstufe X (die im organismusspezifischen Bereich liegt) wird als Schwellenwert  $TU > X$  eingesetzt, der nicht erreicht werden sollte, damit das Abwasser in die ARA eingeleitet werden kann. Wird X erreicht oder überschritten, sollte die Ursachensuche in Erwägung gezogen werden. Wurde die Probe aufgrund eines erhöhten Salzgehalts bereits verdünnt, um den Abbautest durchzuführen, kommt **Szenario 3** (**Abbildung 20**) zum Einsatz.
- **Szenario 3** (**Abbildung 20**) kommt zu tragen, wenn die Probe aufgrund eines erhöhten Gehalts an Salz bereits im Abbautest und evt. zusätzlich im Biotest verdünnt wurde. Die Summe von X (Verdünnungsstufe, die im organismusspezifischen Bereich liegt) und von Y (Verdünnungsfaktor aus dem Abbautest) wird als Schwellenwert  $TU > (X + Y)$  eingesetzt, der nicht erreicht werden darf, damit das Abwasser in die ARA eingeleitet werden kann. Wird der Wert  $(X + Y)$  erreicht oder sogar überschritten, sollte eine Ursachensuche in Erwägung gezogen werden. Wurde die Abwasserprobe im Abbautest nicht verdünnt, sind **Szenario 1** bzw. **Szenario 2** (**Abbildung 19**) zu berücksichtigen.



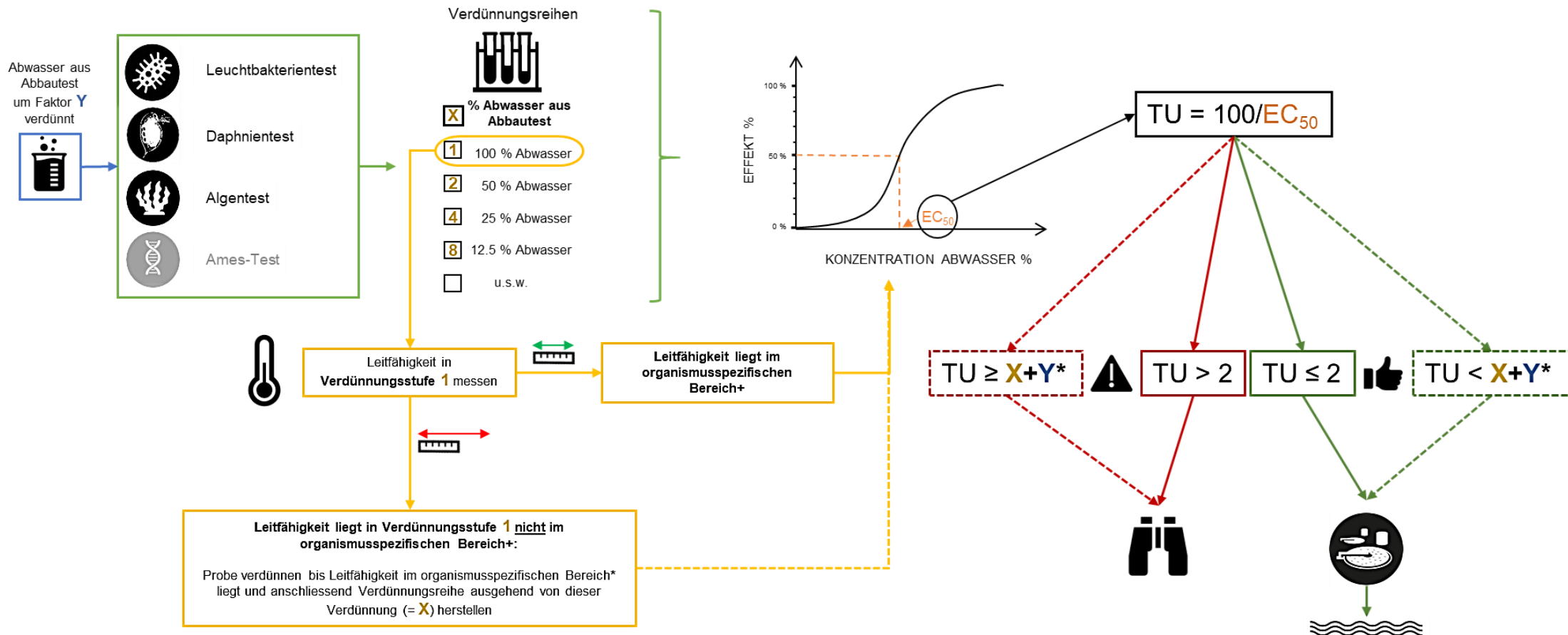
+Provisorische Maximalwerte der geduldeten Leitfähigkeit (LF) für Daphnien (D), Algen (A) und Leuchtbakterien (L):

$LF_D = 6 \text{ mS/cm}$      $LF_A = 6 \text{ mS/cm}$      $LF_L = 73 \text{ mS/cm}$

Provisorische Maximalwerte basieren auf experimentell ermittelten  $EC_{20}$ -Werten und sind noch zu verifizieren.

- Effekt ( $=EC_{50}$ ) messbar: keine Einleitung wenn  $TU > 2$  und Ursachensuche in Erwägung ziehen
- Effekt ( $=EC_{50}$ ) messbar oder nicht; wenn  $TU \leq 2$  Einleitung möglich
- - - → Effekt ( $EC_{50}$ ) messbar: keine Einleitung wenn  $TU \geq X$  und Ursachensuche in Erwägung ziehen
- - - → kein Effekt ( $=EC_{50}$ ) messbar; Einleitung möglich (auch wenn  $TU > 2$ )

**Abbildung 19** Interpretationshilfe für die Einordnung der toxischen Abwässer und Vorgehen für die Salzkorrektur (**Szenario 1** und **Szenario 2**) zur Untersuchung von Industrieabwässer mittels Biotests (siehe 7.2)



+Provisorische Maximalwerte der geduldeten Leitfähigkeit (LF) für Daphnien (D), Algen (A) und Leuchtbakterien (L):

$LF_D = 6 \text{ mS/cm}$     $LF_A = 6 \text{ mS/cm}$     $LF_L = 73 \text{ mS/cm}$

Provisorische Maximalwerte basieren auf experimentell ermittelten  $EC_{20}$ -Werten und sind noch zu verifizieren.

\*Die für eine Einleitung maximal zugelassenen TU berechnen sich aus dem Verdünnungsfaktor  $Y$  für die Durchführung des Abbauteils und der Verdünnungsstufe  $X$  zur Durchführung des Biotests

- Effekt (=  $EC_{50}$ ) messbar: keine Einleitung wenn  $TU > 2$  und Ursachensuche in Erwägung ziehen
- Effekt (=  $EC_{50}$ ) messbar oder nicht; wenn  $TU \leq 2$  Einleitung möglich
- - - → Effekt ( $EC_{50}$ ) messbar: keine Einleitung wenn  $TU \geq X$  und Ursachensuche in Erwägung ziehen
- - - → kein Effekt (=  $EC_{50}$ ) messbar; Einleitung möglich (auch wenn  $TU > 2$ )

**Abbildung 20** Interpretationshilfe für die Einordnung der toxischen Abwässer und Vorgehen für die Salzkorrektur (**Szenario 3**) zur Untersuchung von Industrieabwässer mittels Biotests (siehe 7.2)

### 7.3 Erläuterungen zum Untersuchungskonzept

- Biotests können eine Lücke füllen, wenn das toxische Potential von Abwässern weder in der prospektiven Risikobewertung noch in der Entwicklungsphase erkannt wird. Eine Überprüfung der Abwasserbehandlungsprozesse ermöglicht die Detektion von toxischen Rückständen im Abwasser (z.B. wenn unbekannte toxische Nebenprodukte generiert werden). Durch die Ursachensuche und dem daraus entstehenden Erkenntnisgewinn werden neue Möglichkeiten generiert: Es entsteht das Potential, die Produktions- und Entsorgungsprozesse anzupassen, was bei smarter Umsetzung sowohl für die Umwelt als auch für den Betrieb (finanzielle Einsparungen, Reputation) positive Auswirkungen haben kann.
- In der Schweiz werden die Betriebsabwässer meist in eine kommunale ARA eingeleitet, was die Ermittlung der Quelle von allfälligen Stoffeinträgen erschwert. Die Durchführung eines Abbautests im vorliegenden Untersuchungskonzept ist deshalb zwingend, da dieser Zwischenschritt neben zusätzlichen Aussagen bezüglich der DOC-Abbaubarkeit, die Rückverfolgung möglicher toxischer Abwässer zu dem Betrieb bzw. innerhalb eines Betriebs die Zuordnung eines Teilabwasserstroms ermöglicht. Diese Rückverfolgung lässt in der Folge eine Problemanalyse der Abwasserbehandlungsprozesse im Betrieb und demzufolge Optimierungen zu.
- Für die Anwendung des Untersuchungskonzepts ist ein funktionierender Abbautest zwingend. Der Zahn-Wellens-Test bzw. der modifizierte Stucki-Test führt zwar zu aussagekräftigen Ergebnissen bezüglich der Abbaubarkeit von Abwässern oder Substanzen, jedoch ist eine Verkürzung der Testdauer höchst wünschenswert. Dieses Bedürfnis wurde auch in Rücksprache mit den befragten Firmen ausgedrückt. Das aktuelle FHNW-Projekt zur Weiterentwicklung eines anwendungsorientierten und verkürzten Abbautests ist deshalb zentral für die Umsetzbarkeit des vorgeschlagenen Untersuchungskonzepts.
- Mutagenität gilt als Ausschlusskriterium und ist deshalb wichtiger Bestandteil der vorgeschlagenen Biotestbatterie. Der Ames-Test kann jedoch nicht mit einer nativen Abwasserprobe durchgeführt werden und erfordert eine Festphasenextraktion, weshalb die Durchführung zusätzlich zeitlichen und finanziellen Aufwand bedeutet. Für die zukünftige Anwendung des Untersuchungskonzeptes ist die Aufnahme des Ames-Tests in die Biotestbatterie abzuwägen.
- Im vorgeschlagenen Konzept werden mögliche unterschiedliche Sensitivitäten der angewendeten Testorganismen nicht speziell berücksichtigt. Die ermittelten TU werden demnach

für alle eingesetzten Testorganismen gleich gewichtet, da die in den Tests eingesetzten Organismen als Repräsentanten verschiedener trophischer Stufen stehen, die alle für ein gesundes Ökosystem relevant sind.

- Fische wurden als Testorganismus aus ethischen Gründen nicht in das Konzept einbezogen. Der Fischeitest erwies sich zudem nicht als sehr sensitiv, was möglicherweise auf die schützende Eihaut zurückzuführen ist. In der Zukunft stellen Fischzellen eine Option dar, um die Stufe der Wirbeltiere in die Biotestbatterie zu implementieren.
- Mit den im Konzept ausgewählten Biotests werden nicht alle möglichen *Mode of Action* abgedeckt. Die vorgeschlagene Biotestbatterie ermöglicht eine Abschätzung der Gesamttoxizität und stellt einen robusten Startpunkt mit künftigem Ausbaupotential dar. Das Ziel ist es aktuell, den Unternehmen neue Erkenntnisse zu bringen und ihnen dadurch neue Handlungsoptionen eröffnen.
- Im vorgeschlagenen Untersuchungskonzept wird die Verdünnung des Abwassers in der ARA absichtlich nicht berücksichtigt. Einerseits wird hier das Verdünnungsverbot (gemäss Anhang 3.2 GSchV, Ziff. 1, Abs. 2, Bst. c) berücksichtigt, andererseits werden somit die persistenten Substanzen prioritär behandelt, da deren künftige Anreicherung im Ökosystem nicht ausgeschlossen werden kann.

#### **7.4 Vorgehensempfehlungen**

- Die Anwendung des Untersuchungskonzepts und die Interpretationshilfe mit der Implementierung der Salzkorrektur müssen in der Praxis auf ihre Tauglichkeit geprüft werden.
- Das vorgeschlagene Vorgehen und die empfohlene Biotestbatterie sind für unterschiedliche Abwässer aus verschiedenen Branchen anzuwenden, um die Praktikabilität des Konzepts und die Sensitivität der Testsysteme abzuschätzen.
- Ein geeigneter verkürzter Abbautest, wie dieser zurzeit durch die FHNW entwickelt wird, ist ein wichtiger Baustein für eine praktikable Anwendung des Untersuchungskonzepts.
- Ein geeigneter Wert für die Beurteilung der Persistenz (Höhe Abbaubarkeit DOC) ist zu definieren, um eine praktische Umsetzung des Konzepts zu gewährleisten.
- Die Biotestbatterie kann für unterschiedliche Branchen und für zusätzliche *Mode of Action* erweitert werden (z.B. durch fakultative Testsysteme), um die Bedürfnisse abzudecken.



- Der Ames-Test muss aufgrund der Wichtigkeit des Endpunktes (Mutagenität als Ausschlusskriterium) zwingend in der Standardbatterie berücksichtigt werden, trotz des zusätzlichen zeitlichen oder finanziellen Aufwands.
- Eine Aufnahme von Fischzellinientests in die Biotestbatterie für die Repräsentation der Wirbeltiere ist zu prüfen.

## **8 Einsatz von Biotests zur Beurteilung von Deponiesickerwasser**

Biotests eignen sich nicht nur für Abwasserproben mit unbekannten Rückständen - auch bei der Untersuchung und Überwachung von belasteten Standorten können ökotoxikologische Betrachtungen einen Mehrwert bieten. Deponiesickerwässer zeichnen sich oft durch unbekannte Stoffzusammensetzung aus und können somit ebenfalls Mischtoxizitätseffekte aufweisen. Sickerwässer von Deponien werden in vielen Fällen direkt in die Gewässer eingeleitet, wo sich schwer abbaubare Stoffrückstände in den Gewässersedimenten ablagern und zu langfristigen Effekten im Gewässer führen können.

Um das toxische Potential dieser Deponiesickerwässer zu untersuchen und allfällige Mischefekte abzuschätzen, bieten sich ebenso Biotests an. Biotests können beispielsweise für die Erstuntersuchung oder die Überwachung von belasteten Standorten eingesetzt werden.

### **8.1 Gesetzliche Grundlagen**

Es liegen in der Schweiz keine verpflichtenden Gesetzesvorgaben für die ökotoxikologische Beurteilung von Deponiesickerwässer vor. Die bewilligungsgebende Behörde (in den meisten Fällen die Kantone) entscheidet alle fünf Jahre im Rahmen der Erteilung der Deponiebetriebsbewilligung, welche Parameter im Sickerwasser zu untersuchen sind (Art. 40 Abs. 4 VVEA). Die Bewilligung enthält dann auch Vorgaben dazu, wie das anfallende Sickerwasser zu überwachen ist (Art. 40 Abs. 3e VVEA), sowie ob weitere Auflagen zur Einhaltung der Umwelt- und Gewässerschutzgesetzgebung erforderlich sind (Art. 40 Abs. 3g VVEA). Im Zuge dieser Genehmigung könnten also auch Vorgaben für die Überwachung und somit für die Durchführung von Biotests gemacht werden.

Um die Jahrtausendwende gab es Bestrebungen bezüglich des Einsatzes von Biotests im Altlasten-Vollzug. Dazu bestand eine BUWAL-Vollzugshilfe, die die Anwendung einer Basis-Testbatterie mit Leuchtbakterien, Algen und Daphnien und in bestimmten Fällen ergänzende Untersuchungen zur Gentoxizität oder chronischen Toxizität vorschlug (Office fédéral de l'environnement, des forêts et du paysage (OFEFP), 1999). Diese Vollzugshilfe ist jedoch nicht mehr aktuell und vergriffen. In einer aktuellen BAFU-Vollzugshilfe «Anforderungen an die Einleitung von Deponiesickerwasser» aus dem Jahr 2012 finden sich schliesslich generelle Vorgaben für die Erstuntersuchungen sowie die eigentliche Überwachung von Deponien, die ebenfalls ökotoxikologische Untersuchungen einschliesst (Bundesamt für Umwelt, 2012). Genauere Vorgehensempfehlungen für eine praktische Anwendung fehlen jedoch hier.

## **8.2 Anwendung in der Praxis**

Die praktischen Erfahrungen mit der Durchführung von ökotoxikologischen Untersuchungen für die Untersuchung von Deponiesickerwässern in der Schweiz sind relativ gering. Das Oekotoxzentrum nahm im Jahr 2009 zusammen mit Soluval Santiago eine Untersuchungskampagne zur ökotoxikologischen Beurteilung eines Deponiesickerwassers vor. In dieser Untersuchung wurde das Sickerwasser einer Deponie mittels einem kombinierten Algentest, einem akuten Gammaridentest und einem chronischen Daphnientest beurteilt. In allen drei Tests wurden keine toxischen Effekte durch das Sickerwasser ausgemacht (Kienle et al., 2009).

Bei Untersuchungen von Deponiesickerwässern im Kanton Basel-Landschaft (Amt für Umweltschutz und Energie, 2013) wurden ökotoxikologische Werte in die Betrachtung von möglichen Einträgen von Schadstoffen aus den Sedimenten miteinbezogen. Jedoch wurden dabei lediglich Literaturwerte berücksichtigt, welche die Internationale Kommission zum Schutze des Rheins (IKSR) als Zielvorgaben für den Schadstoffgehalt von Sedimenten nennt. Bei Überschreitungen dieser Zielvorgaben können ökotoxikologische Effekte nicht ausgeschlossen werden. Basierend auf diesen Werten führten die Verdünnungen der Sickerwässer in den Vorflutern zu niedrigen Konzentrationen, welche ökotoxikologisch unbedenklich waren.

Im Kanton Zürich wurde eine Gefährdungsabschätzung für Seen aufgrund von belasteten Standorten vorgenommen (AWEL Amt für Abfall, Wasser, Energie und Luft, 2016). In Zusammenarbeit mit der Eawag und des Schweizerischen Zentrums für Angewandte Humantoxikologie (SCAHT) wurden im Rahmen dieses Projekts Methoden entwickelt, um Risiken ausgehend von belasteten Standorten auf die beiden definierten Schutzziele «Aquatische Umwelt» und «Menschliche Gesundheit» zu beurteilen. Die im Bericht vorgeschlagene ökotoxikologische Beurteilung schätzte jedoch lediglich das theoretische Schadstoff- und Freisetzungspotential ab, welches im Falle eines stehenden Gewässers erwartungsgemäss von Sedimentablagerungen ausgeht. Auf die Durchführung von Biotests wurde jedoch verzichtet.

## **8.3 Schlussfolgerungen**

Es zeigt sich, dass bisher bei der Beurteilung von belastenden Standorten vermehrt die prospektive Risikobewertung oder aber theoretische Überlegungen zu ökotoxikologischen Effekten wie z.B. Zielvorgaben des IKSR zum Zuge kommen. Bei der vom Oekotoxzentrum und von Santiago Soluval durchgeführten ökotoxikologischen Beurteilung des Sickerwassers einer De-

ponie zeigte die eingesetzte Biotestbatterie bei keinem der getesteten Organismen eine Toxizität an. Da Sickerwässer von Deponien aber oft direkt in die Gewässer eingeleitet werden und somit eine Gefahr darstellen können, empfiehlt es sich, diese neben den vorgegebenen chemischen und physikalischen Parametern auf ihr ökotoxikologisches Potential zu untersuchen. So kann abgeschätzt werden, ob toxische Rückstände direkt (in gelöster Form) oder indirekt (durch Sedimentablagerungen) längerfristig in die Gewässer eingetragen werden und gleichzeitig ist es möglich frühzeitig geeignete Massnahmen zu ergreifen.

Neben Vorgaben in den Betriebsbewilligungen wären hier auch verbindliche Vorgehensempfehlungen im Altlasten-Vollzug z.B. in den Vollzugshilfen wünschenswert.

#### **8.4 Vorgehensempfehlungen**

Vergleichbar zu industriellen Abwässern sind die Zusammensetzung der Deponiesickerwässer oft nicht bekannt und die Mischeffekte schwer abzuschätzen. Erschwerend kommt hinzu, dass toxische Rückstände entweder direkt in gelöster Form oder indirekt in den Sedimenten abgelagert in die Gewässer gelangen können.

Im Vergleich zu den ohnehin aufwändigen und kostenintensiven Überwachungen und Sanierungsmassnahmen im Altlastenvollzug sind die für durchgeführte Biotests anfallenden Kosten vernachlässigbar. Nichtsdestotrotz muss der Nutzen von zusätzlichen ökotoxikologischen Untersuchungen gegeben sein.

Mittels Rücksprachen mit Kantonsvertretern zu den Erfahrungen mit der Anwendung von Biotests im Altlasten-Vollzug könnte abgeschätzt werden, ob es bereits verpflichtende Untersuchungen bei Deponien gibt und ob in der Vergangenheit durch den Einsatz von Biotests bereits toxische Rückstände in Sickerwässern identifiziert werden konnten.

Die in der ehemaligen BUWAL-Vollzugshilfe vorgeschlagene Biotestbatterie bestehend aus Leuchtbakterien-, Daphnien- und Algentest setzt auf bewährte Systeme, wie wir diese auch für die Untersuchung von industriellen Abwässern vorschlagen. Die Biotestbatterie müsste für die Untersuchung von Deponiesickerwässern auf Praktikabilität geprüft und allenfalls weiterentwickelt werden. Für eine praktische Anwendung wäre zudem ein gültiges Untersuchungskonzept und Interpretationshilfe nützlich, welches in Leitfäden oder Vollzugshilfen verankert werden könnte. Es müsste zudem geprüft werden, ob eine Untersuchung von Sickerwässern zur Beurteilung und Überwachung von belasteten Standorten gesetzlich vorgeschrieben werden sollte.

## 9 Fazit

Über den Anteil und die Zusammensetzung von Abwasser aus Industrie und Gewerbe ist noch wenig bekannt. Der Einsatz von Biotests für die Beurteilung von Industrieabwässern stellt eine vielversprechende Möglichkeit dar, um problematische Abwässer mit persistenten Stoffrückständen zu identifizieren. In Kombination mit ergänzenden Untersuchungen unterstützen biologische Testmethoden die Rückverfolgung von toxischen Stoffrückständen an die Quelle des Ursprungs, um dort wirkungsvolle Massnahmen umzusetzen.

In Europa und in Nordamerika bestehen bereits langjährige Erfahrungen in der Beurteilung von Abwässern mit biologischen Testmethoden. In der Schweiz steht das Wissen zum Einsatz von Biotests bei den Behörden und in den Betrieben noch am Anfang.

Aktuell liegt der Fokus in den Betrieben auf der Abschätzung der ARA-Toxizität zum Schutz der ARA-Biologie. Einzelne Pharma- und Chemieunternehmen setzen auch schon erfolgreich Biotests als Qualitätssicherung ihrer Abwasserreinigungsprozesse ein. Die Erfahrungen sind hier jedoch noch gering. Das Interesse an einem Leitfaden und einer Interpretationshilfe zum Einsatz von Biotests wurde von verschiedenen Seiten signalisiert.

Das hier vorgeschlagene Untersuchungskonzept und die Interpretationshilfe mit Salzkorrektur stellen dafür einen Startpunkt dar, mit dem Ziel, eine praxisorientierte Anwendung von Biotests für die Beurteilung langfristig zu ermöglichen.

## 10 Begriffe und Abkürzungen

Abs.	Absatz in einem Gesetzestext
AbwAG	Abwasserabgabengesetz (D)
AbwV	Abwasserverordnung (D)
ARA	Abwasserreinigungsanlage
BAFU	Bundesamt für Umwelt
BREF	<i>Best Available Techniques Reference Document</i> oder auch BVT-Merkblatt
BSB <sub>5</sub>	Biochemischer Sauerstoffbedarf innerhalb von 5 Tagen
BUWAL	Ehem. Bundesamt für Umwelt, Wald und Landschaft
BVT	Beste Verfügbare Techniken
bzw.	beziehungsweise
Cohiba	Programm <i>Control of hazardous substances in the Baltic Sea region</i>
CSB	Chemischer Sauerstoffbedarf
CWA	<i>Clean Water Act</i> (US)
d.h.	das heisst
DIN	Deutsche Industrie Norm
DOC	<i>Dissolved Organic Carbon</i> oder Gelöster organischer Kohlenstoff
EC <sub>50</sub>	Effektkonzentration, bei der 50 % der Testorganismen einen spezifischen Effekt (=Endpunkt) zeigen
ECA	<i>Environmental Compliance Approvals (Ca)</i>
ECCC	<i>Environment and Climate Change Canada</i>
EDA	<i>Effected Directed Analysis</i>
etc.	etcetera, und so weiter
EU	Europäische Union
FELST	<i>Fish Early Life Stage Toxicity Test</i>
FHNW	Fachhochschule Nordwestschweiz
ggü.	gegenüber
GLP	Gute Laborpraxis
GSchG	Gewässerschutzgesetz (CH)
GSchV	Gewässerschutzverordnung (CH)
G-Wert	Verdünnungsstufe in der deutschen Abwasserverordnung, in der in einem definierten Anteil Testorganismen ein spezifischer Effekt messbar ist
i.d.R.	in der Regel
i.e.	<i>id est</i> oder das heisst

IEC	Institut für Ecopreneurship der FHNW
<i>in vitro</i>	Versuche, die ausserhalb des lebenden Organismus in einer kontrollierten Umgebung (z.B. Reagenzglas oder Petrischale) durchgeführt werden
<i>in vivo</i>	Versuche, die im lebendigen Organismus ablaufen
ISO	International Organization for Standardization
IVU-Richtlinie	Richtlinie über die integrierte Vermeidung und Verminderung von Umweltverschmutzung
LANUV	Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz NRW
LC <sub>50</sub>	<i>Lethal Concentration</i> bzw. Letale Konzentration, bei der bei der beobachteten Population eine Mortalität von 50% auszumachen ist
LOEC	<i>Lowest Observed Effect Concentration</i>
MoA	<i>Mode of Action</i> oder Wirkungsweise einer Substanz auf einen exponierten Organismus
NOEC	<i>No Observed Effect Concentration</i>
NPDES	<i>National Pollutant Discharge Elimination System</i> (US)
NRW	Nordrhein-Westfalen (deutsches Bundesland)
o.ä.	oder ähnliche(s)
OECD	<i>Organisation for Economic Co-operation and Development</i>
OnBiA	Projekt Online-Biomonitoring auf Abwasserreinigungsanlagen
OSPAR	<i>Convention for the Protection of the Marine Environment of the North-East Atlantic</i> , ehem. OSlo und PARiser Kommission
PTC	<i>Process Technology Center</i> an der FHNW Campus Muttenz
resp.	respektive
SETAC	<i>Society of Environmental Toxicology and Chemistry</i>
SPE	<i>Solide Phase Extraction</i> oder Festphasenextraktion
SüwVO Abw	Selbstüberwachungsverordnung Abwasser (NRW)
TIE	<i>Toxicity Identification Evaluation</i>
TRE	<i>Toxicity Reduction Evaluation</i>
TU	<i>Toxic Unit</i> oder Toxische Einheit (TU = 100/EC <sub>50</sub> )
UBA	Umweltbundesamt Deutschland
UmuC	Bakterielles Gen, das zum SOS-Reparatursystem der Zelle gehört
US EPA	<i>United States Environmental Protection Agency</i>
usw.	und so weiter
VSA	Verband Schweizerische Abwasser- und Gewässerschutzfachleute

WEA	<i>Whole Effluent Assessment</i>
WET <i>Testing</i>	<i>Whole Effluent Toxicity Testing</i>
WHG	Wasserhaushaltsgesetz (D)
WRRL	Wasserrahmenrichtlinie (EU)
z.B.	Zum Beispiel



## 11 Verzeichnisse

### 11.1 Literatur

- Amt für Umweltschutz und Energie, 2013. Untersuchung der Sickerwässer von Inertstoffdeponien und von Bachsedimenten der jeweiligen Vorfluter auf Schadstoffe.
- Anliker, S., Loos, M., Comte, R., Ruff, M., Fenner, K., Singer, H., 2020. Assessing Emissions from Pharmaceutical Manufacturing Based on Temporal High-Resolution Mass Spectrometry Data. *Environmental science & technology* 54, 4110–4120.
- Ashby, J., Styles, J.A., 1978. Does carcinogenic potency correlate with mutagenic potency in the Ames assay? *Nature* 271, 452–455.
- AWEL Amt für Abfall, Wasser, Energie und Luft, 2016. Gefährdungsabschätzung und Beurteilung von belasteten Standorten in Seen.
- Böhler, M., Fleiner, J., McArdell, C.S., Teichler, R., Siegrist, H., Kienle, C., Langer, M., Wunderlin, P., 2017. Projekt ReTREAT. Untersuchungen zu Verfahren für die biologische Nachbehandlung nach Ozonung. *Aqua & Gas*.
- Brack, W., Aissa, S.A., Backhaus, T., Dulio, V., Escher, B.I., Faust, M., Hilscherova, K., Hollender, J., Hollert, H., Müller, C., Munthe, J., Posthuma, L., Seiler, T.-B., Slobodnik, J., Teodorovic, I., Tindall, A.J., Aragão Umbuzeiro, G. de, Zhang, X., Altenburger, R., 2019. Effect-based methods are key. The European Collaborative Project SOLUTIONS recommends integrating effect-based methods for diagnosis and monitoring of water quality. *Environ Sci Eur* 31.
- Brack, W., Burgess, R.M., 2011. Considerations for Incorporating Bioavailability in Effect-Directed Analysis and Toxicity Identification Evaluation. In: Brack, W. (Ed.), *Effect-Directed Analysis of Complex Environmental Contamination*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 41–68.
- Braun, C., Gälli, R., 2014. Mikroverunreinigungen aus Industrie und Gewerbe. Erste Grundlagenthebung mittels Umfrage bei den Kantonen zu vorhandenen Informationen. Kurzbericht.
- Braun, C., Gälli, R., 2015. Mikroverunreinigungen aus Industrie und Gewerbe. Gesetzgebung und Vollzug in ausgewählten EU- Staaten. Kurzbericht.
- Bundesamt für Umwelt, 2012. Anforderungen an die Einleitung von Deponiesickerwasser.
- Bundesrat, D., 2017. Massnahmen an der Quelle zur Reduktion der Mikroverunreinigungen in den Gewässern. Bericht des Bundesrates in Erfüllung des Postulats 12.3090 Hêche vom 7. März 2012. Vom Bundesrat an seiner Sitzung vom 16. Juni 2017 gutgeheissen.

- Burgess, R.M., Ho, K.T., Brack, W., Lamoree, M., 2013. Effects-directed analysis (EDA) and toxicity identification evaluation (TIE): Complementary but different approaches for diagnosing causes of environmental toxicity. *Environmental Toxicology and Chemistry* 32, 1935–1945.
- Burgos, W.D., Ellwood, A., 1999. Regulatory Methods Used in Writing NPDES Permits for the Shipbuilding and Repair Industry. *Naval Engineers Journal* 111, 91–97.
- Chapman, P.M., 2000. Whole effluent toxicity testing-usefulness, level of protection, and risk assessment. *Environ Toxicol Chem* 19, 3–13.
- ECETOC European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals, 2004. Whole Effluent Assessment. Technical Report No. 94, Brussels.
- Escher, B., Leusch, F., Chapman, H., 2012. Bioanalytical tools in water quality assessment. IWA-Publ, London.
- Escher, B.I., Rutishauser, S., 2007. The combined algae test- a new routine 96-well-plate biotest for simultaneously assessing the photosynthesis inhibition and effect on growth in green algae. Internal Report, Dübendorf, Switzerland.
- Fent, K., 2013. Ökotoxikologie. Umweltchemie, Toxikologie, Ökologie ; 63 Tabellen, 4., vollständig überarb. Aufl. Thieme, Stuttgart [u.a.].
- Gälli, R., Ort, C., Schärer, M., 2009. Mikroverunreinigungen in den Gewässern. Bewertung und Reduktion der Schadstoffbelastung aus der Siedlungsentwässerung. Umwelt- Wissen Nr. 0917, Bern.
- Gartiser, S., Hafner, C., Oeking, S., Paschke, A., 2009. Results of a "Whole Effluent Assessment" study from different industrial sectors in Germany according to OSPAR's WEA strategy. *Journal of environmental monitoring : JEM* 11, 359–369.
- Götz, C., Hollender, J., Kase, R., 2011. Mikroverunreinigungen. Beurteilungskonzept für organische Spurenstoffe aus kommunalem Abwasser. Studie im Auftrag des Bundesamtes für Umwelt (BAFU).
- Grelot, J., Wunderlin, P., Bleny, H., 2020. Abklärungen Verfahrenseignung Ozonung. Erkenntnisse aus mehrjährigen Erfahrungen. *Aqua & Gas*, 48-57.
- Grothe, D.R., Dickson, K.L., Reed-Judkins, D.K., 1996. Whole Effluent Toxicity Testing: An Evaluation of Methods and Prediction of Receiving Environment Impacts., Pensacola, FL, USA.
- Junghans, M., Langer, M., 2019. Ökotoxikologische Untersuchungen: Risiko von PSM bestätigt. NAWA SPEZ Studie 2017 zeigt Beeinträchtigung von Gewässerorganismen. *Aqua & Gas*, 26–34.
- Kienle, C., DiPaolo, C., Tropiano, D., Santiago, S., 2009. Ökotoxikologische Beurteilung des Sickerwassers einer Deponie.

- Kienle, C., Gauch, R., Vermeissen, E., Werner, I., 2015a. Methoden zur Beurteilung der Wasserqualität anhand von ökotoxikologischen Biotests.
- Kienle, C., Kase, R., Schärer, M., Werner, I., 2015b. Ökotoxikologische Biotests. Anwendung von Biotests zur Evaluation der Wirkung und Elimination von Mikroverunreinigungen. *Aqua & Gas*, 18–26.
- Knöbel, M., Busser, F.J.M., Rico-Rico, A., Kramer, N.I., Hermens, J.L.M., Hafner, C., Tanneberger, K., Schirmer, K., Scholz, S., 2012. Predicting adult fish acute lethality with the zebrafish embryo: relevance of test duration, endpoints, compound properties, and exposure concentration analysis. *Environmental science & technology* 46, 9690–9700.
- Kotulla, M., Glückert, P., 2016. Die “Salzkorrekturregelung” des §6 Abs. 4 der Abwasserverordnung. *NuR* 38, 377–383.
- Li, H., Zhang, J., You, J., 2018. Diagnosis of complex mixture toxicity in sediments: Application of toxicity identification evaluation (TIE) and effect-directed analysis (EDA). *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)* 237, 944–954.
- OECD, 1992. Guidelines for Testing of Chemicals. Zahn-Wellens/EMPA Test. 302 B.
- Office fédéral de l'environnement, des forêts et du paysage (OFEFP), 1999. Application de tests écotoxicologiques à des lixiviats de sites pollués. Estimation de la mise en danger, Bern.
- Öller, H.-J., 2015. Bewertung der aquatoxikologischen Wirkung von Papierfabriksabwässern anhand des Lemna-Tests und Ursachenermittlung bei erhöhten DW-Werten (Wasserlinsen). PTS-Forschungsbericht IGF 16844.
- OSPAR Commission, 2000. OSPAR Background Document concerning the Elaboration of Programmes and Measures relating to Whole Effluent Assessment.
- OSPAR Commission, 2005. Whole Effluent Assessment Report.
- OSPAR Commission, 2007. Practical Guidance Document on Whole Effluent Assessment.
- Otto, J., Matter, P., Jost, L., Langer, M., Götz, C., Gulde, R., Zimmermann-Steffens, S., 2020. Abbau- und Biotests in Industrieabwässern. Erste Schweizer Screeningstudie zur Erfassung der Toxizität und stofflichen Belastung. *Aqua & Gas* 2020, 58–65.
- Power, E., Boumphrey, R., 2004. International Trends in Bioassay Use for Effluent Management. *Ecotoxicology*, 377–398.
- Reemtsma, T., Berger, U., Arp, H.P.H., Gallard, H., Knepper, T.P., Neumann, M., Quintana, J.B., Voogt, P. de, 2016. Mind the Gap: Persistent and Mobile Organic Compounds-Water Contaminants That Slip Through. *Environmental science & technology* 50, 10308–10315.
- Rüdel, H., Körner, W., Letzel, T., Neumann, M., Nödler, K., Reemtsma, T., 2020. Persistent, mobile and toxic substances in the environment: a spotlight on current research and regulatory activities. *Environ Sci Eur* 32.

- Scheurer, M., Nödler, K., Freeling, F., Janda, J., Happel, O., Riegel, M., Müller, U., Storck, F.R., Fleig, M., Lange, F.T., Brunsch, A., Brauch, H.-J., 2017. Small, mobile, persistent: Trifluoroacetate in the water cycle - Overlooked sources, pathways, and consequences for drinking water supply. *Water research* 126, 460–471.
- Schultz, E., Nakari, T., Sainio, P., Fjäder, P., Perkola, N., Huhtala, S., Nuutinen, J., 2011. COHIBA WP3 Whole effluent assessment (WEA) : proposed recommendations for the use of toxicity limits.
- SETAC, 2004. Whole Effluent Toxicity Testing. technical issue paper.
- Singer, H., Huntscha, S., Hollender, J., Mazacek, J., 2009. Multikomponenten-Screening für den Rhein bei Basel. in Zusammenarbeit mit dem Bundesamt für Umwelt BAFU, Dübendorf.
- Stamm, C., Burdon, F., Fischer, S., Kienle, C., Munz, N., Tiili, A., Altermatt, F., Behra, R., Bürgmann, H., Joss, A., Räsänen, K., Eggen, R., 2017. Einfluss von Mikroverunreinigungen. Lebensgemeinschaften in Fließgewässern - Ergebnisse aus dem Projekt Ecoimpact. *Aqua & Gas*, 90–95.
- Stucki, G., 2000. Zur Aussagekraft des biologischen Abbautests nach Zahn-Wellens zum Schicksal von chemischen Abwässern in Industriekläranlagen. Erfahrungen aus der chemischen Industrie. *Wasser Abwasser* 141, 662–669.
- Tonkes, M., Graaf, P.J.F. de, Graansma, J., 1999. Assessment of complex industrial effluents in the Netherlands using a Whole Effluent Toxicity (or WET) approach. *Water Science and Technology* 39, 55–61.
- US EPA, 2000. Method Guidance and Recommendations for Whole Effluent Toxicity (WET) Testing, Washington, DC 20460.
- US EPA, 2002a. Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms; 5th ed., Washington, DC 20460.
- US EPA, 2002b. Short-term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater Organisms; 4th ed., Washington, DC 20460.
- US EPA, 2002c. Short-term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Marine and Estuarine Organisms; 3rd ed.
- Whitehouse, P., 2001. Measures for protecting water quality: current approaches and future developments. *Ecotoxicology and environmental safety* 50, 115–126.
- Wunderlin, P., 2015. Behandelbarkeit von Abwasser mit Ozon. Testverfahren zur Beurteilung. *Aqua & Gas*, 28–38.
- Wunderlin, P., 2017. Abklärungen Verfahrenseignung Ozonung. Empfehlung, Glattbrugg.
- Wunderlin, P., Gulde, R., Zimmermann-Steffens, S., 2021. Situationsanalyse «Stoffeinträge aus Industrie und Gewerbe in Gewässer». Bericht in Arbeit, unveröffentlicht, Glattbrugg.

## 11.2 Abbildungsverzeichnis

### Abbildungen Titelseite

Daphnia: sunbird-images.com, Algen/Leuchtbakterien: alchetron.com

<b>Abbildung 1</b> Dosis-Wirkungsbeziehung zur Bestimmung des EC <sub>50</sub> -Werts, d.h. die Konzentration bzw. Verdünnung, bei der bei 50% der Testorganismen ein definierter Effekt (ein vorgängig bestimmter Endpunkt) auftritt (Abbildung aus WEA Report 2005).....	17
<b>Abbildung 2</b> Beispiel für einen durchgeführten Zahn-Wellens-Test mit der Substanz Thiophen, die im durchgeführten erst nach über vier Wochen ausreichende Elimination auszumachen war. Die Ursache für den verlangsamten Abbau liegt vermutlich daran, dass das verwendete Impfgut aus einer Kläranlage stammte, die bisher kein Thiophen-haltiges Abwasser behandeln musste (Abbildung aus Stucki 2000).	25
<b>Abbildung 3</b> Vorgeschlagene Testorganismen für die Untersuchung der Einflüsse auf das Gewässer oder die ARA (Abbildung aus dem WEA Background Document 2000).....	56
<b>Abbildung 4</b> Vorschlag für das abgestufte Vorgehen zur Abschätzung von persistenten Stoffeinträgen. Um persistente Substanzen oder Stoffrückstände auszumachen, wird ein zweistufiges Verfahren gemäss der WEA-Strategie vorgeschlagen. Dieses sieht vor, dass eine zweite Stufe (Second Tier) an Biotests nur für diejenigen Toxizitätstest vorgesehen ist, die in der ersten Stufe (First Tier) ein erhöhtes Toxizitätslevel aufzeigten. Das Vorhandensein von persistenten Substanzen wird schliesslich ersichtlich, wenn auch nach der biologischen Behandlung noch Toxizität (akut, chronisch oder bioakkumulierend) ausgemacht werden kann (Persistence Step) (Abbildung aus WEA Practical Guidance Document, 2007). .....	58
<b>Abbildung 5</b> Vorschlag für eine Common bzw. eine Optional Toolbox zur Bestimmung der Toxizität in Gesamt-Abwasserproben nach WEA. Die Common Toolbox zeigt ein mögliches Vorgehen für eine Untersuchung von Abwässern auf, welche bewährte und anerkannte Testmethoden enthält, um die nach WEA definierten Parameter zu bestimmen. Die Optional Toolbox ermöglicht eine flexible Adaptierung oder Erweiterung dieser Testmethoden für spezifische und/oder aktuelle Fragestellungen (Abbildung aus dem WEA Guidance Document; OSPAR Commission, 2007).....	60
<b>Abbildung 6</b> Beispiel für ein Testkonzept innerhalb einer WEA-Studie, wie dieses für eine Untersuchung unterschiedlicher industrieller Branchen in Deutschland durchgeführt wurde (Gartiser et al., 2009) .....	61
<b>Abbildung 7</b> Übersicht der Resultate aus den Biotests, die im Rahmen der Biotestscreening-Studie erhoben wurden. Die Toxic Units (TU) werden wie folgt berechnet: $TU = 100/EC_{50}$ (siehe auch 7.2). Farbschema: grün = nicht toxisch; gelb-grün = nicht oder wenig toxisch; gelb = wenig toxisch; orange = toxisch; rot = sehr toxisch; keine Farbe = Toxizität nicht beurteilbar; <: bei der höchsten getesteten Abwasserkonzentration war der Effekt kleiner als 50%; >: bei der niedrigsten getesteten Abwasserkonzentration trat ein Effekt von mehr als 50% auf (Abbildung aus Otto et al., 2020).....	82
<b>Abbildung 8</b> Generelles Vorgehen im Abwassermanagement in Pharma- und Chemiebetrieben. Wenn ein Produkt erfolgreich in die Produktion aufgenommen wurde, wird das bei der Produktion anfallende Abwasser gemäss Vorgaben im Abwasserkataster vorbehandelt und entsorgt. Als Abfälle definierte	

Abwässer werden direkt in die externe Entsorgung oder die Verbrennung geführt. Die Abwässer werden nach entsprechender Vorbehandlung wie z.B. Neutralisation und Sedimentation und evt. durch anschliessende Filtration z.B. durch Aktivkohle oder Ozonierung in die ARA eingeleitet oder wenn nötig der Verbrennung oder externen Entsorgung zugeführt. Der Abwasserkataster wird alle 3 bis 5 Jahre überprüft oder bei Anpassungen in der Produktion entsprechend adaptiert. Zum Schutz der ARA kann zusätzlich eine Toxizitätsüberwachung dienen z.B. in Form eines Biomonitor oder einer Pilot-ARA für die Überwachung der Respirationshemmung im Belebtschlamm. Die zusätzliche Aufbereitung mit Aktivkohle, Ozonierung oder Nano- bzw. Membranfiltration erfolgt nicht standardmässig. Auch eine automatische Toxizitätsüberwachung wird nicht von allen befragten Betrieben eingesetzt. Die optionalen Aufbereitungs- resp. Überwachungsmethoden sind mit gestrichelten Linien (- - - -) dargestellt..... 91

**Abbildung 9** Übersicht des generellen Vorgehens zur Abwasserbeurteilung in der Produkteentwicklung eines Pharma- oder Chemiebetriebs. Nach der Entwicklung eines neuen Produktes und einem positiven Entscheid zur Aufnahme in die Produktion wird das Abwasser auf die Abbaubarkeit und die Nitrifikationshemmung untersucht. Vorhandene Informationen zu den Abwasserinhaltsstoffen oder bestehende ökotoxikologische Daten fliessen ebenso in die Beurteilung mit ein. Auf Grundlage der Abwasserbeurteilung werden die Abfälle bzw. Abwässer schliesslich vorbehandelt und in die Verbrennung geführt oder in die ARA eingeleitet. Die anfallenden Abwässer aus der Produkteentwicklung werden oft direkt der Verbrennung zugeführt, da nur kleine Mengen generiert werden. Die Erkenntnisse aus der Abwasserbeurteilung fliessen schliesslich in die Erstellung des Abwasserkatasters mit ein, welcher Vorgaben über den jeweiligen Entsorgungsweg für die Abwässer aus unterschiedlichen Produktionslinien enthält und durchschnittlich alle 3 bis 5 Jahre erneuert oder stetig bei Veränderungen oder Anpassungen in der Produktion adaptiert wird. .... 92

**Abbildung 10** Verteilung der teilnehmenden Betriebe auf die befragten Branchen. Der grösste Teil stammt aus der Oberflächenbehandlung (gelb), gefolgt von der Pharma-/Chemiebranche (rot) und einem vernachlässigbaren Anteil Entsorgungsunternehmen (blau). .... 98

**Abbildung 11** Übersicht der unterschiedlichen Entsorgungswege der Betriebsabwässer. Die meisten befragten Betriebe leiten in eine kommunale ARA ein, während ein Viertel über eine eigene Betriebskläranlage verfügt oder in eine grössere Industriekläranlage einleitet. Der Anteil anderer Entsorgungswege für die Betriebsabwässer direkt in den Vorfluter, in die Verbrennung oder in die externe Entsorgung sind vernachlässigbar. .... 99

**Abbildung 12** Übersicht der Entscheidungsgrundlagen für die Entsorgung der Betriebsabwässer in allen Branchen. Die meisten befragten Betriebe stützen sich auf chemische Untersuchungen, gefolgt von den Angaben im Abwasserkataster. Nur einzelne Betriebe wenden theoretische Überlegungen und Erfahrungswerte an. Abbautests werden nur von insgesamt fünf Betrieben angewendet und zwei Betriebe verfügen über ein Online-Toxizitätsüberwachungssystem..... 100

**Abbildung 13** Übersicht der Betriebe, die gemäss eigener Auskunft einen Abbautest durchführen und/oder bereits Erfahrungen mit der Anwendung von Biotests gemacht haben. Rund die Hälfte der befragten Betriebe beantwortete die beiden Fragen nicht, weshalb der Anteil der Betriebe, die einen

Abbautest durchführen vermutlich grösser einzuschätzen ist (z.B. zur Erstellung eines Abwasserkataster). Der Anteil Betriebe, der bereits Erfahrungen mit der Durchführung von Biotests hat, ist erwartungsgemäss relativ gering, jedoch wurde auch diese Frage nicht von allen teilnehmenden Betrieben beantwortet. ....	101
<b>Abbildung 14</b> Übersicht der eingesetzten Biotestsysteme, die bereits von den befragten Betrieben eingesetzt wurden. Bewährte Systeme mit Belebtschlamm zur Abschätzung der Nitrifikations- und Respirationshemmung sowie Tests mit Algen, Fischembryonen, Daphnien und Leuchtbakterien wurden von allen Betrieben eingesetzt, die bereits über Erfahrungen mit Biotests verfügen. Spezifischere Testsysteme wie der Ames- oder Umu-Test kamen weniger häufig zum Einsatz. Biomonitoring zur Online- Toxizitätsüberwachung und den modifizierten Abbautest setzten zwei Betriebe ein. Zum Wasserlinsentest besteht keine Erfahrung. ....	102
<b>Abbildung 15</b> Vorgehen zur Abschätzung der Persistenz und der ARA-Toxizität. In Stufe 1 werden die vorbehandelten Abwässer (Gesamtabwasserstrom) in einen Abbautest (z.B. Zahn-Wellens-Test) geführt (blau), um eine biologische Behandlung zu simulieren. Um keine Effekte aufgrund von abiotischen Faktoren im Abbautest zu generieren, wird der pH angepasst und die Probe verdünnt bis die Leitfähigkeit und der DOC in dem für den gewählten Abbautest zulässigen Bereich liegen (gelb). Unter Zugabe einer Kohlenstoff- (C) oder Stickstoff-(N) Quelle kann innerhalb des Abbautests zusätzlich die ARA-Toxizität abgeschätzt werden (grün: Nitrifikations- und/oder Respirationshemmtest). In Stufe 2 wird das Abwasser aus einzelnen Produktionslinien ebenfalls auf die Persistenz und ARA-Toxizität untersucht (hellgrau/gestrichelt). ....	106
<b>Abbildung 16</b> Die biologisch behandelte Abwasserprobe wird nach Abschätzung der Persistenz und der ARA-Toxizität auf deren pH, die Leitfähigkeit und evt. ihren Salzgehalt überprüft, um mögliche Matrixeffekte innerhalb der angewendeten Biotests abzuschätzen. Anschliessend wird die Probe in einer Biotestbatterie bestehend aus einem Leuchtbakterientest, einem Daphnientest, einem Algentest und optional in einem Ames-Test (z.B. bei Verdacht auf mutagene Substanzen) untersucht. ....	107
<b>Abbildung 17</b> Checkliste zur Überprüfung der einzelnen Schritte im Untersuchungskonzept. Wenn alle Checkboxen erfüllt werden, kann das getestete Abwasser in das Gewässer eingeleitet werden. Werden nicht alle vorgegebenen Punkte eingehalten oder zeigt die Probe in einem Biotest eine Toxizität an, muss die Ursachensuche (chemische Ansätze oder durch weiterführende Biotests z.B. von Stufe 2) eingeleitet werden. ....	108
<b>Abbildung 18</b> Vorschlag Untersuchungskonzept für die Beurteilung von industriellen Abwässern (Erläuterungen unter 8.1). ....	110
<b>Abbildung 19</b> Interpretationshilfe für die Einordnung der toxischen Abwässer und Vorgehen für die Salzkorrektur ( <b>Szenario 1</b> und <b>Szenario 2</b> ) zur Untersuchung von Industrieabwässer mittels Biotests (siehe 8.2.1).....	117
<b>Abbildung 20</b> Interpretationshilfe für die Einordnung der toxischen Abwässer und Vorgehen für die Salzkorrektur ( <b>Szenario 3</b> ) zur Untersuchung von Industrieabwässer mittels Biotests (siehe 8.2.1).....	118

### 11.3 Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1</b> Übersicht der Branchen, die gemäss der Situationsanalyse abwasserrelevante Prozesse einsetzen und somit zu möglichen Stoffeinträgen in die Gewässer führen können (adaptiert nach Wunderlin et al., 2021, in prep.). Neben Abwasser aus Produktionsprozessen mit oftmals variabler Stoffzusammensetzung sind Kühl- und Heizprozesse relevant für den Eintrag von Stoffrückständen (z.B. durch Biozide in Kühlabwässern). .....	12
<b>Tabelle 2</b> In der Ökotoxikologie häufig verwendete Werte für die Auswertung von Biotestergebnissen (adaptiert nach Kienle et al., 2015a). Die innerhalb der getesteten Verdünnungen gemessenen Effekte werden in eine Dosis-Wirkungskurve übertragen, um daraus die spezifischen Werte zu ermitteln (siehe auch <b>Abbildung 1</b> ). .....	16
<b>Tabelle 3</b> Definitionen in vivo und in vitro Biotests und ihre Vor- und Nachteile (adaptiert nach Kienle et al., 2015a). .....	19
<b>Tabelle 9</b> Vergleich des Abbautests nach Zahn-Wellens nach OECD 302 B (OECD, 1992) und des modifizierten Abbautests nach Stucki (Stucki, 2000). (Daten wurden tw. der Präsentation von Alessandro Piazzoli, Envilab vom 5.11.20, FBK VSA entnommen). .....	23
<b>Tabelle 4</b> Kriterien für die Auswahl von geeigneten Biotestsystemen für die Untersuchung von Industrieabwasser .....	30
<b>Tabelle 5</b> Übersicht ausgewählter standardisierter Biotestsysteme und ihre Wirkungsweisen, Eigenschaften (in vivo/in vitro, akute/chronische Toxizität) Zeitdauer und Referenzen bzw. Guidelines (Tabelle adaptiert nach Kienle et al., 2015a). .....	31
<b>Tabelle 6</b> Übersicht ausgewählter Biotestsysteme, die sich für die Anwendung mit Abwasserproben grundsätzlich eignen, die jeweiligen Voraussetzungen für eine Durchführung und die Vorteile und Nachteile ihrer Anwendung (adaptiert nach Kienle et al., 2015a). .....	39
<b>Tabelle 7</b> Bewertung der ausgewählten Biotestsysteme aufgrund ausgewählter Kriterien, die für die Beurteilung von Industrieabwasser als bedeutend eingestuft wurden. Unter «Eignung für Industrieabwasser-Untersuchung» (dunkelgrau) wurde der Durchschnitt der vergebenen Punkte (+) gerechnet. Alle diejenigen Testsysteme, die im Durchschnitt zwischen 2.5 und 3 liegen ( <b>fett markiert</b> ) eignen sich gut für die Untersuchung von Industrieabwasser. Für die Beurteilung der Gentoxizität bzw. Mutagenität wird der Ames-Test dem Umu(C)-Test vorgezogen, da Mutagenität ein Ausschlusskriterium ist (Null-Toleranz) und durch Wirkungsweise des Umu(C)-Tests nicht alle mutagene Substanzen abgedeckt werden (unterstrichen). Die hohe Abweichung in der Bewertung des Fischeitests im Vergleich zum Fischzellinientest gründet auf der grossen Anwendungserfahrung (z.B. in Deutschland) und der relativ neuen Entwicklung von geeigneten Fischzellinientests (darum ungenügende Informationen). Aufgrund von ethischen Aspekten wird daher der Fischzellinientest dem Fischeitest ebenfalls vorgezogen (unterstrichen). .....	43
<b>Tabelle 8</b> Auswahl an Biotestsystemen, die sich aufgrund der definierten Kriterien und der Bewertung gemäss <b>Tabelle 7</b> für die Beurteilung von Industrieabwässern eignen. ....	44



<b>Tabelle 10</b> Vorgeschlagene Testorganismen für die Untersuchung der akuten Toxizität von Abwasser- oder Gewässerproben gemäss der Methodenempfehlung der US EPA (US EPA, 2002a, 2002b). Die Tabelle wurde zudem ergänzt mit Testorganismen, die gemäss Website der US EPA vorgeschlagen werden ( <a href="http://www.epa.gov/cwa-methods/whole-effluent-toxicity-methods">www.epa.gov/cwa-methods/whole-effluent-toxicity-methods</a> , Stand Dezember 2020). .....	54
<b>Tabelle 11</b> Übersicht der G-Werte aus der deutschen Abwasserverordnung und deren Verdünnungsstufen. ....	64
<b>Tabelle 12</b> Mindestanforderungen an die gemessene Toxizität in Verdünnungsreihen von Abwasserproben ausgewählter Branchen gemäss Abwasserverordnung in Deutschland. Für die Bestimmung der Höhe der Abwasserabgaben hat der einzig der $G_{EI}$ -Wert aus dem Fischeitest Konsequenzen. Für die Metallbearbeitung bzw. -verarbeitungsbranche sind unterschiedliche $G_{EI}$ -Werte für verschiedene Prozesse vorgeschrieben (adaptierte Tabelle von Brigitte von Danwitz, LANUV NRW). ....	66
<b>Tabelle 13</b> Fiktives Rechnungsbeispiel für die Anwendung der Salzkorrekturregelung gemäss § 6 AbwV: der $G_{EI}$ -Wert ( $G_{EI}$ gemessen = 6) für ein chemisches Betriebsabwasser (X1) wird aufgrund des Salzgehalts (Summe Salzgehalt = 12000 mg/l) entsprechend um den errechneten Korrekturwert (Summe Salzgehalt / organismusspezifische Wirkschwelle für den Fischeitest = 3 g/l) adaptiert, weshalb der gemessene $G_{EI}$ Wert um den errechneten Korrekturwert korrigiert wird (Differenz zwischen $G_{EI}$ und Korrekturwert = $G_{EI}$ korrigiert = 2). Aufgrund der Salzkorrektur gilt deshalb der $G_{EI}$ -Wert als eingehalten.	67
<b>Tabelle 14</b> Zusammenstellung einzelner Rückmeldungen aus den Kantonen nach Anfrage durch das BAFU und in gewissen Fällen nach erneuter Kontaktaufnahme durch die FHNW. Mit den Kantonen AG, BE, BL und LU wurde durch die FHNW vertiefte Rücksprache zum Thema gehalten. In vielen der befragten Kantone ist das Interesse am Einsatz von Biotests für die Beurteilung von Industrieabwässern vorhanden, in den meisten Kantonen bestehen jedoch keine Kenntnisse oder Erfahrungen zur Anwendung von Biotests in den Betrieben. ....	84
<b>Tabelle 15</b> Übersicht der befragten Betriebe und Zuordnung innerhalb der Branche mit durchschnittlicher Tagesmenge des Abwassers und der Einteilung nach deren Einteilung in unterschiedliche Typen von ARA .....	88
<b>Tabelle 16</b> Übersicht über die verwendeten Biotestsysteme (aufgeteilt in Systeme zur Abschätzung der ARA-Toxizität und der Gesamt-Toxizität), Spezifikationen zu deren Ausführung, die Häufigkeit der Durchführung und der Grund für die Anwendung bei den befragten Betrieben A bis F. ....	94

## 11.4 Guidelines

**ISO 6341:2012** - International Organisation for Standardisation. Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der Hemmung der Beweglichkeit von *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) - Akuter Toxizitäts-Test. 2012.

**ISO 9509:2006** - International Organisation for Standardisation. Wasserbeschaffenheit - Toxizitätstest zur Bestimmung der Nitrifikationshemmung in Belebtschlamm. 2006.

**ISO 11348-1:2007** - International Organisation for Standardisation. Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von *Vibrio fischeri* (Leuchtbakterientest) - Teil 1. 2007.

**ISO 11348-2:2007** - International Organisation for Standardisation. Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von *Vibrio fischeri* (Leuchtbakterientest) - Teil 2: Verfahren mit flüssig getrockneten Bakterien. 2007.

**ISO 11350:2012** - International Organisation for Standardisation. Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der Gentoxizität von Wasser und Abwasser - Verfahren mittels *Salmonella*/Microsomen-Fluktuationstest (Ames-Fluktuationstest). 2012.

**ISO 12890:1999-12** - International Organisation for Standardisation. Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der Toxizität von Embryos und Larven eines Süßwasserfisches - Halbstatisches Verfahren. 1999.

**ISO 13829:2000** - International Organisation for Standardisation. Wasserbeschaffenheit - Bestimmung des erbgutverändernden Potentials in Wasser und Abwasser mittels umu-Test. 2000.

**ISO 15088:2007** - International Organisation for Standardisation. Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der akuten Toxizität von Abwasser auf Zebrafisch-Eier (*Danio rerio*). 2007.

**ISO 19040-1:2018** - International Organisation for Standardisation. Wasserbeschaffenheit - Bestimmung des östrogenen Potentials von Wasser und Abwasser - Teil 1: Hefebasierter Östrogentest (*Saccharomyces cerevisiae*). 2018.

**ISO 19040-2:2018** - International Organisation for Standardisation. Wasserbeschaffenheit - Bestimmung des östrogenen Potentials von Wasser und Abwasser - Teil 2: Hefebasierter Östrogentest (*A-YES*, *Arxula adeninivorans*). 2018.

**ISO 20079:2005** - International Organisation for Standardisation. Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der toxischen Wirkung von Wasserinhaltsstoffen und Abwasser gegenüber Wasserlinsen (*Lemna minor*) - Wasserlinsen-Wachstumshemmtest. 2005.

**ISO 21115:2019** - International Organisation for Standardisation. Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der akuten Toxizität von Wasserproben und Chemikalien auf eine Fisch-Kiemenzelllinie (RT gill-W1). 2019.

International Organisation for Standardisation. Water quality - Algal growth inhibition test on microplate with unicellular green fresh water algae. Working Draft. 2011.

**OECD Test No. 201.** OECD Guidelines for Testing of Chemicals. Freshwater Alga and Cyanobacteria Growth Inhibition Test. 2006.

**OECD Test No. 202.** OECD Guidelines for Testing of Chemicals. *Daphnia* Sp. Acute Immobilisation Test. 2004.

**OECD Test No. 209.** OECD Guidelines for Testing of Chemicals. Activated Sludge, Respiration Inhibition Test (Carbon and Ammonium Oxidation). 2010.

**OECD Test No. 210.** OECD Guidelines for Testing of Chemicals. Fish, Early-life Stage Toxicity Test. 2013.

**OECD Test No. 211.** OECD Guidelines for Testing of Chemicals. *Daphnia magna* Reproduction Test. 2012.

**OECD Test No. 221.** OECD Guidelines for Testing of Chemicals. *Lemna* sp. Growth Inhibition Test. 2006.

**OECD Test No. 236.** OECD Guidelines for Testing of Chemicals. Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test. 2013.

**OECD Test No. 302 B.** OECD Guidelines for Testing of Chemicals. Zahn-Wellens/EMPA Test. 1992.

## **11.5 Gesetzliche Grundlagen**

*Bundesgesetz über den Schutz der Gewässer (Gewässerschutzgesetz, GSchG, SR 814.20) vom 24. Januar 1991*

*Gewässerschutzverordnung (GSchV, SR 814.201) vom 28. Oktober 1998*

*Bundesgesetz über den Umweltschutz (Umweltschutzgesetz, USG, SR 814.01) vom 7. Oktober 1983*

*Verordnung über Anforderungen an das Einleiten von Abwasser in Gewässer, Abwasserverordnung, AbwV (D) vom 17. Juni 2004.*

*Gesetz über Abgaben für das Einleiten von Abwasser in Gewässer, Abwasserabgabengesetz, AbwAG (D) vom 13. September 1976.*

*Gesetz zur Ordnung des Wasserhaushalts, Wasserhaushaltsgesetz (D) vom 31. Juli 2009.*

*Richtlinie 2010/75/EU (Industrieemissions-Richtlinie) des Europäischen Parlaments und der Rates vom 24. November 2010 über Industrieemissionen (integrierte Vermeidung und Verminderung der Umweltverschmutzung), Strassburg 2010 (EU)*

*Richtlinie 2008/1/EG (IVU-Richtlinie) des Europäischen Parlaments und des Rates vom 15. Januar 2008 über die integrierte Vermeidung und Verminderung der Umweltverschmutzung, Strassburg 2008 (EU)*

*Federal Water Pollution Control Act (Clean Water Act, CWA) (US)*

## 12 Anhang

## A1. Übersicht Abbautests (erstellt durch Rebekka Gulde, 2020)

### Biodegradation in water: screening tests

- = ECETOC Anaerobic Biodegradation (Technical Report No. 28)
- = EPA OPPTS 835.3100 (Aerobic Aquatic Biodegradation)
- = EPA OPPTS 835.3110 (Ready Biodegradability)
- = EPA OPPTS 835.3120 (Sealed Vessel Carbon Dioxide Production Test)
- = EPA OPPTS 835.3140 - Ready Biodegradability – CO<sub>2</sub> in Sealed Vessels (Headspace Test)
- = EPA OPPTS 835.3170 (Shake Flask Die-away Test)
- = EPA OPPTS 835.3200 (Zahn-Wellens / EMPA Test)
- = EPA OPPTS 835.3210 (Inherent Biodegradability: Modified SCAS Test)
- = EPA OPPTS 835.3215 (Inherent Biodegradability - Concawe Test)
- = EPA OPPTS 835.3400 (Anaerobic Biodegradability of Organic Chemicals)
- = EPA OPPTS 835.3420 (Anaerobic Biodegradability of Organic Compounds in Digested Sludge: By Measurement of Gas Production)
- = EPA OPPTS 835.5045 (Modified SCAS Test for Insoluble and Volatile Chemicals)
- = EPA OTS 795.45 (Inherent Biodegradability: Modified SCAS Test for Chemical Substances that are Water Insoluble or Water Insoluble and Volatile)
- = EPA OTS 796.3100 (Aerobic Aquatic Biodegradation)
- = EPA OTS 796.3140 (Anaerobic Biodegradability of Organic Chemicals)
- = EPA OTS 796.3180 (Ready Biodegradability: Modified AFNOR Test)
- = EPA OTS 796.3200 (Ready Biodegradability: Closed Bottle Test)
- = EPA OTS 796.3220 (Ready Biodegradability: Modified MITI Test(I))
- = EPA OTS 796.3240 (Ready Biodegradability: Modified OECD Screening Test)
- = EPA OTS 796.3260 (Ready Biodegradability: Modified Sturm Test)
- = EPA OTS 796.3340 (Inherent Biodegradability: Modified SCAS Test)
- = EPA OTS 796.3360 (Inherent Biodegradability: Modified Zahn-Wellens Test)
- = EU Method C.12 (Biodegradation: Modified SCAS Test)
- = EU Method C.29 (Ready Biodegradability - CO<sub>2</sub> in Sealed Vessels (Headspace Test))
- = EU Method C.4-A (Determination of the "Ready" Biodegradability - Dissolved Organic Carbon (DOC) Die-Away Test)
- = EU Method C.4-B (Determination of the "Ready" Biodegradability - Modified OECD Screening Test)
- = EU Method C.4-C (Determination of the "Ready" Biodegradability - Carbon Dioxide Evolution Test)
- = EU Method C.4-D (Determination of the "Ready" Biodegradability - Manometric Respirometry Test)
- = EU Method C.4-E (Determination of the "Ready" Biodegradability - Closed Bottle Test)
- = EU Method C.4-F (Determination of the "Ready" Biodegradability - MITI Test)
- = EU Method C.5 (Degradation: Biochemical Oxygen Demand)
- = EU Method C.6 (Degradation: Chemical Oxygen Demand)
- = EU Method C.9 (Biodegradation: Zahn-Wellens Test)
- = ISO 10707 Water quality - Evaluation in an aqueous medium of the "ultimate" aerobic biodegradability of organic compounds - Method by analysis of biochemical oxygen demand (closed bottle test)
- = ISO 10708 Water quality - Evaluation in an aqueous medium of the ultimate aerobic biodegradability of organic compounds - Determination of biochemical oxygen demand in a two-phase closed bottle test
- = ISO 11734 Water quality - Evaluation of the "ultimate" anaerobic biodegradability of organic compounds in digested sludge - Method by measurement of the biogas production
- = ISO 14593:1999 (Water quality - Evaluation of ultimate aerobic biodegradability of organic compounds in aqueous medium - Method by analysis of inorganic carbon in sealed vessels (CO<sub>2</sub> headspace test))
- = ISO 5815 (Water quality - Determination of Biochemical Oxygen Demand after 5 Days (BOD<sub>5</sub>) - Dilution and Seeding Method)
- = ISO 9887 Water quality - Evaluation of the aerobic biodegradability of organic compounds in an aqueous medium - Semi-continuous activated sludge method (SCAS)
- = ISO 9888 Water quality - Evaluation of ultimate aerobic biodegradability of organic compounds in aqueous medium - Static test (Zahn-Wellens method)
- = ISO DIS 9408 (Ultimate Aerobic Biodegradability - Method by Determining the Oxygen Demand in a Closed Respirometer)
- = ISO DP 6060 (Water Quality - Determination of the Chemical Oxygen Demand)
- = OECD Guideline 301 A (Ready Biodegradability: DOC Die Away Test)
- = OECD Guideline 301 B (Ready Biodegradability: CO<sub>2</sub> Evolution Test)
- = OECD Guideline 301 C (Ready Biodegradability: Modified MITI Test (I))
- = OECD Guideline 301 D (Ready Biodegradability: Closed Bottle Test)
- = OECD Guideline 301 E (Ready biodegradability: Modified OECD Screening Test)
- = OECD Guideline 301 F (Ready Biodegradability: Manometric Respirometry Test)
- = OECD Guideline 302 A (Inherent Biodegradability: Modified SCAS Test)

- = OECD Guideline 302 B (Inherent biodegradability: Zahn-Wellens/EMPA Test)
- = OECD Guideline 302 C (Inherent Biodegradability: Modified MITI Test (II))
- = OECD Guideline 302 D Draft (Inherent Biodegradability - Concawe Test)
- = OECD Guideline 306 (Biodegradability in Seawater)
- = OECD Guideline 310 (Ready Biodegradability - CO<sub>2</sub> in Sealed Vessels (Headspace Test))
- = OECD Guideline 311 (Anaerobic Biodegradability of Organic Compounds in Digested Sludge: Measurement of Gas Production)
- = ISO Draft (BOD Test for Insoluble Substances)
- = OECD Guideline 301 A (old version) (Ready Biodegradability: Modified AFNOR Test)

#### **Biodegradation in water and sediment: simulation tests**

- = EPA OPPTS 835.3160 (Biodegradability in Sea Water)
- = EPA OPPTS 835.3180 (Sediment / Water Microcosm Biodegradation Test)
- = EPA OPPTS 835.3190 (Aerobic Mineralisation in Surface Water - Simulation Biodegradation Test)
- = EPA OPPTS 835.3220 (Porous Pot Test)
- = EPA OPPTS 835.3240 (Simulation Test - Aerobic Sewage Treatment: A. Activated Sludge Units)
- = EPA OPPTS 835.3260 (Simulation Test - Aerobic Sewage Treatment: B. Biofilms)
- = EPA OPPTS 835.4300 (Aerobic Aquatic Metabolism)
- = EPA OPPTS 835.4400 (Anaerobic Aquatic Metabolism)
- = EPA OPPTS 835.5154 (Anaerobic Biodegradability in the Subsurface)
- = EPA OTS 795.54 (Anaerobic Biodegradability in the Subsurface)
- = EPA Subdivision N Pesticide Guideline 162-3 (Anaerobic Aquatic Metabolism)
- = EPA Subdivision N Pesticide Guideline 162-4 (Aerobic Aquatic Metabolism)
- = EU Method C.10 (Biodegradation: Activated Sludge Simulation Test)
- = EU Method C.10-A (Simulation Test Aerobic Sewage Treatment: Activated Sludge Units)
- = EU Method C.10-B (Simulation Test Aerobic Sewage Treatment: Biofilms)
- = EU Method C.24 (Aerobic and Anaerobic Transformation in Aquatic Sediment Systems)
- = ISO 11733 Water quality - Determination of the elimination and biodegradability of organic compounds in an aqueous medium - Activated sludge simulation test
- = ISO 11734: Water quality - Evaluation of the "ultimate" anaerobic biodegradability of organic compounds in digested sludge - Method by measurement of the biogas production
- = ISO 14592-1 (Water quality - Evaluation of the aerobic biodegradability of organic compounds at low concentrations - Part 1: Shake-flask batch test with surface water or surface water/sediment suspensions)
- = ISO 14592-2 (Water quality - Evaluation of the aerobic biodegradability of organic compounds at low concentrations - Part 2: Continuous flow river model with attached biomass)
- = OECD Guideline 303 A (Simulation Test - Aerobic Sewage Treatment. A: Activated Sludge Units)
- = OECD Guideline 303 B (Simulation Test - Aerobic Sewage Treatment. B. Biofilms)
- = OECD Guideline 308 (Aerobic and Anaerobic Transformation in Aquatic Sediment Systems)
- = OECD Guideline 309 (Aerobic Mineralisation in Surface Water - Simulation Biodegradation Test)
- = OECD Guideline 314 A (Simulation Tests to Assess the Biodegradability of Chemicals in Wastewater. A: Biodegradation in a Sewer System)
- = OECD Guideline 314 B (Simulation Tests to Assess the Biodegradability of Chemicals in Wastewater. B: Biodegradation in Activated Sludge)
- = OECD Guideline 314 C (Simulation Tests to Assess the Biodegradability of Chemicals in Wastewater. C: Mineralization and Transformation in Anaerobic Digester Sludge)
- = OECD Guideline 314 D (Simulation Tests to Assess the Biodegradability of Chemicals in Wastewater. D: Biodegradation in Treated Effluent-Surface Water Mixing Zone)
- = OECD Guideline 314 E (Simulation Tests to Assess the Biodegradability of Chemicals in Wastewater. E: Biodegradation in Untreated Wastewater-Surface Water Mixing Zone)
- = OECD Guideline 306 (Biodegradability in Seawater)

#### **Biodegradation in soil**

- = EPA OPPTS 835.3300 (Soil Biodegradation)
- = EPA OPPTS 835.4100 (Aerobic Soil Metabolism)
- = EPA OPPTS 835.4200 (Anaerobic Soil Metabolism)
- = EPA OTS 796.3400 (Soil Biodegradation)
- = EU Method C.23 (Aerobic and Anaerobic Transformation in Soil)
- = ISO/DIS 17556.2 (Plastics - Determination of the Ultimate Aerobic Biodegradability in Soil by Measuring the Oxygen Demand in a Respirometer or the Amount of Carbon Dioxide Evolved)
- = OECD Guideline 304 A (Inherent Biodegradability in Soil)
- = OECD Guideline 307 (Aerobic and Anaerobic Transformation in Soil)

## A2. Fragekatalog zum Thema Biotests für Abwasseruntersuchung (Gesprächsleitfaden für die Betriebsgespräche)

### Fragekatalog zum Thema Biotests für Abwasseruntersuchungen Übersichtsstudie zum Einsatz von Biotests bei Industrieabwasser

---

#### Angaben zum Interview

Firma:	Abteilung:
Name Ansprechperson:	Ort/Datum:

---

#### Hintergrund

Mikroverunreinigungen stammen aus verschiedenen Quellen und werden direkt oder indirekt (über Abwasserreinigungsanlagen) in die Gewässer eingetragen. Ein Teil der verantwortlichen Stoffeinträge stammt aus Industrie- und Gewerbebetrieben, jedoch ist über deren Herkunft und Zusammensetzung bisher noch wenig bekannt. Durch chemische Analysen können einzelne Substanzen zwar gezielt detektiert werden, nicht untersuchte Substanzen sowie Kombinationswirkungen von Stoffmischungen werden dadurch aber nicht abgedeckt. Um diese Lücke zu schliessen, möchten wir den Einsatz von Biotests für die Untersuchung von Industrieabwasser prüfen.

Seitens Industrie wurde bereits mehrfach ein Interesse an der Erarbeitung eines Leitfadens für die **Anwendung von Biotests zur Beurteilung von Industrieabwässern** geäussert (z.B. Workshop ScienceIndustries und VSA im Herbst 2018).

Das Institut für Ecopreneurship der FHNW führt zu diesem Zweck ein Projekt in Zusammenarbeit mit der VSA-Plattform Verfahrenstechnik Mikroverunreinigungen durch. Ziel des Projekts ist es, das vorhandene nationale und internationale Wissen zu Biotests zur Beurteilung von Industrie- und Gewerbeabwasser zusammenzustellen und aus den gewonnenen Erkenntnissen ein Vorgehen für die Beurteilung von Industrieabwässern mittels Biotests vorzuschlagen.

Die vorliegenden Fragen dienen lediglich zur Abklärung der vorhandenen Erfahrungen und Erkenntnissen bei den Betrieben in der Schweiz aus verschiedenen Branchen. Alle Betriebsangaben werden vertraulich behandelt und werden nicht für eine Bewertung eingesetzt!

---

**Biotests** sind «Analysemethoden, die lebende Zellen, Organismen oder Gemeinschaften in definierter Art und Anzahl einsetzen, um deren Reaktion auf eine Exposition zu messen» (Definition nach K. Fent 2013). Beispiele für Biotests sind Leuchtbakterien- (z.B. Microtox), Daphnien-, Algen-, Fischembryotest etc.

Ein **Abbautest**, z.B. der Zahn-Wellens-Test ist demnach nur dann ein Biotest, wenn auf eine Exposition die Reaktion auf die Nitrifikationsleistung getestet wird (Ammoniumzugabe erforderlich). Wird bei einem Abbautest (mit oder ohne Zugabe von Ammonium) lediglich die **Abbaubarkeit von Abwässern/Medien/Stoffen** getestet, verstehen wir diesen als Abbautest. Wenn ein Abbautest in Kombination mit einem Nitrifikationshemmtest (Zugabe von Ammonium) **zum Schutz der ARA (ARA-Toxizität)** getestet wird, handelt es sich gemäss unserer Definition um einen Biotest. Wir möchten im Folgenden auf Biotests (Fragen 12-31) und Abbautests (Fragen 1-11) getrennt eingehen



## **ABBAUTESTs (z.B. Zahn-Wellens-Test)**

*Dienen zur Einschätzung der Abbaubarkeit einer Substanz / einer Probe und repräsentieren keine Auswirkung auf die Biologie der ARA resp. das Gewässer.*

1. Haben Sie im Betrieb schon Erfahrungen mit Abbautests im Zusammenhang mit Abwasseruntersuchungen gemacht?  
☐ Wenn nein → weiter bei Frage 12  
  
☐ Wenn ja: Welcher Abbautest wurden durchgeführt?  
  
☐ Zahn-Wellens-Test ohne Nitrifikation (302 b)  
☐ Zahn-Wellens-Test mit Nitrifikation (302 b / DIN EN ISO 9509)  
☐ Andere (siehe Word-Dokument):
2. Wann wurden/ werden die Abbautests durchgeführt  
a. Vergangenheit: welche:  
b. Aktuell: welche: wie häufig:  
c. Zukünftig: welche: wie häufig:
3. Was ist/ war der Grund für die Anwendung? Welche Fragen sollen/ sollten damit beantwortet werden?
4. Welche Arten von Abwässern werden/ wurden beprobt?  
a. ☐ Rohabwässer ☐ vorbehandeltes Abwasser ☐ Abwasserteilstrom  
☐ Andere:  
b. Wie wird/wurde das beprobte Abwasser vorbehandelt:
5. Wer führt/ hat die Abbautests durch(geführt)?  
a. ☐ Externe Durchführung ☐ Interne Durchführung  
b. Kontakt zu beauftragter Firma/ interner Abteilung/ Labor/ Ansprechperson:
6. Was sagen/ haben die Ergebnisse der Abbautests aus(gesagt) und wie werden/ wurden diese interpretiert?
7. Haben/ Hatten die Ergebnisse Auswirkungen auf den Betrieb/Produktion? Werden/ Wurden aufgrund der Ergebnisse Anpassungen im betrieblichen Ablauf vorgenommen?  
  
☐ Nein ☐ Ja, es wurden folgende Anpassungen vorgenommen:
8. Welche Herausforderungen gibt es bei der praktischen Anwendung von Abbautests? Wo liegen die Hürden?
9. Welche Punkte sollten/könnten verbessert werden?
10. Welche Punkte haben sich bewährt und sollten erhalten bleiben?
11. Würden Sie die Erstellung eines neuartigen Abbautests begrüßen? Was würden Sie sich daraus erhoffen?

## BIOTESTS

Dienen der Abschätzung einer Toxizität, d.h. messen den Effekt einer bestimmten Exposition (z.B. Abwasserprobe) auf Zellen, Organismen oder ganze Gemeinschaften.

12. Haben Sie im Betrieb schon Erfahrungen mit Biotests im Zusammenhang mit Abwasseruntersuchungen gemacht?

☐ Nein → weiter bei Frage 22

☐ Ja: Welche Biotests wurden (an welchen Organismen) bisher durchgeführt?  
*Bitte passende Antworten ankreuzen und Spezifikation unterstreichen!*

☐ Leuchtbakterien (z.B. Microtox)

☐ Wasserlinsen

☐ Daphnien (akut/ chronisch)

☐ Algen (Wachstums-/ Photosynthesehemmtest)

☐ Fischembryo

☐ Fisch akut

☐ Andere:

13. Wann wurden/werden die Biotests durchgeführt

a. Vergangenheit:

welche:

b. Aktuell:

welche:

wie häufig:

c. Zukünftig: welche:

wie häufig:

14. In welchen Situationen werden/ wurden diese durchgeführt?

15. Was ist/ war der Grund für die Anwendung? Welche Fragen sollen/ sollten damit beantwortet werden?

16. Welche Arten von Abwässern werden/ wurden beprobt?

a. ☐ Rohabwasser

☐ vorbehandeltes Abwasser

☐ Abwasserteilstrom

☐ Andere:

b. Wie wird/ wurde das beprobte Abwasser vorbehandelt:

17. Wurden/ Werden die Biotests nach einem Abbautest (z.B. Zahn-Wellens-Test) durchgeführt?

☐ Ja: Abbautest:

☐ Nein

18. Wer führt/ hat die Biotests durch(geführt)?

a. ☐ Externe Durchführung

☐ Interne Durchführung

b. Kontakt zu beauftragter Firma/ interner Abteilung/ Labor/ Ansprechperson:

19. Was sagen/ haben die Ergebnisse der Biotests aus(gesagt) und wie werden/ wurden diese interpretiert?

20. Haben/ Hatten die Ergebnisse Auswirkungen auf den Betrieb/Produktion? Werden/ Wurden aufgrund der Ergebnisse Anpassungen im betrieblichen Ablauf vorgenommen?

☐ Nein

☐ Ja, es wurden folgende Anpassungen vorgenommen:

21. Würden Sie aufgrund Ihrer Erfahrungen erneut Biotests zur Beurteilung von Abwässern anwenden?

- a. ☐ Ja ☐ Nein, weil  
b. Was würden Sie anders machen?

22. Welche Herausforderungen gibt es bei der praktischen Anwendung von Biotests? Wo liegen die Hürden?

23. Was müssten Biotests aus Ihrer Sicht zur regelmässigen Anwendung in Ihrem Betrieb erfüllen/mitbringen?

24. Wie hoch auf einer Skala von 1 bis 10 schätzen Sie die Akzeptanz von Biotests in Ihrem Betrieb ein? *Bitte Zahl angeben!*

25. Wie können die Anwendbarkeit und Aussagekraft von Biotests in Ihrem Betrieb verbessert werden? Wo würde noch Optimierungspotenzial liegen?

26. Wo könnte aus Ihrer Sicht ein Nutzen für die Industrie liegen, wenn Biotests für die Beurteilung von Abwasserproben vermehrt eingesetzt werden? Und was müssten diese mitbringen?

27. Wie kann die Forschung die Industrie bei der praktischen Anwendung von Biotest unterstützen?

28. Würden Sie die Erstellung einer «Roadmap» / eines Leitfadens / einer Vorgehensempfehlung zum Einsatz von Biotests begrüßen? Was würden Sie sich daraus erhoffen?

29. Könnten Sie sich vorstellen, Biotests für eine Optimierung ihrer Abwasserbehandlungsprozesse einzusetzen (z.B. zur Überprüfung des Einsatzes neuer Aufbereitungsmethoden)?

- ☐ Ja ☐ Nein, weil

30. Wären Sie bereit, uns bei Rückfragen zur Verfügung zu stehen?

- ☐ Ja ☐ Nein

31. Könnten Sie sich vorstellen, uns für die Erarbeitung der Übersichtsstudie Daten oder Abwasserproben zur Verfügung zu stellen (unter Wahrung der Anonymität)?

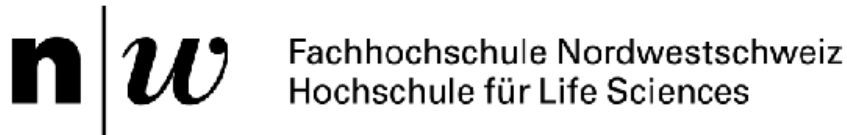
- ☐ Ja ☐ Nein ☐ Muss noch abgeklärt werden

### Allgemeine Angaben zum Betrieb

- (1) Branche  
☐ Pharma                      ☐ Chemie                      ☐ Biotech                      ☐ Galvanik                      ☐ Entsorgung/Recycling  
☐ Textilien    ☐ Lebensmittel                      ☐ Andere:
- (2) Verfügt der Betrieb über variable Produktionslinien?  
☐ Ja                                      ☐ Nein
- (3) Produzierte Mengen Abwasser:                      pro Jahr: / pro Monat: / pro Tag:
- (4) Wo wird das Betriebsabwasser eingeleitet?  
☐ ARA:                      ☐ Gewässer:
- (5) Wie wird das Betriebsabwasser vor der Einleitung behandelt?

## A3. Fragekatalog für die ausgeweitete Umfrage (Online-Umfrage)

(PDF eingebettet, klicken zum Öffnen)



### Einsatz von ökotoxikologischen Biotests für die Beurteilung von Industrieabwasser

#### Seite 1

Guten Tag,

Besten Dank, dass Sie an unserer Umfrage teilnehmen!

Die folgenden Fragen dienen dazu, einen Überblick zu erhalten, welche Erfahrungen in der Durchführung von Biotests für die Beurteilung von industriellen Abwässern schweizweit bestehen. Die Umfrage ist Teil des Projekts "Übersichtsstudie zum Einsatz von Biotests für die Beurteilung von Industrieabwässern", welches die Fachhochschule Nordwestschweiz (FHNW) im Auftrag des Bundesamts für Umwelt (BAFU) und in Zusammenarbeit mit dem Verband Schweizer Abwasser- und Gewässerschutzfachleute (VSA) durchführt.

Biotests sind Analysemethoden, die lebende Zellen bis hin zu Organismen einsetzen, um die biologische Reaktion auf eine bestimmte Exposition messen. So werden Biotests eingesetzt, um toxische Effekte von Einzelsubstanzen oder Substanzmischungen, wie zum Beispiel in Abwässern, abzuschätzen.

Die vorliegende Umfrage dient nicht dazu, eine Bewertung des Abwassermanagements oder der Produktionsprozesse vorzunehmen. Sie soll eine Übersicht des vorhandenen Wissens sowie der bestehenden Erfahrungen und Bedürfnisse zum Thema "Biotests und Industrie" in der Schweiz generieren. Alle erhobenen Daten werden vertraulich und anonymisiert verwendet!

Die Umfrage dauert rund 5-10 Minuten.

#### Seite 2

Fallen in Ihrem Betrieb Abwässer aus der Produktion oder aus der Entsorgung an?

- ☐ ja  
☐ nein