

GROBBEURTEILUNG DER WASSERQUALITÄT MIT BIOTESTS

ÖKOTOXIKOLOGISCHE BIOTESTS ZUR BEURTEILUNG VON ABWASSERBELASTETEN FLIESSGEWÄSSERN

Eine Beurteilung der Wasserqualität mit Biotests kann besonders dann sinnvoll sein, wenn biologisch aktive Stoffe und Stoffgemische vorhanden sind, die mit chemischer Analytik nur unvollständig erfasst werden können. Nun wurde im Rahmen des Modul-Stufen-Konzepts (MSK) ein Konzept zur Grobbeurteilung von abwasserbelasteten Fließgewässern mit ökotoxikologischen Biotests entwickelt. Das Konzept stellt einen ersten Schritt zur integrativen Beurteilung der Wasserqualität dar.

Cornelia Kienle; * Etienne Vermeirssen; Petra Kunz; Inge Werner
Schweizerisches Zentrum für angewandte Ökotoxikologie Eawag-EPFL

RÉSUMÉ

ÉVALUATION APPROXIMATIVE DE LA QUALITÉ DE L'EAU: BIOTESTS ÉCOTOXICOLOGIQUES POUR ÉVALUER LA QUALITÉ DE L'EAU DES COURS D'EAU POLLUÉS PAR LES EAUX USÉES

Un concept sommaire de routine pour évaluer la dégradation de la qualité de l'eau par les rejets d'eaux usées à l'aide de bioessais a été développé dans le cadre du système modulaire gradué MSK. Il est composé d'instructions relatives à la collecte d'échantillons d'eaux usées, au traitement des échantillons, à la réalisation des biotests et à l'évaluation des effets mesurés. Les biotests sélectionnés doivent être sensibles, basés sur des effets, faciles à réaliser, peu coûteux et facilement interprétables. Les biotests sélectionnés permettent d'évaluer 2 groupes de substances pertinentes sur le plan écotoxicologique: une pollution par des substances inhibitrices de photosynthèse (photosystème II) peut être mesurée à l'aide du test sur algues combiné, avec des algues vertes unicellulaires (*Raphidocelis subcapitata*). Le PSII joue un rôle central dans la photosynthèse des algues; s'il est inhibé, les algues ne peuvent plus proliférer. Le test sur algues combiné est simple et peu coûteux et a fourni de solides résultats dans de nombreuses études. Pour déterminer la contamination par des substances à activité strogénique, on utilise le *Yeast Estrogen Screen* (YES), un biotest avec des levures génétiquement modifiées (*Saccharomyces cerevisiae*). Les valeurs de mesure des biotests peuvent

BIOTESTS ERFASSEN AUCH EFFEKTE UNBEKANNTER SCHADSTOFFE

Die retrospektive Beurteilung der Wasserqualität im Gewässermonitoring basiert üblicherweise auf der chemischen Analyse ausgewählter Chemikalien und der Risikobeurteilung (Einzelstoffe oder Mischungen) durch den Vergleich mit Umweltqualitätskriterien [1, 2]. Diese Beurteilung kann angewandt werden, wenn für diese Stoffe einerseits analytische Umweltdaten und andererseits genügend Effektdaten zur Ableitung von Umweltqualitätskriterien (UQK; Englisch: *Environmental Quality Standards*, EQS) verfügbar sind. Analytische Methoden müssen dabei genügend sensitiv sein, um für die ausgewählten Stoffe Konzentrationen unter deren UQK (idealerweise 3-fach darunter) [1] detektieren zu können. Um mögliche unbekannte Mischungseffekte und die Wirkung nicht priorisierter bzw. nicht gemessener Stoffe zu erfassen, sind jedoch Methoden notwendig, die Effekte gesamter Stoffmischungen messen können. Ökotoxikologische Biotests sind solche integrativen Methoden, die Auskunft über spezifische Wirkungen bzw. die Toxizität einer Wasserprobe auf Zellen oder Lebewesen geben können [3]. Eine Relevanz für solche wirkungsbasierten Bewertungsverfahren zeigt sich in der

* Kontakt: cornelia.kienle@oekotoxzentrum.ch (Titelbild: ©tonaquatic19/123rf.com)

Schweizerischen Gewässerschutzverordnung (GSchV, SR 814.201; Art. 1). Dort heisst es, «dass Stoffe, die die Gewässer verunreinigen und durch menschliche Tätigkeit ins Wasser gelangen können, keine nachteiligen Einwirkungen auf die Lebensgemeinschaften von Pflanzen, Tieren und Mikroorganismen und auf die Nutzung der Gewässer haben dürfen». Allerdings können toxische Einzelstoffe mit ökotoxikologischen Biotests nicht identifiziert werden, da sie immer die Wirkung von Stoffmischungen erfassen. Bei spezifischen Wirkmechanismen oder wenn Toxizität nur bei bestimmten Arten gemessen wird, lassen sich mit ihrer Hilfe aber die verursachenden Stoffgruppen eingrenzen (z. B. auf bestimmte Herbizide, Insektizide, östrogen-aktive Stoffe).

Biotests sind auch dann relevant, wenn Stoffe mit sehr tiefen Qualitätskriterien mithilfe der chemischen Analytik nicht oder nur mit hohem Aufwand überwacht werden können, wie das zum Beispiel bei den steroidalen Östrogenen der Fall ist. Die drei steroidalen Östrogene (Estron, 17 β -Estradiol, 17 α -Ethinylestradiol) stehen derzeit auf der sogenannten «Watch List» prioritärer Stoffe der Europäischen Union (EU). Die UQK für diese Stoffe können mit analytischen Methoden bisher nur unzureichend überwacht werden, da die analytischen Nachweiskennwerte meist über den UQK liegen (für Estron, 17 β -Estradiol und 17 α -Ethinylestradiol liegen sie derzeit bei 3,6, 0,4 und 0,037 Nanogramm pro Liter¹). Daher sind hier Methoden zur Beurteilung von Wasserproben, die allein auf chemisch-analytischen Daten beruhen, nur bedingt aussagekräftig, da sie zu Falsch-Negativ-Ergebnissen führen können [4, 5].

Biotests müssen für ein Routine-Monitoring möglichst kostengünstig und einfach anzuwenden sein und robuste, wiederholbare und interpretierbare Ergebnisse liefern. Einen Überblick über verfügbare Biotests zur Beurteilung der Wasserqualität mit einer Empfehlung für zum Monitoring geeignete Biotests gibt Kienle *et al.* [6]. Es hat sich gezeigt, dass für eine Anwendung in der Praxis in erster Linie gewisse *in vitro*-Testverfahren, aber auch *in vivo*-Tests mit Einzelarten oder Lebensgemeinschaften infrage kommen. *In vitro*-Biotests basieren auf Zellkulturen oder einzelligen Organismen (z. B. Hefe, Bakterien, Grünalgen) und dienen meist zur Erfassung spezifischer Wirkungen. Je nach Wirkmechanismus gibt es einen oder mehrere Biotests, die zur Anwendung kommen können. Es gibt aber auch Wirkmechanismen, für die bisher noch keine geeigneten Biotests zur Verfügung stehen, vor allem in den Bereichen Neurotoxizität (z. B. durch Pyrethroid-Insektizide) und Immunotoxizität. Darüber hinaus ist eine Vielzahl weiterer Biotests verfügbar, die Effekte auf Organismen oder Lebensgemeinschaften erfassen. Während wenige Standardtests in einigen Ländern schon seit Jahrzehnten im Monitoring eingesetzt werden, sind zahlreiche Tests noch nicht standardisiert oder im Forschungsstadium und daher für einen Einsatz im Vollzug derzeit noch nicht geeignet.

Die im Folgenden vorgestellte Methode zur Grobbeurteilung der Wasserqualität abwasserbelasteter Fließgewässer anhand von Biotests wurde auf eine zukünftige Verwendung im Vollzug durch kantonale Gewässerschutzfachstellen, private Labore und weitere Experten aus der Praxis des Gewässerschutzes ausgerichtet. Sie baut vor allem auf Arbeiten im Rahmen des Projektes *Modul-Stufen-Konzept* (MSK)² auf [7–9]. Dabei wurde Wert auf eine einfache und kostengünstige Durchführung und klare Interpretierbarkeit der Resultate gelegt. Ziel war es, ein

belastbares Konzept zur routinemässigen Beurteilung der Wasserqualität mit ausgewählten ökotoxikologischen Biotests zur Verfügung zu stellen. Dieses sollte dabei, ergänzend zu anderen Methoden, eine Beurteilung möglicher Einwirkungen anthropogener Mikroverunreinigungen auf aquatische Lebensgemeinschaften erlauben. Die Arbeiten erfolgten unter Federführung des BAFU am Ökotoxizentrum Eawag-EPFL und wurden durch eine Arbeitsgruppe mit Experten aus privaten Labors, kantonalen Gewässerschutzfachstellen und der Forschung gesteuert und begleitet.³

KONZEPT ZUR GROBBEURTEILUNG

Das Konzept zur Grobbeurteilung der Wasserqualität abwasserbelasteter Fließgewässer basiert auf einer Untersuchung des gereinigten Abwassers mit anschliessender Extrapolation zum Fließgewässer (Fig. 1).



Fig. 1 Elemente des Konzepts zur Beurteilung der Wasserqualität von abwasserbelasteten Oberflächengewässern bez. östrogen-aktiven und Photosystem II-hemmenden Stoffen (Grafik: Eawag)
Éléments du concept pour évaluer la qualité des eaux de surface recevant des eaux usées concernant des substances à activité œstrogénique et des substances inhibitrices du photosystème II

In einem ersten Schritt wird die Belastung des Gewässers mit kommunalem Abwasser abgeschätzt. Übersteigt der Abwasseranteil 10%, sollte eine Untersuchung des gereinigten Abwassers mit Biotests erfolgen. Für die Probenahme und Probenaufbereitung sind verschiedene Punkte zu beachten.

¹ www.oekotoxzentrum.ch/expertenservice/qualitaetskriterien/

² www.modul-stufen-konzept.ch

³ s. Danksagung S. 46

Probenahme, -transport und -lagerung

Das Ziel der Probenahme ist, einen repräsentativen Teil des zu untersuchenden Wasserkörpers – in diesem Fall des gereinigten Abwassers – zu entnehmen und die Probe anschliessend so zu konservieren und zu lagern, dass die chemische Zusammensetzung und die Eigenschaften der Probe diejenigen des Wasserkörpers widerspiegeln. Für Abwasserproben finden sich dafür detaillierte Anleitungen in [2] und [10]. Bei der Probenahme im gereinigten Abwasser sind Sammelproben zu empfehlen. Es können z. B. jene 24-h-Sammelproben verwendet werden, die für Eigenkontrollen und behördliche Überprüfungen der Abwasserreinigungsanlage (ARA) genommen werden. Hierbei ist es sehr wichtig, Kontaminationen der Proben zu vermeiden. Daher müssen geeignete Probenahmebehälter und -materialien verwendet werden, z. B. Glas, aber auch andere Behälter (z. B. aus Aluminium), falls gezeigt wird, dass die benutzten Materialien nicht zu positiven Feldblindproben führen [11]. Direkt nach der Probenahme sollten die Proben (auf Eis) gekühlt und ins Labor transportiert werden [2, 12]. Nach Ankunft im Labor sollten die Proben möglichst zeitnah weiterverarbeitet und getestet werden. Ist das nicht möglich, können sie bis maximal 72 h im Dunkeln bei 2–8 °C und für bis zu zwei Monate bei minus 20 °C gelagert werden [13, 14].

Probenaufbereitung

Vor der Analyse im Biotest müssen die Wasserproben filtriert werden, um evtl. vorhandene Partikel zu entfernen. Auch hier muss auf geeignete Materialien geachtet werden wie z. B. Glasfaserfilter und Hilfsmaterialien aus Teflon, Glas und Edelstahl. Zudem sollten nur Materialien und Lösungsmittel verwendet werden, die frei von hormonaktiven Stoffen wie beispielsweise UV-Filtersubstanzen sind. Für die Messung mittels *in vitro*-Biotests wird eine Festphasenextraktion empfohlen (*Solid Phase Extraction*, SPE) [15]. Dies ist die heutzutage am häufigsten verwendete Methode zur Anreicherung von organischen Stoffen aus Wasserproben. Die Wahl des Sorptionsmaterials und der zur Elution verwendeten Lösungsmittel hat einen Einfluss auf die Wiederfindungsrate. Wasserparameter, wie z. B. der Gehalt an gelösten Huminsäuren, der Tongehalt und der Salzgehalt der Wasserprobe, können ebenfalls die Wiederfindungsra-

te und auch die Reproduzierbarkeit der Extraktion beeinflussen [16, 17].

ABWASSERRELEVANTE STOFFGRUPPEN UND BIOTESTMETHODEN

Die hier präsentierte Auswahl ökotoxikologischer Biotests fokussiert auf die Wirkung von zwei umweltrelevanten Stoffgruppen: Stoffe, die das Photosystem II (PSII) und damit das Wachstum von Pflanzen und Grünalgen hemmen (meist Herbizide), und östrogen-aktive Stoffe, welche u. a. die Fortpflanzung von Fischen beeinträchtigen können.

PSII-hemmende Stoffe

Die Gruppe der PSII-hemmenden Stoffe wurde ausgewählt, da sie eine in der Schweiz sehr umweltrelevante Schadstoffgruppe darstellt, die spezifisch auf Primärproduzenten, also Grünalgen und Pflanzen, wirkt. Primärproduzenten bilden in Oberflächengewässern häufig die Basis der Nahrungskette und erfüllen wichtige Funktionen wie z. B. die Produktion von Sauerstoff. Sie dienen als Nahrungsquelle für höhere trophische Ebenen, z. B. Wasserflöhe und Fische. Eine Beeinträchtigung des Grünalgen- oder Pflanzenwachstums kann weitreichende Folgen für das Ökosystem haben.

PSII-hemmende Stoffe werden in Schweizer Oberflächengewässern regelmässig in umweltrelevanten Konzentrationen ge-

messen. Sie gelangen sowohl aus Punktquellen als auch aus diffusen Quellen in die Gewässer. *Doppler et al.* [18] detektierte in kleinen, durch landwirtschaftliche Flächennutzung geprägten Bächen der Schweiz 17 PSII-hemmende Pflanzenschutzmittel. Die wichtigsten waren Diuron, Linuron und Terbutylazin. Wenn die Risiken der Einzelsubstanzen als Mischung betrachtet und zusammenaddiert wurden, trat regelmässig ein hohes Risiko für Pflanzen auf [19]. In der Liste der prioritären Stoffe der EU-Wasserrahmenrichtlinie befinden sich derzeit sechs PSII-hemmende Stoffe: Atrazin, Cybutryn, Diuron, Isoproturon, Simazin und Terbutryn. Diese werden in konventionellen ARA nicht effizient entfernt [20]. Zudem hemmen auch Stoffe, die nicht primär als Herbizide gelten, wie Triclosan, verschiedene Pharmazeutika und Metalle, das PSII von Grünalgen und höheren Pflanzen [21–23].

Östrogen-aktive Stoffe

Östrogen-aktive Stoffe können nachweislich die Reproduktionsfähigkeit von Fischen und teilweise auch Wasserwirbellosen beeinträchtigen, indem sie die Produktion von Hormonen und damit die Entwicklung der Geschlechtsorgane in Männchen und die Eientwicklung in Weibchen verändern [24, 25]. Diese Stoffe, vor allem das synthetische 17 α -Ethinylestradiol, die natürlichen Ös-

Test	Kombinierter Algentest	Yeast Estrogen Screen (YES)
Effekt/Endpunkt	Hemmung der Photosynthese und des Wachstums	Aktivierung des menschlichen Östrogenrezeptors
Anwendung	ARA-Auslauf, belastete Oberflächengewässer	ARA-Auslauf, belastete Oberflächengewässer
Allgemeine Informationen		
Testorganismus	einzellige Grünalgen	genetisch veränderte Bäckerhefe
Testprinzip	Auswirkungen von Umweltproben auf die Photosyntheseaktivität und das Wachstum der Algen	Nachweis der Aktivierung des menschlichen Östrogenrezeptors α durch östrogen-aktive Stoffe
Effektparameter	EC ₅₀ , BEQ	EC ₅₀ , BEQ
Kultivierung und Testdauer		
Lagerung der Organismen/Zellen	als Agarkulturen bei 2–8 °C für 6 Monate	Kryokultur bei –20 °C für maximal 4 Monate bei –80 °C für maximal 1 Jahr
Testformat	96-Well-Platten	96-Well-Platten
Vorkultur ab Langzeitlagerung	5 Tage	mind. 1 Tag (vor jedem Testansatz)
Testdauer (ab Exposition mit Probe)	24 Stunden	72 Stunden

Tab. 1 Übersicht über den kombinierten Algentest und den Yeast Estrogen Screen;

EC: Effektkonzentration; BEQ: Bioanalytische Äquivalenzkonzentration

Vue d'ensemble du test algues combiné et du Yeast Estrogen Screen;

EC: concentration efficace; BEQ: concentration en équivalents bioanalytiques

trogene 17 β -Estradiol und Estron sowie die Industriechemikalien Bisphenol A und Nonylphenol wurden in der Schweiz in umweltrelevanten Konzentrationen gemessen (z. B. [26]). Ausser den genannten Stoffen gibt es eine Vielzahl an anderen Substanzen, die östrogen wirken, wie z. B. bestimmte UV-Filtersubstanzen, Pharmazeutika, bromierte Flammenschutzmittel und gewisse Pestizide [27].

Für das Grob beurteilungskonzept wurden zwei Biotests ausgewählt: der kombinierte Algentest und der *Yeast Estrogen Screen* (YES). Beide erfüllten folgende Auswahlkriterien: Sie sind geeignet zur Analyse von Umweltproben (Abwasser- und Oberflächengewässerproben), sensitiv, robust, relativ weit validiert und/oder standardisiert, kostengünstig, einfach routinemässig anwendbar. Damit sind sie geeignet für Gewässerschutzlabore von Behörden und private Labore. *Tabelle 1* gibt einen Überblick über die Testsysteme. Eine detaillierte Methodenbeschreibung und weitere Informationen zur Durchführung der Biotests finden sich in [11].

BIOTEST ZUM NACHWEIS VON PHOTOSYSTEM II-HEMMENDEN STOFFEN

Die Bestimmung der Wasserqualität in Bezug auf PSII-hemmende Stoffe kann mithilfe des kombinierten Algentests mit einzelligen Grünalgen (*Raphidocelis subcapitata*, früherer Name: *Pseudokirchneriella subcapitata*) erfolgen (Fig. 2). Dieser Test kann sowohl mit nativen als auch mithilfe einer Festphasenextraktion angereicherten Proben durchgeführt werden. Die Extraktion hat den Vorteil, dass Nährstoffe nicht mehr enthalten sind und so deren Einfluss auf die Ergebnisse ausgeschlossen werden kann, zudem ermöglicht sie, Stoffe in geringeren Konzentrationen zu detektieren und so die Sensitivität zu erhöhen. Das Photosystem II spielt eine zentrale Rolle in der Photosynthese der Algen; wird es gehemmt, können die Algen nicht mehr wachsen. Diese spezifische Wirkung von Herbiziden und anderen Stoffen mit dem entsprechenden Wirkmechanismus tritt sehr schnell ein (nach wenigen Minuten). Die Messung der PSII-Hemmung erfolgt daher schon zwei Stunden nach Testbeginn. Nach 24–48 Stunden können zudem Auswirkungen auf das Wachstum (Erhöhung der Zelldichte) gemessen werden. Der kombinierte Algentest ist einfach und kostengünstig. Er hat in zahlreichen

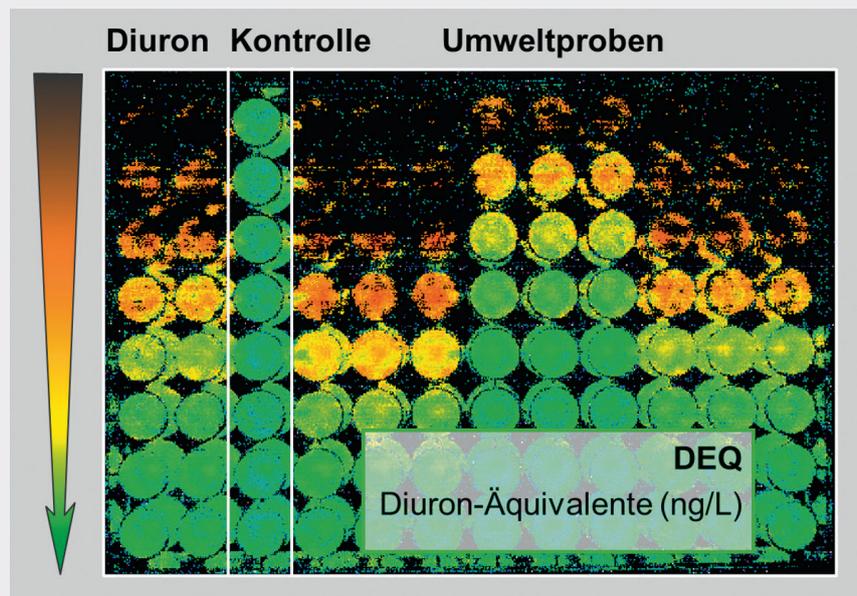


Fig. 2 Kombiniertes Algentest: Testplatte zur Messung der Hemmung des Photosystems II.

In den ersten beiden Spalten findet sich eine 1:2-Verdünnungsreihe mit der Referenzsubstanz Diuron. Die Spalte 3 enthält nur Kontrollmedium. In den Spalten 4–12 wurden Extrakte von Umweltproben in einer 1:2-Verdünnungsreihe in je 3 technischen Replikaten untersucht. Je dunkler die Färbung, desto geringer ist die Quantenausbeute. Eine grüne Färbung bedeutet keine Hemmung der Photosynthese. Effekte in den Umweltproben werden jeweils relativ zur Referenzsubstanz Diuron untersucht und in Diuron-Äquivalenten (DEQ) (ng/l) angegeben.

Test algues combiné: Plaque pour mesurer l'inhibition du photosystème II.

Les deux premières colonnes comportent une série de dilutions 1:2 avec la substance de référence diuron. La colonne 3 ne comporte que le médium témoin. Dans les colonnes 4–12, des extraits d'échantillons de l'environnement ont été examinés dans une série de dilutions 1:2 dans respectivement 3 répliques techniques. Plus la couleur est sombre, plus le rendement quantique est faible. Une coloration verte signifie l'absence d'inhibition de la photosynthèse. Les effets dans les échantillons de l'environnement sont examinés en relation avec la substance de référence diuron et indiqués en DEQ (ng/l).

Studien robuste Ergebnisse geliefert und wurde sowohl in der Schweiz (z. B. [28]) als auch in England (z. B. [29]), Australien und in den Niederlanden (ähnliches Testsystem) (z. B. [30]) angewandt.

Zur Quantifizierung der Effekte werden bioanalytische Äquivalenzkonzentrationen (BEQ) berechnet. Die BEQ ist definiert als jene Konzentration einer Referenzsubstanz, die den gleichen Effekt hat wie die Umweltprobe [31, 32]. Somit kann die Wirksamkeit einer Mischung unbekannter Stoffzusammensetzung als die entsprechend aktive Konzentration der Referenzsubstanz ausgedrückt werden. Je höher der BEQ-Wert, desto stärker ist der Effekt der untersuchten Probe. Für den kombinierten Algentest werden die ermittelten Effekte in Diuron-Äquivalenzkonzentrationen (ng/l DEQ) angegeben.

Validierung des kombinierten Algentests
Bei einer im Jahr 2014 durchgeführten Validierung des Tests wurden Nach-

weis- und Bestimmungsgrenzen, die Testvariabilität und die Wiederfindung anhand von Mischungen verschiedener PSII-Hemmstoffe und Abwasserproben ermittelt. Der kombinierte Algentest kann mittels Anreicherung Nachweis- und Bestimmungsgrenzen (berechnet als 3 bzw. 10 Mal Standardabweichung der Lösungsmittelkontrolle) im unteren ng/l-Bereich (1–6 ng/l DEQ) erreichen. In nativen Proben liegen diese Werte bei rund 190 bzw. 650 ng/l DEQ. Die ermittelten DEQ-Werte variierten wenig (5 bis 11%) und die Wiederfindung in Reinstwasser und Abwasserproben war gut (75 bis 125%). Die Gesamtvariabilität der Messungen nach Festphasenextraktion und Biotest lag bei 7 bis 17%. Details zur Validierungsstudie finden sich in [11].

Stand der Standardisierung
Der Test befindet sich derzeit in Vorbereitung für die ISO-Standardisierung.

BIOTEST ZUM NACHWEIS ÖSTROGEN-AKTIVER STOFFE

Der *Yeast Estrogen Screen* (YES), auch Hefezellöstrogentest genannt, wird mit genetisch veränderter Bäckerhefe (*Saccharomyces cerevisiae*) durchgeführt und zeigt die östrogene Aktivität einer Probe an [33] (Fig. 3). Er kann prinzipiell sowohl mit nativen als auch mit angereicherten Proben durchgeführt werden, wie beim Algentest können tiefe Nachweisgrenzen nur mit einer Anreicherung erreicht werden. Der YES ist eine einfach durchzuführende Methode, die in der Schweiz bereits seit mehr als 15 Jahren und auch weltweit viel verwendet wird. Er zeichnet sich durch niedrige Unterhalts- und Verbrauchskosten, Einfachheit der Einarbeitung und freie (nicht kommerzielle) Verfügbarkeit des Testorganismus aus. Der Test wurde bereits in diversen Projekten zum Nachweis östrogenen Aktivitäten in Abwasser und Umweltpollen angewandt, sowohl national (z. B. [8, 34]) als auch in-

ternational (z. B. [35]). Die Testergebnisse zeigen generell eine gute Übereinstimmung mit *in vivo*-Daten, d. h. mit Effekten im lebenden Organismus, z. B. mit der Erhöhung der Vitellogeninkonzentration im Blut von männlichen Fischen oder Jungfischen (z. B. [34, 36]). Der YES wird in 96-Well-Mikrotiterplatten nach der Methode von *Routledge u. Sumpter* [33] durchgeführt. Er quantifiziert die Aktivierung des Östrogenrezeptors über eine Farbveränderung, die nach 72 Stunden gemessen wird. Zur Quantifizierung der östrogenen Aktivität werden, wie beim Algentest, bioanalytische Äquivalenzkonzentrationen berechnet. Diese sind bezogen auf die Referenzsubstanz 17 β -Estradiol, sogenannte 17 β -Estradiol-Äquivalenzkonzentrationen (EEQ).

Validierung des YES

Auch für den YES wurden 2013 im Rahmen einer Testvalidierung am Oekotoxzentrum Nachweis- und Bestimmungsgrenzen, die

Testvariabilität und die Wiederfindung ermittelt. Der YES kann nach Anreicherung Nachweis- und Bestimmungsgrenzen von 0,09 bzw. 0,11 ng/l EEQ erreichen. Ohne Anreicherung lagen diese Werte bei 9 bzw. 11 ng/l EEQ. Die ermittelten EEQ-Werte variierten um 12 bis 31%, wobei die Variabilität in Proben mit geringer Belastung (nahe an der Bestimmungsgrenze des Tests) am höchsten war. Die Wiederfindung von 17 β -Estradiol in Reinstwasser und Extrakten war mit Werten zwischen 80 und 108% gut, in schwach belasteten Proben allerdings nur 40 bis 63%. Die Gesamtvariabilität nach Festphasenextraktion und Biotest war 17 bis 19%. Weitere Details zur Validierungsstudie und ein Vergleich mit anderen Testsystemen finden sich in [11] und [37].

Stand der Standardisierung

Seit Anfang 2018 gibt es mehrere ISO-standardisierte Testvarianten des YES: den L-YES (basierend auf dem hier vorgestellten Testverfahren, ergänzt mit einem weiteren Behandlungsschritt zur Erhöhung der Empfindlichkeit und Verkürzung der Testdauer) und den A-YES (mit dem Testorganismus *Arxula adenivoris*) [38, 39]. Eine weitere Richtlinie beschreibt Tests basierend auf menschlichen Zelllinien [40], die sehr sensitiv sind. Einer davon, der *ER α -CALUX*[®], hat sich in Validierungsstudien ebenfalls als robust und zuverlässig erwiesen [37] und kann alternativ zu den beiden YES-Testvarianten eingesetzt werden. Hierbei muss beachtet werden, dass für dessen Durchführung ein Zellkulturlabor benötigt wird, was höhere Anforderungen an die technische Ausrüstung stellt [8].

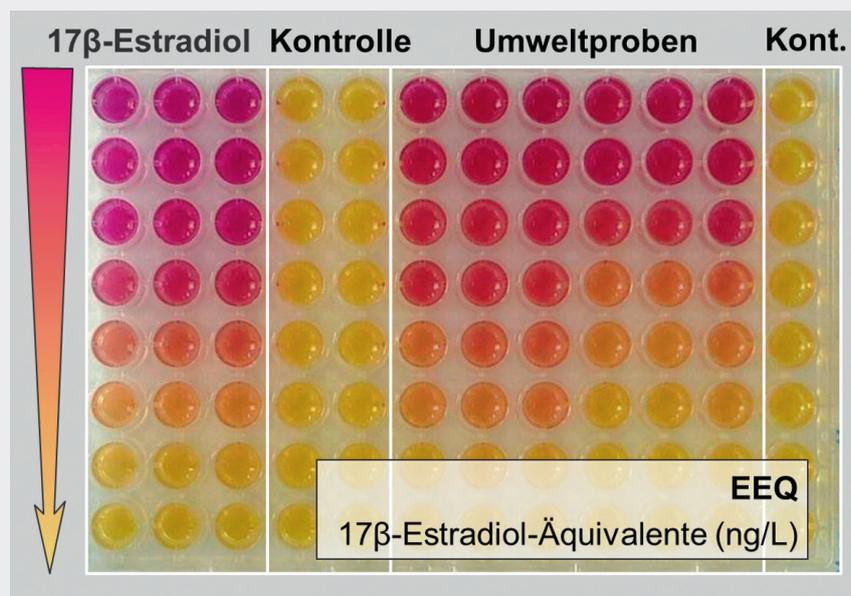


Fig. 3 *Yeast Estrogen Screen* (YES): Testplatte zur Messung der östrogenen Aktivität.

In den ersten drei Spalten findet sich eine 1:2-Verdünnungsreihe mit der Referenzsubstanz 17 β -Estradiol. Die Spalten 4, 5 und 12 enthalten nur Kontrollmedium. In den Spalten 6–11 wurden Extrakte von Umweltpollen in einer 1:2-Verdünnungsreihe in je 3 technischen Replikaten untersucht. Je dunkler die Färbung, desto höher ist die östrogene Aktivität. Eine gelbe Färbung bedeutet keine östrogene Aktivität. Effekte in den Umweltpollen werden jeweils relativ zur Referenzsubstanz 17 β -Estradiol untersucht und in 17 β -Estradiol-Äquivalenten (EEQ) (ng/l) angegeben.

Yeast Estrogen Screen (YES): Plaque pour mesurer l'activité œstrogénique. Les trois premières colonnes comportent une série de dilutions 1:2 avec la substance de référence 17 β -estradiol. Les colonnes 4, 5 et 12 ne comportent que le médium témoin. Dans les colonnes 6–11, des extraits d'échantillons de l'environnement ont été examinés dans une série de dilutions 1:2 dans 3 répliques techniques. Plus la couleur est sombre, plus l'activité œstrogénique est élevée. Une coloration jaune signifie l'absence d'activité œstrogénique. Les effets dans les échantillons de l'environnement sont examinés en relation avec la substance de référence 17 β -estradiol et indiqués en EEQ (ng/l).

BEURTEILUNG DER WASSER- QUALITÄT IM FLIESSGEWÄSSER

Über den Abwasseranteil im Gewässer, d. h. das Verhältnis von eingeleitetem Abwasservolumen zum Abflussvolumen des Fließgewässers, können die im Abwasser gemessenen DEQ- und EEQ-Werte auf die Belastung im Fließgewässer extrapoliert werden. Hierfür muss die Wasserbilanz bekannt sein, d. h. der Tagesabfluss der ARA und der des Fließgewässers müssen erfasst werden. Alternativ kann die Leitfähigkeit (LF) des Abwassers und des Flusswassers (oberhalb des ARA-Ablaufs und unterhalb im Bereich vollständiger Durchmischung von ARA-Abwasser und Flusswasser) bestimmt werden und da-

Beurteilung	Bedingung/ Beschreibung	Einhaltung Zielvorgabe
sehr gut	BEQ ist mehr als 10 Mal kleiner als das chronische Qualitätskriterium	Eingehalten
gut	BEQ ist 1 bis 10 Mal kleiner als das chronische Qualitätskriterium	
mässig	BEQ ist gleich oder grösser als das 1-fache und kleiner als das 2,5-fache chronische Qualitätskriterium	Überschritten
unbefriedigend	BEQ ist gleich oder grösser als das 2,5-fache und kleiner als das 10-fache chronische Qualitätskriterium	
schlecht	BEQ ist gleich oder grösser als das 10-fache chronische Qualitätskriterium	

Tab. 2 Evaluation der Wasserqualität für östrogen-aktive und PSII-hemmende Stoffe aus kommunalem Abwasser basierend auf fünf Zustandsklassen (angepasst nach Götz et al. [2] und dem Modul «Chemisch-physikalische Erhebungen, Nährstoffe» [41] des Modulstufenkonzepts). BEQ = bioanalytische Äquivalenzkonzentration)

Évaluation de la qualité de l'eau pour les substances à activité œstrogénique et les substances inhibitrices du photosystème II des eaux usées communales sur la base de cinq catégories d'état (adaptée selon [2] et le module «Analyses physico-chimiques, nutriments» [41] du système modulaire gradué). BEQ = concentration en équivalents bioanalytiques)

raus der Anteil an Abwasser berechnet werden ($LF_{\text{unterhalb}} - LF_{\text{oberhalb}} / (LF_{\text{Abwasser}} - LF_{\text{oberhalb}})$).

EFFEKTBEURTEILUNG ANHAND VON ZUSTANDSKLASSEN

Die Beurteilung der berechneten Gewässerkonzentrationen erfolgt, in Anlehnung an die Methoden des MSK, mithilfe

eines Beurteilungssystems mit fünf Zustandsklassen [41]. Diese wurden im vorliegenden Konzept gemäss dem Beurteilungsverfahren von Götz et al. [2] abgeleitet (Tab. 2). Für die Effektbeurteilung werden die extrapolierten DEQ- und EEQ-Werte mit dem chronischen UQK der jeweiligen Referenzsubstanz verglichen. Die Beurteilung einer Belastung mit PSII-

hemmenden Stoffen erfolgt anhand des UQK für die Referenzsubstanz Diuron (70 ng/l). Für die Beurteilung der östrogenen Belastung wird das UQK für die Referenzsubstanz 17β-Estradiol (0,4 ng/l) herangezogen. Im Fall einer Überschreitung kann eine Gefährdung von Wasserlebewesen nicht ausgeschlossen werden [2]. Die Bewertung ermöglicht somit die Identifizierung von Punktquellen, die problematische Konzentrationen an östrogen-aktiven und/oder PSII-hemmenden Stoffen in ein Gewässer einleiten.

ANWENDUNG DES GROBBEURTEILUNGSKONZEPTES

Die hier vorgestellte Methode wurde beispielhaft im Rahmen des Projekts *Ecolmpact* angewendet [42]. Ziel dieses Projekts war es, die Auswirkungen von Mikroverunreinigungen aus Kläranlagenabwasser auf Fließgewässerökosysteme zu untersuchen. Im Jahr 2013 wurde dafür eine Messkampagne an zwölf Schweizer ARA und angrenzenden Fließgewässern durchgeführt. Im ARA-Ablauf wurden hier allerdings, anstelle der empfohlenen 24-h-Mischproben, Stichproben genommen. Die im Abwasser gemessenen

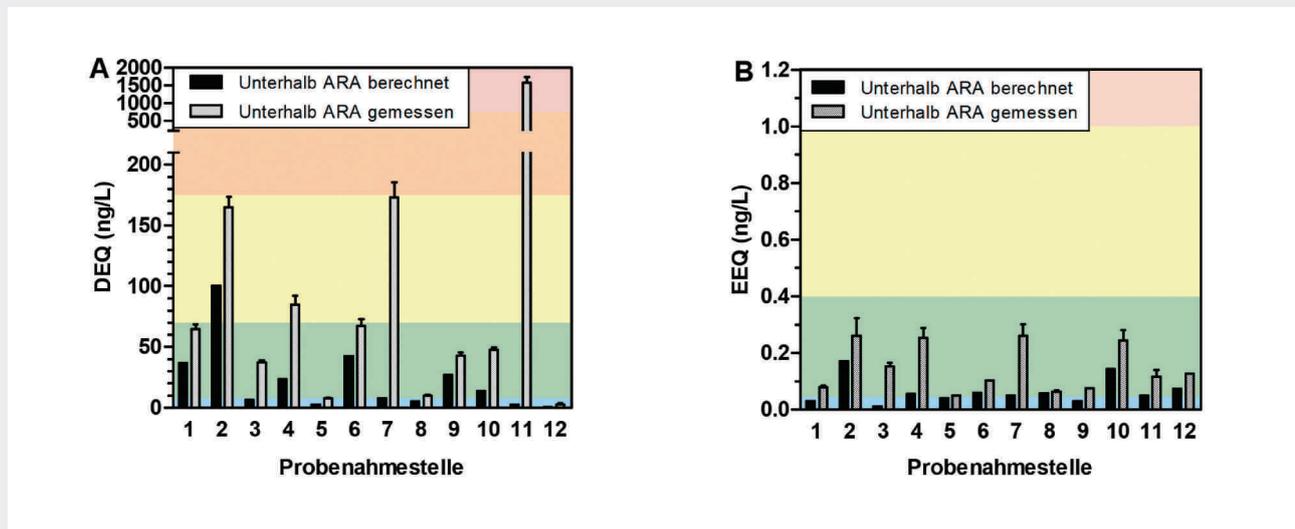


Fig. 4 Beurteilung der Belastung mit (A) Photosystem II-hemmenden und (B) östrogen-aktiven Stoffen in den zwölf in Ecolmpact untersuchten Fließgewässern anhand des Vorschlags für ein 5-stufiges Beurteilungskonzept.

ARA = Abwasserreinigungsanlage; DEQ = Diuron-Äquivalenzkonzentration; EEQ = 17β-Estradiol-Äquivalenzkonzentration
 Schwarze Säulen = aus Abwasserkonzentration extrapolierte Werte; graue Säulen = direkt im Fließgewässer gemessene Werte;
 blau = sehr gute Wasserqualität; grün = gute Wasserqualität; gelb = mässige Wasserqualität; orange = unbefriedigende Wasserqualität;
 rot = schlechte Wasserqualität

Fig. 4 Évaluation de la contamination par (A) des substances inhibitrices du photosystème II et (B) des substances à activité œstrogénique dans les douze cours d'eau examinés dans Ecolmpact en se référant à la proposition de concept d'évaluation à cinq classes.

STEP = station d'épuration, DEQ = concentration en équivalents diuron, EEQ = concentration en équivalents 17β-estradiol
 Colonnes noires = valeurs extrapolées de la concentration en eaux usées, colonnes gris = valeurs mesurées directement dans le cours d'eau, bleu = eau de très bonne qualité, vert = eau de bonne qualité, jaune = eau de qualité moyenne, orange = eau de qualité médiocre, rouge = eau de mauvaise qualité

Konzentrationen wurden anschliessend über die Verdünnung aufs Fliessgewässer extrapoliert. Die Beurteilung der Belastung mit PSII-hemmenden und östrogen-aktiven Stoffen im Fliessgewässer erfolgte dann anhand des oben beschriebenen 5-stufigen Systems. Ergänzend wurden Stichproben im Fliessgewässer oberhalb und unterhalb der ARA analysiert.

In *Figur 4* sind die extrapolierten und zum Vergleich auch die direkt im Fliessgewässer gemessenen Werte und die entsprechenden Gewässerzustandsklassen für die Belastung mit PSII-hemmenden (*Fig. 4A*) und östrogen-aktiven Stoffen (*Fig. 4B*) abgebildet. Für PSII-Hemmstoffe war durch Einleitung des Abwassers in zehn Fliessgewässern eine sehr gute bzw. gute Wasserqualität zu erwarten, für zwei Fliessgewässer eine mässige. Für östrogen-aktive Stoffe zeigte sich eine leicht andere Situation, und die Tests deuteten auf keinen negativen Einfluss auf die Wasserqualität hin.

Die Messwerte im Fliessgewässer zeigten, dass dort oft eine deutliche Vorbelastung aus diffusen Quellen vorhanden ist, vor allem bezüglich PSII-hemmender Stoffe. Mit der Messung im Abwasser werden im Mittel 40 bzw. 50% der im Gewässer unterhalb der ARA vorhandenen PSII-hemmenden bzw. östrogen-aktiven Stoffe

erfasst. Berücksichtigt man die Vorbelastung im Gewässer mit, so überschreiten fünf von zwölf Gewässern das UQK für diese Stoffklasse, im Vergleich zu nur zwei Überschreitungen bei Messung im Abwasser und anschliessender Extrapolation aufs Gewässer: Drei Gewässer waren mässiger Qualität, ein Gewässer wurde als unbefriedigend eingestuft und in einem Gewässer war die Wasserqualität bzgl. Photosystem-II-hemmender Stoffe schlecht. Hier war der DEQ nach der Kläranlage um ein Vielfaches höher im Ablauf der zugehörigen Kläranlage, sodass vermutlich zwischen Kläranlagen-ablauf und Probenahmestelle im Fliessgewässer ein Herbizideintrag stattfand. Für östrogen-aktive Stoffe ergab sich mit den Messungen direkt im Fliessgewässer keine Änderung der Beurteilung.

FAZIT UND AUSBLICK

Das hier vorgestellte Grobbeurteilungskonzept ist für die Beurteilung der Wasserqualität in abwasserbelasteten Fliessgewässern konzipiert und stellt einen ersten Schritt in Richtung integrative Beurteilung der Wasserqualität mit ökotoxikologischen Biotests dar. Das bedeutet, dass auf diese Weise Mischungseffekte, auch unbekannter Mischungen, erfasst und beurteilt werden können. Dafür stützt sich die Methodik auf die Evaluierung der Effekte im Abwasser; die Beurteilung der Wasserqualität im Fliessgewässer erfolgt über die Einbeziehung des Verdünnungsquotienten im Fliessgewässer. Wie das Projekt *EcoImpact* gezeigt hat, kann – zusätzlich zu einer Belastung durch Abwasser – eine relevante Belastung aus diffusen Quellen vorhanden sein. Dies ist für eine abschliessende Einschätzung der Belastungssituation im Fliessgewässer zu beachten; vor allem für Photosystem-II-Hemmstoffe ist eine Messung direkt im Bach sehr relevant.

Die vorgeschlagenen Biotests sind als Ergänzung zur üblichen Beurteilung der Wasserqualität mittels UQK basierend auf Einzelstoffen (s. [2]) oder auch zum Screening von Abwasserproben gedacht. Die Bewertung ermöglicht die Identifizierung von Punktquellen, die problematische Konzentrationen an östrogen-aktiven und/oder PSII-hemmenden Stoffen in ein Gewässer einleiten. Dadurch lassen sich auch Aussagen über mögliche negative Effekte relevanter organischer Spurengruppen auf Wasserlebewesen im Fliessgewässer machen. Über- oder Unterschreitungen von Qualitätskriterien durch

VERWENDETE ABKÜRZUNGEN

BEQ	Bioanalytische Äquivalenzkonzentration
EC	Effektkonzentration
DEQ	Diuron-Äquivalenzkonzentration
EEQ	Estradiol-Äquivalenzkonzentration
EQS	Environmental Quality Standard
LF	Leitfähigkeit
MSK	Modul-Stufen-Konzept
UQK	Umweltqualitätskriterium
YES	Yeast Estrogen Screen

östrogen-aktive und PSII-hemmende Stoffe, d. h. das ökologische Risiko, basierend auf ökotoxikologischen Effektdaten, können so abgeschätzt und bewertet werden. Bei der Anwendung des vorgestellten Grobbeurteilungskonzeptes muss allerdings beachtet werden, dass mit den ausgewählten Tests spezifische ökotoxikologische Wirkungen auf suborganismischer Ebene bestimmt werden. Rückschlüsse auf weiterreichende, populationsrelevante Wirkungen wie die Fortpflanzung von Fischen oder das Wachstum von Algen und weiteren Primärproduzenten (z. B. [19, 25, 43]) können damit nur bedingt getroffen werden. Für die Weiterentwicklung dieses Grobbeurteilungskonzeptes werden folgende Schritte empfohlen:

Standardisierung

Eine aktive Beteiligung der Schweiz an den Arbeiten zur Teststandardisierung und ISO-Zertifizierung ist für die Finalisierung des Grobbeurteilungskonzeptes essenziell und wird durch das Oekotoxzentrum mit verschiedenen Partnern derzeit aktiv unterstützt.

Erweiterung um andere Wirkmechanismen

Zukünftig wäre es erstrebenswert, sukzessive geeignete Tests für weitere Wirkmechanismen bzw. Stoffgruppen in ein Beurteilungskonzept einzubeziehen. Vom Oekotoxzentrum wurde hierfür ein Methodenüberblick mit Vorschlägen für vielversprechende Biotests erarbeitet [6].

Erweiterung für die Beurteilung von diffusen Belastungen

Das vorgestellte Konzept ist derzeit nur für die Anwendung auf kommunale Abwasser konzipiert. Es werden damit, wie oben erwähnt, nur die Anteile an Pho-

DANK

Die Initiatoren des Projekts ebenso wie die Autoren möchten den folgenden Personen für ihre wertvollen Beiträge und/oder Kommentare danken: den Mitgliedern der Begleitgruppe des Moduls Ökotoxikologie im Modulstufenkonzept *Michael Schärer*, *Yael Schindler* (Vorsitz, BAFU Abteilung Wasser), *Arielle Cordonier* (Service cantonal de l'écologie de l'eau, Kt. Genf), *Andreas Häner* (Arcadis), *Barbara Känel* (AWEL, Kt. Zürich), *Margie Koster* (Amt für Umwelt, Kt. Thurgau), *Frank Lang* (Interkantoniales Labor, Kt. Schaffhausen), *Sergio Santiago* (Soluval Santiago) und *Kristin Schirmer* (Eawag); sowie *Christian Michel*, *Nele Schuwirth*, *Heinz Singer*, *Christian Stamm*, *Barbara Spycher* (Eawag) und *Daniela Baumberger*, *Barbara Ganser*, *Nadzeja Homazava*, *Beatrice Läubli*, *Daniel Olbrich*, *Anke Schäfer*, *Andrea Schifferli*, *Christina Thiemann* (Oekotoxzentrum Eawag-EPFL). Diese Studie wurde im Auftrag des Bundesamtes für Umwelt durchgeführt und durch das Schweizerische Zentrum für angewandte Ökotoxikologie kofinanziert.

tosystem-II-hemmenden und östrogenaktiven Stoffen erfasst, die direkt aus dem Abwasser kommen. Eine mögliche Vorbelastung im Fließgewässer wird nicht berücksichtigt. Um die Gesamtbelastung im Gewässer zu bestimmen, wäre es wichtig, das Konzept in den nächsten Jahren um die Beurteilung der Fließgewässerbelastung mit Mikroverunreinigungen aus diffusen Quellen zu erweitern.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] EU (2013): Directive 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council of 12 August 2013 amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy
- [2] Götz, C. W. et al. (2011): Mikroverunreinigungen – Beurteilungskonzept für organische Spurenstoffe aus kommunalem Abwasser. Studie im Auftrag des BAFU, Eawag, Dübendorf
- [3] Kienle, C. et al. (2015): Ökotoxikologische Biotests – Anwendung von Biotests zur Evaluation der Wirkung und Elimination von Mikroverunreinigungen. *Aqua & Gas*, 7/8: p. 18–26
- [4] Kunz, P. Y. et al. (2015): In vitro bioassays to screen for endocrine active pharmaceuticals in surface and waste waters. *J Pharm Biomed Anal*, 106: 107–115
- [5] Könemann, S. et al. (2018): Effect-based and chemical analytical methods to monitor estrogens under the European Water Framework Directive. *Trends Anal Chem*, 102: 225–235
- [6] Kienle, C. et al. (2015): Methoden zur Beurteilung der Wasserqualität anhand von ökotoxikologischen Biotests. Studie im Auftrag des BAFU, Schweizerisches Zentrum für angewandte Ökotoxikologie Eawag-EPFL, Dübendorf
- [7] Escher, B.; Chèvre, N. (2004): Ökotoxikologische Untersuchung von Wasserproben aus der Glatt, April bis Oktober 2004 – Eine Untersuchung im Rahmen des Modulstufenkonzepts, Modul Ökotoxikologie, Eawag, Dübendorf
- [8] Kienle, C. et al. (2012): Evaluation von Methoden für den effektbasierten Nachweis von Östrogenaktiven Substanzen in Abwasserreinigungsanlagen und Fließgewässern. Studie im Auftrag des BAFU, Schweizerisches Zentrum für angewandte Ökotoxikologie, Eawag-EPFL, Dübendorf
- [9] Schweigert, N. et al. (2001): Methoden zur Untersuchung und Beurteilung der Fließgewässer in der Schweiz – Vorschläge zur Vorgehensweise im Modul Ökotoxikologie, Eawag, Dübendorf
- [10] International Organization for Standardization (1992): Water quality – Sampling – Part 10: Guidance on sampling of waste waters. ISO 5667-10:1992
- [11] Kienle, C. et al. (2015): Grobbeurteilung der Wasserqualität von abwasserbelasteten Gewässern anhand von ökotoxikologischen Biotests. Studie im Auftrag des BAFU (aktualisiert 2017). Schweizerisches Zentrum für angewandte Ökotoxikologie, Eawag-EPFL, Dübendorf/Évaluation sommaire de la qualité de l'eau dans les cours d'eau pollués par des effluents d'épuration à l'aide de bioessais écotoxicologiques. Étude réalisée sur mandat de l'OFEV (actualisé 2017). Centre suisse d'écotoxicologie appliquée Eawag-EPFL, Dübendorf
- [12] International Organization for Standardization (2003): Water quality – Sampling – Part 3: Guidance on the preservation and handling of water samples. ISO 5667-3:2003
- [13] International Organization for Standardization (2017): Water quality – Sampling – Part 16: Guidance on biotesting of samples. ISO 5667-16:2017
- [14] US EPA (2002): Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms. EPA-821-R-02-012. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, USA
- [15] Liška, I. (2000): Fifty years of solid-phase extraction in water analysis - Historical development and overview. *J Chromatogr A*, 885(1-2): p. 3–16
- [16] Hela, D. G. et al. (1997): Influence of salinity and dissolved humic acids on pesticides extraction from water using solid-phase extraction disks. *Int J Environ Anal Chem*, 68(1): p. 69–82
- [17] Jeanneau, L. et al. (2007): Influence of natural organic matter on the solid-phase extraction of organic micropollutants. Application to the water-extract from highly contaminated river sediment. *J Chromatogr A*, 1173(1-2): p. 1–9
- [18] Doppler, T. et al. (2017): Hohe PSM-Belastung in Schweizer Bächen. *Aqua & Gas*, (4): p. 46–56
- [19] Langer, M. et al. (2017): Hohe Ökotoxikologische Risiken in Bächen. *Aqua & Gas*, 97(4): p. 58–68
- [20] Abegglen, C.; Siegrist, H. (2012): Mikroverunreinigungen aus kommunalem Abwasser. Verfahren zur weitergehenden Elimination auf Kläranlagen. *Umwelt-Wissen Nr. 1214*, BAFU, Bern
- [21] Kühn, R.; Pattard, M. (1990): Results of the harmful effects of water pollutants to green algae (*Scenedesmus subspicatus*) in the cell multiplication inhibition test. *Water Res*, 24(1): p. 31–38
- [22] Hall, S. et al. (2009): Acute and chronic toxicity of nano-scale TiO₂ particles to freshwater fish, cladocerans, and green algae, and effects of organic and inorganic substrate on TiO₂ toxicity. *Nanotoxicology*, 3(2): p. 91–97
- [23] Yang, L. H. et al. (2008): Growth-inhibiting effects of 12 antibacterial agents and their mixtures on the freshwater microalga *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Environ Toxicol Chem*, 27(5): p. 1201–1208
- [24] Diotel, N. et al. (2011) Activity and expression of steroidogenic enzymes in the brain of adult zebrafish. *Eur J Neurosci*, 34(1): p. 45–56
- [25] Kidd, K. A. et al. (2007): Collapse of a fish population after exposure to a synthetic estrogen. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104(21): p. 8897–8901
- [26] Gälli, R. et al. (2009): Mikroverunreinigungen in den Gewässern. Bewertung und Reduktion der Schadstoffbelastung aus der Siedlungsentwässerung. *Umwelt-Wissen Nr. 0917*, BAFU, Bern
- [27] Fent, K. et al. (2008): UV filters in the aquatic environment induce hormonal effects and affect fertility and reproduction in fish. *Chimia*, 62(5): p. 368–375
- [28] Escher, B. I. et al. (2009): JEM spotlight: Monitoring the treatment efficiency of a full scale ozonation on a sewage treatment plant with a mode-of-action based test battery. *J Environ Monit*, 11(10): p. 1836–1846
- [29] Bengtson Nash, S. M. et al. (2006): Phytotoxicity of surface waters of the Thames and Brisbane River estuaries: a combined chemical analysis and bioassay approach for the comparison of two systems. *Biosens Bioelectron*, 21(11): p. 2086–2093
- [30] Booij, P. et al. (2014): Identification of photosynthesis inhibitors of pelagic marine algae using 96-well plate microfractionation for enhanced throughput in effect-directed analysis. *Environ Sci Technol*, 48(14): p. 8003–8011
- [31] Escher, B. I. et al. (2008): Toxic equivalent concentrations (TEQs) for baseline toxicity and specific modes of action as a tool to improve interpretation of ecotoxicity testing of environmental samples. *J Environ Monit*, 10(5): p. 612–621
- [32] Escher, B. I. et al. (2015): Effect-based trigger values for in vitro bioassays: Reading across from existing water quality guideline values. *Water Res*, 81: p. 137–148
- [33] Routledge, E. J.; Sumpter, J.P. (1996): Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen. *Environ Toxicol Chem*, 15(3): p. 241–248
- [34] Vermeirssen, E. L. M. et al. (2005): Characterization of the estrogenicity of swiss midland rivers using a recombinant yeast bioassay and plasma vitellogenin concentrations in feral male brown trout. *Environ Toxicol Chem*, 24(9): p. 2226–2233
- [35] Legler, J. et al. (2002): Comparison of in vivo and in vitro reporter gene assays for short-term screening of estrogenic activity. *Environ Sci Technol*, 36(20): p. 4410–4415
- [36] Kunz, P. Y. et al. (2006): Comparison of in vitro and in vivo estrogenic activity of UV filters in fish. *Toxicol Sci*, 90(2): p. 349–361
- [37] Kunz, P. Y. et al. (2017): Effect-based tools for monitoring estrogenic mixtures: Evaluation of five in vitro bioassays. *Water Res*, 110: p. 378–388
- [38] International Organization for Standardization (2017): Water quality – Determination of the estrogenic potential of water and waste water – Part 2: Yeast estrogen screen (A-YES, *Arxula adeninivorans*). ISO/DIS 19040-2

- [39] *International Organization for Standardization (2017): Water quality – Determination of the estrogenic potential of water and waste water – Part 1: Yeast estrogen screen (Saccharomyces cerevisiae). ISO/DIS 19040-1*
- [40] *International Organization for Standardization (2017): Water quality – Determination of the estrogenic potential of water and waste water – Part 3: In vitro human cell-based reporter gene assay. ISO/DIS 19040-3*
- [41] *Liechti, P. (2010): Methoden zur Untersuchung und Beurteilung der Fliessgewässer. Chemisch-physikalische Erhebungen, Nährstoffe. Umwelt-Vollzug Nr. 1005. Budesamt für Umwelt, Bern. 44 S.*
- [42] *Stamm, C. et al. (2017): Einfluss von Mikroverunreinigungen. Aqua & Gas, 6 /17: p. 90–95*
- [43] *Jobling, S. et al. (2006): Predicted exposures to steroid estrogens in U. K. rivers correlate with widespread sexual disruption in wild fish populations. Environ Health Perspect, 114 Suppl 1: p. 32–39*

> SUITE DU RÉSUMÉ

être évaluées en s'appuyant sur les méthodes du MSK, avec 5 catégories d'état. La classification se fonde sur les propositions disponibles pour les critères chroniques de qualité environnementale pour le groupe de substances concerné. Pour le YES, il existe plusieurs variantes qui se trouvent actuellement en phase finale de certification par l'Organisation internationale de normalisation (ISO). Au moment de l'élaboration du concept, une recommandation définitive de test n'était pas encore possible. Pour le test algues combiné, une normalisation ISO est en cours de préparation. La méthode présentée est conçue pour l'évaluation des cours d'eau pollués par des eaux usées et représente un premier pas vers une évaluation écotoxicologique intégrative de la qualité de l'eau. Les biotests proposés sont destinés à servir de complément à l'évaluation usuelle des substances isolées et permettent de recenser de manière sommaire l'effet d'une vaste gamme de micropolluants organiques.

pr | award | 2017/18

Machen Sie mit! – Participez! – Partecipate!

www.svgw.ch/praward
www.ssig.ch/praward-fr
www.ssig.ch/praward-it



SVGW-Wasserfachtagung

Daten erfassen und auswerten

Intelligentes Monitoring: vom Messen zur Prozessoptimierung in der Wasserversorgung

Mittwoch, 9. Mai 2018 | 09:00 - 16:00 Uhr
 Hotel Arte, Olten



www.svgw.ch/Daten