

Anwendung des Fischeitests bei Kraftwerksabwässern

Abstract

Application of the Fish Egg Test in Power Plant Waste Waters

The recirculation of cooling water and of FGD-process water (FGD = Flue Gas Desulphurisation) as well as the evaporation of process water in fossil fired power plants causes an enrichment of different salts in discharged waters. Salt concentrations above 5‰ might be toxic for fresh water fish species as e.g. the gold-ide (*Leuciscus idus*). The fish toxicity of FGD-waste water has been determined by the chloride-profile in past. Testing such water adduced a higher real fish toxicity as the calculated fish toxicity according to the annex 47 of the German Waste Water Ordinance. Thus the toxicity of the FGD-waste water is higher than calculated by means of the chloride-profile.

The research project was initiated to originate a data base to ensure the exact characterization of the discharged water of coal fired power plants. Original waste water samples have been used to ensure the applicability of the fish-egg-test for the investigation of power plant discharge water. In the period from August 19, 2002, till May 5, 2003, 28 samples of waste water, originating of different coal-fired power plants have been examined for their toxicity to fish and fish-eggs in the research project named: "Application of the fish-egg-test to determine fish toxicity" (Project Nr.: 227-A and 227-B). The determination of the acute toxicity has been done according to the DIN 38412-L 31 (Fish-test) at the Environment hygiene and Environment medicine Institute in Gelsenkirchen. The fish-egg test had been performed at the Leibniz-Institute of Freshwater Ecology and Inland Fisheries in Berlin according to the DIN 38415-6 (Fish-egg test). Because of the fact that the fish-egg test as an alternative test method to the existing fish test has already been implemented into the German Waste Water Ordinance (edition October 15, 2002) and into the German Law

on Waste Water Levy, the project had to clarify if the fish-test and the fish-egg test adduce similar results to ensure the comparability while testing waste water originating from coal-fired power plants. The background is that the German government will amend both regulations in such a manner that the fish-test will be replaced by the fish-egg test.

stoffgehalt und pH-Wert der AWP sind bestimmt worden. Der pH-Wert wurde durch Zusatz von Salzsäure bzw. Natriumhydroxid-lösung auf $7,0 \pm 0,2$ eingestellt und begleitend die Abwässer auf ausgewählte physikalisch-chemische Parameter untersucht (Tabelle 2).

Material und Methodik

Allgemeines

Gemäß DIN 38412-L 31 (Fischtest) und DIN 38415-6 (Fischeitest) ist der Versuchsansatz aus einem Volumenteil Abwasser und dem erforderlichen Verdünnungswasser als Verdünnungsreihe zu erstellen (Tabelle 1). Die Abwasserproben (AWP) wurden nach dem Eingang in den Labors bis zur Untersuchung im Kühlschrank aufbewahrt und unmittelbar vor Testbeginn auf 26 (Fischeitest) bzw. 20 °C (Fischtest) temperiert. Sauer-

Tabelle 1. Verdünnungsreihen.

Vielfaches an Verdünnungswasser X	Verdünnungsstufe G
0	1
1	2
2	3
3	4
5	6
7	8
11	12
15	16
23	24
31	32

Tabelle 2. Bandbreite physikalisch-chemischer Parameter.

Parameter	Bandbreite der Analyseergebnisse
pH-Wert	6,7 – 10,3
elektrische Leitfähigkeit [µS/cm]	993 – 58.000
Redox-Potential [mV]	82 – 714
abfiltrierbare Stoffe [mg/l]	< 1,0 – 75,0
Sauerstoff-Gehalt [mg/l]	7,4 – 9,4
chemischer Sauerstoffbedarf [mg/l]	< 15 – 156
gesamter organischer Kohlenstoffgehalt [mg/l]	4,0 – 51
Sulfat [mg/l]	272 – 2.909
Chlorid [mg/l]	66 – 26.400
Bromid [mg/l]	< 0,1 – 127
Fluorid [mg/l]	0,2 – 14,4
Sulfid [mg/l]	< 0,004 – 0,2
Sulfit [mg/l]	< 0,1 – 19
Stickstoff ges. [mg/l]	0,41 – 849
Ammonium [mg/l]	< 0,01 – 11
Nitrit [mg/l]	< 0,003 – 15,8
Nitrat [mg/l]	0,16 – 837
Calcium [mg/l]	122 – 14.850
Natrium [mg/l]	29 – 9.280
Magnesium [mg/l]	5 – 920
Kalium [mg/l]	4 – 585
Arsen [mg/l]	< 0,001 – 0,02
Blei [mg/l]	< 0,001 – 0,016
Cadmium [mg/l]	< 0,0002 – 0,011
Chrom [mg/l]	0,002 – 0,037
Kupfer Cu [mg/l]	0,003 – 0,090
Nickel [mg/l]	0,001 – 0,196
Quecksilber [mg/l]	< 0,00005 – 0,007
Thallium [mg/l]	< 0,001 – 0,033
Zink [mg/l]	< 0,005 – 0,11

Autoren

Dr. agr. T. Meinelt

Leibniz-Institut für Gewässerökologie und Binnenfischerei, Forschungsverbund Berlin e.V., Berlin/Deutschland.

Dipl.-Ing. R. Weiss

Hygiene-Institut des Ruhrgebiets, Institut für Umwelthygiene und Umweltmedizin, Gelsenkirchen/Deutschland.

Dipl.-Ing. H.-D. Dreischer

RWE Power AG, Essen/Deutschland.

Dr. agr. F. Peters

VGB PowerTech e.V., Essen/Deutschland.

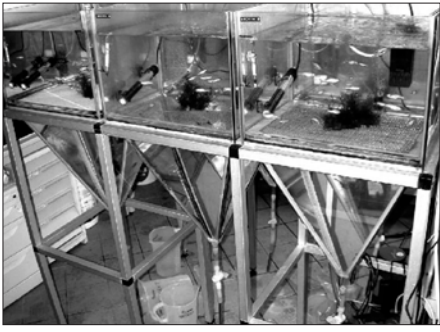


Bild 1. Laichgewinnungsbecken.

Organismische Testverfahren

Fischttest

Die Bestimmung der akuten Fischtoxizität erfolgte mit Hilfe des in DIN 38412-L 31 (Bestimmung der nicht akut giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Fischen über Verdünnungsstufen) beschriebenen Verfahrens mit Goldorfen (*Leuciscus idus* (L.), Goldvariante: Goldorfe).

Für die Testdurchführungen wurden Jungfische mit einer Gesamtlänge von 5 bis 8 cm und einem Korpulenzfaktor „K“ von 0,8 bis 1,1 g/cm³ (K = 100 × m/l³) verwendet; hierbei sind „m“ das Lebendgewicht (in g) und „l“ die Länge (in cm) der Fische. Die Akkli-

matisierungszeit der Fische betrug vor Versuchsbeginn mindestens 12 Tage, wobei die Tiere bei 20 ± 1 °C in belüftetem chlorfreiem Trinkwasser gehältert wurden. Die Beleuchtungsdauer des Versuchsraums betrug 12 Stunden. Die Fische wurden mit Trockenfutter (VITA Flockenfutter von Vita-kraft, Bremen) einmal pro Tag *ad libitum* gefüttert. Die Fische wurden in Versuchsansätzen (Gesamtvolumen je Testansatz: 3 ℓ) jeweils über einen Zeitraum von 48 Stunden mit einem Volumenteil des Kraftwerksabwassers und mit einem Vielfachen an Volumenteilen des Verdünnungswassers in Vollglasaquarien (L × B × H = 19 cm × 14 cm × 19 cm) eingesetzt. Als Verdünnungswasser kam chlorfreies Trinkwasser mit einem Calciumgehalt von 2,2 ± 0,4 mmol/ℓ und einem Magnesiumanteil von 0,5 ± 0,1 mmol/ℓ zu Anwendung; die Säurekapazität KS_{4,3} betrug 0,10 ± 0,02 mmol/ℓ. Jeder Testansatz wurde während des Versuchs permanent belüftet. Als Ergebnis für den Fischttest gilt der kleinste Wert für die Verdünnungsstufe G („G_F-Wert“), bei dem alle Fische überleben.

Fischeitest

Der Fischeitest ist mit Eiern des Zebraärb- lings (*Danio rerio*) durchgeführt worden. Die

Elterntiere wurden in modifizierten Glas- aquarien (80 ℓ) bei 26 °C im Geschlechter- verhältnis von zwei Milchnern zu einem Rogner und einem Hell-Dunkel-Rhythmus von 12:12 Stunden gehalten. In die Laich- aquarien war eine horizontale Trennwand aus Gaze integriert, über der die Elterntiere ab- laichten. Die Eier fielen durch die Gaze und waren so vor den laichräuberischen Elterntie- ren geschützt. Der untere Teil der Laichaqua- rien war trichterförmig und endete in einem Ablasshahn, über den die Eier entnommen wurden (Bild 1). Das Haltungswasser setzte sich aus vollentsalztem Wasser unter Zugabe von 1 g/10 ℓ Meersalz, 1,03 g/10 ℓ NaHCO₃ und 2,68 g/10 ℓ CaCl₂ × 2 H₂O zu- sammen. Vor Beleuchtungsbeginn am Mor- gen wurden Kot- und Futterreste über den Bodenablass entnommen und verworfen. Die anschließende Einschaltung der Beleuchtung simulierte den Tagesanbruch und aktivierte das Laichgeschehen der Zebraärb- linge. Der trichterförmige Boden führte die absinkenden Eier dem Bodenablass zu. Hier wurden die Eier mehrmals entnommen, mit gleich tem- periertem Haltungsmedium gesäubert und anschließend mit Hilfe eines Stereomikro- skops ausgezählt. Die Fische sind zweimal täglich mit *Artemia salina*-Nauplien und drei-

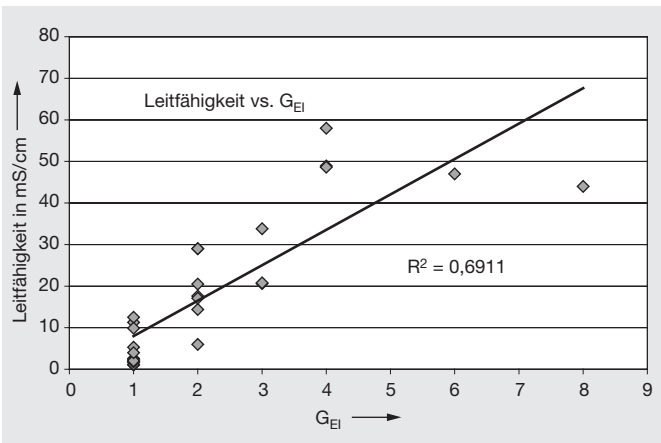


Bild 2. Korrelation der Leitfähigkeit der Wasserproben mit der Toxizität im Fischeitest.

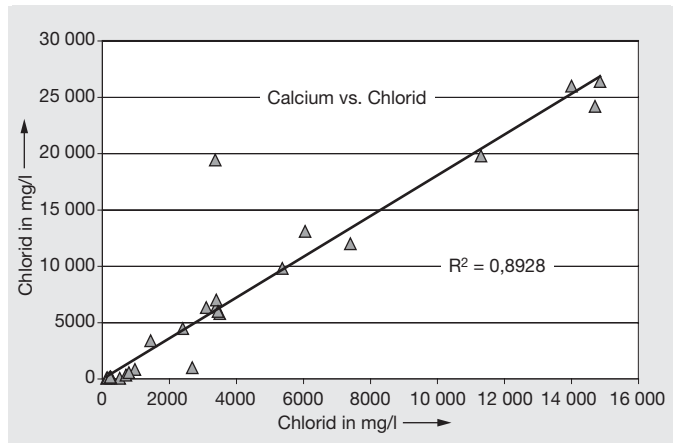


Bild 3. Korrelation des Calciumgehaltes mit dem Chloridgehalt der Wasserproben.

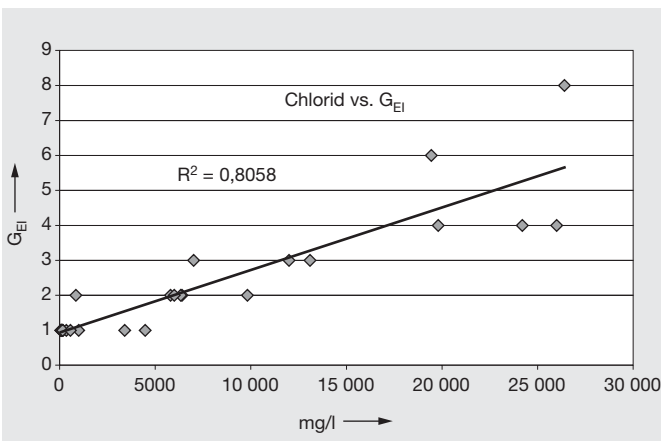


Bild 4. Korrelation des Chloridgehaltes der Wasserproben mit der Toxizität im Fischeitest.

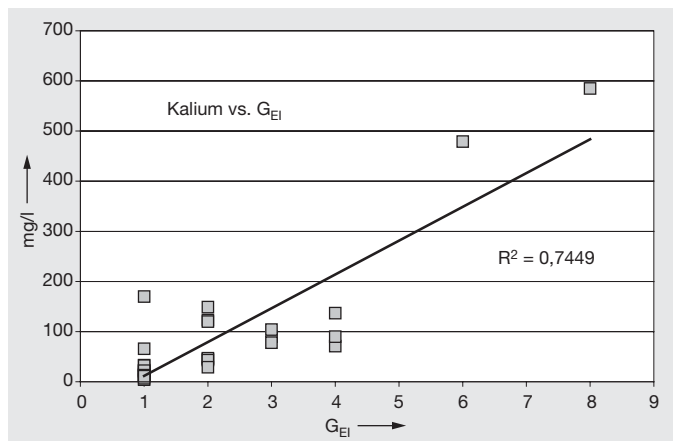


Bild 5. Korrelation des Kaliumgehaltes der Wasserproben mit der Toxizität im Fischeitest.

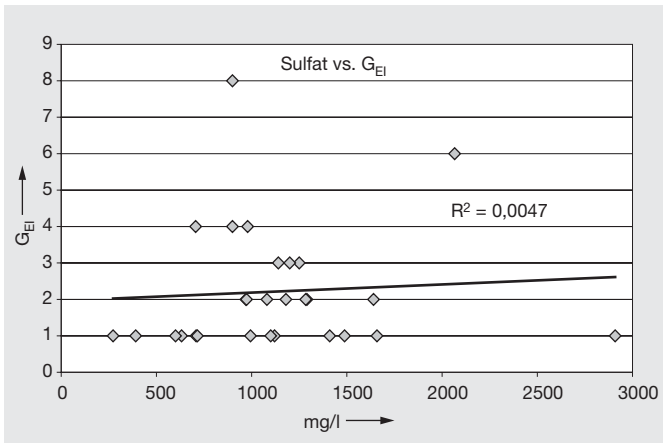


Bild 6. Korrelation des Sulfatgehaltes der Wasserproben mit der Toxizität im Fischeitest.

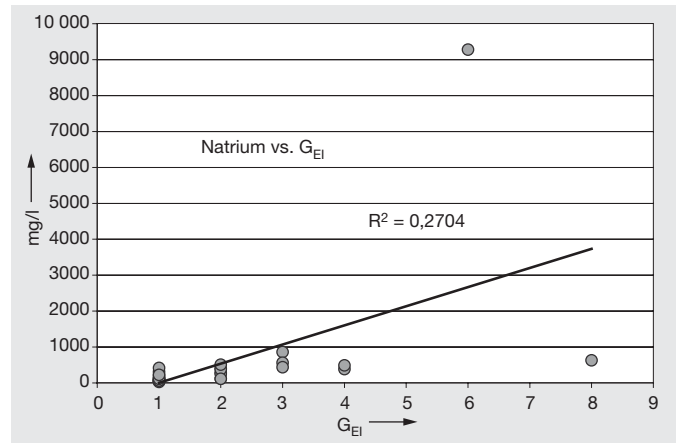


Bild 7. Korrelation des Natriumgehaltes der Wasserproben mit der Toxizität im Fischeitest.

mal täglich mit TetraMin *ad libitum* gefüttert worden. Nachfolgend wurden die notwendigen Verdünnungsansätze aus einem Volumenanteil AWP und den erforderlichen Volumenanteilen Verdünnungswasser nach DIN EN ISO 7346-3 hergestellt und in Kristallisierschalen überführt. In diese Verdünnungsansätze kamen je rund 40 Eier im 4- bis 8-Zell-Stadium. In Cell-Well-Kulturplatten wurden je Verdünnungsstufe 30 befruchtete Eier (10 Eier × 3 Replikationen) einzeln in je 2 ml Verdünnungsansatz exponiert. Als interne Negativkontrolle wurden vier befruchtete Eier in Verdünnungswasser auf jeder Kulturplatte mitgeführt und zusätzlich eine externe Negativkontrolle auf separaten Cell-Well-Kulturplatten mit 30 (10 × 3 Replika-

tionen) befruchteten Eiern in Verdünnungswasser angesetzt. Die internen und externen Negativkontrollen dienten der Gewährleistung der homogenen Qualität des Testmaterials. Die Versuche sind zu verwerfen, wenn in den externen oder internen Negativkontrollen mehr als 10% der Probanden letale Merkmale aufweisen. Als Positivkontrolle wurden 10 Eier auf einer Kulturplatte mit 3,4-Dichloranilin (3,4-DCA) exponiert. Die Positivkontrolle diente der Sicherstellung der homogenen Sensibilität des Testmaterials. In der Positivkontrolle müssen mehr als 10% der Probanden letale Effekte aufweisen, um den Test als valide gelten zu lassen. Die Cell-Well-Kulturplatten wurden mit Folie verschlossen und 48 Stunden bei 26 °C inkubiert. Nach 48 Stunden wurde der Versuch beendet und die Effekte (toxikologische Endpunkte) mit Hilfe eines Inversmikroskopes erfasst und protokolliert. Als toxikologische Endpunkte nach DIN 38415-6 wurden folgende vier Parameter herangezogen:

stellt. Die Untersuchungsdaten belegen, dass rund 61% der Proben eine Übereinstimmung der Ergebnisse hinsichtlich der Verdünnungsfaktoren (G_F -Werte) des Fischtestes mit Goldorfen und des Fischeitests mit Eiern des Zebrabärlings aufweisen. Bei etwa 28% der Abwasserproben weichen die Testergebnisse um eine Verdünnungsstufe voneinander ab und bei rund 11% der Wässer liegen die Prüfwerte um zwei Verdünnungsstufen auseinander. Größere Unterschiede lassen sich nicht nachweisen. Eine gute Übereinstimmung wird in der Regel immer dann erzielt, wenn der Salzgehalt der Kraftwerksabwasserproben gering ist. Der Fischtest und der Fischeitest erbringen demzufolge sehr ähnliche Ergebnisse. Bei der Bewertung von Ergebnissen, die mit biologischen Testsystemen erzielt wurden, muss berücksichtigt werden, dass diese Tests einer natürlichen Variabilität unterliegen. Sie hängt vor allem von der verwendeten Testprozedur und von der verwendeten Testspezies ab. Standardisierte Toxizitätstests vermögen Fehler in der Durchführung der Tests zu minimieren, sind jedoch nicht in der Lage, natürliche Schwankungen in der Sensibilität des biologischen Testmaterials auszuschließen. Eine Betrachtung der in dem Verbundprojekt durch die beiden Laboratorien erzielten Resultate muss unter dieser Prämisse erfolgen. Die Abweichungen betragen zum größten Teil eine Ver-

1. Zahl der koagulierten Keime (Koagulation gilt als letales Kriterium),
2. Anlage der Somiten (Nichtanlage gilt als letales Kriterium),
3. Ablösung des Schwanzes vom Dotter (Nichtablösung gilt als letales Kriterium) und
3. Herzschlag (kein Herzschlag innerhalb von 30 s gilt als letales Kriterium).

Als G_{EI} -Wert gilt die niedrigste Verdünnungsstufe, bei der mindestens 90% der Embryonen ohne letale Effekte entsprechend 1. bis 4. überleben.

Ergebnisse und Diskussion

Die Ergebnisse der akuten Fischgiftigkeitsüberprüfungen mittels Fischtest (G_F) und Fischeitest (G_{EI}) sind in Tabelle 3 gegenüberge-

Tabelle 3. Gegenüberstellung Fischtest – Fischeitest.

Probe Nr.	G_F -Fischtest	G_{EI} -Fischeitest
VGB-1	2	2
VGB-2	3	3
VGB-3	1	1
VGB-4	2	1
VGB-5	6	4
VGB-6	1	1
VGB-7	1	1
VGB-8	8	4
VGB-9	1	1
VGB-10	1	1
VGB-11	2	2
VGB-12	1	1
VGB-13	3	2
VGB-14	2	2
VGB-15	1	1
VGB-16	6	8
VGB-17	3	3
VGB-18	1	1
VGB-19	2	1
VGB-20	3	4
VGB-21	1	1
VGB-22	1	2
VGB-23	1	3
VGB-24	1	1
VGB-25	4	6
VGB-26	1	1
VGB-27	2	2
VGB-28	4	2

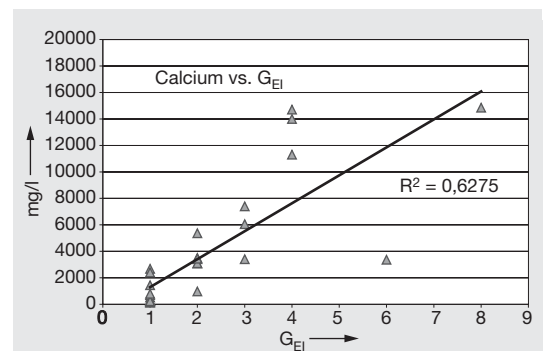


Bild 8. Korrelation des Calciumgehaltes der Wasserproben mit der Toxizität im Fischeitest.

dünnungsstufe, wobei unseres Erachtens davon auszugehen ist, dass dieser Schwankungsbereich hauptsächlich mit der natürlichen Variabilität biologischer Testverfahren zu erklären ist.

Korrelation der G_{EI} mit ausgewählten Ionen

Die erzielten G_{EI} -Werte lassen sich gut mit der Leitfähigkeit und dem Chloridgehalt

korrelieren, währenddessen Sulfat keinen Einfluss auf die Toxizität der Proben zu haben scheint (Bilder 2 bis 8). Weil der Chloridgehalt bestens mit dem Calciumgehalt korreliert, sollte als die toxizitätsbestimmende Komponente Calciumchlorid betrachtet werden (Bild 3). Die festgestellten Abweichungen bei höheren Salzgehalten können nicht erklärt werden. Anhand der vorliegenden Daten sind keine weiteren Rückschlüsse auf andere toxische Komponenten möglich. So sind die ermittelten

Konzentrationen für die eventuell in Betracht kommenden Komponenten, wie z. B. Schwermetalle, Arsen und Ammoniak, nur in solchen Konzentrationen vorhanden, dass toxische Effekte jeweils für sich betrachtet nicht anzunehmen sind. Additive oder multiple Effekte können an dieser Stelle nicht abgeschätzt werden und bedürfen weiterer Untersuchungen. Weil beide Tests dem selben Schema folgen, wurden die Korrelationen nur mit dem Fischeitest bestimmt. □